

Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie
Wydział Matematyczno-Przyrodniczy

WYBRANE BADANIA W DZIEDZINIE KWASÓW
AMINOALKILOFOSFONOWYCH

mgr Marcin H. Kudzin
Instytut Włókiennictwa

Praca doktorska
napisana pod kierunkiem
Prof. dr hab. Józefa Drabowicza

CZĘSTOCHOWA 2014

*Składam szczególne podziękowania promotorowi niniejszej pracy
Panu Prof. Józefowi Drabowiczowi, za nieocenioną pomoc,
dzięki której możliwe było jej napisanie.*

*Serdeczne podziękowania pragnę wyrazić również
za wsparcie we wszystkich aspektach pracy naukowej
Pani Dyrektor Instytutu Włókiennictwa
Prof. Jadwidze Sójce-Ledakowicz.*

SPIS TREŚCI		Str.
1.	WPROWADZENIE	8
2.	CZĘŚĆ TEORETYCZNA	10
2.1.	KWASY AMINOFOSFONOWE	10
2.2.	WŁAŚCIWOŚCI BIOLOGICZNE KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH	11
2.3.	BADANIA NAD SYNTEZĄ KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH	17
2.4.	WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNE KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH	23
2.4.1.	TEMPERATURY TOPNIENIA KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH	23
2.4.1.1.	TERMOGRAWIMETRIA KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH	26
2.4.2.	ROZPUSZCZALNOŚĆ KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH	27
2.4.3.	WIDMA ABSORPCYJNE AMINOALKILOFOSFONOWYCH	28
2.4.3.1.	WIDMA UV KWASÓW AMINOFOSFONOWYCH	28
2.4.3.2.	WIDMA IR KWASÓW AMINOFOSFONOWYCH	32
2.4.3.3.	SPEKTROSKOPIA NMR KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH	36
2.4.3.3.1.	SPEKTROSKOPIA ^{31}P -NMR	36
2.4.3.3.2.	SPEKTROSKOPIA ^1H -NMR	42
2.4.3.3.3.	SPEKTROSKOPIA ^{13}C -NMR	52
2.4.4.	SPEKTROMETRIA MAS W CHARAKTERYZACJI KWASÓW AMINOALKILO-FOSFONOWYCH	57
2.4.5.	STEREOCHEMIA KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH	58
2.5.	WŁAŚCIWOŚCI CHEMICZNE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	59
2.5.1.	WŁAŚCIWOŚCI KWASOWO-ZASADOWE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	60
3.	BADANIA WŁASNE	61
3.1.	SYNTEZA/RESYNTETA WYBRANYCH REPREZENTATYWNYCH KWASÓW 1-AMINOALKILO-FOSFONOWYCH I POCHODNYCH	61
3.1.1.	METODA PTC-AMINOFOSFONIANOWA	62
3.1.2.	HYDROFOSFONYLOWANIE IMIN	63
3.1.3.	REAKCJA AMIDOALKILOWANIA PCl_3	63
3.1.4.	SYNTEZA KWASÓW 1-(N-ACYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH	64

3.2.	WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	65
3.2.1.	BADANIA NAD ROZPUSZCZALNOŚCIĄ AMINOKWASÓW	65
3.2.1.1.	BADANIA NAD ROZPUSZCZALNOŚCIĄ AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	66
3.2.1.1.1.	OZNACZANIE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH W WODZIE	67
3.2.1.1.1.1.	METODA MIARECZKOWANIA pH-METRYCZNEGO	67
3.2.1.1.1.2.	METODA NMR-OWA	68
3.2.1.1.1.2.1.	KORELACJA POWIERZCHNI SYGNAŁU ^{31}P DLA AA^{P} I WZORCA	68
3.2.1.1.1.2.2.	WYLICZENIA STĘŻENIA AMINOKWASU NA PODSTAWIE WIDMA ^{31}P NMR MIESZANINY POWIERZCHNI SYGNAŁU AA^{P} I WZORCA	75
3.2.1.1.2.	BADANIA NAD WYZNACZANIEM ROZPUSZCZALNOŚCI AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	76
3.2.1.1.2.1.	METODA KRYSTALIZACJI	76
3.2.1.1.2.1.1.	BADANIA OPTYMALIZACYJNE	76
3.2.1.1.2.2.	METODA SONIKACYJNA	79
3.2.1.1.2.2.1.	BADANIA OPTYMALIZACYJNE	79
3.2.1.1.3.	WYNIKI BADAŃ ROZPUSZCZALNOŚCI KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH W WODZIE I MIESZANYCH WODNO-ALKOHOLOWYCH UKŁADACH AA^{P} -iPrOH-H ₂ O	81
3.2.1.1.3.1.	WYNIKI BADAŃ ROZPUSZCZALNOŚCI KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH W WODZIE	81
3.2.1.1.3.2.	WYNIKI BADAŃ ROZPUSZCZALNOŚCI KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH W MIESZANYCH WODNO-ALKOHOLOWYCH UKŁADACH AA^{P} -iPrOH-H ₂ O	82
3.2.1.1.4.	DYSKUSJA WYNIKÓW I WNIOSKI	85
3.2.2.	WIDMA ABSORPCYJNE AMINOKWASÓW	89
3.2.2.1.	SPEKTROSKOPIA UV I IR	89
3.2.2.2.	SPEKTROSKOPIA NMR	89
3.2.2.2.1.	SPEKTROSKOPIA ^{31}P -NMR	89
3.2.2.2.2.	SPEKTROSKOPIA ^1H -NMR	97
3.2.2.2.3.	SPEKTROSKOPIA ^{13}C -NMR	100

3.2.3.	BADANIA TERMOGRAWIMETRYCZNE KWASÓW AMINOFOSFONOWYCH	101
3.2.4.	PIROLIZA KWASÓW AMINOFOSFONOWYCH	110
3.2.4.1.	BADANIA NAD PIROLIZĄ KWASÓW AMINOFOSFONOWYCH	118
3.2.4.1.1.	BADANIA NAD WPŁYWEM WARUNKÓW TEMPERATUROWYCH NA PRZEBIEG PIROLIZY	118
3.2.4.1.1.1.	WYNIKI BADAŃ NAD WPŁYWEM TEMPERATURY NA PRZEBIEG TERMICZNEJ DEKOMPOZYCJI <i>p</i> -MePGly ^P	118
3.2.4.1.2.	BADANIA NAD WPŁYWEM CZASU PIROLIZY NA PRZEBIEG ROZKŁADU	119
3.2.4.1.3.	BADANIA NAD ODTWARZALNOŚCIĄ TERMOLIZY	120
3.2.4.2.	BADANIA NAD PIROLIZĄ KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH	120
3.2.4.2.1.	WPŁYW ODDALENIA	120
3.2.4.2.2.	WPŁYW R	121
3.2.4.2.3.	WPŁYW RZĘDOWOŚCI GRUPY AMINOWEJ	122
3.2.4.2.4.	WPŁYW RZĘDOWOŚCI WĘGLA C α	123
3.2.4.3.	BADANIA NAD PIROLIZĄ KWASÓW AMINOALKILOARYLOFOSFONOWYCH	124
3.2.4.3.1.	POCHODNE ARYLOWE Gly ^P (ArGly ^P)	124
3.2.4.3.1.1.	BADANIA NAD PIROLIZĄ POCHODNYCH Pgly ^P	125
3.2.4.3.1.2.	BADANIA NAD PIROLIZĄ POCHODNYCH NphGly ^P	127
3.2.4.3.2.	BADANIA NAD PIROLIZĄ Phe ^P	128
3.2.4.4.	BADANIA NAD PIROLIZĄ INNYCH KWASÓW FOSFONOWYCH	129
3.3.	WŁAŚCIWOŚCI CHEMICZNE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	130
3.3.1.	STABILNOŚĆ AA ^P W ROZTWORACH ZASAD I KWASÓW	130
3.3.1.1.	BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH W ROZTWORACH ZASAD I KWASÓW	132
3.3.1.1.1.	BADANIA STABILNOŚCI AA ^P W ROZTWORACH KWASÓW	133
3.3.1.1.2.	BADANIA STABILNOŚCI AA ^P W ROZTWORACH ZASAD	141
3.3.1.2.	BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-(<i>N</i> -ALKILOAMINO)ALKILO- FOSFONOWYCH W ROZTWORACH KWASÓW I ZASAD	145

3.3.1.2.1.	BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-(N-ALKILOAMINO)ALKILO-FOSFONOWYCH W ROZTWORACH KWASÓW	145
3.3.1.2.2.	BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-(N-ALKILOAMINO)ALKILO-FOSFONOWYCH W ROZTWORACH ZASAD	158
3.3.1.3.	BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-AMINOFOSFONOWYCH W ROZTWORACH KWASÓW I ZASAD - WNIOSKI	170
3.3.1.3.1.	STABILNOŚĆ KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH	170
3.3.1.3.2.	STABILNOŚĆ KWASÓW 1-(N-ALKILOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH I 1-(N,N-DIALKILOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH	170
3.3.2.	REAKCJA OKSYDACYJNEJ DEAMINACJI AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	171
3.3.2.1.	REAKCJA DEZAMINACJI/DEFOSFONYLACJI AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	171
3.3.2.2.	REAKCJE AA ^P Z NADTLENKIEM WODORU	174
3.4.	BADANIA BIOLOGICZNE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	187
3.4.1.	AKTYWNOŚĆ BAKTERIOBÓJCZA – POJĘCIA PODSTAWOWE	187
3.4.1.1.	METODY OKREŚLANIA AKTYWNOŚCI BAKTERIOBÓJCZEJ	190
3.4.2.	BADANIA BIOLOGICZNE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	194
3.4.3.	BADANIA WŁASNE NAD BAKTERIOBÓJCZYMI WŁASNOŚCIAMI AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	196
4.	CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA	201
4.1.	BADANIA SYNTETYCZNE	201
4.1.1.	ROZTWORY I REAGENTY	201
4.1.2.	PRACE ZWIĄZANE Z SYNTEZĄ/RESYNTEZĄ MODELOWYCH KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH	204
4.1.2.1.	SYNTEZA KWASÓW AMINOARALKILOFOSFONOWYCH WG METODY TIOUREIDOALKANO-FOSFONIANOWEJ	204
4.1.2.1.1.	SYNTEZA N-FENYLOTIOMOCZNIKA	206
4.1.2.2.	SYNTEZA KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH METODĄ PIKLA-OLEKSYSZYNA	209
4.1.2.2.1.	SYNTEZA KWASU 1-AMINOMETYLOFOSFONOWEGO	209

4.1.2.2.1.1.	SYNTEZA <i>N</i> -(HYDROKSYMETYLO)BENZAMIDU	210
4.1.2.2.2.	SYNTEZA KWASU 1-AMINO-1-METYLOETANOFOSFONOWEGO	210
4.1.2.3.	SYNTEZA KWASÓW 1-(<i>N</i> -ALKILOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH (<i>R-AA</i> ^P)	212
4.1.2.4.	SYNTEZA KWASÓW 1-(<i>N,N</i> -DIMETYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH (<i>Me</i> ₂ - <i>AA</i> ^P)	214
4.1.3.	SYNTEZA POCHODNYCH <i>N</i> -ACYLOWYCH KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH	215
4.1.3.1.	ACYLOWANIE KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH BEZWODNIKAMI KWASOWYMI	215
4.1.3.2.	SYNTEZA KWASÓW 1-(<i>N</i> -CHLOROACETYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH (<i>MCA-AA</i> ^P) ORAZ 1- <i>N</i> -(GLICYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH (<i>Gly-AA</i> ^P , <i>MeGly-AA</i> ^P I <i>Me</i> ₂ <i>Gly-AA</i> ^P)	217
4.1.3.2.1.	SYNTEZA KWASÓW 1-(<i>N</i> -CHLOROACETYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH (<i>MCA-AA</i> ^P)	217
4.1.3.2.2.	SYNTEZA KWASÓW 1- <i>N</i> -(GLICYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH (<i>Gly-AA</i> ^P)	218
4.1.3.2.3.	SYNTEZA KWASÓW 1- <i>N</i> -(METYLOGLYCYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH (<i>MeGly-AA</i> ^P)	218
4.1.3.2.4.	SYNTEZA KWASÓW 1- <i>N</i> -(METYLOGLYCYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH (<i>MeGly-AA</i> ^P)	219
4.2.	FIZYCZNE WŁAŚCIWOŚCI AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	220
4.2.1.	WYZNACZANIE ROZPUSZCZALNOŚCI AMINOKWASÓW	220
4.2.1.1.	METODA MIARECZKOWANIA pH-METRYCZNEGO	221
4.2.1.2.	METODA ³¹ P-NMR-OWA	222
4.2.1.2.1.	BADANIA NAD KORELACJĄ POWIERZCHNI SYGNAŁÓW ³¹ P-NMR PAR STANDARD- <i>AA</i> ^P	222
4.2.1.2.1.1.	BADANIA NAD KORELACJĄ POWIERZCHNI SYGNAŁÓW ³¹ P-NMR PAR MPA- <i>AA</i> ^P	222

4.2.1.2.1.2.	BADANIA NAD KORELACJĄ POWIERZCHNI SYGNAŁÓW ^{31}P -NMR PAR $\text{K}_\text{N}\text{H}_3\text{-NPO}_4\text{-AA}^\text{P}$	224
4.2.1.2.2.	WYZNACZANIE WSPÓŁCZYNNIKÓW KORELACYJNYCH ^{31}P -NMR PAR MPA-AA ^P	225
4.2.1.2.3.	WYZNACZANIE WSPÓŁCZYNNIKÓW KORELACYJNYCH ^{31}P -NMR PAR $\text{K}_\text{N}\text{H}_3\text{-NPO}_4\text{-AA}^\text{P}$	231
4.2.1.3.	BADANIA NAD WYZNACZANIEM ROZPUSZCZALNOŚCI AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	235
4.2.1.3.1.	METODA KRYSTALIZACJI	235
4.2.1.3.1.1.	BADANIA OPTYMALIZACYJNE	235
4.2.1.3.1.2.	WYZNACZANIE ROZPUSZCZALNOŚCI AA ^P METODĄ KRYSTALIZACYJNĄ	237
4.2.1.3.1.3.	WYZNACZANIE ROZPUSZCZALNOŚCI II- I III-RZĘDOWYCH AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	238
4.2.1.3.2.	METODA SONIKACYJNA	239
4.2.1.3.2.1.	BADANIA OPTYMALIZACYJNE	239
4.2.1.3.2.1.1.	WPŁYW CZASU SONIKACJI SUSPENSJI NA ROZPUSZCZALNOŚĆ AA ^P	239
4.2.1.3.2.1.2.	WPŁYW ETAPU MIESZANIA SUSPENSJI PO SONIKACJI NA ROZPUSZCZALNOŚĆ AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	239
4.2.1.3.2.2.	WYZNACZANIE ROZPUSZCZALNOŚCI AMINOKWASÓW METODĄ SONIKACYJNĄ	240
4.2.1.4.	WYZNACZANIE ROZPUSZCZALNOŚCI AMINOKWASÓW AA ^P W UKŁADACH AA ^P -H ₂ O-ROH	242
4.2.1.5.	OZNACZANIE STĘŻEŃ KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH W UKŁADACH AA ^P -H ₂ O-iPrOH	243
4.2.2.	WIDMA ABSORPCYJNE KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH	246
4.2.2.1.	SPEKTROSKOPIA UV I IR	246
4.2.2.1.1.	ANALIZA W UV	246
4.2.2.1.2.	ANALIZA W PODCZERWIENI	247
4.2.2.2.	SPEKTROSKOPIA NMR	249
4.2.2.2.1.	SPEKTROSKOPIA ^{31}P -NMR	249
4.2.2.2.2.	SPEKTROSKOPIA ^1H -NMR I ^{13}C -NMR	250

4.2.3.	BADANIA TERMOGRAWIMETRYCZNE KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH	252
4.2.4.	BADANIA NAD PIROLIZĄ KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH	254
4.2.4.1.	METODA BADAŃ	254
4.2.4.2.	BADANIA NAD PIROLIZĄ KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH	259
4.2.4.3.	BADANIA NAD PIROLIZĄ KWASÓW AMINOARALKILOFOSFONOWYCH	269
4.2.4.4.	BADANIA NAD PIROLIZĄ INNYCH KWASÓW FOSFONOWYCH	283
4.3.	CHEMICZNE WŁAŚCIWOŚCI AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	284
4.3.1.	BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH W ROZTWORACH ZASAD I KWASÓW	284
4.3.1.1.	BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH (AA ^P) W ROZTWORACH ZASAD I KWASÓW	285
4.3.1.1.1	BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH (AA ^P) W ROZTWORACH ZASAD	286
4.3.1.1.2.	BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH (AA ^P) W ROZTWORACH KWASÓW	287
4.3.1.3.	BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-(N-ALKILOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH (R-AA ^P , R ₂ -AA ^P) W ROZTWORACH KWASÓW I ZASAD	288
4.3.2.	REAKCJE KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH Z H ₂ O ₂	290
4.3.2.1.	STABILNOŚĆ H ₂ O ₂ W WARUNKACH POMIARU	291
4.4.	BADANIA BIOLOGICZNE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH	292
4.4.1.	METODA DYFUZYJNO-KRĄŻKOWA (KIRBY-BAUERA)	292
4.4.2.	METODA ROZCIEŃCZENIOWA W POŻYWCZE PŁYNNEJ - METODA NEFELOMETRYCZNA	294
5.	PODSUMOWANIE	298
6.	LITERATURA	300
6.1.	LITERATURA NUMERYCZNIE	300
6.2.	LITERATURA ALFABETYCZNIE	319

1. WPROWADZENIE

Kwasy aminofosfonowe należą do obszernej klasy związków fosforoorganicznych posiadających grupę aminową oraz fosfonową. Często termin *kwasy aminofosfonowe* jest rozszerzany na związki z grupami fosfinowymi i/lub zawierającymi azotowe analogi funkcji aminowej (np. hydrazyny, hydroksyloaminy, etc.) [Kuhkar&Hudson, 2000] ^[1].

Główne typy związków spełniające kryterium nazwy *kwasy aminofosfonowe* i ich pochodnych zestawiono w Tabeli 1-1.

Tabela 1-1. Kwasy aminofosfonowe			
$\text{H}_2\text{N}-\text{R}-\text{P}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O}-\text{H} \\ \text{O}-\text{H} \end{matrix}$	$\text{H}_2\text{N}-\text{R}-\text{P}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O}-\text{H} \\ \text{R}^1 \end{matrix}$	$\text{H}_2\text{N}-\text{R}-\text{P}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}^2 \\ \text{R}^1 \end{matrix}$	
Kwas aminoalkilofosfonowy	Kwas aminoalkilofosfinowy	Tlenek aminoalkilofosfiny	
$\text{H}_2\text{N}-\left[\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \end{matrix}\right]_n$			
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \\ \text{H}_2 \end{matrix}$	$\text{H}_2\text{N}-\left[\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \end{matrix}\right]_2$	$\text{H}_2\text{N}-\left[\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \end{matrix}\right]_3$	$\text{H}_2\text{N}-\left[\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \end{matrix}\right]_4$
Gly ^P [szereg α-AA ^P]	β-Ala ^P	γ-Hala ^P	δ-Nval ^P
Kwasy ω-aminoalkilofosfonowe			
Kwasy N-alkilo-ω-aminoalkilofosfonowe (R-AA ^P)			
$\text{R}-\text{N}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \\ \text{H} \\ \text{H}_2 \end{matrix}$	$\text{R}_2\text{N}-\left[\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \end{matrix}\right]_n$	$\text{R}_3\text{N}^+-\left[\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \end{matrix}\right]_n$	$\text{NH}_{(3-n)}-\left[\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \end{matrix}\right]_n$
R-AA ^P	R ₂ -AA ^P	R ₃ -AA ^P	
Pochodne kwasów 1-aminoalkilofosfonowych (AA ^P)			
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \\ \text{H} \\ \text{R} \end{matrix}$	$\text{H}_2\text{N}-\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \\ \text{H} \\ \text{R} \\ \text{O}-\text{R}^1 \end{matrix}$	$\text{H}_2\text{N}-\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \\ \text{H} \\ \text{R} \\ \text{O}-\text{R}^1 \\ \text{O}-\text{R}^2 \end{matrix}$	$\text{Y}-\text{N}-\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \\ \text{H} \\ \text{R} \end{matrix}$
AA ^P	AA ^P (OR ¹)	AA ^P (OR ¹)(OR ²)	Y-AA ^P
Kwasy ω-hydrazyno-, hydroksyloamino- i fosfonio-alkilofosfonowe			
$\text{H}_2\text{N}-\text{N}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \\ \text{H} \\ \text{H}_2 \end{matrix}$	$\text{HO}-\text{N}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \\ \text{H} \\ \text{H}_2 \end{matrix}$	$\text{H}_2\text{N}-\text{O}-\left[\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \end{matrix}\right]_n$	$\text{R}_3\text{P}^+-\left[\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}(\text{OH})_2 \end{matrix}\right]_n$

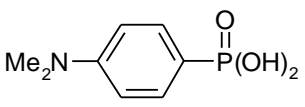
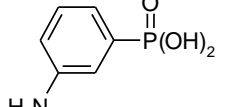
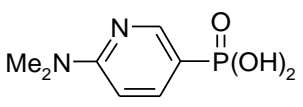
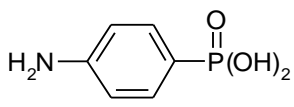
Gwałtowny wzrost zainteresowania związkami klasy P-C-N (szczególnie w ostatnich dekadach) jest odzwierciedlony przez ponad 5000 prac do roku 1987 [Soroka, 1987^[2]; Ryglewski&Kafarski, 1996^[3]], i ponad 6000 prac dotyczących amino-fosfonianów do roku 2001 [Kafarski&Lejczak, 2001]^[4], a także liczbą monografii i prac przeglądowych [Kabachnik i

w-cy, 1968^[5]; 1974^[6]; Petrov i w-cy, 1974^[7]; Praier&Rachoń, 1975^[8]; Redmore, 1976^[9]; Kukhar&Solodenko, 1987^[10]; Engel, 1988^[11]; Kudzin 1996, 2005¹; Kudzin i w-cy 2011¹, 2011²^[12-15]; Uziel&Genet, 1997^[16]; Kukhar&Hudson, 2000^[1]. Waga biologicznej aktywności aminofosfonianów znalazła swoje odbicie w opublikowaniu szeregu monografii [Kukhar&Hudson, 2000^[1]; Hildenbrand i w-cy, 1983^[17]; Collinsova&Jiracek, 2000^[18]; Romanenko&Kukhar, 2006^[19]; Wardle i w-cy, 2007^[20]; Orsini i w-cy, 2010^[21]], włączając serię przeglądów Wrocławskiej Szkoły Aminokwasów i Peptydów [Kafarski& Mastalerz, 1984^[22]; Kafarski&Lejczak, 1991, 2001, 2009^[4, 23, 24]].

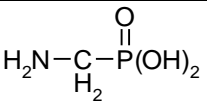
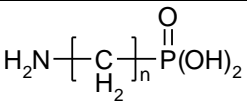
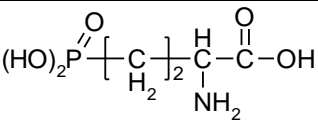
2. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

2.1. KWASY AMINOFOSFONOWE

Chronologicznie pierwszy kwas aminofosfonowy - kwas 4-dimetyloaminofenylofosfonowy (4-Me₂-AP^P) – został opisany przez Michaelis'a i Schenk'a w 1890^[25] a pierwszy kwas aminofosfonowy z pierwszorzędową grupą aminową – kwas aminofenylofosfonowy (3-AP^P) przez Nijk'a w 1922^[26]. Szereg *N,N*-dialkylowych i arylowych pochodnych^[27-30], a także kwas 4-aminofenylofosfonowy (kwas fosfanilowy, 4-AP^P)^[31] otrzymano w kolejnych 2 dekadach (Tab. 2-1.).

Tabela 2-1. Pierwsze kwasy aminofosfonowe - kwasy aminoarylofosfonowe			
			
4-Me ₂ -AP ^P [Michaelis&Schenk, 890] ^[25]	3-AP ^P [Nijk, 1922] ^[26]	2-Me ₂ -AP ^{5-P} [Płażek&Sasyk,1934] ^[29]	4-AP ^P [Bauer, 1941] ^[31]

Chemia kwasów 1-aminoalkilofosfonowych (1-AA^P) – analogów aminokwasów białkowych (1-AA^C) miała swój początek wraz z opracowaniem przez Piki'a w roku 1943^[32] syntezy najniższego homologu tej klasy - kwasu aminometylofosfonowego (Gly^P) (Tab. 2-2.). Bardziej intensywne badania nad tą klasą związków podjęto w okresie powojennym, włączając badania Chavane opublikowane w 1947 r. nad właściwościami fizyko-chemicznymi kwasów ω-aminoalkilofosfonowych (ω-AA^P; n=1-10)^[33-36].

Tabela 2-2. Reprezentatywne kwasy aminoalkilofosfonowe		
		
Gly ^P	ω-AA ^P	Glu ^{v-P}

Interesujące właściwości chelatujące pierwszego fosfonowego kompleksonu - NMPDA^[37], oraz EDTMP – fosfonowego analogu EDTA^[38] stały się impulsem do dalszych badań nad syntezą nowych aminofosfonianowych kompleksonów (Tab. 2-3.).

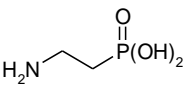
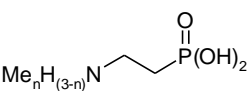
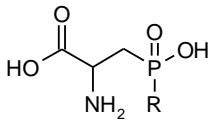
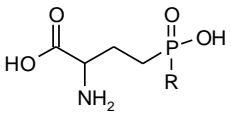
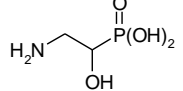
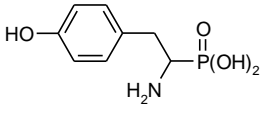
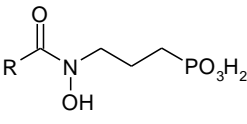
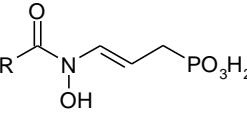
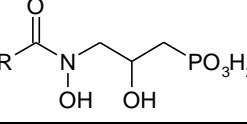
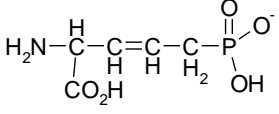
Tabela 2-3. Reprezentatywne kompleksony i ich aminofosfonowe analogi [Kabachnik i w-cy, 1968] ^[6]		
[Struktura / Symbol]		
$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{N}-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \end{array}$ NTA	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{N}-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ NMPDA	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{N}-\text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ NDMPA
$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{N}-\text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ NTMP	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{N}-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ NEPDA	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{N}-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ NMPAPr
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \end{array}$ EDDA	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ EDMF	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ EDDMP
$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ EDDMPDA	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ EDTMPA	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ EDTMP
$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ CHDATP	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{N}-\text{CMe}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{X} \\ \\ \text{N}-\text{CMe}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \end{array}$ PDADIP [X=CH ₂]; OPDADIP [X=O]; SPDADIP [X=S]	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{N}-\text{CMe}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{X} \\ \\ \text{N}-\text{CMe}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \end{array}$ DETADIP [R=H]; DETAPTMP [R=CH ₂ P(O)(OH) ₂]

2.2. WŁAŚCIWOŚCI BIOLOGICZNE KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH

Analogia strukturalna aminokwasów białkowych (1-AA^C) i analogów fosfonowych (1-AA^P) sugeruje potencjalną biologiczną aktywność kwasów aminoalkilofosfonowych i uzasadnia ich występowanie w materii biologicznej.

Badania biochemiczne nad kwasami aminoalkilofosfonowymi zostały zainicjowane przez dwa doniosłe odkrycia: syntezę i badania enzymatyczne fosfonowego analogu kwasu glutaminowego (Glu^{v-P})^[39] oraz izolację z materiału biologicznego kwasu 2-aminoetylofosfonowego (β-Ala^P)^[40] (Tab. 2-2.). Odkrycia te stymulowały kolejne programy naukowe skierowane na eksplorację w dziedzinie biologicznie aktywnych fosfonianów i

wykazały na szerokie rozpowszechnienie kwasów aminofosfonowych w układach biologicznych (bakterie, pierwotniaki, bezkręgowce) [Hildenbrand i w-cy, 1983^[17]; Kafarski&Mastalerz, 1984^[22]] (Tab. 2-4.).

Tabela 2-4. Występujące w naturze kwasy aminofosfonowe [Hildenbrand i w-cy, 1983 ^[17] ; Kafarski&Mastalerz, 1984 ^[22]]			
AA ^P		Pierwsza izolacja	
Struktura	Symbol	Organizm	Literatura
	β-Ala ^P	Ciliated protozoa (Orzęski)	Horiguchi&Kandatsu, 1959, 1962 ^[40, 41]
		Organizmy morskie	Kittredge i w-cy, 1962 ^[42] , Kittredge&Hughes, 1964 ^[43]
		Tkanki ludzkie	Shimizu i w-cy, 1965 ^[44] ; Alhadeff i w-cy, 1970 ^[45] , 1971 ^[46] ; Tan&Tan, 1989 ^[47]
	β-MeAla ^P	Morskie bezkręgowce	Quin&Quin, 2001 ^[48]
	β-MeAla ^P β-Me ₂ Ala ^P β-Me ₃ Ala ^P	Anthopleura xantogrammica (ukwiał)	Kittredge i w-cy, 1967 ^[49]
	Asp ^{β-P} (R=OH)	Zoanthus sociatus (koralowiec)	Kittredge&Hughes, 1964 ^[43]
	Asp ^{β-P(H)} (R=H)	<i>Streptomyces hygrosopicus</i> (bakt. G+)	Tan&Tan, 1989 ^[47] Seto i w-cy, 1983 ^[50]
	Glu ^{-γ-P(Me)}	<i>Streptomyces viridochromegenes</i>	Bayer i w-cy, 1972 ^[51]
	Glu ^{-γ-P(H)}	<i>Streptomyces hygrosopicus</i>	Seto i w-cy, 1983 ^[50, 52]
	Iser ^P	<i>Acanthamoeba castellani</i> (ameba)	Korn i w-cy, 1973 ^[53]
	Tyr ^P	<i>Actinomycetes strain</i> ; <i>Actinomedura spiculosospora nov.</i> (bakt.G+)	Kasa i w-cy, 1982 ^[54]
	FR-900098, (R=Me)	<i>Streptomyces rubelloinurinus sp. nov.</i>	Okuhara i w-cy, 1980 ^[155]
	FR-31564 (R=H)	<i>Streptomyces lavendulae</i>	
	FR-32863 (R=H),	<i>Streptomyces lavendulae</i>	Okuhara i w-cy, 1980 ^[256]
	FR-33289 (Me)	<i>Streptomyces rubellomurinus subsp. indigoferus.</i>	Okuhara i w-cy, 1980 ^[56]
	L-APP	<i>Rhizokticyny</i> (A, B, D)	Fredenhagen i w-cy, 1995 ^[57]

Eksperymenty biochemiczne wykazały, że kwasy aminofosfonowe są zdolne do tworzenia stabilnych zasad Schiff'a z pirydoksałem i co za tym idzie do uczestniczenia w warunkach fizjologicznych w reakcjach transaminacji [1,23,58]. Analogia strukturalna aminokwasów fosfonowych i białkowych implikuje również mimetyczne zachowanie AA^P wyrażane np. przez inhibicję szeregu enzymatycznych reakcji, charakterystycznych dla naturalnych aminokwasów [22].

Wg. Lejczak, już w połowie lat 80-tych literatura dot. biologicznej aktywności aminofosfonianów przekraczała 1000 pozycji. W badaniach wykazano między innymi, inhibicyjne działanie kwasów aminofosfonowych i ich pochodnych dla ponad 60 enzymów, wszystkich głównych klas enzymatycznych [59].

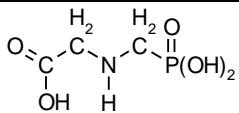
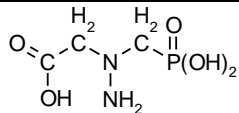
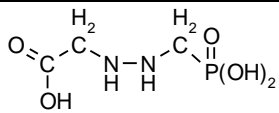
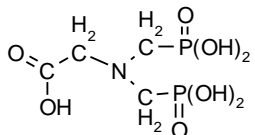
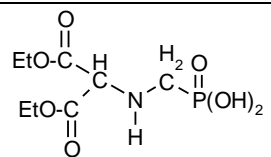
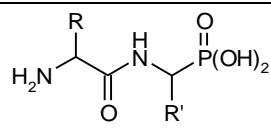
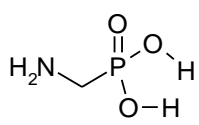
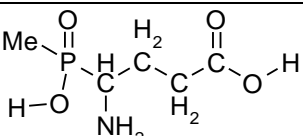
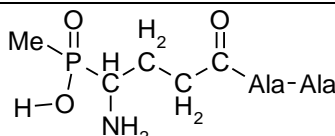
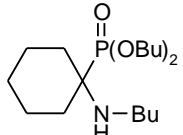
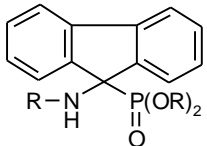
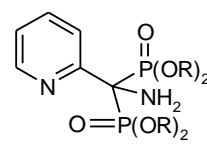
Reprezentatywne przykłady 1-aminoalkilofosfonianowych inhibitorów enzymatycznych zestawiono w Tabeli 2-5.

Tabela 2-5. Kwasy 1-aminoalkilofosfonowe – inhibitory enzymów		
Inhibitor	Enzym	Autorzy/Literatura
Gly ^P	Serine transhydroksymetylotransferaza (EC 2.1.2.1.)	Kafarski&Mastalerz, 1984 ^[22]
	Alkaline phosphataza (EC 3.1.3.1)	Landt i w-cy, 1978 ^[60]
	L-Alaniny racemaza (EC 5.1.1.1)	Neuzil&Cassaigne, 1980 ^[61]
	D-Ala-D-Ala syntetaza (EC 6.3.2.4)	Kafarski&Mastalerz, 1984 ^[22]
Ala ^P	Alaniny dehydrogenaza (EC 1.4.1.1)	Kafarski&Mastalerz, 1984 ^[22]
	D-Aminokwasowa transferaza (EC 2.6.1.21)	Soper&Manning, 1981 ^[62]
	L-Alaniny racemaza (EC 5.1.1.1)	Neuzil&Cassaigne, 1980 ^[61] , Neuzil i w-cy, 1975 ^[63] , Lambert&Neuhaus, 1972 ^[64] , Adams i w-cy, 1974 ^[65] , Allen i w-cy, 1978 ^[66] , Atherton i w-cy, 1979 ^[67] , Badet&Walsch, 1985 ^[68] , Coppie i w-cy, 1988 ^[69]
D-Ala ^P	D-Ala-D-Ala syntetaza (EC 6.3.2.4)	Neuzil i w-cy, 1975 ^[63] , Atherton i w-cy, 1979 ^[67]
L-Ala ^P	D-Ala-D-Ala syntetaza (EC 6.3.2.4)	Neuzil i w-cy, 1975 ^[63]
TFA-Ala ^P	Alkaliczna fosfataza (EC 3.1.3.1)	Liljia i w-cy, 1975 ^[70]
Val ^P	Valyl-t-RNA syntetaza (EC 6.1.1.9)	Neale, 1970 ^[71] ;
		Anderson&Fowden, 1970 ^[72]
Leu ^P	Leucyl-t-RNA syntetaza (EC 6.1.1.4)	Neale, 1970 ^[71]
Ileu ^P	Leucyl-t-RNA syntetaza (EC 6.1.1.4)	Neale, 1970 ^[71] , Strater&Lipscomb, 1995 ^[73]
Asp ^{β-P}	Asparaginy syntetaza (EC 6.3.1.1)	Kafarski&Mastalerz, 1984 ^[22]
	Aspartaza (EC 4.3.1.1)	Kafarski&Mastalerz, 1984 ^[22]
Asp ^{α-P}	Asparaginy syntetaza (EC 6.3.1.1)	Kafarski&Mastalerz, 1984 ^[22]
Glu ^{γ-P}	Glutaminy syntetaza (EC 6.3.1.2)	Kafarski&Mastalerz, 1984 ^[22]
	γ-Glutamylcysteiny syntetaza (EC 6.3.2.2)	Sekura&Meister, 1977 ^[74]
Glu ^{α-P(Me)}	Glutaminy syntetaza (EC 6.3.1.2)	Logush i w-cy, 1986 ^[75]
Arg ^P	Arginaza (EC 3.5.3.1)	Kafarski&Mastalerz, 1984 ^[22]
	Argininy transamidaza (EC 3.5.3.6)	Lacoste i w-cy, 1975/1972 ^[76]
Pro ^P	<i>Angiotensin-converting enzyme</i> [ACE]	Petrillo&Spitzmiller, 1979 ^[77]
Phe ^P	Pirogronianowa kinaza (EC 2.7.1.40)	Izbicka-Dimitrijevic i w-cy, 1981 ^[78]
	Fenylalanyl-t-RNA syntetaza (EC 6.1.1.2)	Anderson&Fowden, 1970 ^[72]
	Fenylalaniny ammonialyaza (EC 4.1.3.5)	Janas i w-cy, 1985 ^[79] , Laber i w-cy, 1986 ^[80]
Tyr ^P	Tyrozynaza (EC 1.10.3.1)	Cassaigne i w-cy, 1967 ^[81] , Lejczak i w-cy, 1987 ^[82]
	Tyrozyny aminotransferaza (EC 2.6.1.5)	Iron i w-cy, 1981 ^[83]
	Tyrosyl-t-RNA syntetaza (EC 6.1.1.1)	Iron i w-cy, 1981 ^[83] , Anderson&Fowden, 1970 ^[72]
Glu ^{α-P(Me)} – Fosfinitricyna („Phosphinitricin”).		

Potencjalne biochemiczne właściwości AA^P stanowiły silny bodziec dla programów badawczych ukierunkowanych na metabolizm fosfonowych pochodnych, zwłaszcza związków klasy P-C-N [11,84]. Wynikiem powyższych badań były dwa spektakularne wydarzenia: odkrycie silnej aktywności antybakteryjnej mieszanych fosfonopeptydów (np. Ala-Ala^P) [66,67], oraz odkrycie herbicydalnych aminofosfonianów, w tym herbicydu fosfonometylenoglicyny; PMG [85].

Odkrycia z zakresu biochemii spowodowały szybki rozwój na polu syntezy fosfonopeptydów [26, 86-89] i herbicydów aminofosfonowych [23, 89] (Tab. 2-5.). Obecnie liczba opisanych fosfonopeptydów przekracza 200.

Reprezentatywne herbicydy aminofosfonowe są przedstawione w Tabeli 2-6.

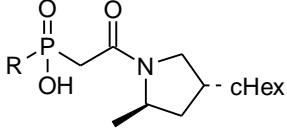
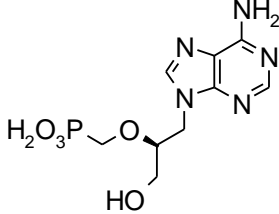
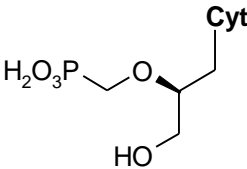
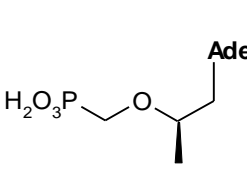
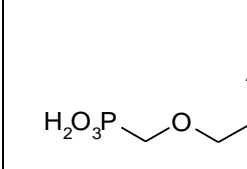
Tabela 2-6. Reprezentatywne aminofosfonianowe herbicydy [Sikorski&Logush, 1988] [84]		
[Struktura / Symbol]		
 PMG	 APMG	 HPMG
 NDMPA	 EMAMP	 AC-AA ^P
 AMP	 BASTA	 BIALAPHOS
 TRAKEPHON	 MAP	 PrAMDP

Najważniejsze wydarzenia związane z badaniami nad kwasami aminofosfonowymi:

- odkrycie pierwszego aminofosfonianowego inhibitora enzymu - syntetazy glutaminy [Mastalerz, 1959]^[39];
- odkrycie naturalnego aminokwasu β-Ala^P (pierwotniaki zwacza owiec) [Horiguchi & Kandatsu, 1959]^[40];

- odkrycie herbicydu glifosatu [Franz i w-cy 1974]^[85];
- odkrycie przeciwbakteryjnej fosmidomycyny [Okuhara i w-cy, 1980]^[55,56] i alafosfaliny [Allen i w-cy, 1978]^[66];
- odkrycie przeciwnadciśnieniowego fozynoprylu [Karnewsky i w-cy, 1988]^[90];
- odkrycie neuroaktywnych aminofosfonianów [Tinge-Moreaud, 1978]^[91];
- bisfosfoniany o aktywności antiosteoporetycznej [Russell, 2006]^[92];
- odkrycie przeciwwirusowych fosfonianowych nukleozydów acyklicznych (ACPNs) [de Clercq i w-cy, 1986; de Clercq, 2011]^[93, 94].

Główne odkrycia w zakresie badań biologicznych nad właściwościami aminofosfonianów, które były grupą związków niemal nieznaną do roku 1959 [Kafarski&Lejczak, 2009]^[24], prezentuje Tabela 2-7.

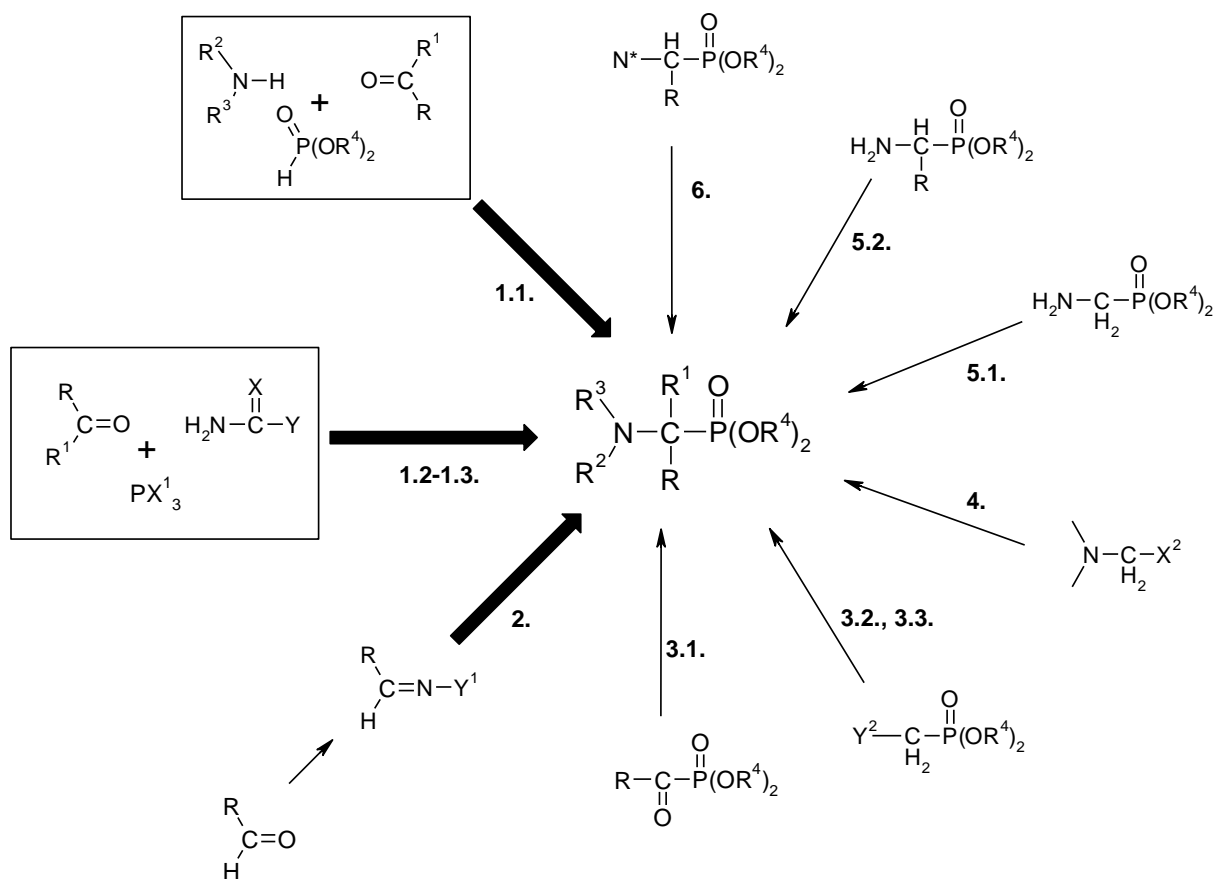
Tabela 2-7. Główne wydarzenia w biochemii aminofosfonianów			
$\text{H}_2\text{N}-\left[\text{C}\begin{array}{c} \\ \text{H}_2 \end{array}\right]_2-\text{PO}_3\text{H}_2$	$\text{H}_2\text{O}_3\text{P}-\left[\text{C}\begin{array}{c} \\ \text{H}_2 \end{array}\right]_2-\overset{\text{H}}{\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}}-\text{CO}_2\text{H}$	$\text{HO}_2\text{C}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\underset{\text{H}}{\text{N}}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Me}}{\text{C}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\underset{\text{H}}{\text{N}}-\underset{\text{Me}}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$
β -Ala ^P <i>pierwszy odkryty AA^P</i> <i>wyst. w nature</i> [Horiguchi&Kandatsu, 1959]	Glu ^{VP} <i>inhibicja enzymów</i> [Mastalerz, 1959]	Glyphosate <i>pierwszy globalny herbicyd klasy PCN</i> [Franz, 1974]	Alafosfalina <i>antybiotyk</i> [Allen i w-cy, 1978]
$\text{H}_2\text{O}_3\text{P}-\left[\text{C}\begin{array}{c} \\ \text{H}_2 \end{array}\right]_n-\overset{\text{H}}{\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}}-\text{CO}_2\text{H}$ Neuroaktywne AA ^P	$\text{H}_2\text{N}-\left[\text{C}\begin{array}{c} \\ \text{H}_2 \end{array}\right]_n-\overset{\text{PO}_3\text{H}_2}{\underset{\text{PO}_3\text{H}_2}{\text{C}}}-\text{OH}$ BNPs Antyosteoporetyczne [Russell, 2006]	$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\underset{\text{OH}}{\text{N}}-\left[\text{C}\begin{array}{c} \\ \text{H}_2 \end{array}\right]_3-\text{PO}_3\text{H}_2$ Fosmidomycyna [Okuhara i w-cy, 1980] ^[55,56]	 Fosinopril [R=Ph-(CH ₂) ₄ -] [Karnewsky i w-cy, 1988]
			
[(S)-HPMPA <i>pierwszy antywirusowy lek typu ACPN</i> [De Clercq i w-cy, 1986]	HPMPC; Cidofovir	PMPA; Tenofovir	Adefovir; PMEA
Handlowe leki antywirusowe			

Znaczenie związków klasy PCN obrazuje wielokierunkowość prowadzonych nad nimi badań dotyczących: metod syntezy kwasów aminofosfinowych (AA^{PH})^[95] i aminofosfonowych (AA^P)^[1,12-15,96-100], aktywności optycznej AA^P i ich syntezy asymetrycznej^[10,16,101-103], właściwości fizycznych^[104-108], analizy^[109-117], badań strukturalnych^[118], właściwości kompleksujących^[5,110,119-127], występowania w materii żywej^[17,22,109,128-130], właściwości biologicznych^[4,11,22,59,89,131-145], farmakologicznych^[4,146,7]; agro-chemicznych^[13,148-156], aplikacji przemysłowych^[5,7,157-159], katalizatorów w syntezie organicznej^[160, 161].

2.3. BADANIA NAD SYNTEZĄ KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH

Właściwości kwasów aminofosfonowych i ich pochodnych oraz potencjalne perspektywy ich wykorzystania w wielu dziedzinach wywołały rosnące zapotrzebowanie na wydajne metody syntezy tej klasy związków^[1,5-15,96,162-163].

Liczne metody syntezy kwasów aminoalkilofosfonowych można klasyfikować wg prezentowanego poniżej systemu (Sch. 2-1.).



R, R¹ = H, alkil, aralkil, aryl; R², R³ = H, H; H, alkil; H, aralkil; H, aryl; cykloalkil; alkil, aryl;
 R⁴ = alkil (Me, Et, iPr), aryl (Ph), aralkil (Bn) i H; X = O, S; X¹ = Cl, HO, RO, ArO; X² = Cl, Br, RO;
 Y = BnO, PhNH; Y¹ = R, NH₂, RNH, R₂N, HO; Y² = Cl, HO (3.2.); Me, Ph, RO-C(O)-(3.3.);
 N* = N₃, NO₂, H₂N-NH

Schemat 2-1. Klasyfikacja metod syntezy kwasów 1-aminoalkilofosfonowych

Metody syntezy kwasów 1-aminofosfonowych można podzielić na następujące kategorie:

1. Metody przebiegające z równoczesnym tworzeniem systemu wiązań P-C-N:

1.1. Metoda Kabachnika-Fieldsa;

1.2. Amidoalkilowanie estrów kwasu fosforowego(III);

1.3. Amidoalkilowanie chlorków kwasu fosforowego(III);

2. Metody addycji do wiązań wielokrotnych związków z funkcją P-H [P-H → P-C-N]

(hydrofosfonylowanie i/lub hydrofosfynylowanie imin, triazyn, hydrazynów, azyn, oksymów, nitronów i nitryli).

3. Metody polegające na α-C – aminowaniu fosfonianów [P + N → P-C-N]:

3.1. Aminowanie redukcyjne 1-ketofosfonianów;

3.2. Nukleofilowe aminowanie alkilofosfonianów;

3.3. Elektrofilowe aminowanie alkilofosfonianów.

4. Metody oparte na nukleofilowym podstawieniu udziałem nukleofila fosforoorganicznego
[P + X-C-N → P-C-N + X] (reakcja Arbuzowa, metody pochodne).

5. Metody wykorzystujące modyfikacje szkieletu węglowego aminofosfonianów

[P-C(R)-N → P-C(R*)-N]:

5.1. Nukleofilowe lub elektrofilowe alkilowanie pochodnych fosfonglicyny;

5.2. Modyfikacje łańcucha bocznego aminoalkilofosfonianu.

6. Metody wykorzystujące modyfikacje funkcji fosforogennej związków typu P-C-N

[P-C-N → P*-C-N]

(utlenianie kwasów 1-aminoalkilofosfinowych do analogów 1-aminoalkilo-fosfonowych).

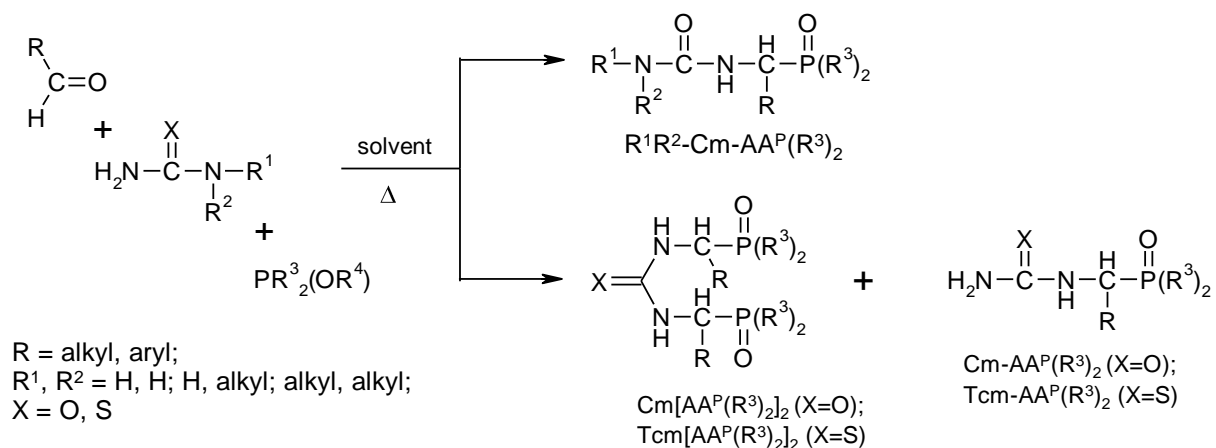
7. Metody wykorzystujące modyfikacje funkcji azotogennej związków typu P-C-N

[PCN → PCN*] (redukcja 1-azydoalkilofosfonianów i 1-nitroalkilofosfonianów, redukcja oksymów, hydrazonów i azyn 1-ketofosfonianów, itp.).

8. Inne metody.

Główne wydarzenia w chemii fosfonowych analogów aminokwasów białkowych (kwasów 1-aminoalkilofosfonowych z pierwszorzędową grupą aminową: R²=R³=H; Sch. 2-2.) miały miejsce na przełomie lat 1970/1980 i związane były z adaptacją dwóch reakcji - reakcji amidoalkilowania Engelmana-Pikla^[32] oraz reakcji kondensacji Biruma^[164].

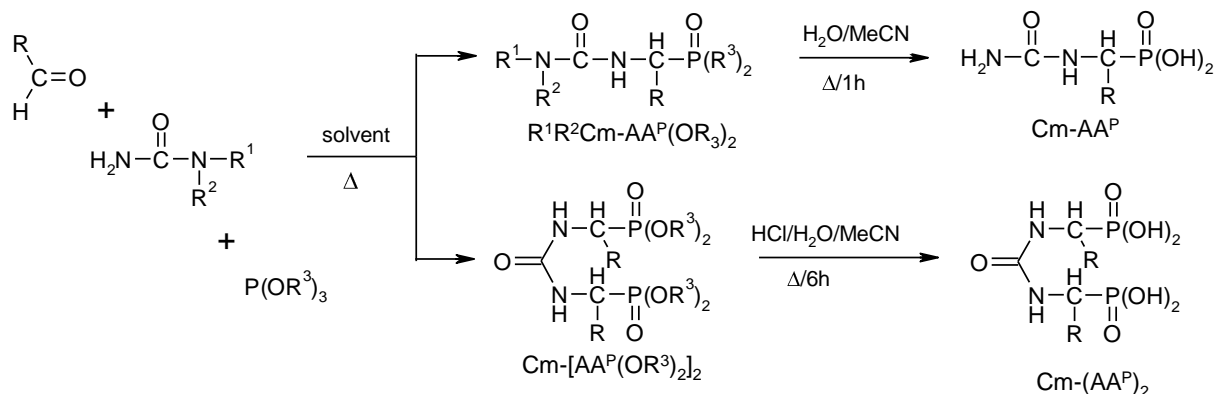
Przełomowym osiągnięciem w opisywanej dziedzinie była kondensacja Biruma^[164], która otwiera łatwy dostęp do związków fosfonowych klasy N-C-P - synteza ureidoalkanofosfonianów [CmAA^P(OR)₂] i urylenebisalkanofosfonianów ([Cm[AA^P(OR)₂]₂).



Schemat 2-2. Kondensacje Biruma

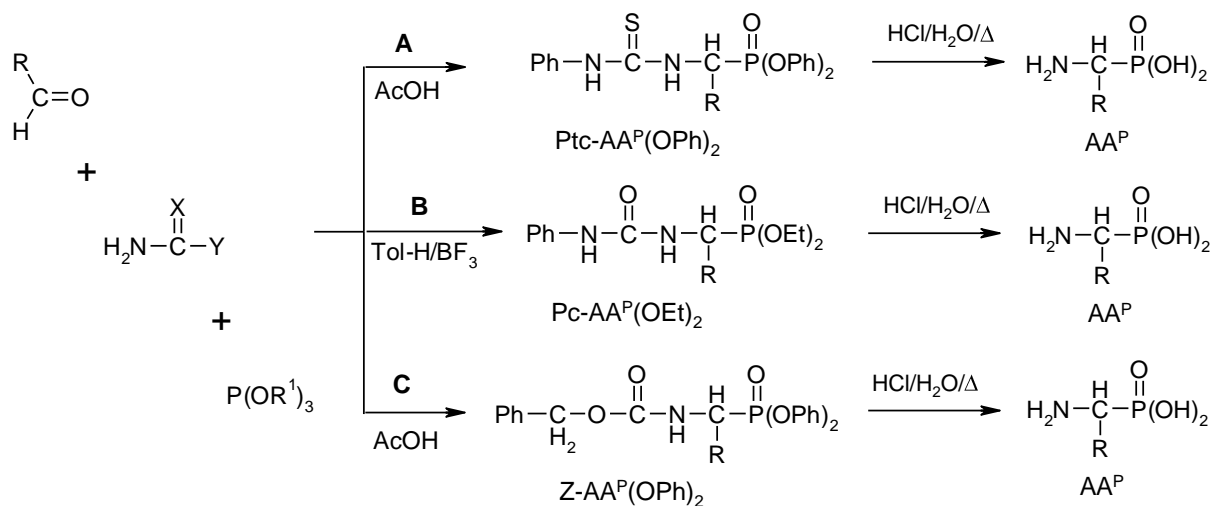
Zakres pochodnych syntetyzowanych wg. procedury Biruma został rozszerzony do innych amidowych komponentów, w tym sulfonamidów i karbaminianów^[165-170].

Produkty kondensacji Birum'a zawierają charakterystyczny dla 1-AA^P układ wiązań P-C-N. Próby degradacji, przeprowadzone przez Biruma dla związków Cm-AA^P(OPh)₂ i/lub Cm-[AA^P(OPh)₂]₂, wykazały stabilność ugrupowania amidowego w zastosowanych warunkach degradacji (Sch. 2-3.).



Schemat 2-3. Degradacje produktów kondensacji Biruma

Modyfikacje reakcji Biruma w których jako substraty amidowe wykorzystano zamiast mocznika (tiomocznika) *N*-fenylotiomocznik (A: metoda PTC aminofosfonianowa), *N*-fenylomocznik (B: metoda PC aminofosfonianowa) i/lub *O*-benzylokarbaminiany (C: Z-aminofosfonianowa metoda Birum'a-Oleksyszyn'a) (Sch. 2-4.). Modyfikacja reakcji amidoalkilowania Engelmana-Pikla przez Oleksyszyna doprowadziły do procedur syntezy, przewyższających metody wcześniej opisane, zarówno pod względem prostoty jak i wydajności^[2, 12-15, 172-176].



R = alkyl, aryl, aralkyl; R¹ = Et, Ph; X = O, S; Y = Ph-NH, BnO

Schemat 2-4. Metody syntezy kwasów 1-aminoalkilofosfonowych wykorzystujące kondensacje typu Biruma

W rezultacie badań nad synteza listy fosfonowych analogów aminokwasów białkowych szybko została wypełniona (Tab. 2-8.), wpływając na przyspieszenie badań dotyczących biochemicznej i biologicznej aktywności AA^{P[1]}.

Tabela 2-8. Fosfonowe analogi białkowych aminokwasów

Kwas Aminofosfonowy	Pierwsza i/lub reprezentatywna praca	Kwas Aminofosfonowy	Pierwsza i/lub reprezentatywna praca
Struktura /(AA ^P)		Struktura / (AA ^P)	
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H}_2 \end{array}$ (Gly ^P)	Pikl, 1943 ^[32] ; Chavane, 1947 ^[33] ; Oleksyszyn & Subotkowska, 1982 ^[177]	(Trp ^P)	Subotkowski i w-cy, 1981 ^[193] ; Chen i w-cy, 1983 ^[194] ; Rogers&Stern, 1992 ^[195]
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{Me} \end{array}$ (Ala ^P)	Chalmers&Kosolapoff, 1953 ^[178] ; Oleksyszyn & Tyka, 1977 ^[172] ; Kudzin & Stec, 1978 ^[171]	(His ^P)	Merrett i w-cy, 1988 ^[196] ; McCleary&Tuck, 1989 ^[197] ; Khomutov, 1990 ^[198]
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CHMe}_2 \end{array}$ (Val ^P)	Chambers&Isbell, 1964 ^[179] ; Oleksyszyn&Tyka, 1977 ^[172] ; Kudzin&Stec, 1978 ^[171]	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4 \end{array}$ (Lys ^P)	Baylis i w-cy, 1984 ^[189] ; Hamilton i w-cy, 1993 ^[199]
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{CHMe}_2 \end{array}$ (Leu ^P)	Berlin i w-cy, 1968 ^[180] ; Oleksyszyn&Tyka, 1977 ^[172] ; Kudzin&Stec, 1978 ^[171]	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{H} \end{array}$ (Arg ^P)	Lacoste i w-cy, 1972 ^[200]
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}(\text{Me})\text{Et} \end{array}$ (Ile ^P)	Berlin ea, 1968 ^[180] ; Łukso&Tyka, 1977 ^[181] ; Kudzin&Stec, 1978 ^[171]	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{C}(\text{O})\text{OH} \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ (Asp ^{β-P})	Chambers&Isbell, 1964 ^[179] ; Smith i w-cy, 1990 ^[201]
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{Ph} \end{array}$ (Phe ^P)	Chambers&Isbell, 1964 ^[179] ; Oleksyszyn&Tyka, 1977 ^[172] ; Kudzin&Stec, 1978 ^[171]	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{OH} \end{array}$ (Asp ^{α-P})	Soroka&Mastalerz, 1976 ¹ , 1976 ² ^[202, 203] ; Campbell i w-cy, 1982 ^[204]
(Pro ^P)	Petrillo&Spitzmiller, 1979 ^[77] ; Subotkowski i w-cy, 1980 ^[182] ; 1983 ^[183]	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ (Asp ^{P,P})	Issleib i w-cy, 1983 ^[205] ; Kudzin i w-cy, 1994 ^[112]
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2-\text{OH} \end{array}$ (Ser ^P)	Zygmunt&Mastalerz, 1978 ^[184] ; 1981 ^[185] ; Lejczak i w-cy, 1984 ^[186]	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2 \end{array}$ (Asn ^P)	Soroka&Mastalerz, 1976 ¹ , 1976 ² ^[202, 203]
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{CH}_2\text{SMe} \end{array}$ (Met ^P)	Kudzin&Stec, 1980 ^[187]	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{C}(\text{O})\text{OH} \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{CH}_2-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ (Glu ^{γ-P})	Mastalerz, 1957 ^[206] ; Mastalerz, 1959 ² ^[207] ; Chambers&Isbell, 1964 ^[179]
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2-\text{SH} \end{array}$ (Cys ^P)	Kudzin & Stec, 1983 ^[188]	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{OH} \end{array}$ (Glu ^{α-P})	Oleksyszyn i w-cy, 1982 ^[208] ; Antczak&Szewczyk, 1985 ^[209]
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}(\text{Me})-\text{OH} \end{array}$ (Thr ^P)	Baylis i w-cy, 1984 ^[189] ; Bongini i w-cy, 1994 ^[190]	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{CH}_2-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \end{array}$ (Glu ^{P,P})	Issleib i w-cy, 1983 ^[205] ; Kudzin i w-cy, 1994 ^[112]
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{Ph}-\text{OH} \end{array}$ (Tyr ^P)	Lejczak i w-cy, 1987 ^[82] ; Krzyżanowska& Pilichowska, 1988 ^[191] ; Drescher i w-cy, 1995 ^[192]	$\left[\begin{array}{c} \text{S}-\text{C}-\text{C}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2 \\ \quad \\ \text{H}_2 \quad \text{NH}_2 \end{array} \right]_2$ (([Cys ^P] ₂)	Kudzin, 1981 ^[210]

2.4. WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNE KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH

W fazie stałej oraz w silnie polarnych rozpuszczalnikach aminokwasy występują w niskoenergetycznej, bipolarnej strukturze jonu obojnego. Sieć jonowa krystalicznych form jest przyczyną wysokiej temperatury rozkładu aminokwasów, a także słabej rozpuszczalności w rozpuszczalnikach niepolarnych.

Istotnym dowodem na występowanie jonowej, dipolarnej struktury aminokwasów jest brak typowych pasm absorpcji grupy $\text{NH}_2/\text{N}^+\text{H}_3$ i $\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2/\text{P}(\text{O})(\text{O}^-)(\text{OH})$ w widmach IR oraz struktury krystalograficzne. Przeglądu danych rentgenowskiej analizy strukturalnej aminokwasów dokonali Choi i McPartlin^[118].

2.4.1. TEMPERATURY TOPNIENIA KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH

Badania krystalograficzne AA^P wykazały na występowanie tych związków w stanie stałym w formie jonów obojnych [Choi&McPartlin, 2000]^[118]. Skutkiem występowania aminokwasów fosfonowych w formie jonu obojnego (*zwitterion*) są ich wysokie temperatury topnienia czy rozkładu.

W Tabeli 2-9. przedstawiono wartości temperatur topnienia (rozkładu) fosfonowych analogów aminokwasów białkowych z reprezentatywnych prac.

Tabela 2-9. Porównanie temperatur topnienia/rozkładu aminokwasów białkowych (AA ^C) i ich fosfonowych analogów (AA ^P)			
AA ^C	Temp. topn./dekomp. ^[194] [°C]	AA ^P	Temp. topn./dekomp. ^[Literatura] [°C]
Gly	292	Gly ^P	285 ^{[Moedritzer, 1972][212]} , 286,5 ^{[Chambers&Issbell, 1964][179]} , >300 ^{[Chalmers&Kosolapoff, 1953][178]} , 338-344 ^{[Soroka, 1989][213]}
Ala	290	Ala ^P	271-273 ^{[Oleksyszyn i w-cy, 1978][173]} , 275-276 ^{[Kudzin&Stec, 1978][171]} , 278 ^{[Berlin i w-cy, 1968][180]} , 283-285 ^{[Chambers&Issbell, 1964][179]} , 340 ^{[Chalmers&Kosolapoff, 1953][178]}
Val	315	Val ^P	261-262 ^{[Kudzin&Stec, 1978][171]} , 271 ^{[Chambers&Issbell, 1964][179]} , 274 ^{[Berlin i w-cy, 1968][180]} , 276-278 ^{[Asano i w-cy, 1973][214]} , 279-283 ^{[Soroka, 1990][175]} , 280-281 ^{[Berry i w-cy, 1972][215]}
Leu	337	Leu ^P	271-272 ^{[Asano i w-cy, 1973][214]} , 279 ^{[Berlin i w-cy, 1968][180]} , 293-294 ^{[Baylis i w-cy, 1984][189]}
Ile	284	Ile ^P	256-258 [d] ^{[Hammerschmidt&Wuggenig, 1999][216]} , 274 ^{[Berlin i w-cy, 1968][180]} , 276-277 ^{[Asano i w-cy, 1973][214]}
Pro	222	Pro ^P	266-267 ^{[Subotkowski i w-cy, 1980][182]} , 275 ^{[Issleib i w-cy, 1982][217]} , 275-280 ^{[Petrillo&Spitzmiller, 1979][77]}
Phe	284	Phe ^P	225-227 ^{[Chalmers&Kosolapoff, 1953][178]} , 267-269 ^{[Kudzin&Stec, 1978][171]} , 276-277 ^{[Asano i w-cy, 1973][214]} , 281 ^{[Chambers&Issbell, 1964][179]}
Ser	228	Ser ^P	80 ^{[Zygmunt&Mastalerz, 1978][184]} , 186-188 [d] ^{[Lejczak i w-cy, 1984][186]} , 95-110 ^{[Hammerschmidt&Wuggenig, 1999][216]} , 214 ^{[Baylis i w-cy, 1984][189]} , 210-212 ^{[Huber i w-cy, 1985][218]}
Thr	255	Thr ^P	234-236 ^{[Renaud&Seebach, 1986][219]} , 212-215 ^{[Baylis i w-cy, 1984][189]} , 217-219, 218-220, 228-230, 230-233 ^{[Bongini i w-cy, 1996][220]}
Tyr	344	Tyr ^P	258-260 ^{[Maier, 1990][151]} , 277 ^{[Belankin i w-cy, 1997][221]}
Met	283	Met ^P	270-272 ^{[Kudzin&Stec, 1980][187]}
Cys	220	Cys ^P	228-234 ^{[Zygmunt&Mastalerz, 1981][222]} , 251,5-252,5 ^{[Kudzin&Stec, 1983][188]}
[Cys] ₂	260	[Cys ^P] ₂	257-259 ^{[Kudzin, 1981][210]}
Arg	238	Arg ^P	168-169[Arg ^{P(H)}] ^{[Cowart i w-cy, 1996][223]}
Lys	224	Lys ^P	275-277 ^{[Jeżowska-Bojczuk i w-cy, 1994][224]} , >300 ^{[Baylis i w-cy, 1984][189]}
His	277	His ^P	255-256 ^{[Merrett i w-cy, 1988][196]}

Trp	282	Trp ^P	260-261 ^{[Subotkowski i w-cy, 1981][193]} , 280-281 ^{[Chen i w-cy, 1983][194]}
Asp	270	Asp ^{α-P}	234-238 ^{[Soroka&Mastalerz, 1976][202]} , 221, 226 [d] ^{[Khomutov i w-cy, 1996][225]}
		Asp ^{β-P}	228 ^{[Chambers&Issbell, 1964][179]} , 228-232 ^{[Soroka&Mastalerz, 1976][202]} , 225-230 ^{Varlet i w-cy, 1979][226]}
		Asp ^{P,P}	233-235 ^{[Issleib i w-cy, 1983][205]} , 234-236 ^{[Kudzin&Majchrzak, 1989][227]} , 234-236 ^{[Kudzin i w-cy, 1994][112]}
Asn	236	Asn ^{α-P}	247-252 ^{[Soroka&Mastalerz, 1976][203]} , 268-273 ^{[Vasella&Voefray, 1982][228]}
Glu	249	Glu ^{α-P}	167-169 ^{[Oleksyszyn i w-cy, 1982][208]}
		Glu ^{β-P}	247-252 ^{[Soroka&Mastalerz, 1976][202]} , 227-232 [d] ^{[Soloshonok i w-cy, 1992][229]}
		Glu ^{P,P}	236-238 ^{[Issleib i w-cy, 1983][205]} , 237-239 ^{[Kudzin i w-cy, 1994][112]}
(AA ^C) Jakubke&Jeschkeit [211];[d] – dekompozycja (rozkład)			

Analiza danych Tabeli 2-9. wskazuje na znaczne różnice w wartościach literaturowych temperatur topnienia. Tylko w nielicznych pracach Autorzy sugerowali termiczny rozkład analizowanych aminokwasów (Ser^{P[186]}; Asp^{α-P[225]}; Asn^{P[228]}, Glu^{β-P[229]}).

W Tabeli 2-10. przedstawiono temperatury topnienia szeregu reprezentatywnych kwasów ω-aminoalkilofosfonowych^[154].

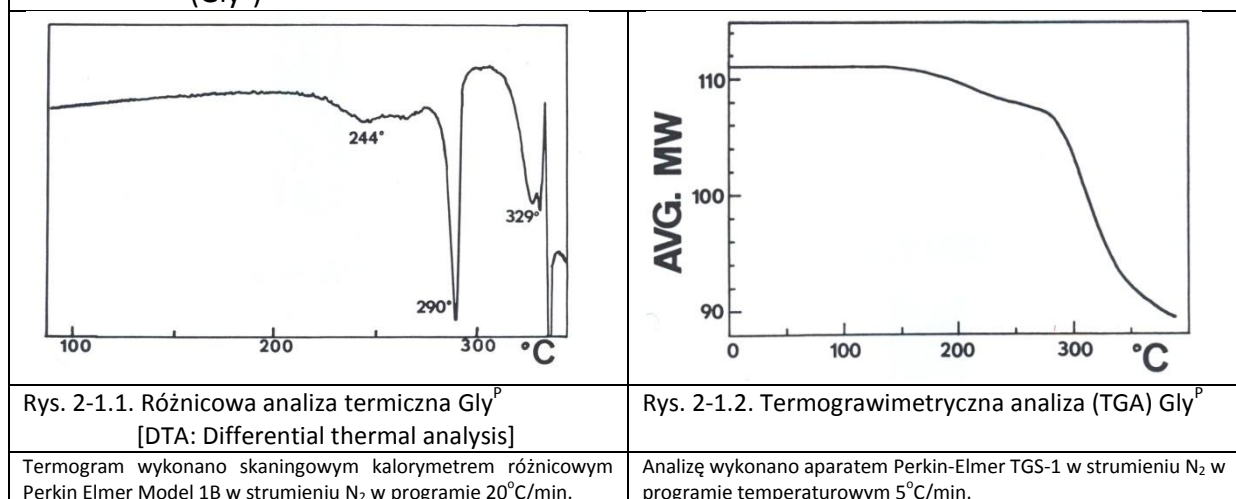
Tabela 2-10. Temperatury topnienia reprezentatywnych kwasów ω-aminoalkilo-fosfonowych ^[154]						
$\text{H}_2\text{N}-\left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \\ \\ \text{H}_2 \end{array} \right]_n \text{P}(\text{OH})_2$						
n	n=1	n=2	n=3	n=4	n=6	n=8
Temp. topn. [°C]	328	272,5±0,5	278	275	274	254,5±0,5

2.4.1.1. TERMOGRAWIMETRIA KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH

Prekursorem i autorem jedynej pracy włączającej metody termoanalityczne do chemii aminofosfonianów był Kurt Moedritzer^[212] (Rys. 2-1.). O przyczynie sprawczej własnych badań termograwimetrycznych Autor pisze w sposób następujący: *The discrepancy in the reported melting points for the aminomethylphosphonic acid and our own findings (melting at 285°, subsequent resolidification and melting with decomposition at 333°) prompted us to explore this phenomenon in detail by thermoanalytical methods.*

Termogram DTA kwasu aminometylofosfonowego (Rys. 2-1.1.) prezentuje łagodną endotermę z początkiem w 219°C (ekstrapolacja) i pikiem w 244°C. Pik silnej endotermi pojawiający się w 290°C prezentuje pierwszy punkt topnienia, z ekstrapolowanym początkiem dekompozycji w 317°C i gwałtowny rozkład z maksimum przy około 329°C. Termogram TGA (Rys. 2-1.2.) wskazuje na niewielki spadek masy próbki do 290°C (ok. 4%) i szybki spadek masy powyżej tej temperatury (prawdopodobnie odszczepienie cząsteczki wody).

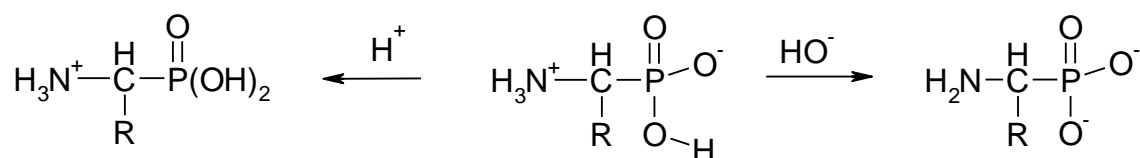
Rysunek 2-1. Wyniki badań termograwimetrycznych kwasu aminometylofosfonowego (Gly^P)^[212]



2.4.2. ROZPUSSZCZALNOŚĆ KWAŚW AMINOALKILOFOSFONOWYCH

Dostępna literatura naukowa nie zawiera ilościowych danych dotyczących rozpuszczalności aminokwasów fosfonowych. Występujące opisy, formułowane były na analogii do aminokwasów karboksylowych^[7, 10], a więc:

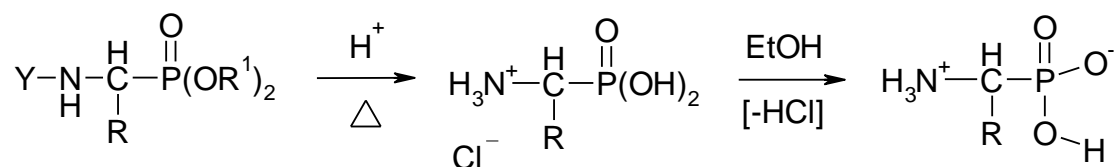
- dobra rozpuszczalność niskich homologów z tendencją zmniejszenia wraz ze wzrostem masy cząsteczki;
- minimum rozpuszczalności w punkcie izoelektrycznym, ze wzrostem w roztworach alkalicznych i kwasowych (Sch. 2-5.);
- niska rozpuszczalność w rozpuszczalnikach organicznych;
- wzrost rozpuszczalności wraz ze wzrostem rzędowości grupy aminowej.



Schemat 2-5. Wzrost rozpuszczalności AA^P w zasadowych i kwasowych roztworach poprzez wychodzenie z formy jonu obojnego

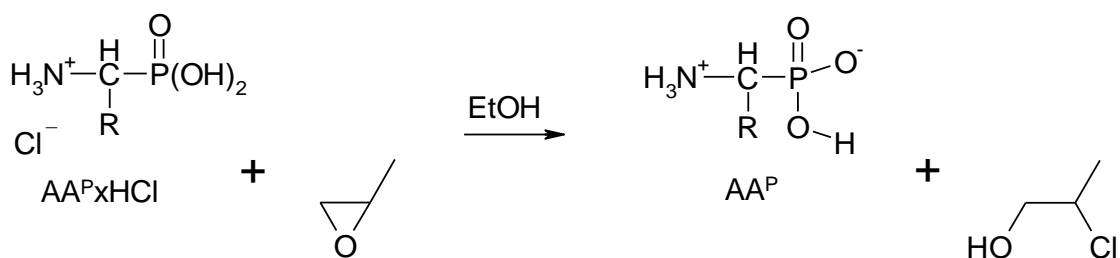
Bardzo niska rozpuszczalność aminokwasów fosfonowych w rozpuszczalnikach organicznych wykorzystywana jest podczas oczyszczania tych związków na drodze krystalizacji: do gorącego roztworu aminokwasu w wodzie dodaje się alkoholu do *zmętnienia* roztworu i odstawia do ostygnięcia.

Rozpuszczalność chlorowodorów kwasów 1-aminoalkilofosfonowych w alkoholach przy bardzo niskiej rozpuszczalności wolnych aminokwasów w tych rozpuszczalnikach wykorzystywano do preparatywnej izolacji AA^P z mieszanin hydrolitycznych. Hydrolizaty aminofosfonianowe (przedostatni etap większości metod syntezy AA^P) po zatężeniu do formy chlorowodoru AA^P × HCl i rozpuszczeniu w etanolu strącano na drodze usunięcia chlorowodoru (Sch. 2-6.).



Schemat 2-6. Obniżenie rozpuszczalności AA^P w hydrolizatach kwasowych na drodze neutralizacji chlorowodoru (wprowadzenie w formę jonu obojnego)

Do wyprowadzania aminokwasów fosfonowych z ich halogenowodorowych soli stosuje się najczęściej tlenek propylenu, wprowadzony przez Chambersa i Isbella^[179] (Sch. 2-6.).



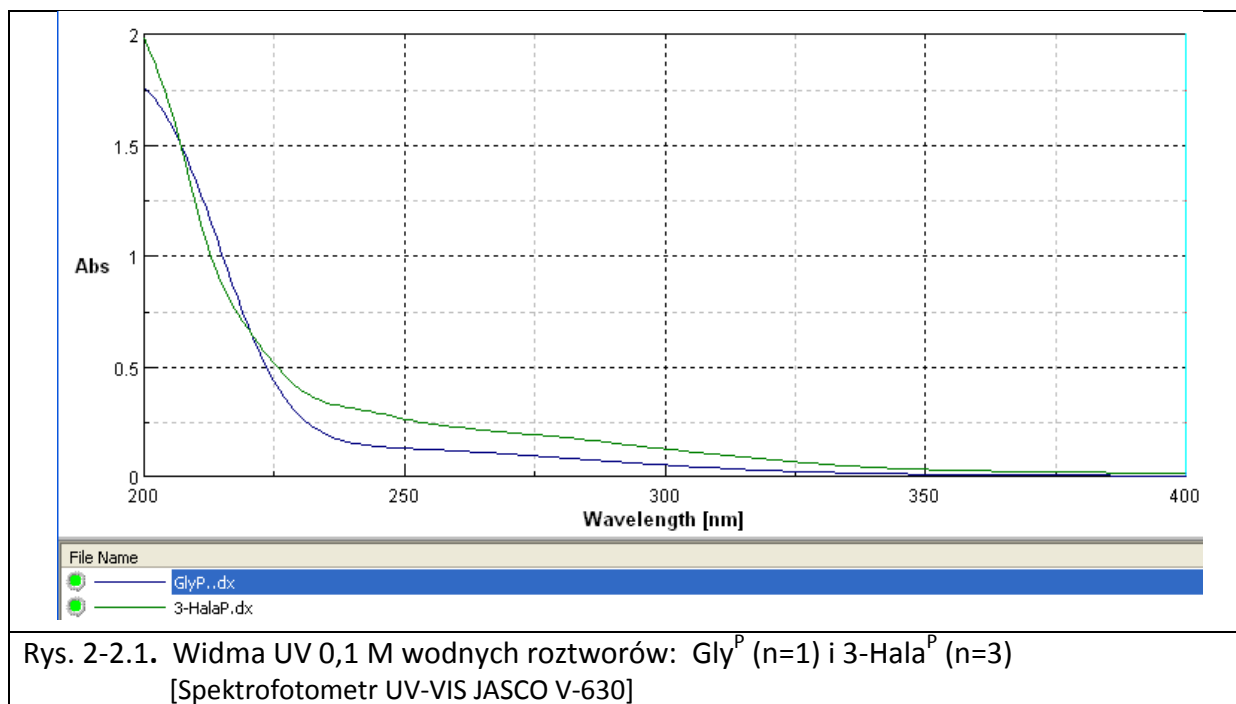
Schemat 2-7. Metoda Chambersa i Isbella izolacji AA^P z roztworów chlorowodoru (HCl×AA^P)

Kwasy 1-aminoalkilofosfonowe wykazują również rozpuszczalność w rozpuszczalnikach kwasowych. Wykazano np. dobrą rozpuszczalność AA^P w TFA (Tab. 2-13.) i kwasie octowym^[105].

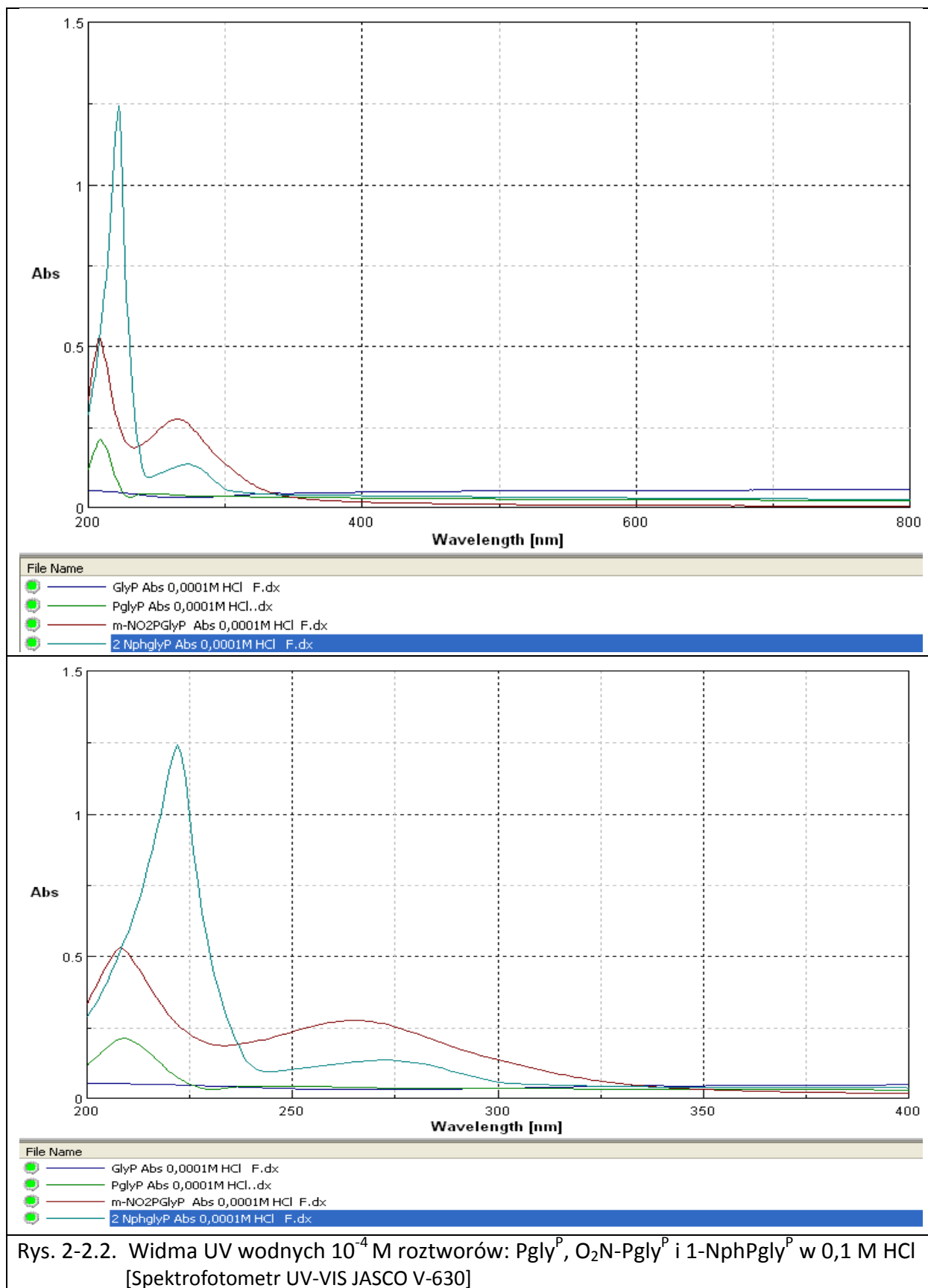
2.4.3. WIDMA ABSORPCYJNE AMINOALKILOFOSFONOWYCH

2.4.3.1. WIDMA UV KWAŚÓW AMINOFOSFONOWYCH

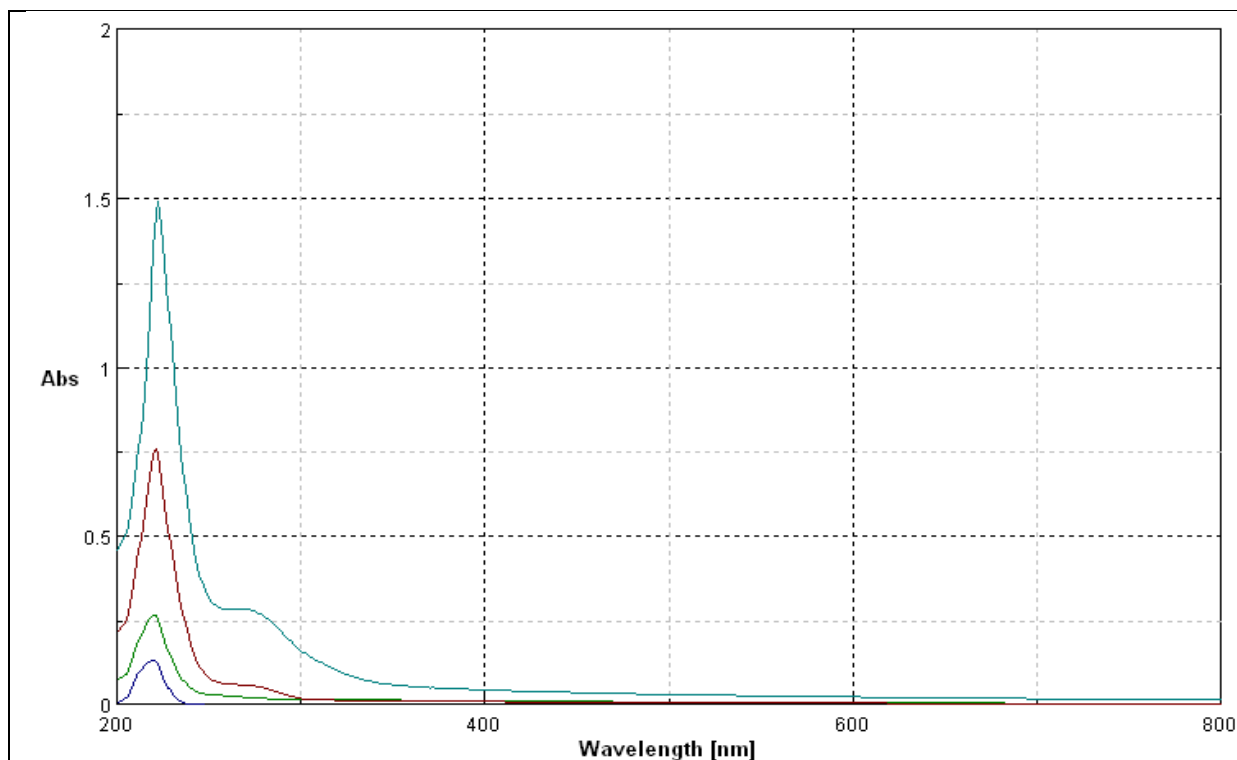
Widma UV kwasów aminoalkilofosfonowych są podobne do widm aminokwasów karboksylowych. Alifatyczne AA^P są praktycznie transparentne w zakresie powyżej 220 nm, podczas gdy aminokwasy z aromatycznymi podstawnikami (np. Pgly^P, Phe^P) wykazują niską absorpcję. Widma UV reprezentatywnych kwasów 1-aminoalkilo-fosfonowych oraz 1-aminoaralkilofosfonowych przedstawiono na Rysunkach 2.2. (2-2.1., 2-2.2., 2-2.3.).



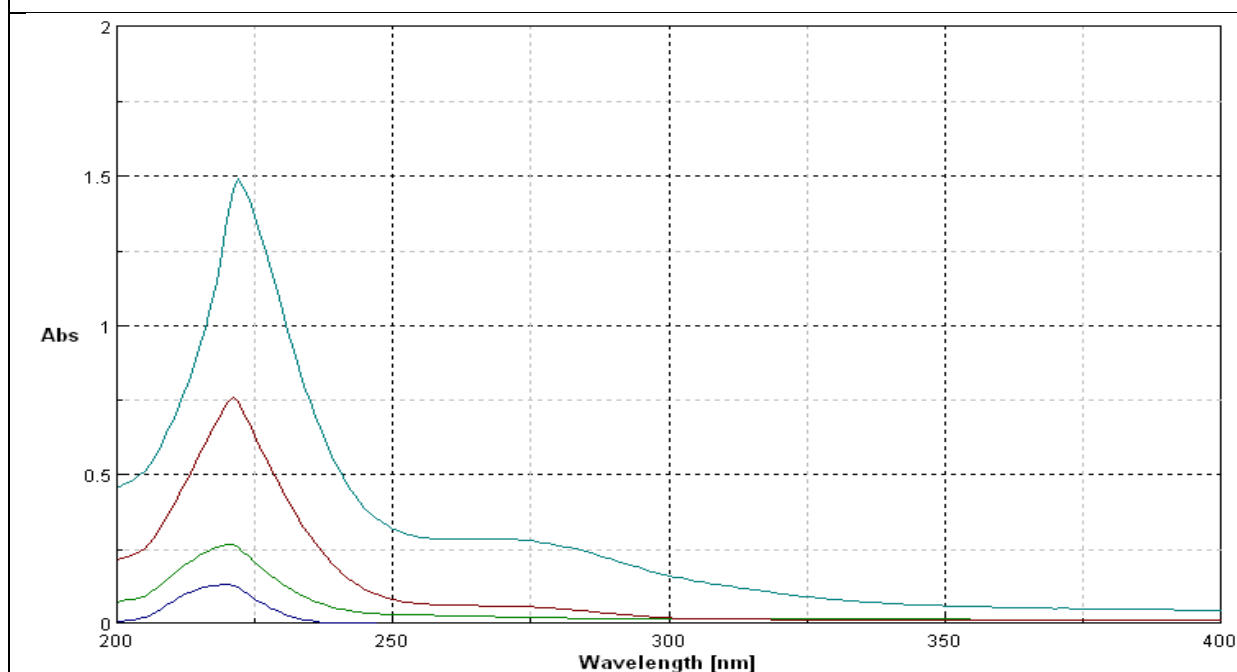
Podczas gdy w zakresie widzialnym światła reprezentatywne AA^P są transparentne, to w zakresie UV występuje dosyć duża absorpcja aminokwasów aromatycznych.



Rys. 2-2.2. Widma UV wodnych 10^{-4} M roztworów: Pgly^P, O₂N-Pgly^P i 1-NphPgly^P w 0,1 M HCl [Spektrofotometr UV-VIS JASCO V-630]



- File Name
- GlyP Abs 0,0001M NaOH II. dx
 - PglyP Abs 0,0001M NaOH F. dx
 - m-NO₂PGlyP Abs 0,0001M NaOH F. dx
 - 2-NphglyP Abs 0,0001M NaOH F. dx



- File Name
- GlyP Abs 0,0001M NaOH II. dx
 - PglyP Abs 0,0001M NaOH F. dx
 - m-NO₂PGlyP Abs 0,0001M NaOH F. dx
 - 2-NphglyP Abs 0,0001M NaOH F. dx

Rys. 2-2.3. Widma UV wodnych 10^{-4} M roztworów: Pgly^P, O₂N-Pgly^P, 1-NphPgly^P w 0,1 M NaOH [Spektrofotometr UV-VIS JASCO V-630]

2.4.3.2. WIDMA IR KWASÓW AMINOFOSFONOWYCH

Na rysunkach Rys. 2-3. przedstawiono dla ilustracji widma IR reprezentatywnych kwasów aminofosfonowych, w tym widma:

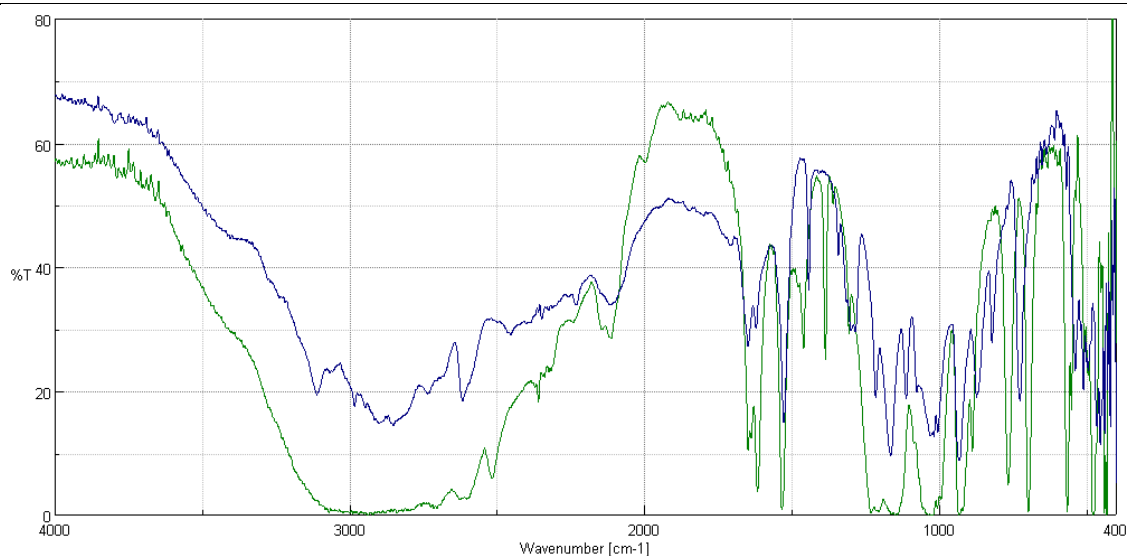
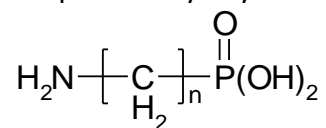
- serii ω -aminoalkilofosfonowych (Rys. 2-3.1., 2-3.2.);
- kwasów 1-aminoetylofosfonowego (Ala^{P}) i 1-amino-1-metyloetylo-1-fosfonowego (Mala^{P}) (Rys. 2-3.3.);
- kwasów 1-aminometylofenylofosfonowego (Pgly^{P}) i 1-amino-1-metylo(4-metylofenylo)-1-fosfonowego ($p\text{-MePgly}^{\text{P}}$) (Rys. 2-3.4.);
- kwasów 1-aminometylonaftylofosfonowego ($1\text{-Nphgly}^{\text{P}}$) oraz 2-aminometylonaftylofosfonowego ($2\text{-Nphgly}^{\text{P}}$) (Rys. 2-3.5.).

Widma IR mimo znaczących różnic w budowie chemicznej badanych kwasów aminoalkilofosfonowych są bardzo podobne i przypominają widma aminokwasów karboksylowych^[211]. Prezentowane widma są bardzo złożone i większość pasm absorpcji nie może być przypisana w sposób jednoznaczny drganiom określonych grup. Wszystkie widma mają szerokie, trudne do interpretacji pasmo absorpcji w granicach od 1700 cm^{-1} do 3650 cm^{-1} ^[230].

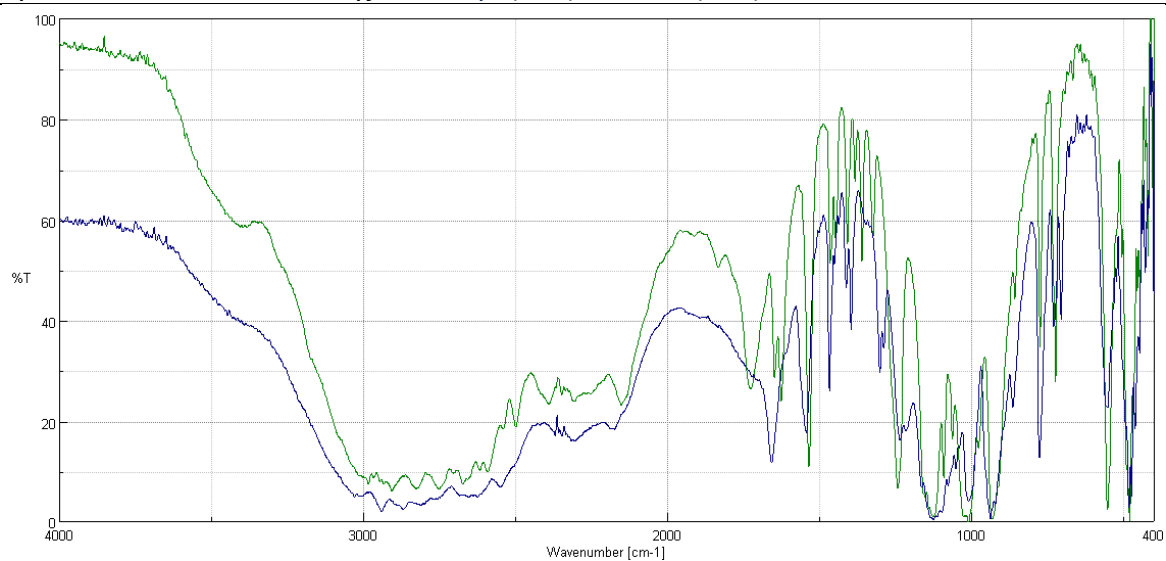
Podsumowania badań nad spektrometrią strukturalną IR aminokwasów fosfonowych dokonali Kukhar i Solodenko^[10] (Tab. 2-11.).

Tabela 2-11. Charakterystyka IR kwasów aminofosfonowych i ich pochodnych [Kukhar & Solodenko, 1987] ^[10]			
Charakterystyczne pasma absorpcji			Literatura
	Grupa	Region [cm^{-1}]	
AA^{P}	P=O	1150-1250	[Belov i w-cy, 1977] ^[231] [Baylis i w-cy, 1984] ^[189]
AA^{P}	P-O ⁻	1000-1100	[Belov i w-cy, 1977] ^[231] [Baylis i w-cy, 1984] ^[189]
AA^{P}	NH_3^+	2000-3200 i 1560-1600	[Richtarski i w-cy, 1975] ^[232] [Oleksyszyn i w-cy, 1978] ^[173]
AA^{P}	N^+H_3 , C-H, O-H	3000	[Richtarski i w-cy, 1975] ^[232] [Oleksyszyn i w-cy, 1978] ^[173]
$\text{AA}^{\text{P}}(\text{OR})_2$	NH_2	3280-3380 i 1500-1620	[Oleksyszyn i w-cy, 1979] ^[233]
$\text{AA}^{\text{P(H)}}$	P-H	2300-2400	[Baylis i w-cy, 1984] ^[189]

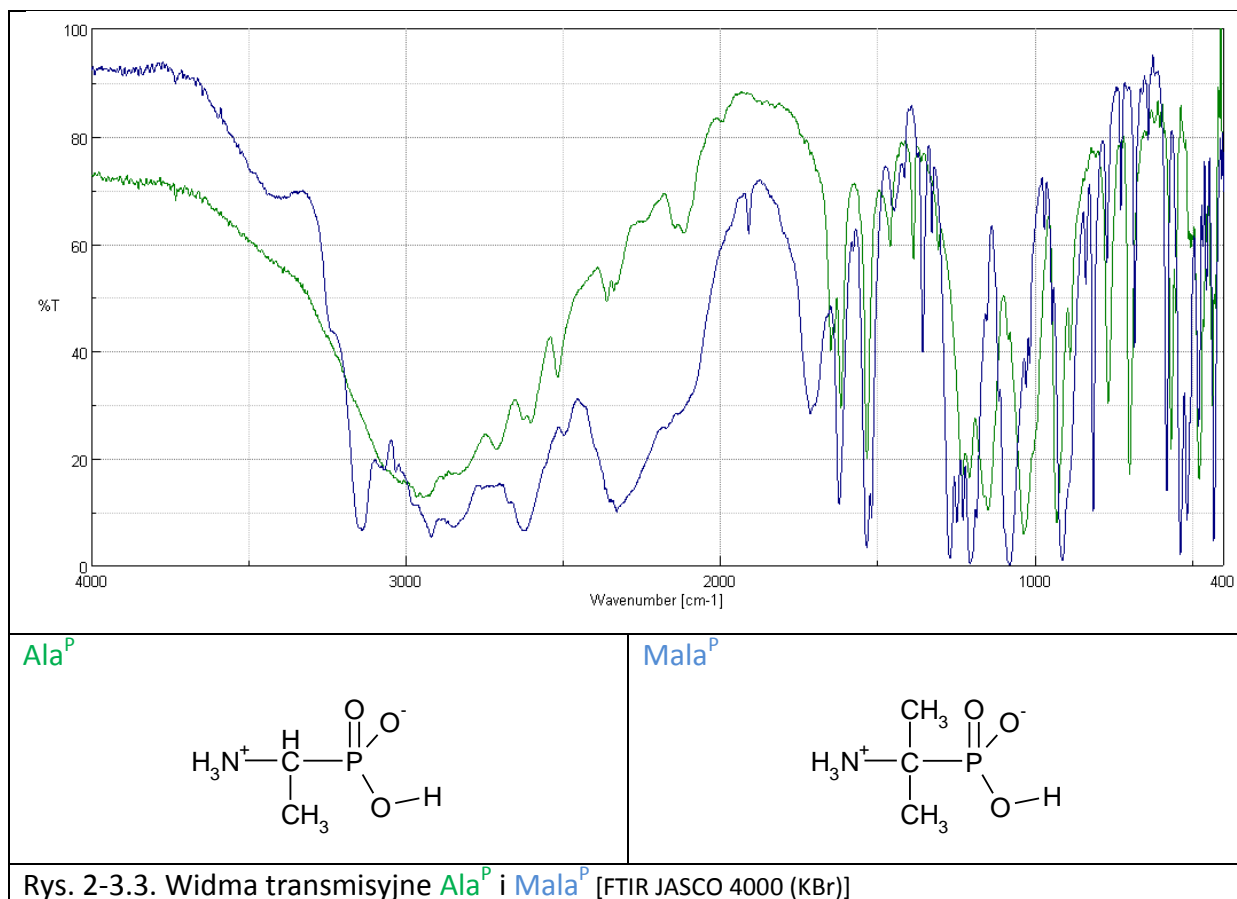
Rysunki 2-3. Widma absorpcyjne IR reprezentatywnych kwasów aminoalkilofosfonowych



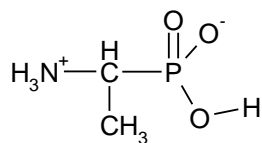
Rys. 2-3.1. Widma transmisyjne IR Gly^P (n=1) i 2-Ala^P (n=2) [FTIR JASCO 4000 (KBr)]



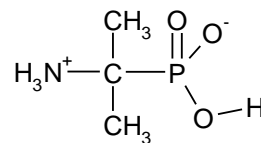
Rys. 2-3.2. Widma transmisyjne 3-Hala^P (n=3) i 4-Nvala^P (n=4) [FTIR JASCO 4000 (KBr)]



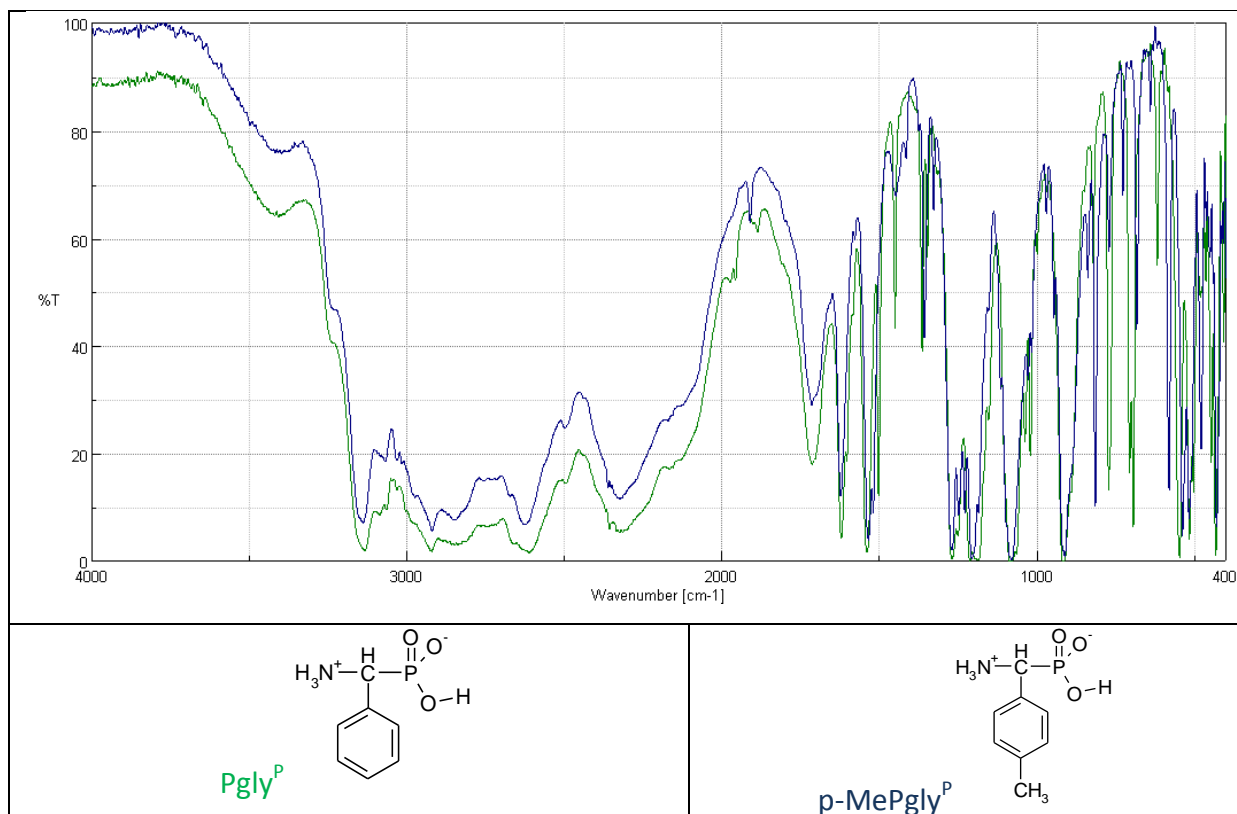
Ala^P



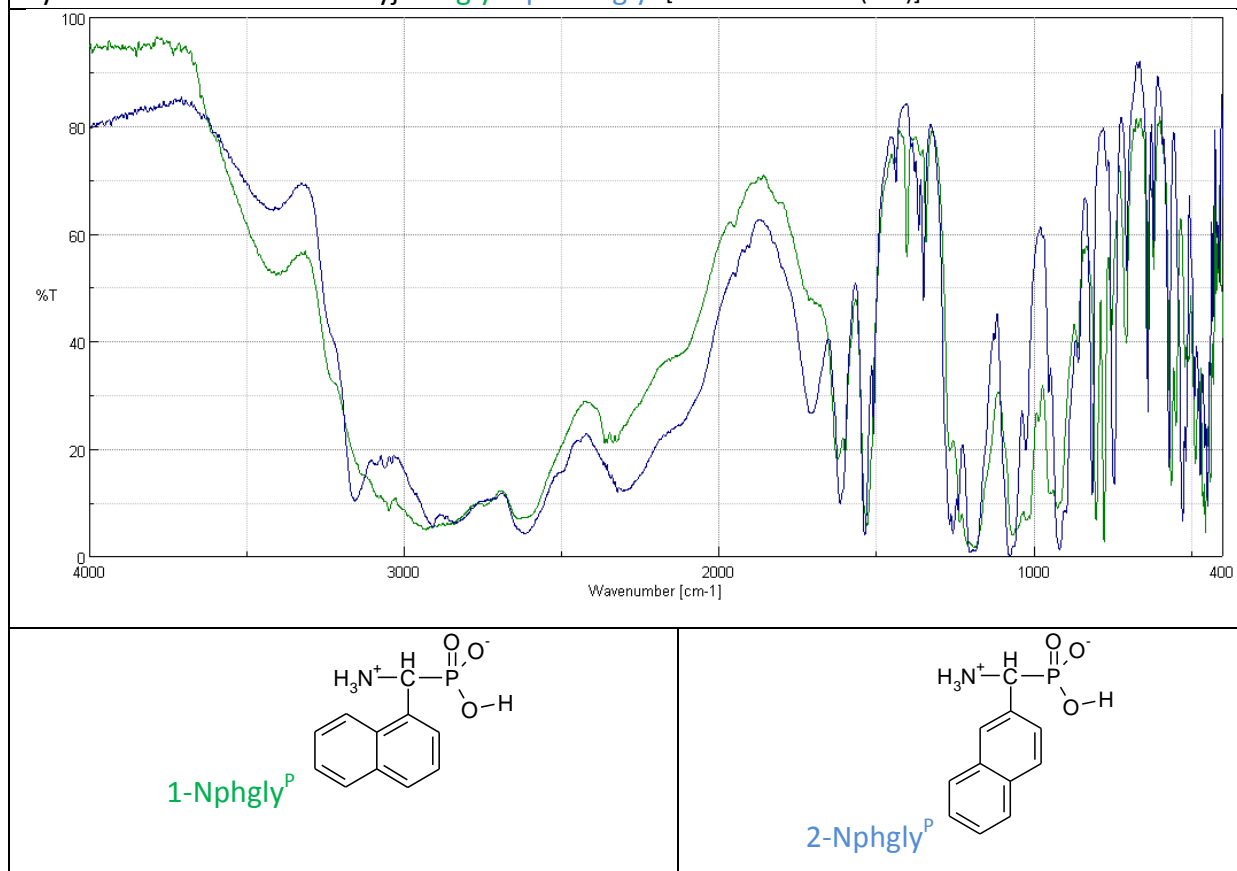
Mala^P



Rys. 2-3.3. Widma transmisyjne Ala^P i Mala^P [FTIR JASCO 4000 (KBr)]



Rys. 2-3.4. Widma transmisyjne **Pgly^P** i **p-MePgly^P** [FTIR JASCO 4000 (KBr)]



Rys. 2-3.5. Widma transmisyjne **α-NphGly^P** i **β-NphGly^P** [FTIR JASCO 4000 (KBr)]

2.4.3.3. SPEKTROSKOPIA NMR KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH

Spektroskopia NMR, w odróżnieniu od metod omawianych wcześniej (UV, IR), pozwala na pełną charakteryzację grupową i strukturalną kwasów aminoalkilofosfonowych. Podobnie jak do charakteryzacji aminokwasów karboksylowych, do aminokwasów fosfonowych stosuje się spektroskopię $^1\text{H-NMR}$ i $^{13}\text{C-NMR}$. Obecność fosforu w cząsteczce aminokwasu pozwala na wykorzystanie techniki $^{31}\text{P-NMR}$ i szybką klasyfikację grupową związków P-C, a w wielu przypadkach także na indywidualną identyfikację aminokwasu fosfonowego.

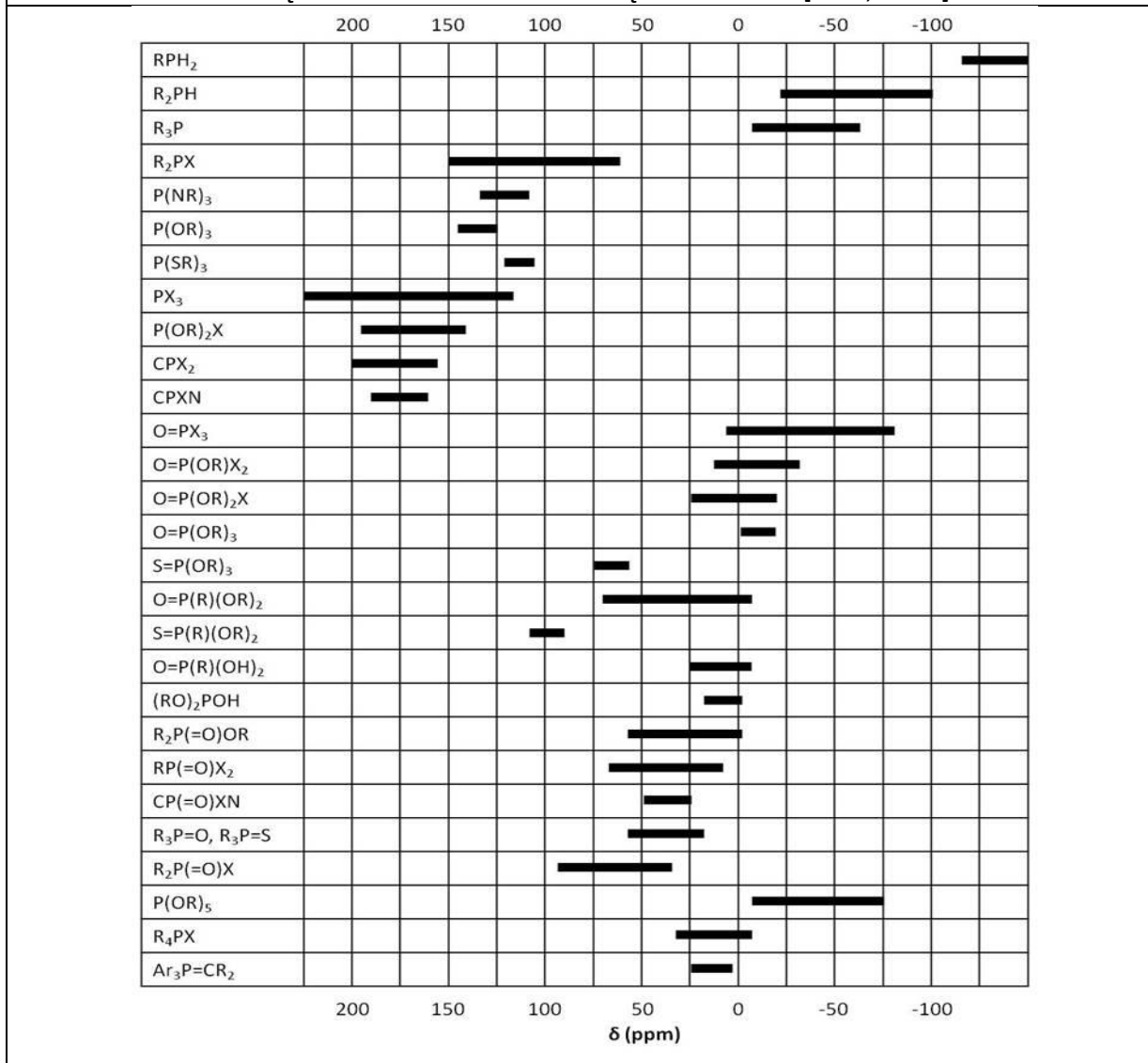
2.4.3.3.1. SPEKTROSKOPIA $^{31}\text{P-NMR}$

Spektroskopia $^{31}\text{P-NMR}$ jest techniką analityczną, należącą ze względu na łatwą interpretację widm *fosforowych* do rutynowych technik NMR. Przesunięcia chemiczne związków fosforowych mierzy się względem 85% wodnego roztworu kwasu fosforowego (V) $\delta(^{31}\text{P})=0$ ppm, jako zewnętrznego wzorca. Sygnały leżące przy niższym natężeniu pola /wyższych częstotliwości mają dodatnie wartości δ .

Wartości przesunięć chemicznych dla reprezentatywnych klas pochodnych oxy-kwasów fosforu przedstawiono w Tabelach: 2-12., 2.13.

$(\text{RO})_3\text{P}=\text{O}$		2,1 (Me)	1,01 (Et)	-0,7 (Pr)	-3,3 (iPr)
$(\text{RO})_3\text{P}$		139,7 (Me)	137,6 (Et)	138, (tBu)	138,1 (Ph)
$\text{R-P}(\text{O})(\text{OR})_2$		32,3 (Me)	30,0 (Et)	27,4 (Pr)	
R_3P	-240 (H)	-62 (Me)	-20,1 (Et)	61,9 (tBu)	-17,3 (Ph)
$\text{R}_3\text{P}=\text{O}$		36,2 (Me)	48,3 (Et)	66,5 (tBu)	28 (Ph)
$(\text{RO})_2\text{P}(\text{O})\text{H}$		10,8 (Me)	7,6 (Et)		
$\text{RO-P}(\text{O})(\text{OH})_2$		-1,2 (Me)	2,3 (Et)	-2,4 (iPr)	
$(\text{RO})_2\text{P}(\text{O})\text{OH}$		-4,8 (Me)	0,93 (Et)	-4,8 (iPr)	

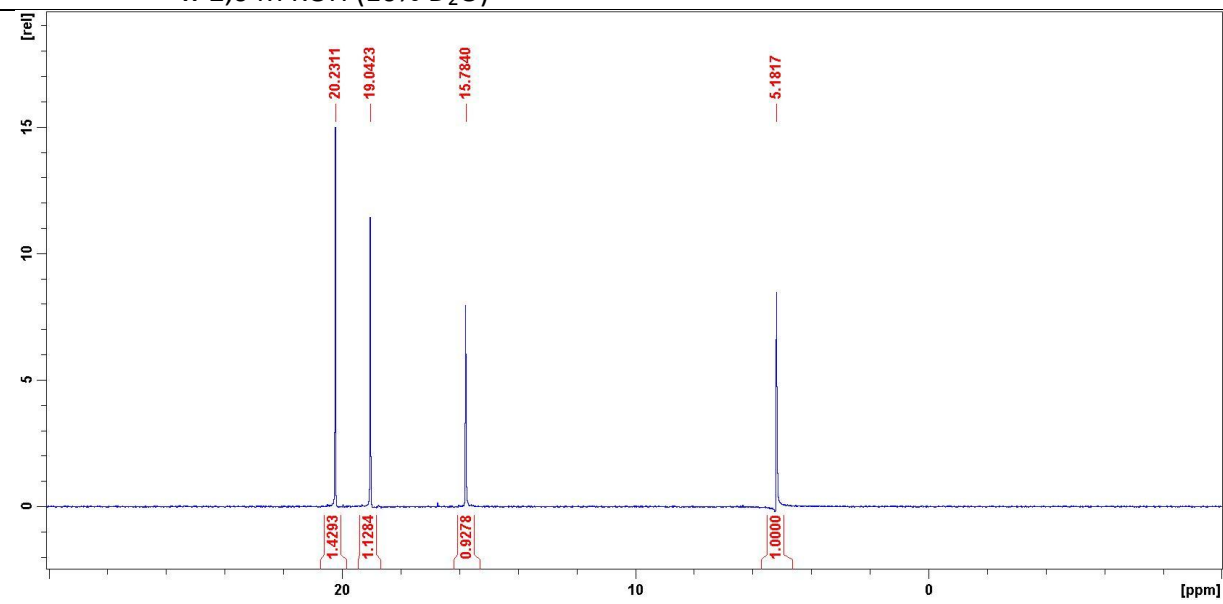
Tabela 2-13. Przesunięcia chemiczne ^{31}P NMR związków fosforu [Kuhl, 2008]^[235]



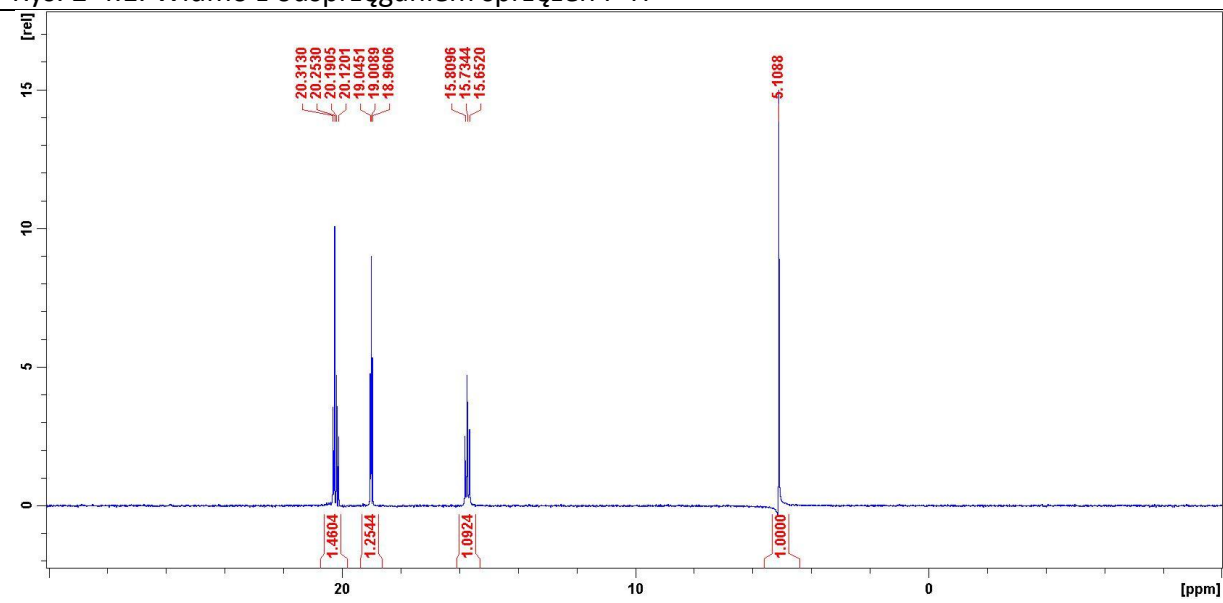
Widma ^{31}P NMR najczęściej są rejestrowane w postaci tzw. widm z odsprzęgnięciem („decoupling”). Widma ^{31}P NMR dla równomolowej mieszaniny: kwasu metylofosfonowego (MPA), Gly^{P} i Na_3PO_4 w 2,0 M KOH z odsprzęgnięciem i bez odsprzęgnięcia zamieszczono na Rysunkach 2-4.

Z powodu na niejednoznaczność jądrowego efektu Overhauser’a dla jąder ^{31}P , integracja widm *fosforowych* może być stosowana jedynie w sposób przybliżony, w obrębie tej klasy związków.

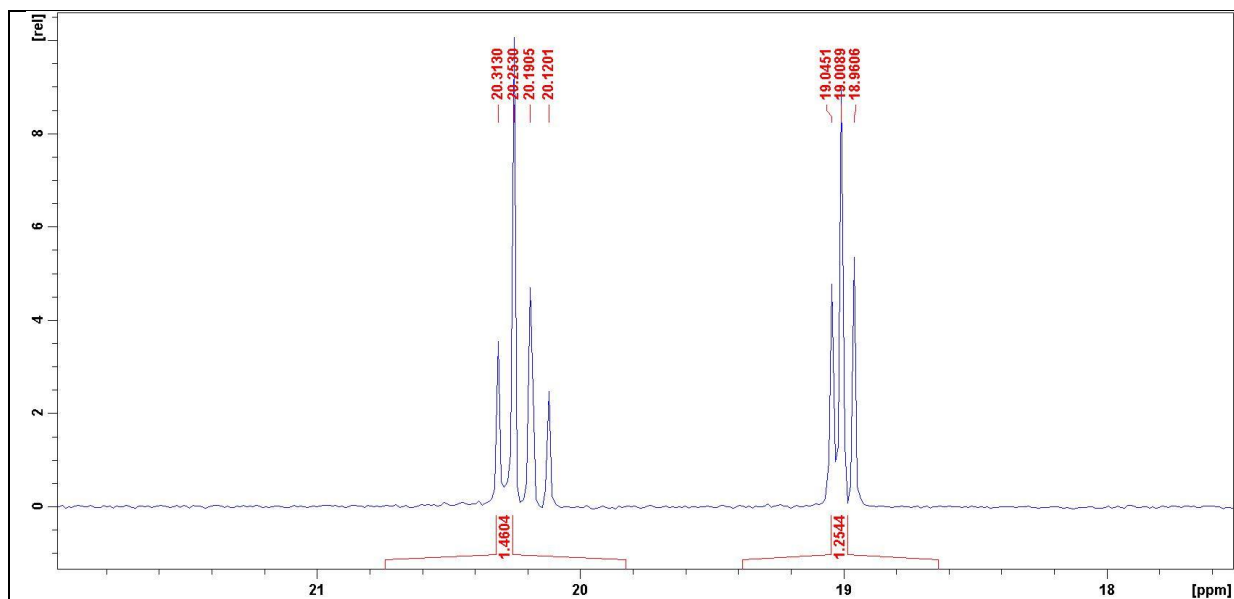
Rysunki 2-4. Widma ^{31}P NMR dla równomolowej mieszanki: MPA, AMDP, Gly^P, Na₃PO₄ w 2,0 M KOH (10% D₂O)



Rys. 2-4.1. Widmo z odsprzęgnięciem sprzężeń P-H



Rys. 2-4.2. Widmo bez odsprzęgnięcia sprzężeń P-H

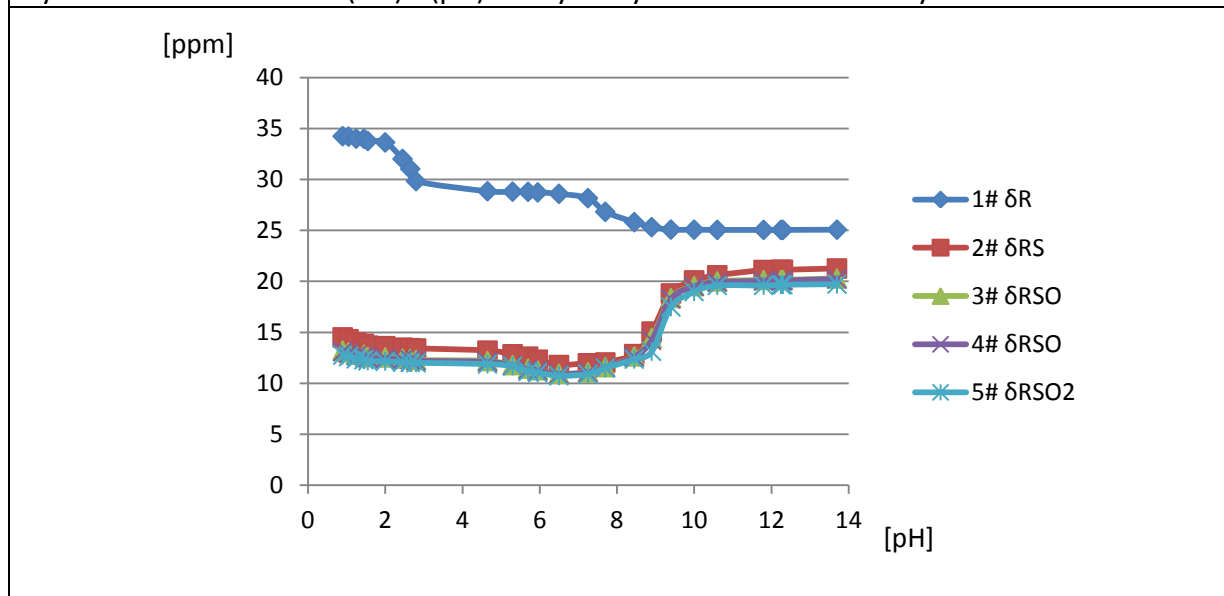


Rys. 2-4.1.1. Widmo ^{31}P mieszaniny: MPA, AMDP, Gly^{P} i Na_3PO_4 bez odprężenia (rozciąg dla MPA i Gly^{P})

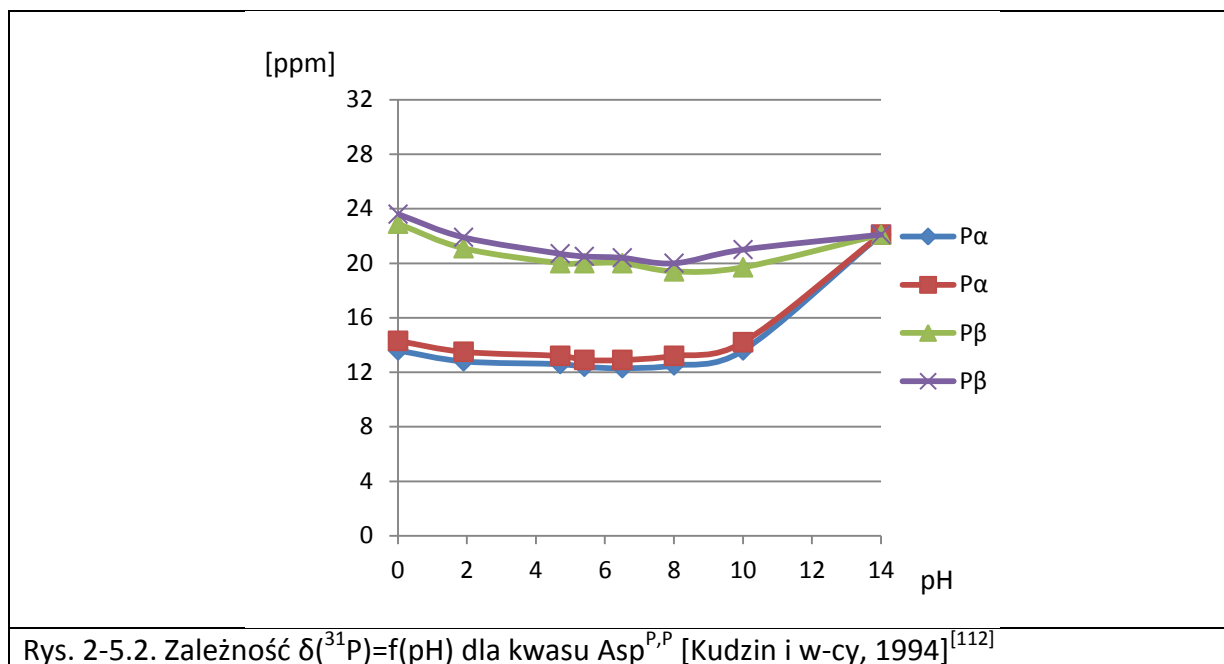
Dla wolnych kwasów fosfonowych obserwuje się silną zależność przesunięcia $\delta(^{31}\text{P})$ od stopnia jonizacji [112-114, 236, 237].

Zależność przesunięcia $\delta(^{31}\text{P})$ od stopnia jonizacji zilustrowana jest na Rysunkach 2-5.

Rysunek 2-5. Zależność $\delta(^{31}\text{P})=f(\text{pH})$ dla wybranych kwasów fosfonowych



Rys. 2-5.1. Zależność $\delta(^{31}\text{P})=f(\text{pH})$ dla MPA, Met^{P} , $\text{Met}[\text{S}(\text{O})]^{\text{P}}$ i $\text{Met}[\text{S}(\text{O})_2]^{\text{P}}$ [Kudzin i w-cy, 1994]^[113]

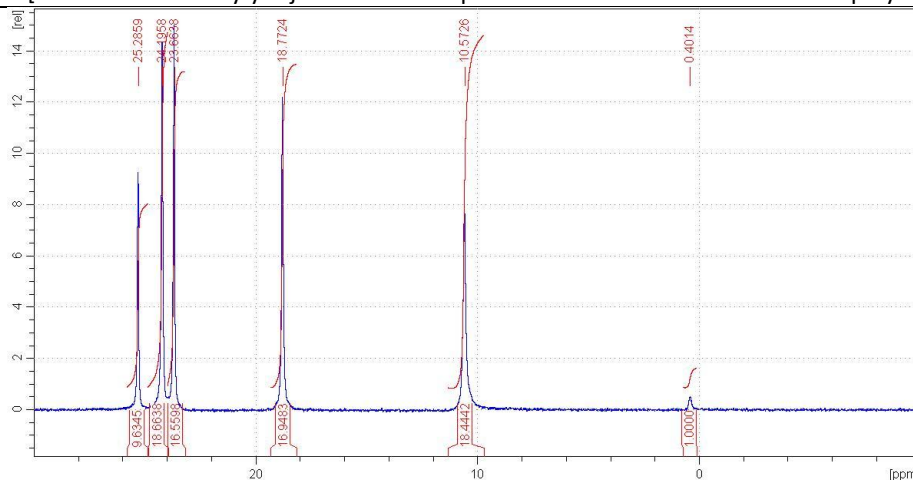


Rys. 2-5.2. Zależność $\delta(^{31}\text{P})=f(\text{pH})$ dla kwasu Asp^{P,P} [Kudzin i w-cy, 1994]^[112]

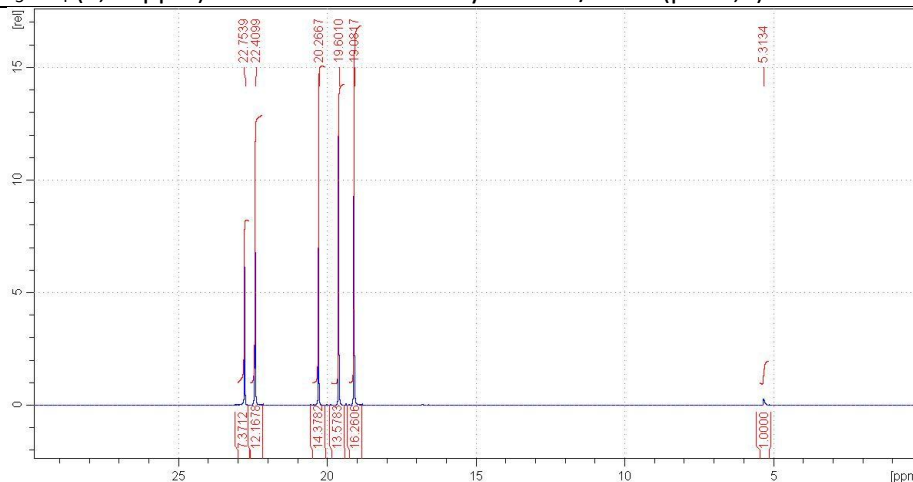
Obserwowany jest także silny wpływ struktury na widmo: podstawnika R, rzędowości grupy aminowej, odległości grupy aminowej od fosfonowej (Tab. 2-13.).

Wpływ odległości grupy aminowej od fosfonowej na przesunięcia chemiczne aminokwasów przedstawiono na Rysunku 2-6.

Rysunki 2-6. Widma ^{31}P NMR 6-składnikowej mieszaniny zawierającej: MPA, Gly^P, 2-Ala^P, 3-Hala^P, 4-Nval^P i H₃PO₄ (wzorec wewnętrzny) [Kudzin i w-cy, 2012]^[238]
 [Widma ^{31}P -NMR były rejestrowane na spektrometrze Bruker Avance III 600 przy 242.9 MHz.]



Rys. 2-6.1. Widmo ^{31}P NMR 6-składnikowej mieszaniny zawierającej: MPA (25,29 ppm), Gly^P (10,57 ppm), 2-Ala^P (18,77 ppm); 3-Hala^P (23,66 ppm), 4-Nval^P (24,20 ppm), H₃PO₄ (0,40 ppm) w roztworze buforowym AcOH/AcOK (pH=4,5)



Rys. 2-6.2. Widmo ^{31}P NMR 6-składnikowej mieszaniny zawierającej: MPA (22,75 ppm), Gly^P (18,08 ppm), 2-Ala^P (18,60 ppm); 3-Hala^P (20,67 ppm), 4-Nval^P (22,41 ppm), K₃PO₄ (5,31 ppm) w 2 M KOH (10% D₂O)

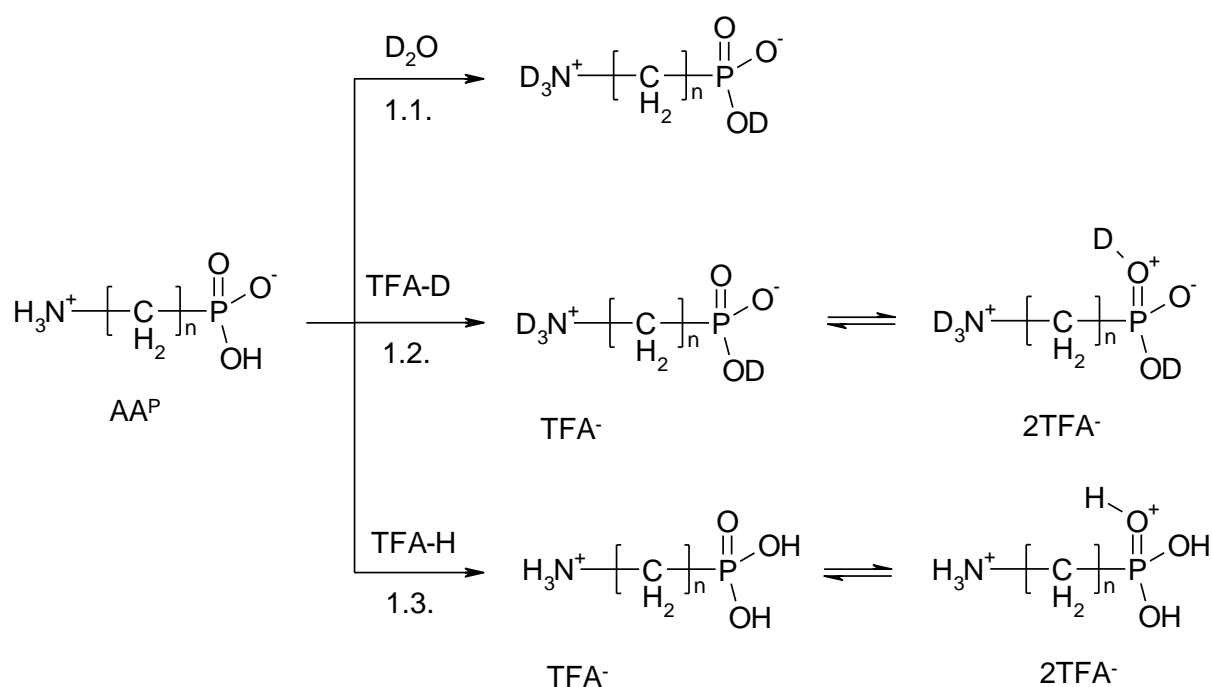
Załączone wyniki wskazują na analityczne znaczenie przesunięć chemicznych $\delta(\text{P})$ kwasów fosfonowych, pod warunkiem utrzymania stałych warunków pH roztworów.

W Tabeli 2-13. przedstawiono przesunięcia chemiczne $\delta(\text{P})$ uzyskane dla szeregu reprezentatywnych kwasów fosfonowych. Biorąc pod uwagę przebieg funkcji $\delta(\text{P})=f(\text{pH})$ wybrano 4 punkty pomiarowe, w których obserwowano płaski charakter krzywej, tzn.: 2 M KOH, bufor (przy 4,5 i 7 pH), oraz 2 M HCl.

2.4.3.3.2. SPEKTROSKOPIA ^1H -NMR

Badania spektroskopowe protonowego magnetycznego rezonansu jądrowego aminokwasów wykazały, że przesunięcie chemiczne protonów aminokwasów, a także stałe sprzężenia proton-proton zależą od stopnia dysocjacji cząsteczki. Na wykresie zależność przesunięcia chemicznego od wartości pH ma postać krzywej charakterystycznej dla krzywej miareczkowania. W pomiarach NMR aminokwasów, peptydów i białek używa się zazwyczaj H_2O lub D_2O , a jako standardów wewnętrznych m. in.: tetrametylosilanu (TMS), heksametylodisiloksanu (HMDS) i soli sodowej kwasu 4,4-dimetylo-4-silapentano-sulfonowego (DSS).

Widma ^1H NMR wolnych kwasów aminofosfonowych, ze względu na bardzo niską rozpuszczalność w rozpuszczalnikach organicznych, mogą być rejestrowane jedynie w roztworach wodnych, bądź w roztworach kwasu trifluoroctowego (TFA).



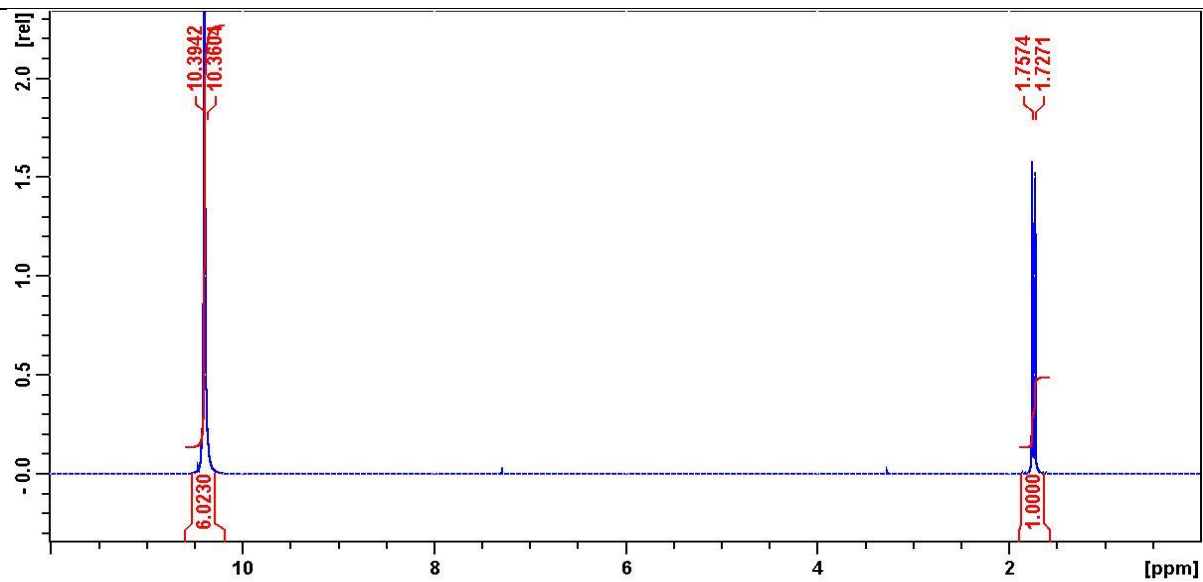
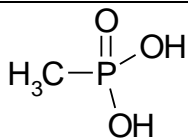
Schemat 2-8. Reakcje zachodzące w roztworach AA^{P} w D_2O (1.1.), TFA-D (1.2.) i TFA-H (1.3.)

W wodnych roztworach kwasów aminofosfonowych w D_2O lub $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{D}$ zachodzi szybka wymiana protonów grup fosfonowych i amoniowej na deuteron, w wyniku czego nie są obserwowane na widmie ^1H NMR (Sch. 2-8.).

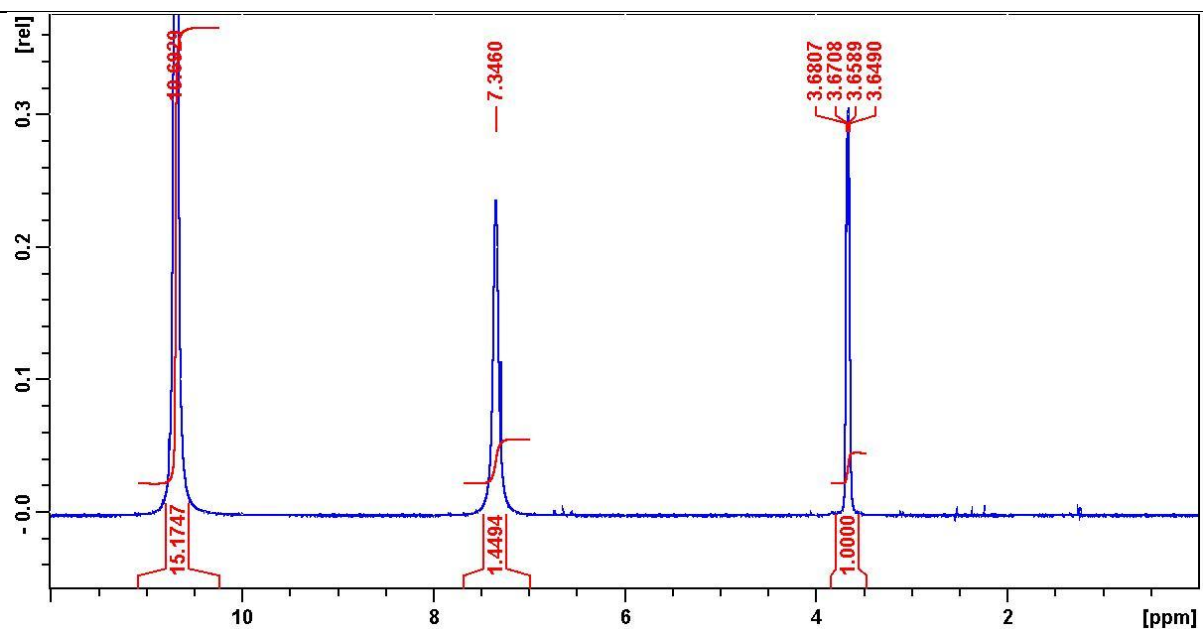
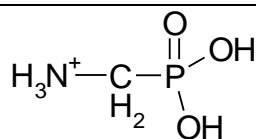
Widma kwasów aminofosfonowych w kwasach trifluorooctowym (TFA) lub trifluorometylo-sulfonowym (TFMSA) przedstawiają niższą rozdzielczość, jednakże zawierają protony grup amoniowych i amidowych, a także inne protony występujące w zakresie między 0 a 11 ppm. Przykłady wykorzystania TFA jako rozpuszczalnika do ^1H NMR dostarczają widma zamieszczone na Rysunkach: 2-7., 2-8. oraz Tabeli 2-14.

