

Załącznik 3 do postępowania habilitacyjnego

AUTOREFERAT

**„Synteza i właściwości naturalnych i syntetycznych substancji
zapachowych o zadanych cechach użytkowych na potrzeby przemysłu
perfumeryjnego i chemii gospodarczej”**

Dr inż. Daniel Strub

Katedra Chemii Biologicznej i Bioobrazowania
Politechnika Wrocławska

Wrocław, 2023

1. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytuły rozprawy doktorskiej

Dyplom **doktora nauk chemicznych z wyróżnieniem** w dyscyplinie Chemia, Wydział Chemiczny, Politechnika Wrocławska, Wrocław, **2014**

Tytuł rozprawy doktorskiej: Synteza pochodnych terpenoidowych o potencjalnej aktywności na centralny układ nerwowy

Promotor rozprawy: Prof. dr hab. inż. Stanisław Lochyński

Recenzenci: Prof. dr hab. inż. Czesław Wawrzeńczyk
Prof. dr hab. Józef Drabowicz

Dyplom ukończenia studiów podyplomowych **Bezpieczeństwo w użytkowaniu i zarządzaniu substancjami chemicznymi**, Uniwersytet Łódzki, Wydział Chemii, Łódź, **2013**

Tytuł pracy dyplomowej: „Potencjalne zagrożenia dla zdrowia wynikające ze stosowania parabenów”

Opiekun: lek. med. Bogdan Łopaciński

Dyplom **magistra inżyniera chemii** (specjalność: Chemia Organiczna i Metaloorganiczna), Wydział Chemiczny, Politechnika Wrocławska, Wrocław, **2012**

Tytuł pracy magisterskiej: „Pomiary stężenia żeńskich hormonów płciowych w próbkach środowiskowych za pomocą GC/MS i testu A-YES”

Praca powstała w wyniku badań przeprowadzonych w trakcie stażu naukowego w Instytucie Genetyki Roślin i Badań nad Roślinami Uprawnymi im. Leibniza (IPK) w Gatersleben, Niemcy.

Opiekun ze strony IPK: Prof. Gotthard Künze

Opiekun pracy ze strony Politechniki Wrocławskiej: Prof. dr hab. inż. Stanisław Lochyński

Dyplom **magistra inżyniera biotechnologii** (specjalność: Biotechnologia Molekularna i Biokataliza), Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska, Wrocław, **2009**

Tytuł pracy magisterskiej: „Synteza nowych chiralnych pochodnych *gem*-dimetylocyklopropanu z (+)-3-karenu”

Opiekun: prof. dr hab. inż. Stanisław Lochyński

2. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

01.2020 – obecnie: Adiunkt badawczo-dydaktyczny, Katedra Chemii Biologicznej i Bioobrazowania, Politechnika Wroclawska

09.2017 – 12.2019: Adiunkt naukowo-dydaktyczny, Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska

04.2016 – 09.2017: Asystent naukowo-dydaktyczny, Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska

10.2015 – 04.2016: Adiunkt naukowy, Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska

06.2015 – 10.2015: Asystent naukowy, Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska

01.2011 – 05.2015: Asystent naukowy, wykonawca w projekcie „Biotransformacje użyteczne w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym”, Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska

3. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.). Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.

Podstawą ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego jest moje osiągnięcie naukowe pod tytułem:

„Synteza i właściwości naturalnych i syntetycznych substancji zapachowych o zadanych cechach użytkowych na potrzeby przemysłu perfumeryjnego i chemii gospodarczej”

H1. Balcerzak, L., Gibka, J., Sikora, M., Kula, J., **Strub, D.J.***, Minor constituents of essential oils and aromatic extracts. Oximes derived from natural flavor and fragrance raw materials – sensory evaluation, spectral and gas chromatographic characteristics *Food Chemistry* **2019**, *301*, 125283, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125283 (IF 6.3; punkty MEiN: 200; Q1)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu problemu badawczego, opracowaniu koncepcji badań, wyborze metodyki badań, wykonywaniu części badań (syntetyczne, sensoryczne, chromatograficzne i spektralne) i interpretacji uzyskanych wyników, opracowaniu tekstu publikacji i przygotowanie do druku. Dodatkowo, zorganizowałem interdyscyplinarny zespół badawczy, do którego, poza pracownikami Politechniki Wrocławskiej, dołączyłem badaczy z Politechniki Łódzkiej. Kierowałem projektem naukowym (LIDER), obejmującym badania opisane w tej pracy.

H2. Surowiak, A., Sowała, M., Talma, M., Groborz, K., Balcerzak, L., Lochyński, S., **Strub, D.J.*** Cytotoxicity, early safety screening, and antimicrobial potential of minor oxime constituents of essential oils and aromatic extracts *Scientific Reports* **2022**, *12*, 5319, doi: 10.1038/s41598-022-09210-z (IF 4.6; punkty MEiN: 140; Q1)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu problemu badawczego, opracowaniu koncepcji badań, wyborze metodyki badań, wykonywaniu części badań (synteza, oczyszczanie i charakterystyka związków) i interpretacji uzyskanych wyników, opracowaniu tekstu publikacji i przygotowanie do druku. Kierowałem projektem naukowym (LIDER), obejmującym badania opisane w tej pracy.

H3. Balcerzak, L., Surowiak, A., Adamowicz, A., Kaleta, M., Pieńkosz-Żagań, A., **Strub, D.J.*** Evaluation of small combinatorial libraries of nitrogenous low-molecular-weight compounds for new fragrance development *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **2022**, *115*, 339-344, doi: 10.1016/j.jiec.2022.08.017

(IF 6.1; punkty MEiN: 100; Q1)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu problemu badawczego, opracowaniu koncepcji badań, wyborze metodyki badań, wykonywaniu części badań (syntetyczne, sensoryczne, chromatograficzne i spektralne) i interpretacji uzyskanych wyników, opracowaniu tekstu publikacji i przygotowanie do druku. Dodatkowo, zorganizowałem interdyscyplinarny zespół badawczy, do którego, poza pracownikami Politechniki Wrocławskiej, dołączyłem doświadczonych, niezależnych perfumiarzy. Kierowałem projektem naukowym (LIDER), obejmującym badania opisane w tej pracy.

H4. Balcerzak, L., Surowiak, A., Groborz, K., Stróżak, S., Piekarska, K., **Strub D.J.*** Comparative Evaluation of Mutagenic, Genotoxic, Cytotoxic, and Antimicrobial Effects of Flavour and Fragrance Aldehydes, Ketones, Oximes, and Oxime Ethers *Toxicology*, **2023**, *490*, 153510, doi: 10.1016/j.tox.2023.153510

(IF 4.5; punkty MEiN: 100 ; Q2)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu problemu badawczego, opracowaniu koncepcji badań, wyborze metodyki badań, wykonywaniu części badań (synteza, oczyszczanie i charakterystyka związków) i interpretacji uzyskanych wyników, opracowaniu tekstu publikacji i przygotowanie do druku. Dodatkowo, zorganizowałem interdyscyplinarny zespół badawczy, do którego, poza pracownikami Politechniki Wrocławskiej, dołączyłem badaczkę z Genentech Inc. ze Stanów Zjednoczonych. Kierowałem projektem naukowym (LIDER), obejmującym badania opisane w tej pracy.

H5. Hrydziuszko, Z., **Strub, D.***, Labus, K., Bryjak, J., *Burkholderia cepacia* lipase immobilization for hydrolytic reactions and the kinetic resolution of the non-equimolar mixtures of isomeric alcohols *Bioorganic Chemistry* **2019**, *93*, 102745, doi: 10.1016/j.bioorg.2019.01.041 (IF 4.8; punkty MEiN: 100; Q1)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu problemu badawczego, opracowaniu koncepcji badań, wyborze metodyki badań, wykonywaniu części badań (synteza, oczyszczanie i charakterystyka związków, badania chromatograficzne) i interpretacji uzyskanych wyników, opracowaniu tekstu publikacji i przygotowanie do druku. Kierowałem projektem naukowym (LIDER), obejmującym badania opisane w tej pracy.

H6. Strub, D.J.*, Szymanska, K., Hrydziuszko, Z., Bryjak, J., Jarzebski, A.B., Continuous flow kinetic resolution of a non-equimolar mixture of diastereoisomeric alcohol using a structured monolithic enzymatic microreactor *Reaction Chemistry & Engineering* **2019**, 4, 587-594, doi: 10.1039/C8RE00177D (IF 3.4; punkty MEiN: 100; Q1)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu problemu badawczego, opracowaniu koncepcji badań, wyborze metodyki badań, wykonywaniu części badań (synteza, oczyszczanie i charakterystyka związków, badania chromatograficzne) i interpretacji uzyskanych wyników, opracowaniu tekstu publikacji i przygotowanie do druku. Dodatkowo, zorganizowałem interdyscyplinarny zespół badawczy, do którego, poza pracownikami Politechniki Wrocławskiej, dołączyłem badaczy z Politechniki Śląskiej i Instytutu Inżynierii Chemicznej PAN. Kierowałem projektem naukowym (LIDER), obejmującym badania opisane w tej pracy.

H7. Strub, D.J.*, Talma, M., Strub, M., Rut, W., Żmudziński, M., Brud, W., Neyts, J., Vangeel, L., Zhang, L., Sun, X., Lv, Z., Nayak, D., Olsen, S., Hilgenfeld, R., Jochmans, D., Drąg, M.* Evaluation of the anti-SARS-CoV-2 properties of essential oils and aromatic extracts *Scientific Reports* **2022**, 12, 14230, doi: 10.1038/s41598-022-18676-w (IF 4.6; punkty MEiN: 140; Q1)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu problemu badawczego, opracowaniu koncepcji badań, wyborze metodyki badań, wykonywaniu części badań (inhibicja enzymatyczna, analizy chromatograficzne) i interpretacji uzyskanych wyników, opracowaniu tekstu publikacji i przygotowanie do druku. Dodatkowo, zorganizowałem interdyscyplinarny zespół badawczy, do którego, poza pracownikami Politechniki Wrocławskiej, dołączyłem badaczy z KU Leuven, IFEAT, Medical University of South Carolina oraz University of Lübeck. Kierowałem projektem naukowym (LIDER), obejmującym badania opisane w tej pracy.

H8. Strub, D.J.* *In-vitro* antimicrobial activity of essential oils of Tasmania *Journal of Essential Oil Research*, **2023**, doi:10.1080/10412905.2023.2252416 (IF 3.0; punkty MEiN: 40; Q2)

*- autor korespondencyjny

- IF zgodny z rokiem wydania publikacji.
- Punkty MEiN zgodnie z najnowszym wykazem z dnia 17 lipca 2023 r.
- Wszystkie czasopisma, w których wydano publikacje składające się na osiągnięcie habilitacyjne, przypisane są do dyscypliny „nauki chemiczne”.

- Sumaryczny Impact Factor (IF) za jednotematyczny cykl publikacji wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodny z rokiem ukazania się pracy wynosi **37,3**.
- Sumaryczna punktacja zgodnie z rokiem wydania lub wg Rozporządzenia Ministra Edukacji i Nauki: **920**
- Oświadczenia współautorów prac określające ich indywidualny wkład w powstawanie publikacji oraz kopie prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, zostały dołączone do wniosku.

FINANSOWANIE BADAŃ:

Prowadzone przeze mnie badania naukowe po uzyskaniu stopnia doktora, stanowiące osiągnięcia naukowe ujęte w przewodzie habilitacyjnym finansowane były przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu LIDER.

Tytuł projektu: „Synteza nowych związków zapachowych z surowców pochodzenia naturalnego do zastosowań w perfumerii, kosmetyce i chemii gospodarczej” (SYNFRA)

Numer grantu: LIDER/4/0099/L-7/15/NCBR/2016.

Rola w projekcie: kierownik projektu.

b) Omówienie celu i osiągnięć naukowych przedłożonych do oceny wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

WPROWADZENIE OGÓLNE

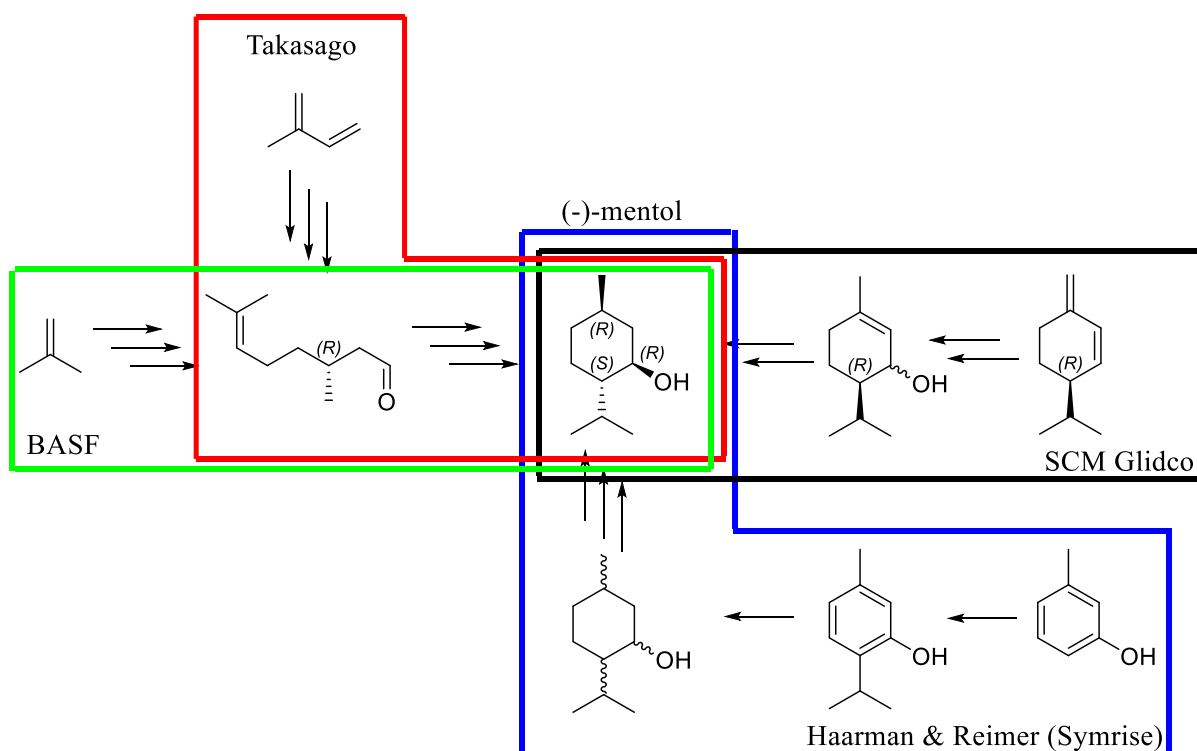
Materiały zapachowe wykorzystywane były jeszcze przed pojawieniem się człowieka rozumnego (*Homo sapiens*). Sugeruje to między innymi obecność krzesiwa, spalonych nasion oraz żywiczego drewna (datowane na około 780 000 lat) w aszelskim stanowisku archeologicznym Gesher Benot Ya'aqov w Izraelu^{1,2}. Oprócz obróbki żywności, ogień już od wczesnej historii ludzkości stosowano do kremacji ciał. W celu neutralizacji odorów podczas rytuałów palono żywice, pachnące drewno oraz rośliny wytwarzające olejki eteryczne, a zapach zaczął być łączony z religią i był traktowany jako most pomiędzy życiem doczesnym, a zaświatami³. Od wczesnego antyku na Bliskim Wschodzie zaczęto również stosować oleje perfumowane⁴. Najprawdopodobniej najstarszą zapisaną formułą zapachową jest receptura świętego oleju do namaszczenia:

I tak powiedział Pan do Mojżesza: «Weź sobie najlepsze wonności: pięćset syklów obficie płynącej mirry, połowę z tego, to jest dwieście pięćdziesiąt syklów wonnego cynamonu, i tyleż, to jest dwieście pięćdziesiąt syklów wonnej trzciny, wreszcie pięćset syklów kasji, według wagi z przybytku, oraz jeden hin oliwy z oliwek. I uczynisz z tego święty olej do namaszczenia. (Wj, 30, 22-38)

Rewolucję w perfumerii przyniosło opracowanie techniki destylacji, począwszy od wynalezienia kotła destylacyjnego (Aleksandria, II-III w.), jego udoskonalenie przez perskiego polimatę Ibn Sinę, znanego również jako Avicenna (X-XI w.), po opracowanie pierwszej chłodnicy spiralnej (Włochy, XIV w.). Osiągnięcie tych kamieni milowych umożliwiło produkcję wysokiej jakości olejków eterycznych oraz wysokoprocentowego alkoholu, który okazał się użyteczny do izolacji materiałów zapachowych (nastoje i absoluty) i produkcji perfum opartych na alkoholu (wcześniej wszystkie perfumy produkowano z wykorzystaniem techniki maceracji materiałów wonnych w olejach)³. Kolejna rewolucja w sztuce tworzenia perfum związana jest z narodzinami i rozwojem chemii organicznej. Już 5 lat po pionierskiej pracy Wöhlera⁵ w 1833 roku wyizolowano i zidentyfikowano ważny związek zapachowy *trans*-cynamaldehyd z olejku z kory drzewa cynamonowego (*Cinnamomum verum*)⁶.

SYNTETYCZNE SUBSTANCJE ZAPACHOWE

Współczesna perfumeria zaczyna się w momencie uzyskania związków zapachowych na innej drodze niż izolacja z surowców naturalnych. Ta era rozpoczęła się wraz z syntezą kumaryny przez Perkina w 1868 roku⁷. Dużym mankamentem wykorzystywania substancji izolowanych z surowców naturalnych są fluktuacje cenowe. Przykładowo, cena spotowa olejku z mięty polnej (*Mentha arvensis*) z Indii, z którego izoluje się (-)-mentol (ponad 20 000 ton/rok⁸ w 2012 r.) wzrosła pomiędzy styczniem, a marcem 2012 roku z poziomu ~30 USD/kg do ponad 50 USD/kg (ceny wg. giełdy towarowej MCX). Systematyczny rozwój chemii organicznej i procesowej umożliwił dywersyfikację źródeł i stabilizację cen kluczowych związków zapachowych. Wspomniany (-)-mentol współcześnie pozyskuje się nie tylko na drodze krystalizacji z olejków miętowych, ale także na drodze wielkoskalowej syntezy (schemat 1) z izobutylenu (BASF), izoprenu (Takasago), (-)-β-felandrenu (SCM Glidco) oraz *m*-krezolu (Symrise).



