

**Politechnika Wroclawska**  
**Wydział Chemiczny**  
**Katedra Chemii Biologicznej i Bioobrazowania**

Rozprawa doktorska

**Alicja Karolina Surowiak**

**SYNTEZA I ANALIZA AKTYWNOŚCI  
PRZECIWDROBNOUSTROJOWEJ LOTNYCH ZWIĄZKÓW  
ORGANICZNYCH**

Promotor: prof. dr hab. inż. Stanisław Lochyński

Promotor pomocniczy: dr inż. Daniel Strub

Wrocław 2022

## SPIS TREŚCI

1. Wprowadzenie .....	4
2. Przegląd literatury .....	6
2.1. Lotne związki organiczne .....	6
2.1.1 Regulacje prawne dotyczące substancji zapachowych.....	8
2.1.2. Syntetyczne substancje zapachowe – niskocząsteczkowe związki karbonylowe	9
2.1.2. Syntetyczne substancje zapachowe - terpenoidy.....	11
2.2. Azotowe pochodne związków zapachowych.....	12
2.2.1 Oksymy.....	12
2.2.2 Etery oksymów .....	15
2.3. Aspekty dezynfekcji w różnych gałęziach przemysłu .....	16
2.3.1 Chemiczne środki dezynfekcyjne .....	16
2.3.2. Aspekty prawne związane ze środkami do dezynfekcji .....	17
2.3.4 Mikroorganizmy w badaniach nad środkami dezynfekującymi w obszarze spożywcym, przemysłowym, domowym i instytucjonalnym.....	18
2.3.3. Oporność mikroorganizmów na dezynfekcję .....	21
2.4. Aspekty ochrony przeciwdrobnoustrojowej w przemyśle kosmetycznym .....	22
2.4.1 Konserwanty .....	22
2.4.2 Aspekty prawne związane z bezpieczeństwem kosmetyków.....	22
2.4.3 Testy konserwacji produktów kosmetycznych.....	23
2.4.4. Mikroorganizmy w testach konserwacji kosmetyków .....	25
2.4.5. Inne mikroorganizmy związane z przemysłem kosmetycznym .....	27
3. Cel pracy .....	30
4. Badania własne .....	31
4.1 Synteza eterów oksymów.....	31
4.1.1 Krótka charakterystyka substratów .....	31
4.1.2. Reakcja <i>O</i> -alkilowania .....	34
4.1.3. Część doświadczalna .....	35
4.1.4. Wyniki .....	36
4.1.4.4 Pochodne oksymu $\alpha$ -amylocynamaldehydu <b>1</b> .....	41
4.1.4.5 Pochodne oksymu $\beta$ -cyklocytralu <b>12</b> .....	42
4.1.4.6 Pochodne oksymu dihydrojasmonu <b>15</b> .....	44
4.1.4.7 Pochodne oksymu (+)-dihydrokarwonu <b>13</b> .....	47
4.1.4.8 Pochodne oksymu $\alpha$ -heksylocynamaldehydu <b>2</b> .....	49
4.1.4.9 Pochodne oksymu $\alpha$ -izometrylojononu <b>9</b> .....	50
4.1.4.10 Pochodne oksymu <i>cis</i> -jasmonu <b>17</b> .....	53

4.1.4.11 Pochodne oksymu (1 <i>R</i> )-(-)-myrtenalu .....	55
4.1.4.12 Pochodne oksymu (1 <i>S</i> )-(-)-perylaldehydu <b>16</b> .....	57
4.1.4.13 Pochodne oksymu piperonylu <b>18</b> .....	59
4.1.4.14 Pochodne oksymu safranalalu <b>10</b> .....	61
4.1.4.15 Pochodne oksymu <i>p</i> -tolualdehydu <b>3</b> .....	62
4.1.4.16 Pochodne oksymu <i>m</i> -tolualdehydu <b>4</b> .....	63
4.1.4.17 Pochodne oksymu <i>o</i> -tolualdehydu <b>5</b> .....	64
4.1.4.18 Pochodne oksymu (1 <i>S</i> )-(-)-werbenonu <b>14</b> .....	65
4.2. Badania nad aktywnością przeciwdrobnoustrojową .....	69
4.2.1. Krótka charakterystyka metod oznaczania aktywności przeciwdrobnoustrojowej	69
4.2.1.1. Metoda krążkowo-dyfuzyjna.....	69
4.2.1.2 Metody rozcieńczeniowe .....	70
4.2.1.3 Test seryjnych mikrorozcieńczeń w hodowli płynnej z alamarBlue®.....	70
4.2.2. Część doświadczalna.....	71
4.2.2.1. Materiały i metody .....	71
4.2.2.2. Procedura testu przesiewowego I – związki karbonylowe i ich oksymy .....	73
4.2.2.3. Interpretacja wyników testu krążkowo-dyfuzyjnego .....	74
4.2.2.4. Procedura testu przesiewowego II – związki karbonylowe i ich oksymy.....	74
4.2.2.5. Wyniki testów przesiewowych wykonanych metodą II.....	76
4.2.2.6. Procedura testów właściwych.....	76
4.2.2.7. Wyniki testów właściwych.....	78
4.3. Analiza profili zapachowych i progów wyczuwalności wybranych eterów .....	88
4.3.1 Analiza sensoryczna.....	88
4.3.2 Analiza z wykorzystaniem technik olfaktometrii .....	89
4.3.3 Wyniki analizy sensorycznej.....	89
5. Podsumowanie .....	91
6. Literatura.....	93
7. Wykaz rysunków .....	102
8. Wykaz tabel .....	102
9. Aktywność naukowa.....	103
Załącznik Do Rozprawy Doktorskiej .....	107

# 1. Wprowadzenie

Niskocząsteczkowe związki karbonylowe należą do obszernej grupy organicznych związków chemicznych, które charakteryzują się wysoką lotnością. Dzięki tym cechom substancje te są w stanie pobudzać receptory węchowe a tym samym tworzyć wrażenie zapachu [1]. Związki zapachowe występują w naturze i mogą zostać wyizolowane bezpośrednio z roślin czy zwierząt, co niejednokrotnie jest trudne i kosztowne [2]. Związki pochodzenia syntetycznego stanowią doskonałą alternatywę dla surowców naturalnych. Przemawiają za tym zarówno względy ekonomiczne jak i ekologiczne. Synteza nowych związków zapachowych stanowi ogromny wkład w przemysł perfumeryjny, kosmetyczny, spożywczy i farmaceutyczny, a substancje te znajdują zastosowanie jako składniki wielu kompozycji zapachowych. Poszukiwanie nowych związków zapachowych jest także istotne ze względu na fakt, że niektóre powszechnie dotąd stosowane aromaty (takie jak np. geranionitryl) ze względu na ich toksyczność, są wycofywane z obrotu. Niskocząsteczkowe związki organiczne oprócz atrakcyjnych właściwości sensorycznych mogą również hamować wzrost niektórych mikroorganizmów.

Wzrost lekooporności związany z występowaniem w środowisku patogenów bakteryjnych i grzybowych stanowi realne zagrożenie dla bytu człowieka. Jest to spowodowane nadmiernym stosowaniem antybiotykoterapii a także szybką adaptacją mikroorganizmów do zmieniających się warunków bytowych. W odpowiedzi na problem ciągłego wzrostu oporności mikroorganizmów poszukiwane są nowe substancje przeciwdrobnoustrojowe, które będą mogły stanowić alternatywę dla antybiotyków i konserwantów [3]. Dynamiczny rozwój przemysłu kosmetycznego również przyczynił się do poszukiwania nowych środków skutecznie zabezpieczających je przed utratą przydatności. W przypadku tych produktów nie jest konieczne zachowanie sterylności a wystarczające jest jedynie uniemożliwienie namnożenia drobnoustrojów trafiających do produktu podczas produkcji czy użytkowania, co mogłoby być zagrożeniem dla użytkownika [4].

Już w czasach starożytnych interesowano się substancjami pochodzenia naturalnego a w szczególności ich właściwościami leczniczymi. Szczególną uwagę poświęcano ekstraktom roślinnym i olejom eterycznym. Produkty te bogate są w zapachowe związki organiczne z grupy: aldehydów, ketonów, estrów, alkoholi i.in. Rośliny produkują te substancje m.in. w celu ochrony przed pasożytami i drobnoustrojami patogennymi [4].

Odkryto, że substancje te, znajdujące się w tkankach wydzielniczych roślin, posiadają aktywność przeciwdrobnoustrojową. Badania w tym zakresie koncentrują się głównie na całych kompozycjach a w niewielkim stopniu na wyizolowanych poszczególnych składnikach.

Z uwagi na wszechstronny potencjał produktów naturalnych warto wykorzystać te substancje do tworzenia nowych pochodnych, które mogą wykazywać się właściwościami biobójczymi lub biostatycznymi. Lotne związki karbonylowe są powszechnie wykorzystywane w kompozycjach zapachowych, ale aktywność przeciwdrobnoustrojowa wielu z nich nadal nie została dostatecznie przebadana. Natomiast azotowe pochodne tych związków jakimi są oksymy, nie są zbyt często wykorzystywane w kompozycjach zapachowych ze względu na obniżoną lotność w stosunku do substratów. Oksymy charakteryzują się różnorodną aktywnością biologiczną. Niewiele badań jednak koncentruje się na oksymach, które są pochodnymi związków zapachowych. Pochodzące z oksymów etery mogą być natomiast ciekawą alternatywą dla powszechnie stosowanych substancji wonnych. W przeciwieństwie do samych oksymów charakteryzuje je wysoka lotność. Pomimo to, substancje te nie są powszechnie wykorzystywane w kompozycjach zapachowych, chociaż często charakteryzują się ciekawymi profilami zapachowymi. Ponadto obecność atomu azotu w tych cząsteczkach może się przyczynić do wzrostu ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej [5].

W niniejszej pracy przedstawiono syntezę nowych nieopisanych dotąd w literaturze azotowych pochodnych lotnych związków karbonylowych – eterów oksymów. Analizę aktywności przeciwdrobnoustrojowej tych związków oraz substratów (związków karbonylowych i oksymów). W toku badań wykazano, że niektóre z eterów oksymów charakteryzują się porównywalną aktywnością przeciwdrobnoustrojową jak inne substancje pochodzenia naturalnego jak chociażby olejki eteryczne czy inne związki zapachowe. Ponadto wybrane etery oksymów poddano analizie zapachowej: określeniu ich profili zapachowych i progów wyczuwalności zapachu.