Tabela 2-14. Wykorzystanie TFA jako rozpuszczalnika do ^1H NMR			
Nr	Rozpuszczalnik	AA ^P	Literatura
1	CF ₃ CO ₂ H	ArGly ^P [Ar=Ph]	Berlin&Gaudy, 1968 ^[239]
		RCys ^P [R=C _n H _{2n+1} ; n=1-4]	Kudzin, 1981 ^[210]
		Cys ^P ; HCys ^P ; [Cys ^P] ₂ ; [HCys ^P] ₂	Kudzin&Stec, 1983 ^[171]
		RHcys ^P [R: C ₆ H ₁₃ -C ₁₆ H ₃₃]	Kudzin i w-cy, 1989 ^[105]
		1-AA ^P ; Ala(F) ^P ; Asp ^{P,P}	Kudzin&Majchrzak, 1989 ^[227]
		1-AA ^P	Oshikawa&Yamashita, 1989 ^[240]
2	CF ₃ SO ₃ H [zewn. lock na CDCl ₃]	Asp ^{P,P} ; Glu ^{P,P} ; Hglu ^{P,P}	Kudzin i w-cy, 1994 ^[112]
3	CF ₃ SO ₃ H/CD ₃ NO ₂ (10:1)	Cys(SO ₃ H) ^P ; Hcys(SO ₃ H) ^P	Kudzin i w-cy, 2005 ^[241]
4	CF ₃ CO ₂ H-CDCl ₃ (3:4)	(AC)-AA ^P : (AC): Ac, Prp, Btr, Piv, Bz; AA ^P : Gly ^P ; Ala ^P ; Val ^P ; Pgly ^P , Phe ^P	Kudzin i w-cy, 2005 ^[242]
		TFA-AA ^P [AA ^P : Gly ^P ; Ala ^P ; Val ^P ; Pgly ^P , Phe ^P]	Kudzin i w-cy, 2007 ^[243]
		mca-AA ^P ; Gly-AA ^P ; MeGly-AA ^P ; Me ₂ Gly-AA ^P ; H ₂ N-Gly ^P -AA ^P [AA ^P : Gly ^P ; Ala ^P ; Val ^P ; Pgly ^P , Phe ^P]	Kudzin i w-cy, 2008 ^[244]
		MPA; Gly ^P ; 2-Ala ^P ; 3-Hala ^P ; 4-Nval ^P	Kudzin i w-cy, 2012 ^[238]

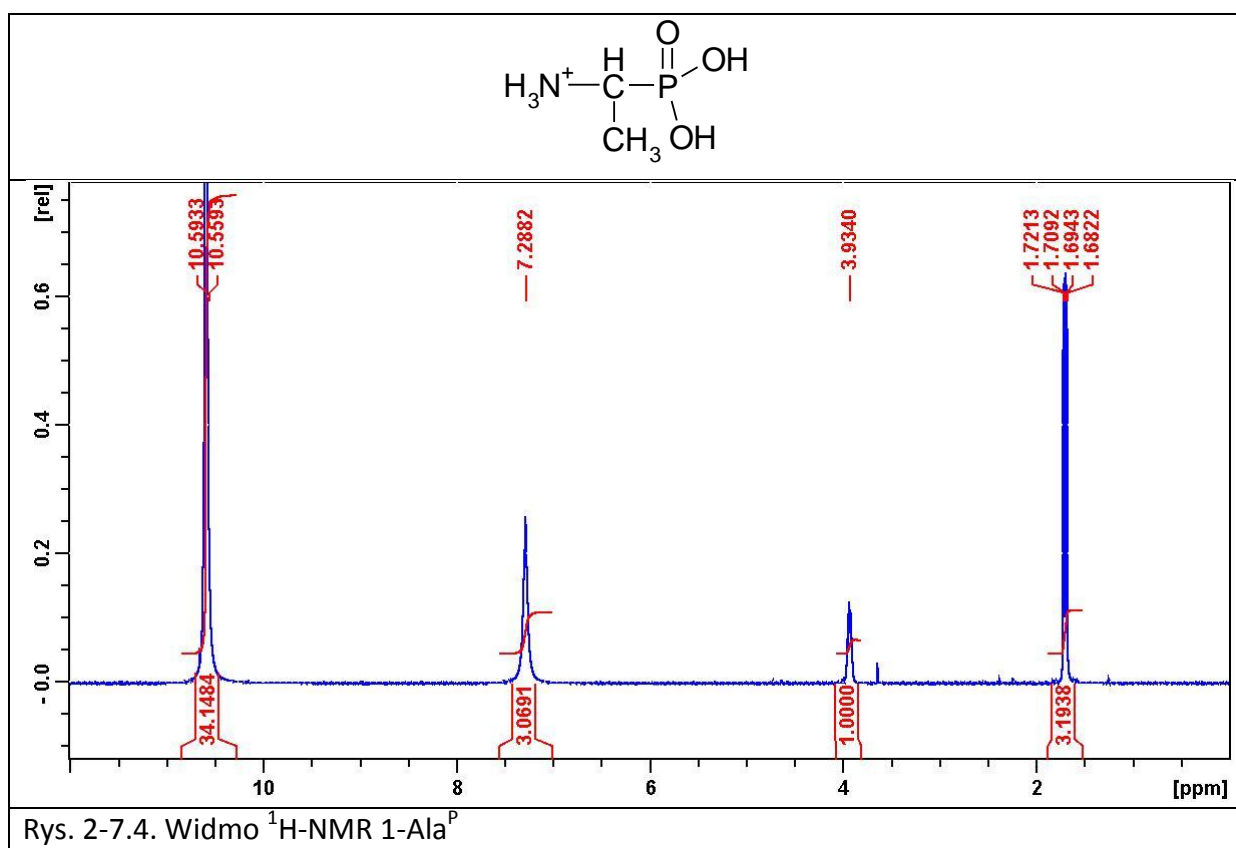
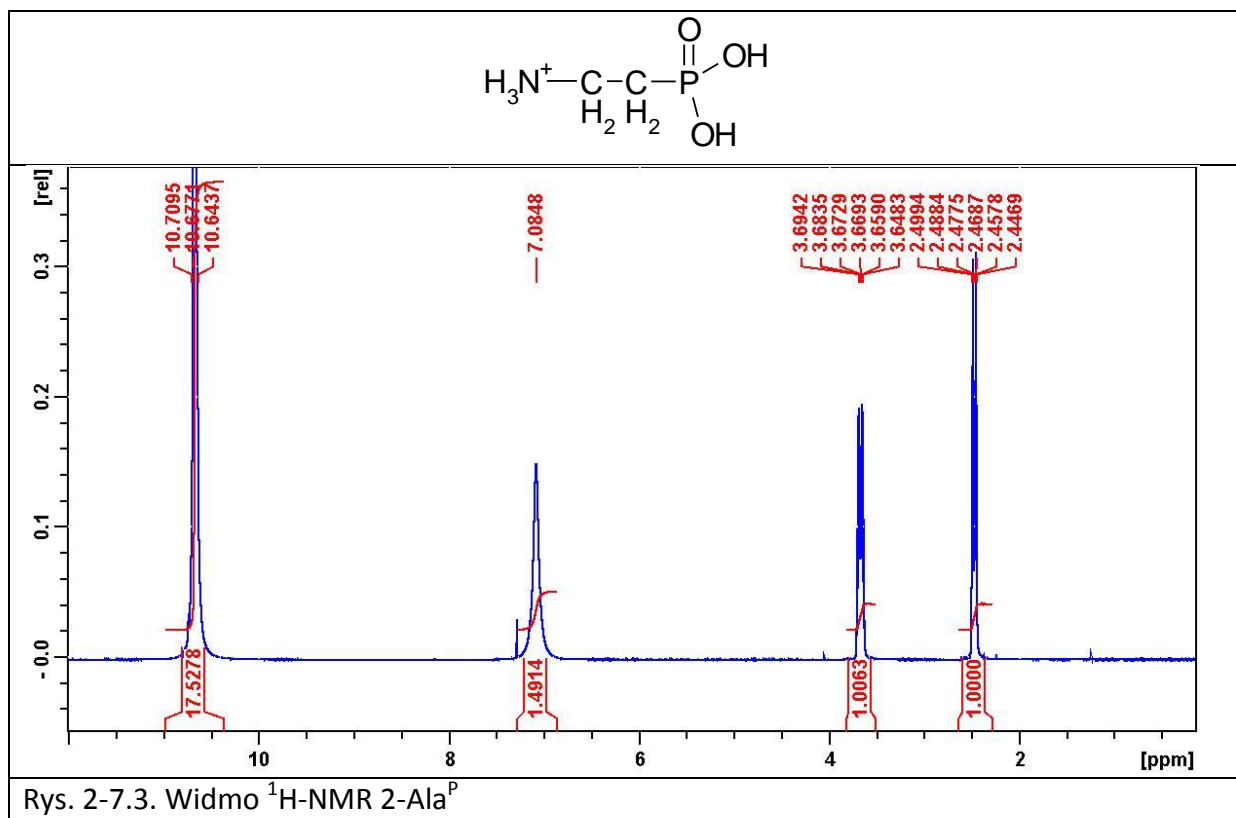
Rysunki 2-7. Widma $^1\text{H-NMR}$: MPA i kwasów $\omega\text{-AA}^{\text{P}}$ w roztworze TFA-CDCl_3 (1:1)

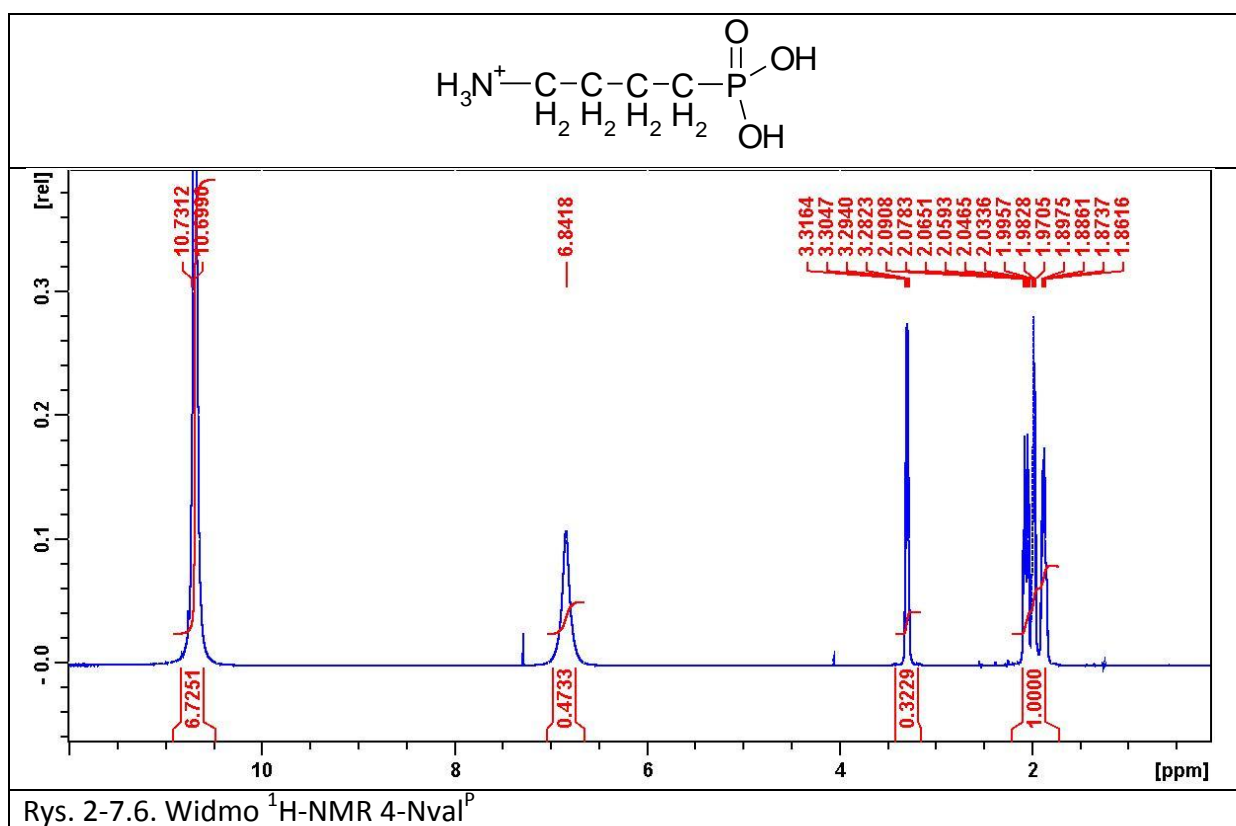
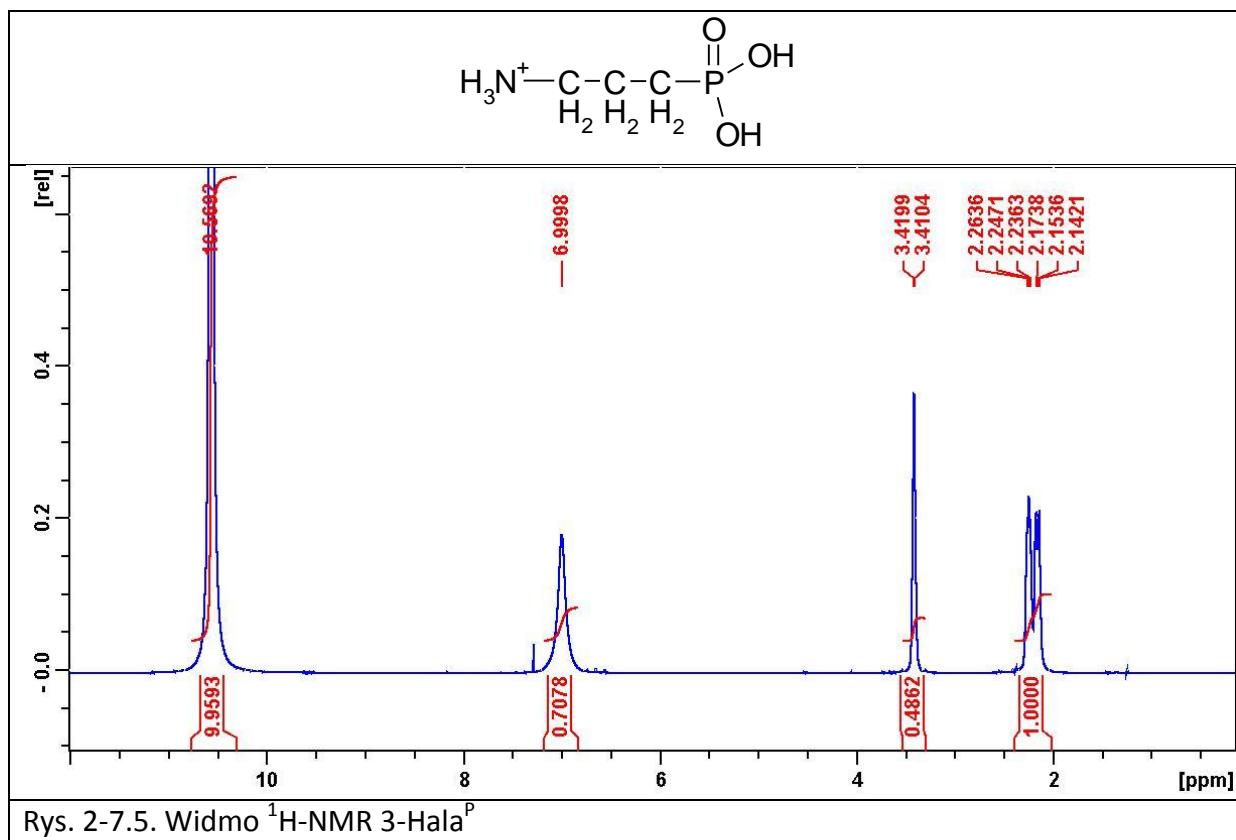


Rys. 2-7.1. Widmo $^1\text{H-NMR}$ $\text{Me-PO}_3\text{H}_2$

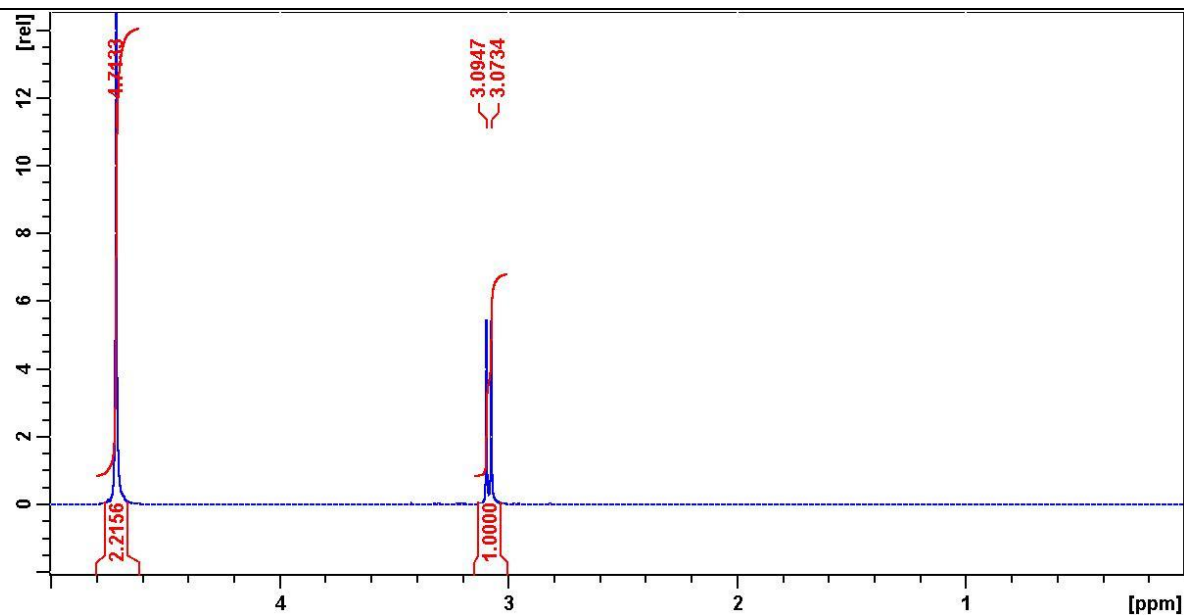
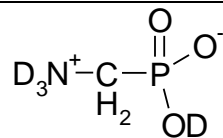


Rys. 2-7.2. Widmo $^1\text{H-NMR}$ Gly^{P}

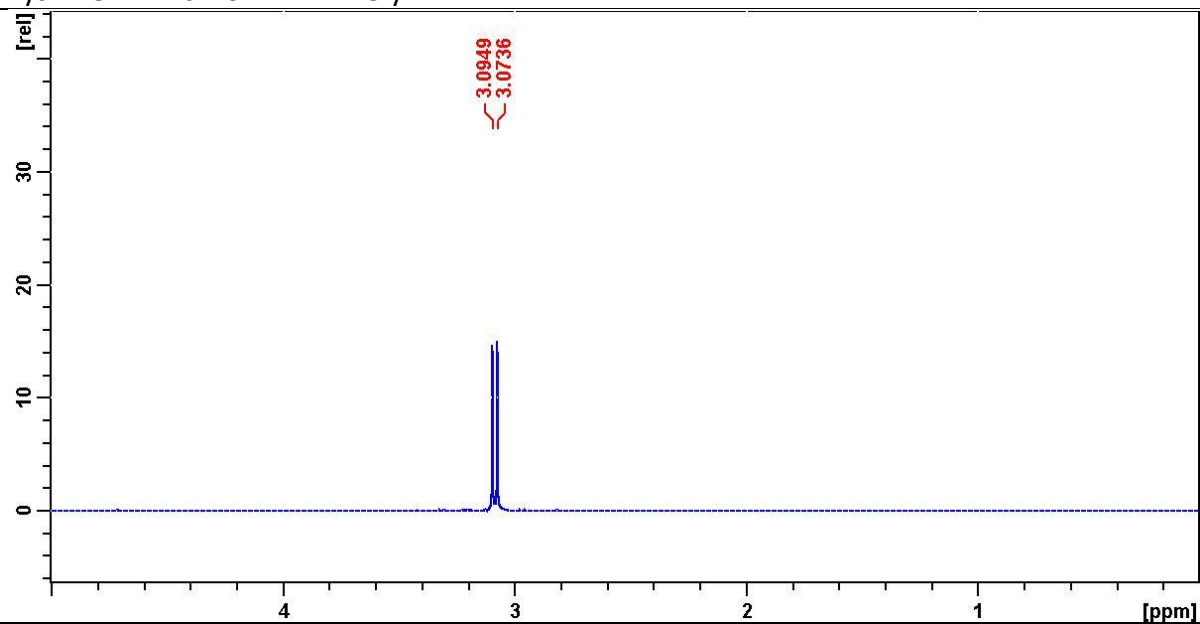




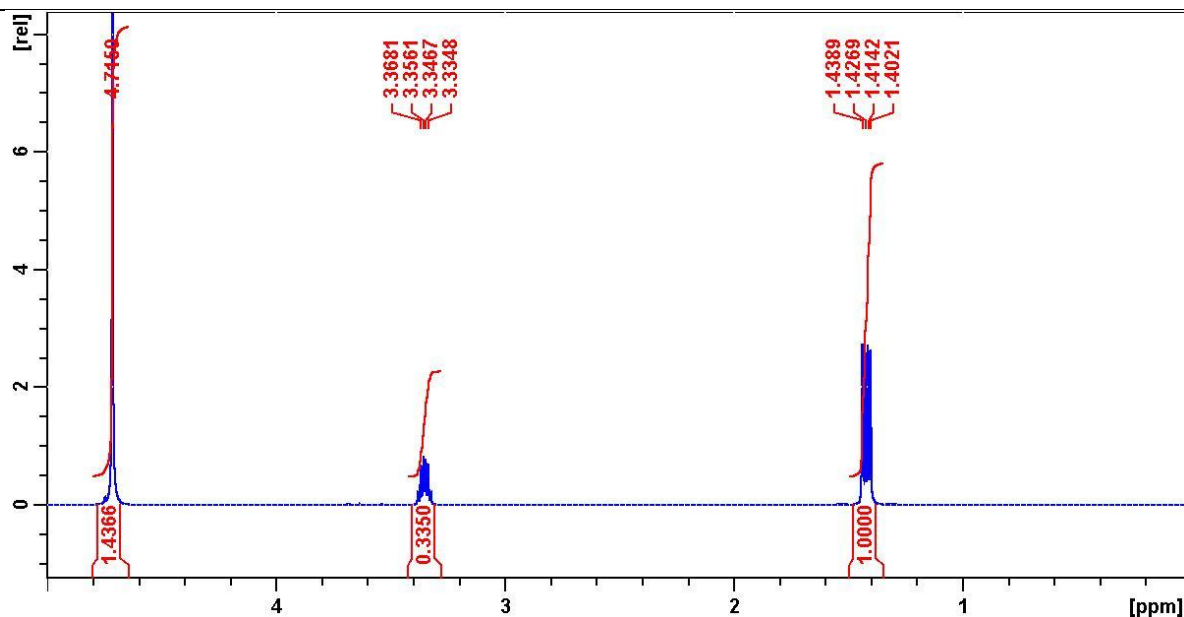
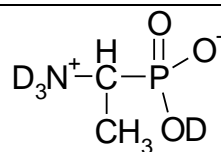
Rysunek 2-8. Widma $^1\text{H-NMR}$ kwasów $\omega\text{-AA}^{\text{P}}$ w roztworze D_2O



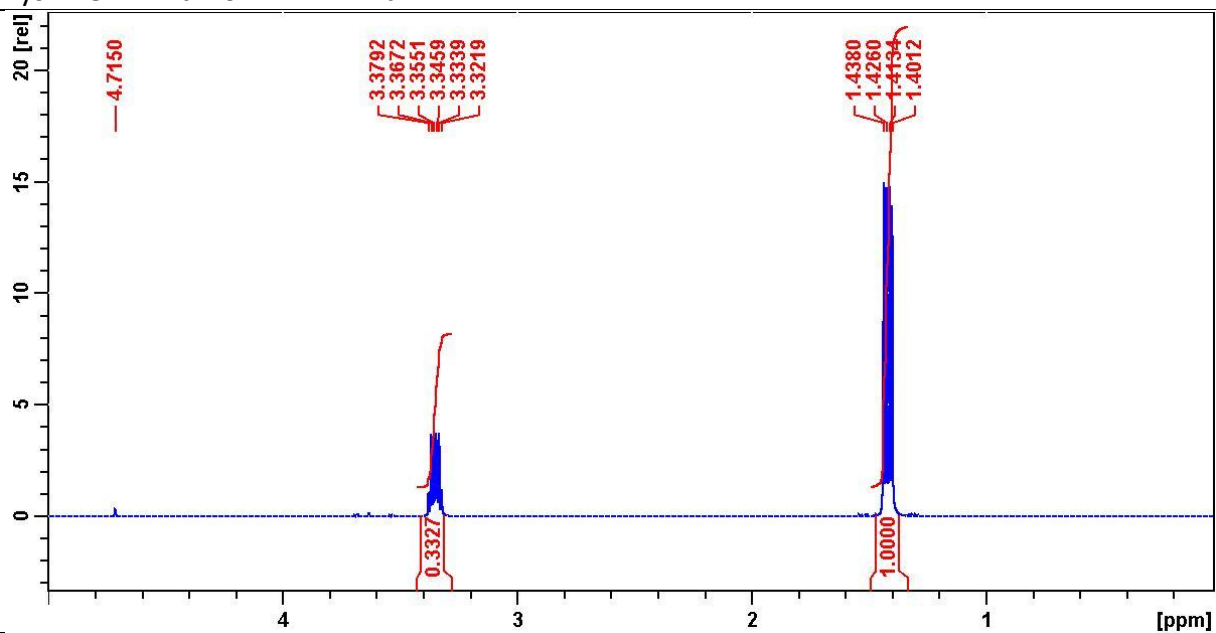
Rys. 2-8.1. Widmo $^1\text{H-NMR}$ Gly^{P}



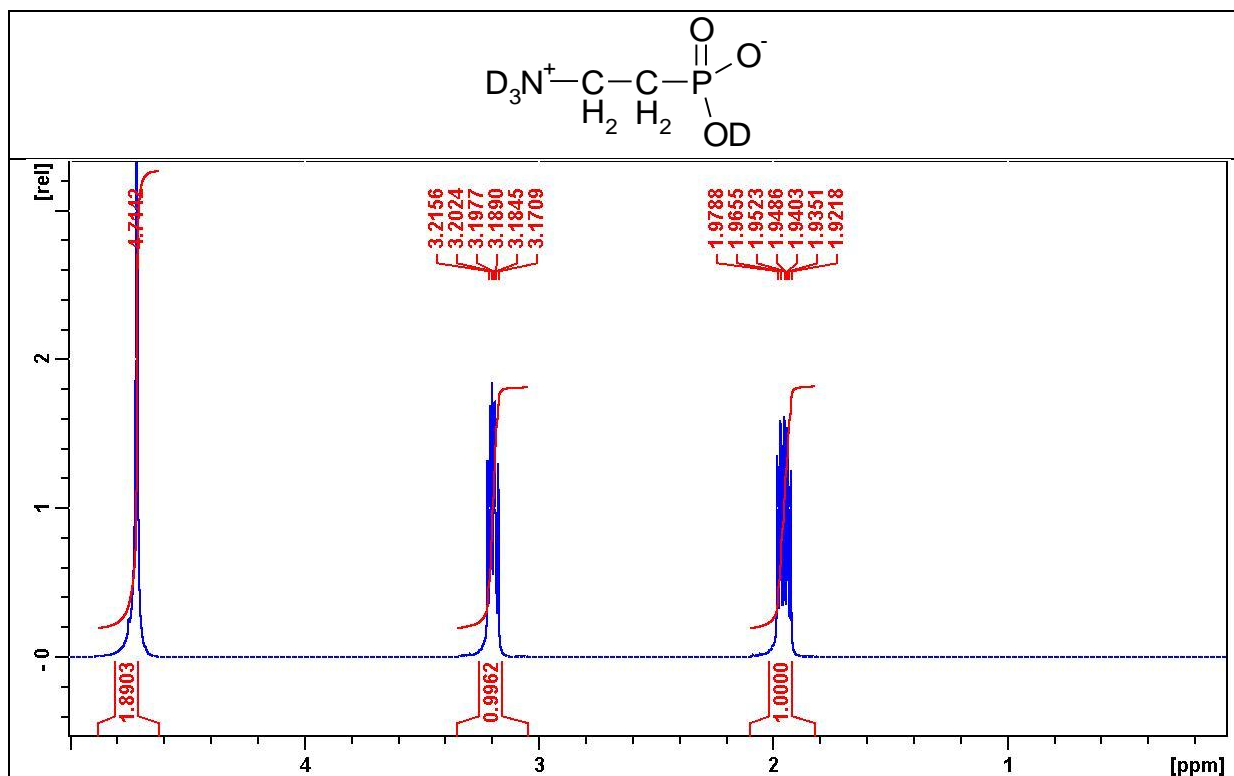
Rys. 2-8.1.1. Widmo $^1\text{H-NMR}$ Gly^{P} po supresji sygnału 4,74 ppm (pochodzącego od wody)



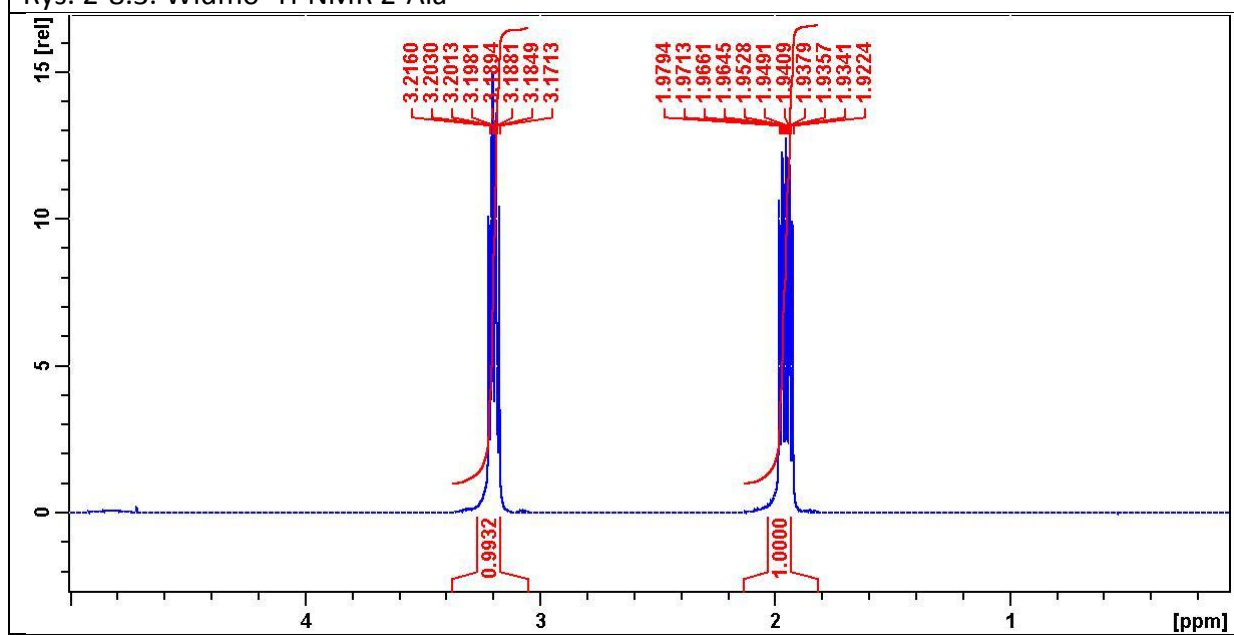
Rys. 2-8.2. Widmo $^1\text{H-NMR}$ Ala^P



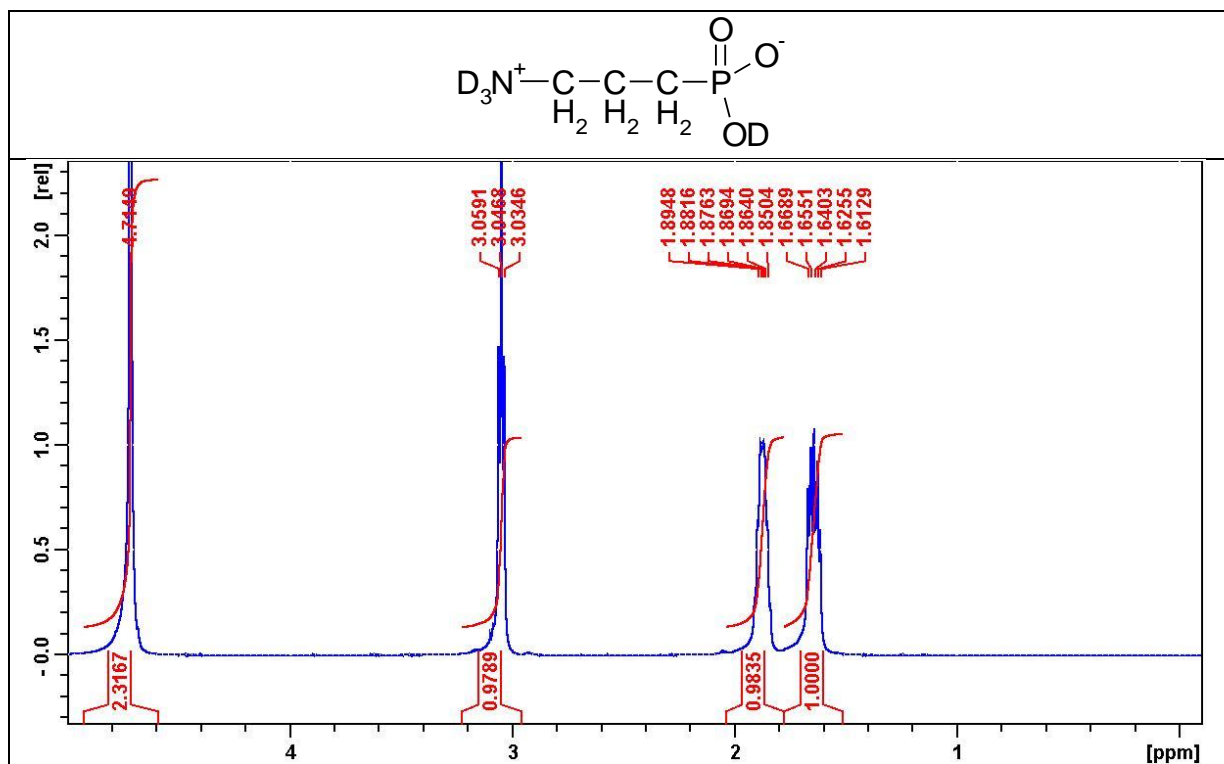
Rys. 2-8.2.1. Widmo $^1\text{H-NMR}$ Ala^P po supresji sygnału 4,74 ppm (pochodzącego od wody)



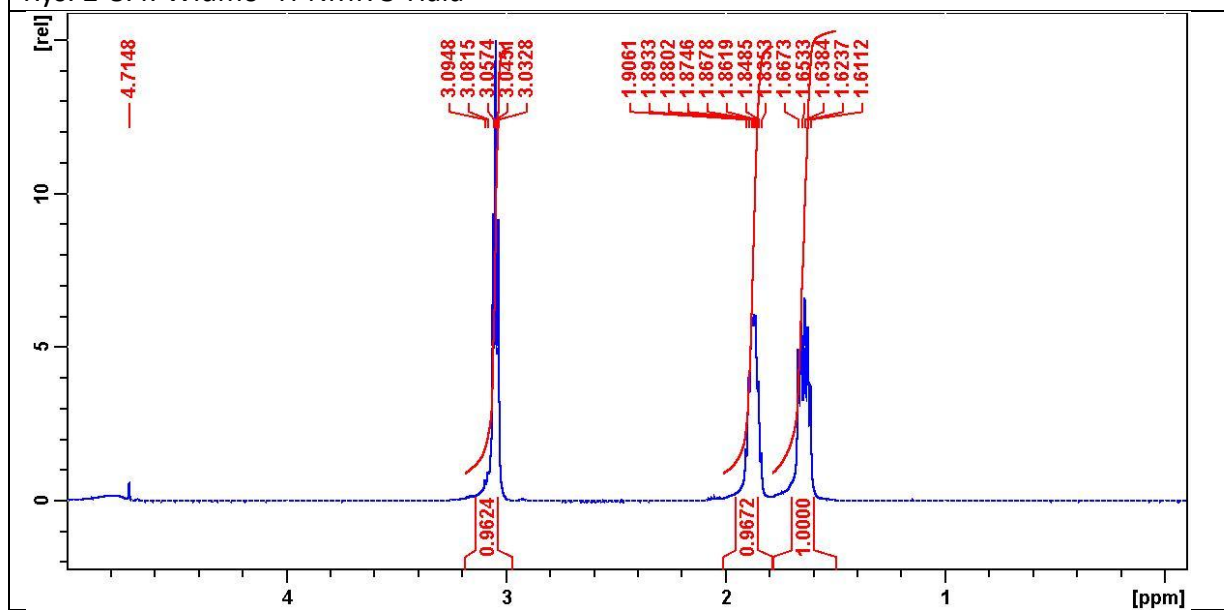
Rys. 2-8.3. Widmo $^1\text{H-NMR}$ 2-Ala^P



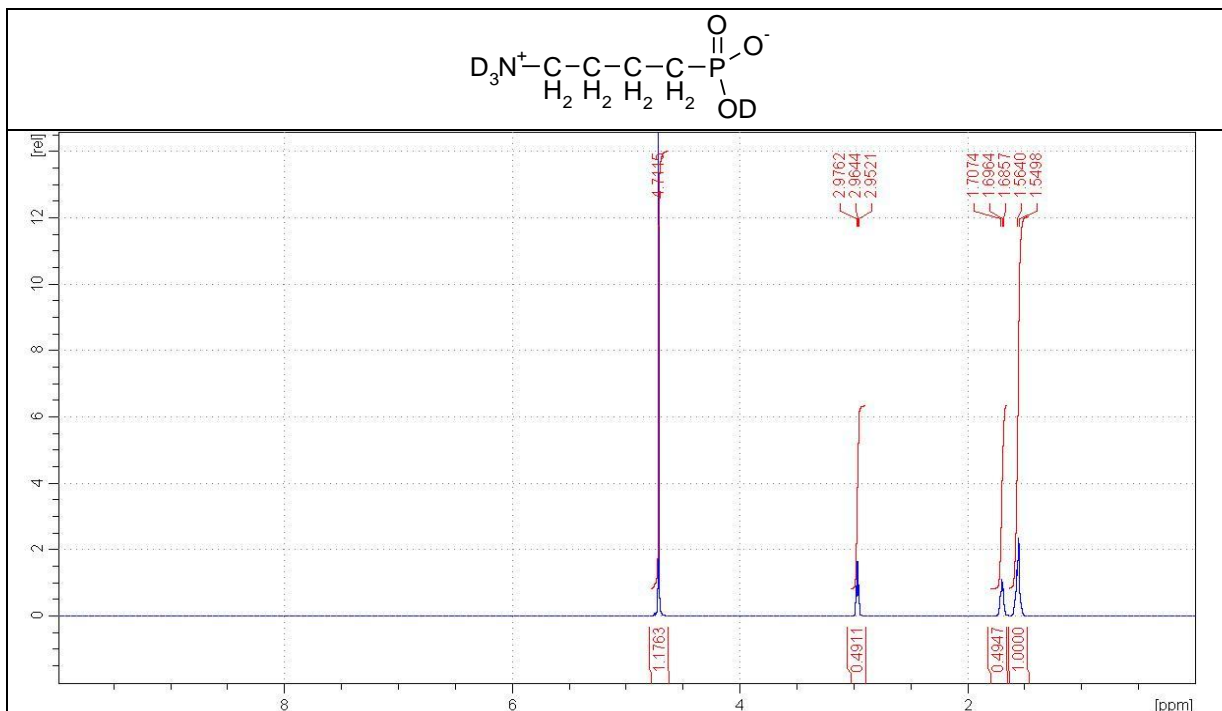
Rys. 2-8.3.1. Widmo $^1\text{H-NMR}$ 2-Ala^P po supresji sygnału 4,74 ppm (pochodzącego od wody)



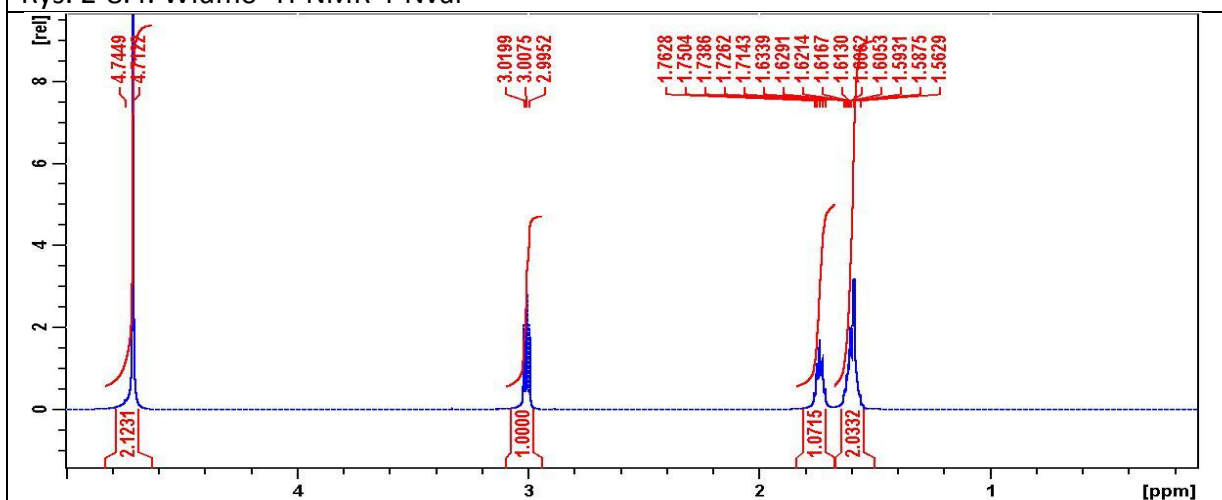
Rys. 2-8.4. Widmo $^1\text{H-NMR}$ 3-Hala^P



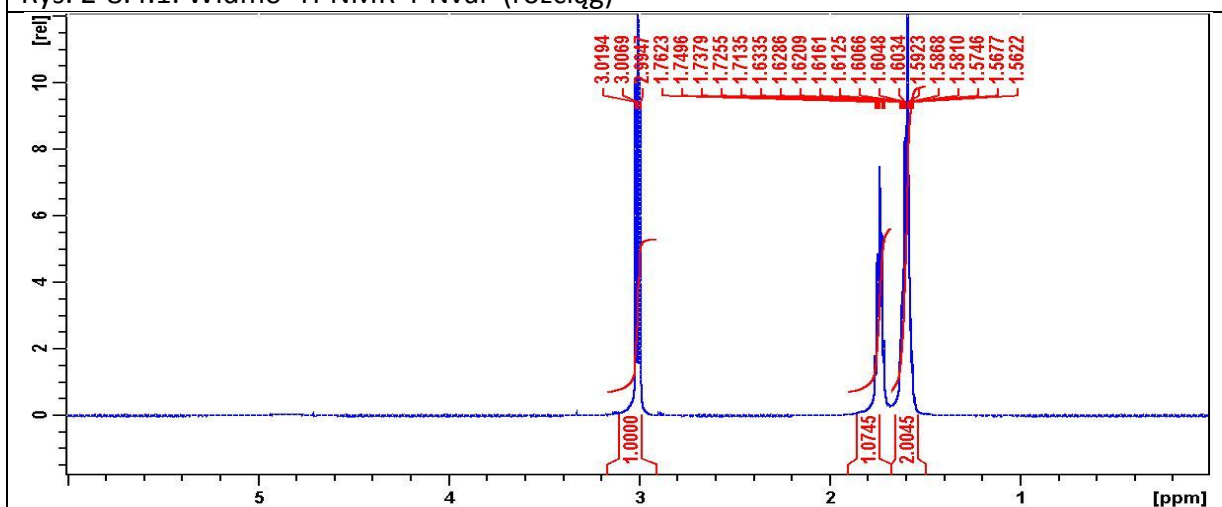
Rys. 2-8.4.1. Widmo $^1\text{H-NMR}$ 3-Hala^P po supresji sygnału 4,74 ppm (pochodzącego od wody)



Rys. 2-8.4. Widmo $^1\text{H-NMR}$ 4-Nval^P



Rys. 2-8.4.1. Widmo $^1\text{H-NMR}$ 4-Nval^P (rozcąg)



Rys. 2-8.4.2. Widmo $^1\text{H-NMR}$ 4-Nval^P po supresji sygnału 4,74 ppm (pochodzącego od wody)

2.4.3.3.3. SPEKTROSKOPIA ^{13}C -NMR

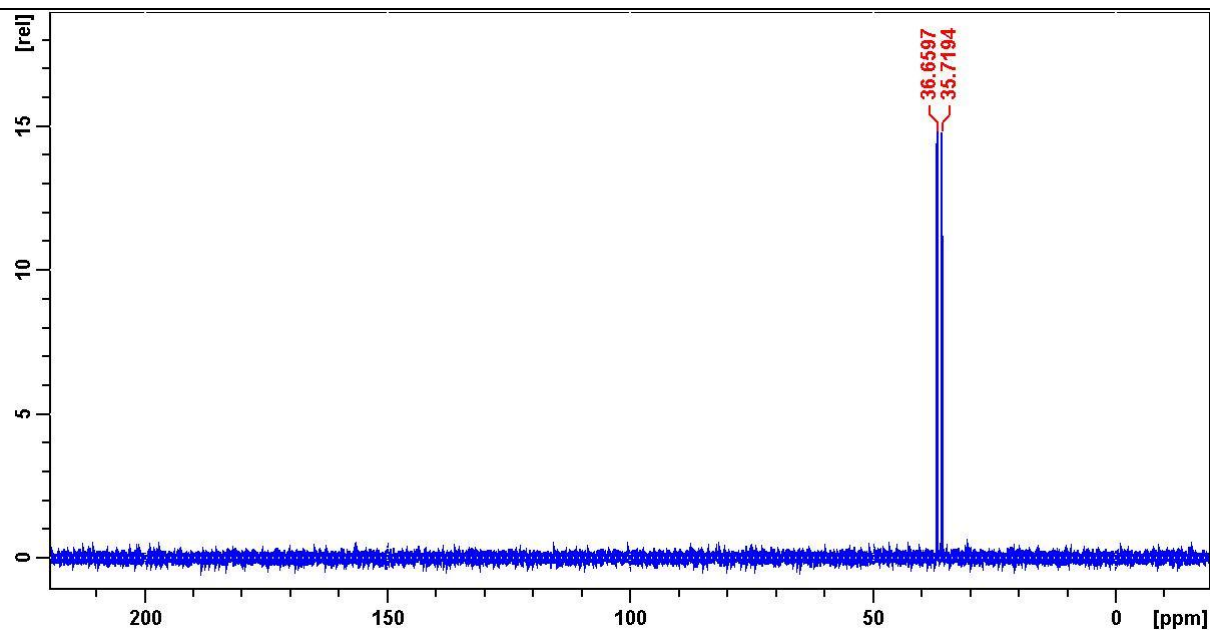
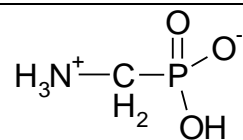
Spektroskopia ^{13}C NMR stosowana była do charakterystyki analitycznej kwasów aminofosfonowych i pochodnych (Tab. 2-15.).

Tabela 2-15. Spektroskopia ^{13}C -NMR i ^{15}N -NMR kwasów aminofosfonowych				
Nr	AA ^P	NMR	Rozp.	Literatura
1	Gly ^P	^{13}C NMR	D ₂ O	Cameron i w-cy, 1993 ^[154] ; Berte-Verrando i w-cy, 1995 ^[245]
		^{15}N NMR	solid	Harris i w-cy, 1989 ^[246]
2	Ala ^P	^{13}C NMR	D ₂ O	Huber i w-cy, 1985 ^[218] ; Głowacki&Topolski, 1989 ^[247] ; Hanessian&Bennani, 1994 ^[248] ; Cameron i w-cy, 1993 ^[154]
3	Val ^P	^{13}C NMR	D ₂ O	Huber i w-cy, 1985 ^[218] ; Huber&Vasella, 1987 ^[249] ; Głowacki &Topolski, 1989 ^[247]
4	Leu ^P	^{13}C NMR	D ₂ O	Głowacki&Topolski, 1989 ^[247] ; Seebach i w-cy, 1989 ^[250]
5	Ileu ^P	^{13}C NMR	D ₂ O	Hammerschmidt&Wuggenig, 1999 ^[216]
6	Pro ^P	^{13}C NMR	D ₂ O	Petrillo&Spitzmiller, 1979 ^[177] ; Kaname i w-cy, 2001 ^[251]
7	Phe ^P	^{13}C NMR	D ₂ O	Green i w-cy, 1996 ^[252]
8	Met ^P	^{13}C NMR	D ₂ O	Huber&Vasella, 1987 ^[249]
9	3-Hala ^P	^{13}C NMR	D ₂ O	Głowacki&Topolski, 1989 ^[247]
10	Ser ^P	^{13}C NMR	D ₂ O	Hammerschmidt i w-cy, 2000 ^[253]
11	Thr ^P	^{13}C NMR	D ₂ O	Bongini i w-cy, 1996 ^[220] ; Matczak-Jon i w-cy, 1998 ^[254]
			H ₂ O	Simov i w-cy, 2002 ^[255]
12	Asp ^{βP}	^{13}C NMR	D ₂ O	Smith i w-cy, 1990 ^[201] ; Yokamatsu i w-cy, 1996 ^[256]
13	Asn ^P	^{13}C NMR	D ₂ O	Vasella&Voefray, 1982 ^[228]
14	Glu ^{γP}	^{13}C NMR	D ₂ O	Yokamatsu i w-cy, 1996 ^[256]
15	Arg ^P	^{13}C NMR	D ₂ O	Cowart, 1996 ^[223]

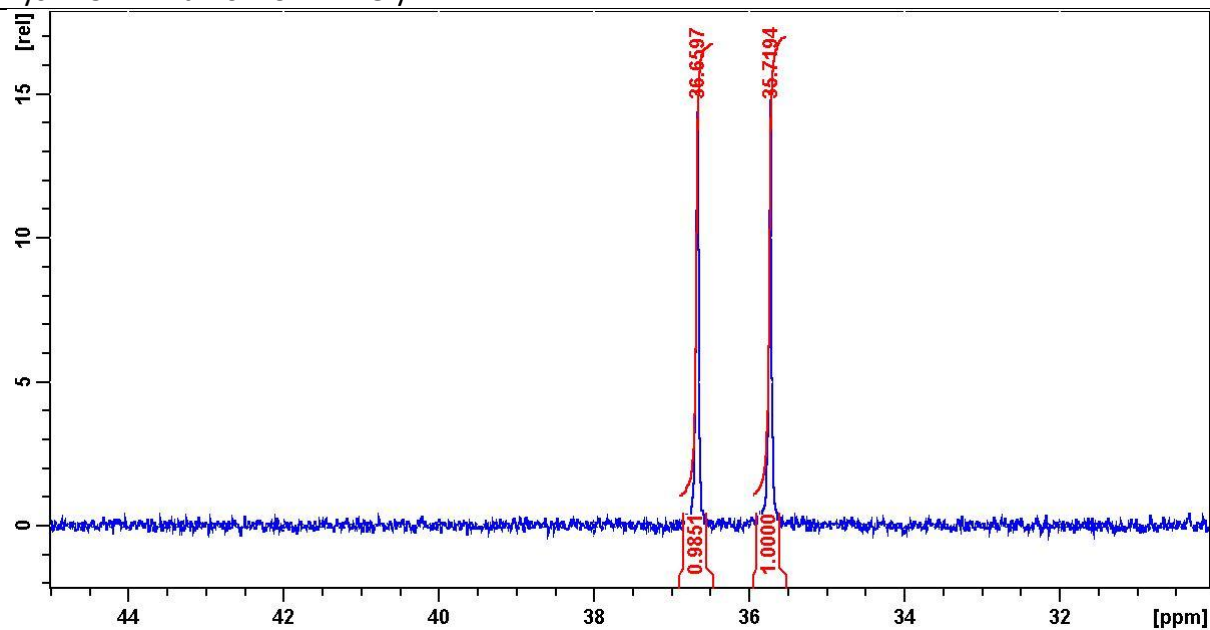
Dla aminokwasów karboksylowych sygnały rezonansowe (standardem jest TMS) znajdują się w następujących obszarach: dla węgla C α 40-65 ppm; dla węgla C β 17-70 ppm; dla węgla C γ i C δ 17-50 ppm. Sygnały aromatycznych i heteroaromatycznych atomów węgla występują w zakresie 110-140 ppm [Jakubke&Jeschkeit, 1989]^[211].

Widma ^{13}C NMR dla reprezentatywnych aminokwasów fosfonowych przedstawione są na Rysunkach 2-9.

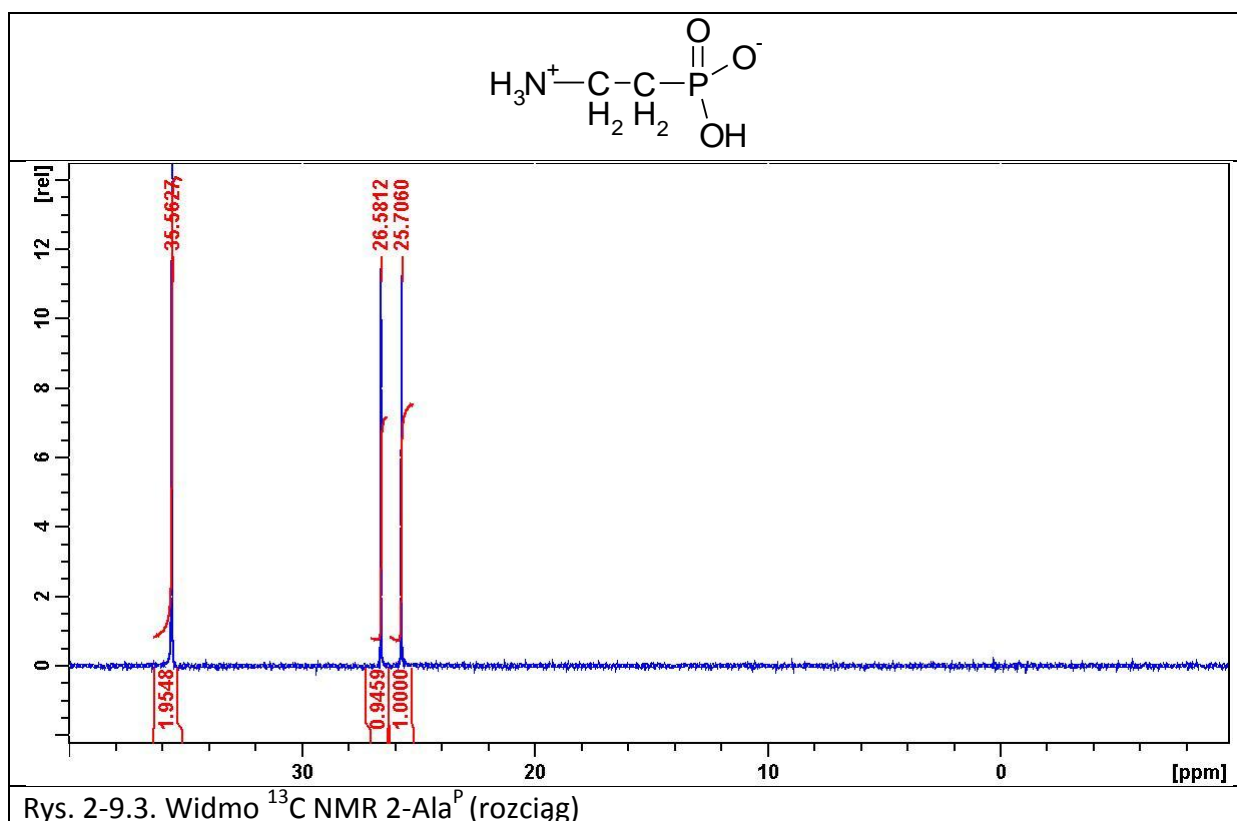
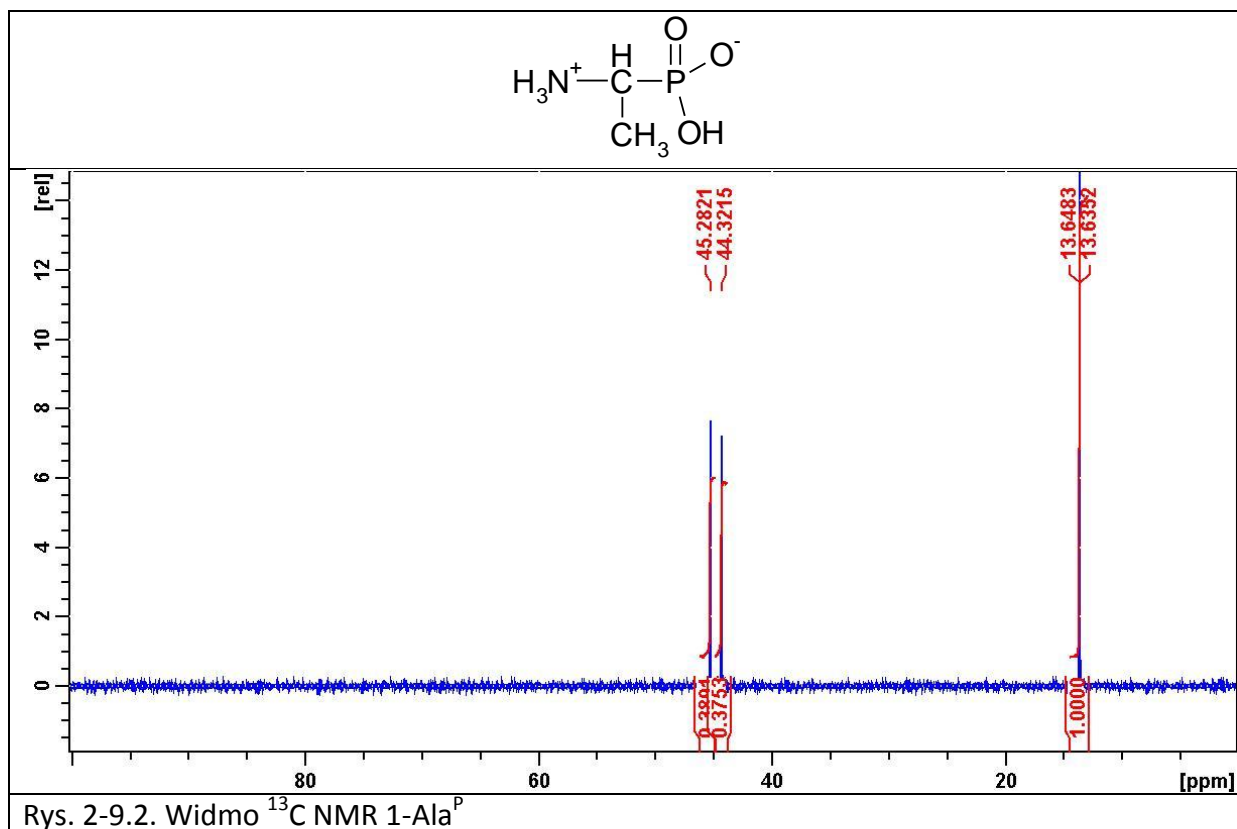
Rysunki 2-9. Widma ^{13}C NMR serii kwasów ω -aminoalkilofosfonowych (D_2O)

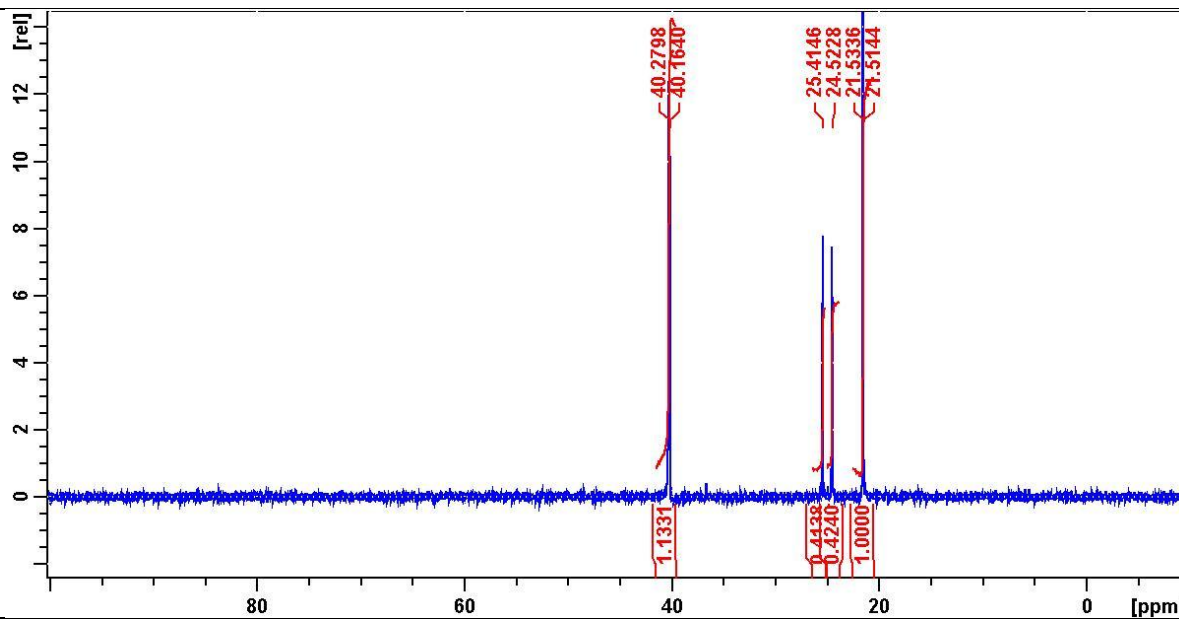
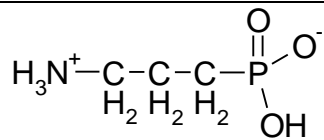


Rys. 2-9.1. Widmo ^{13}C NMR Gly^P

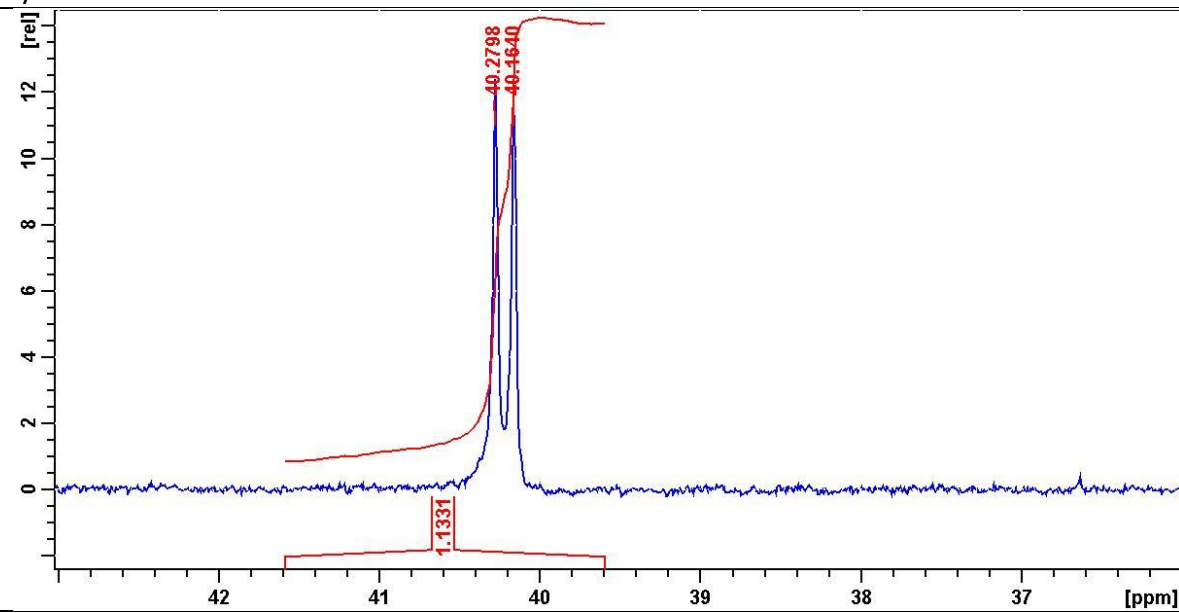


Rys. 2-9.1.1. Widmo ^{13}C NMR Gly^P (rozcziąg)

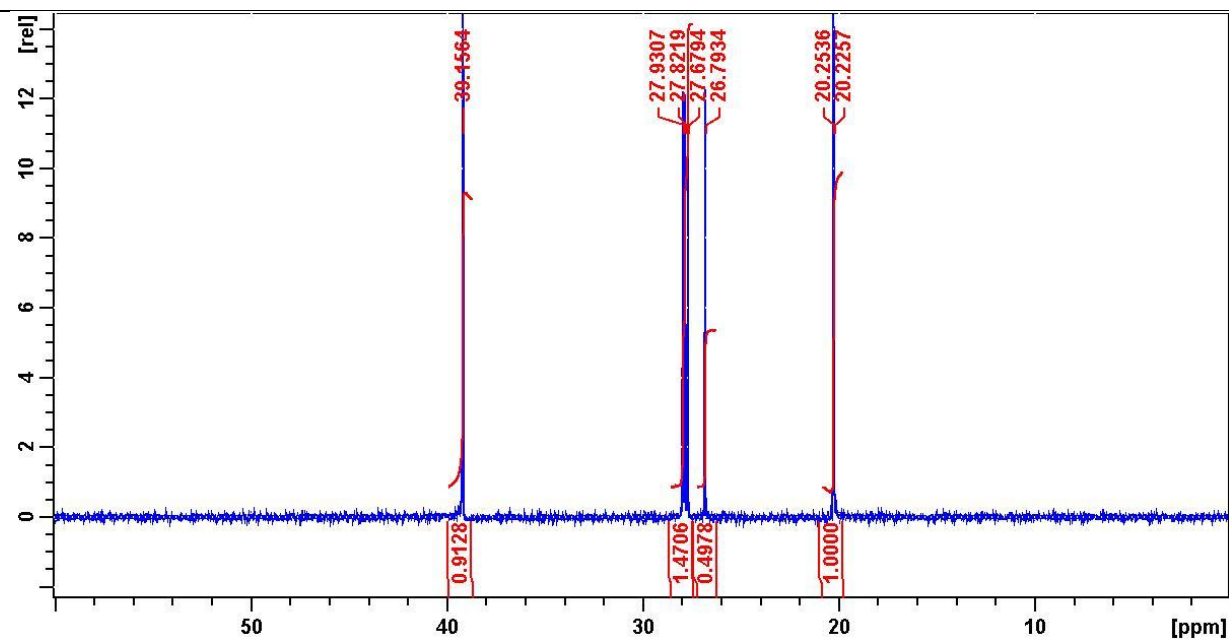
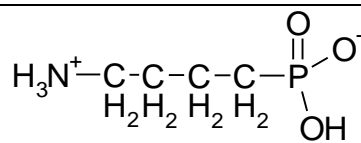




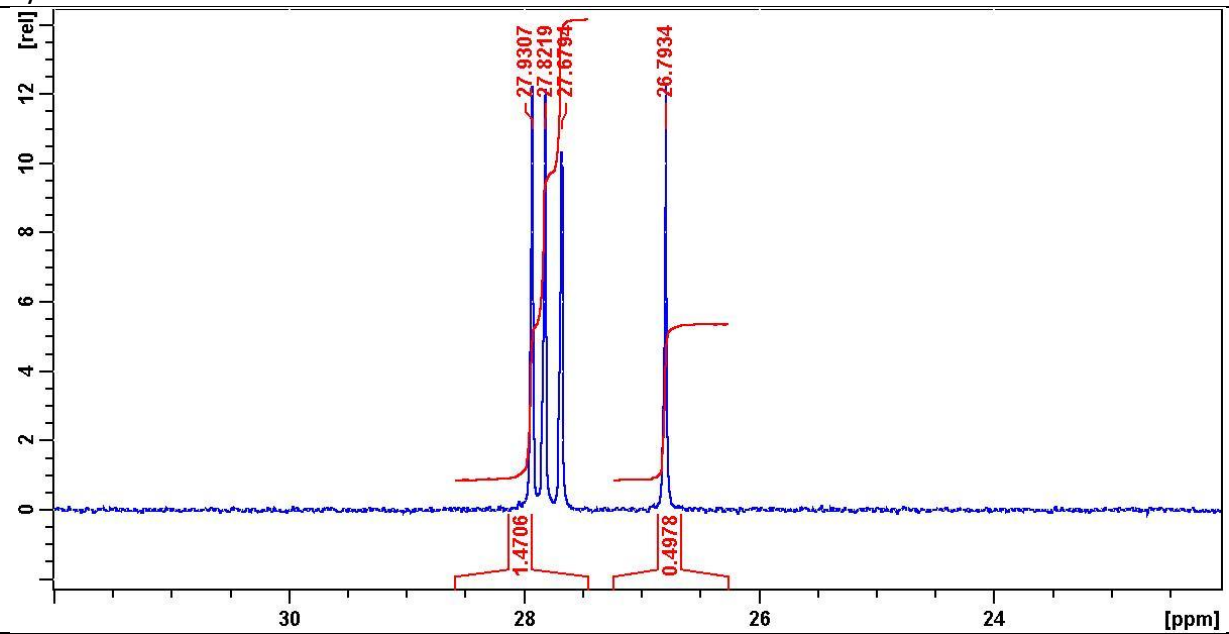
Rys. 2-9.4. Widmo ^{13}C NMR 3-Hala^P



Rys. 2-9.4.1. Widmo ^{13}C NMR 3-Hala^P (rozc.)



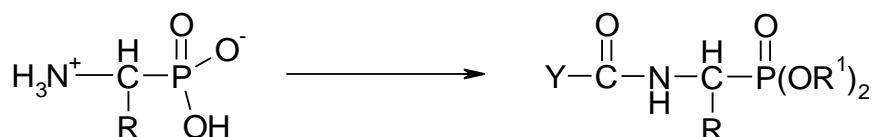
Rys. 2-9.5. Widmo ^{13}C NMR 4-Nval^P



Rys. 2-9.5.1. Widmo ^{13}C NMR 4-Nval^P (rozc.)

2.4.4. SPEKTROMETRIA MAS W CHARAKTERYZACJI KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH

Charakter wewnętrznych soli kwasów aminofosfonowych ograniczał zastosowanie standardowych technik MS do ich analizy. Niska lotność kwasów aminofosfonowych uniemożliwiała bezpośrednią analizę na drodze GC-MS czy EI-MS. Nielotne AA^P przeprowadzano w lotne pochodne, z zablokowanymi funkcjami fosfonową i aminową, zwykle diestry amino- lub *N*-acylaminoalkanofosfonianowe [Kudzin&Sochacki, 2000]^[108] (Sch. 2-9).



Schemat 2-9. Derywatywacja nielotnych kwasów aminofosfonowych do lotnych pochodnych

Rozwój spektrometrii mas w ostatnich dekadach, w tym opracowanie nowych technik analizy, jak FAB-MS czy ES-EI-MS umożliwił również analizę wolnych aminokwasów fosfonowych i innych funkcjonalizowanych kwasów fosfonowych (Tab. 2-16.).

Tabela 2-16. Główne jony widma MS-FAB reprezentatywnych kwasów aminofosfonowych [Cameron i w-cy, 1988; 1993] ^[153, 154]					
AA ^P	m/z vs względna intensywność [%]				
	M + H	M + H-17	M + H-80	M+G	2 M+1
Gly ^P	112 (100)	95 (18)	30 (27)	204 (48)	223 (2)
Ala ^P	126 (100)	109 (1)	44 (63)	218 (89)	251 (7)
Hala ^P	140 (70)	-	58 (100)	232 (36)	279 (16)
2-Ala ^P	126 (100)	-	-	218 (35)	251 (5)
3-Hala ^P	140 (100)				
4-Nvala ^P	156 (100)		72 (2)		
6-Nhleu ^P	183 (100)		100 (15)		

VG Micromass ZAB-1F instrument
[matryca glicerynowa, wiązka Xe (8 kV)]
[MH-82]⁺ = [MH- H₃PO₃]⁺

2.4.5. STEREOCHEMIA KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH

Porównanie budowy: kwasów 1-aminoalkilofosfonowych i aminokwasów białkowych (L-AA^C, konfiguracja R) przedstawiono w Tabeli 2-17.

Zestawienie skręcalności optycznej ($[M]_D$ i/lub $[\alpha]_D$) aminokwasów białkowych (AA^C) i fosfonowych (AA^P) przedstawiono w Tabeli 2-18.

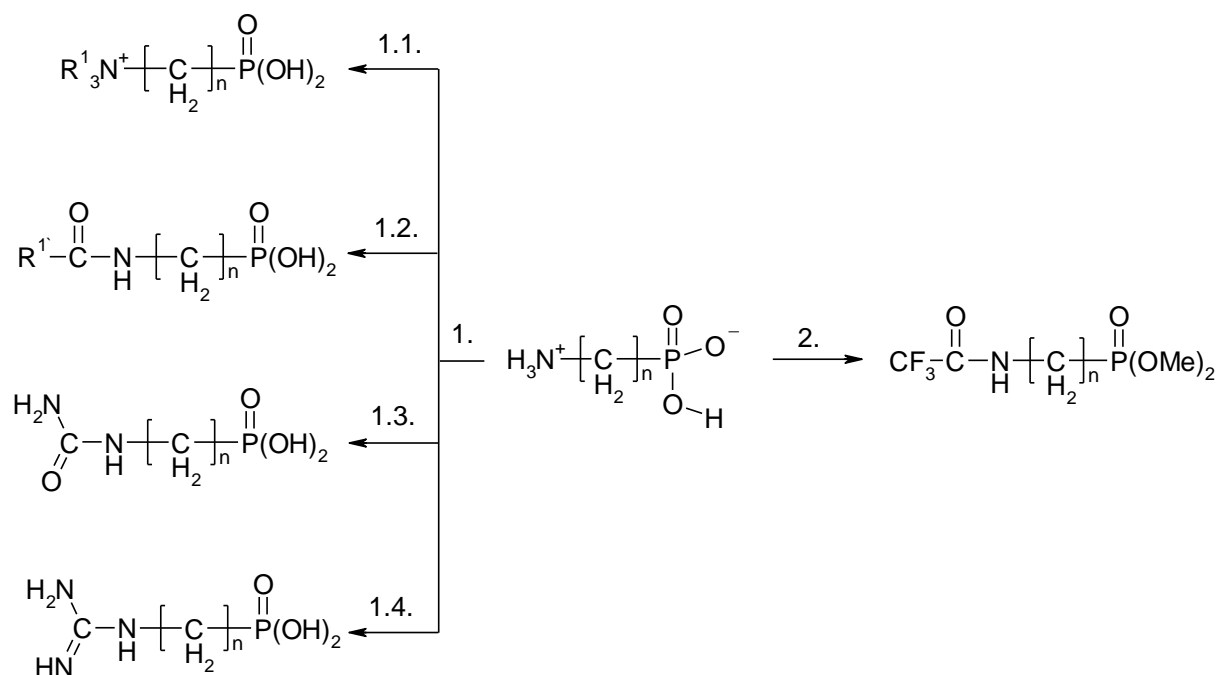
$\begin{array}{c} \text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{R} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{H}\cdots\text{C}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{R} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{PO}_3\text{H}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{R} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{PO}_3\text{H}_2 \\ \\ \text{H}\cdots\text{C}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{R} \end{array}$
L-AA ^C	S-AA ^C [wyj. Cys]	L-AA ^P	R-AA ^P [wyj. Cys]

AA ^C	Skręcalności optyczne [Jakubke&Jeschkeit, 1989] ^[211]		AA ^P	Skręcalności optyczne [Dhavan&Redmore,1987] ^[101]	
	H ₂ O ^a	5 M HCl _{aq} ^{/a}		R	S
Ala	1,6 (1,8)	13,0 (14,6)	Ala ^P	-17,0 ^(1M NaOH)	17,0 ^(1M NaOH)
Val	6,6 (5,6)	33,1 ()	Val ^P	+0,6 ^(1M NaOH)	-0,6 ^(1M NaOH)
Leu	-14,4 (-11,0)	21,0 (16,0)	Leu ^P	-28,0 ^(1M NaOH)	27,0 ^(1M NaOH)
Ile	16,3 (12,4)	51,8 (39,5)	Ile ^P	-8,5 ^(1M NaOH) [Hammerschmids&Wuggenig, 1999] ^[216]	
Pro	-99,2 (-86,2)	-69,5 (-60,4)	Pro ^P	64,0 ^(1M NaOH)	-60,0 ^(1M NaOH)
Phe	-57,0 (-34,5)	-7,4 (-4,5)	Phe ^P	-49,0 ^(1M NaOH)	52,0 ^(1M NaOH)
Ser	-7,9 (-7,5)	15,9 (15,1)	Ser ^P	-30,0 ^(1M NaOH)	35,0 ^(1M NaOH)
Thr	-33,9 (-28,5)	-17,9 (-15,0)	Thr ^P	-10,2 ^(H2O) [Simov i w-cy, 2002] ^[255]	
Tyr		-18,1 (-10,0)	Tyr ^P	-53,0 ^(1M HCl)	
Met	-14,9 (-9,8)	34,6 (23,2)	Met ^P	-40,4 ^(1M NaOH)	38,1 ^(1M NaOH)
Cys	-20,0 (-16,5)	7,9 (6,5)	Cys ^P		
Arg	21,8 (12,5)	48,1 (27,6)	Arg ^P		
Lys	19,7 (13,5)	37,9 (25,9)	Lys ^P		
His	-59,8 (-38,5)	18,3 (11,8)	His ^P		
Trp	-68,8 (-33,7)	-5,7 (-2,8)	Trp ^P		
Asp	6,7 (5,0)	33,8 (25,4)	Asp ^{B-P}	-32,6 ^(H2O)	
Asn	-7,4 (5,6)	-7,4 (-5,6)	Asn ^{B-P}	-33,0 ^(H2O)	
Glu	17,7 (12,6)	46,8 (31,8)	Glu ^{V-P}	-20,0 ^(1M NaOH)	21,0 ^(1M NaOH)
[M] _D lub ([α] _D)					

2.5. WŁAŚCIWOŚCI CHEMICZNE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

Właściwości chemiczne aminokwasów fosfonowych są określone przez obecność w cząsteczce grupy fosfonowej i grupy aminowej, a w mniejszym stopniu: rzędowości grupy aminowej, oddalenia grup aminowych-kwasowych i rodzaju łańcucha bocznego.

Główne typy opisanych reakcji chemicznych AA^P przedstawiono na Schemacie 2-10.



Schemat 2-10. Reprezentatywne reakcje kwasów ω -aminoalkilofosfonowych [Kudzin i w-cy, 2012]:

- 1.1. *N*-Metylowanie aminoestru $\text{Me}_2\text{-Ala}^{\text{P}}(\text{OEt})_2$ z następczą hydrolizą [Myers&Jibril, 1957]^[257];
- 1.2. $\text{R} = 2\text{-Ala}^{\text{P}}$, $\text{R}^1 = \text{Ph}$ [Isbell i w-cy, 1972]^[258]; 2-Ala^{P} , 3-Hala^{P} $\text{R}^1 = \text{Bn}$ [Yamauchi i w-cy, 1986]^[259];
- 1.3. $\text{R} = [\text{CH}_2]_{11}\text{NHCH}_2\text{CH}_2$: ($\text{AA}^{\text{P}}/\text{H}_2\text{NCN}/\text{NaOH}_{\text{aq}} = 1:8:3$; temp. wrz., 20h) [Cameron i w-cy, 1988]^[153];
- 1.4. $\text{R} = [\text{CH}_2]_n\text{NHCH}_2\text{CH}_2$ ($n =$): $\text{AA}^{\text{P}}/S\text{-Metyloizotiomocznik}/\text{NaOH}_{\text{aq}} = 1:2:4$; 60-90°C, 4h [Cameron i w-cy, 1988]^[153]; [AA^{P} : $n = 1-3$];
2. ($n = 1-3$); Gluf/TFA- $\text{AA}^{\text{P}}(\text{OMe})_2$ [Kudzin i w-cy, 1994]^[115]

Podobne reakcje zachodzą dla aminokwasów fosfonowych serii $\alpha\text{-AA}^{\text{P}}$. Reaktywność pochodnych kwasów aminofosfonowych jest przedmiotem przeglądów Pietrowa [Pietrow, 1975]^[7], Kuhkara [Kuhkar&Sosholonok, 1987]^[10] i Kafarskiego [Kafarski, 1985]^[86].

3. BADANIA WŁASNE

Rozdział dotyczy badań nad wybranymi właściwościami fizyko-chemicznymi oraz biologicznymi kwasów aminofosfonowych podjętych w celu unifikacji charakterystyki tych związków:

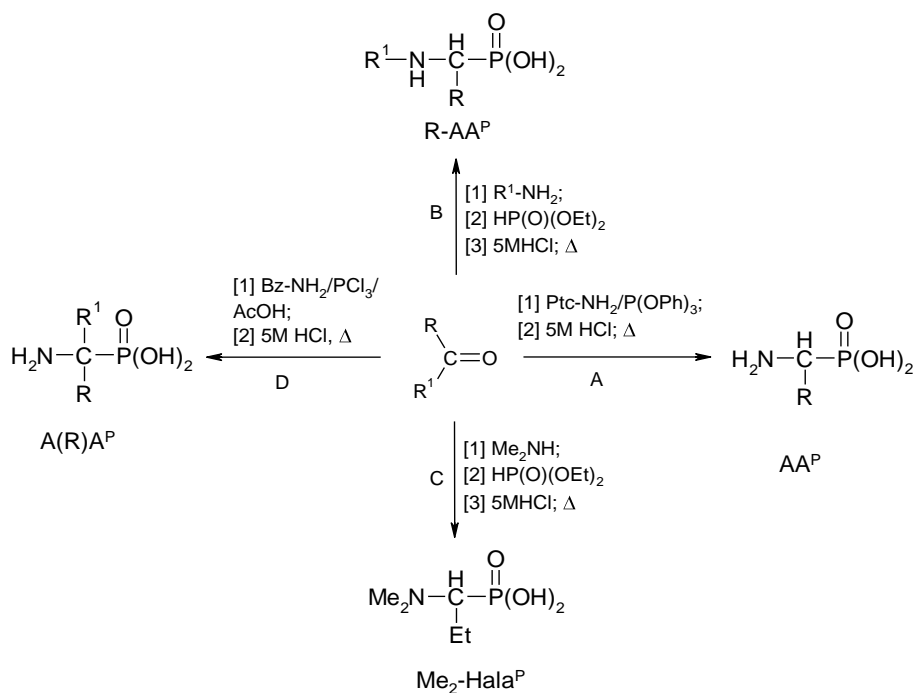
- w obszarze niepublikowanych danych w dostępnej literaturze naukowej;
- w obszarze fragmentarycznych danych literaturowych;
- literaturowych stwierdzeń o dużym stopniu ogólności.

Wykonane badania stanowią również bazę graficzną przeglądu nt. kwasów aminofosfonowych, w przygotowaniu.

3.1. SYNTEZA/RESYNTETA WYBRANYCH REPREZENTATYWNYCH KWASÓW

1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH I POCHODNYCH

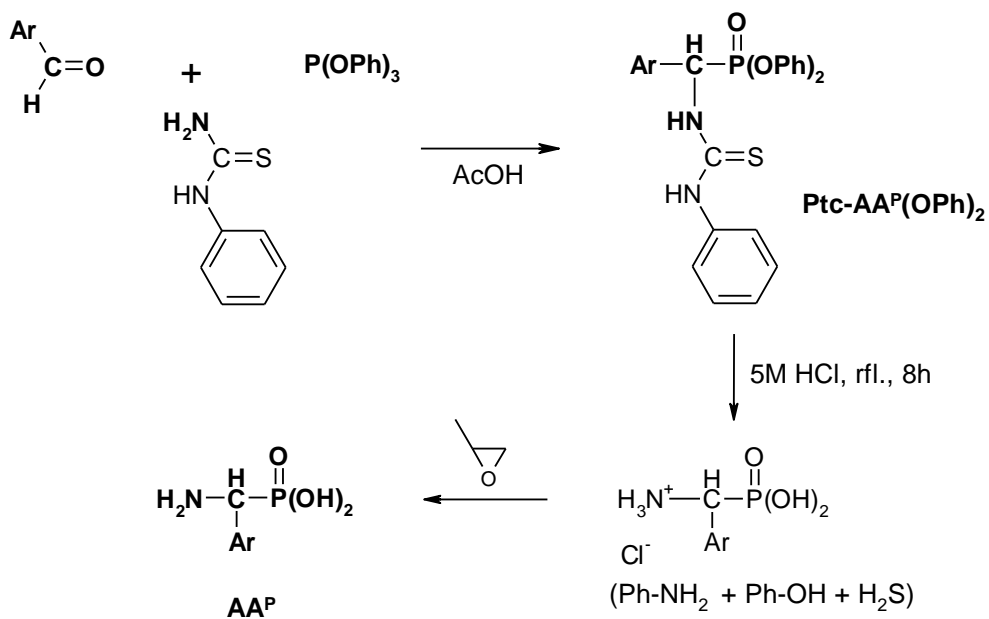
Do badań nad charakterystyką fizyko-chemiczną kwasów 1-aminoalkilofosfonowych oraz biologiczną kwasów 1-(*N*-acyloamino)alkilofosfonowych wytypowano modelowe związki, otrzymywane wg. procedur zilustrowanych na Schematach: 3-1. (AA^P), 3-2. [(AC)-AA^P].



Schemat 3-1. Synteza kwasów 1-aminoalkilofosfonowych

3.1.1. METODA PTC-AMINOFOSFONIANOWA

Kwasy 1-aminoaralkilofosfonowe otrzymano wg. metody Ptc-aminofosfonianowej, polegającej na trójskładnikowej kondensacji aldehydu, *N*-fenyloitiomocznika i fosforynu tryfenylowego do fenylotiokarbamoiloaminofosfonianów Ptc-AA^P(OPh)₂, dalej degradowanych do odpowiednich aminokwasów (Sch. 3-1.1.) [Kudzin&Stec, 1978]^[171].



Schemat 3-1.1. Synteza kwasów 1-aminoaralkilofosfonowych wg. metody Ptc-amino-fosfonianowej

Tabela 3-1.1. Otrzymane kwasy 1-aminoaralkilofosfonowe						
Pgly ^P	<i>o</i> -MePgly ^P	<i>m</i> -MePgly ^P	<i>p</i> -MePgly ^P	2,4,6-Me ₃ -Pgly ^P	4-HO ₂ C-Pgly ^P	Phe ^P
<i>o</i> -NO ₂ Pgly ^P	<i>m</i> -NO ₂ Pgly ^P	<i>p</i> -NO ₂ Pgly ^P	<i>p</i> -BrPgly ^P	<i>o</i> -ClPgly ^P	1-Nphgly ^P	2-Nphgly ^P
Związki nowe						

3.1.2. HYDROFOSFONYLOWANIE IMIN

Kwasy 1-(*N*-alkiloamino)alkilofosfonowe otrzymywano na drodze hydrofosfonylowania odpowiednich imin i następczą hydrolityczną degradację produktów pośrednich 1-(*N*-alkiloamino)alkilofosfonianów [R-AA^P(OEt)₂].

Zapis reakcji oraz aminokwasy otrzymane tą metodą przedstawiono w Tabeli 3-1.2.

Tabela 3-1.2. Synteza kwasów 1-(<i>N</i> -alkiloamino)alkilofosfonowych				
$ \begin{array}{c} R^2-NH_2 \\ + \\ R-C(=O)-R^1 \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} R \\ \\ R^2-N=C \\ \\ R^1 \end{array} \xrightarrow{H-P(OEt)_2} \begin{array}{c} R^1 \\ \\ R^2-N-C-P(OEt)_2 \\ \\ R \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} R^1 \\ \\ R^2-N-C-P(OH)_2 \\ \\ R \end{array} $				
$R^2AA^P(OEt)_2$				
R^2AA^P				
$Me_3C-NH-CH(Me)-C(=O)-P(OH)_2$	$Me-NH-CH(Et)-C(=O)-P(OH)_2$	$Et-NH-CH(Et)-C(=O)-P(OH)_2$	$Et-NH-CH(Me)-C(=O)-P(OH)_2$	$Me-NH-CH(Ph)-C(=O)-P(OH)_2$
tBu-Ala^P	Me-Hal^P	Et-Hal^P	Et-Mal^P	Me-Pgl^P
Związki nowe				

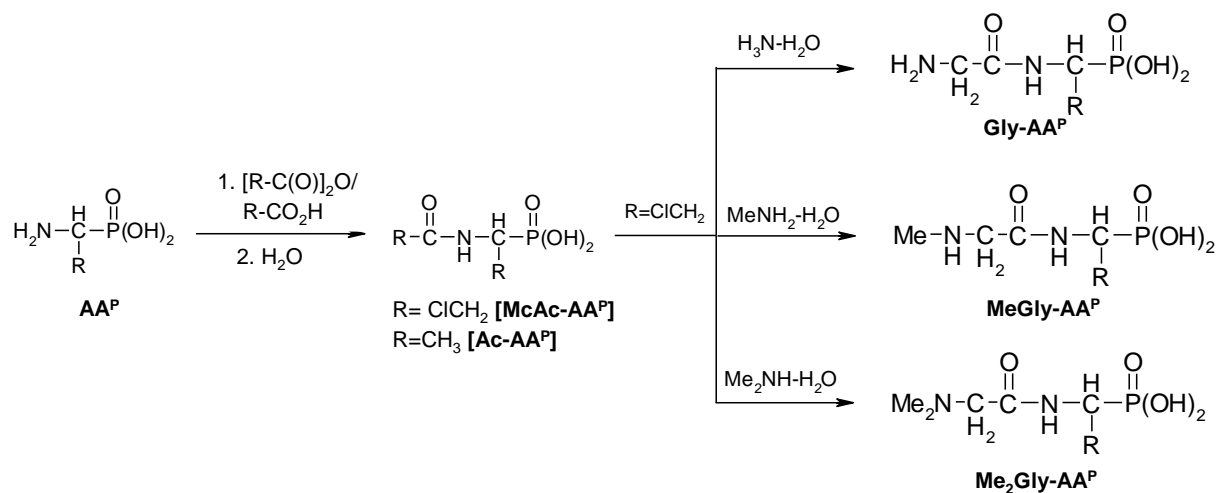
3.1.3. REAKCJA AMIDOALKILOWANIA PCI₃

Kwasy: Gly^P, Mala^P, 1-Ach^P otrzymano wg procedury Pikla-Oleksyszyna [Oleksyszyn, 1986]^[174] i Soroki [Soroka, 1987]^[2], wychodząc ze związku karbonylowego, amidu i trichloru fosforu. Zapis reakcji oraz aminokwasy otrzymane tą metodą przedstawiono w Tabeli 1.3.

Tabela 3-1.3. Synteza kwasów 1-aminoalkilofosfonowych wg. procedury Oleksyszyna/Soroki [Oleksyszyn, 1986] ^[174] ; Soroka, 1987 ^[2]		
$ \begin{array}{c} R \\ \\ R-C=O \\ \\ R \end{array} + \begin{array}{c} AcNH_2 \\ \\ AcCl \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} R \\ \\ R-C-OAc \\ \\ NHAc \end{array} \xrightarrow{\begin{array}{l} [1] PCI_3/AcOH; \\ [2] 5M HCl; rfl. \end{array}} \begin{array}{c} R \\ \\ H_2N-C-P(OH)_2 \\ \\ R \end{array} $		
$H_2N-CH_2-C(=O)-P(OH)_2$	$H_3C-CH(CH_3)-C(=O)-P(OH)_2$	
Gly^P	Mala^P	1-Ach^P

3.1.4. SYNTEZA KWASÓW 1-(N-ACYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH

Kwasy 1-aminoalkilofosfonowe poddawane *N*-acylowaniu działaniem bezwodnika octowego bądź chlorooctowego, ulegały konwersji do pochodnych 1-(*N*-acyloamino)alkilofosfonowych (Sch. 3-2).



Schemat 3-2. Schemat konwersji kwasów 1-aminoalkilofosfonowych do pochodnych 1-(*N*-acyloamino)alkilofosfonowych [Kudzin i w-cy, 2005]^[242] i konwersji kwasów 1-(*N*-chloroacetyloamino)-alkilofosfonowych [Mca-AA^P] do odpowiadających fosfonopeptydów [Gly-AA^P, MeGly-AA^P i Me₂Gly-AA^P] [Kudzin i w-cy, 2008]^[244]

Otrzymane kwasy 1-(*N*-acetyloamino)alkilofosfonowe przedstawiono w Tabeli 3-2.1.

Otrzymane fosfonopeptydy [Gly-AA^P, MeGly-AA^P, Me₂Gly-AA^P] przedstawiono w Tabeli 3-2.2.

Ac-Gly ^P	Ac-Ala ^P	Ac-Hal ^P	Ac-Nva ^P	Ac-Val ^P	Ac-Met ^P	Ac-Pgly ^P	Ac-Phe ^P
---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	----------------------	---------------------

Gly-Gly ^P	Gly-Ala ^P	Gly-Pgly ^P	Me-Gly-Gly ^P	Me ₂ -Gly-Gly ^P	Me-Gly-Ala ^P	H ₂ N-Gly-Val ^P
Związki nowe						

Procedurę syntezy fosfonopeptydów opublikowano w pracy:

Kudzin, Z.H.; Depczyński, R.; Kudzin, M.H.; Drabowicz, J. *1-(N-Chloroacetylamino)alkylphosphonic acids - synthetic precursors of glycylo-phosphono-peptides and related compounds*. *Amino Acids*, 2008, 34, 163-168; (w-atorstwo, doktorat D. R.).^[244]

3.2. WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

3.2.1. BADANIA NAD ROZPUSZCZALNOŚCIĄ AMINOKWASÓW

Rozpuszczalność kwasów aminofosfonowych stanowi jedną z właściwości fizycznych wpływających na potencjalne aplikacje tych związków w chemii materiałowej.

Oprócz ogólnych stwierdzeń na temat wyższej rozpuszczalności kwasów aminofosfonowych (AA^P) w roztworach zasadowych i/lub kwasowych [Petrov i w-cy, 1974, Kukhar&Solodenko, 1987]^[6,7,10], szersze badania podstawowe w tej dziedzinie nigdy nie zostały podjęte oraz opublikowane. Metody opisane w literaturze dotyczące wyznaczania rozpuszczalności aminokwasów karboksylowych potraktowałem jako podstawę do badań własnych nad rozpuszczalnością kwasów aminoalkilofosfonowych.

Wartości rozpuszczalności aminokwasów w wodzie zostały wyznaczone w latach 1930tych przez Daltona i Schmidta [Dalton&Schmidt, 1933; 1935]^[260,261] oraz Dunna i w-ków [Dunn i w-cy, 1933]^[262,263]. W latach 1990-tych podjęto badania nad termodynamicznym opisem tej właściwości [Chen i w-cy, 1989; Liu i w-cy, 1998]^[264,265].

Przeprowadzono także badania nad rozpuszczalnością aminokwasów w różnych wodno-alkoholowych rozpuszczalnikach, w tym w układach: woda - metanol [Gekko, 1981],²⁶⁶ woda - etanol [Cohn i w-cy, 1934; Nozaki&Tanford, 1971]^[267,268], woda - 1-propanol i woda - 2-propanol [Orella&Kirwan, 1989; 1991; Fereira i w-cy, 2004]^[269-272], woda - 1-butanol [Gude i w-cy, 1996]^[272] i woda - 1-PEG [Yang i w-cy, 2008]^[273].

Deya i Lahirib [Deya& Lahirib, 2010]^[274] przeprowadzili badania nad wpływem pK i pH nad rozpuszczalnością aminokwasów w wodzie i w roztworach mocznika.

Ostatnio opublikowane badania nad termodynamiką rozpuszczania kwasów 1-aminoalkilofosfonowych, w układach AA^P – mocznik - woda^[275,276] skłoniły nas do opublikowania wyników dotyczących rozpuszczalności kwasów 1-aminoalkilofosfonowych w wodzie w temperaturze 25°C^[277].

3.2.1.1. BADANIA NAD ROZPUSSZCZALNOŚCIĄ AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

Do badań wykorzystano reprezentatywne aminokwasy fosfonowe szeregów: 1-aminoalkilofosfonowych, ω-aminoalkilofosfonowych, 1-(N-alkiloamino)alkilofosfonowych i 1-(N,N-dialkilo-amino)alkilofosfonowych. Do serii dla celów porównawczych, wprowadzono kwas 1-hydroksypropylofosfonowy.

Struktury aminokwasów wykorzystanych do badań nad rozpuszczalnością zestawiono w Tabeli 3-3.

$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H}_2 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{Me} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{Et} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{iPr} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{Pr} \end{array}$
Gly ^P	Ala ^P	Hala ^P	Val ^P	Nval ^P
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{iBu} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{sBu} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{tBu} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{nBu} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \left[\begin{array}{c} \text{C} \\ \\ \text{H}_2 \end{array} \right]_2 \text{S-Me} \end{array}$
Leu ^P	Ileu ^P	Tleu ^P	Nleu ^P	Met ^P
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{Ph} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{C-Ph} \\ \\ \text{H}_2 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{Me}-\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{Et} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{Me}-\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \quad \\ \text{Me} \quad \text{Et} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{Me}-\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{Me} \end{array}$
Pgly ^P	Phe ^P	Me-Hala ^P	Me ₂ -Hala ^P	Mala ^P
$\begin{array}{c} \text{Me} \quad \text{O} \\ \quad \parallel \\ \text{Et}-\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{Me} \end{array}$	$\text{H}_2\text{N}-\left[\begin{array}{c} \text{C} \\ \\ \text{H}_2 \end{array} \right]_3 \text{P}(\text{OH})_2$			
Et-Mala ^P	3-Hala ^P			

Dla wyznaczenia rozpuszczalności AA^P w wodzie, reprezentatywne aminokwasy rozpuszczano do nasycenia a następnie oznaczano stężenie kwasu w nasyconym roztworze.

Do otrzymania nasyconych roztworów AA^P w wodzie zastosowano dwie metody:

- metodę krystalizacji polegającą na rozpuszczeniu AA^P w temperaturze ok. 80°C i następczą krystalizację w gradiencie temperatury (80°C do 25°C);
- metodę sonikacyjną wykorzystującą sonikację AA^P w temperaturze 25°C.

Do oznaczania stężenia AA^P w badanych roztworach stosowano:

- metodę pH-metrycznego miareczkowania AA^P;
- metodę wykorzystującą ilościowe oznaczenia z użyciem techniki ³¹P-NMR.

3.2.1.1.1. OZNACZANIE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH W WODZIE

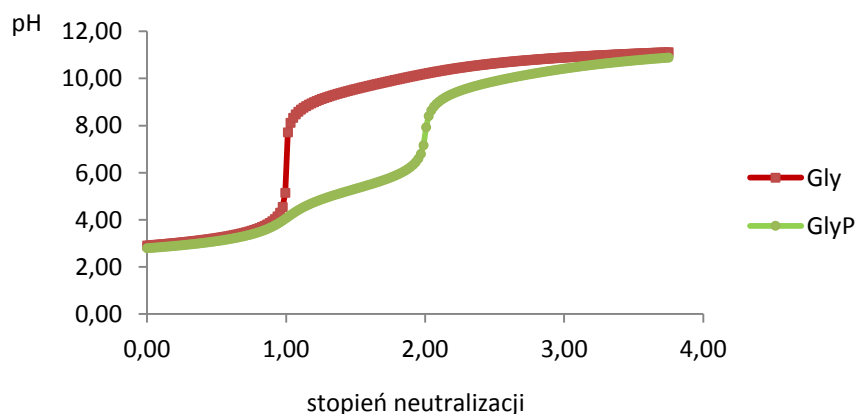
Najbardziej popularnymi metodami stosowanymi w badaniach nad rozpuszczalnością aminokwasów naturalnych są metody grawimetryczne (odparowanie nasyconego roztworu aminokwasu do stałej masy) [245-258]. Ponieważ aminokwasy fosfonowe łatwo tworzą różnego typu hydraty - procedura grawimetryczna nie jest w tym przypadku dogodna do zastosowania.

Do oznaczania stężeń aminokwasów w roztworach wodnych zaproponowano dwie metody:

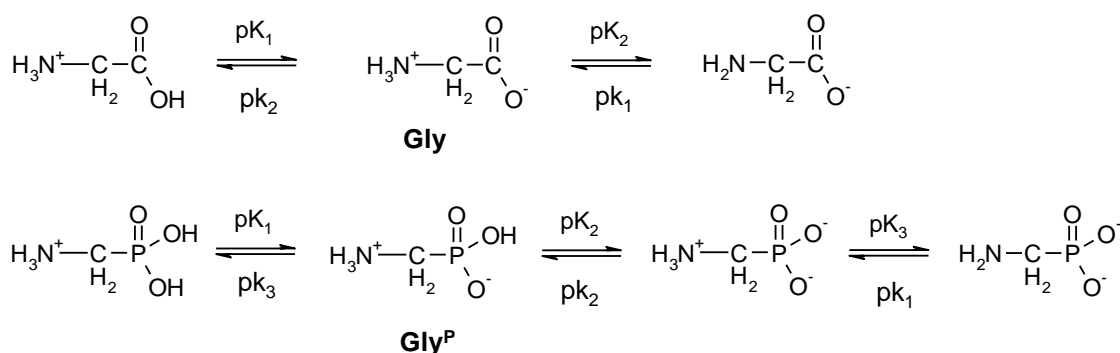
- metodę pH-metrycznego miareczkowania kwasów aminofosfonowych (fosfonowych);
- metodę NMR-ową wykorzystującą oznaczenia ^{31}P NMR pożądanego kwasu aminofosfonowego w obecności fosforoorganicznego wewnętrznego wzorca.

3.2.1.1.1.1. METODA MIARECZKOWANIA pH-METRYCZNEGO

Kwasy aminofosfonowe (np. Gly^P) są kwasami di-protonowymi, mocniejszymi od amino karboksylowych, miareczkowanie pH-metryczne jest wygodną metodą oznaczenia tych związków w zakresie stężeń od 10^{-5} M do 1 M. Dodatkowym argumentem przemawiającym za stosowaniem opisywanej metody do określania stężenia AA^P jest możliwość oznaczenia w oparciu o pierwszy, drugi lub obydwie punkty infleksji krzywej miareczkowania (Sch. 3-3., Rys. 3-1.).



Rysunek 3-1. Krzywe miareczkowania Gly i Gly^P roztworem KOH



Schemat 3-3. Równowagi tworzące się podczas miareczkowania roztworów Gly i Gly^P roztworami zasady

3.2.1.1.1.2. METODA NMR-OWA

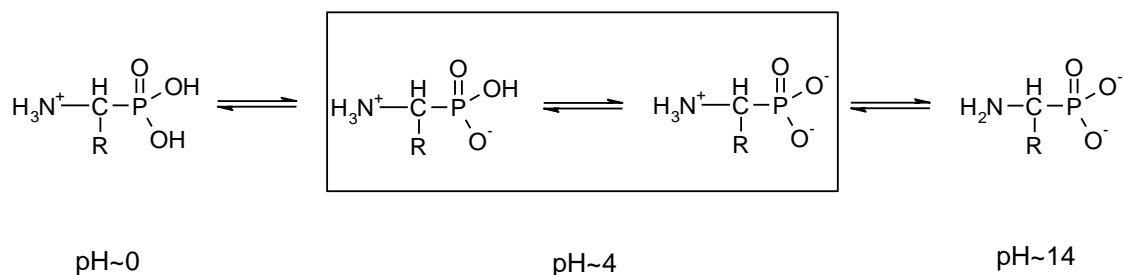
3.2.1.1.1.2.1. KORELACJA POWIERZCHNI SYGNAŁU ³¹P DLA AA^P I WZORCA

Podstawę metody *P-NMR-owej* oznaczania AA^P przedstawiono na Rysunkach: 3-2., 3-3. Rysunki przedstawiają widma ³¹P NMR dla mieszaniny: MPA (0,01 mmola), Gly^P (0,02 mmola), Ala^P (0,01 mmola), Hala^P (0,01 mmola), Val^P (0,01 mmola), Mala^P (0,004 mmola) w 2,0 M KOH (Rys. 3-2.) i roztworze buforowym (Rys. 3-3.).

MPA i Na_nH_{3-n}PO₄ stanowią tzw. wewnętrzne wzorce, gdyż na podstawie stosunków integracji AA^P/MPA lub AA^P/Na_nH_{3-n}PO₄ i znajomości stężenia/ilości wzorców w badanym roztworze można wyznaczyć/oszacować ilości AA^P.

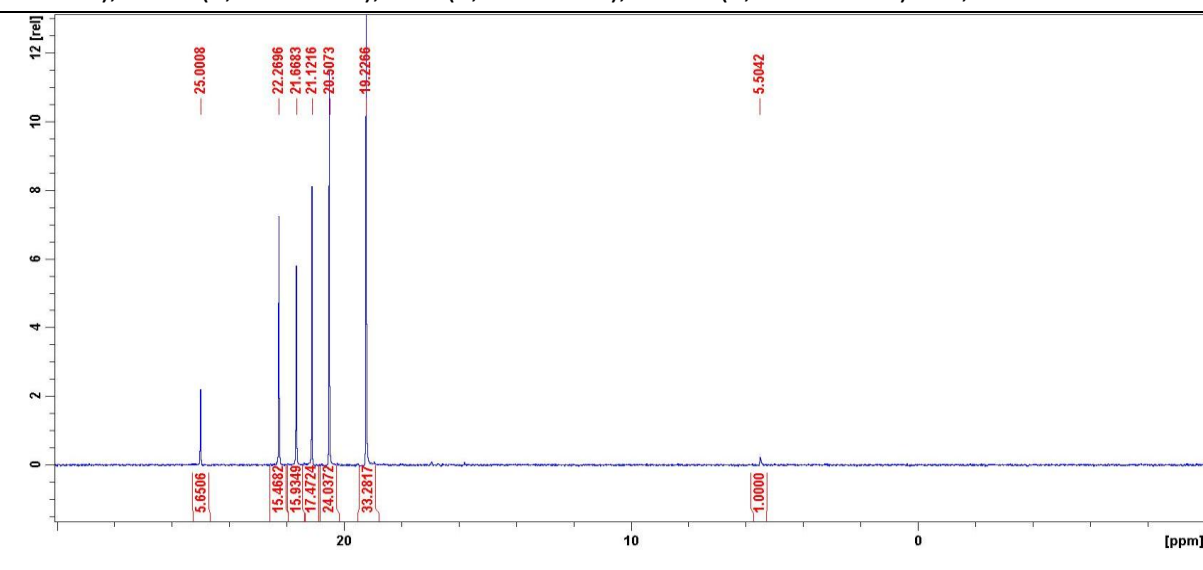
Z Rysunku 3-3. wynika brak równości powierzchni AA^P i MPA mimo równomolowości badanej mieszaniny [MPA : Gly^P : Ala^P : Hala^P : Val^P : Mala^P = 1 : 2 : 1 : 1 : 1 : 0,08*] (*0,08 M dotyczy stężenia nasyconego roztworu Mala^P). Dlatego do użycia metody ³¹P-NMR do oznaczania stężeń AA^P potrzebna jest kalibracja, tj. ustalenie stosunku powierzchni sygnałów AA^P/wzorcec (np. Gly^P/MPA) zarejestrowanych dla roztworów zawierających jednostkowe stężenia tych związków.

Porównanie widm wykonanych dla serii: MPA, Gly^P, Ala^P, Hala^P, Val^P, Mala^P w 2 M KOH (Rys. 3-2.) oraz w 2 M AcOK-AcOH (Rys. 3-3.) wskazuje na znacznie węższe sygnały dla roztworu w zasadzie. Również dla roztworu AA^P w 2 M KOH bardziej zdefiniowany jest stopień jonizacji poszczególnych aminokwasów (di-aniony) (Sch. 3-4.).

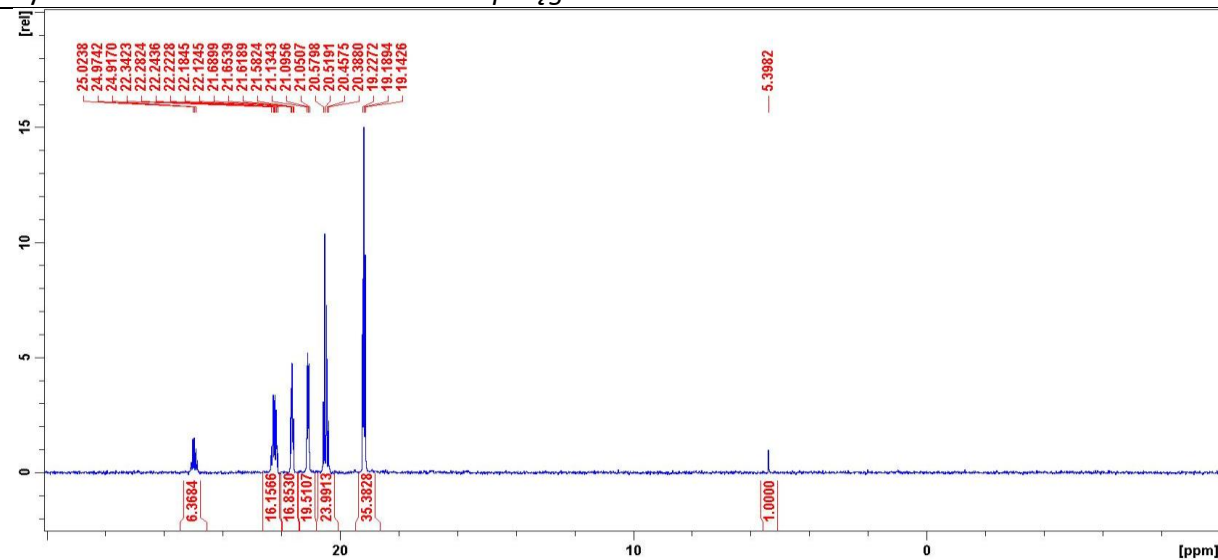


Schemat 3-4. Dystrybucja form AA^P w funkcji pH roztworu
(pH~0 - 2 M HCl; pH~4 - 2 M AcOK; pH~14 - 2 M KOH)

Rysunek 3-2. Widma ³¹P NMR mieszaniny: MPA (0,01 mmola), Gly^P (0,02 mmola), Ala^P (0,01 mmola), Hala^P (0,01 mmola), Val^P (0,01 mmola), Mala^P (0,004 mmola) w 2,0 M KOH

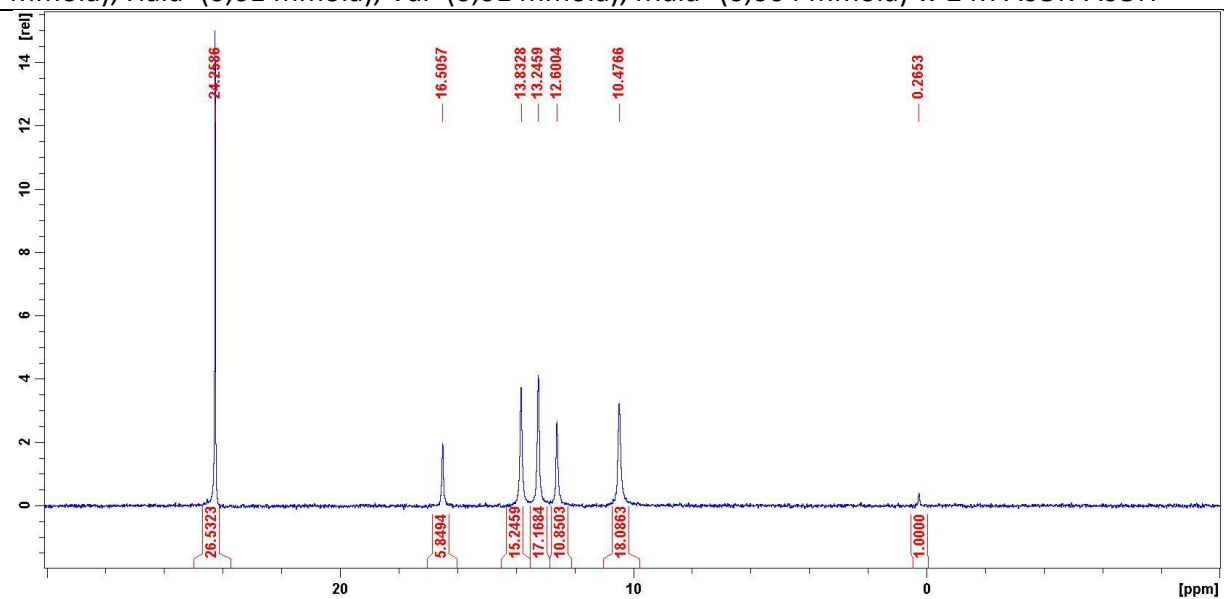


Rysunek 3-2.1. Widmo ³¹P NMR z odsprężaniem

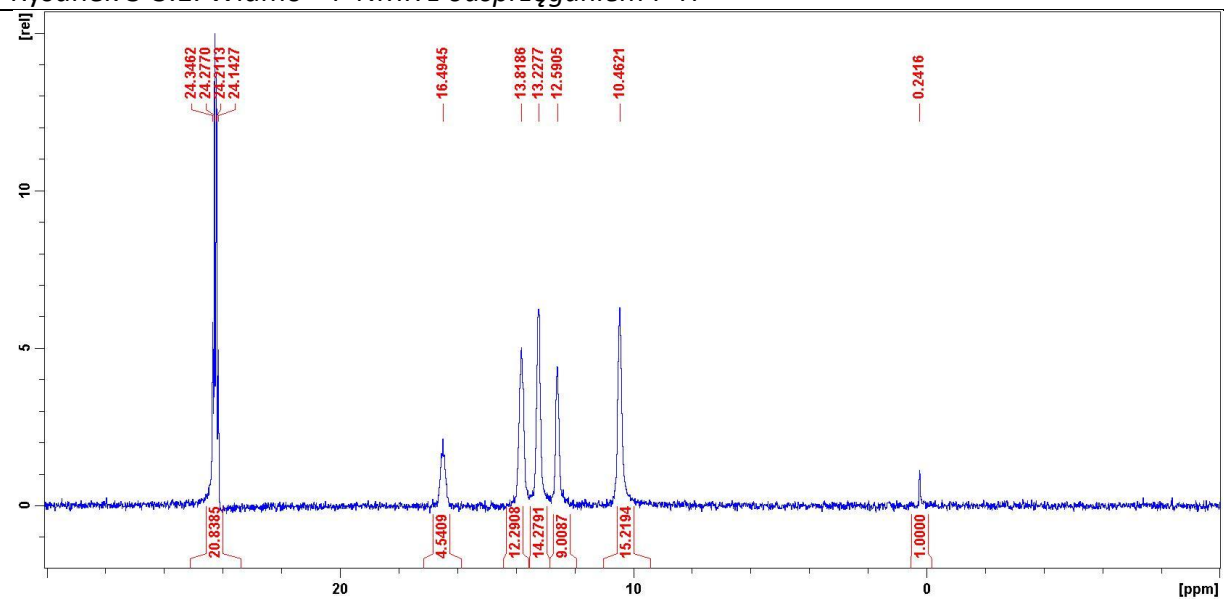


Rysunek 3-2.2. Widmo ³¹P NMR bez odsprężania

Rysunek 3-3. Widma ^{31}P NMR mieszanki: MPA (0,01 mmola), Gly^P (0,02 mmola), Ala^P (0,01 mmola), Hala^P (0,01 mmola), Val^P (0,01 mmola), Mala^P (0,004 mmola) w 2 M AcOK-AcOH



Rysunek 3-3.1. Widmo ^{31}P NMR z odsprężaniem P-H



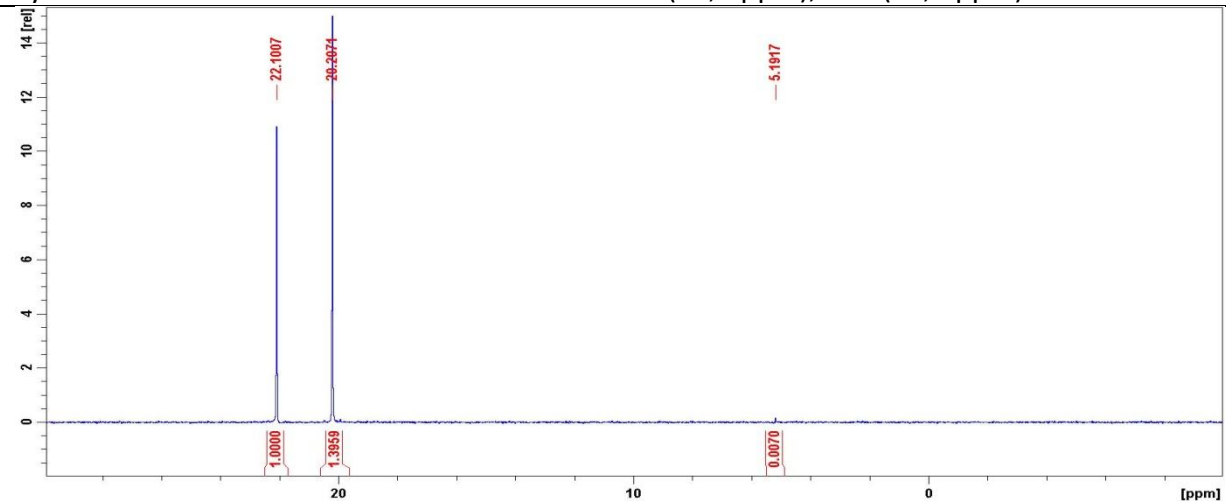
Rysunek 3-3.2. Widmo ^{31}P NMR bez odsprężania P-H

Znacznie dokładniejsze wyniki można otrzymać dla mieszanin dwuskładnikowych: wzorec - AA^P.

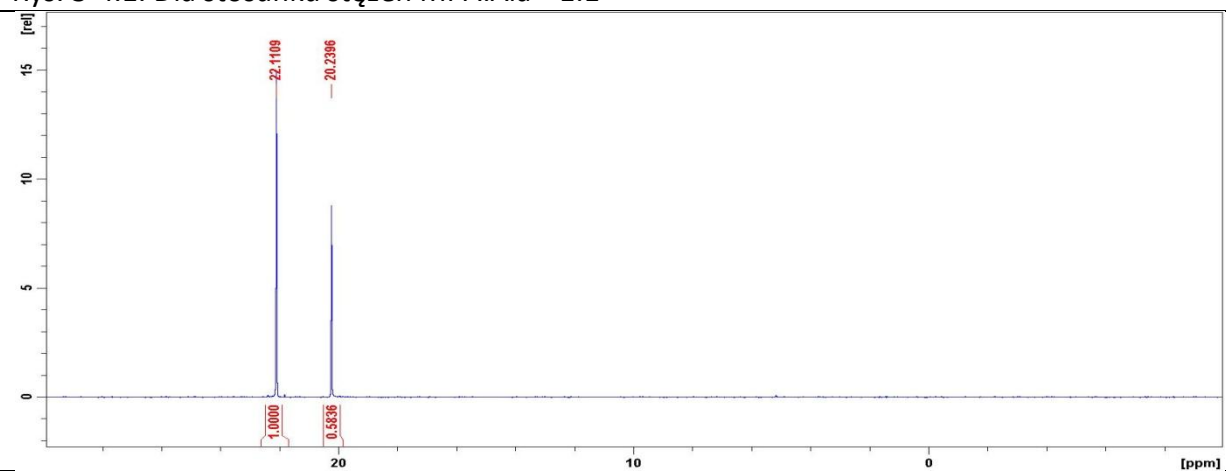
Reprezentatywne widma ^{31}P NMR dla mieszanin: MPA-AA^P (2 M KOH) oraz K₃PO₄-AA^P (2 M KOH) przedstawiono na Rysunkach: 3-4., 3-5.

Widma ^{31}P NMR dla mieszanin: K_nH_{3-n}PO₄ (5,20 ppm) oraz Nval^P (21,81 ppm) w 2 M AcOK-AcOH przedstawiono na Rysunku 3-6.

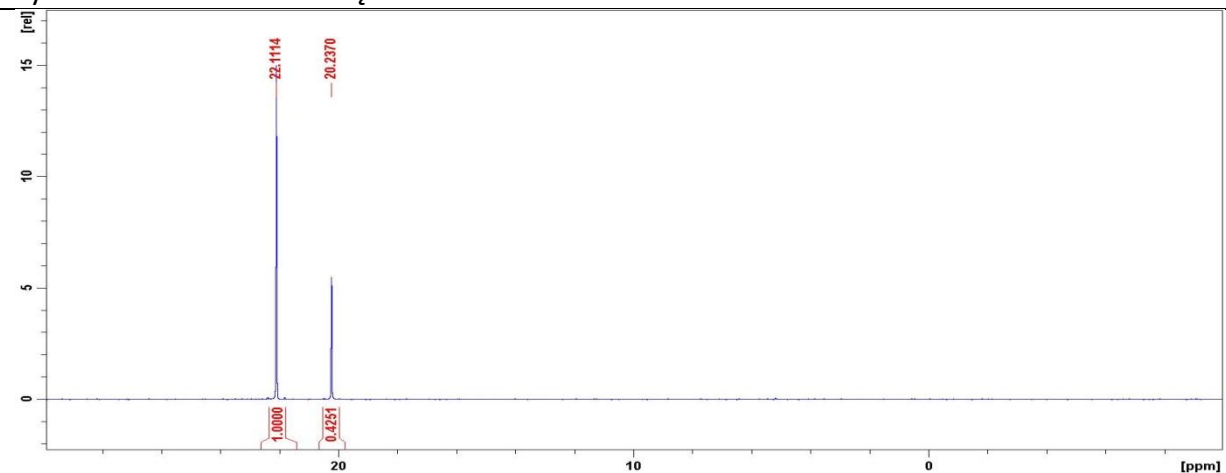
Rysunek 3-4. Widma ^{31}P NMR dla mieszanin: MPA (20,2 ppm), Ala^{P} (22,1 ppm) w 2M KOH



Rys. 3-4.1. Dla stosunku stężeń $\text{MPA}:\text{Ala}^{\text{P}}=1:1$

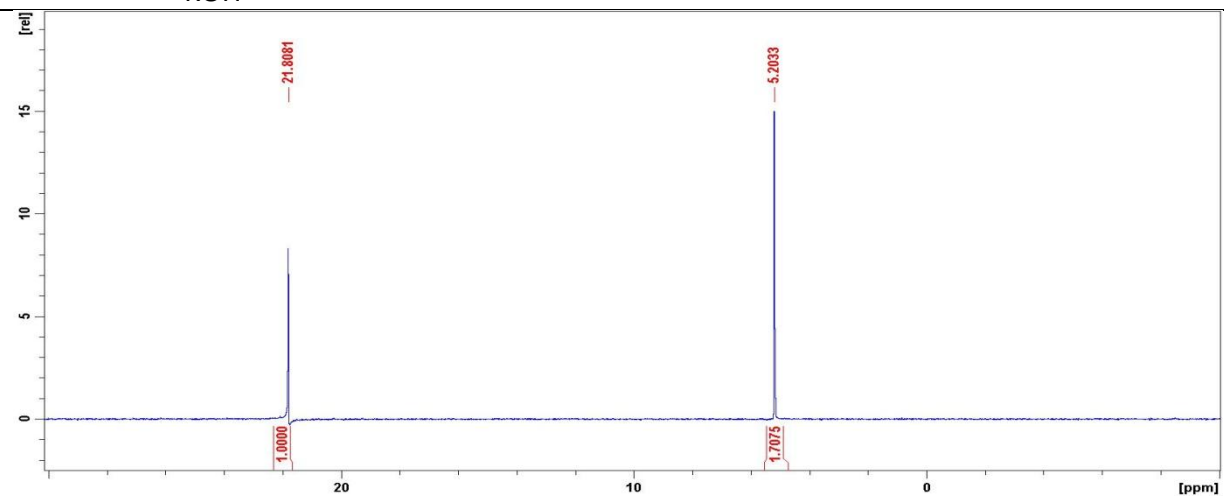


Rys. 3-4.2. Dla stosunku stężeń $\text{MPA}:\text{Ala}^{\text{P}}=1:2$

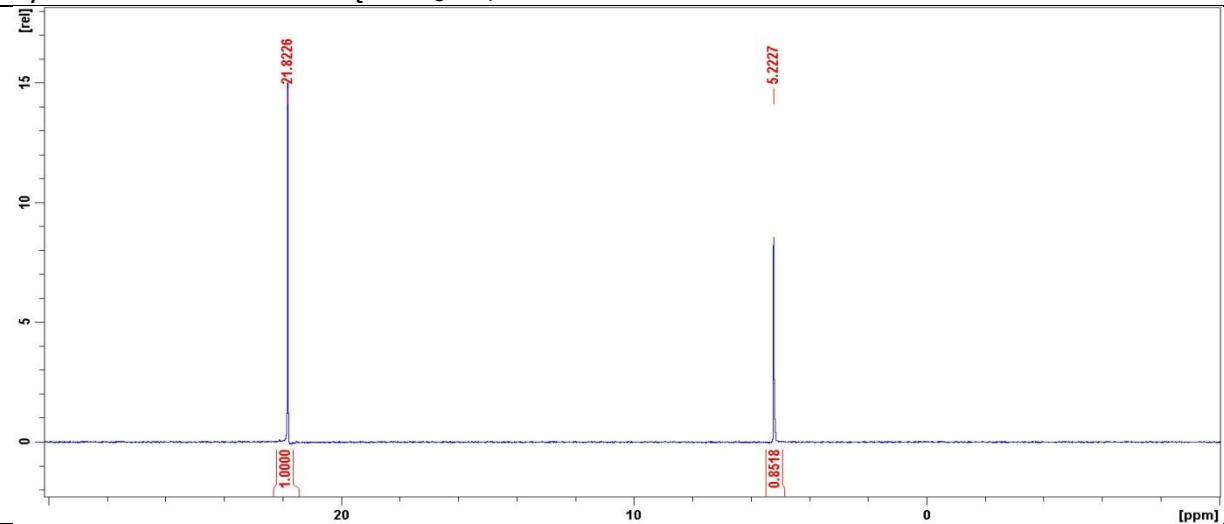


Rys. 3-4.3. Dla stosunku stężeń $\text{MPA}:\text{Ala}^{\text{P}}=1:3$

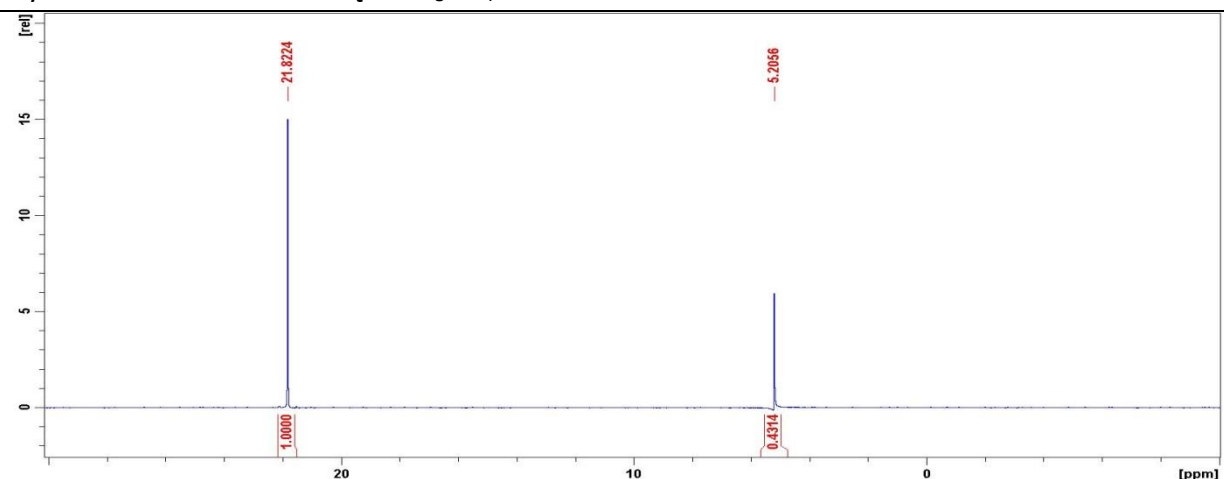
Rysunek 3-5. Widma ^{31}P NMR dla mieszanin: K_3PO_4 (5,20 ppm), Nval^{P} (21,81 ppm) w 2 M KOH



Rys. 3-5.1. Dla stosunku stężeń K_3PO_4 : Nval^{P} = 1:1

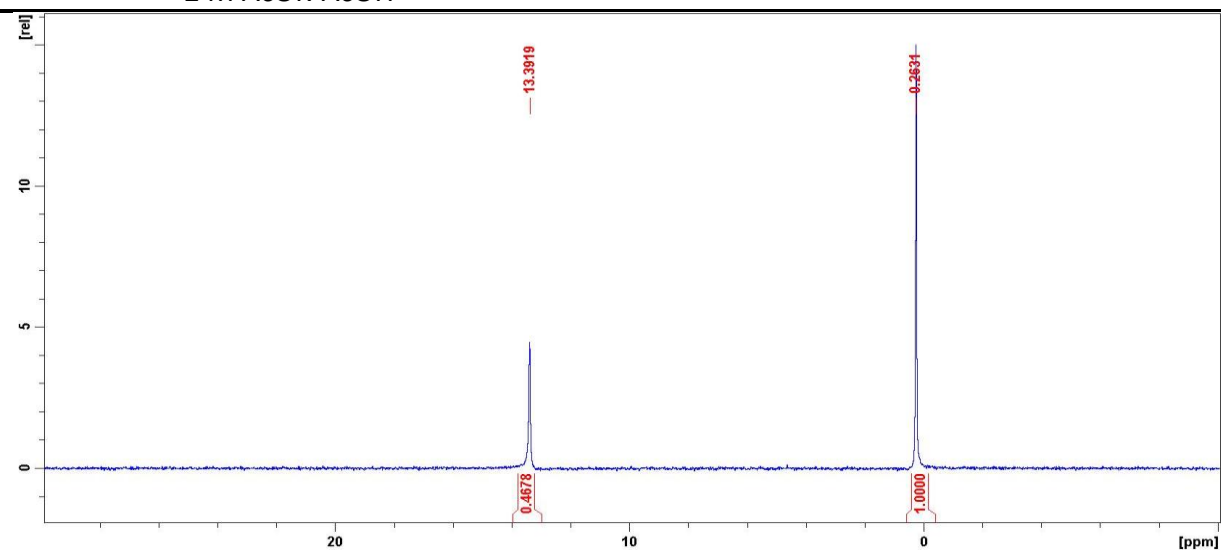


Rys. 3-5.2. Dla stosunku stężeń K_3PO_4 : Nval^{P} = 1:2

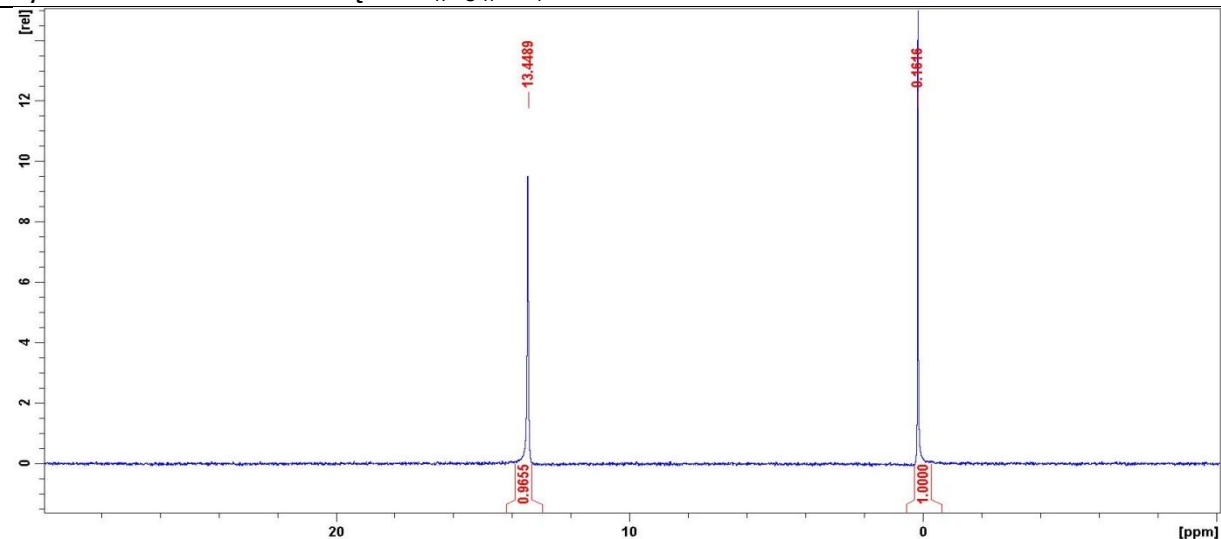


Rys. 3-5.3. Dla stosunku stężeń K_3PO_4 : Nval^{P} = 1:3

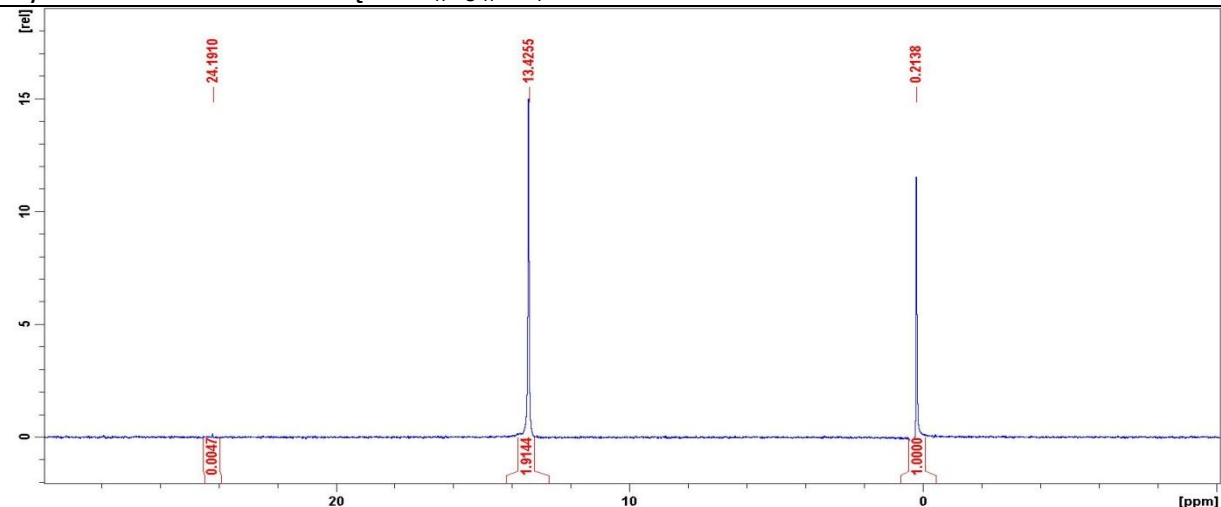
Rysunek 3-6. Widma ^{31}P NMR dla mieszanin: $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$ (5,20 ppm), Nval^{P} (21,81 ppm) w 2 M AcOK-AcOH



Rys. 3-6.1. Dla stosunku stężeń $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$: Nval^{P} =1:1



Rys. 3-6.2. Dla stosunku stężeń $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$: Nval^{P} =1:2



Rys. 3-6.3. Dla stosunku stężeń $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$: Nval^{P} =1:3

Współczynniki korelacyjne dla AA^P względem wzorca określające stosunek powierzchni sygnału AA^P do powierzchni sygnału wzorca można wyznaczyć wykonując rejestrację widm ³¹P NMR roztworów, dla zmiennego stosunku molowego wzorca i AA^P. Serię taką ilustrują widma na Rysunkach: 3-4. (MPA : Ala^P), 3-5. (K₃PO₄ : Nval^P), 3-6. (K_nH_{3-n}PO₄ : Nval^P).

Wyznaczone na podstawie widm ³¹P NMR współczynniki korelacyjne przedstawiono w Tabelach: 3-4. (MPA vs. AA^P), 3-5. (K₃PO₄ vs. AA^P).

Tabela 3-4. Współczynniki korelacyjne powierzchni sygnału AA ^P w stosunku do MPA w 2M KOH												
AA ^P	AA ^P											
	Gly ^P			Ala ^P			Hal ^P			Val ^P		
	G1	G2	G3	A1	A2	A3	H1	H2	H3	V1	V2	V3
[MPA]: [AA ^P]	1:1	1:2	1:3	1:1	1:2	1:3	1: 0,5	1:1	1:2	1: 0,5	1:1	1:2
³¹ P _{MPA/AAP}	1,30	1,30	1,21	1,42	1,19	1,31	1,05	1,08	1,05	0,95	0,95	0,93
$\sum^{31}P/3$	1,27 ± 0,05			1,31 ± 0,12			1,06 ± 0,02			0,94 ± 0,01		
[MPA]:[AA ^P] – stosunek stężeń [MPA] i [AA ^P] równy odpowiednio: 1:1, 1:2 i 1:3; ³¹ P _{MPA/AAP} - stosunek powierzchni sygnału MPA do powierzchni sygnału AA ^P przypadających na równomolarnie stężenia związków; $\sum^{31}P/3$ – średnia z trzech oznaczeń												

Tabela 3-5. Współczynniki korelacyjne powierzchni sygnału AA ^P w stosunku do K ₃ PO ₄ w 2 M KOH						
AA ^P -K ₃ PO ₄	Nval ^P -K ₃ PO ₄			Mala ^P -K ₃ PO ₄		
[AA ^P]: [K ₃ PO ₄]	N1	N2	N3	M1	M2	M3
	0,5:1	1:1	2:1	1:4.8	1:2.48	1:1,27
³¹ P _{MPA/AAP}	0,82	0,85	0,84	1,19	1,16	1,24
$\sum^{31}P/3$	0,84 ± 0,02			1,20 ± 0,04		
[K ₃ PO ₄]:[AA ^P] – stosunek stężeń [K ₃ PO ₄] i [AA ^P] równy odpowiednio: 1:0,5, 1:1 i 1:2; ³¹ P _{MPA/AAP} - stosunek powierzchni sygnału MPA do powierzchni sygnału AA ^P przypadających na równomolarnie stężenia związków; $\sum^{31}P/3$ – średnia z trzech oznaczeń						

Tabela 3-6. Współczynniki korelacyjne powierzchni sygnału AA ^P w stosunku do K _n H _{3-n} PO ₄ i MPA w 2 M AcOK-AcOH												
AA ^P	MPA-AA ^P						K _n H _{3-n} PO ₄ -AA ^P					
	Hal ^P			Val ^P			Mala ^P			Nval ^P		
	H1	H2	H3	V1	V2	V3	M1	M2	M3	N1	N2	N3
[STD]: [AA ^P]	1: 0,5	1:1	1:2	1: 0,5	1:1	1:2	1: 0,5	1:1	1:2	1: 0,5	1:1	1:2
³¹ P _{STD/AAP}	1,21	1,21	1,22	1,06	1,03	1,06	1,35	1,31	1,39	1,02	1,04	1,00
$\Sigma^{31}P/3$	1,21 ± 0,01			1,05 ± 0,02			1,35 ± 0,04			1,02 ± 0,03		
[STD]:[AA ^P] – stosunek stężeń [STANDARD] i [AA ^P] równy odpowiednio: 1:0,5; 1:2 i 1:2; ³¹ P _{STD/AAP} - stosunek powierzchni sygnału standardu (MPA lub K ₃ PO ₄) do powierzchni sygnału AA ^P przypadających na równo-molarne stężenia związków; $\Sigma^{31}P/3$ – średnia z trzech oznaczeń												

W Tabeli 3-6. przedstawiono współczynniki korelacyjne dla reprezentatywnych par: MPA-AA^P i AA^P-K_nH_{3-n}PO₄ wyznaczone w roztworze buforowym. Wyznaczone współczynniki są o około 10% wyższe od odpowiednich wyznaczonych dla roztworów 2 M KOH, co stanowi potwierdzenie tezy o wpływie stanu jonizacji na względną powierzchnię sygnału ³¹P kwasu fosfonowego (Sch. 3-4.).

3.2.1.1.1.2.2. WYLICZENIA STĘŻENIA AMINOKWASU NA PODSTAWIE WIDMA ³¹P NMR MIESZANINY POWIERZCHNI SYGNAŁU AA^P I WZORCA

Metodę wyliczenia stężenia aminokwasu na podstawie widma ³¹P NMR mieszaniny i stosunku powierzchni: sygnału AA^P do wzorca przedstawiono w Tabeli 3-7.

Tabela 3-7. Wyprowadzenie wzoru do wyliczenia stężenia AA ^P z pomiarów ³¹ P-NMR-owych	
$C_{ST} \text{ — } RA_{ST}$ (1)	$C_{ST} \text{ — } RA_{ST}$ (2)
$C_{AAP} \text{ — } RA_{AAP}$	$C_{AAP} \text{ — } k \times RA_{AAP}$
$k = \frac{RA_{ST}}{RA_{AAP}}$ (3)	$C_{AAP} = \frac{C_{ST} \times k \times RA_{AAP}}{RA_{ST}}$ (4)
C _{ST} - stężenie standardu (MPA, K ₃ PO ₄); C _{AAP} - stężenie standardu AA ^P ; RA _{ST} - powierzchnia względna sygnału ³¹ P standardu (MPA, K ₃ PO ₄); RA _{AAP} - powierzchnia względna sygnału ³¹ P aminokwasu (AA ^P); k – stosunek: powierzchni względnej sygnału ³¹ P standardu do powierzchni względnej sygnału ³¹ P aminokwasu dla równomolowych stężeń standardu i aminokwasu w próbce	

3.2.1.1.2. BADANIA NAD WYZNACZANIEM ROZPUSZCZALNOŚCI AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

3.2.1.1.2.1. METODA KRYSZTAŁIZACJI

W metodzie suspensyj AA^P poddawano rozpuszczeniu w temperaturze około 80°C (ok. 0,5 h), następnie homogeny roztwór poddawano powolnemu ochłodzeniu do temperatury 30°C (20-24 h). Otrzymany przesycony roztwór AA^P termostatowano w temperaturze 25°C ± 0,1°C przez minimum 48 h.

3.2.1.1.2.1.1. BADANIA OPTYMALIZACYJNE

Dla określenia dynamiki przebiegu krystalizacji AA^P w czasie wykorzystywano cztery aminokwasy o znacznych rozpuszczalnościach: Gly^P, Ala^P, Mala^P, Val^P.

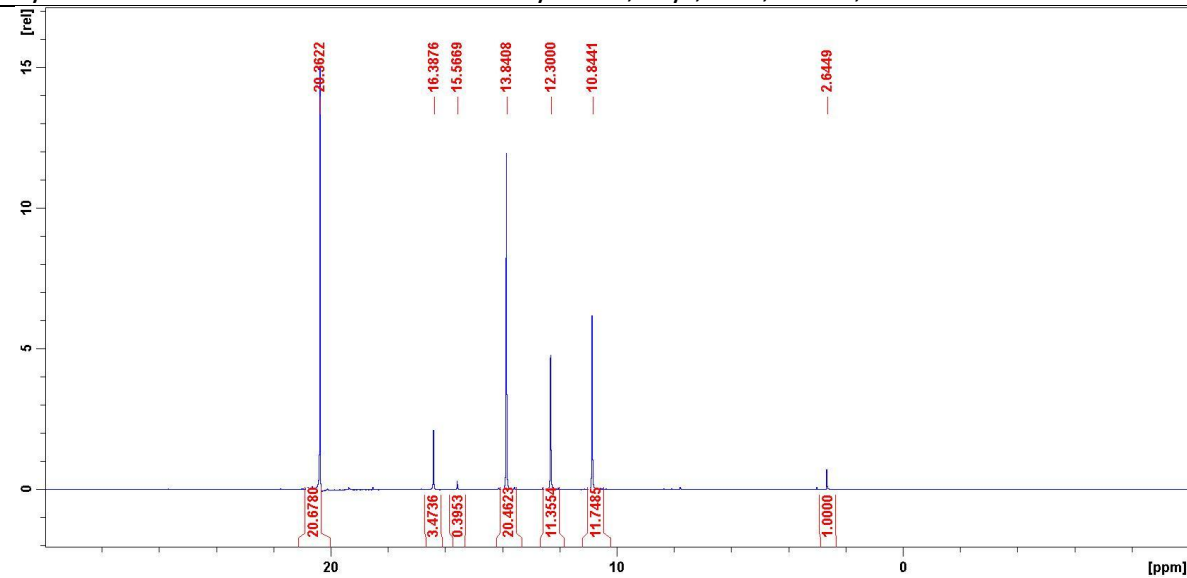
Dla ilustracji postępu krystalizacji (spadku stężenia roztworu aminokwasu) wykorzystano spektroskopie NMR. W tym celu, w odpowiednim czasie pobierano starannie odmierzone próbki roztworów: Gly^P, Ala^P, Mala^P, Val^P, następnie dodawano wzorzec MPA i rejestrowano widmo ³¹P NMR.

Wyniki eksperymentu przedstawiono w Tabeli 3-8. oraz zilustrowano na Rysunkach: 3-7. (widma ³¹P NMR), 3-8. (wykres).

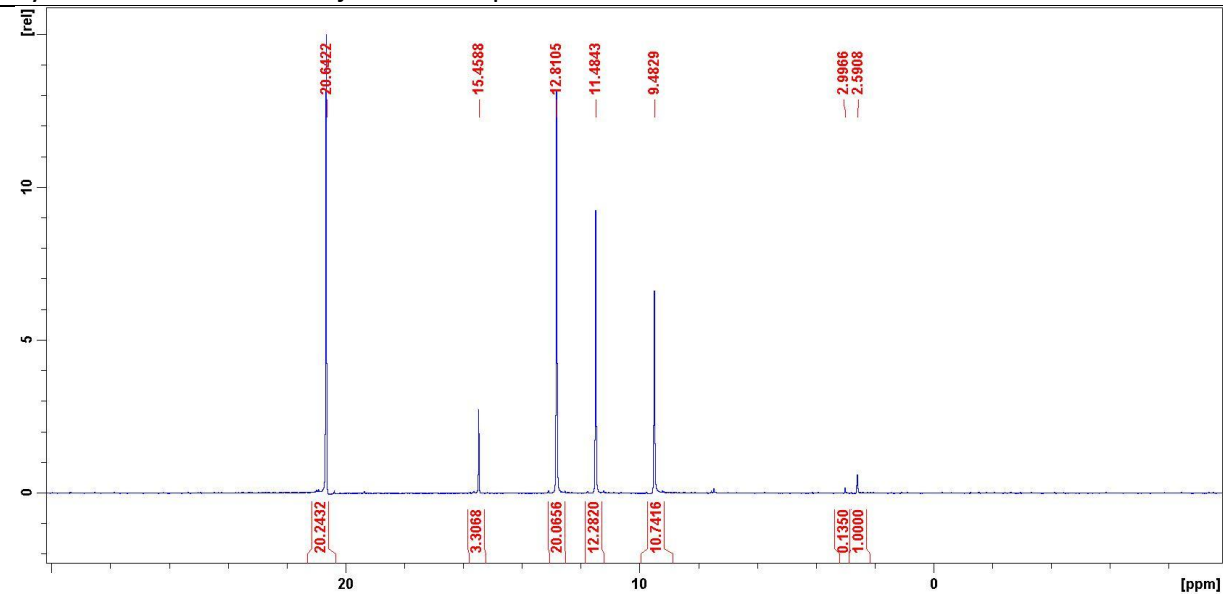
AA ^P	Gly ^P	Ala ^P	Val ^P	Mala ^P
ppm	10,8 ppm	13,8 ppm	12,30 ppm	16,4 ppm
Czas	Stężenie [M] ^a			
0h ^{b/}	0,90	1,50	0,45	0,12
24 h	0,59	0,90	0,26	0,084
48 h	0,56	0,87	0,25	0,083
72 h	0,57	0,86	0,24	0,082
120 h	0,56	0,87	0,25	0,082

^{a/}AA^P oznaczono za pomocą metody miareczkowania potencjometrycznego;
^{b/}Początkowe stężenie aminokwasu (1,25 × rozpuszczalność w 25°C)

Rysunek 3-7. Widma ^{31}P NMR mieszaniny: AMP, Gly^P, Ala^P, Mala^P, Val^P

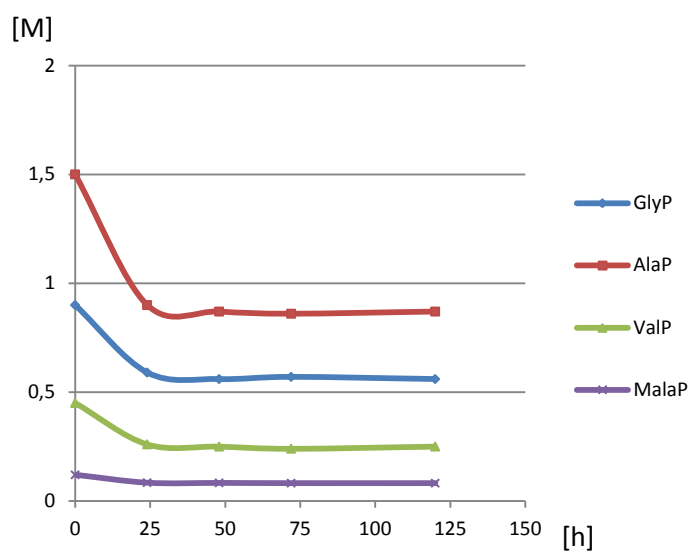


Rysunek 3-7.1. Widmo rejestrowane po czasie 24 h



Rysunek 3-7.2. Widmo rejestrowane po czasie 120 h

Rysunek 3-8. Wyniki oznaczeń nasyconych roztworów AA^P w funkcji czasu krystalizacji



Wykres sporządzono na podstawie wyników przedstawionych w Tabeli 3-8.