Schemat 1. Przykładowe przemysłowe ścieżki syntezy (-)-mentolu.

Systematyczny rozwój komercyjnie dostępnych substancji wonnych o syntetyczne związki zapachowe oraz ich metod produkcji, umożliwił znaczną redukcję finalnego kosztu kompozycji zapachowych i umasowienie perfum.

NATURALNE MATERIAŁY ZAPACHOWE

Przemysł związków zapachowych i aromatów spożywczych opiera się zarówno na produktach naturalnych, jak i syntetycznych. Użytkownicy końcowi substancji wonnych, jak i produktów perfumowanych wybierają coraz częściej naturalne rozwiązania, co jest częściowo związane z globalnymi trendami dotyczącymi zmniejszenia wykorzystania produktów wytwarzanych z ropy naftowej. Obecnie preferowane są rozwiązania powstałe z poszanowaniem środowiska naturalnego, biodegradowalne, zgodne z regułami zrównoważonego rozwoju. Jest to widoczne w globalnych trendach rynkowych, gdzie całkowity rynek olejków eterycznych był wyceniany w 2020 roku na poziomie około 10 miliardów dolarów, a przewiduje się, że urośnie on do ponad 24 miliardów dolarów w 2030 roku⁹. Współcześnie naturalne materiały zapachowe pozyskuje się ze źródeł roślinnych, jak i zwierzęcych. Ze względu na aspekty etyczne te pierwsze są najbardziej popularne. Najczęściej stosowanymi naturalnymi materiałami zapachowymi są olejki eteryczne i ekstrakty aromatyczne. Zarówno olejki eteryczne, jak i ekstrakty aromatyczne są wykorzystywane w różnych aspektach ludzkiej aktywności jako dodatki do żywności, materiały zapachowe, leki, czy środki aromaterapeutyczne (tylko olejki eteryczne)¹⁰.

Polska branża naturalnych i syntetycznych produktów zapachowych w chwili obecnej praktycznie nie istnieje, pomimo możliwości, jakie niosą rodzime tradycje rolnicze, położenie geograficzne i historia produkcji. W 1952 roku państwowe zakłady „Herbapolu” produkowały około 20 ton olejku miętowego i 1 tonę (-)-mentolu, istniały również mniejsze zakłady prywatne jak Fabryka Zapachów i Aromatów „Mrowna” Jerzego Łapki¹¹. Po transformacji ustrojowej, począwszy od lat 90-tych XX wieku, polska branża substancji zapachowych upadła – zakłady „Herbapol” zostały podzielone i sprywatyzowane, a część „olejkowa” została wygaszona (destylarnie, rozlewnie), mniejsze zakłady nie wytrzymały konkurencji międzynarodowych korporacji (tzw. domów zapachowych). Zakłady „Mrowna” zostały włączone w latach 90-tych w strukturę szwajcarskiego Firmenich (2 miejsce na liście top10 największych korporacji zapachowych). Podobny los w 2018 roku spotkał ostatnie duże rodzime przedsiębiorstwo kojarzone z naturalnymi i syntetycznymi substancjami zapachowymi – Pollena Aroma została przejęta przez izraelski Frutarom (10 miejsce na liście top10 w 2018 r., obecnie włączony w struktury koncernu IFF), a obecnie jest w rękach również izraelskiej grupy Turpaz. Rodzimi producenci olejków bardzo powoli się odradzają (mikrodestylarnie lawendy w Wielkopolsce, róży na Lubelszczyźnie oraz sosny w Bieszczadach), podobnie jak krajowa sieć dystrybutorów.

ZAŁOŻENIA I CELE OSIĄGNIĘCIA HABILITACYJNEGO

Przemysł perfumeryjny oraz chemii gospodarczej mogą wybierać spośród ponad 3000 różnych materiałów zapachowych¹² pochodzenia naturalnego, identycznych z naturalnymi, semisyntetycznych i syntetycznych, a także spełniających zasady koszerności i halal. **Liczba dostępnych związków zapachowych znacznie się zmniejsza, gdy zamierza się je wykorzystywać w produktach relatywnie tańszych lub charakteryzujących się pH innym niż obojętne¹³, np. w zasadowych wybielaczach lub kwasowych płynach do czyszczenia powierzchni. Czynniki takie jak biodegradowalność, dyfuzyjność, poziom wyczuwalności, koszt produkcji, dodatkowe cechy, np. stabilność w roztworach o skrajnym pH, właściwości biostatyczne, biobójcze, repelentne, a także unikalność zapachu decydują o końcowej wartości związku zapachowego i jego komercyjnym sukcesie¹⁴. Legislacja europejska wyklucza wykorzystanie niektórych substancji zapachowych ze względu na ich toksyczność, a ograniczenia wynikające z kosztów i stabilności związków sprawiają, że poszukiwanie nowych produktów zapachowych o parametrach zbliżonych lub przewyższających wycofywane jest zbieżne z zainteresowaniami przemysłu perfumeryjnego oraz chemii gospodarczej. **Zauważając ciągle zmiany zachodzące w branży perfumeryjnej oraz perspektywy rozwoju, postanowiłem ukierunkować swoje zainteresowania naukowe na możliwość wygenerowania potencjału innowacyjnego „made in Poland”, integrującego wytwarzanie nowej wiedzy z aspektami praktycznymi. Wiodącą tezę moich badań było udowodnienie prawdziwości twierdzenia, że istnieje możliwość zaprojektowania syntetycznych, a także selekcji naturalnych materiałów zapachowych o zadanych cechach użytkowych, do zastosowania w różnych sektorach przemysłowych.****

W konsekwencji, w prowadzonych przeze mnie badaniach istotne było dążenie do osiągnięcia następujących celów (C1-C3):

C1: zwiększenia bazy materiałowej o nową grupę związków do zastosowania w specjalistycznych kompozycjach zapachowych przeznaczonych do perfumowania produktów funkcjonalnych posiadających wysokie pH [**H1-H4**];

C2: eksploracji aspektów stosowanych biorozdziału kinetycznego substancji zapachowych do otrzymywania czystych optycznie związków o interesującym profilu zapachowym i potencjalnym zastosowaniu w kompozycjach perfumeryjnych [**H5 i H6**];

C3: oceny potencjału przeciwdrobnoustrojowego (właściwości przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze oraz przeciwwirusowe) komercyjnych naturalnych produktów zapachowych do potencjalnego zastosowania w produktach biobójczych [**H7 i H8**].

KRYTERIA SELEKCJI MATERIAŁU BADAWCZEGO

Zwiększanie poziomu gotowości technologicznej nie jest procesem trywialnym i wymaga integracji różnych technik badawczych. Przedstawione przeze mnie osiągnięcie ma charakter zarówno badań podstawowych, jak i aplikacyjnych, jest interdyscyplinarne i wymaga wykorzystania technik badawczych z różnych dziedzin, w tym z chemii organicznej (synteza kombinatoryczna oraz klasyczna synteza nowych związków zapachowych), chemii analitycznej (konwencjonalna i chiralna chromatografia gazowa, olfaktometria), chemii procesowej (separacje optycznie czynnych związków zapachowych w bioreaktorach) oraz z zakresu badań biologicznych (mikrobiologia, toksykologia, badania enzymatyczne).

Główne kryteria selekcji materiału badawczego:

K1: Profil zapachowy – syntezowane i stosowane materiały zapachowe powinny posiadać interesujący profil zapachowy, dopasowany do aplikacji.

K2: Źródło i dostępność substancji wyjściowych – substancje wyjściowe powinny być łatwo dostępne, o pochodzeniu zarówno naturalnym, jak i syntetycznym. Preferowane pochodzenie jest uzależnione od typu docelowej aplikacji – naturalne dla zastosowań kierowanych do konsumentów, syntetyczne lub naturalne – dla użytkowników profesjonalnych.

K3: Luka badawcza i potencjał komercjalizacyjny – produkty końcowe i wykorzystywane materiały zapachowe powinny charakteryzować się elementami nowości, umożliwiającymi: i) opatentowanie wypracowanych rozwiązań lub ii) wypracowanie nowej wiedzy ukierunkowanej na potencjalne zastosowanie.

K4: Stabilność w produktach perfumeryjnych i/lub chemii gospodarczej – zarówno syntezowane związki, jak i inne wykorzystywane materiały zapachowe muszą być stabilne w mediach, w których będą potencjalnie stosowane.

Moje badania nad projektowaniem, syntezą i właściwościami syntetycznych oraz właściwościami naturalnych substancji zapachowych o zadanych cechach użytkowych, spełniających wszystkie główne kryteria selekcji i składające się na jednotematyczny cykl habilitacyjny, obejmowały następujące grupy materiałów wonnych:

Syntetyczne oksymy i etery oksymów

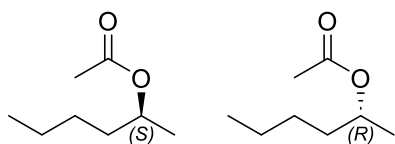
Lotne oksymy i etery oksymów są słabo poznanymi związkami chemicznymi. Współczesne badania związane z oksymami i eterami oksymów dotyczą głównie aspektów syntetycznych i ich właściwości bójczych¹⁵⁻¹⁷. Należy podkreślić, że praktycznie wszystkie badania w tym obszarze, prowadzone przez naukowców na całym świecie, dotyczą związków nielotnych.

Celem prowadzonych przeze mnie badań była ocena potencjału użytkowego i właściwości lotnych oksymów i eterów oksymów (K1). Naturalne aldehydy i ketony są łatwo dostępnymi substratami (K2), które nie były praktycznie wykorzystywane do syntezy zapachowych oksymów i eterów oksymów, w związku z czym otrzymane związki były w większości nowe (etry oksymów), a ich właściwości użytkowe nieznanne. Do osiągnięcia zamierzonego celu wykorzystalem syntezę klasyczną i kombinatoryczną oksymów i eterów oksymów (publikacje H1 i H3) wraz z określeniem ich właściwości użytkowych, w tym profilu zapachowego (K1, publikacje H1-H3) oraz ich wpływu na człowieka (K3, publikacja H4). Plany realizacji mojego pomysłu znalazły uznanie wśród środowiska naukowego, dzięki czemu uzyskałem finansowanie na prowadzenie badań na Politechnice Wrocławskiej w tym zakresie, wraz z nowo powołanym zespołem (który istnieje do dzisiaj) z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (program LIDER). Cała koncepcja była od samego początku nastawiona na aplikację z silnymi elementami poznawczymi. Oprócz działalności naukowej, jestem związany z firmą Liquid Technologies, która zajmuje się projektowaniem, produkcją i sprzedażą specjalistycznych preparatów chemicznych, głównie dla branży HVAC (ang. *Heating, Ventilation, Air Conditioning*). Bardzo ważnym aspektem produktów z tego segmentu jest ich zapach. Dobór odpowiedniej kompozycji zapachowej nie jest trudny dla preparatów, których pH jest bliskie obojętnemu. Dla silnie kwaśnych środowisk wybór kompozycji jest znacznie ograniczony, ale istnieje, a bardzo duże problemy występują w przypadku produktów silnie zasadowych. W teorii koncerny zapachowe, jak i dystrybutorzy kompozycji zapachowych posiadają w swojej ofercie koncentraty, które są przeznaczone do środowiska zasadowego, ale w naszej praktyce zastosowanie ich dla produktów o pH = 14 skutkuje szybką zmianą profilu zapachowego kompozycji i pojawienia się nut stęchłych, co powoduje znaczne obniżenie atrakcyjności oferowanego preparatu użytkowego lub brak możliwości jego sprzedaży. Oksymy i etery oksymów są stabilne w pH >7¹⁸ i są potencjalnymi kandydatami do zastosowania w kompozycjach zapachowych przeznaczonych dla produktów silnie zasadowych (K4). Pomimo istnienia kilku patentów zagranicznych producentów substancji zapachowych, nie wdrożono do tej pory na rynek żadnego eteru oksymu (K3).

Syntetyczne alkohole i estry

Niskocząsteczkowe alkohole i estry są bardzo często wykorzystywane jako składniki formulacji kompozycji smakowych i zapachowych. Przeważająca większość z nich to związki achiralne, a spośród chiralnych jedno z ważniejszych przedstawiłem poniżej.

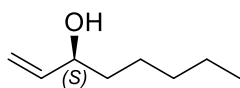
octany 2-heksanolu¹⁹



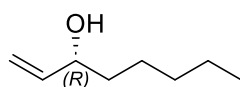
Nuty potu, kwaśne, owocowe, śliwkowe, nektarynkowe

Nuty kwaśne, owocowe, wiśniowe, śliwkowe,

matsutakeole²⁰

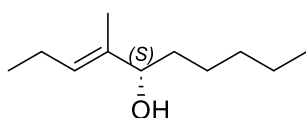


Nuty pleśniowe, trawiaste, sztuczne

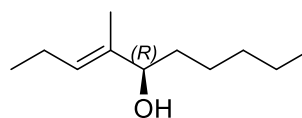


Nuty owocowe, grzybowe

Undekawertole²¹

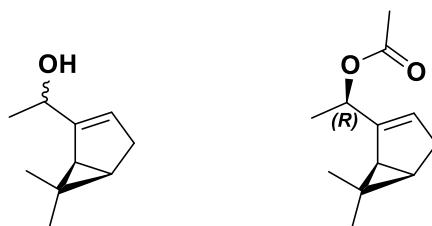


Słabszy enancjomer, owocowo-zielone nuty z niuansami herbacianymi, nietypowy dla undekawertolu, $ee = 75\%$



Typowy zapach undekawertolu, kwiatowy, zielony, świeży, liście fiołków, silniejszy i bardziej zielony niż komercyjny racemiczny produkt. Wyczuwalne niuanse ogórka, $ee = 93\%$

Modelowy substrat (Rys. 1) do procesów (C2, publikacje **H5** i **H6**) rozdziału kinetycznego ((+)-(*S/R*)-1-[(1*S*,5*R*)-6,6-dimetylobicyklo[3.1.0]heks-2-en-2-yl)]etanol wybrałem ze względu na interesujące właściwości zapachowe czystego optycznie (*R*)-octanu, który charakteryzuje się drzewno-balsamicznym zapachem z nutami miodowymi (*K1*). Taka charakterystyka olfaktoryczna jest niezwykle interesująca dla przemysłu perfumeryjnego do zastosowania w klasycznych kompozycjach perfumeryjnych (*ang.* fine fragrances). Charakter chemiczny (alkohol/ester) wyjściowego alkoholu i izomerycznych produktów umożliwia ich zastosowanie w tym segmencie produktowym (wodno-alkoholowe roztwory związków zapachowych, *K4*).



Rys. 1. Modelowy substrat (alkohol) i produkt (ester) o pożądanym walorach sensorycznych.

Dodatkowo, wyjściową mieszaninę izomerów modelowego alkoholu można otrzymać w wyniku waloryzacji (+)-3-karenu, będącego powszechnie występującym składnikiem sosnowych olejków eterycznych oraz produktu ubocznego przetwarzania pulpy drzewnej (K2). Izomery modelowego alkoholu próbowano rozdzielić w przeszłości²², jednak żaden z zastosowanych komercyjnie dostępnych biokatalizatorów nie umożliwił efektywnego otrzymania optycznie czystego produktu (K3).

Olejki eteryczne i ekstrakty

Olejki eteryczne, zgodnie z normą ISO 9235:2021 (Aromatic natural raw materials — Vocabulary) są produktami pozyskanymi z roślin, zawierającymi najczęściej od kilkudziesięciu do setek związków lotnych. Produkowane są jedynie metodami fizycznymi (ekspresja i destylacja)²³. Z drugiej strony, ekstrakty roślinne i zwierzęce uzyskuje się na drodze ekstrakcji rozpuszczalnikami z wykorzystaniem klasycznej ekstrakcji ciało stałe-ciecz (konkrety, pomady, absoluty, oleorezyny) lub z wykorzystaniem nowoczesnych technik (ekstrakcja cieczą nadkrytyczną – ekstrakty CO₂ oraz ekstrakcja wspomaganą mikrofalami). Oba typy naturalnych mieszanin wykorzystałem w swoich badaniach ze względu na interesujące profile zapachowe (K1) oraz dobrą stabilność w docelowych produktach, w których będą mogły być zastosowane (płukanki do ust, produkty biobójcze: wodno-alkoholowe lub wodno-detergentowe mieszaniny substancji zapachowych, K4). W latach 2000-2022 opublikowano ponad 5000 prac dotyczących właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych olejków eterycznych, w porównaniu do 864 dotyczących właściwości owadobójczych, czy tylko 230 dotyczących właściwości przeciwwirusowych (źródło: Web of Science). Badania nad olejkami, zarówno podstawowe, jak i aplikacyjne, są najczęściej prowadzone na jednym lub kilku materiałach, co jest istotnym ograniczeniem przy poszukiwaniu materiałów o jak najwyższej aktywności biologicznej. W badaniach własnych wykorzystałem bardzo szeroki zakres komercyjnych, łatwo dostępnych produktów naturalnych (biblioteka ponad 500 olejków eterycznych i ekstraktów aromatycznych, K2 i K3) pochodzących z całego świata, co umożliwiło wykonanie kompleksowych analiz biologicznych (C3, publikacje H7 i H8).