## 2. Przegląd literatury

### 2.1. Lotne związki organiczne

Lotne związki organiczne (LZO) stanowią obszerną grupę związków chemicznych obejmujących związki o masie poniżej 300 Da. Charakteryzują się one słabą rozpuszczalnością i dużą prężnością pary, zdolne są one do wywoływania wrażenia zapachu poprzez pobudzanie nabłonka węchowego w nosie człowieka. Związki zapachowe utleniają się bowiem już w temperaturze otoczenia [6]. Występują one w naturze, zarówno w roślinach jak i zwierzętach jako metabolity wtórne. Wyizolowanie tych substancji ze źródeł naturalnych jest często skomplikowane i kosztowne. Pozyskuje się je najczęściej w postaci ekstraktów roślinnych, czy olejków eterycznych, które stanowią mieszaninę wielu związków chemicznych.

Już od zarania dziejów człowiek próbował zmieniać zapach swojego ciała aby skutecznie wtopić się w otoczenie wyróżnić się spośród dużej grupy ludzi, albo zyskać na atrakcyjności a także by chronić się przed infekcjami. Pierwsze zapiski o stosowaniu substancji zapachowych, w powyższych celach, pochodzą już ze starożytności. W tamtym okresie stosowano „wonności”, które najczęściej były tłuszczami nasączonymi ekstraktami roślinnymi czy olejkami eterycznymi. Poszczególne pachnidła różniły się między sobą zapachem oraz funkcją w zależności od rejonu globu. W Egipcie oprócz walorów estetycznych stosowano je do balsamowania zwłok, gdzie dodatkowo wykorzystywano właściwości antyseptyczne takich surowców zapachowych jak mirra czy galbanum. Również na bliskim wschodzie substancje zapachowe były elementem obrządków religijnych takich jak namaszczenie ciał czy kadzenie. Na obszarach należących do starożytnej Grecji czy Rzymu a także Indii czy Chin znaleziono liczne dowody na stosowanie różnych kompozycji zapachowych. W średniowieczu we Francji powstał pierwszy cech perfumiarzy formalizując tym samym zawód osoby zajmującej się dobieraniem kompozycji zapachowych. Pierwsze perfumy w znanej nam obecnie formie powstały na Węgrzech w XIII w. W tym celu po raz pierwszy zastosowano destylację alkoholu i tak powstała Woda Królowej Węgier, która była wodno-alkoholowym destylatem rozmarynu i tymianku. Do czasów obecnych receptura „wody węgierskiej” została wielokrotnie zmodyfikowana, jednakże produkowana jest do dnia dzisiejszego. Pierwsze fabryki produkujące perfumy seryjnie powstały w XIII w. to z tamtej epoki pochodzą takie firmy jak Galimard, Farina, Yardley, Muelhens, czy Lubin [7].

Dopiero pod koniec XIX w. zaczęto analizować kompozycje zapachowe pod kątem ich składu jak również zapoczątkowano wtedy wyodrębnianie i analizę poszczególnych ich składników [8]. Obecnie alternatywą dla pozyskiwania tych substancji ze źródeł naturalnych jest ich produkcja w warunkach laboratoryjnych. Droga syntezy chemicznej pozyskuje się zarówno substancje występujące w naturze np. cytral, mentol czy limonen ale również substancje zupełnie nowe nie posiadające naturalnych odpowiedników np. keton piżmowy [7]. Pośród związków zapachowych możemy wyróżnić związki należące do rozmaitych grup chemicznych, jak chociażby: aldehydy, ketony, alkohole, fenole, estry, etery, węglowodory alifatyczne i.in. [6]. Cechą wspólną wszystkich tych substancji jest obecność grupy funkcyjnej tzw. grupy osmoforowej. Dzięki jej obecności związek jest nośnikiem zapachu. W zależności od właściwości grupy osmoforowej dany związek może stwarzać różne wrażenia węchowe. Substancje posiadające w swojej strukturze grupy z atomem tlenu np. hydroksylowe czy karbonylowe odpowiadają za zapachy przyjemne. Natomiast związki, które w swojej strukturze mają grupy zawierające atom siarki (grupa tioformylowa, tioeterowa itp.) lub azotu (grupa aminowa) odpowiadają za zapachy nieprzyjemne [9]. Zapach danego związku charakteryzuje się najczęściej poprzez jego: trwałość, charakter oraz intensywność. Pierwszy parametr odpowiada okresowi czasu przez jaki zapach utrzymuje się po naniesieniu na różne powierzchnie. Charakter zapachu określany jest poprzez subiektywne odczucie jakie wywołuje – skojarzenie [10]. Na ich podstawie zapachy można zakwalifikować do takich grup jak: zielony, owocowy, kwiatowy, tłusty-aldehydowy, ziołowy, zwierzęco-piżmowy, ambrowy, drzewny, korzenny, balsamiczno-grzybowy, chemiczny i inny [7]. Intensywność zapachu określana jest jako siła danego zapachu i mierzona jest w ppm, określa ona najmniejsze wyczuwalne stężenie zapachu [10].

Dzięki syntezie nowych substancji zapachowych nastąpił przełom w przemyśle perfumeryjnym. Nowe substancje dały perfumiarzom możliwość komponowania nowych, niespotykanych dotąd zapachów (Tabela 1). Pierwszym zapachem z syntetyczną substancją był Fougere Royale Houbigant z 1882 r. a najbardziej znanym Chanel No. 5 z 1922 r. Został on zaprojektowany na początku XX w. przez Ernesta Beauxa. Nieznany wcześniej element kompozycji stanowią aldehydy alifatyczne, które posiadają charakterystyczną tłustą nutę zapachową i już w niewielkiej ilości charakteryzują się dużą intensywnością.

Tab. 1 Przykłady zastosowania substancji syntetycznych w perfumach z XX i XIX w. [7,11]

Dekada	Syntetyki zapachowe	Zastosowania
1900	Kumaryna, heliotropina	„Coty L’Origan”
1910	Undekalakton	„Guerlain Mitsuoko”
1920	aldehydy C10, C11, C12	„Chanel No. 5”
1930	Octan fenyloetylu, civettone	„Dana Tabu”
1940	hydroksycytronelal, keton piżmowy	„Nina Ricci L’Air du Temps”
1950	Salicylan izoamylu, octan cedrylu, piżma nitrowe	„Estée Lauder Youth Dew”
1960	Octan 4-tert-butylocykloheksenylu, Salicylan (Z)-3-heksenylu	„Guy Laroche Fidji”
1970	Dihydrojasmonian metylu	„Chanel No. 19”
1980	Brasynal etylu, Helional	„Calvin Klein Obsession”
1990	Dihydromyrcenol, Piżma cykliczne, Ambrox	„Davidoff Cool Water”
2000	Kaszmeran	„Versace Crystal Noir”
2010	Hedion	„Dior J’adore Voile”
2020	Lorenox	„Calvin Klein Eternity Cologne For Men”

### 2.1.1 Regulacje prawne dotyczące substancji zapachowych

Regulacje prawne dotyczące substancji zapachowych obejmują dwa obszary: normy jakościowe oraz zagadnienia dotyczące bezpieczeństwa stosowania danych substancji w wyrobach. Pośród obszarów dotyczących standardów jakości można znaleźć zapisy w wielu różnych systemach norm takich jak ISO (International Standard Organisation) czy CEN (Comité Européen de Normalisation) dotyczą one w dużej mierze olejków eterycznych. W stosunku do substancji zapachowych syntetycznych stosuje się głównie standardy wewnętrzne poszczególnych dostawców. Ponadto istnieje kilka międzynarodowych organizacji zajmujących się handlem, aspektami produkcji i zastosowaniem poszczególnych substancji zapachowych. Zaliczyć do nich możemy IFEAT (Międzynarodowa Federacja Handlu Olejkami Eteryicznymi i Aromatami), która zajmuje się aspektami bezpieczeństwa obrotu substancjami zapachowymi, IFRA (Międzynarodowe Stowarzyszenie Substancji



Zapachowych) zajmujące się zasadami produkcji i stosowania substancji zapachowych nazywane standardami IFRA, IOFI będący podobną organizacją do IFRA jednak koncentrującą się na aromatach spożywczych, a także RIFM (Instytut Badania Substancji Zapachowych), który jest organizacją pozarządową zajmującą się badaniem bezpieczeństwa poszczególnych substancji zapachowych [7]. W dużej mierze regulacjami syntetycznych substancji zapachowych zajmuje się IFRA. Regularnie publikowane są „Standardy IFRA” informujące o bezpieczeństwie poszczególnych substancji a także o wycofywaniu ich z obrotu. Ponadto zawarta w nich informacja o zagrożeniach i ograniczeniach w zależności od poszczególnych wyrobów, w których znajdują zastosowanie. W ścisłej współpracy z RIFM wyliczane są czynniki ryzyka ekspozycji i dopuszczalne limity zawartości poszczególnych składników z uwzględnieniem właściwości drażniących. Spełnienie wszystkich standardów przez daną kompozycję zapachową jest asygnowane certyfikatem zgodności z IFRA [12]. Polskie regulacje spisane są w ustawie o kosmetykach z dnia 30 marca 2001 Dz.U. 2001 nr 42 poz. 473 wraz z późniejszymi zmianami. W dokumencie tym zawarte są w kilku punktach informacje o kompozycjach zapachowych, zestawienie substancji niedozwolonych w kosmetykach a także listę dopuszczalnych substancji konserwujących. W zapisach tej ustawy pojawiły się również informacje o substancjach, które mogą powodować alergię u niektórych użytkowników [13].

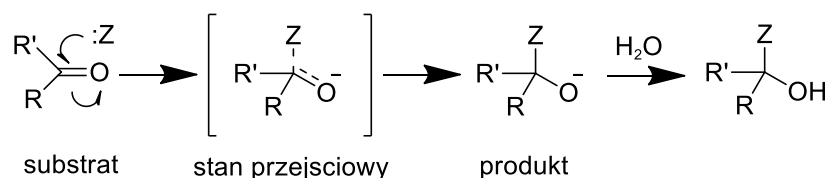
#### 2.1.2. Syntetyczne substancje zapachowe – niskocząsteczkowe związki karbonylowe

Do grupy aldehydów zaliczamy organiczne związki chemiczne, zarówno o budowie alifatycznej jak i aromatycznej, które na końcu łańcucha węglowego posiadają grupę karbonylową [14]. Związki te opisujemy wzorem ogólnym  $RCHO$ , gdzie grupa karbonylowa powiązana jest z atomem wodoru. Aldehydy z poszczególnych podgrup znajdują wykorzystanie w kompozycjach zapachowych jako składniki syntetyczne. Możemy wyróżnić substancje takie jak: aldehyd C-12 metylo-*n*-nonylooctowy (MNA), aldehyd benzoesowy, cetonal<sup>®</sup> czy melonal (Tabela 2) [7,11] Ketony są to organiczne związki chemiczne, które mogą mieć budowę zarówno alifatyczną, jak i aromatyczną. Związki te opisujemy wzorem ogólnym  $RR'CO$ , gdzie z grupą karbonylową powiązane są dwie grupy organiczne [15]. Ketony znajdują dużo szersze zastosowanie w kompozycjach zapachowych jako składniki zapachowe. Pośród nich wyróżnić możemy: cywetton, benzofenon, timbersilk<sup>™</sup>, damaskon czy calone (Tabela 2) [7,11].