Wyniki badań (Tab. 3-8., Rys. 3-8.) wskazują na stabilizację nasycenia roztworów AA^P (Gly^P, Ala^P, Val^P, Mala^P) po 24 h termostatowania. Ze względów praktycznych okres termostatowania roztworów nasyconych badanych AA^P przedłużono do ok. 48 h.

3.2.1.1.2.2. METODA SONIKACYJNA

3.2.1.1.2.2.1. BADANIA OPTYMALIZACYJNE

W tytułowej metodzie suspensję AA^P poddawano sonikacji w temperaturze 25°C, po czym suspensję mieszano przez 1 h, następnie poddawano odwirowaniu, i na koniec całość termostatowano w temperaturze 25 °C ± 0,1 °C przez okres ok. 48 h.

Do badań optymalizacyjnych wybrano Nleu^P – aminokwas o masie molowej 167 i rozpuszczalności w wodzie ok. 0,15 M.

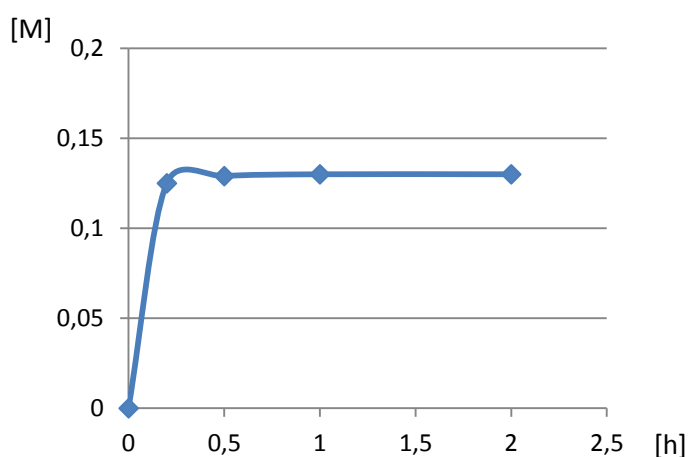
Badania nad wpływem czasu sonikacji na rozpuszczalność AA^P obejmowały:

- badanie wpływu czasu sonikacji na uzyskanie nasycenia Nleu^P;
- badanie wpływu czasu mieszania suspensji po sonikacji.

Wpływ czasu sonikacji na uzyskanie nasycenia Nleu^P przedstawiono w Tabeli 3-9. oraz na Rysunku 3-9.

Badania wykazały, iż optymalnym czasem sonikacji jest 0,5 h.

Rysunek 3-9. Wpływ czasu sonikacji suspensji Nleu^P-H₂O na rozpuszczalność Nleu^P [M]



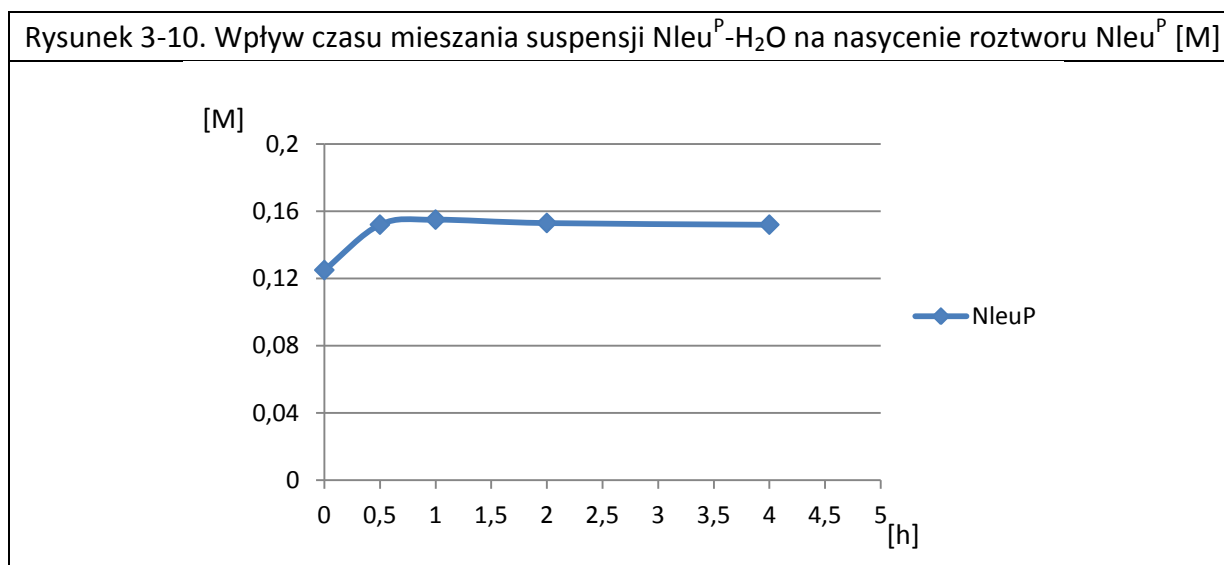
Czas sonikacji	0,1 h		0,5 h		1 h		2 h	
Próbki ^a	N 11	N 12	N 21	N 22	N 31	N 32	N 41	N 42
Stężenie AA ^{P/b}	0,127	0,123	0,130	0,128	0,137	0,123	0,135	0,130
Średnie stężenie	0,125±0,02		0,129±0,01		0,130±0,07		0,132±0,03	

^{a/} Użyto próbki o masach ok. 25 mg Nleu^P, wynikające z wstępnie wykonanego oznaczenia Nleu^P w nasyconym roztworze wodnym;
^{b/} Stężenie molarne AA^P ustalone na drodze miareczkowania pH-metrycznego

Wyniki badań nad wpływem czasu mieszania suspensji uzyskanej w wyniku 0,5 h sonikacji próbek Nleu^P w wodzie przedstawiono w Tabeli 3-10. i na Rysunku 3-10.

Czas sonikacji	0,1 h		0,5 h		1 h		2 h	
Próbki ^a	N 11	N 12	N 21	N 22	N 31	N 32	N 41	N 42
Stężenie AA ^{P/b}	0,149	0,155	0,150	0,160	0,160	0,152	0,150	0,152
Średnie stężenie	0,152 ± 0,003		0,155 ± 0,005		0,156 ± 0,004		0,151 ± 0,001	

^{a/} Użyto próbki o masach ok. 25 mg Nleu^P, wynikające z wstępnie wykonanego oznaczenia Nleu^P w nasyconym roztworze wodnym;
^{b/} Oznaczenie molarne AA^P na drodze miareczkowania pH-metrycznego



Z przedstawionych danych wynika, że optymalne warunki do uzyskania nasycenia AA^P w wodzie polegają na:

- sonikacji mieszaniny AA^P w wodzie przez okres 0,5 h;
- dodatkowe mieszanie uzyskanej suspensji przez okres 1 h.

3.2.1.1.3. WYNIKI BADAŃ ROZPUSZCZALNOŚCI KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH W WODZIE I MIESZANYCH WODNO-ALKOHOLOWYCH UKŁADACH AA^P- iPrOH - H₂O

W poprzednich rozdziałach opisano metody otrzymywania nasyconych roztworów kwasów 1-aminoalkilofosfonowych w wodzie oraz wyniki metod oznaczania ich stężenia w roztworach. Skłonność do tworzenia hydratów przez AA^P ogranicza możliwość zastosowania metody grawimetrycznej, tradycyjnie stosowanej w fizyko-chemii roztworów aminokwasów karboksylowych. Istotnym problemem w praktycznej chemii kwasów 1-aminoalkilofosfonowych jest ich rozpuszczalność w mieszanych wodno-alkoholowych roztworach. Wynika to z faktu, iż najbardziej popularną metodą wydzielenia/oczyszczania tych związków jest krystalizacja z roztworów wodnych po wprowadzeniu/rozcieńczeniu alkoholem. Znajomość rozpuszczalności końcowej AA^P w filtracie pozwoli na zdecydowanie o prowadzeniu krystalizacji II rzutu. Równorzędnym asumptem do badań nad rozpuszczalnością kwasów 1-aminoalkilofosfonowych w układach mieszanych jest fizyko-chemia roztworów tych związków, do niedawna problem praktycznie nie badany [275,276].

3.2.1.1.3.1. WYNIKI BADAŃ ROZPUSZCZALNOŚCI KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH W WODZIE

Wyznaczone wyniki badań nad rozpuszczalnością reprezentatywnych kwasów aminoalkilofosfonowych w wodzie podano w Tabeli 3-11.

Tabela 3-11. Rozpuszczalność kwasów aminoalkilofosfonowych w wodzie w 25°C					
Kwas Fosfonowy		Rozpuszczalność AA ^P w wodzie w 25°C			
Symbol	Masa Molowa	Stężenie			
		Molowe [M] ^a			Procent. [%] ^c
		Metoda A	Metoda B	Średnia ^b	Metoda B ^d
Gly ^P	111,0	0,49±0,06	0,56±0,06	0,53±0,04	6,2±0,04
Ala ^P	125,1	0,77±0,01	0,87±0,02	0,82±0,05	10,4±0,6
Hala ^P	139,1	0,92±0,05	1,01±0,05	0,97±0,04	13,3±0,6
Mala ^P	139,1	0,081±0,005	0,083±0,005	0,082±0,01	1,1±0,01
Et-Mala ^P	167,1		0,70±0,05	0,70±0,05	11,7±0,8
Me-Hala ^P	153,1				22 ^d
Me ₂ -Hala ^P	167,1				49 ^d
3-Hala ^P	139,1		2,18±0,05	2,18±0,05	30,3 ^d ±0,7
Val ^P	153,1	0,21±0,02	0,25±0,02	0,23±0,02	3,52±0,3
Nval ^P	153,1	0,78±0,04		0,78±0,04	11,9±0,6
Leu ^P	167,1	0,11±0,01	0,08±0,005	0,095±0,015	1,59±0,3
Ileu ^P	167,1		0,13±0,005	0,13±0,005	2,17±0,08
Nleu ^P	167,1	0,15±0,005	0,21±0,005	0,18±0,03	3,01±0,5
Tleu ^P	167,1		0,05±0,002	0,05±0,002	0,83±0,03
Met ^P	185,2	0,105±0,01	0,085±0,005	0,095±0,01	1,76±0,02
Pgly ^P	187,1		0,08±0,005	0,08±0,005	1,50±0,09
Phe ^P	201,1	0,12±0,01	0,08±0,005	0,10±0,02	2,00±0,4
1-HPP	140,1				46 ^d

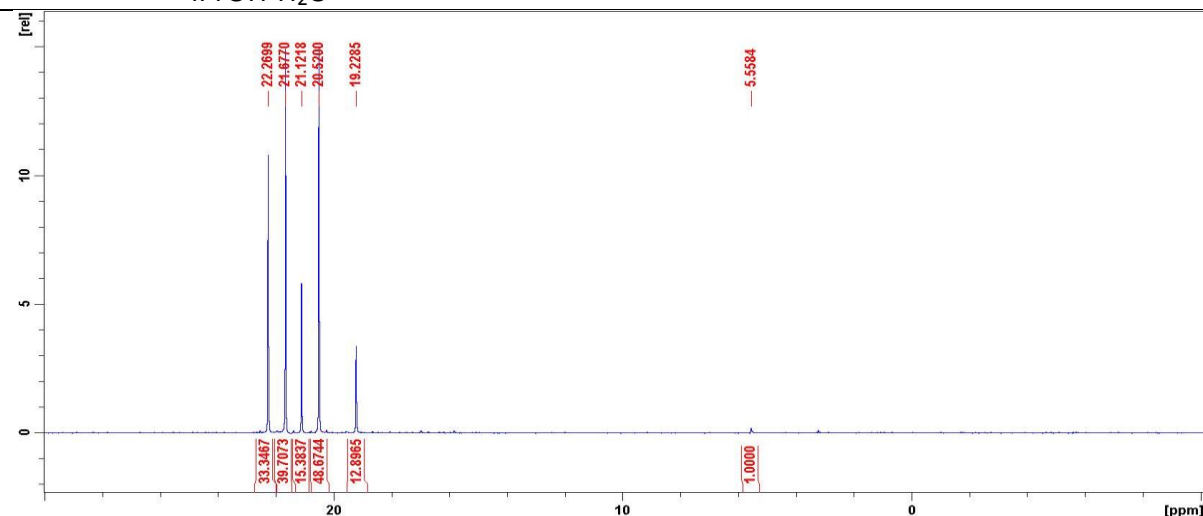
^a/Metoda A – sonikacja w 25°C;
Metoda B – krystalizacja AA^P w gradiencie temperatury 80-25°C;
^b/Średnia z oznaczeń Metodami A i B;
^c/Wyliczone na podstawie danych ze średniej oznaczeń metod A i B;
^d/Oznaczone stosując Metodę B

3.2.1.1.3.2. WYNIKI BADAŃ ROZPUSZCZALNOŚCI KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH W MIESZANYCH WODNO-ALKOHOLOWYCH UKŁADACH AA^P - iPrOH-H₂O

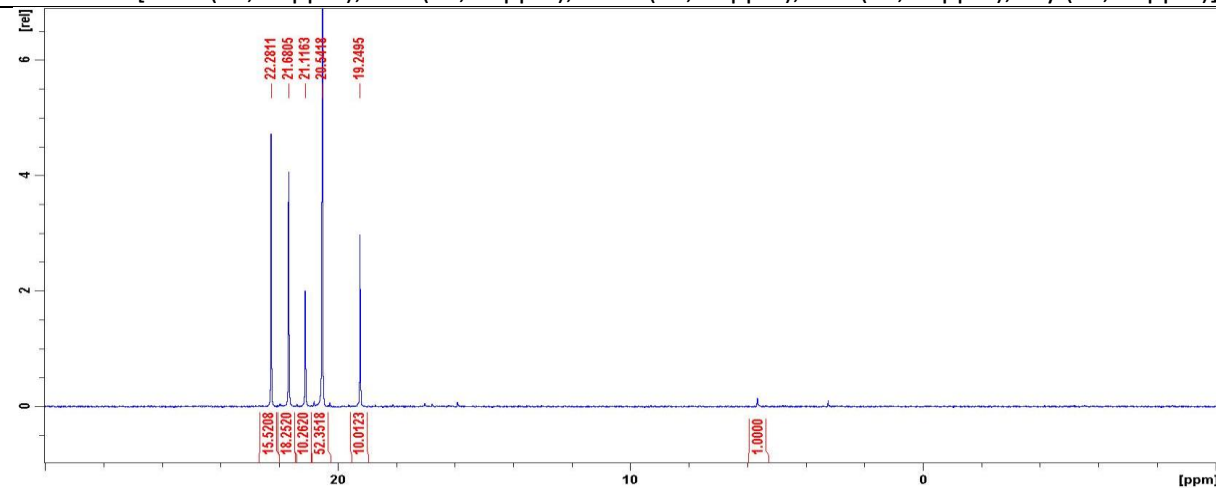
Do badań wpływu zawartości alkoholu na rozpuszczalność AA^P w mieszanych wodno-alkoholowych układach: AA^P - ROH - H₂O wybrano aminokwasy niskocząsteczkowe (Gly^P, Ala^P, Hala^P, Val^P) oraz alkohol izopropylowy.

Widma ³¹P NMR mieszaniny MPA-AA^P w układach iPrOH-H₂O przedstawiono na Rysunku 3-11.

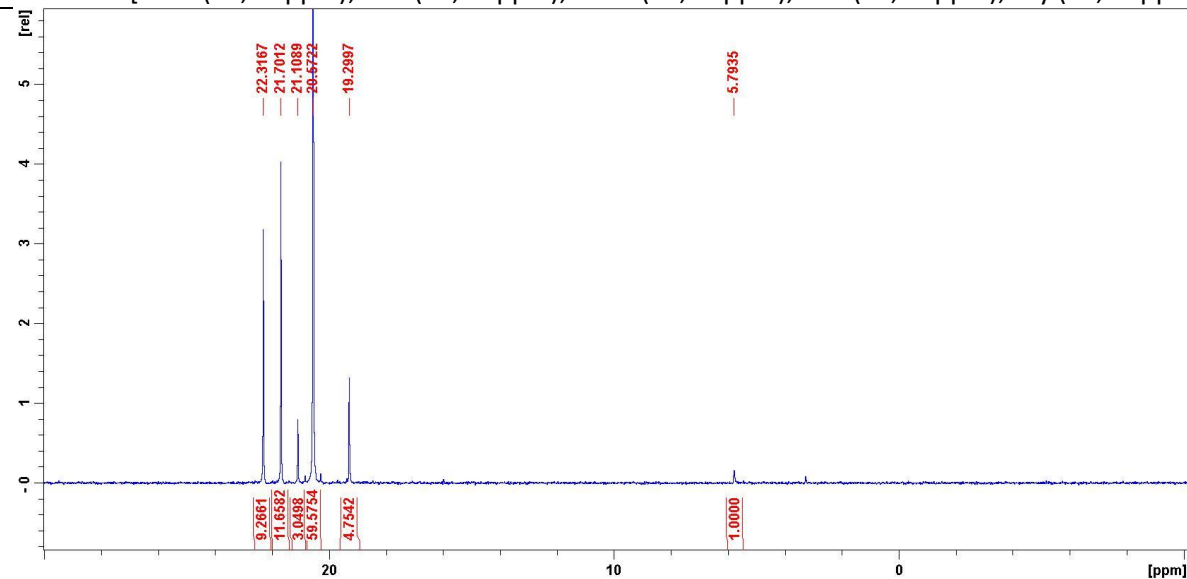
Rysunki 3-11. Widma ^{31}P NMR mieszaniny MPA-AA^P (Gly^P, Ala^P, Hala^P, Val^P) w układach iPrOH-H₂O



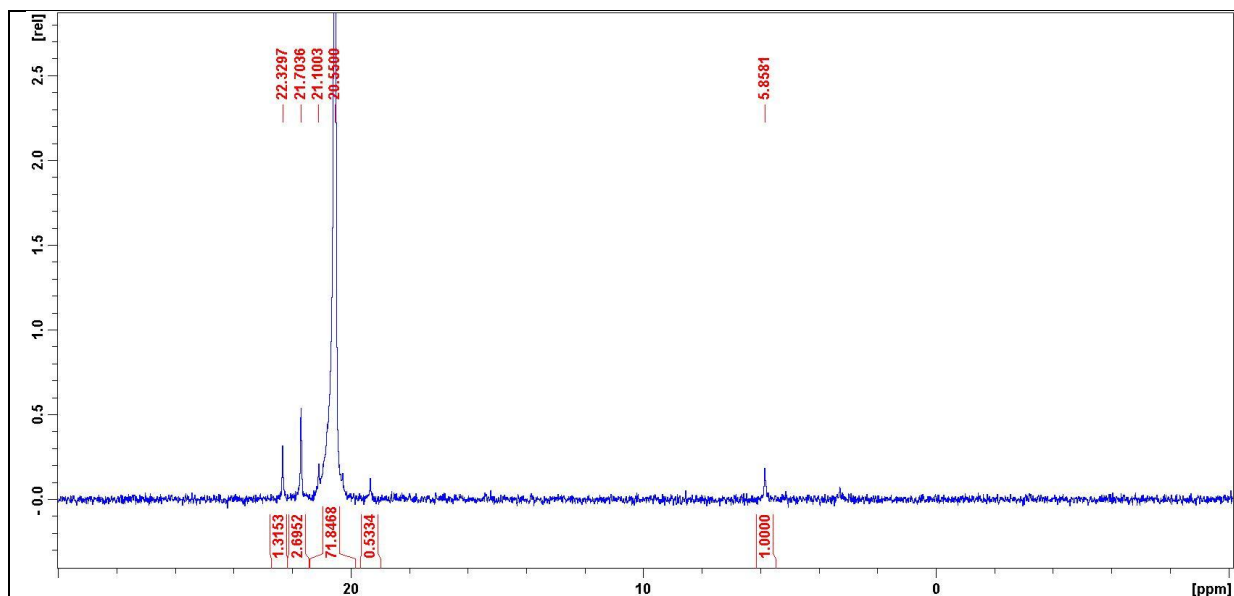
Rys. 3-11.1. Widma ^{31}P NMR mieszaniny MPA-AA^P w 10% iPrOH
[MPA (20,62 ppm); Ala^P (22,27 ppm); Hala^P (21,67 ppm); Val^P (21,12 ppm); Gly (19,23 ppm)]



Rys. 3-11.2. Widma ^{31}P NMR mieszaniny MPA-AA^P w 25% iPrOH
[MPA (20,54 ppm); Ala^P (22,28 ppm); Hala^P (21,68 ppm); Val^P (21,12 ppm); Gly (19,25 ppm)]



Rys. 3-11.3. Widma ^{31}P NMR mieszaniny AMP-AA^P w 50% iPrOH
[MPA (20,67 ppm); Ala^P (22,32 ppm); Hala^P (21,70 ppm); Val^P (21,11 ppm); Gly (19,30 ppm)]



Rys. 3-11.4. Widma ^{31}P NMR mieszaniny MPA-AA^P w 75% iPrOH
[MPA (20,55 ppm); Ala^P (22,33 ppm); Hala^P (21,70 ppm); Val^P (21,10 ppm); Gly (19,23 ppm)]

Wyznaczone rozpuszczalności AA^P dla układów ROH-H₂O przedstawiono w Tabeli 3-12.

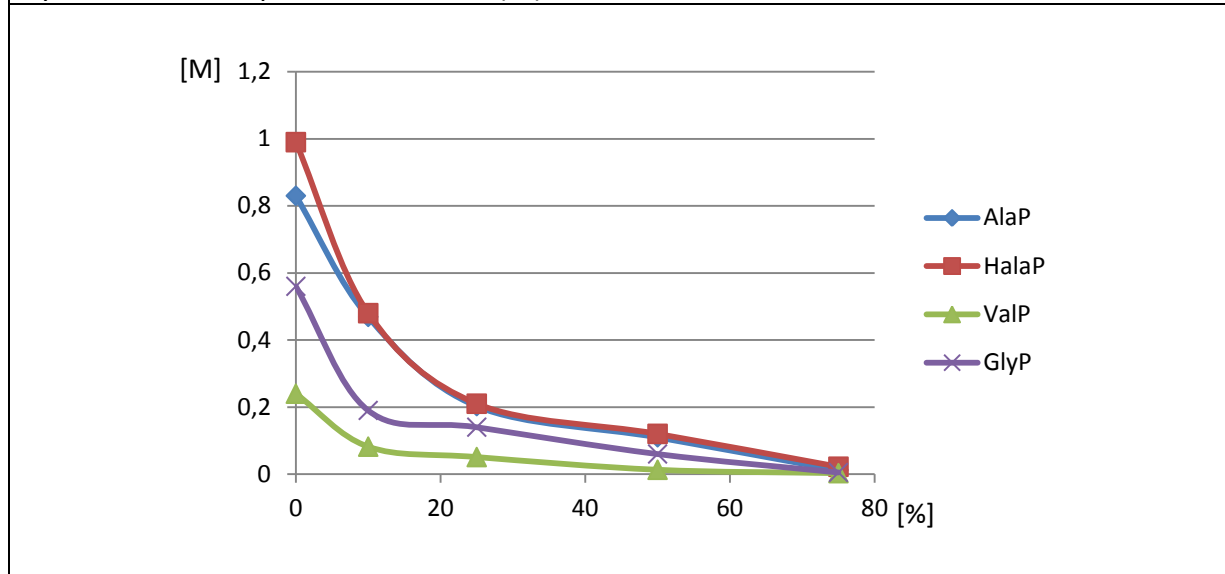
Tabela 3-12. Rozpuszczalność AA^P w układzie H₂O-iPrOH

Nr.	AA ^P	Stężenie molowe [M] AA ^P w układzie: AA ^P - ROH - H ₂ O ^a				
		H ₂ O ^b	iPrOH			
			10 %	25 %	50 %	75 %
1	Gly ^P	0,56	0,19	0,14	0,06	0,005
2	Ala ^P	0,83	0,47	0,20	0,11	0,012
3	Hala ^P	0,99	0,48	0,21	0,12	0,022
4	Val ^P	0,24	0,082	0,051	0,013	0,003

^a/ Wyznaczone za pomocą ^{31}P -NMR;
^b/ Wyznaczone za pomocą miareczkowania pH-metrycznego

Wpływ zawartości alkoholu w układach: AA^P - H₂O - iPrOH na rozpuszczalność kwasu 1-aminoalkilofosfonowego przedstawiono na Rysunku 3-12.

Rysunek 3-12. Rozpuszczalności AA^P (M) w układach: AA^P - H₂O - iPrOH



3.2.1.1.4. DYSKUSJA WYNIKÓW I WNIOSKI

Porównanie rozpuszczalności reprezentatywnych difunkcyjnych aminokwasów naturalnych i ich fosfonowych analogów przedstawiono w Tabeli 3-13.

Tabela 3-13. Porównanie rozpuszczalności reprezentatywnych aminokwasów karboksylowych ^[211, 211a] i ich fosfonowych analogów w wodzie w 25°C							
AA ^C				AA ^P			
AA ^C	MM	Rozpuszczalność		AA ^P	MM	Rozpuszczalność	
		M	%			M ^a	%
Gly	75,1	3,33	25,0	Gly ^P	111,0	0,54	6,2
Ala	89,1	1,85	16,5	Ala ^P	125,1	0,83	10,4
Hal	103,1	2,30 ^[211a]	23,7 ^[211a]	Hal ^P	139,1	0,99	13,8
Mal	103,1	1,33 ^[211a]	13,7 ^[211a]	Mal ^P	139,1	0,081	
Val	117,2	0,76	8,9	Val ^P	153,1	0,22	3,2
Nval	117,2	0,42 ^[211a]	4,9 ^[211a]	Nval ^P	153,1	0,19	2,91
Leu	131,2	0,19	2,4	Leu ^P	167,1	0,09	1,7
Ileu	131,2	0,31	4,1	Ileu ^P	167,1	0,13	2,2
Nleu	131,2	0,087 ^[211a]	1,2 ^[211a]	Nleu ^P	167,1	0,13	2,2
Tleu	131,2	0,48 ^[211b]	6,3 ^[211b]	Tleu ^P	167,1		
Met	149,2	0,23	3,5	Met ^P	185,2	0,09	1,7
Phe	165,2	0,18	2,96	Phe ^P	201,1	0,12	0,6

^{a/}Średnie wartości uzyskane z Metod A i B

Uzyskane wyniki wskazują na około 2-krotnie niższą rozpuszczalność kwasów aminofosfonowych w porównaniu z aminokwasami karboksylowymi (Gly^P – 6-krotny spadek), co sugeruje silniejsze oddziaływania AA^P w ciele stałym [Hudson&Kukhar, 2000]^[1].

Ogólny trend zależności: rozpuszczalność - struktura jest podobny do wykazywanego dla aminokwasów karboksylowych (wyjątek Gly^P) (Rys. 3-13.).

Dane wskazują na znaczący wpływ struktury AA^P na ich rozpuszczalność. I tak:

- obecność większych (Nval^P, Nleu^P) lub bardziej objętościowo rozbudowanych podstawników (Val^P vs. Nval^P, Hal^P vs. Mal^P, seria fosfonoleucyn) obniża rozpuszczalność;
- w przypadku Mal^P – aminokwasu z grupą aminową przy trzeciorzędowym atomie węgla obserwowano znaczące zmniejszenie rozpuszczalności;
- szczególnie słabo rozpuszczalne są aminokwasy aromatyczne (Pgly^P, Phe^P).

Rysunek 3-13. Rozpuszczalności [M] AA^C i AA^P w funkcji długości łańcucha bocznego [(CH₂)_n] w układach: AA - H₂O

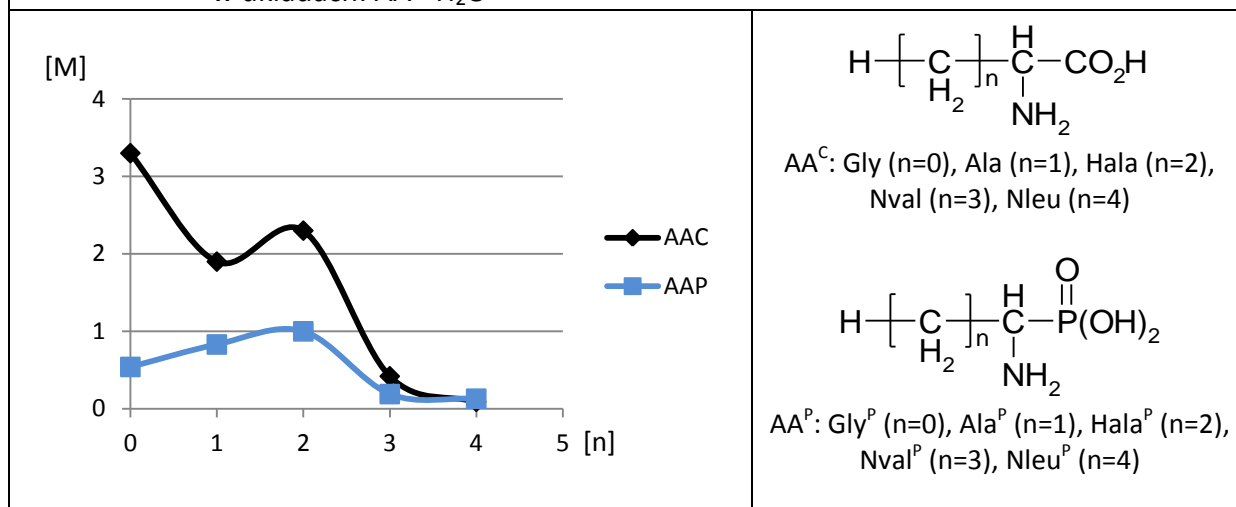


Tabela 3-14. Porównanie rozpuszczalności reprezentatywnych aminokwasów karboksylowych^[211, 211a] i ich fosfonowych analogów w wodzie w 25°C

AA ^C		AA ^P					
AA ^C	MM	Rozpuszczalność ^[211a]		AA ^P	MM	Rozpuszczalność ^{1/b, c}	
		M	%			M ^b	% ^c
2-Ala	89,1	8,13	72,4	2-Ala ^P	125,1		
Hala	103,1	2,30	23,7	Hala ^P	139,1	0,97	13,3
3-Hala	103,1	9,4	97,1	3-Hala ^P	139,1	2,18	30,3 ^b
Me-Hala	131,1	0,28 ^[211b]	3,7 ^[211b]	Me-Hala ^P	167,1		22 ^b
Me ₂ -Hala	131,1	1,74 ^[211b]	22,8 ^[211b]	Me ₂ -Hala ^P	167,1		49 ^(-b)
Mala	103,1	1,33	13,7	Mala ^P	139,1	0,082	1,1
Et-Mala	131,1	0,84 ^[211b]	11,0 ^[211b]	Et-Mala ^P	167,1	0,70	11,7
HBU	104,1	3,45 ^[211b]	35,9 ^[211b]	HPP ^a	140,1		46,

^{a/}HPP - hydroksylowy analog Hala^P;

^{b/}Rozpuszczalność kwasu oznaczano metodą potencjometrycznego miareczkowania (średnia z wyników A&B);

^{c/}Rozpuszczalność szacowano na podstawie metody sukcesywnego dosypywania kwasu fosfonowego do uzyskania przesylenia *

Na uwagę zasługuje znaczący wzrost rozpuszczalności aminokwasu towarzyszący zmianie rzędowości grupy aminowej (Hala^P, Me-Hala^P, Me₂-Hala^P) jak i oddaleniu grupy aminowej i fosfonowej (Hala^P vs. 3-Hala^P) (Tab. 3-14.) spowodowanych wzrostem zasadowości grup aminowych (Tab. 3-15.).

Trójwęglowy kwas 1-hydroksypropylofosfonowy (HPP) wykazuje bardzo wysoką rozpuszczalność (46%) porównywalną do aminowego homologu Me₂N-Hala^P (>50%). Obydwa związki wykazują również bardzo dużą gęstość/lepkość.

Spadek rozpuszczalności kwasów aminoalkilofosfonowych w układach: AA^P – ROH - H₂O wraz ze wzrostem udziału alkoholu w mieszaninie uzasadnia procedurę izolacji AA^P na drodze krystalizacji w układach mieszanych woda-alkohol.

Tabela 3-15. Stałe dysocjacji (pk) /protonowania (pK) wybranych kwasów amino-fosfonowych (AA ^P)			
AA ^P	pk ₁ [pK ₃] [-PO ₃ H ₂ / PO ₃ ⁻ H]	pk ₂ [pK ₂] [-PO ₃ H ⁻ /PO ₃ ²⁻]	pk ₃ [pK ₁] [NR ² H ⁺ /NR ² H ⁺]
Gly ^P	0,44 ^[32] <1 ^[33]	5,39 ^[32] 5,32±0,02 ^[33]	10,5 ^[32] 10,04±0,04 ^[33]
Me-Gly ^P	0,64 ^[32]	5,31 ^[32]	10,91 ^[32]
Me ₂ Gly ^P	0,45 ^[32]	5,18 ^[32]	11,06 ^[32]
2-Ala ^P	2,74±0,05 ^[33]	6,52±0,03 ^[33]	11,17±0,05 ^[33]
3-Hala ^P	2,80±0,05 ^[33]	7,12±0,03 ^[33]	11,18±0,05 ^[33]
4-Nval ^P	2,85±0,05 ^[33]	7,57±0,02 ^[33]	11,23±0,05 ^[33]

Wyniki tej części pracy były prezentowane na konferencji:

Kudzin, M.H; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz, J.: *Investigations on the solubility of aminoalkylphosphonic acids*. 16th International Symposium *Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*, P-085, CBMM PAN, Łódź, 2013.11.15.^[262]

3.2.2. WIDMA ABSORPCYJNE AMINOKWASÓW

3.2.2.1. SPEKTROSKOPIA UV I IR

Zamieszczone w części teoretycznej widma UV i IR reprezentatywnych aminokwasów fosfonowych zostały wykonane przeze mnie i stanowią bazę graficzną przeglądu nt. aminofosfonianów, w przygotowaniu.

Celem sporządzenia widm było zobrazowanie i potwierdzenie obiegowych opinii formułowanych na podstawie analogii do aminokwasów karboksylowych, w tym:

- transparentności w UV roztworów kwasów aminoalkilofosfonowych pozbawionych dodatkowych grup chromoforowych;
- znaczącej absorpcji kwasów aminoalkilofosfonowych;
- skomplikowanym charakterze widm IR kwasów aminoalkilofosfonowych uniemożliwiających ich identyfikację grupową.

3.2.2.2. SPEKTROSKOPIA NMR

Zamieszczone w części teoretycznej widma ^1H NMR oraz ^{13}C NMR reprezentatywnych aminokwasów fosfonowych stanowią bazę graficzną przeglądu nt. aminofosfonianów, w przygotowaniu.

3.2.2.2.1. SPEKTROSKOPIA ^{31}P -NMR

Silna zależność przesunięcia chemicznego kwasów fosfonowych, w tym zwłaszcza kwasów aminofosfonowych od stopnia jonizacji jest przyczyną niejednoznaczności charakteryzacji tych związków za pomocą $\delta(^{31}\text{P})$ (Rys.: 2-5.1., 2-5.2., 3-14.).

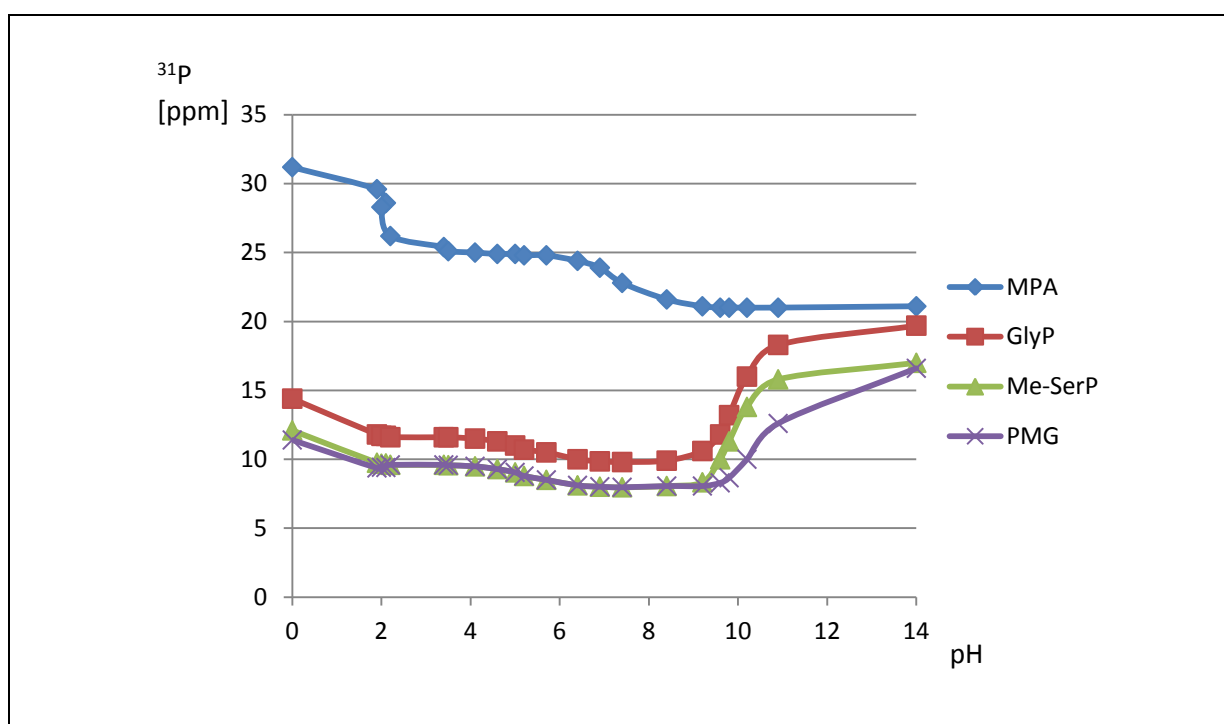
W dostępnych zestawieniach literaturowych przesunięć chemicznych związków fosforu (np. Kukhar&Hudson^[1], Kukhar&Solodenko^[10]) brakuje danych dotyczących kwasów aminofosfonowych. W podjętych badaniach wyznaczyłem przesunięcia chemiczne dla ponad 40 kwasów fosfonowych (Tab. 3-16.), w tym:

- prostych i funkcjonalizowanych (np. grupy HO, CO₂H) kwasów alkilofosfonowych;

- serii ω-aminoalkilofosfonowych;
- serii 1-aminoalkilofosfonowych;
- serii 1-aminoaralkilofosfonowych;
- serii 1-(*N*-alkiloamino)alkilofosfonowych i 1-(*N,N*-dialkilo)alkilofosfonowych;
- serii alkilo-1,1-bisfosfonowych.

Analiza przebiegu zależności: $\delta(^{31}\text{P}) = f(\text{pH})$ dla szeregu AA^{P} (Rys. 3-13) wykazuje względną stałość $\delta(^{31}\text{P})$ w obszarach:

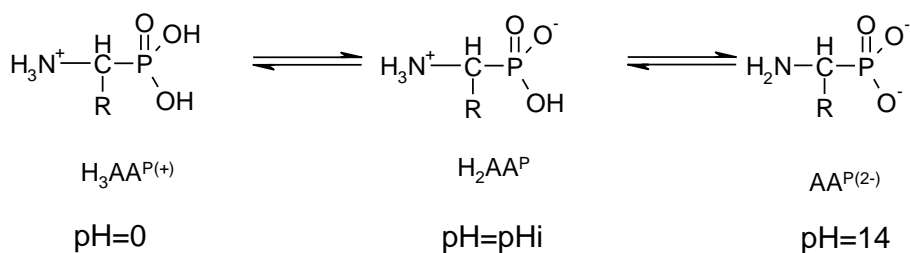
- $3 < \text{pH} < 9$;
- $0 < \text{pH} < 2$;
- $11 < \text{pH} < 14$.



Rysunek 3-14. Zależność $\delta(^{31}\text{P})=f(\text{pH})$ dla MPA, Gly^P, Me-Gly^P i PMG [Kudzin et al., 2003] ^[115]

W obszarach tych występują odpowiednio (Sch. 3-5.):

- $4 < \text{pH} < 6$ - forma jonu obojnego;
- $\text{pH} \sim 0$ - forma maksymalnie uprotonowana;
- $\text{pH} \sim 14$ - forma w pełni zdeprotonowana.



Schemat 3-5. Wpływ pH roztworu na stopień uprotonowania kwasu 1-aminoalkilofosfonowego

Biorąc pod uwagę przebieg funkcji: $\delta(\text{P})=f(\text{pH})$ wybrano 3 punkty pomiarowe, w których obserwowano płaski charakter krzywej, tzn.: 2 M HCl (pH=0), bufor (pH~4,5), 2 M KOH (pH=14).

Tabela 3-16.1. Przesunięcia chemiczne dla kwasów fosfonowych i funkcjonalizowanych kwasów fosfonowych					
Kwas fosfonowy		³¹ P NMR; δ (ppm)			
R/n	Kwas fosfonowy	2 M HCl ^a	Bufor AcOH/AcONa	H ₂ O ^a	2 M NaOH ^a
$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{P}}(\text{OH})_2$					
Me	MPA	30,7	24,4	27	20,5
HO ₂ C-CH ₂	P-AcOH	17,4	14,70		15,9
HO ₂ C-(CH ₂) ₂	P-PrpOH	10,7	8,6		14,2
$\text{H}_2\text{N}-\left[\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}} \right]_n-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{P}}(\text{OH})_2$					
n=1	Gly ^P	13,9 ⁽²⁾	10,6 ⁽²⁾	11,0 ⁽²⁾	19,3 ⁽²⁾
n=2	2-Ala ^P	23,55	18,8	18,8	19,60
n=3	3-Hal ^P	29,25	23,7	23,7	20,7
n=4	4-Nval ^P	30,2	24,20	25,9	22,4
H ₃ PO ₄ /Na _n H _m PO ₄ (m+n=3)		-0,47 ± 0,01	+0,1	0,12 ± 0,03	5,39 ± 0,02
H ₃ PO ₃ /Na _n H _m PO ₃ (m+n=3; n=0-2)		5,15			3,17

Tabela 3-16.2. Przesunięcia chemiczne dla kwasów 1-aminoalkilo fosfonowych					
Kwas fosfonowy		³¹ P NMR; δ (ppm)			
R/n	Kwas fosfonowy	2 M HCl ^a	Bufor AcOH/AcONa	H ₂ O ^a	2 M NaOH ^a
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{R} \end{array}$					
Me	Ala ^P	16,8 ⁽⁴⁾	13,9	14,3 ⁽⁴⁾	22,3 ⁽⁴⁾
Et	Hala ^P	16,3	13,3	13,7	22,0
Pr	Nval ^P	16,4	13,5	13,9	22,0
iPr	Val ^P	15,7 ⁽²⁾	12,7	13,0 ⁽²⁾	21,2 ⁽²⁾
Bu	Nleu ^P	16,45 ⁽²⁾	13,5	13,95 ⁽²⁾	21,7
iBu	Leu ^P	16,2 ⁽²⁾	13,0	13,4 ⁽²⁾	21,2 ⁽²⁾
s-Bu	lleu ^P	15,0	11,6	12,0	20,6
t-Bu	^t Leu ^P	15,3	12,7	13,0	20,8
MeS-CH ₂ CH ₂	Met ^P	16,0	12,6	13,0	20,3
EtS-CH ₂ CH ₂	Eth ^P	16,2	12,6	13,0	20,1
MeS-CH ₂	Mcys ^P	14,0			18,1
EtS-CH ₂	Ecys ^P	14,2			18,1
Bn	Phe ^P	14,8	12,1 ⁽²⁾	12,5	20,4
BnCH ₂	Hphe ^P	15,8	12,8	13,2	21,3

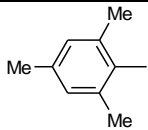
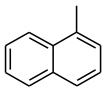
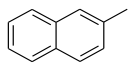
Tabela 3-16.3. Przesunięcia chemiczne dla kwasów 1-aminoalkiloarylofosfonowych					
Kwas fosfonowy		³¹ P NMR; δ (ppm)			
R/n	Kwas fosfonowy	2 M HCl ^a	Bufor AcOH/AcONa	H ₂ O ^a	2 M NaOH ^a
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{Ar} \end{array}$					
R	Kwas fosfonowy	2 M HCl ^a	Bufor AcOH/AcONa	H ₂ O ^a	2 M NaOH ^a
Ph	Pgly ^P	12,5 ⁽²⁾	10,2	10,5 ⁽²⁾	18,0 ⁽²⁾
<i>o</i> -Tol	<i>o</i> -TolGly ^P	13,4			19,5
<i>m</i> -Tol	<i>m</i> -TolGly ^P	13,2			18,8
<i>p</i> -Tol	<i>p</i> -TolGly ^P	13,3			19,0
	2,4,6-Me ₃ Pgly ^P				19,6
<i>o</i> -Cl-Ph	<i>o</i> -Cl-Pgly ^P	11,8			18,3
<i>p</i> -Br-Ph	<i>p</i> -Br-Pgly ^P				16,8
<i>o</i> -NO ₂ -Ph	<i>o</i> -NO ₂ -Pgly ^P	10,8			17,2
<i>m</i> -NO ₂ -Ph	<i>m</i> -NO ₂ -Pgly ^P	11,2			17,1
<i>p</i> -NO ₂ -Ph	<i>p</i> -NO ₂ -Pgly ^P	10,9			17,1
<i>p</i> -HO ₂ C-Ph	<i>p</i> -HO ₂ C-Pgly ^P				18,2
	1-Nphgly ^P	13,0			19,0
	2-Nphgly ^P	12,9			18,6

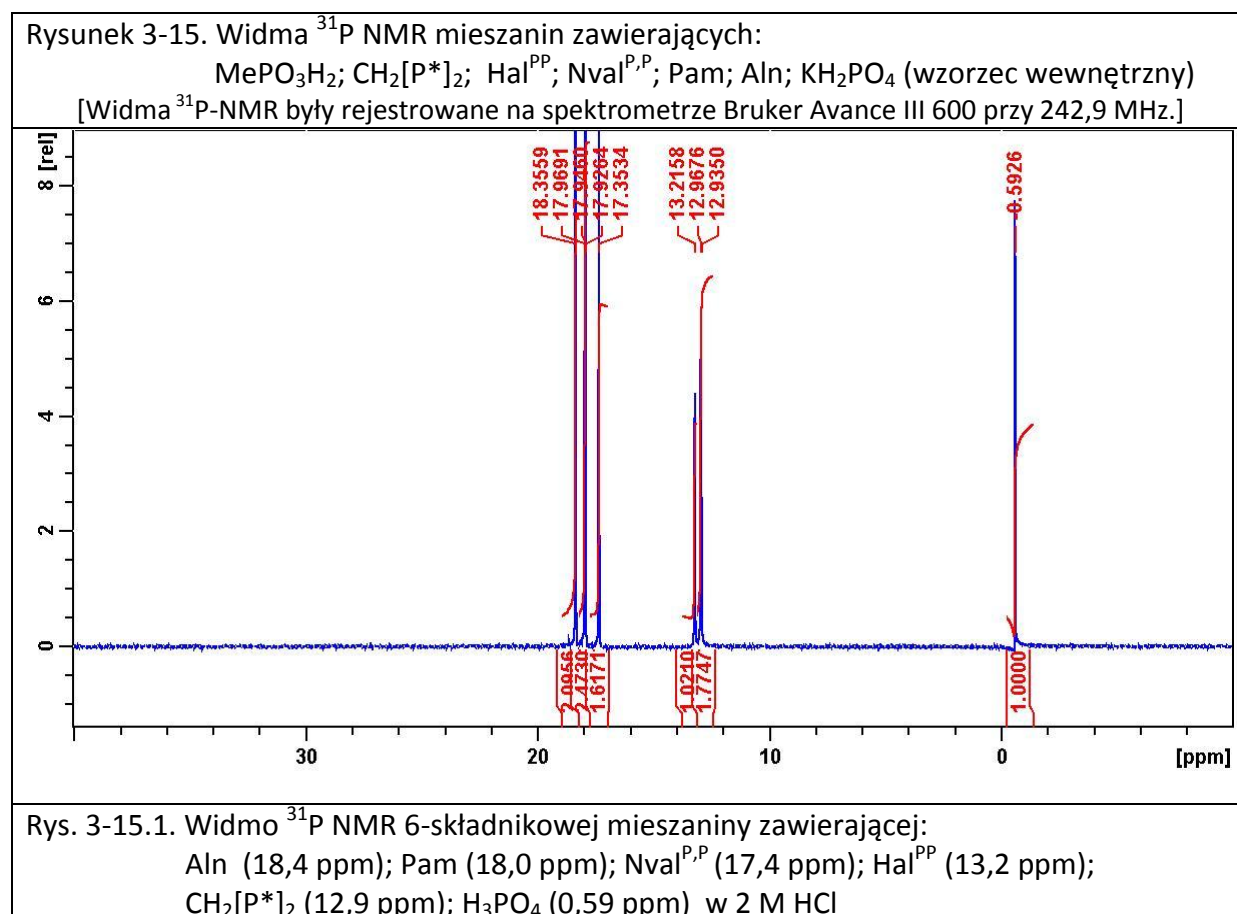
Tabela 3-16.4. Przesunięcia chemiczne dla kwasów 1-(<i>N</i> -alkiloamino)alkilofosfonowych, 1-(<i>N,N</i> -dialkiloamino)alkilofosfonowych i 1-amino-1-alkiloalkilofosfonowych					
Kwas fosfonowy		³¹ P NMR; δ (ppm)			
R/n	Kwas fosfonowy	2 M HCl ^a	Bufor AcOH/AcONa	H ₂ O ^a	2 M NaOH ^a
$\begin{array}{c} \text{R}^1 \\ \diagdown \\ \text{N} - \text{C} - \text{P}(\text{OH})_2 \\ \diagup \quad \quad \\ \text{R}^2 \quad \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \quad \quad \text{R} \end{array}$					
R=H; R ¹ =H; R ² =tBu	^t BuGly ^P	12,5			17,8
R=Me; R ¹ =H; R ² =tBu	^t BuAla ^P	15,9			21,8
R=Et; R ¹ =H; R ² =Me	MeHala ^P	14,3			20,1
R=Et; R ¹ =H; R ² =Et	EtHala ^P	14,5	11,8		20,4
R=Et; R ¹ =R ² =Me	Me ₂ Hala ^P	12,8	10,2		19,1
$\begin{array}{c} \text{R} \quad \text{O} \\ \quad \\ \text{R}^1 - \text{N} - \text{C} - \text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H} \\ \text{R} \end{array}$					
R=Me; R ¹ =H	Mala ^P	19,2	16,6		24,9
R=-[CH ₂] ₆ ; R ¹ =H	1-ACH-1-P	18,8	16,3		
R=Me; R ¹ =Et	Et-Mala ^P	17,6			23,0

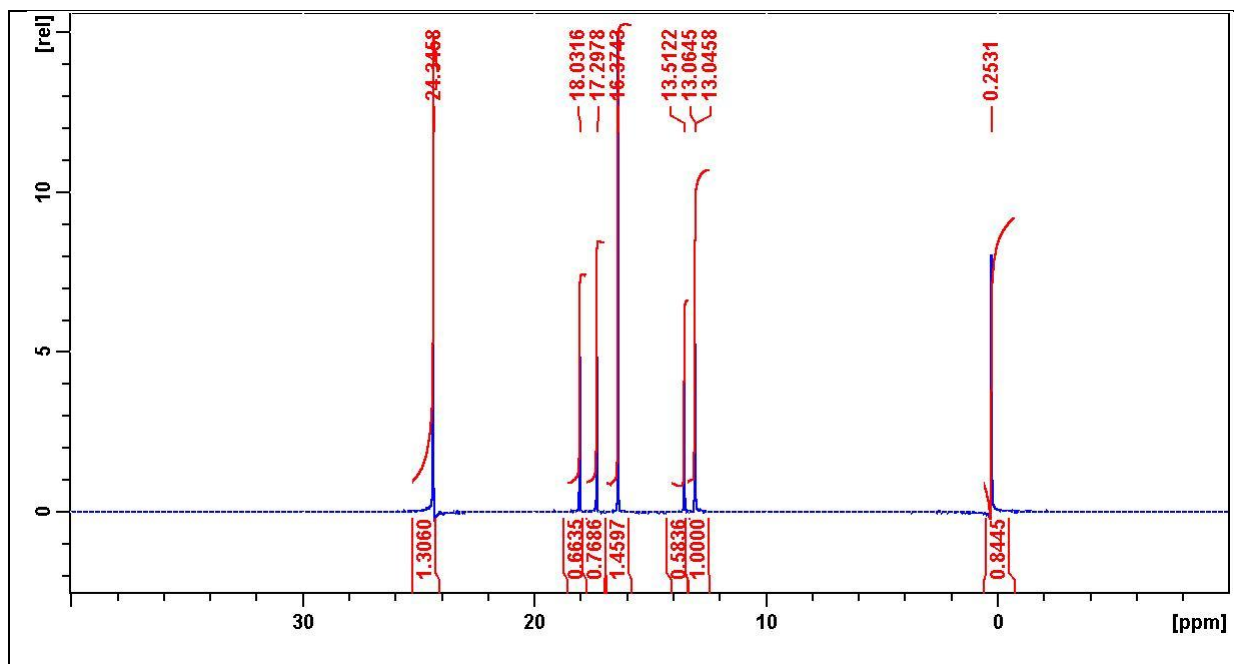
Tabela 3-16.5. Przesunięcia chemiczne dla kwasów alkilo-1,1-difosfonowych i 1-aminoalkilo-1,1-difosfonowych					
Kwas fosfonowy		³¹ P NMR; δ (ppm)			
R/n	Kwas fosfonowy	2 M HCl ^a	Bufor AcOH/AcONa	H ₂ O ^a	2 M NaOH ^a
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R} - \text{C} - \text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{X} \\ \text{O} \\ \\ \text{P}(\text{OH})_2 \end{array}$					
R=X=H	MDP	12,94	13,04		15,84*
X=NH ₂ ; R=C ₂ H ₅	Hal ^{P,P}	13,21	13,51		17,18*
X=NH ₂ ; R=C ₃ H ₇	Nval ^{P,P}	17,35	16,37		18,16*
X=OH; R=H ₂ N(CH ₂) ₂	Pam	17,94	17,30		20,88*
X=OH; R=H ₂ N(CH ₂) ₃	Aln	18,35	18,03		21,43*

Racjonalna podstawa charakteryzacji kwasów fosfonowych za pomocą przesunięć chemicznych $\delta(P)$ stanowi nowość w literaturze naukowej.

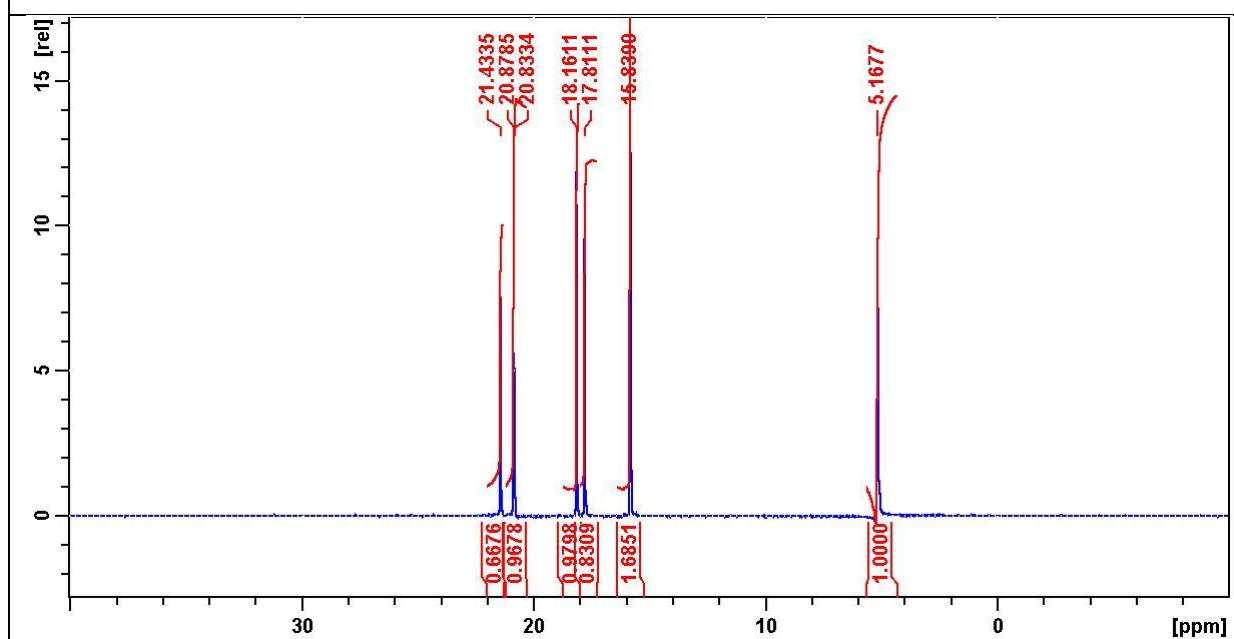
Porównanie przesunięć chemicznych dla różnych AA^P w danych warunkach pH pozwala znaleźć warunki w których związki te są rozróżnialne w mieszaninie wieloskładnikowej.

Na Rysunkach 3-15. przedstawiono widma mieszanin wieloskładnikowych zawierających bisfosfoniany, w tym: CH₂[P*]₂, Hal^{PP}, Nval^{P,P}, Pam, Aln.





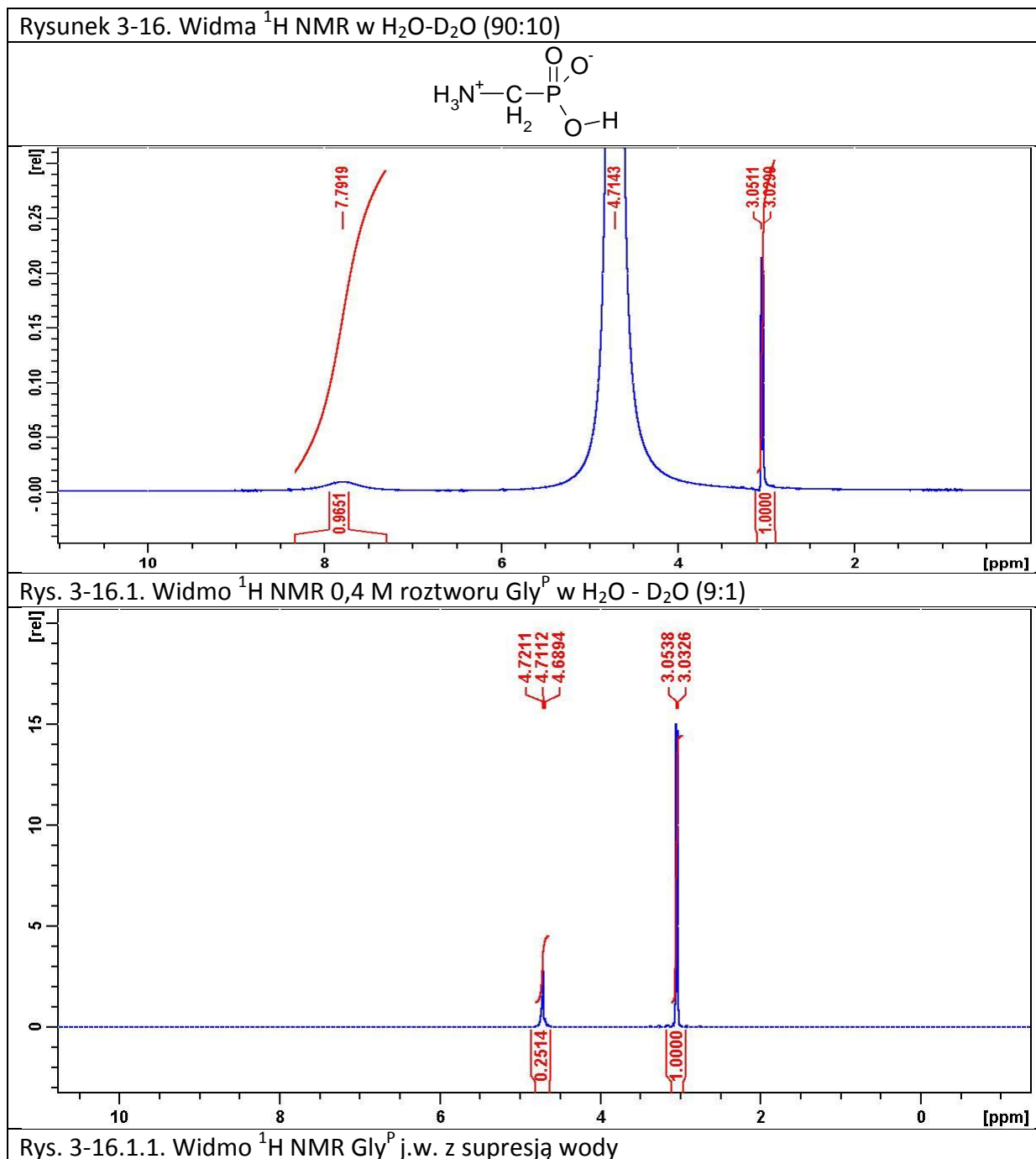
Rys. 3-15.2. Widmo ^{31}P NMR 7-składnikowej mieszaniny zawierającej:
 MePO_3H_2 (24,3 ppm); Aln (18,0 ppm); Pam (17,3 ppm); $\text{Nval}^{\text{P,P}}$ (16,4 ppm); $\text{Hal}^{\text{P,P}}$ (13,5 ppm);
 $\text{CH}_2[\text{P}^*]_2$ (13,0 ppm); KH_2PO_4 (0,25 ppm) w roztworze buforowym AcOH/AcOK ($\text{pH}=4,5$)



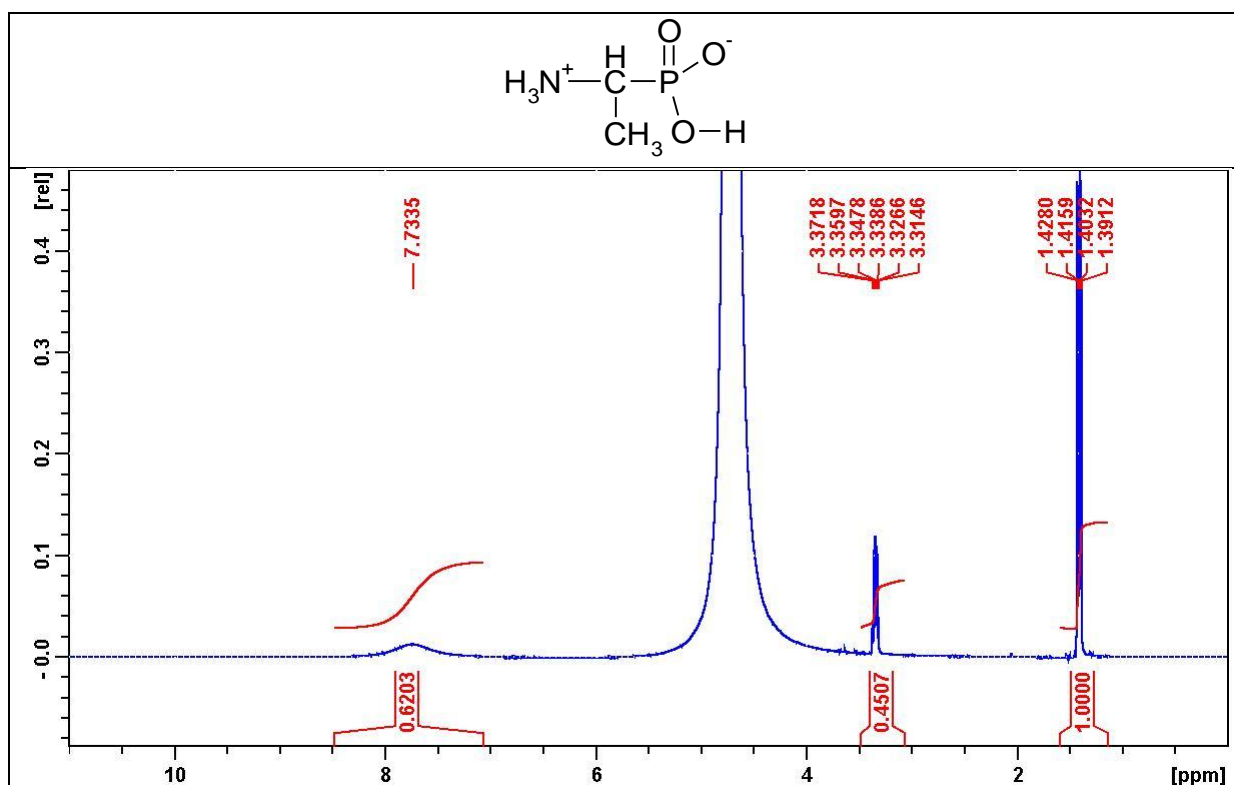
Rys. 3-15.3. Widma ^{31}P NMR 6-składnikowej mieszaniny zawierającej:
 Aln (21,4 ppm); Pam (20,9 ppm); $\text{Nval}^{\text{P,P}}$ (18,2 ppm); $\text{Hal}^{\text{P,P}}$ (17,2 ppm);
 $\text{CH}_2[\text{P}^*]_2$ (15,8 ppm); K_3PO_4 (5,18 ppm) w 2 M KOH

3.2.2.2.2. SPEKTROSKOPIA ^1H -NMR

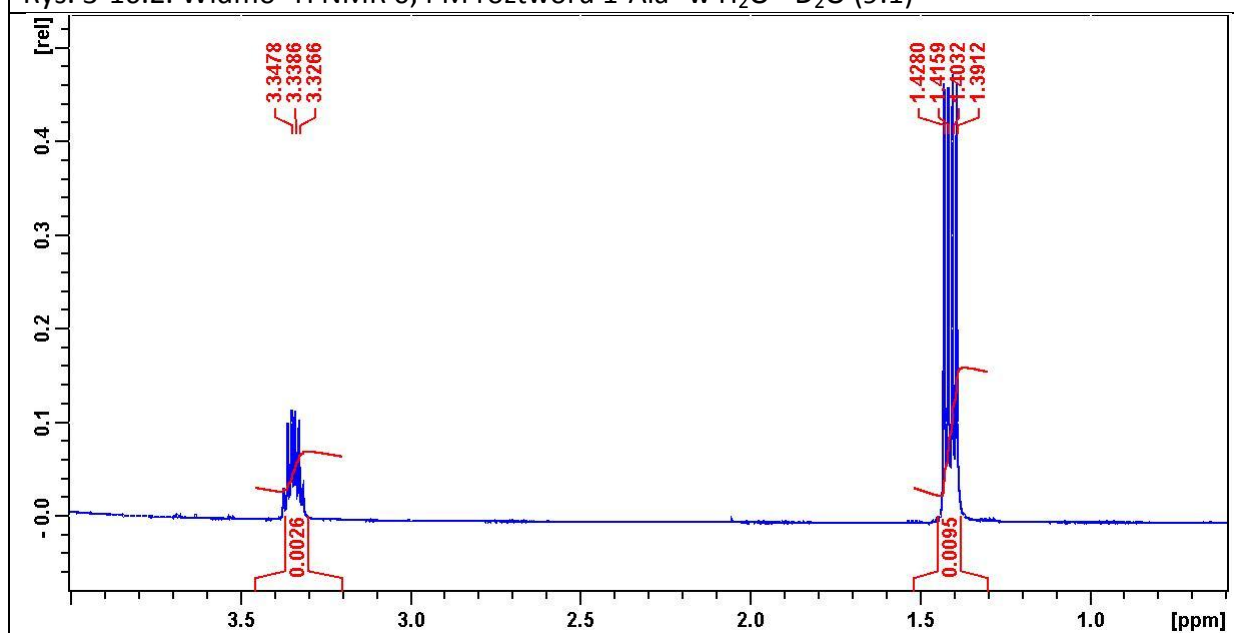
Na Rysunkach 3-16. przedstawiono widma ^1H NMR dla 0,4 M roztworów AA^{P} (Gly^{P} , 1- Ala^{P} , 2- Ala^{P}) wykonane w roztworze $\text{H}_2\text{O} - \text{D}_2\text{O}$ (90:10). Na widmach widoczne są szerokie sygnały (7,30 - 8,30 ppm) pochodzące od grupy aminowej (integracja i dominujący sygnał pochodzący od wody). Sygnał wody można elektronicznie zniwelować (lub silnie ograniczyć).



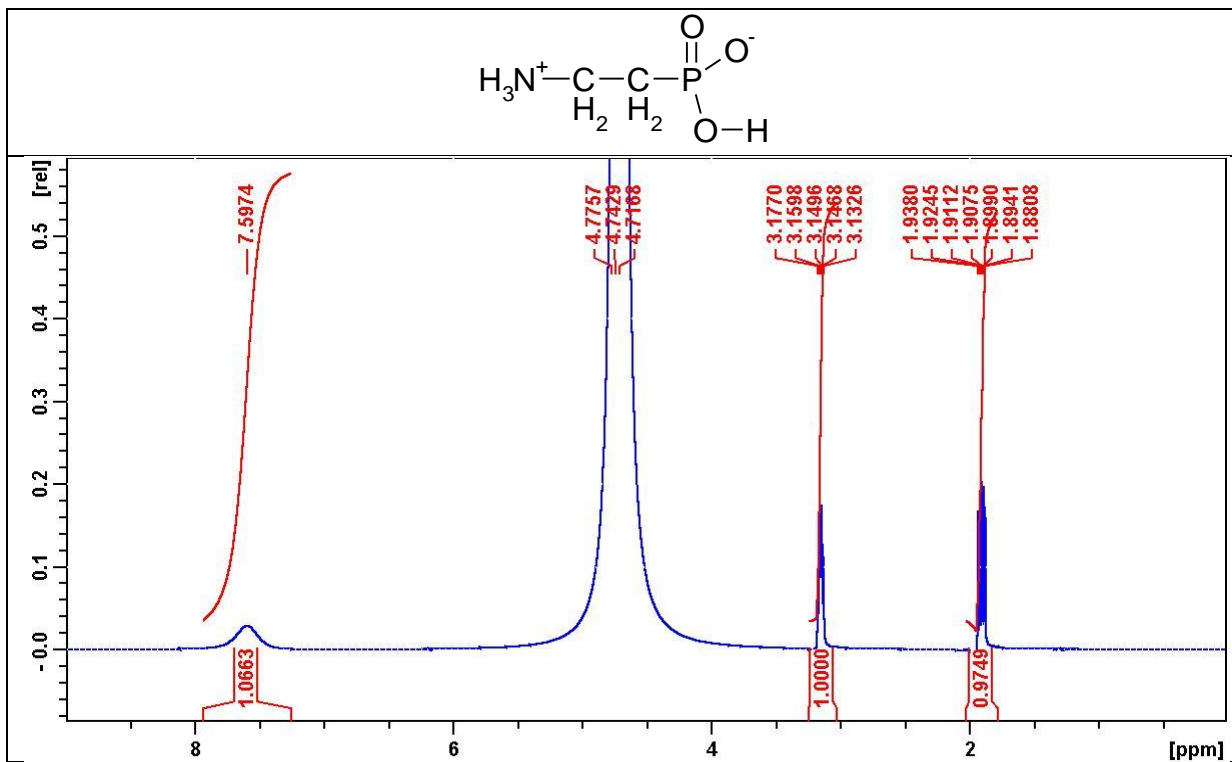
Widma po supresji wody (niepełna) nie zawierają jednak protonów grupy aminowej ani fosfonowej. **Wykorzystanie tej techniki do rejestracji kwasów aminofosfonowych stanowi nowość w chemii związków klasy P-C-N**, jednak wymaga dopracowania, w tym ustalenia czy proton grupy fosfonowej ulega poszerzeniu i dlatego jest niewidoczny, czy wraz z protonami H₂O jest elektronicznie niwelowany.



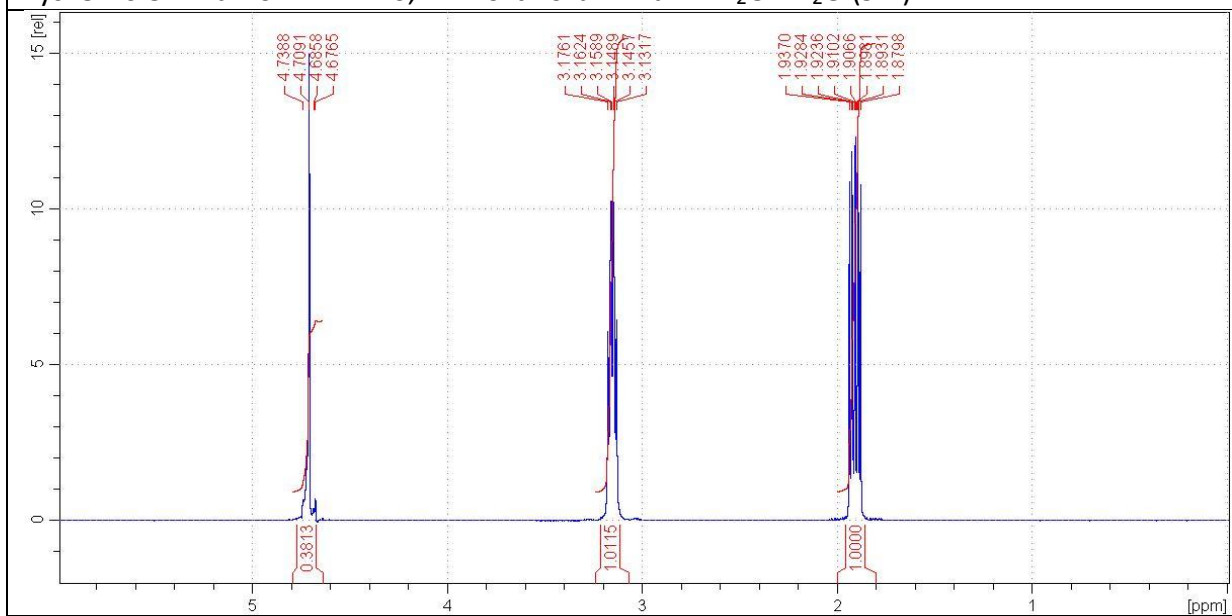
Rys. 3-16.2. Widmo ¹H NMR 0,4 M roztworu 1-Ala^P w H₂O - D₂O (9:1)



Rys. 3-16.2.1. Widmo ¹H NMR 1-Ala^P j.w. z supresją wody



Rys. 3-16.3. Widmo ^1H NMR 0,4 M roztworu 2-Ala^P w $\text{H}_2\text{O} - \text{D}_2\text{O}$ (9:1)



Rys. 3-16.3.1. Widmo ^1H R 0,4 M roztworu 2-Ala^P w $\text{H}_2\text{O} - \text{D}_2\text{O}$ (9:1) po supresji sygnału wody

3.2.2.2.3. SPEKTROSKOPIA ¹³C-NMR

Widma ¹³C NMR serii kwasów ω-aminoalkilofosfonowych (D₂O) przedstawiono w części teoretycznej (Rys. 2-15.) i stanowią bazę graficzną przeglądu nt. aminofosfonianów, w przygotowaniu.

Opis numeryczny widm przedstawiono w Tabeli 3-17.

Tabela 3-17. Charakterystyka ¹³ C NMR serii kwasów ω-aminoalkilofosfonowych								
Gly ^P	ppm	36,66	35,72					
	Hz							
	Integr.	0,99	1,00					
1-Ala ^P	ppm	45,28	44,32	13,65				
	Hz							
	Integr.	0,39	0,38	1,00				
2-Ala ^P	ppm	35,56	26,58	25,71				
	Hz							
	Integr.	1,95	0,95	1,00				
3-Hal ^P	ppm	40,28	40,16	25,41	24,52	21,53		
	Hz							
	Integr.	1,13		0,41	0,44	1,00		
	1	1						
4-Nval ^P	ppm	39,46	27,93	27,82	27,68	26,79	20,25	20,27
	Hz							
	Integr.	1,47				0,5	1,00	
	0,91	0,49	0,49	0,49				
Widma ¹³ C NMR były rejestrowane na spektrometrze Bruker Avance III 600 przy częstotliwości: 150,95 MHz								

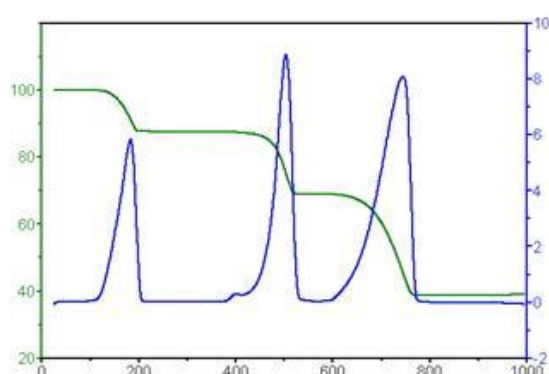
3.2.3. BADANIA TERMOGRAWIMETRYCZNE KWASÓW AMINOFOSFONOWYCH

Analiza termogravimetryczna (TGA lub TG: ang. *Thermogravimetric Analysis*, *Thermogravimetry*) – technika pozwalająca opisać przemiany termiczne próbki analizowanej [Gallacher, 1998]^[260]. Wynikiem pomiarów termogravimetrycznych jest krzywa termogravimetryczna (krzywa TGA), będąca ilustracją zależności zmiany masy próbki od czasu i/lub temperatury (Rys. 3-17.)^[279].

Straty masy obserwowane na termogramach mogą być powodowane przez:

- przemiany fazowe (parowanie, sublimacja);
- przemiany pirolityczne.

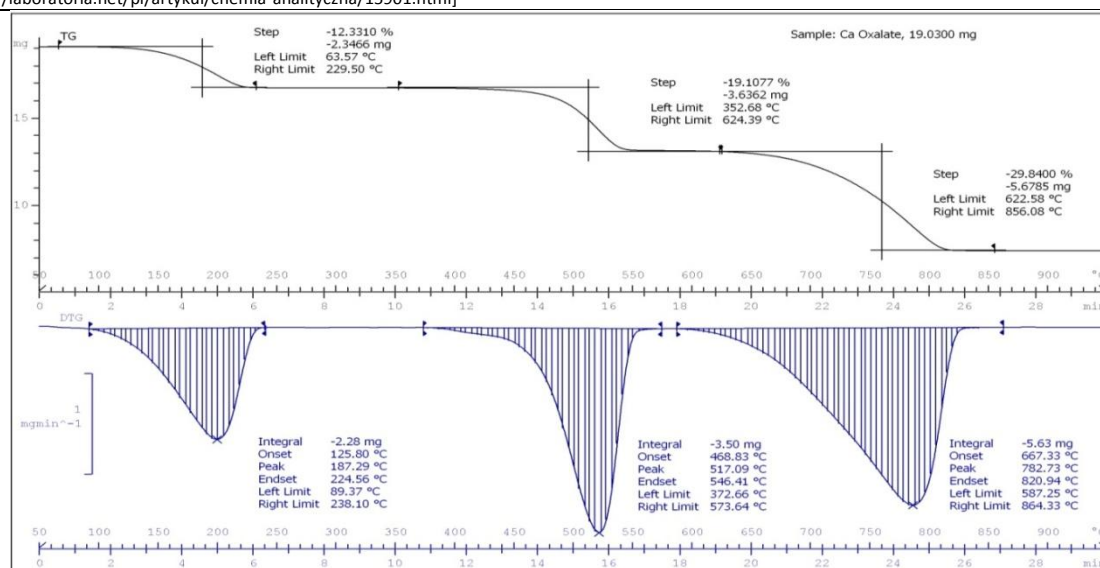
Rysunek 3-17. Przykładowe krzywe termogravimetryczne (krzywe TGA)



Rys. 3-17.1. Główne typy krzywych w analizie termogravimetrycznej:

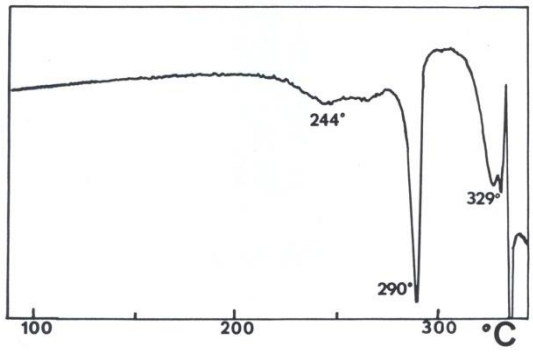
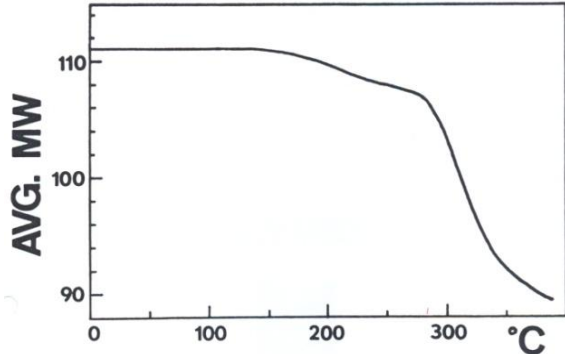
- krzywa zielona przedstawia ubytek masy [%] podczas pomiaru [krzywa TG: $G=f(T)$];
- krzywa niebieska szybkość utraty masy [krzywa DTG: $dG/dT=f(T)$]

[<http://laboratoria.net/pl/artykul/chemia-analityczna/15901.html>]^[280]



Rys. 3-17.2. Termogram szczawianu wapnia [<http://pl.wikipedia.org/w/index.php?title>]^[281]

Prekursorem i autorem jedynej pracy włączającej metody termoanalityczne do chemii aminofosfonianów był Kurt Moedritzer [Moedritzer, 1972]^[212] (Rys. 3-18.). O przyczynie sprawczej własnych badań termogravimetrycznych Autor pisze w sposób następujący: *“The discrepancy in the reported melting points for the aminomethylphosphonic acid and our own findings (melting at 285°, subsequent resolidification and melting with decomposition at 333°) prompted us to explore this phenomenon in detail by thermoanalytical methods”*.

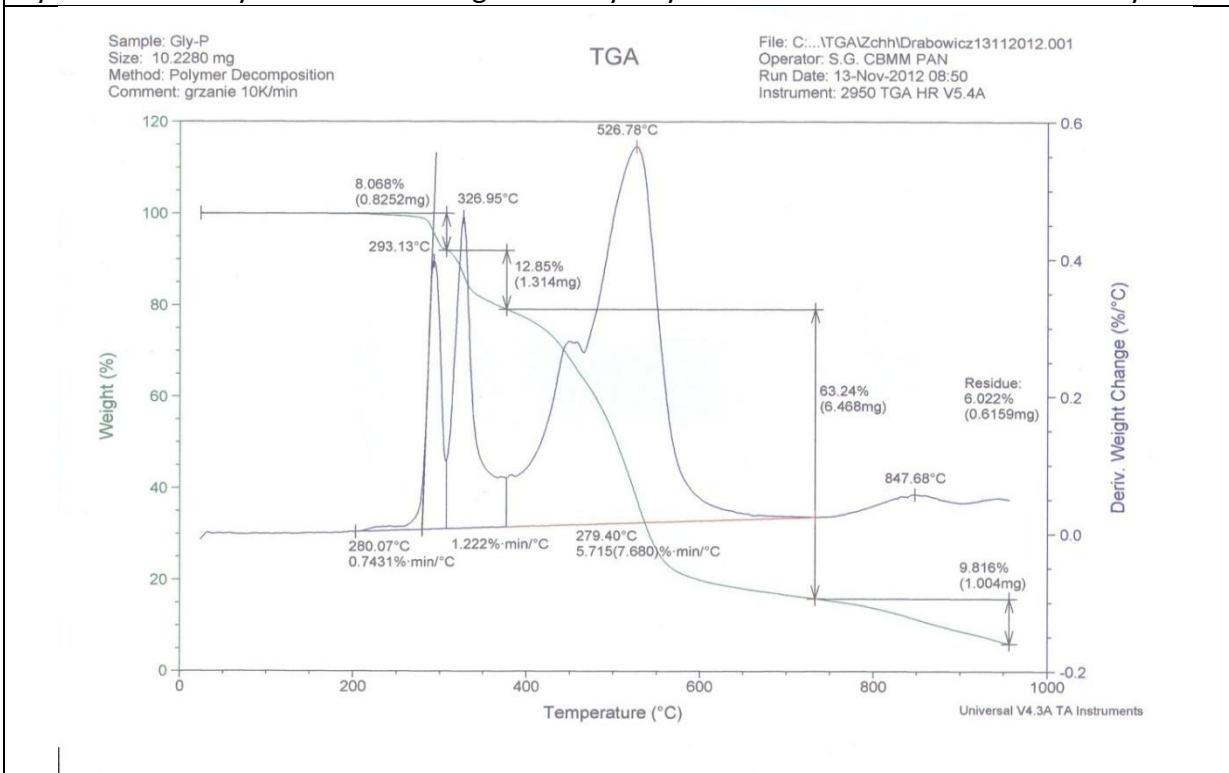
Rysunek 3-18. Wyniki badań termogravimetrycznych kwasu aminometylofosfonowego (Gly ^P) [Moedritzer, 1972] ^[212]	
	
Rys. 3-18.1. Różnicowa termograficzna analiza Gly ^P [DTA: Differential Thermal Analysis]	Rys. 3-18.2. Termogravimetryczna analiza (TGA) Gly ^P
Termogram wykonano na kalorymetrze skaningowym [Differential Scanning Calorimeter] Perkin Elmer Model 1B w strumieniu N ₂ w programie 20°C/min.	Analizę wykonano na aparacie Perkin-Elmer TGS-1 w strumieniu N ₂ w programie temperaturowym 5°C/min.

Termogram TGA (Rys. 3-18.1.) wykazuje łagodną endotermę z początkiem w 219°C (ekstrapolacja) z pikiem w 244°C. Pik silnej endotermii pojawiający się w 290°C prezentuje pierwszy punkt topnienia, z ekstrapolowanym początkiem dekompozycji w 317°C, i gwałtowną rozkład z maksimum przy około 329°C. Termogram (Rys. 3-18.2.) wskazuje na niewielki spadek masy próbki do 290°C (ok. 4%) i szybki spadek masy powyżej tej temperatury (prawdopodobnie odszczepienie cząsteczki wody).

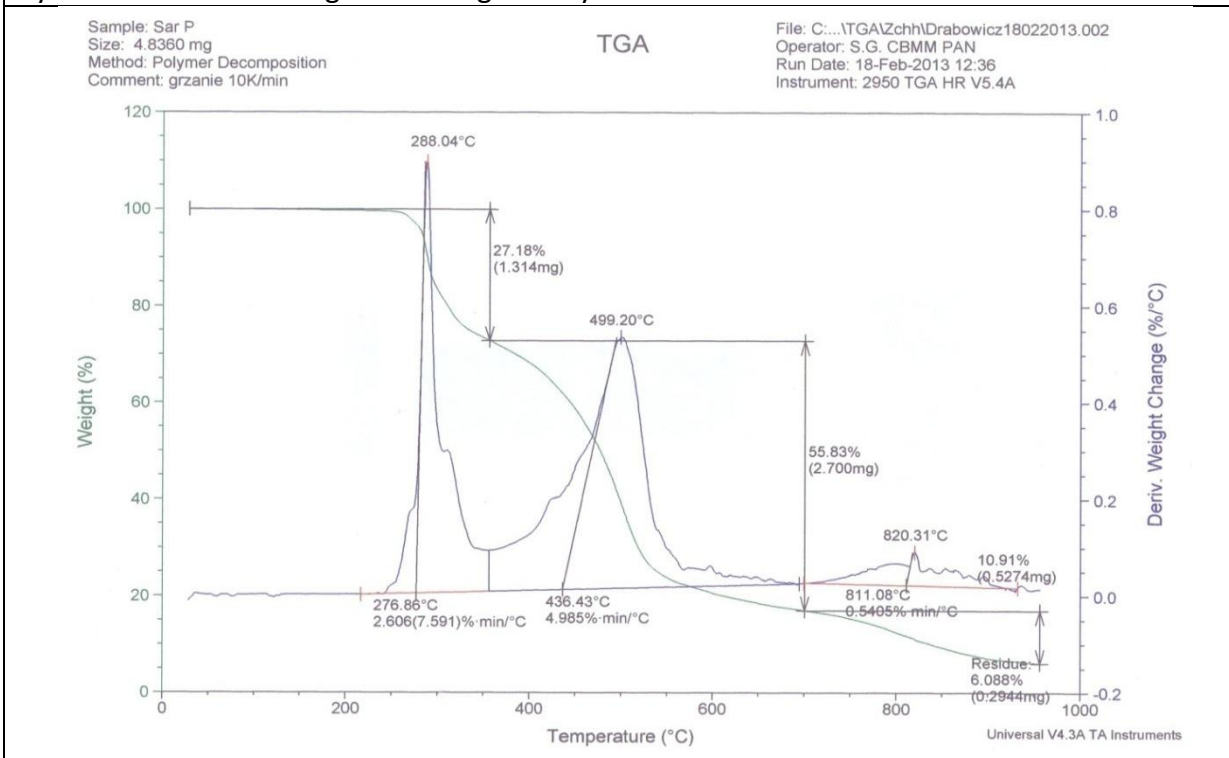
Termicznego rozkładu kwasów 1-aminofosfonowych (Sch. 3-6.) może polegać na:

- eliminacji kwasu fosforowego (III) - rozpad wiązania C-P;
- eliminacji amoniaku (aminy) – rozpad wiązania C-N;
- eliminacji wody;
- eliminacji łańcucha bocznego - rozpad wiązania C_α-C_β;
- reakcji wtórnych utworzonych fragmentów.

Rysunek 3-19. Wyniki badań termograwimetrycznych kwasów 1-aminoalkilofosfonowych

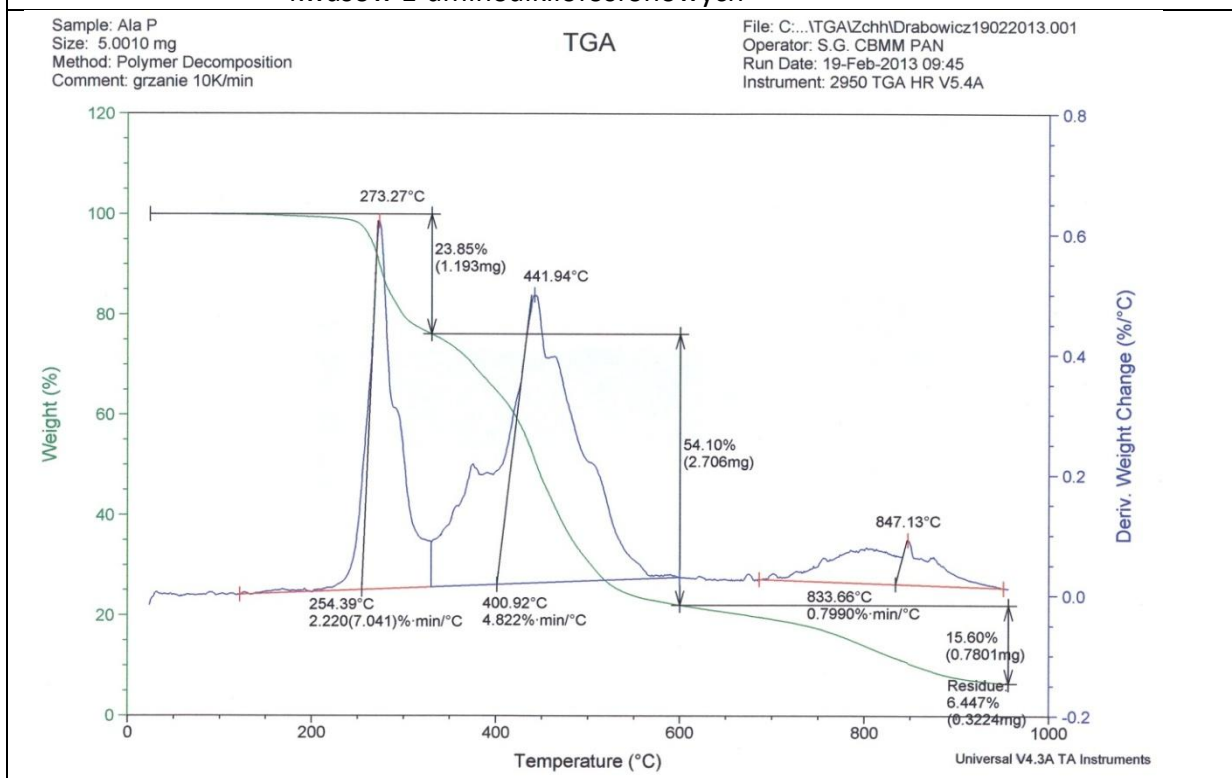


Rys. 3-19.1. TGA termogravimetrogram Gly^P

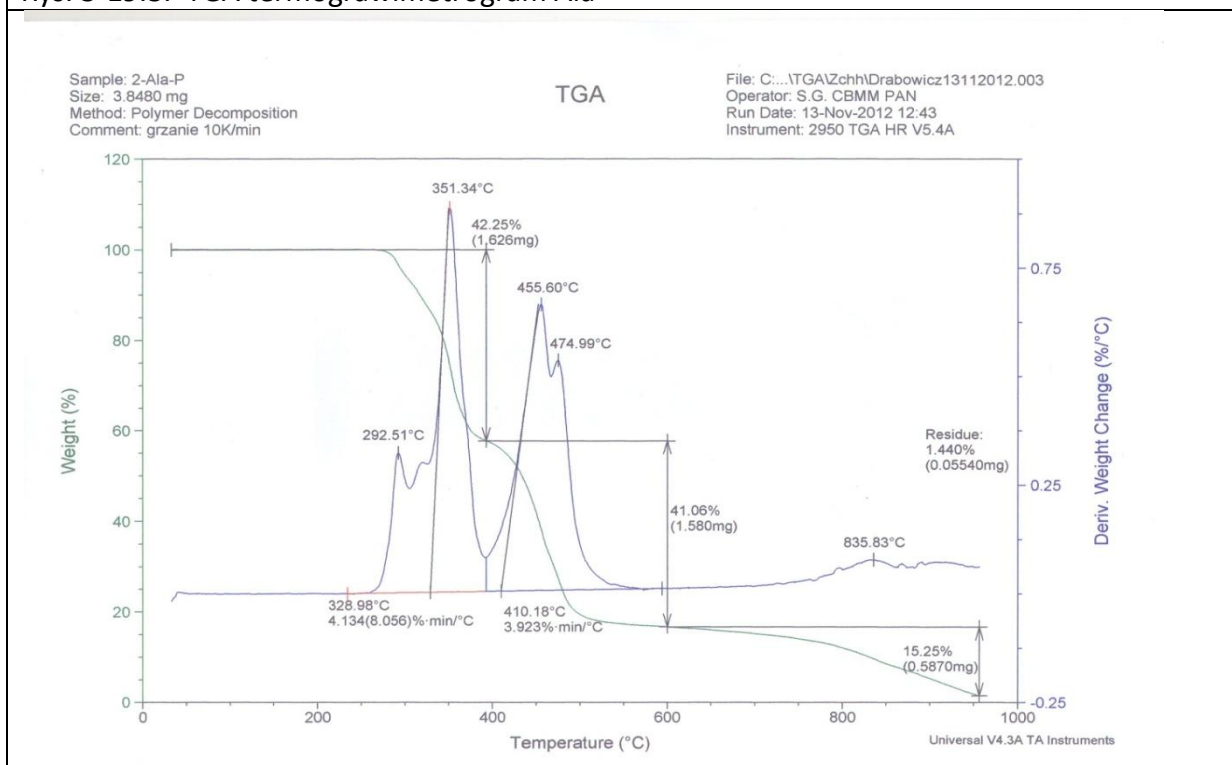


Rys. 3-19.2. TGA termogravimetrogram Sar^P

Rysunek 3-19. (c.d.) Wyniki badań termogravimetrycznych kwasów 1-aminoalkilofosfonowych

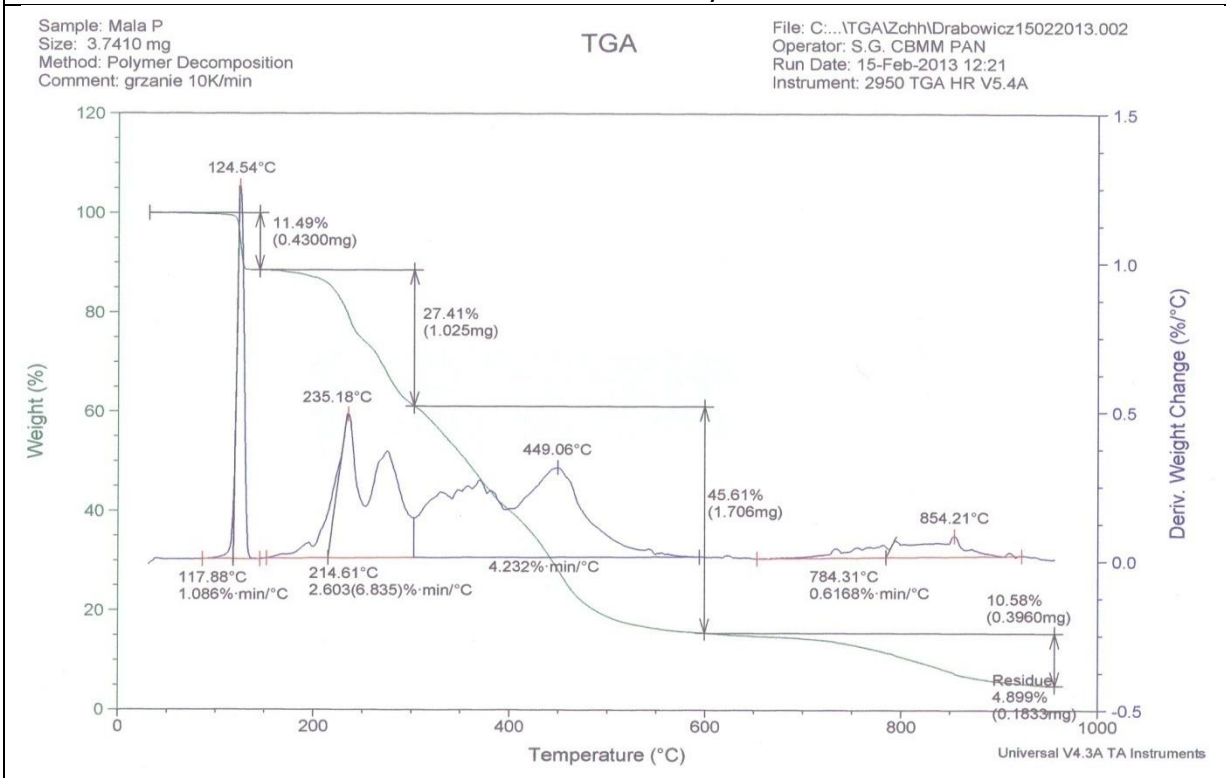


Rys. 3-19.3. TGA termogravimetrogram Ala^P

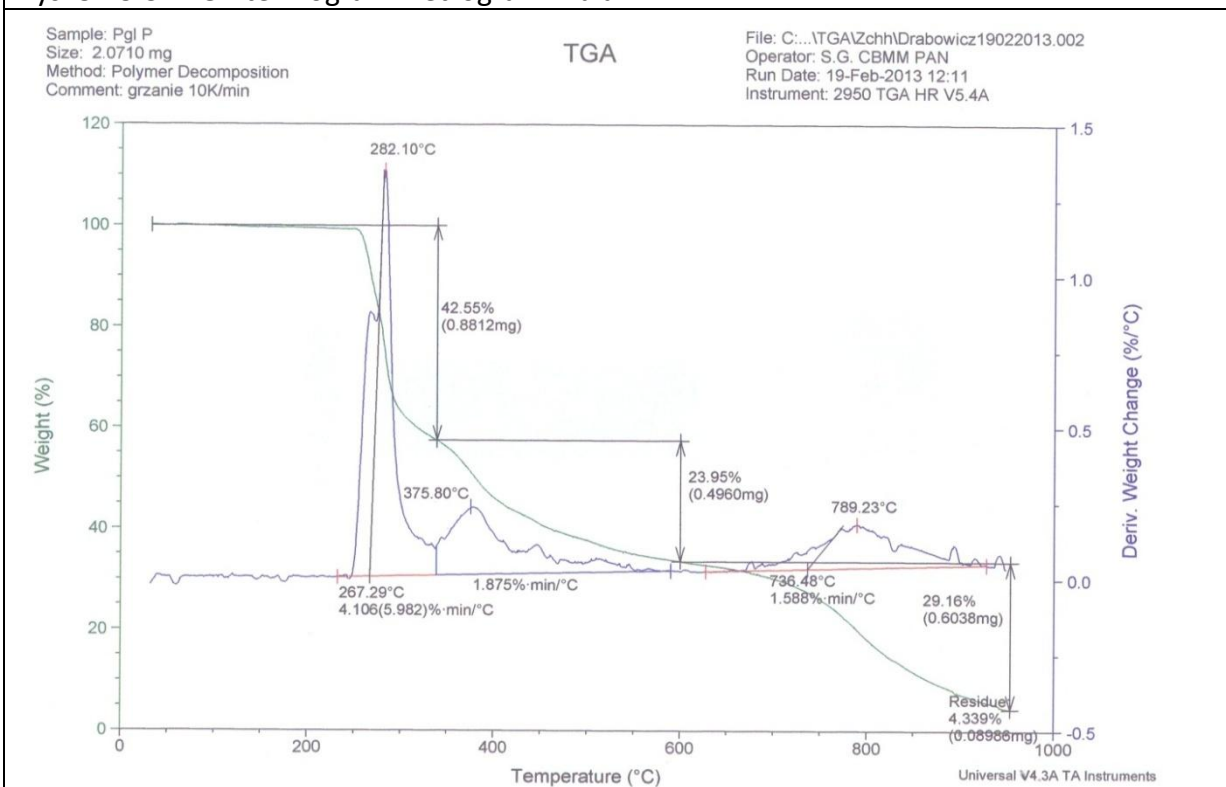


Rys. 3-19.4. TGA termogravimetrogram 2-Ala^P

Rysunek 3-19. (c.d.) Wyniki badań termograwimetrycznych kwasów 1-aminoalkilo-fosfonowych

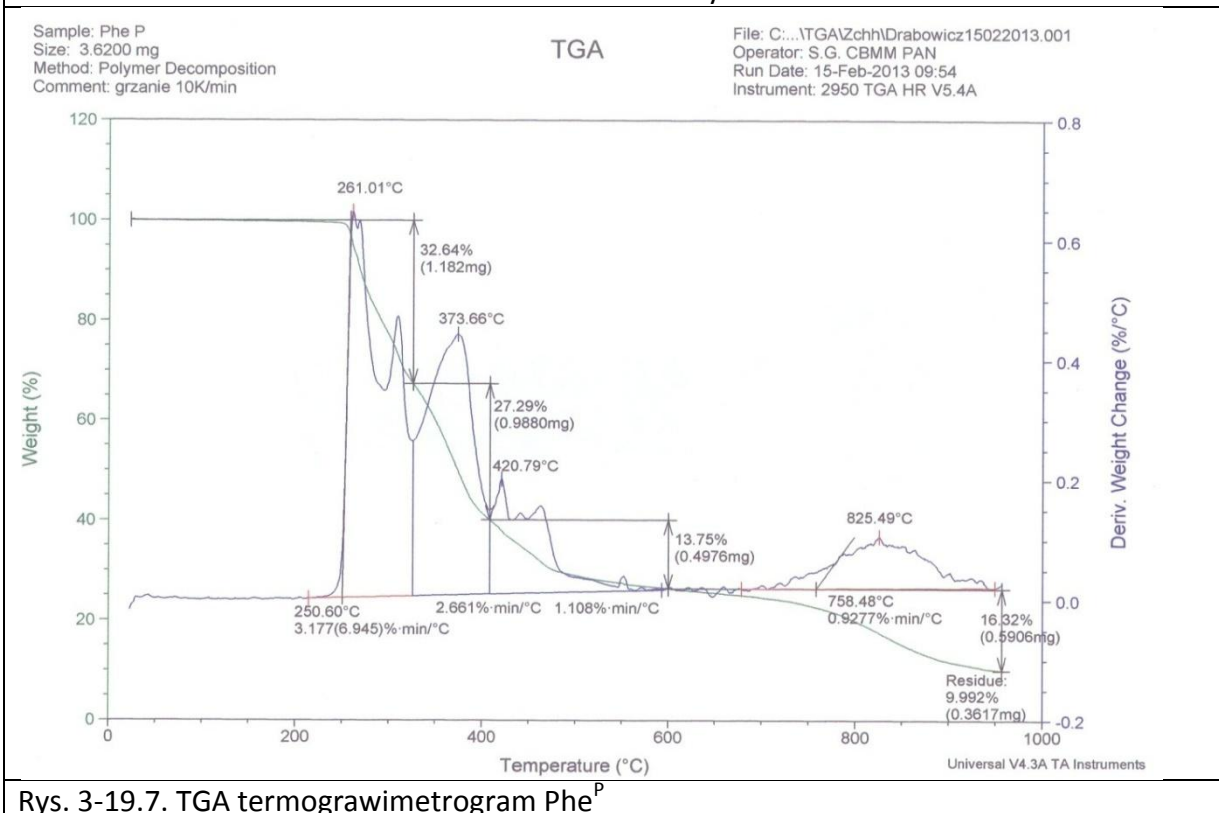


Rys. 3-19.5. TGA termograwimetrogram Mala^P



Rys. 3-19.6. TGA termograwimetrogram Pgly^P

Rysunek 3-19. (c.d.) Wyniki badań termograwimetrycznych kwasów 1-aminoalkilo-fosfonowych



Rys. 3-19.7. TGA termogravimetrogram Phe^P

Tabela 3-18. Analiza termogravimetrogramów TGA reprezentatywnych AA ^P								
Aminokwas				Temperatura [°C] ^b			Ubytek masy [%]	Res. ms. ^c w 960°C [%]
AA ^P	Struktura	MW	Faza ^a	T _o	T _i	T _k		
Gly ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	111,1	1	280	293,13	311	8,068	6,022
			2	311	326,95	377	12,85	
			3	377	526,76	738	63,24	
			4	738	847,68	955	9,816	
Sar ^P	$\text{Me}-\underset{\text{H}}{\text{N}}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	125,1	1	277	288,04	356	27,18	6,086
			2	356	499,20	702	55,83	
			3	702	820,31	960	10,91	
Ala ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Me}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	125,1	1	254	273,27	333	23,85	6,447
			2	333	441,94	609	54,10	
			3	689	847,13	960	15,60	
2-Ala ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	125,1	1	236	292,51		42,25	1,440
			2		351,34	396		
			3	396	455,60		41,06	
			4		474,99	560		
				560	835,83	960	15,25	
Mala ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Me}}{\overset{\text{Me}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	139,1	1	118	124,54	142	11,49	4,899
			2	143	235,18	302	27,41	
			3	302	449,06	595	45,61	
			4	595	854,21	960	10,58	
Met ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Me-S}[\text{CH}_2]_2}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	185,2	1	142	163,41	196	1,91	6,475
			2	222	275,22	333	35,71	
			3	333	458,94	595	42,43	
			4	595	824,03	960	13,46	
Pgly ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Ph}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	187,1	1	267	282,10	338	42,55	4,339
			2	338	375,80	591	23,95	
			3	627	789,23	960	29,16	
Phe ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{H}_2\text{C-Ph}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	201,1	1	251	261,01	324	32,64	9,922
			2	324	373,66	409	27,92	
			3	409	420,79	631	13,75	
			4	631	825,49	960	16,32	

^{a/} Faza termolizy;
^{b/} Temperatura: T_o - początku rozkładu AA^P; T_i - temperatura odpowiadająca punktowi infleksji krzywej;
T_k - temperatura odpowiadająca końcowi fazy termolizy;
^{c/} Res. ms.- Masa „rezydualna” próbki – pozostałość po ekspozycji w temp. 960°C

Zestawienie względnych spadków masy dla serii AA^P objętych badaniami termogravimetrycznymi odpowiadającym hipotetycznym reakcjom termicznej eliminacji: cząsteczki wody, amoniaku, kwasu fosforowego (III) i węglowodoru łańcucha bocznego przedstawiono na Schemacie 3-6., dane eksperymentalne przedstawiono w Tabelach: 3-18., 3-19.

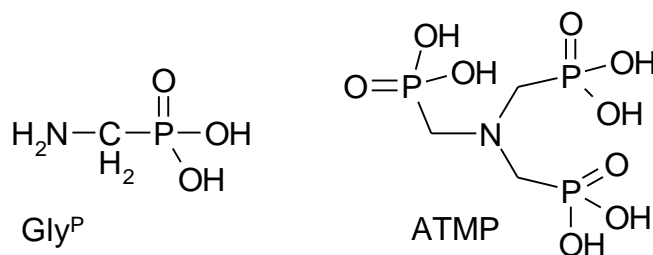
Tabela 3-19. Wyliczone spadki masy badanych AA^P towarzyszące termicznej degradacji zachodzących wg. Schematu 3-6.

Aminokwas			Względny spadek masy AA ^P spowodowany termiczną eliminacją					Znal. ^a : % ubytku vs faza
			Wyliczone					
AA ^P	Struktura	MW	0,5H ₂ O (M-9)	H ₂ O (M-18)	NH ₃ (M-17)	H ₃ PO ₃ (M-82)	RH	
Gly ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	111,1	8,1	16,2	15,3	73,9	-	8,07 ^{/1}
Sar ^P	$\text{Me}-\underset{\text{H}}{\text{N}}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	125,1	7,2	14,4	13,6 ^b	65,6	-	27,2 ^{/1}
Ala ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Me}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	125,1	7,2	14,4	13,6	65,6	12,8	23,9 ^{/1}
2-Ala ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	125,1	7,2	14,4	13,6	65,6	-	42,3 ^{/1}
Mala ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Me}}{\overset{\text{Me}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	139,1	6,47	12,9	12,2	59,0	11,5	11,5 ^{/1}
Met ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Me-S}[\text{CH}_2]_2}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	185,2	4,86	9,73	9,19	44,3	30,3; 25,9 ^c	1,9 ^d 35,7 ^{/1}
Pgly ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Ph}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	187,1	4,81	9,63	9,09	43,9	41,7	42,6 ^{/1}
Phe ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{H}_2\text{C-Ph}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	201,1	4,48	8,96	8,46	40,8	45,8	32,6 ^{/1}

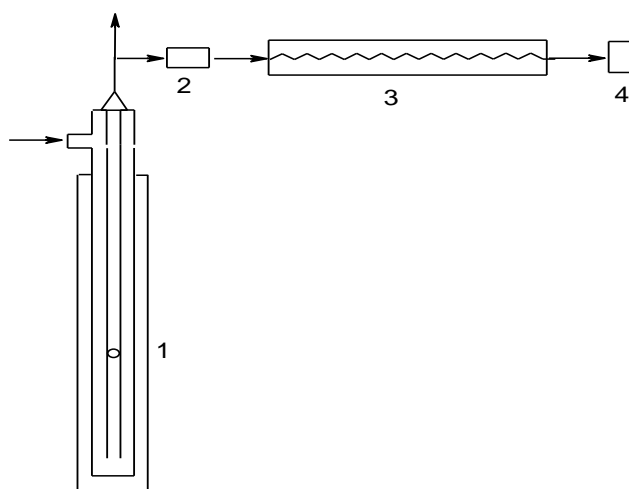
Znaleziono^{/a}: % ubytku masy wyjściowej próbki AA^P towarzyszący eliminacji fragmentu cząsteczki^{/n};
^b/MeNH₂; ^c/MeSH; ^d/Rozkład zanieczyszczenia wyjściowej Met^P

3.2.4. PIROLIZA KWASÓW AMINOFOSFONOWYCH

Stabilność termiczna kwasów aminofosfonowych należy do jednej z ważnych cech potencjalnej użyteczności tej klasy związków w chemii materiałowej. Termoliza kwasów fosfonowych, w tym w szczególności kwasów aminofosfonowych przedstawia mało poznana dziedzinę badań zarówno w obszarze chemii związków klasy C-P, jak i fizyko-chemii procesów termolitycznych. Badania nad termiczną stabilnością aminofosfonianów ograniczają się jedynie do dwóch prac: wspomnianej pracy Kurta Moedritzer dotyczącej badań w trybach TGA & DSC dla Gly^P [Moedritzer, 1972]^[212] i pracy zespołu Hoffmann'a dotyczącej badań nad termolizą kwasu amino tri(metylenofosfonowego) (ATMP) [Hoffmann i w-cy, 2012]^[282].



Do badań przebiegu pirolizy wykorzystano pirolizer połączony z chromatografem gazowym wyposażonym w detektor masowy [Py-GC-MS-EI] (Rys. 3-20.).



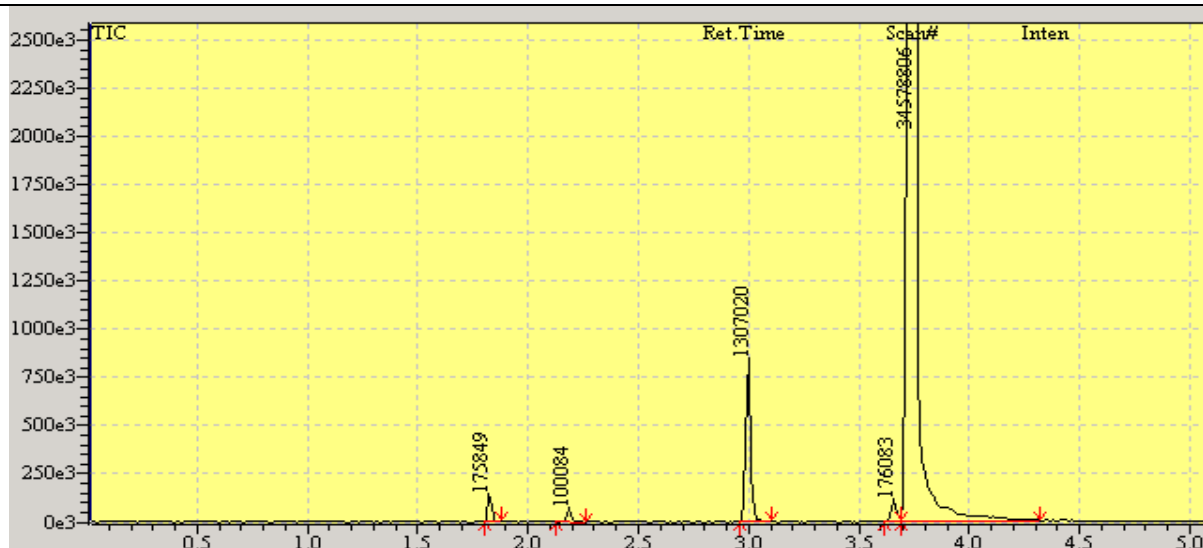
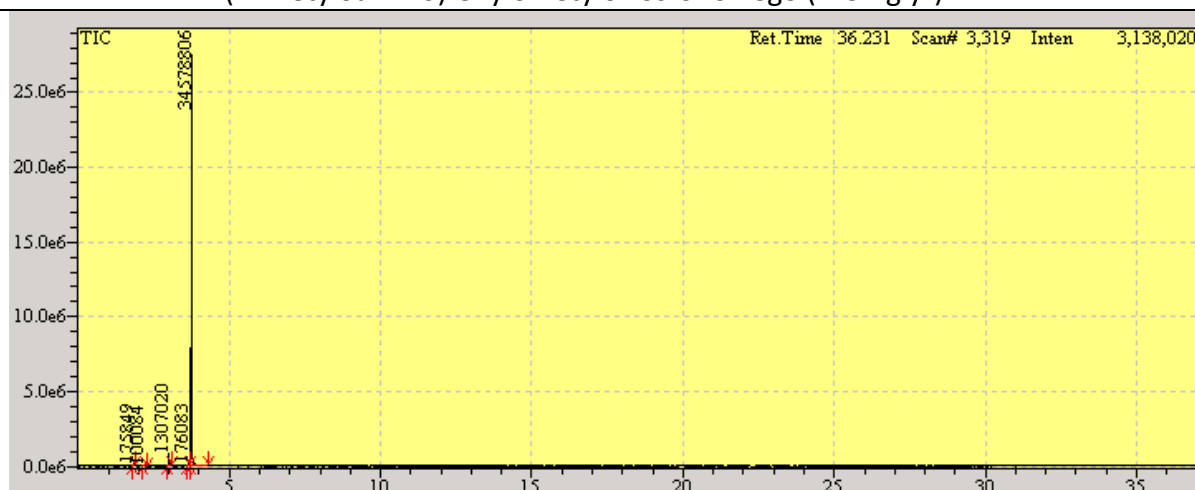
Rysunek 3-20. Schemat ideowy układu Py-GC-MS-EI: 1- pirolizer; 2- łącznik (interfejs); 3 – chromatograf gazowy; 4 – detektor MS-EI

Lotne produkty pirolizy wmywane są z komory pirolizera w sposób ciągły i po schłodzeniu na łączniku (*interfejsie*) kierowane są na kolumnę chromatograficzną. Ulegają absorpcji na *czole kolumny* oraz sukcesywnemu zagęszczaniu. Skierowanie mieszaniny produktów na kolumnę następuje podczas programowanego wzrostu temperatury. Wychodzące, rozdzielone chromatograficznie produkty pirolizy poddawane są analizie MS-EI w detektorze masowym.

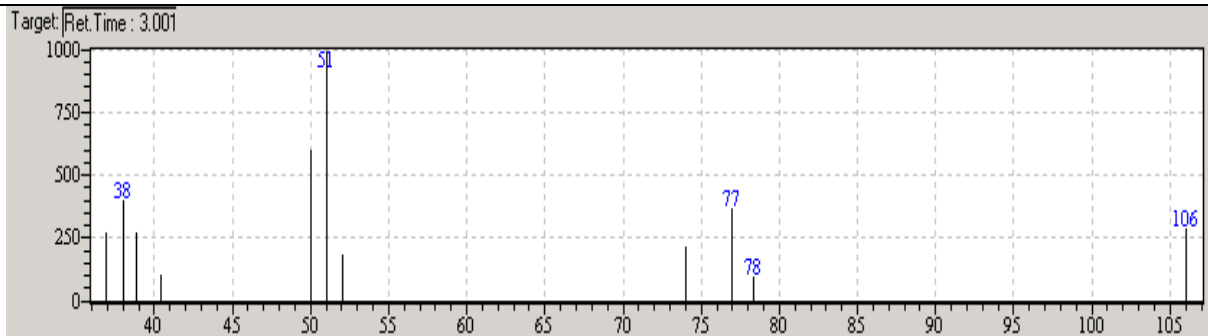
Reprezentatywne chromatogramy GC i widma MS-EI głównych, oznaczonych produktów pirolizy przedstawiono na Rysunkach: 3-21. (Me-Pgly^P), 3-22. (Me₃Pgly^P), 3-23. (4-Nval^P). Względne udziały poszczególnych składników chromatogramu wyliczono jako udział prądu jonowego analizowanego składnika do sumy prądów jonowych składników mieszaniny.

Rysunek 3-21. Analiza produktów pirolizy kwasu

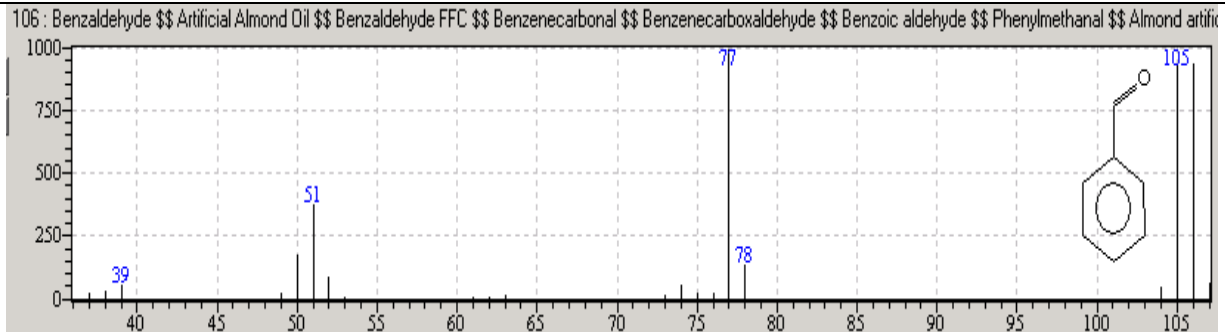
1-(N-metyloamino)fenylometylo-fosfonowego (Me-Pgly^P)



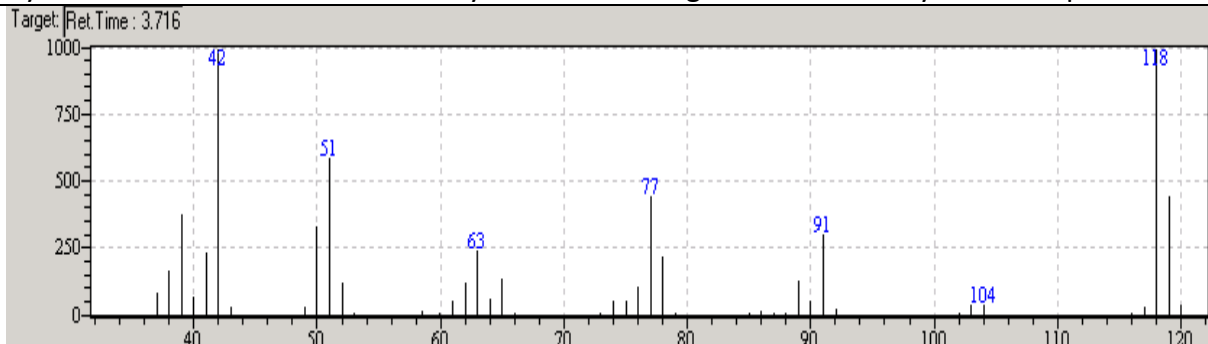
Rys. 3-21.1. Chromatogram produktów pirolizy Me-Pgly^P (rozciąg dla czasu: 0-5 min.)



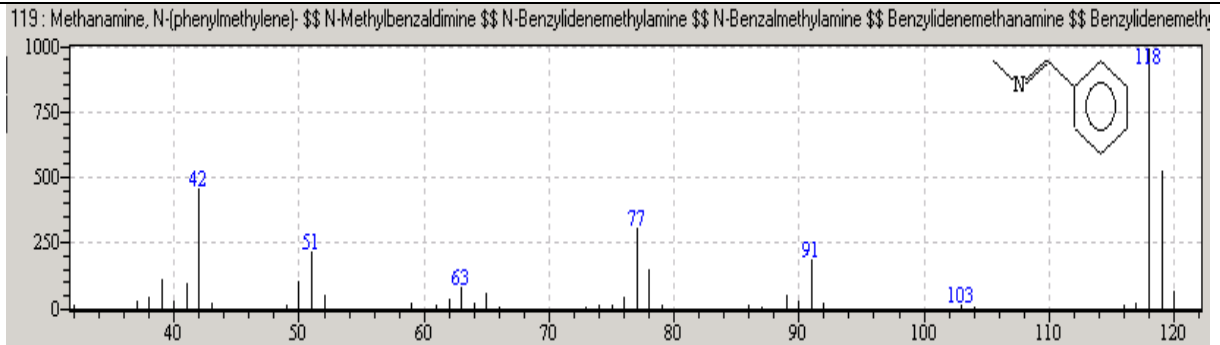
Rys. 3-21.1.1. Widmo MS-EI produktu pirolizy Me-Pgly^P o czasie retencji: 3,001 min (3,8%)



Rys. 3-21.1.1.L. Widmo MS-EI aldehydu benzoowego z biblioteki bazy widm EI aparatu



Rys. 3-21.1.2. Widmo MS-EI produktu pirolizy Me-Pgly^P o czasie retencji: 3,716 min (95,1%)

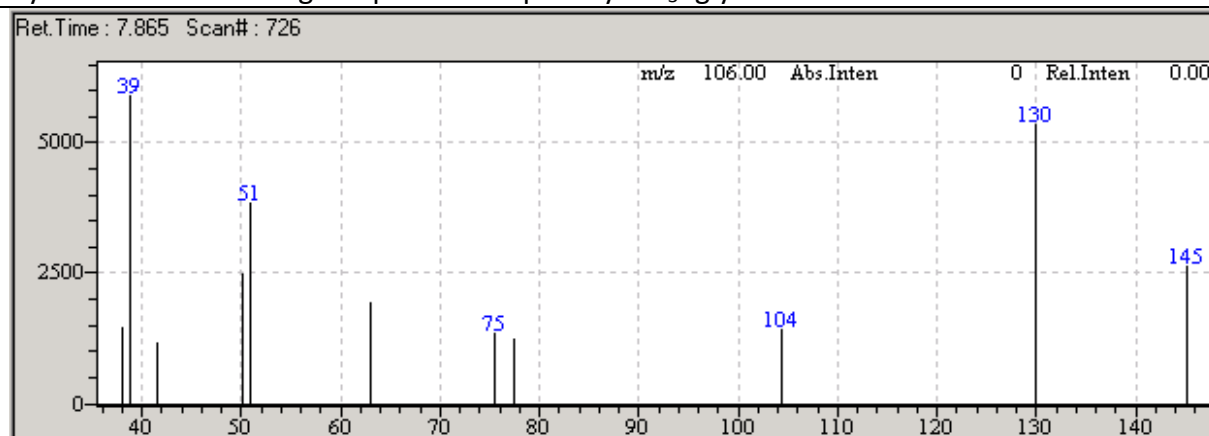


Rys. 3-21.1.2.L. Widmo MS-EI aldehydu benzoowego z biblioteki bazy widm EI aparatu

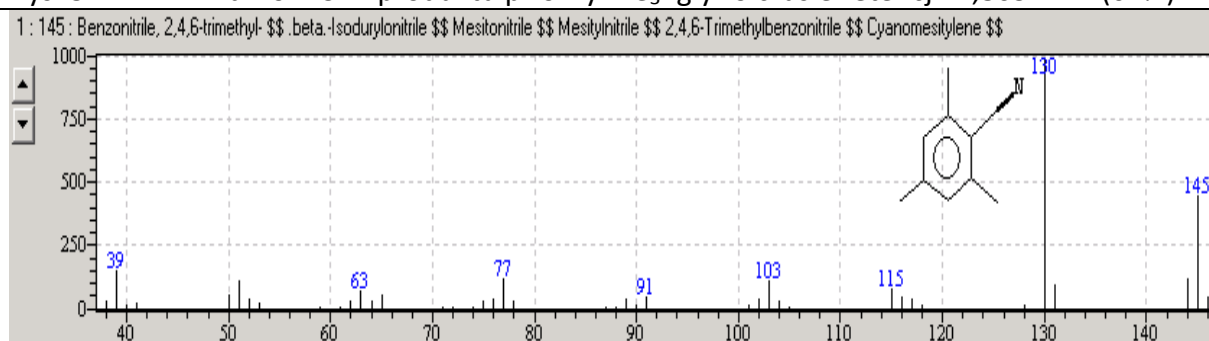
Rys. 3-22. Analiza produktów pirolizy kwasu
1-amino-(2,4,6-trimetylofenylo)metylo-fosfonowego (Me₃Pgly^P)



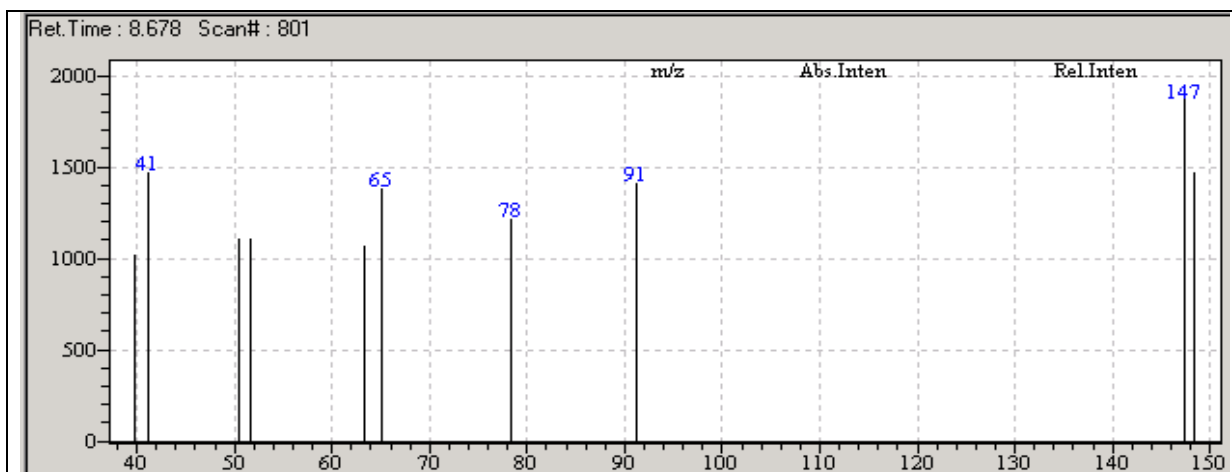
Rys. 3-22.1. Chromatogram produktów pirolizy Me₃Pgly^P



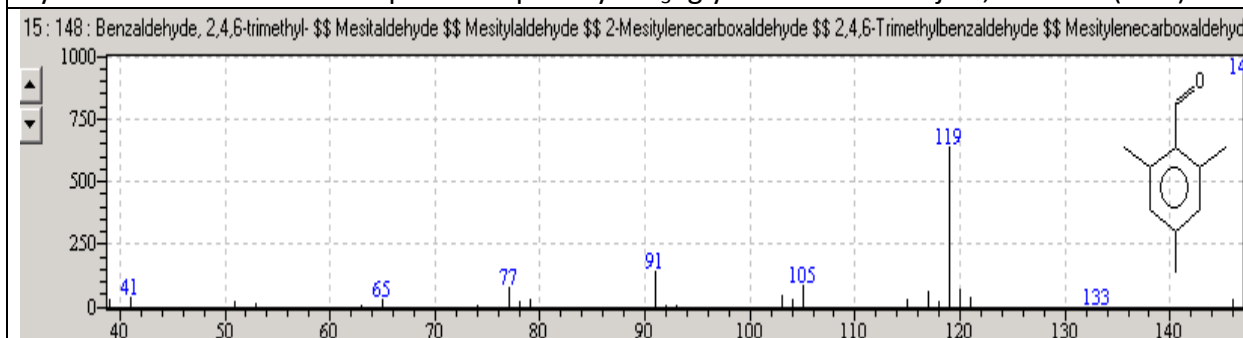
Rys. 3-22.1.1. Widmo MS-EI produktu pirolizy Me₃Pgly^P o czasie retencji: 7,865 min. (62%)



Rys. 3-22.1.2.L. Widmo MS-EI 2,4,6-trimetylobenzotritylu z biblioteki bazy widm EI aparatu



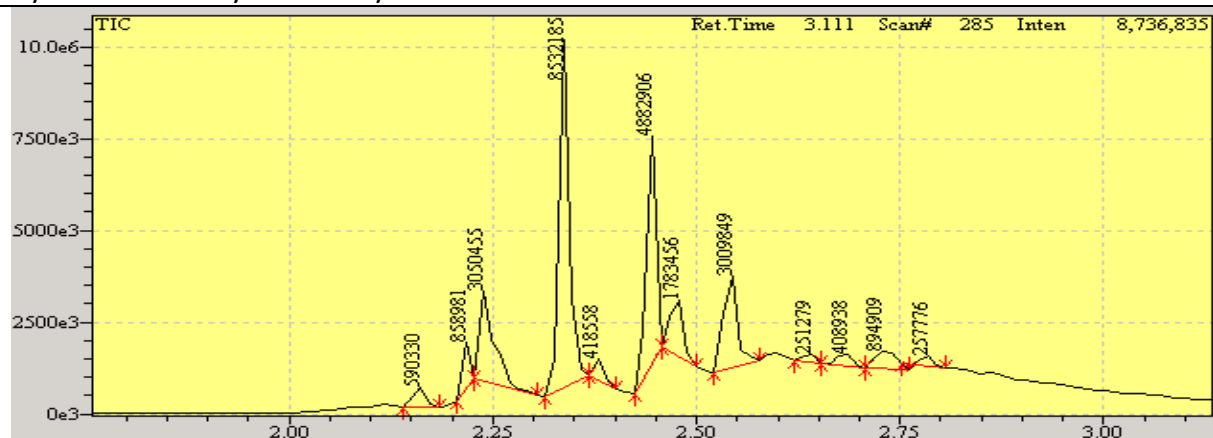
Rys. 3-22.1.2. Widmo MS-EI produktu pirolizy $\text{Me}_3\text{Pgly}^{\text{P}}$ o czasie retencji: 8,678 min. (16%)



Rys. 3-22.1.2.L. Widmo MS-EI aldehydu 2,4,6-trimetylobenzoesowego z biblioteki widm MS

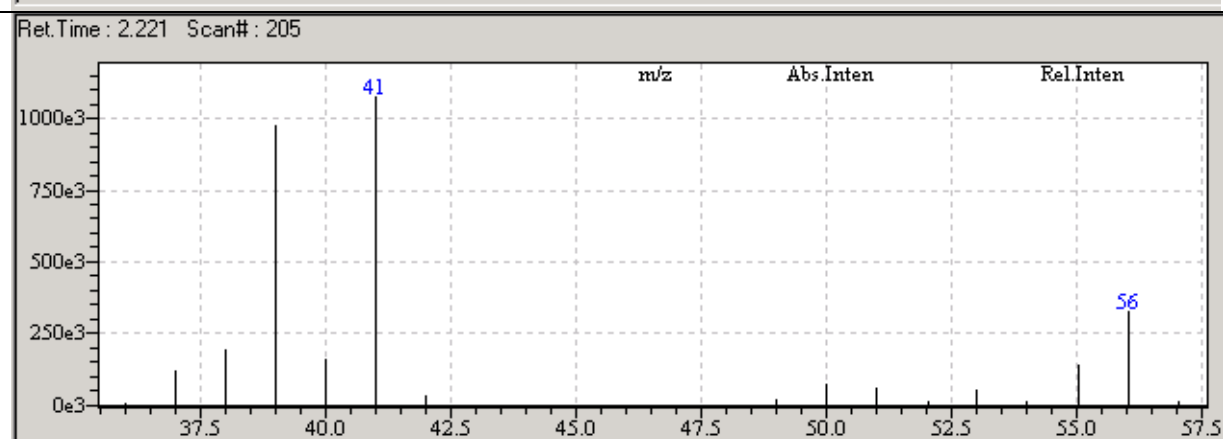
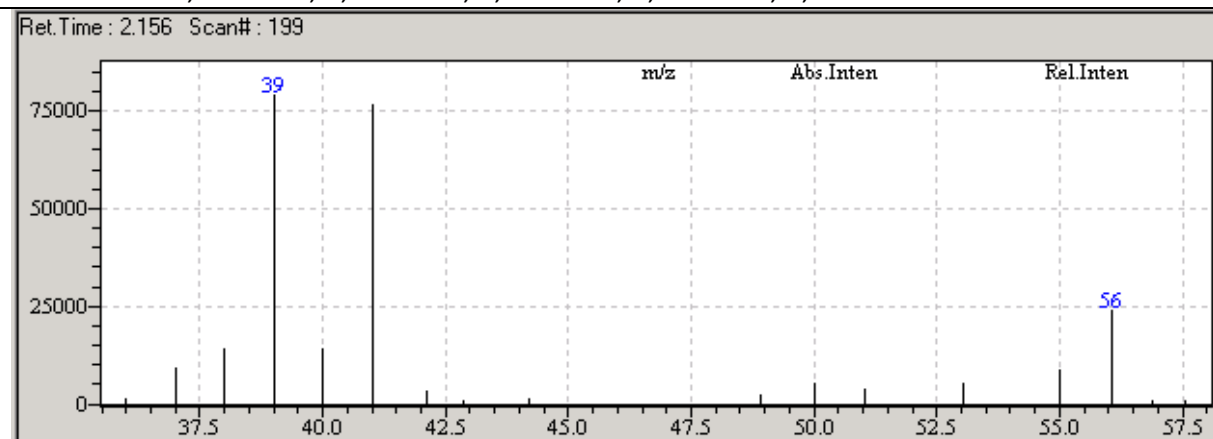
Interesujący przypadek stanowi piroliza kwasu 4-aminobutano-1-fosfonowego (4-Nval^{P}). Naważka Nval^{P} podczas badań termogravimetrycznych ulegała charakterystycznemu „puchnięciu”, podczas którego pęcherzyki związku stykały się z termoparą uniemożliwiając dokładny pomiar. Odbiciem takiego zachowania w warunkach TGA jest specyficzny chromatogram produktów pirolizy przedstawiony na Rysunku 3-23.

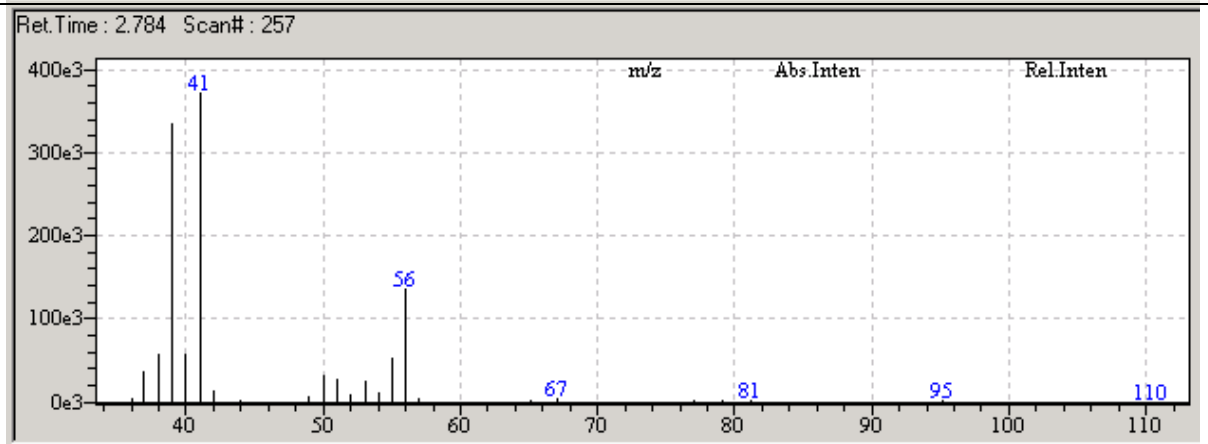
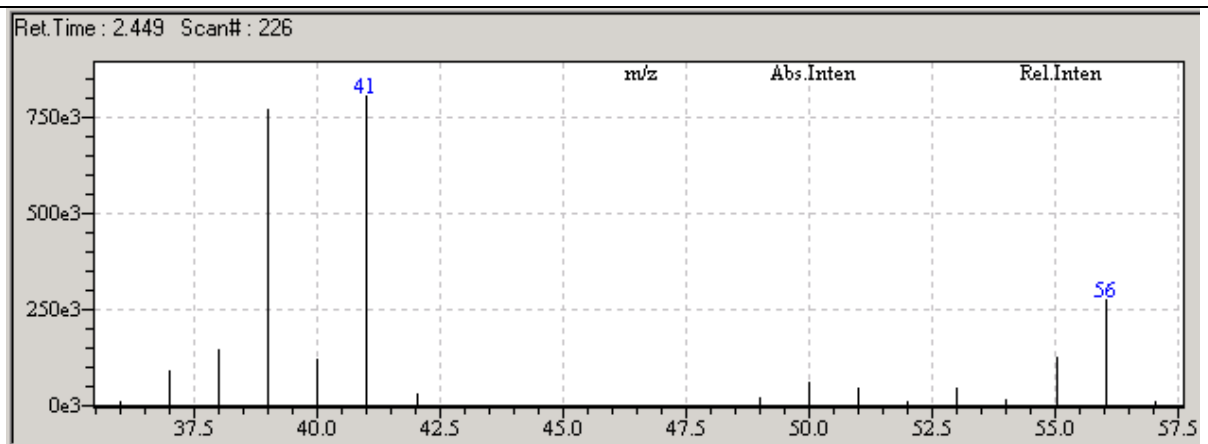
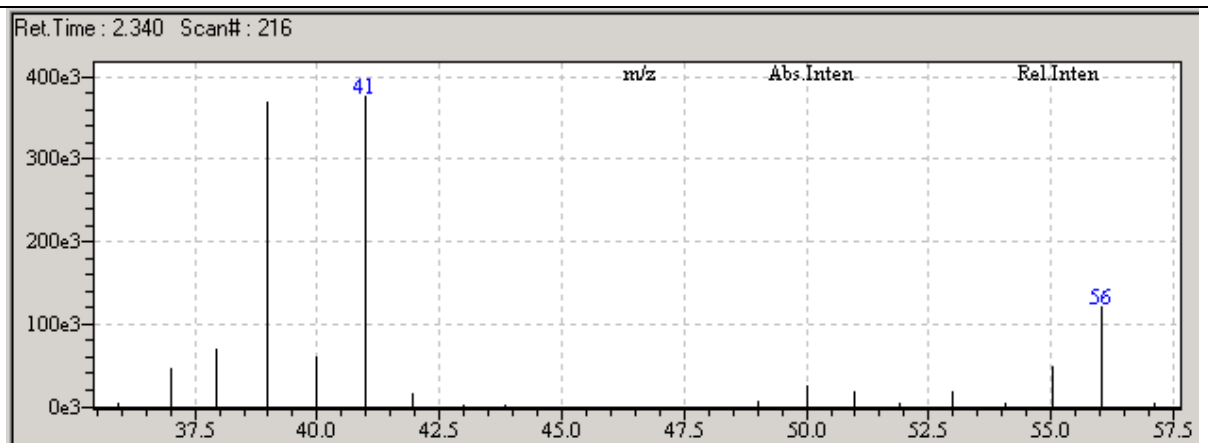
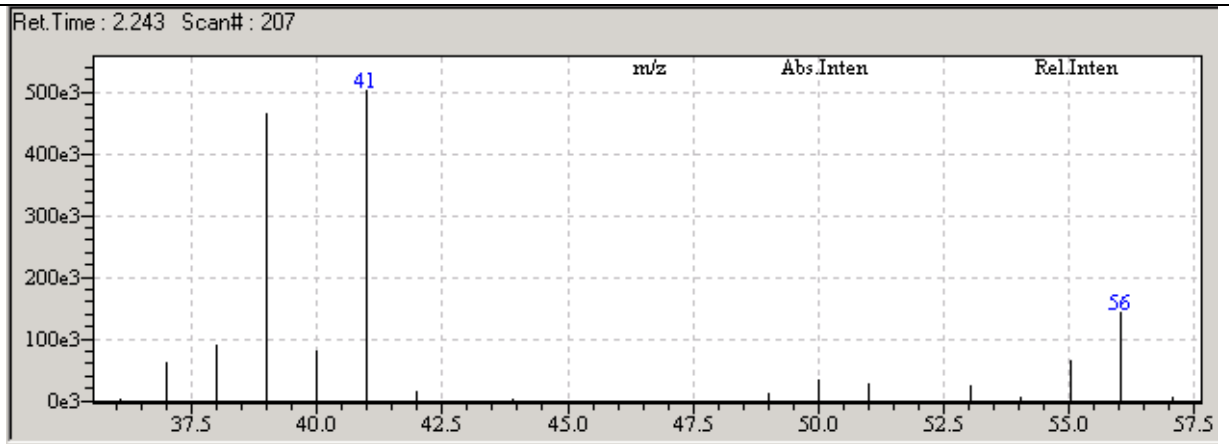
Rysunek 3-23. Wyniki analizy 4-Nval^P



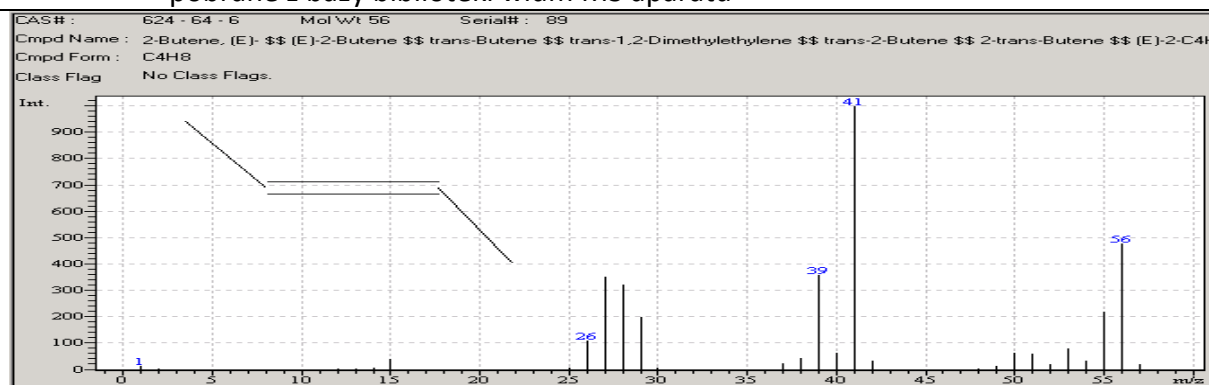
Rys. 3-23.1. Chromatogram produktów pirolizy 4-Nval^P (rozciąg dla czasu: 0-3,1 min)

Rys. 3-23.2. Widma MS-EI produktów pirolizy 4-Nval^P dla czasów retencji: 2,156 min.; 2,221 min.; 2,243 min.; 2,340 min.; 2,449 min.; 2,784 min.

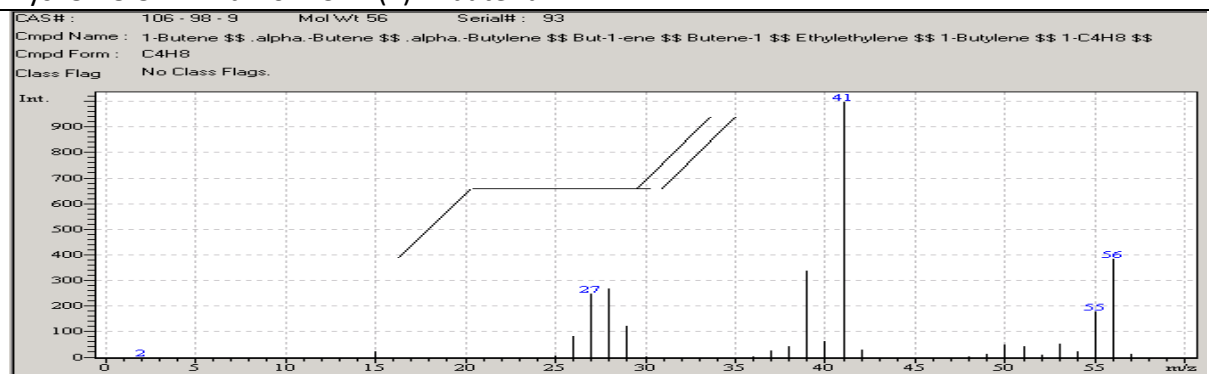




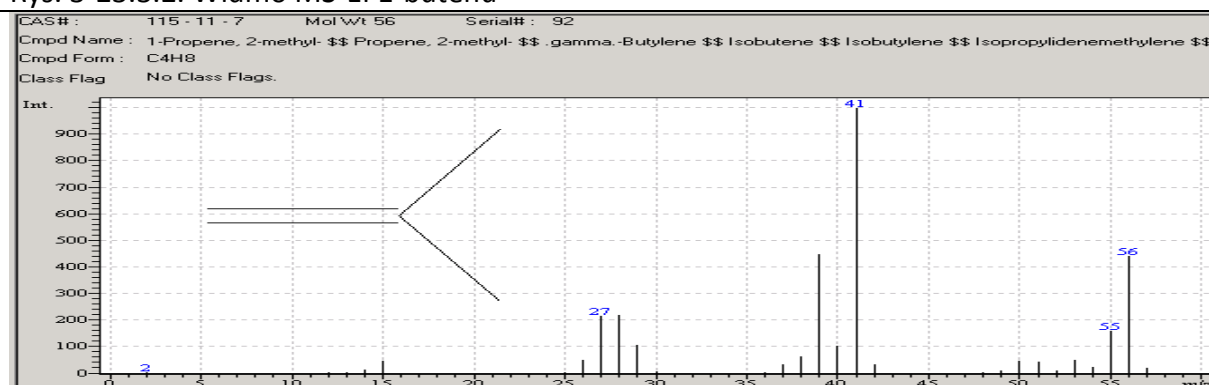
Rys. 3-23.3. Widma MS-EI dla związków o wzorze sumarycznym C₄H₈ i masie M=56
pobrane z bazy biblioteki widm MS aparatu



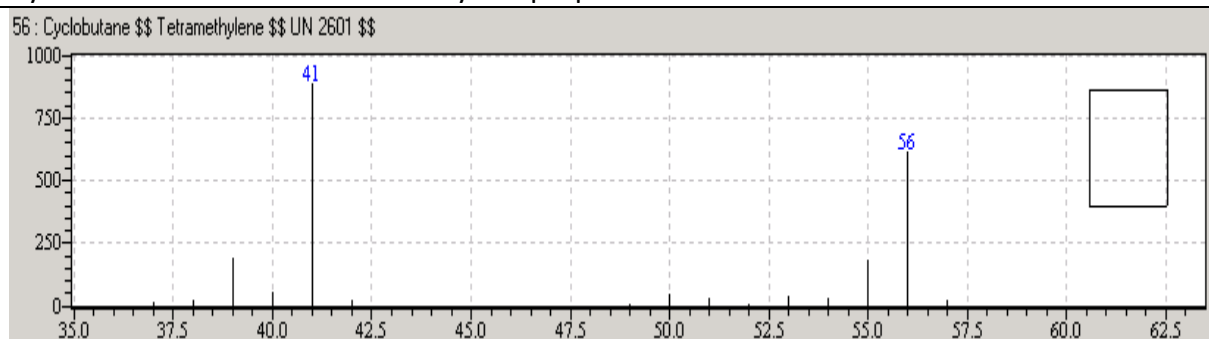
Rys. 3-23.3.1. Widmo MS-EI (E)-2-butenu



Rys. 3-23.3.2. Widmo MS-EI 1-butenu



Rys. 3-23.3.3. Widmo MS-EI 2-metylo-1-propenu



Rys. 3-23.3.3. Widmo MS-EI cyklobutanu z bazy biblioteki widm MS aparatu

Identyczność widm MS poszczególnych składników mieszaniny produktów pirolizy 4-Nval^P i podobieństwo do widm wzorcowych MS serii węglowodorów o wzorze sumarycznym C₄H₈ (M=56) znalezionych w bibliotece MS aparatu uzasadnia postawioną tezę (tworzenie pęcherzyków i ich pękanie/uwalnianie zawartości w czasie).