OPIS SZCZEGÓŁOWY

OKSYMY I ETERY OKSYMÓW DO ZASTOSOWANIA W SPECJALISTYCZNYCH KOMPOZYCJACH ZAPACHOWYCH – ASPEKTY PODSTAWOWE I STOSOWANE

Synteza i właściwości użytkowe oksymów

W literaturze naukowej istnieje wiele doniesień dotyczących składu chemicznego naturalnych produktów zapachowych. Ze względu na zwykle bardzo ograniczoną ilość dostępnego materiału badawczego, badania strukturalne są często ograniczone do analizy GC/MS i porównania eksperymentalnych widm masowych z komercyjnie dostępnymi bazami widm. Oksymy są związkami, które nie są nieznane w naturze, są produktami pośrednimi w biosyntezie związków obronnych roślin i insektów (glikozydy cyjanogenne), mogą także powstawać w wyniku aktywności transoksymaz. Istnieją nieliczne doniesienia literaturowe wskazujące na obecność lotnych oksymów w naturalnych mieszaninach smakowych i zapachowych²⁴. Stosunkowa rzadkość raportowania oksymów jako składników skomplikowanych naturalnych matryc może być związana z bardzo małą ilością zdeponowanych widm masowych i liniowych współczynników retencji (LRI) w komercyjnych bazach danych. Celem naukowym moich badań dotyczących oksymów [H1] była eksploracja niszy badawczej w postaci pierwszego na świecie doniesienia naukowego przedstawiającego charakterystykę chromatograficzną i spektralną lotnych oksymów, określenie ich właściwości użytkowych wraz z przedstawieniem wpływu stereochemii na atrybuty sensoryczne poszczególnych izomerów. W toku prac syntetycznych wytypowałem 57 niskocząsteczkowych związków karbonylowych i zsyntezowałem 57 oksymów, które również służyły jako substraty do syntezy eterów oksymów (omówione w pracy H3). Przygotowane związki można pogrupować jako pochodne aldehydu cynamonowego, benzaldehydu, jononów, cytralu, *p*-mentanu, związków bicyklicznych oraz jasmonu. Wyzaczyliśmy profile zapachowe wszystkich otrzymanych związków. W prace sensoryczne zaangażowani byli, oprócz pracowników Politechniki Wrocławskiej, uznani specjaliści w zakresie sensoryki z Politechniki Łódzkiej. Najbardziej interesujące profile zapachowe przedstawiłem w tabeli 1.

Należy podkreślić, że w literaturze naukowej można znaleźć wzmianki jedynie o 13 profilach zapachowych spośród 57, które zostały opisane w ramach naszych badań²⁵⁻²⁸. Dla wszystkich związków zebrałem widma masowe z zastosowaniem GC-MS oraz wyznaczyłem liniowe współczynniki retencji (LRI) z wykorzystaniem trzech faz stacjonarnych (dimetylopolisiloksanowa, 5% (fenylo) dimetylopolisiloksanowa oraz polietylenoglikolowa).

Tabela 1. Oksymy o najbardziej interesującym profilu zapachowym. Zaadaptowano z **H1**

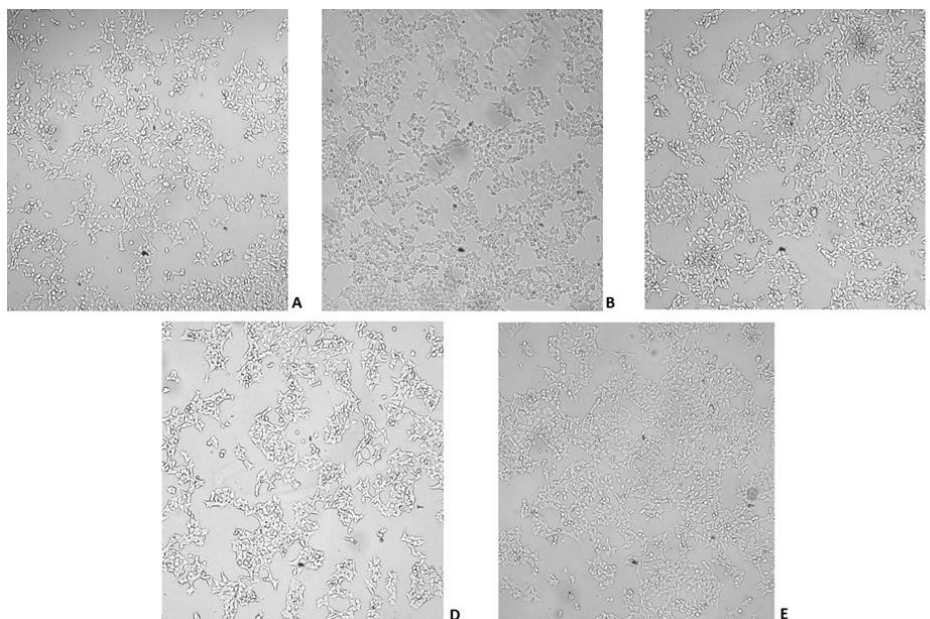
Nr	Oksym	Profil zapachowy
1	<i>p</i> -aldehydu anyżowego	Kumarynowy z nutami owocowymi
2	cyklocytralu	Intensywny, ziemisty z nutami paczuli, mchu i skóry (ODT*: 5 ppm)
3	(+)-izomentonu	Świeży, pleśniowy, zielony z nutami mentolowymi, efekt chłodzenia przy inhalacji (ODT*: 2 ppm)
4	(±)-cytronelalu	Zielony, cytrusowy z nutami kwiatowymi
5	(-)-cytronelalu	Bardziej intensywny i mniej zielony niż mieszanina racemiczna z delikatnymi różanymi i ostrymi cytrusowymi nutami (ODT*: 50 ppm)
6	(+)-cytronelalu	Świeży, zielony, różany, mniej cytrusowy niż mieszanina racemiczna i izomer (-) (ODT*: 100 ppm)
7	(±)-2-fenylpropionalu	Hiacyntowo-akacjowy
8	propiofenonu	Kwiatowy (gerbera i geranium)

*ODT – *ang.* Olfactory Detection Threshold, próg wyczuwalności zapachu

Niektóre oksymy występowały w postaci mieszaniny izomerów *E* i *Z*. Tam, gdzie się udało je rozdzielić (22 z 57 związków) przypisałem konkretnym wartościom LRI, czy dotyczą one izomeru *E* czy *Z*. Było to możliwe dzięki połączeniu informacji uzyskanych z eksperymentów GC-FID oraz widm ¹H i ¹³C NMR. Korzystając z metody chromatografii gazowej sprzężonej z olfaktometrią udało nam się ocenić właściwości sensoryczne konkretnych izomerów geometrycznych. Takie badania są niezwykle rzadkie, a dla oksymów pionierskie. Izomery 11 z 22 ocenionych związków posiadały podobny profil zapachowy, zarówno pod względem nut zapachowych, jak i intensywności zapachu. W 4 przypadkach (oksymy dihydro-β-jononu, dihydrocytronelalu, izopulegonu i piperytonu) główny izomer był bardziej intensywny pod względem zapachu, a profil obu był podobny. (*E*)-oksym fenylacetaldehydu był bardziej intensywny, a jego profil zapachowy był bardziej kwiatowy niż izomeru *Z*. Izomery mniejszościowe 4 związków były bardziej intensywne, w dwóch przypadkach profil zapachowy był podobny (oksymy dihydro-α-jononu i aldehydu cynamonowego) a w dwóch różny (oksymy (+)-izomentonu: mniejszościowy izomer *Z* – profil czysto mentonowy, izomer *E* – profil zielony; oksymy (±)-cytronelalu: mniejszościowy izomer *Z* – bardziej zielony, izomer *E* – bardziej kwiatowy). W przypadku geranyloacetonu okazało się, że za zapach odpowiedzialne są tylko izomery *Z*, izomery *E* były bezwonne. Dodatkowo, dla wszystkich par enancjomerycznych, przeprowadziłem próby rozdziału z wykorzystaniem chiralnej chromatografii gazowej i 4 różnych faz stacjonarnych: α-cyklodekstrynowej, dwóch różnych β-cyklodekstrynowych oraz γ-cyklodekstrynowej. Najlepsze rezultaty uzyskałem dla kolumny

zawierającej modyfikowaną dimetylosilylo β-cyklodekstrynę, gdzie udało mi się całkowicie rozdzielić enancjomery oksymów kamfory, mentonu, piperytonu i karwonu. Syntetyczna i chromatograficzna część badań dotycząca oksymów dostarczyła podstawowych i kluczowych informacji, które umożliwią efektywniejszą identyfikację tych związków w naturalnych matrycach. Dodatkowo, pełna charakterystyka zapachowa oksymów wykazała, że część z nich może być wykorzystana jako komponent kompozycji zapachowych ze względu na posiadanie unikatowych nut zapachowych (np. oksymy (+)-izomentonu i cyklocytralu). Jednymi z istotnych parametrów, dotyczącymi nowych produktów zapachowych, pod kątem ich ewentualnego zastosowania są potencjał przeciwdrobnoustrojowy oraz toksyczność. Właściwości przeciwdrobnoustrojowe oksymów są znane i badane, dotyczą one jednak głównie związków nielotnych¹⁶. W związku z tym zaplanowałem badania [H2] związane z charakterystyką porównawczą toksyczności oraz właściwości przeciwdrobnoustrojowych lotnych oksymów i powszechnie występujących i stosowanych związków karbonylowych (będących substratami do syntezy oksymów). Do wstępnej oceny bezpieczeństwa stosowania lotnych oksymów wykorzystaliśmy metodę *in-silico* ADME-Tox (*ang.* Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity), która jest wykorzystywana w badaniach potencjalnych leków. Dzięki niej można również dokonać wstępnej oceny bezpieczeństwa stosowania nowych związków chemicznych. Dane dostępne w literaturze dotyczą jedynie wyjściowych związków karbonylowych. Wyniki obliczeń pokazały, że wytypowane oksymy nie posiadają właściwości toksycznych, najważniejsze parametry, w tym potencjał blokowania kanałów potasowych HERG K⁺ i przewidywana przenikalność przez skórę oraz potencjał wiązania do ludzkiej albuminy osocza były w normie. Jedynie w przypadku oksymów aldehydu α-amylo i α-heksylcynamonowego wartość parametru blokowania kanałów potasowych logIC₅₀ była poniżej rekomendowanej wartości -5. Cytotoksyczność oksymów oraz wyjściowych związków karbonylowych zbadaliśmy na liniach komórkowych HEK293T, które są powszechnie wykorzystywane do oceny toksyczności materiałów zapachowych^{29,30}. Wszystkie przebadane związki nie były toksyczne wobec wybranych zdrowych ludzkich linii komórkowych (przeżywalność >85%) w teście MTS, wykorzystującym zdolność dehydrogenazy mitochondrialnej do redukcji soli tetrazolowej do ciemnoniebieskiego barwnika formazanowego rozpuszczalnego w medium reakcyjnym. Dodatkowo, nie zaobserwowaliśmy żadnych zmian w morfologii komórek po ekspozycji na badane związki (Rys. 2). Wyniki testów toksyczności *in-vitro* są zbieżne z wynikami eksperymentów *in-silico*, na podstawie których można wstępnie stwierdzić względne bezpieczeństwo stosowania

oksymów. W celu określenia właściwości użytkowych lotnych oksymów przeprowadziliśmy testy na aktywność przeciwdrobnoustrojową.



Rys. 2. Zdjęcia mikroskopowe linii komórkowych HEK293T. **A.** Kontrola. **B.** Po dodaniu oksymu propiofenonu **C.** Po ekspozycji na oksym β -jononu **D.** Po ekspozycji na oksym (+)-karwonu **E.** Po ekspozycji na oksym norkamfory. Analiza porównawcza obrazów wskazuje, że przebadane związki nie mają wpływu na morfologię i przeżywalność komórek. Rysunek zaadaptowano z **H2**.

W badaniach wykorzystaliśmy mikroorganizmy patogenne, bakterie gram dodatnie: *Enterococcus hirae* (ATCC 10541), *Bacillus cereus* (ATCC 10231), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), Gram-ujemne: *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Legionella pneumophila* (ATCC 33152) oraz grzybowe, *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) i *Candida albicans* (ATCC 10231). Testy przesiewowe przeprowadzono metodą krążkowo-dyfuzyjną w agarze z wykorzystaniem antybiotyków jako kontroli pozytywnych – netylmycyny, ofloksacyny i flukonazolu. Wszystkie związki, które uzyskały pozytywny wynik w testach przesiewowych poddano testom właściwym w celu wyznaczenia parametru MIC – minimalnego stężenia hamującego wzrost mikroorganizmu. W tym celu wykorzystano test mikrorozcieńczeń na płytkach 96-dółkowych z wykorzystaniem barwnika Alamarblue®. Jest to test przeżywalności komórek, bazujący na zdolności przekształcania przez żywe komórki resazury (niebieski barwnik) w resorufinę (różowy barwnik). W toku przeprowadzonych badań (Tabela 2) okazało się, że ugrupowanie oksymowe może mieć wpływ na właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Często, gdy wyjściowy związek

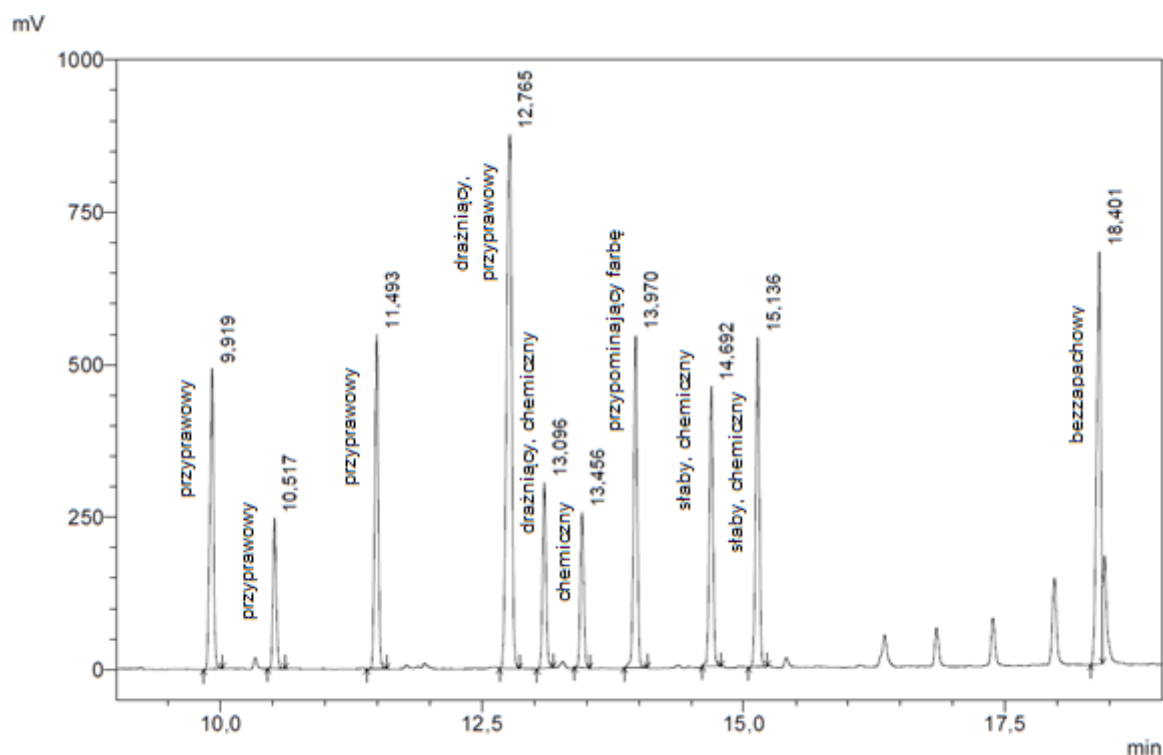
karbonylowy nie wykazywał aktywności przeciw mikroorganizmom, to produkt oksymacji już ją wykazywał. Najbardziej jaskrawym przykładem jest oksym α -izometylojononu, który był 64 razy bardziej aktywny (MIC = 18.75 mg/L) wobec *E. hirae* w porównaniu do wyjściowego α -izometylojononu (MIC = 1200 mg/L). W niektórych przypadkach oksymy wykazywały się słabszą aktywnością niż wyjściowe związki karbonylowe, ale różnica ta nie była znacząca (na przykład kamfora i oksym kamfory wobec *E. coli* – MIC wynosi odpowiednio 75.5 mg/L i 150 mg/L).

Tabela 2. Oksymy o największej aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Zaadaptowano z **H2**.

Mikroorganizm	Związek	MIC [mg/L] (mM)
<i>E. coli</i>	(-)-Kamfora	75.50 (0.50)
	(-)-Oksym kamfory	150.00 (0.90)
	Ampicylina	25.00 (0.07) ³¹
<i>L. pneumophila</i>	β -Jonon	150.00 (0.78)
	Oksym β -jononu	37.50 (0.18)
	Dihydro- β -jonon	300.00 (1.55)
	Oksym dihydro- β -jononu	150.00 (0.72)
	Gentamycyna	0.39 (0.0008) ³²
<i>E. hirae</i>	α -Izometylojonon	1200 (5.82)
	Oksym α -izometylojononu	18.75 (0.08)
	Cyprofloksacyna	8.00 (0.02) ³³
<i>B. cereus</i>	Pseudojonon	300 (1.54)
	Oksym pseudojononu	150.00 (0.72)
	Gentamycyna	2.00 (0.004) ³⁴
<i>S. aureus</i>	α -Heksylocynamaldehyd	225.00 (1.04)
	Oksym α -heksylocynamaldehydu	37.50 (0.16)
	β -Jonon	1200 (6.21)
	Oksym β -jononu	37.50 (0.18)
	Ampicylina	10.00 (0.03) ³¹
<i>A. brasiliensis</i>	Aldehyd cynamonowy	112.50 (0.85)
	Oksym aldehydu cynamonowego	37.50 (0.25)
	<i>cis</i> -Jasmon	75.00 (0.46)
	Oksym <i>cis</i> -jasmonu	37.50 (0.21)
	Amfoterycyna B	1.00 (0.001) ³⁵
<i>C. albicans</i>	Aldehyd cynamonowy	37.50 (0.28)
	Oksym aldehydu cynamonowego	75.00 (0.51)
	Pseudojonon	112.50 (0.58)
	Oksym pseudojononu	37.50 (0.18)
	Amfoterycyna B	1.00 (0.001) ³⁴

Małe biblioteki kombinatoryczne eterów oksymów jako użyteczne narzędzie w poszukiwaniu nowych syntetycznych związków zapachowych.