Tab. 2 Przykładowe syntetyczne substancje zapachowe z grupy aldehydów i ketonów z profilami zapachowymi [7,11,16]

Nazwa	Profil zapachowy
MNA	zielono-zielony z nutami tłusto- aldehydowymi
Aldehyd benzoesowy	gorzkie migdały z nutami słodkimi, korzennymi
Cetonal ®	drzewny, skórzany z nutami tytoniu, irysu
Melonal	świeży, słodki z nutami arbuza, melona, ozonu
Cywetton	piżmowo-zwierzęcy
Benzofenon	kwiatowy z nutami różanymi, brzoskwiowymi, miodowymi
Timbersilk™	drzewno-ambrowy z nutami kwiatowymi, fiołkowymi
Damaskon	drzewny z nutami miętowymi, kwiatowymi, owocowymi
Calone	świeży, wodnisty z nutami melonowymi, morskimi

Cechą charakterystyczną aldehydów i ketonów dzięki obecności grupy karbonylowej jest ich polarność, przez co związki te mają wyższą temperaturę wrzenia niż niepolarne związki o tej samej masie cząsteczkowej. Ponadto związki te nie tworzą wiązań wodorowych pomiędzy sobą, gdyż wszystkie atomy wodoru w tych cząsteczkach powiązane są z atomami węgla. Addycja nukleofilowa jest reakcją charakterystyczną dla związków, w których strukturze obecna jest grupa karbonylowa. Elektrony  $\pi$  wiązania podwójnego między atomem tlenu i wodoru wykazują się dużą ruchliwością, przez co ulegają przesunięciu w kierunku atomu tlenu. Wynikiem tego jest nadmiar elektronów przy atomie tlenu tej grupy a ich deficyt przy atomie węgla. Ponieważ wiązanie to ma płaską budowę możliwy jest atak zarówno od góry jak i od dołu w kierunku prostopadłym. W reakcjach addycji nukleofilowej (Schemat 1) istotnym etapem jest wytworzenie wiązania z atomem węgla, który ma charakter kwasowy. Dlatego też grupa karbonylowa jest najbardziej podatna na reakcje z czynnikami nukleofilowymi, które bogate są w elektrony a więc z zasadami [15]. Przykładem takiej reakcji może być addycja pochodnych amoniaku np. hydroksyloaminy, która prowadzi do powstawania oksymów i zostanie dokładniej opisana w późniejszym rozdziale.

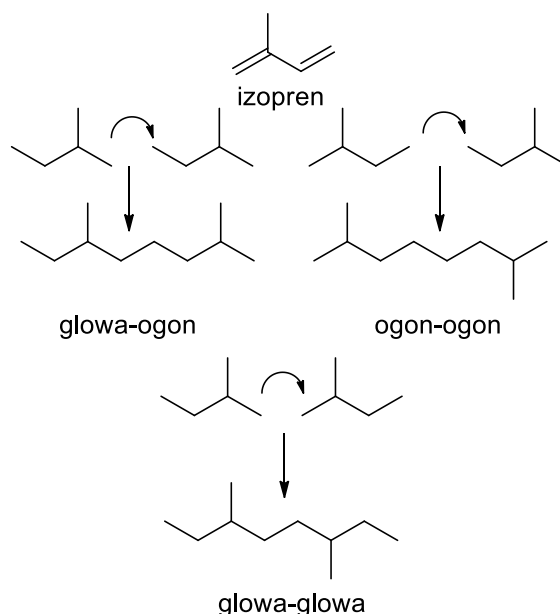


*Schemat 1 Ogólny schemat reakcji addycji nukleofilowej charakterystycznej dla związków posiadających grupę karbonylową*

### 2.1.2. Syntetyczne substancje zapachowe - terpenoidy

Terpenoidy stanowią jedną z największych, charakterystycznych grup pośród lotnych związków organicznych. Związki te występują w naturze głównie jako metabolity wtórne, ale również jako związki sygnalizujące, ochronne czy obronne [17]. Substancje te mają budowę podjednostkową, gdzie pojedynczą jednostkę stanowi izopren. Ponieważ izopren (2-metylobuta-1,3-dien) zbudowany jest z pięciu atomów węgla, liczba tych atomów w terpenoidach jest wielokrotnością liczby pięć [18]. Wyróżnić możemy więc hemiterpenoidy (jedna podjednostka), monoterpenoidy (dwie podjednostki), seskwiterpenoidy (trzy podjednostki), diterpenoidy (cztery podjednostki), sesterterpenoidy (pięć podjednostek), triterpenoidy (sześć podjednostek), tetraterpenoidy (siedem podjednostek) oraz poliizoprenoidy (osiem i więcej podjednostek).

Pod koniec XIX w. zaproponowano regułę budowy terpenów – regułę izoprenową. Według tej zasady, poszczególne podjednostki mogą się między sobą łączyć w dowolny sposób, jednakże każda pochodna z poszczególnej klasy terpenoidów pochodzi od pojedynczego związku charakterystycznego. Ponadto opisano trzy wariacje połączeń podjednostek izoprenowych: ogon-ogon (z *ang.* tail-to-tail), głowa-głowa (z *ang.* head-to-head) oraz głowa-ogon (z *ang.* head-to-tail) (Rysunek 1). W naturze najczęściej występuje połączenie głowa-ogon, połączenie ogon-ogon występuje sporadycznie pośród karotenoidów i steroidów, natomiast połączenie ogon-ogon w naturze nie występuje. Powstające w ten sposób szkielety ulegają dalszym modyfikacjom jak chociażby połączeniu w pierścienie lub funkcjonalizacji przez inne heteroatomy [10].



Rys. 1 Struktura izoprenu oraz sposoby łączenia jednostek izoprenowych

Biosynteza terpenoidów zachodzi m.in. w szlaku mewalonowym. Główny etap powstawania tych związków obejmuje proces kondensacji difosforanu izopentenylu (IPP) z difosforanem dimetyloallilu (DMAPP). Produktami tej reakcji są prekursorzy (jednostki dziesięciowęglowe o formie *cis* i *trans*). Obecność chiralnego atomu węgla w ich strukturze powoduje, że terpenoidy mogą występować w formie dwóch enancjomerów [10].

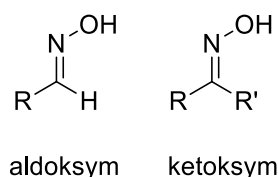
Pośród terpenoidów, które znajdują zastosowanie jako składniki kompozycji zapachowych wyróżnić możemy mentol o zapachu chłodzącym, miętowym, cytral o zapachu cytrynowym, słodkim, owocowym czy też  $\alpha$ -jonon o zapachu kwiatowym, fiołkowym [7]. Ponadto wiele ze związków posiadających strukturę izoprenową wykazuje aktywność biologiczną [19].

## 2.2. Azotowe pochodne związków zapachowych

### 2.2.1 Oksymy

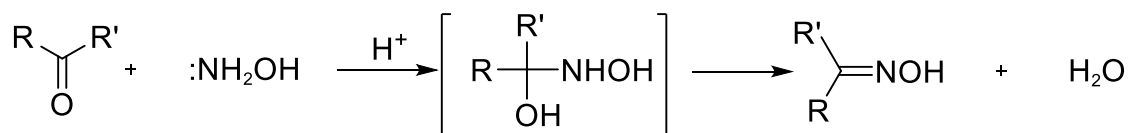
Oksymy należą do grupy imin, są pochodnymi hydroksyloaminy i charakteryzuje je wiązanie podwójne między atomem węgla i azotu. Oksymy opisuje się wzorem ogólnym  $RR'C=NOH$ , reszta R to alifatyczny lub aromatyczny łańcuch, a reszta R' to atom wodoru lub inna reszta organiczna (Rysunek 2). Dzięki obecności charakterystycznego wiązania podwójnego każdy oksym posiada dwa stereoisomery (*Z*) i (*E*) [20], jednakże to izomery *E* są bardziej aktywne biologicznie. Podczas syntezy chemicznej uzyskuje się najczęściej oba izomery, które następnie można całkowicie rozdzielić [21]. Poprzez reakcję

hydroksyloaminy z aldehydem lub ketonem tworzone są odpowiednio aldoksymy i ketoksymy. Oksymy w większości mają charakter słabo amfoteryczny, poprzez obecność słabo zasadowego atomu azotu i słabo kwasowej grupy hydroksylowej [20].



Rys. 2 Wzór ogólny aldoksymu i ketoksymu

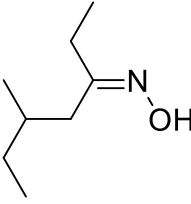
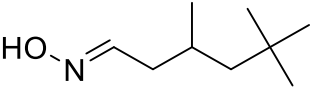
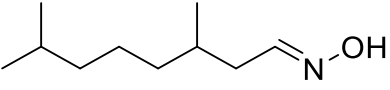
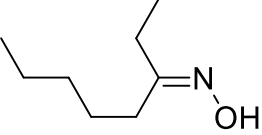
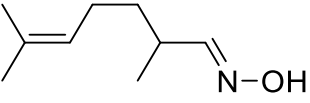
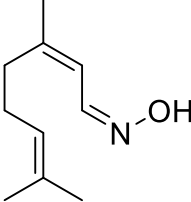
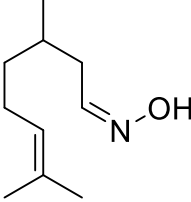
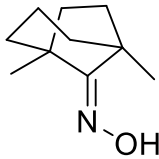
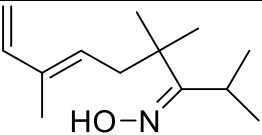
Oksymy są jednymi ze związków powstających na drodze addycji nukleofilowej jednej z pochodnych amoniaku, hydroksyloaminy (Schemat 2). Substancja ta ma charakter zasadowy i reagując z kwasami tworzy sól – chlorowoderek hydroksyloaminy, który jest stabilniejszy, ponieważ trudniej utlenia się z tlenem obecnym w powietrzu. W reakcji ze związkiem karbonylowym substancje te poddaje się działaniu zasady aby wyprzeć hydroksylaminę z soli. Sama reakcja musi przebiegać w środowisku dość kwaśnym aby zapewnić wystarczającą ilość protonowanego związku karbonylowego. Zbyt kwaśne środowisko może natomiast przyczynić się do obniżenia stężenia wolnego związku azotowego [15].