3.2.4.1. BADANIA NAD PIROLIZĄ KWASÓW AMINOFOSFONOWYCH

Badania nad pirolizą dotyczyły dwóch głównych klas aminofosfonianów:

- kwasów aminoalkilofosfonowych;
- kwasów aminoaralkilofosfonowych.

Badania nad pirolizą obejmowały:

1.1. Badania nad wpływem warunków temperaturowych na przebieg pirolizy;

1.2. Badania nad pirolizą kwasów aminoalkilofosfonowych;

1.2.1. Wpływ oddalenia grupy aminowej i fosfonowej;

1.2.2. Wpływ R;

1.2.3. Wpływ rzędowości grupy aminowej;

1.2.4. Wpływ rzędowości węgla C α ;

1.3. Badania nad pirolizą kwasów aminoaralkilofosfonowych obejmowały:

1.3.1. Pochodne aryłowe Gly^P;

1.3.1.1. Pochodne Pgly^P;

1.3.1.2. Pochodne Nphgly^P;

1.3.2. Phe^P;

1.4. Badania nad pirolizą innych kwasów fosfonowych.

3.2.4.1.1. BADANIA NAD WPŁYWEM WARUNKÓW TEMPERATUROWYCH NA PRZEBIEG PIROLIZY

3.2.4.1.1.1. WYNIKI BADAŃ NAD WPŁYWEM TEMPERATURY NA PRZEBIEG TERMICZNEJ DEKOMPOZYCJI p-MePgly^P

Wyniki badań nad wpływem temperatury (350°C, 400°C, 500°C) na przebieg termicznej dekompozycji kwasu 1-amino-(4-metylofenylo)metylofosfonowego (p-MePgly^P) przedstawiono w Tabeli 3-20.

Tabela 3-20. Porównanie wpływu temperatury na przebieg termicznej dekompozycji p-Me-Pgly ^P														
350°C; 2 min				400°C; 2 min				500°C; 2 min						
Nr	RT	RA	m/z vs. [%]		Nr	RT	RA	m/z vs. [%]		Nr	RT	RA	m/z vs. [%]	
1	1,86	4,9	m/z	43	1	1,85	1,5	m/z	45	1	1,85	6,3	m/z	43
			%	24				%	6,5				%	3
2	2,2	-	m/z		2	2,2	-	m/z		2	2,24	10,9	m/z	92
			%					%					%	76
3	2,57	3,9	m/z	106	3	2,56	1,5	m/z	106	3	2,55	10,9	m/z	106
			%	33				%	46				%	33
4	2,70	-	m/z		4	2,70	-	m/z		4	2,72	-	m/z	
			%					%					%	
5	4,21	33,0	m/z	120	5	4,23	12	m/z	120	5	4,1	-	m/z	
			%	47				%	36				%	
6	4,54	32,6	m/z	117	6	4,52	12	m/z	117	6	4,47	57,7	m/z	117
			%	62				%	80				%	62
7	24,5	10	m/z	44	7	24,5	70	m/z	105	7	24,5	6,8	m/z	44
			%	100				%	100				%	86

3.2.4.1.2. BADANIA NAD WPŁYWEM CZASU PIROLIZY NA PRZEBIEG ROZKŁADU

Wyniki badań nad wpływem czasu ekspozycji na temperaturę 400°C na przebieg termicznej dekompozycji kwasu 1-amino-(4-metylofenylo)metylofosfonowego (p-MePgly^P) przedstawiono w Tabeli 3-21.

Tabela 3-21. Porównanie wpływu czasu pirolizy na przebieg termicznej dekompozycji p-Me-Pgly ^P														
400°C; 15 sec				400°C; 2 min				400°C; 37 min						
Nr	RT	RA	m/z vs. [%]		Nr	RT	RA	m/z vs. [%]		Nr	RT	RA	m/z vs. [%]	
1	1,79	3,7	m/z	44	1	1,85	1,5	m/z	45	1	1,81	14	m/z	75
			%	24				%	6,5				%	3
2	2,29	4,7	m/z	92	2	2,2	-	m/z		2	2,17	3,3	m/z	92
			%	76				%					%	76
3	2,44	4,9	m/z	106	3	2,56	1,5	m/z	106	3	2,41	3,1	m/z	106
			%	33				%	46				%	33
4	2,70	-	m/z		4	2,70	-	m/z		4	2,72	3,6	m/z	101
			%					%					%	22
5	4,1	26	m/z	120	5	4,23	12	m/z	120	5	4,1	36	m/z	120
			%	47				%	36				%	51
6	4,4	36	m/z	117	6	4,52	12	m/z	117	6	4,4	26	m/z	117
			%	62				%	80				%	62
7	24,5	18	m/z	51	7	24,5	70	m/z	105	7	24,5	5,5	m/z	65
			%	60				%	100				%	51

3.2.4.1.3. BADANIA NAD ODTWARZALNOŚCIĄ TERMOLIZY

Pomiary termolizy powtarzane były dwukrotnie, w przypadkach kontrowersyjnych trzykrotnie.

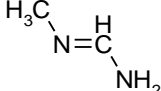

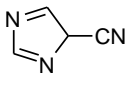


3.2.4.2. BADANIA NAD PIROLIZĄ KWAŚÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH

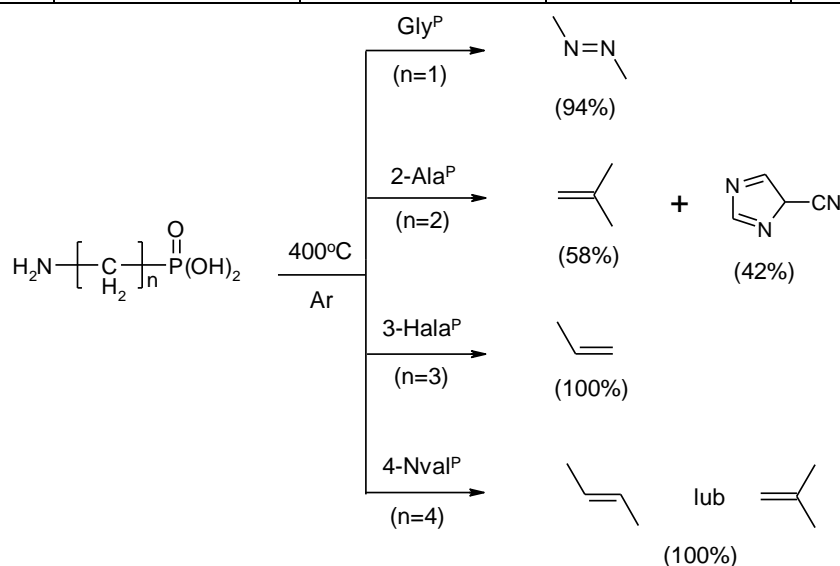
3.2.4.2.1. WPŁYW ODDALENIA

Do badań wpływu oddalenia grup aminowej i fosfonowej [N-(C)_n-P] wybrano serię aminokwasów o wzrastającej długości łącznika węglowego: Gly^P (n=1); 2-Ala^P (n=2); 3-Hala^P (n=3); 4-Nval^P (n=4).

Wyniki badań zamieszczono w Tabeli 3-22. i zilustrowano na Schemacie 3-7.

Tabela 3-22. Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego aminokwasów: Gly^P, 2-Ala^P, 3-Hala^P, 4-Nval^P [Warunki termolizy: 400°C, 2 min]

$\text{H}_2\text{N}-\left[\text{C}\begin{array}{c} \text{H}_2 \\ \end{array}\right]_n-\text{P}(\text{OH})_2$															
Gly ^P (n=1)			2-Ala ^P (n=2)						3-Hala ^P (n=3)			4-Nval ^P (n=4)			
RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	
1,84	94	58	2,32	58	56	2,86	42	93	1,97	100	56	2,50	100	56	
															


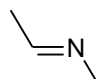
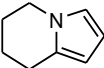
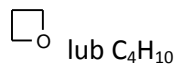

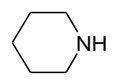
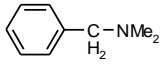
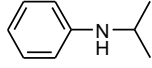


Schemat 3-7. Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego aminokwasów: Gly^P, 2-Ala^P, 3-Hala^P, 4-Nval^P

3.2.4.2.2. WPŁYW R

Do badań nad wpływem podstawnika R w kwasach 1-aminoalkilofosfonowych na przebieg termolizy wybrano: Gly^P; Ala^P; Hala^P a także szereg arylowych pochodnych fosfonoglicyny (omawianych w dalszej części).

Wyniki badań zamieszczono w Tabeli 3-23.

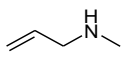
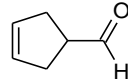
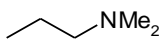
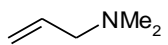
Tabela 3-23. Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego aminokwasów: Gly ^P , Ala ^P , Hala ^P [Warunki termolizy: 400°C, 2 min]												
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{R} \end{array}$												
AA ^P	Zidentyfikowane produkty pirolizy											
Gly ^P (R=H)				Me ₃ PO								
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	1,84	94	76	2,88	6	92						
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{Me} \end{array}$												
Ala ^P (R=Me)												
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	1,74	88	57	3,13	12	121						
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{Et} \end{array}$												
Hala ^P (R=Et)										C ₆ H ₈ O ₂		
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	2,05	11	58	3,16	7,1	112	2,29	29	85	3,16	7,1	112
	C ₆ H ₈ O ₂											
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M			
3,25	4,7	112	5,02	8,9	135	6,70	18	135				

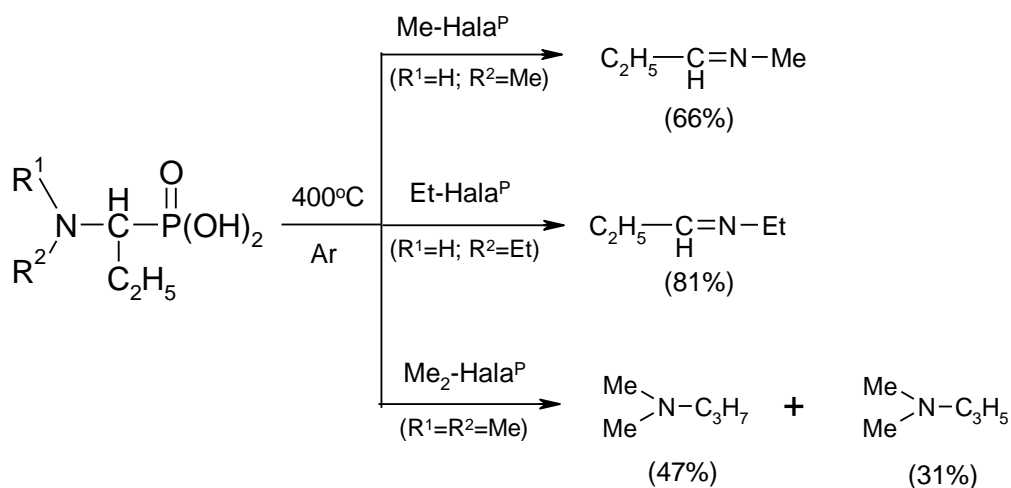
3.2.4.2.3. WPŁYW RZĘDOWOŚCI GRUPY AMINOWEJ

Do badań nad wpływem rzędowości grupy aminowej w kwasach 1-aminoalkilofosfonowych na przebieg termolizy wybrano: *t*-Bu-Gly^P, Me-Hala^P, Et-Hala^P, Me₂-Hala^P.

Wyniki badań zamieszczono w Tabeli 3-24.

Wyniki badań nad pirolizą serii *N*-alkilowych pochodnych fosfonohomoalaniny (Me-Hala^P, Et-Hala^P, Me₂-Hala^P) zilustrowano na Schemacie 3-8.

Tabela 3-24. Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego aminokwasów: <i>t</i> -Bu-Gly ^P ; Me-Hala ^P ; Et-Hala ^P ; Me ₂ -Hala ^P [Warunki termolizy: 400°C, 2 min]												
$\begin{array}{c} R^1 \\ \diagdown \\ N \\ \diagup \\ R^2 \end{array} - \begin{array}{c} H \\ \\ C \\ \\ R \end{array} - \begin{array}{c} O \\ \\ P(OH)_2 \end{array}$												
$Me_3C - \begin{array}{c} H \\ \\ N \\ \\ H \end{array} - \begin{array}{c} H \\ \\ C \\ \\ H_2 \end{array} - \begin{array}{c} O \\ \\ P(OH)_2 \end{array}$												
<i>t</i> Bu-Gly ^P	C ₄ H ₈			C ₄ H ₁₀								
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	2,06	59	56	2,09	41	58						
$Me - \begin{array}{c} H \\ \\ N \\ \\ H \end{array} - \begin{array}{c} H \\ \\ C \\ \\ Et \end{array} - \begin{array}{c} O \\ \\ P(OH)_2 \end{array}$												
Me-Hala ^P	Et-C(O)H			Et-CH=N-Me								
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	1,96	2,2	58	2,03	66	71	2,37	2,5	71	2,62	25	96
$Et - \begin{array}{c} H \\ \\ N \\ \\ H \end{array} - \begin{array}{c} H \\ \\ C \\ \\ Et \end{array} - \begin{array}{c} O \\ \\ P(OH)_2 \end{array}$												
Et-Hala ^P	Et-C(O)H			Et-CH=N-Et			C ₃ H ₅ -N(Me)-Et			C ₈ H ₁₅ N		
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	2,08	3	58	2,20	81	85	2,70	2,5	100	3,09	11	125
$Me - \begin{array}{c} H \\ \\ N \\ \\ Me \end{array} - \begin{array}{c} H \\ \\ C \\ \\ Et \end{array} - \begin{array}{c} O \\ \\ P(OH)_2 \end{array}$												
Me ₂ -Hala ^P	Me ₃ N									C ₅ H ₁₀ N ₂		
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	2,06	2,	59	2,13	47	87	2,20	31	85	5,52	8,1	98


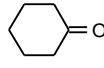


Schemat 3-8. Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego aminokwasów: Me-Hala^P; Et-Hala^P; Me₂-Hala^P [Warunki termolizy: 400°C, 2 min]

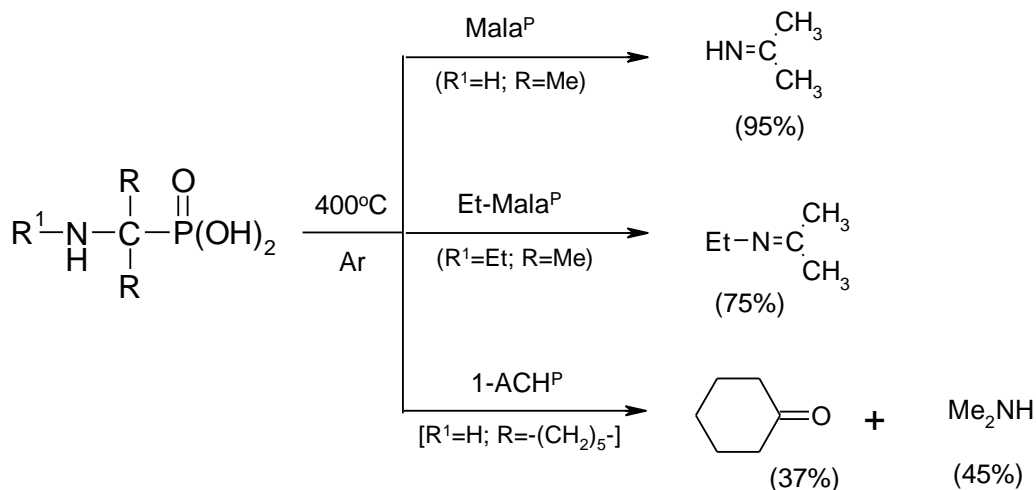
3.2.4.2.4. WPŁYW RZĘDOWOŚCI WĘGLA C α

Do badań nad wpływem rzędowości atomu węgla C α w kwasach 1-aminoalkilofosfonowych na przebieg termolizy wybrano: Mala^P, Et-Mala^P, 1-ACH-1-P.

Wyniki badań zamieszczono w Tabeli 3-25.

Tabela 3-25. Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego aminokwasów: Mala ^P ; Et-Mala ^P ; 1-ACH-1-P [Warunki termolizy: 400°C, 2 min]												
Mala ^P	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{HN}=\text{C} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array}$											
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	1,77	95	57									
Et-Mala ^P	C ₄ H ₁₀			$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{Et}-\text{N}=\text{C} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array}$			C ₈ H ₁₄ /C ₆ H ₁₀ N ₂					
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	1,77	9,5	58/57	2,13	75	85	2,86	9,5	110			
1-ACH-1-P	Me ₂ NH			Me-NH-CH ₂ -OH								
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	1,67	44,5	45	1,74	5,9	61	1,90	9,1	82	2,49	37,4	98

Wyniki badań nad pirolizą serii *N*-alkilowych pochodnych fosfonohomoalaniny (Me-Hala^P, Et-Hala^P, Me₂-Hala^P) zilustrowano na Schemacie 3-9.



Schemat 3-9. Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego aminokwasów: Mala^P; Et-Mala^P; 1-ACH-1-P

3.2.4.3. BADANIA NAD PIROLIZĄ KWASÓW AMINOALKILOARYLOFOSFONOWYCH

Badania przeprowadzono na 2 klasach kwasów aminoalkiloarylofosfonowych:

- pochodnych arylowych fosfonglicyny (ArGly^P);
- fosfonofenyloalaniny (Phe^P).

3.2.4.3.1. POCHODNE ARYLOWE Gly^P (ArGly^P)

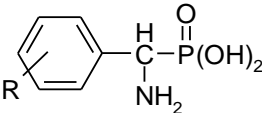
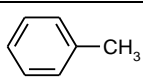
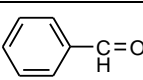
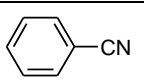
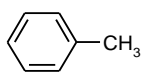
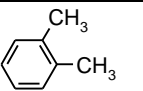
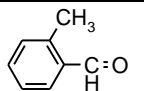
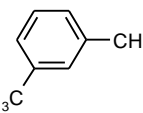
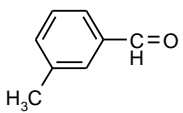
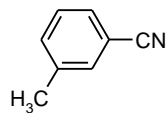
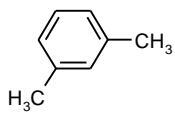
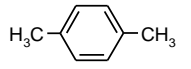
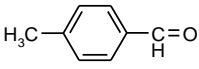
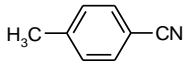
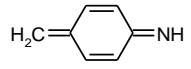
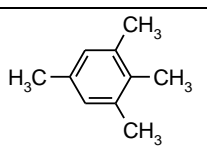
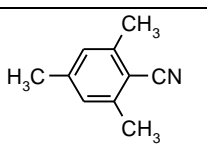
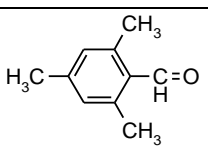
Badania w klasie pochodnych arylowych fosfonglicyny (ArGly^P) dotyczyły:

- pochodnych fosfonofenyloglicyny (Pgly^P);
- fosfononaftyloglicyny (NphGly^P).

3.2.4.3.1.1. BADANIA NAD PIROLIZĄ POCHODNYCH Pgly^P

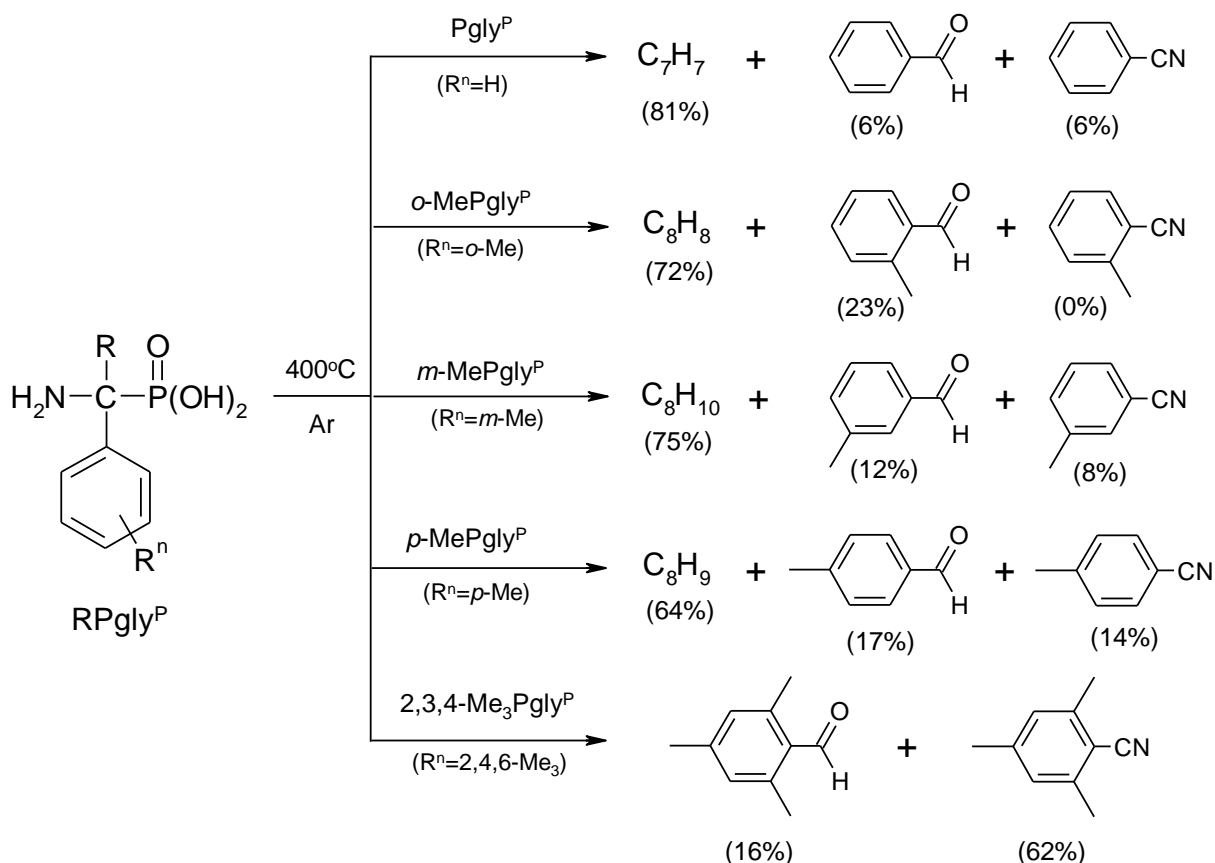
Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego aminokwasów: Pgly^P; *o*-Me-Pgly^P; *m*-Me-Pgly^P; *p*-Me-Pgly^P; 2,3,4-Me₃-Pgly^P przedstawiono w Tabeli 3-26.

Tabela 3-26. Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego aminokwasów: Pgly^P; *o*-Me-Pgly^P; *m*-Me-Pgly^P; *p*-Me-Pgly^P; 2,3,4-Me₃-Pgly^P [Warunki termolizy: 400°C, 2 min]

												
Pgly ^P										C ₇ H ₇		
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	2,1	1,7	92	3,0	6,6	106	3,14	5,7	103	24,5	81	91
<i>o</i> -Me-Pgly ^P										C ₈ H ₈		
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	2,33	2,1	92	2,69	1,2	106	4,08	23	120	24,0	72	104
<i>m</i> -Me-Pgly ^P												
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	2,64	1,3	106	4,14	11,5	121	4,42	7,5	117	24,1	75	106
<i>p</i> -Me-Pgly ^P												
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	2,41	2,2	106	4,08	17	120	4,39	14	117	24,53	64	105
2,3,4-Me ₃ -Pgly ^P										Struktura nieznaną		
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	4,81	4,7	134	7,88	62,1	145	8,68	15,6	148	27,69	11	40

Wyniki badań nad pirolizą serii pochodnych fosfonofenylooglicyny (Pgly^P; *o*-Me-Pgly^P; *m*-Me-Pgly^P; *p*-Me-Pgly^P; 2,3,4-Me₃-Pgly^P) zilustrowano na Schemacie 3-10.

Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego *para*-podstawionych Pgly^P: *p*-Br-Pgly^P; *p*-Me-Pgly^P; *p*-NO₂-Pgly^P; *p*-HO₂C-Pgly^P przedstawiono w Tabeli 3-27.

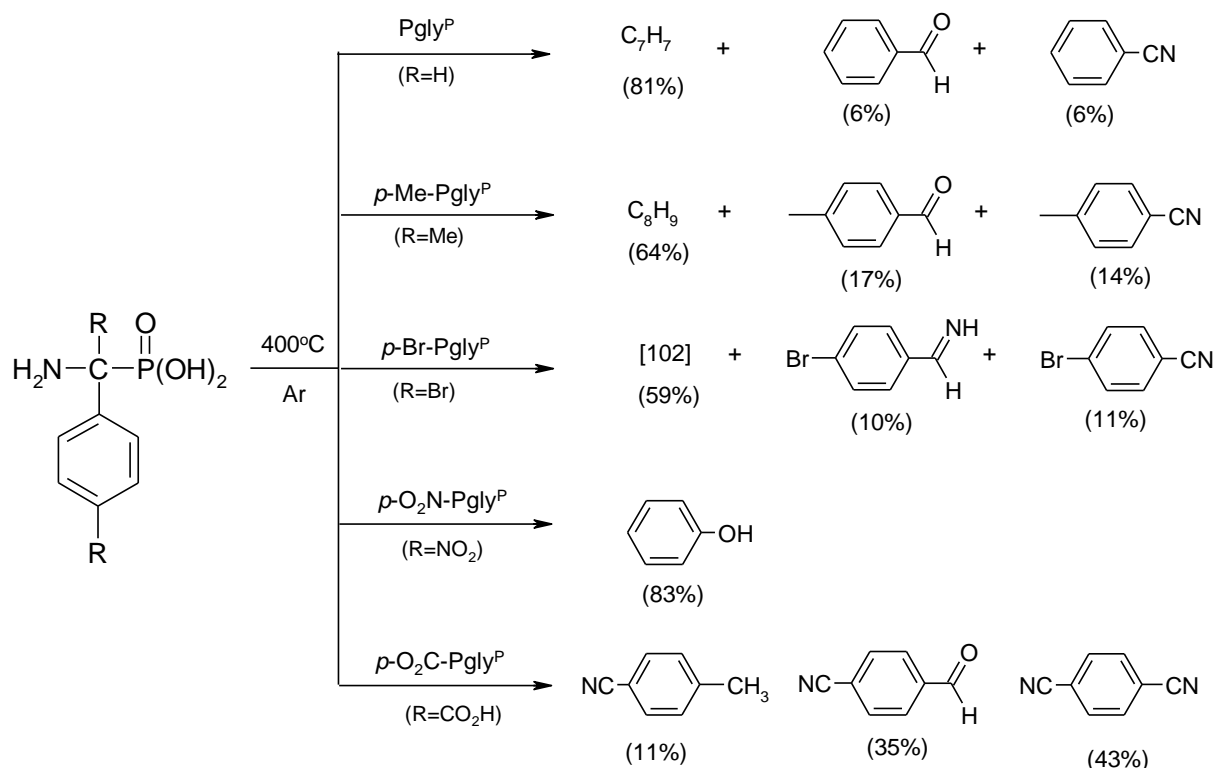


Schemat 3-10. Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego aminokwasów: Pgly^{P} ; $o\text{-MePgly}^{\text{P}}$; $m\text{-MePgly}^{\text{P}}$; $p\text{-MePgly}^{\text{P}}$; $2,3,4\text{-Me}_3\text{Pgly}^{\text{P}}$

Tabela 3-27. Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego aminokwasów: $p\text{-BrPgly}^{\text{P}}$; $p\text{-MePgly}^{\text{P}}$; $p\text{-NO}_2\text{Pgly}^{\text{P}}$; $p\text{-HO}_2\text{CPgly}^{\text{P}}$ [Warunki termolizy: 400°C , 2 min]

$p\text{-BrPgly}^{\text{P}}$												
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	3,72	12	172	6,50	9,5	185	6,58	11	183	28,7	59	102
$p\text{-O}_2\text{N-Pgly}^{\text{P}}$	Struktura nieznaną			Ph-NH ₂			Struktura nieznaną			Struktura nieznaną		
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	1,78	8,8	48	3,09	83	94	6,18	4,4	129	9,80	3,7	102
$p\text{-HO}_2\text{C-Pgly}^{\text{P}}$												
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	3,00	3,5	93	4,42	11,2	117	6,98	34,8	131	7,45	42,4	128

Wyniki badań nad pirolizą serii pochodnych Pgly^P: *p*-Br-Pgly^P; *p*-Me-Pgly^P; *p*-NO₂-Pgly^P; *p*-HO₂C-Pgly^P zilustrowano na Schemacie 3-11.

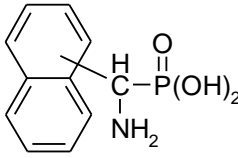

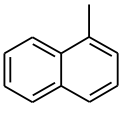
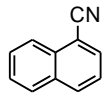
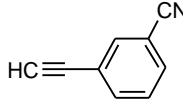

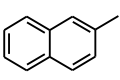
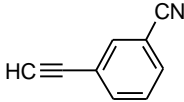
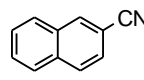


Schemat 3-11. Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego aminokwasów: Pgly^P; *o*-Me-Pgly^P; *m*-Me-Pgly^P; *p*-Me-Pgly^P; 2,3,4-Me₃-Pgly^P

3.2.4.3.1.2. BADANIA NAD PIROLIZĄ POCHODNYCH NphGly^P

Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego kwasów 1-amino-1-naftylometylofosfonowego (1-NphGly^P) i 1-amino-2-naftylometylofosfonowego (2-NphGly^P) przedstawiono w Tabeli 3-27.

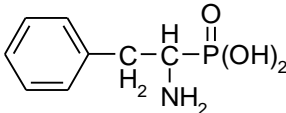


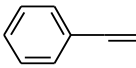
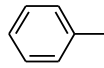
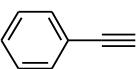
Tabela 3-27. Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego aminokwasów: 1-Nphgly^P i 2-Nphgly^P [Warunki termolizy: 400°C, 2 min]

												
1-Nphgly ^P												
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	6,16	15,2	129	9,02	16,8	142	14,7	30,4	153	15,0	13,6	127
2-Nphgly ^P												
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	6,08	11,3	128	8,41	30,4	142	15,0	11,8	127	15,6	24,9	153

3.2.4.3.2. BADANIA NAD PIROLIZĄ Phe^P

Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego kwasu 1-aminoetylo-2-fenyl-1-fosfonowego (fosfonofenylalanina; Phe^P) przedstawiono w Tabeli 3-28.

Tabela 3-28. Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego kwasu 1-aminoetylo-2-fenyl-1-fosfonowego (fosfonofenylalanina; Phe^P) [Warunki termolizy: 400°C, 2 min]

												
Phe ^P												
	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
	2,08	7,4	44	2,43	19	94	2,91	8,0	104	3,95	5,9	92
				STRUKTURA NIEZNANA								
	RT	%	M	RT	%	M						
27,2	27	102	32,2	12	207							

3.2.4.4. BADANIA NAD PIROLIZĄ INNYCH KWASÓW FOSFONOWYCH

Badania nad pirolizą innych kwasów fosfonowych dotyczyły termicznego rozkładu kwasów: 1-hydroksypropylo-fosfonowego (1-HP^P) i fosfonooctowego (P^PAcOH).

Wyniki badań zestawiono w Tabeli 3-29.

Tabela 3-29. Zestawienie głównych produktów rozpadu termicznego kwasu 1-hydroksy-propylo-fosfonowego (1-HP ^P) i kwasu fosfonooctowego (P ^P AcOH) [Warunki termolizy: 400°C, 2 min]											
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HO}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{C}_2\text{H}_5 \end{array}$ <p style="text-align: center;">1-HP^P</p>						$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HO}_2\text{C}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{H}_2 \end{array}$ <p style="text-align: center;">P^PAcOH</p>					
RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M	RT	%	M
1,89	97,6	60	2,36	2,4	98	1,72	10	46	1,81	88	62
C ₃ H ₆ O [60]		C ₆ H ₁₀ O [98]		CH ₂ O ₂ [46]		C ₂ H ₄ O ₂ [60]					
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{C} \\ \quad \\ \text{H}_2 \quad \text{H} \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{H} \\ \quad \quad \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{C} \quad \text{CH}_3 \\ \\ \text{H} \end{array}$		HCO ₂ H		CH ₃ CO ₂ H					

Badania nad przebiegiem pirolizy kwasów aminoalkilofosfonowych i ich pochodnych zaprezentowano na konferencjach:

Kudzin, M.H.; Mrozińska, Z.: *Investigation of thermal decomposition of aminoalkylphosphonic acids*. 15th International Symposium *Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*, P-88. CBMM PAN, Łódź, 2012.11.16.^[283]

Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Drabowicz, J. *Investigation of thermal decomposition of representative 1-(N-acylamino)alkylphosphonic acids and phosphonopeptides*. European Polymer Congress, P2-89. Piza, Italy, 2013.06.16-21.^[284]

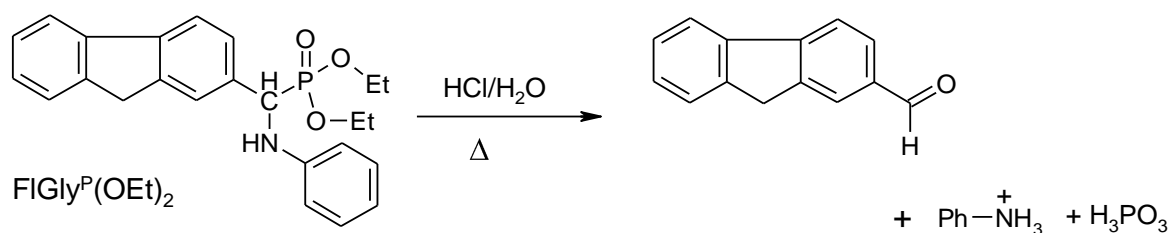
Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Piestrzeniewicz, J.; Mrozińska, Z.; Drabowicz, J.: *Investigation of thermal decomposition of representative 1-aminoaralkylphosphonic acids*. 16th International Symposium *Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*, P-086. CBMM PAN, Łódź, 2013.11.15.^[285]

Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Mrozińska, Z.; Drabowicz, J.: *Investigation of thermal decomposition of representative 1-(N-alkylamino)alkylphosphonic acids*. 16th International Symposium *Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*, P-087. CBMM PAN, Łódź, 2013.11.15.^[286]

3.3. WŁAŚCIWOŚCI CHEMICZNE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

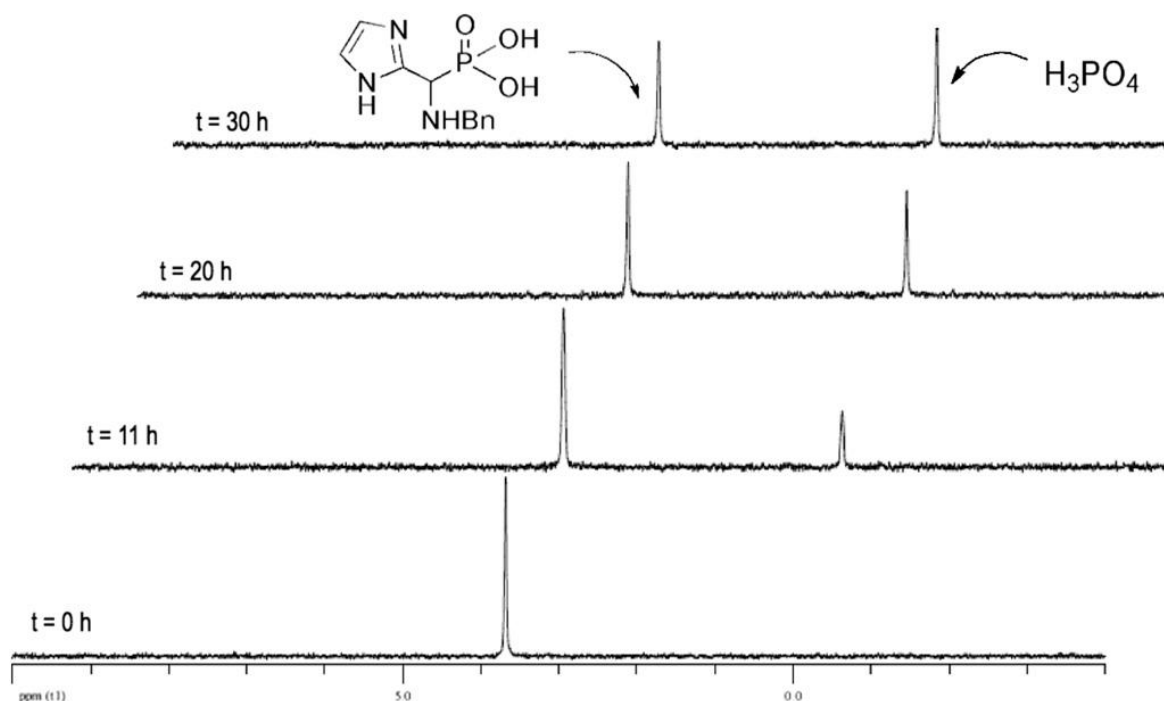
3.3.1. STABILNOŚĆ AA^P W ROZTWORACH ZASAD I KWASÓW

W 1978 r. Gancarz zaobserwował nieoczekiwany przebieg deprotekcji pochodnych fluorenowych 1-(*N*-fenylamino)metylofosfonianu [FIGly^P(OEt)₂] (Sch. 3-12.)^[287].

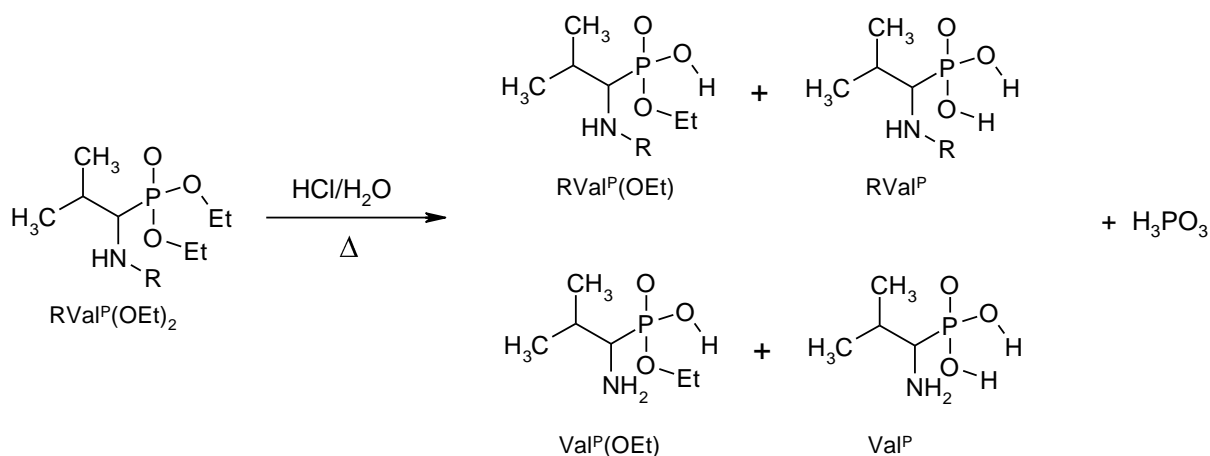


Schemat 3-12. Katalizowana kwasowo defosfonylacja FIGly^P(OEt)₂^[287.1]

W latach następnym pojawiły się liczne doniesienia wskazujące na nietrwałość heterocyklicznych 1-aminoalkilofosfonianów w roztworach zasadowych^[288-290] i kwaśnych^[291-301] (Tab. 3-30., Rys. 3-24.).



Rysunek 3-24. Eksperyment kinetyczny Boduszka dla degradacji kwasowej kwasu imidazolo-2-yl-(1-*N*-benzyloamino)-metylofosfonowego w 1M H₂SO₄ (90°C) monitorowany ³¹P NMR^[294]



Schemat 3-13.1. Katalizowano kwasowo defosforylacja *N*-podstawionych *O,O*-dietylo 1-amino-2-metylpropylofosfonianów [R-Val^P(OEt)₂] [Kiersnowska, 2003]^[287.2]

Ponieważ w wymienionych pracach nie rozważano wpływu warunków hydrolytycznych na stabilność wolnych kwasów aminoalkilofosfonowych podjąłem prace nad ustaleniem wpływu tych czynników na trwałość wiązania C-P w badanych związkach.

3.3.1.1. BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH W ROZTWORACH ZASAD I KWASÓW

Do badań wytypowano dziesięć aminokwasów: cztery kwasy 1-aminoalkilofosfonowe, pochodne Gly^P różniące się podstawnikami przy węglu αC (Gly^P, Ala^P, Mala^P, Pgly^P) oraz sześć kwasów 1-(*N*-alkiloamino)alkilofosfonowych (R-AA^P) (Tab. 3-31.).

Tabela 3-31. Struktury kwasów 1-aminoalkilofosfonowych i 1-(<i>N</i> -alkiloamino)alkilofosfonowych poddanych badaniom stabilności w roztworach kwasów i zasad							
$\begin{array}{c} \text{R}^1 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{R} \end{array}$				$\begin{array}{c} \text{R}^1 \\ \\ \text{R}^2 \diagdown \text{N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \quad \quad \\ \text{R}^3 \quad \quad \text{R} \end{array}$			
AA^P				R-AA^P			
Gly ^P	Ala ^P	Pgly ^P	Mala ^P	^t Bu-Gly ^P	Me-Hala ^P	Me ₂ -Hala ^P	Et-Mala ^P
R=R ¹ =H	R=H; R ¹ =Me	R=H; R ¹ =Ph	R=R ¹ =Me	R=R ¹ =R ² =H; R ³ = ^t Bu	R= Et; R ¹ =R ² =H; R ³ =Me	R= Et; R ¹ =H; R ² =R ³ =Me	R=R ¹ =Me; R ² =H; R ³ =Et
				^t Bu-Ala ^P	Et-Hala ^P		
				R=Me; R ¹ =R ² =H; R ³ = ^t Bu	R=Et; R ¹ =R ² =H; R ³ =Et		

Warunki ekspozycji kwasów 1-aminoalkilofosfonowych i 1-(*N*-alkiloamino)alkilofosfonowych poddanych badaniom stabilności w roztworach kwasów i zasad zestawiono w Tabeli 3-32.

Kwas / zasada	2 M HCl	2 M H ₂ SO ₄	2 M KOH	2 M KOH
AA ^P / R-AA ^P	0,4 M	0,4 M	0,4 M	0,4 M
Temperatura	25°C	100°C	25°C	100°C
Czas ekspozycji	720 h	120 h	720 h	120 h

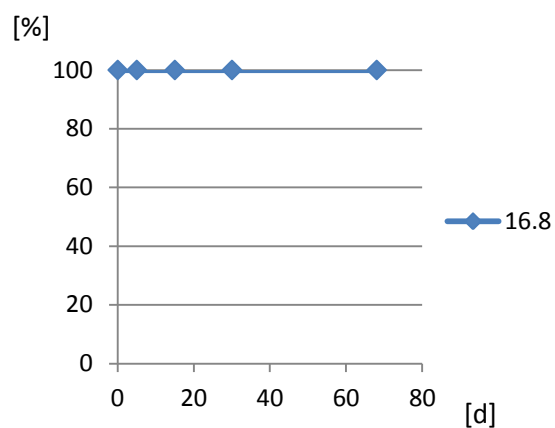
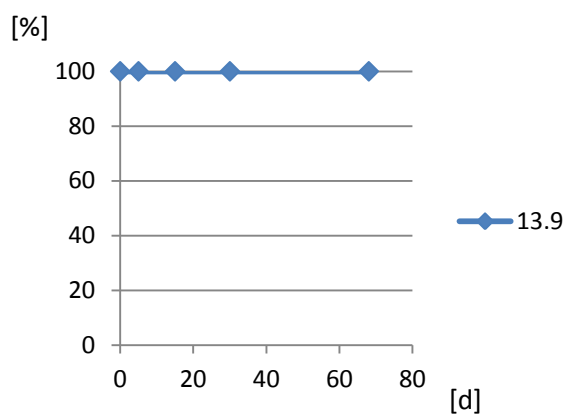
Badania stabilności AA^P i R-AA^P w roztworach kwasów i zasad prowadzono z wykorzystaniem monitoringu ³¹P NMR. Wyniki badań (Tab. 3-33.) w postaci reprezentatywnych widm ³¹P-NMR i wykresów ilustrujących profile reaktywności przedstawiono w poniższych rozdziałach.

Kwas / zasada		2 M KOH	2 M KOH	2 M HCl	2 M H ₂ SO ₄
AA ^P / R-AA ^P		0,4 M	0,4 M	0,4 M	0,4 M
Temperatura		25°C	100°C	25°C	100°C
Widma ³¹ P NMR	AA ^P		Rys. 3-13		Rys. 3-16
	R-AA ^P				
Profile	AA ^P	Rys. 3-12	Rys. 3-14	Rys. 3-15	Rys. 3-17
	R-AA ^P	Rys. 3-15			

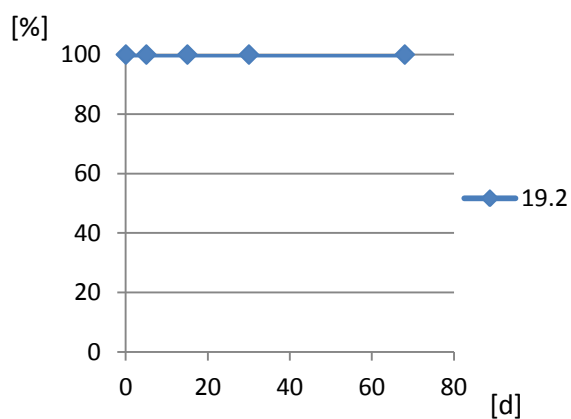
3.3.1.1.1. BADANIA STABILNOŚCI AA^P W ROZTWORACH KWASÓW

Wyniki badań przedstawiono schematycznie dla układu: AA^P-2 M HCl na Rysunkach: 3-25. (AA^P/2 M HCl/20°C), 3-26. (AA^P/2M H₂SO₄/100°C).

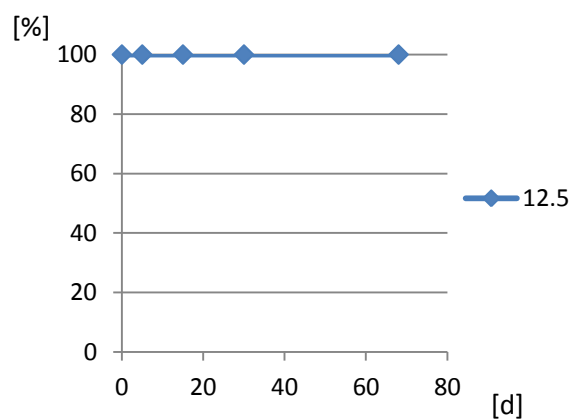
Rysunek 3-25. Stabilność AA^P na ekspozycję w 2 M HCl [temp. 20°C] (d= 24h)



Rys. 3-25.1. Gly^P w 2 M HCl



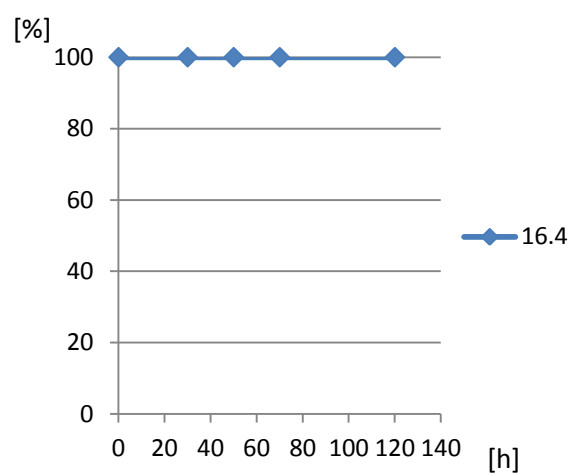
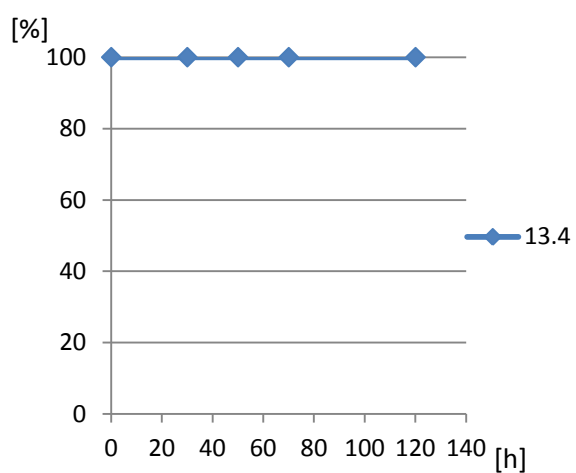
Rys. 3-25.2. Ala^P w 2 M HCl



Rys. 3-25.3. Mala^P w 2 M HCl

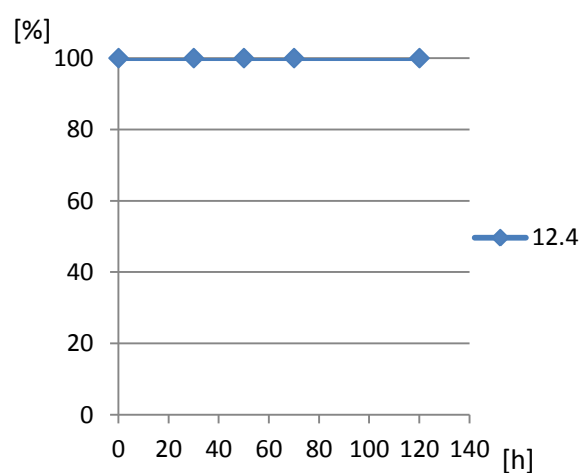
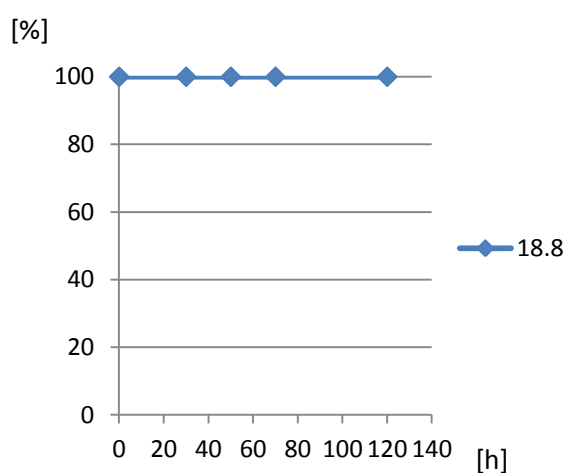
Rys. 3-25.4. PGly^P w 2 M HCl

Rysunek 3-26. Stabilność AA^P na ekspozycję w 2 M H₂SO₄ [temp. 100°C]



Rys. 3-26.1. Gly^P w 2 M H₂SO₄ (13,4 ppm)

Rys. 3-26.2. Ala^P w 2 M H₂SO₄ (16,4 ppm)

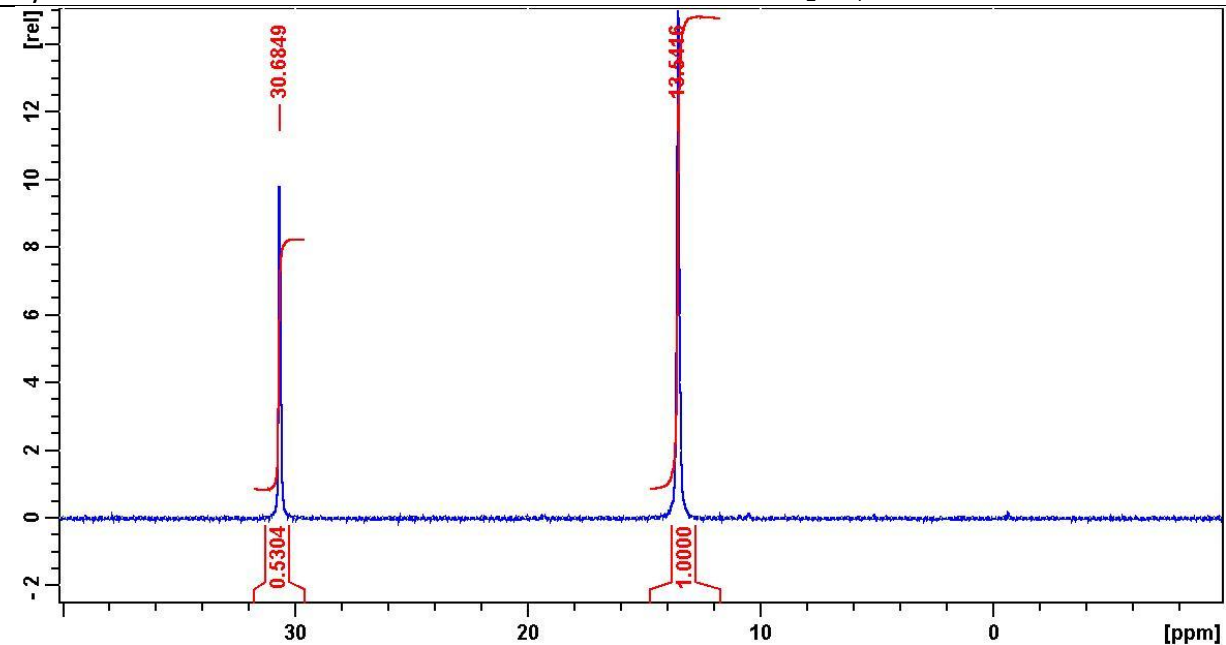


Rys. 3-26.3. Mala^P w 2 M H₂SO₄ (18,8 ppm)

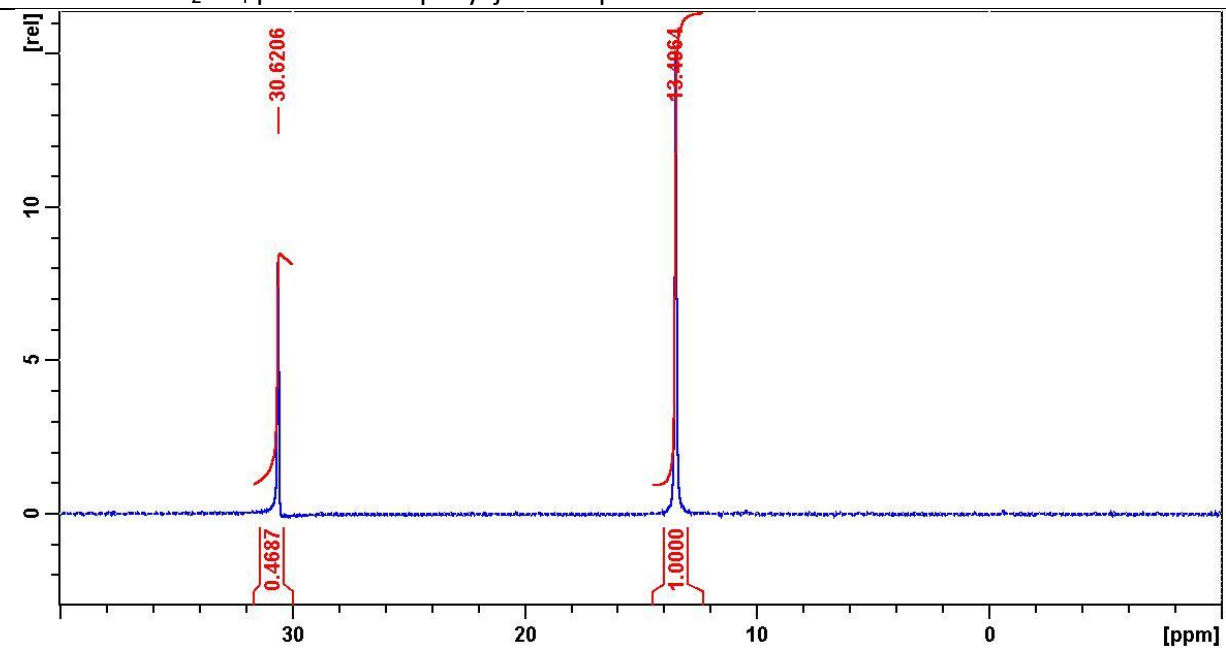
Rys. 3-26.4. PGly^P w 2 M H₂SO₄ (12,4 ppm)

Widma ³¹P-NMR mieszanin reakcyjnych AA^P/ 2 M KOH /100°C, odpowiadające czasowi ekspozycji 24 h przedstawiono na Rysunku 3-27.

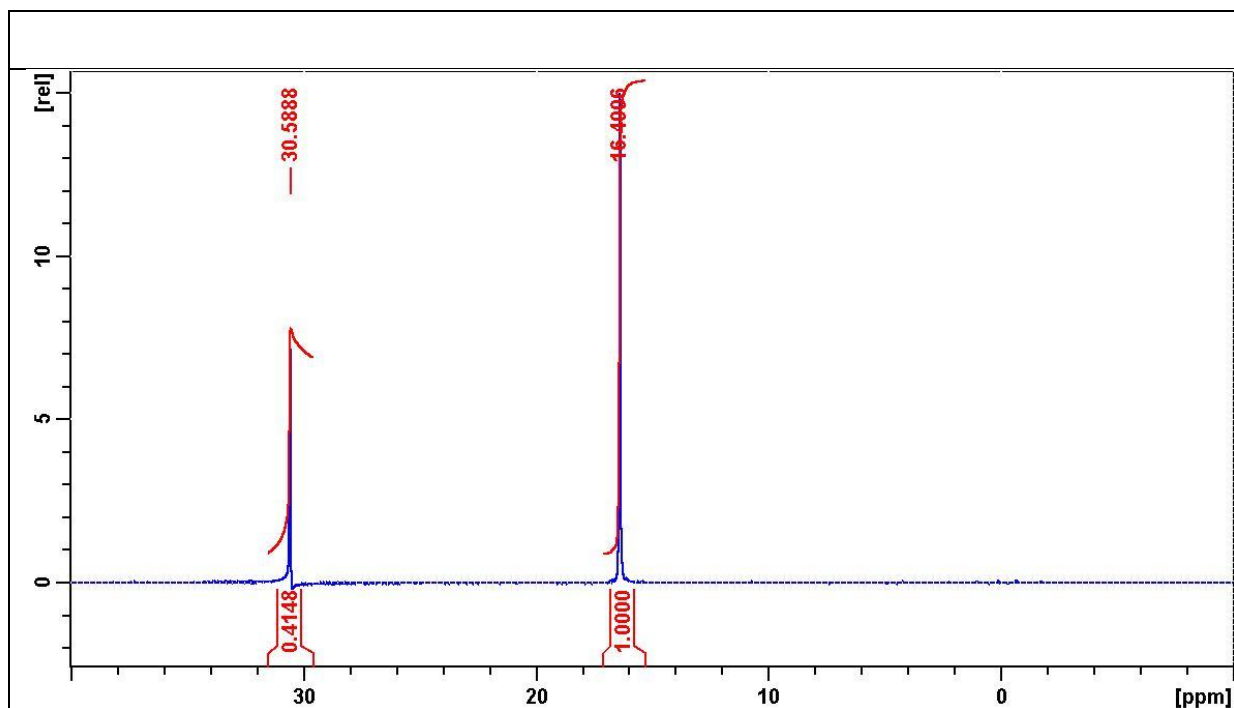
Rysunek 3-27. Widma ^{31}P NMR roztworów AA^P-MPA w 2 M H_2SO_4



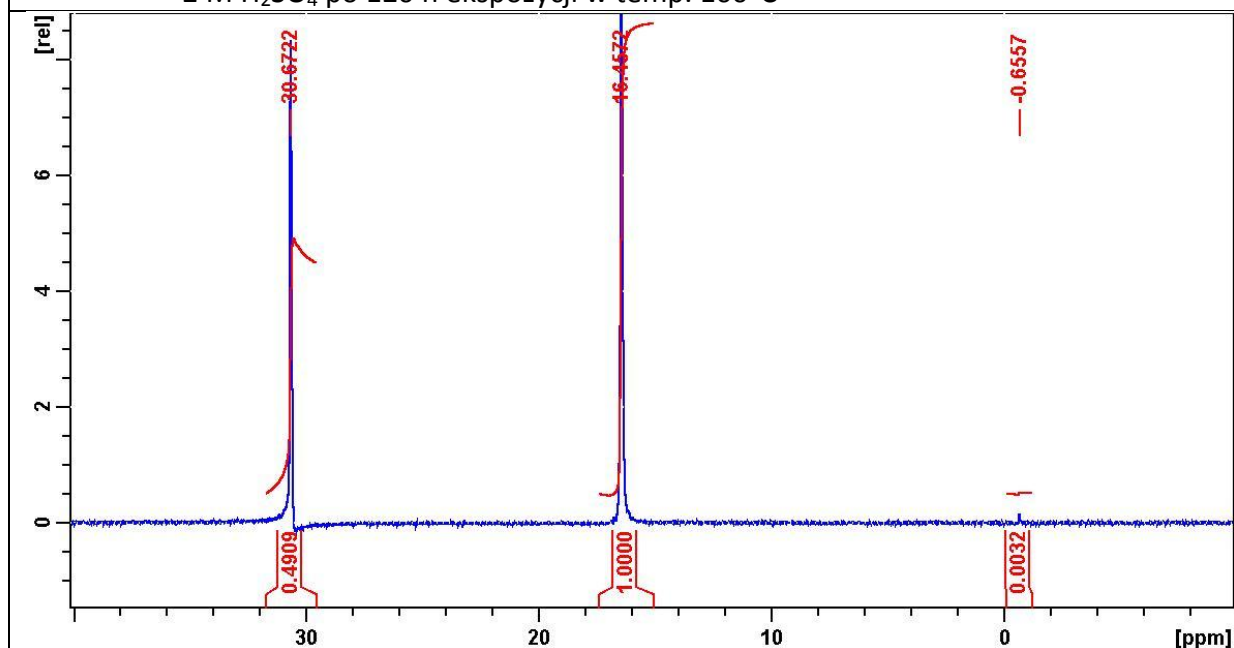
Rys. 3-27.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu mieszanki Gly^P (13,4 ppm) i MPA (30,7 ppm) w 2 M H_2SO_4 po 120 h ekspozycji w temp. 100°C



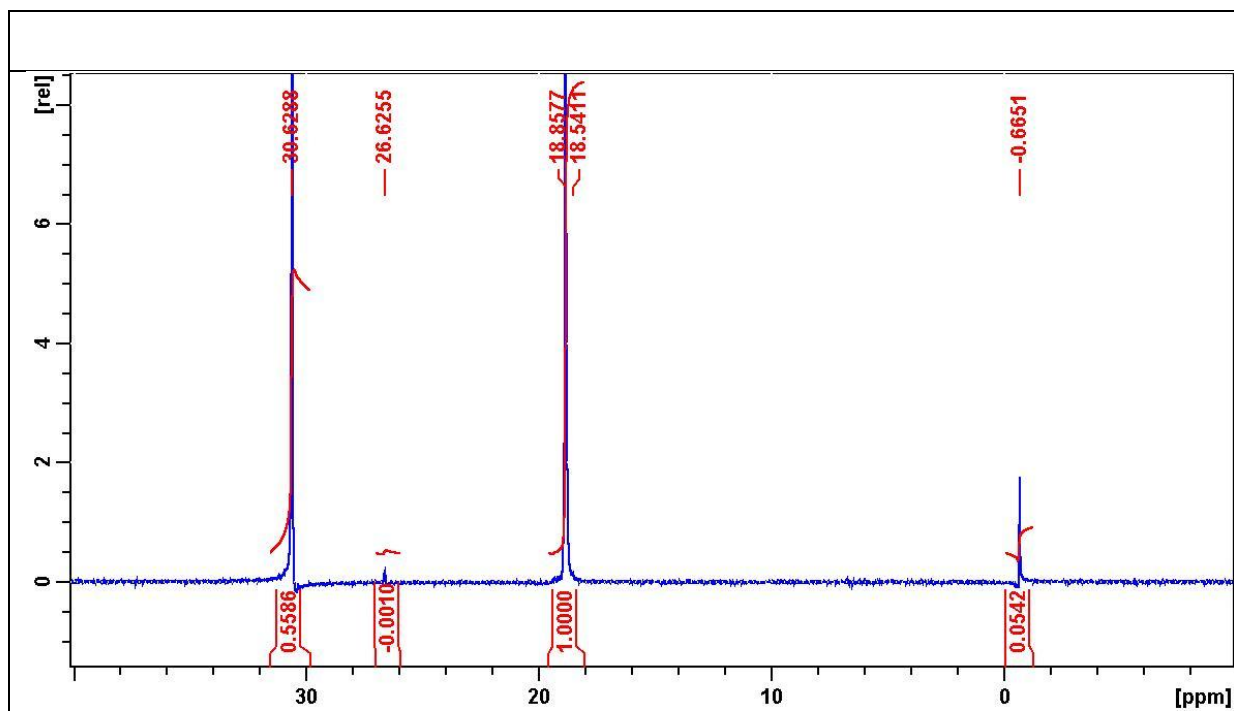
Rys. 3-27.1.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu mieszanki Gly^P (13,4 ppm) i MPA (30,6 ppm) w 2 M H_2SO_4 [20°C; 0 h]



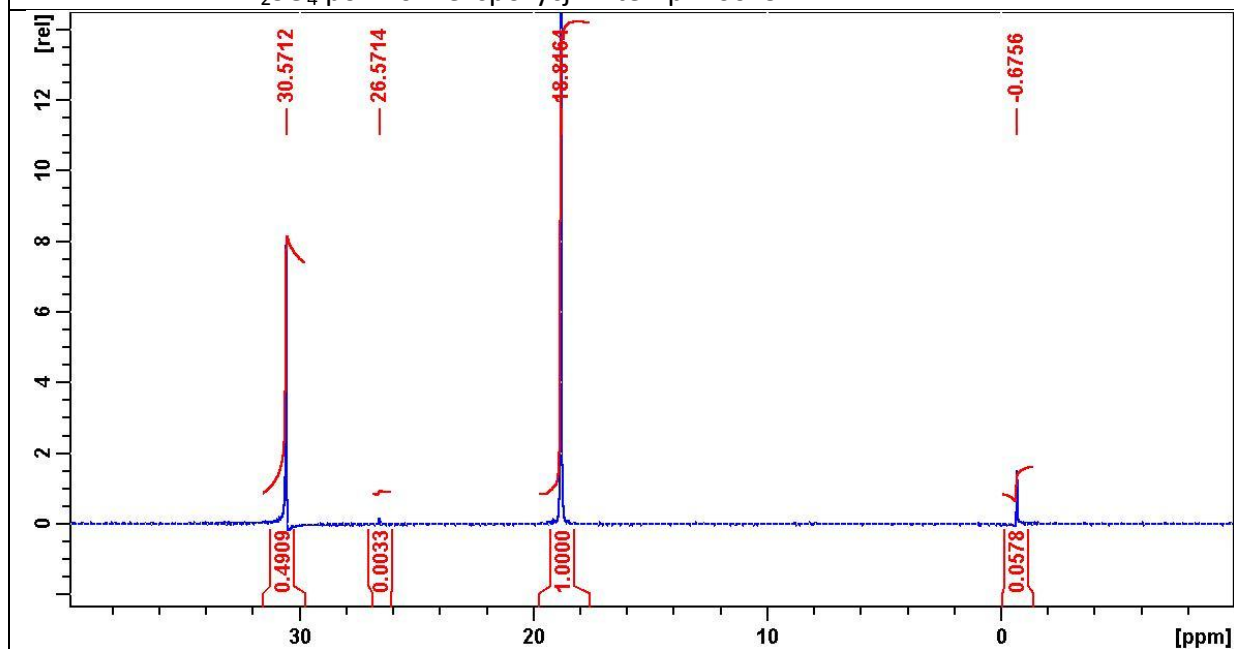
Rys. 3-27.2. Widmo ^{31}P NMR roztworu mieszaniny Ala^{P} (16,4 ppm) i MPA (30,6 ppm) w $2\text{ M H}_2\text{SO}_4$ po 120 h ekspozycji w temp. 100°C



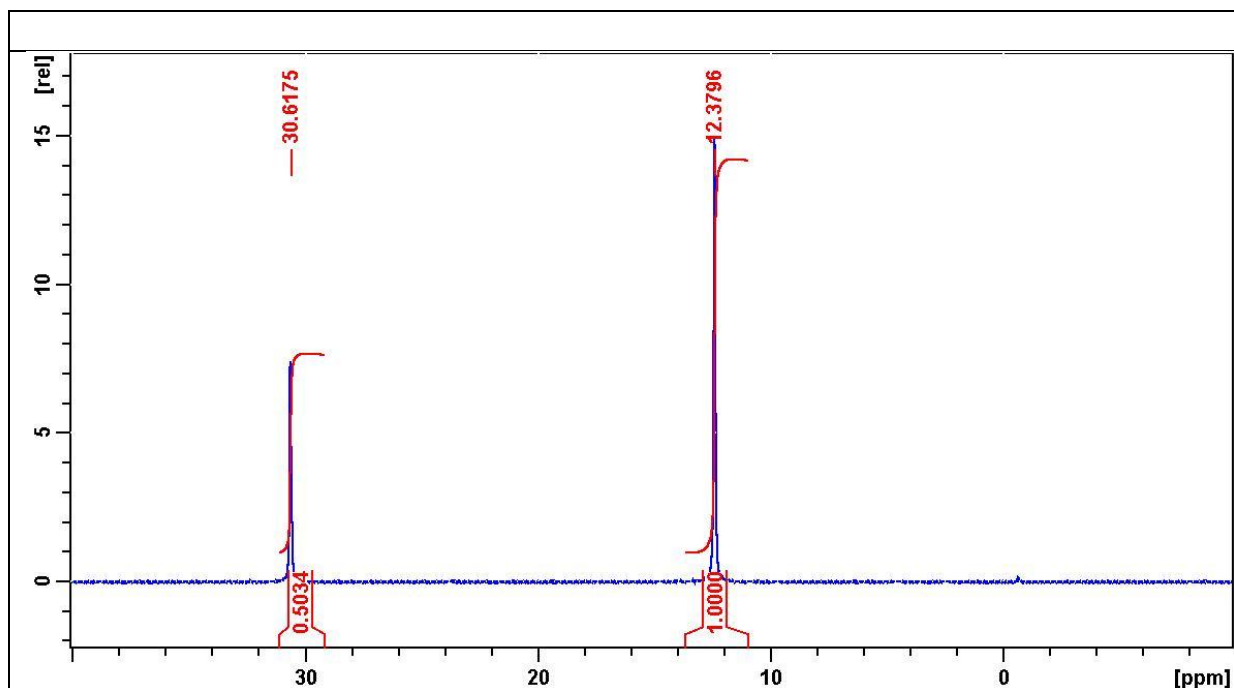
Rys. 3-27.2.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu mieszaniny Ala^{P} (16,4 ppm) i MPA (30,6 ppm) w $2\text{ M H}_2\text{SO}_4$ [20°C ; 0 h]



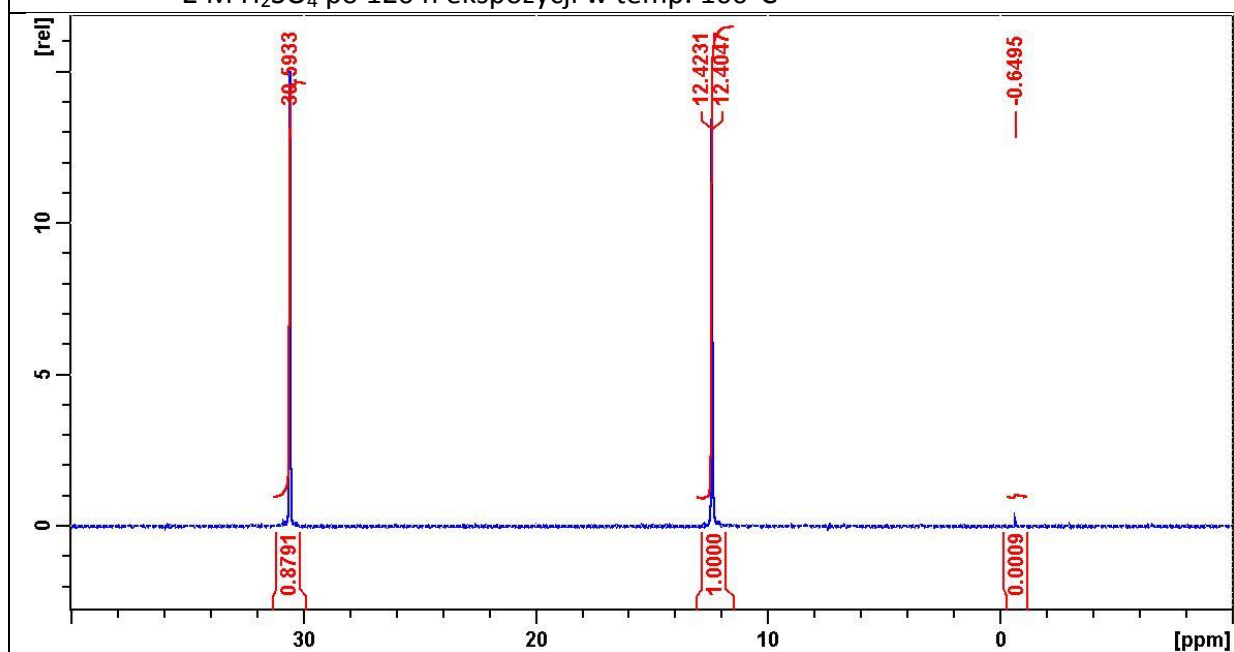
Rys. 3-27.3. Widmo ^{31}P NMR roztworu mieszaniny Mala^P (18,8 ppm) i MPA (30,6 ppm) w 2 M H_2SO_4 po 120 h ekspozycji w temp. 100°C



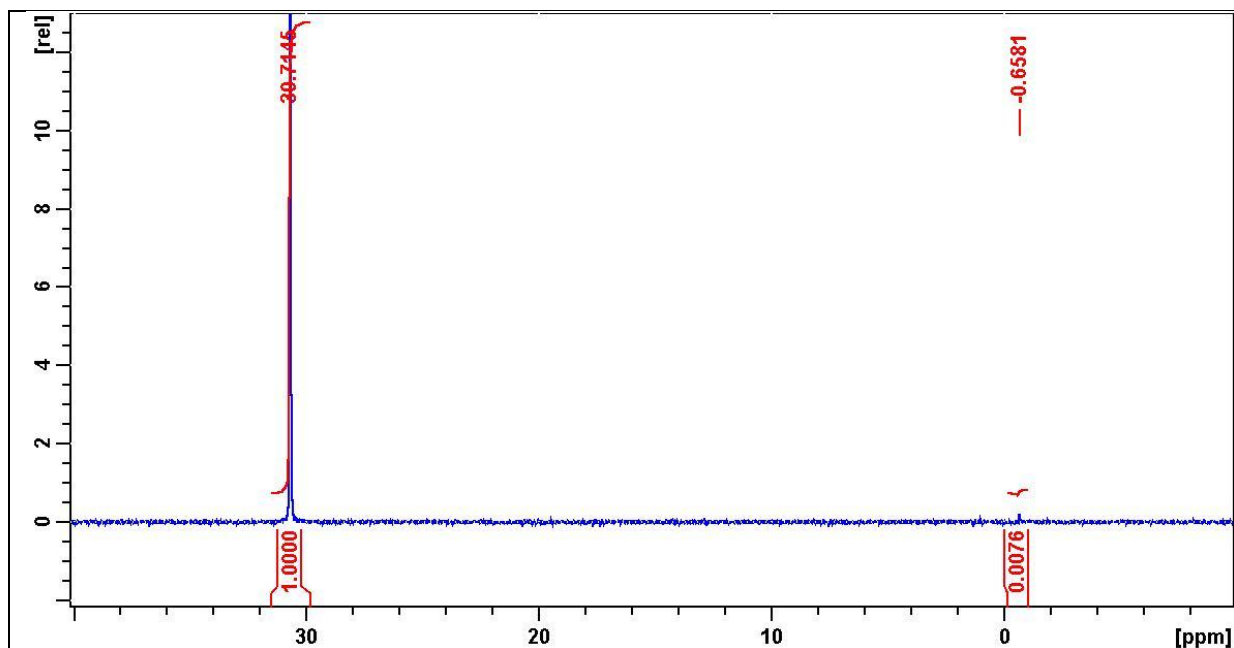
Rys. 3-27.3.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu mieszaniny Mala^P (18,8 ppm) i MPA (30,6 ppm) w 2 M H_2SO_4 [20°C; 0 h]



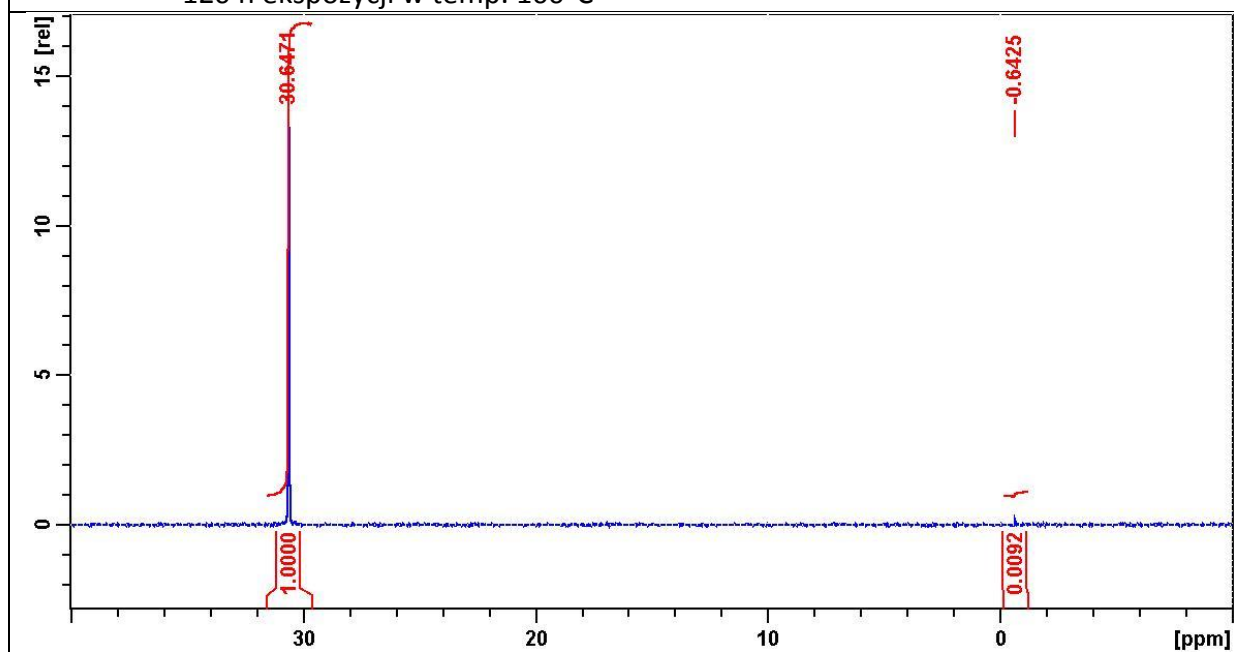
Rys. 3-27.4. Widmo ^{31}P NMR roztworu mieszaniny PGly^P (12,4 ppm) i MPA (30,6 ppm) w 2 M H_2SO_4 po 120 h ekspozycji w temp. 100°C



Rys. 3-27.4.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu mieszaniny PGly^P (12,4 ppm) i MPA (30,6 ppm) w 2 M H_2SO_4 [20°C; 0 h]



Rys. 3-27.5. Widmo ^{31}P NMR roztworu mieszaniny MPA (30,6 ppm) w 2 M H_2SO_4 po 120 h ekspozycji w temp. 100°C

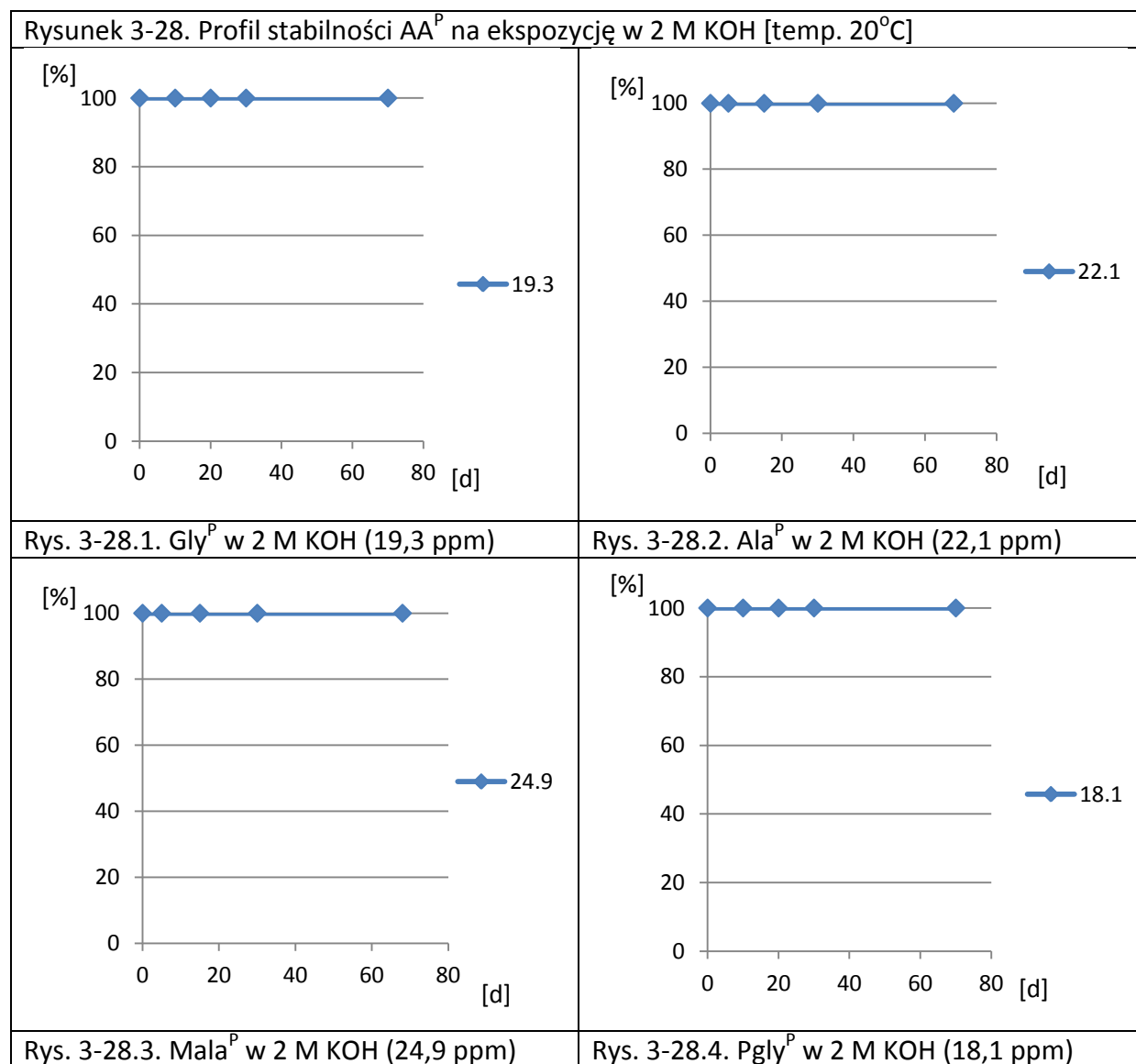


Rysunek 3-27.5.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu mieszaniny MPA (30,6 ppm) w 2 M H_2SO_4 [20°C ; 0 h]

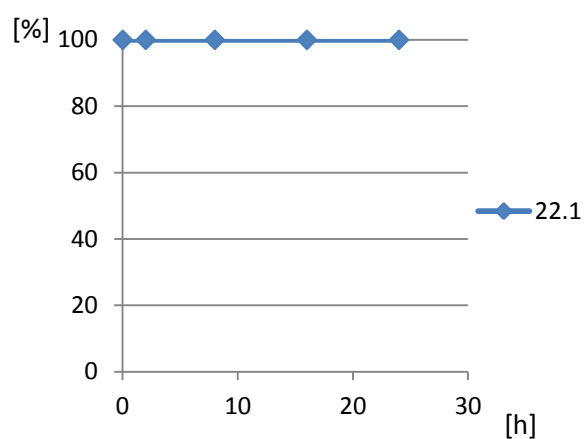
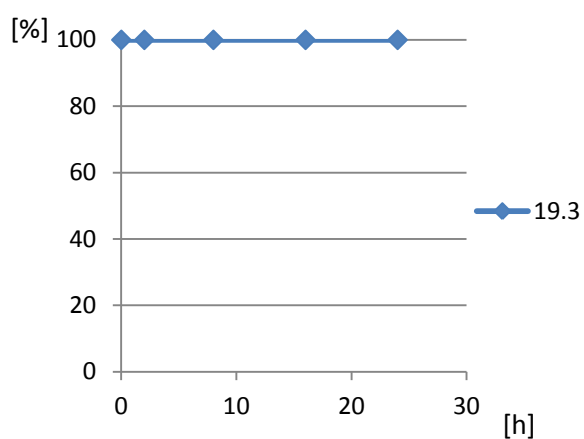
3.3.1.1.2. BADANIA STABILNOŚCI AA^P W ROZTWORACH ZASAD

Wyniki badań przedstawiono schematycznie dla układu: AA^P - 2 M KOH na Rysunkach:

3-28. (AA^P / 2 M KOH / 20°C), 3-29. (AA^P / 2 M KOH / 100°C).

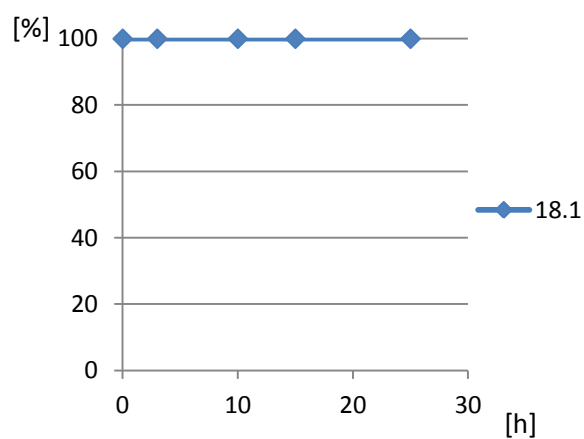
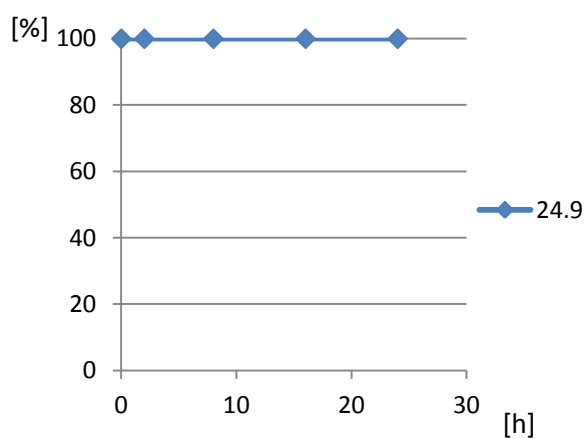


Rysunek 3-29. Profil stabilności AA^P na ekspozycję w 2 M KOH [temp. 100°C]



Rys. 3-29.1. Gly^P w 2 M KOH (19,3 ppm)

Rys. 3-29.2. Ala^P w 2 M KOH (22,1 ppm)

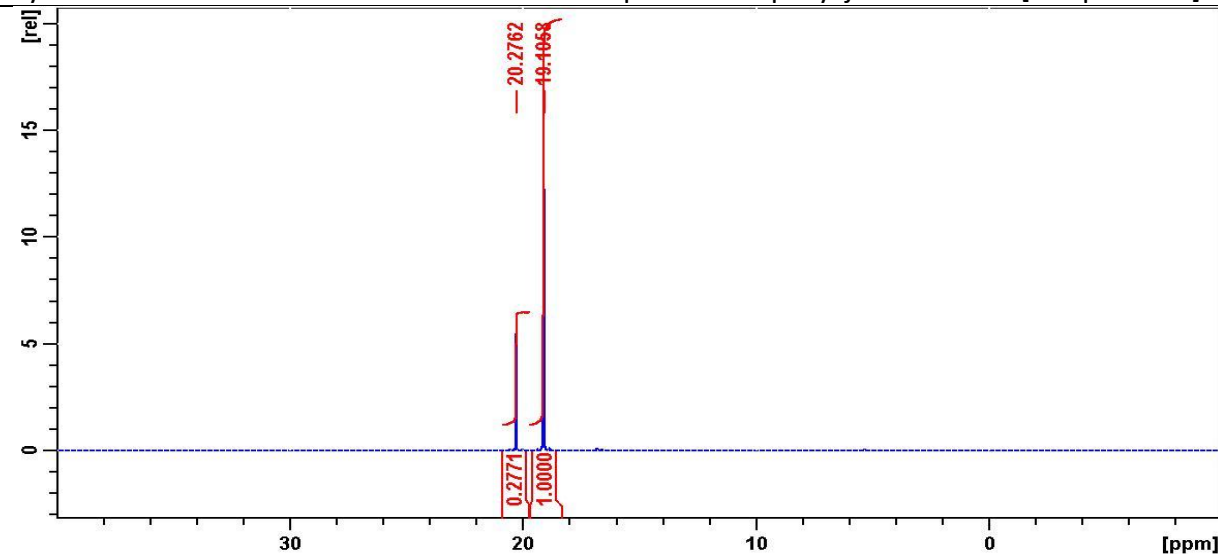


Rys. 3-29.3. Mala^P w 2 M KOH (24,9 ppm)

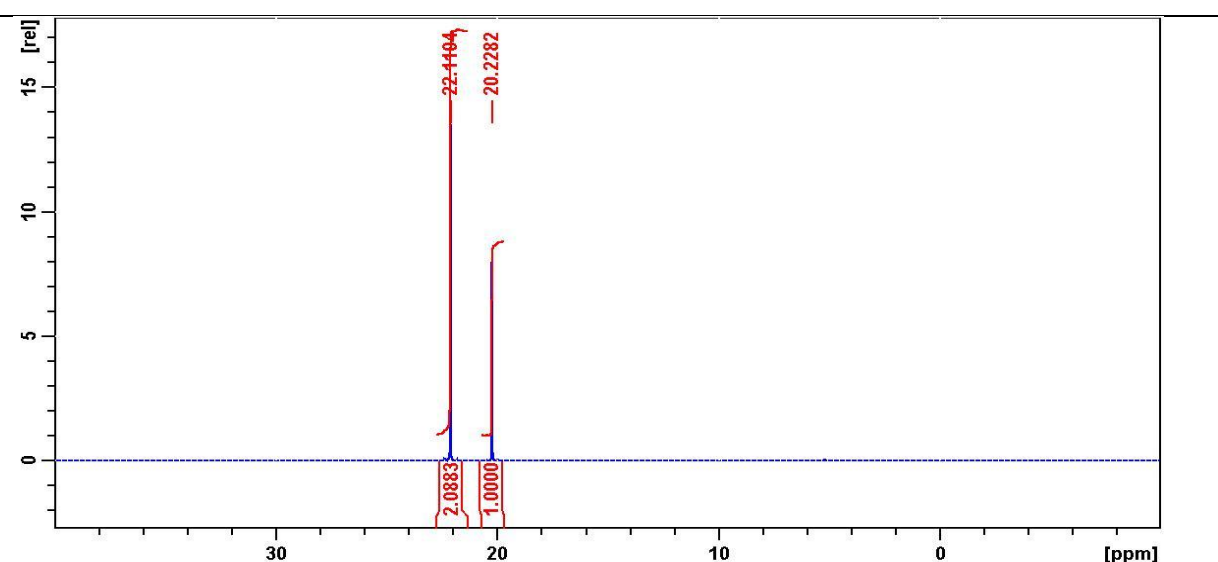
Rys. 3-29.4. Pgly^P w 2 M KOH (18,1 ppm)

Widma ³¹P-NMR mieszanin reakcyjnych AA^P w 2 M KOH poddane ekspozycji 24 h w temperaturze 100°C, przedstawiono na Rysunku 3-30.

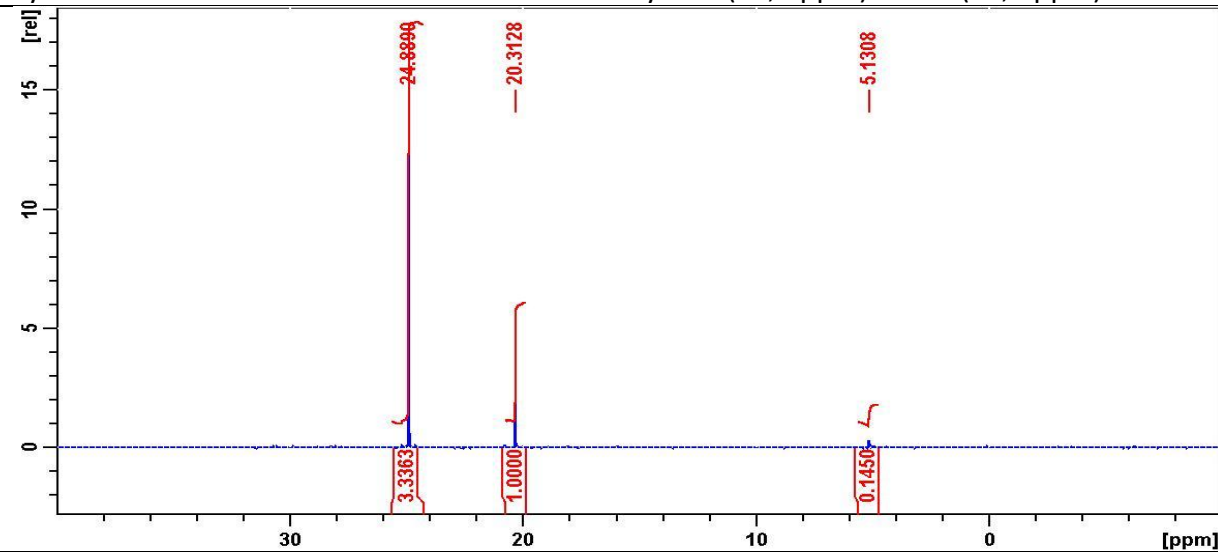
Rysunek 3-30. Widma ^{31}P NMR roztworów AA^P po 24 h ekspozycji w 2 M KOH [temp. 100°C]



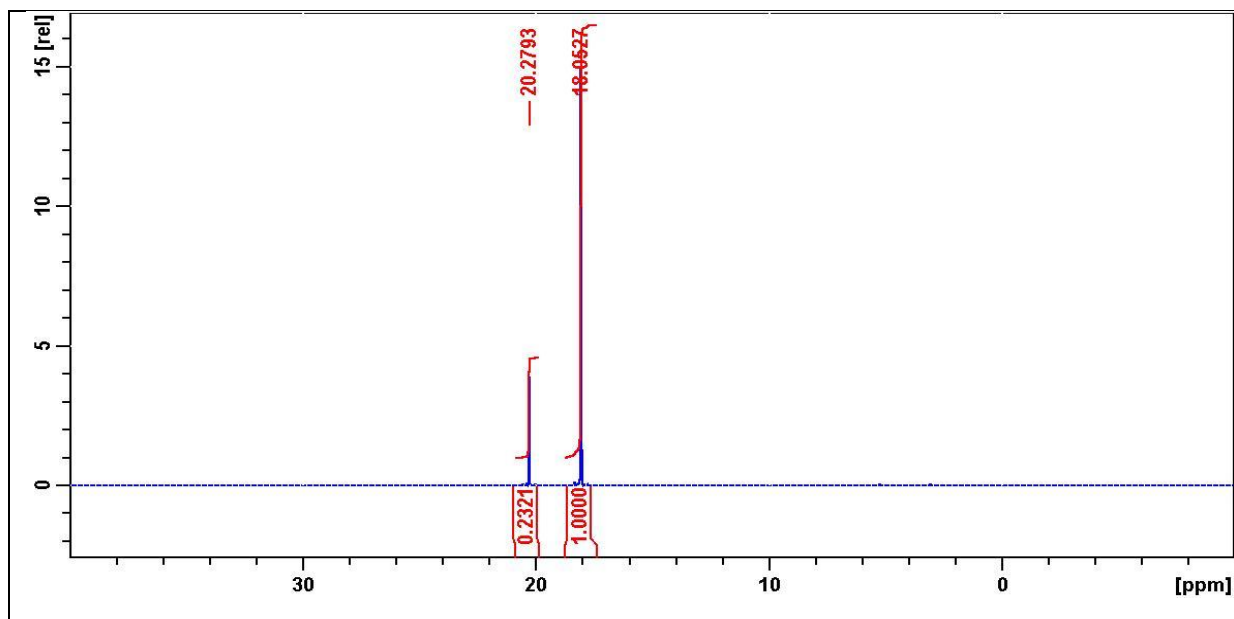
Rys. 3-30.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu mieszaniny Gly^P (19,1 ppm) i MPA (20,3 ppm)



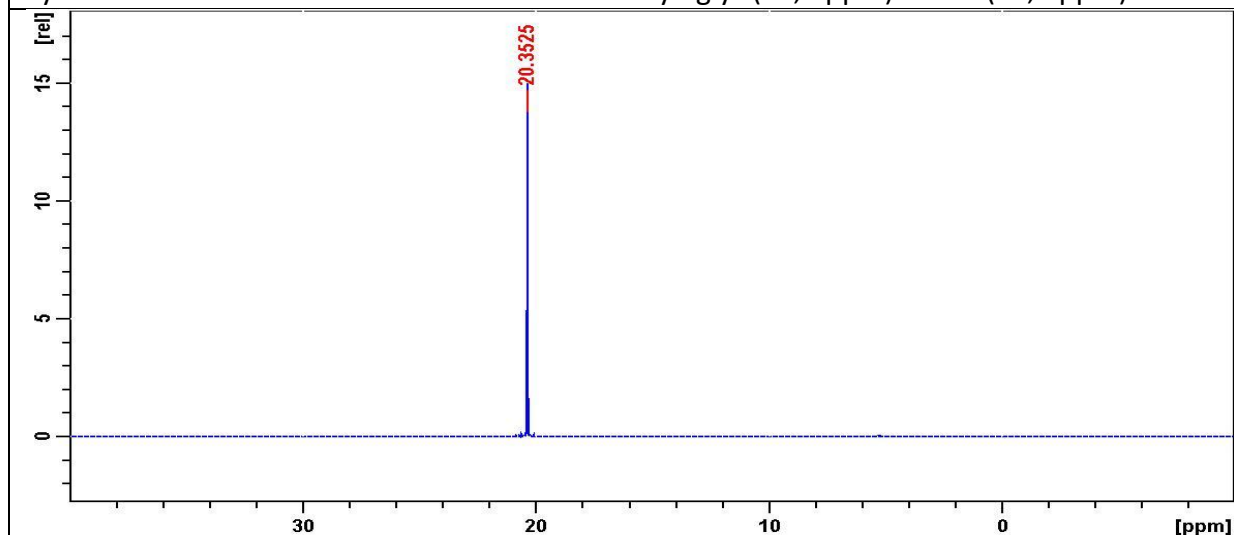
Rys. 3-30.2. Widmo ^{31}P NMR roztworu mieszaniny Ala^P (22,1 ppm) i MPA (20,2 ppm)



Rys. 3-30.3. Widmo ^{31}P NMR roztworu mieszaniny Mala^P (24,9 ppm) i MPA (20,3 ppm)



Rys. 3-30.4. Widmo ^{31}P NMR roztworu mieszaniny Pgly^P (18,1 ppm) i MPA (20,3 ppm)



Rys.3-30.5. Widmo ^{31}P NMR roztworu MPA (20,3 ppm)

3.3.1.2. BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-(*N*-ALKILOAMINO)ALKILO-FOSFONOWYCH W ROZTWORACH KWASÓW I ZASAD

Wyniki prac dotyczących nietrwałości kwasowej aminoestrów ^[287-301] skłoniły mnie do rozszerzenia badań serii kwasów 1-aminoalkilofosfonowych (AA^P) o grupę reprezentatywnych kwasów 1-(*N*-alkiloamino)alkilofosfonowych (R-AA^P).

Do badań wytypowano związki zestawione w Tabeli 3-34.

Tabela 3-34. Reprezentatywne kwasy 1-(<i>N</i> -alkiloamino)alkilofosfonowe		
$\text{Bu}^t\text{-N}\begin{array}{c} \\ \text{H} \end{array}\text{-C}\begin{array}{c} \\ \text{H}_2 \end{array}\text{-PO}_3\text{H}_2$	$\text{Bu}^t\text{-N}\begin{array}{c} \\ \text{H} \end{array}\text{-C}\begin{array}{c} \\ \text{H} \\ \\ \text{Me} \end{array}\text{-PO}_3\text{H}_2$	$\text{Me-N}\begin{array}{c} \\ \text{H} \end{array}\text{-C}\begin{array}{c} \\ \text{H} \\ \\ \text{Et} \end{array}\text{-PO}_3\text{H}_2$
^t Bu-Gly ^P	^t Bu-Ala ^P	Me-Hala ^P
$\text{Et-N}\begin{array}{c} \\ \text{H} \end{array}\text{-C}\begin{array}{c} \\ \text{H} \\ \\ \text{Et} \end{array}\text{-PO}_3\text{H}_2$	$\text{Me}_2\text{N-C}\begin{array}{c} \\ \text{H} \\ \\ \text{Et} \end{array}\text{-PO}_3\text{H}_2$	$\text{Et-N}\begin{array}{c} \\ \text{H} \end{array}\text{-C}\begin{array}{c} \\ \text{Me} \\ \\ \text{Me} \end{array}\text{-PO}_3\text{H}_2$
Et-Hala ^P	Me ₂ -Hala ^P	Et-Mala ^P

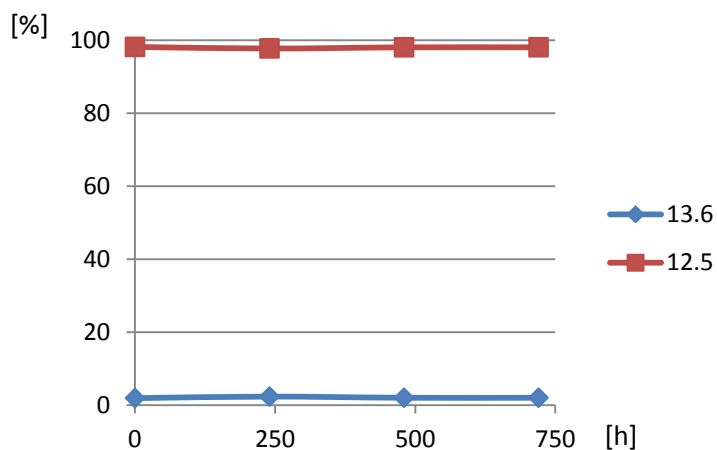
3.3.1.2.1. BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-(*N*-ALKILOAMINO)ALKILO-FOSFONOWYCH W ROZTWORACH KWASÓW

Widma ³¹P NMR 0,4 M roztworów R-AA^P (zawierających 0,2 M kwas metylofosfonowy użyty w charakterze wzorca wewnętrznego) w 2,0 M kwasie siarkowym oraz profile ekspozycyjne przedstawiono na Rysunkach 3-31.

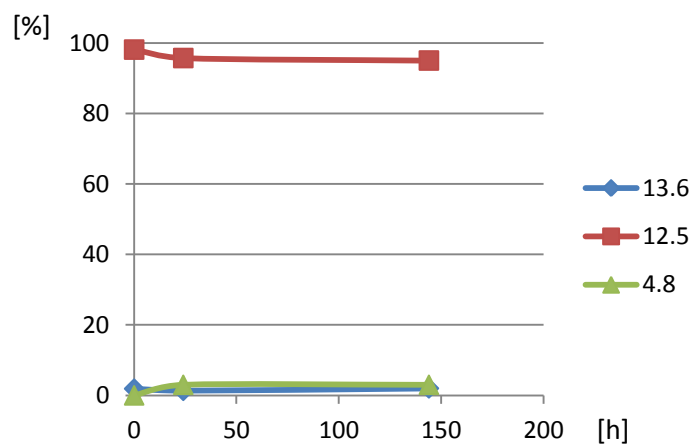
Wykresy ilustrujące wpływ ekspozycji czasowej na stabilność 0,4 M roztworu ^tBu-Gly^P w 2 M H₂SO₄ w temperaturach 25°C i 100°C przedstawiono na Rysunkach 3-31.1.

Widma ³¹P NMR 0,4 M roztworów ^tBu-Gly^P (12,5 ppm) (zawierających 0,2 M MPA (30,6 ppm) użytego w charakterze wzorca wewnętrznego), w 2,0 M kwasie siarkowym przedstawiono na Rysunkach 3-31.1.1.

Rysunek 3-31.1. Profil ^{31}P NMR ekspozycji czasowej 0,4 M roztworu tBu-Gly^P w 2 M H₂SO₄
[Na wykresie nie zaznaczono MPA (30,7 ppm) którego poziom był stabilny w analizowanym okresie]

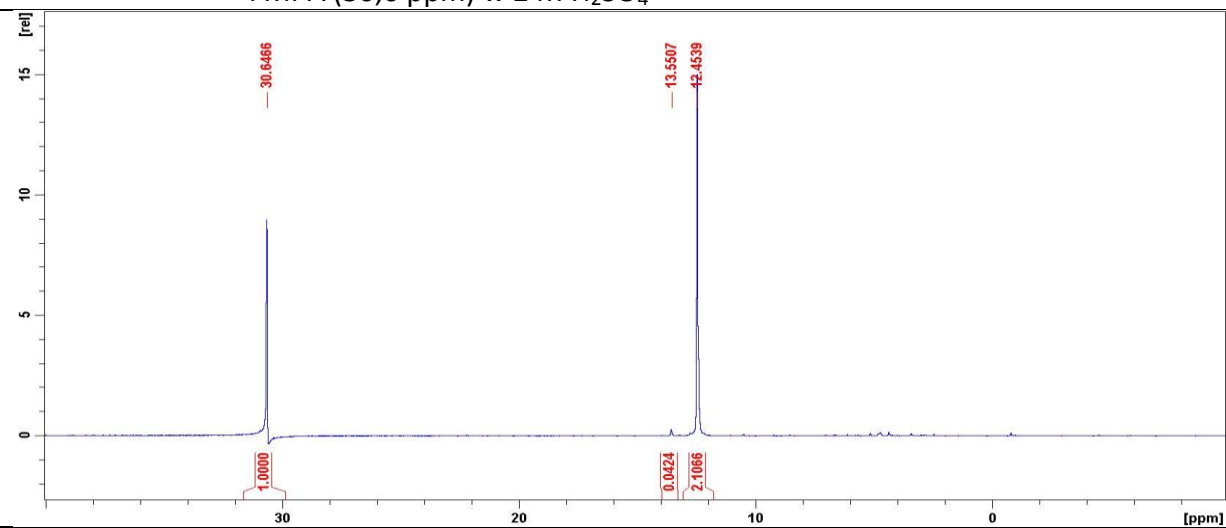


Rys. 3-31.1A. Ekspozycja czasowa 0,4 M roztworu tBu-Gly^P w 2 M H₂SO₄ w 20°C

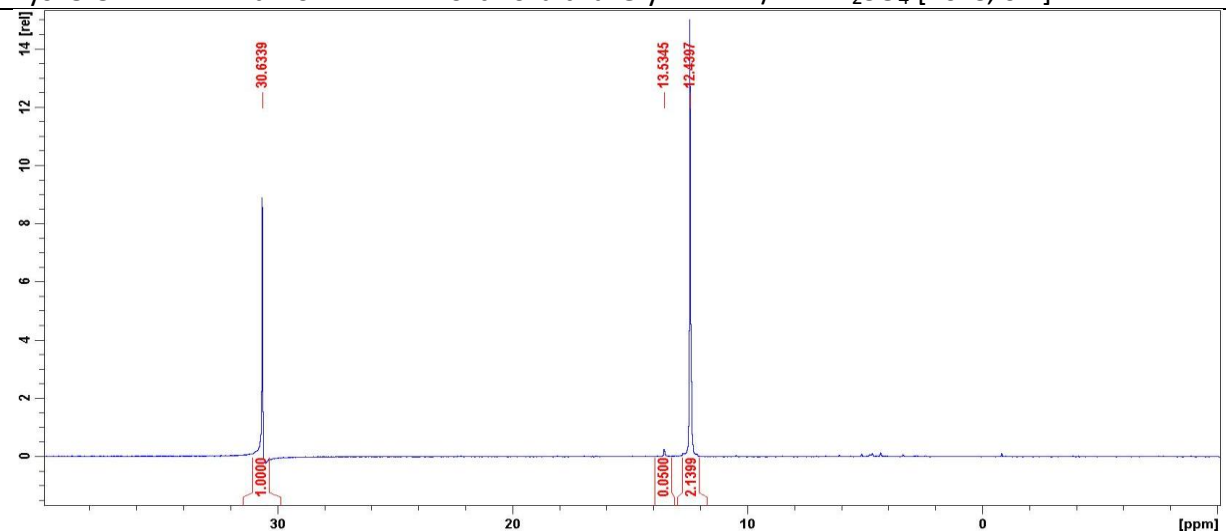


Rys. 3-31.1.B. Ekspozycja czasowa 0,4 M roztworu tBu-Gly^P w 2 M H₂SO₄ w 100°C

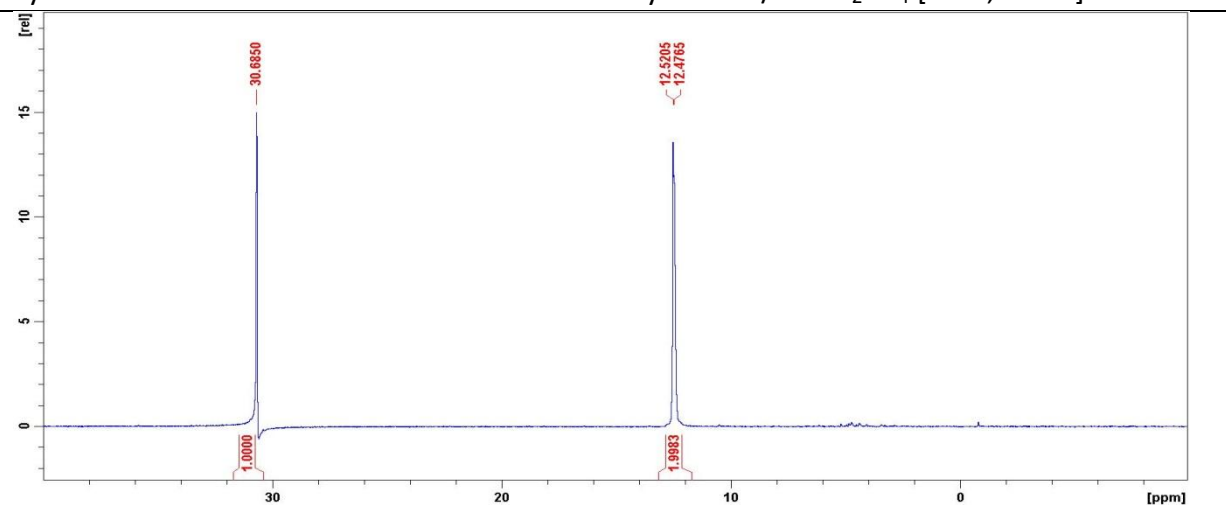
Rysunek 3-31.1.1. Widma ^{31}P NMR roztworu mieszaniny tBu-Gly^P (12,5 ppm) i MPA (30,6 ppm) w 2 M H₂SO₄



Rys. 3-31.1.1.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu tBu-Gly^P + MPA/2 M H₂SO₄ [20°C, 0 h]



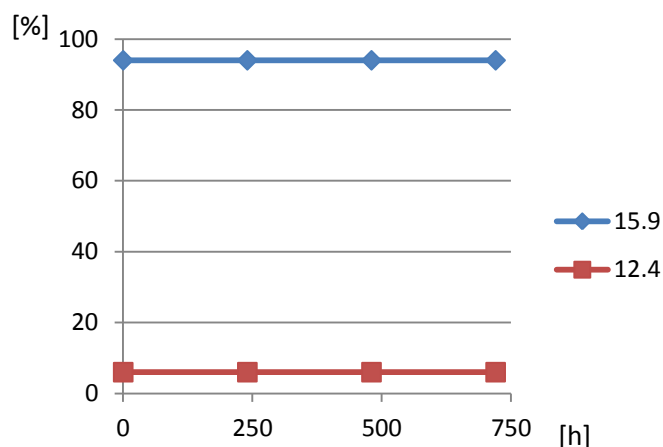
Rys. 3-31.1.1.2. Widmo ^{31}P NMR roztworu tBu-Gly^P + MPA/2 M H₂SO₄ [20°C, 720 h]



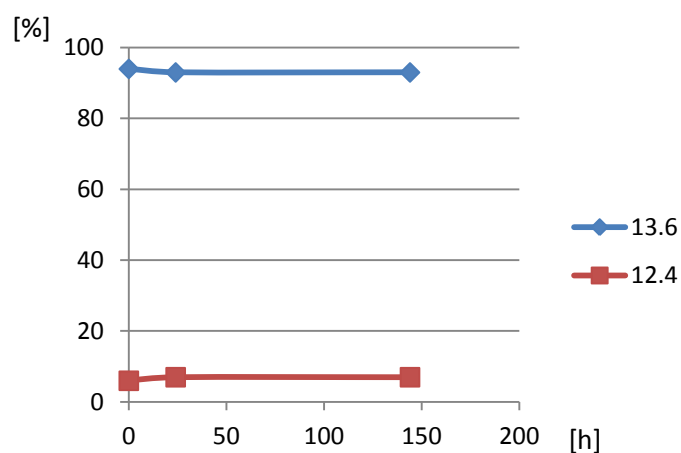
Rys. 3-31.1.1.3. Widmo ^{31}P NMR roztworu tBu-Gly^P + MPA/2 M H₂SO₄ [100°C, 144 h]

Wykresy ilustrujące wpływ ekspozycji czasowej na stabilność 0,4 M roztworu tBu-Ala^P w 2 M H₂SO₄ w temperaturach 25°C i 100°C przedstawiono na Rysunkach 3-31.2.

Rysunek 3-31.2. Profil ³¹P NMR ekspozycji czasowej 0,4 M roztworu tBu-Ala^P w 2 M H₂SO₄ [Na wykresie nie zaznaczono MPA (30,6 ppm) którego poziom był stabilny w analizowanym okresie]



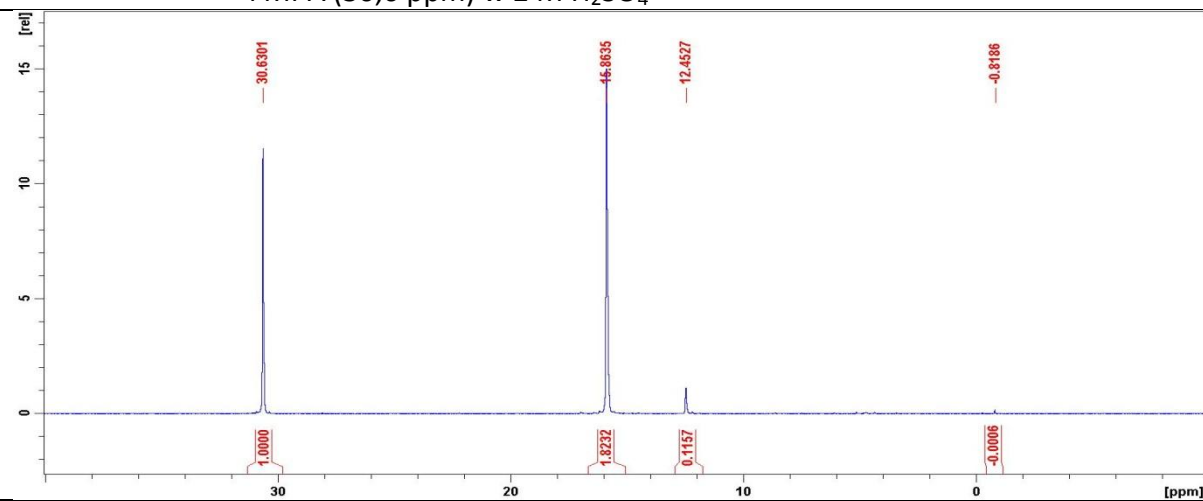
Rys. 3-31.2.A. Ekspozycja czasowa 0,4 M roztworu tBu-Ala^P w 2 M H₂SO₄ w 20°C



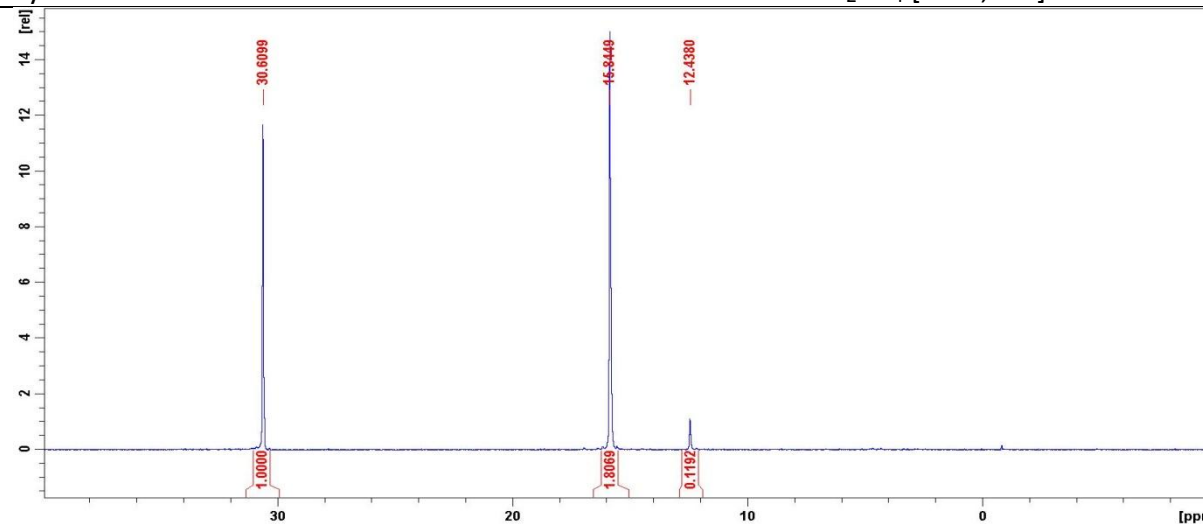
Rys. 3-31.2.B. Ekspozycja czasowa 0,4 M roztworu tBu-Ala^P w 2 M H₂SO₄ w 100°C

Widma ³¹P NMR 0,4 M roztworów tBu-Ala^P (15,9 ppm) [zawierających 0,2 M MPA (30,6 ppm) użytego w charakterze wzorca wewnętrznego] w 2,0 M kwasie siarkowym przedstawiono na Rysunkach 3-31.2.1.

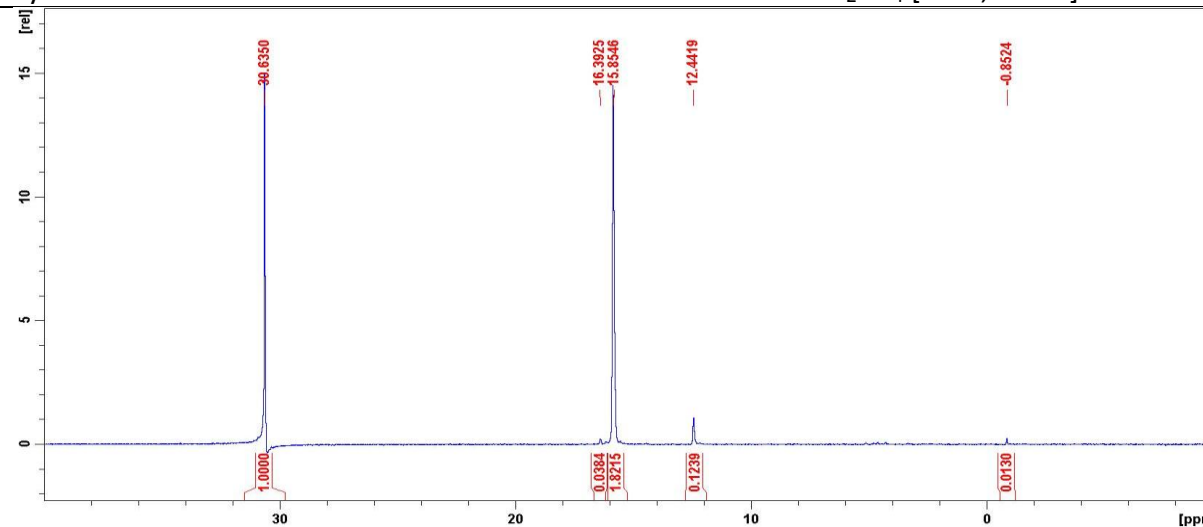
Rysunek 3-31.2.1. Widma ^{31}P NMR roztworu mieszaniny tBu-Ala^P (15,9 ppm) i MPA (30,6 ppm) w 2 M H₂SO₄



Rys. 3-31.2.1.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu tBu-Ala^P + MPA 2 M H₂SO₄ [20°C, 0 h]



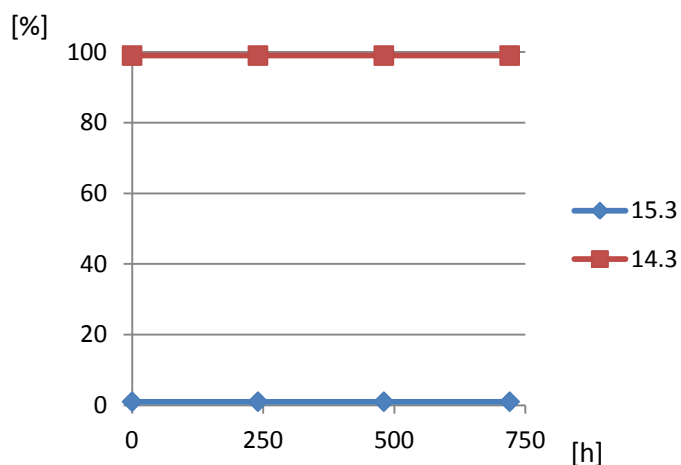
Rys. 3-31.2.1.2. Widmo ^{31}P NMR roztworu tBu-Ala^P + MPA 2 M H₂SO₄ [20°C, 720 h]



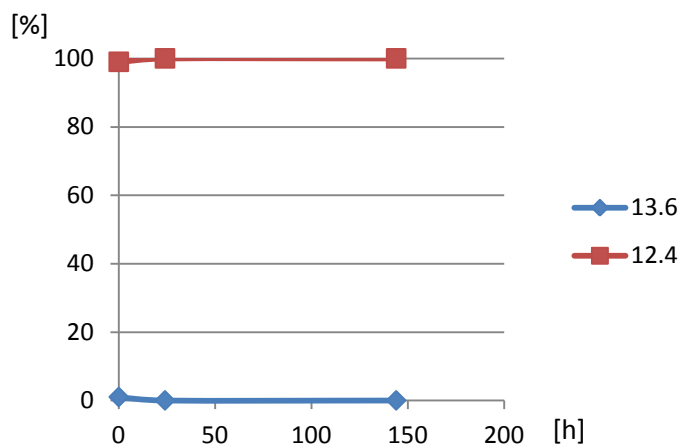
Rys. 3-31.2.1.3. Widmo ^{31}P NMR roztworu tBu-Ala^P + MPA 2 M H₂SO₄ [100°C, 144 h]

Wykresy ilustrujące wpływ ekspozycji czasowej na stabilność 0,4 M roztworu Me-Hala^P w 2 M H₂SO₄ w temperaturach 25°C i 100°C przedstawiono na Rysunkach 3-31.3.

Rysunek 3-31.3. Profil ³¹P NMR ekspozycji czasowej 0,4 M roztworu Me-Hala^P w 2 M H₂SO₄ [Na wykresie nie zaznaczono MPA (30,7 ppm) którego poziom był stabilny w analizowanym okresie]



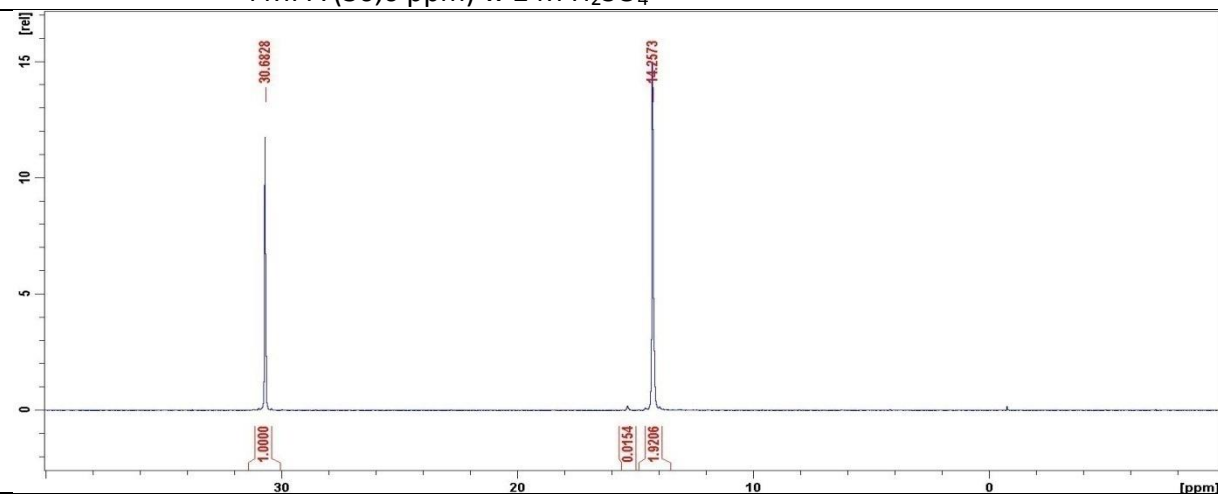
Rys. 3-31.3.A. Ekspozycja czasowa 0,4 M roztworu Me-Hala^P w 2 M H₂SO₄ w 20°C



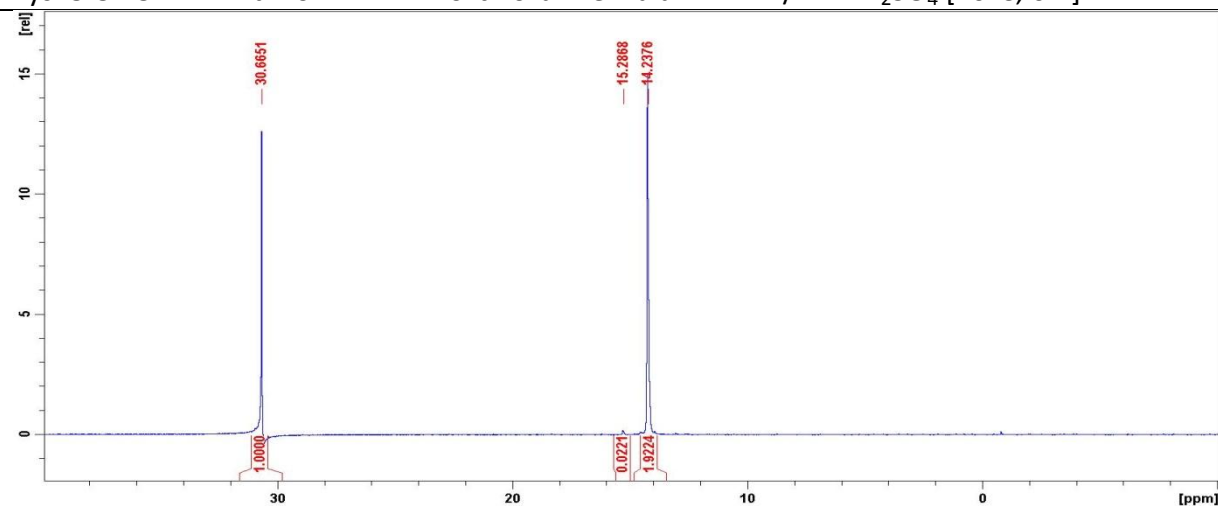
Rys. 3-31.3.B. Ekspozycja czasowa 0,4 M roztworu Me-Hala^P w 2 M H₂SO₄ w 100°C

Widma ³¹P NMR 0,4 M roztworów Me-Hala^P (14,3 ppm) [zawierających 0,2 M MPA (30,6 ppm) użyty w charakterze wzorca wewnętrznego] w 2,0 M kwasie siarkowym przedstawiono na Rysunkach 3-31.3.1.

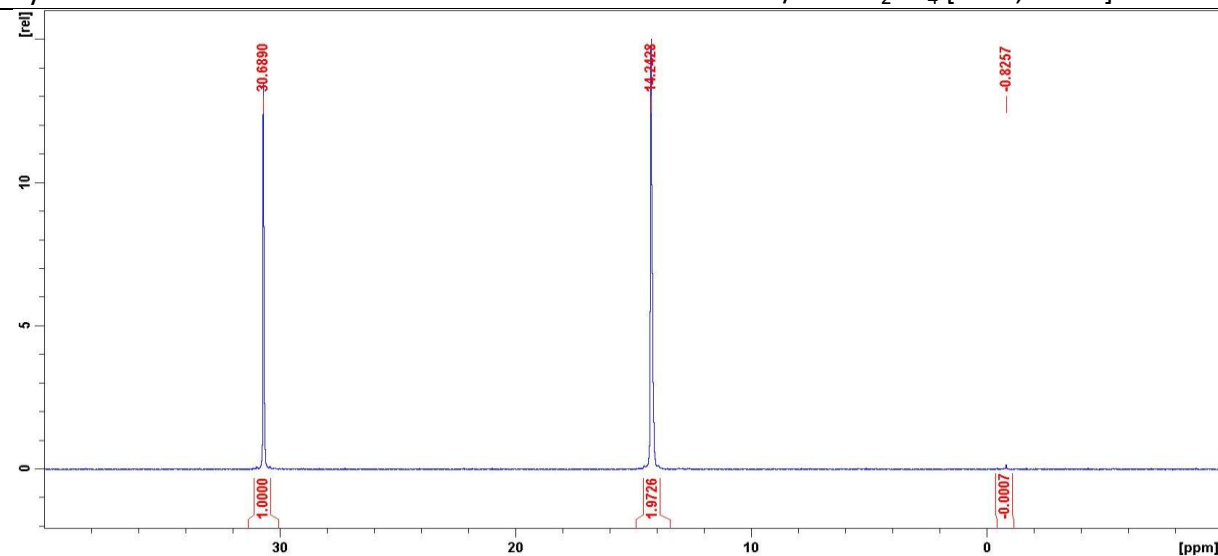
Rysunek 3-31.3.1. Widma ^{31}P NMR roztworu mieszaniny Me-Hala^P (14,3 ppm) i MPA (30,6 ppm) w 2 M H₂SO₄



Rys. 3-31.3.1.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu Me-Hala^P + MPA / 2 M H₂SO₄ [20°C, 0 h]



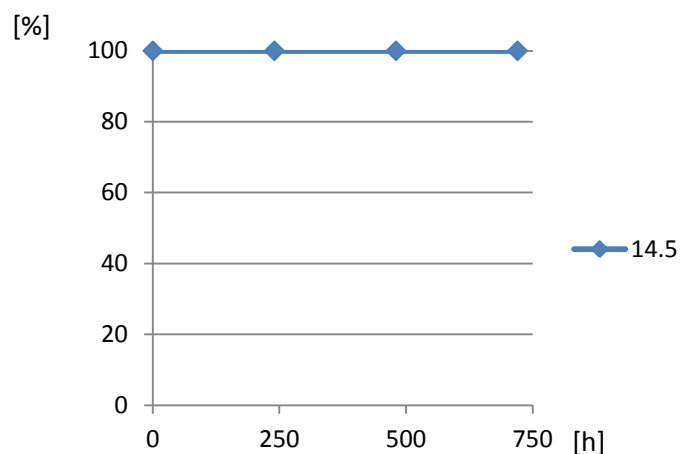
Rys. 3-31.3.1.2. Widmo ^{31}P NMR roztworu Me-Hala^P + MPA / 2 M H₂SO₄ [20°C, 720 h]



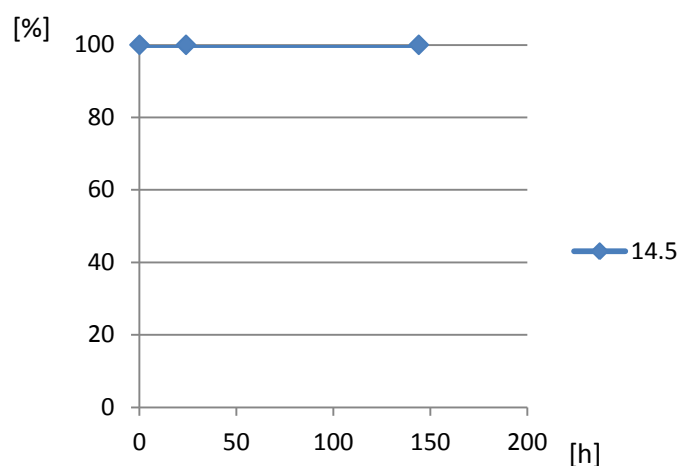
Rys. 3-31.3.1.3. Widmo ^{31}P NMR roztworu Me-Hala^P + MPA / 2 M H₂SO₄ [100°C, 144 h]

Wykresy ilustrujące wpływ ekspozycji czasowej na stabilność 0,4 M roztworu Et-Hala^P w 2 M H₂SO₄ w temperaturach 25°C i 100°C przedstawiono na Rysunkach 3-31.4.

Rysunek 3-31.4. Profil ³¹P NMR ekspozycji czasowej 0,4 M roztworu Et-Hala^P w 2 M H₂SO₄. [Na wykresie nie zaznaczono MPA (30,6 ppm) którego poziom był stabilny w analizowanym okresie]



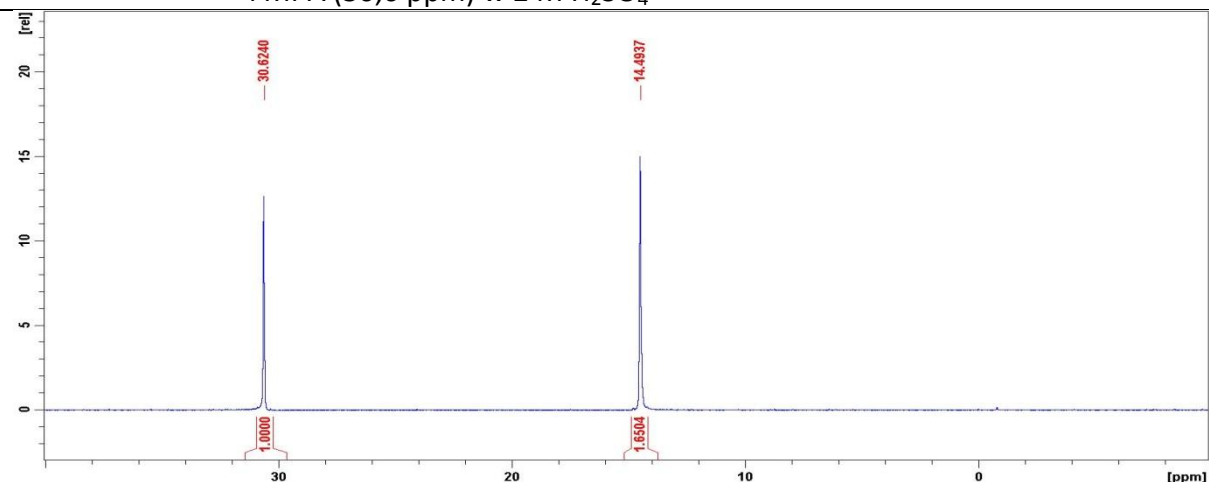
Rys. 3-31.4.A. Ekspozycja czasowa 0,4 M roztworu Et-Hala^P w 2 M H₂SO₄ w 20°C



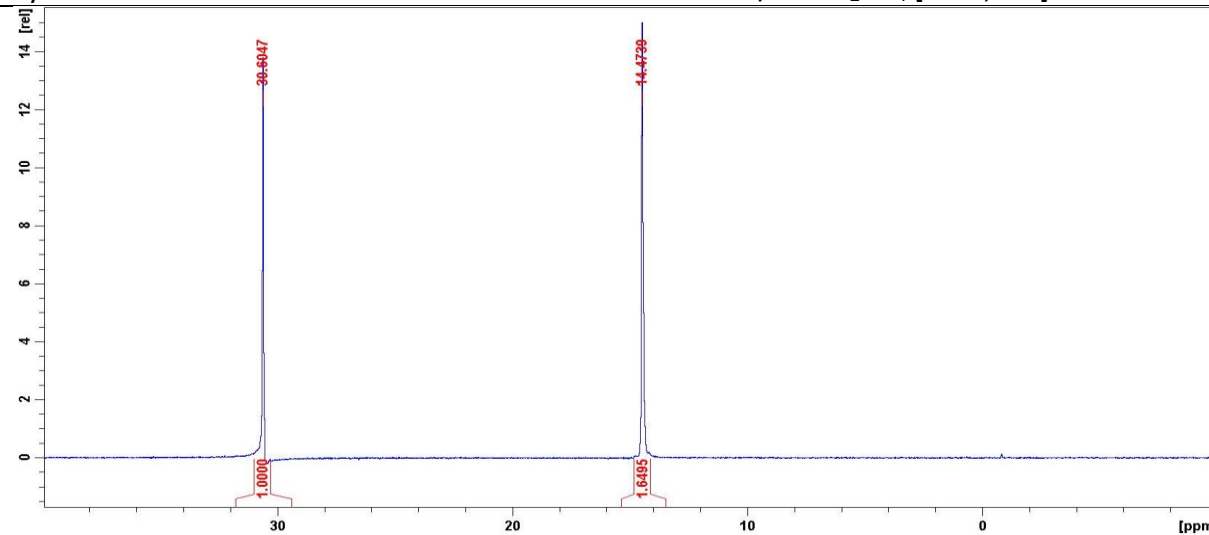
Rys. 3-31.4.B. Ekspozycja czasowa 0,4 M roztworu Et-Hala^P w 2 M H₂SO₄ w 100°C

Widma ³¹P NMR 0,4 M roztworów Et-Hala^P (14,5 ppm) [zawierających 0,2 M MPA (30,6 ppm) użytego w charakterze wzorca wewnętrznego] w 2,0 M kwasie siarkowym przedstawiono na Rysunkach 3-31.4.1.

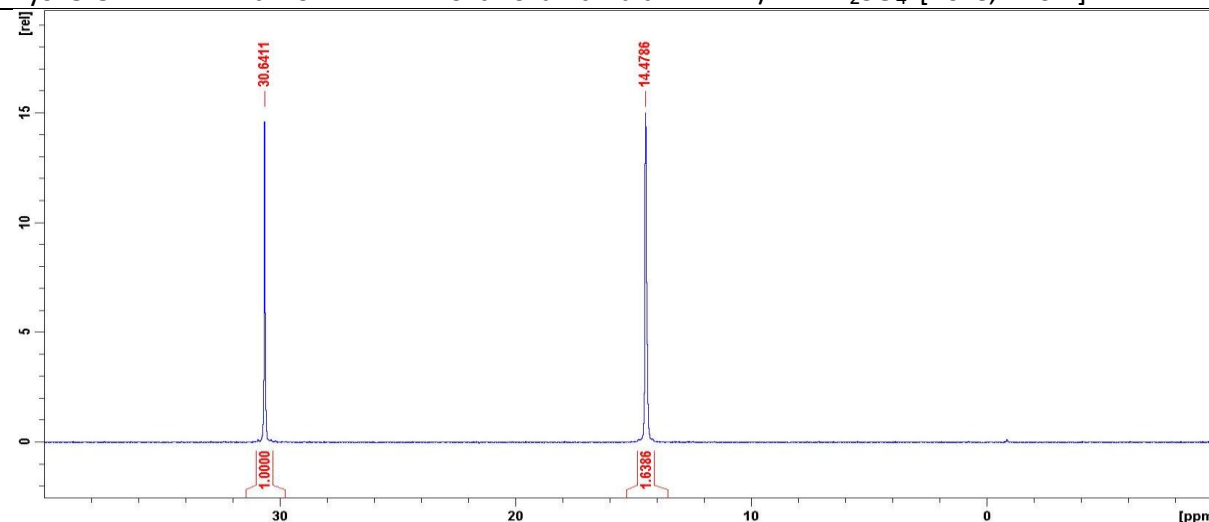
Rysunek 3-31.4.1. Widma ^{31}P NMR roztworu mieszaniny Et-Hala^P (14,5 ppm) i MPA (30,6 ppm) w 2 M H₂SO₄



Rys. 3-31.4.1.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu Et-Hala^P + MPA/2 M H₂SO₄ [20°C, 0 h]



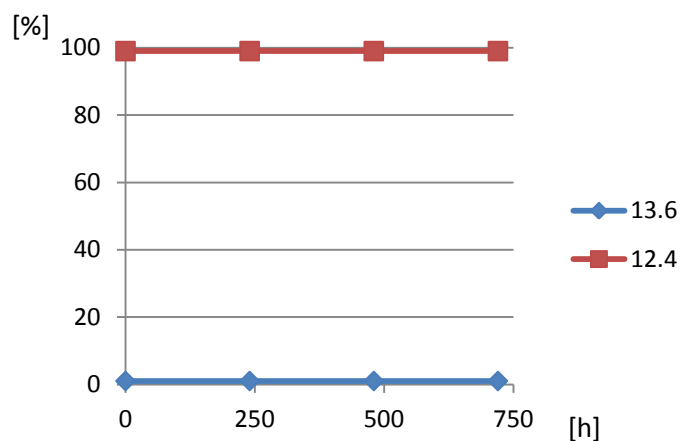
Rys. 3-31.4.1.2. Widmo ^{31}P NMR roztworu Et-Hala^P + MPA/2 M H₂SO₄ [20°C, 720 h]



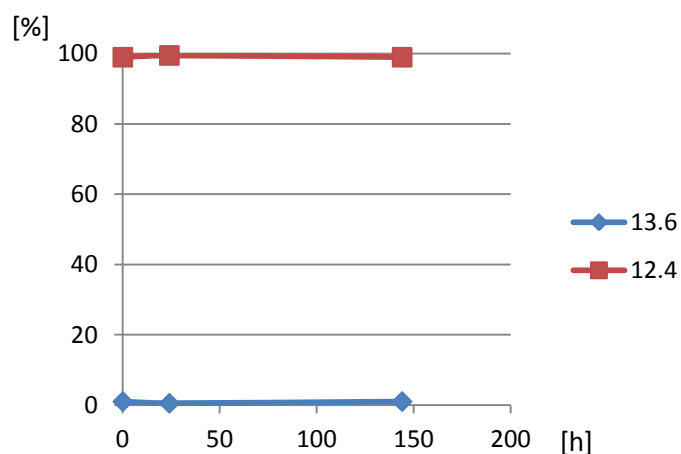
Rys. 3-31.4.1.3. Widmo ^{31}P NMR roztworu Et-Hala^P + MPA/2 M H₂SO₄ [100°C, 144 h]

Wykresy ilustrujące wpływ ekspozycji czasowej na stabilność 0,4 M roztworu Me₂-Hala^P w 2 M H₂SO₄ w temperaturach 25°C i 100°C przedstawiono na Rysunkach 3-31.5.