Badania wstępne, które przeprowadziłem z wykorzystaniem substratów oksymowych otrzymanych w [H1], wykazały, że etery oksymów mogą wykazywać się interesującymi właściwościami sensorycznymi. Najpopularniejszą strategią w procesie odkrywania nowych związków zapachowych jest czaso- i zasobochłonna klasyczna synteza organiczna dużej ilości związków organicznych i sukcesywna ocena zapachowa oczyszczonych produktów. Z tego względu wykorzystałem nowoczesną metodę chemii kombinatorycznej do otrzymania małych bibliotek lotnych eterów oksymów [H3] w kierunku oceny ich potencjału zapachowego i zastosowania w produktach funkcjonalnych. Pierwsze podejście zakładało stworzenie jednej biblioteki kombinatorycznej (380 związków) w wyniku reakcji 38 oksymów z 10 halogenkami alkilowymi. Strategia ta nie powiodła się ze względu na dużą ilość przypadków koelucji w eksperymentach chromatografii gazowej. Postanowiłem zastosować syntezę równoległą i przygotowałem 38 mieszanin reakcyjnych (warunki klasycznej syntezy eterów Williamsona), które, analizowaliśmy sensorycznie wykorzystując sprzężenie technik chromatografii gazowej i olfaktometrii (Rys. 3).



Rys. 3. Przykładowy chromatogram małej biblioteki kombinatorycznej eterów oksymu aldehydu dihydrocynamonowego. Rysunek zaadaptowano z H3.

Takie podejście umożliwiło nam wytypowanie 29 (z puli 380 związków) potencjalnie interesujących związków zapachowych. Wszystkie związki otrzymaliśmy w 10 mmol skali i scharakteryzowaliśmy chromatograficznie i spektralnie. Pełną charakterystykę olfaktoryczną opracowaliśmy we współpracy z trzema uznanymi perfumiarkami, mającymi wieloletnie doświadczenie w perfumerii i ocenie związków i kompozycji zapachowych. Związki o najbardziej interesującym profilu zapachowym przedstawiono w tabeli 3 wraz z progami wyczuwalności zapachu.

Tabela 3. Wybrane profile zapachowe i progi wyczuwalności zapachu eterów oksymów.

Nr	Związek	Profil zapachowy	ODT [ppm]
1	Eter metylowy oksymu aldehydu <i>m</i> -anyżowego	Nuty anyżowe, kwiatowe i kumarynowe	25
2	Eter metylowy oksymu aldehydu <i>o</i> -anyżowego	Nuty przyprawowe, pieprzowe, ziela angielskiego, anyżowe, kwiatowe i wiśniowe	58
3	Eter metylowy oksymu aldehydu <i>p</i> -anyżowego	Nuty anyżowe, koprowe, siana i fiołkowe	15
4	Eter metylowy oksymu benzaldehydu	Owocowo-kwiatowy (czerwone owoce – maliny, poziomki, wiśnie)	75
5	Eter <i>n</i> -propylowy oksymu benzaldehydu	Nuty zielone, owocowe, różane i ziołowe	125
6	Eter <i>n</i> -propylowy oksymu cytralu	Bogaty profil zapachowy, kwiatowy (aksamitka) z delikatnymi nutami owocowo-cytrynowymi	0.1
7	Eter metylowy oksymu dihydrojasmonu	Świeży, kwiatowy, jaśminowy z nutami herbacianymi i plastikowymi, następnie przechodzi w ziołowo-anyżowy, z nutami koprowymi i jaśminowymi. Po kilku minutach wyczuwalne są delikatne nuty grzybowe.	53
8	Eter metylowy oksymu (-)-aldehydu perylowego	Profil kwiatowo-morski z wyczuwalną słodkością heliotropu	12
9	Eter etylowy oksymu (-)-aldehydu perylowego	Białe kwiaty, nuty liliowe, aldehydowe, tłuszczowe i słodkie	50
10	Eter etylowy oksymu propiofenonu	Owocowy (czerwony agrest) z niuansami cytrusowymi (limetki)	110
11	Eter metylowy oksymu <i>m</i> -tolualdehydu	Owocowy z nutami grejpfrutowymi, kamforowymi z niuansami drzewa wiśniowego	80
12	Eter metylowy oksymu <i>o</i> -tolualdehydu	Odurzający, przypominający krezol z nutami kwiatowymi, narcyzowymi, ylang-ylang i tuberozy	80
13	Eter metylowy oksymu <i>p</i> -tolualdehydu	Anyżowy z nutami lukrecji i ziół	50

Właściwości użytkowe oraz oddziaływanie na człowieka niskocząsteczkowych oksymów i eterów oksymów.

Każde nowe substancje chemiczne wprowadzane na rynek powinny być badane pod kątem ich bezpieczeństwa stosowania. Takie podejście należy zastosować w szczególności, gdy implementowana jest całkowicie nowa klasa związków chemicznych, gdyż nie jest możliwe efektywne przewidzenie ryzyka, jakie takie substancje stwarzają. Etery oksymów są bardzo słabo poznane pod kątem toksyczności i potencjału mutagennego. W związku z tym przeprowadziliśmy analizę toksyczności lotnych oksymów i eterów oksymów na zdrowych ludzkich liniach komórkowych, potencjału genotoksycznego i mutagennego [H4]. W prace badawcze, oprócz pracowników Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej, zaangażowana była grupa z Wydziału Inżynierii Środowiska Politechniki Wrocławskiej kierowana przez prof. Katarzynę Piekarską. W celu określenia potencjału genotoksycznego wykonaliśmy test SOS-Chromotest na wybranych oksymach, eterach oksymów i związkach karbonylowych. Wykorzystuje on zmodyfikowany szczep bakterii *Escherichia coli* do wykrywania uszkodzeń DNA³⁶. Genotoksyczność jest wykrywana poprzez pomiar aktywacji odpowiedzi SOS bakterii przez ocenę indukcji β -galaktozydazy i ekspresji fosfatazy zasadowej^{37,38}. Substancja jest klasyfikowana jako nie posiadająca właściwości genotoksycznych, jeśli wartość SOSIF (*ang.* SOS Induction Factor) wynosi poniżej 1,5, o nieznanej klasyfikacji, jeśli wartość SOSIF wynosi między 1,5 a 2,0, a jako genotoksyczna, jeśli wartość SOSIF przekracza 2,0 w połączeniu z występowaniem zależności dawka-odpowiedź. Żadna z badanych substancji w stężeniu referencyjnym (oksym bukko, stemon, cytral, oksym cytralu i eter metylowy oksymu propiofenonu) nie była genotoksyczna, ponieważ wartość SOSIF nie przekroczyła 2. Może to wskazywać, że badane substancje nie są metabolizowane do genotoksycznych pochodnych.

Do oceny potencjału mutagennego oksymów i eterów oksymów wykorzystaliśmy test Ames. Wykorzystuje on bakterie *Salmonella typhimurium* do wykrywania mutacji przesuwających ramkę odczytu lub mutacji punktowych w genach niezbędnych do biosyntezy histydyny. Ze względu na mutacje wywołane przez substancję mutagenną lub spontaniczną mutację, komórka bakteryjna może przywrócić zdolność do wzrostu bez dodatkowego dostarczania histydyny. Stopień mutagenności związków jest skorelowany z liczbą komórek, które mogą rosnąć w środowisku pozbawionym histydyny^{39,40}. W badaniu wykorzystano szczep TA98 wykrywający mutacje przesuwające ramkę odczytu oraz szczep TA100 wykrywający podstawienie par zasad. W teście Ames MPF TM 98/100 przetestowaliśmy 24

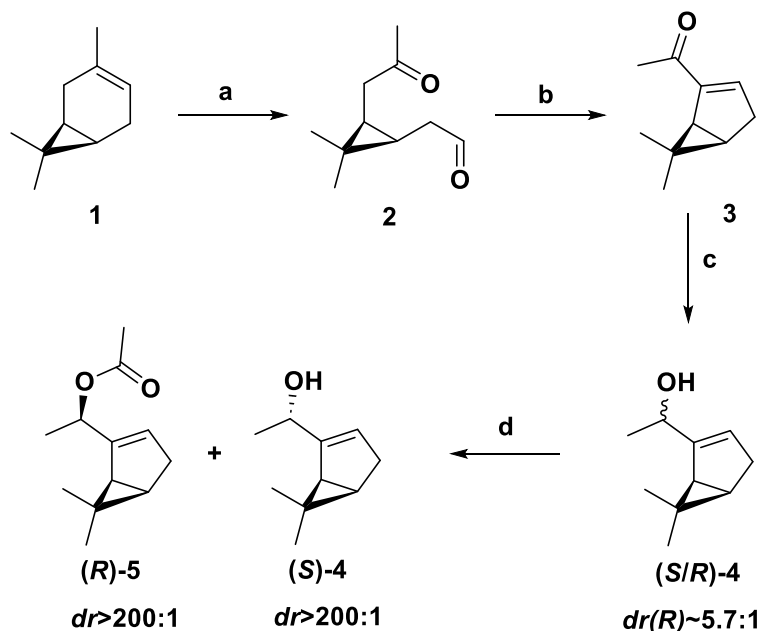
związki. W zakresie testowanych stężeń nie zaobserwowaliśmy tendencji dawka-odpowiedź, dlatego wszystkie badane substancje nie są uważane za mutagenne.

Analiza podatności zdrowych komórek na substancje chemiczne może być wykonywana z użyciem różnych linii komórkowych^{41,42}. Cytotoksyczność wszystkich związków została oceniona na ludzkiej linii komórkowej HEK293T przy użyciu testu proliferacji komórek (MTS), podobnie jak w przypadku pracy dotyczącej oksymów [H2]. Żadna z badanych substancji nie była toksyczna dla komórek i nie zaobserwowano istotnych zmian w żywotności lub morfologii komórek. Wszystkie komórki miały wskaźnik przeżywalności powyżej 87%. Oksym bukko, stemon, eter etylowy oksymu (-)-aldehydu perylowego, eter etylowy oksymu propiofenonu oraz eter etylowy oksymu *m*-tolualdehydu miały najmniejszy negatywny wpływ na przeżywalność komórek (przeżywalność powyżej 90%). Wszystkie etery oksymów wykazywały większy negatywny wpływ na żywotność komórek w porównaniu z oksymami, ale różnice pomiędzy nimi nie były istotne.

W pracy dotyczącej właściwości użytkowych i bezpieczeństwa stosowania oksymów [H2] zaobserwowaliśmy, że obecność grupy oksymowej często prowadzi do zwiększenia aktywności przeciwbakteryjnej. Metylowanie lub etylowanie grupy oksymowej skutkowało zmianą podatności na określone mikroorganizmy w porównaniu do substratów oksymowych i karbonylowych. Całkowitą utratę aktywności przeciwbakteryjnej zaobserwowaliśmy tylko w przypadku eteru metylowego oksymu (-)-aldehydu perylowego. Wszystkie etery metylowe izomerów oksymów tolualdehydów wykazywały taką samą aktywność przeciwko *A. brasiliensis*, co oznacza, że pozycja grupy metylowej w pierścieniu benzenowym nie wpływa na ich właściwości. Spośród eterów oksymów jedynie eter etylowy oksymu propiofenonu wykazywał zadowalającą aktywność (MIC = 0,300 mg/mL) wobec bakterii gram-ujemnej *L. pneumophila*. Eter metylowy oksymu aldehydu dihydrocynamonowego, a także etery metylowe oksymów *m*-tolualdehydu, *o*-tolualdehydu i *p*-tolualdehydu wykazywały umiarkowaną aktywność (MIC = 0,600 mg/mL) wobec *A. brasiliensis*. Oksym propiofenonu nie wykazywał aktywności hamującej wzrost *L. pneumophila*, podczas gdy jego eter etylowy miał dwukrotnie wyższą aktywność hamującą wzrost (MIC = 0,300 mg/mL) niż odpowiadający mu związek karbonylowy (MIC = 0,600 mg/mL). Porównanie aktywności przeciwbakteryjnej oksymów i eterów oksymów z powszechnie stosowanym środkiem konserwującym, metyloparabenem (MIC w zakresie 0,400-3,200 mg/mL), pokazało, że badane związki nie wykazały tak szerokiego spektrum właściwości przeciwdrobnoustrojowych, ale w wielu przypadkach ich potencjał był większy.

BIOROZDZIAŁ KINETYCZNY MIESZANINY ALKOHOLI POCHODZENIA TERPENOWEGO W UKŁADZIE OKRESOWYM I CIĄGLYM W KIERUNKU OTRZYMYWANIA ESTRÓW O POTENCJALE PRZEMYSŁOWYM

Lotne alkohole i estry są powszechnie wykorzystywane w przemyśle perfumeryjnym jako składniki kompozycji zapachowych. W przypadku związków optycznie czynnych najczęściej oferowane są one w postaci mieszanin izomerów ze względu na niższe koszty produkcji. Jednym ze sposobów otrzymywania czystych optycznie czynnych związków jest biorozdział kinetyczny. Jest on coraz częściej stosowany w procesach otrzymywania związków zapachowych na większą skalę ze względu na łagodne warunki prowadzenia procesu. Lipazy są szeroko wykorzystywanymi katalizatorami ze względu na ich regio- i stereospecyficzność oraz zachowanie właściwości katalitycznych w niepolarnych rozpuszczalnikach organicznych w przypadku rozdziału optycznie czynnych alkoholi i estrów. Dodatkowo, ich aktywność może być wzmocniona poprzez immobilizację na nośnikach nierozpuszczalnych w medium reakcyjnym. Jedną z możliwości wykorzystania biokatalizatorów do otrzymywania interesujących komercyjnie związków na większą skalę jest optymalizacja ich parametrów operacyjnych do zastosowania w procesach okresowych. W związku z tym zaplanowałem szereg prac [H5], gdzie kluczowym aspektem była ocena wpływu immobilizacji na 5 nośnikach lipazy z *Burkholderia cepacia* na jej parametry użytkowe (aktywność, stabilność termiczną, na przechowywanie i operacyjną).



Schemat 2. Droga otrzymywania i biorozdziału kinetycznego modelowego optycznie czynnego alkoholu **4** i estru **5**. Warunki reakcji: a) (I) ozon; (II) pył cynkowy, kwas octowy; (b) 5% NaOH; (c) LiAlH₄; (d) lipaza z *Burkholderia cepacia*, octan winylu.

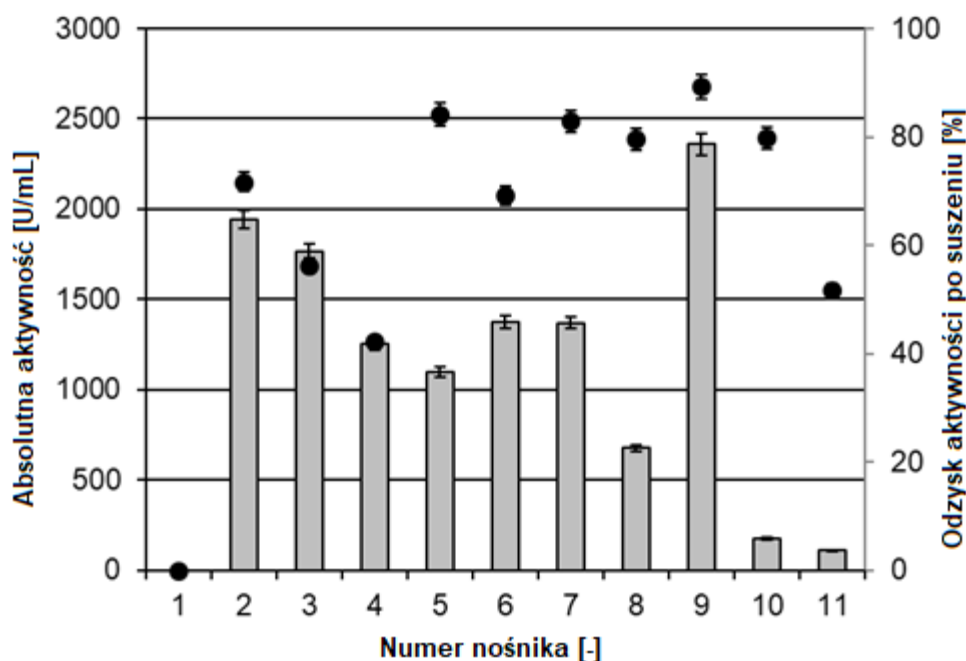
Jako materiał wyjściowy wybrałem ((+)-(S/R)-1-[(1S,5R)-6,6-dimetylobicyklo[3.1.0]heks-2-en-2-yl)]etanol **4** (Schemat 2), ze względu na bardzo interesujące właściwości zapachowe czystego optycznie estru (*R*)-**5**, który w odróżnieniu od mieszaniny izomerów posiada nuty miodowe, oraz możliwość waloryzacji (+)-3-karenu, węglowodoru monoterpenowego, będącego jednym z głównych składników polskiej terpentyny. Wyjściowy alkohol otrzymałem na drodze trzyetapowej syntezy (Schemat 2). W pierwszym etapie (+)-3-karen **1** przekształciłem do ozonku, który zredukowałem pyłem cynkowym do ketoaldehydu **2**. Dikarbonylowy produkt pośredni poddałem wewnątrzcząsteczkowej kondensacji aldolowej z wykorzystaniem wodnego roztworu wodorotlenku sodu, w wyniku czego otrzymałem **3**. Bicykliczny enon **3** redukowałem glinowodorkiem litu otrzymując substrat do reakcji enzymatycznych w postaci mieszaniny diastereoizomerów w stosunku 85:15 (*R*:*S*).

W celu immobilizacji lipazy z *Burkholderia cepacia* wybraliśmy 5 nośników charakteryzujących się różnicami w materiale, porowatości i grupach funkcyjnych i przygotowaliśmy 11 preparatów enzym-nośnik (Tabela 4).

Tabela 4. Uzyskane preparaty enzym-nośnik. (ZS) – nośnik krzemionkowy, (A) – nośnik akrylowy, (G) – nośnik celulozowy. Ads – immobilizacja adsorpcyjna. W pozostałych przypadkach immobilizacja kowalencyjna. Tabelę zaadaptowano z publikacji **H5**.