Schemat 2 Ogólny schemat addycji nukleofilowej hydroksyloaminy do ketonu lub aldehydu gdzie R' to reszta organiczna lub atom wodoru

Związki te również występują w naturze, w roślinach najczęściej jako prekursorzy w szlakach biosyntezy metabolitów wtórnych, związanych z systemami ochronnymi np. jako półprodukty w syntezie glikozydów cyjanogenicznych. Większość z nich wytwarzana jest w cytochromie P450 z rodziny CYP79. Teoretycznie więc wszystkie kwitnące rośliny posiadające CYP79 zdolne są do wytwarzania oksymów. Oksymy uwalniane są z roślin w formie lotnej a jedynie te związane w postaci glikozydów są w niej magazynowane. Ponieważ oksymy pełnią funkcję przejściową w szlakach biosyntezy innych metabolitów, ich stężenie jest niskie, przez co często zostają one pomijane w oznaczeniach w próbkach biologicznych [21]. U zwierząt natomiast biorą udział m.in. w komunikacji zapachowej między osobnikami. Ponadto biorą one udział w różnych procesach metabolicznych np. aminokwasów [22].

Tab. 3 Oksymy wykorzystywane w kompozycjach zapachowych [16,30].

Nazwa	Struktura	Profil zapachowy
Stemon		zielony, przypominający rozdrobnione liście figowe
Oksym 3,5,5-trimetyloheksanal		zielony, weterwowy, drzewny z nutami miętowymi, kamforowymi, czarnej porzeczki, grejpfruta
Oksym 3,7-dimetylooktanal		ziemisto-zielony z nutami różanymi
Oksym oktan-3-onu		ziemisto-zielony z nutami mchu
Oksym 2,6-dimetylo-5-heptanal		kwiatowy z nutą gardenii
Oksym cytralu		spleśniały z nutami wodorostów
Oksym cytronellalu		liściasto-zielony z nutami różanymi, cytrusowymi
Oksym Buchu		owocowo-ziołowy z nutami buchu – liści czarnej porzeczki
Oksym Cassis		Owocowy, porzeczkowy z nutami grejpfruta, szaławii

Ugrupowanie oksymowe może ulegać biotransformacjom np. na drodze utleniania czy redukcji. Najważniejszą cechą oksymów jest ich zdolność do kompleksowania metali, dzięki czemu mogą one pełnić funkcję inhibitorów metaloenzymów [23]. Ponadto związki te charakteryzuje zdolność do pełnienia roli katalizatora drugiej i kolejnej generacji w procesach biokoniugacji [24]. Co więcej oksymy wykorzystuje się w implementacji reaktywnych grup karbonylowych i donora par elektronów do biocząteczek [25]. Oksymy charakteryzują się wieloma różnymi aktywnościami biologicznymi. Pośród nich wyróżnić możemy aktywność przeciwdrobnoustrojową, przeciwnowotworową, przeciwzapalną, antyutleniającą [26]. Związki te znane są jako środki terapeutyczne w leczeniu zatruc środkami fosforoorganicznymi (OP) a także w leczeniu infekcji drobnoustrojowych, jako antybiotyki. Należąca do klasy antybiotyków  $\beta$ -laktamowych nokardycyna A posiada w swojej strukturze ugrupowanie oksymowe [27]. Modyfikacje istniejących już antybiotyków np. cefalosporyn poprzez wprowadzenie ugrupowań oksymowych zostało uznane przez wielu naukowców jako dobry kierunek w rozwoju badań nad aktywnością przeciwdrobnoustrojową [26]. Problematyczna w zastosowaniu oksymów jako środków terapeutycznych jest ich stosunkowo słaba rozpuszczalność w wodzie. W tym celu wprowadza się rozmaite modyfikacje ugrupowania oksymowego, poprzez ich estryfikację czy eteryfikację [28]. Ważną cechą charakterystyczną dla oksymów jest mechanizm alkilowania a w szczególności *O*-alkilowania, który zostanie opisany w kolejnym podrozdziale. Niektóre spośród oksymów mimo niższej lotności niż ich substraty charakteryzują się ciekawymi profilami zapachowymi [29], jednakże niewiele z nich jest wykorzystywane w kompozycjach zapachowych (Tabela 3).

### 2.2.2 Etery oksymów

Jedną z charakterystycznych pochodnych oksymów są okso-imino etery, w uproszczeniu etery oksymów. Związki te stanowią ważny element syntezy organicznej. Są one wykorzystywane w syntezie różnych związków zawierających tlen i azot np. amin, nitryli,  $\beta$ -aminokwasów czy laktamów.

Jedną z popularnych metod pozyskiwania *O*-eterów oksymów jest reakcja *O*-alkilowania z halogenkami alkilowymi oraz w obecności silnego reduktora np. wodoru sodu (Schemat 3). W reakcji tej stosuje się najczęściej jodki i bromki, które w porównaniu do chlorków zapewniają znacznie wyższe wydajności reakcji [31].





aldehydy, związki zawierające aktywny chlor, tlen i.in. W formulacjach pojawiają się również inne substancje odpowiedzialne za dodatkowe walory produktu jak np. cechy myjące, zapobiegające korozji, wzmacniające efekt biobójczy czy też wspomagające stabilność całego produktu [37,38].

Preparaty alkoholowe oparte są najczęściej na alkoholu *n*-propylowym, *izo*-propylowym czy etylowym. Są wykorzystywane najczęściej w dezynfekcji higienicznej a także do dezynfekcji niewielkich powierzchni. Posiadają wysoką efektywność wobec bakterii zarówno Gram dodatnich jak i Gram ujemnych a także wirusów osłonkowych. Cechują się średnią aktywnością wobec prątków, grzybów i części wirusów bezosłonkowych. Preparaty aldehydowe oparte są na formaldehydzie, glikosalu czy aldehydzie bursztynowym i glutarowym. Objęte są one jednak licznymi ograniczeniami, co spowodowane jest ich działaniem drażniącym czy mutagennym. Aldehydowe dezynfektanty wykazują dobrą efektywność wobec bakterii, prątków, grzybów i wirusów osłonkowych a średnią wobec przetrwalników i wirusów bezosłonkowych. Stosowane są najczęściej do dezynfekcji powierzchni. Preparaty oparte na aktywnym działaniu chloru są nietrwałe i opierają się głównie na podchlorynach, dichloroizocyjanuranie sodu czy chloroaminach. Dobrze działają na bakterie, przetrwalniki i wirusy osłonkowe. W stopniu umiarkowanym są efektywne wobec prątków, grzybów i wirusów bezosłonkowych. Substancje, których działanie wynika z obecności aktywnych form tlenu oparte są m.in. na kwasie nadoctowym, mononadsiarczanie potasu czy peroksyftalanie magnezu. Podobnie jak środki oparte na aktywnym działaniu chloru są nietrwałe a dodatkowo mogą też powodować korozję. Charakteryzują się wysoką aktywnością wobec bakterii i wirusów osłonkowych, średnią wobec grzybów, przetrwalników i wirusów bezosłonkowych a umiarkowaną wobec prątków. Preparaty fenolowe są stopniowo wypierane z zastosowania przez inne środki z powodu ich działania drażniącego, a także negatywnego wpływu na układ nerwowy i oddechowy [38].

### 2.3.2. Aspekty prawne związane ze środkami do dezynfekcji

Wprowadzenie produktów biobójczych do obrotu opisane jest w ustawie z dnia 9 października 2015 o produktach biobójczych (Dz. U. 2015 poz. 1926) wraz z późniejszymi zmianami a także Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady UE nr 528/2012 z 22 maja 2012 r. w sprawie udostępnienia na rynku i stosowania produktów biobójczych. Oba te uregulowania prawne regulują standardy jakie musi spełniać dany środek aby trafić do

Wykazu Produktów Biobójczych. Zaliczyć możemy do nich wszelkie pozwolenia i zezwolenia, a także zatwierdzenie substancji czynnych. Producent zobowiązany jest przedstawić charakterystykę produktu biobójczego zawierającą m.in. szczegółową informację o substancjach czynnych (w tym nazwę, nr CAS oraz zawartość w produkcie), informację o przeznaczeniu produktu z uwzględnieniem grupy produktowej i postaci użytkowej oraz okres ważności produktu. Ponadto nałożono na niego obowiązek sporządzenia i przedstawienia karty charakterystyki produktu przygotowanej zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1907/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 18 grudnia 2006 r. oraz sprawozdanie z badań nad skutecznością środka przeprowadzonych zgodnie z normami międzynarodowymi lub/i krajowymi [39].

Wybór odpowiedniej metody oceny skuteczności dezynfektanta zależy od przeznaczenia danego produktu z uwzględnieniem występujących drobnoustrojów, miejsca zastosowania czy warunków środowiska. Informacje na ten temat można znaleźć w normie PN-EN 14885 :2019 „Chemiczne środki dezynfekcyjne i antyseptyczne - Zastosowanie norm europejskich dotyczących chemicznych środków dezynfekcyjnych i antyseptycznych”, która jest zestawieniem opublikowanych norm służących do oceny skuteczności środków dezynfekcyjnych w poszczególnych obszarach wykorzystania jak również zawiera informację o doborze warunków przeprowadzanego testu [40]. Dobranie odpowiednich testów daje gwarancję skuteczności produktu.