Rysunek 3-31.5. Profil ³¹P NMR ekspozycji czasowej 0,4 M roztworu Me₂-Hala^P w 2 M H₂SO₄ [Na wykresie nie zaznaczono MPA (30,6 ppm) którego poziom był stabilny w analizowanym okresie]



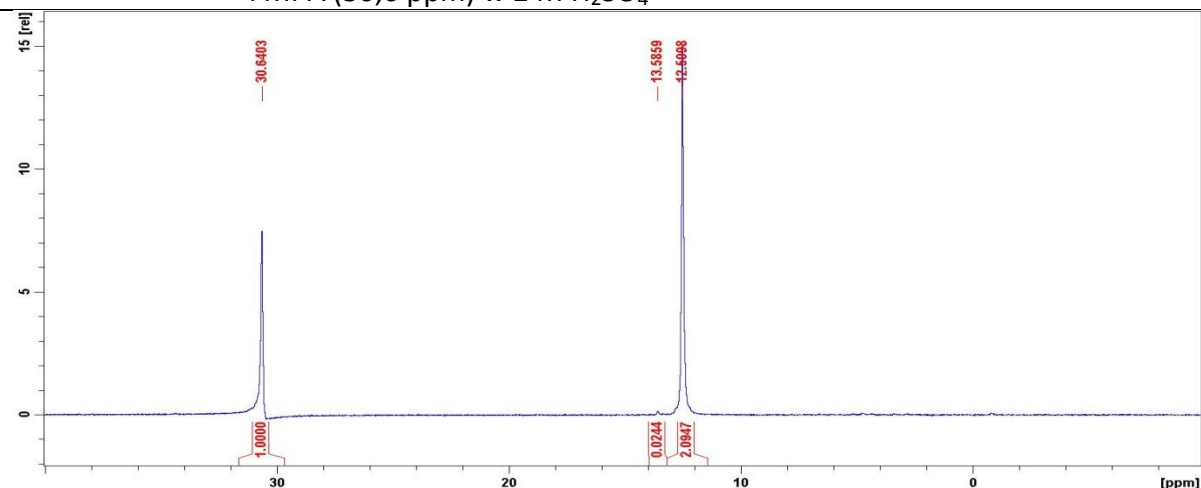
Rys. 3-31.5.A. Ekspozycja czasowa 0,4 M roztworu Me₂-Hala^P w 2 M H₂SO₄ w 20°C



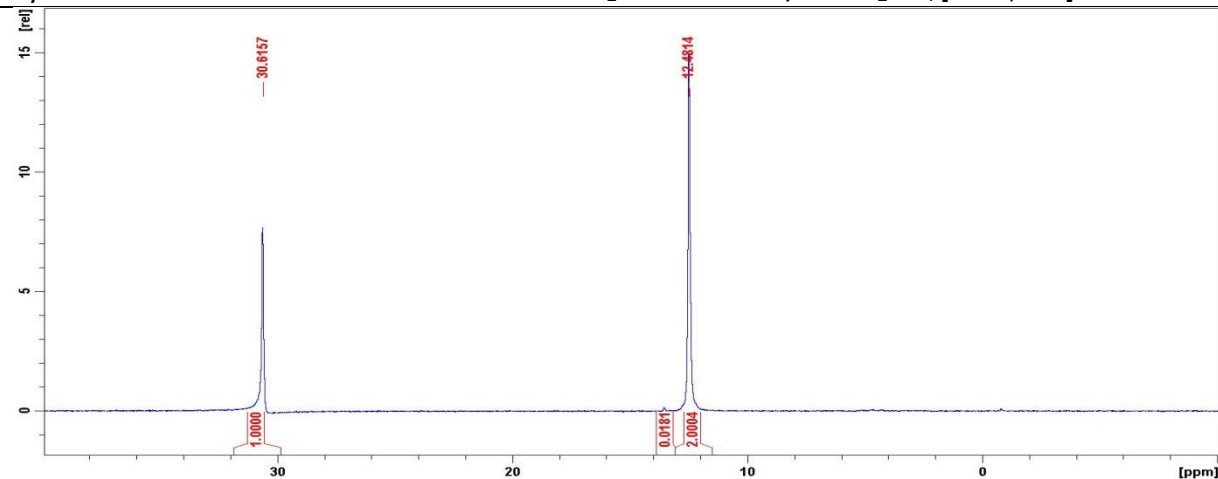
Rys. 3-31.5.B. Ekspozycja czasowa 0,4 M roztworu Me₂-Hala^P w 2 M H₂SO₄ w 100°C

Widma ³¹P NMR 0,4 M roztworów Me₂-Hala^P (12,6 ppm) [zawierających 0,2 M MPA (30,6 ppm) użytego w charakterze wzorca wewnętrznego] w 2,0 M H₂SO₄ przedstawiono na Rysunkach 3-31.5.1.

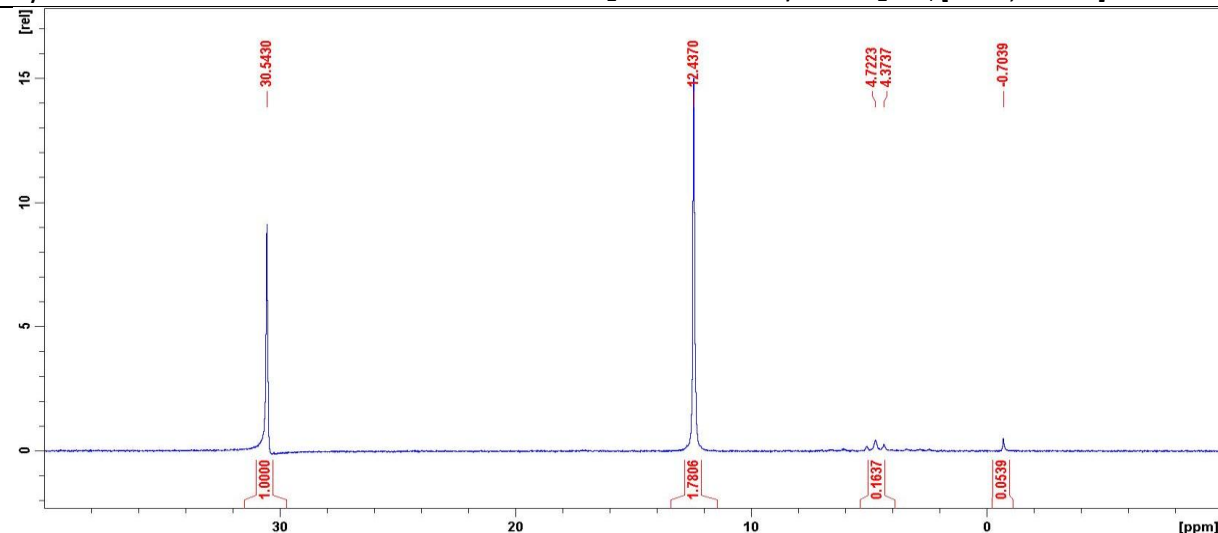
Rysunek 3-31.5.1. Widma ^{31}P NMR roztworu mieszaniny $\text{Me}_2\text{-Hala}^{\text{P}}$ (12,6 ppm) i MPA (30,6 ppm) w 2 M H_2SO_4



Rys. 3-31.5.1.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu $\text{Me}_2\text{-Hala}^{\text{P}}$ + MPA/2 M H_2SO_4 [20°C, 0 h]



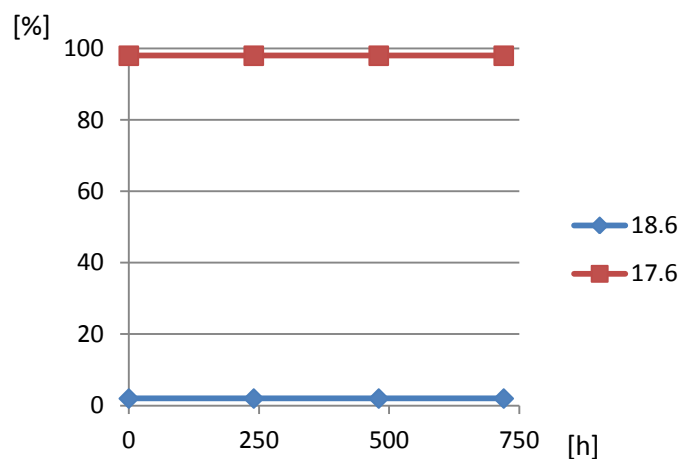
Rys. 3-31.5.1.2. Widmo ^{31}P NMR roztworu $\text{Me}_2\text{-Hala}^{\text{P}}$ + MPA/2 M H_2SO_4 [20°C, 720 h]



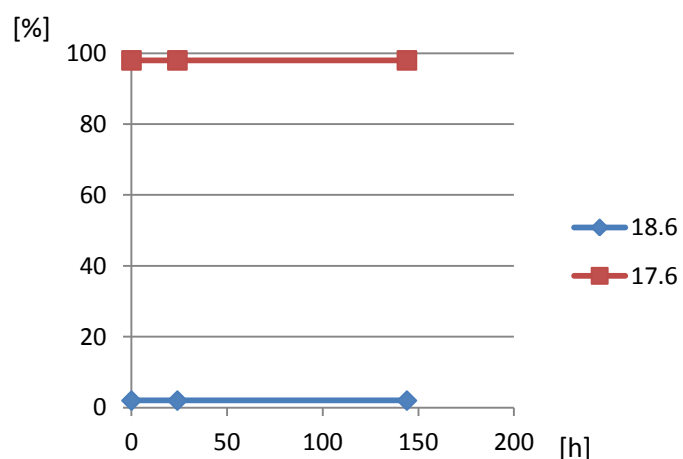
Rys. 3-31.5.1.3. Widmo ^{31}P NMR roztworu $\text{Me}_2\text{-Hala}^{\text{P}}$ + MPA/2 M H_2SO_4 [100°C, 144 h]

Wykresy ilustrujące wpływ ekspozycji czasowej na stabilność 0,4 M roztworu Et-Mala^P w 2 M H₂SO₄ w temperaturach 25°C i 100°C przedstawiono na Rysunku 3-31.6.

Rysunek 3-31.6. Profil ³¹P NMR ekspozycji czasowej 0,4 M roztworu Et-Mala^P w 2 M H₂SO₄



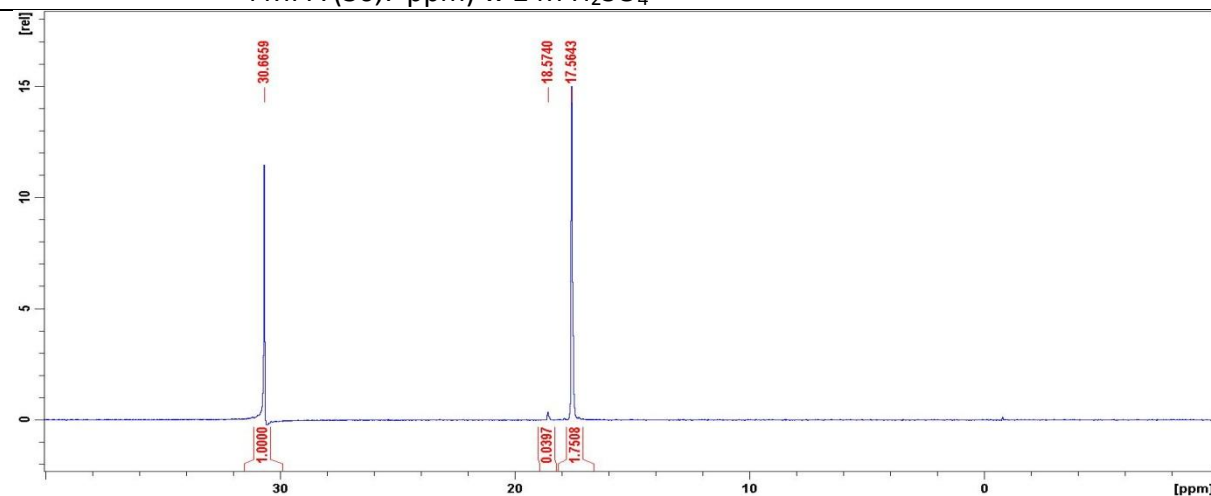
Rys. 3-31.6.A. Ekspozycja czasowa 0,4 M roztworu Et-Mala^P w 2 M H₂SO₄ w 20°C



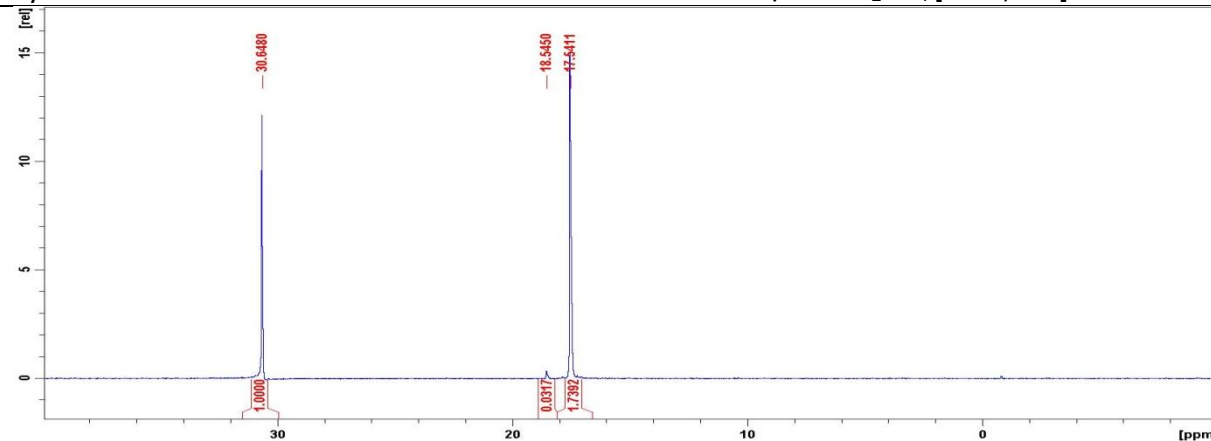
Rys. 3-31.6.B. Ekspozycja czasowa 0,4 M roztworu Et-Mala^P w 2 M H₂SO₄ w 100°C

Widma ³¹P NMR 0,4 M roztworów Et-Mala^P (17,6 ppm) [zawierających 0,2 M MPA (30,7 ppm)] użytego w charakterze wzorca wewnętrznego] w 2,0 M kwasie siarkowym przedstawiono na Rysunkach 3-31.6.1.

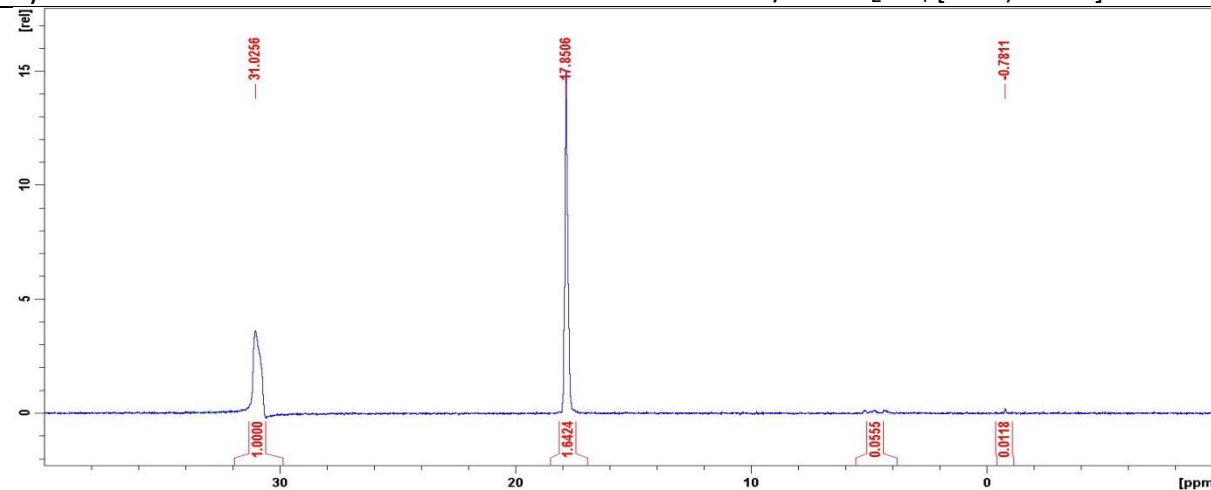
Rysunek 3-31.6.1. Widma ^{31}P NMR roztworu mieszaniny Et-Mala^P (17,6 ppm) i MPA (30,7 ppm) w 2 M H₂SO₄



Rys. 3-31.6.1.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu Et-Mala^P + MPA / 2 M H₂SO₄ [20°C, 0 h]



Rys. 3-31.6.1.2. Widmo ^{31}P NMR roztworu Et-Mala^P + MPA / 2 M H₂SO₄ [20°C, 720 h]

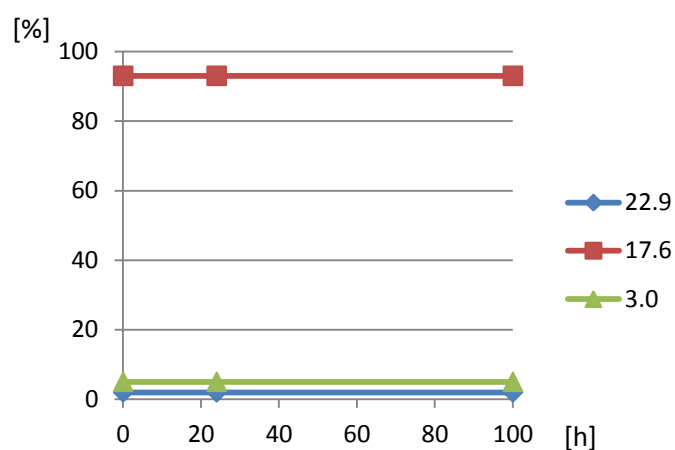


Rys. 3-31.6.1.3. Widmo ^{31}P NMR roztworu Et-Mala^P + MPA / 2 M H₂SO₄ [100°C, 144 h]

3.3.1.2.2. BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-(N-ALKILOAMINO)ALKILO-FOSFONOWYCH W ROZTWORACH ZASAD

Wykresy ilustrujące wpływ ekspozycji czasowej na stabilność 0,4 M roztworu tBu-Gly^P w 2 M KOH w temperaturze 100°C przedstawiono na Rysunku 3-32.1.

Rysunek 3-32.1. Profil ³¹P NMR ekspozycji czasowej 0,4 M roztworu tBu-Gly^P (22,9 ppm) w 2 M KOH (100°C)

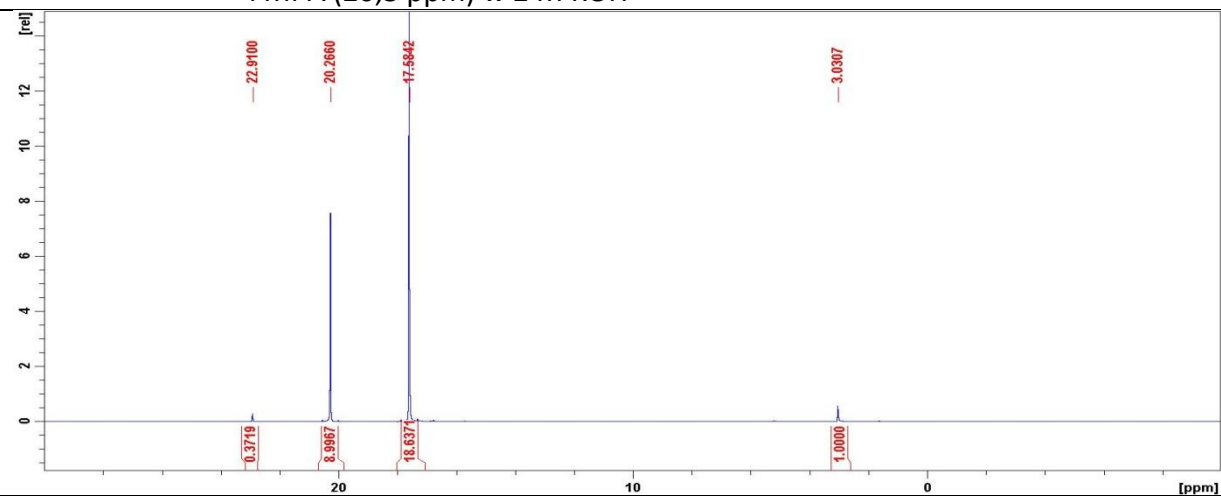


Na wykresie nie zaznaczono MPA (20,25 ppm) którego poziom był stabilny w analizowanym okresie czasu.

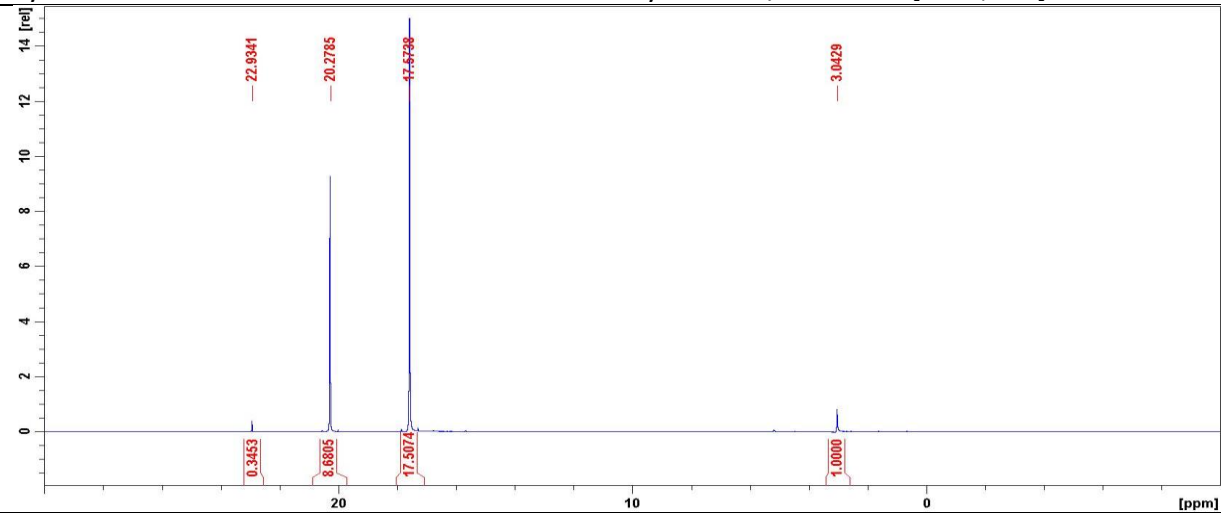
Widma ³¹P NMR 0,4 M roztworów R-AA^P (zawierających 0,2 M kwas metylofosfonowy użyty w charakterze wzorca wewnętrznego) w 2,0 M KOH oraz profile ekspozycyjne przedstawiono na Rysunkach 3-32.

Widma ³¹P NMR 0,4 M roztworów tBu-Gly^P (17,6 ppm) [zawierających 0,2 M MPA (20,3 ppm) użytego w charakterze wzorca wewnętrznego] w 2,0 M KOH przedstawiono na Rysunkach 3-32.1.

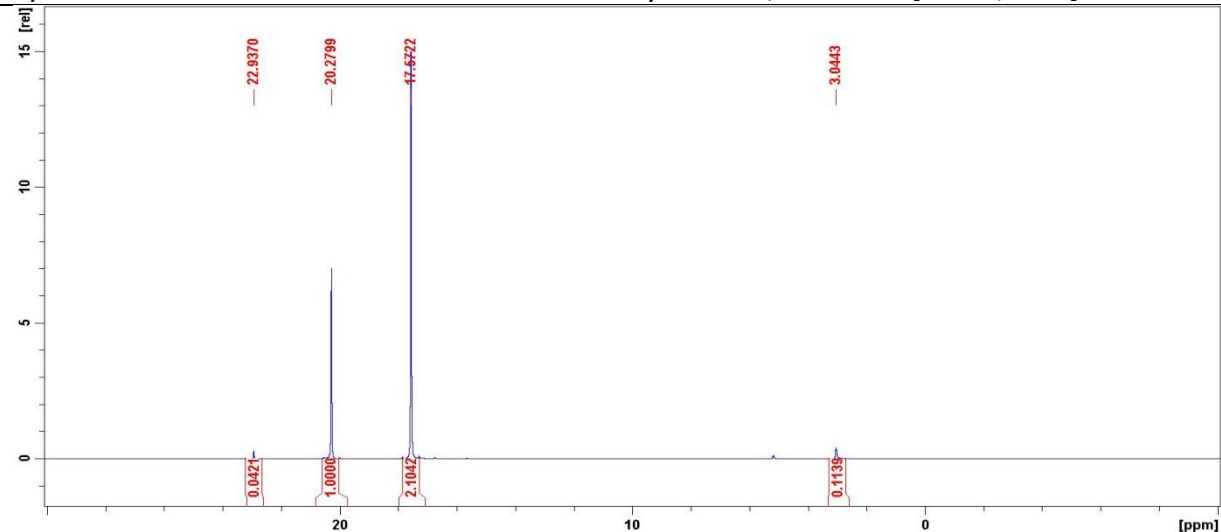
Rysunek 3-32.1.1. Widma ^{31}P NMR roztworu mieszaniny tBu-Gly^P (17,6 ppm) i MPA (20,3 ppm) w 2 M KOH



Rys. 3-32.1.1.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu tBu-Gly^P + MPA / 2 M KOH [20°C, 0 h]



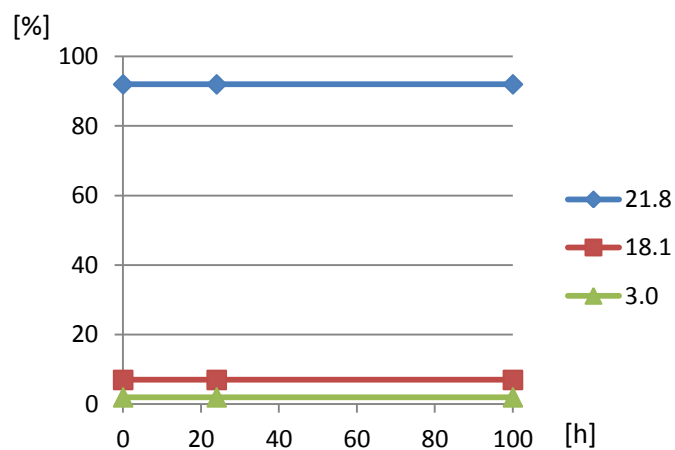
Rys. 3-32.1.1.2. Widmo ^{31}P NMR roztworu tBu-Gly^P + MPA / 2 M KOH [100°C, 24 h]



Rys. 3-32.1.1.3. Widmo ^{31}P NMR roztworu tBu-Gly^P + MPA / 2 M KOH [100°C, 100 h]

Wykres ilustrujący wpływ ekspozycji czasowej na stabilność 0,4 M roztworu tBu-Ala^P w 2 M KOH w temperaturze 100°C przedstawiono na Rysunku 3-32.2.

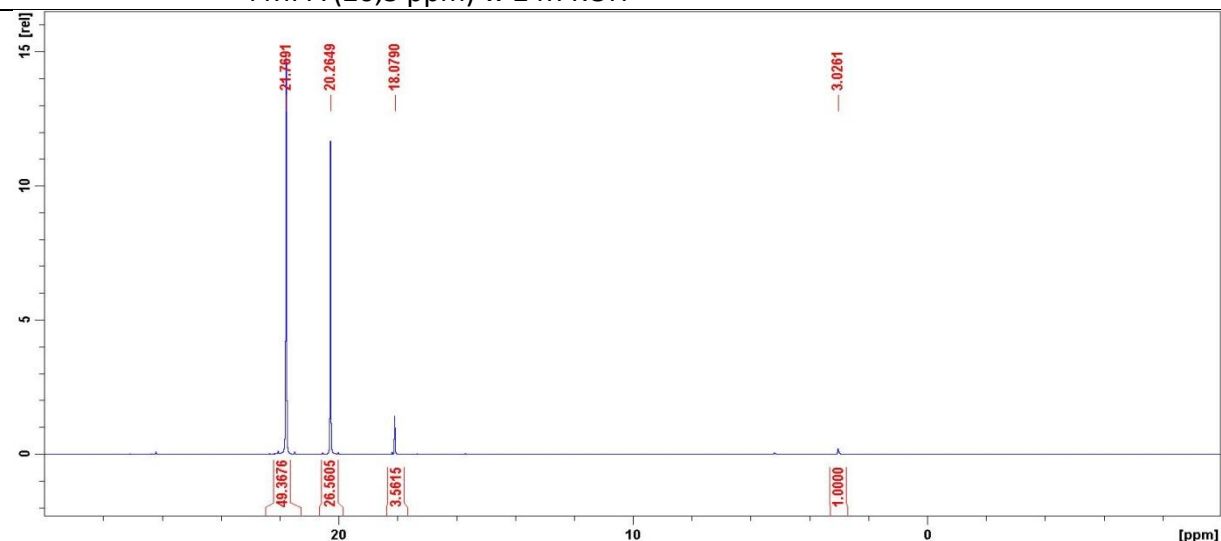
Rysunek 3-32.2. Profil ³¹P NMR ekspozycji czasowej 0,4 M roztworu tBu-Ala^P (21,8 ppm) w 2 M KOH (100°C)



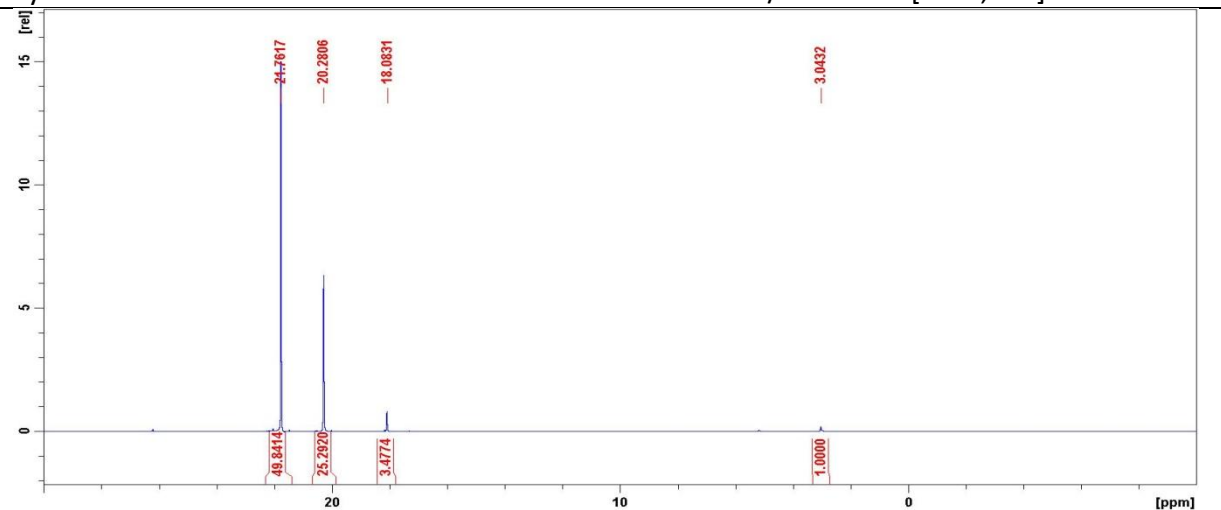
Na wykresie nie zaznaczono MPA (20.25 ppm) którego poziom był stabilny w analizowanym okresie.

Widma ³¹P NMR 0,4 M roztworów tBu-Ala^P (21,8 ppm) [zawierających 0,2 M MPA (20,3 ppm) użytego w charakterze wzorca wewnętrznego] w 2,0 M KOH przedstawiono na Rysunkach 3-32.2.1.

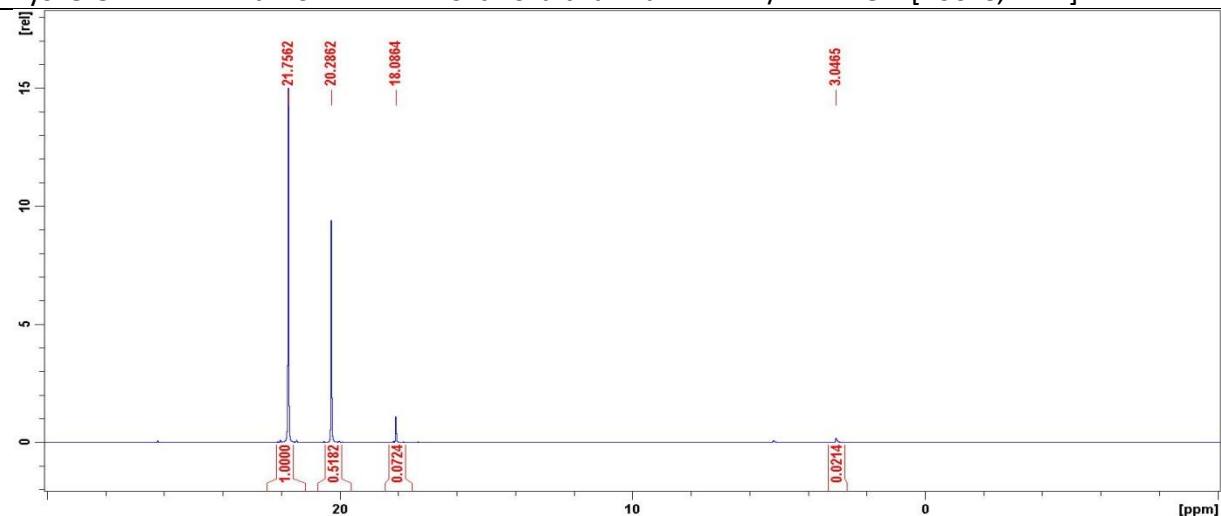
Rysunek 3-32.2.1. Widma ^{31}P NMR roztworu mieszaniny t-Bu-Ala^P (21,8 ppm) i MPA (20,3 ppm) w 2 M KOH



Rys. 3-32.2.1.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu tBu-Ala^P + MPA / 2 M KOH [20°C, 0 h]



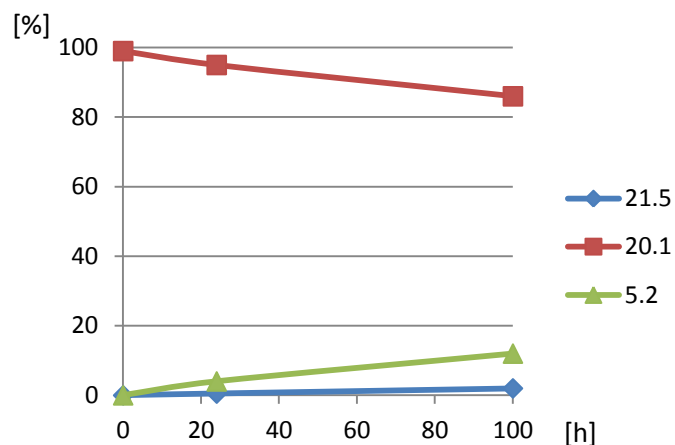
Rys. 3-32.2.1.2. Widmo ^{31}P NMR roztworu tBu-Ala^P + MPA / 2 M KOH [100°C, 24 h]



Rys. 3-32.2.1.3. Widmo ^{31}P NMR roztworu tBu-Ala^P + MPA / 2 M KOH [100°C, 100 h]

Wykres ilustrujący wpływ ekspozycji czasowej na stabilność 0,4 M roztworu Me-Hala^P w 2 M KOH w temperaturze 100°C przedstawiono na Rysunku 3-32.3.

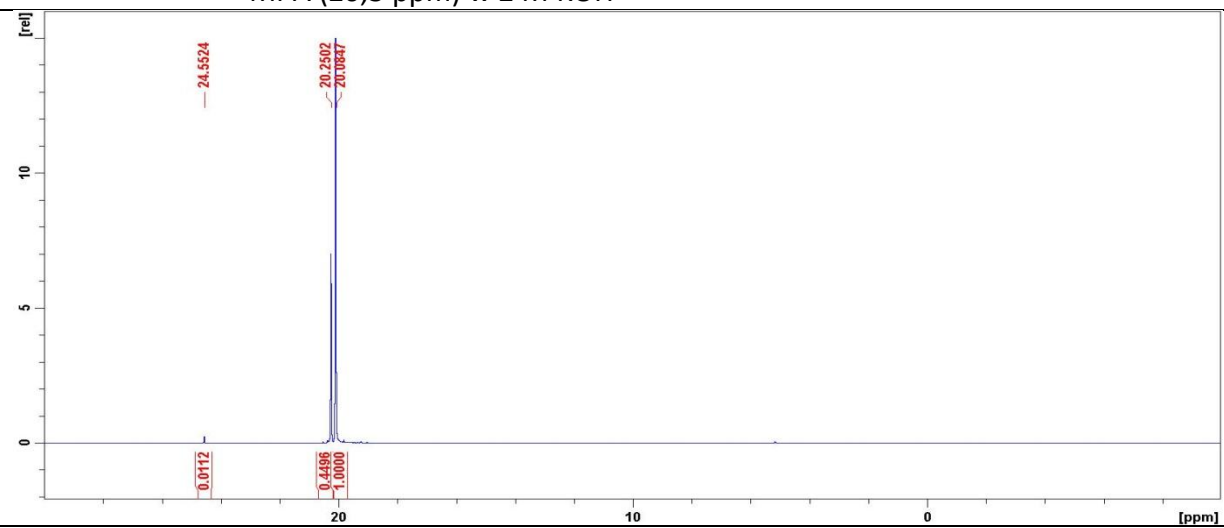
Rysunek 3-32.3. Profil ³¹P NMR ekspozycji czasowej 0,4 M roztworu Me-Hala^P (20,1 ppm) w 2M KOH (100°C)



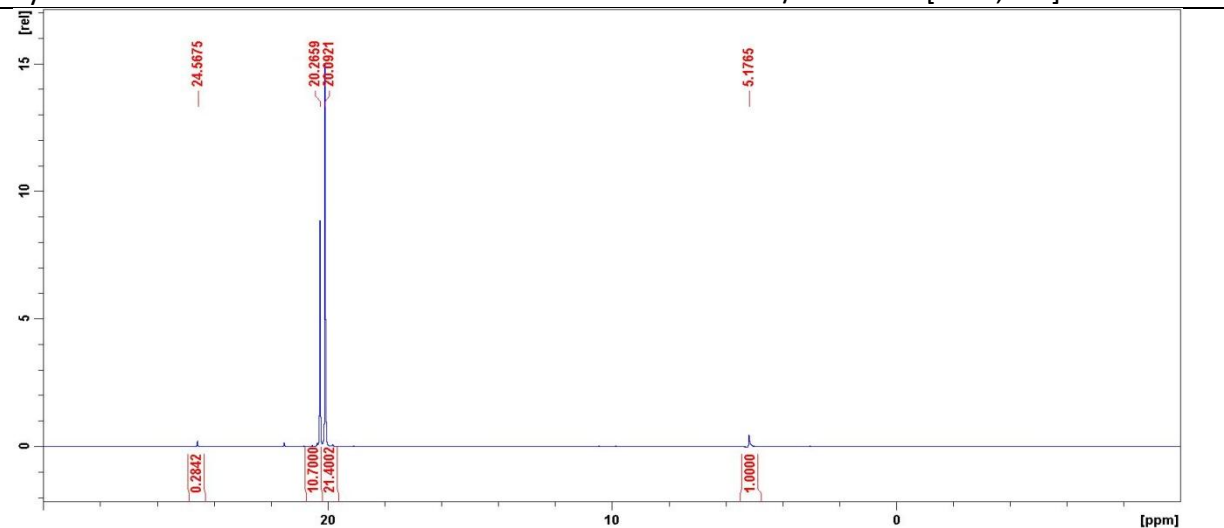
Na wykresie nie zaznaczono MPA (20,25 ppm) którego poziom był stabilny w analizowanym okresie.

Widma ³¹P NMR 0,4 M roztworów Me-Hala^P (20,1 ppm) [zawierających 0,2 M MPA (20,3 ppm) użytego w charakterze wzorca wewnętrznego] w 2,0 M KOH przedstawiono na Rysunkach 3-32.3.

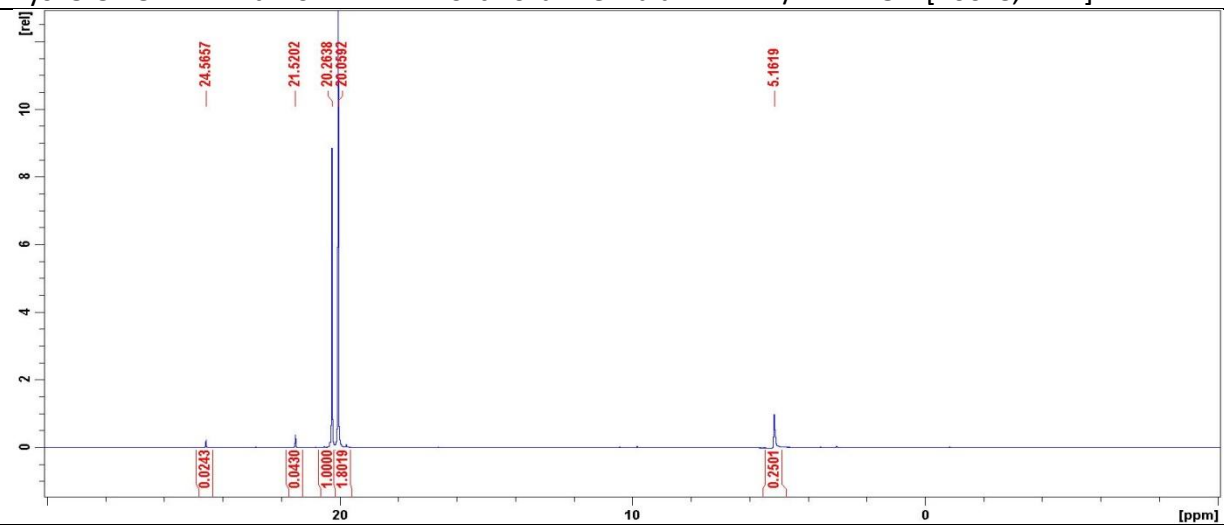
Rysunek 3-32.3.1. Widma ^{31}P NMR roztworu mieszaniny Me-Hala^P (20,1 ppm) i MPA (20,3 ppm) w 2 M KOH



Rys. 3-32.3.1.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu Me-Hala^P + MPA / 2 M KOH [20°C, 0 h]



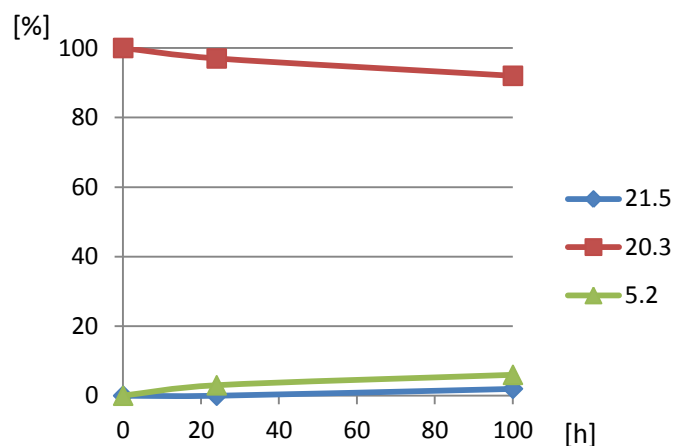
Rys. 3-32.3.1.2. Widmo ^{31}P NMR roztworu Me-Hala^P + MPA / 2 M KOH [100°C, 24 h]



Rys. 3-32.3.1.3. Widmo ^{31}P NMR roztworu Me-Hala^P + MPA / 2 M KOH [100°C, 100 h]

Wykres ilustrujący wpływ ekspozycji czasowej na stabilność 0,4 M roztworu Me-Hala^P w 2 M KOH w temperaturze 100°C przedstawiono na Rysunku 3-32.4.

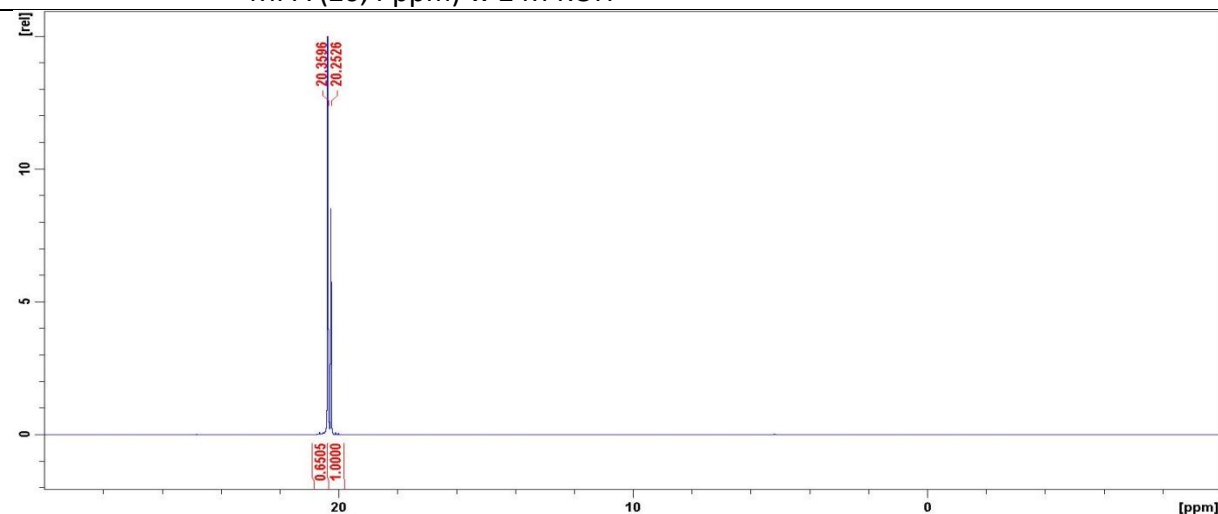
Rysunek 3-32.4. Profil ³¹P NMR ekspozycji czasowej 0,4 M roztworu Et-Hala^P (20,3 ppm) w 2 M KOH (100°C)



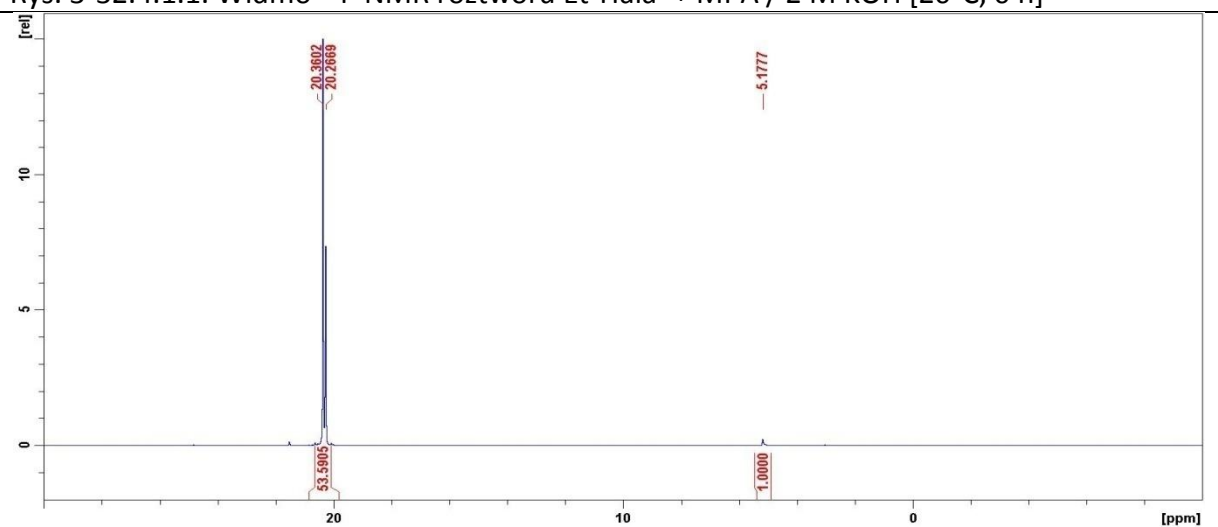
Na wykresie nie zaznaczono MPA (20,25 ppm) którego poziom był stabilny w analizowanym okresie.

Widma ³¹P NMR 0,4 M roztworów Me-Hala^P (20,3 ppm) [zawierających 0,2 M MPA (20,4 ppm) użytego w charakterze wzorca wewnętrznego] w 2,0 M KOH przedstawiono na Rysunkach 3-32.4.1.

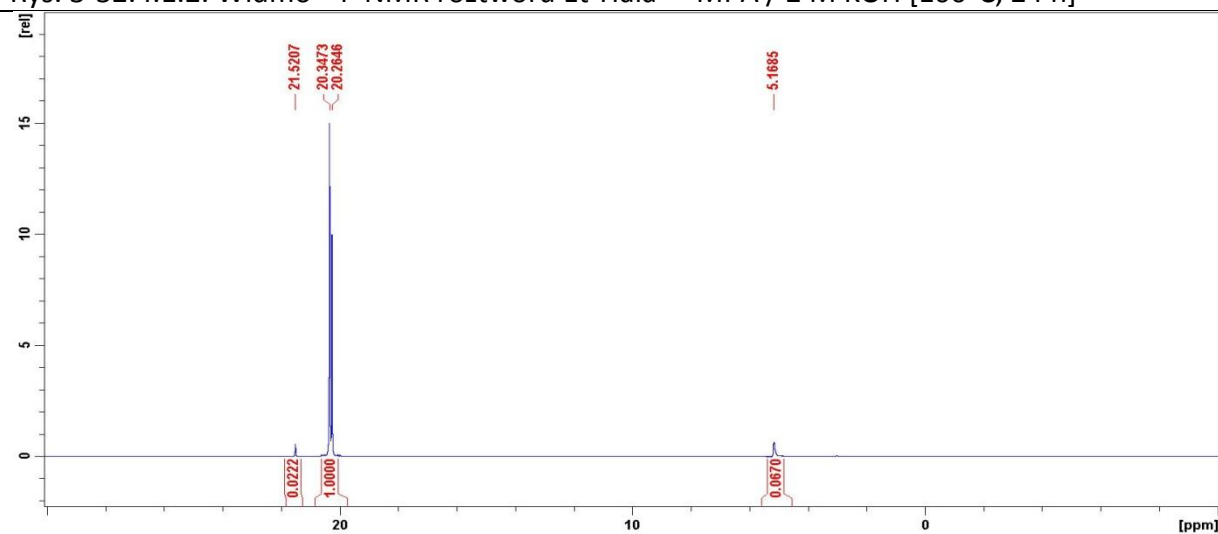
Rysunek 3-32.4.1. Widma ^{31}P NMR roztworu mieszaniny Et-Hala^P (20,3 ppm) i MPA (20,4 ppm) w 2 M KOH



Rys. 3-32.4.1.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu Et-Hala^P + MPA / 2 M KOH [20°C, 0 h]



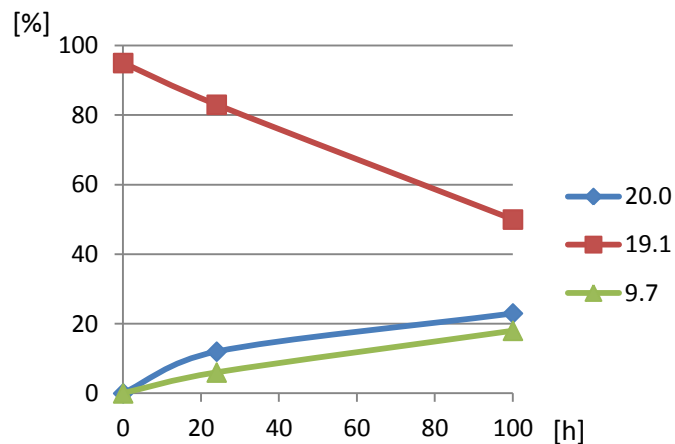
Rys. 3-32.4.1.2. Widmo ^{31}P NMR roztworu Et-Hala^P + MPA / 2 M KOH [100°C, 24 h]



Rys. 3-32.4.1.3. Widmo ^{31}P NMR roztworu Et-Hala^P + MPA / 2 M KOH [100°C, 100 h]

Wykres ilustrujący wpływ ekspozycji czasowej na stabilność 0,4 M roztworu Me-Hala^P w 2 M KOH w temperaturze 100°C przedstawiono na Rysunku 3-32.5.

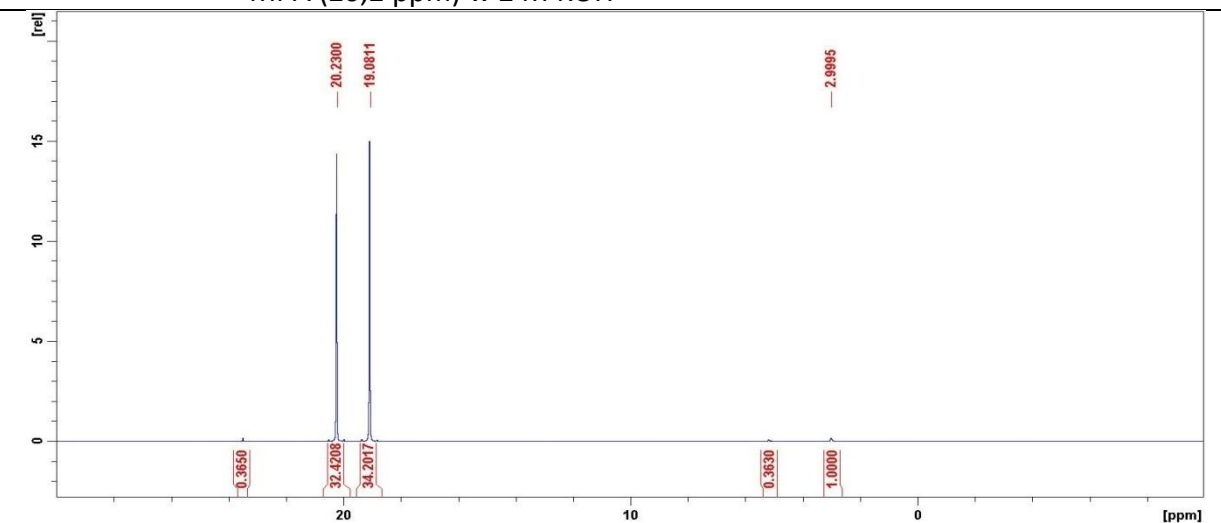
Rysunek 3-32.5. Profil ³¹P NMR ekspozycji czasowej 0,4 M roztworu Me₂-Hala^P (19,1 ppm) w 2 M KOH (100°C)



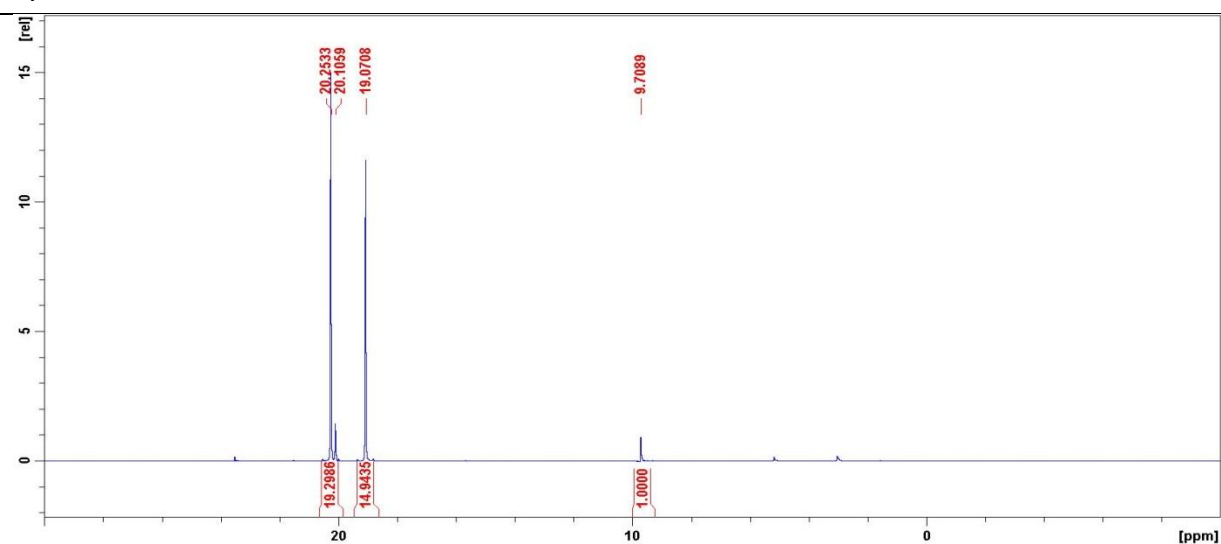
Na wykresie nie zaznaczono MPA (20,25 ppm) którego poziom był stabilny w analizowanym okresie

Widma ³¹P NMR 0,4 M roztworów Me₂-Hala^P (12,5 ppm) [zawierających 0,2 M MPA (20,4 ppm) użytego w charakterze wzorca wewnętrznego] w 2,0 M KOH przedstawiono na Rysunkach 3-32.5.1.

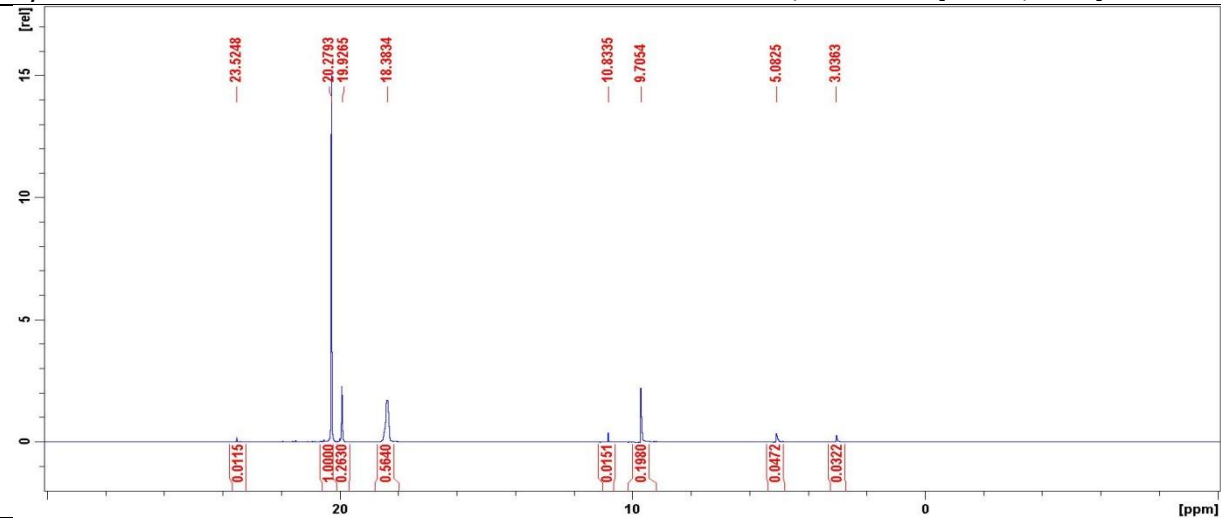
Rysunek 3-32.5.1. Widma ^{31}P NMR roztworu mieszaniny $\text{Me}_2\text{-Hala}^{\text{P}}$ (12,5 ppm) i MPA (20,2 ppm) w 2 M KOH



Rys. 3-32.5.1.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu $\text{Me}_2\text{-Hala}^{\text{P}}$ + MPA / 2 M KOH [20°C, 0 h]



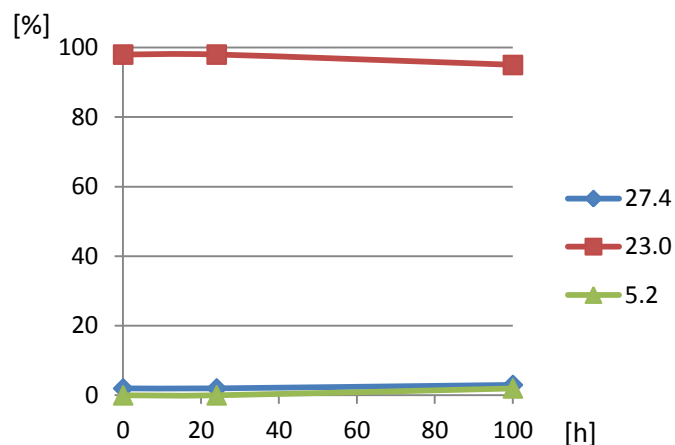
Rys. 3-32.5.1.2. Widmo ^{31}P NMR roztworu $\text{Me}_2\text{-Hala}^{\text{P}}$ + MPA / 2 M KOH [100°C, 24 h]



Rys. 3-32.5.1.3. Widmo ^{31}P NMR roztworu $\text{Me}_2\text{-Hala}^{\text{P}}$ + MPA / 2 M KOH [100°C, 100 h]

Wykres ilustrujący wpływ ekspozycji czasowej na stabilność 0,4 M roztworu Me-Hala^P w 2 M KOH w temperaturze 100°C przedstawiono na Rysunku 3-32.6.

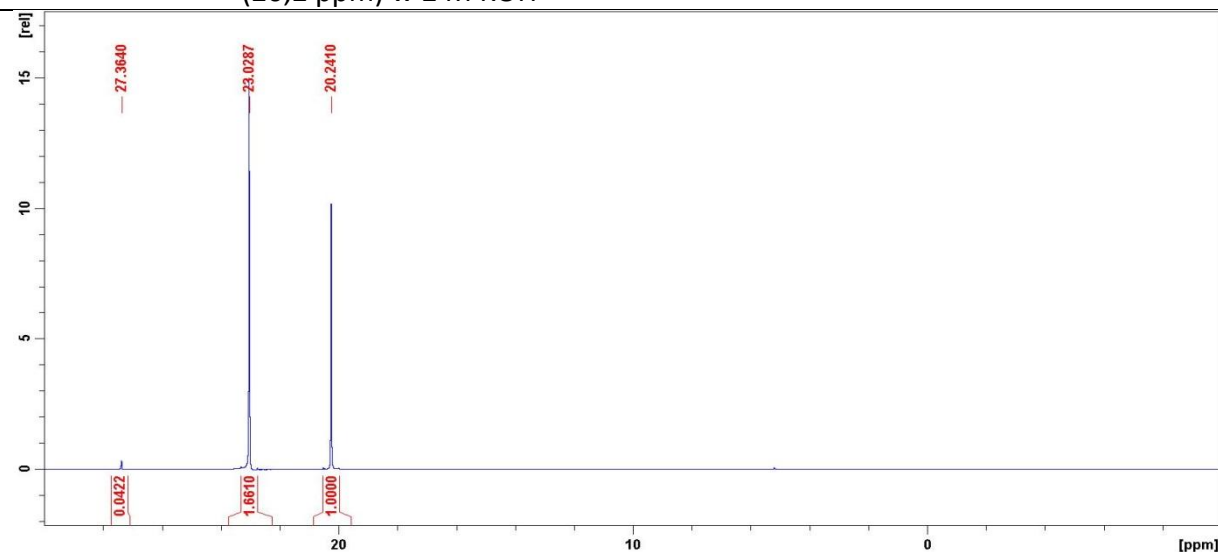
Rysunek 3-32.6. Profil ³¹P NMR ekspozycji czasowej 0,4 M roztworu Et-Mala^P (23,0 ppm) w 2 M KOH (100°C)



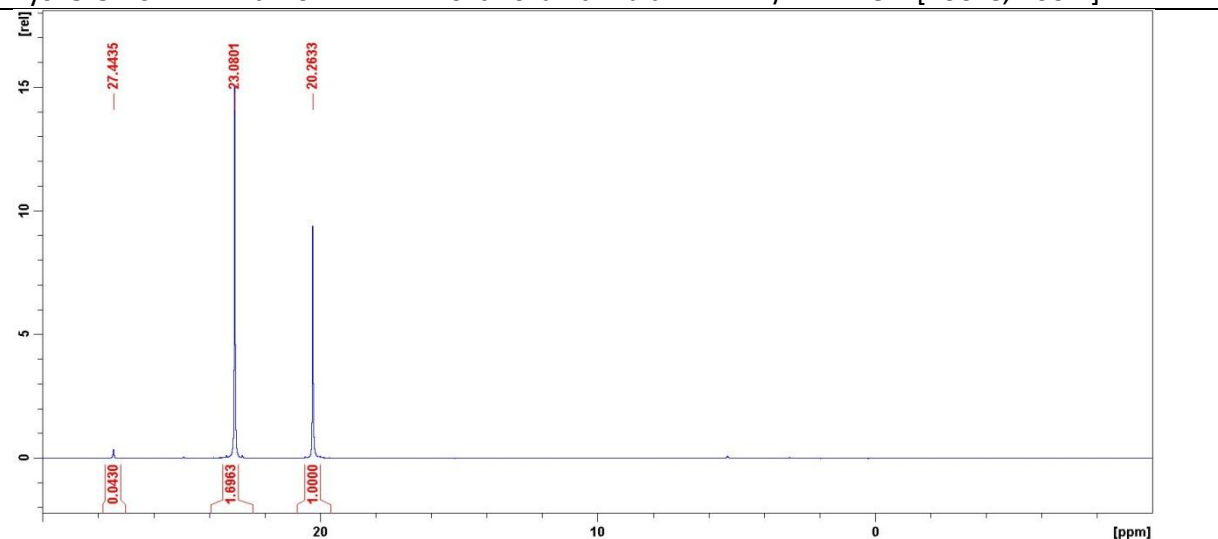
Na wykresie nie zaznaczono MPA (20,25 ppm) którego poziom był stabilny w analizowanym okresie

Widma ³¹P NMR 0,4 M roztworów Et-Mala^P (23,0 ppm) [zawierających 0,2 M MPA (20,2 ppm) użytego w charakterze wzorca wewnętrznego] w 2,0 M KOH przedstawiono na Rysunkach 3-32.6.1.

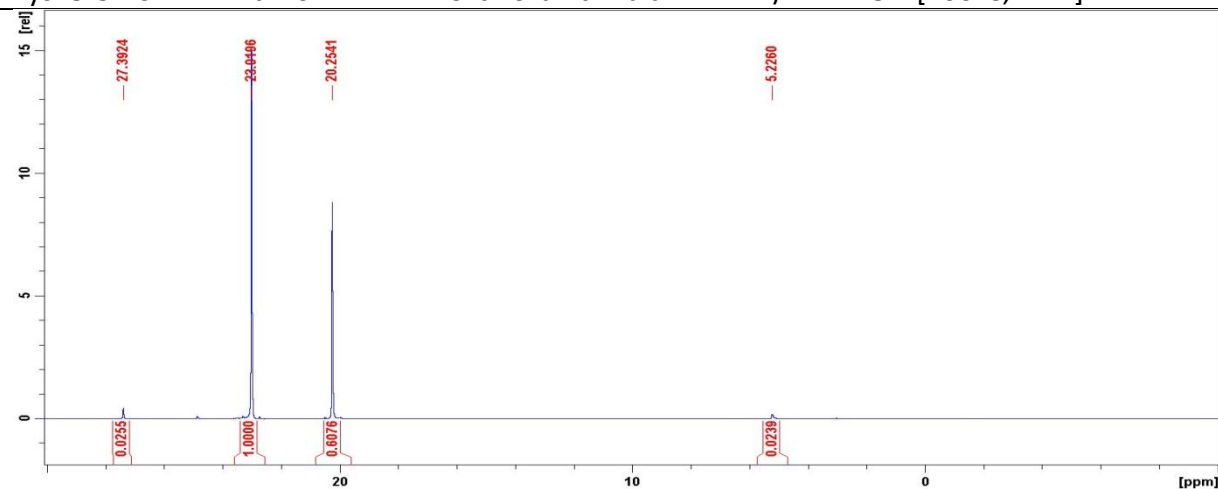
Rysunek 3-32.6.1. Widma ^{31}P NMR roztworu mieszaniny Et-Mala^P (23,0 ppm) i MPA (20,2 ppm) w 2 M KOH



Rys. 3-32.6.1.1. Widmo ^{31}P NMR roztworu Et-Mala^P + MPA / 2 M KOH [100°C, 100 h]



Rys. 3-32.6.1.2. Widmo ^{31}P NMR roztworu Et-Mala^P + MPA / 2 M KOH [100°C, 24 h]



Rys. 3-32.6.1.3. Widmo ^{31}P NMR roztworu Et-Mala^P + MPA / 2 M KOH [100°C, 100 h]

3.3.1.3. BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-AMINOFOSFONOWYCH W ROZTWORACH KWASÓW I ZASAD - WNIOSKI

3.3.1.3.1. STABILNOŚĆ KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH

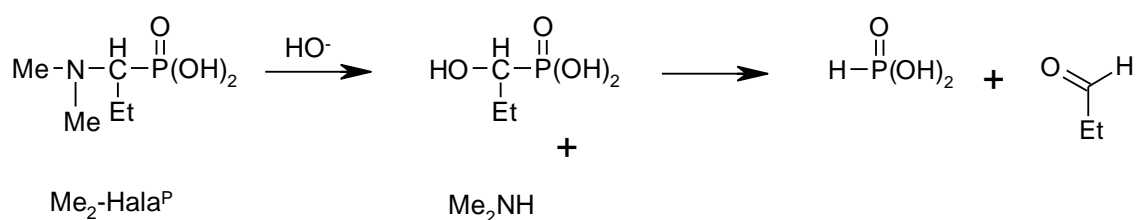
Analiza wyników badań kwasów 1-aminoalkilofosfonowych wskazuje na stabilność roztworów badanych aminokwasów (Gly^P, Ala^P, Mala^P, Pgly^P) w roztworach:

- 2 M KOH [ekspozycja w 20°C w czasie 1536 h (64 dni) i ekspozycja w 100°C w czasie 120h];
- 2 M HCl [ekspozycja w 20°C w czasie 1536 h (64 dni)];
- 2 M H₂SO₄ (ekspozycja w 100°C w czasie 120 h).

3.3.1.3.2. STABILNOŚĆ KWASÓW 1-(*N*-ALKILOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH I 1-(*N,N*-DIALKILOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH

Analiza wyników badań nad stabilnością kwasów 1-(*N*-alkiloamino)alkilofosfonowych oraz 1-(*N,N*-dialkiloamino)alkilofosfonowych wskazuje na:

- kwasy 1-(*N*-alkiloamino)alkilofosfonowe oraz kwasy 1-(*N,N*-dialkiloamino)-alkilofosfonowe wykazują stabilność w roztworach w 2,0 M H₂SO₄ w temp. pokojowej w czasie 30 dni (okres monitorowany), a także w temp. 100°C w czasie 24 h;
- kwasy 1-(*N*-alkiloamino)alkilofosfonowe wykazują stabilność w roztworach w 2 M KOH w temperaturze pokojowej w czasie 30 dni (okres monitorowany), a także w temp. 100°C w czasie 24 h;
- kwasy 1-(*N,N*-dialkiloamino)alkilofosfonowe (Me₂Hala^P) wykazuje względną trwałość w roztworach w 2 M KOH w temp. pokojowej i ulega rozkładowi w temp. 100°C (Sch. 3-14.).

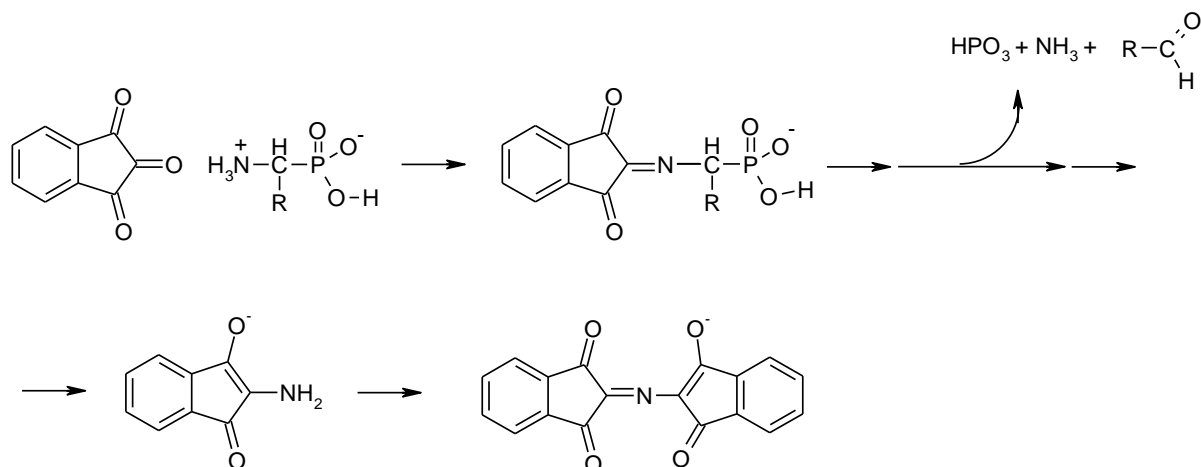


Schemat 3-14. Hipotetyczny mechanizm zasadowej degradacji Me₂-Hala^P

3.3.2. REAKCJA OKSYDACYJNEJ DEAMINACJI AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

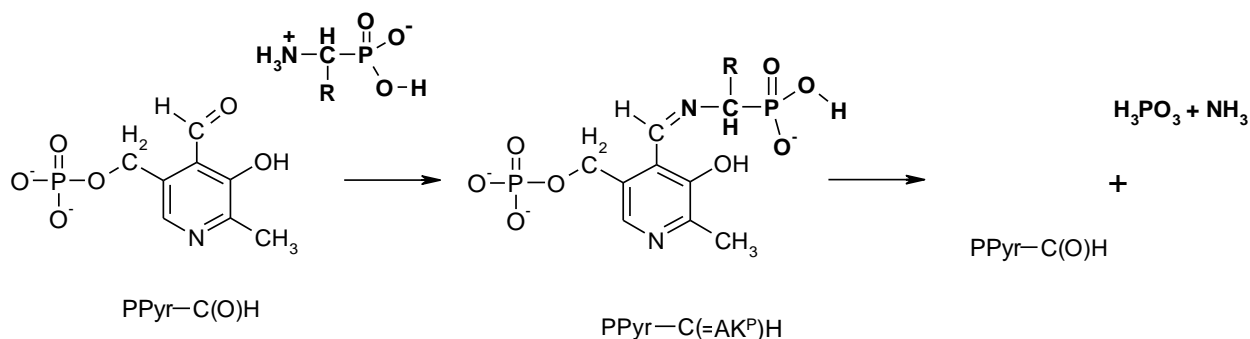
3.3.2.1. REAKCJA DEZAMINACJI/DEFOSFONYLACJI AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

Wśród nielicznych opisanych przemian dezaminacyjnych aminokwasów fosfonowych najwcześniej zwrócono uwagę na defosfonylację zachodzącą w reakcji z ninhydryną (Sch. 3-15.) [Warren, 1966]^[302].

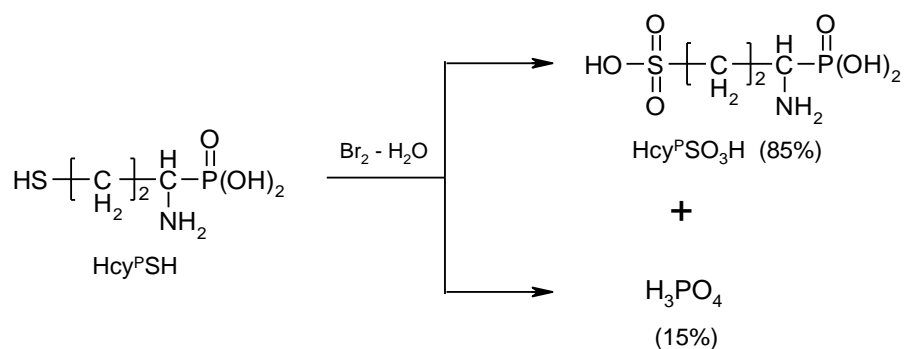


Schemat 3-15. Przebieg reakcji kwasów 1-aminoalkilofosfonowych z ninhydryną wg. Warren'a^[302]

W opisaney przez Calvo [Calvo, 1987]^[303], Szpoganicza i Martela [Szpoganicz & Martell, 1989]^[304] reakcji defosfonylacji aminokwasów fosfonowych działaniem pirydoksalu aminokwasy tworzą przejściowo połączenie iminowe PPyr-C=AK^P(H) ulegające dalszej degradacji na drodze oksydacji dezaminacyjnej (Sch. 3-16.).



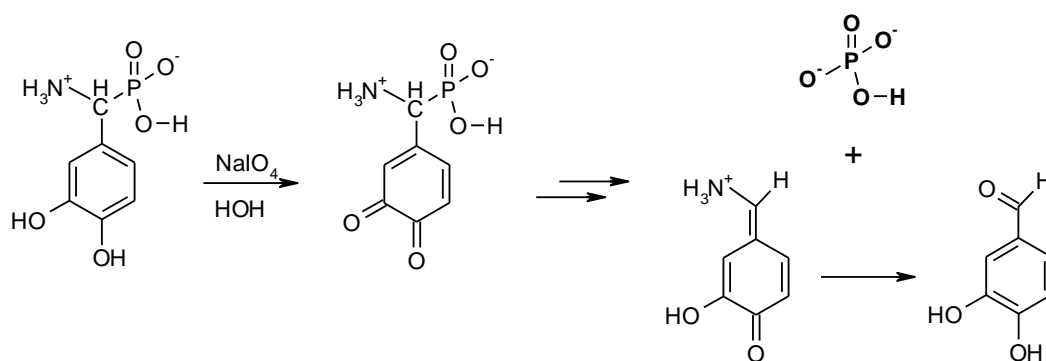
Schemat 3-16. Przebieg reakcji kwasów 1-aminoalkilofosfonowych z fosforanem pirydoksalu



Schemat 3-17. Rozszczepienie wiązania C-P podczas utlenienia Hcys^P [241]

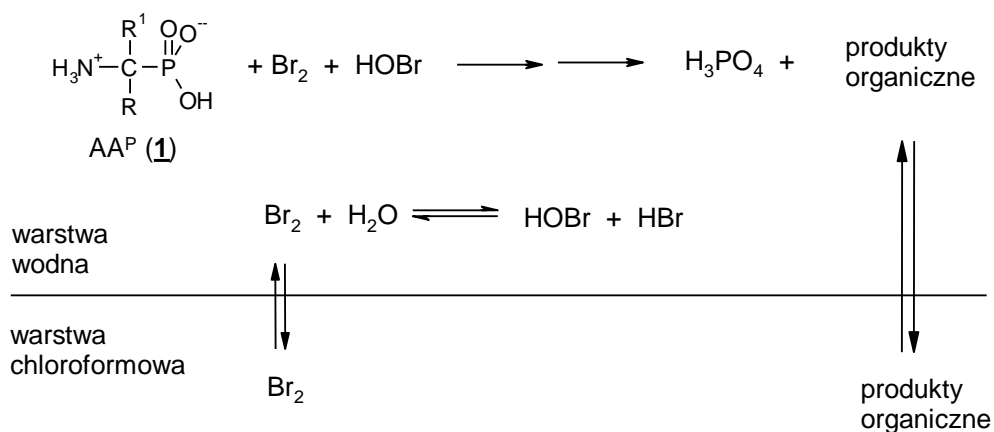
Kudzin i w-cy, odkryli w 2005, iż podczas utleniania fosfonohomocysteiny do kwasu fosfonohomocysteinowego następuje rozszczepienie wiązania C-P [241] (Sch. 3-17.).

Inny przypadek oksydacyjnego rozszczepiania wiązania C-P na drodze oksydacji kwasu 1-amino-1-(3,4-dihydroksyfenylo)metylofosfonowego za pomocą NaIO₄ opisali Drağ i Kafarski [Drağ i w-cy, 2004] [305] (Sch. 3-18.).



Schemat 3-18. Rozszczepienie kwasu 1-amino-1-(3,4-dihydroksyfenylo)metylofosfonowego działaniem nadjodanu sodu [305]

Kontynuowane badania nad przebiegiem tej reakcji defosforylacji AA^P działaniem wody bromowej z wykorzystaniem układu dwufazowego (Rys. 3-33.) wykorzystywały monitoring za pomocą techniki ³¹P NMR [306-308].

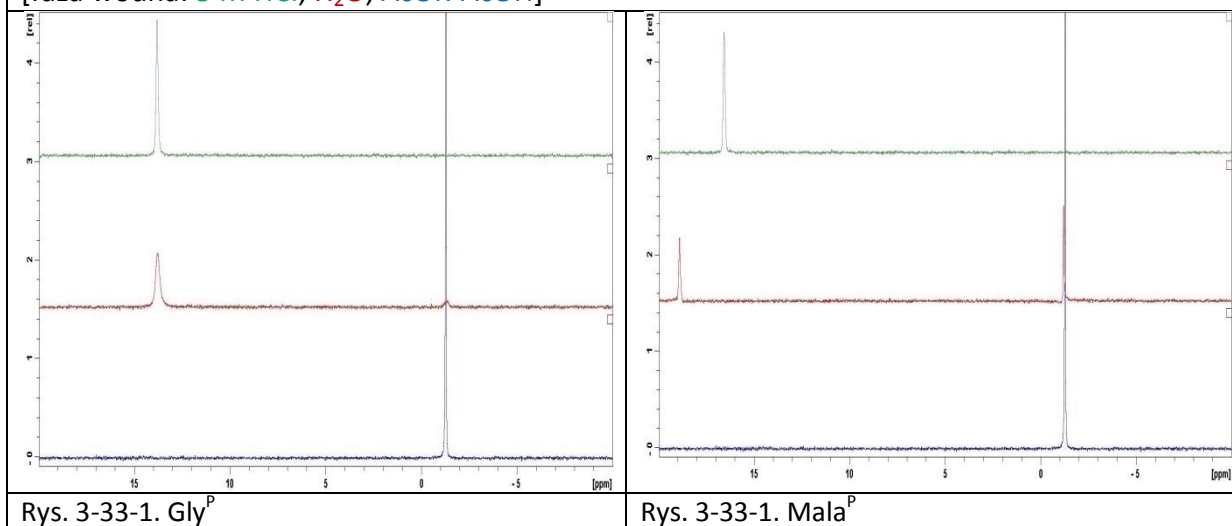


Rysunek 3-33. Badania przebiegu reakcji defosforylacji AA^P działaniem wody bromowej z wykorzystaniem układu dwufazowego AA^P-Br₂-H₂O-CHCl₃

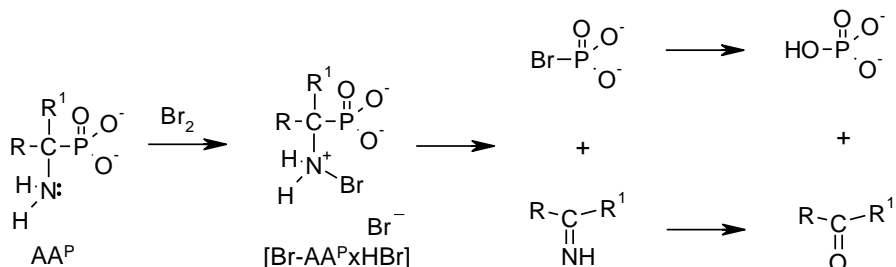
Badania wykazały, że:

- reakcja przebiega ilościowo dla 1-AA^P w roztworach buforowych (pH 4,0) (Rys. 3-33.);
- reakcja nie przebiega w roztworach silnie kwaśnych (Rys. 3-34.);
- głównymi organicznymi produktami defosforylacji 1-AA^P są związki karbonylowe;
- reakcja z bromem nie zachodzi w przypadku kwasów 1-(N-acyloamino)alkilo-fosfonowych;
- reakcja z kwasami ω-aminoalkilofosfonowymi przebiega wg. innego mechanizmu.

Rysunek 3-34. Widma ³¹P NMR roztworów wodnych układu dwufazowego AA^P-Br₂-H₂O-CHCl₃ [faza wodna: 5 M HCl; H₂O, AcOK-AcOH]



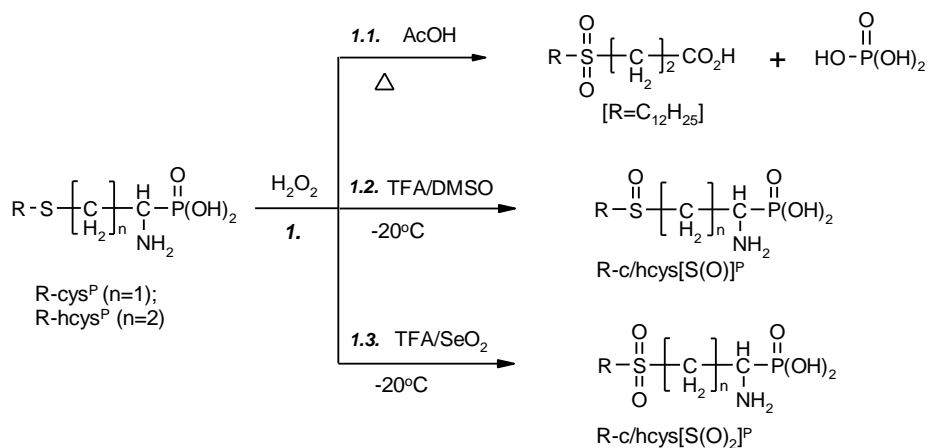
Przebieg reakcji można było śledzić wizualnie, podczas reakcji wydzielat się bezbarwny gaz (N_2) i warstwa wodna była bezbarwna w wyniku zużywania ekstrahowanego z fazy chloroformowej bromu. Pod koniec defosforylacji AA^P warstwa wodna ulegała szybkiemu zabarwieniu na kolor brązowy. Oznaczenie konsumpcji bromu wykazało na stechiometrię ok. $AA^P: Br_2 = 1:1$ i wstępne założenie mechanizmu reakcji (Sch. 3-19.).



Schemat 3-19. Postulowany mechanizm reakcji defosforylacji AA^P działaniem wody bromowej

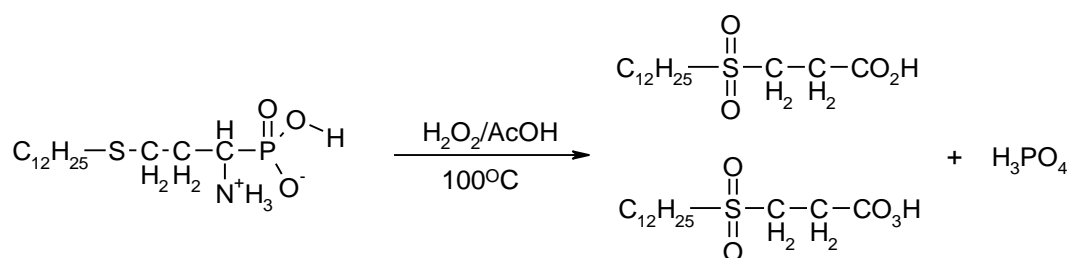
3.3.2.2. REAKCJE AA^P Z NADTLENKIEM WODURU

Prace nad selektywną oksydacją kwasów 1-aminotiaalkilofosfonowych – analogów of S-alkilofosfonocystein i S-alkilofosfonohomocystein, z wykorzystaniem układów oksydacyjnych bazujących na nadtlenu wodoru i SeO_2 [Drabowicz i w-cy, 1978, 1982]^[309,310], w tym $AA^P/H_2O_2/H_2O/AcMe/DMSO$ i $AA^P/H_2O_2/H_2O/AcMe/SeO_2$ [Kudzin i w-cy, 1989^[105]; 1994^[113]; 2012^[308]] przedstawiono na Schemacie 3-20. (reakcje: 1.1. i 1.2.).



Schemat 3-20. Oksydacyjne konwersje kwasów alkilo-3-tiopropylfosfonowych [Kudzin i w-cy, 1989]^[113]

Podczas badań nad utlenieniem „surfaktantowych” S-alkilofosfonohomocystein ($R > C_6H_{13}$), zaobserwowano powstawanie kwasu dodecylo-3-sulfonylopropionowego (nadkwasu), tworzącego się w wyniku rozszczepienia wiązania C-P wyjściowego aminokwasu fosfonowego. Reakcja ta stanowi pierwszy opisany przypadek chemicznego, oksydacyjnego rozszczepienia wiązania C-P w chemii kwasów aminofosfonowych [Kudzin i w-cy, 1989] ^[105] (Sch. 3-21.).



Schemat 3-21. Rozszczepienie kwasu 1-amino-3-(dodecylo)propanofosfonowego działaniem nadtlenu wodoru

Do badań stabilności AA^P w roztworach nadtlenu wodoru wybrano:

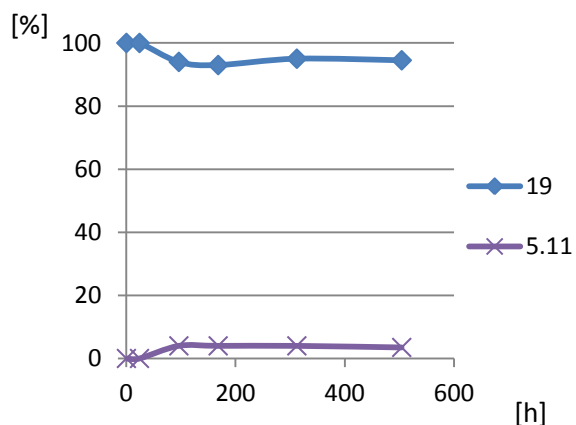
- standardowy skład aminokwasów: Gly^P , Ala^P , Mal^P , $Pgly^P$;
- stosunek: $AA^P : H_2O_2 = 1 : 5$;
- układ roztworów: 2 M KOH, 1 M bufor octanowy, 2 M HCl.

Stabilność roztworu aminokwasu dla układu $AA^P-H_2O_2$ oznaczano na podstawie widm ^{31}P NMR [z zastosowaniem kwasu metylofosfonowego (MPA) jako wzorca wewnętrznego].

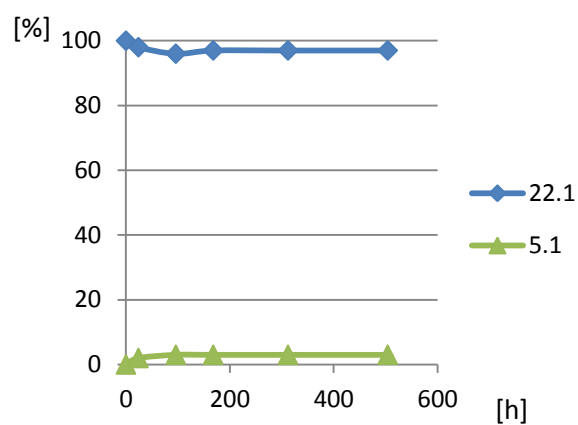
Profile reakcji defosforylacji AA^P pod wpływem nadtlenu wodoru przedstawiono graficznie na Rysunkach: 3-35. ($AA^P-H_2O_2-2$ M KOH), 3-37. ($AA^P-H_2O_2$ -bufor), 3-39. ($AA^P-H_2O_2-2$ M HCl).

Widma ^{31}P NMR mieszanin reakcyjnych po 768 h (32 dni) ekspozycji przedstawiono na Rysunkach: 3-36. ($AA^P-H_2O_2-2$ M KOH), 3-38. ($AA^P-H_2O_2-1$ M AcOK-AcOH), 3-40. ($AA^P-H_2O_2-2$ M HCl).

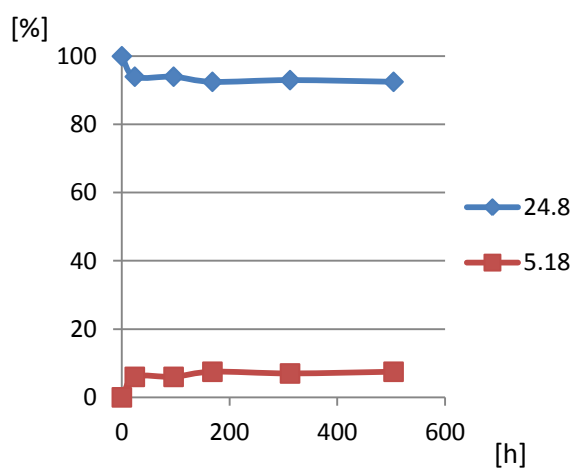
Rysunek 3-35. Profile reakcyjne mieszanin AA^P (0,1 mmola)-H₂O₂ (0,5 mmola)-H₂O (D₂O:10%)-2 M KOH



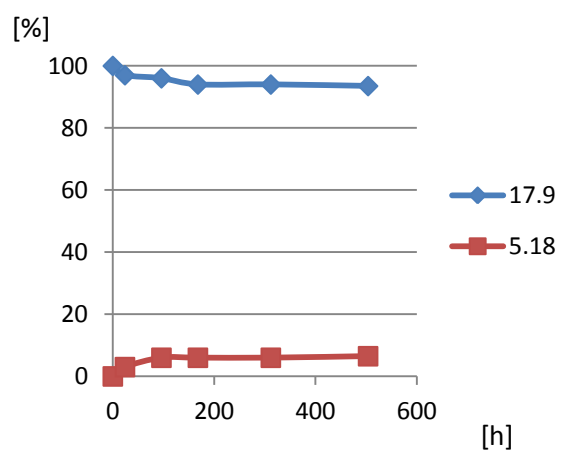
Rys. 3-35.1. Gly^P-H₂O₂-2 M KOH



Rys. 3-35.2. Ala^P-H₂O₂-2 M KOH



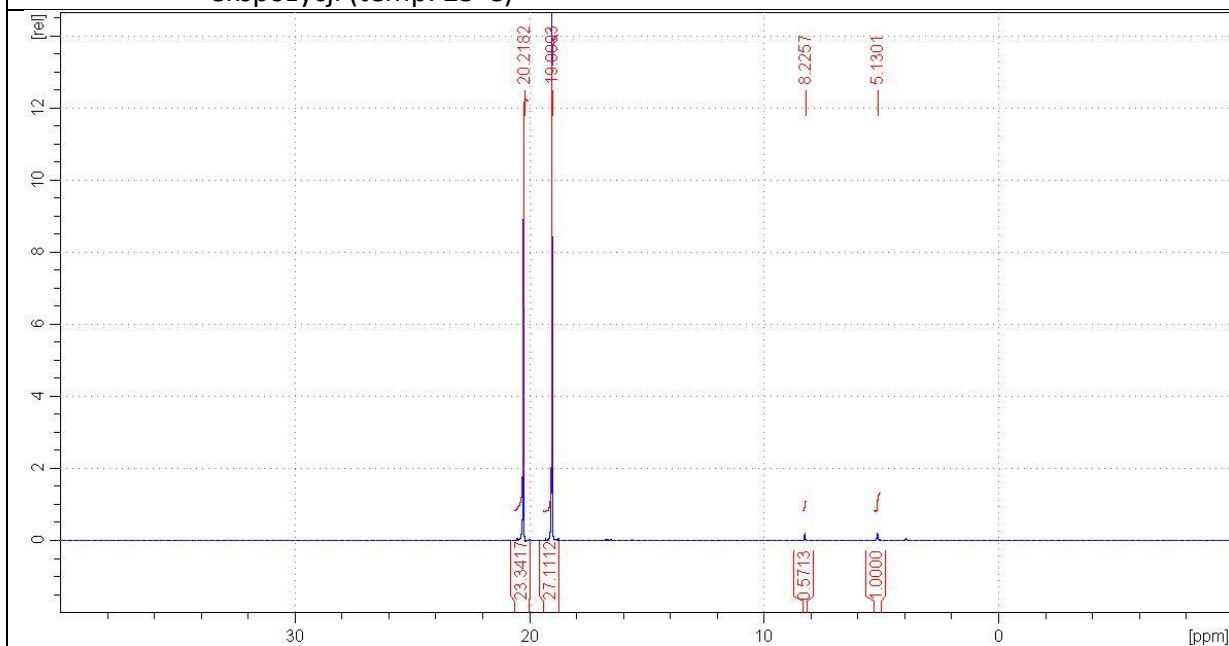
Rys. 3-35.3. Mala^P-H₂O₂-2 M KOH



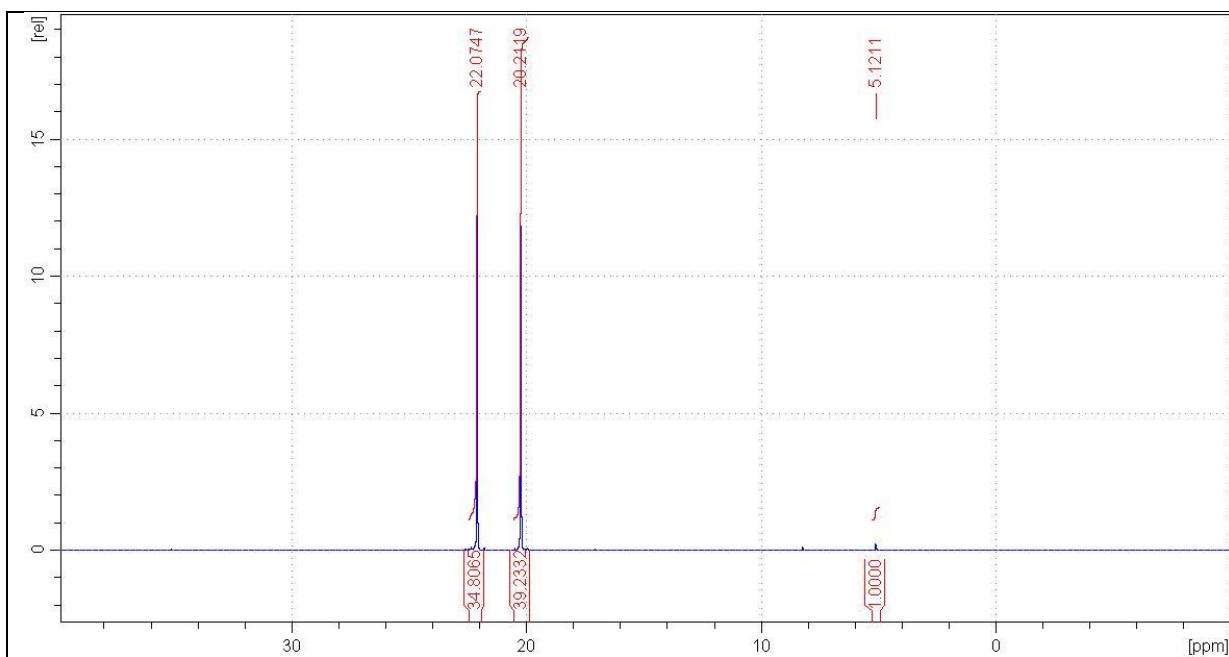
Rys. 3-35.4. Pgly^P-H₂O₂-2 M KOH

Przesunięcia chemiczne AA^P w układzie AA^P-H₂O₂-2 M KOH
 $\delta(^{31}\text{P})$: Gly^P:19,0 ppm; Ala^P:22,1 ppm; Mala^P:24,8 ppm; Pgly^P:17,9 ppm

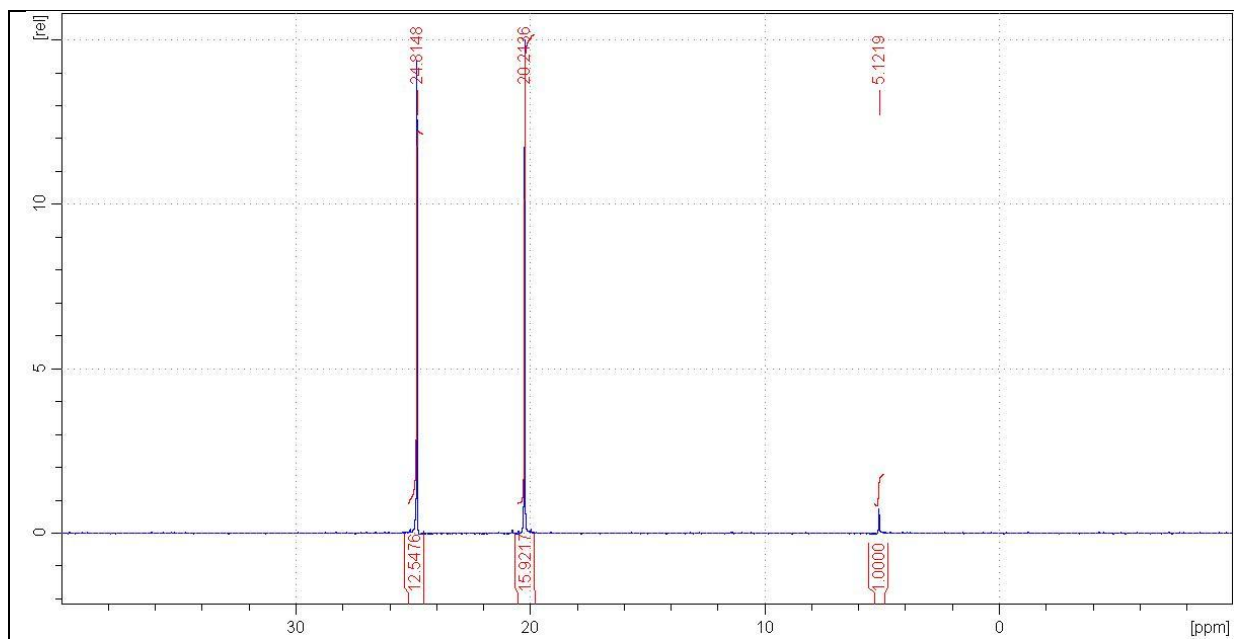
Rysunek 3-36. Widma ^{31}P NMR mieszanin reakcyjnych AA^P-H₂O₂-2 M KOH po 768 h (32dni) ekspozycji (temp. 25°C)



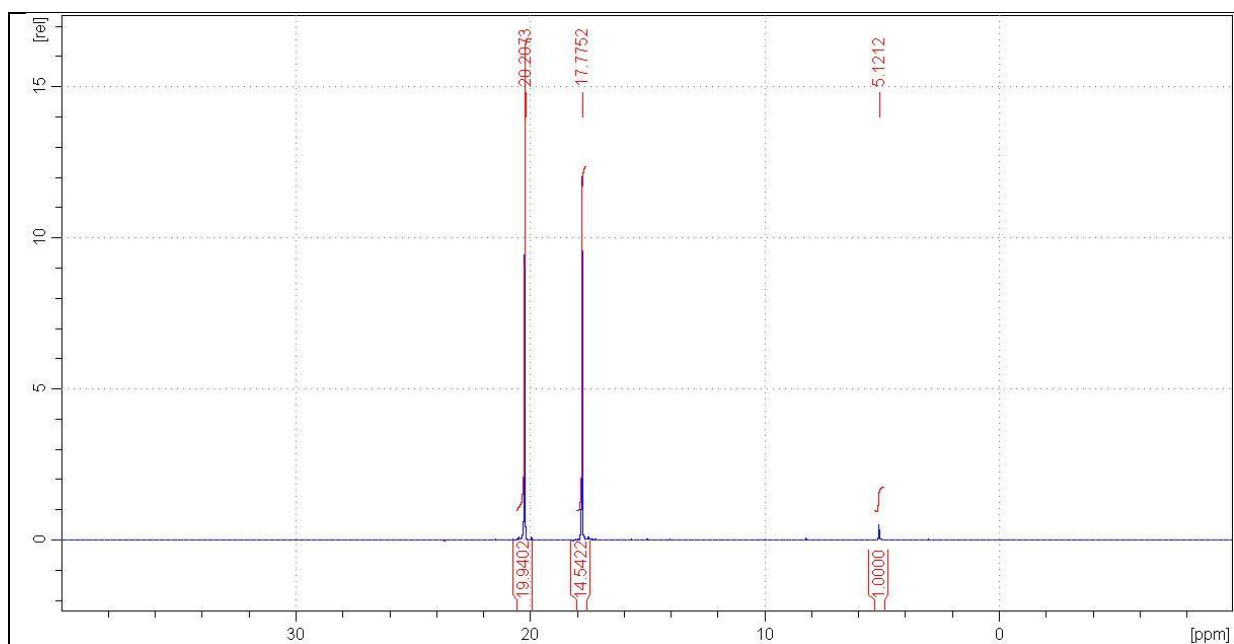
Rys. 3-36.1. Gly^P-H₂O₂-2 M KOH (MPA: 20,2 ppm; Gly^P: 19,0 ppm; Na₃PO₄: 5,1 ppm)



Rys. 3-36.2. Ala^P-H₂O₂-2 M KOH (MPA: 20,1 ppm; Gly^P: 20,2 ppm; Na₃PO₄: 5,1 ppm)

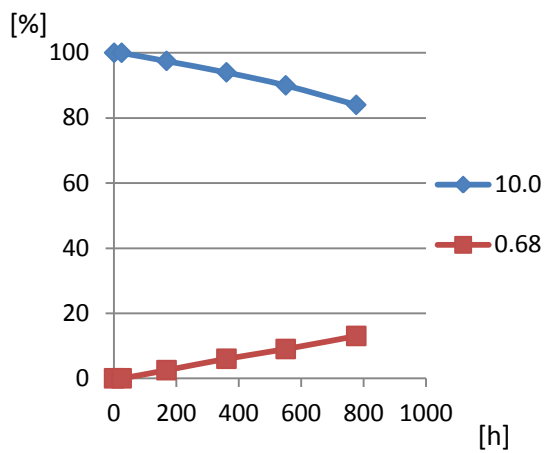


Rys. 3-36.3. Mala^P-H₂O₂-2 M KOH (Mala^P : 24,8 ppm; MPA: 20,2 ppm; Na₃PO₄: 5,1 ppm)

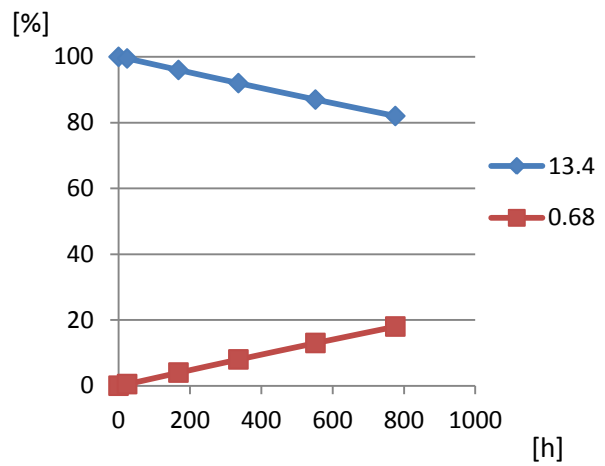


Rys. 3-36.4. Pgly^P-H₂O₂-2 M KOH (MPA: 20,2 ppm; Pgly^P: 17,8 ppm; Na₃PO₄: 5,1 ppm)

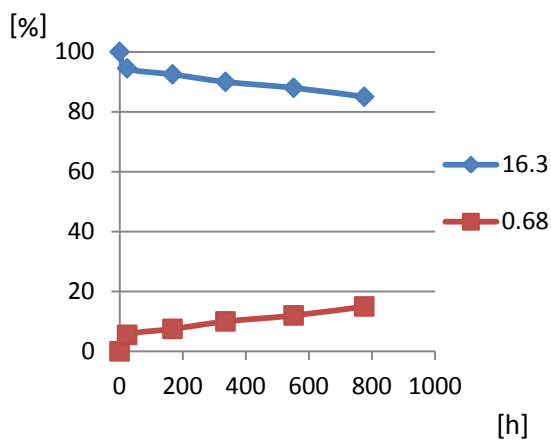
Rysunek 3-37. Profile reakcyjne roztworów mieszanin AA^P-H₂O₂-H₂O-1 M AcOK-AcOH



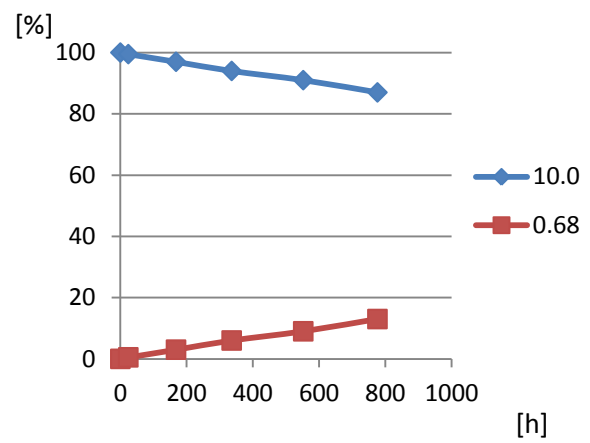
Rys. 3-37.1. Gly^P-AA^P-H₂O₂-H₂O-AcOK-AcOH



Rys. 3-37.2. Ala^P-AA^P-H₂O₂-H₂O-AcOK-AcOH



Rys. 3-37.3. Mala^P-AA^P-H₂O₂-H₂O-AcOK-AcOH

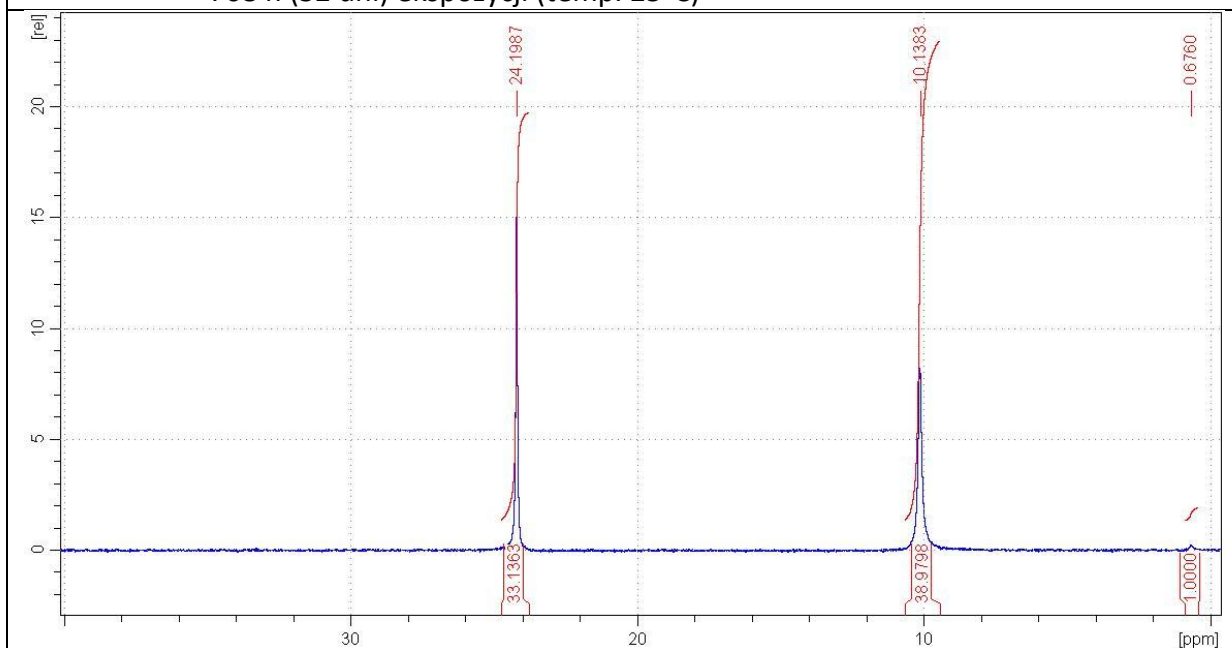


Rys. 3-37.4. Pgly^P-AA^P-H₂O₂-H₂O-AcOK-AcOH

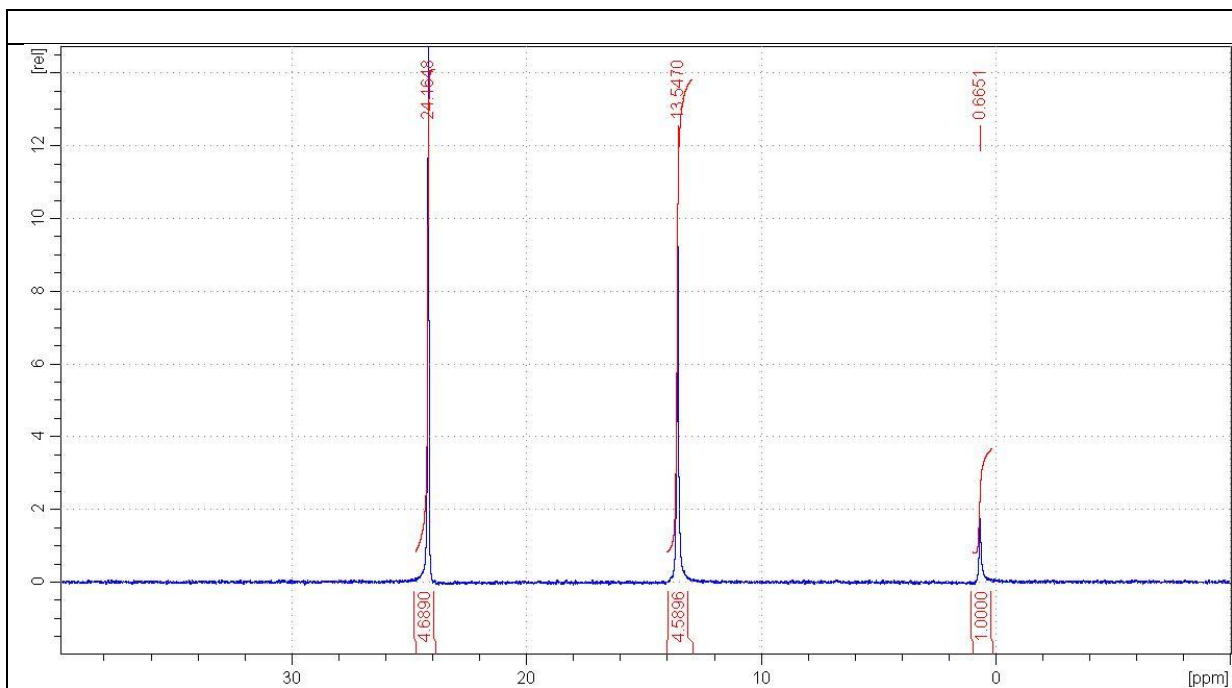
Przesunięcia chemiczne AA^P w układzie AA^P-H₂O₂-AcOK-AcOH

δ(³¹P): Gly^P:10,0 ppm; Ala^P:13,4 ppm; Mala^P:16,3 ppm; Pgly^P:10,0 ppm

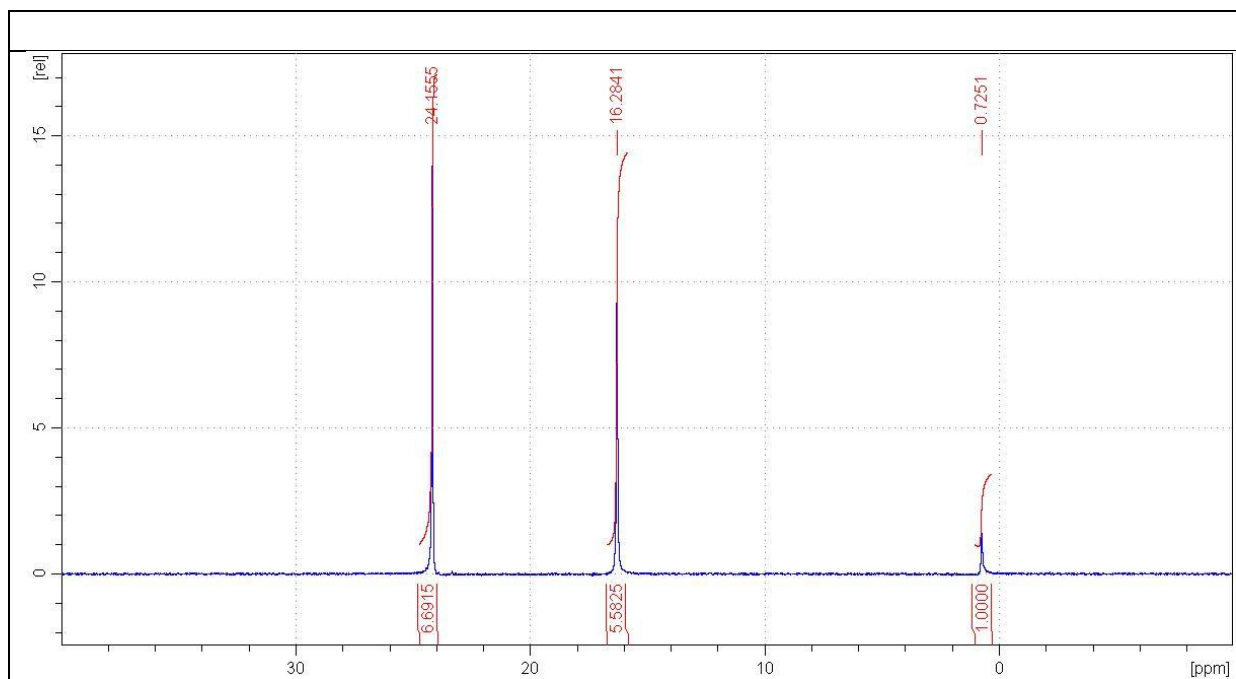
Rysunek 3-38. Widma ^{31}P NMR mieszanin reakcyjnych $\text{AA}^{\text{P}}\text{-H}_2\text{O}_2\text{-H}_2\text{O-1 M AcOK-AcOH}$ po 768 h (32 dni) ekspozycji (temp. 25°C)



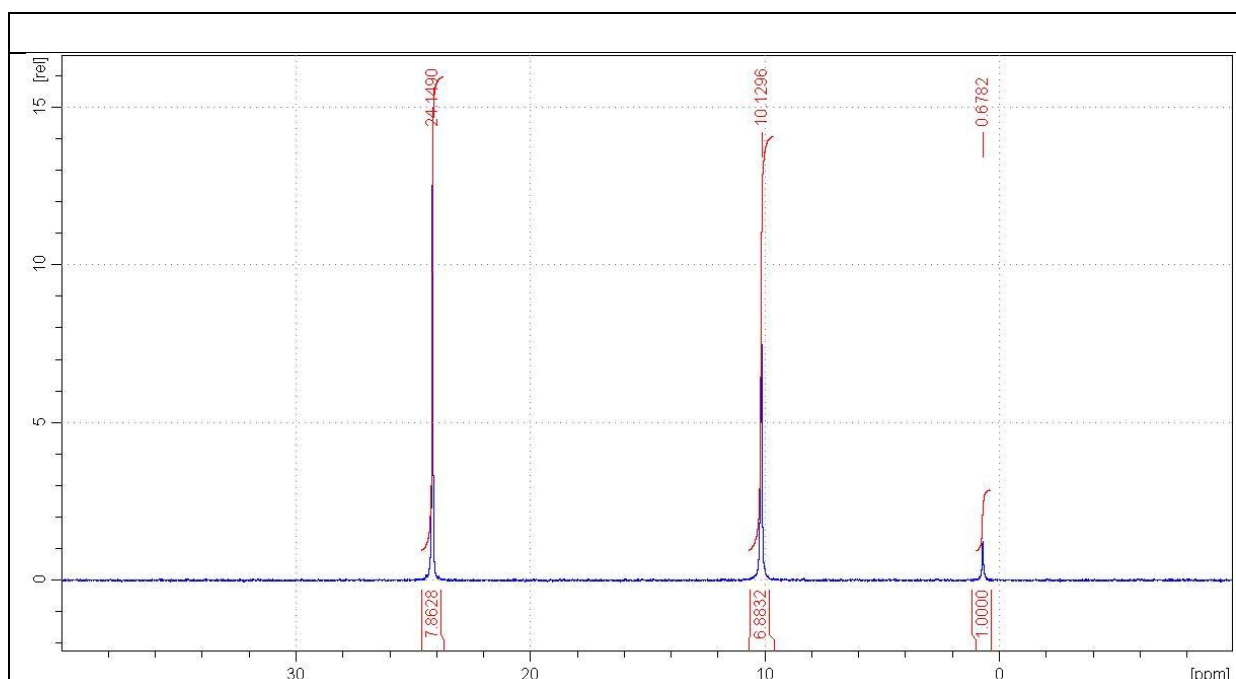
Rys. 3-38.1. $\text{Gly}^{\text{P}}\text{-H}_2\text{O}_2\text{-bufor}$ (MPA: 24,2 ppm; Gly^{P} : 10,1 ppm; Na_2HPO_4 : 0,68 ppm)



Rys. 3-38.2. $\text{Ala}^{\text{P}}\text{-H}_2\text{O}_2\text{-bufor}$ (MPA: 24,2 ppm; Ala^{P} : 13,5 ppm; Na_2HPO_4 : 0,67 ppm)

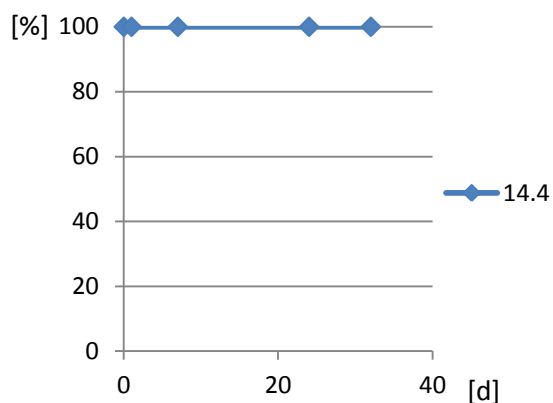


Rys. 3-38.3. Mala^P-H₂O₂-bufor (MPA: 24,2 ppm; Mala^P: 16,3 ppm; Na₂HPO₄: 0,73 ppm)

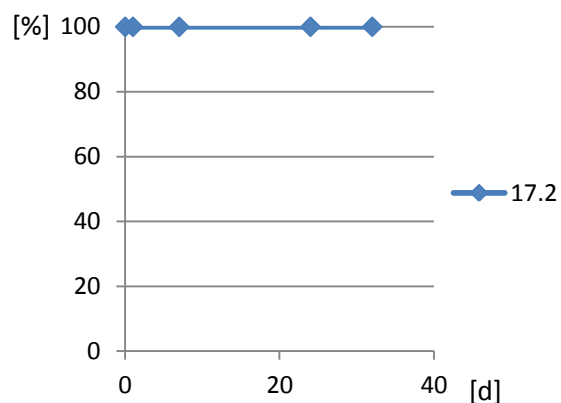


Rys. 3-38.4. Pgly^P-H₂O₂-bufor (MPA: 24,1 ppm; Pgly^P: 10,1 ppm; Na₂HPO₄: 0,68 ppm)

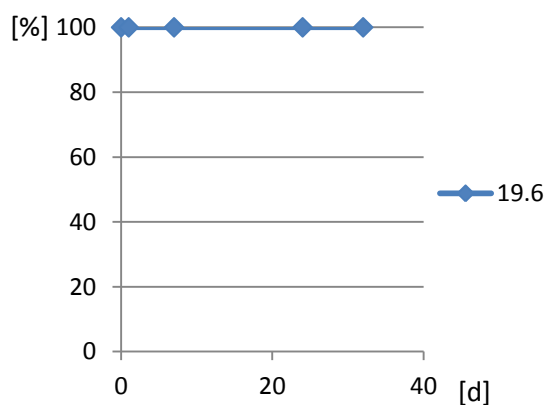
Rysunki 3-39. Wyniki analizy ^{31}P NMR mieszanin $\text{AA}^{\text{P}}-(0,1 \text{ mmola})-\text{H}_2\text{O}_2 (0,5 \text{ mmola})-\text{H}_2\text{O}$ ($\text{D}_2\text{O}-10\%$)- 2 M HCl w czasie ekspozycji



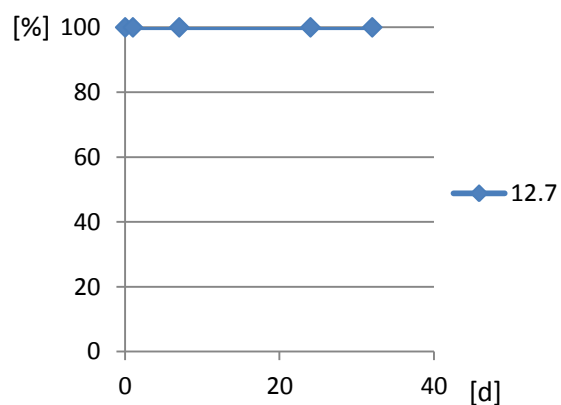
Rys. 3-39.1. $\text{Gly}^{\text{P}}-\text{H}_2\text{O}_2-2 \text{ M HCl}$



Rys. 3-39.2. $\text{Ala}^{\text{P}}-\text{H}_2\text{O}_2-2 \text{ M HCl}$



Rys. 3-39.3. $\text{Mala}^{\text{P}}-\text{H}_2\text{O}_2-2 \text{ M HCl}$

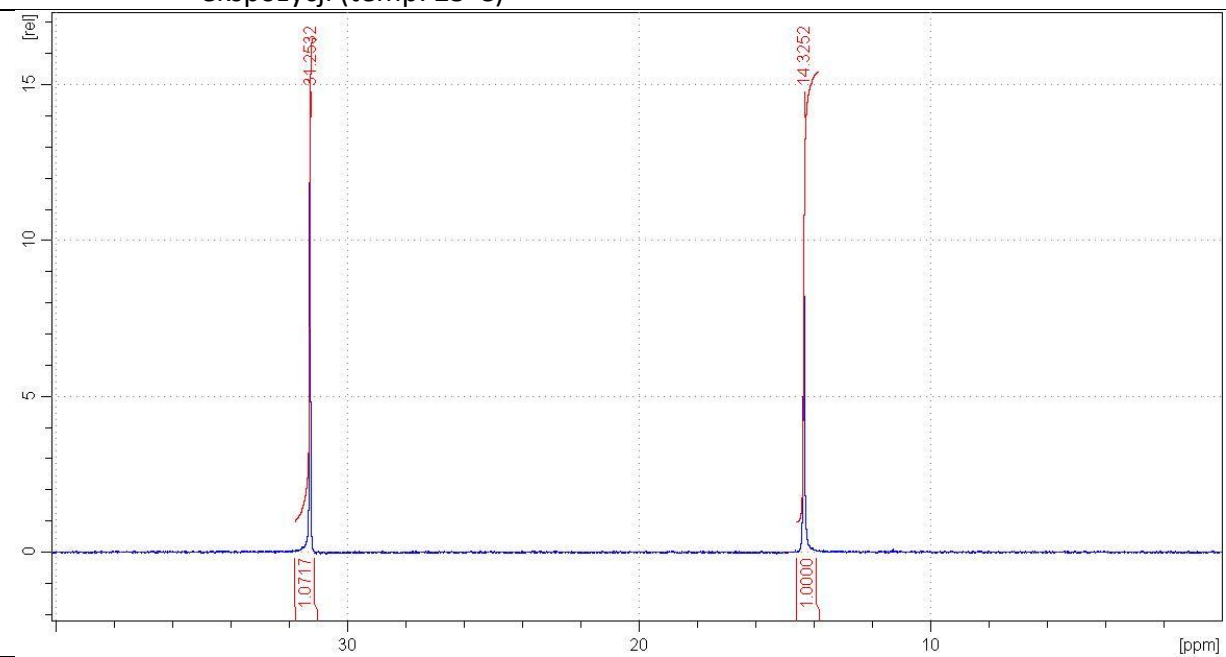


Rys. 3-39.4. $\text{Pgly}^{\text{P}}-\text{H}_2\text{O}_2-2 \text{ M HCl}$

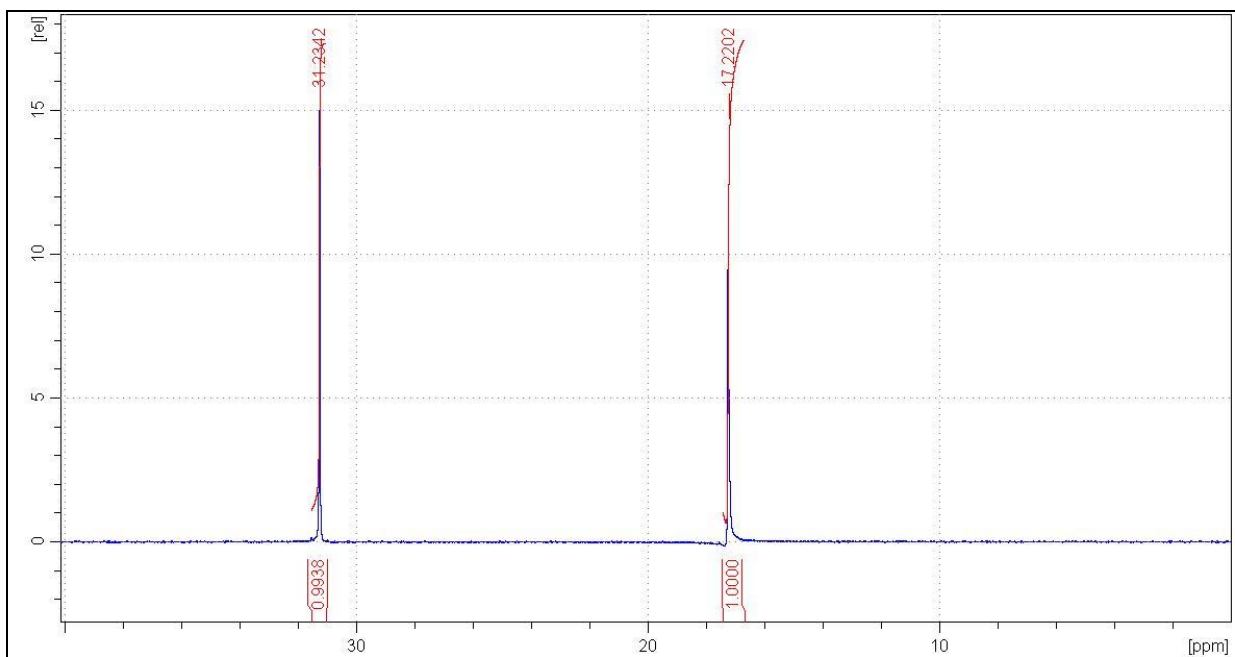
Przesunięcia chemiczne AA^{P} w układzie $\text{AA}^{\text{P}}-\text{H}_2\text{O}_2-2\text{M HCl}$

$\delta(^{31}\text{P})$: Gly^{P} :14,4 ppm; Ala^{P} :17,2 ppm; Mala^{P} :19,6 ppm; Pgly^{P} :12,7 ppm

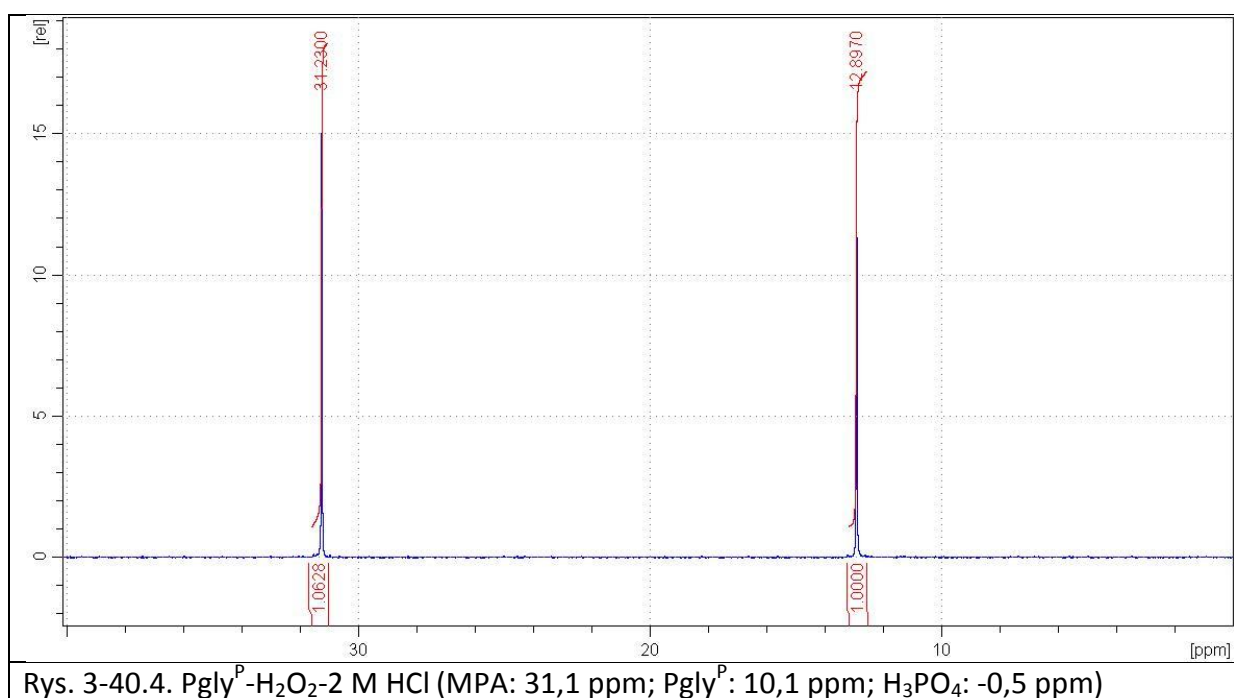
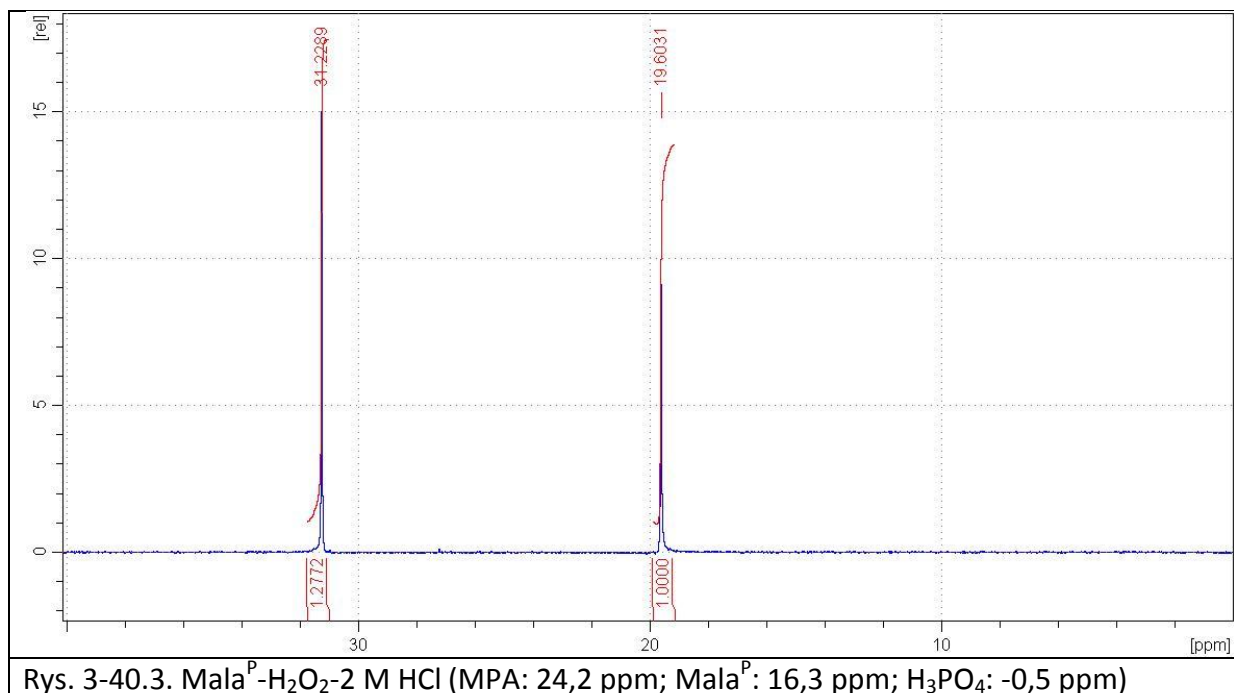
Rysunek 3-40. Widma ^{31}P NMR mieszanin reakcyjnych $\text{AA}^{\text{P}}\text{-H}_2\text{O}_2\text{-2 M HCl}$ po 768 h (32 dni) ekspozycji (temp. 25°C)



Rys. 3-40.1. $\text{Gly}^{\text{P}}\text{-H}_2\text{O}_2\text{-2 M HCl}$ (MPA: 31,3 ppm; Gly^{P} : 14,3 ppm; H_3PO_4 : -0,5 ppm)



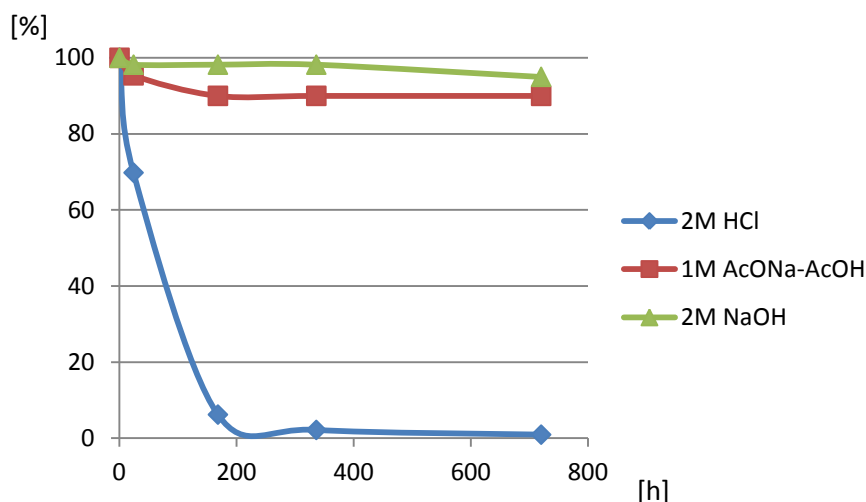
Rys. 3-40.2. $\text{Ala}^{\text{P}}\text{-H}_2\text{O}_2\text{-2 M HCl}$ (MPA: 24,2 ppm; Ala^{P} : 13,5 ppm; H_3PO_4 : -0,5 ppm)



Dla celów porównawczych wykonano badania stabilności miana H₂O₂ w bazowych roztworach: wodne roztwory 2 M HCl-H₂O₂, 2 M KOH-H₂O₂ i 1 M AcOK-AcOH-H₂O₂.

Profile stabilności roztworu nadtlenku wodoru w wodnych roztworach 2 M HCl, 2 M KOH i 1M AcOK-AcOH przedstawiono na Rysunku 3-41.

Rysunek 3-41. Profile stabilności miana roztworu nadtlenku wodoru (%) w wodnych roztworach 2 M HCl, 2 M KOH i 1 M AcOK-AcOH podczas ekspozycji w czasie (h)



Stężenia nadtlenku wodoru wyznaczano na drodze oksydo-redukcyjnego miareczkowania działaniem mianowanego roztworu KMnO_4 .

Dane doświadczalne wskazują na szybki spadek miana H_2O_2 w 2M HCl (6% początkowej ilości po tygodniu ekspozycji). Tym należy tłumaczyć stabilność roztworów AA^{P} w 2 M HCl- H_2O_2 .

Z przedstawionych danych wynika:

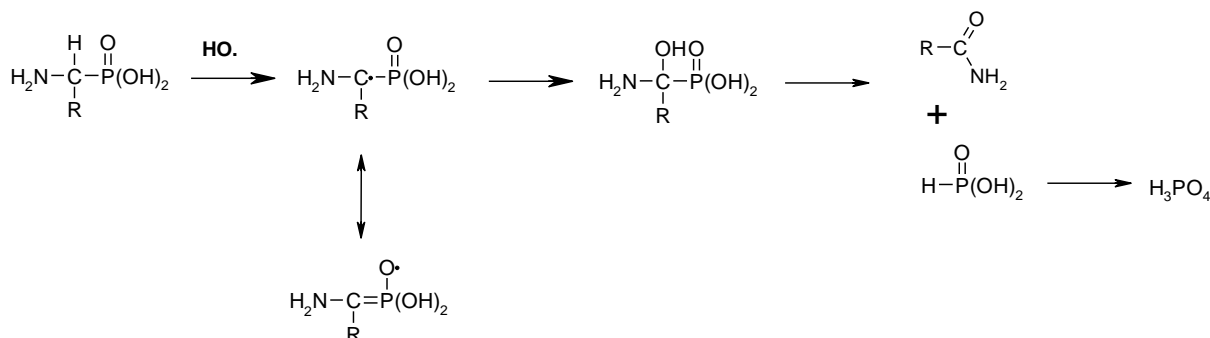
- AA^{P} - H_2O_2 -2 M HCl - praktycznie brak zmiany AA^{P} w czasie ekspozycji do 768 h (32 dni);
- AA^{P} - H_2O_2 -2 M KOH - spadek stężenia AA^{P} o około 5-10% w czasie do 768 h (32 dni);
- AA^{P} - H_2O_2 -1 M AcOK-AcOH - spadek stężenia AA^{P} o około 20% w czasie do 768 h (32 dni).

Analiza widm ^{31}P NMR mieszanin reakcyjnych AA^{P} - H_2O_2 wskazuje jedynie obecność wyjściowego AA^{P} i H_3PO_4 co dowodzi o powolnym tworzeniu związków przejściowych AA^{P} - H_2O_2 i bardzo szybkim ich rozpadzie do kwasu fosforowego (fosforanu).

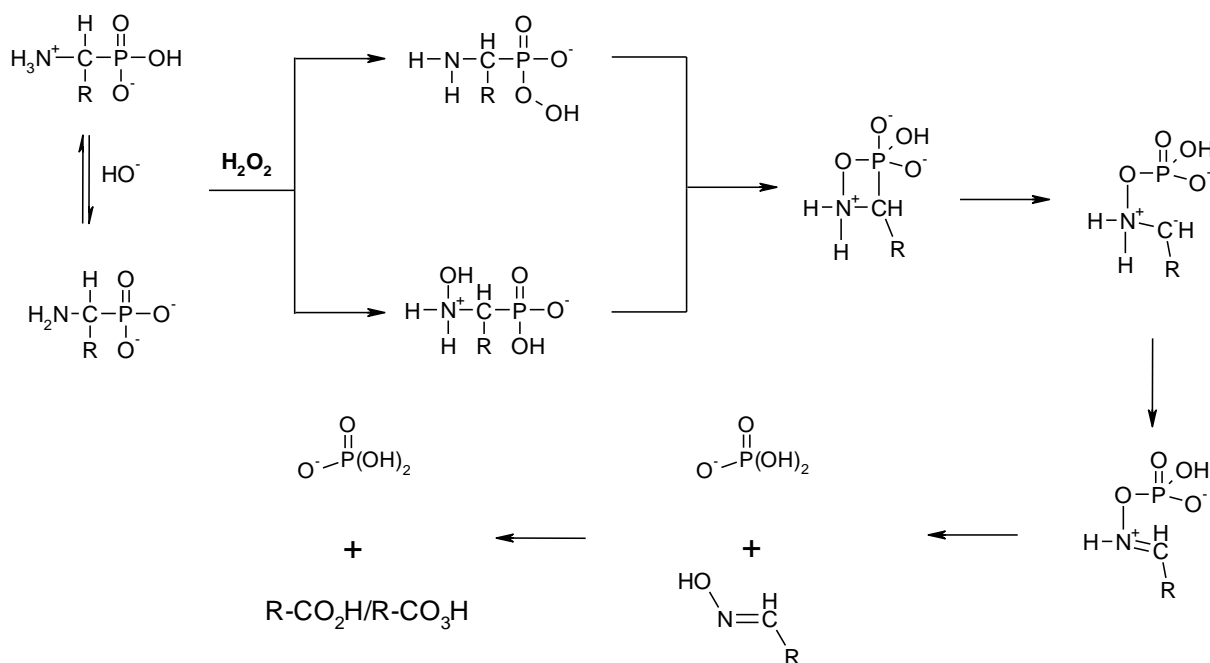
Porównywalne szybkości rozszczepiania wiązania P-C w aminokwasach z I rzędowym atomem C_α (Gly^{P}), II-rzędowym [Ala^{P} i Pgly^{P} (możliwość stabilizacji wolnego rodnika w pierścieniu fenyłowym)], jak i III rzędowym (Mala^{P} ; brak wiązania C_α -H) wyklucza przebieg reakcji AA^{P} z H_2O_2 wg. mechanizmu przedstawionego na Schemacie 3-22. Bardziej prawdopodobny jest mechanizm, w którym atak nadtlenku wodoru (HO-OH , HO-O^\cdot , HO^\cdot , etc.) zachodzi na grupę aminową lub fosfonową przedstawioną na Schemacie 3-23.

Co prawda, nie opracowano jak dotąd metody identyfikacji produktów organicznych rozpadu C-H kwasów badanych AA^{P} (Gly^{P} , Ala^{P} , Pgly^{P} , Mala^{P}), nie mniej wyizolowano wcześniej z

mieszaniny $\text{AcOH-H}_2\text{O}_2$ kwas dodecylo-3-sulfonylopropionowy (Sch. 3-21), produkt utlenienia przejściowego aldehydu.



Schemat 3-22. Hipotetyczny mechanizm degradacji AA^{P} działaniem H_2O_2 przy założeniu wolnorodnikowego ataku ($\text{HO}\cdot$, $\text{HO}\cdot\text{O}\cdot$, $\text{HO}\cdot$, etc.) na $\text{C}_{\alpha}\text{-H}$



Schemat 3-23. Hipotetyczny mechanizm degradacji AA^{P} działaniem H_2O_2 przy założeniu wolnorodnikowego ataku ($\text{HO}\cdot$, $\text{HO}\cdot\text{O}\cdot$, $\text{HO}\cdot$, etc.) na P-OH i/lub grupę aminową

Badania nad przebiegiem stabilności kwasów aminoalkilofosfonowych na ekspozycję H_2O_2 zaprezentowano na sesji posterowej konferencji:

Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz, J.: *Reaction of 1-Aminoalkylphosphonic Acids with Hydrogen Peroxide. Oxidative Dephosphonylation*. XV International Symposium *Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*. P-036, CBMM PAN, Łódź, 2012.11.16.^[308]

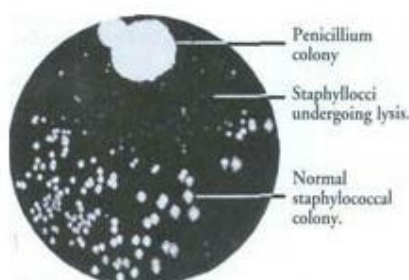
3.4. BADANIA BIOLOGICZNE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

3.4.1. AKTYWNOŚĆ BAKTERIOBÓJCZA – POJĘCIA PODSTAWOWE

Odporność na działanie określonego leku jest najważniejszym etapem diagnostyki mikrobiologicznej zakażeń bakteryjnych. Poniżej zostały zamieszczone podstawowe definicje terminów powszechnie stosowanych w mikrobiologii i farmakologii z zakresu lekowrażliwości drobnoustrojów ^[311, 312].

Antybiotyki (z greki *anti* – przeciw, *bios* – życie) – naturalne wtórne produkty metabolizmu drobnoustrojów, które działając wybiórczo w niskich stężeniach wpływają na struktury komórkowe lub procesy metaboliczne innych drobnoustrojów hamując ich wzrost i podziały. Antybiotyki mogą być pochodzenia naturalnego (wytworzone przez mikroorganizmy: bakterie, grzyby) lub uzyskane na drodze półsyntetycznej lub syntetycznej.

Odkrycie pierwszego antybiotyku (penicyliny) zostało dokonane w 1928 roku przez Alexandra Fleminga, który zauważył, że przypadkowe zanieczyszczenie podłoża pleśnią *Penicillium notatum* powstrzymuje wzrost kultur bakterii (Rys. 3-42.; Tab. 3-35.).



Rysunek 3-42. Fotografia z eksperymentu Fleminga

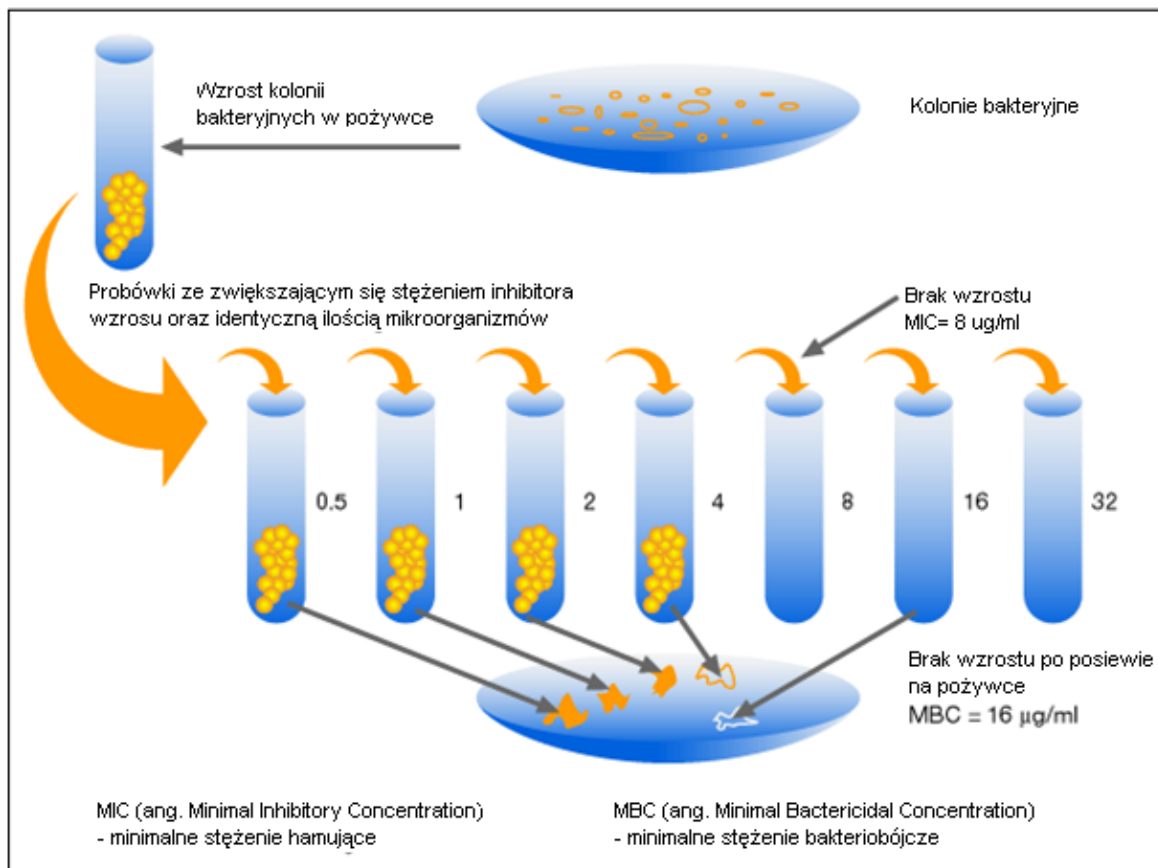
[Photograph of a culture-plate showing the dissolution of staphylococcal colonies in the neighbourhood of a penicillium colony; Fleming, A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *b. influenzae*. Brit. J. Exp. Path. 1929,10, 226-236]^[313]

Tabela 3-35: *Table III. Inhibitory Power of Penicillin on Different Bacteria*

Bacteria	Dilution of penicillin in broth										
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	Control
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0	±	‡	‡	‡
<i>Pneumococcus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	‡	‡	‡

"The inhibitory power can be accurately titrated by making serial dilution of penicillin in fresh nutrient broth."
 Alexander Flemming, On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *b. influenzae* Brit. J. Exp. Path. 1929,10, 226-236.]^[311]

Antybiotyk bakteriostatyczny - antybiotyk hamujący rozwój mikroorganizmów. Leki o działaniu bakteriostatycznym wstrzymują wzrost i namnażanie się drobnoustrojów, ale nie zabijają bezpośrednio już istniejących komórek. Większość antybiotyków i chemioterapeutyków wykazuje działanie bakteriostatyczne w mniejszych stężeniach, a bakteriobójcze w wyższych stężeniach.