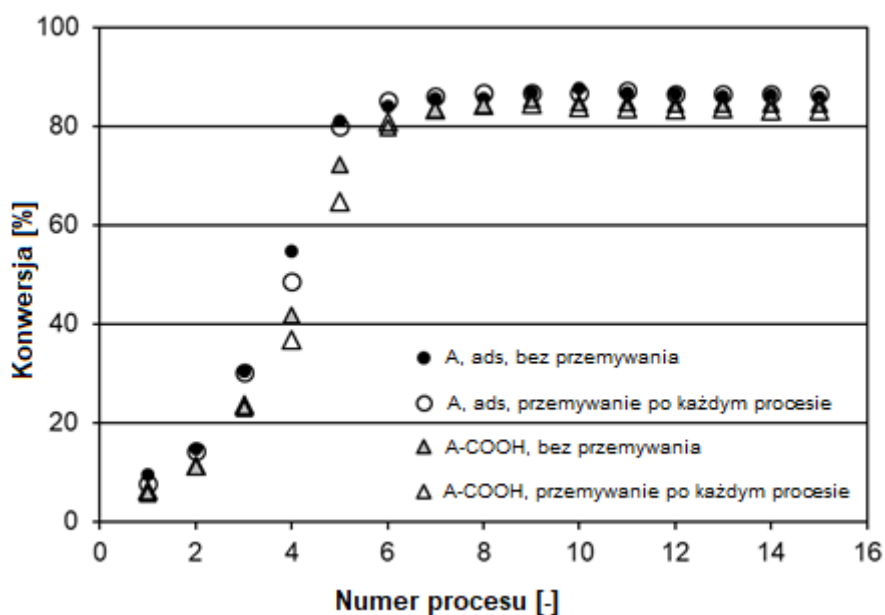
Nr	Funkcjonalność	Nr	Funkcjonalność
1	ZS-glicydyl	7	A-COOH
2	ZS-NH ₂	8	A-NH ₂
3	ZS-NH ₂ , ads	9	A, ads
4	ZS-CH ₃ , NH ₂	10	G-OH
5	ZS-CH ₃ , NH ₂ , ads	11	G-OH, ads
6	A-OH		

Preparaty enzymatyczne, które są wykorzystywane w reakcjach w środowisku niewodnym muszą być suche i jak najbardziej aktywne ze względu na niską szybkość reakcji enzymatycznych w rozpuszczalnikach organicznych. 11 Preparatów enzym-nośnik wysuszyliśmy zimnym acetonem. Nośniki do transestryfikacji wybraliśmy poprzez porównanie wyników absolutnej aktywności hydrolitycznej po suszeniu oraz odzysku aktywności po suszeniu (Rys. 4).



Rys. 4. Absolutna aktywność hydrolityczna po suszeniu (szare słupki) i względny odzyska aktywności enzymatycznej (czarne kropki) po suszeniu. Rysunek zaadaptowano z publikacji **H5**.

Do następnych testów wybraliśmy preparaty 2, 5, 7 i 9 ze względu na ich parametry użytkowe, a 10 dla porównania aktywności preparatu bazującego na nośniku celulozowym. Transestryfikację prowadziliśmy w reaktorze okresowym z wykorzystaniem wybranych nośników. We wszystkich przypadkach uzyskaliśmy doskonałe nadmiary diastereoizomeryczne ($de > 99\%$), a najwyższą konwersję (24% i 32% po 48h) zaobserwowaliśmy dla preparatów akrylowych (zarówno dla enzymu immobilizowanego adsorpcyjnie, jak i kowalencyjnie). Z tego względu wybraliśmy preparaty 7 i 9 do testów stabilności operacyjnej w 15 następujących po sobie procesach (Rys. 5).

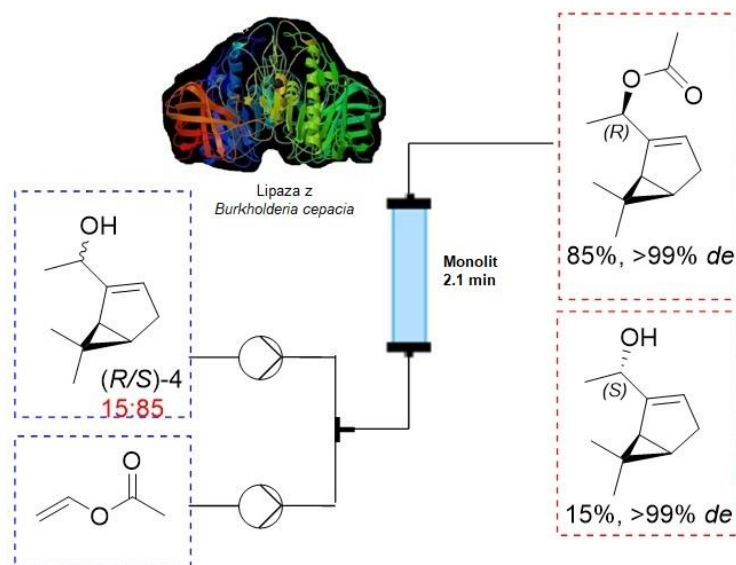


Rys. 5. Konwersja mieszaniny izomerów alkoholu 4 w 15 następujących po sobie procesach. Wykorzystaliśmy lipazę immobilizowaną kowalencyjnie przez grupy karboksylowe (szare i białe trójkąty) lub adsorpcyjnie (czarne i białe kółka). Preparaty były przemywane heksanem po każdym 24h procesie (białe kółka i trójkąty) lub wykorzystywane bezpośrednio w następnym (czarne kółka i szare trójkąty). Rysunek zaadaptowano z **H5**.

W pierwszych pięciu procesach zauważyliśmy znaczny wzrost konwersji, który osiągnął poziom ~85% począwszy od 6 procesu. Takie zjawisko można wytłumaczyć sorpcją substratu lub produktu na nośniku. Przeprowadzając dodatkowy eksperyment udowodniliśmy, że w tym przypadku sorpcja produktu była większa niż sorpcja substratu, a od 6 procesu następowało wysycenie nośnika produktem. Uzyskane wyniki pokazują, że opracowane preparaty enzymo-nośnik akrylowy mogą być wykorzystane do efektywnego rozdziału kinetycznego zapachowych alkoholi drugorzędowych. Rezultaty oraz wnioski z przeprowadzonych badań (występowanie zjawisk sorpcyjnych, podobne efekty dla różnych typów immobilizacji) mogą zostać wykorzystane w badaniach stosowanych w obszarze chemii związków zapachowych i perfumerii.

Względy praktyczne, w tym bezpieczeństwo produkcji, skalowalność, efektywność energetyczna, produktywność są tymi aspektami, na które zwraca się współcześnie dużą uwagę przy projektowaniu procesów chemicznych. W związku z tym podjęliśmy wysiłki w kierunku opracowania technologii syntezy czystego optycznie estru (**R**)-**5** w układzie ciągłym poprzez ocenę efektywności enzymatycznego mikroreaktora do rozdziału kinetycznego (**R/S**)-**4** (Schemat 3) oraz porównanie wyników i potencjalnych możliwości z tymi uzyskanymi z wykorzystaniem klasycznego reaktora okresowego [**H6**]. W badania, oprócz pracowników

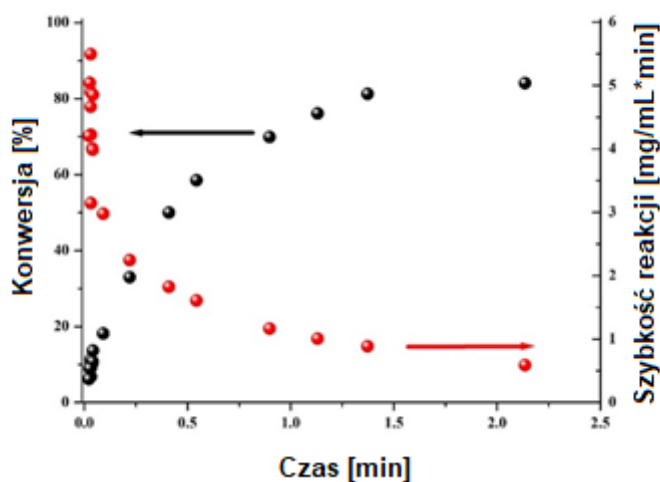
Politechniki Wrocławskiej, zaangażowani byli naukowcy z Politechniki Śląskiej oraz Instytutu Inżynierii Chemicznej Polskiej Akademii Nauk.



Schemat 3. Proces rozdziału kinetycznego diastereoizomerów zapachowego alkoholu (R/S)-4. Schemat zaadaptowano z publikacji **H6**.

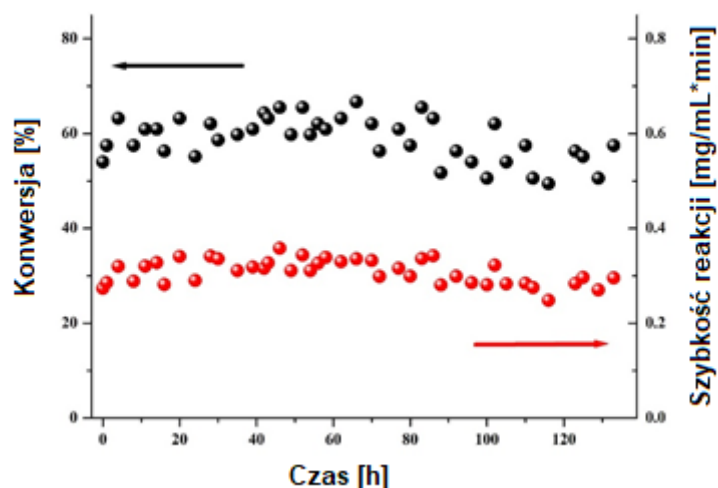
W pracach nad rozdziałem kinetycznym w układzie ciągłym zastosowaliśmy monolitowy mikroreaktor enzymatyczny. Monolity krzemionkowe zostały przygotowane metodą sol-żel⁴³ z wykorzystaniem glikolu polietylenowego, tetraetoksyilanu, bromku cetylotrimetyloamoniowego i kwasu azotowego (V). Po procesie żelowania, przemywania i impregnacji powierzchnia monolitów została udekorowana resztami heksadecylowymi w celu zwiększenia oddziaływań hydrofobowych w procesie immobilizacji adsorpcyjnej lipazy z *Burkholderia cepacia*. Badania strukturalne monolitu krzemionkowego wykazały, że zawiera on duże pory o średnicy 20–40 μm ze średnią objętością makroporu wynoszącą 3 $\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$. Specyficzna powierzchnia monolitu wynosiła 285 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ (metoda BET), a po hydrofobizacji nieznacznie się zmniejszyła (do 225 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$). Hydrofobizowane monolity poddano immobilizacji roztworem lipazy z *Burkholderia cepacia* przez 24h, a po przemyciu i suszeniu otoczono je żywicą polimerową. Jeden mikroreaktor składał się z jednego funkcjonalizowanego monolitu krzemionkowego. Objętość robocza mikroreaktora wynosiła 0.96 mL, a masa około 0.25 g. Wydajność adsorpcji wynosiła 18%. Taka wysoka wydajność mogła być osiągnięta ze względu na łatwą dostępność i bardzo dużą powierzchnię monolitu (56 m^2), która była dodatkowo modyfikowana resztami heksadecylowymi, które zwiększały oddziaływania lipofilowe z lipazą. Reaktywność enzymu zbadaliśmy poprzez pojedynczy przepływ mieszaniny izomerów alkoholu **4** (1.76 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) oraz 7.5% roztworu heksanowego octanu winylu (5-krotny nadmiar). Założyliśmy, że czas reakcji jest równy średniemu czasowi

przebywania (τ). Ze względu na fakt, że stosunek izomerów alkoholu 4 wynosił 85:15 (*R*:*S*), to maksymalna konwersja dominującego stereoizomeru nie mogła wynieść więcej niż 85%. Dla przepływów od 29.6 do 31.1 mL·min⁻¹ (czas reakcji ok. 2 sek.) konwersja izomeru *R* wynosiła od 7 do 10%. Co istotne, wysoka konwersja była obserwowana już dla bardzo krótkich czasów przebywania (Rys. 6). Dla przepływu 0.45 mL·min⁻¹ ($\tau = 2.14$ min), substrat (*R/S*)-4 został całkowicie przekształcony (konwersja 85%) do estru (*R*)-4. Mniejszościowy isomer był bardzo słabym substratem dla opracowanego układu enzymatycznego, dlatego wartości *dr* były bardzo wysokie (*dr*>200:1).



Rys. 6. Zależność konwersji substratu (czarne kropki) oraz szybkości reakcji (czerwone kropki) ze zmianą czasu przebywania w procesie ciągłej estryfikacji alkoholu (*R/S*)-4. Rysunek zaadaptowano z publikacji **H6**.

Stabilność operacyjną układu określiliśmy dla przepływów 0.681 ± 0.024 mL·min⁻¹ ($\tau = 1.41$ min) dla stężenia substratu na poziomie 0.87 mg/mL (Rys. 7). W opracowanych warunkach konwersja substratu nie była za wysoka, dzięki czemu z łatwością mogliśmy obserwować odchylenia od spodziewanych wartości parametrów procesowych. Do 86 h średnia szybkość reakcji wynosiła 0.319 ± 0.021 mg·mL⁻¹·min⁻¹, a konwersja $60.9\% \pm 3.3\%$. Po tym czasie konwersja nieznacznie spadła. Eksperyment zakończyliśmy po 133 h ciągłej operacji z konwersją na praktycznie niezmiennym, wysokim poziomie.



Rys. 7. Zmienność konwersji substratu (czarne kropki) i szybkości reakcji (czerwone kropki) w ciągu 133h ciągłego procesu transestryfikacji zapachowego alkoholu (*R/S*)-4. Rysunek zaadaptowano z publikacji **H6**.

Porównanie parametrów procesowych opracowanego układu ciągłego do klasycznego reaktora okresowego (Tabela 5) pokazuje jego duże możliwości zastosowania w przemyśle perfumeryjnym.

Tabela 5. Parametry procesowe rozdziału kinetycznego diastereoizomerów alkoholu **4** w układzie ciągłym i okresowym.

<i>Monolityczny mikroreaktor</i>	<i>Reaktor okresowy</i>
0.96 mL	1.0 mL
17.8 mg (<i>R</i>)-octanu/h	0.298 mg (<i>R</i>)-octanu/h
Całkowita konwersja głównego izomeru po 2.1 min	Konwersja głównego izomeru na poziomie 5.2% po 48h
Małe objętości robocze	Duże objętości robocze na skalę przemysłową

Dzięki zastosowaniu reaktora ciągłego byliśmy w stanie osiągnąć produktywność 17.8 mg (*R*)-octanu/h, co jest wartością prawie 600-krotnie większą od możliwości reaktora okresowego. Nasze badania pokazały, że opracowany mikroreaktor jest w stanie osiągnąć wydajność przestrzenno-czasową (STY) na poziomie $100 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$, co w połączeniu z innymi zaletami mikroreaktorów toruje drogę do zrównoważonej syntezy chemikaliów wysokowartościowych (*ang.* fine chemicals).

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWDROBNOUSTROJOWE NATURALNYCH MATERIAŁÓW ZAPACHOWYCH DO POTENCJALNEGO ZASTOSOWANIA W PRODUKTACH CHEMII GOSPODARCZEJ I HIGIENY OSOBISTEJ

Olejki eteryczne i ekstrakty jako inhibitory proteaz SARS-CoV-2 i ich właściwości przeciwwirusowe.

Drugi Wirus Ciężkiego Ostrego Zespołu Niewydolności Oddechowej (SARS-CoV-2), który jest odpowiedzialny za obecną epidemię choroby COVID-19, jest siódmym znanym koronawirusem, który jest zdolny infekować ludzi⁴⁴. Przed obecną pandemią znane z tego były HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV i MERS-CoV⁴⁵. Pierwsze cztery powodują w większości przypadków łagodne infekcje (zwykle przeziębienie), podczas gdy zakażenia SARS-CoV, MERS-CoV i SARS-CoV-2 mogą prowadzić do ciężkiej choroby układu oddechowego, która może być śmiertelna.

Dwa dobrze scharakteryzowane i obiecujące cele terapeutyczne wobec COVID-19, to główna proteaza (M^{pro}, 3CL^{pro}) i proteaza papainopodobna (PL^{pro}), które odgrywają kluczowe role w procesach replikacji i transkrypcji wirusa^{46,47}. Celem naszych badań [H7] było znalezienie odpowiedzi na pytanie, czy powszechnie wykorzystywane naturalne produkty smakowe i zapachowe są inhibitorami lub mają potencjał do bycia źródłem skutecznych inhibitorów głównej proteazy i proteazy papainopodobnej SARS-CoV-2 oraz czy te inhibitory wykazują właściwości przeciwwirusowe *in vitro*. W badaniach, oprócz pracowników Politechniki Wrocławskiej, zaangażowani byli naukowcy z uznanych ośrodków ze Stanów Zjednoczonych, Niemiec i Belgii. Według naszej wiedzy, przeprowadzone przez nas badania były pionierskie i były pierwszymi badaniami eksperymentalnymi⁴⁸, dotyczącymi oceny oddziaływania olejków eterycznych i ekstraktów aromatycznych na proteazy i wirusa SARS-CoV-2. W ramach prac badawczych przebadaliśmy łącznie 538 próbek olejków eterycznych, ekstraktów aromatycznych i innych naturalnych materiałów smakowych i zapachowych pod kątem właściwości hamujących aktywność SARS-CoV-2 M^{pro} i PL^{pro}. Badania przesiewowe (spektrofluorymetryczny test enzymatyczny) przeprowadziłem z użyciem substratów fluorogenicznych^{49,50}. Wszystkie próbki o wysokiej zawartości monoterpenów i monoterpenoidów nie wykazywały żadnej lub posiadały niski potencjał inhibicyjny. Najbardziej aktywne (inhibicja > 70% przy stężeniu 50 µg/mL) w badaniach przesiewowych były głównie materiały z frakcjami zarówno lotnymi, jak i nielotnymi, np. rezynoidy (ze storaksu, z żywicy benzoesowej sumatrzańskiej i syjamskiej, galbanum i tolu), gумы (elemi, storaks i labdanum) oraz absoluty (z rukoli, szpinaku i mchu dębowego). Aktywność

inhibicyjna złożonych mieszanin, takich jak produkty naturalne jest bezpośrednio związana z ich składem, który zależy od takich czynników jak gatunek rośliny, z której wyizolowano materiał, kraj pochodzenia, część rośliny wykorzystana do izolacji oraz metoda izolacji. Zaobserwowaliśmy wyraźne różnice, na przykład między olejkami eterycznymi z korzenia i liści lubczyku, gdzie pierwszy wykazuje wyższą aktywność hamującą wobec obu proteaz SARS-CoV-2 (odpowiednio 77% i 39% dla M^{pro} i PL^{pro}) niż drugi (odpowiednio 16% i 0% dla M^{pro} i PL^{pro}). W niektórych materiałach, frakcja nielotna jest głównie odpowiedzialna za inhibicję. Jest to zauważalne w przypadku gumy elemi (*Canarium luzonicum*, inhibicja M^{pro} na poziomie 97% wobec 33% w przypadku olejku eterycznego elemi) i rezynoidu galbanum (*Ferula galbaniflua*, inhibicja M^{pro} 78% wobec 18% dla olejku eterycznego).