#### 2.3.4 Mikroorganizmy w badaniach nad środkami dezynfekującymi w obszarze spożywczym, przemysłowym, domowym i instytucjonalnym

Tak jak już wspomniałam w poprzednim rozdziale norma europejska określa szczegółowe warunki przeprowadzanego testu. W tym również informację o poszczególnych mikroorganizmach, wobec których udowodniona musi zostać aktywność biobójcza. Dla poszczególnych obszarów zastosowania sprecyzowane są grupy mikroorganizmów, wobec których aktywność musi zostać obligatoryjnie udowodniona a także grupy dodatkowych mikroorganizmów wskazanych do kontroli [40]. W celu oceny praktycznego działania poszczególnych produktów przeprowadza się badania ilościowe w dwóch fazach/etapach w celu odzwierciedlenia skuteczności w określonych warunkach działania i uzyskania wymaganego poziomu redukcji mikroorganizmów [41]. Na potrzeby niniejszej pracy skupię się na omówieniu mikroorganizmów objętych normami PN-EN 1276:2019, PN-EN 13697+A1:2019, PN-EN 1650:2019 i PN-EN 13623:2021. Normy te

obejmują wybrane szczepy bakterii: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Enterococcus hirae*, *Staphylococcus aureus*, oraz drożdży i pleśni *Candida albicans* i *Aspergillus brasiliensis* (Tabela 4) są to mikroorganizmy wymagane do określenia aktywności bakteriobójczej i grzybobójczej.

Poszczególne szczepy bakteryjne spośród wymienionych gatunków mogą być patogenami oportunistycznymi. Ponadto należą one do mikroorganizmów związanych z fizjologiczną mikroflorą człowieka (*E. coli*, *S. aureus*, *E. hirae*), bytują w glebie i wodzie (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *L. pneumophila*). Bakterie z gatunku *E. coli* są jednymi z najbardziej rozpowszechnionych mikroorganizmów w środowisku. W organizmie człowieka wspomagają trawienie i biorą udział w produkcji witamin z grupy B i K [42]. Patogenne *E. coli* odpowiedzialne są za zakażenia w obrębie przewodu pokarmowego (IPEC) oraz wywołujące choroby pozajelitowe (EXPEC). Uważa się że aż 16% chorób przenoszonych przez żywność powiązana jest z bakteriami tego gatunku [43]. Cechą charakterystyczną tej bakterii jest zdolność do wytwarzania barwników. Wśród nich wyróżnić możemy: niebiesko-zieloną piocyjaninę, fluoryzującą na zielono w UV fluoresceinę, czerwoną piorubinę oraz brązową melaninę. Patogenne szczepy *P. aeruginosa* są jednymi najgroźniejszych gatunków powodujących zakażenia wewnątrzszpitalne. Jest to bakteria odporna na wiele antybiotyków, ponieważ posiada nieprzepuszczalną ścianę i błonę komórkową. Jest to również jeden z niewielu mikroorganizmów dla których udało się opracować szczepionkę przeciwko zakażeniom bakteriami z tego gatunku. Pseudovac® firmy Biomed stosowana jest m.in. w profilaktyce zakażeń ran oparzeniowych [44]. Ponadto wykazano, że niepatogenne szczepy pałeczki ropy błękitnej są w stanie funkcjonować na obszarach skażenia ropą naftową i są w stanie rozkładać ropę naftową, do krótszych *n*-alkanów [45]. *L. pneumophila* rozmnażają się w amebach a człowiek jest jedynie ich przypadkowym żywicielem [46]. Bakteria ta powoduje dwie odrębne choroby tj. chorobę legionistów i gorączkę Pontiac. Do zakażenia dochodzi drogą kropelkową poprzez rozprzestrzenianie skażonych aerozoli np. przez klimatyzatory a także przez skażoną wodę np. pod prysznicem, w fontannach itp. [47] Leczenie zakażeń *Legionella sp.* poza wzrastającą lekoopornością utrudnia zdolność bakterii do tworzenia biofilmu a tym samym zwiększona jej odporność na antybiotyki np. azytromycynę czy ciprofloksacyne [48]. Bakterie te produkują specyficzne białka zewnątrzkomórkowe (Esp) oraz substancje agregujące (Agg), które odpowiadają za kolonizację gospodarza [49]. Bakterie z gatunku *E. hirae* powodują głównie zakażenia u kurcząt, powodując spowolnienie ich wzrostu. Jest

niewiele doniesień o zakażeniach ludzi, występują najczęściej jako zakażenia szpitalne. W wyniku zakażenia i wystąpienia bakteriemii dochodzi do zapalenia w obrębie układu moczowego [50]. Ponadto uważa się, że *E. hirae* posiada gen odpowiedzialny za odporność na wankomycynę i może uczestniczyć w transferze tego genu między innymi szczepami *Enterococcus sp.* [51]. Szacuje się, że nawet 30% populacji może być nosicielami *S. aureus*. Patogen ten najczęściej powoduje różnego rodzaju ropne zakażenia skóry i tkanek podskórnych oraz zakażenia układowe. Leczenie zakażeń utrudnia zdolność bakterii do tworzenia biofilmu, a także odporność niektórych szczepów na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe, metycylinę (MRSA) czy wankomycynę (VISA i VRSA). Lekooporność tych bakterii ze względu na dużą obecność w środowisku dramatycznie wzrasta i stanowi realne zagrożenie dla człowieka [52].

Tab. 4 Charakterystyka mikroorganizmów objętych normami PN-EN 1276:2019, PN-EN 13697+A1:2019, PN-EN 1650:2019 i PN-EN 13623:2021 [42,46,53–55]

Nazwa	Barwienie metodą Grama	Kształt	Ruchliwość	Warunki tlenowe
Mikroorganizmy bakteryjne				
<i>E. coli</i>	G-	pałeczki	nie ruchliwe	beztlenowe
<i>P. aeruginosa</i>	G-	pałeczki	ruchliwe, jedna rzęska	bezwzględnie tlenowe
<i>L. pneumophila</i>	G-	pałeczki	ruchliwe, orzęsione	tlenowe
<i>E. hirae</i>	G+	ziarniaki	nie ruchliwe	warunkowo beztlenowe
<i>S. aureus</i>	G+	ziarniaki	nie ruchliwe	warunkowo beztlenowe
Mikroorganizmy grzybowe				
<i>C. albicans</i>	nie dotyczy	jednokomórkowe, bezotoczkowe	nie dotyczy	tlenowe i beztlenowe
<i>A. brasiliensis</i>	nie dotyczy	kropidlaki	nie dotyczy	tlenowe i beztlenowe

Dwa przytoczone gatunki grzybów również są patogenami oportunistycznymi. *C. albicans* wywołuje zakażenie zwane kandydozą. Grzyb ten bytuje w organizmach ludzkich u ok. 70% populacji, głównie w przewodzie pokarmowym nie wywołując

objawów. Określa się dwie kategorie zakażenia: błon śluzowych i ogólnoustrojowe. Grzyby z gatunku *C. albicans* są zdolne do wytwarzania biofilmu co tym bardziej utrudnia skuteczne leczenie tego typu zakażeń a także ułatwia rozwój poza organizmem nosiciela np. na sprzęcie medycznym. Ponadto komórki rosnące w takich skupiskach są bardziej lekooporne [54]. Grzyby te są zdolne do wytwarzania enzymów hydrolitycznych np. proteaz aspartylowych. Enzymy te a także adhezyny ułatwiają kolonizację a także adhezję do tkanek gospodarza, czego konsekwencją jest niszczenie komórek odpornościowych [56]. *A. brasiliensis* wytwarzający czarną pleśń pierwotnie był identyfikowany jako szczep *Aspergillus niger* ATTC16404, ze względu na wytwarzanie unikalnych związków został przekwalifikowany na *A. brasiliensis* [55]. Grzyby z rodzaju *Aspergillus sp.* są najbardziej rozpowszechnionymi grzybami w środowisku, bytują w glebie, wodzie, a także kiepsko wentylowanych wilgotnych pomieszczeniach. Zarodniki przenoszą się wraz z powietrzem. Powodują zakażenia oportunistyczne, tzw. aspergilozy, które mogą dotyczyć uszu, skóry czy płuc. W leczeniu aspergiloz stosuje się najczęściej kaspafunginę czy amfoterycynę B [57].

### 2.3.3. Oporność mikroorganizmów na dezynfekcję

W przypadku długotrwałego stosowania środków dezynfekcyjnych opartych na tych samych składnikach aktywnych może wystąpić zjawisko oporności. Dotyczy ono przede wszystkim bakterii Gram-ujemnych z rodzaju *Pseudomonas*, *Serratia*, *Flavobacterium* czy *Achromobacter*. Komórki patogennych drobnoustrojów uruchamiają różne mechanizmy, aby obniżyć zdolność biobójczą danego preparatu. Zaliczyć możemy do nich: zmiany w budowie błony cytoplazmatycznej, tj. zmniejszenie jej przepuszczalności i zablokowanie transportu substancji do wnętrza komórki, syntezę enzymów odpowiedzialnych za dezaktywację danej substancji, zmiany zachodzące w podjednostkach rybosomów, produkcję metabolitu antagonistycznego, zmiany w szlakach metabolicznych czy usuwanie substancji z pomocą pomp białkowych [38].

Wyróżnić można trzy występujące odporności: nabytą (fenotypową), naturalną (wrodzoną) i krzyżową. Pierwsza z nich wynika z selekcji lub adaptacji drobnoustrojów do nowych warunków środowiskowych. Wrażliwe komórki nabierają odporności w wyniku samoistnej mutacji, pojawiające się odporne mutanty stopniowo zaczynają dominować nad populacją pierwotną, która pozostaje wrażliwa na dezynfektant i zostaje stopniowo wyparta ze środowiska. Odporność fenotypowa związana jest również z wytwarzaniem dodatkowych

barier ochronnych jak lipidy, które mają uszczelniać błonę cytoplazmatyczną. Odporność naturalna może wynikać z wrodzonych cech jak np. brak receptora dla określonego związku lub zdolność do dezaktywacji substancji biobójczej. Odporność uwarunkowana genetycznie wynika ze zdolności bakterii do przyjęcia przez komórkę fragmentu materiału genetycznego chromosomowego lub cytoplazmatycznego odpowiedzialnego za daną cechę odporności. Ostatnia z odporności dotyczy związków o podobnej strukturze chemicznej lub też należących do jednej grupy substancji. Wraz z wystąpieniem oporności na jeden dezynfektant występuje obniżenie wrażliwości na kolejne pochodzące z tej samej grupy związków chemicznych [38].