Rysunek 3-43. Graficzne ilustracja współczynników MIC oraz MBC

Chemioterapeutyk – substancja o aktywności przeciwdrobnoustrojowej, uzyskana na drodze syntezy chemicznej, nie posiadająca wzorca naturalnego.

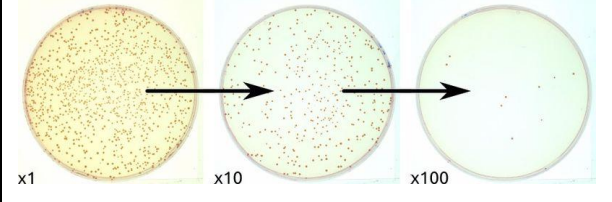
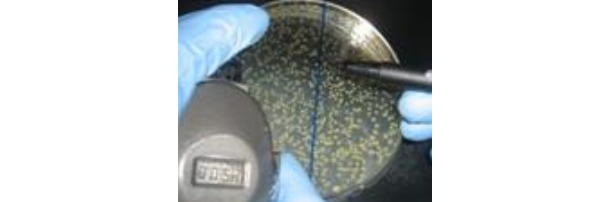
Antybiogram – wynik badania wrażliwości danego drobnoustroju na działanie określonego antybiotyku lub chemioterapeutyku.

MIC (ang. *Minimal Inhibitory Concentration*) - parametr wrażliwości danego drobnoustroju na działanie środka bakteriobójczego; minimalne stężenie hamujące, czyli najmniejsze stężenie środka bakteriobójczego (antybiotyku lub chemioterapeutyku), wyrażone w µg/ml (mg/l), hamujące wzrost drobnoustrojów [Andrews, 2001] ^[314].

MIC_{50} , MIC_{90} ($\mu\text{g/ml}$) - stężenia antybiotyku hamujące wzrost odpowiednio: 50% (MIC_{50}), 90% (MIC_{90}) testowanej populacji bakterii.

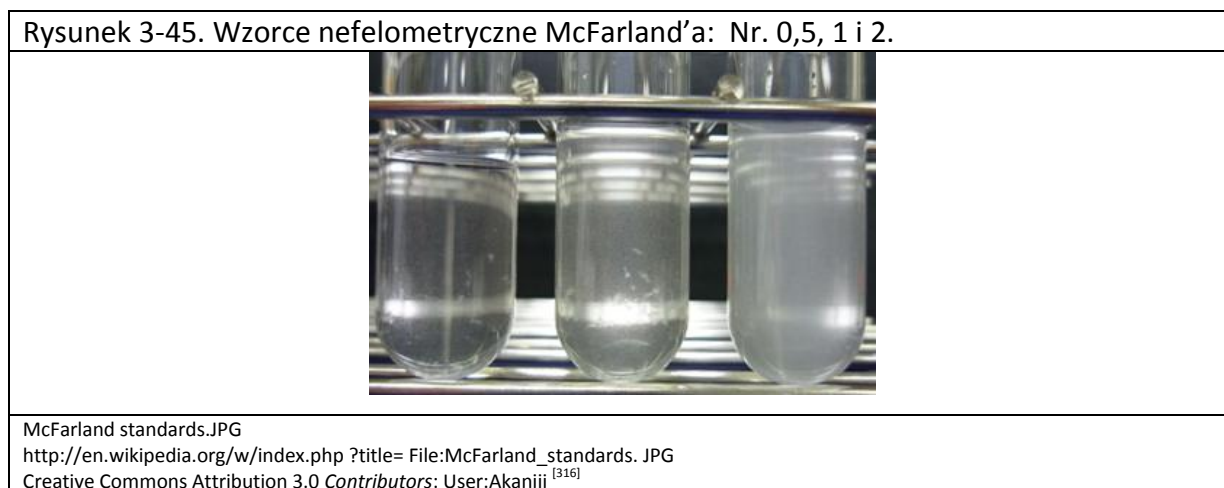
MBC/MLC (ang. *Minimal Bactericidal Concentration / Minimal Lethal Concentration*) ($\mu\text{g/ml}$) najmniejsze stężenie bakteriobójcze (potrzebne do zabicia bakterii) (zwykle $4-5 \times MIC = MBC$) (Rys. 3-43.).

CFU (ang. *Colony Forming Unit*) czyli *jednostka tworząca kolonię* - jednostka określająca ilość mikroorganizmów w materiale badanym przy zastosowaniu metody równomiernego posiewu na/w pożywce, tak aby w idealnym przypadku wszystkie mikroorganizmy leżały samotnie i w oddaleniu od siebie, tworząc poprzez rozmnażanie każdorazowo jedną kolonię (Rys. 3-44.). CFU oznacza ilość pojedynczych komórek, z których w wyniku podziałów powstaną kolonie komórek i wyrażane są CFU/ml lub CFU/g .

Rysunek 3-44. Sposoby wyznaczania CFU	
	
<p>Roztwór bakterii o nieznanym stężeniu jest zwykle seryjnie rozcieńczany do uzyskania policzalnej ilości bakterii ($\times 10$ krotne rozcieńczenie).</p>	<p>Tradycyjna droga do oszacowania CFU z licznikiem „kliknięć” i pisakiem. Gdy kolonie są zbyt liczne, często oblicza się kolonie tylko na fragmencie szalki.</p>
<p><small>File:Serial dilution and plating of bacteria.jpg Source: http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Serial_dilution_and_plating_of_bacteria.jpg License: Creative Commons ^[315] Attribution-Sharealike 3.0 Contributors: User:Qgeissmann</small></p>	<p><small>File:Manual CFU counting.jpg Source: http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Manual_CFU_counting.jpg License: Creative Commons Attribution-Sharealike 3.0 Contributors: ^[316] User:Qgeissmann</small></p>

Skala McFarlanda - popularna metoda szacowania stężenia drobnoustrojów, wzrokowe porównanie zawiesin organizmów z wzorcem mętności [McFarland, 1907]^[317]. Wzorec McFarlanda przygotowuje się przez dodanie chlorku baru do wodnego roztworu kwasu siarkowego. Gęstość powstałego osadu siarczanu baru może posłużyć do oszacowania liczby kolonii w przygotowanej zawieszynie; tzn. 1 w skali McFarlanda jest odpowiednikiem w przybliżeniu 3×10^8 CFU/ml (Tab. 3-36.; Rys. 3-45.).

Składniki/charakterystyka	Wzorce McFarland' [Nr]				
	0,5	1	2	3	4
1% BaCl ₂ (ml)	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4
1% H ₂ SO ₄ (ml)	9,95	9,9	9,8	9,7	9,6
Gęstość komórek bakter. (1×10 ⁸ CFU/ml)	1,5	3,0	6,0	9,0	12,0
Transmisja przy 600 nm	74,3	55,6	35,6	26,4	21,5
Absorbancja przy 600 nm	0,08 do 0,1	0,257	0,451	0,582	0,669



Do pomiaru stężenia używa się także innych wzorców, w tym zawiesin dwutlenku tytanu [Roessler & Brewer, 1967]^[318] oraz cząsteczek kauczuku [Pugh&Heller, 1957]^[319]. Instrumentalny pomiar mętności opiera się na zdolności cząsteczek w zawiesinie do rozpraszania światła. Pomiar rozproszonego światła nazywany jest nefelometrią [Mallette, 1969]^[320].

3.4.1.1. METODY OKREŚLANIA AKTYWNOŚCI BAKTERIOBÓJCZEJ

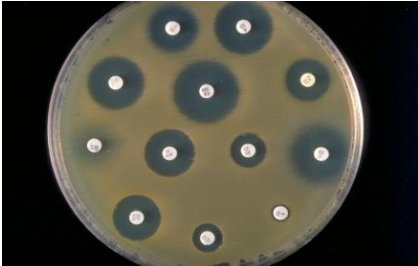
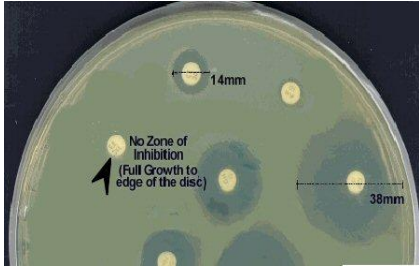
Metody określania wrażliwości danego drobnoustroju na działanie środka bakteriobójczego:

- metoda dyfuzyjno-krążkowa;
- metody rozcieńczeniowe;
- E-test .

Metoda dyfuzyjno-krążkowa (metoda Kirby-Bauera) – najczęściej używana metoda testowania lekooporności [Bauer i w-cy, 1996]^[322] (Rys. 3-46.), oparta jest na dyfuzji

antybiotyku zawartego w krążku do podłoża. Antybiotyk dyfunduje promieniście, tworząc gradient stężeń. Największa jego koncentracja występuje przy brzegach krążka i spada wraz z odległością od krążka. Wielkość strefy zahamowania wzrostu bakterii jest wprost proporcjonalna do stopnia wrażliwości bakterii na antybiotyk - im większa jest strefa zahamowania, tym bakteria jest bardziej wrażliwa. W zależności od wielkości strefy, bakterie określa się jako: wrażliwe, średnio wrażliwe lub odporne na podstawie przyjętych standardów (rekomendacje). Jest to metoda dobrze wystandaryzowana, powtarzalna, relatywnie tania.

Ograniczenia: niektóre antybiotyki słabo dyfundują w agarze, różnica w strefach zahamowania dla bakterii wrażliwych i opornych jest niewielka, co może prowadzić do nieprawidłowego określenia lekooporności (glikopeptydy, polimyksyna B).

Rysunek 3-46. Metoda dyfuzyjno-krążkowa - krążki Kirby-Bauera	
	
Badanie wrażliwości bakterii (<i>Staphylococcus aureus</i>) na antybiotyki	
Bacterial lawn 01.jpg http://pl.wikipedia.org/w/index.php? ^[323] MarcoTolo at en.wikipedia	Staphylococcus aureus (AB test).jpg http://en.wikipedia.org/w/index.php? ^[324] Public Domain Contributors: CDC /Provider: Don Stalons
Bauer, R.W.; Kirby, M.D.K.; Sherris, J.C.; Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by standard single disc diffusion method. <i>Amer. J. Clin. Pathol.</i> 1966, 45: 493-496. ^[322]	

Metody rozcieńczeniowe pozwalają na określenie minimalnego stężenia antybiotyku (MIC) hamującego wzrost bakterii. Seryjne rozcieńczenia antybiotyku przygotowuje się w podłożu płynnym lub podłożu agarowym, do których dodaje się odpowiednie *inoculum* i inkubuje.



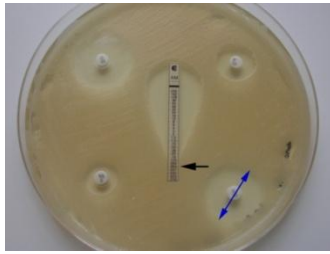
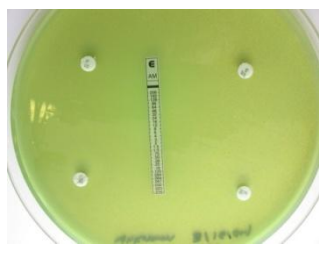
Metoda seryjnych rozcieńczeń na podłożu płynnym polega na przygotowaniu serii probówek z płynnym podłożem wzrostowym dla bakterii. Do probówek dodaje się badanego środka bakteriobójczego w odpowiednich, malejących stężeniach. Do każdej probówki dodaje się taką samą ilość zawiesiny danego drobnoustroju z hodowli. Po 16-18 godzinnej inkubacji w temperaturze 35 °C sprawdza się, w których probówkach rozwinęły się hodowle (obserwuje się zmętnienie w probówkach). W probówkach, w których stężenie leku było mniejsze od wartości MIC obserwuje się zmętnienie (wzrost bakterii) (Rys. 3-45.). Najniższe stężenie antybiotyku, przy którym nie rozwijają się mikroorganizmy wyznacza wartość MIC.

Metoda seryjnych rozcieńczeń na podłożu stałym (z agarem) polega na przygotowaniu serii płytek ze stałym podłożem wzrostowym, z dodatkiem badanego antybiotyku, w malejących stężeniach. Na płytki posiewa się bakterie z hodowli i po inkubacji obserwuje wzrost kolonii bakteryjnych. Wzrost na płytce więcej niż jednej kolonii bakteryjnej świadczy o tym, że stężenie antybiotyku w tej płytce było mniejsze od MIC. Najniższe stężenie antybiotyku, przy którym nie rozwija się więcej niż jedna kolonia, wyznacza wartość MIC.

Rysunek 3-47. Metoda seryjnych rozcieńczeń na podłożu płynnym	
<p>Czynnik antybakteryjny</p> <p>1.0 ml 1.0 ml 1.0 ml 1.0 ml 1.0 ml 1.0 ml 1.0 ml</p> <p>medium 9.0 ml</p> <p>Inkubacja-wzrost kolonii bakterii</p> <p>Najmniejsze stężenie hamujące wzrost</p>	
Wyznaczenie MIC w serii probówek	Wyznaczenie MIC w 96-dołkowej płytce <small>MIC microbroth dilution.jpg http://pl.wikipedia.org/w/index.php?title=MIC_microbroth_dilution.jpg^[325] Creative Commons Attribution 3.0 Autorzy: Microrao</small>

E-test (Etest, Epsilometer test) - gradientowo-dyfuzyjna metoda służąca do ustalenia najmniejszego stężenia antybiotyku hamującego wzrost drobnoustroju która łączy dyfuzję antybiotyku w agarze i ilościowe określenie stężenia hamującego MIC. Etest[®] został wprowadzony do handlu w 1991 r. przez AB Biodisk^[326]. Metoda ta polega na nałożeniu wąskiego plastikowego paska nasączonego antybiotykiem o stężeniu wzrastającym wzdłuż

paska, na wysiane bakterie, inkubację w odpowiednich warunkach oraz odczytanie wyniku po około jednej dobie (Rys. 3-48.). Dzięki opisanej technice możliwe jest dokładne ustalenie stopnia oporności na dany lek i podawanie pacjentowi optymalnych dawek.

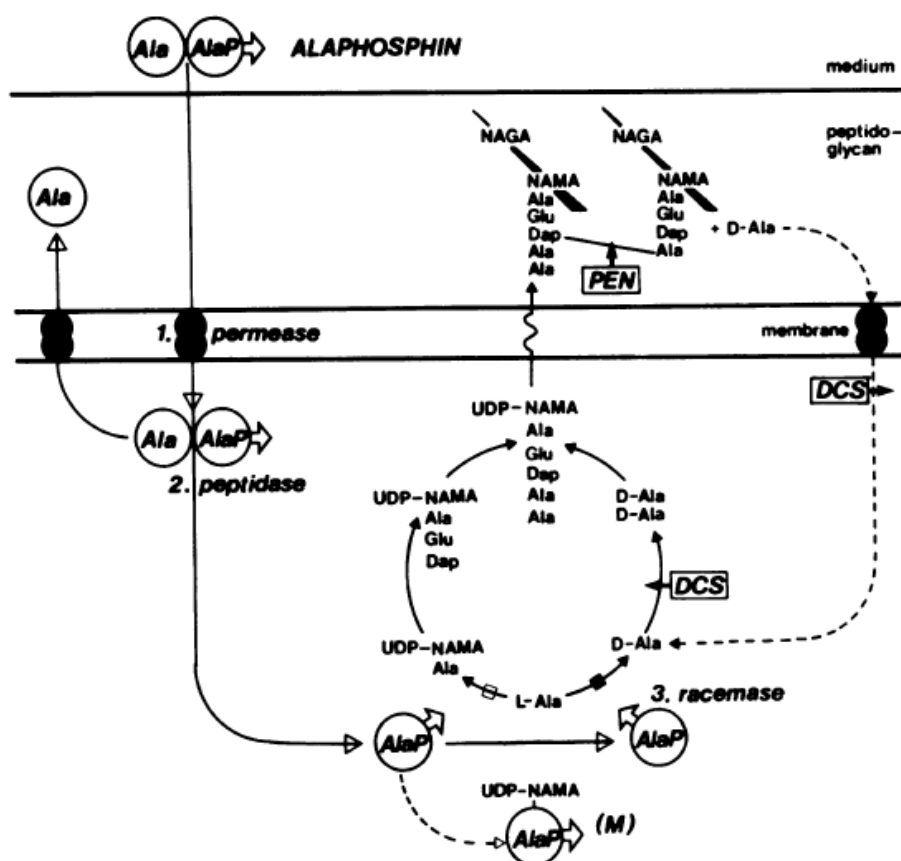
<p>Rysunek 3-48. Zasada działania E-testu</p> 		
<p>Rys. 3-48.1. Pasek nasączony antybiotykiem. Poniżej antybiogramy z paskami E-test oraz porównanie</p>		
		
<p>Rys. 3-46.2. E-test dla <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (dwoinka rzeżączki) Wyznaczenie MIC: strefa inhibicji przecina pasek Etest®</p>	<p>Rys. 3-46.3. Płytką z typowymi strefami inhibicji antybiogramów: dla tradycyjnego dysku Kirby-Bauer'a i gradientowego paska Etest. Wyznaczenie MIC: E-test: strefa inhibicji przecina pasek Etest® (←). Test Kirby-Bauer'a: średnica okręgu inhibicji (↔).</p>	<p>Rys. 3-46.4. Zabarwiona płytka wzrostowa <i>Pseudomonas</i> (pałeczka ropy błękitnej) z dyskami Kirby-Bauer'a i gradientowym paskiem Etest. <i>Bakteria</i> uwalnia zielony pigment do medium. Antybiogram wskazuje na oporność szczepu na stosowane antybiotyki.</p>
<p>Grafika: E-test Ngono.jpg [327] http://pl.wikipedia.org/w/index.php?title=Plik:E-test_Ngono.jpg Licencja: GNU Free Documentation License Autorzy: A doubt, Louve.pl, Philippinj!</p>	<p>Spilatro, S.R. spilatrs@marietta.edu. [328]</p>	

Porównania metod oznaczania MIC dokonano w szeregu prac ostatnich dwóch dekad [Joyce i w-cy, 1992^[329]; NCCLS, 1997^[330]; Kelly i w-cy, 1999^[331]; Mc Gowan&Wise, 2001^[332]].

3.4.2. BADANIA BIOLOGICZNE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

Wysoka aktywność inhibycyjna kwasów 1-aminoalkilofosfonowych w stosunku do enzymów szlaków metabolicznych aminokwasów naturalnych (Tab. 2-5.) kontrastuje z niską aktywnością antybakteryjną tych związków. Efekt ten wiązano z niską zdolnością penetracyjną AA^P , które w warunkach fizjologicznych występują w formie dianionowej.

Badania grupy Atherthona [Hoffmann La Roche (UK)]^[67] dotyczące antybiotycznych właściwości $AlaAla^P$ i innych mieszanych fosfonopeptydów (Tab.: 3-37., 3-38.) wykazały, iż istotnym etapem warunkującym aktywność tych związków jest transport aktywny peptydu przez ściankę komórkową bakterii (Rys. 3-49.).



Rysunek 3-49. Mechanizm działania $Ala-Ala^P$ wg. Allena

Symbole: $Ala-Ala^P$ - *alafosfina*; DCS - D-cykloseryna; PEN - penicylina; NAGA, N-acetylo-glukozamina; M - metabolit M Ala^P .

[Allen, J.G.; Atherton, F.R.; Hall, M.J.; Hassall, C.H.; Holmes, S.W.; Lambert, R.W.; Nisbet, L.J.; Ringrose, P.S. Phosphonopeptides, a New class of synthetic antibacterial agents. Nature 272 (1978) 56-58]^[66]

Przetransportowany do wnętrza komórki bakteryjnej peptyd ulega hydrolizie uwalniając kwas 1-aminoalkilofosfonowy [w przypadku fosfonoalaniny (Ala-Ala^P)], wpływający na metabolizm komórki bakteryjnej.

Tabela 3-37. Antybakteryjne spektrum <i>in vitro</i> Ala-Ala ^P				
Bakteria*	ID ₅₀ (bulion) [μgml ⁻¹]	MIC (agar) [μgml ⁻¹]		
	Ala-Ala ^P	Ala-Ala ^P	Penicilin G	Ampicillin
<i>Escherichia coli</i> E 73	0,05	0,06	16	2
<i>Escherichia coli</i> E 30	0,10	0,06	> 256	> 256
<i>Klebsiella aerogenes</i> K5	0,5	0,5	32	32
<i>Streptococcus faecalis</i> S98	1,0	> 256	0,25	> 256
<i>Micrococcus</i> NCTC 7526	1,0	2	< 0,12	< 0,12
<i>Enterobacter</i> E98	1,3	4	> 256	> 256
<i>Serratia marcescens</i> S42	1,4	4	64	8
<i>Serratia albus</i> S228	1,6	4	< 0,12	< 0,12
<i>Salmonella typhimurium</i> S394	1,7	8	4	0,5
<i>Citrobacter</i> C4	2,4	2	16	4
<i>Staphylococcus aureus</i> Schoch S13	3,4	8	< 0,12	< 0,12
<i>Providencia</i> P131	2,6	4	16	32
<i>Shigella flexneri</i> S466	ND	0,25	8	1
<i>Haemophilus influenzae</i> H34A	ND	16	0,5	0,4
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> N3	ND	16	< 0,12	< 0,12
<i>Bacillus subtilis</i> B8	140	16	< 0,12	< 0,12
<i>Proteus mirabilis</i> P92	11	> 256	4	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC1B 8295	26	> 256	> 256	> 256
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ND	> 256	< 0,12	< 0,12

ID₅₀ oznaczano metodą rozcieńczania w bulionie: W przybliżeniu 10⁶ komórek było zaszczipionych do aminokwasowego medium (5 ml) zawierającego kolejne dwukrotne rozcieńczenia Ala-Ala^P i inkubowano przez 18h w 37° C;

MICs oznaczano metodą rozcieńczania w agarze: w przybliżeniu 10⁴ komórek było zaszczipionych powierzchniowo do aminokwasowego medium zawierającego kolejne dwukrotne rozcieńczenia Ala-Ala^P i inkubowano przez 18h w 37° C;

MIC – minimalne stężenie inhibicyjne (inhibicja > 99.9% *inoculum*);

ID₅₀ – stężenie związku które inhibituje 50% wzrostu bakterii w stosunku do wzrostu w próbie kontrolnej;

ND – nie oznaczano (Not Determined)

[Allen, J.G.; Atherton, F.R.; Hall, M.J.; Hassall, C.H.; Holmes, S.W.; Lambert, R.W.; Nisbet, L.J.; Ringrose, P.S. Phosphonopeptides, a New class of synthetic antibacterial agents. *Nature* 1978, 272, 56-58^[66]]

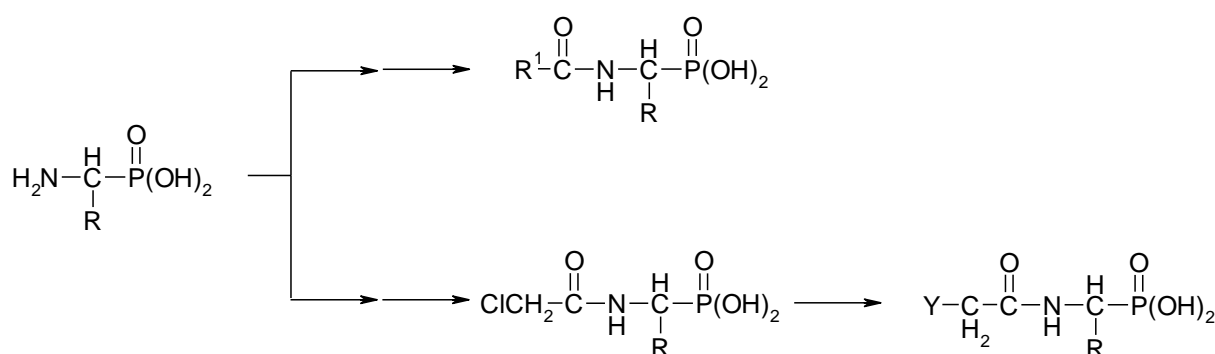
Tabela 3-38. Wpływ stereochemii mieszanych fosfopeptydów (Ala) _n -Ala ^P na aktywność antybakteryjną (MIC ₅₀ [μgml ⁻¹])									
(Ala) _n -Ala ^P (konfiguracja) vs. bakteria	Ala-Ala ^P		(Ala) ₂ -Ala ^P		(Ala) ₃ -Ala ^P			(Ala) ₄ -Ala ^P	
	LL	LLL	DLL	LLD	LLLL	DLLL	LLLD	DLLD	DLLLL
<i>Escherichia coli</i> NCTC 10418	0,25	0,25	≥256	≥256	0,1	4	≥256	≥256	4
<i>Klebsiella aerogenes</i> K5	0,25	0,12	≥256	≥256	0,5	32	≥256	≥256	16
<i>Staphylococcus aureus</i> NC1B 8625	16	32	≥256	≥256	128	≥256	≥256	≥256	≥256
<i>Streptococcus faecalis</i> S98	2	0,06	128	32	0,25	32	32	64	≥256
<i>Haemophilus influenzae</i> NCTC 4560	16	0,01	128	128	0,01	64	32	64	0,5

Dla (Ala)_n-Ala^P o konfiguracji: LDL, DLD, LDD, DLLL - MIC₅₀ ≥256 μg/ml.

[Allen, J.G.; Atherton, F.R.; Hall, M.J.; Hassall, C.H.; Holmes, S.W.; Lambert, R.W.; Nisbet, L.J.; Ringrose, P.S. Phosphono-peptides, a New class of synthetic antibacterial agents. *Nature* 1978, 272, 56-58 ^[66]]

3.4.3. BADANIA WŁASNE NAD BAKTERIOBÓJCZYMI WŁASNOŚCIAMI AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

Ponieważ, w naszym zespole opracowano wcześniej metody łatwych konwersji kwasów 1-aminoalkilofosfonowych do ich *N*-acylo pochodnych (Sch. 3-24.), podjęto badania nad określeniem aktywności antybakteryjnej tych związków.



Schemat 3-24. Konwersja kwasów 1-aminoalkilofosfonowych do odpowiadających kwasów 1-(*N*-acyloamino)alkilofosfonowych i/lub mieszanych dipeptydów

Wyniki badań nad inhibicją wzrostu komórek *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* (Rys. 3-51) działaniem kwasów 1-(*N*-acyloamino)alkilofosfonowych i mieszanych dipeptydów

zestawiono w Tabelach: 3-39., 3-40., 3-41. oraz przedstawiono graficznie na Rysunkach: 3-52., 3-53.

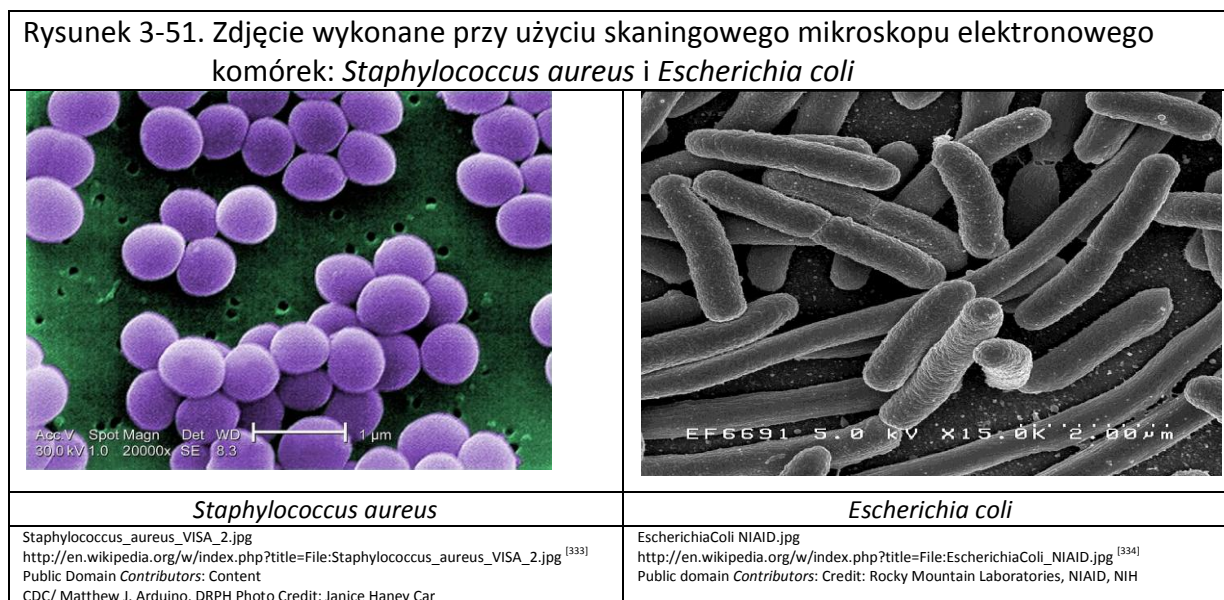


Tabela 3-39. Wyniki badań po zastosowaniu metody krążkowo - dyfuzyjnej

Badany związek		Stężenie		Wielkość strefy zahamowania wzrostu [mm]	
Struktura	Masa Molowa	[μg/ml]	[μmol/ml]	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Gly-Gly ^P	168,1	30,6	0,182	brak	brak
Me-Gly-Gly ^P (×H ₂ O)	200,2	53,9	0,269	brak	brak
Me ₂ -Gly-Gly ^P (×2H ₂ O)	230,2	53,9	0,234	brak	brak
Gly-Ala ^P (×H ₂ O)	200,1	53,9	0,27	brak	brak
Me-Gly-Ala ^P (×H ₂ O)	214,1	53,9	0,252	brak	brak
Gly-Pgly ^P (×H ₂ O)	262,2	54,0	0,206	brak	brak
H ₂ N-Gly-Val ^P (×H ₂ O)	245,2	53,9	0,22	brak	brak
Ac-Met ^P	227,2	54,0	0,238	brak	brak

Tabela 3-40. Zestawienie wyników badań zdolności antybakteryjnych 1-(*N*-acyloamino)-alkilofosfonowych, uzyskanych w wyniku pomiaru mętności zawiesiny bakteryjnej

Badany związek		Stężenie związku		<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Escherichia coli</i>		
Struktura	Masa Mol.	[μg/ml]	[μmol/ml]	Gęstość zawiesiny bakteryjnej w skali McFarlanda w czasie odczytu					
				"0"	5 h	24 h	"0"	5 h	24 h
Ac-Gly ^P	153,1	2,13	0,014	0,4	1,0	4,0	0,4	3,9	5,6
Ac-Ala ^P	167,1	2,66	0,016	0,5	0,9	5,6	0,5	0,8	4,0
Ac-Hal ^P	181,1	3,02	0,017	0,5	0,8	3,5	0,4	3,7	6,5
Ac-Nval ^P	195,2	2,76	0,014	0,5	0,8	5,0	0,5	4,6	5,7
Ac-Val ^P	195,2	2,20	0,011	0,5	1,3	5,3	0,5	4,7	5,6
		2,20	0,011	0,5	1,2	5,7	0,4	4,6	5,6
Ac-Met ^P	227,2	2,14	0,0091	0,5	1,3	5,6	0,5	5,0	5,9
Ac-Pgly ^P	229,2	2,06	0,0089	0,5	1,2	7,6	0,5	5,2	6,1
Ac-Phe ^P	243,2	2,12	0,0087	0,4	0,8	5,3	0,4	4,8	5,9
próba odniesienia		0,0	0,0	0,5	0,7	5,5	0,5	5,6	5,3
	dodatek H ₂ O								

Rysunek 3-52. Charakterystyka zdolności antybakteryjnych 1-(*N*-acyloamino) alkilofosfonowych, uzyskanych w wyniku pomiaru mętności zawiesiny bakteryjnej (skala McFarlanda)

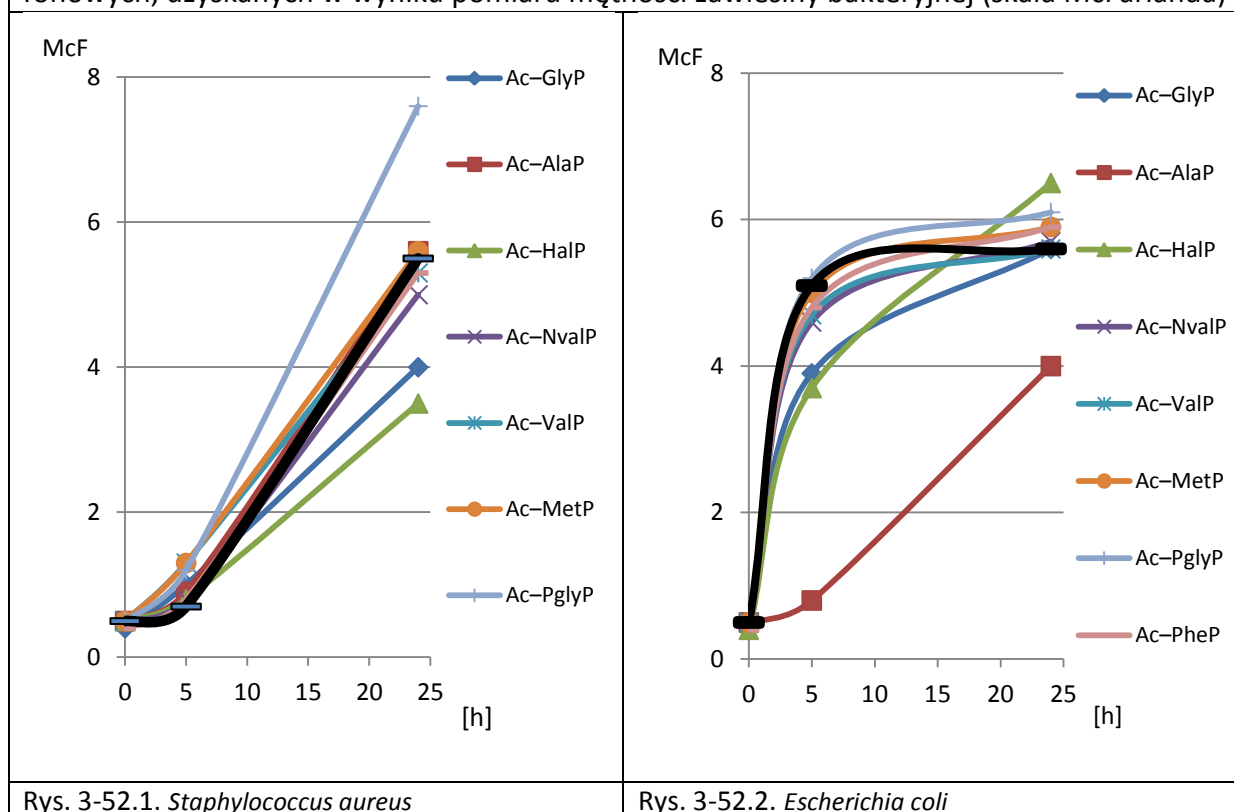
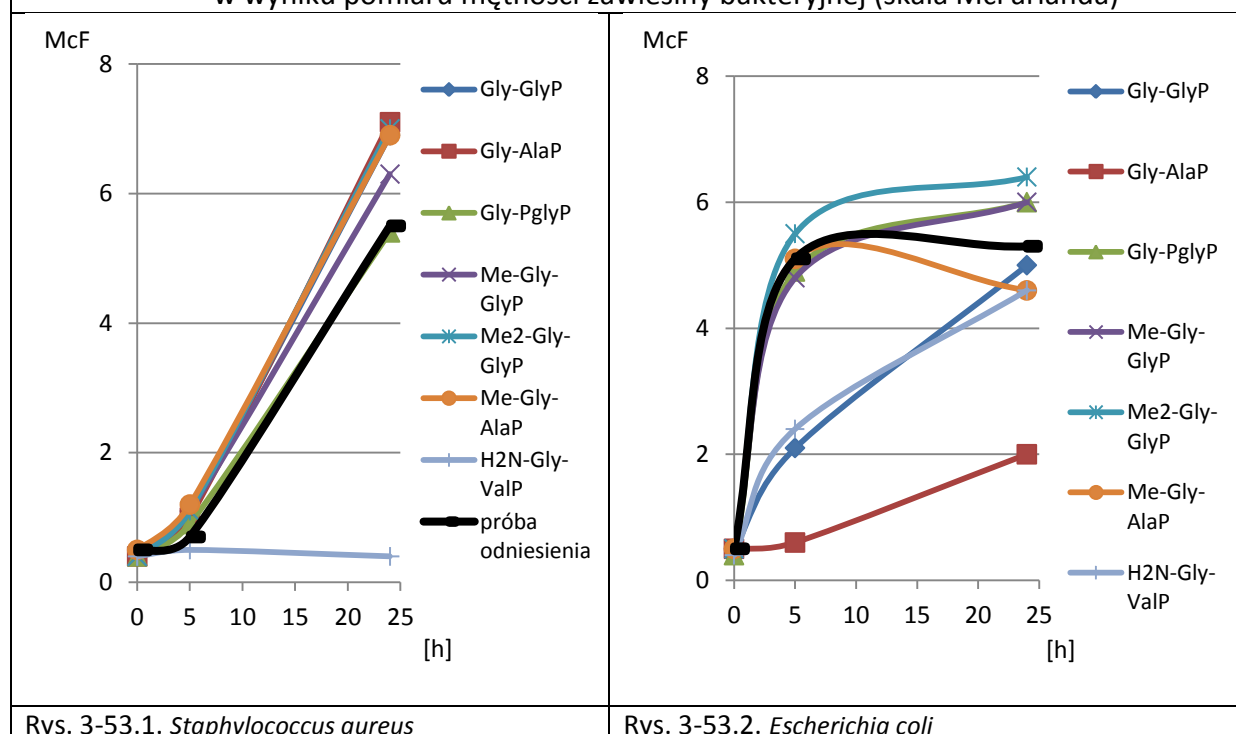


Tabela 3-41. Zestawienie wyników badań, zdolności antybakteryjnych fosfonodipeptydów, uzyskanych w wyniku pomiaru mętności zawiesiny bakteryjnej

Badany związek		Stężenie związku		<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Escherichia coli</i>		
Struktura	Masa Mol.	[μg/ml]	[μmol/ml]	Gęstość zawiesiny bakteryjnej w skali Mc Farlanda w czasie odczytu					
				"0"	5 h	24 h	"0"	5 h	24 h
Gly-Gly ^P	168,1	3,05	0,018	0,4	1,1	6,9	0,5	2,1	5,0
Gly-Ala ^P (×H ₂ O)	200,1	5,39	0,027	0,4	1,0	7,1	0,5	0,6	2,0
Gly-Pgly ^P (×H ₂ O)	262,2	5,40	0,021	0,4	0,9	5,4	0,4	4,9	6,0
Me-Gly-Gly ^P (×H ₂ O)	200,2	5,39	0,027	0,4	1,1	6,3	0,5	4,8	6,0
Me ₂ -Gly-Gly ^P (×2H ₂ O)	230,2	5,39	0,023	0,4	1,1	7,0	0,5	5,5	6,4
Me-Gly-Ala ^P (×H ₂ O)	214,1	5,39	0,025	0,5	1,2	6,9	0,5	5,1	4,6
H ₂ N-Gly-Val ^P (×H ₂ O)	245,2	5,39	0,022	0,4	0,5	0,4	0,4	2,4	4,6
próba odniesienia		0,0	0,0	0,5	0,7	5,5	0,5	5,6	5,3
		dodatek H ₂ O							

Rysunek 3-53. Charakterystyka zdolności antybakteryjnych N-Fosfodipeptydów, uzyskanych w wyniku pomiaru mętności zawiesiny bakteryjnej (skala McFarlanda)



Badania opisane powyżej zostały wykonane w celu potwierdzenia lub wykluczenia bioaktywnych właściwości testowanych związków - cech biobójczych i biostatycznych (zahamowania wzrostu namnażania komórek bakteryjnych).

Wyniki zawarte w Tabeli 3-41. wskazują, że najwyższą aktywność szczególnie wobec bakterii *Staphylococcus aureus* (w porównaniu ze wzrostem tej samej bakterii w próbie odniesienia), wykazuje związek H₂N-Gly-Val^P (o stężeniu: 5,39 µg/ml; 0,022 µmol/ml). Po 5-godzinym oraz 24-godzinnym kontakcie peptydu H₂N-Gly-Val^P z zawiesiną szczepu *Staphylococcus aureus* nie występowało namnażanie komórek bakteryjnych, wartość mętności pozostała na tym samym poziomie jak na początku doświadczenia, co mogłoby wskazywać nawet na właściwości biobójcze tego związku.

Związek Gly-Ala^P (o stężeniu: 5,39 µg/ml; 0,027 µmol/ml) wykazał, największy wpływ na użyty do testu szczep bakterii Gram (-) *Escherichia coli*, zahamował namnażanie bakterii o ponad 50% w stosunku do zmierzonej mętności w próbie odniesienia, co można uznać za działanie bakteriostatyczne wobec tego szczepu bakterii.

Kwasy 1-(N-acetyloamino)alkilofosfonowe: Ac-Ala^P, Ac-Gly^P, Ac-Hal^P, wpłynęły także w niewielkim stopniu na zahamowanie wzrostu bakterii *Escherichia coli* (Ac-Ala^P) i *Staphylococcus aureus* (Ac-Gly^P, Ac-Hal^P), jednak stężenia badanych związków (odpowiednio: 2,66; 2,13; 3,02 mg/l) były prawie dwukrotnie mniejsze niż peptydów AGV i AG.

Z przeprowadzonych badań wynika, że pozostałe przetestowane związki wpływały stymulująco na wzrost bakterii. Mętność inkubowanych roztworów była wyższa niż w próbie odniesienia.

Uzyskane wyniki sugerują kontynuację badań, w tym przeprowadzenie badań w kilku powtórzeniach i ze zwiększonym stężeniem badanych peptydów.

Badania aktywności biologicznej wyżej wymienionych związków przeprowadzono a następnie zaprezentowano na konferencji EPF 2011:

Kudzin M.H., Kudzin Z.H., Drabowicz J.: *Derivatives of aminoalkylphosphonic acids and glycyloaminoalkylphosphonic acids as antibacterial additives in biopolymers*. European Polymer Congress EPF-2011; Grenada 2011.06.26. ^[335]

4. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

4.1. BADANIA SYNTETYCZNE

4.1.1. ROZTWORY I REAGENTY

Odczynniki:

Tabela 4-1. Odczynniki wykorzystane w części eksperymentalnej							
Nr.	Odczynniki	MW	Temperatura		d [g/ml]	Czyst. [%] / Stęż. [M]	Firma
			t. t. [°C]	t. w. [°C/mm Hg]			
1.	Aldehydy i ketony						
1.1.	Metanal (formalina – 37% aq.)	30,0			1,09	37%	Aldrich
1.2.	Paraformaldehyd	(30,0) _n	175			95%	Aldrich
1.3.	Etanal	44,1	-125	21	0,785	99,5%	Aldrich
1.4.	Propanal	58,1	-81	46-50	0,805	97%	Aldrich
1.5.	Butanal	72,1	-96	75	0,80	98%	Aldrich
1.6.	Pentanal	86,1	-92	102-103	0,81	97%	Aldrich
1.7.	Ald. benzoesowy (benzaldehyd)	106,1	-26	178-179	1,044	98%	Aldrich
1.8.	2-Metylobenzaldehyd	120,2		199-200	1,039	97%	Aldrich
1.9.	3-Metylobenzaldehyd	120,2		80-82 /0,01	1,019	97%	Aldrich
1.10.	4-Metylobenzaldehyd	120,2		80-85 /0,01	1,019	97%	Aldrich
1.11.	2-Nitrobenzaldehyd	151,12	42-44			98%	Aldrich
1.12.	3- Nitrobenzaldehyd	151,12	53-58			99%	Aldrich
1.13.	4- Nitrobenzaldehyd	151,12	103-106			98%	Aldrich
1.14.	2-Chlorobenzaldehyd	140,57	9-11	209-215	1,248	99%	Aldrich
1.15.	4- Bromobenzaldehyd	185,02	55-58			99%	Aldrich
1.16.	4- Nitylobenzaldehyd	131,13	100-102	133/12		95%	Aldrich
1.17.	2,4,5-Trimetylobenzaldehyd (Aldehyd mesytylowy)	148,2	10-12	237	1,006	98%	Aldrich
1.18.	Ald. 1-naftoesowy (1-naftalaldehyd)	156,18	1-2	160-161/15	1,15	95%	Aldrich
1.19.	Ald. 2-naftoesowy (2-naftalaldehyd)	156,18	58-61			98%	Aldrich
1.20.	Aceton	58,1	-94	56	0,791	99,5%	Aldrich
1.21.	Cykloheksanon	98,1	-47	155	0,947	99,5%	Aldrich
	EtOH		-115	78			
	iPrOH		-86	83			
2.	Kwasy i bezwodniki kwasowe						
2.1.	Kwas octowy	60,1	16,2	117-118	1,049	99%	Aldrich
2.2.	Kwas trifluorooctowy	114,0	-15,4	72,4	1,489	99%	Aldrich
2.3.	Kwas chlorooctowy	94,5	60-63	189		99%	Aldrich
2.4.	Bezwodnik octowy	102,1	-73	138-140	1,08	99%	Aldrich
2.5.	Bezwodnik chlorooctowy	171,0	48-60	120-123		95%	Aldrich

Tabela 4-1. (c.d.). Odczynniki wykorzystane w części eksperymentalnej							
Nr.	Odczynniki	MW	Temperatura		d [g/ml]	Czyst. [%] / Stęż. M]	Firma
			t. t. [°C]	t. w. [°C/ mm Hg]			
3.	Zasady azotowe						
3.1.	Amoniak (25% aq)	17,1			0,910	13,3M/ 10M ^a	Aldrich
3.2.	Metyloamina (40% aq)	31,1			0,897	11,5M/ 10M ^a	Aldrich
3.3.	Metyloamina (33% w EtOH)	31,1			0,756	4,9M	Aldrich
3.4.	Metyloamina - 2M roztw. w THF	31,1			0,861	2M	Aldrich
3.5.	Etyloamina - 2M roztw. w THF	45,1			0,856	2M	Aldrich
3.6.	Dimetyloamina (40% aq)	45,1			0,89	7,9M/ 8,0M ^b	Aldrich
3.7.	Dimetyloamina 2M roztw. w MeOH	45,1			0,775	2M	Aldrich
3.8.	Trietyloamina	101,2	-115	89	0,726	99%	Aldrich
3.9.	tert-Butyloamina	73,1	-67	46	0,696	98%	Aldrich
3.10.	Hydrazyna (80% aq.)	32,0			1,040	26M	Aldrich
4.	Związki fosforu						
4.1.	Trichlorek fosforu	137,3	-112	74-78	1,574	99%	Aldrich
4.2.	Fosforyn dietylowy	138,1		50-51 /2	1,072	99%	Aldrich
4.3.	Fosforyn trifenylowy	310,3	22- 24	360	1,184	97%	Aldrich
5.	Inne						
5.1.	Izotiocyanian fenylowy	135,2	-23	218	1,132	99%	Aldrich
5.2.	Benzamid	121,1	125- 128		1,34	99%	Aldrich
5.3.	Dekalina	138,3	-125	189-91	0,896	97%	Aldrich
5.4.	2,4-Dinitrofenylohydrazyna	198,14	197- 200			97%	Aldrich
5.5.	Ninhydryna	178,14	250			95%	Aldrich
5.6.	Dowex [®] 50Wx8 (50-100 mesh)						Aldrich

Roztwory amoniaku i amin poddano miareczkowaniu alkacymetrycznemu uzyskując: dla NH₃ i MeNH₂ stężenie ok. ^a/10M; b – dla dimetyloaminy ^b/8 M.

Inne odczynniki i rozpuszczalniki zakupiono w firmie POCH.

Kwasy fosfonowe i aminokwasy:

Kwasy: metylofosfonowy, 2-fosfonoetanowy, 3-fosfonopropanowy zakupione w firmie Aldrich^[336].

Aminokwasy fosfonowe: 2-aminoetylofosfonowy (2-Ala^P), 3-aminopropylofosfonowy (3-Hala^P), 4-amino-butylofosfonowy (4-Nval^P), 3-aminopropylo-1-hydrokso-1,1-difosfonowy (PAM), 4-aminobutylo-1-hydrokso-1,1-difosfonowy (ALN) zostały zakupione w firmie Sigma^[337].

Kwasy 1-aminoalkilofosfonowe: Ala^P; Hala^P; Nval^P; Val^P; Nleu^P; Leu^P; Ileu^P; ^tLeu^P; Met^P; Eth^P; Hphe^P zostały otrzymane wcześniej w Zespole i posiadały czystość analityczną.

Kwasy: 1-hydroksypropanofosfonowy; 1-aminopropyl-1,1-difosfonowy (Hal^{P,P}); 1-aminobutyl-1,1-difosfonowy (Nval^{P,P}) zostały otrzymane wcześniej w Zespole i posiadały czystość analityczną.

Roztwory:

- roztwór ninhydryny:

Do kolby miarowej (50 ml) wsypano naważkę ninhydryny (1,0 g), po czym wiano porcjami butanol wysycany wodą do rozpuszczenia wskaźnika. Roztwór uzupełniono *do kreski* butanolem.

- roztwór molibdenianowy:

Do kolby miarowej (100 ml) przeniesiono roztwór molibdenianu amonowego (1,0 g), w wodzie (40 ml), dodano stężonego kwasu solnego (12 M; 3 ml), następnie roztwór kwasu nadchlorowego (70%, 5 ml). Roztwór po ochłodzeniu do temperatury pokojowej uzupełniono „do kreski” acetonem.

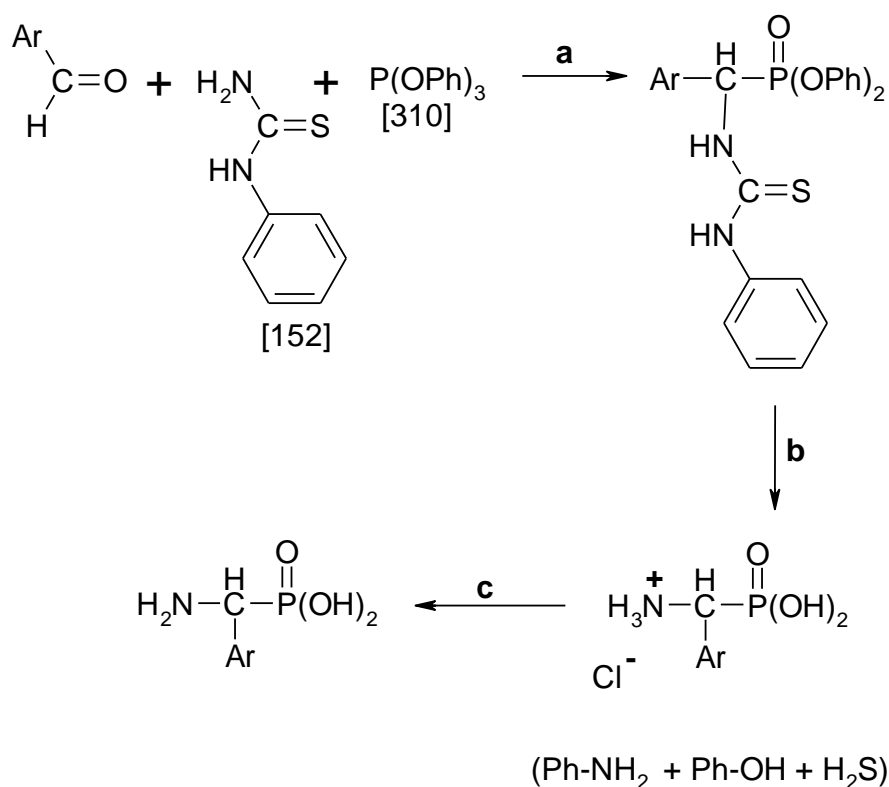
Temperatury topnienia wyznaczono w kapilarze, w aparacie Melt-Temp II (Laboratory Devices, USA).

Miareczkowanie potencjometryczne AA^P było przeprowadzone na drodze pH-metrycznego miareczkowania za pomocą automatycznego titratora EMU-meter (Politechnika Wrocławska, Polska) sterowanego komputerem PC (Elwro, Polska), wyposażonego w elektrodę szklano-kalomelową OP-0808 P (Radelkis). Elektroda była wykalibrowana przez użycie wzorcowych roztworów pH (2 < pH < 10), odczyty pH-metru mogły być odnoszone do stężenia jonów wodorowych. We wszystkich przypadkach, temperatura wynosiła 20°C (±0,25)°C. Dokładne stężenia aminokwasów i pochodnych w roztworach były oznaczane przez miareczkowanie w próbkach objętości 4 ml.

**4.1.2. PRACE ZWIĄZANE Z SYNTEZĄ/RESYNTEZĄ MODELOWYCH KWASÓW
AMINOALKILOFOSFONOWYCH**

**4.1.2.1. SYNTEZA KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH WG METODY
TIUREIDOALKANO-FOSFONIANOWEJ**

Kwasy 1-aminoalkilofosfonowe otrzymywano wg metody tioureidoalkanofosfonianowej [Kudzin&Stec, 1978] ^[171].



a: AcOH; b: AcOH/H₂O/HCl, temp. wrzenia; c: tlenek propylenu/etanol

Schemat 4-1. Synteza kwasów 1-aminoalkanofosfonowych wg metody tioureidoalkanofosfonianowej

Procedura

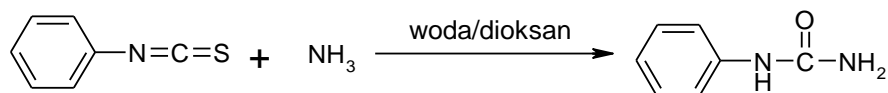
Reakcję (etap a) przeprowadzono w zestawie reakcyjnym złożonym z kolby Erlenmeyera (250 ml) zamykanej szczelnie korkiem, mieszadła magnetycznego oraz z łaźni olejowej z regulacją temperatury. W kolbie umieszczano kolejno kwas octowy lodowaty (50 ml), aldehyd (0,06 mola) i *N*-fenylotiomocznik (0,05 mola, 7,60 g). Mieszaninę mieszano w temp.

50-60 °C do uzyskania homogenicznego roztworu, po czym dodawano fosforyn trifenylowy (0,05 mola, 15,50 g), mieszaninę ogrzewano w temp. 50-60°C przez 1 h i pozostawiono w temp. pokojowej przez 12 h. Wydzielone kryształy odpowiednich tioureidoalkanofosfonianów odsączano, przemywano kwasem octowym i wykorzystywano do syntezy kwasów 1-aminoalkanofosfonowych (etap b). Dla potrzeb charakteryzacji - próbkę tioureidoalkanofosfonianu (1,0 g) rekrystalizowano z układu chloroform-heptan (5:1) i suszono w eksykatorze próżniowym nad pięciotlenkiem fosforu.

Proces kwasowej degradacji *N*-fenylotioureidoalkanofosfonianów do odpowiadających kwasów 1-aminoalkanofosfonowych (etap b) przeprowadzono w zestawie złożonym z kolby okrągłodennej (500 ml), zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i płaszcz elektryczny. Ze względu na wydzielanie się podczas degradacji ugrupowania tiomocznikowego toksycznego siarkowodoru, wylot chłodnicy połączony był z płuczką zawierającą roztwór wodorotlenku sodu. W kolbie umieszczano kwas octowy (100 ml), następnie wsypywano tioureidoalkanofosfonian (0,04 mola), zawartość kolby ogrzewano do homogenizacji. Do roztworu dodawano porcjami, przez wlot chłodnicy zwrotnej, stężony roztwór kwasu chlorowodorowego (200 ml), ogrzewając mieszaninę do wrzenia w czasie 10 h. Po schłodzeniu z mieszaniny reakcyjnej ekstrahowano fenol za pomocą benzenu (3x20 ml), a warstwę wodną zatężano przez ewaporację pod obniżonym ciśnieniem, po czym stałą pozostałość rozpuszczano w alkoholu etylowym (50 ml). Alkoholowy roztwór chlorowodoroków aminokwasów fosfonowych (etap c) traktowano tlenkiem propylenu w temp. ~ 0°C, wydzielone kryształy odsączano po 3 h, przemywano etanolem i eterem dietylowym, po czym suszono w eksykatorze próżniowym nad pięciotlenkiem fosforu. Charakterystykę otrzymanych pochodnych arylowych fosfonoglicyny ArGly^P przedstawiono w Tabeli 4-2.

4.1.2.1.1. SYNTEZA *N*-FENYLOTIOMOCZNIKA

N-Fenylotiomocznik otrzymywano na drodze addycji amoniaku do izotiocyanianu fenylu zgodnie ze Schematem 4-2.














Schemat 4-2. Synteza *N*-fenylotiomocznika

Procedura

Reakcje przeprowadzono w kolbie stożkowej (500 ml), zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne. W kolbie umieszczano kolejno: roztwór wodny amoniaku (200 ml, 25% aq., 10M) i dioksan (100 ml), po czym podczas intensywnego mieszania wkraplano izotiocyanian fenylu (100 g). Mieszaninę reagentów mieszano w temperaturze pokojowej dodatkowo przez 1 h, po czym odstawiano na 24 h. Utworzone kryształy *N*-fenylotiomocznika dekantowano, rozdrabniano w moździerzu, po czym ponownie zalewano roztworem amoniaku (z dekantacji). Mieszaninę pozostawiano na 24 h, otrzymany osad odsączano, przemywano na lejku roztworem amoniaku (1:1, 5 M), metanolem i eterem dietylowym. Kryształy *N*-fenylo-tiomocznika suszono na powietrzu (24 h), po czym w eksykatorze próżniowym nad stałym wodorotlenkiem potasu i pięćtlenkiem fosforu. Otrzymano *N*-fenylotiomocznik (105 g; 93%) homogeniczny na TLC, o temperaturze topnienia 147-150°C (145-150°C^[334]), który użyto do dalszych syntez bez dodatkowego oczyszczania.

Tabela 4-2. Zestawienie otrzymanych kwasów 1-amino-1-arylometano-fosfonowych (Ar-Gly^P) oraz pośrednich tioureidoalkanofosfonianów [Ptc-ArGly^P(OPh)₂]

R		Ptc-ArGly ^P (OPh) ₂			Ar-Gly ^P					
Struktura	Symbol	Wyd. [%]	T. t. [°C]	³¹ P NMR [CDCl ₃]	AA ^P	Wyd. [%] ^a (Isol.)	T. t. [°C]		³¹ P NMR	
							Wyz n.	Lit.	2N HCl	2N KOH
	Ph-	85	169-170	15,0	Pgly ^P	80	268-270	269-271 ^[171] 279-281 ^[338]		17,9
	2-Me-Ph-	82	139-142	15,4	2-Me-Pgly ^P	90	234-236	264-267 ^[339]	13,4	19,2
	3-Me-Ph-	86	154-158	15,7	3-Me-Pgly ^P	90	280-282	282-285 ^[339]	13,2	18,6
	4-Me-Ph-	90	192-195 ^(R)	15,5	4-Me-Pgly ^P	97	276-278	278-279 ^[172] 274-277 ^[181] 266-267 ^[340]	13,3	18,7
	1-Nph-	40	182-184	15,5	1-Npgly ^P	75	238-240	249-251 ^[176]	13,0	18,8
	2-Nph-	70	177-179	15,5	2-Npgly ^P	91	250-253	252-254 ^[176] 307-308 ^[239]	12,9	18,4
	2-Cl-Ph-	81	130-134	13,7	2-Cl-Pgly ^P	49	235-237	247-248 ^[339]	11,8	18,0
	4-Br-Ph-	68	177-179	13,7	4-Br-Pgly ^P		266-269	268-272 ^[176] 290-296 ^[339]		18,1
	2-O ₂ N-Ph-	68	164-166	12,5	2-O ₂ N-Pgl ^P	45	245-248	236-239 ^[282]	10,8	17,2
	3-O ₂ N-Ph-	76	146-149	13,0	3-O ₂ N-Pgl ^P	99	231-233	272-274 ^[181]	11,2	17,1
	4-O ₂ N-Ph-	34	164-167	12,7	4-O ₂ N-Pgl ^P	37	223-224	234-238 ^[181] 236-239 ^[252]	10,9	16,8

³¹P NMR: δ(P), ppm. ^a/Wydajności wg. ³¹P NMR około 100%

Wyniki analizy elementarnej nowych kwasów 1-aminoarylometylo-1-fosfonowych (4-HO₂C-Pgly^P i 2,4,6-Me₃-Pgly^P) przedstawiono w Tabeli 4.3.

Tabela 4-3. Wyniki analizy elementarnej nowych kwasów 1-aminoarylometylo-1-fosfonowych									
AA ^P			M.M. ozn. ^{/a}	Wyniki Analizy Elementarnej					
Symbol	Struktura	Wz. sumaryczny [MM]		C		H		N	
			Licz.	Ozn.	Licz.	Ozn.	Licz.	Ozn.	
4-HO ₂ C-Pgly ^P		C ₈ H ₁₀ NPO ₅ [231,18]	230,0	41,56	41,26; 41,32	4,33	4,29; 4,41	6,06	6,08; 6,11
2,4,6-Me ₃ -Pgly ^P		C ₁₀ H ₁₆ NPO ₃ [229,13]	238,0	52,40	50,51; 50,64	6,70	7,04; 7,10	6,11	5,97; 5,99
	2,4,6-Me ₃ -Pgly ^P × 0,5 H ₂ O	C ₁₀ H ₁₇ NPO _{3,5} [238,2]		50,37		7,22		5,89	

^{/a/}Wyznaczono za pomocą miareczkowania alkacymetrycznego

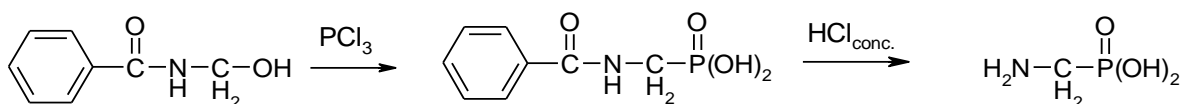
Tabela 4-4. Charakterystyka nowych kwasów 1-aminoarylometylo-1-fosfonowych			
R-AA ^P	Temp. topn. ^{/a}	NMR [ppm]	
		³¹ P NMR ^{/a}	¹ H NMR ^{/b}
4-HO ₂ C-Pgly ^P	282-284°C	18,2	Nie rozpuszczalny w układzie TFA-CDCl ₃
2,4,6-Me ₃ -Pgly ^P	152-154°C	19,6	2,28 (s, 3H, Ph-CH ₃); 2,37 (s, 3H, Ph-CH ₃); 2,52 (s, 3H, Ph-CH ₃); 5,45 (d, J=25,6Hz, 1H, CH-P); 6,95 (s, 1Har); 6,98 (s, 1Har); 7,55-7,75 (bs, 3H, NH ₃)

^{/a/}0,1M roztwór w 2 M KOH;
^{/b/}0,1M roztwór w TFA-CDCl₃ (1:1)

4.1.2.2. SYNTEZA KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH METODĄ PIKLA-OLEKSYSZYNA

4.1.2.2.1. SYNTEZA KWASU 1-AMINOMETYLOFOSFONOWEGO

Kwas 1-aminometylofosfonowy otrzymano wg procedury Soroki, wychodząc z hydroksymetylobenzamidu i trichloru fosforu ^[213] (Sch. 4.3.).



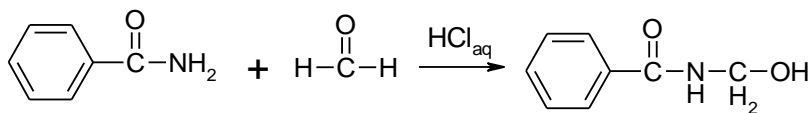
Schemat 4-3. Synteza kwasu 1-aminometylofosfonowego wg procedury Soroki [Soroka, 1989]^[213]

Procedura

Do mieszaniny *N*-(hydroksymetylo)benzamidu (15,1 g; 0,10 mola) w bezwodnym kwasie octowym (20 ml), wdroplono w temperaturze 10-25°C, przy intensywnym mieszaniu, świeżo przedestylowany trichlorek fosforu (8,75 ml; 0,10 mola). Mieszaninę ogrzewano do wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 1 h, po czym poddawano ewaporacji pod obniżonym ciśnieniem (60°C/10-20 mm Hg), dodawano stężony roztwór kwasu chlorowodorowego (12 M_{aq}; 50 ml), i mieszaninę ogrzewano do wrzenia przez 8 h. Po ochłodzeniu, odsączono wydzielony kwas benzoesowy i filtrat poddawano ewaporacji pod obniżonym ciśnieniem (jw.). Pozostałość rozpuszczano we wrzącej wodzie (20 ml), następnie roztwór stopniowo rozcieńczano metanolem (100 ml). Roztwór traktowano dodatkowo tlenkiem propylenu do uzyskania pH ~ 5-6, umieszczano w lodówce na 24 h i wydzielone kryształy kwasu aminometylofosfonowego odsączano, przemywano metanolem i suszono w eksykatorze próżniowym. Surowy aminokwas (ok. 10,0 g) oczyszczano na kolumnie z wymiennicem jonowym Dowex 50Wx8, stosując elucję wodą. Otrzymany kwas aminometylofosfonowy (7-8 g; 0,056 mola; 56%) był homogeniczny w ¹H NMR i ³¹P NMR [w roztworach TFA-CDCl₃ (1:1)].

4.1.2.2.1.1. SYNTEZA *N*-(HYDROKSYMETYLO)BENZAMIDU

Wyjściowy *N*-(hydroksymetylo)benzamid otrzymywano wg procedury Hellmanna^[341], w wyniku reakcji benzamidu i aldehydu mrówkowego (Sch. 4-4.).

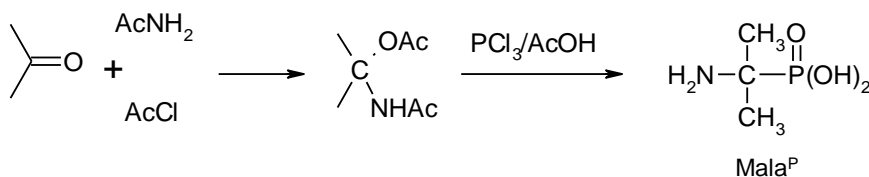


Schemat 4-4. Reakcja tworzenia *N*-(hydroksymetylo)benzamidu wg procedury Hellmanna^[341]

Procedura

Benzamid (60,5 g, 0,50 mola), mieszano z wodnym roztworem (70 ml) węglanu potasu (2 g), dodawano roztwór formaliny (40 g; 40%) i mieszaninę ogrzewano do wrzenia pod chłodnicą zwrotną, do pełnej homogenizacji. Roztwór odstawiono na 24 h w temperaturze pokojowej, odsączano wydzielone kryształy produktu i poddawano rekrytalizacji z etanolu. Otrzymano *N*-(hydroksymetylo)benzamid (60 g; 0,4 mola; 80%), homogeniczny na TLC związek (temp. topn. 96-98°C; 95-100°C)^[334], który wykorzystano w syntezie kwasu aminometylofosfonowego (4.1.3.2.).

4.1.2.2.2. SYNTEZA KWASU 1-AMINO-1-METYLOETANOFOSFONOWEGO



Schemat 4-5. Reakcja tworzenia kwasów 1-amino-1-alkiloalkilo-1-fosfonowych [Soroka, 1987]^[2]

Procedura

Do roztworu 11,8 g (0,2 mola) acetamidu w 25 ml kwasu octowego wkroplono, przy intensywnym mieszaniu i chłodzeniu w łaźni lodowej 7,85 g (0,1 mola) chlorku acetylu z taką szybkością, aby temperatura mieszaniny nie przekraczała 20 °C. Po kilku minutach wypada biały osad. Po wkropleniu chlorku acetylu do mieszaniny poreakcyjnej dodano w tej samej

temperaturze 0,1 mola związku karbonylowego (acetonu – 5,8 g, cykloheksanolu – 9,8 g), po czym mieszano jeszcze kilka minut. Do otrzymanego w ten sposób surowego octanu *N*-acetamidokarbinolu dodano 13,7 g (0,1 mola) trichlorku fosforu, po czym mieszano roztwór przez godzinę w temperaturze pokojowej.

Mieszaninę reakcyjną poddano ewaporacji, a pozostałość hydrolizuje, ogrzewając do wrzenia z 50 ml 12 M kwasu solnego pod chłodnicą zwrotną w czasie 8 godzin. Hydrolizat poddano ewaporacji, a z pozostałości ekstrahowano chlorowodorek aminokwasu za pomocą 50 ml etanolu. Osad chlorku amonu oddzielono przez filtrację, a następnie przemywano dwiema porcjami, po 10 ml, etanolu. Z połączonych przesączy wytrącono aminokwas przez dodanie tlenku propylenu (6 ml). Mieszaninę pozostawiono do krystalizacji w lodówce na dwie doby, po czym aminokwas odsączono i przemyto etanolem (3 × 10 ml).

Otrzymano:

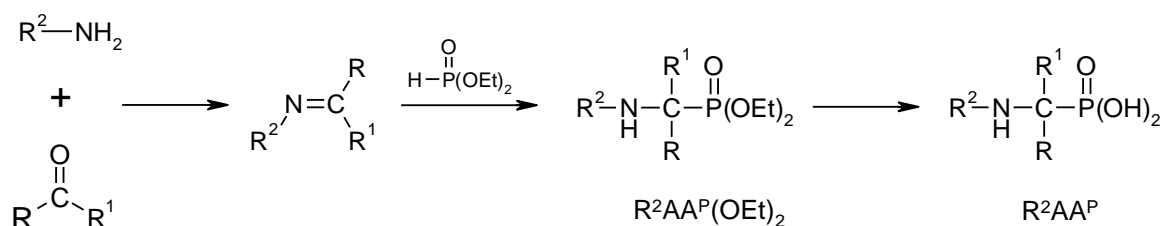
Mala^P [139,1]: 12,5 g białego krystalicznego kwasu 1-amino-1-metylo-etanofosfonowego (90%) o temp. topn. 260-262 °C (z rozkładem); (265-268°C [Soroka, 1987] ^[2]).

¹H NMR (TFA-CDCl₃, 1:1) 1,72 (d, 6H, J=14,40 Hz, N⁺-C(CH₃)₂-P); 7,1-7,3 (bs, 3H, C-N⁺H₃).

1-ACh^P [179,1]: 14,3 g białego krystalicznego kwasu 1-amino-cykloheksylo-1-fosfonowego (80%) o temp. topn. 260-262 °C (264-265 °C [Soroka, 1987] ^[2]).

¹H NMR (TFA-CDCl₃, 1:1) 1,72(d, 6H, J=14.40 Hz, N⁺-C(CH₃)₂-P); 7,1-7,3 (bs, 3H, C-N⁺H₃).

4.1.2.3. SYNTEZA KWASÓW 1-(*N*-ALKILOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH (R-AA^P)



Schemat 4-6. Synteza R-AA^P na drodze hydrofosforylowania imin

Procedura

Do roztworu aldehydu (0,05 mola) w THF (10 ml) i roztworu alkiloaminy w THF (ok. 2 M, 50 ml), (Tab. 4-5.) dodawano bezwodny węgiel potasu (1,0 g) i mieszaninę reakcyjną utrzymywano w temperaturze pokojowej w czasie 48 h. Roztwór przesączano, ewaporowano w temp. pokojowej i pozostałość rozpuszczano w bezwodnym etanolu (50 ml), zawierającym EtONa (0,1 mole) i dodawano fosforyn dietylowy (0,06 mola, 8,3 g) (Tab. 4-4.). Mieszaninę reakcyjną trzymano w temp. pokojowej przez 48 h, następnie odparowywano w próżni (20 mm Hg przy 30°C, 0,3 mm Hg przy 70°C). Pozostałość rozpuszczano w AcOH (100 ml), roztwór rozcieńczano HCl (100 ml, 33%, 10 M) i ogrzewano do wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 10 h. Hydrolizat odparowywano w próżni [20 mm Hg przy 30°C do 70°C], rozpuszczano w wodzie (10 ml) i oczyszczano na drodze chromatografii jonowo-wymiennej (Dowex-50W-H₂O).

Tabela 4-5. Synteza kwasów 1-(*N*-alkiloamino)alkilofosfonowych

$ \begin{array}{c} \text{R}^1 \quad \text{O} \\ \quad \parallel \\ \text{R}^2\text{-N}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \\ \text{R} \end{array} $	Reagenty do syntezy <i>O,O</i> -dietylo 1-(<i>N</i> -alkiloamino)alkilofosfonianów* [mmole]								
	Aminy			Związki karbonylowe				Fosforyn (EtO) ₂ P-(O)H	Wyd. Izol. AA ^P /*
	Me-NH ₂	Et-NH ₂	tBu-NH ₂	Me-C(O)H	Et-C(O)H	Ph-C(O)H	Me ₂ CO		
Me-Hal ^P	0,1				0,05			0,06	65%
Et-Hal ^P		0,1			0,05			0,06	60%
Et-Mal ^P		0,1					0,05	0,06	50%
tBu-Ala ^P			0,1	0,05				0,06	70%
Me-Pgl ^P	0,1					0,05		0,06	70%

*Utworzone *O,O*-dietylo 1-(*N*-alkiloamino)alkilofosfoniany poddawano degradacji hydrolitycznej do aminokwasów które izolowano na drodze chromatografii jonowymiennej

Charakterystykę analityczną nowych kwasów 1-(*N*-alkiloamino)alkilofosfonowych przedstawiono w Tabelach: 4-6., 4-7.

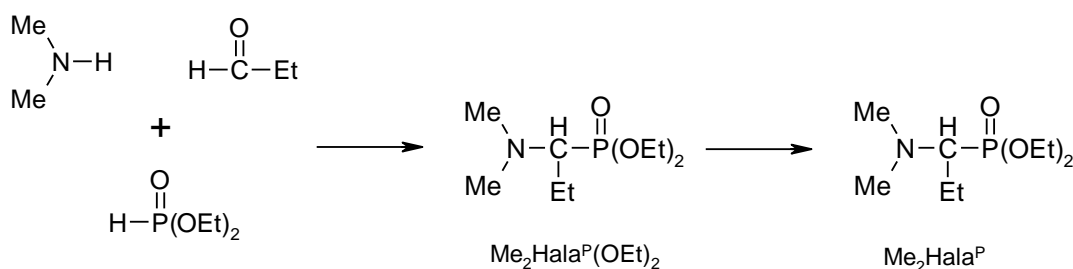
Tabela 4-6. Analiza elementarna nowych kwasów 1-(<i>N</i> -alkiloamino)alkilofosfonowych									
AA ^P			M.M. ozn. ^{/a}	Wyniki Analizy Elementarnej					
Symbol	Struktura	Wz. sumaryczny [MM]		C		H		N	
			Licz.	Ozn.	Licz.	Ozn.	Licz.	Ozn.	
tBu-Ala ^P		C ₆ H ₁₆ NPO ₃ [181,18]	185,0	39,78	39,22; 39,28	8,84	8,76; 8,81	7,73	7,15; 7,26
	tBu-Ala ^P × 0,5H ₂ O	C ₆ H _{16,5} NPO _{3,25} [185,7]		38,77		8,93		7,54	
Me-Hala ^P		C ₄ H ₁₂ NPO ₃ [153,13]	153,0	31,37	31,10; 31,24	7,84	8,01; 8,02	9,15	9,10; 9,15
Et-Hala ^P		C ₅ H ₁₄ NPO ₃ [167,15]	175,1	35,93	33,72; 33,86	8,38	8,74; 8,76	8,38	8,00; 8,07
	Et-Hala ^P × 0,5H ₂ O	C ₅ H _{15,5} NPO _{3,5} [176,2]		34,05		8,57		7,95	
Et-Mala ^P		C ₅ H ₁₄ NPO ₃ [167,15]	186,3	35,93	32,12; 32,28	8,38	8,75; 8,73	8,38	7,56; 7,58
	Et-Mala ^P × H ₂ O	C ₅ H ₁₆ NPO ₄ [185,2]		32,43		8,64		7,56	

^{a/} Wyznaczono na drodze miareczkowania alkacymetrycznego aminokwasu

Tabela 4-7. Charakterystyka nowych kwasów 1-(<i>N</i> -alkiloamino)alkilofosfonowych			
R-AA ^P	Temp. topn. ^{/a}	NMR [ppm] ^{/b}	
		³¹ P	¹ H NMR
Me-Hal ^P	224-226	16,43	1,23 (t, J=7,5Hz, 3H, CH ₃ CH ₂); 2,05-2,20 (m, 2H); 3,07 (t, J=5,64Hz, 3H, CH ₃ N ⁺ H ₂); 3,55-3,65 (m, 1H, CH); 7,30-7,40 (m, 1H, CH ₃ N ⁺ H ₂); 7,50-7,70 (m, 1H, CH ₃ N ⁺ H ₂)
Et-Hal ^P	231-233	16,61	1,22 (t, J=7,53Hz, 3H, CH ₃ CH ₂); 1,50 (t, J=7,26Hz, 3H, CH ₃ N ⁺ H ₂); 2,01-2,24 (m, 2H); 3,40-3,48 (m, 1H, CH); 3,38-3,60 (m, 2H); 7,15-7,30 (m, 1H, CH ₂ N ⁺ H ₂); 7,35-7,50 (m, 1H, CH ₂ N ⁺ H ₂)
Et-Mal ^P	218-220	19,25	1,51 (t, J=7,23Hz, 3H, CH ₃ CH ₂); 1,64 [d, J=14,7Hz, 6H, (CH ₃) ₂ C-P]; 3,28-3,35 (m, 2H, CH ₃ CH ₂); 7,3-7,4 (bs, 2H, Et-N ⁺ H ₂)
tBu-Ala ^P	224-226	17,52	1,60 [s, 9H, (CH ₃) ₃ C]; 1,745 (d, J=7,2Hz, 3H, CH ₃ -CH); 3,7-3,8 (m, 1H, CH-P); 6-6-6,7 (bs, 1H, NH); 7,3-7,5 (bs, 1H, NH)
Me-Pgl ^P	272-276 242-245 ^{/[342]}	12,51	2,91 (t, 3H, J=10,3Hz, 3H, CH ₃ -N ⁺ H ₂); 4,48-4,76 (m, 1H, CH-P); 7,45-7,50 (m, 2H _{Ar}); 7,52-7,58 (m, 3H _{Ar}); 7,77-7,88 (bs, NH); 8,1-8,2 (bs, NH)

^{a/} Temperatura topnienia/rozkładu.
^{b/} Roztwory ok. 0,2 M AA^P w TFA-CDCl₃ (1:1)

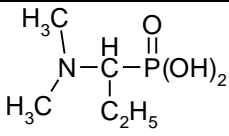
4.1.2.4. SYNTEZA KWASÓW 1-(*N,N*-DIMETYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH ($\text{Me}_2\text{-AA}^{\text{P}}$)



Schemat 4-7. Synteza $\text{Me}_2\text{Hala}^{\text{P}}$

Procedura

Do kolby okrągłodennej (500 ml) wprowadzano kolejno 2 M roztwór dimetyloaminy w metanolu (0,05 mola; 25 ml), fosforyn dietylowy (0,05 mola, 7,8 g) i aldehyd propionowy (0,05 mola, 2,9 g). Mieszaninę reakcyjną pozostawiono na 24 h w temperaturze pokojowej, po czym roztwór poddawano ewaporacji (20 mm Hg w 30-70°C i 0,03 mm Hg w 30-70°C). Pozostałość rozpuszczano w AcOH (100 ml), rozcieńczano 10 M HCl (33% aq., 100 ml) i ogrzewano do wrzenia w czasie 10 h. Hydrolizat poddawano ewaporacji (warunki j.w.), oleistą pozostałość rozpuszczano w wodzie (100 ml) i ponownie poddawano ewaporacji. Pozostałość rozpuszczano w wodzie (10 ml) i наносono na kolumnę zawierającą wymienniczkę jonową Dowex 50W (100 ml). Elucję prowadzono wodą, zbierając frakcje objętości 20 ml. Frakcje wykazujące pozytywny wynik z testem molibdenianowym (niebieskie zabarwienie) łączono i poddawano ewaporacji (warunki j.w.) do suchej pozostałości. Otrzymano 12,4 g aminokwasu (70%) w postaci białego proszku. Dane analityczne $\text{Me}_2\text{Hala}^{\text{P}}$ zestawiono w Tabelach: 4-8., 4-9.

Tabela 4-8. Synteza kwasów 1-(<i>N</i> -alkilamino)alkilofosfonowych									
AA ^P			M.M. ozn. ^a	Wyniki Analizy Elementarnej					
Symbol	Struktura	Wz. sumaryczny [MM]		C		H		N	
			Licz.	Ozn.	Licz.	Ozn.	Licz.	Ozn.	
Me ₂ Hala ^P		C ₅ H ₁₄ NPO ₃ [167,145]	171,0	35,93	34,86; 35,06	8,38	8,15; 8,31	8,38	8,20; 8,24
	Me ₂ Hala ^P × 0,25 H ₂ O	C ₅ H _{14,5} NPO _{3,25} [171,7]		34,94		8,50		8,19	

^{a/} Wyznaczono no drodze miareczkowania alkacymetrycznego aminokwasu

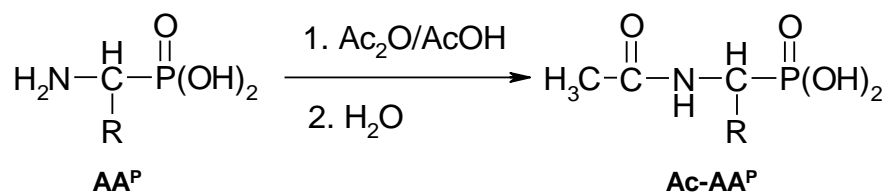
Tabela 4-9. Dane analityczne Me ₂ Hala ^P			
Symbol	Temp. topn.	NMR [ppm] ^a	
		³¹ P	¹ H
Me ₂ Hala ^P	204-207°C	15,2	1,24 (t, J=Hz, 3H, CH ₃ CH ₂); 1,95-2,15 (m, 2H, CH ₃ CH ₂); 3,02 [d, J=5,22Hz, 3H, (CH ₃) ₂ N ⁺ H]; 3,13 [d, J=5,04Hz, 3H, (CH ₃) ₂ N ⁺ H]; 3,55-3,62 (m, 1H, CH-P); 8,0-8,2 [bs, 1H, (CH ₃) ₂ N ⁺ H]

^{a/} 0,1M roztwór Me₂Hala^P w TFA-CDCl₃ (1:1)

4.1.3. SYNTEZA POCHODNYCH *N*-ACYLOWYCH KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH

4.1.3.1. ACYLOWANIE KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH BEZWODNIKAMI KWASOWYMI

Kwasy 1-aminoalkilofosfonowe poddawano *N*-acetylowaniu działaniem bezwodnika octowego, zgodnie z ogólnym Schematem 4-8.



Schemat 4-8. Synteza kwasów 1-(*N*-acetyloamino)alkilofosfonowych

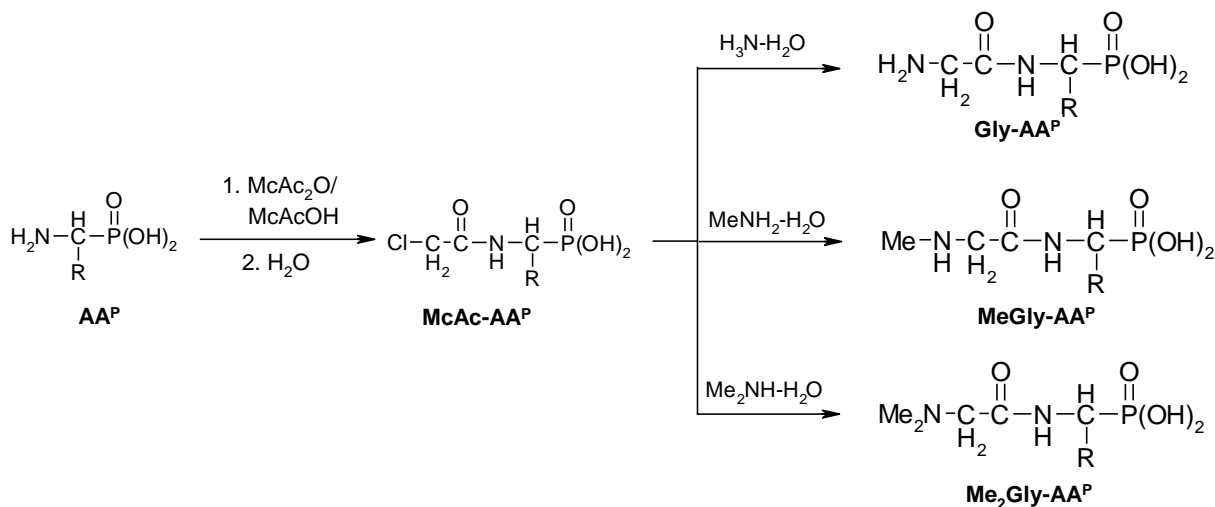
Procedura

Próbkę aminokwasu AA^P (1 mmol) dodawano do mieszaniny kwasu octowego i jego bezwodnika (10 ml, 1:1, v/v), mieszaninę reakcyjną mieszano w temp. 100°C, do rozpuszczenia aminokwasu (30 min.). Utworzony roztwór poddawano ewaporacji (50°C, 10-20 mm Hg), oleistą pozostałość rozpuszczano w wodzie (20 ml) i ponownie poddawano ewaporacji. Podczas zateżenia wydzielaly się krystaliczne, czyste kwasy 1-(N-acetyloamino)-alkilo-fosfonowe (Ac-AA^P), które po odsączeniu suszono w eksykatorze próżniowym nad stałym KOH (48 h). Próbki były homogeniczne w ³¹P NMR i ¹H NMR (Tabela 4-10.). Masy uzyskanych 1-(N-acetyloamino)alkilofosfonowych wskazują na wydajności > 95% [Kudzin i w-cy., 2005]^[242].

Tabela 4-10. Charakterystyka otrzymanych kwasów 1-(N-acetyloamino)alkilofosfonowych			
Ac-AA ^P	Temp. topn. /°C	³¹ P NMR ^{a,b} δ [ppm]	¹ H NMR [TFA-CDCl ₃ (1:1)]
Ac-Gly ^P	185-187	20,1 ^{/a} ; 13,7 ^{/b}	2,32 [s, 3H, CH ₃ C(O)]; 3,75-4,25 (m, 2H, CH ₂ P); 7,90-8,20 [br s, 1H, NHCH ₂ P]
Ac-Ala ^P	127-129	23,0 ^{/a} ; 17,3 ^{/b}	1,57 (s, 3H, CH ₃ CHP); 2,36 [s, 3H, CH ₃ C(O)]; 4,50-4,80 (m, 1H, CHP); 8,82 (s, 1H, NHCHP)
Ac-Hal ^P	172-175	22,8 ^{/a} ; 17,0 ^{/b}	1,05 (t, J = 7,2 Hz, 3H, CH ₃ CH ₂ CHP); 1,75-1,81 (m, 1H, CH ₃ CH ₂ CH); 2,02-2,08 (m, 1H, CH ₃ CH ₂ CH); 2,32 [s, 3H, CH ₃ C(O)]; 4,26-4,46 (m, 1H, CHP); 7,55 (d, J = 15.1 Hz, 1H, NHCHP)
Ac-Nval ^P	181-183	22,9 ^{/a} ; 17,0 ^{/b}	0,95 (t, J = 7,2 Hz, 3H, CH ₃ CH ₂ CH ₂ CHP); 1,30-1,60 (m, 2H, CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH); 1,65-2,00 (m, 2H, CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH); 2,33 [s, 3H, CH ₃ C(O)]; 4,28-4,68 (m, 1H, CHP); 7,85-8,00 (m, 1H, NHCHP)
Ac-Val ^P	178-181	22,1 ^{/a} ; 16,1 ^{/b}	1,09 [d-d, J = 6,65, 6,80 Hz, 6H, (CH ₃) ₂ CHCHP]; 2,20-2,35 [(CH ₃) ₂ CHCH]; 2,35 [s, 3H, CH ₃ C(O)]; 4,32-4,48 (m, 1H, CHP); 7,95 (d, J = 9,4 Hz, 1H, NHCHP)
Ac-Met ^P	173-175	21,8 ^{/a} ; 15,6 ^{/b}	2,00-2,10 (m, 2H, CH ₃ SCH ₂ CH ₂ CHP); 2,15 (s, 3H, CH ₃ SCH ₂ CH ₂ CH); 2,30 [s, 3H, CH ₃ C(O)]; 2,50-2,75 (m, 1H, CH ₃ SCH ₂ CH ₂ CH); 2,60-2,85 (m, 1H, CH ₃ SCH ₂ CH ₂ CH); 4,55-4,80 (m, 1H, CHP); 7,85-8,00 (m, 1H, NHCHP)
Ac-Pgl ^P	201-203	18,2 ^{/a} ; 13,5 ^{/b}	2,37 [s, 3H, CH ₃ C(O)]; 5,40-6,00 (m, 1H, PhCHP); 7,20-7,50 (m, 5H _{ar}); 8,40-8,70 (br s, 1H, NHCHP)
Ac-Phe ^P	188-191	21,2 ^{/a} ; 15,8 ^{/b}	2,15 [s, 3H, CH ₃ C(O)]; 3,90-4,10 (m, 1H, PhCH ₂ CHP); 4,30-4,50 (m, 1H, PhCH ₂ CHP); 4,60-4,90 (m, 1H, CHP); 7,16-7,39 (m, 5H _{ar}); 7,80-8,00 (br s, 1H, NHCHP)

^{/a,b/}Widma wodnych 0,5M roztworów Ac-AA^P zawierające D₂O (10%) dla „locku” w 2M HCl (a) lub 2M NaOH (b);
^{/c/}Temp. topn. otrzymanych Ac-AA^P były zgodne z danymi z pracy [Kudzin et al., 2005]^[242]

**4.1.3.2. SYNTEZA KWAŚÓW 1-(N-CHLOROACETYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH
(Mca-AA^P) ORAZ 1-N-(GLICYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH
(Gly-AA^P, MeGly-AA^P I Me₂Gly-AA^P)**



Schemat 4-9. Schemat konwersji kwasów 1-aminoalkilofosfonowych do pochodnych fosfonopeptydów: Gly-AA^P, MeGly-AA^P i Me₂Gly-AA^P [Kudzin et al., 2005]^[244]

**4.1.3.2.1. SYNTEZA KWAŚÓW 1-(N-CHLOROACETYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH
(MCA-AA^P)**

Procedura

Próbkę aminokwasu AA^P (1 mmol) dodawano do mieszaniny kwasu chlorooctowego (1 mmol; 94,5 mg) i bezwodnika chlorooctowego (2 mmole; 342 mg), mieszaninę ogrzewano w temperaturze 80-85°C do rozpuszczenia, po czym dodatkowo 1 h. Po tym czasie mieszaninę reakcyjną chłodzono, rozpuszczano w eterze dietylowym (10 ml), dodawano wodę (10 ml) i całość mieszano w temp. pokojowej przez 15 min. Mieszaninę poddawano ewaporacji (25°C/10-20 mm Hg i 50°C/0,5 mm Hg), do oleistej pozostałości dodawano dekalinę (5 ml) i mieszaninę poddawano ewaporacji (50°C/10-20 mm Hg). Proces powtarzano dwukrotnie, dodawano bezwodnik trifluorooctowy (2 mmoli; 0,42 g), roztwór mieszano 0,5 h i poddawano ewaporacji (warunki jw.). Pozostałość rozpuszczano w wodzie (10 ml), poddawano ekstrakcji eterem naftowym (2 x 10 ml), warstwę wodną oczyszczano z węglem, po czym zatężano przez ewaporację (50 °C/10-20 mm Hg).

4.1.3.2.2. SYNTEZA KWASÓW 1-*N*-(GLICYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH (Gly-AA^P)

Procedura

Próbkę kwasu 1-(*N*-chloroacetyloamino)alkilofosfonowego (1 mmol) rozpuszczano w schłodzonym do temp. 0-5°C (łażnia lodowa) 10 M wodnym roztworze amoniaku (25%, 10 ml). Roztwór trzymano w temp. pokojowej przez 24 h, po czym poddawano ewaporacji pod obniżonym ciśnieniem (20°C/10 mm Hg). Pozostałość rozpuszczano w wodzie (10 ml) i roztwór wodny fosfopeptydu przepuszczano przez kolumnę z wymiennicem jonowym Dowex 50Wx4, stosując elucję wodą. Frakcje dające pozytywny wynik z ninhydriną (ninhidryno-pozytywne) łączono, zatężano do sucha na drodze ewaporacji pod obniżonym ciśnieniem (20°C/10-20 mm Hg), i suszono na linii próżniowej nad silikazalem (50°C/0,5 mm Hg).

4.1.3.2.3. SYNTEZA KWASÓW 1-*N*-(METYLOGLYCYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH (MeGly-AA^P)

Procedura

Próbkę kwasu 1-(*N*-chloroacetyloamino)alkilofosfonowego (1 mmol) rozpuszczano w schłodzonym do temp. 0-5°C (łażnia lodowa) 10 M wodnym roztworze metyloaminy (40% aq., 10 ml). Roztwór po ekspozycji w temp. pokojowej przez 24 h poddawano ewaporacji pod obniżonym ciśnieniem (20°C/10-20 mm Hg). Pozostałość rozpuszczano w wodzie (10 ml) i roztwór wodny fosfopeptydu przepuszczano przez kolumnę z wymiennicem jonowym Dowex 50Wx4, stosując elucję wodą. Frakcje dające pozytywny wynik z reagentem molibdenianowym (molibdeniano-pozytywne) łączono, zatężano do sucha na drodze ewaporacji pod obniżonym ciśnieniem (20°C/10-20 mm Hg), i suszono na linii próżniowej nad silikazalem (50°C/0,5 mm Hg).

4.1.3.2.4. SYNTEZA KWASÓW 1-N-(METYLOGLYCYLOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH

(MeGly-AA^P)

Procedura

Próbkę kwasu 1-(N-chloroacetyloamino)alkilofosfonowego (1 mmol) rozpuszczano w schłodzonym do temp. 0-5°C (łaźnia lodowa) 8 M wodnym roztworze dimetyloaminy (40% aq., 10 ml). Roztwór pozostawiono w temp. pokojowej na 24 h, po czym poddano ewaporacji pod obniżonym ciśnieniem (20°C/10-20 mm Hg). Pozostałość rozpuszczano w wodzie (10 ml) i roztwór wodny fosfonopeptydu przepuszczano przez kolumnę z wymiennicem jonowym Dowex 50Wx4, stosując elucję wodą. Frakcje dające pozytywny wynik z reagentem molibdenianowym (molibdeniano-pozytywne) łączono, zatężano do sucha na drodze ewaporacji pod obniżonym ciśnieniem (20°C/10-20 mm Hg) i suszono na linii próżniowej nad silikazalem (50°C/0,5 mm Hg).

Tabela 4-11. Wydajności i wybrane właściwości analityczne kwasów 1-(N-aminoacetylo-amino)alkilofosfonowych					
AA-AA ^P	Wyd. [%] ^a	T. t. [°C]	NMR δ [ppm]		
			³¹ P ^{b,c}		³¹ H ^d
			HCl	KOH	
Gly-Gly ^P	65	242-246	19,7	16,4	4,80-4,90 [m, 4H, H ₃ NCH ₂ C(O)-NHCH ₂ P(O)(OH) ₂]; 6,75-7,15 [br s, 3H, NH ₃ CH ₂ C(O)]; 7,50-7,60 [m, 1H, H ₃ NCH ₂ C(O)-NHCH ₂ P]
Gly-Ala ^P	40	216-218	22,8	17,2	1,11 [d-d, J = 7,4, 15,8 Hz, 3H, CH ₃ CH(NH)P(O)(OH) ₂]; 3,85-4,10 [m, 2H, H ₃ NCH ₂ C(O)NHCHP]; 4,37-4,63 [m, 1H, CH ₃ CH(NH)P]; 6,35-6,85 br s, 3H, H ₃ NCH ₂ C(O)-NHCHP]; 7,80 [d, J = 10,0 Hz, 1H, H ₃ NCH ₂ C(O)NHCHP]
Gly-Pgl ^P	58	244-246	17,6	13,5	3,40-3,75 [m, 1H, H ₃ NCH ₂ C(O)NHCHP(O)(OH) ₂]; 3,75-4,10 [m, 1H, H ₃ NCH ₂ C(O)NH]; 5,49 (dd, J = 8,9, 20,4 Hz, 1H, PhCHP); 6,55-6,91 [br s, 3H, H ₃ NCH ₂ C(O)] 7,10-7,25 (m, 5H _{ar}); 8,42-8,56 [m, 1H, C(O)NHCHP]
MeGly-Gly ^P	27	249-251	19,7	13,6	3,07 [t, J = 5,4 Hz, 3H, CH ₃ NH ₂ CH ₂ C(O)NHCH ₂ P(O) ₂ (OH)]; 4,06 [dd, J=6,0, 12,7 Hz, 2H, CH ₃ NH ₂ CH ₂ C(O)NH]; 4,19 [t (dd), J=5,4, 5,6 Hz, 2H, CH ₂ C(O)NHCH ₂ P]; 7,40-7,95 [br s, 2H, CH ₃ NH ₂ CH ₂ C(O)-NH]; 8,19 [s, 1H, CH ₃ NH ₂ CH ₂ C(O)NHCH ₂ P(O) ₂ (OH)]
MeGly-Ala ^P	29	188-190	22,7	17,7	1,67 [dd, J=5,9, 17,2 Hz, 3H, CH ₃ CH(NH)P(O)(OH) ₂]; 3,16 [s, 3H, CH ₃ NH ₂ CH ₂ C(O)]; 4,27 [s, 2H, CH ₃ NH ₂ CH ₂ -C(O)]; 4,60-5,00 (m, 1H, CHP); 7,50-7,90 [br s, 2H, CH ₃ NH ₂ CH ₂ -C(O)]; 8,02 [(d, J=8,4 Hz, 1H, H ₃ NCH ₂ C(O)-NHCHP]
Me ₂ Gly-Gly ^P	38	124-126	19,7	13,4	3,14 [d, J = 5,0 Hz, 6H, (CH ₃) ₂ NHCH ₂ C(O)NHCH ₂ -P(O)(OH) ₂]; 4,02 [dd, J=5,9, 13,0 Hz, 2H, (CH ₃) ₂ HNCH ₂ -C(O)NH]; 4,20 [d, J=5,1 Hz, 2H, C(O)NHCH ₂ P]; 7,90-6,15 [m, 1H, HNCH ₂ C(O)NHCH ₂ P]; 8,15-8,50 [br s, 1H, , (CH ₃) ₂ NHCH ₂ C(O)NH]

^a/Wydajności izol. związków
^{b-d}/ 0,2 M r-ry Gly-AA^P w: ^b/2M HCl; ^c/ 2M KOH; ^d/ TFA/CDCl₃ (1:1; v/v)

4.2. FIZYCZNE WŁAŚCIWOŚCI AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

4.2.1. WYZNACZANIE ROZPUSZCZALNOŚCI AMINOKWASÓW

Rozpuszczalność aminokwasów fosfonowych wyznaczano na podstawie oznaczania stężenia AA^P w próbkach roztworów nasyconych tych kwasów. Nasycanie przeprowadzono w mini-reaktorkach f-my Aldrich (*Screw-top V-vial*: Aldrich Z115065-5ml; Rys. 4-1.) zaopatrzonych w dipol magnetyczny (*spinvane* - Aldrich Z115177) oraz alternatywnie w w mini-reaktorkach f-my Aldrich (*Screw-top V-vial*: Aldrich Z115061-1ml) zaopatrzonych w dipol magnetyczny (*spinvane* - Aldrich Z115169).

Do otrzymywania nasyconych roztworów kwasów aminoalkilofosfonowych zastosowano dwie różne procedury:

- powolnej krystalizacji z przesyconego roztworu AA^P (Metoda A);
- sonikacji suspensji AA^P w wodzie (Metoda B).

Rysunek 4-1. Procedury i aparatura do przyrządzania nasyconych roztworów kwasów aminofosfonowych			
			
Metoda A		Metoda B	
Rozpuszczenie naważki AA ^P (Val ^P ; 50 mg) w wodzie (1 ml) w 80°C i powolna krystalizacja w gradiencie temp. do 25°C		Sonifikacja suspensji AA ^P (Val ^P ; 50 mg) w wodzie (1 ml) w 25°C	Odwirowanie suspensji AA ^P (Val ^P). Ekspozycja w 25°C

Metoda A – naważkę aminokwasu fosfonowego umieszczano w mini-reaktorze pojemności 5 ml, dodawano wodę (1,0 ml) i poddawano sonikacji w łaźni ultradźwiękowej przez okres 30 minut. Po tym okresie do reaktora wprowadzano dipol magnetyczny, zamykano naczynko i zawartość mieszano w temperaturze pokojowej przez okres 1 h. Po tym, zawartość reaktorka przenoszono do próbki Oppendorfa i poddawano odwirowaniu. Probówki

termostatowano w temp. $25^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ przez okres 48 h, po czym w rotworach supernatantu (0,1 ml) oznaczano aminokwas.

Metoda B - naważkę aminokwasu fosfonowego umieszczano w mini-reaktorze pojemności 5 ml, dodawano wodę (1,0 ml) i ogrzewano do 80°C przy mieszaniu przez okres 1 h, po czym pozostawiano do powolnego ostygnięcia do 30°C . Po pojawieniu się kryształów, reaktorki termostatowano w temp. $25^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ przez okres 48 h, po czym klarowny roztwór AA^P (znad fazy kryształów) poddawano oznaczeniu. W przypadku braku kryształów do reaktorka dodawano kolejną porcję AA^P i procedurę powtarzano aż do uzyskania przesylenia na zimno.

4.2.1.1. METODA MIARECZKOWANIA pH-METRYCZNEGO

Metodę poddano testowi na drodze oznaczeń stężenia przygotowanych z naważek, 0,2 M roztworów reprezentatywnych kwasów 1-aminoalkilofosfonowych i 1 M roztworów wzorców (MPA, KH_2PO_4) (Tab. 4-12.).

Kwasy fosfonowe		KH_2PO_4	MPA	Gly ^P	Ala ^P	Hala ^P	Val ^P	Mala ^P
Masy molowe		136,1	96	111,1	125,1	139,1	153,1	139,1
5 mmol	w 5ml	0,68 g	0,48g					
Odważono	w 5ml	0,68 g	0,48g					
Miano r. założone		1M	1M					
Miano r. rzeczywiste		0,97 M	0,56 M					
0,2 mmola	w 1ml			22 mg	25 mg	28 mg	30 mg	14 mg
Odważono	w 1ml			23 mg	26 mg	28 mg	30 mg	14 mg
Miano r. założone				0,2M	0,2 M	0,2 M	0,2M	0,1 M
Miano r. rzeczywiste				0,188 M	0,212 M	0,188 M	0,164 M	0,082 M

Wyniki oznaczeń (Tab. 4-12.1.) wskazują na występowanie badanych kwasów fosfonowych w postaci hydratów. Dosypanie do otrzymanych roztworów dodatkowych naważek MPA czy AA^P (Gly^P, Hala^P, Val^P) lub rozcieńczenie roztworów (Ala^P) prowadzi do roztworów o pożądanym stężeniu (Tab. 4-12.2.).

Kwasy fosfonowe	KH_2PO_4	MPA	Gly^{P}	Ala^{P}	Hala^{P}	Val^{P}	Mala^{P}
Struktura cząsteczki	M	$\text{M} \times 4 \text{H}_2\text{O}$	$\text{M} \times 0,5 \text{H}_2\text{O}$	M	$\text{M} \times 0,5 \text{H}_2\text{O}$	$\text{M} \times \text{H}_2\text{O}$	$\text{M} \times 0,5 \text{H}_2\text{O}$
Masy molowe	136,1	96	120	125,1	148	171	139,1
Dodatkowa naważka	20 mg	322 mg	2 mg	0,05ml H_2O	2 mg	5 mg	-
Ostateczne miano	1,00 M	0,99 M	0,201 M	0,20 M	0,20 M	0,20 M	0,081 M

4.2.1.2. METODA ^{31}P -NMR-OWA

Oznaczanie stężeń kwasów 1-aminoalkilofosfonowych na drodze porównania powierzchni sygnałów ^{31}P wzorca (MPA, $\text{K}_n\text{H}_{n-3}\text{PO}_4$) i oznaczanego AA^{P} (Gly^{P} , Ala^{P} , Hala^{P} , Nval^{P} , Val^{P} , Mal^{P} , etc.) wymaga wcześniejszej korelacji powierzchni sygnałów obu składników pary MPA- AA^{P} (lub $\text{K}_n\text{H}_{n-3}\text{PO}_4$ - AA^{P}).

4.2.1.2.1. BADANIA NAD KORELACJĄ POWIERZCHNI SYGNAŁÓW ^{31}P -NMR PAR STANDARD- AA^{P}

4.2.1.2.1.1. BADANIA NAD KORELACJĄ POWIERZCHNI SYGNAŁÓW ^{31}P -NMR PAR MPA- AA^{P}

Serię roztworów MPA- AA^{P} do badań nad korelacją powierzchni sygnałów przygotowano przez zmieszanie odpowiednich roztworów wg. klucza przedstawionego w Tabelach 4-13.

G-P (Gly^{P} -MPA)	MPA 0,195 M		Gly^{P} 0,2 M		KOH 10 M		EDTA 0,02 M	D_2O
	ml	g	ml	g	ml	g	ml	ml
G-P-1Z	0,100	0,104	0,100	0,102	0,10	0,142	0,050	0,160
G-P-2Z	0,100	0,105	0,070	0,072	0,10	0,202	0,050	0,200
G-P-3Z	0,100	0,106	0,260	0,268	0,10	0,137	0,050	0,100
	Do 0,26 x 0,2 M = 0,052 mMola				1 mMola			

A-P-Z (Ala ^P -MPA)	MPA 0,195 M		Ala ^P 0,2 M		KOH 10 M		EDTA 0,02 M	D ₂ O
	ml	g	ml	g	ml	g	ml	ml
A-P-1Z	0,100	0,104	0,100	0,102	0,10	0,149	0,050	0,150
A-P-2Z	0,100	0,105	0,200	0,207	0,10	0,137	0,050	0,050
A-P-3Z	0,100	0,104	0,300	0,312	0,10	0,146	0,050	-
0,2 ml x 0,2M do 0,4 ml x 0,2M (0,08 mMol)					1m Mol			

H-P-Z (Hal ^P -MPA)	MPA 0,195 M		Hala ^P 0,2 M		KOH 10 M		EDTA 0,02 M	D ₂ O
	ml	g	ml	g	ml	g	ml	ml
H-P-1Z	0,100	0,105	0,050	0,052	0,10	0,131	0,050	0,150
H-P-2Z	0,100	0,101	0,100	0,105	0,10	0,135	0,050	0,050
H-P-3Z	0,100	0,103	0,200	0,208	0,10	0,122	0,050	-
0,2 ml x 0,2M do 0,4 ml x 0,2M (0,08 mMol)					1m Mol			

H-P-B (Hal ^P -MPA)	MPA 0,195 M		Hala ^P 0,2 M		KOH 10 M		EDTA 0,02 M	D ₂ O	AcOH 16 M
	ml	g	ml	g	ml	g	ml	ml	ml
H-P-1B	0,100	0,105	0,050	0,052	0,10	0,131	0,050	0,150	0,070
H-P-2B	0,100	0,101	0,100	0,105	0,10	0,135	0,050	0,050	0,070
H-P-3B	0,100	0,103	0,200	0,208	0,10	0,122	0,050	-	0,070
do 0,3 ml x 0,2 M (0,06 mMol)					1m Mol				1,1 mMol

V-P-Z (Val ^P -MPA)	MPA 0,195 M		Val ^P 0,2 M		KOH 10 M		EDTA 0,02 M	D ₂ O
	ml	g	ml	g	ml	g	ml	ml
V-P-1Z	0,100	0,094	0,050	0,054	0,10	0,127	0,050	0,200
V-P-2Z	0,100	0,104	0,100	0,100	0,10	0,145	0,050	0,150
V-P-3Z	0,100	0,101	0,200	0,204	0,10	0,118	0,050	0,050
do 0,3 ml x 0,2 M (0,06 mMol)					1m Mol			

V-P-B (Val ^P -MPA)	MPA 0,195 M		Val ^P 0,2 M		KOH 10 M		EDTA 0,02 M	D ₂ O	AcOH 16 M
	ml	g	ml	g	ml	g	ml	ml	ml
V-P-1B	0,100	0,094	0,050	0,054	0,10	0,127	0,050	0,200	0,070
V-P-2B	0,100	0,104	0,100	0,100	0,10	0,145	0,050	0,150	0,070
V-P-3B	0,100	0,101	0,200	0,204	0,10	0,118	0,050	0,050	0,070
do 0,3 ml x 0,2 M (0,06 mMol)					1m Mol				1,1 mMol

4.2.1.2.1.2. BADANIA NAD KORELACJĄ POWIERZCHNI SYGNAŁÓW ³¹P PAR:



Serię roztworów $K_nH_{3-n}PO_4-AA^P$ do badań nad korelacją powierzchni sygnałów przygotowano przez zmieszanie odpowiednich roztworów wg. klucza przedstawionego w Tabelach 4-14.

Nv-Pi-Z ($Nval^P-PO_4$)	KH_2PO_4 0,2 M		$Nval^P$ 0,2 M		KOH 10 M		EDTA 0,02 M		D_2O	
	ml	g	ml	g	ml	g	ml	g	ml	g
Nv-Pi-1Z	0,100	0,102	0,050	0,052	0,10	0,139	0,05	0,049	0,20	0,22
Nv-Pi-2Z	0,100	0,098	0,100	0,104	0,10	0,124	0,05	0,051	0,15	0,17
Nv-Pi-3Z	0,100	0,104	0,200	0,205	0,10	0,125	0,05	0,048	0,10	0,11
do 0,3 ml x 0,2 M (0,06 mMol)					1 mMol		0,001 mMol			

Nv-Pi-B ($Nval^P-PO_4$)	KH_2PO_4 0,2 M		$Nval^P$ 0,20 M		KOH 10 M		EDTA	D_2O	AcOH
	ml	g	ml	ml	ml	g	ml	ml	ml
Nv-Pi-1B	0,100	0,102	0,050	0,052	0,10	0,139	0,050	0,200	0,075
Nv-Pi-2B	0,100	0,098	0,100	0,104	0,10	0,124	0,050	0,150	0,075
Nv-Pi-3B	0,100	0,104	0,200	0,205	0,10	0,125	0,050	0,100	0,075
do 0,3 ml x 0,2 M (0,06 mmol)					1mmol				1,1 mmol

Ma-Pi-Z (Mal^P-PO_4)	KH_2PO_4 0,2 M		Mal^P 0,08 M		KOH 10 M		EDTA 0,02 M		D_2O	
	ml	g	ml	g	ml	g	ml	g	ml	g
Ma-Pi-1Z	0,100	0,105	0,050	0,052	0,10	0,139	0,050	0,051	0,200	0,220
Ma-Pi-2Z	0,100	0,101	0,100	0,104	0,10	0,124	0,050	0,051	0,150	0,170
Ma-Pi-3Z	0,100	0,106	0,200	0,209	0,10	0,125	0,050	0,051	0,100	0,110
do 0,3 ml x 0,2 M (0,06 mMol)					1 mMol		0,001 mMol			

Ma-Pi-B (Mal^P-PO_4)	KH_2PO_4 0,2 M		Mal^P 0,08 M		KOH 10 M		EDTA	D_2O	AcOH
	ml	g	ml	ml	ml	g	ml	ml	ml
Ma-Pi-1B	0,100	0,105	0,050	0,052	0,10	0,139	0,050	0,200	0,075
Ma-Pi-2B	0,100	0,101	0,100	0,104	0,10	0,124	0,050	0,150	0,075
Ma-Pi-3B	0,100	0,106	0,200	0,209	0,10	0,125	0,050	0,100	0,075
do 0,3 ml x 0,2 M (0,06 mmol)					1mmol				1,1 mmol

Korelację powierzchni sygnałów par: STANDARD- AA^P przeprowadzono na podstawie wyliczeń przedstawionych w Tabelach: 4-15. ($MPA-AA^P$), 4-16. ($K_nH_{3-n}PO_4-AA^P$).

4.2.1.2.2. WYZNACZANIE WSPÓŁCZYNNIKÓW KORELACYJNYCH ³¹P-NMR PAR MPA-AA^P

Korelację powierzchni sygnałów par MPA-AA^P przeprowadzono na podstawie wyliczeń przedstawionych w Tabelach 4-15.

Tabela 4-15.1. Wyznaczenie stosunku powierzchni sygnałów ³¹ P dla pary MPA-Gly ^P (2M KOH)							
Analiza układu Gly ^P -MPA (G-P-Z)	PA/ C _{PA}	G-P-Z-1		G-P-Z-2		G-P-Z-3	
		MPA 0,195 M	Gly ^P 0,20 M	MPA 0,195 M	Gly ^P 0,20 M	MPA 0,195 M	Gly ^P 0,20 M
	V [ml]	0,100	0,100	0,100	0,070	0,100	0,260
	mMole _(v)	0,0195	0,02	0,0195	0,014	0,0195	0,052
	mM:mM_{ST} (v/v)	1	1,026	1	0,718	1	2,667
	m [g]	0,104	0,102	0,105	0,072	0,106	0,268
	V1 [d=1,00]	0,104	0,102	0,105	0,072	0,106	0,268
	mMole _(m)	0,0203	0,0204	0,0203	0,0144	0,0203	0,0536
	mM:mM_{ST} (m/m)	1	1,005	1	0,709	1	2,640
Analiza ³¹ P NMR	δ (P); ppm	20,22	19,04	20,22	19,04	20,22	19,04
	RA	1	0,782	1	0,551	1	2,193
	RA dla MPA- PA [1:1] (v/v)	1,000	0,762	1	0,767	0,822	
	MPA/ Gly^P (v/v)	1,312		1,303		1,216	
	Średnia w, MPA/Gly^P	1,277±0,05					
	RA dla MPA- PA [1:1] (m/m)	1,000 0,778	1,000	0,777	1,000	0,831	
	MPA/ Gly^P (m/m)	1,285		1,289		1,204	
	Średnia w, MPA/Gly^P	1,259±0,05					
Średnia wartości wsp. MPA/ Gly^P z obliczeń (v/v) i (m/m)		1,268±0,01					
<p>PA – kwas fosfonowy (<i>phosphonic acid</i>); V – objętość wprowadzonego roztworu AA^P (Gly^P) i/lub MPA; m - masa wprowadzonego roztworu AA^P (Gly^P) i/lub MPA; C_{PA} – stężenie kwasu fosfonowego: C_{MPA} i C_{AA^P} stężenia wprowadzonych roztworów MPA i/lub AA^P (Gly^P); mMole_(v) – ilość milimoli AA^P i/lub MPA wyliczona na podstawie objętości wprowadzonych roztworów AA^P (Gly^P) i/lub MPA; mMole_(m) – ilość milimoli AA^P (Gly^P) i/lub MPA wyliczona na podstawie masy wprowadzonych roztworów Gly^P i/lub MPA; RA – powierzchnie sygnału ³¹P z widm ³¹P NMR; RA_{AA^P} - powierzchnia sygnału AA^P (Gly^P), RA_{MPA} -powierzchnia sygnału MPA; RA dla MPA-Gly^P [1:1] –powierzchnia sygnału ³¹P aminokwasu AA^P, wyliczona dla stosunku MPA:Gly^P =1:1; RA_{MPA} -powierzchnia sygnału ³¹P dla MPA; MPA/Gly^P – współczynnik korekcyjny powierzchni sygnału ³¹P dla Gly^P względem MPA</p>							

Tabela 4-15.2. Wyznaczenie stosunku powierzchni sygnałów ³¹ P dla pary MPA-Ala ^P (2 M KOH)							
Analiza układu Ala ^P -MPA (A-P-Z)	PA/ C _{PA}	A-P-Z-1		A-P-Z-2		A-P-Z-3	
		MPA 0,195 M	Ala ^P 0,20 M	MPA 0,195 M	Ala ^P 0,20 M	MPA 0,195 M	Ala ^P 0,20 M
	V [ml]	0,100	0,100	0,100	0,200	0,100	0,300
	mMole _(v)	0,0195	0,0200	0,0195	0,0400	0,0195	0,0600
	mM:mM _{ST} (v/v)	1	1,025	1	2,051	1	3,077
	m [g]	0,104	0,102	0,105	0,207	0,104	0,312
	V1 [d=1.00]	0,104	0,102	0,105	0,207	0,104	0,312
	mMole _(m)	0,0203	0,0204	0,0205	0,0414	0,0203	0,0624
	mM:mM _{ST} (m/m)	1	1,005	1	2,02	1	3,074
Analiza ³¹ P NMR	δ (P); ppm	20,24	22,11	20,2	22,1	20,2	22,1
	RA	1,396	1	0,584	1	0,425	1
	RA: MPA-PA [1:1] (v/v)	1,396	0,976	0,584	0,488	0,425	0,325
	MPA/Ala ^P (v/v)	1,430		1,20		1,308	
	Średnia w, MPA/Gly ^P	1,313±0,1					
	RA: MPA-PA [1:1] (m/m)	1,396	0,995	0,584	0,495	0,425	0,325
	MPA/Ala ^P (m/m)	1,403		1,180		1,308	
	Średnia w, MPA/Ala ^P	1,297±0,12					
Średnia wartości wsp. MPA/Ala ^P z obliczeń (v/v) i (m/m)	1,305±0,01						
PA – kwas fosfonowy (<i>phosphonic acid</i>); V – objętość wprowadzonego roztworu AA ^P (Ala ^P) i/lub MPA; m - masa wprowadzonego roztworu AA ^P (Ala ^P) i/lub MPA; C _{PA} – stężenie kwasu fosfonowego: C _{MPA} i C _{AA^P} stężenia wprowadzonych roztworów MPA i/lub AA ^P (Ala ^P); mMole _(v) – ilość milimoli AA ^P i/lub MPA wyliczona na podstawie objętości wprowadzonych roztworów AA ^P (Ala ^P) i/lub MPA; mMole _(m) – ilość milimoli AA ^P (Ala ^P) i/lub MPA wyliczona na podstawie masy wprowadzonych roztworów Ala ^P i/lub MPA; RA – powierzchnie sygnału ³¹ P z widm ³¹ P NMR; RA _{AA^P} - powierzchnia sygnału AA ^P (Ala ^P), RA _{MPA} -powierzchnia sygnału MPA; RA dla MPA-Ala ^P [1:1] –powierzchnia sygnału ³¹ P aminokwasu AA ^P , wyliczona dla stosunku MPA:Ala ^P =1:1; RA _{MPA} -powierzchnia sygnału ³¹ P dla MPA; MPA/Ala ^P – współczynnik korekcyjny powierzchni sygnału ³¹ P dla Ala ^P względem MPA.							

Tabela 4-15.3. Wyznaczenie stosunku powierzchni sygnałów ³¹ P dla pary MPA-Hala ^P (2 M KOH)							
Analiza układu Hal ^P -MPA (H-P-Z)	PA/ C _{PA}	H-P-Z-1		H-P-Z-2		H-P-Z-3	
		MPA 0,195 M	Hala ^P 0,20 M	MPA 0,195 M	Hala ^P 0,20 M	MPA 0,195 M	Hala ^P 0,20 M
	V [ml]	0,100	0,050	0,100	0,100	0,100	0,200
	mMole _(v)	0,0195	0,0100	0,0195	0,0200	0,0195	0,0400
	mM:mM _{ST} (v/v)	1	0,513	1	1,026	1	2,051
	m [g]	0,105	0,052	0,101	0,105	0,103	0,208
	V1 [d=1.00]	0,105	0,052	0,101	0,105	0,103	0,208
	mMole _(m)	0,0205	0,0104	0,0197	0,021	0,0201	0,0416
	mM:mM _{ST} (m/m)	1	0,507	1	1,066	1	2,07
Analiza ³¹ P NMR	δ (P); ppm	20,24	21,51	20,22	21,51	20,24	21,52
	RA	2,107	1	1,042	1	0,522	1
	RA: MPA-PA [1:1] (v/v)	2,107	1,949	1,042	0,975	0,522	0,488
	MPA/Ala ^P (v/v)	1,081		1,069		1,070	
	Średnia w. MPA/Gly ^P	1,073±0,08					
	RA: MPA-PA [1:1] (m/m)	2,107	1,972	1,042	0,938	0,522	0,483
	MPA/Ala ^P (m/m)	1,068		1,111		1,081	
	Średnia w. MPA/Ala ^P	1,087±0,025					
Średnia wartości wsp. MPA/Hala ^P z obliczeń (v/v) i (m/m)	1,078±0,009						
PA – kwas fosfonowy (<i>phosphonic acid</i>); V – objętość wprowadzonego roztworu AA ^P (Hala ^P) i/lub MPA; m – masa wprowadzonego roztworu AA ^P (Hala ^P) i/lub MPA; C _{PA} – stężenie kwasu fosfonowego: C _{MPA} i C _{AA^P} stężenia wprowadzonych roztworów MPA i/lub AA ^P (Hala ^P); mMole _(v) – ilość milimoli AA ^P i/lub MPA wyliczona na podstawie objętości wprowadzonych roztworów AA ^P (Hala ^P) i/lub MPA; mMole _(m) – ilość milimoli AA ^P (Hala ^P) i/lub MPA wyliczona na podstawie masy wprowadzonych roztworów Hala ^P i/lub MPA; RA – powierzchnie sygnału ³¹ P z widm ³¹ P NMR; RA _{AA^P} - powierzchnia sygnału AA ^P (Hala ^P), RA _{MPA} - powierzchnia sygnału MPA; RA dla MPA-Hala ^P [1:1] – powierzchnia sygnału ³¹ P aminokwasu AA ^P , wyliczona dla stosunku MPA:Hala ^P =1:1; RA _{MPA} - powierzchnia sygnału ³¹ P dla MPA; MPA/Hala ^P – współczynnik korekcyjny powierzchni sygnału ³¹ P dla Hala ^P względem MPA							

Tabela 4-15.3.1. Wyznaczenie stosunku powierzchni sygnałów ^{31}P dla pary MPA-Hala^P [w 2 M buforze (AcOK-AcOH)]

Analiza układu Hal ^P -MPA (H-P-B)	PA/ C _{PA}	H-P-B-1		H-P-B-2		H-P-B-3	
		MPA 0,195 M	Hala ^P 0,20 M	MPA 0,195 M	Hala ^P 0,20 M	MPA 0,195 M	Hala ^P 0,20 M
V [ml]		0,100	0,05	0,100	0,100	0,100	0,200
mMole _(v)		0,0195	0,0100	0,0195	0,0200	0,0195	0,0400
mM:mM_{ST} (v/v)		1	0,513	1	1,026	1	2,051
m [g]		0,105	0,052	0,101	0,105	0,103	0,208
V1 [d=1.00]		0,105	0,052	0,101	0,105	0,103	0,208
mMole _(m)		0,0205	0,0104	0,0197	0,021	0,0201	0,0416
mM:mM_{ST} (m/m)		1	0,507	1	1,066	1	2,07
Analiza ^{31}P NMR	δ (P); ppm	24,11	13,20	24,08	13,16	24,11	13,21
	RA	1	0,423	1	0,863	1	1,686
	RA: MPA- PA [1:1] (v/v)	1	0,825	1	0,841	1	0,822
	MPA/Ala^P (v/v)	1,213		1,189		1,216	
	Średnia w. MPA/Gly^P	1,206±0,015					
	RA: MPA-PA [1:1](m/m)	1	0,834	1	0,810	1	0,814
	MPA/Ala^P (m/m)	1,199		1,235		1,228	
	Średnia w. MPA/Ala^P	1,221±0,014					
Średnia wartości wsp. MPA/Ala ^P z obliczeń (v/v) i (m/m)		1,214±0,07					
<p>PA – kwas fosfonowy (<i>phosphonic acid</i>); V – objętość wprowadzonego roztworu AA^P (Hala^P) i/lub MPA; m - masa wprowadzonego roztworu AA^P (Hala^P) i/lub MPA; C_{PA} – stężenie kwasu fosfonowego: C_{MPA} i C_{AA^P} stężenia wprowadzonych roztworów MPA i/lub AA^P (Hala^P); mMole_(v) – ilość milimoli AA^P i/lub MPA wyliczona na podstawie objętości wprowadzonych roztworów AA^P (Hala^P) i/lub MPA; mMole_(m) – ilość milimoli AA^P (Hala^P) i/lub MPA wyliczona na podstawie masy wprowadzonych roztworów Hala^P i/lub MPA; RA – powierzchnie sygnału ^{31}P z widm ^{31}P NMR; RA_{AA^P} - powierzchnia sygnału AA^P (Hala^P), RA_{MPA} -powierzchnia sygnału MPA; RA dla MPA-Hala^P [1:1] –powierzchnia sygnału ^{31}P aminokwasu AA^P, wyliczona dla stosunku MPA:Hala^P =1:1; RA_{MPA} -powierzchnia sygnału ^{31}P dla MPA; MPA/Hala^P – współczynnik korekcyjny powierzchni sygnału ^{31}P dla Hala^P względem MPA</p>							

Tabela 4-15.4. Wyznaczenie stosunku powierzchni sygnałów ³¹P dla pary MPA-Val^P (2M KOH)

Analiza układu Val ^P -MPA (V-P-Z)	PA	V-P-Z-1		V-P-Z-2		V-P-Z-3	
		MPA 0,195 M	Val ^P 0,20 M	MPA 0,195 M	Val ^P 0,20 M	MPA 0,195 M	Val ^P 0,20 M
	V [ml]	0,100	0,050	0,100	0,100	0,100	0,200
	mMole _(v)	0,0195	0,010	0,0195	0,020	0,0195	0,040
	mM:mM_{ST} (v/v)	1	0,513	1	0,975	1	2,051
	m [g]	0,094	0,054	0,104	0,10	0,101	0,204
	V1 [d=1.00]	0,094	0,054	0,104	0,10	0,101	0,204
	mMole _(m)	0,0183	0,0108	0,0203	0,020	0,0197	0,0408
	mM:mM_{ST} (m/m)	1	0,589	1	0,985	1	2,071
Analiza ³¹ P NMR	δ (P) [ppm]	20,24	20,95	20,24	20,95	20,24	20,95
	RA	1,7254	1	0,9656	1	0,446	1
	RA: MPA-Val^P [1:1] (v/v)	1,7254	1,949	0,9656	1,026	0,446	0,488
	MPA/ Val^P (v/v)	0,885		0,941		0,914	
	Średnia w. MPA/ Val^P	0,913±0,03					
	RA: MPA-Val^P [1:1] (m/m)	1,7254 1,698	0,9656	1,015	0,446	0,483	
	MPA/ Val^P (m/m)	1,016		0,951		0,923	
	Średnia w. MPA/ Val^P	0,963±0,05					
	Średnia wartości wsp. MPA/Val ^P z obliczeń (v/v) i (m/m)	0,938±0,03					
<p>PA – kwas fosfonowy (<i>phosphonic acid</i>); V – objętość wprowadzonego roztworu AA^P (Val^P) i/lub MPA; m - masa wprowadzonego roztworu AA^P (Val^P) i/lub MPA; C_{PA} – stężenie kwasu fosfonowego: C_{MPA} i C_{AA^P} stężenia wprowadzonych roztworów MPA i/lub AA^P (Val^P); mMole_(v) – ilość milimoli AA^P i/lub MPA wyliczona na podstawie objętości wprowadzonych roztworów AA^P (Val^P) i/lub MPA; mMole_(m) – ilość milimoli AA^P (Val^P) i/lub MPA wyliczona na podstawie masy wprowadzonych roztworów Val^P i/lub MPA; RA – powierzchnie sygnału ³¹P z widm ³¹P NMR; RA_{AA^P} - powierzchnia sygnału AA^P (Val^P), RA_{MPA} -powierzchnia sygnału MPA; RA dla MPA-Val^P [1:1] –powierzchnia sygnału ³¹P aminokwasu AA^P, wyliczona dla stosunku MPA:Val^P =1:1; RA_{MPA} -powierzchnia sygnału ³¹P dla MPA; MPA/Val^P – współczynnik korekcyjny powierzchni sygnału ³¹P dla Val^P względem MPA</p>							

Tabela 4-15.4.1. Wyznaczenie stosunku powierzchni sygnałów ^{31}P dla pary MPA-Val^P [w 2 M buforze (AcOK-AcOH)]

Analiza układu Val ^P -MPA (V-P-B)	PA	V-P-B-1		V-P-B-2		V-P-B-3	
		MPA 0,195 M	Val ^P 0,20 M	MPA 0,195 M	Val ^P 0,20 M	MPA 0,195 M	Val ^P 0,20 M
V [ml]		0,10	0,05	0,10	0,10	0,10	0,20
mMole _(v)		0,0195	0,010	0,0195	0,020	0,0195	0,040
mM:mM_{ST} (v/v)		1	0,513	1	0,975	1	2,051
m [g]		0,094	0,054	0,104	0,10	0,101	0,204
V1 [d=1.00]		0,094	0,054	0,104	0,10	0,101	0,204
mMole _(m)		0,0183	0,0108	0,0203	0,020	0,0197	0,0408
mM:mM_{ST} (m/m)		1	0,589	1	0,985	1	2,071
Analiza ^{31}P NMR	δ (P) [ppm]	24,16	12,57	24,13	12,56	24,07	12,52
	RA	1	0,522	1	0,948	1	1,944
	RA dla MPA- Val^P [1:1] (v/v)	1	1,018	1	0,972	1	0,948
	MPA/ Val^P (v/v)	0,982		1,029		1,055	
	Średnia w. MPA/ Val^P	1,022±0,03					
	RA dla MPA- Val^P [1:1] (m/m)	1	0,886	1	0,962	1	0,939
	MPA/ Val^P (m/m)	1,129		1,040		1,065	
	Średnia w. MPA/ Val^P	1,078±0,04					
Średnia wartości wsp. MPA/Val ^P z obliczeń (v/v) i (m/m)		1,050±0,03					
<p>PA – kwas fosfonowy (<i>phosphonic acid</i>); V – objętość wprowadzonego roztworu AA^P (Val^P) i/lub MPA; m - masa wprowadzonego roztworu AA^P (Val^P) i/lub MPA; C_{PA} – stężenie kwasu fosfonowego: C_{MPA} i C_{AAP} stężenia wprowadzonych roztworów MPA i/lub AA^P (Val^P); mMole_(v) – ilość milimoli AA^P i/lub MPA wyliczona na podstawie objętości wprowadzonych roztworów AA^P (Val^P) i/lub MPA; mMole_(m) – ilość milimoli AA^P (Val^P) i/lub MPA wyliczona na podstawie masy wprowadzonych roztworów Val^P i/lub MPA; RA – powierzchnia sygnału ^{31}P z widm ^{31}P NMR; RA_{AAP} - powierzchnia sygnału AA^P (Val^P), RA_{MPA} -powierzchnia sygnału MPA; RA dla MPA-Val^P [1:1] –powierzchnia sygnału ^{31}P aminokwasu AA^P, wyliczona dla stosunku MPA:Val^P =1:1; RA_{MPA} -powierzchnia sygnału ^{31}P dla MPA; MPA/Val^P – współczynnik korekcyjny powierzchni sygnału ^{31}P dla Val^P względem MPA</p>							

4.2.1.2.3. WYZNACZANIE WSPÓŁCZYNNIKÓW KORELACYJNYCH ³¹P-NMR PAR:



Tabela 4-16.1.1. Wyznaczenie stosunku powierzchni sygnałów ³¹ P dla pary K ₃ PO ₄ -Nval ^P (2M KOH)							
Analiza układu Nval ^P -PO ₄ (Nv-P _i -Z)	PA	Nv-P _i -Z-1		Nv-P _i -Z-2		Nv-P _i -Z-3	
		Nval ^P 0,19 M	P _i 0,20 M	Nval ^P 0,19 M	P _i 0,20 M	Nval ^P 0,19 M	P _i 0,20 M
V [ml]		0,050	0,100	0,100	0,100	0,200	0,100
mMole _(v)		0,0095	0,020	0,019	0,020	0,038	0,020
mM:mM_{ST} (v/v)		0,475	1,00	0,95	1,00	1,9	1,00
m [g]		0,052	0,102	0,109	0,098	0,205	0,104
V (d=1.00)		0,052	0,102	0,109	0,098	0,205	0,104
mMole _(m)		0,00988	0,0204	0,0207	0,0196	0,041	0,0208
mM:mM_{ST} (m/m)		0,484	1	1,056	1	1,971	1
Analiza ³¹ P NMR	δ (P) [ppm]	21,82	5,21	21,82	5,21	21,82	5,21
	RA	1	1,708	1	0,852	1	0,431
	RA: Pi/Nval^P [1:1] (v/v)	2,105	1,708	1,053	0,852	0,526	0,431
	Pi/Nval^P (v/v)	0,811		0,809		0,819	
	Średnia w. Pi/Nval^P	0,813±0,05					
	RA: Pi/Nval^P [1:1] (m/m)	2,066	1,708	0,947	0,852	0,507	0,431
	Pi/Nval^P (m/m)	0,827		0,900		0,850	
	Średnia w. Pi/Nval^P	0,860±0,04					
	Średnia wartości Pi/Nval^P z obliczeń (v/v) i (m/m)	0,836±0,024					

PA – kwas fosfonowy (*phosphonic acid*);
V – objętość wprowadzonego roztworu AA^P (Nval^P) i/lub K₃PO₄;
m - masa wprowadzonego roztworu AA^P (Nval^P) i/lub K₃PO₄;
C_{PA} – stężenie kwasu fosfonowego: C_{MPA} i C_{AAP} stężenia wprowadzonych roztworów MPA i/lub AA^P (Nval^P);
mMole_(v) – ilość milimoli AA^P i/lub K₃PO₄ wyliczona na podstawie objętości wprowadzonych roztworów AA^P (Nval^P) i/lub MPA;
mMole_(m) – ilość milimoli AA^P (Nval^P) i/lub K₃PO₄ wyliczona na podstawie masy wprowadzonych roztworów Nval^P i/lub MPA;
RA – powierzchnie sygnału ³¹P z widm ³¹P NMR;
RA_{AAP} - powierzchnia sygnału AA^P (Nval^P), RA_{MPA} -powierzchnia sygnału K₃PO₄;
RA dla Pi-Nval^P [1:1] –powierzchnia sygnału ³¹P aminokwasu AA^P, wyliczona dla stosunku K₃PO₄:Nval^P =1:1;
RA_{Pi} -powierzchnia sygnału ³¹P dla K₃PO₄;
Pi/Nval^P – współczynnik korekcyjny powierzchni sygnału ³¹P dla Nval^P względem K₃PO₄

Tabela 4-16.1.2. Wyznaczenie stosunku powierzchni sygnałów ^{31}P dla pary $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4\text{-Nval}^{\text{P}}$ [w 2M buforze (AcOK-AcOH)]

Analiza układu $\text{Nval}^{\text{P}}\text{-PO}_4$ ($\text{Nv-P}_i\text{-B}$)	PA	Nv-P _i -B-1		Nv-P _i -B-2		Nv-P _i -B-3	
		Nval ^P 0,19 M	P _i 0,20 M	Nval ^P 0,19 M	P _i 0,20 M	Nval ^P 0,19 M	P _i 0,20 M
	V [ml]	0,050	0,100	0,100	0,100	0,200	0,100
	mMole _(v)	0,0095	0,020	0,019	0,020	0,038	0,020
	mM:mM_{ST} (v/v)	0,475	1,00	0,95	1,00	1,90	1,00
	m [g]	0,052	0,102	0,109	0,098	0,205	0,104
	V1 (d=1.00)	0,052	0,102	0,109	0,098	0,205	0,104
	mMole _(m)	0,00988	0,0204	0,0207	0,0196	0,041	0,0208
	mM:mM_{ST} (m/m)	0,484	1	1,056	1	1,971	1
Analiza ^{31}P NMR	δ (P) [ppm]	13,39	0,263	13,45	0,163	13,43	0,263
	RA	0,468	1	0,966	1	1,914	1
	RA: Pi/Nval^P [1:1] (v/v)	0,985	1	1,017	1	1,037	1
	Pi/Nval^P (v/v)	1,015		0,983		0,964	
	Średnia w. Pi/Nval^P	0,987±0,05					
	RA: Pi/Nval^P [1:1] (m/m)	0,967	1	0,915	1	0,971	1
	Pi/Nval^P (m/m)	1,034		1,090		1,030	
	Średnia w. Pi/Nval^P	1,051±0,04					
Średnia wartości wsp. Pi/ Nval ^P z obliczeń (v/v) i (m/m)		1,019±0,03					
<p>PA – kwas fosfonowy (<i>phosphonic acid</i>); V – objętość wprowadzonego roztworu AA^P (Nval^P) i/lub $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$; m - masa wprowadzonego roztworu AA^P (Nval^P) i/lub $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$; C_{PA} – stężenie kwasu fosfonowego: C_{M_{PA}} i C_{A_{AP}} stężenia wprowadzonych roztworów $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$ i/lub AA^P (Nval^P); mMole_(v) – ilość milimoli AA^P i/lub $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$ wyliczona na podstawie objętości wprowadzonych roztworów AA^P (Nval^P) i/lub $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$; mMole_(m) – ilość milimoli AA^P (Nval^P) i/lub $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$ wyliczona na podstawie masy wprowadzonych roztworów Nval^P i/lub $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$; RA – powierzchnie sygnału ^{31}P z widm ^{31}P NMR; RA_{AAP} - powierzchnia sygnału AA^P (Nval^P), RA_{M_{PA}} -powierzchnia sygnału $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$; RA dla Pi-Nval^P [1:1] –powierzchnia sygnału ^{31}P aminokwasu AA^P, wyliczona dla stosunku $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4\text{:Nval}^{\text{P}} = 1:1$; RA_{Pi} -powierzchnia sygnału ^{31}P dla $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$; Pi/Nval^P – współczynnik korekcyjny powierzchni sygnału ^{31}P dla Nval^P względem $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$</p>							

Tabela 4-16.2.1. Wyznaczenie stosunku powierzchni sygnałów ³¹ P dla pary K ₃ PO ₄ -Mal ^P (2M KOH)							
Analiza układu Mal ^P -PO ₄ (Ma-P _i -Z)	PA	Ma-P _i -Z-1		Ma-P _i -Z-2		Ma-P _i -Z-3	
		Mal ^P 0,081 M	P _i 0,20 M	Mal ^P 0,081 M	P _i 0,20 M	Mal ^P 0,081 M	P _i 0,20 M
	V [ml]	0,05	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
	mMole _(v)	0,00405	0,020	0,0081	0,020	0,0162	0,020
	mM:mM_{ST} (v/v)	0,2025	1	0,405	1	0,81	1
	m [g]	0,052	0,105	0,103	0,100	0,209	0,106
	V (d=1.00)	0,052	0,105	0,103	0,100	0,209	0,106
	mMole _(m)	0,00416	0,02	0,00824	0,020	0,0167	0,0212
	mM:mM_{ST} (m/m)	0,208	1	0,412	1	0,788	1
Analiza ³¹ P NMR	δ (P) [ppm]	24,89	5,19	21,82	5,21	21,82	5,21
	RA	1	5,80	1	2,847	1	1,553
	RA: Pi/Mal^P [1:1] (v/v)	4,938	5,80	2,469	2,847	1,235	1,553
	Pi/Mal^P (v/v)	1,175		1,153		1,257	
	Średnia w. Pi/Mal^P	1,195					
	RA: Pi/Mal^P [1:1] (m/m)	4,808	5,80	2,427	2,847	1,269	1,553
	Pi/Mal^P (m/m)	1,206		1,173		1,224	
	Średnia w. Pi/ Mal^P	1,201					
Średnia wartości wsp. Pi/Mal ^P z obliczeń (v/v) i (m/m)		1,198					
PA – kwas fosfonowy (<i>phosphonic acid</i>); V – objętość wprowadzonego roztworu AA ^P (Mal ^P) i/lub K ₃ PO ₄ ; m - masa wprowadzonego roztworu AA ^P (Mal ^P) i/lub K ₃ PO ₄ ; C _{PA} – stężenie kwasu fosfonowego: C _{M_{PA}} i C _{A_{AP}} stężenia wprowadzonych roztworów K ₃ PO ₄ i/lub AA ^P (Mal ^P); mMole _(v) – ilość milimoli AA ^P i/lub K ₃ PO ₄ wyliczona na podstawie objętości wprowadzonych roztworów AA ^P (Mal ^P) i/lub K ₃ PO ₄ ; mMole _(m) – ilość milimoli AA ^P (Mal ^P) i/lub K ₃ PO ₄ wyliczona na podstawie masy wprowadzonych roztworów Mal ^P i/lub K ₃ PO ₄ ; RA – powierzchnie sygnału ³¹ P z widm ³¹ P NMR: RA _{AAP} - powierzchnia sygnału AA ^P (Mal ^P), RA _{M_{PA}} - powierzchnia sygnału K ₃ PO ₄ ; RA dla Pi-Mal ^P [1:1] –powierzchnia sygnału ³¹ P aminokwasu AA ^P , wyliczona dla stosunku K ₃ PO ₄ :Mal ^P =1:1; RA _{Pi} -powierzchnia sygnału ³¹ P dla K ₃ PO ₄ ; Pi/Mal ^P – współczynnik korekcyjny powierzchni sygnału ³¹ P dla Mal ^P względem K ₃ PO ₄							

Tabela 4-16.2.2. Wyznaczenie stosunku powierzchni sygnałów ^{31}P dla pary $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4\text{-Mal}^{\text{P}}$ [w 2M buforze (AcOK-AcOH)]

Analiza układu $\text{Mal}^{\text{P}}\text{-PO}_4$ (Ma-P _i -B)	PA	Ma-P _i -B-1		Ma-P _i -B-2		Ma-P _i -B-3	
		Mal ^P 0,081 M	P _i 0,20 M	Mal ^P 0,081 M	P _i 0,20 M	Mal ^P 0,081 M	P _i 0,20 M
V [ml]		0,05	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
mMole _(v)		0,00405	0,020	0,0081	0,020	0,0162	0,020
mM:mM_{ST} (v/v)		0,2025	1	0,405	1	0,81	1
m [g]		0,052	0,105	0,103	0,100	0,209	0,106
V (d=1.00)		0,052	0,105	0,103	0,100	0,209	0,106
mMole _(m)		0,00416	0,02	0,00824	0,020	0,0167	0,0212
mM:mM_{ST} (m/m)		0,208	1	0,412	1	0,788	1
Analiza ^{31}P NMR	δ (P) [ppm]	16,51	0,23	16,55	0,18	16,56	0,17
	RA	0,152	1	0,311	1	0,575	1
	RA: Pi/Mal^P [1:1] (v/v)	0,751	1	0,768	1	0,710	1
	Pi/Mal^P (v/v)	1,332		1,302		1,409	
	Średnia w. Pi/Mal^P	1,348±0,06					
	RA: Pi/Mal^P [1:1] (m/m)	0,731	1	0,755	1	0,730	1
	Pi/Mal^P (m/m)	1,368		1,325		1,370	
	Średnia w. Pi/Mal^P	1,354±0,03					
Średnia wartości wsp. Pi/ Nval ^P z obliczeń (v/v) i (m/m)	1,351						
<p>PA – kwas fosfonowy (<i>phosphonic acid</i>); V – objętość wprowadzonego roztworu AA^P (Mal^P) i/lub $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$; m - masa wprowadzonego roztworu AA^P (Mal^P) i/lub $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$; C_{PA} – stężenie kwasu fosfonowego: C_{M_{PA}} i C_{A_{AP}} stężenia wprowadzonych roztworów $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$ i/lub AA^P (Mal^P); mMole_(v) – ilość milimoli AA^P i/lub $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$ wyliczona na podstawie objętości wprowadzonych roztworów AA^P (Mal^P) i/lub $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$; mMole_(m) – ilość milimoli AA^P (Mal^P) i/lub $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$ wyliczona na podstawie masy wprowadzonych roztworów Mal^P i/lub $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$; RA – powierzchnie sygnału ^{31}P z widm ^{31}P NMR; RA_{AAP} - powierzchnia sygnału AA^P (Mal^P), RA_{M_{PA}} -powierzchnia sygnału $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$; RA dla Pi-Mal^P [1:1] –powierzchnia sygnału ^{31}P aminokwasu AA^P, wyliczona dla stosunku $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4\text{:Mal}^{\text{P}} = 1\text{:}1$; RA_{Pi} -powierzchnia sygnału ^{31}P dla $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$; Pi/Mal^P – współczynnik korekcyjny powierzchni sygnału ^{31}P dla Mal^P względem $\text{K}_n\text{H}_{3-n}\text{PO}_4$</p>							

4.2.1.3. BADANIA NAD WYZNACZANIEM ROZPUSZCZALNOŚCI AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

4.2.1.3.1. METODA KRYSTALIZACJI

4.2.1.3.1.1. BADANIA OPTYMALIZACYJNE

Dla zbadania wpływu czasu krystalizacji na stężenie nasyconego roztworu AA^P wybrano serię niższych homologów kwasów 1-aminoalkilofosfonowych (Gly^P, Ala^P, Val^P, Mala^P) które charakteryzują się stosunkowo wysokimi rozpuszczalnościami.

Roztwory AA^P do badań przygotowywano przez umieszczenie w reaktorkach mieszaniny odpowiednich kwasów 1-aminoalkilofosfonowe i wody w ilościach zestawionych w Tabeli 4-17. Suspensję ogrzewano do 80°C przy mieszaniu do rozpuszczenia (około 1 h), po czym pozostawiano do powolnego ostygnięcia do 30°C.

Tabela 4-17. Przygotowanie mieszanin do badań nad wpływem czasu krystalizacji na stężenie roztworu nasyconego AA ^P (naważki AA ^P)								
	Gly ^P		Ala ^P		Val ^P		Mala ^P	
	Gly ^P	H ₂ O	Ala ^P	H ₂ O	Val ^P	H ₂ O	Mala ^P	H ₂ O
Mol	[111]	1 ml	[125]	1 ml	[153]	1 ml	[139]	1 ml
Stęż. AA ^{P/a}	0,54 M		0,8 M		0,3 M		0,1 M	
mg/ml ^b	60, mg		100 mg		46 mg		14 mg	
mg/ml ^c	75 mg		125 mg		58 mg		18 mg	
Osad ^d	+++		+		+		++	

^{a/} wstępnie wyznaczona rozpuszczalność AA^P;
^{b/} masa wyliczona na podstawie rozpuszczalności AA^P;
^{c/} masa AA^P odważona (rozp. × 1,25);
^{d/} masa osadu wykrystalizowanego podczas ekspozycji 24h roztworów AA^P: „+++” duża; „+” widoczne kryształy

Z roztworów pobierano w odpowiednich odstępach czasu (24 h, 48 h, 72 h, 120 h) próbki, w których oznaczano AA^P na drodze miareczkowania potencjometrycznego.

Wyniki oznaczeń zestawiono w Tabeli 4-18.