Większość badanych próbek wykazywała aktywność poprzez hamowanie głównej proteazy SARS-CoV-2. Najbardziej pożądanym byłby inhibitor, który wykazywałby wysoką aktywność wobec obu proteaz. Taką aktywność zauważyliśmy tylko w dwóch przypadkach (spośród 538 badanych): oleorezyny z kurkumy (inhibicja M^{pro} 89%, PL^{pro} 64%) oraz olejek eteryczny z liści mandarynek (inhibicja M^{pro} 85%, PL^{pro} 100%). Dla najaktywniejszych inhibitorów proteaz wyznaczyliśmy parametry IC₅₀. Najaktywniejszymi inhibitorami M^{pro} okazały się żywica benzoesowa sumatrzańska i syjamska (odpowiednio 4.20 ± 0.15 µg/mL i 5.24 ± 0.22 µg/mL) oraz absolut i konkret z rukoli (odpowiednio 3.41 ± 0.32 µg/mL i 4.79 ± 0.04 µg/mL), a w przypadku PL^{pro} tylko olejek z liści mandarynek wykazywał znaczną aktywność hamującą (22.9±4.6 µg/mL). Olejek eteryczny z liści mandarynek zawiera w swoim składzie 6 głównych związków: α-pinen, β-pinen, *p*-cymen, (+)-limonen, γ-terpinen i antranilan dimetylu (DMA), z wyraźną przewagą ilościową ostatniego składnika (43,5%). Jest to niszowy produkt przemysłu olejkowego, w chwili obecnej wykorzystywany jest głównie jako surowiec do izolacji naturalnego antranilanu dimetylu, który z kolei jest używany jako składnik kompozycji smakowych (można go znaleźć np. w Kool-Aid™). Olejek eteryczny z liści mandarynek rozdzieliłem na trzy frakcje za pomocą destylacji próżniowej z kolby do kolby. Wszystkie frakcje charakteryzowałem za pomocą chromatografii gazowej i dla każdej oceniłem potencjał hamowania aktywności obu proteaz SARS-CoV-2. Inhibicja PL^{pro} wzrastała wraz z rosnącą zawartością antranilanu dimetylu. Wysoką aktywność DMA potwierdziłem wyznaczając parametry kinetyczne czystego naturalnego antranilanu dimetylu (PL^{pro} IC₅₀ = 5.20±1.22 µg/mL).

Najaktywniejsze inhibitory proteaz zostały przebadane we współpracy z grupą badawczą prof. Johana Neytsa z KU Leuven w Belgii pod kątem ich aktywności przeciwwirusowej *in vitro* z wykorzystaniem szczepu SARS-CoV-2 w hodowli komórkowej VeroE6-GFP. Rezynoid z

żywicy benzoesowej z Sumatry wykazywał się najwyższą aktywnością przeciwwirusową ($EC_{50} = 31,5 \pm 2,4 \mu\text{g/mL}$) przy ograniczonej toksyczności ($CC_{50} = 85,5 \pm 1,9 \mu\text{g/mL}$). Najlepszy inhibitor PL^{pro}, olejek eteryczny z liści mandarynek, wykazywał się niższą aktywnością przeciwwirusową ($>100 \mu\text{g/mL}$).

Właściwości przeciwdrobnoustrojowe tasmańskich olejków eterycznych.

Kontynent australijski jest najbardziej znany z występowania znacznej ilości roślin olejkodajnych, które są wykorzystywane do izolacji olejków eterycznych, w szczególności z różnych gatunków eukaliptusa oraz z liści drzewa herbacianego⁵¹. Tasmania, wyspa leżąca na południowy wschód od wybrzeży Australii, przez długi czas nie była miejscem, z którego pozyskiwano materiał roślinny do produkcji naturalnych produktów zapachowych. Dopiero w czasach współczesnych dostrzeżono potencjał regionu do upraw roślin olejkodajnych, a także opracowano i wdrożono na rynek globalny szereg olejków pochodzących z Tasmanii. Właściwości przeciwdrobnoustrojowe olejków eterycznych, pochodzących z kontynentu australijskiego są dobrze znane i badane od wielu lat. W literaturze naukowej brakuje jednak precyzyjnych odniesień do właściwości biologicznych lotnych produktów naturalnych z regionów wokół części kontynentalnej Australii. W związku z tym podjąłem wysiłki w kierunku oceny właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych tasmańskich olejków eterycznych wraz z badaniami chromatograficznymi najaktywniejszego materiału [H8]. Do badań mikrobiologicznych wykorzystałem olejki produkowane na przemysłową skalę z liści i gałązek nadbrzeżnego drzewa herbacianego (*Leptospermum laevigatum*), niebiesko-zielonego drzewa herbacianego (*Leptospermum glaucescens*), eukaliptusa znanego potocznie pod nazwą guma Big Badja (*Eucalyptus badjensis*), eukaliptusa gałkowego (*Eucalyptus globulus*), lawendowego drzewa herbacianego (*Melaleuca ericifolia*), krzewu kunzea (*Kunzea ambigua*), a także z całych roślin i niedojrzałych nasion kopru (*Foeniculum vulgare*) i pietruszki (*Petroselinum crispum*), kwiatów lawendy (*Lavandula angustifolia*) oraz z liści i łodyg mięty pieprzowej (*Mentha piperita*) i z liści rozmarynu o chemotypie α -pinenu (*Rosmarinus officinalis* ct. α -pinene). Olejki przebadłem pod kątem aktywności hamującej wzrost 12 mikroorganizmów patogennych (12 bakterii i 2 grzybów), w tym *Enterococcus hirae*, *Kocuria rhizophila*, *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pluralibacter gergoviae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas putida*, *Aspergillus brasiliensis* oraz *Aspergillus fumigatus*. Do zbadania aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków zastosowałem test mikrorozcieńczeń na płytkach 96-dołkowych z wykorzystaniem

barwnika Alamarblue®. Produkty naturalne są klasyfikowane jako posiadające aktywność przeciwdrobnoustrojową, gdy ich parametr MIC zawarty jest w lub poniżej zakresu 100-1000 µg/mL⁵². MIC wyznaczyłem dla produktów wykazujących aktywność hamującą wzrost mikroorganizmów poniżej stężenia 800 µg/mL. Wyniki badań pokazały, że olejki eteryczne z Tasmanii nie są aktywne (MIC > 800 µg/mL) wobec kilku mikroorganizmów, takich jak *E. coli*, *E. hirae* i *A. brasiliensis*. Tylko jeden olejek eteryczny wykazywał istotną aktywność przeciwbakteryjną przeciwko *K. pneumoniae* (olejek z nadbrzeżnego drzewa herbacianego, MIC = 800 µg/mL), *A. fumigatus* (olejek z nasion pietruszki, MIC = 200 µg/mL) i *S. epidermidis* (olejek z nadbrzeżnego drzewa herbacianego, MIC = 50 µg/mL). Wzrost pozostałych szczepów bakteryjnych był hamowany przez więcej niż jeden olejek eteryczny. Najbardziej podatnym mikroorganizmem był *P. fluorescens*, którego wzrost był hamowany przez wszystkie badane olejki eteryczne z Tasmanii. Olejek eteryczny z *Leptospermum laevigatum* wykazywał najbardziej szerokie spektrum aktywności przeciwbakteryjnej i hamował wzrost 10 spośród 14 badanych szczepów bakterii w odpowiednim zakresie MIC. Dodatkowo, olejek ten wykazywał się w większości przypadków najwyższą aktywnością przeciwdrobnoustrojową (MIC w zakresie 50-800 µg/mL) spośród wszystkich przebadanych olejków (z wyjątkiem aktywności wobec *A. fumigatus*), a także był aktywniejszy niż powszechnie stosowany środek biobójczy – kompleks jodu z poliwinylpirolidonem (jodopowidon, MIC w zakresie 800-3200 µg/mL). Skład olejku z nadbrzeżnego drzewa herbacianego określiłem z wykorzystaniem GC-MS oraz GC-FID. Zidentyfikowałem 35 związków, z których główne to α-pinen (34,83%), α-amorfen (7,19%), elemol (4,38%), α-epi-kadinol (4,85%) oraz izomery α- i β-eudesmolu (łącznie 10,21%). Dobra aktywność przeciwdrobnoustrojowa olejku z *Leptospermum laevigatum* może wynikać ze stosunkowo dużej zawartości α- i β- eudesmolu. W doniesieniach literaturowych znane są podobne przypadki, np. olejek z *Ferula szowitsiana* (zawierający 40-50% eudesmoli) wykazuje się parametrem MIC na poziomie 0.625 µg/mL wobec *E. coli* i *S. epidermidis*⁵³ lub olejek z *Cymbopogon Schoenanthus* (~20% eudesmoli) z MIC na poziomie 1 µg/mL wobec *S. aureus* i 20 µg/mL wobec *K. Pneumoniae*⁵⁴.

W skład olejku z nadbrzeżnego drzewa herbacianego wchodzi kilka związków chiralnych, które mogą być wykorzystane jako markery autentyczności. W związku z tym, że nie istnieją w literaturze doniesienia o szczegółowej identyfikacji związków chiralnych w tym olejku eterycznym, postanowiłem określić zawartość poszczególnych enancjomerów linalolu i limonenu. Do tego celu wykorzystałem chiralną chromatografię gazową z zastosowaniem chiralnej kolumny β-cyklodekstrynowej. W przypadku obu związków występowały oba

izomery z przewagą (-)-izomeru. Stosunek izomeru (-) do (+) wynosił 71:29 w przypadku limonenu oraz 62:38 dla linalolu. Konfigurację poszczególnych izomerów potwierdziłem stosując zarówno racemiczne jak i czyste optycznie standardy badanych związków.

PODSUMOWANIE, WNIOSKI I WPLYW NA ROZWÓJ DYSCYPLINY NAUKI CHEMICZNE

Do swoich najważniejszych osiągnięć naukowych, które według mnie mają znaczenie dla rozwoju dyscypliny nauki chemiczne i są zawarte w przedstawionym osiągnięciu naukowym, zaliczam:

- **Kompleksową charakterystykę chromatograficzną, spektralną i sensoryczną niskocząsteczkowych oksymów.** Praca **H1** jest pierwszą publikacją bardzo dokładnie charakteryzującą lotne oksymy. Dane chromatograficzne i spektralne, w tym liniowe współczynniki retencji dla trzech faz stacjonarnych, widma NMR, widma masowe, metody rozdziału chiralnego enancjomerycznych oksymów oraz charakterystyka sensoryczna izomerów geometrycznych będą miały znaczenie dla środowiska naukowego, umożliwią identyfikację oksymów w naturalnych matrycach. Ta grupa związków stanowi bardzo mały udział w skomplikowanych naturalnych substancjach (*ang.* Natural Complex Substances (NCS)), w związku z czym dostęp do dokładnych danych chromatograficznych i spektralnych znacznie ułatwi analizę danych GC-MS, która jest najczęściej jedyną techniką wykorzystywaną do charakterystyki nowych mieszanin ze względu na bardzo ograniczoną dostępność materiału badawczego. Dodatkowo, dane sensoryczne mogą być wykorzystane przez przemysł perfumeryjny do rozwoju nowych składników kompozycji zapachowych. Dwa związki miały bardzo interesujący profil zapachowy: oksym (+)-izomentonu wykazujący świeże, pleśniowe i zielone nuty oraz oksym cyklocytralu, którego zapach jest intensywny, ziemisty z nutami paczuli, mchu i skóry. Ten ostatni może mieć zastosowanie w szczególności w męskich kompozycjach perfumeryjnych.
- **Określenie właściwości toksykologicznych lotnych oksymów i eterów oksymów.** Praca **H2** jest pierwszą opisującą z taką dokładnością właściwości użytkowe i podstawowe parametry bezpieczeństwa użytkowania lotnych zapachowych oksymów. Biorąc pod uwagę, że związki wyjściowe do syntezy oksymów (również produkty zapachowe) są podatne na utlenianie i na środowisko zasadowe, lotne oksymy mogą

stanowiąc dobrą alternatywę jako składniki kompozycji zapachowych przeznaczonych do produktów funkcjonalnych. W pracy **H2** pokazaliśmy, że oksymy mają również dobre właściwości użytkowe i mają potencjał przeciwdrobnoustrojowy. Przy porównaniu z antybiotykami lotne oksymy nie wypadają korzystnie, jednak biorąc pod uwagę potencjalne zastosowanie oksymów (w produktach chemii gospodarczej), to zestawienie aktywności z klasycznym komercyjnym biocydem, kompleksem jod-poliwinylopirolidon (PVP-I, zakres MIC 800-3200 mg/L (~0.16-0.64 mM, dane zaczerpnięte z **H8**) pokazuje, że badane związki mogą wspomagać konserwację produktów funkcjonalnych oraz mieć wpływ na higienizację czyszczonych powierzchni. Oprócz aspektu użytkowego, wyniki prac mogą być wykorzystane przez społeczność naukową: wstępnie wykazaliśmy, że lotne oksymy są względnie bezpieczne i nie wykazują właściwości toksycznych, co w połączeniu z dobrą aktywnością przeciwdrobnoustrojową może być wykorzystane do projektowania nowych substancji o potencjale biobójczym. W pracy **H4** jako pierwsi eksperymentalnie oceniliśmy potencjał mutageny, genotoksyczność, cytotoksyczność oraz właściwości przeciwdrobnoustrojowe niskocząsteczkowych zapachowych eterów oksymów. Dodatkowo, porównaliśmy te właściwości ze stosowanymi komercyjnie oksymami i związkami karbonylowymi, w związku z czym wyniki tej pracy mogą być wykorzystane w ocenie ryzyka stosowania oksymów i eterów oksymów. Biorąc pod uwagę, że jest to pierwsze doniesienie dotyczące właściwości toksycznych eterów oksymów, nasza praca będzie odniesieniem dla przyszłych badań biologicznych nad tą klasą związków chemicznych. Wyniki naszej pracy będą miały również bezpośrednie zastosowanie praktyczne, gdyż mogą być wprost zastosowane jako część informacji niezbędnych do umieszczenia w kartach charakterystyki nowych związków wprowadzanych do obrotu oraz do oceny bezpieczeństwa stosowania substancji zapachowych, która jest rutynowo przeprowadzana przez RIFM (Research Institute for Fragrance Materials) na łamach uznanego czasopisma międzynarodowego *Food and Chemical Toxicology* (seria *RIFM fragrance ingredient safety assessment*, [...]), przeprowadzana jest sukcesywnie dla wszystkich naturalnych i syntetycznych substancji zapachowych będących w komercyjnym obiegu).

- **Opracowanie efektywnego rozdziału kinetycznego modelowego alkoholu zapachowego w układzie ciągłym** z wykorzystaniem monolitowego mikroreaktora, co toruje drogę do zrównoważonej syntezy wysokowartościowych czystych optycznie chiralnych związków zapachowych;

- **Poznanie właściwości przeciwdrobnoustrojowych tasmańskich olejków eterycznych.** Wyniki badań mikrobiologicznych **H8** wskazały, że olejki eteryczne z Tasmanii nie mogą być stosowane samodzielnie jako potencjalne konserwanty lub czynniki biobójcze z powodu niższego potencjału przeciwbakteryjnego na kilku istotnych szczepach bakterii i grzybów. Jeden z olejków, otrzymany z liści i gałązek nadbrzeżnego drzewa herbacianego, ma szerokie spektrum aktywności (hamowanie wzrostu 10 z 14 badanych mikroorganizmów) i może mieć potencjalne zastosowanie jako dodatek wspierający aktywności konserwujące i bójcze syntetycznych środków biobójczych. To osiągnięcie ma również wartość poznawczą ze względu na brak precyzyjnych doniesień literaturowych w obszarze aktywności przeciwdrobnoustrojowej tasmańskich olejków eterycznych oraz charakterystyki związków chiralnych olejku z nadbrzeżnego drzewa herbacianego. W związku z tym przedstawione wyniki będą odniesieniem dla środowiska naukowego badającego właściwości olejków eterycznych.