## 2.4. Aspekty ochrony przeciwdrobnoustrojowej w przemyśle kosmetycznym

### 2.4.1 Konserwanty

Drobnoustroje mają szkodliwy wpływ na produkty kosmetyczne, spożywcze, czy farmaceutyczne doprowadzając w konsekwencji do ich rozkładu, obniżenia jakości produktu, przez co powodują utratę ich właściwości i tym samym przydatności. Aby zapobiegać temu zjawisku do produktów dodaje się substancje konserwujące, czyli hamujące rozwój zarówno grzybów jak i bakterii. Konserwanty zapobiegają degradacji produktu wynikającej z fermentacji podczas użytkowania a także przyczyniają się do przedłużenia trwałości produktu. Najczęściej stosowanymi konserwantami w przemyśle kosmetycznym są substancje z grupy kwasów organicznych i ich pochodnych, aldehydów, alkoholi, fenoli, polifenoli, sole amin czwartorzędowych czy organiczne związki zawierające rtęć. Konserwanty oddziałują na komórki podobnie jak dezynfektanty chemiczne, niszcząc osłony komórkowe i powodując apoptozę lub też zmieniając warunki środowiska np. poprzez zmianę pH, wywołując niekorzystne warunki dla rozwoju mikroflory [37]. Ponadto poszukuje się substancji wielofunkcyjnych, które będą pełnić jednocześnie rolę substancji aktywnej i konserwantu. Ochrona kosmetyków przed drobnoustrojami opiera się też na ścisłej kontroli poszczególnych składników formułacji w tym kontrola aktywności wody [58].

### 2.4.2 Aspekty prawne związane z bezpieczeństwem kosmetyków

Organ doradczy Komisji Europejskiej jakim jest Europejski Komitet Naukowy ds. Bezpieczeństwa Kosmetyków (SCCS) odpowiada za opracowanie metod badania bezpieczeństwa kosmetyków na podstawie ich poszczególnych składników. SCCS w swoich

wytycznych zawiera informacje o warunkach, które dany produkt musi spełnić przed wprowadzeniem na rynek. Znaleźć można w nim sformułowane wymagania w sprawie oceny ekspozycji czy badań toksykologicznych składników kosmetyków [59]. Na tej podstawie powstało Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1223/2009 z dnia 30 listopada 2009 r. wraz z późniejszymi zmianami dotyczące produktów kosmetycznych. Zawiera ono szereg wymogów, które producent musi dodatkowo spełnić przed wprowadzeniem na rynek. Zaliczyć można do nich konieczność śledzenia produktów w łańcuchu dostaw, czy prowadzenie produkcji zgodnie z założeniami Dobrej Praktyki Produkcji, które formalizuje osobna norma dla przemysłu kosmetycznego: PN-EN ISO 22716:2009 Kosmetyki - Dobre Praktyki Produkcji (GMP) - Przewodnik Dobrych Praktyk Produkcji. Wprowadzenie zasad GMP powinno zabezpieczyć produkty kosmetyczne przed skażeniem mikrobiologicznym na etapie ich produkcji, a dodatek konserwantów powinien zabezpieczyć produkty w trakcie ich użytkowania. Najważniejszym źródłem informacji o dopuszczalnych środkach konserwujących jest załącznik V do Rozporządzenia 1223/2009. Zawarty jest w nim wykaz dozwolonych substancji w produktach kosmetycznych. Znaleźć tam można informacje o konkretnych substancjach i dopuszczalnych stężeniach procentowych w produktach o sprecyzowanym zastosowaniu [60].

Zagadnienie bezpieczeństwa mikrobiologicznego jest szeroko opisane specjalistycznych normach. Obejmują one ocenę czystości mikrobiologicznej (PN-EN ISO 16212:2011, PN-EN ISO 18416:2009, PN-EN ISO 21149:2009, PN-EN ISO 21150:2010,– PN-EN ISO 22717:2010, PN-EN ISO 22718:2010), testy skuteczności i ocenę skuteczności zakonserwowania (PN-EN ISO 11930:2012) i.in. Kolejnym unormowaniem prawnym jest ocena jakości mikrobiologicznej opisana w normie PN-EN ISO 17516:2014 „Kosmetyki - Mikrobiologia - Limity mikrobiologiczne”. Kryteria czystości mikrobiologicznej kosmetyków opisane są także w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia z 23 grudnia 2002r. Dz. U. nr 9, poz. 107 „W sprawie określenia procedur pobierania próbek kosmetyków oraz procedur przeprowadzania badań laboratoryjnych” i obejmuje mikroorganizmy z gatunków *P. aeruginosa*, *S. aureus* i *C. albicans* a norma PN-EN ISO 17516: 2014 obejmuje dodatkowo bakterie z gatunku *E. coli* [37].

#### 2.4.3 Testy konserwacji produktów kosmetycznych

Jak już wspomniałam wcześniej jednym z wymogów jakie nakłada na producentów Rozporządzenie 1223/2009 jest obowiązek sporządzenia raportu bezpieczeństwa produktu.

Kluczowym elementem tego dokumentu jest jakość mikrobiologiczna kosmetyku obejmująca test pod szczególnym obciążeniem – test konserwacji.

Tab. 5 Zestawienie drobnoustrojów wykorzystywanych w testach konserwacji wraz z czasem prowadzenia eksperymentu i kryteriami akceptacji [61] Legenda: (\*)- testu nie prowadzi się w danym dniu, (-) – brak wzrostu mikroorganizmów.

Metoda	Mikroorganizm	Czas testu	Log redukcji wzrostu mikroorganizmów A-B						
			2 dni	7 dni	14 dni	21 dni	28 dni	35 dni	42 dni
Farmakopealna	<i>E. coli</i>	2-28 dni	≥2- (*)	≥3- (*)	(*)- ≥3	(*)	(-)	(*)	(*)
	<i>P. aeruginosa</i>								
	<i>S. aureus</i>								
	<i>C. albicans</i>	14-28 dni	(*)	(*)	≥2- ≥1	(*)	(-)	(*)	(*)
	<i>A. brasiliensis</i>								
KoKo Shülke	<i>E. gergoviae</i>	6 tygodni							
	<i>E. coli</i>								
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>								
	<i>Kocuria rhizophila</i>		(*)	≥4- ≥3	≥4- ≥3	≥4- ≥3	≥4- ≥3	≥4- ≥3	≥4- ≥3
	<i>P. aeruginosa</i>								
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>								
	<i>Pseudomonas putida</i>								
	<i>S. aureus</i>								
	<i>C. albicans</i>	6 tygodni							
	<i>A. brasiliensis</i>		(*)	≥3- ≥2	≥3- ≥2	≥3- ≥2	≥3- ≥2	≥3- ≥2	≥3- ≥2
<i>Talaromyces pinophilus</i>									
PN-EN ISO 11930:2012	<i>E. coli</i>	7-28 dni	(*)	≥3- (*)	≥3- ≥3	(*)	≥3- ≥3	(*)	(*)
	<i>P. aeruginosa</i>								
	<i>S. aureus</i>								
	<i>C. albicans</i>	14-28 dni	(*)	≥1- (*)	≥1- ≥1	(*)	≥1- ≥1	(*)	(*)
	<i>A. brasiliensis</i>	14-28 dni	(*)	(*)	≥0- ≥0	(*)	≥1- ≥0	(*)	(*)



Taki test ma na celu potwierdzić, że zastosowane konserwanty dostatecznie zabezpieczają kosmetyk przed rozwojem szkodliwej mikroflory a także chronią przed wtórnym zakażeniem. Metodyka przeprowadzania testów konserwacji dostępna jest w trzech podstawowych wariantach: Metodzie Farmakopealnej, Metodzie KoKo Shülke Test oraz wg. wcześniej wspomnianej normy PN-EN ISO 11930:2012. Testy przeprowadza się na etapie badawczo-wdrożeniowym, a także w trakcie produkcji. Sam test polega na zaszczerpieniu odpowiednimi szczepami drobnoustrojów kosmetyku i inkubacji we właściwych warunkach a następnie ocenia się na podstawie posiewów stopień redukcji mikroorganizmów (Tabela 5). Zastosowana metodologia badań pomiędzy testami różni się sposobem wprowadzenia zanieczyszczenia do próbki a także czasem inkubacji próbki przed dokonaniem posiewów i odczytaniem wyniku. Wszystkie te testy weryfikują właściwości zastosowanych środków konserwujących. Metody te przewidują dwa kryteria A i B. Pierwsze kryterium wyraża zalecaną skuteczność do osiągnięcia. Gdy kryterium to nie może być spełnione w uzasadnionych przypadkach, np. ze względu na możliwe działania niepożądane, należy spełnić nie tak restrykcyjne kryterium B. Dobór odpowiedniego testu zależy przede wszystkim od właściwości produktu, składu i procesu technologicznego, w którym powstaje [61].

#### 2.4.4. Mikroorganizmy w testach konserwacji kosmetyków

Poszczególne metody prowadzenia testów konserwacji obejmują mikroorganizmy z domeny bakterii, klasy drożdżaków (*Sacharomycetes*) i rzędu kropidlakowców (*Eurotiales*). Test KoKo Shülke obejmuje najszerszą grupę mikroorganizmów (11 gatunków) podczas gdy dwie pozostałe metody obejmują jedynie pięć gatunków. Skoncentruję się na opisanu gatunków mikroorganizmów, które nie zostały wcześniej opisane w podrozdziale 2.3.4. Bakterie wymagane w metodzie KoKo Shülke Test są patogenami oportunistycznymi z wyłączeniem *P. fluorescens* i *T. pinophilus*. Bytują one w glebie i wodzie (*E. gergoviae*, *P. fluorescens*, *P. putida* i *T. pinophilus*) a także związane są z fizjologiczną florą człowieka (*K. aerogenes*, *K. rhizophila*) (Tabela 6) [62–67].

Tab. 6 Charakterystyka mikroorganizmów wykorzystywanych w teście konserwacji KoKo Shülke [62–67].