Tabela 4-18. Przeprowadzenie badań nad wyznaczeniem wpływu czasu krystalizacji na stężenie nasyconego roztworu AA ^P				
AA ^P	Gly ^P	Ala ^P	Val ^P	Mala ^P
ppm	10,8 ppm	13,8 ppm	12,30 ppm	16,4 ppm
Czas	Stężenie [M] ^a			
0 h ^{b/}	0,90	1,50	0,45	0,12
24 h	0,59	0,90	0,26	0,084
48 h	0,56	0,87	0,25	0,083
72 h	0,57	0,86	0,24	0,082
120 h	0,56	0,87	0,25	0,082

^{a/} AA^P oznaczano za pomocą metody miareczkowania potencjometrycznego;
^{b/} początkowe stężenie aminokwasu (1,25 × rozpuszczalność w 25°C)

Dodatkowo, dla ilustracji przebiegu krystalizacji za pomocą ³¹P NMR, w odpowiednich odstępach czasu (24 h, 48, 72 h, 120 h) przyrządzono mieszaniny złożone z próbek AA^P i wzorca (MPA) wg klucza przedstawionego w Tabeli 4-19.

Tabela 4-19. Przeprowadzenie badań nad wyznaczeniem wpływu czasu krystalizacji na stężenie AA ^P – przygotowanie roztworu do analizy ³¹ P NMR							
Składniki mieszaniny	Składniki mieszaniny do badań w ³¹ P NMR						
	Kwasy fosfonowe					Inne	
	MPA 1 M	Gly ^P	Ala ^P	Val ^P	Mala ^P	KOH 2,5 M ^a	EDTA 0,02M
Objętości	0,05 ml	0,05 ml	0,05 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,05 ml

^{a/} Roztwór zawierał 0,25 mmola KOH w objętości 0,5ml próbki

Dla każdego czasu ekspozycji dla odpowiedniej mieszaniny rejestrowano widmo ³¹P NMR.

4.2.1.3.1.2. WYZNACZANIE ROZPUSZCZALNOŚCI AA^P METODĄ KRYSZTALIZACYJNĄ

AA ^P [mmol]	Gly ^P [mM=111 mg]		Ala ^P [mM=125 mg]		Hal ^P [mM=139 mg]		Nval ^P [mM=153 mg]		Val ^P [mM=153 mg]	
Stężenie ^a	0,6 M		0,9 M		1,0 M		0,6 M		0,2 M	
m ₁ [mg/1ml] ^b	111 mg×0,6 M = 67 mg		125 mg×0,9 M = 113 mg		139 mg×1 M = 139 mg		153 mg×0,6 M = 92 mg		153 mg×0,2 M = 92 mg	
m ₁ ×1,25 ^c	83 mg		156 mg		173 mg		115 mg		68 mg	
Próbki AA ^P /1,0 ml ^d	G1	G2	A1	A2	H1	H2	Nv1	Nv2	V1	V2
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
Odważki	76	78	114	128	150	154	114	114	70	70
Efekt ^e	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Dodano ^f	22	30	26	14	30	35	26	28	-	-
Łączna masa próbek AA^P	49	54	140	142	180	189	140	142	70	70

^{a/} Orientacyjne stężenia molowe nasyconych roztworów AA^P:
Gly^P=0,55 M; Ala^P=0,83 M; Hal^P=0,96 M; Nval^P=0,6 M; Val^P=0,2 M;
^{b/} m₁= AA^P rozpuszczony w 1 ml nasyconego roztworu;
^{c/} m₂= naważka AA^P do nasycenia 1,0 ml z 25% nadmiarem;
^{d/} Próbki AA^P: G1, G2,...etc. naważki Gly^P (1) i Gly^P(2), ..., etc.;
^{e/} Zaobserwowano pojawienie się kryształów/fazy stałej w roztworze: „+”, nie zaobserwowano: „-”;
^{f/} W przypadku niewystąpienia przesylenia dodano kolejną naważkę AA^P

AA ^P [mmol]	Nleu ^P		Ileu ^P		Leu ^P		Tleu ^P		Met ^P	
	167 mg		167 mg		167 mg		167 mg		185 mg	
Stężenie ^a	0,2 M		0,12 M		0,12 M		0,1 M		0,1 M	
m ₁ [mg/1ml] ^b	167 mg×0,2 M = 33,4 mg		167 mg×0,12 M = 20,0 mg		167 mg×0,12 M = 20,0 mg		167 mg×0,10 M = 16,7 mg		185 mg×0,10 M = 18,5 mg	
m ₁ ×1,25 ^c	42,0 mg		25,0 mg		25,0 mg		21 mg		23,0 mg	
Próbki AA ^P /1,0 ml ^d	Nle1	Nle2	Ile1	Ile2	Leu1	Leu2	Tl1	Tl2	Met1	Met2
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
Odważki	45	47	26	28	27	25	23	21	23	25
Efekt ^e	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dodano ^f	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Łączna masa próbek AA^P	45	47	26	28	27	25	23	21	23	25

^{a/} Orientacyjne stężenia molowe nasyconych roztworów AA^P:
Nleu^P=0,2M; Ileu^P=0,12M; Leu^P=0,12 M; Tleu^P=0,1 M; Met^P=0,1 M;
^{b/} m₁= AA^P rozpuszczony w 1 ml nasyconego roztworu;
^{c/} m₂= naważka AA^P do nasycenia 1,0 ml z 25% nadmiarem;
^{d/} Próbki AA^P: Nle1, Nle2,... Met1, Met2, etc. naważki Nleu^P (1) i Nleu^P (2), ..., etc.;
^{e/} Zaobserwowano pojawienie się kryształów/fazy stałej w roztworze: „+”, nie zaobserwowano: „-”;
^{f/} W przypadku niewystąpienia przesylenia dodano kolejną naważkę AA^P

4.2.1.3.1.3. WYZNACZANIE ROZPUSZCZALNOŚCI II- I III-RZĘDOWYCH AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

Do mini-reaktoraka (Rys. 4-1.) wprowadzano 1 ml wody, dodawano porcję (ok. 100 mg) badanego aminokwasu fosfonowego (Tab. 4-22.). Reaktorek umieszczano na mieszadle magnetycznym wyposażonym w termostatowaną łaźnię wodną, i suspensję mieszano w temperaturze 80°C przez okres do 0,5 h. Po tym okresie, reaktorek wyjmowano z łaźni i przez okres 3 h pozostawiano w temperaturze pokojowej. W przypadku braku pojawienia się kryształów aminokwasu operację powtarzano, dodając porcje 5-20 mg AA^P.

Tabela 4-22. Przeprowadzenie badań nad wyznaczeniem rozpuszczalności II- i III-rzędowych AA ^P								
AA ^P	$\text{H}_2\text{N}-\left[\text{C}\left(\text{H}_2\right)_3-\text{P}(\text{OH})_2\right]$		$\text{Me}-\text{N}\left(\text{H}\right)-\text{C}\left(\text{H}\right)-\text{P}(\text{OH})_2$ Et		$\text{Me}_2\text{N}-\text{C}\left(\text{H}\right)-\text{P}(\text{OH})_2$ Et		$\text{Et}-\text{N}\left(\text{H}\right)-\text{C}\left(\text{H}\right)-\text{P}(\text{OH})_2$ Me	
	3-Hala ^P		Me-Hala ^P		Me ₂ -Hala ^P		Et-Mala ^P	
Porcje AA ^{P/a}	Dodano/ _a	Efekt/ ^b	Dodano/ _a	Efekt/ ^b	Dodano/ _a	Efekt/ ^b	Dodano/ _a	Efekt/ ^b
1	100 mg	+	100 mg	+	200 mg	+	100 mg	+
2	100 mg	+	100 mg	+	200 mg	+	20 mg	+
3	100 mg	+	50 mg	+	200 mg	+	10 mg	+
4	100 mg	+	20 mg	+	100 mg	+	5 mg	+
5	20 mg	+	10 mg	+	100 mg	+	5 mg	-
6	10 mg	+	5 mg	-	50 mg	+		
7	5 mg	-			50 mg	+		
8					50 mg	+		
9					50 mg	+		
10					5 mg	+		
Stężenie [%] ^c	~30%		~22%		>50%		~12%	

^{a/}Kolejne porcje dodawanego AA^P;
^{b/}Efekt: „+” – homogenizacja; „-” – brak homogenizacji, obecność fazy stałej;
^{c/}Przybliżone stężenie procentowe

4.2.1.3.2. METODA SONIKACYJNA

4.2.1.3.2.1. BADANIA OPTYMALIZACYJNE

4.2.1.3.2.1.1. WPŁYW CZASU SONIKACJI SUSPENSJI AA^P-H₂O NA ROZPUSZCZALNOŚĆ AMINOKWASÓW

Próbki Nleu^P, o masach ok. 20-30 mg, odważono do mini-reaktorków (Screw-top V-vials: Aldrich Z115061-1ml), dodano wodę (0,5 ml) (Tab. 4-19.), umieszczono dodatkowo dipol magnetyczny (spinvane - Aldrich Z115169), i po szczelnym zamknięciu/zakręceniu mini-reaktorki umieszczono w łaźni ultradźwiękowej. Sonikację przeprowadzono przez 2 h w temperaturze 25-30°C. Ze względu na rozgrzewanie wody w łaźni podczas sonikacji, zachodziła potrzeba zewnętrznego chłodzenia (torebka foliowa z lodem). Reaktorki wyjmowano z łaźni po czasie sonikacji zestawionych w Tabeli 4-23., roztwory/suspensje Nleu^P przenoszono do probówek Oppendorfa i poddawano odwirowaniu. Supernatant (0,1 ml) poddano potencjometrycznemu miareczkowaniu z udziałem mianowanego roztworu 1 M KOH.

Czas sonikacji	0,1 h		0,5 h		1 h		2 h	
	N 11	N 12	N 21	N 22	N 31	N 32	N 41	N 42
Próbki	N 11	N 12	N 21	N 22	N 31	N 32	N 41	N 42
mg	29	27	28	27	27	26	29	26
Dodana woda	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml

Wyniki oznaczeń zestawiono w Tabeli 3-9.

4.2.1.3.2.1.2. WPŁYW ETAPU MIESZANIA SUSPENSJI AA^P-H₂O PO SONIKACJI NA ROZPUSZCZALNOŚĆ AMINOKWASÓW

Próbki Nleu^P, o masach ok. 20-30 mg, odważano do mini-reaktorków (Screw-top V-vials: Aldrich Z115061-1ml), dodawano wodę (0,5ml) (Tab. 4-23.), umieszczano dodatkowo dipol magnetyczny (spinvane - Aldrich Z115169), i po szczelnym zamknięciu/zakręceniu mini-reaktorki umieszczano w łaźni ultradźwiękowej. Sonikację przeprowadzono przez 0,5 h w

temperaturze 25-30°C. Reaktorki wyjmowano z łaźni umieszczano na mieszadle magnetycznym wyposażonym w termostatowaną łaźnię wodną i mieszano przez okres wskazany w Tabeli 4-24. Odpowiednie roztwory/suspensje Nleu^P przenoszono do probówek Oppendorfa i poddawano odwirowaniu. Supernatant (0,1 ml) poddawano potencjometrycznemu miareczkowaniu z udziałem mianowanego roztworu 1 M KOH.

Tabela 4-24. Wpływ czasu mieszania suspensji Nleu ^P -H ₂ O dla 0,5 h - sonikacji na rozpuszczalność Nleu ^P								
Czas mieszania	0,5 h		1 h		2 h		3 h	
Próbki ^a	N 11	N 12	N 21	N 22	N 31	N 32	N 41	N 42
mg	27	29	27	33	32	25	29	29
Dodana woda	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml

Wyniki oznaczeń przedstawiono w Tabeli 3-10.

4.2.1.1.3.2.2. WYZNACZANIE ROZPUSZCZALNOŚCI AMINOKWASÓW METODĄ SONIFIKACYJNĄ

Do reaktorków odważano kwasy 1-aminoalkilofosfonowe w ilościach zestawionych w Tabeli 4-25., dodawano wodę (1,0 ml) i przeprowadzano sonikację (25-30°C, 0,5 h).

Tabela 4-25.1. Przygotowanie roztworów do badań nad wyznaczaniem rozpuszczalności AA ^P metodą sonikacyjną										
AA ^P [mmol]	Gly ^P [mM=111 mg]		Ala ^P [mM=125 mg]		Hal ^P [mM=139 mg]		Nval ^P [mM=153 mg]		Val ^P [mM=153 mg]	
m ₁ [mg/1ml]	111 mg×0,6 M = 67 mg		125mg×0,9 M = 113 mg		139 mg×1 M = 139 mg		153 mg×0,6 M = 92 mg		153 mg×0,2 M = 92 mg	
m ₂ [mg/0,5 ml]	33,5 mg		57 mg		70 mg		46 mg		31 mg	
m ₃ = m ₂ ×1,1	37 mg		63 mg		77 mg		51 mg		34 mg	
Próbki AA ^P /0,5 ml	G1	G2	A1	A2	H1	H2	Nv1	Nv2	V1	V2
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
Odważki	44	36	64	58	75	78	55	54	37	37
Dodano*	-	-	14	11	14	14	-	-	-	-
Ogólnie	44	36	75	69	89	92	55	54	37	37

m₁ - AA^P rozpuszczony w 1 ml nasyconego roztworu;
m₂ - AA^P rozpuszczony w 0,5 ml nasyconego roztworu;
m₃ - naważka AA^P do nasycenia 0,5 ml z 10% nadmiarem
Próbki AA^P: G1, G2,...etc. naważki Gly^P (1) i Gly^P(2), ..., etc.
Orientacyjne stężenia molowe nasyconych roztworów AA^P:
Gly^P - 0,55 M, Ala^P - 0,83 M; Hal^P - 0,96 M; Nval^P - 0,6 M; Val^P - 0,2 M
*W przypadku niewystąpienia przesylenia dodano kolejną naważkę AA^P

Tabela 4-25.2. Przygotowanie roztworów do badań nad wyznaczaniem rozpuszczalności AA ^P metodą sonikacyjną										
AA ^P [mmol]	Leu ^P [mM=167 mg]		Ile ^P [mM=167 mg]		Nleu ^P [mM=167 mg]		Tleu ^P [mM=167 mg]		Met ^P [mM=185 mg]	
m ₁ [mg/1ml]	167 mg×0,1 M = 16,7 mg		167 mg×0,13 M = 22 mg		167 mg×0,21 M = 35 mg		167 mg×0,1 M = 16,7 mg		185 mg×0,1 M = 18,5mg	
m ₂ [mg/0,5 ml]	8,5 mg		11 mg		17,5 mg		8 mg/4		9 mg	
m ₃ = m ₂ ×1,1	9,5 mg /10		12 mg /13		19 mg /21		9,5 mg /10		9,9 mg /11	
Próbki	L1	L2	I1	I2	NI1	NI2	TI1	TI2	M1	M2
AA ^P /0,5 ml	16	16	14	14	24	27	13	15	16	14

m₁ - AA^P rozpuszczony w 1 ml nasyconego roztworu;
m₂ - AA^P rozpuszczony w 0,5 ml nasyconego roztworu;
m₃ - naważka AA^P do nasycenia 0,5 ml z 10% nadmiarem;
Próbki AA^P: L1, L2,...etc. naważki Leu^P(#1) i Leu^P(#2), ..., etc.
Orientacyjne stężenia molowe nasyconych roztworów AA^P:
Leu^P - 0,12 M; Ile^P - 0,12 M; Nleu^P - 0,2 M; Tleu^P - 0,1 M; Met^P - 0,1 M

Wyniki oznaczeń przedstawiono w Tabeli 3-11.

4.2.1.1.4. WYZNACZANIE ROZPUSZCZALNOŚCI AMINOKWASÓW AA^P W UKŁADACH

AA^P-H₂O-ROH

Do zaopatrzonych w dipole magnetyczne reaktorków odważono kwasy 1-aminoalkilofosfonowe w ilościach zestawionych w Tabeli 4-26., dodano odpowiedni roztwór iPrOH-H₂O (1,0 ml) i mieszaniny suspendowano w łaźni ultradźwiękowej w temp. 25-30°C w czasie 0,5 h. Suspensje mieszano w temperaturze ok. 30°C w czasie 1 h, po czym przenoszono do probówek Opendorfa i odwirowywano. Po odwirowaniu próbówki termostatowano w temp. 25°C w czasie 48 h i poddawano analizie.

Tabela 4-26. Przygotowanie suspensji do badań rozpuszczalności AA ^P w układach AA ^P -H ₂ O-iPrOH										
AA ^P [milimol]	Gly ^P [111 mg]		Ala ^P [125 mg]		Hala ^P [139 mg]		Nval ^P [92 mg]		Val ^P [30mg]	
Rozp. AA ^P w H ₂ O	0,6 M		0,9 M		1 M		0,6 M		0,2 M	
Rozp. AA ^P [mg/ml]	111mg×0,6 M = 67 mg		125mg×0,9 M = 113mg		139mg×1 M = 139mg		153mg×0,6 M = 92mg		153mg×0,2 M = 31mg	
iPrOH-H₂O^a	Próbki AA^P/1ml roztworu iPrOH-H₂O									
10:90 (1 ml)	Gly ^P		Ala ^P		Hala ^P		Nval ^P		Val ^P	
	G11	G12	A11	A12	H11	H12	Nv11	Nv12	V11	V12
	70	73	116	116	138	140	91	91	42	37
25:75 (1 ml)	G2 [30 mg]		A2 [50 mg]		H2 [60 mg]		Nv2 [40 mg]		V2 [20mg]	
	G21	G22	A21	A22	H21	H22	Nv21	Nv22	V21	V22
	43	41	65	69	70	71	52	53	31	29
50:50 (1 ml)	G3 [11 mg]		A3 [13 mg]		H3 [14 mg]		Nv3 [10 mg]		V3 [10mg]	
	G31	G32	A31	A32	H31	H32	Nv31	Nv32	V31	V32
	27	29	34	34	39	42	33	29	20	20
75:25 (1 ml)	G4 [11 mg]		A4 [13 mg]		H4 [14 mg]		Nv4 [10 mg]		V4 [10mg]	
	G41	G42	A41	A42	H41	H42	Nv41	Nv42	V41	V42
	14	17	21	22	19	18	23	20	13	14
^{a/} Odpowiednie układy woda-izopropanol otrzymano przez zmieszanie obu rozpuszczalników w podanych stosunkach objętościowych										

4.2.1.1.5. OZNACZANIE STĘŻEŃ KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH W UKŁADACH AA^P-H₂O-iPrOH

Do wyznaczenia stężeń kwasów 1-aminoalkilofosfonowych w układach AA^P-H₂O-iPrOH zastosowano metodę ³¹P-NMR-ową.

Zasada metody

Metoda polega na sporządzeniu roztworu do analizy przez zmieszanie w odpowiednim stosunku objętościowym roztworu AA^P o nieznanym stężeniu (do oznaczenia) i mianowanego roztworu standardu. Wzór do wyznaczania stężenia aminokwasu na podstawie widma ³¹P NMR mieszaniny AA^P (o nieznanym stężeniu) i standardu (o znanym stężeniu) (Równanie 4-1.) wyprowadzono w rozdziale Badania Własne (Tab. 3-7.).

Równanie 4-1. Algorytm do wyliczania stężenia AA^P z pomiarów ³¹P-NMR-owych

$$C_{AAP} = \frac{C_{ST} \times k \times RA_{AAP}}{RA_{ST}} \times \frac{V_{ST}}{V_{AAP}}$$

C_{ST} - stężenie standardu (MPA, K₃PO₄);

C_{AAP} - stężenie standardu AA^P;

RA_{ST} - powierzchnia względna sygnału ³¹P standardu (MPA, K₃PO₄);

RA_{AAP} - powierzchnia względna sygnału ³¹P aminokwasu (AA^P);

k - stosunek powierzchni względnej sygnału ³¹P standardu do powierzchni względnej sygnału ³¹P aminokwasu dla równomolowych stężeń standardu i aminokwasu w próbce;

V_{ST}/V_{AAP} - stosunek objętości roztworu standardu i objętości roztworu aminokwasu w próbce NMR.

W charakterze standardu wykorzystano 0,56 M roztwór kwasu metylofosfonowego (MPA). Przygotowanie roztworów do analizy przeprowadzono przez zmieszanie roztworów AA^P nasyconych w odpowiednim układzie iPrOH-H₂O, dodanie roztworów KOH 10 M, EDTA 0,02 M i D₂O dla „lock’u” w proporcjach zestawionych w Tabeli 4-27.

Ri	iPrOH-H ₂ O ^a	AA ^P -ii	V ^b	MPA 0,56 M	Gly ^P	Ala ^P	Hal ^P	Val ^P	KOH 10 M	EDTA 0,02 M	D ₂ O
R1	10:90	(AA ^P 12)	ml	0,050	0,050	0,050	0,050	0,100	0,10	0,050	0,050
R2	25:75	(AA ^P 22)	ml	0,050	0,050	0,050	0,050	0,100	0,10	0,050	0,050
R3	50:50	(AA ^P 32)	ml	0,050	0,100	0,100	0,100	0,100	0,10	0,050	0,050
R4	75:25	(AA ^P 42)	ml	0,050	0,100	0,100	0,100	0,100	0,10	0,050	0,050

^{a/} iPrOH-H₂O (v/v); ^{b/} objętości pobieranych próbek odmierzano strzykawką Hamiltona poj. 0,100 ml

Wyniki badań, w postaci numerycznego zapisu widm ^{31}P NMR analizowanych mieszanin MPA-AA^P (MPA + Gly^P + Ala^P + Hal^P + Val^P), przedstawiono w Tabeli 4-28.

iPrOH	AA ^{P/a}	Ala ^P	Hala ^P	Val ^P	MPA	Gly ^P	Pi ^b
10%	ppm	22,27	21,68	21,12	20,62	19,23	5,56
	RA	33,35	39,71	15,38	48,67	12,90	1
	RA _{AAP} /RA _{AMP}	0,685	0,816	0,316	1	0,265	
25%	AA ^P	Ala ^P	Hala ^P	Val ^P	MPA	Gly ^P	Pi
	ppm	22,28	21,68	21,12	20,54	19,25	5,56
	RA	15,52	18,25	10,26	52,35	10,01	1
	RA _{AAP} /RA _{MPA}	0,296	0,349	0,196	1	0,191	
50%	AA ^P	Ala ^P	Hala ^P	Val ^P	MPA	Gly ^P	Pi
	ppm	22,32	21,70	21,11	20,57	19,30	5,79
	RA	9,27	11,66	3,05	59,58	4,75	1
	RA _{AAP} /RA _{MPA}	0,156	0,200	0,051	1	0,080	
75%	AA ^P	Ala ^P	Hala ^P	Val ^P	MPA	Gly ^P	Pi
	ppm	22,33	21,70	21,11	20,57	19,30	5,79
	RA	1,32	2,70	-	71,85	0,533	1
	RA _{AAP} /RA _{MPA}	0,018	0,038	< 0,01 ^c	1	0,007	

^{a/} roztwory mieszanin MPA-AA^P alkalizowano do pH ok. 10;
^{b/} dodatkowy standard do umieszczania skali przesunięć AA^P;
^{c/} powierzchnię Val^P oszacowano

Wyliczenia rozpuszczalności AA^P w 5-składnikowych układach MPA-AA^P(Gly^P/Ala^P/Hala^P/Val^P)-H₂O-iPrOH opisanych w Tabeli 4-28., w oparciu o algorytm opisany za pomocą Równania 4-1., zestawiono w Tabeli 4-29.

Tabela 4-29. Wyznaczanie rozpuszczalności AA^P w 5-składnikowych układach AA^P-H₂O-iPrOH

$C_{AAP} = \frac{C_{ST} \times k \times RA_{AAP}}{RA_{ST}} \times \frac{V_{ST}}{V_{AAP}}$						
AA ^P Wsp.	AA ^P	MPA	Gly ^P	Ala ^P	Hala ^P	Val ^P
	ppm	20,62	19,23	22,27	21,68	21,12
	C _{ST}	0,56 M				
	V _{ST} /V _{AAP}	1	1	1	1	2
	k	1	1,27	1,31	1,08	0,94
	C _{ST} × k		0,711	0,734	0,588	0,526
	C _{ST} × k × V _{ST} /V _{AAP}		0,711	0,734	0,588	0,263
iPrOH	AA ^P	MPA	Gly ^P	Ala ^P	Hala ^P	Val ^P
10%	RA _{AAP} /RA _{AMP}		0,265	0,685	0,816	0,316
	C _{ST} × k × V _{ST} /V _{AAP}		0,711	0,734	0,588	0,263
	C ^{AAP} [M]		0,188 M	0,503 M	0,480 M	0,083 M
iPrOH	AA ^P	MPA	Gly ^P	Ala ^P	Hala ^P	Val ^P
25%	R= RA _{AAP} /RA _{AMP}		0,191	0,296	0,349	0,196
	C _{ST} × k × V _{ST} /V _{AAP}		0,711	0,734	0,588	0,263
	C ^{AAP} [M]		0,136 M	0,217 M	0,205 M	0,051 M
iPrOH	AA ^P	MPA	Gly ^P	Ala ^P	Hala ^P	Val ^P
50%	R= RA _{AAP} /RA _{AMP}		0,080	0,156	0,200	0,051
	C _{ST} × k × V _{ST} /V _{AAP}		0,711	0,734	0,588	0,263
	C ^{AAP} [M]		0,057 M	0,115 M	0,118 M	0,013 M
iPrOH	AA ^P	MPA	Gly ^P	Ala ^P	Hala ^P	Val ^P
75%	R= RA _{AAP} /RA _{AMP}		0,007	0,018	0,038	< 0,01 ^b
	C _{ST} × k × V _{ST} /V _{AAP}		0,711	0,734	0,588	0,263
	C ^{AAP} [M]		0,005 M	0,013 M	0,022 M	0,003 M
k – współczynnik korelacyjny powierzchni sygnałów ³¹ P widma ³¹ P NMR dla pary AA ^P -MPA;						
^{b/} powierzchnię Val ^P oszacowano						

4.2.2. WIDMA ABSORPCYJNE KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH

4.2.2.1. SPEKTROSKOPIA UV I IR

4.2.2.1.1. ANALIZA W UV

W badaniach wykorzystano uniwersalny spektrometr Spektrometr UV-VIS JASCO V-550 (Rys. 4-2.)^[343].



Rysunek 4-2. Spektrofotometr UV-VIS V-550 Jasco

Jasco V-550 to uniwersalny, dwuwieżkowy spektrofotometr UV-VIS pracujący w zakresie długości fal od 190 do 1100 nm, ze stałą szczeliną 1,5 nm.

Podstawowe dane techniczne:

- zakres długości falowej: 190-1100 nm;
- powtarzalność dł. fali: 0,1 nm;
- dokładność długości falowej: 0,2 nm (przy 656,1 nm);
- szerokość spektralna: 1,5 nm;
- szybkość skanowania: 10-8000 nm/min;
- światło rozproszone: 0,02 % przy 340 nm.

Roztwory AA^P do badań UV

0,1 M wodne roztwory 1-aminoalkilofosfonowych (Gly^P, 3-Hala^P) otrzymano przez rozpuszczenie 0,5 mmoli aminokwasów (Gly^P: 65 mg, 3-Hala^P: 70 mg) w kolbkach miarowych (5 ml).

0,001 M wodne roztwory kwasów 1-aminoaralkilofosfonowych w 0,1 M NaOH i 0,1 M HCl otrzymano przez rozcieńczenie w stosunku 1:10 roztworów 0,01 M otrzymanych wg. procedury zamieszczonej w Tabeli 4-30.

Tabela 4-30. Roztwory 0,01 M AA ^P w 0,1 M KOH i w 0,1 M HCl						
AA ^P	Roztwory 0,01 M AA ^P w 0,1M KOH			Roztwory 0,01 M AA ^P w 0,1 M HCl		
	Pgly ^P	O ₂ N-Pgly ^P	1-NphPgly ^P	Pgly ^P	O ₂ N-Pgly ^P	1-NphPgly ^P
AA ^P [MM] /0,1 mmol	[187] /18,7 mg	[232,1] /23,2 mg	[238] /23,8 mg	[187] /18,7 mg	[232,1] /23,2 mg	[238] /23,8 mg
0,1 M KOH	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml
0,1 M HCl	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml

4.2.2.1.2. ANALIZA W PODCZERWIENI

W badaniach wykorzystano uniwersalny spektrometr firmy Jasco seria 6000 z przystawką mikroskopową Irtron- μ (Rys. 4-3.)^[344].



Rysunek 4-3. Spektrometr JASCO FT/IR serii 6000

Podstawowe dane techniczne:

- rozdzielczość 0,07 cm⁻¹;
- stosunek sygnału do szumu 50000:1;
- źródło światła: FT/IR 6000 wykorzystuje ceramiczne źródło światła o wysokiej intensywności (temperatura pracy 1350°C) oraz emisji o charakterystyce ciała czarnego;
- optyka: wiązka ze źródła światła jest kierowana poprzez zwierciadło paraboliczne bezpośrednio na interferometr, funkcja Rapid Scan pozwala na uzyskanie 20 widm w ciągu sekundy;
- interferometr: kompaktowy interferometr Michelsona pracujący pod kątem 28°, zamontowany wraz z optyką KBr w obudowie termostатовanej;

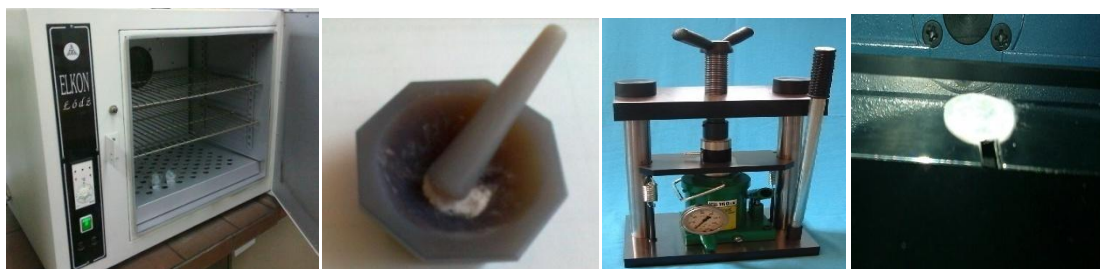
- detektor: izolowany termicznie detektor DLATGS oraz eliptyczne zwierciadło skupiające;
- przystawka mikroskopowa Irtron- μ do spektrometrów Jasco FTIR.

Procedura przygotowania próbek do pomiarów na spektrometrze FTIR

[1] Proszek bromku potasu przechowywano w suszarce w temperaturze 50°C aby zapobiec jego zawilgoceniu. Kryształy KBr są nieaktywne w zakresie podczerwieni (do 400 cm^{-1}), wiązka promieniowania oddziałuje jedynie z cząsteczkami badanej substancji.

[2] Badaną próbkę mieszano z bromkiem potasu w proporcji 0,1% - 2% próbki w stosunku do KBr. Aby uzyskać dokładne wymieszanie stosowano móżdziej agatowy w którym poprzez ucieranie uzyskano jednorodne rozprowadzenie oznaczanej substancji.

[3] Mieszaninę: suchego, sproszkowanego KBr (ok. 150 mg) z zawiesiną badanego związku (ok. 2 mg), prasowano pod ciśnieniem (z użyciem tabletkarki firmy Specac z odsysaniem powietrza) tworząc krystaliczne pastylki o grubości ułamka milimetra (Rys. 4-4.).



Rysunek 4-4. Etapy procedury przygotowania próbek do pomiarów na spektrometrze FTIR

4.2.2.2. SPEKTROSKOPIA NMR

4.2.2.2.1. SPEKTROSKOPIA ³¹P-NMR

Przygotowanie roztworów

- 2,5 M roztwór kwasu chlorowodorowego

Do kolby miarowej (50 ml) wiano 12,5 ml 10 M roztwór kwasu solnego (125 mmola), i uzupełniono do objętości 50 ml wodą.

- 2,5 M roztwór wodorotlenku potasowego

Do kolby stożkowej (50 ml) odważono KOH 7,0 g (0,125 mmola), dolewano wody 25 ml, i po ostygnięciu, przeniesiono roztwór do kolby miarowej (50 ml). Roztwór rozcieńczono do kreski.

- 2,5 M roztwór buforowy octan/kwas octowy

Do kolby stożkowej (50 ml) odważono KOH 7,0 g (0,125 mmola), dolano wody 25 ml, i po rozpuszczeniu dodano kwas octowy (125 mmole, 7,5 g). Po ostygnięciu przeniesiono roztwór do kolby miarowej (50 ml) i rozcieńczono wodą do kreski miarowej.

Do rejestracji widm używano wodne roztwory AA^P o stężeniach 0,2 M do 0,4 M, otrzymane przez rozpuszczenie 0,1 do 0,2 mmola AA^P w 0,6 ml roztworu, otrzymanego przez zmieszanie 0,4 ml wyjściowych 2,5 M roztworów (HCl, KOH, bufor) (Tab. 4-31.).

2 M HCl (D)			2 M AcONa/AcOH (D)			2 M KOH (D)		
HCl 2,5M	D ₂ O	EDTA 0,02 M	Bufor 2,5 M	D ₂ O	EDTA 0,02 M	KOH 2,5 M	D ₂ O	EDTA 0,02 M
0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml	0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml	0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml
0,5 ml			0,5 ml			0,5 ml		
2 M HCl (D), 2 M AcONa/AcOH (D) i 2 M KOH (D) – roztwory zawierające 10% D ₂ O – dla „locku”								

Do wyznaczenia przesunięć chemicznych badanych kwasów aminoalkilofosfonowych (Tab. 3-16.) wykorzystano roztwory zawierające dwa wzorce wewnętrzne – kwas metylofosfonowy (MPA) i kwas/sól kwasu fosforowego (Tab. 4-32.).

2 M* HCl			2 M* AcONa/AcOH			2 M* KOH		
HCl (D) 2,0 M	MPA [96,1]	KH_2PO_4 [136,1]	Bufor(D) 2,0 M	MPA [96,1]	KH_2PO_4 [136,1]	KOH (D) 2,0 M	MPA [96,1]	KH_2PO_4 [136,1]
0,5 ml	0,05 do 0,1 mmola	0,05 do 0,1 mmola	0,5 ml	0,05 do 0,1 mmola	0,05 do 0,1 mmola	0,5 ml	0,05 do 0,1 mmola	0,05 do 0,1 mmola

Skład roztworów wykorzystanych do rejestracji widm ^{31}P NMR w trybie z odsprężaniem oddziaływań P-H (PD) i bez odsprężania (NPD) przedstawione są w Tabeli 4-33.

Związki fosforu			2,0 M KOH		
MPA [96,1]	Gly^{P} [111,1]	KH_2PO_4 [136,1]	2,4 M KOH	0,02 M EDTA	D_2O
0,0104 g	0,0120 g	0,0130 g	0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml
0,108 mmoli	0,108 mmoli	0,096 mmoli			

4.2.2.2.2. SPEKTROSKOPIA ^1H -NMR I ^{13}C -NMR

Roztwory kwasów fosfonowych w układzie TFA- CDCl_3 otrzymano przez rozpuszczenie 0,2 mmola kwasu fosfonowego AA^{P} (Tab. 4-34.) w 0,6 ml TFA i rozcieńczenie roztworu z 0,4 ml CDCl_3 .

Kwas	Kwasy Fosfonowe					
	MPA	Gly^{P}	Ala^{P}	2- Ala^{P}	3-Hala $^{\text{P}}$	4-Nval $^{\text{P}}$
Masa Molowa	96,1	111,1	125	125,1	139,1	153,1
Ilość	mg^{a}	21	21	25	27	30
	mmoli^{b}	0,22	0,19	0,20	0,20	0,19
$^{\text{a}}/\pm 0,5 \text{ mg}; ^{\text{b}}/\pm 0,005 \text{ mmola}$						

Roztwory kwasów fosfonowych w D_2O otrzymano przez rozpuszczenie 0,2 mmola kwasu fosfonowego AA^{P} w 0,5 ml D_2O (99,9 % D) (Tab. 4-35.).

Tabela 4-35. Przygotowanie roztworów kwasów fosfonowych w D ₂ O							
Kwas	Kwasy Fosfonowe						
	MPA	Gly ^P	Ala ^P	2-Ala ^P	3-Hala ^P	4-Nval ^P	
Masa Molowa	96,1	111,1	125	125,1	139,1	153,1	
Ilość	mg ^a	20	21	24	26	28	29
	mmoli ^b	0,21	0,19	0,19	0,21	0,20	0,19
^{a/} ±0,5 mg; ^{b/} ±0,005 mmola							

Roztwory kwasów fosfonowych w układzie H₂O-D₂O (9:1) otrzymano przez rozpuszczenie 0,2 mmola kwasu fosfonowego AA^P w 0,6 ml H₂O-D₂O (9:1) (Tab. 4-36.).

Tabela 4-36. Przygotowanie roztworów kwasów fosfonowych w H ₂ O-D ₂ O (9:1)							
Kwas	Kwasy Fosfonowe						
	MPA	Gly ^P	Ala ^P	2-Ala ^P	3-Hala ^P	4-Nval ^P	
Masa Molowa	96,1	111,1	125	125,1	139,1	153,1	
Ilość	mg ^a	19	22	26	24	29	29
	mmoli ^b	0,20	0,20	0,21	0,19	0,21	0,19
^{a/} ±0,5 mg; ^{b/} ±0,005 mmola							

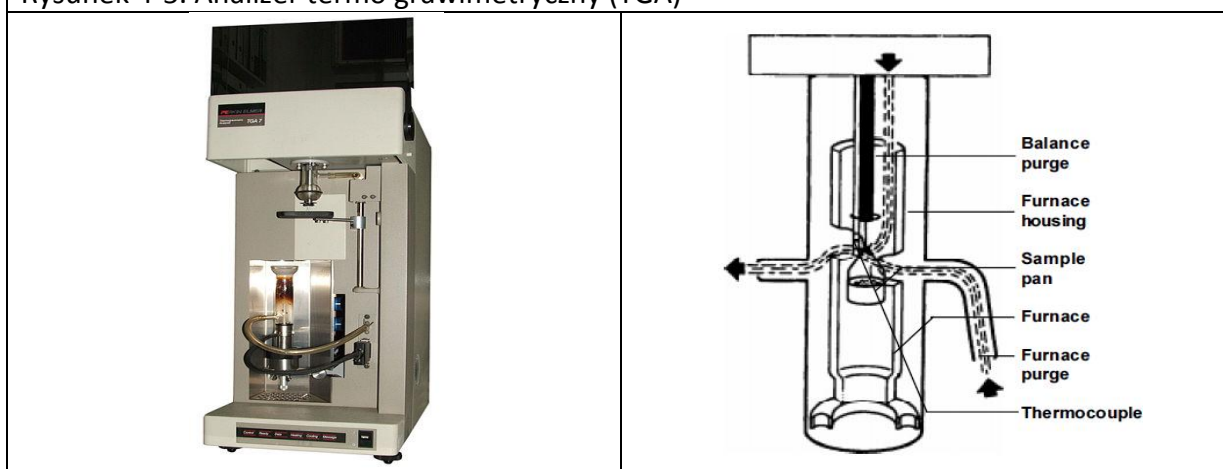
4.2.3. BADANIA TERMOGRAWIMETRYCZNE KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH

Do badań termogravimetrycznych kwasów aminoalkilofosfonowych wykorzystano aparat Hi-Res TGA 2950 Thermogravimetric Analyzer firmy TA Instruments.

Krzywe TGA zostały zarejestrowane w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych w Łodzi, Polskiej Akademii Nauk (operator: Sylwia Gmach).

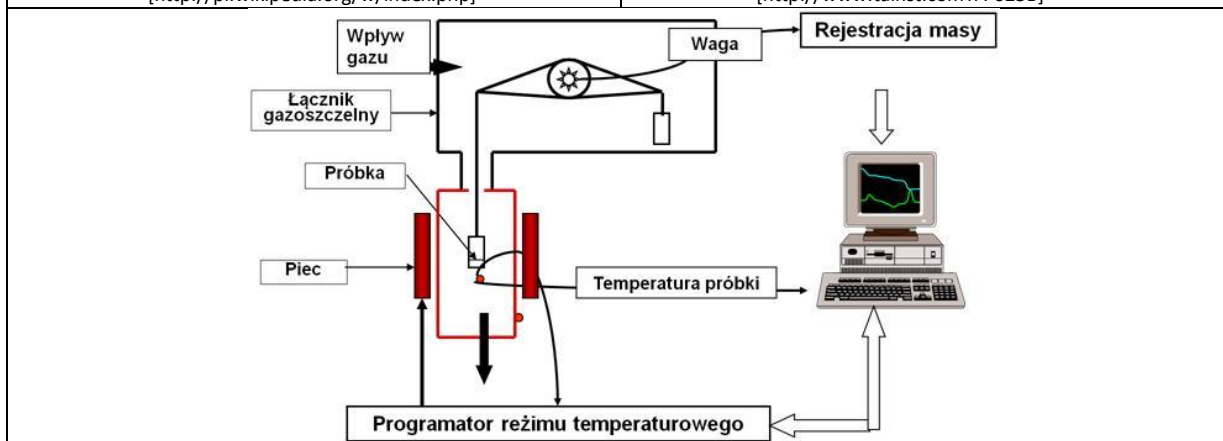
Analizer TGA 2950 przedstawiony jest na Rysunku 4-5.

Rysunek 4-5. Analizer termo grawimetryczny (TGA)



Rys. 4-5.1. Typowy analizator TGA
[<http://pl.wikipedia.org/w/index.php>]^[345]

Rys. 4-5.2. Schemat sektora pieca analizera TGA 2950
[<http://www.tainst.comTA-023B>]^[346]



Rys. 4-5.3. Schemat ideowy działania termowagi analizera TGA
[<http://laboratoria.net/pl/artukul/chemia-analityczna/15901.html>]^[347]

Cechy analizera TGA 2950^[347]:

- pionowy system wagowy o pojemności 1,5 mg, czułości 0,1 mg;
- zakresie reżimu temperaturowego od temp. pokojowej do 1000°C;
- pojedyncza termopara umieszczona blisko próbki dla kontroli pieca i monitorowania temperatury próbki;
- horyzontalny system przepłukiwania gazem, zapewnia szybkie usunięcie produktów termolizy próbki związku eliminując przebieg niepożądanych reakcji rekombinacji, dzięki czemu nie obserwuje się poszerzenia sygnałów w eksperymentach HR;
- gaz przemywający - gazy obojętne (N₂, He, Ar), rekomendowany hel;
- wysoka czułość wagi, kontrola szybkości ogrzewania jest powiązana z ubytkami masy próbki, zdolność rejestracji małych zmian masy jest ważna dla optymalnych warunków kontroli.

Wykorzystany analizator może pracować wg. czterech trybów (*HI-RESTM TGA Algorithms*) mogących pracować niezależnie lub w sprzężeniu:

- stała szybkość ogrzewania próbki (*Constant Heating Rate Mode*) - konwencjonalny typ TGA;
- zmienna szybkość ogrzewania próbki (*Dynamic Rate Mode*) – np. szybkie ogrzewanie próbki w obszarach których nie zachodzi termoliza;
- tryb stałej szybkości reakcji (*Constant Reaction Rate Mode*) – zmienia temperaturę pieca dla zachowania stałości wybranej szybkości zmiany masy (%/minuta);
- tryb częściowo izotermalny (*Stepwise Isothermal Mode*) – ogrzewanie ze stałym wzrostem do początku termolizy, od tego momentu przemiana izotermalna; sekwencja nagrzewania i izoterm jest powtarzana dla każdej rejestrowanej zmiany masy próbki.

Zasada pomiaru właściwości termograwimetrycznych

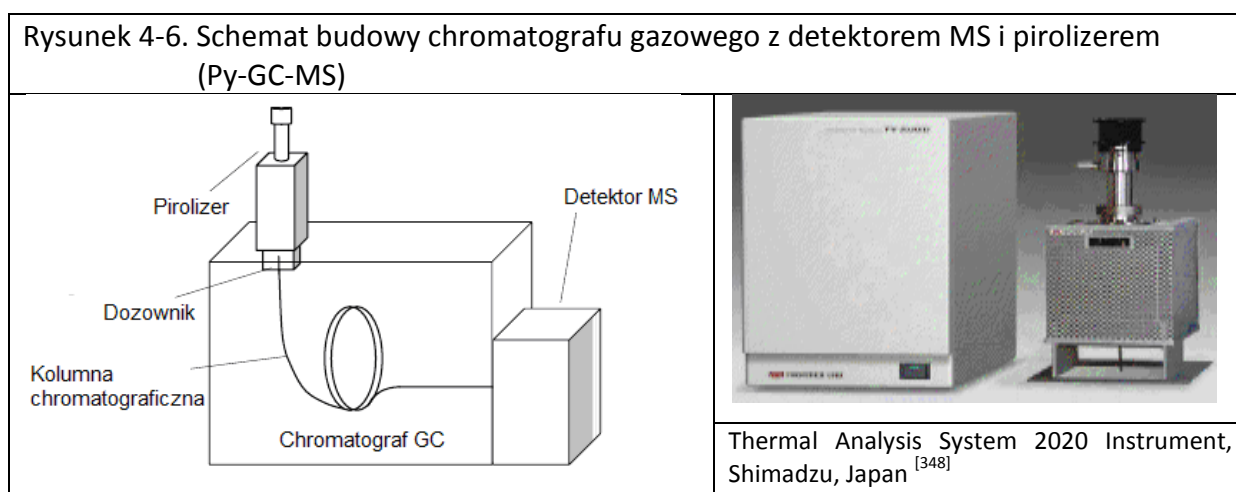
Pomiar właściwości termograwimetrycznych polegał na rejestracji zmian masy badanej substancji w zależności od zmian temperatur lub upływu czasu. Próbkę odważa się do naczynka (1-5 mg) i umieszcza się w piecyku, który jest połączony z termowagą. Próbkę ogrzewa się do zadanej, monitorowanej przy pomocy termopary, temperatury. Układ rejestrujący zapisuje zmianę masy względem zmiany temperatury: dm/dT (lub czasu: dm/dt). Na krzywej termograwimetrycznej wyróżnia się obszar plateau (nie zachodzi zmiana masy) oraz obszar, w którym masa się zmienia na skutek wydzielania lotnych składników próbki. Na termogramie obok krzywych TG, wykreśla się również różnicową krzywą termograwimetryczną (DTG), która jest pierwszą pochodną krzywej TG. Na krzywej TGA obserwuje się ekstrema (maksima i minima), które odpowiadają zmianom masy analizowanej próbki.

4.2.4. BADANIA NAD PIROLIZĄ KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH

4.2.4.1. METODA BADAŃ

Do badań pirolizy kwasów aminoalkilofosfonowych została wykorzystana technika chromatografii gazowej z detekcją mas, chromatograf GC-MS wyposażony był w pirolizer (Py-GC-MS) ^[348].

Schemat budowy aparatu przedstawia Rysunek 4-6.



Technika Py-GC-MS umożliwia badanie lotnych związków chemicznych pochodzących bezpośrednio z pirolizy. Związki mogą być analizowane w stałej temperaturze lub z zaprogramowanym wzrostem temperatury pirolizy.

Badania prowadzono na chromatografie gazowym firmy Shimadzu (Japonia) model: GC-17A wyposażonym w detektor selektywności masy ^[348]. Kolumna chromatograficzna UA5-30M-025F wykorzystywana w badaniach posiadała 30 m długości, 0,25 mm średnicy, 0,25 um grubości ścianek, max. temperatura pracy to ok. 360°C.

Badane próbki nie były poddawane wstępnej obróbce (np. ekstrakcji, oczyszczaniu).

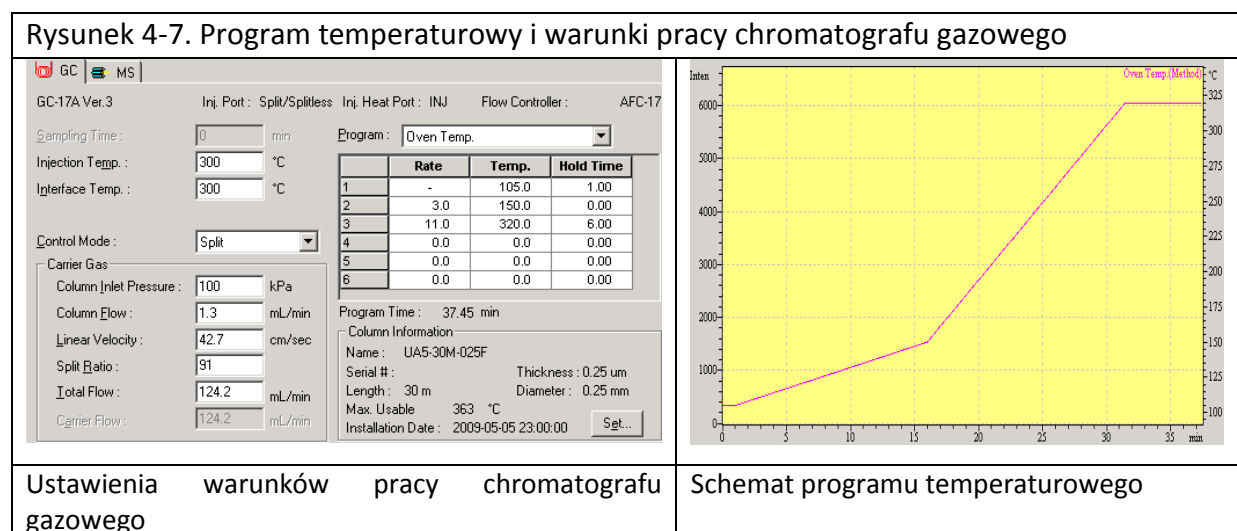
Parametry badań chromatografu gazowego

Analizę chromatograficzną (GC) prowadzono w następujących warunkach:

- temperatura dozownika: 300°C;
- temperatura interfejsu: 300°C;
- program wzrostu temperatury kolumny: od 105°C (1 min.) następował wzrost o 3°C/min do 150°C, następnie wzrost o 11°C/min do 320°C (6 min.).

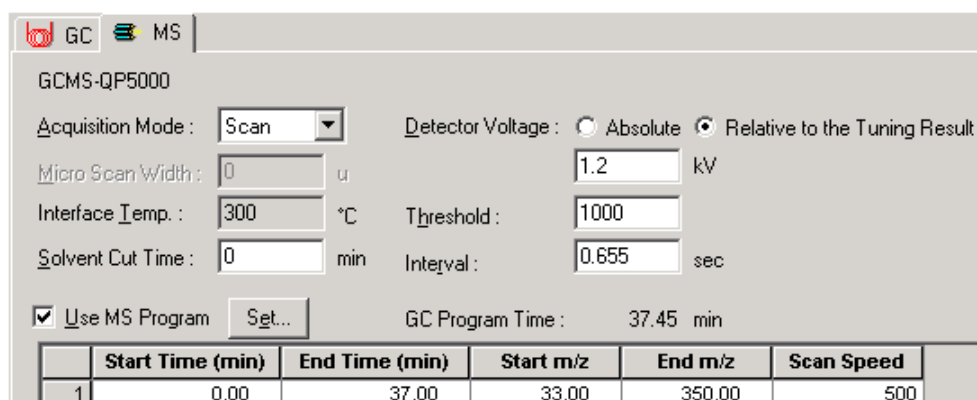
Całkowity czas programu temperaturowego to 37,45 min.

Rysunek 4-7. przedstawia szczegółowe dane dotyczące stosowanej metody oznaczania produktów pirolizy badanych związków.



Parametry badań detektora ms

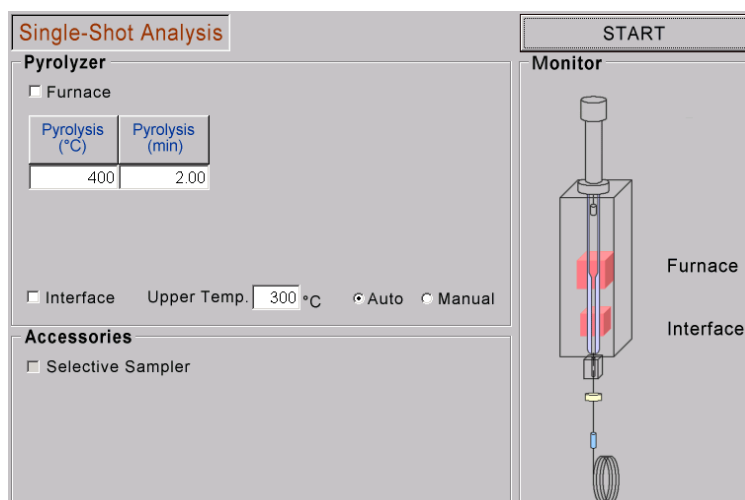
Badania przeprowadzono w trybie *Scan* pracy detektora MS. W trybie scan wybrano zakres szukanych mas jonów produktów pirolizy od 33 do 350 m/z (Rys. 4-8.).



Rysunek 4-8. Parametry programu detektora mas metody oznaczania produktów pirolizy

Parametry badań pirolizera

Pirolizę badanych związków przeprowadzono w stałej temperaturze: 400°C, przez 2 minuty. Temperatura interfejsu ustawiono na 300°C (Rys. 4-9.).



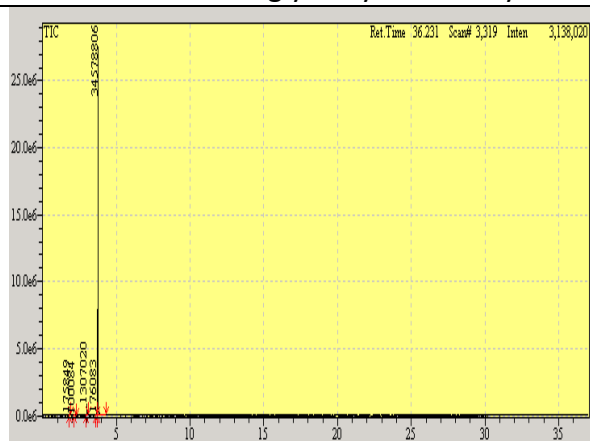
Rysunek 4-9. Parametry pracy oraz schemat budowy pirolizera układu Py-GC-MS

Po wprowadzeniu próbki do komory urządzenia następował proces pirolizy w 400°C trwający 2 minuty, po tym czasie próbka zostawała usuwana ze strefy grzejnej a lotne związki mieszając się z gazem nośnym (hel) trafiały do kolumny chromatograficznej.

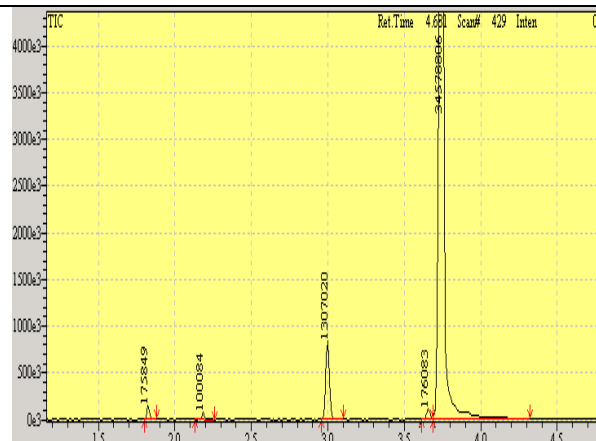
Reprezentatywny chromatograf Py-GC-MS, wyciąg z analizy MS dominującego pików wraz z identyfikacją na podstawie biblioteki MS przedstawiono na Rysunku 4-10.

Zredukowane widmo MS produktów pirolizy Me-Pgly^P przedstawiono w Tabeli 4-37.

Rysunek 4-10. Chromatogram GC MS EI lotnych produktów tworzących się podczas pirolizy Me-Pgly^P i wyniki analizy MS EI

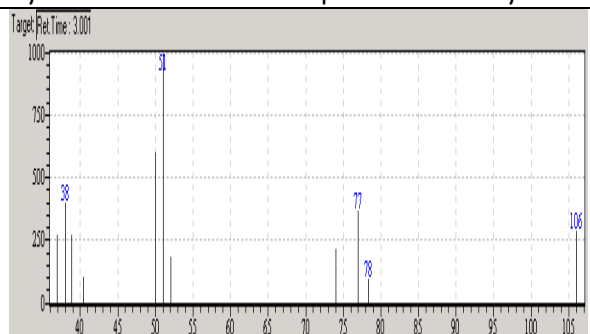


Rys. 4-10.1. Chromatogram GC MS EI

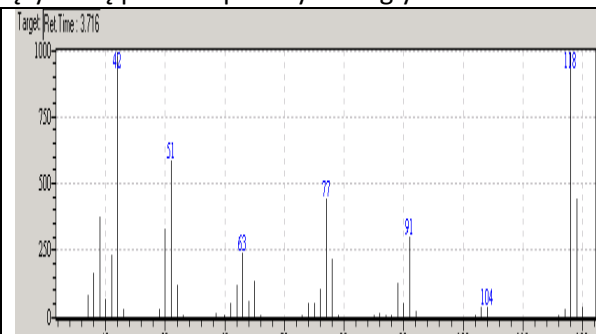


Rys. 4-10.1.1. Chromatogram GC MS EI – rozciąg dla czasu do 5 min.

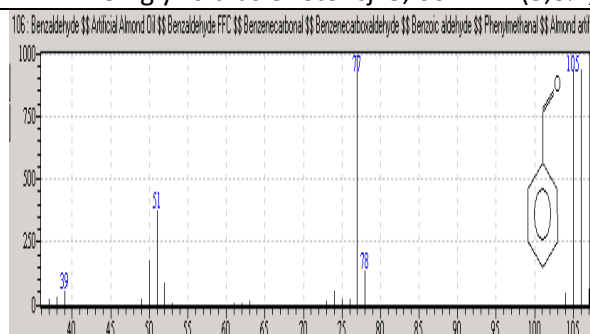
Rys. 4-10.2. Analiza MS EI produktów lotnych tworzących się podczas pirolizy Me-Pgly^P



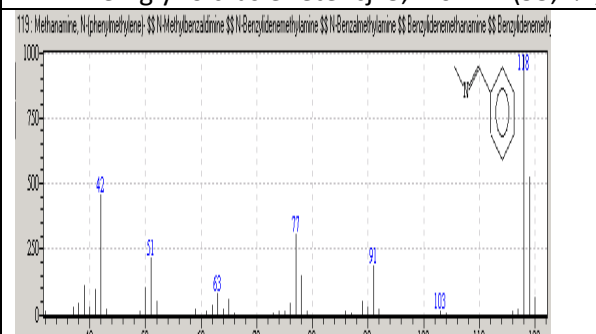
Rys. 4-10.2.1. Widmo MS-EI produktu termo lizy Me-Pgly^P o czasie retencji 3,001 min (3,8%)



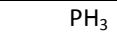
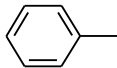
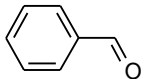
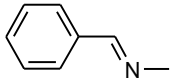
Rys. 4-10.2.2. Widmo MS-EI produktu termo lizy Me-Pgly^P o czasie retencji 3,716 min (95,1%)



Rys. 4-10.2.1.L. Widmo MS-EI benzaldehydu z Biblioteki widm MS



Rys. 4-10.2.2.L. Widmo MS-EI N-metylo-iminy benzaldehydu z Biblioteki widm MS

Tabela 4-37. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy Me-Pgly ^P (400°C, 4 min.)													
Nr	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy Me-Pgly ^P						Identyfikacja			
	RT	A	RA	m/z [%]						MM	Struktura		
1	1,820	18	0,5	m/z	34						34/ PH ₃		
				[%]	100								
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	34	32	32						
2	2,188	10	0,3	m/z	92	91	65	51	39		92/ C ₇ H ₈		
				[%]	45	75	48	48	100				
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	92	91	65	51	39				
3	3,001	131	3,8	m/z	106	78	77	58	38		106/ C ₇ H ₆ O		
				[%]	30	15	38	100	40				
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	106	105	78	77	51	50			
4	3,662	18	0,5	m/z	51	45	41	38			51		
				[%]	100	75	90	80					
	3,738	3458	95,1	m/z	119	118	104	91	77	42	118/ C ₈ H ₉ N		
[%]				27	70	5	22	35	100				
Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	119	118	103	91	77	42				
			[%]	52	100	5	18	35	48				
Σ		3635	100,2										

GC: RT - czas retencji [min];
A (Ax10³) - powierzchnia sygnału na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia sygnału na chromatogramie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

4.2.4.2. BADANIA NAD PIROLIZĄ KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH

Pomiary powtarzane były standardowo dwukrotnie, w przypadkach analiz kontrowersyjnych trzykrotnie. Reprezentatywne chromatogramy przedstawiono w Tabelach: 4-38. - 4-60.

Tabela 4-38. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy Gly ^P [400°C; 2 min]												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy Gly ^P							Identyfikacja	
	RT	A	RA	m/z [%]							MM	Struktura
1	1,842	828	94	m/z	59	58	46	44			59/ C ₂ H ₅ NO	<chem>CN=O</chem>
				[%]	12	17	9	100				
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	59	44	41	28			58/ C ₂ H ₆ N ₂	<chem>CN(O)C</chem>
				[%]	100	52	82	22				
				m/z	58	57	43	42	28	15		
				[%]	32	5	70	12	28	100		<chem>N=N</chem>
2	2,882	52	6	m/z	92	77	62	49	47		92/ C ₃ H ₉ PO	Me ₃ PO
				[%]	30	75	15	33	95			
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	92	77	61	49	47			
				[%]	60	95	10	25	20			
Σ		880	100									

GC: RT - czas retencji [min];
A (Ax10³) - powierzchnia piku na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia piku na chromatogramie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-39. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy t-Bu-Gly ^P [400°C; 2 min]												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy t-Bu-Gly ^P						Identyfikacja		
	RT	A	RA	m/z [%]						MM	Struktura	
1	2,059	949	59	m/z	56	55	50	45	41	39	56/ C ₄ H ₈	
				[%]	21	8	6	5	83	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	57	56	55	50	41	28		
	Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	4	62	18	5	90	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	56	55	50	41	39			
	Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	50	20	10	100	40			
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	56	55	50	41	39			
Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	45	19	5	100	30				
Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	56	55	50	41	40	39			
Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	50	15	5	100	16	45			
2	2,091	653	41	m/z	68	67	59	58	42	39	67/ C ₄ H ₅ N	
				[%]	1,7	1,9	4	100	41	25		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	58	57	43	39	29			
	Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	12	4	100	15	45			
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	68	67	66	52	41	39		
Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	4	100	8	4	62	70			
Σ		1602	100									

GC: RT – czas retencji [min]; A (Ax10³) – powierzchnia pików na chromatogramie; RA [%] – względna powierzchnia pików na chromatogramie. MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-40. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy Ala ^P [400°C; 2 min]												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy Ala ^P						Identyfikacja		
	RT	A	RA ^{/b}	m/z [%]						MM	Struktura	
1	1,744	1731	88	m/z	57	56	51	45	42	41	57/ C ₃ H ₇ N	
				[%]	10	100	11	16	55	99		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	57	56	42	30	28			
	Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	45	20	10	45	100			
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	57	56	42	30	28			
	Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	35	26	100	15	26			
Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	58	57	43	42	28	15	58/ C ₂ H ₆ N ₂		
Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	32	5	70	12	28	100			
2	3,131	227	12	m/z	121	106	94	77	65	39	121/ C ₈ H ₁₃ N	
				[%]	25	38	18	18	25	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	121	120	106	93	80	65		
Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	75	100	10	18	10	8			
Σ		1958	100									

GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia pików na chromatogramie; RA [%] - względna powierzchnia pików na chromatogramie. MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

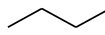





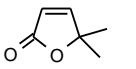
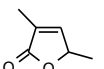
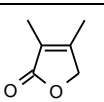
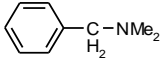
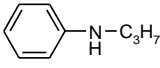
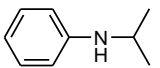
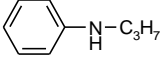
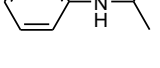
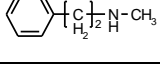
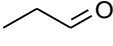
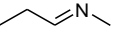
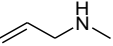
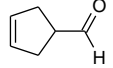
Tabela 4-41. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy Hala ^P [400°C; 2 min]													
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy Hala ^P							Identyfikacja		
	RT	A ^a	RA	m/z [%]							MM	Struktura	
1	2,048	134	11	m/z	58	57	42	34	33		58/ C ₄ H ₁₀		
				[%]	12		6	100	35				
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	58	57	43	42	29			58/ C ₃ H ₆ O	
				[%]	12	4	100	38	42				
				m/z	58	57	43	42	27				
Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	58	57	39	29	28		58/ C ₃ H ₆ O			
			[%]	45	10	5	38	100					
2	2,199	58	4,9	m/z	84	69	55	39		84/ C ₆ H ₁₂			
				[%]	10	23	23	100					
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	84	69	56	41	39				
Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	70	22	100	68	28					
			m/z	85	84	70	67	56	41		85/ C ₅ H ₁₁ N		
Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	2	6	40	10	18	100				
			m/z	85	84	70	57	56	44				
Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	52	100	15	48	48	35	70/ C ₅ H ₁₀			
			m/z	71	70	56	55	42					
Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	3	30	2	33	100					
			m/z	122	107	91	79	65	39		122		
Dane z Biblioteki MS-EI			[%]	27	62	81	49	29	100				
			Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	112	99	84	70	58	41	112/ C ₆ H ₈ O ₂
[%]	8	26				4	74	12	100				
m/z	112	97				83	67	55	27				
[%]	15	5				100	5	65	58				
m/z	112	97				69	54	43	26				
[%]	12	100				95	20	90	18				
m/z	113	112				97	69	55	41				
[%]	10	54				30	100	10	90				
m/z	113	112	83	55	39	27							
[%]	5	40	55	100	27	25							
6	3,250	55	4,7	m/z	112	106	91	82	70	41	112/ C ₆ H ₈ O ₂		
				[%]	15	5	8,8	9,1	55	100			
	Dane z Biblioteki MS-EI zebrane dla piku 5			Patrz dane dla sygnału nr. 6.									
7	3,792	62	5,3	m/z	110	94	82	67	55	41	110		
				[%]	7,5	17	20	18	48	100			
8	4,139	21	1,8	m/z	124	96	93	68	62	44	124		
				[%]	67	14	27	8.2	100	26			
9	4,832	28	2,4	m/z	124	80	68	62	55	39	124		
				[%]	22	19	28	18	24	100			

Tabela 4-41. (cd.) Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy Hala^P [400°C; 2 min]

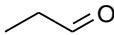
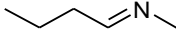
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy Hala ^P							Identyfikacja		
	RT	A ^a	RA	m/z [%]							MM	Struktura	
10	5,016	102	8,9	m/z	135	134	107	93	79	63	135/ C ₉ H ₁₃ N		
				[%]	39	63	20	10	18	11			
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	135	134	118	91	58	42			
				[%]	40	25	5	45	100	20			
				m/z	135	118	106	91	77	65			
				[%]	18	3	100	3	22	6			
m/z	135	121	120	103	93	77							
[%]	25	10	100	3	10	12							
11	5,829	21	1,8	m/z	127	112	98	83	71	40	127		
				[%]	61	100	27	26	23	87			
12	6,284	14	1,2	m/z	112	57	41				112		
				[%]	100	44	100						
13	6,695	214	18	m/z	135	134	120	107	93	39	135/ C ₉ H ₁₃ N		
				[%]	50	19	38	16	18	100			
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	135	118	106	91	77	65			
				[%]	18	3	100	3	22	6			
				m/z	135	121	120	103	93	77			
				[%]	25	10	100	3	10	12			
m/z	135	132	118	105	91	44							
[%]	4	4	4	4	8	100							
Σ		1178	99,8	A ^a : A x 10 ⁴									

GC: RT - czas retencji [min];
A (Ax10³) - powierzchnia piku na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia piku na chromatografie.
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

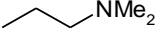
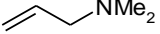
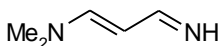
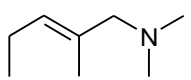
Tabela 4-42. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy Me-Hala ^P [400°C; 2 min]												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy Me-Hala ^P						Identyfikacja		
	RT	A	RA	m/z [%]						MM	Struktura	
1	1,961	157	2,2	m/z	58	45	34					
				[%]	3	19	100					
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	59	58	39	29			58/ C ₃ H ₆ O	
				[%]	12	85	05	100				45/ C ₂ H ₆ N
			m/z	45	44	43	28					
			%	64	100	10	18					
2	2,026	4694	66.	m/z	71	70	56	55	54	42		
				[%]	6	4	2	2	3	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	71	70	68	56	44	28	71/ C ₄ H ₉ N	
				[%]	40	40	10	20	100	70		
			m/z	86	58	44	39					
			[%]	13	36	100	34				86	
4	2,373	177	2,5	m/z	71	70	68	57	42			
				[%]	20	4	6,4	4,4	100			
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	71	70	68	56	44	28	71/ C ₄ H ₉ N	
				[%]	40	40	10	20	100	70		
			m/z	50	45	44						
			[%]	14	15	100					50	
6	2,524	98	1,4	m/z	84	56	44	42				
				[%]	13	36	76	100				
7	2,622	1766	25	m/z	111	110	96	82	68	42		
				[%]	3	3	30	11	13	100	111/96	
Σ		7106	100									

GC:
RT - czas retencji [min];
A (Ax10³) - powierzchnia pików na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia pików na chromatogramie.
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

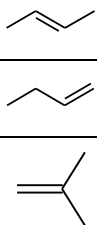
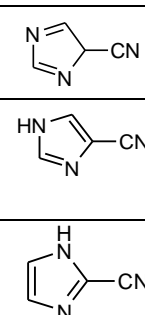
Tabela 4-43. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy Et-Hala^P [400°C; 2 min]

Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy Et-Hala ^P						Identyfikacja		
	RT	A	RA	m/z vs. [%]						MM	Struktura	
1	2,080	63	3,0	m/z	58	44	34				58/ C ₃ H ₆ O	
				[%]	7	15	100					
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	59	58	39	29				
				[%]	12	85	5	100				
2	2,199	1680	81.	m/z	85	84	70	56	54	42	85/ C ₅ H ₁₁ N	Et-CH=N-Et
				[%]	8,5	3	41	100	14	70		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	84	70	57	54	42			
				[%]	5	15	45	5	100			
3	2,557	25	1,2	m/z	98	70	58	41				
				[%]	10	10	16	100				
4	2,698	77	3,7	m/z	100	98	85	70	56	41	100/ C ₆ H ₁₃ N	C ₃ H ₅ -N(Me)-Et
				[%]	49	6,8	70	86	99	100		
5	2,947	16	0,8	m/z	110	98	82	70	56	41		
				[%]	16	30	11	25	41	100		
6	3,088	235	11.	m/z	125	124	110	96	82	41	124/125/ C ₈ H ₁₅ N	
				[%]	3	3	49	54	30	100		
7	4,149	16	0,8	m/z	124	100	62	40			124	
				[%]	38	35	100	60				
Σ		2096	100									

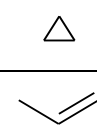
GC:
RT - czas retencji [min];
A (Ax10³) - powierzchnia piku na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia piku na chromatogramie.
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-44. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy Me ₂ -Hala ^P [400°C; 2 min]											
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy Me ₂ -Hala ^P					Identyfikacja		
	RT	A	RA	m/z [%]					MM	Struktura	
1	2,059	144	2,0	m/z	59	58	44	39		59/ C ₃ H ₉ N	Me ₃ N
				[%]	10	100	33	100			
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	59	58	42	30			
				[%]	69	100	26	32			
2	2,134	3467	47	m/z	87	70	58	42	39	87/ C ₅ H ₁₃ N	
				[%]	4	2	100	49	16		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	87	71	58	42	30		
				[%]	8	2	100	10	10		
3	2,199	2312	31	m/z	85	84	70	58	42	85/ C ₅ H ₁₁ N	
				[%]	12	8	12	38	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	85	84	70	58	42		
				[%]	40	22	10	100	40		
4	2,524	594	8,1	m/z	98	84	71	58	42	98/ C ₅ H ₁₀ N ₂	
				[%]	11	6	18	60	100		
5	2,633	337	4,6	m/z	127	112	98	82	58	127/ C ₈ H ₁₇ N	
				[%]	2	3	8	5	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	127	112	98	82	58		
				[%]	5	5	5	5	100		
6	3,337	492	6,7	m/z	125	110	96	81	42	125	
				[%]	19	15	31	15	100		
Σ		7346	99,5								

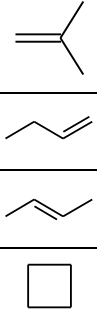
GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia piku na chromatogramie; RA [%] - względna powierzchnia piku na chromatogramie. MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-45. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy 2-Ala ^P [400°C; 2 min]												
Nr.	GC ^a			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy 2-Ala ^P							Identyfikacja	
	RT	A	RA	m/z [%]							MM	Struktura
1	2,32	6758	58	m/z	56	55	50	41	39		56/ C ₄ H ₈	
				[%]	20	25	10	85	100			
	Dane z Biblioteki MSEI	m/z	56	55	50	41	39					
		[%]	50	20	10	100	40					
		m/z	56	55	50	41	39					
		[%]	45	19	5	100	30					
m/z	56	55	50	41	40	39						
[%]	50	15	5	100	16	45						
2	2,86	4990	42	m/z	93	91	80	65	51	39	93/ C ₄ H ₃ N ₃	
				[%]	20	34	20	23	21	100		
	Dane z Biblioteki MSEI	m/z	94	93	78	66						
		[%]	15	100	4	92						
		m/z	94	93	78	67	66					
		[%]	15	100	4	8	92					
m/z	94	93	66	53	41							
[%]	12	100	42	20	26							
Σ		11748										

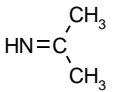
GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10⁴) - powierzchnia pików na chromatogramie; RA [%] - względna powierzchnia pików na chromatogramie. MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-46. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy 3-Hala ^P [400°C; 2 min]												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy 3-Hala ^P							Identyfikacja	
	RT	A	RA	m/z [%]							MM	Struktura
1	1,97		100	m/z	42	41	40	39			42/ C ₃ H ₆	
				[%]	56	81	29	100				
	Dane z Biblioteki MSEI	m/z	42	41	40	39						
		[%]	100	90	30	70						
		m/z	42	42	40	39						
[%]	70	100	29	70								

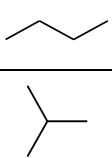
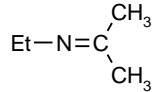
GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia pików na chromatogramie; RA [%] - względna powierzchnia pików na chromatogramie; MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-47. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy 4-Nvala ^P [400°C; 2 min]												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy 4-Nvala ^P							Identyfikacja	
	RT	A	RA	m/z [%]							MM	Struktura
1	2,503		100	m/z	56	55	50	41	40	39	56	
				[%]	38	16	8.3	97	16	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	56	55	50	41	40	39	56/ C ₄ H ₈	
				[%]	50	15	5	100	16	45		
				m/z	56	55	50	41	40	39		
				[%]	45	19	5	100	5	30		
				m/z	56	55	50	41	39			
				[%]	50	20	10	100	40			
m/z	57	56	55	28								
[%]	4	62	19	100								

GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia chromatogramu; RA [%] - względna powierzchnia chromatogramu; MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny




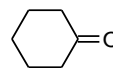
Tabela 4-48. Wyniki analizy GC-MS-EI lotnych produktów pirolizy Mala ^P [400°C; 2 min]												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy Mala ^P							Identyfikacja	
	RT	A	RA	m/z [%]							MM	Struktura
1	1,766		>95	m/z	57	43	42	41	40	39	57/ C ₃ H ₇ N	
				[%]	5	5	100	12	11	9		

GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia pików na chromatogramie; RA [%] - względna powierzchnia pików na chromatogramie; MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-49. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy Et-Mala ^P [400°C; 2 min]												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy Et-Mala ^P							Identyfikacja	
	RT	A	RA	m/z [%]							MM	Struktura
1	1,994	1270	15	m/z	58	44	43	39			58/ C ₄ H ₁₀	
				[%]	11	39	100	9				
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	58	57	43	42	29			
				[%]	12	4	100	38	42			
				m/z	58	57	43	42	27			
				[%]	4	4	100	38	28			
2	2,134	6381	75	m/z	85	70	55	42	39	85/ C ₅ H ₁₁ N		
				[%]	3.	21	7,6	100	27			
3	2,860	804	9,5	m/z	110	96	82	70	42		C ₈ H ₁₄ /C ₆ H ₁₀ N ₂	
				[%]	11	17	24	9	100			
Σ		20203	99,5									

GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia pików na chromatogramie ; RA [%] - względna powierzchnia pików na chromatogramie; MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-50. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy 1-ACH-1-P [400°C; 2 min]

Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy 1-ACH-1-P						Identyfikacja		
	RT	A	RA	m/z vs. [%]						MM	Struktura	
1	1,669	1653	45	m/z	45	44	38	37	36		45	
				[%]	1	7	29	15	100			
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	45	44	43	28			45/ C ₂ H ₇ N	Me ₂ NH
				[%]	64	100	10	18				
2	1,744	218	5,9	m/z	61	60	45	43	41	36	61/ C ₂ H ₇ NO	
				[%]	7.	18	85	100	18	76		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	61	60	46	45	33	28		
				[%]	100	25	92	15	8	30		
			m/z	61	60	45	43	42	28			
			[%]	80	91	3	30	100	20			
3	1,896	337	9,1	m/z	82	80	79	67	54	39	82/ C ₆ H ₁₀	
				[%]	14	7	8	48	31	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	82	81	79	67	54	39		
			[%]	35	10	10	100	68	45			
4	2,492	1388	37	m/z	98	70	69	55	42	39	98/ C ₆ H ₁₀ O	
				[%]	10	8	8	56	86	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	98	83	79	69	55	42		
				[%]	46	10	20	26	100	60		
				m/z	98	97	83	70	55	39		
			[%]	30	36	45	100	38	42			
5	14,604	120	3,2	m/z	44						44	
				[%]	100							
Σ		3716	100									

GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia piku na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia piku na chromatogramie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

4.2.4.3. BADANIA NAD PIROLIZĄ KWASÓW AMINOARALKILOFOSFONOWYCH








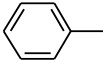
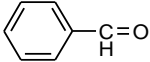
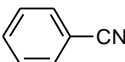


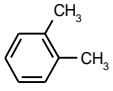
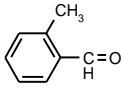
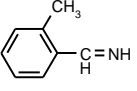

Tabela 4-51. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy Phe ^P [400°C; 2 min]												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy Phe ^P							Identyfikacja	
		A ^a	RA	m/z [%]							MM	Struktura
1	2,080	227	7,4	m/z	44	42	38	36	34	33	44/ C ₂ H ₄ O	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	44	43	42	29				
				[%]	11	11	33	11	100	44		
2	2,188	31	1,0	m/z	47	45	40	34			47	
				[%]	19	100	18	14				
3	2,427	602	19	m/z	94	92	91	65	63	39	92/ C ₇ H ₈ lub 94/ C ₇ H ₁₀	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	92	91	77	65	51	39		
				[%]	6	33	100	31	35	96		
				[%]	47	100	3	20	7	18		
				m/z	94	91	79	77	65	39		
			[%]	60	41	100	68	12	20			
4	2,914	248	8,0	m/z	104	78	75	63	51	33	104/ C ₈ H ₈	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	104	103	78	76	63	51		
				[%]	92	99	59	33	100	88		
5	3,088	78	2,6	m/z	157	50	47	44	40		157	
				[%]	15	13	100	11	16			
6	3,348	83	2,8	m/z	93	66	40	39			93	
				[%]	52	42	50	100				
7	3,954	175	5,9	m/z	92	91	65	63	51	44	92/ C ₇ H ₈	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	92	91	65	51		39		
				[%]	56	100	75	69	39	59		
8	4,193	28	0,9	m/z	62						62	
				[%]	100							
9	15,709	229	7,4	m/z	39						39	
				[%]	100							
10	19,435	27	0,9	m/z	44						44	
				[%]	100							
11	21,017	34	1,1	m/z	44						44	
				[%]	100							
12	27,214	852	27	m/z	103	102	44	40	39		102/ C ₈ H ₆	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	103	102	76	50	39			
				[%]	10	92	99	100	33			
13	31,114	76	2,4	m/z	44						44	
				[%]	100							
14	31,796	31	1	m/z	73	45	44				73	
				[%]	81	100	88					

Tabela 4-51 (cd). Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy Phe ^P [400°C; 2 min]												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy Phe ^P						Identyfikacja		
		A ^a	RA	m/z [%]						MM	Struktura	
15	32,175	383	12	m/z	207	45	41				207	
				[%]	100	50	53					
Σ		3104	99	A ^a : A x 10 ³								

GC: RT - czas retencji [min]; A (A x 10³) - powierzchnia piku na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia piku na chromatografie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny;
^{a/}Pik o podobnej fragmentacji posiada czas retencji 3,629 min

Tabela 4-52. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy Pgly ^P [400°C; 2 min]												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy Pgly ^P						Identyfikacja		
	RT	A	RA	m/z [%]						MM	Struktura	
1	1,744	81	1,1	m/z	46	45	44	43	34	33		
				[%]	14	17	19	35	100	34		
2	2,113	119	1,7	m/z	92	91	78	77	63	39	92/ C ₇ H ₈	
				[%]	35	38	23	15	35	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	92	91	65	51	39			
	[%]	78	100	12	8	10						
3	2,958	471	6,6	m/z	106	79	77	52	51	50	106/ C ₇ H ₆ O	
				[%]	19	9.6	44	16	100	75		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	106	105	78	77	51	50		
	[%]	94	94	18	100	38	20					
4	3,142	410	5,7	m/z	103	77	76	61	50	39	103/ C ₇ H ₅ N	
				[%]	72	17	53	17	100	40		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	103	88	76	61	50	39		
	[%]	100	2	38	17	18	5					
5	3,434	131	1,80	m/z	77	75	63	52	51	50	77	
				[%]	31	26	19	20	100	66		
6	3,629	108	1,5	m/z	91	51	41	40		42	91/ C ₇ H ₇	
				[%]	100	59	60	89		47		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	92	91	77	65	51	39		
	[%]	47	100	3	20	7	18					
7	3,889	30	0,4	m/z	62	44					62	
				[%]	64	100						
8 ^{a/}	24,527	5816	81	m/z	91	77	65	51	41	39	91/ C ₇ H ₇	C ₇ H ₇
				[%]	97	58	70	85	42	100		
Σ		7166	100									

GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia piku na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia piku na chromatografie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny;
^{a/}Pik o podobnej fragmentacji posiada czas retencji 3,629 min

Tabela 4-53. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy <i>o</i> -MePgly ^P [400°C; 2 min]												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy <i>o</i> -MePgly ^P						Identyfikacja		
	RT	A	RA	m/z [%]						MM	Struktura	
1	1,874	15	0,5	m/z	46	45	43	34				
				[%]	8	27	10	100				
2	2,329	70	2,1	m/z	92	91	65	63	51	39	92/ C ₇ H ₈	
				[%]	58	70	29	46	35	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	92	91	65	51		39		
	[%]	78	100	12	8		10					
3	2,687	38	1,2	m/z	106	92	91	78	65	39	106/ C ₈ H ₁₀	
				[%]	41	15	100	19	23	76		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	107	106	105	92	91	77		
	[%]	6	64	28	8	100	12					
4	4,084	747	23	m/z	120	117	91	89	65	39	120/ C ₈ H ₈ O	
				[%]	7	32	23	29	26	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	120	119	92	91	65	39		
	[%]	78	92	10	100	28	20					
5	5,059	29	0,9	m/z	119	118	104	91	65	39	119/ C ₈ H ₉ N	
				[%]	47	34	26	71	41	100		
6	5,211	21	0,6	m/z	63	44	40					
				[%]	77	62	100					
7	24,023	2356	72	m/z	104	103	91	75	65	39	104/ C ₈ H ₈	
				[%]	34	49	32	30	74	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	104	103	78	63	51	39		
	[%]	100	60	82	10	48	30					
Σ		3276	100,3									



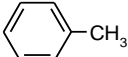
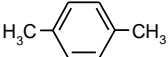
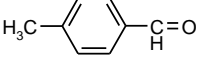
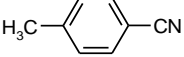
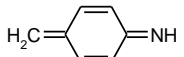
GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia piku na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia piku na chromatografie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-54. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy *m*-MePgly^P [400°C; 2 min]



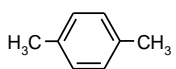
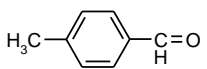
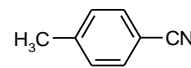
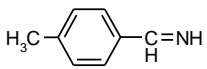
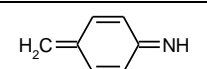
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy <i>m</i> -MePgly ^P						Identyfikacja		
	RT	A	RA	m/z [%]						MM	Struktura	
1	1,939	298	1,3	m/z	45	44	34				34	PH ₃
				[%]	6	5	100					
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	34	33	31					
2	2,644	287	1,3	m/z	106	92	91	78	65	39	106/ C ₈ H ₁₀	
				[%]	31	23	100	13	21	92		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	106	105	91	77	65	39		
3	4,139	2532	12	m/z	121	120	119	91	65	39	121/ C ₈ H ₈ O	
				[%]	5,7	29	29	62	48	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	120	119	91	89	65	39		
4	4,420	1629	7,4	m/z	117	116	90	89	63	39	117/ C ₈ H ₇ N	
				[%]	52	39	40	25	64	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	117	116	90	89	63	39		
5	4,918	355	1,6	m/z	120	119	118	92	91	39	120	
				[%]	23	52	54	19	46	100		
6	5,081	337	1,5	m/z	118	105	91	89	78	39	118	
				[%]	32	63	42	34	33	100		
7 ^a	24,094	16668	75	m/z	106	105	91	89	77	63	106/ C ₈ H ₁₀	
				[%]	68	77	68	50	100	81		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	106	105	91	77	65	39		
Σ		22106	99,6									

GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia piku na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia piku na chromatogramie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny;
^a/Pik o podobnej fragmentacji posiada czas retencji 2,644 min

Tabela 4-55.1. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy *p*-MePgly^P [400°C;15sec.]

Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy <i>p</i> -MePgly ^P						Identyfikacja		
	RT	A	RA	m/z [%]						MM	Struktura	
1	1,734	268	3,9	m/z	44	40	34				44	
				[%]	24	14	100					
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	44	43	42	29			44/ C ₂ H ₄ O	
				[%]	66	16	13	100				
2	1,994	104	1,5	m/z	73	60	45	41			73	
				[%]	22	98	50	100				
3	2,286	320	4,7	m/z	92	91	65	54	44	39	92/ C ₇ H ₈	
				[%]	76	100	29	35	58	95		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	92	91	65	51	39			
				[%]	78	100	12	8	10			
4	2,438	332	4,9	m/z	106	105	91	77	65	39	106/ C ₈ H ₁₀	
				[%]	33	18	100	16	14	44		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	106	105	91	77	65	39		
				[%]	56	27	100	12	5	5		
5	2,730	58	0,9	m/z	47	44	40				47	
				[%]	100	22	32					
6	3,868	74	1,1	m/z	124	62	61	42	40		124	
				[%]	44	40	36	64	100			
7	4,106	1822	27.	m/z	120	119	91	65	50	39	120/ C ₈ H ₈ O	
				[%]	47	49	69	60	36	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	120	119	91	89	65	39		
				[%]	80	90	100	10	30	20		
8	4,431	2289	35	m/z	117	116	90	76	63	39	117/ C ₈ H ₇ N	
				[%]	62	53	55	18	79	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	120	119	91	89	65	39		
				[%]	80	90	100	10	30	20		
9	4,973	300	4,4	m/z	105	65	51	44	39		105/ C ₇ H ₇ N	
				[%]	100	43	43	99	89			
10	24,440	1228	18	m/z	51	44	39				51	
				[%]	60	100	57					
Σ		6795	100,6									

GC: RT - czas retencji [min]; A (A x 10³) - powierzchnia pików na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia pików na chromatogramie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-55.2. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy <i>p</i> -MePgly ^P [400°C; 2 min]												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy <i>p</i> -MePgly ^P							Identyfikacja	
	RT	A	RA	m/z vs. [%]							MM	Struktura
1	1,701	110	1,1	m/z	44	34	33				44/ C ₂ H ₄ O	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	44	43	42	29				
2	2,405	215	2,2	m/z	106	91	78	77	52	39	106/ C ₈ H ₁₀	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	106	105	91	77	65	39		
3	4,084	1623	17	m/z	120	119	91	89	75	39	120/ C ₈ H ₈ O	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	120	119	91	89	65	39		
4	4,388	1396	14	m/z	117	116	91	89	78	39	117/ C ₈ H ₇ N	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	117	116	90	89	63	39		
5	4,940	182	1,9	m/z	118	105	77	65	52	39	119/ C ₈ H ₉ N	
6	24,527	6206	64	m/z	105	77	65	44	40	39	105/ C ₇ H ₇ N	
				[%]	100	81	83	89	78	85		
Σ		9732	100,2									



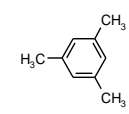
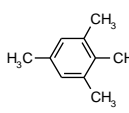
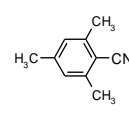
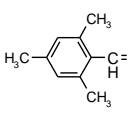
GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia piku na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia piku na chromatogramie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-55.3. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy *p*-MePgly^P [400°C;37min]

Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy <i>p</i> -MePgly ^P						Identyfikacja		
	RT	A	RA	m/z [%]						MM	Struktura	
1	1,701	278	3,9	m/z	44	40	34				44/ C ₂ H ₄ O	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	44	43	42	29				
2	1,809	961	14	m/z	75	74	73	57	55	45	75	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	75	74	73	57	55	45		
3	1,961	70	1,0	m/z	73	56	54	44	40		73	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	73	56	54	44	40			
4	2,048	48	0,7	m/z	55	54	45	44	40		55	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	55	54	45	44	40			
5	2,167	230	3,3	m/z	92	91	65	54	44	39	92/ C ₇ H ₈	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	92	91	65	63	51	39		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	92	91	65	63	51	39		
6	2,405	217	3,1	m/z	106	92	91	79	63	39	106/ C ₈ H ₁₀	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	106	92	91	79	63	39		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	106	105	91	77	65	39		
7	2,719	255	3,6	m/z	101	91	72	65	58	44	101	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	101	91	72	65	58	44		
8	3,835	51	0,7	m/z	62	44	40				62	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	62	44	40					
9	4,095	2539	36	m/z	120	119	91	65	50	39	120/ C ₈ H ₈ O	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	120	119	91	89	65	39		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	120	119	91	89	65	39		
10	4,399	1852	26	m/z	117	116	90	76	63	39	117/ C ₈ H ₇ N	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	117	116	90	76	63	39		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	117	116	90	76	63	39		
11	4,940	189	2,7	m/z	105	77	51	44	40		105	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	105	77	51	44	40			
12	24,51	386	5,5	m/z	65	53	44	40			65	
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	65	53	44	40				
Σ		7076	99,8									

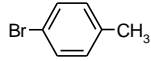
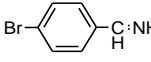

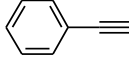
GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia piku u na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia piku na chromatogramie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-56. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy 2,3,4-Me₃-Pgly^P










Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy 2,3,4-Me ₃ -Pgly ^P						Identyfikacja		
	RT	A	RA	m/z [%]						MM	Struktura	
1	1,853	86	0,7	m/z	44	43	42	34			44/ C ₂ H ₄ O	
				[%]	12	14	11	100				
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	44	43	42	29				
2	1,961	77	0,6	m/z	70	58	47	45			70	
				[%]	9	8	10	100				
3	3,120	440	3,6	m/z	120	105	92	80	63	39	120/ C ₉ H ₁₂	
				[%]	51	84	18	26	59	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	120	105	91	80	63	39		
4	4,810	576	4,7	m/z	134	120	119	91	79	39	134/ C ₁₀ H ₁₄	
				[%]	38	59	67	49	31	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	134	120	119	91	79	39		
5	7,865	7672	62.	m/z	145	130	104	77	51	39	145/ C ₁₀ H ₁₁ N	
				[%]	45	91	24	21	66	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	145	130	115	103	77	39		
6	8,678	1927	16,0	m/z	148	147	91	78	65	41	148/ C ₁₀ H ₁₂ O	
				[%]	45	91	24	21	72	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	148	147	119	105	91	41		
7	9,577	216	1,7	m/z	104	53	51	41	39		104	
				[%]	92	83	97	92	100			
8	27,69	1361	11,0	m/z	40						40	
				[%]	100							
Σ		12355	101									

GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia pików na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia pików na chromatogramie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

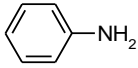
Tabela 4-57. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy *p*-BrPgly^P

Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy <i>p</i> -BrPgly ^P						Identyfikacja		
	RT	A	RA	m/z [%]						MM	Struktura	
1	1,690	44	1,9	m/z	64	48	44	40	34	64		
				[%]	24	51	76	24	100			
2	3,716	280	12	m/z	172	170	91	78	63	39	172/ C ₇ H ₇ Br	
				[%]	15	17	100	10	84	68		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	172	170	91	65	63	39		
	[%]	38	40	100	18	10	10					
3	6,500	223	9,5	m/z	185	184	183	157	79	50	185/ C ₇ H ₆ N Br	
				[%]	21	18	26	15	16	100		
4	6,858	260	11	m/z	183	181	102	79	75	50	183/ C ₇ H ₄ N Br	
				[%]	38	41	55	26	73	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	183	181	102	90	75	50		
	[%]	85	90	100	5	25	20					
5	9,338	460	2,0	m/z	89	77	63	51	50	44	89	
				[%]	100	76	90	94	80	86		
6	11,07 2	118	5,0	m/z	273	90	89	63	50	40	273	
				[%]	100	49	57	50	42	50		
7	28,70	1372	59	m/z	102	90	89	75	63	50	102	
				[%]	67	77	70	58	84	100		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	103	102	87	76	63	50		
	[%]	9	100	2	20	5	10					
Σ		2342	100									

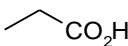
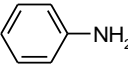
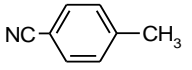
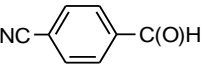
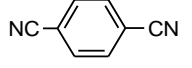
GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia piku na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia piku na chromatogramie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-58. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy <i>o</i> -ClPgly ^P												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy <i>o</i> -Cl-Pgly ^P						Identyfikacja		
	RT	A	RA	m/z [%]						MM	Struktura	
1	1,950	104	0,3	m/z	44	44	34	33			44/ C ₂ H ₄ O	
				[%]	62	55	100	47				
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	44	43	42	29			C ₂ H ₄ O	
				[%]	66	16	13	100				
2	3,142	311	1,0	m/z	126	91	89	65	63	39	126/ C ₇ H ₇ Cl	
				[%]	47	100	44	36	65	41		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	127	126	91	90	63	39	C ₇ H ₇ Cl	
				[%]	10	40	100	15	20	20		
3	4,0875	60	0,2	m/z	44						44	
				[%]	100							
4	4,875	916	3,1	m/z	141	140	111	77	74	62	141/ C ₇ H ₅ OCl	
				[%]	17	20	15	17	38	14		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	141	140	139	111	77	75	C ₇ H ₅ OCl	
				[%]	40	78	100	45	20	35		
5	5,753	892	3,1	m/z	137	102	76	75	63	50	137/ C ₇ H ₄ NCl	
				[%]	100	60	63	90	38	96		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	139	137	110	102	75	50	C ₇ H ₄ NCl	
				[%]	35	100	10	40	20	10		
6	5,883	536	1,8	m/z	140	139	138	137	75	50	140/ C ₇ H ₆ NCl	
				[%]	34	48	45	28	66	100		
7	6,392	65	0,2	m/z	125	91	89	63	51	50	125	
				[%]	91	66	75	68	100	90		
8	6,468	148	0,5	m/z	50	45	44	38			50	
				[%]	93	100	83	83				
9	25,567	26883	90	m/z	133	128	125	99	90	89	133/ C ₁₀ H ₁₃	
				[%]	18	18	100	20	77	67		
Σ		29915	100									


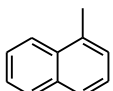
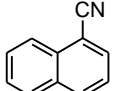
GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia pików na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia pików na chromatogramie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-59. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy <i>p</i> -NO ₂ Pgly ^P													
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy <i>p</i> -NO ₂ Pgly ^P						Identyfikacja			
	RT	A	RA	m/z [%]						MM	Struktura		
1	1,766	341	8,8	m/z	48	44	38	37	36		48		
				[%]	1	5	31	16	100				
2	3,088	3232	83	m/z	94	93	92	78	66	52	94/ C ₆ H ₇ N		
				[%]	8	100	11	4	75	19			
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	94	93	92	78	66	39			
				[%]	6	100	12	4	40	15			
3	6,175	169	4,4	m/z	129	127	100	91	73	65	129		
				[%]	35	97	34	28	34	100			
4	9,804	142	3,7	m/z	102	76	75	74	63	51	102		
				[%]	78	70	65	41	44	100			
Σ		3884	100,3										

GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia pików na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia pików na chromatogramie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny


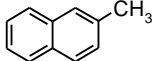
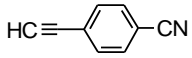
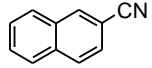
Tabela 4-60. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy <i>p</i> -HO ₂ C-Pgly ^P											
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy <i>p</i> -HO ₂ C-Pgly ^P						Identyfikacja	
	RT	A	RA	m/z [%]						MM	Struktura
1	1,712	370	5,0	m/z	74	73	59	45	36	74/ C ₃ H ₆ O ₂	
				[%]	33	65	81	100	42		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	74	73	57	45	28		
				[%]	100	65	48	90	82		
2	2,860	111	1,5	m/z	124	119	91	64	40	124	
				[%]	83	45	79	67	100		
3	3,001	263	3,5	m/z	93	66	50	40	39	93/ C ₆ H ₇ N	
				[%]	75	46	30	100	94		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	94	93	92	78	66		
				[%]	6	100	12	4	40	15	
4	4,420	834	11,2	m/z	117	116	90	89	63	117/ C ₈ H ₇ N	
				[%]	100	47	42	47	70		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	117	116	90	89	63		
				[%]	100	60	30	20	10	15	
5	6,977	2597	34,8	m/z	131	130	102	76	63	131/ C ₈ H ₅ NO	
				[%]	74	96	61	75	25		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	131	130	103	102	76		
				[%]	70	100	12	60	20	12	
6	7,454	3162	42,4	m/z	128	101	76	50	44	128/ C ₈ H ₄ N ₂	
				[%]	100	51	42	83	21		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	129	128	113	101	75		
				[%]	9	100	2	20	10	10	
7	14,224	117	1,6	m/z	50	40				50	
				[%]	64	100					
Σ		7454	99,9								

GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia pików na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia pików na chromatogramie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-61. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy 1-NphGly ^P												
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy 1-NphGly ^P						Identyfikacja		
	RT [min]	A	RA	m/z [%]						MM	Struktura	
1	1,690	39	4	m/z	240	64	34					
				[%]	6	3	100					
2	6,024	108	11	m/z	129	128	102	87	75	63	129/ C ₁₀ H ₈	
				[%]	13	100	19	7.	15	25		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	129	128	127	102	75	64		
3	8,938	177	18	m/z	143	142	141	115	89	63	143/ C ₁₁ H ₁₀	
				[%]	23	100	68	56	16	45		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	143	142	141	115	89	63		
4	14,669	434	44	m/z	153	100	76	63	52	44	153/ C ₁₁ H ₇ N	
				[%]	100	28	29	36	32	43		
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	154	153	126	100	76	63		
5	14,972	188	19	m/z	153	128	77	50	44	40	153	
				[%]	61	56	41	41	100	74		
6	15,557	11	1,1	m/z	44	40					44	
				[%]	63	100						
7	30,334	8	0,8	m/z	44						44	
				[%]	100							
8	30,485	8	0,8	m/z	73	43					73	
				[%]	100	87						
9	30,832	7	0,7	m/z	73	45	39				73	
				[%]	100	100	94					
10	31,384	6	0,6	m/z	73	45	33				73	
				[%]	24	22	100					
Σ		986	100,1									

GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia pików na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia pików na chromatogramie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny

Tabela 4-62. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy 2-NphGly^P

Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy 2-NphGly ^P							Identyfikacja	
	RT	A	RA	m/z [%]							MM	Struktura
1	1,712	504	6,0	m/z	64	49	45	34			64	
				[%]	4	4	39	100				
2	2,979	785	9,4	m/z	94	93	66	65	39		94	
				[%]	13	93	54	34	100			
3	3,824	25	0,3	m/z	41						41	
				[%]	100							
4	6,089	945	11	m/z	128	102	74	63	50	39	128/ C ₁₀ H ₈	
				[%]	100	25	30	22	48	36		
				Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	129	128	127		
5	6,143			m/z	128	102	87	74	63	51	128	
				[%]	100	26	23	31	33	32		
6	8,407	2543	30	m/z	142	141	115	89	74	63	142/ C ₁₁ H ₁₀	
				[%]	100	86	94	20	18	36		
				Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	143	142	141		
7	14,994	988	12	m/z	127	50					127/ C ₉ H ₅ N	
				[%]	100	66						
8	15,557	2082	25	m/z	153	127	74	62	50		153/ C ₁₁ H ₇ N	
				[%]	100	38	42	47	51			
				Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	154	153	126		
9	17,799	92	1,2	m/z	44						44	
				[%]	100							
10	30,485	91	1,2	m/z	73						73	
				[%]	100							
11	30,789	60	0,7	m/z	115	73	44				115	
				[%]	83	49	100					
12	31,070	64	0,7	m/z	141	139	115	73	63	51	141	
				[%]	100	31	55	21	19	19		
13	31,341	28	0,3	m/z	73	44					73	
				[%]	72	100						
14	31,699	38	0,5	m/z	78						78	
				[%]	100							
15	33,876	125	1,5	m/z	207	73					207	
				[%]	100	59						
Σ		8370	100,2									

GC: RT - czas retencji [min]; A (Ax10³) - powierzchnia pików na chromatogramie;
RA [%] - względna powierzchnia pików na chromatogramie;
MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny



4.2.4.4. BADANIA NAD PIROLIZĄ INNYCH KWASÓW FOSFONOWYCH

Tabela 4-63. Wyniki analizy GC-MS lotnych produktów pirolizy kwasu 1-hydroksypropylofosfonowego (1-HP ^P)											
$ \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{P}(\text{OH})_2 \\ \quad \quad \\ \text{H}_2 \quad \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{OH} \end{array} \xrightarrow[\text{Ar}]{400^\circ\text{C}} \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{C} \\ \quad \quad \\ \text{H}_2 \quad \text{H} \quad \text{O} \end{array} + \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{O}=\text{C}-\text{H} \\ \quad \quad \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{C}=\text{C}-\text{CH}_3 \\ \quad \quad \\ \text{H} \quad \quad \text{H} \end{array} $ <p style="text-align: center;"> 1-HP^P [58] [98] </p>											
Nr.	GC			Zredukowane widma MS-EI produktów pirolizy 1-HP ^P					Identyfikacja		
	RT	A	RA	m/z [%]					MM	Struktura	
1	1,885	30165	97,6	m/z	59	58	39			58/ C ₃ H ₆ O	$ \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{C} \\ \quad \quad \\ \text{H}_2 \quad \text{H} \quad \text{O} \end{array} $
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	59	58	39	29			
				[%]	6	100	43				
2	2,362	733	2,3	m/z	98	83	69	55	39	98/ C ₅ H ₁₀ O	$ \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{O}=\text{C}-\text{H} \\ \quad \quad \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{C}=\text{C}-\text{CH}_3 \\ \quad \quad \\ \text{H} \quad \quad \text{H} \end{array} $
	Dane z Biblioteki MS-EI			m/z	98	83	69	55	41		
				[%]	11	7	10	24	100		
Σ		30900	100								
GC: RT - czas retencji [min]; A (A x 10 ³) - powierzchnia piku na chromatogramie; RA [%] - względna powierzchnia piku na chromatogramie; MM - masa cząsteczkowa vs. wzór sumaryczny											

4.3. CHEMICZNE WŁAŚCIWOŚCI AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

4.3.1. BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH W ROZTWORACH ZASAD I KWASÓW

Badania przeprowadzano w mini-reaktorach firmy Aldrich pojemności 5 ml i zakręczanych zakrętką z uszczelnieniem teflonowym (Rys. 4-11.). Reaktor przeznaczony do badań stabilności AA^P w roztworach zasadowych wyposażony był dodatkowo w wewnętrzne naczynie wykonane z polietylenu (Rys. 4-11.2.), chroniące ścianki szklane przed działaniem wodorotlenku (zwłaszcza w temperaturze 100°C).

Rysunek 4-11. Mini-reaktoriki do badań stabilności AA ^P na ekspozycję w roztworach kwasowych i zasadowych	
	
Rys. 4-11.1. Mini-reaktor do badań stabilności AA ^P na ekspozycję w roztworach kwasowych (2 M HCl, 2 M H ₂ SO ₄)	Rys. 4-11.2. Mini-reaktor do badań stabilności AA ^P na ekspozycję w roztworach zasadowych (2 M KOH)

Badania stabilności kwasów aminoalkilofosfonowych przeprowadzono dla trzech grup aminokwasów fosfonowych obejmujących:

- kwasy 1-aminoalkilofosfonowe (AA^P);
- kwasy 1-(*N*-alkiloamino)alkilofosfonowe (R-AA^P);
- kwasy 1-(*N,N*-dialkiloamino)alkilo-fosfonowe (R₂-AA^P) (Tab. 4-64.).

Tabela 4-64. Grupy kwasów aminoalkilofosfonowych poddane badaniom na stabilność podczas ekspozycji w roztworach kwasowych i zasadowych		
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{PO}_3\text{H}_2 \\ \\ \text{R} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{R}^1-\text{N}-\text{C}-\text{PO}_3\text{H}_2 \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{R} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{R}^1 \\ \diagdown \\ \text{N} \\ \diagup \\ \text{R}^2 \end{array} \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{PO}_3\text{H}_2 \\ \\ \text{R} \end{array}$
Kwasy 1-aminoalkilofosfonowe (AA ^P)	Kwasy 1-(<i>N</i> -alkiloamino)alkilofosfonowe (R-AA ^P)	Kwasy 1-(<i>N,N</i> -dialkiloamino)alkilofosfonowe (R ₂ -AA ^P)

4.3.1.1. BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH (AA^P) W ROZTWORACH ZASAD I KWASÓW

Do badań wytypowano cztery aminokwasy – pochodne Gly^P – różniące się podstawnikami przy węglu αC.

Roztwory AA^P w odpowiednim roztworze kwasu lub zasady przygotowano zgodnie z wytycznymi w Tabelach: 4-65., 4-66.

Tabela 4-65. Przygotowanie roztworów kwasów 1-aminoalkilofosfonowych w 2 M HCl i 2 M KOH										
AA ^P					2 M HCl			2 M KOH		
AA ^P	Struktura	Mol	Masa [mg]	M	2,5 M HX*	D ₂ O	0,02 M EDTA	2,5 M KOH*	D ₂ O	0,02 M EDTA
Gly ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	111,1	22	0,02	0,80 ml	0,15 ml	0,05 ml	0,80 ml	0,15 ml	0,05 ml
Ala ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Me}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	125,1	25	0,02	0,80 ml	0,15 ml	0,05 ml	0,80 ml	0,15 ml	0,05 ml
Mala ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Me}}{\overset{\text{Me}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	139,1	28	0,02	0,80 ml	0,15 ml	0,05 ml	0,80 ml	0,15 ml	0,05 ml
Pgly ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Ph}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	187,1	37	0,02	0,80 ml	0,15 ml	0,05 ml	0,80 ml	0,15 ml	0,05 ml
MPA	$\text{H}_3\text{C}-\text{PO}_3\text{H}_2$	96	19	0,02	0,80 ml	0,15 ml	0,05 ml	0,80 ml	0,15 ml	0,05 ml

Mol, Masa i M oznaczają odpowiednio: M- masa molowa aminokwasu; Masa/b - naważka aminokwasu rozpuszczona w 1 ml roztworu 2 M HCl lub 2 M KOH; M^b - stężenie molowe otrzymanego roztworu aminokwasu. D₂O - 98%
 2,5 M HCl: w 3,2 ml 2,5 M HCl rozpuszczono 57 mg MPA. 2,5 M KOH: w 3,2 ml 2,5 M KOH rozpuszczono 57 mg MPA

Tabela 4-66. Przygotowanie roztworów kwasów 1-aminoalkilofosfonowych w 2 M H ₂ SO ₄							
AA ^P					2 M H ₂ SO ₄		
AA ^P	Struktura	M	mg	mmol	2.4M* H ₂ SO ₄	D ₂ O [98%]	0.02M EDTA
Gly ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	111,1	22	0,2	0,40ml	0,05ml	0,05ml
Ala ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Me}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	125,1	25	0,2	0,40ml	0,05ml	0,05ml
Mala ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Me}}{\overset{\text{Me}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	139,1	28	0,2	0,40ml	0,05ml	0,05ml
PGly ^P	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{Ph}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	187,1	19	0,1	0,40ml	0,05ml	0,05ml
MPA	$\text{Me}-\text{PO}_3\text{H}_2$	96	19	0,2	0,40ml	0,05ml	0,05ml

17 ml H₂O + 2 ml H₂SO₄; 2,4 M H₂SO₄: w 2,4 ml rozpuszczono 57 mg MPA

**4.3.1.1.1. BADANIA STABILNOŚCI KWAŚÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH (AA^P)
W ROZTWORACH ZASAD**

Wyniki badań ³¹P NMR nad stabilnością AA^P w 2 M KOH przedstawiono w Tabelach: 4-67., 4-68.

Tabela 4-67. Stabilność AA ^P na ekspozycję w 2 M KOH [temp. 25°C]											
Gly ^P	Ekspoz.	0		120h/5d		360h/15d		720h/30d		1632h/68d	
	ppm	19,3	a/	19,3	a/	19,3	a/	19,3	a/	19,3	a/
	%	100		100		100		100		100	
Ala ^P	Ekspoz.	0		120h/5d		360h/15d		720h/30d		1632h/68d	
	ppm	22,1	a/	22,1	a/	22,1	a/	22,1	a/	22,1	a/
	%	100		100		100		100		100	
Mala ^P	Ekspoz.	0		120h/5d		360h/15d		720h/30d		1632h/68d	
	ppm	24,9	a/	24,9	a/	24,9	a/	24,9	a/	24,9	a/
	%	100		100		100		100		100	
Pgly ^P	Ekspoz.	0		120h/5d		360h/15d		720h/30d		1632h/68d	
	ppm	18,0	a/	18,0	a/	18,0	a/	18,0	a/	18,0	a/
	%	100		100		100		100		100	

^{a/}Na zestawienie nie uwzględniano sygnału wzorca (MPA)

Tabela 4-68. Stabilność AA ^P na ekspozycję w 2 M KOH [temp., 100°C]											
Gly ^P	Ekspoz,	0		2h		8h		16h		24h	
	ppm	19,3	a/	19,3	a/	19,3	a/	19,3	a/	19,3	a/
	%	100		100		100		100		100	
Ala ^P	Ekspoz,	0		2h		8h		16h		24h	
	ppm	22,1	a/	22,1	a/	22,1	a/			22,1	
	%	100		100		100				100	
Mala ^P	Ekspoz,	0		2h		8h		16h		24h	
	ppm	24,9	a/	24,9	a/	24,9	a/	24,9	a/	24,9	a/
	%	100		100		100		100		100	
Pgly ^P	Ekspoz,	0		2h		8h		16h		24h	
	ppm	18,0	a/	18,0	a/	18,0	a/	18,0	a/	18,0	a/
	%	100		100		100		100		100	

^{a/}Na zestawienie nie uwzględniano sygnału wzorca (MPA)

4.3.1.1.2. BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-AMINOALKILOFOSFONOWYCH (AA^P) W ROZTWORACH KWASÓW

Wyniki badań ³¹P NMR nad stabilnością AA^P w 2 M KOH przedstawiono w Tabelach: 4-69., 4-70.

Tabela 4-69. Stabilność AA ^P na ekspozycję w 2 M HCl [temp. 25°C]											
Gly ^P	Eksp. [h]	0		120h/5d		360h/15d		720h/30d		1632h/68d	
	ppm	13,9	a/	13,9	a/	13,9	a/	13,9	a/	13,9	a/
	%	100		100		100		100		100	
Ala ^P	Eksp. [h]	0		120h/5d		360h/15d		720h/30d		1632h/68d	
	ppm	16,8	a/	16,8	a/	16,8	a/	16,8	a/	16,8	a/
	%	100		100		100		100		100	
Mala ^P	Eksp. [h]	0		120h/5d		360h/15d		720h/30d		1632h/68d	
	ppm	19,2	a/	19,2	a/	19,2	a/	19,2	a/	19,2	a/
	%	100		100		100		100		100	
Pgly ^P	Eksp. [h]	0		120h/5d		360h/15d		720h/30d		1632h/68d	
	ppm	12,5	a/	12,5	a/	12,5	a/	12,5	a/	12,5	a/
	%	100		100		100		100		100	

^{a/}Na zestawienie nie uwzględniano sygnału wzorca (MPA)

Tabela 4-70. Stabilność AA ^P na ekspozycję w 2 M H ₂ SO ₄ [temp. 100°C]											
Gly ^P	Ekspoz.	0		24h		48h		72h		120h	
	ppm	13,9		13,9		13,9		13,9		13,9	
	%	100		100		100		100		100	
Ala ^P	Ekspoz.	0		24h		48h		72h		120h	
	ppm	16,8		16,8		16,8		16,8		16,8	
	%	100		100		100		100		100	
Mala ^P	Ekspoz.	0		24h		48h		72h		120h	
	ppm	19,2		19,2		19,2		19,2		19,2	
	%	100		100		100		100		100	
Pgly ^P	Ekspoz.	0		24h		48h		72h		120h	
	ppm	13,3		13,3		13,3		13,3		13,3	
	%	100		100		100		100		100	

**4.3.1.3. BADANIA STABILNOŚCI KWASÓW 1-(N-ALKILOAMINO)ALKILOFOSFONOWYCH
(R-AA^P, R₂-AA^P) W ROZTWORACH KWASÓW I ZASAD**

Roztwory kwasów 1-(N-alkiloamino)alkilofosfonowych w odpowiednim roztworze kwasu lub zasady przygotowano zgodnie z wytycznymi w Tabelach: 4-71., 4-72.

Tabela 4-71. Przygotowanie roztworów kwasów 1-(N-alkiloamino)alkilofosfonowych w 2 M H ₂ SO ₄								
Nr	AA ^P			naważka AA ^P		2 M H ₂ SO ₄ ^b		
	AA ^P	Struktura	M	mmol	mg ^a	2,4M* H ₂ SO ₄	D ₂ O [98%]	0,05M EDTA
1	tBu-Gly ^P	$\text{Bu}^t\text{-N}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}_2}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	168,1	0,2	35/ [34]	0,40ml	0,05ml	0,05ml
2	tBu-Ala ^P	$\text{Bu}^t\text{-N}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\underset{\text{Me}}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	182,1	0,2	35/ [36]	0,40ml	0,05ml	0,05ml
3	Me-Hala ^P	$\text{Me}-\text{N}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\underset{\text{Et}}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	153,1	0,2	30/ [31]	0,40ml	0,05ml	0,05ml
4	Et-Hala ^P	$\text{Et}-\text{N}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\underset{\text{Et}}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	167,1	0,2	35/ [33]	0,40ml	0,05ml	0,05ml
5	Me ₂ -Hala ^P	$\text{Me}_2\text{N}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\underset{\text{Et}}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	167,1	0,2	34/ [33]	0,40ml	0,05ml	0,05ml
6	Et-Mala ^P	$\text{Et}-\text{N}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{Me}}{\text{C}}}-\underset{\text{Me}}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	167,1	0,2	28/ [28]	0,40ml	0,05ml	0,05ml
7	PMA	$\text{H}_3\text{C}-\text{PO}_3\text{H}_2$	96	0,1	9,6	0,40ml		
			7×9,6	7×0,1	67	2,8ml		

^a/Naważka/[masa 0,2 mmola];
^b/2,4 M H₂SO₄ otrzymano przez rozpuszczenie 95-98% H₂SO₄ (d=1,84 g/ml, ok. 18 M) (2ml) w wodzie (17 ml) i po wyznaczeniu miana; roztwór standardowy MPA w 2,4 M* H₂SO₄ otrzymano przez rozpuszczenie MPA (67 mg) w 2,4 M H₂SO₄ (2,8 ml)

Tabela 4-72. Przygotowanie roztworów kwasów 1-(N-alkiloamino)alkilofosfonowych w 2 M KOH

Nr	AA ^P			naważka AA ^P		2 M KOH ^{/b}		
	AA ^P	Struktura	M	mmol	mg ^{/a}	2,4 M* KOH	D ₂ O [98%]	0,05 M EDTA
1	tBu-Gly ^P	$\text{Bu}^t\text{-N}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}_2}{\text{C}}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	168,1	0,2	34/ [34]	0,40ml	0,05ml	0,05ml
2	tBu-Ala ^P	$\text{Bu}^t\text{-N}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\underset{\text{Me}}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	182,1	0,2	37/ [36]	0,40ml	0,05ml	0,05ml
3	Me-Hala ^P	$\text{Me}-\text{N}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\underset{\text{Et}}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	153,1	0,2	31/ [31]	0,40ml	0,05ml	0,05ml
4	Et-Hala ^P	$\text{Et}-\text{N}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\underset{\text{Et}}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	167,1	0,2	32/ [33]	0,40ml	0,05ml	0,05ml
5	Me ₂ -Hala ^P	$\text{Me}_2\text{-N}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\underset{\text{Et}}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	167,1	0,1	17/ [17]	0,40ml	0,05ml	0,05ml
6	Et-Mala ^P	$\text{Et}-\text{N}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{Me}}{\text{C}}}-\underset{\text{Me}}{\text{C}}-\text{PO}_3\text{H}_2$	167,1	0,2	28/ [28]	0,40ml	0,05ml	0,05ml
7	PMA	$\text{H}_3\text{C}-\text{PO}_3\text{H}_2$	96,1	0,1	9,6	0,40ml		
			7×9,6	7×0,1	69	2,8ml		

^a/Naważka/[masa 0,2 mmola];

^b/2,4M KOH otrzymano przez rozpuszczenie naważki KOH (ok. 14,0 g) w wodzie (100 ml) i po wyznaczeniu miana; roztwór standardowy MPA w 2,4M* KOH otrzymano przez rozpuszczenie MPA (67 mg) w 2,4M KOH (2,8 ml)

Widma ³¹P NMR odpowiednich mieszanin reakcyjnych R-AA^P - 2 M KOH-H₂O i R-AA^P - 2 M H₂SO₄-H₂O przedstawiono w rozdziale *Badania Własne*.

4.3.2. REAKCJE KWASÓW AMINOALKILOFOSFONOWYCH Z H₂O₂

Do zbadania stabilności AA^P w roztworach nadtlenu wodoru wybrano standardowy skład aminokwasów: Gly^P, Ala^P, Mala^P, PGly^P.

Przygotowanie mieszanin reakcyjnych AA^P-H₂O₂ dokonano wg. klucza zamieszczonego w Tabeli 4-73.

Tabela 4-73. Przygotowanie mieszanin reakcyjnych AA ^P -H ₂ O ₂											
Nr	AA ^{P*}		2 M HCl			AcOH/AcONa			2 M NaOH		
	Abbr.	0,1 mmol	2,5M HCl	D ₂ O	H ₂ O ₂	Bufor	D ₂ O	H ₂ O ₂	2,5M NaOH	D ₂ O	H ₂ O ₂
GH	Gly ^P	11 mg	0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml						
AH	Ala ^P	12 mg	0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml						
MH	Mala ^P	14 mg	0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml						
PH	Pgly ^P	19 mg	0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml						
M*H	MPA	9,6 mg	0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml						
GB	Gly ^P	11 mg				0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml			
AB	Ala ^P	12 mg				0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml			
MB	Mala ^P	14 mg				0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml			
PB	Pgly ^P	19 mg				0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml			
M*B	MPA	9,6 mg				0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml			
GZ	Gly ^P	11 mg							0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml
AZ	Ala ^P	12 mg							0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml
MZ	Mala ^P	14 mg							0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml
PZ	Pgly ^P	19 mg							0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml
M*Z	MPA	9,6 mg							0,4 ml	0,05 ml	0,05 ml

H₂O₂ – pobierana próbki H₂O₂ (30%), d=1,1122 g/ml, 1l = 1112,2g = 333,6g H₂O₂ = 9,8M H₂O₂

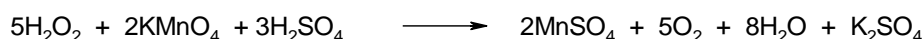
Roztwory z Tabeli 4-73. umieszczono w rurkach NMR i termostatowano w temperaturze 25±0,2°C.

Roztwory poddawano analizie ³¹P NMR w określonym czasie (Rys.: 3-35., 3-37., 3-39.).

4.3.2.1. STABILNOŚĆ H₂O₂ W WARUNKACH POMIARU

Do zbadania stabilności nadtlenu wodoru w ww. roztworach wykorzystano roztworu wzorcowe przedstawione w Tabeli 4-74.

Oznaczenie zawartości nadtlenu wodoru w roztworach 2 M HCl, 2 M AcOH/AcONa i 2 M NaOH przeprowadzono z wykorzystaniem miareczkowania manganometrycznego (Sch. 4-10)^[347].



Schemat 4-10. Reakcja utlenienia H₂O₂ działaniem nadmanganianu

Tabela 4-74. Przygotowanie mieszanin reakcyjnych H ₂ O ₂								
2 M HCl			2 M AcOH / AcONa			2 M NaOH		
2,5 M HCl	H ₂ O	H ₂ O ₂	Bufor	H ₂ O	H ₂ O ₂	2,4 M NaOH	H ₂ O	H ₂ O ₂
8,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	8,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	8,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Kolbka miarowa 10 ml			Kolbka miarowa 10 ml			Kolbka miarowa 10 ml		

Procedura miareczkowania

- [1] 1ml roztworu przenieść do kolbki miarowej (100ml) i wymieszać.
- [2] Pobrać pipetą do kolby stożkowej 25 ml roztworu próbki, dodać 20 ml 1M roztworu kwasu siarkowego i miareczkować 0,021 M roztworem KMnO₄ (miano ustalono miareczkując naważkę szczawianu sodowego) do pojawienia się bladoróżowego zabarwienia.
- [3] Miareczkowanie powtarzано 3-krotnie.
- [4] Wyniki oznaczeń, uzyskane z algorytmu 4-2., przedstawiono w Tabeli 4-75. w postaci względnych ilości mmoli H₂O₂, odniesionych do stanu początkowego (t=0).

Równanie 4-2. Algorytm do wyliczania ilości mmoli H₂O₂ w próbce miareczkowanej

$$n_{\text{H}_2\text{O}_2} [\text{mmol}] = 2,5 \text{ KMnO}_4 [\text{mmol}] = 2,5 \times c_{(\text{KMnO}_4)} [\text{mmol/ml}] \times V_{(\text{KMnO}_4)} [\text{ml}] \times w$$

gdzie:

2,5 – współczynnik wynikający ze stechiometrii reakcji 4-10;

$c_{(\text{KMnO}_4)}$ – stężenie KMnO₄ (0,021 M);

$V_{(\text{KMnO}_4)}$ – średnia objętość zużytego KMnO₄;

w – współmierność pipety (4).

Tabela 4-75. Wyniki oznaczeń H ₂ O ₂ w roztworach					
%H ₂ O ₂ = H ₂ O ₂ (t) / H ₂ O ₂ (t ₀) × 100%					
Czas [h] vs. d (24 h)	0	24 h (1 d)	168 h (7 d)	336 h (14 d)	720 h (30 d)
Względna ilość H ₂ O ₂ w 2 M HCl	100%	69,8%	6,20%	2,17%	0,93%
Względna ilość H ₂ O ₂ w buforze	100%	95,4%	91,0%	90,0%	99,8%
Względna ilość H ₂ O ₂ w 2 M KOH	100%	98,2%	98,2%	98,2%	95,0%

4.4. BADANIA BIOLOGICZNE AMINOKWASÓW FOSFONOWYCH

W celu określenia aktywności przeciwdrobnoustrojowej związku chemicznego uzyskanego na drodze syntezy chemicznej, należy przeprowadzić testy mikrobiologiczne, określające podatność patogena na badany związek chemiczny. Wyniki testów mikrobiologicznych mogą być pomocne w celu wybrania substancji posiadającej cechy chemioterapeutyku o optymalnej aktywności.

4.4.1. METODA DYFUZYJNO-KRĄŻKOWA (KIRBY-BAUERA)

Częstą formą badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej związku chemicznego jest metoda dyfuzyjno-krążkowa (Kirby-Bauera) – oparta na powolnym uwalnianiu substancji zawartej w krążku do podłoża.

Zasada metody

Na płytkę odpowiedniego podłoża zestalonego agarem wysiewa się czystą hodowlę patogena w taki sposób, aby po inkubacji cała jej powierzchnia była pokryta wzrostem bakteryjnym – tzw. *murawką*. Przed inkubacją, w różnych miejscach na powierzchni płytki umieszcza się małe krążki bibuły nasączone testowanymi związkami. Podczas inkubacji z każdego krążka badany środek dyfunduje promieniście do podłoża, tworząc gradient stężeń. Największa jego koncentracja występuje przy brzegach krążka i spada wraz z odległością od krążka. Wielkość strefy zahamowania wzrostu bakterii jest wprost proporcjonalna do stopnia wrażliwości bakterii na testowaną substancję chemiczną – im większa jest strefa zahamowania, tym bakteria jest bardziej wrażliwa. Test ten jest skuteczny dla tych bakterii, których wzrost jest widoczny po całonocnej inkubacji. W zależności od wielkości strefy, bakterie określa się jako: wrażliwe, średnio wrażliwe lub odporne.

Oznaczanie oporności bakterii metodą krążkowo-dyfuzyjną

Do określenia wrażliwości mikroorganizmów na związki chemiczne, wykorzystano półilościową metodę *in vitro* tzn. test dyfuzji krążkowej na agarze. Do badań użyto dwóch pospolitych, szybko rosnących mikroorganizmów wzorcowych: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (Gram+) oraz *Escherichia coli* ATCC 11229 (Gram-).

Materiały

- agar tryptozowo – sojowy 40 g na 1000 ml wody destylowanej;
- bulion tryptozowo – sojowy 30 g na 1000 ml wody destylowanej;
- roztwory: kwasów 1-(N-acetyloamino)alkilofosfonowych i peptydów glicyloaminoalkilofosfonowych o określonym stężeniu;
- papierowe krążki nasączone badanym związkiem;
- zawiesina bakteryjna;
- wzorzec skali.

Procedura badania

[1] Przygotowanie 1 ml roztworu testowanych związków chemicznych o stężeniu ok. 54 mg/l
W ddzielnych fiolkach chromatograficznych odważono testowane związki chemiczne, do każdej wialki dodano 1 ml wody destylowanej.

[2] Przygotowanie krążków: wycięte krążki z papieru chłonnego (bibuły jakościowej) o średnicy 6 mm nasączono badanymi związkami chemicznymi o określonym stężeniu.

[3] Przygotowanie *inoculum* – zawiesiny bakteryjnej do badań: przygotować probówkę z 4,5 – 5,0 ml bulionu tryptozowo – sojowego (T.C.S.) i umieścić w niej pojedynczą kolonię z hodowli agarowej. Inkubować przez ok. 24 h w temperaturze 37 (± 2)°C.

[4] Przygotować 6 probówek z 9 ml sterylnej wody destylowanej, w celu 10-cio krotnych rozcieńczeń (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}). Z rozcieńczenia 10^{-6} wysiać po 0,1 ml na dwie szalki z agarem w celu określenia ilości bakterii. Inkubować przez 18 – 24 h w temp. 37 (± 2)°C. Policzyc wyrosłe kolonie.

[5] Z rozcieńczenia 10^{-1} pobrano materiał biologiczny do badań – liczebność bakterii wynosiła $1 \div 2 \times 10^8$ cfu/ml, co w przybliżeniu odpowiada 0,5 w skali McFarlanda. Pobrano 0,1 ml zawiesiny i równomiernie rozprowadzono na szalce z podłożem.

[6] Po wyschnięciu (do 15 min) na posiane podłoże nałożono wilgotne krążki z testowanymi związkami (za pomocą sterylnej pęsety). Każdy krążek należy delikatnie przycisnąć, zapewniając równomierny kontakt z podłożem. Na jeden związek chemiczny przygotowano 3 powtórzenia.

[7] W ciągu 15 min. płytki wstawiono do cieplarki, inkubowano w warunkach tlenowych 18-24 godziny, w temp. 37°C.

[8] W przypadku pojawienia się efektu bakteriobójczego badanych związków chemicznych należy zmierzyć średnicę każdej strefy zahamowania wzrostu drobnoustroju (wliczając średnicę krążka) i podać odczyt w mm, a wyniki interpretować według średnicy uzyskanych stref zahamowania wzrostu.

4.4.2. METODA ROZCIEŃCZENIOWA W POŻYWCIE PŁYNNIEJ - METODA NEFELOMETRYCZNA

W następnym etapie doświadczeń zastosowano półilościową metodę *in vitro*, która wykorzystuje zdolność bakterii do wzrostu w pożywce płynnej w obecności określonego stężenia badanego związku.

Zasada metody

W celu określenia różnicy wzrostu mikroorganizmów w obecności różnych 1-(N-acyloamino)fosfonianów/peptydów posłużono się metodą instrumentalną – nefelometrią. Jest to metoda spektrofotometryczna wykorzystująca pomiar natężenia światła, które przeszło przez ośrodek mętny (zawiesinę bakterii).

Do badań użyto dwóch pospolitych, szybko rosnących mikroorganizmów wzorcowych *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (Gram+) oraz *Escherichia coli* ATCC 11229 (Gram-).

Instrumentalny pomiar mętności opiera się na zdolności cząsteczek w zawiesinie do rozpraszania światła. Do wykonania pomiarów laboratoryjnych użyto przenośne urządzenie przeznaczone do pomiaru mętności zawiesin bakteryjnych: nefelometr – densytometr DEN 1 firmy Grant-Bio (Rys. 4-14.).

Podstawowe dane techniczne:

- pomiar mętności zawiesin bakteryjnych odpowiadający wartościom od 0,3 do 15,0 jednostek w skali McFarlanda;
- źródło światła: dioda emitująca światło o długość fali: 565 ± 15 nm;
- wyniki wyświetlane są na ciekłokrystalicznym ekranie przyrządu;
- zawiesinę drobnoustrojów można sporządzić z wody, roztworu soli fizjologicznej lub przejrzystego, płynnego podłoża wzrostowego o barwach od żółtej do jasnobrązowej;
- do analizy wymagane są minimum 2,0 ml roztworu.



Rysunek 4-14. Densytometr DEN-1 firmy Grant-Bio

Aparat stosowano do pomiaru stężenia inokulum oraz określenia stopnia zmętnienia roztworu, wywołanego wzrastającą ilością komórek bakteryjnych po 5–cio i 24–ro godzinnej inkubacji zawiesiny bakteryjnej w obecności badanego związku chemicznego.

Materiały

- agar tryptozowo – sojowy 40 g na 1000 ml wody destylowanej;
- bulion tryptozowo – sojowy 30 g na 1000 ml wody destylowanej;
- zawiesina bakteryjna;
- wzorzec skali;
- densytometr firmy Grant-Bio model: DEN-1;
- roztwory: kwasów 1-(N-acetyloamino)alkilofosfonowych i peptydów glicyloaminoalkilofosfonowych o określonym stężeniu (Tab.: 3-40., 3-41.).

Przygotowanie zawiesiny bakteryjnej do badań (*inoculum*)

[1] Przygotować probówkę z 4,5 do 5,0 ml bulionu tryptozowo – sojowego (T.C.S.) i umieścić w niej pojedynczą kolonię z hodowli agarowej. Inkubować przez ok. 24 h w temperaturze $37 (\pm 2)^{\circ}\text{C}$.

[2] Przygotować 6 probówek z 9 ml sterylnej wody destylowanej, w celu 10cio krotnych rozcieńczeń (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}).

[3] Z rozcieńczenia 10^{-6} wylać po 0,1 ml na dwie szalki z agarem w celu określenia ilości bakterii. Inkubować przez 18 do 24 h w temp. $37 (\pm 2)^{\circ}\text{C}$. Policzyć wyrosłe kolonie.

[4] Z rozcieńczenia 10^{-1} pobrano materiał biologiczny do badań – liczebność bakterii wynosiła dla *Staphylococcus aureus*: $3,5 \times 10^7$ cfu/ml, a dla *Escherichia coli*: $6,4 \times 10^7$ cfu/ml.

[5] Po 10 krotnym rozcieńczeniu tych zawiesin otrzymano roztwory o mętności w przybliżeniu odpowiadającej 0,5 w skali McFarlanda.

Przygotowanie roztworów do badań

Do dwóch szeregów probówek (równoległe dla dwóch gatunków bakterii) dla każdego z 16 testowanych związków oraz próby odniesienia (razem 34 probówek), dodano po:

- 1,7 ml bulionu tryptozowo – sojowego (T.C.S.);

- 0,2 ml badanego związku (kwasu 1-(*N*-acyloamino)alkilofosfonowego, fosfonopeptydu), a w przypadku próby odniesienia wody destylowanej;
- 0,1 ml zawiesiny bakterii *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* o gęstości 0,5 w skali McFarlanda.

Densytometryczny pomiar gęstości zawiesiny

Przed wykonaniem pomiarów urządzenie DEN-1 było kalibrowane za pomocą zestawu kalibrującego (odczyt kalibratorów: 0,25 i 0,5 w skali McFarlanda).

Każdą probówkę umieszczano w komorze odczytu densytometru DEN-1 i wykonywano pomiar w celu znalezienia odpowiednika w skali McFarlanda dla danej zawiesiny bakteryjnej (Tab.: 3-40., 3-41.). Pomiaru dokonano po 5 h i 24 h inkubacji zawiesiny bakteryjnej w temp. 37°C w obecności badanego związku chemicznego.

5. PODSUMOWANIE

Podczas realizacji Pracy Doktorskiej osiągnięto następujące cele cząstkowe:

1. Przeprowadzono syntezę 25 związków użytych dalej do badań fizyko-chemicznych i/lub biologicznych. Szereg z tych związków (10) to związki dotąd nieopisane w literaturze naukowej.

2. Opracowano dwie metody wyznaczania rozpuszczalności kwasów aminoalkilofosfonowych w wodzie oraz w układach woda-izopropanol. Wyznaczono rozpuszczalności w temperaturze pokojowej dla 17 reprezentatywnych kwasów aminoalkilofosfonowych w wodzie oraz w układach woda-izopropanol (90;10; 75:25; 50:50 i 25:75).

[Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz, J.: *Investigations on the solubility of aminoalkylphosphonic acids*. 16th International Symposium *Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*, P-085, CBMM PAN, Łódź, 2013.11.15.]^[262].

3. Przeprowadzono badania termogravimetryczne reprezentatywnej grupy kwasów aminofosfonowych.

[Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz J.; Perlikowska, W. *ω-Aminoalkylphosphonic acids. Investigations of selected physical and chemical properties*. P-35. XV International Symposium *Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*, CBMM PAN, Łódź, 2012.11.16.]^[238]

Tematyka ta stanowi nowość, oprócz pracy Kurta Modritzera [Moedritzer, 1972]^[212] literatura chemiczna nie zawiera doniesień dotyczących badań termogravimetrycznych kwasów aminofosfonowych.

4. Przeprowadzono badania nad pirolizą reprezentatywnej grupy kwasów aminofosfonowych.

[Kudzin, M.H.; Mrozińska, Z.: *Investigation of Thermal Decomposition of 1-Aminoalkylphosphonic Acids*. P-88. XV International Symposium *Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*, CBMM PAN, Łódź, 2012.11.16.]^[283]

Tematyka ta stanowi nowość, oprócz pracy Hoffmann'a [Hoffmann et al., 2012]^[282] literatura chemiczna nie zawiera doniesień dotyczących badań nad pirolizą kwasów aminofosfonowych.

5. Przeprowadzono charakterystykę ³¹P NMR (przesunięcia chemiczne $\delta(^{31}\text{P})$) w wodnych roztworach 2 M KOH, buforze AcOH-AcOK, wodzie i 2 M HCl) dla 7 klas kwasów fosfonowych, w tym 5 klas kwasów aminofosfonowych, łącznie opis dotyczy 30 związków.

6. Przeprowadzono badania nad stabilnością reprezentatywnej grupy kwasów 1-aminoalkilofosfonowych (Gly^P, Ala^P, Mala^P, Pgly^P), oraz 1-(N-alkiloamino)alkilofosfonowych (tBu-Gly^P, tBu-Ala^P, Me-Hala^P, Et-Hala^P, Et-Mala^P) oraz 1-(N,N-dialkiloamino)-alkilofosfonowych (Me₂-Hala^P) na ekspozycję w roztworach kwasów i zasad (2 M HCl, 2 M H₂SO₄, 2 M KOH) w temperaturach 20 °C i 100 °C.

7. Przeprowadzono badania nad stabilnością reprezentatywnej grupy kwasów 1-aminoalkilo-fosfonowych (Gly^P, Ala^P, Mala^P, Pgly^P) na ekspozycję w roztworach nadtlenu wodoru (w 2 M HCl, buforze AcOK/AcOH, 2 M KOH).

[Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz, J. *Reaction of 1-aminoalkyl-phosphonic acids with hydrogen peroxide. Oxidative dephosphonylation*. P-36. XV International Symposium *Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*, CBMM PAN, Łódź, 2012.11.12.]^[308].

8. Przeprowadzono badania nad właściwościami biologicznymi reprezentatywnej grupy kwasów 1-(N-acyloamino)alkilofosfonowych i fosfoproteinydów.

[Kudzin M.H., Kudzin Z.H., Drabowicz J. *Derivatives of aminoalkylphosphonic acids and glycyloaminoalkylphosphonic acids as antibacterial additives in biopolymers*. European Polymer Congress EPF-2011; Grenada 2011.06.26.]^[335]

9. Dla celów dokumentacyjnych wykonano szereg widm UV i IR oraz widm ¹H NMR, ³¹P NMR i ¹³C NMR reprezentatywnych kwasów 1-aminoalkilofosfonowych (widma te będą wykorzystane przy opracowaniu pracy monograficznej, w przygotowaniu).

6. LITERATURA

6.1. LITERATURA NUMERYCZNIE

Przyjąłem zasadę zastosowaną wcześniej podczas pisania przeglądu do Current Organic Chemistry

[1] Kukhar, V.P.; Hudson, H.R. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley & Sons Ltd: Chichester, New York, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto, **2000**.

[2] Soroka, M. *Wybrane problemy chemii kwasów aminofosfonowych (Selected problems of chemistry of aminophosphonic acids)*. Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wrocław., **1987**, 32, 1-92.

[3] Ryglowski, A.; Kafarski, P. Preparation of 1-aminoalkylphosphonic acids and 2-aminoalkylphosphonic acids by reductive amination of oxoalkylphosphonates. *Tetrahedron*, **1996**, 53, 10685-10692.

[4] Kafarski, P.; Lejczak, B. Aminophosphonic Acids of Potential Medical Importance. *Curr. Med. Chem. – Anti-Cancer Agents*, **2001**, 1, 301-312.

[5] Kabachnik, M.I.; Medved, T.Y.; Dyatlova, N.M.; Archipova, O.G.; Rudomino, M.W. Phosphoroorganic complexones. *Usp. Khim.*, **1968**, 37, 1161-1191.

[6] Kabachnik, M.I.; Medved, T.Y.; Dyatlova, N.M.; Rudomino, M.V. Phosphoroorganic complexones. *Usp. Khim.*, **1974**, 43, 1554-1574.

[7] Petrov, K.A.; Chauzov, V.A.; Erokhina, T.E. Aminoalkyl organo-phosphorus compounds. *Usp. Khim.*, **1974**, 43, 2045-2087.

[8] Prajer, K.; Rachoń, J. α -Aminophosphonic acids. *Z. Chem.*, **1975**, 15, 209-215.

[9] Redmore, D. *The chemistry of P-C-N systems*. Topics in Phosphorus Chemistry, Eds.; Grayson M., Griffith E.J., Wiley-Intersci.; New York, **1976**; Vol. VIII.

[10] Kukhar, V.P.; Solodenko, V.A. The phosphorus analogues of aminocarboxylic acids. *Usp. Khim.*, **1987**, 56, 1504-1532.

[11] Engel, R. *Handbook in organophosphorus chemistry*. Marcel Dekker Inc, New York; 1981.

[12] Kudzin, Z.H., *Investigations in the domain of aminophosphonic acids*. W.N.U.Ł., Łódź, **1996**, pp. 1-110.

[13] Kudzin, Z.H. 1-Aminoalkanephosphonic acids: six decades of exploration. *Sci. Issues, Acad. J. Długosza, Częstochowa*; **2005**, IX, 29-76.

[14] Kudzin, Z.H.; Kudzin, M.H.; Drabowicz, J.; Stevens, Ch. Aminophosphonic acids - phosphorus analogues of natural amino acids. *Curr. Org. Chem.*, **2011**, 15, 2015-2071.

[15] Kudzin, Z.H.; Kudzin, M.H.; Drabowicz, J. Thioureidoalkylphosphonates in the synthesis of 1-aminoalkyl-phosphonic acids. The Ptc-aminophosphonate method. *Arkivoc*, **2011**, VI, 227-269.

[16] Uziel, J.; Genet, J.P. Synthesis of racemic and optically active α -aminophosphonic acids. *Zh. Org. Khim.*, **1997**, 33, 1605-1627.

[17] Hildenbrand, R.L.; Curley-Joseph, J.; Lubansky, H.J.; Henderson, T.O., Biology of alkylphosphonic acids. *A review of the distribution, metabolism and structure of naturally occurring alkylphosphonic acids*. Topics in Phosphorus Chemistry, Eds. Grayson, M.; Griffith, E.J.; Wiley-Intersci, Vol. XI, New York, **1983**, 297-338.

[18] Collinsova, M.; Jiracek, J. Phosphinic acid compounds in biochemistry, biology and medicine. *Curr. Med. Chem.*, **2000**, 7, 629-647.

- [19] Romanenko, V.D.; Kukhar, V.P. Fluorinated Phosphonates: Synthesis and Biomedical Application. *Chem. Rev.*, **2006**, *106*, 3868-3935.
- [20] Wardle, N.J.; Bligh, S.W.A.; Hudson, H.R. Omega-Phosphinyl-alpha-amino acids: synthesis and development towards use as therapeutic agents. *Curr. Org. Chem.*, **2007**, *11*, 1635-1651.
- [21] Orsini F., Sello G., Sisti M. Aminophosphonic acids and derivatives. Synthesis and biological applications. *Curr. Med. Chem.*, **2010**, *17*, 264-289.
- [22] Kafarski, P.; Mastalerz, P. Aminophosphonates: natural occurrence, biochemistry and biological properties. *Beitr. Wirkst. Forsch.*, **1984**, *21*, 1-110.
- [23] Kafarski, P.; Lejczak, B. Biological activity of aminophosphonic acids. *Phosphorus & Sulfur*, **1991**, *63*, 193-215.
- [24] Lejczak, B.; Kafarski, P. Biological activity of aminophosphonic acids and their short peptides. *Top Heterocycl. Chem.*, **2009**, *20*, 31-63.
- [25] Michaelis, A.; Schenk, A., Über die Enwirkung von Phosphorchlorüd mit tertiäre aromatische Amine. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*; **1890**, *260*, 1-39.
- [26] Nijk, D.R. Comparative study of phenyl phosphonic acids and arsene phenyl acids substituted in the ring. *Rec. Trav. Chim.*, *41*, 461-4500; *Chem. Abstr.*: **1923**, *17*, 1793.
- [27] Bourneuf, M. Action of halides of phosphorous on certain aromatic amines. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1923**, *33*, 1808-1823.
- [28] Benda, L.; Schmidt, W. Dialkylamino aryl phosphinous acids. US Pat. 1.607.113 (1926); *Chem. Abstr.*: **1927**, *21*, P249.
- [29] Plazek, S.; Sasyk, Z. About some of phosphoroorganic compounds. (O pewnych związkach fosforoorganicznych). *Roczn. Chem.*, **1934**, *14*, 73-76.
- [30] Dicklay, J.B.; McNally, J.G. (Eastman Kodak) Acylamino derivatives of hydroxyl aliphatic phosphonic acids. US Pat. 2.374.807 (1945); *Chem. Abstr.*: **1945**, *39*, P3008.
- [31] Bauer, H. Synthesis of *p*-aminobenzene phosphonic acid (phosphanilic acid). *J. Amer. Chem. Soc.*, **1941**, *63*, 2137-2138.
- [32] Píkl, J. Amino- and methylaminomethanephosphonic acids and derivatives. Pat. US, 2328358, **1943**; *Chem. Abstr.*: **1944**, *38*, 754.
- [33] Chavane, V. Aminophosphonic acids. *Compt. rend.*, **1947**, *224*, 406-408.
- [34] Rumpf, P.; Chavane, V. An electrochemical study of some phosphonic acid amines. *Compt. rend.* **1947**, *224*, 919-920.
- [35] Chavane, V. Aliphatic phosphonic acids and their amino derivatives. IV. Electrometric titration studies. *Ann. chim.*, **1949**, *12*, 383-392.
- [36] Chavane, V. Aliphatic phosphonic acids and their amino derivatives. III. Synthesis of aliphatic aminophosphonic acids. *Ann. chim.*, **1949**, *12*, 372-382.
- [37] Schwarzenbach, G.; Ackermann, H.; Ruckstuhl, P. Complexones. XV. A new derivative of iminodiacetic acid and its complexes with alkali earth metals. Correlation between acidity and chelating properties. *Helv. Chim. Acta*, **1949**, *32*, 1175-1186.
- [38] Westerback, S.J.; Martell, A.E. Ethylenediaminetetra(methylene-phosphonic acid). *Nature (London)*, **1956**, *178*, 321-322.
- [39] Mastalerz, P. Inhibition of glutamine synthetase by phosphonic analogs of glutamic acid. *Arch. Immun. Ter. Dośw.*, 1959², *7*, 201-210; *Chem. Abstr.*: **1960**, *54*, 6843.
- [40] Horiguchi, M.; Kandatsu, M. Isolation of 2-aminoethyl phosphonic amid from rumen protozoa. *Nature (London)*, **1959**, *184*, 901-902.