W mojej opinii, w szczególności dwa osiągnięcia zasługują na szczególne podkreślenie:

- **Opracowanie efektywnej kombinatorycznej metodyki poszukiwania nowych eterów oksymów,** interesujących pod względem sensorycznym, ich syntezę i charakterystykę najciekawszych związków oraz komercjalizację wypracowanej własności intelektualnej (licencja nr PRO/DPN/ZKO/0181/3742/2021 na patent [patent 3.17. z wykazu dorobku naukowego] przyznany po rozpatrzeniu zgłoszenia nr P436291 “Eterowe związki zapachowe i sposób wytwarzania” oraz know-how). To osiągnięcie jest powiązane z pracą **H3**, która była pierwszą opisującą wykorzystanie metod chemii kombinatorycznej do badań stosowanych w kierunku odkrycia nowych związków zapachowych z klasy eterów oksymów. Nasza strategia będzie miała praktyczne zastosowanie dla chemików zapachowych, zarówno uniwersyteckich, jak i z przemysłu. Nie wymaga ona stosowania spektrometru masowego do wstępnej ewaluacji sensorycznej i identyfikacji ze względu na niepolarny charakter eterów oksymów, w związku z czym kolejność elucji jest powiązana głównie z temperaturą wrzenia składników mieszaniny. Wykorzystując opatentowane etery oksymów stworzyłem kompozycję zapachową, która została przetestowana w dwóch produktach silnie zasadowych. Stabilność przez okres pół roku potwierdziłem, wszystkie dane niezbędne do stworzenia karty charakterystyki zebrałem i, na chwilę obecną jeden z eterów oksymów pod nazwą handlową LiquaniTe został wprowadzony do praktyki

przemysłowej. Za badania podstawowe i stosowane w tym obszarze otrzymałem czterokrotnie nagrody International Federation of Essential Oils and Aroma Trades (IFEAT) Young Scientist Fee Award, które umożliwiły mi zaprezentowanie osiągnięć naukowych podczas czterech edycji International Symposium on Essential Oils. Ukoronowaniem wysiłków badawczych było wygłoszenie wykładu na zaproszenie „Stereochemistry of volatiles—the status and perspectives” w trakcie 49 edycji sympozjum w 2018 roku, gdzie zostałem zaproszony do dołączenia do stałego komitetu naukowego tego prestiżowego forum;

- **Poznanie wpływu naturalnych materiałów smakowych i zapachowych na aktywność proteaz SARS-CoV-2 oraz określenie właściwości przeciwwirusowych najlepszych inhibitorów.** Naturalne materiały smakowe i zapachowe są ważne dla społeczeństwa ponieważ znajdują zastosowanie w różnych obszarach życia (np. jako składniki artykułów żywnościowych, leków, w aromaterapii), mają ustalone profile toksykologiczne i są stosunkowo bezpieczne w użytkowaniu. Wyniki naszych pionierskich badań dostarczyły społeczności naukowej kryteria wyboru do dalszych badań *in vitro* i *in vivo* najbardziej obiecujących olejków eterycznych, ekstraktów aromatycznych i ich składników. Mogą one również być wykorzystane do racjonalnego projektowania inhibitorów proteaz SARS-CoV-2, gdyż pomimo znacznych wysiłków istnieje niewiele rozwiązań terapeutycznych w leczeniu COVID-19, a tylko jeden inhibitor M^{pro} (PF-07321332, marka handlowa Paxlovid) został zatwierdzony przez amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (FDA) w leczeniu łagodnego do umiarkowanego przebiegu COVID-19⁵⁵. Olejki eteryczne i ekstrakty aromatyczne wykazujące się znaczącą aktywnością wobec proteaz oraz samego wirusa SARS-2 mogą być również wykorzystane w badaniach stosowanych w kierunku opracowania lub udowodnienia skuteczności produktów do higieny jamy ustnej. Przeprowadzone przez nas badania były pionierskie i będą odniesieniem do przyszłych badań nad innymi proteazami koronawirusów i właściwościami przeciwwirusowymi produktów naturalnych. Dodatkowo, praca **H7** została opublikowana pod koniec sierpnia 2022 roku i pomimo tego udało jej się zająć 7 pozycję wśród najczęściej pobieranych publikacji z kategorii „Chemia” w *Scientific Reports* w 2022 roku (kolekcja „Top 100 in Chemistry - 2022”). W tym czasopiśmie w tej kategorii opublikowano ponad 1600 artykułów w 2022 roku, co świadczy o znacznym zainteresowaniu osiągniętymi przez nas wynikami. Realizacja tego osiągnięcia była możliwa dzięki szerokiej współpracy ze środowiskiem akademickim i biznesowym. Zacieśnienie współpracy z IFEAT

umożliwiło przebadanie szerokiej gamy produktów naturalnych. Jej efekty zostały również docenione, zostałem zaproszony do wygłoszenia i wygłosiłem wykład na prestiżowej konferencji biznesowej IFEAT Conference “The Antiviral Potential of Essential Oils and Volatile Plant Extracts – Status and Perspectives” w 2021 roku, a w 2022 roku zostałem powołany przez tę światową organizację do wąskiego grona panelu ekspertów związanych ze związkami zapachowymi i smakowymi (IFEAT Panel of Experts). Pokłosem wyników przedstawionych w niniejszym osiągnięciu było również zaproszenie do dołączenia do stałego komitetu redakcyjnego czasopisma *Journal of Essential Oil Research* (wydawnictwo Taylor&Francis, IF:3.0, Q2).

c) Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Mój dorobek naukowy obejmuje łącznie 24 publikacje z bazy Journal Citation Reports o sumarycznym współczynniku oddziaływania 79,2 oraz 27 patentów. Liczba cytowań publikacji bez autocytań wynosi 134. Szczegółowe dane przedstawiłem na końcu autoreferatu oraz w wykazie dorobku naukowego.

Poza pracami przedstawionymi w cyklu habilitacyjnym, jestem współautorem prac naukowych powstałych we współpracy zarówno z krajowymi, jak i zagranicznymi ośrodkami naukowymi. Dotyczą one szerokiego nurtu badawczego [PP-1 – PP-10], powiązanego merytorycznie z tematyką prezentowanego osiągnięcia naukowego, ale nie włączonego do cyklu habilitacyjnego, związanego z chemoenzymatyczną syntezą i właściwościami naturalnych i syntetycznych związków organicznych:

PP-1 Strub, D.J.*, Strub, M., Baldovini, N. The Resinoids: Their Chemistry and Uses *Natural Flavours, Fragrances, and Perfumes: Chemistry, Production, and Sensory Approach* ed. Sreeraj Gopi, Nimisha Pulikkal Sukumaran, Joby Jacob, Sabu Thomas, wyd. John Wiley & Sons, **2023**

PP-2 Bak, A., Kozik V., Kozakiewicz D., Gajcy K., Strub D.J., Swietlicka A., Stepankova S., Imramovsky A., Polanski J, Smolinski A., Jampilek, J., Novel Benzene-based Carbamates for AChE/BChE Inhibition: Synthesis and Ligand/Structure-oriented SAR study *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 1.

PP-3 Strub, D.J.*, Garboś, A., Lochyński, S., Synthesis, lipase catalyzed kinetic resolution, and determination of the absolute configuration of enantiomers of the Morita-Baylis-Hillman adduct 3-hydroxy-2-methylenebutanenitrile *ARKIVOC* **2017**, 313.

PP-4 Strub, D.J.*; Kula, J.; Sikora, M.; Gibka, J.; Lochyński, S.*, **Synthesis and olfactory evaluation of homologous series of (+)- and (-)-carvone oxime ethers** *Flavour Frag. J.* **2016**, *31*, 81.

PP-5 Strub, D.J., Sałat, K., Librowski, T., Lochyński, S., Gawel, M., Podkowa A. The anxiolytic-like activity of a novel *N*-cycloalkyl-*N*-benzoylpiperazine derivative. *Pharmacological Reports.* **2016**, *68*, 62-65

PP-6 Waclawczyk-Biedroń, W., Frąckowiak-Wojtasek, B., Strub, D., Rzechak, M., Wojtasek, H., Synthesis of the aggregation pheromone of the Colorado potato beetle from its degradation product *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *17*, 3560.

PP-7 Strub, D.*, Balcerzak, L., Niewiadomska, M., Kula, J., Sikora, M., Gibka, J., Lochyński, S.*, **Stereochemistry of terpene derivatives. Part 8: Synthesis of terpenoids from (1S,4R)-**

and (1R,4S)-fenchone and their comparative odour characteristics. *Tetrahedron-Asymmetr.* **2014**, 25, 1038

PP-8 Moniczewski, A., Librowski, T., Lochyński, S., Strub, D., Evaluation of the irritating influence of carane derivatives and their antioxidant properties in a deoxyribose degradation test *Pharmacol. Rep.* **2011**, 63, 120.

PP-9 Balcerzak L., Lipok J., Strub D.J., Lochyński S., Biotransformations of monoterpenes by photoautotrophic microorganisms *J. Appl. Microb.* **2014**, 115, 1523.

PP-10 Kuriata-Adamusiak, R., Strub, D., Szatkowski, P., Lochyński, S., Biotransformation of bicyclic terpenoid ketones towards new compounds with olfactory properties. *Flavour Fragr. J.* **2011**, 26, 351

W ramach realizacji badań byłem zaangażowany w prace syntetyczne, chromatograficzne i spektroskopowe, związane zarówno z aspektami podstawowymi, jak i zastosowaniem niskocząsteczkowych związków organicznych. Efektem realizacji tych prac było wyjaśnienie możliwości zastosowania rezynoidów między innymi w leczeniu [PP-1] – praca przeglądowa, określenie właściwości biologicznych (drażniących, przeciwutleniających, a także inhibicyjnych wobec esteraz) niskocząsteczkowych związków azotu [PP-2, PP-8] oraz analiza aspektów syntetycznych i stereochemicznych nitrylowego adduktu reakcji Mority-Baylisa-Hillmana i dodatkowo biologicznych feromonu stonki ziemniaczanej [PP-3, PP-6].

W trakcie pracy doktorskiej “Synteza pochodnych terpenoidowych o potencjalnej aktywności na centralny układ nerwowy” zdobyłem kompetencje w zakresie wykorzystywania metod chemoenzymatycznych do syntezy nowych związków terpenoidowych, a także miałem możliwość realizacji własnych pomysłów badawczych [PP-4, PP-5, PP-7].

W ramach badań mikrobiologicznych byłem zaangażowany w prace związane z przedstawieniem zakresu możliwości przemian monoterpenu z zastosowaniem cyjanobakterii [PP-9] – praca przeglądowa oraz z przemianami mikrobiologicznymi w kierunku otrzymywania nowych związków zapachowych [PP-10] z surowców odpadowych przemysłu drzewnego w ramach projektu “Biotransformacje użyteczne w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym”, w którym pełniłem rolę wykonawcy.

Oprócz badań o aspekcie podstawowym, w toku moich zainteresowań i pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych jest efekt współpracy z polską branżą olejków eterycznych w ramach programu “Mozart” w latach 2019 i 2020. Jest to inicjatywa Rady Miejskiej Wrocławia, której celem jest powiązanie środowiska naukowego z otoczeniem społeczno-gospodarczym w kierunku tworzenia innowacyjnych produktów, procesów i usług. W ramach programu nawiązałem współpracę z firmą „Avicenna Oil” w zakresie badań stosowanych nad olejkami

eterycznymi. Strategicznym celem przedsiębiorstwa było pozyskanie nowej grupy docelowej odbiorców detalicznych w oparciu o rozbudowane, innowacyjne portfolio produktowe. W ramach współpracy prowadziłem intensywne badania nad aktywnością przeciwdrobnoustrojową olejków eterycznych. Wymiernym efektem partnerstwa było opracowanie na Politechnice Wrocławskiej koncepcji i technologii wytwarzania innowacyjnego produktu dezynfekcyjnego opartego na olejkach eterycznych. Został on wprowadzony na rynek, co zostało potwierdzone uzyskaniem przez firmę pozwolenia Ministra Zdrowia na wprowadzenie nowego produktu dezynfekcyjnego na rynek.

4. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

W okresie od sierpnia do listopada 2009 roku, w ramach programu Leonardo da Vinci, odbyłem staż badawczy w **Instytucie Genetyki Roślin i Badań nad Roślinami Uprawnymi im. Leibniza** w Niemczech w grupie prof. Gottharda Künze, gdzie zdobyłem pierwsze doświadczenie w pracy w międzynarodowym środowisku naukowym. Efektami pobytu było nabycie nowych praktycznych umiejętności, w tym w zakresie oznaczania zawartości związków organicznych (steroidów) w skomplikowanych matrycach (ścieki szpitalne, komunalne oraz próbki wody z jezior Dolnej Saksonii) za pomocą testu mikrobiologicznego A-YES oraz GC/MS. Dodatkowo, zajmowałem się ekspresją ludzkiego receptora estrogenowego w komórkach *Escherichia coli* oraz drożdżaka *Arxula adenivorans*. Podczas stażu nabyłem umiejętności w zakresie obsługi chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem masowym, przygotowania próbek do pomiarów analitycznych za pomocą mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME). Zdobyłem również doświadczenie oraz nabyłem podstawowe umiejętności w zakresie mikrobiologii i inżynierii genetycznej (posiewy, zakładanie i utrzymywanie hodowli komórkowych, klonowanie, transfekcja, ekspresja białek, przygotowanie plazmidów). Uzyskane wyniki wykorzystałem w swojej drugiej pracy magisterskiej „Pomiary stężenia żeńskich hormonów płciowych w próbkach środowiskowych za pomocą GC/MS i testu A-YES” .

W okresie od czerwca do września 2013 roku, w ramach programu „Rozwój potencjału dydaktyczno-naukowego młodej kadry akademickiej Politechniki Wrocławskiej”, odbyłem staż badawczy w grupie dr inż. Bożeny Frąckowiak-Wojtasek na Wydziale Chemii **Uniwersytetu Opolskiego**. Moim zadaniem była synteza zatłoczonych sterycznie katalizatorów do reakcji asymetrycznej epoksydacji, wykorzystując produkty naturalne jako substraty. Podczas stażu nabyłem doświadczenie w syntezie czystych optycznie związków z wieloma grupami hydroksylowymi oraz ich selektywnych przekształceniach. Wymiernym efektem współpracy była publikacja **PP-6**.

W okresie od października do grudnia 2013 roku, w ramach programu Top500 Innovators, brałem udział w stażu naukowo-biznesowym częściowo w Szkole Biznesu Haas na **Uniwersytecie Kalifornijskim w Berkeley**, a częściowo w **Kalifornijskim Instytucie Badań Stosowanych QB3** w San Francisco. W trakcie stażu zdobyłem bardzo cenne doświadczenie i umiejętności z zakresu ochrony własności intelektualnej, komercjalizacji wyników badań naukowych oraz innego spojrzenia na projektowanie badań naukowych nastawionych na zastosowanie.

Na przełomie czerwca i lipca 2018 roku odbyłem krótki, tygodniowy staż w grupie prof. Nicolasa Baldovini na **Université Côte d'Azur** w Nicei. Celem pobytu były badania wstępne dotyczące rozdziału związków aktywnych zapachowo w absolu z czystka (*Cistus ladaniferus*). W trakcie kilkudniowego pobytu badawczego zaznajomiłem się z procesami ekstrakcji na kilogramową skalę, przeprowadziłem serię testów sensorycznych na chromatografie gazowym sprzężonym z olfaktometrem. Na podstawie eksperymentów określiłem szereg związków odpowiedzialnych za zapach absolutu z czystka (związki o zapachu maltolowym, zielonym, jeden związek o nutach bobu tonka, jeden z niuansami cynamonowymi, jeden przypominający kadzidło oraz kilka związków o typowym zapachu nuty bazowej olejku z czystka). W trakcie pobytu wygłosiłem również wykład na zaproszenie dla pracowników Instytutu Chemii dotyczący wykorzystania mikroreaktorów przepływowych w enzymatycznym rozdziale kinetycznym optycznie czynnych alkoholi zapachowych.

5. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

Osiągnięcia dydaktyczne:

Jako asystent, a następnie jako adiunkt na Politechnice Wrocławskiej, byłem opiekunem 14 prac inżynierskich oraz 26 prac magisterskich. Moja aktywność dydaktyczna obejmowała i obejmuje także prowadzenie zajęć ze studentami Wydziału Chemicznego na kierunkach Chemia i Analityka Przemysłowa, Biotechnologia oraz Technologia Chemiczna:

- Chemia Produktów Naturalnych, laboratorium. Studia II stopnia, kierunek biotechnologia;
- Chemia Techniczna Organiczna, laboratorium. Studia I stopnia, kierunek technologia chemiczna;
- Technologia Chemiczna – surowce i procesy przemysłu organicznego, laboratorium. Studia II stopnia, kierunek technologia chemiczna;
- Metody analityczne w biotechnologii cz. 3, Studia II stopnia, wykład, projekt i laboratorium – jest to mój autorski kurs na specjalności „biotechnologia środowiska” na kierunku biotechnologia, gdzie studenci mają możliwość zaprojektować i zrealizować samodzielnie własny mały projekt naukowy;
- Metody chromatograficzne w analizie chemicznej, laboratorium, studia I stopnia, kierunek chemia i analityka przemysłowa;
- Analytical methods in drug design and technology, studia II stopnia w j. ang., kierunek chemia.
- Stworzenie i prowadzenie autorskiego kursu „Projekty Zespołowe Chromatografii Gazowej” w ramach Projektu POWER „Podnoszenie kompetencji studentów Wydziału Chemicznego w odpowiedzi na potrzeby rynku pracy” – 2016 – 2020;

Jestem lub byłem promotorem pomocniczym rozpraw doktorskich studentów studiów doktoranckich, a także sprawuję lub sprawowałem nadzór merytoryczny nad rozprawami:

1. Dr inż. Agnieszka Stryjewska (obrona w 2021 r.);
2. Dr inż. Alicja Surowiak (obrona w 2022 r.);
3. Mgr inż. Kinga Baberowska (rozpoczęcie 1 października 2022 r.)
4. Mgr inż. Zuzanna Bacińska (rozpoczęcie 1 października 2022 r.)