Nazwa	Barwienie metodą Grama	Kształt	Ruchliwość	Warunki tlenowe
Mikroorganizmy bakteryjne				
<i>E. gergoviae</i>	G-	pałeczki	ruchliwe, orzęsione	warunkowo beztlenowe
<i>K. aerogenes</i>	G-	pałeczki	ruchliwe, wić	warunkowo beztlenowe
<i>K. rhizophila</i>	G+	ziarniaki	nieruchliwe	bezwzględnie tlenowe
<i>P. fluorescens</i>	G-	pałeczki	ruchliwe, orzęsione	bezwzględnie tlenowe
<i>P. putida</i>	G-	pałeczki	ruchliwe, orzęsione	tlenowe
Mikroorganizmy grzybowe				
<i>T. pinophilus</i>	nie dotyczy	pędzłaki	nie dotyczy	tlenowe i beztlenowe

Cechą charakterystyczną *E. gergoviae* nazywanej również *Pluralibacter gergoviae* jest wytwarzanie esterazy, która daje im odporność na parabeny – często stosowane konserwanty. Bakteria ta jest jedną z najczęściej spotykanych w kosmetykach, które były w ten sposób konserwowane [68]. *K. aerogenes* była znana wcześniej pod nazwą *Enterobacter aerogenes*, w procesach fermentacyjnych jest w stanie przekształcać wiele różnych rodzajów cukrów [64]. Bakteria ta posiada duże zdolności adaptacyjne i wykazuje się dużą lekoopornością [69]. *K. rhizophila* nazywana wcześniej *Micrococcus luteus* jest bakterią halofilną [66]. Wchodzi w skład flory bakteryjnej skóry i jamy ustnej człowieka. Mimo, tego bakterie te są powiązane z infekcjami układu moczowego, zapaleniem woreczka żółciowego, zapaleniem rogówki i.in. [70]. Nazwa *P. fluorescens* wywodzi się od zielonego barwnika, który wytwarzają te bakterie – fluoresceiny. Niektóre szczepy zdolne są do przeprowadzania procesów denitryfikacji. Ponadto u połowy pacjentów cierpiących na chorobę Crohna wykryto w surowicy przeciwciała wobec antygeny I2 kodowanego przez *P. fluorescens*. Jednakże do tej pory nie wyjaśniono roli tej bakterii w przebiegu tej choroby [71]. Bakterie z gatunku *P. putida* są zdolne bytować w szerokich zakresach pH i temperatur [62] a większość szczepów bytuje tylko w warunkach tlenowych [72]. Bakterie te mogą

wykorzystywać różne źródła węgla oraz przetrwać w obecności substancji toksycznych, dlatego też znalazły one zastosowanie w bioremediacji. Ponadto bakterie te wykorzystywane są biotechnologicznie w syntezie biopolimerów i innych związków chemicznych [62]. *T. pinophilus* wcześniej znany pod nazwą *Penicillium pinophilum* jest mikroorganizmem saprofitycznym [67]. Jest zdolny do wytwarzania enzymów redukujących biomasę np. celulazę,  $\alpha$ -galaktozydazę czy endoglukanazę [73]. Ponadto wytwarza on szereg użytecznych medycznie metabolitów jak np. 3-O-metylofunikon o działaniu przeciwnowotworowym [74] czy talaromikrolidy, które hamują wzrost odpornej na metycylinę *S. aureus* [75].

#### 2.4.5. Inne mikroorganizmy związane z przemysłem kosmetycznym

Tak jak wspomniałam w rozdziałach 2.4.1 i 2.4.3, do zakażenia produktów kosmetycznych może dochodzić podczas ich użytkowania co może wiązać się z utratą przydatności a także może stanowić realne zagrożenie dla użytkownika. Wpływ na skażenie produktu ma jego formuła, w tym stosowane konserwanty a także opakowanie, przechowywanie, liczba użytkowników oraz czas użytkowania. W kosmetykach wtórnie zakażonych bytują mikroorganizmy różnych gatunków. Mimo różnych metodologii oceniających efektywność konserwantów, w kosmetykach nadal są znajdowane mikroorganizmy, które te testy obejmują np. *S. aureus* w balsamach do rąk i ciała [37]. Wiele z mikroorganizmów znajdujących we wtórnie zakażonych kosmetykach nie jest ujęta w testach konserwacji, dlatego też efektywność konserwantu pod ich względem nie jest analizowana. Na potrzeby niniejszej pracy omówię niektóre gatunki, których obecność potwierdzono w kosmetykach (Tabela 7).

*Bacillus cereus*, jest bakterią wytwarzającą przetrwalniki, które są odporne na działanie ekstremalnych warunków środowiskowych jak wysoka temperatura, niska temperatura, suszenie czy działanie promieni gamma, co sprawia, że są one w stanie przetrwać sterylizację produktów spożywczych. Bakterie z tego gatunku produkują  $\beta$ -laktamazy, przez co są odporne na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe [42]. Występują najczęściej w produktach kosmetycznych służących do pielęgnacji i makijażu oczu [76,77]. *B. cepacia* znana również pod nazwą *Pseudomonas cepacia* są kompleksami bakterii nieprzetrwalnikujących, które są do siebie fenotypowo podobne i dlatego też nie wydziela się ich poszczególnych gatunków [78]. Bakterie te mają stosunkowo niewielkie wymagania odżywcze, wykorzystują różne źródła węgla, dzięki czemu są w stanie rozkładać związki,

które nie są łatwo degradowane [79]. W badaniach nad mikroorganizmami bytującymi w skażonych na drodze użytkowania kosmetykach została znaleziona m.in. w produktach do demakijażu, płynach do kąpieli, płynach do higieny jamy ustnej oraz peelingach [80]. *K. pneumoniae* nie wytwarza przetrwalników, charakteryzuje je fenotyp śluzowaty ze względu na obecność polisacharydowej otoczki na błonie komórkowej [81,82]. Charakteryzują je specyficzne struktury powierzchniowe, które chronią je przed czynnikami zewnętrznymi a także fagocytozą [83]. Bakteria ta łatwo nabiera lekooporności a dzięki obecności plazmidów może ją rozprzestrzeniać wśród innych mikroorganizmów [83]. W badaniach nad mikroorganizmami bytującymi w skażonych na drodze użytkowania kosmetykach została znaleziona m.in. w żelach pod prysznic, szamponach, czy produktach do higieny jamy ustnej [80]. *S. epidermidis* to bakterie halofilne, które podobnie jak *S. aureus* są zdolne do wytworzenia biofilmu co znacząco utrudnia leczenie zakażeń i poprawia lekooporność [84]. W badaniach nad mikroorganizmami bytującymi w skażonych na drodze użytkowania kosmetykach została znaleziona m.in. w płynie do kąpieli i szamponie [85].

Tab. 7 Charakterystyka mikroorganizmów odpowiedzialnych za zakażenie wtórne kosmetyków

Nazwa	Barwienie metodą Grama	Kształt	Ruchliwość	Warunki tlenowe	Występowanie	Patogenność
Mikroorganizmy bakteryjne						
<i>Bacillus cereus</i>	G+	laseczki	ruchliwe, orzęsione	względnie beztlenowe	gleba	warunkowa
<i>Burkholderia cepacia</i>	G-	pałeczki	ruchliwe, wić	tlenowe	wilgotne otoczenie	oportunistyczna
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	G-	pałeczki	nieruchliwe	warunkowo beztlenowe	gleba, mikroflora człowieka	hiperwirulentna/ oportunistyczna
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	G+	ziarniaki	ruchliwe, orzęsione	warunkowo beztlenowe	mikroflora człowieka	oportunistyczna
Mikroorganizmy grzybowe						
<i>Candida parapsilosis</i>	nie dotyczy	jednokomórkowe, bezotoczkowe	nie dotyczy	tlenowe i beztlenowe	mikroflora człowieka	oportunistyczna
<i>Aspergillus fumigatus</i>	nie dotyczy	kropidlaki	nie dotyczy	tlenowe i beztlenowe	gleba	oportunistyczna

*C. parapsilosis* to gatunek grzybów należący do rzędu drożdżakowców, ich komórki są owalne, okrągłe lub cylindryczne. W hodowli na podłożu stałym kolonie są białe,

kremowe, błyszczące i gładkie. *C. parapsilosis* nie wytwarza strzępek, można je spotkać w formie drożdżakowej lub pseudostrzępkowej [86]. Znacząca część szczepów tego gatunku wytworzyła odporność na te leki i nowe terapie są wciąż poszukiwane [87]. W badaniach nad mikroorganizmami bytującymi w skażonych na drodze użytkowania kosmetykach został znaleziony m.in. w kremach [88,89] czy w tuszu do rzęs [90]. *A. fumigatus* to gatunek grzybów należący do rzędu kropidlakowców, jest gatunkiem kosmopolitycznym i wytwarza szarą pleśń. Jest on saprofitem, żyjącym wegetatywnie w glebie a także na rozkładających się materiałach organicznych [91]. W badaniach nad mikroorganizmami bytującymi w skażonych na drodze użytkowania kosmetykach został znaleziony w tuszu do rzęs [92] czy pudrach kosmetycznych [93].

### 3. Cel pracy

Nowe syntetyczne związki zapachowe mogą zostać wykorzystane w wielu gałęziach przemysłu jako składniki kompozycji zapachowych. Dodatkową zaletą wielu z nich jest wykazywanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Poszukiwanie nowych alternatyw dla antybiotyków, dezynfektantów i konserwantów jest ważną częścią badań mikrobiologicznych. Wynika to z faktu, iż wiele drobnoustrojów wytwarza nowe mechanizmy odpornościowe, które niestety ulegają szybkiemu rozprzestrzenieniu się. Na całym świecie mamy więc do czynienia ze wzrostem lekooporności mikroorganizmów patogennych. Wiele chorób takich jak chociażby gruźlica czy zapalenie płuc stają się coraz trudniejsze do wyleczenia. Podobny problem dotyczy zagadnień dezynfekcji w różnych obszarach przemysłu, czy zabezpieczenia m.in. produktów kosmetycznych przed mikroorganizmami.

Celem niniejszej pracy była synteza nieopisanych dotąd w literaturze eterów oksymów o potencjale zapachowym i weryfikacja ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej wobec szczepów patogennych objętych normami obejmującymi badania skuteczności środków do dezynfekcji i konserwantów stosowanych w produkcji kosmetyków, jak również mikroorganizmów odpowiedzialnych za wtórne zakażenia kosmetyków.

W pierwszej części skoncentrowałam się na syntezie pochodnych aldehydu cynamonowego, aldehydu benzoowego, jononu, cytralu, *p*-mentanu a także związków karbonylowych o układach bicyklicznych i jasmonu. W tym celu wykorzystywałam halogenki alkilowe o prostych łańcuchach alifatycznych. W drugiej części badań skupiłam się na analizie przeciwdrobnoustrojowej wobec dziesięciu szczepów. Do badań włączyłam również substraty czyli związki karbonylowe i ich oksymy.