- [41] Kandatsu, M.; Horiguchi, M. Occurrence of ciliatine (2-aminoethylphosphonic acid) in *Tetrahymena*. *Agric. Biol. Chem.*, **1962**, *26*, 721-722.
- [42] Kittredge, J.S.; Roberts, E.; Simonsen, D.G. Occurrence of free 2-aminoethyl-phosphonic acid in the sea anemone, *Anthoplura elegantissima*. *Biochemistry*, **1962**, *1*, 624-628.
- [43] Kittredge, J.S.; Hughes, R.R. Occurrence of "alfa"-amino-"beta"-phosphonopropionic acid in the zoanthid, *zoanthus sociatus*, and the ciliate, *Tetrahymena pyriformis*. *Biochemistry*, **1964**, *3*, 991-996.
- [44] Shimizu, H.; Kakimoto, Y.; Nakajima, T.; Kazanawa, A.; Sano, I. Isolation and identification of 2-aminoethylphosphonic acid from the bovine brain. *Nature (London)*, **1965**, *207*, 1197-1198.
- [45] Alhadeff, J.A.; Daves, G.D. Jr. Occurrence of 2-aminoethylphosphonic acid in human brain. *Biochemistry*, **1970**, *9*, 4866-4869.
- [46] Alhadeff, J.A.; Daves Jr., G.D. 2-Aminoethylphosphonic acid. Distribution in human tissues. *Biochem. Biophys. Acta*, **1971**, *244*, 211-213.
- [47] Tan, S.A.; Tan, L.G. Distribution of ciliatine (2-aminoethylphosphonic acid) and phosphonoalanine (2-amino-3-phosphonopropionic acid) in human tissues. *Clin. Physiol. Biol. Chem.*, **1989**, *7*, 303-309.
- [48] Quin, L.D.; Quin, G.S. Screening for carbon-bound phosphorus in Marine animals by high-resolution ³¹P-NMR spectroscopy: coastal and hydrothermal vent invertebrates. *Comp. Bioch. Physiol. Part B*, **2001**, *128*, 173-185.
- [49] Kittredge, J.S.; Isbell, A.F.; Hughes, R.R. Isolation and characterization of the N-Me derivatives of 2-aminoethylphosphonic acid from the sea anemone. *Biochemistry*, **1967**, *6*, 289-295.
- [50] Seto, H.; Imai, S.; Tsuruoka, T.; Ogawa, H.; Satoh, A.; Sasaki, T.; Otake, N. Studies in the synthesis of Bialaphos (SF-1293). P. 3. Production of phosphinic acid derivatives MP-103, MP-104 and MP-105 by a blocked mutant of *Strypomyces hygroscopicus* SF-12903 and their roles in the biosyntheses of Bialaphos. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1983**, *111*, 1008-1014.
- [51] Bayer, E.; Gugel, K.H.; Haegele, K.; Hagenmaier, H.; Jessipov, S.; Koenig, W.A.; Zaehner, H. Metabolic products of microorganisms. 98. Phosphinothricine and phosphinothricylalanyl-alanine. *Helv. Chim. Acta*, **1972**, *55*, 224-239.
- [52] Seto, H.; Sasaki, T.; Imai, S.; Tsuruoka, T.; Ogawa, H.; Satoh, A.; Inoue, S.; Nida, T.; Otake, N. Studies in the synthesis of Bialaphos. P. 2. Isolation of the first natural products with the C-P-H bond and their influence on the C-P-C bond formation. *J. Antibiot.*, **1983**, *36*, 96-98.
- [53] Korn, E.D.; Deaborn, D.G.; Falles, H.M.; Sokoloski, E.A. A major polysaccharide constituent of the amoeba plasma membrane contains 2-aminoethylphosphonic acid and 1-hydroxy-2-aminoethylphosphonic acid. *J. Biol. Chem.*, **1973**, *248*, 2257-2259.
- [54] Kasa, H.; Yamato, M.; Koguchi, T.; Okachi, R.; Kasai, M.; Shirahata, K.; Kawamoto, I.; Shuto, K.; Karasawa, A.; Deguchi, T.; Nakayama, K. Phosphorus containing oligopeptides, and a pharmaceutical composition containing them. *Eur. Pat. Appl.* 0.061.1982, **1983**; *Chem. Abstr.*: **1983**, *98*, 107793.
- [55] Okuhara, M.; Kuroda, Y.; Goto, T.; Okamoto, M.; Terano, H.; Kohsaka, M.; Aoki, H.; Imanaka, H. Studies on new phosphonic acid antibiotics. I. FR-900098, isolation and characterization. *J. Antibiot.*, **1980**, *33*, 13-17.
- [56] Okuhara, M.; Kuroda, Y.; Goto, T.; Okamoto, M.; Terano, H.; Kohsaka, M.; Aoki, H.; Imanaka, H. Studies on new phosphonic acid antibiotics. III. Isolation and characterization of FR-31564, FR-32863 and FR-33289. *J. Antibiot.*, **1980**, *33*, 24-28.

- [57] Fredenhagen, A.; Angst, Ch.; Peter, H.H. Digestion of rhizocitins to (Z)-L-2-amino-5-phosphono-3-pentenoic acid: revision of the absolute configuration of plumbemycins A and B *J. Antibiot.*, **1995**, *48*, 1043-1045.
- [58] Cassaigne, A.; Lacoste, A.M.; Neuzil, E. Nonenzymatic transamination of aminophosphonic acids. *Biochim. Biophys. Acta*, **1971**, *252*, 506-513.
- [59] Lejczak, B. Biologiczna aktywność aminofosfonianów i fosfonopeptydów. (Biological activities of aminophosphonates and phosphono-peptides.) *Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wrocław.*, **1988**, *35*, 3-81.
- [60] Landt, M.; Boltz, S.C.; Butler, L.C. Alkaline phosphatase: affinity chromatography and inhibition by phosphonic acids. *Biochemistry*, **1978**, *17*, 915-919.
- [61] Neuzil E., Cassaigne A. Antibacterial phosphonates. *Exp. Ann. Biochim. Med.*, **1980**, *34*, 181-215; *Chem. Abstr.*: **1980**, *93*, 198358j.
- [62] Soper, T.S.; Manning, J.M. different modes of action of inhibitors of bacterial d-amino acid transaminase. *J. Biol. Chem.*, **1981**, *256*, 4263-4268.
- [63] Neuzil, E.; Cassaigne, A.; Lacoste, A.M. Transamination non enzymatique des acides aminoalkylphosphoniques par l'acide glyoxylique. [Non enzymatic transamination of aminoalkylphosphonic acids by glyoxylic acid]. *Compt. Rend. Acad. Sci. Ser. D*, **1970**, *270*, 2724-2726.
- [64] Lambert, M.P.; Neuhaus, F.C. Factors affecting the level of alanine racemase in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, **1972**, *109*, 1156-1161; *Chem. Abstr.*: **1972**, *76*, 150837.
- [65] Adams, E.; Mukharjee, K.A.; Dunathan, H.C. Alanine racemase of *Pseudomonas*. Substrate and inhibitor specificity. *Arch. Biochem. Biophys.*, **1974**, *165*, 126-132; *Chem. Abstr.*: **1975**, *82*, 27847.
- [66] Allen, J.G.; Atherton, F.R.; Hall, M.J.; Hassall, C.H.; Holmes, S.W.; Lambert, R.W.; Nisbet, L.J.; Ringrose, P.S. Phosphono-peptides, a new class of synthetic antibacterial agents. *Nature (London)* **1978**, *272*, 56-58.
- [67] Atherton, F.R.; Hall, M.J.; Hassall, C.H.; Lambert, R.W.; Ringrose, P.S. Phosphono-peptides as antibacterial agents: rationale, chemistry, and structure-activity relationships. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1979**, *15*, 677-683.
- [68] Badet, B.; Walsh, C.T. Purification of an alanine racemase from *Streptococcus faecalis* and analysis of its inactivation by (1-aminoethyl)phosphonic acid enantiomers. *Biochemistry*, **1985**, *24*, 1333-1341.
- [69] Copie, V.; Faraci, W.S.; Walsh, C.T.; Griffin, R.G. Inhibition of alanine racemase by alanine phosphonate: detection of an imine linkage to pyridoxal 5'-phosphate in the enzyme-inhibitor complex by solid-state nitrogen-15 nuclear magnetic resonance. *Biochemistry*, **1988**, *27*, 4966-4970.
- [70] Lilja, H.; Csopak, H.; Lindman, B.; Folsch, G. Fluorine-19 NMR studies of the binding of a fluorine-labelled phosphonate ion to *Escherichia coli* alkaline phosphatase. *Biochem. Biophys. Acta*, **1975**, *384*, 277-282; *Chem. Abstr.*: **1975/6**, *82*, 151250a.
- [71] Neale, S. Amino acid analogs of as substrates of a rabbit reticulocyte aminoacyl-tRNA synthetase preparation. *Chem.-Biol. Interactions*, **1970**, *2*, 349-367; *Chem. Abstr.*: **1971**, *74*, 94700.
- [72] Anderson, J.W.; Fowden, L. 1-Amino-2-phenylethane-1-phosphonic acid: a specific competitive inhibitor of phenylalanyl-tRNA synthetase. *Chem.-Biol. Interactions*, **1970**, *2*, 53-55; *Chem. Abstr.*: **1970**, *73*, 73264f.
- [73] Strater, N.; Lipscomb, W.N. Transition state analog L-Leucinephosphonic acid bound to bovine lens leucine aminopeptidase: X-ray structure at 1.65 Å resolution in a new crystal form. *Biochemistry*, **1995**, *34*, 9200-9210.

- [74] Sekura, R.; Meister, A. γ -Glutamylcysteine synthetase. Further purification, "half of the sites" reactivity, subunits and specificity. *J. Biol. Chem.*, **1977**, *252*, 2599-2605.
- [75] Logusch, E.W.; Walker, D.M.; McDonald, J.F.; Franz, J.E. Substrate variability as a factor in enzyme inhibitor design: inhibition of ovine brain glutamine synthetase by α - and γ -substituted phosphinotricins. *Biochemistry*, **1989**, *28*, 3043-3051.
- [76] Lacoste, A.M.; Cassaigne, A.; Neuzil, E. Aminophosphonic acids and growth of *Pseudomonas aeruginosa*. *Compt. Rend. Acad. Sci., Paris, Ser. D*, **1975**, *280*, 1173-1176; *Chem. Abstr.*: **1975**, *82*, 165298j.
- [77] Petrillo, E.W.; Spitzmiller, E. Synthesis of 2-phosphono-pyrrolidine and its substitution for proline as an inhibitor of angiotensin-converting enzyme. *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 4929-4933.
- [78] Izbicka-Dimitrijevic, E.; Mastalerz, P.; Kochman, M. Dual effects of phenylalanine analogs on rabbit muscle pyruvate kinase activity. *Eur. J. Biochem.*, **1981**, *114*, 565-568; *Chem. Abstr.*: **1981**, *94*, 170114.
- [79] Janas, K.; Filipiak, A.; Kowalik, J.; Mastalerz, P.; Knypl, J.S. 1-Amino-2-phenylethyl-phosphonic acid: an inhibition of L-phenylalanine ammonialyase *in vitro*. *Acta Biochim. Polonica*, **1985**, *32*, 131-143.
- [80] Laber, B.; Kiltz, H.H.; Amrhein, N. Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase *in vitro* and *in vivo* by (1-amino-2-phenylethyl)-phosphonic acid, the phosphonic analog of phenylalanine. *Z. Naturforsch. C Biosci.*, **1985**, *41*, 49-55; *Chem. Abstr.*: **1986**, *104*, 183299.
- [81] Cassaigne, A.; Lacoste, A.M.; Neuzil, E. Aminoalkylphosphonic acids. I. Effect of tyrosinase on the phosphonic analog of tyrosine. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **1967**, *49*, 1813-1825; *Chem. Abstr.*: **1968**, *68* 84550.
- [82] Lejczak, B.; Kafarski, P.; Makowiecka, E. Phosphonic analogs of tyrosine and 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) influence mushroom tyrosinase activity. Antimelanolic agents. *Biochem. J.*, **1987**, *242*, 81-88.
- [83] Iron, A.; Ruat, M.; Duboy, J.P.; Beranger, M.; Cassaigne, A.; Neuzil, E. The phosphonic analog of tyrosine: a tool in metabolic studiem. *Biochem. Soc. Trans.*, **1981**, *9*, 246; *Chem. Abstr.*: **1981**, *95*, 198358.
- [84] Sikorski, J.A.; Logusch, E.W. *Aliphatic carbon-phosphorus compound as herbicides*. In Book: *Handbook in organophosphorus chemistry*. Ed Engel R, Marcel Dekker Inc, New York; **1988**, *15* Chpt., 737-806.
- [85] Franz, J.E.; Mao, K.K.; Sikorski, J.A.: *Glyphosate: A unique global herbicide*. ACS Monograph 189, Amer. Chem. Soc., Washington, DC; **1997**.
- [86] Kafarski P.; Lejczak, B.; Mastalerz, P. Phosphonopeptides. Synthesis and biological activity. *Beitr. Wirkst. Forsch.*, **1985**, *25*, 1-77.
- [87] Kafarski, P.; Lejczak, B. *Synthesis of phosphono- and phosphino-peptides*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 6, 172-204.
- [88] Kafarski, P.; Lejczak, B. *The biological activity of phosphono- and phosphonopeptides*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 12, 407-442.
- [89] Hudson, H.R. *Aminophosphonic and aminophosphinic acids and their derivatives as agrochemicals*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 13, 443-482.

- [90] Karanewsky, D.S.; Badia, M.C.; Cushman, D.W.; De Forrest, J.M.; Dejneka, T.; Loots, M.J.; Pern, M.G.; Petrillo Jr, R.D.; Powell, R.J. (Phosphinyloxy)acyl amino acid inhibitors of angiotensin converting enzyme (ACE). 1. Discovery of (S)-1-[6-amino-2-[[hydroxy(4-phenylbutyl)phosphinyl]oxy]-1-oxohexyl]-L-proline, a novel orally active inhibitor of ACE. *J. Med. Chem.*, **1988**, *31*, 204-2012.
- [91] De Tinguy-Moreaud, E.; Bioulac, B.; Vincent, J.D.; Neuzil, E. Neuroactive properties of some phosphonic analogs of natural guanido compounds. *Gen. Pharmacol.*, **1980**, *11*, 513-519.
- [92] Russell, G.R.G. Bisphosphonates: The first 40 years. *Bone*, **2011**, *49*, 2-19.
- [93] De Clercq, E.; Holy, A.; Rosenberg, I.; Sakuma, T.; Balzarini, J.; Maudgal, P.C. A novel selective broad-spectrum anti-DNA virus agent. *Nature (London)*, **1986**, *323*, 464-467.
- [94] De Clercq, E. The clinical potential of the acyclic (and cyclic) nucleoside phosphonates: the magic of the phosphonate bond. *Biochem. Pharmacol.*, **2011**, *82*, 99-109.
- [95] Maier, L. Advances in the chemistry of aminophosphinic acids. *Phosphorus & Sulfur*, **1983**, *14*, 295-322.
- [96] Mastalerz, P. *α -Substituted phosphonates. Handbook in organo-phosphorus chemistry.* Marcel Dekker Inc., New York; **1988**, Chpt. 7, 276-375.
- [97] Kafarski, P.; Zoń, J. *Synthesis of α -aminoalkanephosphonic and α -aminoalkanephosphinic acids.* In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity.* Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 2, 33-74.
- [98] Lall, Sh.; Engel, R. *α -Amino acid analogues bearing side-chain C-P linkages.* In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids.* In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity.* Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt 4, 103-126.
- [99] Kukhar, V.P. *Synthesis of α -aminoalkanephosphonic and α -aminoalkanephosphinic acids with the amino substituents in other than α -position.* In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity.* Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**¹, Chpt. 3: 75-102.
- [100] Pallacios, F.; Alonso, C.; Santos, J.M. Synthesis of β -aminophosphonates and -phosphinates. *Chem. Rev.*, **2005**, *105*, 899-931.
- [101] Dhavan, B.; Redmore, D. Optically active 1-aminoalkylphosphonic acids. *Phosphorus & Sulfur*, **1987**, *32*, 119-144.
- [102] Kukhar V.P. *Asymmetric synthesis of aminophosphonic and aminophosphinic acids.* In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity.* Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 5, 127-172.
- [103] Ma, J.-N. Catalytic asymmetric synthesis of α - and β -amino phosphonic acid derivatives. *Chem. Soc. Rev.*, **2006**, *35*, 630-636.
- [104] Hagele, G. *Physical properties and NMR characterization of aminophosphonates and aminophosphinates.* In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity.* Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 8, 217-284.
- [105] Kudzin, Z.H.; Mokrzan, J.; Skowroński, R. Long chain aminothiaalkane-phosphonates, their sulphinyl and sulphonyl derivatives. A new class of complexane type surfactants. *Phosphorus & Sulfur*, **1989**, *42*, 41-46.
- [106] Kudzin, Z.H.; Drabowicz, J.; Sochacki, M.; Wiśniewski, W. Characterization of 1-amino-alkanephosphonic acids by means of chemical ionization mass spectrometry. *Phosphorus & Sulfur*, **1994**, *92*, 77-93.

- [107] Kudzin, Z.H.; Skrzypek, S.W.; Skowroński, R.; Ciesielski, W.; Cristau, H.J.; Plenat, F. Polarographic investigations of functionalized alkanephosphonic acids. P. II. *Phosphorus & Sulfur*, **1996**, *119*, 201-207.
- [108] Kudzin, Z.H.; Sochacki, M. Mass Spectrometry and Gas Chromatography-Mass Spectrometry of aminoalkanephosphonic acids. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 11, 363-406.
- [109] Horiguchi, M. *Natural carbon-phosphorus compounds*. In Hallmann, M. (ed.): *Analytical Chemistry of Phosphorus Chemistry*, Wiley-Intersci., New York; **1972**, Chpt. 18, 703-721.
- [110] Szczepaniak, W.; Siepak, J.; Kuczyński, J. Phosphoro-organic complexones in chemical analysis. *Chem. Anal.*, **1978**, *23*, 210-223.
- [111] Galushko, S.V. Column chromatography of aminophosphonic acids and peptides. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 7, 205-216.
- [112] Kudzin, Z.H.; Kotyński, A. Andrijewski, G. Aminoalkane-diphosphonic acids. Synthesis and acidic properties. *J. Organometal. Chem.*, **1994**, *477*, 199-205.
- [113] Kudzin, Z.H.; Andrijewski, G.; Drabowicz, J. 1-Aminothiaalkane-phosphonic acids – sulphinyl and sulphonyl derivatives. Synthesis and acidic properties. *Heteroatom Chem.*, **1994**, *5*, 1-6.
- [114] Kudzin, Z.H.; Gralak, D.; Drabowicz, J.; Łuczak, J. A novel approach for simultaneous determination of glyphosate and its metabolites. *J. Chromatogr. A*, **2002**, *947*, 129-141.
- [115] Kudzin, Z.H.; Gralak, D.; Andrijewski, G.; Drabowicz, J.; Łuczak, J. Simultaneous determination of biologically active aminophosphonates and aminophosphinates. *J. Chromatogr. A* **2003**, *998*, 183-199.
- [116] Stalikas, C.D.; Pilidis, G.A. Development of a method for the simultaneous determination of phosphonic and amino amid group containing pesticides by gas chromatography with mass-selective detection. Optimization of the derivatization procedure using an experimental design approach. *J. Chromatogr. A*, **2000**, *872*, 215-225.
- [117] Stalikas, C.D.; Konidari, C.N. Analytical methods to determine phosphonic and amino acid group-containing pesticides. *J. Chromatogr. A*, **2001**, *907*, 1-19.
- [118] Choi, N.; McPartlin, M. *X-Ray crystallographic studies*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 10, 327-362.
- [119] Szczepaniak, W.; Siepak, J. Phosphoroorganic complexones. *Wiad. Chem.*, **1975**, *29*, 193-210.
- [120] Rizkalla, E.N. Metal chelates of phosphonate-containing ligands. *Rev. Inorg. Chem.*, **1983**, *5*, 223-304.
- [121] Delgado, R.; Siegfried, L.C.; Kaden, T.A. Metal complexes with macrocyclic ligands. 14. Protonation studies and complexation properties of tetra-azamacrocyclic methylene-phosphonates with earth-alkali ions. *Helv. Chim Acta*, **1990**, *73*, 140-148.
- [122] Sinyavskaya, E.I. Coordination compounds with aminophosphonic acids. *Koord. Khim*, **1991**, *17*, 1599-1626.
- [123] Kiss, T.; Lazar, I.; Kafarski, P. Chelating tendencies of bioactive aminophosphonates. *Met.-Based Drugs*, **1994**, *1*, 247-264.

- [124] Wainwright, K.P. Synthetic and structural aspects of the chemistry of saturated polyaza macrocyclic ligands bearing pendant coordinating groups attached to nitrogen. *Coord. Chem. Rev.*, **1997**, *166*, 35-90.
- [125] Kiss T., Lazar I. *Stability constants of metal complexes in solution*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 9, 285-326.
- [126] Kamecka, A.; Kurzak, B. Coordination properties of phosphonate ligands with some metal ions. *Wiad. Chem.*, **2003**, *57*, 797-825.
- [127] Song, J.L.; Mao, J.G. New metal phosphonates containing coordination piperazine or pyridyl group. *J. Solid State Chem.*, **2005**, *178*, 3514-3521.
- [128] Kittredge, J.S.; Roberts, E. A carbon-phosphorus compounds in nature. *Science*, **1969**, *164*, 37-42.
- [129] Cassaigne, A.; Lacoste, A. M.; Neuzil, E. Biochemistry of the C-P bond. *L'aqctual. Chim.*, **1979**, 19-24.
- [130] Mastalerz, P.; Kafarski, P. *Naturally occurring aminophosphonic and aminophosphinic acids*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 1, 1-32.
- [131] Ryzhkov, M.I.; Kabachnik, M.I.; Tarasevich, L.M.; Medved, T.Ya.; Zeitlenok, N.A.; Marchenko, N.K.; Vagzhanova, V.A.; Ulanova, E.F.; Cheburkina, N.V. Biological activity of α -aminophosphonic acids. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, **1954**, *98*, 849-852.
- [132] Kleinrok, Z.; Kolasa, K.; Chodkowska, A.; Mastalerz, P.; Kafarski, P. Preliminary pharmacological investigation on 38 aminophosphonic acids and their derivatives. *Polish J. Pharmacol. Pharm.*, **1985**, *37*, 575-84.
- [133] Khomutov, R.M.; Osipova, T.I.; Zhukova, Y.N.; Gandurina, I.A. Organophosphorus analogs of optically active substances. 5. Synthesis of α -aminophosphonic acids and some of their derivatives. *Izw. Acad. Nauk SSSR, Ser. Khim.*, **1979**³, 2118-2122.
- [134] Kukhar, V.P.; Solodenko, N.M.; Solodenko, V.A. Biological activity of phosphorus analogs of amino acids. *Ukr. Biokhim. Zh.*, **1988**, *60*, 95-111.
- [135] Boduszek, B. Heterocykliczne kwasy aminofosfonowe – synteza i biologiczna aktywność. (Heterocyclic aminophosphonic acids - synthesis and biological activity.) *Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wrocław.*, **1997**, *38*, 1-87.
- [136] Gancarz, R. Reakcja Kabachnika-Fields'a. Synteza biologicznie aktywnych aminofosfonianów. (Kabachnik-Fields reaction. Synthesis of biologically active amino-phosphonates.) *Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wrocław.*, **1997**, *39*, 1-78.
- [137] Hiratake, J.; Oda, J. Aminophosphonic and aminoboronic acids as key element of a transition state analog inhibitor of enzymes. *Biosci., Biotech. Biochem.*, **1997**, *61*, 211-218.
- [138] Hoffmann, M. Fosfonowe analogi estrów α -aminokwasów i α -hydroxykwasów jako substratów do syntezy fosfonopeptydów i fosfonodepsipeptydów (Phosphonic analogues of α -amino acid and α -hydroxy acid esters as substrates for the synthesis of phosphono-peptides and phosphono-depsipeptides.) *Pr. Nauk. Polít. Gdańsk.*, **1999**, *XLI*, 1-59.
- [139] Volkert, W.A.; Hoffman, T.J. Therapeutic radiopharmaceuticals. *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, 2269-2292.
- [140] Jane, D. Neuroactive aminophosphonic and aminophosphinic acid derivatives. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 14, 483-536.

[141] Oleksyszyn, J. *Aminophosphonic and aminophosphinic acid derivatives in the design of transition state analogue inhibitors: biomedical opportunities and limitations*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 15, 537-558.

[142] Peyman, A. *Aminophosphonic and aminophosphinic acids in the design and synthesis of HIV protease inhibitors*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 16, 559-578.

[143] Green, D.S.C.; Skordalakes, E., Scully, M.F.; Deadman, J.J. *Aminophosphonic acid derivatives as antithrombic agents*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 17, 579-596.

[144] Markwell, R. *Aminophosphonic and aminophosphinic acid derivatives as inhibitors of human collagenases*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 18: 597-617.

[145] Zoń, J. *Badania and synteza i właściwościami inhibitorów oraz substratów ammoniakolizy fhenylalaniny. (Research on the syntheses and properties of inhibitors and substrates of phenylalanine ammonia-lyase.)* Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wrocław., **2005**, 42, 3-60.

[146] Simon, J.; Garlich, J.R. Use of macrocyclic aminophosphonic acid complexes as imaging agents. Eur. Pat. (1992) Appl. E.P. 468634 A1 1992 0129.

[147] Mathew, B.; Chakraborty, S.; Das, T.; Sarma, H.D.; Banerjee, S.; Samuel, G.; Venkatesh, M.; Pillai, M.R.A. ¹⁷⁵Yb labeled polyaminophosphonates as potential agents for bone pain palliation. *Applied Radiation & Isotopes*, **2004**, 60, 635-642.

[148] Franz, J.E. *Discovery, development and chemistry of glyphosate, The herbicide glyphosate* (Grossbard, E.; Atkinson, D., eds.), Butterworth: Boston, MA; **1985**, 1-17.

[149] Maier, L. Preparation, properties, and structure of bis(aminomethyl)phosphinic acid [H₂NCH₂]₂P(O)OH]. *J. Organometal. Chem.*, **1979**, 178, 157-169.

[150] Maier, L.; Smith, M.J. Synthesis and properties of bis(N-hydroxy-carbonylmethyl-aminomethyl)-phosphinic acid, (HO₂CCH₂NHCH₂)₂P(O)OH, and derivatives. *Phosphorus & Sulfur*, **1980**, 4, 67-72.

[151] Maier, L. Synthesis and properties of 1-amino-2-arylethylphosphonic and- phosphinic acids as well as- phosphine oxides. *Phosphorus & Sulfur*, **1990**, 51, 7-10.

[152] Diel, P.J.; Maier, L. Synthesis and properties of N-phosphono-glycine derivatives. *Phosphorus & Sulfur*, **1984**, 20, 313-330.

[153] Cameron, D.G.; Hudson, H.R.; Ojo, I.A.O.; Pianka, M. Organophosphorus compounds as potential fungicides. Part I. Aminoalkane-, guanidinoalkane-, and thioureidoalkane-phosphonic acids: preparation, spectroscopy, and fungicidal activity. *Phosphorus & Sulfur*, **1988**, 40, 183-197.

[154] Cameron, D.G.; Hudson, H.R.; Pianka, M. Organophosphorus compounds as potential fungicides. Part II. Aminoalkane-, guanidinoalkane-, and thioureidoalkanephosphonic acids: preparation, spectroscopy, and fungicidal activity. *Phosphorus & Sulfur*, **1993**, 83, 21-37.

[155] Hudson, H; Pianka, M. An Approach to the Development of Organophosphorus Fungicides. *Phosphorus & Sulfur*, **1996**, 109, 345-348.

[156] Kafarski, P.; Lejczak, B.; Forlani, G. Herbicidally active aminomethylenebisphosphonic acids. *Heteroatom Chem.*, **2000**⁴, 11, 449-453.

[157] Maier, L. Phosphoroorganic detergents. *Chimia*, **1969**, 23, 323-330.

- [158] Coveney, P.V.; Davey, R.J.; Griffin, J.L.W.; Whiting, A. Molecular design and testing of organophosphonates for inhibition of crystallisation of ettringite and cement hydration. *Chem. Commun.*, **1998**, 1467–1468.
- [159] Vaarama, K.; Lehto, J.; Jaakkola, T. Removal of ^{234}U , ^{238}U , ^{226}Po and ^{210}Pb from drinking water by ion exchange chromatography. *Radiochim. Acta*, **2000**, *88*, 361-367.
- [160] Diner, P.; Amedjoukh, M. Aminophosphonates as organocatalysts in the direct asymmetric aldol reaction: towards syn selectivity in the presence of Lewis bases. *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, *4*, 2091-2096.
- [161] Jin, Y.; Liu, J.; Yin, Y.; Fu, H.; Jiang, Y.; Zhao, Y. Dimethylamino-methyl-phosphonic acid derivatives-promoted Cu-catalyzed synthesis of aryl ethers. *Synlett*, **2006**, *1*, 564-1568.
- [162] Engel, R. *Synthesis of Carbon-Phosphorus Bonds*. C.R.C. Press Inc.: Boca Raton, **1990**.
- [163] Engel, R.; Cohen, J.L.I. *Synthesis of Carbon-Phosphorus Bonds*. C.R.C. Press Inc.: Boca Raton, London, New York, **2005**.
- [164] Birum, G.H. Urylenediphosphonates. A general method for the synthesis of α -ureido-phosphonates and related structures. *J. Org. Chem.*, **1974**, *39*, 209.
- [165] Birum, G.H. Nitrogen-containing organophosphorus compounds having aryloxy substituents bonded to phosphorus in ester structures. *Pat US*, 4036913, (**1973**); *Chem. Abstr.* **1977**, *87*, 201764.
- [166] Birum, G.H. Phosphorus compounds. *Pat. US*, 4031170 (**1973**); *Chem. Abstr.* **1977**, *87*, 135932.
- [167] Birum, G.H. Process for the production of sulfonamide phosphonates. *Pat US*, 4032601, (**1973**); *Chem. Abstr.* **1977**, *87*, 135933.
- [168] Birum, G.H. Urea-phosphorus compounds. *Pat. US*, 3904654 (**1973**); *Chem. Abstr.* **1976**, *84*, 44349.
- [169] Birum, G.H. Urea-phosphorus compounds. *Pat. US*, 3965127 (**1973**); *Chem. Abstr.* **1976**, *85*, 143295.
- [170] Birum, G.H. Cyclic organophosphorus amides. *Pat. US*, 398061809 (**1976**).
- [171] Kudzin, Z.H.; Stec, W.J. Synthesis of 1-aminoalkanephosphonic acids via thioureido-alkanephosphonates. *Synthesis*, **1978**, 469-472.
- [172] Oleksyszyn, J.; Tyka, R. An improved synthesis of 1-amino-phosphonic acids. *Tetrahedron Lett.*, **1977**, 2823-2824.
- [173] Oleksyszyn, J.; Tyka, R.; Mastalerz, P. Direct synthesis of 1-amino-alkylphosphonic and – phosphinic acids from phosphorus trichloride or dichlorophosphines. *Synthesis*, **1978**, 479-480.
- [174] Oleksyszyn, J. *Amidoalkilowanie związków trójwartościowego fosforu. (Amidoalkylation of trivalent phosphorous compounds.)* Pr. Nauk. Inst Chem. Org. Fiz. Politech. Wrocław., **1986**, *29*, 1-77.
- [175] Soroka, M. The synthesis of 1-aminoalkylphosphonic acids. A revised mechanism of the reaction of phosphorus trichloride, amides and aldehydes or ketones in acetic acid solution (Oleksyszyn reaction). *Liebigs Ann. Chem.*, **1990**, *4*, 331-334.
- [176] Soroka, M.; Jaworska, D.; Szczęśny, Z. Synthesis of 1-aminoalkylphosphonic acids via amidoalkylation of phosphorous amid by *N,N'*-alkylidenebisamides. *Liebigs Ann. Chem.*, **1990**, *4*, 1153-1155.
- [177] Oleksyszyn, J.; Subotkowska, L. *Aminomethanephosphonic acid and diphenyl ester*. *Synthesis*, **1982**, 908.
- [178] Chalmers, M.E.; Kosolapoff, G.M. The synthesis of amino-substituted phosphonic acids. III. *J. Amer. Chem. Soc.*, **1953**, *75*, 5278-5280.

- [179] Chambers, J.R.; Isbell, A.F. A new synthesis of amino phosphonic acids. *J. Org. Chem.*, **1964**, *29*, 832-836.
- [180] Berlin, K.D.; Roy, N.K.; Claunch, R.T.; Bude, D. A novel route to α -aminoalkylphosphonic acids and dialkyl α -aminoalkylphosphonate hydrochlorides. *J. Amer. Chem. Soc.*, **1968**, *90*, 4494-4495.
- [181] Łukszo, J.; Tyka, R. New protective group in the synthesis of 1-aminoalkylphosphonic acids. *Synthesis*, **1977**, 239-240.
- [182] Subotkowski, W.; Tyka, R.; Mastalerz, P. Phosphonic analogue of proline. *Pol. J. Chem.*, **1980**, *54*, 503-505.
- [183] Subotkowski, W.; Tyka, R.; Mastalerz, P. Large scale of dialkyl 2-pyrrolidine-phosphonates. *Pol. J. Chem.*, **1983**, *57*, 1389-1391.
- [184] Zygmunt, J.; Mastalerz, P. Phosphonic analogues of serine and isoserine. *Pol. J. Chem.*, **1978**, *52*, 2271-2273.
- [185] Zygmunt, J.; Mastalerz, P. Phosphonic analogues of serine and isoserine. *Pol. J. Chem.*, **1981**, *55*, 411-414.
- [186] Lejczak, B.; Kafarski, P.; Soroka, M.; Mastalerz, P. Synthesis of the phosphonic analogue of serine. *Synthesis*, **1984**, 577-581.
- [187] Kudzin, Z.H.; Stec, W.J. Phosphohomocysteine derivatives. *Synthesis*, **1980**, 1032-1034.
- [188] Kudzin, Z.H.; Stec, W.J. Phosphocysteine and phosphohomocysteine. Synthesis and isolation. *Synthesis*, **1983**, 812-814.
- [189] Baylis, E.K.; Campbell, C.D.; Dingwall, J. 1-Amino-alkylphosphonous acids. Isosteres of the protein amino acids. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I*, **1984**, 2845-2853.
- [190] Bongini, A.; Camerini, R.; Hoffmann, S.; Panuzio, M. Synthesis of (1*S*, 2*S*)-phosphonothreonine via N-TMS-silylamine of lactic aldehyde. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 8045-8049.
- [191] Krzyżanowska, B.; Pilichowska, S. Synthesis of *O,O*-dialkyl 1-aminoalkanephosphonate via N-phosphinylated imines and enamines. *Pol. J. Chem.*, **1988**, *62*, 165-177.
- [192] Drescher, M.; Li, Y.-F.; Hammerschmidt, F. Enzymes in Organic chemistry. P1: Lipase-catalyzed hydrolysis of 1-acyloxy-2-arylethylphosphonates and synthesis of phosphonic acid analogues of L-phenylalanine and L-tyrosine. *Tetrahedron*, **1995**, *51*, 4933-4936.
- [193] Subotkowski, W.; Kowalik, J.; Tyka, R.; Mastalerz, P. The phosphonic analogue of tryptophan. *Pol. J. Chem.*, **1981**, *55*: 853-857.
- [194] Chen, S.F.; Kumar, S.; Tishler, M. Synthesis of D,L-phosphono-tryptophane. *Tetrahedron Lett.*, **1983**, *24*, 5461-5465.
- [195] Rogers, R.L.; Stern, M.K. An improved synthesis of phosphonate analog of tryptophan. *Synlett*, **1992**, 708.
- [196] Merrett, J.H.; Spurden, W.C.; Thomas, W.A.; Tong, B.P.; Whitecombe, I.W.A. The synthesis and rotational isomerism of 1-amino-2-(imidazol-4-yl)ethylphosphonic [phosphono-histidine, His(P)] and 1-amino-2-(imidazol-2-yl)ethylphosphonic [phosphonoisohistidine, isoHis(P)]. *J. Chem. Soc., Perkin. Trans. I*, **1988**, 61-75.
- [197] McCleery, P.P.; Tuck, B. Synthesis of 1-aminoalkylphosphonic acids. Part 2. An alkylation approach. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1989**, 1319-1328.
- [198] Khomutov, H.R. Synthesis of phosphonoanalogs of histidine and carnosine. *Bioorg. Khim.* **1990**, *16*, 1290-1293.

- [199] Hamilton, R.; Walker, B.J.; Walker, B. Convenient synthesis of N-protected diphenyl phosphonate esters – analogues of ornithine, lysine and homolysine. *Tetrahedron Lett.*, **1993**¹, *34*, 2847-2850.
- [200] Lacoste, A.M.; Cassaigne, A.; Neuzil, E. Synthesis and properties of phosphonyl analogue of arginine. *Compt. Rend. Acad. Sci. Ser. D*, **1972**, *275*, 3009-3012; *Chem. Abstr.*: **1973**, *78*, 124854.
- [201] Smith, E.C.R.; McQuaid, L.A.; Paschal, J.W.; DeHoniesto, J. An enantioselective synthesis of D-(-) and L-(+)-2-amino-3-phosphonopropanoic acid. *J. Org. Chem.*, **1990**, *55*, 4472-4474.
- [202] Soroka, M.; Mastalerz, P. Phosphonic and phosphinic analogues of aspartic acid and asparagine. *Roczn. Chem.*, **1974**, *48*, 1119-1121.
- [203] Soroka, M.; Mastalerz, P. The synthesis of phosphonic and phosphinic analogues of asparagine and aspartic acid. *Roczn. Chem.*, **1976**, *50*, 661-666.
- [204] Campbell, M.M.; Carruthers, N.I.; Mickel, S.J. Aminophosphonic and aminophosphinic analogues of aspartic acid. *Tetrahedron*, **1982**, *38*, 2513-2524.
- [205] Issleib, K.; Dopferm, K.P.; Balszuweit, A. Aminodiphosphonic and diamino-diphosphonic acids – synthesis and transamination. *Phosphorus & Sulfur*, **1983**, *14*, 171-175.
- [206] Mastalerz, P. Synthesis of γ -phosphonoglutamic acid. *Acta Biochim. Pol.*, **1957**, *4*, 19-21; *Chem. Abstr.*: **1959**, *53*, 18879.
- [207] Mastalerz, P. Synthesis of phosphonic acids related to glutamic acid. *Roczn. Chem.*, **1959**¹, *33*, 985-991.
- [208] Oleksyszyn, J.; Gruszecka, E.; Kafarski, P.; Mastalerz, P. New phosphonic analogs of aspartic and glutamic-acid by aminoalkylation of trivalent phosphorus chlorides with ethyl acetyloacetate or ethyl levulinate and benzyl carbamate. *Monatsh. Chem.*, **1982**, *113*, 59-71.
- [209] Antczak, K.; Szewczyk, J. Separation of phosphonic analog of glutamic acid. *Phosphorus & Sulfur*, **1985**, *22*, 247-251.
- [210] Kudzin, Z.H. Phosphocysteine derivatives. Thioureidoalkane-phosphonates via acetals. *Synthesis*, **1981**, 643-645.
- [211] Jakubke, H.D.; Jeschkeit, H. *Aminokwasy, peptydy, białka. (Aminoacids, peptides, proteins.)* PWN (Polish ed.), Warszawa, 1989.
- [211a] REAXES - baza wydawnictwa Elsevier Information GmbH, z zakresu chemii organicznej, nieorganicznej i organometalicznej oraz nauk pokrewnych, która zawiera w sobie komplet danych z dotychczasowych baz Beilstein, Gmelin oraz dodatkowo Patent Chemistry Database.
- [211b] SCI-FINDER. Calculated Data obtained using Advanced Chemistry Development (ACD/Labs) Software V11.02 (© 1994-2014 ACD/Labs)
- [212] Moedritzer, K.; Irani, R.R. The direct synthesis of α -aminomethyl-phosphonic acids. Mannich-type reactions with orthophosphorous acid. *J. Org. Chem.*, **1966**, *31*, 1603-1607.
- [213] Soroka, M. Comments on the synthesis of aminomethyl-phosphonic acid. *Synthesis*, **1989**, 547-548.
- [214] Asano, S.; Kitahara, T.; Ogawa, T.; Matusi, M. The new synthesis of α -amino phosphonic acids. *Agric. Biol. Chem.*, **1973**, *37*, 1193-1195.
- [215] Berry, J.P.; Isbel, A.F.; Hunt, G.E. Aminophosphonic acids. Aminoalkylphosphonic acids. *J. Org. Chem.*, **1972**, *37*, 4396-4399.
- [216] Hammerschmidt, F.; Wuggenig, F. Enzymes in organic chemistry. Part 9: Chemo-enzymatic synthesis of phosphonic acid analogues of L-valine, L-leucine, L-isoleucine, L-methionine and L- α -aminobutyric acid of high enantiomeric excess: *Tetrahedron: Asymm.*, **1999**, *10* 1709-1721.

- [217] Issleib, K.; Dopfer, K.; Balszuweit, A. Pyrrolidin-2-phosphonic acid. *Z. Chem.*, **1982**, *22*, 215-216.
- [218] Huber, R.; Knierzinger, A.; Obrecht, J.P.; Vasella, A. Nucleophilic addition to *N*-glycosyl-nitrones. Asymmetric synthesis of α -aminophosphonic acids. *Helv. Chim. Acta*, **1985**, *68*, 1730-1747.
- [219] Renaud, P.; Seebach, D. Preparation of chiral building blocks from amino acids and peptides via electrolytic decarboxylation and TiCl_4 -induced aminoalkylation. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1986**, *25*, 843-844.
- [220] Bongini, A.; Camerini, R.; Panuzio, M. Efficient synthesis of the four diastereomers of phosphothreonine from lactaldehyde. *Tetrahedron: Asymm.*, **1996**, *7*, 1467-1476.
- [221] Belyankin, A.V.; Khomutov, A.R.; Zhukov, Yu.N.; Kartasheva, O.N.; Khomutov, R.M. Synthesis of phosphinic and phosphonic analogs of amino acids. *Izv. Akad. Nauk SSSR*, **1997**, *46*, 137-140.
- [222] Zygmunt, J.; Mastalerz, P. 1-Amino-2-mercaptoethanephosphonic acid, the phosphonic analogue of cysteine. *Pol. J. Chem.*, **1981**², *55*, 713-715.
- [223] Cowart, M.; Kowaluk, E.A.; Kohlhaas, K.L.; Alexander, K.M.; Kerwin Jr., J.F. Synthesis of phosphorus-containing amino acid analogs as inhibitors of nitric oxide synthase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 999-1002.
- [224] Jeżowska-Bojczuk, M.; Kiss, T.; Kozłowski, H.; Decock, P.; Barycki, P. Complexes of aminophosphonates. 8. Copper(II) complexes of *N*-(phosphono-methyl)amino acids and related compounds. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1994**, 811-817.
- [225] Khomutov, A.R.; Osipova, T.I.; Khurs, E.N.; Alferov, K.V.; Khomutov, R.M. Synthesis of phosphinic and phosphonic analogs of aspartic acid. *Izv. Akad. Nauk, Ser. Khim.*, **1996**, 2066-2069.
- [226] Varlet, J.-M.; Collignon, N.; Savignac, P. Reductive amination of phosphonopyruvates: preparation of 1-amino-2-carboxy-2-alkylphosphonic acid (β -phosphonoalanine.) [Synthese et amination reductrice de phosphonopyruvates: preparation d'acides amino-2-carboxy-2-alkylphosphoniques (β -phosphonoalanine)]. *Can. J. Chem.*, **1979**, *57*, 3216-3220.
- [227] Kudzin, Z.H.; Majchrzak, M. 1-Aminoalkanephosphonic acids. Addition of diethyl phosphite to *N*-diisobutylaluminio-aldimines. *J. Organometal. Chem.*, **1989**, *376*, 246-248.
- [228] Vasella, A.; Voefray, R. Asymmetric synthesis of aminophosphonic acids by cycloaddition of *N*-glucosyl-*C*-dialkoxylphosphonyl-nitrones. *Helv. Chim. Acta*, **1982**, *65*, 1953-1964.
- [229] Soloshonok, V.A.; Belokon, Y.N.; Kuzmina, N.A.; Maleev, V.I.; Svistunova, N.Yu.; Solodenko, VA, Kukhar P Asymmetric synthesis of phosphorous analogues of dicarboxylic amino acids. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1992**, 1525-1530.
- [230] Tyka, R. Kwasy α -aminofosfonowe i związki pochodne. (α -Aminophosphonic acids and related compounds.) *Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wrocław.*, **1972**, *4*, 1-54.
- [231] Belov, Yu.P.; Davankov, V.A.; Rogozhin, S.V. Optically active α -aminoethyl-phosphonic acids and their ethyl esters. *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.*, **1977**, 1596-1599.
- [232] Richtarski, G; Soroka, M; Mastalerz, P; Starzemska, H. Deamination and rearrangement of 1-hydroxy-1-phenyl-2-aminoethylphosphonic acid. *Roczn. Chem.*, **1975**, *49*, 2001-2005.
- [233] Oleksyszyn, J; Subotkowska, L; Mastalerz, P. Diphenyl 1-aminoalkanephosphonates. *Synthesis*, **1979**, 985-986.
- [234] Crutchfield, M.M.; Dungan, C.H.; Letcher, J.H.; Mark, V.; Van Wazer, J. R.: P 31 Nuclear Magnetic Resonance. *Top. Phosphorus Chem.*, **1967**, *5*, 227-457.
- [235] Kuhl, O., *Phosphorus-31 NMR Spectroscopy. A Concise introduction for the synthetic organic and organometallic chemist*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2008**.

- [236] Kudzin, Z.H.; Andrijewski, G.; W. Kopycki, W. *Fosforoorganiczne kompleksy. II. Badania kompleksujących właściwości fosfonocysteiny, fosfonohomocysteiny oraz ich S-alkilowych pochodnych*. Zjazd PTCh i SITPCh: Vol. IA (1988) 88; (poster IA-85).
- [237] Robitaille, P.M.L.; Robitaille, P.A.; Brown, G.G.; Brown, G.G. An analysis of the pH-dependent chemical shift behavior of phosphorus-containing metabolites. *J. Magn. Res.*, **1991**, *92*, 73-84.
- [238] Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz J.; Perlikowska, W. ω -Aminoalkylphosphonic acids. Investigations of selected physical and chemical properties. P-35. XV International Symposium „Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds”, CBMM PAN, Łódź, 2012.11.16.
- [239] Berlin, K.D.; Gaudy, E.T. α -Aminoarylmethylphosphonic acids and diethyl α -aminoarylmethylphosphonate hydrochlorides. Aluminum-amalgam reduction of oximes of diethyl aroylphosphonates. *J. Org. Chem.*, **1968**, *33*, 3090-3095.
- [240] Oshikawa, T.; Yamashita, M. Preparation of optically active 1-amino-alkylphosphonic acids from chiral carbamates using chiral ureas. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1989**, *62*, 3177-3181.
- [241] Kudzin, Z.H.; Saganiak, M.; Drabowicz, J.; Andrijewski, G. Oxidative transformations of phosphonocysteine and phosphonohomocysteine. Synthesis and isolation of phosphonocysteic and phosphonohomocysteic acids. *Pol. J. Chem.*, **2005**, *79*, 499-513.
- [242] Kudzin, Z.H.; Depczyński, R.; Andrijewski, G.; Drabowicz, J. 1-(*N*-acylamino)alkane-phosphonates. *N*-acylation of 1-aminoalkanephosphonic acids. *Pol. J. Chem.*, **2005**, *79*, 529-539.
- [243] Kudzin, Z.H.; Depczyński, R.; Kudzin, M.H.; Drabowicz, J.; Łuczak, J.: 1-(*N*-Trifluoroacetyl-amino)alkylphosphonic acids. Synthesis and properties. *Amino Acids*, **2007**, *33*, 663-667.
- [244] Kudzin, Z.H.; Depczyński, R.; Kudzin, M.H.; Drabowicz, J. 1-(*N*-Chloroacetyl-amino)alkylphosphonic acids - synthetic precursors of glycylo-phosphonopeptides and related compounds. *Amino Acids*, **2008**, *34*, 163-168.
- [245] Berte-Verrando, S.; Nief, F.; Patois, C.; Savignac, Ph. Preparation of α -dideuterated amino-methylphosphonic acid. *Phosphorus & Sulfur*, **1995**, *103*, 91-100.
- [246] Harris, R.K.; Merwin, L.H.; Haegele, G. Solid-state NMR study of a series of aminophosphonic acids. *Magn. Res. Chem.*, **1989**, *27*, 470-475.
- [247] Głowacki, Z.; Topolski, M. ^{13}C NMR spectra of amino-alkylphosphonic acids. 897-899. *Magn. Res. Chem.*, **1989**, *27*, 897-899.
- [248] Hanessian, S.; Bennani, Y.L. Electrophilic amination and azidation of chiral α -alkyl phosphonamides: asymmetric syntheses of α -amino α -alkyl phosphonic acids. *Synthesis*, **1994**, 1272-1274.
- [249] Huber, R.; Vasella, A. Nucleophilic addition to *N*-glycosyl-nitrones. P. IV. Asymmetric synthesis of *N*-hydroxy- α -aminophosphonic and α -amino-phosphinic acids. *Helv. Chim. Acta*, **1987**, *70*, 1461-1476.
- [250] Seebach, D.; Charczuk, R.; Gerber, Ch.; Renaud, Ph.; Berner, H.; Schneider, H. Electrochemical decarboxylation of L-threonine and oligopeptide derivatives with formation of *N*-acyl-*N,O*-acetals: preparation of oligopeptides with amide or phosphonate *C*-terminus. *Helv. Chim. Acta*, **1989**, *72*, 401-425.
- [251] Kaname, M.; Mashige, H.; Yoshifuji, S. Chemical conversion of cyclic amino acids to cyclic α -aminophosphonic acids. *Chem. Pharm. Bull.*, **2001**, *49*, 531-536.
- [252] Green, D.; Patel, G.; Elgendy, S.; Baban, J.A.; Cleason, G.; Kakkar, V.V.; Deadman, J. The synthesis of 1-aminobenzylphosphonic acids from benzylidenemethylamines for use as structural units in Antithrombotic tripeptides. *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 5099-5108.

[253] Hammerschmidt, F.; Lindner, W.; Wuggenig, F.; Zarbl, E. Enzymes in organic chemistry. Part 10.1. Chemo-enzymatic synthesis of L-phosphoserine and L-phosphoisoserine and enantioseparation of amino-hydroxyethylphosphonic acids by non-aqueous capillary electrophoresis with quinine carbamate as chiral ion pair agent. *Tetrahedron: Asymm.*, **2000**, *11*, 2955-2964.

[254] Matczak-Jon, E.; Barycki, J.; Milewska, M.; Sawka-Dobrowolska, W. The phosphonic analogues of threonine and β -phenylserine: Preparation and analysis of stereoisomers. *Phosphorus & Sulfur*, **1998**, *142*, 101-116.

[255] Simov, B.P.; Wuggenig, F.; Lämmerhofer, M.; Lindner, W.; Zarbl, E.; Hammerschmidt, F., Indirect evidence for the biosynthesis of (1s,2s)-1,2-epoxypropyl-phosphonic acid as a co-metabolite of fosfomicin [(1R,2S)-1,2-epoxypropylphosphonic acid] by *Streptomyces fradiae*. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, *7*, 1139-1142.

[256] Yokamatsu, T.; Sato, T.; Shibuya, S. Lipase-catalyzed enantioselective acylation of prochiral 2-(ω -phosphono)alkyl-1,3-propanediols: Application to the enantioselective synthesis of ω -phosphono- α -amino acids. *Tetrahedron: Asymm.*, **1996**, *7*, 2743-2754.

[257] Myers, T.C.; Jibril, A.O. A series of ω -trimethylammoniumalkylphosphonic acids and their diethyl ester iodides. *J. Org. Chem.*, **1957**, *22*, 181-182.

[258] Isbell, A.F.; Berry, J.P.; Tansey, L.W. Amino phosphonic acids. III. The synthesis and properties of 2-aminoethylphosphonic and 3-aminopropylphosphonic acids. *J. Org. Chem.*, **1972**, *37*, 4399-4401.

[259] Yamauchi, K.; Une, F.; Kinoshita, M. Aminophosphonic acids. Synthesis of (2-dimethylaminoethyl) phosphonic acids and (2-phosphonoethyl)trimethyl-ammonium hydroxide inner salt. *Chem. Express*, **1987**, *2*, 305-308.

[260] Dalton, J.B.; Schmidt, C.L.A. The solubilities of certain amino acids in water, the densities of their solutions at twenty five degrees, and the calculated heats of solution and the partial molar volumes. *J. Biol. Chem.* **1933**, *103*, 549-578.

[261] Dalton, J.B.; Schmidt, C.L.A. The solubilities of certain amino acids and related compounds in water, the densities of their solutions at twenty-five degrees, and the calculated heats of solution and partial molar volumes. *J. Biol. Chem.* **1935**, *109*, 241-248.

[262] Dunn, M.S.; Ross, F.J. Quantitative investigations of amino acids and peptides. IV. The solubility of the amino acids in water-ethyl alcohol mixtures. *J. Biol. Chem.* **1938**, *125*, 309-332.

[263] Dunn, M.S.; Ross, F.J.; Read, L.S. The solubility of the amino acids in water. *J. Biol. Chem.* **1933**, *91*, 579-595.

[264] Chen, C.C.; Zhu, Y.; Evans, L.B.. Phase partitioning of biomolecules: solubilities of amino acids. *Biotechnology Progress* **1989**, *5*, 111-118.

[265] Liu, J.; Lu, J.; Li, Y., Study on the activity coefficients and solubilities of amino acids in water by the perturbation theory. *Fluid Phase Equilibria* **1998**, *142*, 67-82.

[266] Gekko, K., Mechanism of polyol-induced protein stabilization: solubility of amino acids and diglycine in aqueous polyol solution. *J. Biochem.* **1981**, *90*, 1633-1641.

[267] Cohn, E.J.; McMeekin, T.L.; Edsall, J.T.; Weare, J.H. Studies in the physical chemistry of amino acids, peptides and related substances. II. The solubility of α -amino acids in water and in alcohol-water mixtures. *J. Amer. Chem. Soc.* **1934**, *56*, 2270-2282.

[268] Nozaki, Y.; Tanford, C. The solubility of amino acids and two glycine peptides in aqueous ethanol and dioxane solutions. *J. Biol. Chem.* **1971**, *246*, 2211-2217.

[269] Orella, C.J.; Kirwan, D.J. The solubility of amino acids in mixtures of water and aliphatic alcohols. *Biotechnol. Progress* **1989**, *5*, 89-91.

- [270] Orella, C.J., Kirwan, D.J. Correlation of amino acid solubilities in aqueous aliphatic alcohol solutions. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1991**, *30*, 1040–1045.
- [271] Ferreira, L.A.; Macedo, E.A.; Pinho, S.P. Solubility of amino acids and diglycine in aqueous-alkanol solutions. *Chem. Eng. Sci.* **2004**, *59*, 3117–3124.
- [272] Gude, M.T.; Meuwissen, H.H.J.; Wielen, L.A.M.; Luyben, K.Ch.A.M. Partition coefficients and solubilities of α -amino acids in aqueous 1-butanol solutions. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1996**, *35*, 4700–4712.
- [273] Yang, X.; Wang, X.; Ching, C.B. Solubility of form α and form γ of glycine in aqueous solutions. *J. Chem. Eng. Data*, **2008**, *53*, 1133–1137.
- [274] Deya, B.P.; Lahirib, S.C. Studies on the dissociation constants and solubility of amino acids in water + urea mixtures at 298 K, interaction of urea with amino acids and the role of urea in the denaturation of proteins in terms of structural aspects of water. *J. Indian Chem. Soc.* **2010**, *87*, 29–41.
- [275] Pałecz, B.; Grala, A.; Kudzin, Z. Interaction of Some Aminophosphonic Acids with Urea in Aqueous Solutions at 298.15 K. *J. Chem. Eng. Data* **2012**, *57*, 1515–1519.
- [276] Pałecz, B.; Grala, A.; Kudzin, Z. Calorimetric Studies of the Interactions between Several Aminophosphonic Acids and Urea in Aqueous Solutions at 298.15 K. *J. Chem. Eng. Data*, **2014**, *59*, 426–432.
- [277] Preliminary results on the solubility of some 1-aminoalkylphosphonic acids were presented by Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz, J.: Investigations on the solubility of aminoalkylphosphonic acids. 16th International Symposium „Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds”, P-085. CBMM PAN, Łódź, 2013.11.15.
- [278] Wozniak, M.; Nowogrocki, G. Acidites et complexes des acides (alkyl- et aminoalkyl-) phosphoniques—IV Acides aminoalkylphosphoniques $R^1R^2N(CH_2)_nCR^3R^4PO_3H_2$. *Talanta*, **1979**, *26*, 1135–1141.
- [279] Gallacher, P.K. *Thermogravimetry and Thermomagnetometry*, w P.K. Gallacher (ed. serii), *Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry*. 1. Principles and Practice, Brown, M.E. (ed.). Elsevier, **1998**, 225–278.
- [280] Wójcik K. *Termograwimetria – przegląd metody*. <http://laboratoria.net/pl/artukul/chemia-analityczna/15901.html>. [2013.07.23]
- [281] Witryna internetowa: Ca oxalate thermogram.jpg: [http://pl.wikipedia.org/w/index.php?](http://pl.wikipedia.org/w/index.php?title=) title.
- [282] Hoffmann, T.; Friedel, P.; Harnisch, C.; Häußler, L.; Pospiech, D. Investigation of thermal decomposition of phosphonic acids. *J. Anal. App. Pyrolysis*, **2012**, *96*, 43–53.
- [283] Kudzin, M.H.; Mrozińska, Z.: Investigation of Thermal Decomposition of 1-Aminoalkylphosphonic Acids. P-88. XV Międzynarodowe Sympozjum "Postępy w Chemii Związków Heteroorganicznych", CBMM PAN, Łódź, 16 listopada 2012 r.
- [284] Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Drabowicz, J. Investigation of thermal decomposition of representative 1-(N-acylamino)alkylphosphonic acids and phosphonopeptides. European Polymer Congress, P2-89. Piza, Italy, 2013.06.16–21.
- [285] Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Piestrzeniewicz, J.; Mrozińska, Z.; Drabowicz, J.: Investigation of thermal decomposition of representative 1-aminoalkylphosphonic acids. 16th International Symposium „Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds”, P-086. CBMM PAN, Łódź, 2013.11.15.
- [286] Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Mrozińska, Z.; Drabowicz, J.: Investigation of thermal decomposition of representative 1-(N-alkylamino)alkylphosphonic acids. 16th International

Symposium „Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds”, P-087. CBMM PAN, Łódź, 2013.11.15.

[287] Gancarz, R. Reakcja Kabachnika-Fieldsa. Synteza biologicznie aktywnych aminofosfonianów. (Kabachnik-Fields reaction. Synthesis of biologically active aminophosphonates). *Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Biochem. Biotechnol. Polit. Wrocław.*, **1997**, 39, 1-78.

[287.1.] Gancarz, R. Praca doktorska, Polit. Wrocławska, **1978**.

[287.2.] Kiersnowska, A. Praca doktorska, *Polit. Wrocławska*, **2003**.

[288] Boduszek, B.; Halama, A.; Zoń, J. The cleavage of 1-amino-2'-nitrobenzylphosphonates in a basic medium. Formation of the 3-amino-2,1-benzisoxazole derivatives. *Tetrahedron*, **1997**, 53, 11399-11410.

[289] Boduszek, B.; Halama, A. Nitrobenzyl (α -amino)phosphonates. Part 2[1]. Cleavage of 4-nitrobenzyl(α -amino)phosphonic acids in aqueous sodium hydroxide solution. *Phosphorus & Sulfur*, **1998**, 141, 239-250.

[290] Boduszek, B.; Halama, A. A cleavage of some hydroxybenzyl(α -amino)-phosphonates in a basic medium. *Phosphorus & Sulfur*, **1998**, 143, 151-158.

[291] Boduszek, B. The acidic cleavage of pyridylmethyl(amino)-phosphonates. Formation of the corresponding amines. *Tetrahedron*, **1996**, 52, 12483-12494.

[292] Boduszek, B.; Latajka, R.; Leśniak, W. Acid-catalyzed cleavage of 2-pyridyl and 4-pyridyl derivatives of aminomethylphosphonic acid. Kinetic and chemical arguments for a mechanism with A-SE2 character. *Phosphorus & Sulfur*, **2000**, 165, 53-75.

[293] Boduszek, B., Latajka, R., Walkowiak, U. Acid-catalyzed cleavage of some chromone, coumarin and pyrone derivatives of aminomethylphosphonic acid. Products and kinetics of the reaction. *Polish J. Chem.*, **2001**, 75, 63-69.

[294] Boduszek, B.; Olszewski, T.K.; Goldman, W.; Grzegolec, K.; Blazejewska, P. Preparation of new imidazol-2-yl-(amino)methylphosphonates, phosphinates and phosphine oxides and their unexpected cleavage under acidic conditions. *Tetrahedron*, **2012**, 68, 1223-1229.

[295] Michalska, J.; Boduszek, B.; Olszewski, T.K. New quinoline-2-, -3, and 4-yl-(amino) methylphosphonates: Synthesis and study on the C-P bond cleavage in quinoline-2 and -4 derivatives under acidic conditions. *Tetrahedron*, **2010**, 66, 8661-8666.

[296] Olszewski, T.K.; Boduszek, B. Synthesis of new thiazole-2-, -4, and -5-yl-(amino)methylphosphonates and phosphinates: Unprecedented cleavage of thiazole-2 derivatives under acidic conditions. *Tetrahedron*, **2010**, 66, 8661-8666.

[297] Olszewski, T.K.; Boduszek, B. Synthesis of new thiazole-2-, -4, and -5-yl-(amino)methylphosphonates and phosphinates: Unprecedented cleavage of thiazole-2 derivatives under acidic conditions. *Heteroatom Chem.*, **2011**, 22, 617-624.

[298] Duskocz, M.; Miziak, P.; Gancarz, R. The protonation site in aminophosphonates. *Polish J. Chem.*, **2005**, 79, 547-552.

[299] Duskocz, M.; Gancarz, R.; Roszak, S. The protonation equilibrium and decomposition of amino- and hydroxyphosphonates, phosphine oxides and phosphonic acid. *Polish J. Chem.*, **2007**, 81, 2013-2021.

[300] Duskocz, M.; Roszak, S.; Majumdar, D.; Duskocz, J.; Gancarz, R.; Leszczynski, J. Theoretical studies on the mechanism of C-P bond cleavage of a model α -aminophosphonate in acidic condition. *J. Physical Chem. A*, **2008**, 112, 2077-2081.

- [301] Zoń, J.; Miziak, P.; Rychlewski, T.; Gancarz, R. Unexpected non-stability of aminophosphonates: Limitation of their synthesis using diphenylmethyl-amine procedure. *Polish. J. Chem.*, **2007**, *81*, 2023-2030.
- [302] Warren, S.G. Metaphosphate formation from phosphono-amino acids and ninhydrine. *J. Chem. Soc., C – Org. Chem. Commun.*, **1966**, 1349-1350.
- [303] Calvo, K.C. Pyridoxal-mediated dephosphonylation of 1-amino-phosphono acids. *J. Org. Chem.*, **1987**, *52*, 3654-3658.
- [304] Szpoganicz, B.; Martell, A. (1989) Comperative mechanisms of vitamin B₆-catalyzed β-decarboxylation and β-dephosphonylation in model systems. *Biochimie*, **1989**, *71*, 591-597.
- [305] Drąg, M.; Jezierski, A.; Kafarski, P. First example of the chemical, oxidative cleavage of the C-P bond in aminophosphonate chemistry. The oxidation of 1-amino-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-methylphosphonic acid by NaIO₄. *Chem. Commun.*, **2004**, 1132-1133.
- [306] Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz, J.; Saganiak, M. Oxidative dephosphonylation of 1-aminoalkylphosphonic acids by aqueous bromine. P-X. IX International Symposium „*Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*“ CBMM PAN, Lodz, Poland, 2006.
- [307] Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz, J.; Stevens, Ch.V. Oxidative Dephosphonylation of 1-Aminoalkylphosphonic Acids by Aqueous Bromine. 2014 (in preparation).
- [308] Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz, J. Reaction of 1-aminoalkyl-phosphonic acids with hydrogen peroxide. Oxidative dephosphonylation. P-36. XV Międzynarodowe Sympozjum "Postępy w Chemii Związków Heteroorganicznych", CBMM PAN, Łódź, 2012.11.12.
- [309] Drabowicz, J; Mikołajczyk, M. Synthesis of sulfoxides. *Org. Prep. Proc. Inter.*, **1982**, *14*, 45-89.
- [310] Drabowicz, J; Mikołajczyk, M. Facile and selective oxidation of organic sulfides to sulfoxides with hydrogen peroxide-selenium dioxide system. *Synthesis*, **1978**, 758-759.
- [311] Eucast definitive dokument Methods of the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. Terminology. *Clin. Microbiol. Infect.*, **1998**, *4*, 291-341.
- [312] A.A.; Whitt, D.D. Mikrobiologia. Różnorodność, chorobotwórczość i środowisko WN PWN, Warszawa, 2012.
- [313] Flemming, A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of b. influenzae. *Brit. J. Exp. Path.*, **1929**, *10*, 226-236.
- [314] Andrews, J.M. Determination of minimum inhibitory concentration. *J. Antimicrob. Chemother.*, **2001**, *48*, (S1) 5-16.
- [315] Witryna internetowa: [http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File: Serial dilution and plating of bacteria.jpg](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Serial_dilution_and_plating_of_bacteria.jpg).
- [316] Witryna internetowa: [http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Manual_CFU counting.jpg](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Manual_CFU_counting.jpg)
- [317] McFarland, J. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index for vaccines. *JAMA*, **1907**, *49*, 1176-1178.
- [318] Witryna internetowa:[http://en.wikipedia.org/w/index.php?title =File:McFarland_standards.jpg](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:McFarland_standards.jpg).
- [319] Roessler, W.G.; Brewer, C.R. Permanent turbidity standards. *Appl. Microbiol.*, **1967**, *15*, 1114-1121.
- [320] Pugh, T.L.; Heller, W. Density of polystyrene and polyvinyl toluene latex particles. *J. Colloid Sci.*, **1957**, *12*, 173-180.
- [321] Mallette, M.F. Evaluation of growth by physical and chemical means., w książce *Methods in microbiology*, [Norris, J.D. & Ribbons, D.W. (ed.)]. **1969**, *vol. 1.*, & *XV.*, 521-566, Academic Press Inc., New York.

- [322] Bauer, R.W.; Kirby, M.D.K.; Sherris, J.C.; Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by standard single disc diffusion method. *Amer. J. Clin. Pathol.*, **1966**, *45*, 493-496.
- [323] Witryna internetowa: [http://pl.wikipedia.org/w/index.php? File: Bacterial lawn 01.jpg](http://pl.wikipedia.org/w/index.php?File:Bacterial_lawn_01.jpg)
- [324] Witryna internetowa: [http://en.wikipedia.org/w/index.php? File: Staphylococcus aureus \(AB test\). jpg](http://en.wikipedia.org/w/index.php?File:Staphylococcus_aureus_(AB_test).jpg)
- [325] Witryna internetowa: [http://pl.wikipedia.org/w/index.php? File: MIC_microbroth_dilution. jpg](http://pl.wikipedia.org/w/index.php?File:MIC_microbroth_dilution.jpg)
- [326] Witryna internetowa: <http://www.abbiodisk.com/>].
- [327] Witryna internetowa: http://pl.wikipedia.org/w/index.php?title=Plik:E-test_Ngono.jpg
- [328] spilatrs@marietta.edu.
- [329] Joyce, L.F.; Downes, J.; Stockman, K.; Andrew, J.H. Comparison of five methods, including the PDM Epsilon Meter Test (E Test), for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Clin. Microbiol.*, **1992**, *30*, 2709-2713.
- [330] NCCLS (1997). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests: Approved Standard M2-A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, USA.
- [331] Kelly, L.M.; Jacobs, M.R.; Appelbaum, P.C. Comparison of agar dilution, microdilution, e-test, and disk diffusion methods for testing activity of Cefditoren against *Streptococcus pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.*, **1999**, *37*, 3296-3299.
- [332] Mc Gowan, A.P.; Wise, R.: Establishing MIC breakpoints and the interpretation of in vitro susceptibility tests. *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**, *48-S1*, 17-28.
- [333] Witryna internetowa: [http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Staphylococcus aureus VISA_2.jpg](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Staphylococcus_aureus_VISA_2.jpg)
- [334] Witryna internetowa: [http://en.wikipedia.org/w/index.php?title File:Escherichia Coli _ NIAID.jpg](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Escherichia_Coli_NIAID.jpg)
- [335] Kudzin M.H., Kudzin Z.H., Drabowicz J. *Derivatives of aminoalkylphosphonic acids and glycylaminoalkylphosphonic acids as antibacterial additives in biopolymers*. European Polymer Congress EPF-2011; Grenada 2011.06.26.
- [336] ALDRICH Chemistry **2009-2010**.
- [337] SIGMA Life Science **2011-2012**.
- [338] Gancarz, R.; Wieczorek, J.S. A useful method for the preparation of 1-aminoalkanephosphonic acids. *Synthesis*, **1977**, 625.
- [339] Zoń, J.; Amrhein, N.; Gancarz, R. Inhibitors of phenylalanine ammonia-lyase: 1-amino-benzylphosphonic acids substituted in the benzene ring. *Phytochemistry*, **2002**, *59*, 9-21.
- [340] Maier, L.; Diel, P.J. Preparation, physical and biological properties of amino-arylmethylphosphonic- and-phosphonous acids. *Phosphorus & Sulfur*, **1991**, *57*, 57-64.
- [341] Hellmann, H. New methods of organic preparative chemistry. 8. Amido-metylation. *Angew. Chem.*, **1957**, *69*, 463.
- [342] Redmore, D. *N*-benzyl- α -aminophosphonic acids. *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 996-997.
- [343] Instrukcja spektrometru UV-VIS JASCO V-630].
- [344] Instrukcja spektrometru JASCO FT/IR serii 6000.
- [345] Witryna internetowa: [http://pl.wikipedia.org/w/index. php? File: Thermogravimetric analyser.jpg](http://pl.wikipedia.org/w/index.php?File:Thermogravimetric_analyser.jpg).
- [346] Witryna internetowa: <http://www.tainst.com>; File: TA-023B. High Resolution Thermogravimetric Analysis - A New Technique For Obtaining Superior Analytical Results.
- [347] Witryna internetowa: [http://laboratoria.net/pl/artukul/ chemia-analityczna/15901. html](http://laboratoria.net/pl/artukul/chemia-analityczna/15901.html).

[348] Instrukcja Prolizera w układzie Py-GC-MS - model Termal Analysis System 2020 firmy Shimadzu.

[349] Struszyński, M. *Analiza Ilościowa i Techniczna. Tom I.* PWT Warszawa, 1954.

[350] Vogel, A.I. *Preparatyka Organiczna (Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry)*. 4-th Ed. WNT, Warszawa, **1984**.

6.2. LITERATURA ALFABETYCZNIE

Adams, E.; Mukharjee, K.A.; Dunathan, H.C. Alanine racemase of *Pseudomonas*. Substrate and inhibitor specificity. *Arch. Biochem. Biophys.*, **1974**, *165*, 126-132; *Chem. Abstr.*: **1975**, *82*, 27847. [65]

ALDRICH Chemistry **2009-2010**. [336]

Alhadeff, J.A.; Daves Jr., G.D. 2-Aminoethylphosphonic acid. Distribution in human tissues. *Biochem. Biophys. Acta*, **1971**, *244*, 211-213. [46]

Alhadeff, J.A.; Daves, G.D. Jr. Occurrence of 2-aminoethylphosphonic acid in human brain. *Biochemistry*, **1970**, *9*, 4866-4869. [45]

Allen, J.G.; Atherton, F.R.; Hall, M.J.; Hassall, C.H.; Holmes, S.W.; Lambert, R.W.; Nisbet, L.J.; Ringrose, P.S. Phosphonopeptides, a new class of synthetic antibacterial agents. *Nature (London)* **1978**, *272*, 56-58. [66]

Anderson, J.W.; Fowden, L. 1-Amino-2-phenylethane-1-phosphonic acid: a specific competitive inhibitor of phenylalanyl-^tRNA synthetase. *Chem.-Biol. Interactions*, **1970**, *2*, 53-55; *Chem. Abstr.*: **1970**, *73*, 73264f. [72]

Andrews, J.M. Determination of minimum inhibitory concentration. *J. Antimicrob. Chemother.*, **2001**, *48*, (S1) 5-16. [314]

Antczak, K.; Szewczyk, J. Separation of phosphonic analog of glutamic acid. *Phosphorus & Sulfur*, **1985**, *22*, 247-251. [209]

Asano, S.; Kitahara, T.; Ogawa, T.; Matusi, M. The new synthesis of α -amino phosphonic acids. *Agric. Biol. Chem.*, **1973**, *37*, 1193-1195. [214]

Atherton, F.R.; Hall, M.J.; Hassall, C.H.; Lambert, R.W.; Ringrose, P.S. Phosphonopeptides as antibacterial agents: rationale, chemistry, and structure-activity relationships. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1979**, *15*, 677-683. [67]

Badet, B.; Walsh, C.T. Purification of an alanine racemase from *Streptococcus faecalis* and analysis of its inactivation by (1-aminoethyl)phosphonic acid enantiomers. *Biochemistry*, **1985**, *24*, 1333-1341. [68]

Bauer, H. Synthesis of *p*-aminobenzene phosphonic acid (phosphanilic acid). *J. Amer. Chem. Soc.*, **1941**, *63*, 2137-2138. [31]

Bauer, R.W.; Kirby, M.D.K.; Sherris, J.C.; Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by standard single disc diffusion method. *Amer. J. Clin. Pathol.*, **1966**, *45*, 493-496. [322]

Bayer, E.; Gugel, K.H.; Haegele, K.; Hagenmaier, H.; Jessipov, S.; Koenig, W.A.; Zaehner, H. Metabolic products of microorganisms. 98. Phosphinothricine and phosphinothricylalanyl-alanine. *Helv. Chim. Acta*, **1972**, *55*, 224-239. [51]

Baylis, E.K.; Campbell, C.D.; Dingwall, J. 1-Amino-alkylphosphonous acids. Isosteres of the protein amino acids. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I*, **1984**, 2845-2853. [189]

- Belov, Yu.P.; Davankov, V.A.; Rogozhin, S.V. Optically active α -aminoethyl-phosphonic acids and their ethyl esters. *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.*, **1977**, 1596-1599. [231]
- Belyankin, A.V.; Khomutov, A.R.; Zhukov, Yu.N.; Kartasheva, O.N.; Khomutov, R.M. Synthesis of phosphinic and phosphonic analogs of amino acids. *Izv. Akad. Nauk SSSR*, **1997**, *46*, 137-140. [221]
- Benda, L.; Schmidt, W. Dialkylamino aryl phosphinous acids. US Pat. 1.607.113 (1926); *Chem. Abstr.*: **1927**, *21*, P249. [28]
- Berlin, K.D.; Gaudy, E.T. α -Aminoarylmethylphosphonic acids and diethyl α -aminoarylmethylphosphonate hydrochlorides. Aluminum-amalgam reduction of oximes of diethyl aroylphosphonates. *J. Org. Chem.*, **1968**, *33*, 3090-3095. [239]
- Berlin, K.D.; Roy, N.K.; Claunch, R.T.; Bude, D. A novel route to α -aminoalkylphosphonic acids and dialkyl α -aminoalkylphosphonate hydrochlorides. *J. Amer. Chem. Soc.*, **1968**, *90*, 4494-4495. [180]
- Berry, J.P.; Isbel, A.F.; Hunt, G.E. Aminophosphonic acids. Aminoalkylphosphonic acids. *J. Org. Chem.*, **1972**, *37*, 4396-4399. [215]
- Berte-Verrando, S.; Nief, F.; Patois, C.; Savignac, Ph. Preparation of α -dideuterated aminomethylphosphonic acid. *Phosphorus & Sulfur*, **1995**, *103*, 91-100. [245]
- Birum, G.H. Cyclic organophosphorus amides. *Pat. US, 398061809 (1976)*. [170]
- Birum, G.H. Nitrogen-containing organophosphorus compounds having aryloxy substituents bonded to phosphorus in ester structures. *Pat US, 4036913, (1973)*; *Chem. Abstr.* **1977**, *87*, 201764. [165]
- Birum, G.H. Phosphorus compounds. *Pat. US, 4031170 (1973)*; *Chem. Abstr.* **1977**, *87*, 135932. [166]
- Birum, G.H. Proces for the production of sulfonamide phosphonates. *Pat US, 4032601, (1973)*; *Chem. Abstr.* **1977**, *87*, 135933. [167]
- Birum, G.H. Urea-phosphorus compounds. *Pat. US, 3904654 (1973)*; *Chem. Abstr.* **1976**, *84*, 44349. [168]
- Birum, G.H. Urea-phosphorus compounds. *Pat. US, 3965127 (1973)*; *Chem. Abstr.* **1976**, *85*, 143295. [169]
- Birum, G.H. Urylenediphosphonates. A general method for the synthesis of α -ureidophosphonates and related structures. *J. Org. Chem.*, **1974**, *39*, 209. [164]
- Boduszek, B. Heterocykliczne kwasy aminofosfonowe – synteza i biologiczna aktywność. (Heterocyclic aminophosphonic acids - synthesis and biological activity.) *Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wrocław.*, **1997**, *38*, 1-87. [135]
- Boduszek, B. The acidic cleavage of pyridylmethyl(amino)-phosphonates. Formation of the corresponding amines. *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 12483-12494. [291]
- Boduszek, B., Latajka, R., Walkowiak, U. Acid-catalyzed cleavage of some chromone, coumarin and pyrone derivatives of aminomethylphosphonic acid. Products and kinetics of the reaction. *Polish J. Chem.*, **2001**, *75*, 63-69. [293]
- Boduszek, B.; Halama, A. A cleavage of some hydroxybenzyl(α -amino)-phosphonates in a basic medium. *Phosphorus & Sulfur*, **1998**, *143*, 151-158. [290]
- Boduszek, B.; Halama, A.; Zoń, J. The cleavage of 1-amino-2'-nitrobenzylphosphonates in a basic medium. Formation of the 3-amino-2,1-benzisoxazole derivatives. *Tetrahedron*, **1997**, *53*, 11399-11410. [288]
- Boduszek, B.; Latajka, R.; Leśniak, W. Acid-catalyzed cleavage of 2-pyridyl and 4-pyridyl derivatives of aminomethylphosphonic acid. Kinetic and chemical arguments for a mechanism with A-SE2 character. *Phosphorus & Sulfur*, **2000**, *165*, 53-75. [292]

- Boduszek, B.; Olszewski, T.K.; Goldman, W.; Grzegolec, K.; Blazejewska, P. Preparation of new imidazol-2-yl-(amino)methylphosphonates, phosphinates and phosphine oxides and their unexpected cleavage under acidic conditions. *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 1223-1229. [294]
- Bongini, A.; Camerini, R.; Hoffmann, S.; Panuzio, M. Synthesis of (1*S*, 2*S*)-phosphonothreonine via N-TMS-silylamine of lactic aldehyde. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 8045-8049. [190]
- Bongini, A.; Camerini, R.; Panuzio, M. Efficient synthesis of the four diastereomers of phosphothreonine from lactaldehyde. *Tetrahedron: Asymm.*, **1996**, *7*, 1467-1476. [220]
- Bourneuf, M. Action of halides of phosphorous on certain aromatic amines. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1923**, *33*, 1808-1823. [27]
- Calvo, K.C. Pyridoxal-mediated dephosphonylation of 1-amino-phosphono acids. *J. Org. Chem.*, **1987**, *52*, 3654-3658. [303]
- Cameron, D.G.; Hudson, H.R.; Ojo, I.A.O.; Pianka, M. Organophosphorus compounds as potential fungicides. Part I. Aminoalkane-, guanidinoalkane-, and thioureidoalkane-phosphonic acids: preparation, spectroscopy, and fungicidal activity. *Phosphorus & Sulfur*, **1988**, *40*, 183-197. [153]
- Cameron, D.G.; Hudson, H.R.; Pianka, M. Organophosphorus compounds as potential fungicides. Part II. Aminoalkane-, guanidinoalkane-, and thioureidoalkanephosphonic acids: preparation, spectroscopy, and fungicidal activity. *Phosphorus & Sulfur*, **1993**, *83*, 21-37. [154]
- Campbell, M.M.; Carruthers, N.I.; Mickel, S.J. Aminophosphonic and aminophosphinic analogues of aspartic acid. *Tetrahedron*, **1982**, *38*, 2513-2524. [204]
- Cassaigne, A.; Lacoste, A. M.; Neuzil, E. Biochemistry of the C-P bond. *L'actual. Chim.*, **1979**, 19-24. [129]
- Cassaigne, A.; Lacoste, A.M.; Neuzil, E. Aminoalkylphosphonic acids. I. Effect of tyrosinase on the phosphonic analog of tyrosine. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **1967**, *49*, 1813-1825; *Chem. Abstr.*: **1968**, *68* 84550. [81]
- Cassaigne, A.; Lacoste, A.M.; Neuzil, E. Nonenzymatic transamination of aminophosphonic acids. *Biochim. Biophys. Acta*, **1971**, *252*, 506-513. [58]
- Chalmers, M.E.; Kosolapoff, G.M. The synthesis of amino-substituted phosphonic acids. III. *J. Amer. Chem. Soc.*, **1953**, *75*, 5278-5280. [178]
- Chambers, J.R.; Isbell, A.F. A new synthesis of amino phosphonic acids. *J. Org. Chem.*, **1964**, *29*, 832-836. [179]
- Chavane, V. Aliphatic phosphonic acids and their amino derivatives. IV. Electrometric titration studies. *Ann. chim.*, **1949**, *12*, 383-392. [35]
- Chavane, V. Aliphatic phosphonic acids and their amino derivatives. III. Synthesis of aliphatic aminophosphonic acids. *Ann. chim.*, **1949**, *12*, 372-382. [36]
- Chavane, V. Aminophosphonic acids. *Compt. rend.*, **1947**, *224*, 406-408. [33]
- Chen, C.C.; Zhu, Y.; Evans, L.B.. Phase partitioning of biomolecules: solubilities of amino acids. *Biotechnology Progress* **1989**, *5*, 111-118. [264]
- Chen, S.F.; Kumar, S.; Tishler, M. Synthesis of D,L-phosphono-tryptophane. *Tetrahedron Lett.*, **1983**, *24*, 5461-5465. [194]
- Choi, N.; McPartlin, M. *X-Ray crystallographic studies*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 10, 327-362. [118]
- Cohn, E.J.; McMeekin, T.L.; Edsall, J.T.; Weare, J.H. Studies in the physical chemistry of amino acids, peptides and related substances.II. The solubility of α -amino acids in water and in alcohol-water mixtures. *J. Amer. Chem. Soc.* **1934**, *56*, 2270-2282. [267]

Collinsova, M.; Jiracek, J. Phosphinic acid compounds in biochemistry, biology and medicine. *Curr. Med. Chem.*, **2000**, *7*, 629-647. [18]

Copie, V.; Faraci, W.S.; Walsh, C.T.; Griffin, R.G. Inhibition of alanine racemase by alanine phosphonate: detection of an imine linkage to pyridoxal 5'-phosphate in the enzyme-inhibitor complex by solid-state nitrogen-15 nuclear magnetic resonance. *Biochemistry*, **1988**, *27*, 4966-4970. [69]

Coveney, P.V.; Davey, R.J.; Griffin, J.L.W.; Whiting, A. Molecular design and testing of organophosphonates for inhibition of crystallisation of ettringite and cement hydration. *Chem. Commun.*, **1998**, 1467-1468. [158]

Cowart, M.; Kowaluk, E.A.; Kohlhaas, K.L.; Alexander, K.M.; Kerwin Jr., J.F. Synthesis of phosphorus-containing amino acid analogs as inhibitors of nitric oxide synthase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 999-1002. [223]

Crutchfield, M.M.; Dungan, C.H.; Letcher, J.H.; Mark, V.; Van Wazer, J. R.: P 31 Nuclear Magnetic Resonance. *Top. Phosphorus Chem.*, **1967**, *5*, 227-457. [234]

Dalton, J.B.; Schmidt, C.L.A. The solubilities of certain amino acids in water, the densities of their solutions at twenty five degrees, and the calculated heats of solution and the partial molar volumes. *J. Biol. Chem.* **1933**, *103*, 549-578. [260]

Dalton, J.B.; Schmidt, C.L.A. The solubilities of certain amino acids and related compounds in water, the densities of their solutions at twenty-five degrees, and the calculated heats of solution and partial molar volumes. *J. Biol. Chem.* **1935**, *109*, 241-248. [261]

De Clercq, E. The clinical potential of the acyclic (and cyclic) nucleoside phosphonates: the magic of the phosphonate bond. *Biochem. Pharmacol.*, **2011**, *82*, 99-109. [94]

De Clercq, E.; Holy, A.; Rosenberg, I.; Sakuma, T.; Balzarini, J.; Maudgal, P.C. A novel selective broad-spectrum anti-DNA virus agent. *Nature (London)*, **1986**, *323*, 464-467. [93]

De Tinguy-Moreaud, E.; Bioulac, B.; Vincent, J.D.; Neuzil, E. Neuroactive properties of some phosphonic analogs of natural guanido compounds. *Gen. Pharmacol.*, **1980**, *11*, 513-519. [91]

Delgado, R.; Siegfried, L.C.; Kaden, T.A. Metal complexes with macrocyclic ligands. 14. Protonation studies and complexation properties of tetra-azamacrocyclic methylene-phosphonates with earth-alkali ions. *Helv. Chim Acta*, **1990**, *73*, 140-148. [121]

Deya, B.P.; Lahirib, S.C. Studies on the dissociation constants and solubility of amino acids in water + urea mixtures at 298 K, interaction of urea with amino acids and the role of urea in the denaturation of proteins in terms of structural aspects of water. *J. Indian Chem. Soc.* **2010**, *87*, 29-41. [274]

Dhavan, B.; Redmore, D. Optically active 1-aminoalkylphosphonic acids. *Phosphorus & Sulfur*, **1987**, *32*, 119-144. [101]

Dicklay, J.B.; McNally, J.G. (Eastman Kodak) Acylamino derivatives of hydroxyl aliphatic phosphonic acids. US Pat. 2.374.807 (1945); *Chem. Abstr.*: **1945**, *39*, P3008. [30]

Diel, P.J.; Maier, L. Synthesis and properties of N-phosphono-glycine derivatives. *Phosphorus & Sulfur*, **1984**, *20*, 313-330. [152]

Diner, P.; Amedjoukh, M. Aminophosphonates as organocatalysts in the direct asymmetric aldol reaction: towards syn selectivity in the presence of Lewis bases. *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, *4*, 2091-2096. [160]

Doskocz, M.; Gancarz, R.; Roszak, S. The protonation equilibrium and decomposition of amino- and hydroxyphosphonates, phosphine oxides and phosphonic acid. *Polish J. Chem.*, **2007**, *81*, 2013-2021. [299]

- Doskocz, M.; Miziak, P.; Gancarz, R. The protonation site in aminophosphonates. *Polish J. Chem.*, **2005**, *79*, 547-552. [298]
- Doskocz, M.; Roszak, S.; Majumdar, D.; Doskocz, J.; Gancarz, R.; Leszczynski, J. Theoretical studies on the mechanism of C-P bond cleavage of a model α -aminophosphonate in acidic condition. *J. Physical Chem. A*, **2008**, *112*, 2077-2081. [300]
- Drabowicz, J.; Mikolajczyk, M. Facile and selective oxidation of organic sulfides to sulfoxides with hydrogen peroxide-selenium dioxide system. *Synthesis*, **1978**, 758-759. [310]
- Drabowicz, J.; Mikolajczyk, M. Synthesis of sulfoxides. *Org. Prep. Proc. Inter.*, **1982**, *14*, 45-89. [309]
- Drąg, M.; Jezierski, A.; Kafarski, P. First example of the chemical, oxidative cleavage of the C-P bond in aminophosphonate chemistry. The oxidation of 1-amino-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-methylphosphonic acid by NaIO₄. *Chem Commun*, **2004**, 1132-1133. [305]
- Drescher, M.; Li, Y.-F.; Hammerschmidt, F. Enzymes in Organic chemistry. P1: Lipase-catalyzed hydrolysis of 1-acyloxy-2-arylethylphosphonates and synthesis of phosphonic acid analogues of L-phenylalanine and L-tyrosine. *Tetrahedron*, **1995**, *51*, 4933-4936. [192]
- Dunn, M.S.; Ross, F.J. Quantitative investigations of amino acids and peptides. IV. The solubility of the amino acids in water-ethyl alcohol mixtures. *J. Biol. Chem.* **1938**, *125*, 309-332. [262]
- Dunn, M.S.; Ross, F.J.; Read, L.S. The solubility of the amino acids in water. *J. Biol. Chem.* **1933**, *91*, 579-595. [263]
- Engel, R. *Handbook in organophosphorus chemistry*. Marcel Dekker Inc, New York; 1981. [11]
- Engel, R. *Synthesis of Carbon-Phosphorus Bonds*. C.R.C. Press Inc.: Boca Raton, **1990**. [162]
- Engel, R.; Cohen, J.L.I. *Synthesis of Carbon-Phosphorus Bonds*. C.R.C. Press Inc.: Boca Raton, London, New York, **2005**. [163]
- Eucast definitive dokument Methods of the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. Terminology. *Clin. Microbiol. Infect.*, **1998**, *4*, 291-341. [311]
- Ferreira, L.A.; Macedo, E.A.; Pinho, S.P. Solubility of amino acids and diglycine in aqueous-alkanol solutions. *Chem. Eng. Sci.* **2004**, *59*, 3117-3124. [271]
- Flemming, A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of b. influenzae. *Brit. J. Exp. Path.*, **1929**, *10*, 226-236. [313]
- Franz, J.E. *Discovery, development and chemistry of glyphosate, The herbicide glyphosate* (Grossbard, E.; Atkinson, D., eds.), Butterworth: Boston, MA; **1985**, 1-17. [148]
- Franz, J.E.; Mao, K.K.; Sikorski, J.A.: *Glyphosate: A unique global herbicide*. ACS Monograph 189, Amer. Chem. Soc., Washington, DC, **1997**. [85]
- Fredenhagen, A.; Angst, Ch.; Peter, H.H. Digestion of rhizocticins to (Z)-L-2-amino-5-phosphono-3-pentenoic acid: revision of the absolute configuration of plumbemycins A and B J. *Antibiot.*, **1995**, *48*, 1043-1045. [57]
- Gallacher, P.K. *Thermogravimetry and Thermomagnetometry*, w P.K. Gallacher (ed.serii), *Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry*. 1. Principles and Practice, Brown, M.E. (ed.). Elsevier, **1998**, 225-278. [279]
- Galushko, S.V. Column chromatography of aminophosphonic acids and peptides. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 7, 205-216. [111]
- Gancarz, R. Reakcja Kabachnik-Fields'a. Synteza biologicznie aktywnych amino-fosfonianów. (Kabachnik-Fields reaction. Synthesis of biologically active amino-phosphonates.) *Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wrocław.*, **1997**, *39*, 1-78. [136]

Gancarz, R. Reakcja Kabachnika-Fieldsa. Synteza biologicznie aktywnych aminofosfonianów. (Kabachnik-Fields reaction. Synthesis of biologically active aminophosphonates). *Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Biochem. Biotechnol. Polit. Wrocław.*, **1997**, *39*, 1-78. [287.1.] Gancarz, R. Praca doktorska, Polit. Wrocławska, **1978**. [287.2.] Kiersnowska, A. Praca doktorska, *Polit. Wrocławska*, **2003**. [287]

Gancarz, R.; Wieczorek, J.S. A useful method for the preparation of 1-aminoalkanephosphonic acids. *Synthesis*, **1977**, 625. [338]

Gekko, K., Mechanism of polyol-induced protein stabilization: solubility of amino acids and diglycine in aqueous polyol solution. *J. Biochem.* **1981**, *90*, 1633–1641. [266]

Głowacki, Z.; Topolski, M. ¹³C NMR spectra of amino-alkylphosphonic acids. 897–899. *Magn. Res. Chem.*, **1989**, *27*, 897–899. [247]

Green, D.; Patel, G.; Elgendy, S.; Baban, J.A.; Cleason, G.; Kakkar, V.V.; Deadman, J. The synthesis of 1-aminobenzylphosphonic acids from benzylidenemethylamines for use as structural units in Antithrombotic tripeptides. *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 5099-5108. [252]

Green, D.S.C.; Skordalakes, E.; Scully, M.F.; Deadman, J.J. *Aminophosphonic acid derivatives as antithrombotic agents*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 17, 579-596. [143]

Gude, M.T.; Meuwissen, H.H.J.; Wielen, L.A.M.; Luyben, K.Ch.A.M. Partition coefficients and solubilities of α -amino acids in aqueous 1-butanol solutions. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1996**, *35*, 4700–4712. [272]

Hagele, G. *Physical properties and NMR characterization of aminophosphonates and aminophosphinates*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 8, 217-284. [104]

Hamilton, R.; Walker, B.J.; Walker, B. Convenient synthesis of N-protected diphenyl phosphonate esters – analogues of ornithine, lysine and homolysine. *Tetrahedron Lett.*, **1993**¹, *34*, 2847-2850. [199]

Hammerschmidt, F.; Wuggenig, F. Enzymes in organic chemistry. Part 9: Chemo-enzymatic synthesis of phosphonic acid analogues of L-valine, L-leucine, L-isoleucine, L-methionine and L- α -aminobutyric acid of high enantiomeric excess: *Tetrahedron: Asymm.*, **1999**, *10* 1709-1721. [216]

Hammerschmidt, F.; Lindner, W.; Wuggenig, F.; Zarbl, E. Enzymes in organic chemistry. Part 10.1. Chemo-enzymatic synthesis of L-phosphoserine and L-phosphothreonine and enantioseparation of amino-hydroxyethylphosphonic acids by non-aqueous capillary electrophoresis with quinine carbamate as chiral ion pair agent. *Tetrahedron: Asymm.*, **2000**, *11*, 2955-2964. [253]

Hanessian, S.; Bennani, Y.L. Electrophilic amination and azidation of chiral α -alkyl phosphonamides: asymmetric syntheses of α -amino α -alkyl phosphonic acids. *Synthesis*, **1994**, 1272-1274. [248]

Harris, R.K.; Merwin, L.H.; Hagele, G. Solid-state NMR study of a series of aminophosphonic acids. *Magn. Res. Chem.*, **1989**, *27*, 470-475. [246]

Hellmann, H. New methods of organic preparative chemistry. 8. Amido-methylation. *Angew. Chem.*, **1957**, *69*, 463. [341]

Hildenbrand, R.L.; Curley-Joseph, J.; Lubansky, H.J.; Henderson, T.O., Biology of alkyl-phosphonic acids. *A review of the distribution, metabolism and structure of naturally occurring alkylphosphonic acids*. Topics in Phosphorus Chemistry, Eds. Grayson, M.; Griffith, E.J.; Wiley-Intersci, Vol. XI, New York, **1983**, 297-338. [17]

Hiratake, J.; Oda, J. Aminophosphonic and aminoboronic acids as key element of a transition state analog inhibitor of enzymes. *Biosci., Biotech. Biochem.*, **1997**, *61*, 211-218. [137]

Hoffmann, M. Fosfonowe analogi estrów α -aminokwasów i α -hydroxykwasów jako substratów do syntezy fosfono-peptydów i fosfonodepsipeptydów (Phosphonic analogues of α -amino acid and α -hydroxy acid esters as substrates for the synthesis of phosphonopeptides and phosphonodepsipeptides.) *Pr. Nauk. Polit. Gdańsk.*, **1999**, *XLI*, 1-59. [138]

Hoffmann, T.; Friedel, P.; Harnisch, C.; Häußler, L.; Pospiech, D. Investigation of thermal decomposition of phosphonic acids. *J. Anal. App. Pyrolysis*, **2012**, *96*, 43-53. [282]

Horiguchi, M. *Natural carbon-phosphorus compounds*. In Hallmann, M. (ed.): *Analytical Chemistry of Phosphorus Chemistry*, Wiley-Intersci., New York; **1972**, Chpt. 18, 703-721. [109]

Horiguchi, M.; Kandatsu, M. Isolation of 2-aminoethyl phosphonic amid from rumen protozoa. *Nature (London)*, **1959**, *184*, 901-902. [40]

Huber, R.; Knierzinger, A.; Obrecht, J.P.; Vasella, A. Nucleophilic addition to *N*-glycosyl-nitrones. Asymmetric synthesis of α -aminophosphonic acids. *Helv. Chim. Acta*, **1985**, *68*, 1730-1747. [218]

Huber, R.; Vasella, A. Nucleophilic addition to *N*-glycosyl-nitrones. P. IV. Asymmetric synthesis of *N*-hydroxy- α -aminophosphonic and α -amino-phosphinic acids. *Helv. Chim. Acta*, **1987**, *70*, 1461-1476. [249]

Hudson, H.R. *Aminophosphonic and aminophosphinic acids and their derivatives as agrochemicals*. In *Book: Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 13, 443-482. [89]

Hudson, H.; Pianka, M. An Approach to the Development of Organophosphorus Fungicides. *Phosphorus & Sulfur*, **1996**, *109*, 345-348. [155]

Instrukcja Pirolizera w układzie Py-GC-MS - model Termal Analysis System 2020 firmy Shimadzu. [348]

Instrukcja spektrometru JASCO FT/IR serii 6000. [344]

Instrukcja spektrometru UV-VIS JASCO V-630. [343]

Iron, A.; Ruat, M.; Duboy, J.P.; Beranger, M.; Cassaigne, A.; Neuzil, E. The phosphonic analog of tyrosine: a tool in metabolic studiem. *Biochem. Soc. Trans.*, **1981**, *9*, 246; *Chem. Abstr.*: **1981**, *95*, 198358. [83]

Isbell, A.F.; Berry, J.P.; Tansey, L.W. Amino phosphonic acids. III. The synthesis and properties of 2-aminoethylphosphonic and 3-aminopropylphosphonic acids. *J. Org. Chem.*, **1972**, *37*, 4399-4401. [258]

Issleib, K.; Dopfer, K.; Balszuweit, A. Pyrrolidin-2-phosphonic acid. *Z. Chem.*, **1982**, *22*, 215-216. [217]

Issleib, K.; Dopfer, K.P.; Balszuweit, A. Aminodiphosphonic and diamino-diphosphonic acids – synthesis and transamination. *Phosphorus & Sulfur*, **1983**, *14*, 171-175. [205]

Izbicka-Dimitrijevic, E.; Mastalerz, P.; Kochman, M. Dual effects of phenylalanine analogs on rabbit muscle pyruvate kinase activity. *Eur. J. Biochem.*, **1981**, *114*, 565-568; *Chem. Abstr.*: **1981**, *94*, 170114. [78]

Jakubke, H.D.; Jeschkeit, H. *Aminokwasy, peptydy, białka. (Aminoacids, peptides, proteins.)* PWN (Polish ed.), Warszawa, 1989. [211]

Janas, K.; Filipiak, A.; Kowalik, J.; Mastalerz, P.; Knypl, J.S. 1-Amino-2-phenylethyl-phosphonic acid: an inhibition of L-phenylalanine ammonialyse *in vitro*. *Acta Biochim. Polonica*, **1985**, *32*, 131-143. [79]

- Jane, D. Neuroactive aminophosphonic and aminophosphinic acid derivatives. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 14, 483-536. [140]
- Jeżowska-Bojczuk, M.; Kiss, T.; Kozłowski, H.; Decock, P.; Barycki, P. Complexes of aminophosphonates. 8. Copper(II) complexes of *N*-(phosphono-methyl)amino acids and related compounds. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1994**, 811-817. [224]
- Jin, Y.; Liu, J.; Yin, Y.; Fu, H.; Jiang, Y.; Zhao, Y. Dimethylamino-methyl-phosphonic acid derivatives-promoted CuI-catalyzed synthesis of aryl ethers. *Synlett*, **2006**, 1, 564-1568. [161]
- Joyce, L.F.; Downes, J.; Stockman, K.; Andrew, J.H. Comparison of five methods, including the PDM Epsilometer Test (E Test), for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Clin. Microbiol.*, **1992**, 30, 2709-2713. [329]
- Kabachnik, M.I.; Medved, T.Y.; Dyatlova, N.M.; Archipova, O.G.; Rudomino, M.W. Phosphoroorganic complexones. *Usp. Khim.*, **1968**, 37, 1161-1191. [5]
- Kabachnik, M.I.; Medved, T.Y.; Dyatlova, N.M.; Rudomino, M.V. Phosphoroorganic complexones. *Usp. Khim.*, **1974**, 43, 1554-1574. [6]
- Kafarski P.; Lejczak, B.; Mastalerz, P. Phosphonopeptides. Synthesis and biological activity. *Beitr. Wirkst. Forsch.*, **1985**, 25, 1-77. [86]
- Kafarski, P.; Lejczak, B. Aminophosphonic Acids of Potential Medical Importance. *Curr. Med. Chem. – Anti-Cancer Agents*, **2001**, 1, 301-312. [4]
- Kafarski, P.; Lejczak, B. Biological activity of aminophosphonic acids. *Phosphorus & Sulfur*, **1991**, 63, 193-215. [23]
- Kafarski, P.; Lejczak, B. *Synthesis of phosphono- and phosphino-peptides*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 6, 172-204. [87]
- Kafarski, P.; Lejczak, B. *The biological activity of phosphono- and phosphonopeptides*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 12, 407-442. [88]
- Kafarski, P.; Lejczak, B.; Forlani, G. Herbicidally active aminomethylenebisphosphonic acids. *Heteroatom Chem.*, **2000**, 11, 449-453. [156]
- Kafarski, P.; Mastalerz, P. Aminophosphonates: natural occurrence, biochemistry and biological properties. *Beitr. Wirkst. Forsch.*, **1984**, 21, 1-110. [22]
- Kafarski, P.; Zoń, J. *Synthesis of α -aminoalkanephosphonic and α -aminoalkanephosphinic acids*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 2, 33-74. [97]
- Kamecka, A.; Kurzak, B. Coordination properties of phosphonate ligands with some metal ions. *Wiad. Chem.*, **2003**, 57, 797-825. [126]
- Kaname, M.; Mashige, H.; Yoshifuji, S. Chemical conversion of cyclic amino acids to cyclic α -aminophosphonic acids. *Chem. Pharm. Bull.*, **2001**, 49, 531-536. [251]
- Kandatsu, M.; Horiguchi, M. Occurrence of ciliatine (2-aminoethylphosphonic acid) in *Tetrahymena*. *Agric. Biol. Chem.*, **1962**, 26, 721-722. [41]
- Karnewsky, D.S.; Badia, M.C.; Cushman, D.W.; De Forrest, J.M.; Dejneka, T.; Loots, M.J.; Pern, M.G.; Petrillo Jr, R.D.; Powell, R.J. (Phosphinyloxy)acyl amino acid inhibitors of angiotensin converting enzyme (ACE). 1. Discovery of (S)-1-[6-amino-2-[[hydroxy(4-phenylbutyl)phosphinyl]oxy]-1-oxohexyl]-L-proline, a novel orally active inhibitor of ACE. *J. Med. Chem.*, **1988**, 31, 204-212. [90]

- Kasa, H.; Yamato, M.; Koguchi, T.; Okachi, R.; Kasai, M.; Shirahata, K.; Kawamoto, I.; Shuto, K.; Karasawa, A.; Deguchi, T.; Nakayama, K. Phosphorus containing oligopeptides, and a pharmaceutical composition containing them. *Eur. Pat. Appl.* 0.061.1982, **1983**; *Chem. Abstr.:* **1983**, 98, 107793. [54]
- Kelly, L.M.; Jacobs, M.R.; Appelbaum, P.C. Comparison of agar dilution, microdilution, e-test, and disk diffusion methods for testing activity of Cefditoren against *Streptococcus pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.*, **1999**, 37, 3296–3299. [331]
- Khomutov, A.R.; Osipova, T.I.; Khurs, E.N.; Alferov, K.V.; Khomutov, R.M. Synthesis of phosphinic and phosphonic analogs of aspartic acid. *Izv. Akad. Nauk, Ser. Khim.*, **1996**, 2066-2069. [225]
- Khomutov, H.R. Synthesis of phosphonoanalogs of histidine and carnosine. *Bioorg. Khim.* **1990**, 16, 1290-1293. [198]
- Khomutov, R.M.; Osipova, T.I.; Zhukova, Y.N.; Gandurina, I.A. Organophosphorus analogs of optically active substances. 5. Synthesis of α -aminophosphonic acids and some of their derivatives. *Izv. Acad. Nauk SSSR, Ser. Khim.*, **1979**³, 2118-2122. [133]
- Kiss T., Lazar I. *Stability constants of metal complexes in solution*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 9, 285-326. [125]
- Kiss, T.; Lazar, I.; Kafarski, P. Chelating tendencies of bioactive aminophosphonates. *Met.-Based Drugs*, **1994**, 1, 247-264. [123]
- Kittredge, J.S.; Hughes, R.R. Occurrence of "alfa"-amino-"beta"-phosphonopropionic acid in the zoanthid, zoanthus sociatus, and the ciliate, *Tetrahymena pyriformis*. *Biochemistry*, **1964**, 3, 991-996. [43]
- Kittredge, J.S.; Isbell, A.F.; Hughes, R.R. Isolation and characterization of the N-Me derivatives of 2-aminoethylphosphonic acid from the sea anemone. *Biochemistry*, **1967**, 6, 289-295. [49]
- Kittredge, J.S.; Roberts, E. A carbon-phosphorus compounds in nature. *Science*, **1969**, 164, 37-42. [128]
- Kittredge, J.S.; Roberts, E.; Simonsen, D.G. Occurrence of free 2-aminoethyl-phosphonic acid in the sea anemone, *Anthopluera elegantissima*. *Biochemistry*, **1962**, 1, 624-628. [42]
- Kleinrok, Z.; Kolasa, K.; Chodkowska, A.; Mastalerz, P.; Kafarski, P. Preliminary pharmacological investigation on 38 aminophosphonic acids and their derivatives. *Polish J. Pharmacol. Pharm.*, **1985**, 37, 575-84. [132]
- Korn, E.D.; Deaborn, D.G.; Falles, H.M.; Sokoloski, E.A. A major polysaccharide constituents of the amoeba plasma membrane contains 2-aminoethylphosphonic acid and 1-hydroxy-2-aminoethyl-phosphonic acid. *J. Biol. Chem.*, **1973**, 248, 2257-2259. [53]
- Krzyżanowska, B.; Pilichowska, S. Synthesis of *O,O*-dialkyl 1-aminoalkanephosphonate via N-phosphinylated imines and enamines. *Pol. J. Chem.*, **1988**, 62, 165-177. [191]
- Kudzin M.H., Kudzin Z.H., Drabowicz J. *Derivatives of aminoalkylphosphonic acids and glycyloaminoalkylphosphonic acids as antibacterial additives in biopolymers*. European Polymer Congress EPF-2011; Grenada 2011.06.26. [335]
- Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Drabowicz, J. Investigation of thermal decomposition of representative 1-(*N*-acylamino)alkylphosphonic acids and phosphonopeptides. European Polymer Congress, P2-89. Piza, Italy, 2013.06.16-21. [284]
- Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Mrozińska, Z.; Drabowicz, J.: Investigation of thermal decomposition of representative 1-(*N*-alkylamino)alkylphosphonic acids. 16th International Symposium „*Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*”, P-087. CBMM PAN, Łódź, 2013.11.15. [286]

Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Piestrzeniewicz, J.; Mrozińska, Z.; Drabowicz, J.: Investigation of thermal decomposition of representative 1-aminoalkylphosphonic acids. P-086. 16th International Symposium „*Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*”, CBMM PAN, Łódź, 2013.11.15. [285]

Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz J.; Perlikowska, W. ω-Aminoalkylphosphonic acids. Investigations of selected physical and chemical properties. P-35. XV International Symposium „*Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*”, CBMM PAN, Łódź, 2012.11.16. [238]

Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz, J. Reaction of 1-aminoalkyl-phosphonic acids with hydrogen peroxide. Oxidative dephosphonylation. P-36. XV International Symposium „*Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*”, CBMM PAN, Łódź, 2012.11.12. [308]

Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz, J.; Saganiak, M. Oxidative dephosphonylation of 1-aminoalkylphosphonic acids by aqueous bromine. P-X. IX International Symposium „*Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*” CBMM PAN, Lodz, Poland, 2006.16.11. [306]

Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz, J.; Stevens, Ch.V. Oxidative Dephosphonylation of 1-Aminoalkylphosphonic Acids by Aqueous Bromine. Polyhedron, 2014 (in preparation). [307]

Kudzin, M.H.; Mrozińska, Z.: Investigation of Thermal Decomposition of 1-Aminoalkylphosphonic Acids. P-88. XV International Symposium „*Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*”, CBMM PAN, Łódź, 2012.11.16. [283]

Kudzin, Z.H. 1-Aminoalkanephosphonic acids: six decades of exploration. *Sci. Issues, Acad. J. Długosza, Częstochowa*, **2005**, IX, 29-76. [13]

Kudzin, Z.H. Phosphocysteine derivatives. Thioureidoalkane-phosphonates via acetals. *Synthesis*, **1981**, 643-645. [210]

Kudzin, Z.H., *Investigations in the domain of aminophosphonic acids*. W.N.U.Ł., Łódź, **1996**, pp. 1-110. [12]

Kudzin, Z.H.; Andrijewski, G.; Drabowicz, J. 1-Aminothiaalkane-phosphonic acids – sulphonyl and sulphonyl derivatives. Synthesis and acidic properties. *Heteroatom Chem.*, **1994**, 5, 1-6. [113]

Kudzin, Z.H.; Andrijewski, G.; W. Kopycki, W. *Fosforoorganiczne kompleksy. II. Badania kompleksujących właściwości fosfonocysteiny, fosfonohomocysteiny oraz ich S-alkilowych pochodnych*. Zjazd PTCh i SITPCh: Vol. IA (**1988**) 88; (poster IA-85). [236]

Kudzin, Z.H.; Depczyński, R.; Andrijewski, G.; Drabowicz, J. 1-(N-acylamino)alkane-phosphonates. N-acylation of 1-aminoalkanephosphonic acids. *Pol. J. Chem.*, **2005**, 79, 529-539. [242]

Kudzin, Z.H.; Depczyński, R.; Kudzin, M.H.; Drabowicz, J. 1-(N-Chloroacetylamino)alkylphosphonic acids - synthetic precursors of glycylo-phosphonopeptides and related compounds. *Amino Acids*, **2008**, 34, 163-168. [244]

Kudzin, Z.H.; Depczyński, R.; Kudzin, M.H.; Drabowicz, J.; Łuczak, J.: 1-(N-Trifluoroacetylamino)alkylphosphonic acids. Synthesis and properties. *Amino Acids*, **2007**, 33, 663–667. [243]

Kudzin, Z.H.; Drabowicz, J.; Sochacki, M.; Wiśniewski, W. Characterization of 1-aminoalkanephosphonic acids by means of chemical ionization mass spectrometry. *Phosphorus & Sulfur*, **1994**, 92, 77-93. [106]

Kudzin, Z.H.; Gralak, D.; Andrijewski, G.; Drabowicz, J.; Łuczak, J. Simultaneous determination of biologically active aminophosphonates and aminophosphinates. *J. Chromatogr. A* **2003**, 998, 183-199. [115]

Kudzin, Z.H.; Gralak, D.; Drabowicz, J.; Łuczak, J. A novel approach for simultaneous determination of glyphosate and its metabolites. *J. Chromatogr. A*, **2002**, 947, 129-141. [114]

- Kudzin, Z.H.; Kotyński, A. Andrijewski, G. Aminoalkane-diphosphonic acids. Synthesis and acidic properties. *J. Organometal. Chem.*, **1994**, *477*, 199-205. [112]
- Kudzin, Z.H.; Kudzin, M.H.; Drabowicz, J. Thioureidoalkylphosphonates in the synthesis of 1-aminoalkyl-phosphonic acids. The Ptc-aminophosphonate method. *Arkivoc*, **2011**, *VI*, 227-269. [15]
- Kudzin, Z.H.; Kudzin, M.H.; Drabowicz, J.; Stevens, Ch. Aminophosphonic acids - phosphorus analogues of natural amino acids. *Curr. Org. Chem.*, **2011**, *15*, 2015-2071. [14]
- Kudzin, Z.H.; Majchrzak, M. 1-Aminoalkanephosphonic acids. Addition of diethyl phosphite to *N*-diisobutylaluminio-aldimines. *J. Organometal. Chem.*, **1989**, *376*, 246-248. [227]
- Kudzin, Z.H.; Mokrzan, J.; Skowroński, R. Long chain aminothiaalkane-phosphonates, their sulphinyl and sulphonyl derivatives. A new class of complexane type surfactants. *Phosphorus & Sulfur*, **1989**², *42*, 41-46. [105]
- Kudzin, Z.H.; Saganiak, M.; Drabowicz, J.; Andrijewski, G. Oxidative transformations of phosphonocysteine and phosphonohomocysteine. Synthesis and isolation of phosphonocysteic and phosphonohomocysteic acids. *Pol. J. Chem.*, **2005**, *79*, 499-513. [241]
- Kudzin, Z.H.; Skrzypek, S.W.; Skowroński, R.; Ciesielski, W.; Cristau, H.J.; Plenat, F. Polarographic investigations of functionalized alkanephosphonic acids. P. II. *Phosphorus & Sulfur*, **1996**, *119*, 201-207. [107]
- Kudzin, Z.H.; Sochacki, M. Mass Spectrometry and Gas Chromatography-Mass Spectrometry of aminoalkanephosphonic acids. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 11, 363-406. [108]
- Kudzin, Z.H.; Stec, W.J. Phosphohomocysteine derivatives. *Synthesis*, **1980**, 1032-1034. [187]
- Kudzin, Z.H.; Stec, W.J. Phosphocysteine and phosphohomocysteine. Synthesis and isolation. *Synthesis*, **1983**, 812-814. [188]
- Kudzin, Z.H.; Stec, W.J. Synthesis of 1-aminoalkanephosphonic acids via thioureido-alkanephosphonates. *Synthesis*, **1978**, 469-472. [171]
- Kuhl, O., *Phosphorus-31 NMR Spectroscopy. A Concise introduction for the synthetic organic and organometallic chemist*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2008**. [235]
- Kukhar V.P. *Asymmetric synthesis of aminophosphonic and aminophosphinic acids*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 5, 127-172. [102]
- Kukhar, V.P. *Synthesis of α -aminoalkanephosphonic and α -aminoalkanephosphinic acids with the amino substituents in other than α -position*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**¹, Chpt. 3: 75-102. [99]
- Kukhar, V.P.; Hudson, H.R. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley& Sons Ltd: Chichester, New York, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto, **2000**. [1]
- Kukhar, V.P.; Solodenko, N.M.; Solodenko, V.A. Biological activity of phosphorus analogs of amino acids. *Ukr. Biokhim. Zh.*, **1988**, *60*, 95-111. [134]
- Kukhar, V.P.; Solodenko, V.A. The phosphorus analogues of aminocarboxylic acids. *Usp. Khim.*, **1987**, *56*, 1504-1532. [10]
- Laber, B.; Kiltz, H.H.; Amrhein, N. Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase *in vitro* and *in vivo* by (1-amino-2-phenylethyl)-phosphonic acid, the phosphonic analog of phenylalanine. *Z. Naturforsch. C Biosci.*, **1985**, *41*, 49-55; *Chem. Abstr.*: **1986**, *104*, 183299. [80]

Lacoste, A.M.; Cassaigne, A.; Neuzil, E. Aminophosphonic acids and growth of *Pseudomonas aeruginosa*. *Compt. Rend. Acad. Sci., Paris, Ser. D*, **1975**, *280*, 1173-1176; *Chem. Abstr.*: **1975**, *82*, 165298j. [76]

Lacoste, A.M.; Cassaigne, A.; Neuzil, E. Synthesis and properties of phosphonyl analogue of arginine. *Compt. Rend. Acad. Sci. Ser. D*, **1972**, *275*, 3009-3012; *Chem. Abstr.*: **1973**, *78*, 124854. [200]

Lall, Sh.; Engel, R. α -Amino acid analogues bearing side-chain C-P linkages. In *Book: Aminophosphonic and aminophosphinic acids. In Book: Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt 4, 103-126. [98]

Lambert, M.P.; Neuhaus, F.C. Factors affecting the level of alanine racemase in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, **1972**, *109*, 1156-1161; *Chem. Abstr.*: **1972**, *76*, 150837. [64]

Landt, M.; Boltz, S.C.; Butler, L.C. Alkaline phosphatase: affinity chromatography and inhibition by phosphonic acids. *Biochemistry*, **1978**, *17*, 915-919. [60]

Lejczak, B. Biologiczna aktywność aminofosfonianów i fosfono-peptydów. (Biological activities of aminophosphonates and phosphono-peptides.) *Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wrocław.*, **1988**, *35*, 3-81. [59]

Lejczak, B.; Kafarski, P. Biological activity of aminophosphonic acids and their short peptides. *Top Heterocycl. Chem.*, **2009**, *20*, 31-63. [24]

Lejczak, B.; Kafarski, P.; Makowiecka, E. Phosphonic analogs of tyrosine and 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) influence mushroom tyrosinase activity. Antimelanolic agents. *Biochem. J.*, **1987**, *242*, 81-88. [82]

Lejczak, B.; Kafarski, P.; Soroka, M.; Mastalerz, P. Synthesis of the phosphonic analogue of serine. *Synthesis*, **1984**, 577-581. [186]

Lilja, H.; Csopek, H.; Lindman, B.; Folsch, G. Fluorine-19 NMR studies of the binding of a fluorine-labelled phosphonate ion to *Escherichia coli* alkaline phosphatase. *Biochem. Biophys. Acta*, **1975**, *384*, 277-282; *Chem. Abstr.*: **1975/6**, *82*, 151250a. [70]

Liu, J.; Lu, J.; Li, Y., Study on the activity coefficients and solubilities of amino acids in water by the perturbation theory. *Fluid Phase Equilibria* **1998**, *142*, 67-82. [265]

Logusch, E.W.; Walker, D.M.; McDonald, J.F.; Franz, J.E. Substrate variability as a factor in enzyme inhibitor design: inhibition of ovine brain glutamine synthetase by α - and γ -substituted phosphinotricins. *Biochemistry*, **1989**, *28*, 3043-3051. [75]

Łukszo, J.; Tyka, R. New protective group in the synthesis of 1-aminoalkylphosphonic acids. *Synthesis*, **1977**, 239-240. [181]

Ma, J.-N. Catalytic asymmetric synthesis of α - and β -amino phosphonic acid derivatives. *Chem. Soc. Rev.*, **2006**, *35*, 630-636. [103]

Maier, L. Advances in the chemistry of aminophosphinic acids. *Phosphorus & Sulfur*, **1983**, *14*, 295-322. [95]

Maier, L. Phosphoroorganic detergents. *Chimia*, **1969**, *23*, 323-330. [157]

Maier, L. Preparation, properties, and structure of bis(aminomethyl)phosphinic acid $[H_2NCH_2)_2P(O)OH]$. *J. Organometal. Chem.*, **1979**, *178*, 157-169. [149]

Maier, L. Synthesis and properties of 1-amino-2-arylethylphosphonic and -phosphinic acids as well as -phosphine oxides. *Phosphorus & Sulfur*, **1990**, *51*, 7-10. [151]

Maier, L.; Diel, P.J. Preparation, physical and biological properties of amino-arylmethylphosphonic- and-phosphonous acids. *Phosphorus & Sulfur*, **1991**, *57*, 57-64. [340]

Maier, L.; Smith, M.J. Synthesis and properties of bis(N-hydroxy-carbonylmethyl-aminomethyl)-phosphinic acid, $(\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{NHCH}_2)_2\text{P}(\text{O})\text{OH}$, and derivatives. *Phosphorus & Sulfur*, **1980**, *4*, 67-72. [150]

Mallette, M.F. Evaluation of growth by physical and chemical means,. w książce *Methods in microbiology*, [Norris, J.D. & Ribbons, D.W. (ed.)]. **1969**, vol. 1., & XV., 521-566, Academic Press Inc., New York. [321]

Markwell, R. *Aminophosphonic and aminophosphinic acid derivatives as inhibitors of human collagenases*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 18: 597-617. [144]

Mastalerz, P. Inhibition of glutamine synthetase by phosphonic analogs of glutamic acid. *Arch. Immun. Ter. Dośw.*, 1959², *7*, 201-210; *Chem. Abstr.*: **1960**, *54*, 6843. [39]

Mastalerz, P. Synthesis of phosphonic acids related to glutamic acid. *Roczn. Chem.*, **1959**¹, *33*, 985-991. [207]

Mastalerz, P. Synthesis of γ -phosphonoglutamic acid. *Acta Biochim. Pol.*, **1957**, *4*, 19-21; *Chem. Abstr.*: **1959**, *53*, 18879. [206]

Mastalerz, P. α -Substituted phosphonates. *Handbook in organo-phosphorus chemistry*. Marcel Dekker Inc., New York; **1988**, Chpt. 7, 276-375. [96]

Mastalerz, P.; Kafarski, P. *Naturally occurring aminophosphonic and aminophosphinic acids*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 1, 1-32. [130]

Matczak-Jon, E.; Barycki, J.; Milewska, M.; Sawka-Dobrowolska, W. The phosphonic analogues of threonine and β -phenylserine: Preparation and analysis of stereoisomers. *Phosphorus & Sulfur*, **1998**, *142*, 101-116. [254]

Mathew, B.; Chakraborty, S.; Das, T.; Sarma, H.D.; Banerjee, S.; Samuel, G.; Venkatesh, M.; Pillai, M.R.A. ¹⁷⁵Yb labeled polyaminophosphonates as potential agents for bone pain palliation. *Applied Radiation & Isotopes*, **2004**, *60*, 635-642. [147]

Mc Gowan, A.P.; Wise, R.: Establishing MIC breakpoints and the interpretation of in vitro sesceptibility tests. *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**, *48-S1*, 17-28. [332]

McCleery, P.P.; Tuck, B. Synthesis of 1-aminoalkylphosphinic acids. Part 2. An alkylation approach. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1989**, 1319-1328. [197]

McFarland, J. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index for vaccines. *JAMA*, **1907**, *49*, 1176-1178. [317]

Merrett, J.H.; Spurden, W.C.; Thomas, W.A.; Tong, B.P.; Whitecombe, I.W.A. The synthesis and rotational isomerism of 1-amino-2-(imidazol-4-yl)ethylphosphonic [phosphono-histidine, His(P)] and 1-amino-2-(imidazol-2-yl)ethylphosphonic [phosphonoisohistidine, isoHis(P)]. *J. Chem. Soc., Perkin. Trans. I*, **1988**, 61-75. [196]

Michaelis, A.; Schenk, A., Über die Enwirkung von Phosphorchlorüd mit tertiäre aromatische Amine. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*; **1890**, *260*, 1-39. [25]

Michalska, J.; Boduszek, B.; Olszewski, T.K. New quinoline-2, -3, and 4-yl-(amino) methylphosphonates: Synthesis and study on the C-P bond cleavage in quinoline-2 and -4 derivatives under acidic conditions. *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 8661-8666. [295]

Moedritzer, K.; Irani, R.R. The direct synthesis of α -aminomethyl-phosphonic acids. Mannich-type reactions with orthophosphorous acid. *J. Org. Chem.*, **1966**, *31*, 1603-1607. [212]

Myers, T.C.; Jibril, A.O. A series of ω -trimethylammoniumalkylphosphonic acids and their diethyl ester iodides. *J. Org. Chem.*, **1957**, *22*, 181-182. [257]

NCCLS (1997). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests: Approved Standard M2-A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, USA. [330]

Neale, S. Amino acid analogs of as substrates of a rabbit reticulocyte aminoacyl-tRNA synthetase preparation. *Chem.-Biol. Interactions*, **1970**, *2*, 349-367; *Chem. Abstr.* **1971**, *74*, 94700. [71]

Neuzil E., Cassaigne A. Antibacterial phosphonates. *Exp. Ann. Biochim. Med.*, **1980**, *34*, 181-215; *Chem. Abstr.*: **1980**, *93*, 198358j. [61]

Neuzil, E.; Cassaigne, A.; Lacoste, A.M. Transamination non enzymatique des acides aminoalkylphosphoniques par l'acide glyoxylique. [Non enzymatic transamination of aminoalkylphosphonic acids by glyoxylic acid]. *Compt. Rend. Acad. Sci. Ser. D*, **1970**, *270*, 2724-2726. [63]

Nijk, D.R. Comparative study of phenyl phosphonic acids and arsene phenyl acids substituted in the ring. *Rec. Trav. Chim.*, *41*, 461-4500; *Chem. Abstr.*: **1923**, *17*, 1793. [26]

Nozaki, Y.; Tanford, C. The solubility of amino acids and two glycine peptides in aqueous ethanol and dioxane solutions. *J. Biol Chem.* **1971**, *246*, 2211-2217. [268]

Okuhara, M.; Kuroda, Y.; Goto, T.; Okamoto, M.; Terano, H.; Kohsaka, M.; Aoki, H.; Imanaka, H. Studies on new phosphonic acid antibiotics. I. FR-900098, isolation and characterization. *J. Antibiot.*, **1980**, *33*, 13-17. [55]

Okuhara, M.; Kuroda, Y.; Goto, T.; Okamoto, M.; Terano, H.; Kohsaka, M.; Aoki, H.; Imanaka, H. Studies on new phosphonic acid antibiotics. III. Isolation and characterization of FR-31564, FR-32863 and FR-33289. *J. Antibiot.*, **1980**, *33*, 24-28. [56]

Oleksyszyn, J. *Amidoalkilowanie związków trójwartościowego fosforu. (Amidoalkylation of trivalent phosphorous compounds.)* Pr. Nauk. Inst Chem. Org. Fiz. Politech. Wrocław., **1986**, *29*, 1-77. [174]

Oleksyszyn, J. *Aminophosphonic and aminophosphinic acid derivatives in the design of transition state analogue inhibitors: biomedical opportunities and limitations.* In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity.* Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 15, 537-558. [141]

Oleksyszyn, J.; Subotkowska, L. *Aminomethanephosphonic acid and diphenyl ester.* *Synthesis*, **1982**, 908. [177]

Oleksyszyn, J.; Tyka, R. An improved synthesis of 1-amino-phosphonic acids. *Tetrahedron Lett.*, **1977**, 2823-2824. [172]

Oleksyszyn, J.; Tyka, R.; Mastalerz, P. Direct synthesis of 1-amino-alkylphosphonic and -phosphinic acids from phosphorus trichloride or dichlorophosphines. *Synthesis*, **1978**, 479-480. [173]

Oleksyszyn, J.; Gruszecka, E.; Kafarski, P.; Mastalerz, P. New phosphonic analogs of aspartic and glutamic-acid by aminoalkylation of trivalent phosphorus chlorides with ethyl acetoacetate or ethyl levulinate and benzyl carbamate. *Monatsh. Chem.*, **1982**, *113*, 59-71. [208]

Oleksyszyn, J.; Subotkowska, L.; Mastalerz, P. Diphenyl 1-aminoalkanephosphonates. *Synthesis*, **1979**, 985-986. [233]

Olszewski, T.K.; Boduszek, B. Synthesis of new thiazole-2, -4, and -5-yl-(amino)methylphosphonates and phosphinates: Unprecedented cleavage of thiazole-2 derivatives under acidic conditions. *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 8661-8666. [296]

Olszewski, T.K.; Boduszek, B. Synthesis of new thiazole-2, -4, and -5-yl-(amino)methylphosphonates and phosphinates: Unprecedented cleavage of thiazole-2 derivatives under acidic conditions. *Heteroatom Chem.*, **2011**, *22*, 617-624. [297]

- Orella, C.J., Kirwan, D.J. Correlation of amino acid solubilities in aqueous aliphatic alcohol solutions. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1991**, *30*, 1040–1045. [270]
- Orella, C.J.; Kirwan, D.J. The solubility of amino acids in mixtures of water and aliphatic alcohols. *Biotechnol. Progress* **1989**, *5*, 89–91. [269]
- Orsini F., Sello G., Sisti M. Aminophosphonic acids and derivatives. Synthesis and biological applications. *Curr. Med. Chem.*, **2010**, *17*, 264-289. [21]
- Oshikawa, T.; Yamashita, M. Preparation of optically active 1-amino-alkylphosphonic acids from chiral carbamates using chiral ureas. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1989**, *62*, 3177-3181. [240]
- Pałecz, B.; Grala, A.; Kudzin, Z. Calorimetric Studies of the Interactions between Several Aminophosphonic Acids and Urea in Aqueous Solutions at 298.15 K. *J. Chem. Eng. Data*, **2014**, *59*, 426-432. [276]
- Pałecz, B.; Grala, A.; Kudzin, Z. Interaction of Some Aminophosphonic Acids with Urea in Aqueous Solutions at 298.15 K. *J. Chem. Eng. Data* **2012**, *57*, 1515–1519. [275]
- Pallacios, F.; Alonso, C.; Santos, J.M. Synthesis of β -aminophosphonates and -phosphinates. *Chem. Rev.*, **2005**, *105*, 899-931. [100]
- Petrillo, E.W.; Spitzmiller, E. Synthesis of 2-phosphono-pyrrolidine and its substitution for proline as an inhibitor of angiotensin-converting enzyme. *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 4929-4933. [77]
- Petrov, K.A.; Chauzov, V.A.; Erokhina, T.E. Aminoalkyl organo-phosphorus compounds. *Usp. Khim.*, **1974**, *43*, 2045-2087. [7]
- Peyman, A. *Aminophosphonic and aminophosphinic acids in the design and synthesis of HIV protease inhibitors*. In Book: *Aminophosphonic and aminophosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley&Sons Ltd., Chichester; **2000**, Chpt. 16, 559-578. [142]
- Pikl, J. Amino- and methylaminomethanephosphonic acids and derivatives. Pat. US, 2328358, **1943**; *Chem. Abstr.*: **1944**, *38*, 754. [32]
- Plazek, S.; Sasyk, Z. About some of phosphoroorganic compounds. (O pewnych związkach fosforoorganicznych). *Roczn. Chem.*, **1934**, *14*, 73-76. [29]
- Prajer, K.; Rachoń, J. α -Aminophosphonic acids. *Z. Chem.*, **1975**, *15*, 209-215. [8]
- Preliminary results on the solubility of some 1-aminoalkylphosphonic acids were presented by Kudzin, M.H.; Kudzin, Z.H.; Urbaniak, P.; Drabowicz, J.: Investigations on the solubility of aminoalkylphosphonic acids. 16th International Symposium „*Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds*”, P-085. CBMM PAN, Łódź, 2013.11.15. [277]
- Pugh, T.L.; Heller, W. Density of polystyrene and polyvinyl toluene latex particles. *J. Colloid Sci.*, **1957**, *12*, 173-180. [320]
- Quin, L.D.; Quin, G.S. Screening for carbon-bound phosphorus in Marine animals by high-resolution ³¹P-NMR spectroscopy: coastal and hydrothermal vent invertebrates. *Comp. Bioch. Physiol. Part B*, **2001**, *128*, 173-185. [48]
- REAXES - baza wydawnictwa Elsevier Information GmbH, z zakresu chemii organicznej, nieorganicznej i organometalicznej oraz nauk pokrewnych, która zawiera w sobie komplet danych z dotychczasowych baz Beilstein, Gmelin oraz dodatkowo Patent Chemistry Database. [211a]
- Redmore, D. *N*-benzyl- α -aminophosphonic acids. *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 996-997. [342]
- Redmore, D. *The chemistry of P-C-N systems*. Topics in Phosphorus Chemistry, Eds.; Grayson M., Griflith E.J., Wiley-Intersci.; New York, **1976**; Vol. VIII. [9]
- Renaud, P.; Seebach, D. Preparation of chiral building blocks from amino acids and peptides via electrolytic decarboxylation and TiCl₄-induced aminoalkylation. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1986**, *25*, 843-844. [219]

- Richtarski, G; Soroka, M; Mastalerz, P; Starzemska, H. Deamination and rearrangement of 1-hydroxy-1-phenyl-2-aminoethylphosphonic acid. *Roczn. Chem.*, **1975**, *49*, 2001-2005. [232]
- Rizkalla, E.N. Metal chelates of phosphonate-containing ligands. *Rev. Inorg. Chem.*, **1983**, *5*, 223-304. [120]
- Robitaille, P.M.L.; Robitaille, P.A.; Brown, G.G.; Brown, G.G. An analysis of the pH-dependent chemical shift behavior of phosphorus-containing metabolites. *J. Magn. Res.*, **1991**, *92*, 73-84. [237]
- Roessler, W.G.; Brewer, C.R. Permanent turbidity standards. *Appl. Microbiol.*, **1967**, *15*, 1114-1121. [319]
- Rogers, R.L.; Stern, M.K. An improved synthesis of phosphonate analog of tryptophan. *Synlett*, **1992**, 708. [195]
- Romanenko, V.D.; Kukhar, V.P. Fluorinated Phosphonates: Synthesis and Biomedical Application. *Chem. Rev.*, **2006**, *106*, 3868-3935. [19]
- Rumpf, P.; Chavane, V. An electrochemical study of some phosphonic acid amines. *Compt. rend.* **1947**, *224*, 919-920. [34]
- Russell, G.R.G. Bisphosphonates: The first 40 years. *Bone*, **2011**, *49*, 2-19. [92]
- Ryglowski, A.; Kafarski, P. Preparation of 1-aminoalkylphosphonic acids and 2-aminoalkylphosphonic acids by reductive amination of oxoalkylphosphonates. *Tetrahedron*, **1996**, *53*, 10685-10692. [3]
- Ryzhkov, M.I.; Kabachnik, M.I.; Tarasevich, L.M.; Medved, T.Ya.; Zeitlenok, N.A.; Marchenko, N.K.; Vagzhanova, V.A.; Ulanova, E.F.; Cheburkina, N.V. Biological activity of α -aminophosphonic acids. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, **1954**, *98*, 849-852. [131]
- Salyers, A.A.; Whitt, D.D. *Mikrobiologia. Różnorodność, chorobotwórczość i środowisko WN PWN*, Warszawa, 2012. [312]
- Schwarzenbach, G.; Ackermann, H.; Ruckstuhl, P. Complexones. XV. A new derivative of iminodiacetic acid and its complexes with alkali earth metals. Correlation between acidity and chelating properties. *Helv. Chim. Acta*, **1949**, *32*, 1175-1186. [37]
- SCI-FINDER. Calculated Data obtained using Advanced Chemistry Development (ACD/Labs) Software V11.02 (© 1994-2014 ACD/Labs). [211b]
- Seebach, D.; Charczuk, R.; Gerber, Ch.; Renaud, Ph.; Berner, H.; Schneider, H. Electrochemical decarboxylation of L-threonine and oligopeptide derivatives with formation of *N*-acyl-*N,O*-acetals: preparation of oligopeptides with amide or phosphonate C-terminus. *Helv. Chim. Acta*, **1989**, *72*, 401-425. [250]
- Sekura, R.; Meister, A. γ -Glutamylcysteine synthetase. Further purification, "half of the sites" reactivity, subunits and specificity. *J. Biol. Chem.*, **1977**, *252*, 2599-2605. [74]
- Seto, H.; Imai, S.; Tsuruoka, T.; Ogawa, H.; Satoh, A.; Sasaki, T.; Otake, N. Studies in the synthesis of Bialaphos (SF-1293). P. 3. Production of phosphinic acid derivatives MP-103, MP-104 and MP-105 by a blocked mutant of *Streptomyces hygrosopicus* SF-12903 and their roles in the biosyntheses of Bialaphos. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1983**, *111*, 1008-1014. [50]
- Seto, H.; Sasaki, T.; Imai, S.; Tsuruoka, T.; Ogawa, H.; Satoh, A.; Inoue, S.; Nida, T.; Otake, N. Studies in the synthesis of Bialaphos. P. 2. Isolation of the first natural products with the C-P-H bond and their influence on the C-P-C bond formation. *J. Antibiot.*, **1983**, *36*, 96-98. [52]
- Shimizu, H.; Kakimoto, Y.; Nakajima, T.; Kazanawa, A.; Sano, I. Isolation and identification of 2-aminoethylphosphonic acid from the bovine brain. *Nature (London)*, **1965**, *207*, 1197-1198. [44]
- SIGMA Life Science **2011-2012**. [337]

- Sikorski, J.A.; Logush, E.W. *Aliphatic carbon-phosphorus compound as herbicides*. In Book: *Handbook in organophosphorus chemistry*. Ed Engel R, Marcel Dekker Inc, New York **1988**, 15 Chpt., 737-806. [84]
- Simon, J.; Garlich, J.R. Use of macrocyclic aminophosphonic acid complexes as imaging agents. *Eur. Pat. (1992) Appl. E.P. 468634 A1 1992 0129*. [146]
- Simov, B.P.; Wuggenig, F.; Lämmerhofer, M.; Lindner, W.; Zarbl, E.; Hammerschmidt, F., Indirect evidence for the biosynthesis of (1s,2s)-1,2-epoxypropyl-phosphonic acid as a co-metabolite of fosfomycin [(1R,2S)-1,2-epoxypropylphosphonic acid] by *Streptomyces fradiae*. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 7, 1139-1142. [255]
- Sinyavskaya, E.I. Coordination compounds with aminophosphonic acids. *Koord. Khim*, **1991**, 17, 1599-1626. [122]
- Smith, E.C.R.; McQuaid, L.A.; Paschal, J.W.; DeHonesto, J. An enantioselective synthesis of D-(-) and L-(+)-2-amino-3-phosphonopropanoic acid. *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 4472-4474. [201]
- Soloshonok, V.A.; Belokon, Y.N.; Kuzmina, N.A.; Maleev, V.I.; Svistunova, N.Yu.; Solodenko, VA, Kukhar P Asymmetric synthesis of phosphorous analogues of dicarboxylic amino acids. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1992**, 1525-1530. [229]
- Song, J.L.; Mao, J.G. New metal phosphonates containing coordination piperazine or pyridyl group. *J. Solid State Chem.*, **2005**, 178, 3514-3521. [127]
- Soper, T.S.; Manning, J.M. different modes of action of inhibitors of bacterial d-amino acid transaminase. *J. Biol. Chem.*, **1981**, 256, 4263-4268. [62]
- Soroka, M. Comments on the synthesis of aminomethyl-phosphonic acid. *Synthesis*, **1989**, 547-548. [213]
- Soroka, M. The synthesis of 1-aminoalkylphosphonic acids. A revised mechanism of the reaction of phosphorus trichloride, amides and aldehydes or ketones in acetic acid solution (Oleksyszyn reaction). *Liebigs Ann. Chem.*, **1990**, 4, 331-334. [175]
- Soroka, M. *Wybrane problemy chemii kwasów aminofosfonowych (Selected problems of chemistry of aminophosphonic acids)*. Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wrocław., **1987**, 32, 1-92. [2]
- Soroka, M.; Jaworska, D.; Szczyński, Z. Synthesis of 1-aminoalkylphosphonic acids via amidoalkylation of phosphorous amid by *N,N'*-alkylidenebisamides. *Liebigs Ann. Chem.*, **1990**, 4, 1153-1155. [176]
- Soroka, M.; Mastalerz, P. Phosphonic and phosphinic analogues of aspartic acid and asparagine. *Roczn. Chem.*, **1974**, 48, 1119-1121. [202]
- Soroka, M.; Mastalerz, P. The synthesis of phosphonic and phosphinic analogues of asparagine and aspartic acid. *Roczn. Chem.*, **1976**, 50, 661-666. [203]
- spilatr@marietta.edu. [328]
- Stalikas, C.D.; Konidari, C.N. Analytical methods to determine phosphonic and amino acid group-containing pesticides. *J. Chromatogr. A*, **2001**, 907, 1-19. [117]
- Stalikas, C.D.; Pilidis, G.A. Development of a method for the simultaneous determination of phosphonic and amino amid group containing pesticides by gas chromatography with mass-selective detection. Optimization of the derivatization procedure using an experimental design approach. *J. Chromatogr. A*, **2000**, 872, 215-225. [116]
- Strater, N.; Lipscomb, W.N. Transition state analog L-Leucinephosphonic acid bound to bovine lens leucine aminopeptidase: X-ray structure as 1.65 Å resolution in a new crystal form. *Biochemistry*, **1995**, 34, 9200-9210. [73]

- Struszyński, M. *Analiza Ilościowa i Techniczna. Tom I.* PWT Warszawa, 1954. [349]
- Subotkowski, W.; Kowalik, J.; Tyka, R.; Mastalerz, P. The phosphonic analogue of tryptophan. *Pol. J. Chem.*, **1981**, *55*, 853-857. [193]
- Subotkowski, W.; Tyka, R.; Mastalerz, P. Large scale of dialkyl 2-pyrrolidine-phosphonates. *Pol. J. Chem.*, **1983**, *57*, 1389-1391. [183]
- Subotkowski, W.; Tyka, R.; Mastalerz, P. Phosphonic analogue of proline. *Pol. J. Chem.*, **1980**, *54*, 503-505. [182]
- Szczepaniak, W.; Siepak, J. Phosphoroorganic complexones. *Wiad. Chem.*, **1975**, *29*, 193-210. [119]
- Szczepaniak, W.; Siepak, J.; Kuczyński, J. Phosphoro-organic complexones in chemical analysis. *Chem. Anal.*, **1978**, *23*, 210-223. [110]
- Szpoganicz, B.; Martell, A. (1989) Comperative mechanisms of vitamin B₆-catalyzed β-decarboxylation and β-dephosphonylation in model systems. *Biochimie*, **1989**, *71*, 591-597. [304]
- Tan, S.A.; Tan, L.G. Distribution of ciliatine (2-aminoethylphosphonic acid) and phosphonoalanine (2-amino-3-phosphonopropionic acid) in human tissues. *Clin. Physiol. Biol. Chem.*, **1989**, *7*, 303-309. [47]
- Tyka, R. *Kwasy α-aminofosfonowe i związki pochodne. (α-Aminophosphonic acids and related compounds.) Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wrocław.*, **1972**, *4*, 1-54. [230]
- Uziel, J.; Genet, J.P. Synthesis of racemic and optically active α-aminophosphonic acids. *Zh. Org. Khim.*, **1997**, *33*, 1605-1627. [16]
- Vaarama, K.; Lehto, J.; Jaakkola, T. Removal of ²³⁴U, ²³⁸U, ²²⁶Po and ²¹⁰Pb from drinking water by ion exchange chromatography. *Radiochim. Acta*, **2000**, *88*, 361-367. [159]
- Varlet, J.-M.; Collignon, N.; Savignac, P. Reductive amination of phosphonopyruvates: preparation of 1-amino-2-carboxy-2-alkylphosphonic acid (β-phosphonoalanine.) [Synthese et amination reductrice de phosphonopyruvates: preparation d'acides amino-2-carboxy-2-alkylphosphoniques (β-phosphonoalanine)]. *Can. J. Chem.*, **1979**, *57*, 3216-3220. [226]
- Vasella, A.; Voefray, R. Asymmetric synthesis of aminophosphonic acids by cycloaddition of N-glucosyl-C-dialkoxylphosphonyl-nitrones. *Helv. Chim. Acta*, **1982**, *65*, 1953-1964. [228]
- Vogel, A.I. *Preparatyka Organiczna (Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry)*. 4-th Ed. WNT, Warszawa, **1984**. [350]
- Volkert, W.A.; Hoffman, T.J. Therapeutic radiopharmaceuticals. *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, 2269-2292. [139]
- Wainwright, K.P. Synthetic and structural aspects of the chemistry of saturated polyaza macrocyclic ligands bearing pendant coordinating groups attached to nitrogen. *Coord. Chem. Rev.*, **1997**, *166*, 35-90. [124]
- Wardle, N.J.; Bligh, S.W.A.; Hudson, H.R. Omega-Phosphinyl-alpha-amino acids: synthesis and development towards use as therapeutic agents. *Curr. Org. Chem.*, **2007**, *11*, 1635-1651. [20]
- Warren, S.G. Metaphosphate formation from phosphono-amino acids and ninhydrine. *J. Chem. Soc., C – Org. Chem. Commun.*, **1966**, 1349-1350. [302]
- Westerback, S.J.; Martell, A.E. Ethylenediaminetetra(methylene-phosphonic acid). *Nature (London)*, **1956**, *178*, 321-322. [38]
- Witryna internetowa: Ca oxalate thermogram.jpg: <http://pl.wikipedia.org/w/index.php?title=> [281]
- Witryna internetowa: [http://en.wikipedia.org/w/index.php?File: Staphylococcus aureus \(AB test\).jpg](http://en.wikipedia.org/w/index.php?File:Staphylococcus_aureus_(AB_test).jpg) [324]

Witryna internetowa: [http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File: Serial dilution and plating of bacteria.jpg](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Serial_dilution_and_plating_of_bacteria.jpg). [315]

Witryna internetowa: [http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Manual_CFU _counting.jpg](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Manual_CFU_counting.jpg)[316]

Witryna internetowa: [http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Staphylococcus aureus VISA_2.jpg](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Staphylococcus_aureus_VISA_2.jpg) [333]

Witryna internetowa: [http://laboratoria.net/pl/artykul/ chemia-analityczna/15901. html](http://laboratoria.net/pl/artykul/chemia-analityczna/15901.html). [347]

Witryna internetowa: [http://pl.wikipedia.org/w/index. php? File: Thermogravimetric analyser.jpg](http://pl.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Thermogravimetric_analyser.jpg). [345]

Witryna internetowa: [http://pl.wikipedia.org/w/index.php? File: Bacterial lawn 01.jpg](http://pl.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Bacterial_lawn_01.jpg) [323]

Witryna internetowa: [http://pl.wikipedia.org/w/index.php? File: MIC_microbroth_dilution. jpg](http://pl.wikipedia.org/w/index.php?title=File:MIC_microbroth_dilution.jpg) [325]

Witryna internetowa: http://pl.wikipedia.org/w/index.php?title=Plik:E-test_Ngono.jpg [327]

Witryna internetowa: <http://www.abbiodisk.com/>. [326]

Witryna internetowa: <http://www.tainst.com>; File: TA-023B. High Resolution Thermogravimetric Analysis - A New Technique For Obtaining Superior Analytical Results. [346]

Witryna internetowa: [http://en.wikipedia.org/w/index.php?title File:Escherichia Coli _ NIAID.jpg](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Escherichia_Coli_NIAID.jpg) [334]

Witryna internetowa: [http://en.wikipedia.org/w/index.php?title =File:McFarland_standards. jpg](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:McFarland_standards.jpg). [318]

Wójcik K. *Termograwimetria – przegląd metody*. [http://laboratoria.net/pl/artykul/ chemia-analityczna/15901.html](http://laboratoria.net/pl/artykul/chemia-analityczna/15901.html). [2013.07.23] [280]

Wozniak, M.; Nowogrocki, G. Acidites et complexes des acides (alkyl- et aminoalkyl-) phosphoniques—IV Acides aminoalkylphosphoniques $R^1R^2N(CH_2)_nCR^3R^4PO_3H_2$. *Talanta*, **1979**, *26*, 1135-1141. [278]

Yamauchi, K.; Une, F.; Kinoshita, M. Aminophosphonic acids. Synthesis of (2-dimethylaminoethyl phosphonic acids and (2-phosphonoethyl)trimethyl-ammonium hydroxide inner salt. *Chem. Express*, **1987**, *2*, 305-308. [259]

Yang, X.; Wang, X.; Ching, C.B. Solubility of form α and form γ of glycine in aqueous solutions. *J. Chem. Eng. Data*, **2008**, *53*, 1133–1137. [273]

Yokamatsu, T.; Sato, T.; Shibuya, S. Lipase-catalyzed enantioselective acylation of prochiral 2-(ω -phosphono)alkyl-1,3-propanediols: Application to the enantioselective synthesis of ω -phosphono- α -amino acids. *Tetrahedron: Asymm.*, **1996**, *7*, 2743-2754. [256]

Zoń, J. *Badania and syntezy i właściwościami inhibitorów oraz substratów amoniakolizy fenyloalaniny. (Research on the syntheses and properties of inhibitors and substrates of phenylalanine ammonia-lyase.)* Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wrocław., **2005**, *42*, 3-60. [145]

Zoń, J.; Amrhein, N.; Gancarz, R. Inhibitors of phenylalanine ammonia-lyase: 1-amino-benzylphosphonic acids substituted in the benzene ring. *Phytochemistry*, **2002**, *59*, 9-21. [339]

Zoń, J.; Miziak, P.; Rychlewski, T.; Gancarz, R. Unexpected non-stability of aminophosphonates: Limitation of their synthesis using diphenylmethyl-amine procedure. *Polish J. Chem.*, **2007**, *81*, 2023-2030. [301]

Zygmunt, J.; Mastalerz, P. 1-Amino-2-mercaptoethanephosphonic acid, the phosphonic analogue of cysteine. *Pol. J. Chem.*, **1981**, *55*, 713-715. [222]

Zygmunt, J.; Mastalerz, P. Phosphonic analogues of serine and isoserine. *Pol. J. Chem.*, **1978**, *52*, 2271-2273. [184]

Zygmunt, J.; Mastalerz, P. Phosphonic analogues of serine and isoserine. *Pol. J. Chem.*, **1981**¹, *55*, 411-414. [185]