Osiągnięcia organizacyjne:

Rok/lata	Aktywność
4-7.09.2022	Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego 52 nd <i>International Symposium on Essential Oils</i> we Wrocławiu
4-7.09.2022	Współorganizator wystawy artystycznej AromaArt we Wrocławiu
4-7.09.2022	Współorganizator międzynarodowego wydarzenia biznesowego ISEOB2B
2022 – obecnie	Członek komitetu redakcyjnego <i>Journal of Essential Oil Research</i>
2022 – obecnie	Członek panelu ekspertów International Federation of Essential Oils and Aroma Trades (IFEAT)
2020 - obecnie	Członek komisji specjalnościowej biotechnologia środowiska
2020 - obecnie	Członek komisji kierunkowej biotechnologia
2019 – obecnie	Ekspert Serbskiej Fundacji na rzecz Nauki (Fond za Nauku)
2019 - obecnie	Członek American Chemical Society
2018 – obecnie	Ekspert Europejskiej Agencji Wykonawczej ds. Badań Naukowych (Research Executive Agency, REA)
2018 – obecnie	Członek stałego komitetu naukowego <i>International Symposium on Essential Oils</i>
2017 – obecnie	Ekspert Narodowego Centrum Badań i Rozwoju
10-14.04.2017	Organizacja spotkania roboczego z prof. Györgyi Horváth z Uniwersytetu w Pécs
2016 – obecnie	Członek Komitetu Naukowego Students' Science Conference we Wrocławiu
28.04.2016	Członek Jury Konkursu Naukowego E(x)plory 2016 we Wrocławiu
2015 - 2017	Członek Rady Młodych Naukowców – organu doradczego Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego
2015 - obecnie	Recenzent manuskryptów w czasopismach z listy JCR: <i>Green Chemistry, Food Chemistry, Industrial Crops and Products, Journal of Agricultural and Food Chemistry, Molecular Catalysis, Food and Chemical Toxicology, Tetrahedron, Flavour and Fragrance Journal, Arabian</i>

	<i>Journal of Chemistry, Chemistry & Biodiversity, Phytochemistry Letters, Bioorganic Chemistry, Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research, Nutrition Reviews, Journal of Molecular Structure, Journal of Essential Oil Research</i>
2015 - obecnie	Członek Zespołu Specjalistycznego ds. Infrastruktury Badawczej w Ministerstwie Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Ministerstwie Edukacji i Nauki
2015 - obecnie	Członek Stowarzyszenia Top500 Innovators
13-22.09.2015	Organizacja spotkania roboczego z prof. Nicolasem Baldovini z Université Côte d'Azur
2012-2014	Członek Wydziałowej Komisji ds. studiów doktoranckich.
2012-2014	Członek Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej z ramienia doktorantów.
5-8.09.2010	Członek Komitetu Organizacyjnego 41 st International Symposium on Essential Oils we Wrocławiu
2008-2010	Członek Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej z ramienia studentów.

Osiągnięcia popularyzujące naukę:

- Popularyzacja nauki i sztuki związanej z zapachem poprzez współorganizację międzynarodowej wystawy artystycznej o zapachu AromaArt i udział w współtworzeniu jednego z eksponatów „Aromatyzatory” (Rys. 8) z prof. Agatą Danielak-Kujdą z Akademii Sztuk Pięknych im. E. Gepperta we Wrocławiu.



Rys. 8. Elementy indukcyjne z wygrawerowanymi wzorami związków zapachowych. W trakcie wystawy eksponaty były delikatnie podgrzewane, przy każdym elemencie stał pojemnik z olejkiem eterycznym zawierającym poszczególne związki, uczestnicy wystawy mogli nakraplać olejki na eksponaty i oceniać walory sensoryczne produktów naturalnych. Celem ekspozycji było uświadamianie roli poszczególnych związków chemicznych we właściwościach zapachowych olejków eterycznych.

Odnosniki do wydarzenia:

<https://www.asp.wroc.pl/pl/wydarzenia/aromaart-wroclaw-2022>

<https://iseo2022.pl/aromaart/>

- Prowadzenie strony na Facebooku poświęconej zapachowi (Synfra);
- Udzielenie wywiadu popularyzatorskiego Polskiej Agencji Prasowej
<https://naukawpolsce.pl/aktualnosci/news,411270,nowe-zwiazki-zapachowe-uprzyjemnia-sprzatanie.html>
- Udzielenie wywiadu popularyzatorskiego Gazecie Wyborczej
<https://wroclaw.wyborcza.pl/wroclaw/7,35771,28860773,zapach-lawendy-jak-lekarstwo-na-lek-ekstrakt-z-zywicy-na-covid-19.html>
- Wypowiedzi eksperckie w artykule „Moc zapachów: poznaj tajemnice aromamarketingu” w magazynie Women’s Health

- Udzielenie wywiadów popularyzatorskich mediom związanym z Politechniką Wrocławską
 - a) https://pwr.edu.pl/uczelnia/aktualnosci/historia-zapachem-pisana-dlaczego-naukowcy-badaja-olejki-eteryczne-12583.html?fbclid=IwAR3IfI79azxkW1-f8k9OC_wibu_4hhVndTrU2hY5CLSzPAS340d8-WE7Vtk
 - b) https://pwr.edu.pl/uczelnia/aktualnosci/nasi-chemicy-prowadza-badania-nad-nowymi-zapachami-10213.html?fbclid=IwAR3_RTBT_J1jDZ54AnX8dR-QZ2iimsNIyeK2x4ic2hEzSL8e1gGomL2hNH8
 - c) http://www.pryzmat.pwr.edu.pl/SitePages/wiadomosci.aspx?i=261&fbclid=IwAR04qlSXgEHRwrG-i8nlqskkm9h-DyV0sQZVkkW_aYcapTq53bYnOquNPok

6. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

- 2022 – Srebrny medal za rozwiązanie „Eterowe związki zapachowe i sposób wytwarzania” na międzynarodowej wystawie International Warsaw Invention Show, IWIS 2022;
- 2017 – Nagroda IFEAT Young Scientist Fee Award na konferencję International Symposium on Essential Oils;
- 2016 – Nagroda IFEAT Young Scientist Fee Award na konferencję International Symposium on Essential Oils;
- 2015 – Nagroda Rektora Politechniki Wrocławskiej za wyróżniającą rozprawę doktorską;
- 2015 – Nagroda IFEAT Young Scientist Fee Award na konferencję International Symposium on Essential Oils;
- 2014 – Nagroda Dziekana Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej za działalność na rzecz środowiska doktoranckiego;
- 2014 – Nagroda IFEAT Young Scientist Fee Award na konferencję International Symposium on Essential Oils;
- 2013 – Nagroda Dziekana Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej za działalność na rzecz środowiska doktoranckiego;
- 2012 – Nagroda Dziekana Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej za osiągnięcia naukowe.

7. Literatura do autoreferatu

- 1 Goren-Inbar, N. *et al.* Evidence of Hominin Control of Fire at Gesher Benot Ya' aqov, Israel. *Science* **304**, 725-727, doi:doi:10.1126/science.1095443 (2004).
- 2 Melamed, Y., Kislev, M. E., Geffen, E., Lev-Yadun, S. & Goren-Inbar, N. The plant component of an Acheulian diet at Gesher Benot Ya' aqov, Israel. *PNAS* **113**, 14674, doi:10.1073/pnas.1607872113 (2016).
- 3 Ohloff, G., Pickenhagen, W. & Kraft, D. P. *Scent and chemistry: the molecular world of odors.* (Weinheim, 2012).
- 4 Brun, J.-P. The Production of Perfumes in Antiquity: The Cases of Delos and Paestum. *AJA* **104**, 277-308, doi:10.2307/507452 (2000).
- 5 Wöhler, F. Ueber künstliche bildung des harnstoffs. *Ann. Phys.* **88**, 253-256 (1828).
- 6 Pickenhagen, W. in *Springer Handbook of Odor* (ed Andrea Buettner) 5-6 (Springer International Publishing, 2017).
- 7 Perkin, W. VI.—On the artificial production of coumarin and formation of its homologues. *J. Chem. Soc.* **21**, 53-63 (1868).
- 8 Lawrence, B. The story of India's mint oils and menthol. *Perfum. flavor.* **38**, 26-35 (2013).
- 9 Samriddhi, C. & Roshan, D. Essential Oils Market. (Allied Market Research, 2022).
- 10 Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int. J. Food Microbiol.* **94**, 223-253, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022> (2004).
- 11 *SITP Chem, Karty z historii polskiego przemyslu chemicznego, t.17 historia polskiego przemyslu chemii gospodarczej.* (2001).
- 12 Fisher, B. E. Focus: scents and sensitivity. *Environmental Health Perspectives. Environ. Health Persp.* **106**, 594-599 (1998).
- 13 Sell, C. *The Chemistry of Fragrances: From Perfumer to Consumer.* (The Royal Society of Chemistry, 2006).
- 14 Sell, C. *Chemistry and the Sense of Smell.* (John Wiley & Sons, 2014).
- 15 Parthiban, P., Kabilan, S., Ramkumar, V. & Jeong, Y. T. Stereocontrolled facile synthesis and antimicrobial activity of oximes and oxime ethers of diversely substituted bispidines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **20**, 6452, doi:10.1016/j.bmcl.2010.09.079 (2010).
- 16 Surowiak, A. K., Lochyński, S. & Strub, D. J. Unsubstituted Oximes as Potential Therapeutic Agents. *Symmetry* **12**, 575 (2020).
- 17 Wenderoth, B. *et al.* Oxime ethers and fungicides containing these compounds. US Patent 4829085 A1 (1989).
- 18 Kalia, J. & Raines, R. T. Hydrolytic Stability of Hydrazones and Oximes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **47**, 7523-7526, doi:<https://doi.org/10.1002/anie.200802651> (2008).
- 19 Brenna, E., Fuganti, C. & Serra, S. Enantioselective perception of chiral odorants. *Tetrahedron: Asymmetr.* **14**, 1-42, doi:[https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(02\)00713-9](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(02)00713-9) (2003).
- 20 Mosandl, A., Heusinger, G. & Gessner, M. Analytical and sensory differentiation of 1-octen-3-ol enantiomers. *J. Agric. Food Chem.* **34**, 119-122, doi:10.1021/jf00067a033 (1986).
- 21 Abate, A., Brenna, E. & Fregosi, G. Bio-catalysed synthesis of optically active Undecavertol® enantiomers. *Tetrahedron: Asymmetr.* **16**, 1997-1999, doi:<https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2005.04.022> (2005).
- 22 Kuriata, R., Gajcy, K., Turowska-Tyrk, I. & Lochyński, S. Stereochemistry of terpene derivatives. Part 6: Chemoenzymatic synthesis of chiral bicyclo[3.1.0]hexane derivatives with olfactory properties. *Tetrahedron-Asymmetr.* **21**, 805, doi:10.1016/j.tetasy.2010.04.052 (2010).
- 23 Baser, K. H. C. & Buchbauer, G. *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications, Second Edition.* (CRC Press, 2015).
- 24 Kaiser, R. New Volatile Constituents of the Flower Concrete of *Michelia champaca* L. *J. Essent. Oil Res.* **3**, 129-146, doi:10.1080/10412905.1991.9700493 (1991).
- 25 Zviely, M. & Li, M. Ketoximes. *Perfum. Flavor.* **38**, 36-39 (2013).

- 26 Zhukovskaya, N. A., Dikumar, E. A., Moiseichuk, K. L. & Vyglazov, O. G. Preparative synthesis of menthone oxime esters. *Russ. J. Appl. Chem.* **79**, 634-636, doi:10.1134/s1070427206040252 (2006).
- 27 Strub, D. J. *et al.* Stereochemistry of terpene derivatives. Part 8: Synthesis of terpenoids from (1*S*,4*R*)- and (1*R*,4*S*)-fenchone and their comparative odour characteristics. *Tetrahedron-Asymmetr.* **25**, 1038-1045 (2014).
- 28 Strub, D. J., Kula, J., Sikora, M., Gibka, J. & Lochyński, S. Synthesis and olfactory evaluation of homologous series of (+)- and (-)-carvone oxime ethers. *Flavour Fragr. J.* **31**, 81-86, doi:10.1002/ffj.3285 (2016).
- 29 Ralambondrainy, M. *et al.* In vitro comparison of three common essential oils mosquito repellents as inhibitors of the Ross River virus. *PLOS ONE* **13**, e0196757, doi:10.1371/journal.pone.0196757 (2018).
- 30 Elshafie, H. S. *et al.* Cytotoxic Activity of *Origanum Vulgare* L. on Hepatocellular Carcinoma cell Line HepG2 and Evaluation of its Biological Activity. *Molecules* **22**, 1435 (2017).
- 31 Adeniyi, B. A., Fong, H. H. S., Pezzuto, J. M., Luyengi, L. & Odelola, H. A. Antibacterial activity of diospyrin, isodiospyrin and bisisodiospyrin from the root of *Diospyros piscatoria* (Gurke) (Ebenaceae). *Phytother. Res.* **14**, 112-117, doi:[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(200003\)14:2<112::AID-PTR488>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(200003)14:2<112::AID-PTR488>3.0.CO;2-T) (2000).
- 32 Havlichek, D., Saravolatz, L. & Pohlod, D. Effect of quinolones and other antimicrobial agents on cell-associated *Legionella pneumophila*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **31**, 1529-1534, doi:10.1128/AAC.31.10.1529 (1987).
- 33 Iseppi, R. *et al.* Chemical Characterization and Evaluation of the Antibacterial Activity of Essential Oils from Fibre-Type *Cannabis sativa* L. (Hemp). *Molecules* **24**, 2302, doi:doi:10.3390/molecules24122302 (2019).
- 34 Rosato, A. *et al.* Elucidation of the synergistic action of *Mentha Piperita* essential oil with common antimicrobials. *PLOS ONE* **13**, e0200902, doi:10.1371/journal.pone.0200902 (2018).
- 35 Alhanout, K., Brunel, J. M., Ranque, S. & Rolain, J. M. *In vitro* antifungal activity of aminosterols against moulds isolated from cystic fibrosis patients. *J. Antimicrob. Chemother.* **65**, 1307-1309, doi:10.1093/jac/dkq089 %J (2010).
- 36 Quillardet, P., Huisman, O., D'Ari, R. & Hofnung, M. SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *PNAS* **79**, 5971-5975, doi:10.1073/pnas.79.19.5971 (1982).
- 37 Prete, R. *et al.* Food-Associated *Lactobacillus plantarum* and Yeasts Inhibit the Genotoxic Effect of 4-Nitroquinoline-1-Oxide. *Front. Microbiol.* **8**, doi:10.3389/fmicb.2017.02349 (2017).
- 38 Quillardet, P., de Bellecombe, C. & Hofnung, M. The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: validation study with 83 compounds. *Mutat. res., Sect. environ. mutagen. relat. subj.* **147**, 79-95, doi:[https://doi.org/10.1016/0165-1161\(85\)90021-4](https://doi.org/10.1016/0165-1161(85)90021-4) (1985).
- 39 Kauffmann, K. *et al.* Alternative type of Ames test allows for dynamic mutagenicity detection by online monitoring of respiration activity. *Sci. Total Environ.* **726**, 137862, doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137862> (2020).
- 40 Mortelmans, K. & Zeiger, E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutat. Res. - Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* **455**, 29-60, doi:[https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(00\)00064-6](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(00)00064-6) (2000).
- 41 Segu, V. B., Li, G. & Metz, S. A. Use of a soluble tetrazolium compound to assay metabolic activation of intact beta cells. *Metabolism: clinical and experimental* **47**, 824-830, doi:10.1016/s0026-0495(98)90120-2 (1998).
- 42 Bony, S., Olivier-Loiseau, L., Carcelen, M. & Devaux, A. Genotoxic potential associated with low levels of the *Fusarium* mycotoxins nivalenol and fusarenon X in a human intestinal cell line. *Toxicol. in Vitro* **21**, 457-465, doi:<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2006.10.014> (2007).
- 43 Szymańska, K. *et al.* Immobilization of invertase on silica monoliths with hierarchical pore structure to obtain continuous flow enzymatic microreactors of high performance. *Microporous Mesoporous Mater.* **170**, 75-82, doi:<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2012.11.037> (2013).

- 44 Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.* **5**, 536-544 (2020).
- 45 Chen, B. *et al.* Overview of lethal human coronaviruses. *Signal Transduct Target Ther.* **5**, 89, doi:10.1038/s41392-020-0190-2 (2020).
- 46 Zhang, L. *et al.* Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors. *Science* **368**, 409-412, doi:10.1126/science.abb3405 (2020).
- 47 Shin, D. *et al.* Papain-like protease regulates SARS-CoV-2 viral spread and innate immunity. *Nature* **587**, 657-662, doi:10.1038/s41586-020-2601-5 (2020).
- 48 Strub, D. *et al.* Evaluation of the anti-SARS-CoV-2 properties of essential oils and aromatic extracts. PREPRINT (Version 2). *Research Square* doi:<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-997891/v2> (2021).
- 49 Rut, W. *et al.* SARS-CoV-2 Mpro inhibitors and activity-based probes for patient-sample imaging. *Nat. Chem. Biol.*, doi:10.1038/s41589-020-00689-z (2020).
- 50 Rut, W. *et al.* Activity profiling and crystal structures of inhibitor-bound SARS-CoV-2 papain-like protease: A framework for anti-COVID-19 drug design. *Sci. Adv.* **6**, eabd4596, doi:10.1126/sciadv.abd4596 (2020).
- 51 Sadgrove, N. J. Purely Australian Essential Oils Past and Present: Chemical Diversity, Authenticity, Bioactivity, and Commercial Value. *Diversity* **14**, 124 (2022).
- 52 Genčić, M. S. *et al.* Linking the antimicrobial and anti-inflammatory effects of immortelle essential oil with its chemical composition – The interplay between the major and minor constituents. *Food Chem. Toxicol.* **158**, 112666, doi:<https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112666> (2021).
- 53 Özek, G. *et al.* Composition and Antimicrobial Activity of the Oils of *Ferula szowitsiana* DC. from Turkey. *J. Essent. Oil Res.* **20**, 186-190, doi:10.1080/10412905.2008.9699987 (2008).
- 54 Bellik, F.-Z. *et al.* Chemical composition, kinetic study and antimicrobial activity of essential oils from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng extracted by conventional and microwave-assisted techniques using cryogenic grinding. *Ind. Crops Prod.* **139**, 111505, doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111505> (2019).
- 55 Owen, D. R. *et al.* An oral SARS-CoV-2 Mpro inhibitor clinical candidate for the treatment of COVID-19. *Science* **374**, 1586-1593, doi:doi:10.1126/science.abl4784 (2021).

Parametr aktywności naukowej	Przed uzyskaniem stopnia doktora	Po uzyskaniu stopnia doktora	Łącznie
Publikacje w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports	7	17	24
Patenty	11	17	28
Publiczna realizacja dzieł artystycznych	0	1	1
Rozdziały w książkach w języku angielskim	0	1	1
Rozdziały w książkach w języku polskim	1	0	1
Sumaryczny Impact Factor^a	15,4	63,8	79,2
Liczba punktów MEiN^b	195	1545	1740
Liczba cytowań^c			
Scopus	11	167	178
Web of Science	10	136	146
Liczba cytowań z wyłączeniem autocytowań^c			
Scopus	3	131	134
Web of Science	2	120	122
Indeks Hirscha	2	8	-

^aIF zgodny z rokiem wydania publikacji. ^bPunkty MEiN zgodnie z wykazem zgodnym z rokiem wydania publikacji. ^c Cytowania na podstawie bazy Scopus i Web of Science