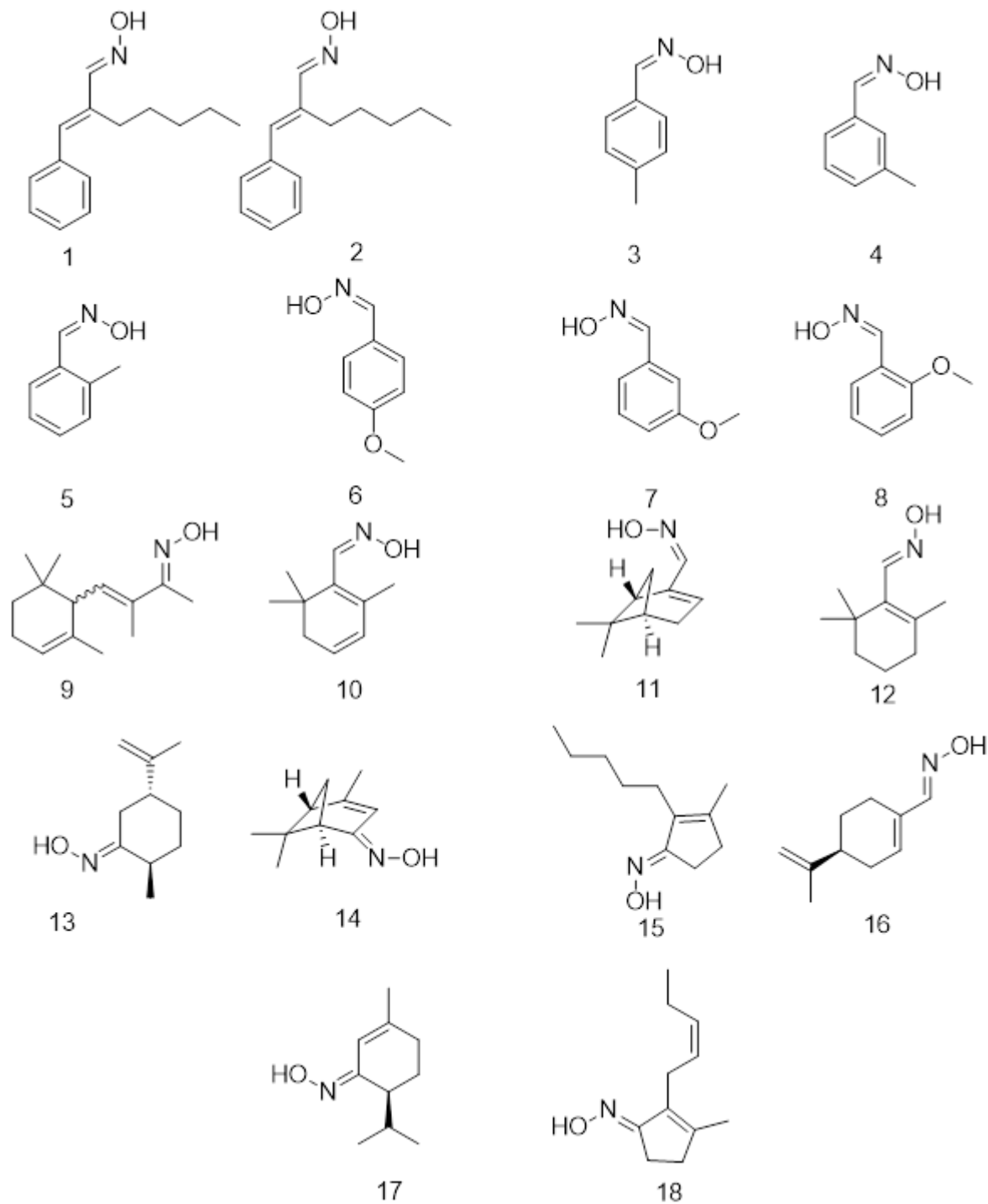
Uzupełniającymi celami niniejszej pracy doktorskiej było przeprowadzenie porównawczej charakterystyki zapachowej wybranych eterów oksymów, dokonanej we współpracy z prof. Józefem Kulą z Zespołu Chemii Bioorganicznej i Surowców Kosmetycznych Politechniki Łódzkiej a także grupą perfumierek Panią Moniką Kaleta oraz Agnieszką Pieńkosz-Żagań z firmy FSZ "Pollena-Aroma" Sp. z o.o.

## 4. Badania własne

### 4.1 Synteza eterów oksymów

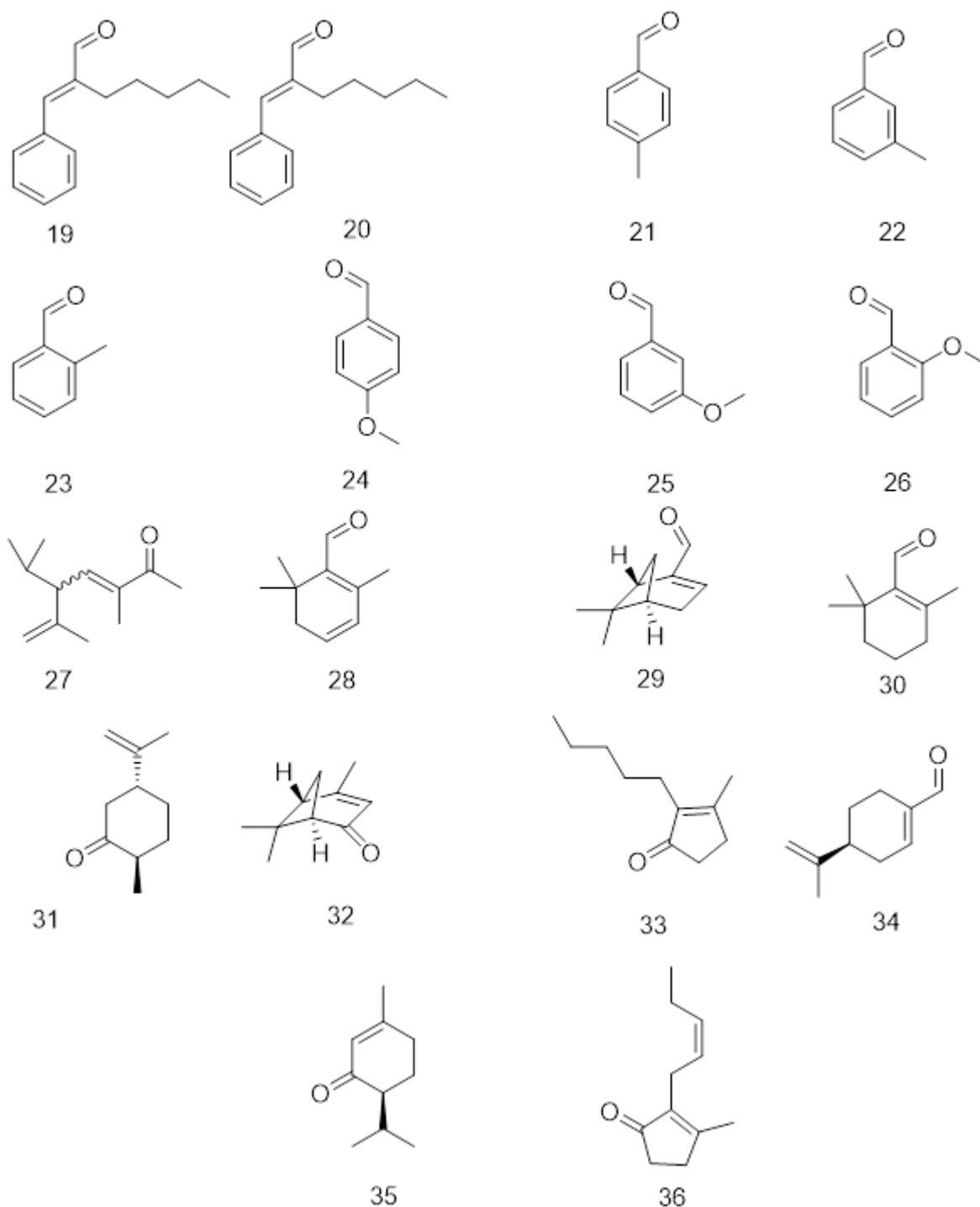
#### 4.1.1 Krótka charakterystyka substratów

Do reakcji syntezy eterów oksymów wykorzystywałam przygotowane wcześniej w zespole oksymy **1-18** (Rysunek 3).



Rys. 3 Wzory oksymów wykorzystanych w reakcji O-alkilowania

Metody pozyskiwania oksymów oraz charakterystyka wybranych oksymów jest dostępna w literaturze [29]. Były to oksymy:  $\alpha$ -amylocynamaldehydu **19**,  $\alpha$ -heksylocynamaldehydu **20**, *p*-tolualdehydu **21**, *m*-tolualdehydu **22**, *o*-tolualdehydu **23**, *p*-aldehydu anyżowego **24**, *m*-aldehydu anyżowego **25**, *o*-aldehydu anyżowego **26**,  $\alpha$ -izometylojononu **27**, safranal **28**, (1*R*)-(–)-myrtenalu **29**,  $\beta$ -cyklocytralu **30**, (+)-dihydrokarwonu **31**, (1*S*)-(–)-werbenonu **32**, dihydrojasmonu **33**, (*S*)-(–)-perylaldehydu **34**, piperytonu **35** i *cis*-jasmonu **36** (Rysunek 4).



Rys. 4 Wzory związków karbonylowych będących substratami oksymów

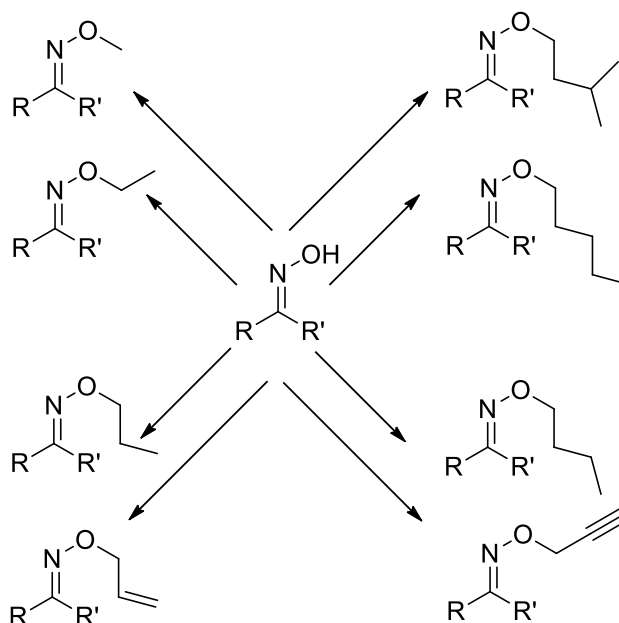


Substancje te są powszechnie znane pod względem ich właściwości zapachowych. Aldehydy anyżowe (**22-24**) występują w wielu olejkach eterycznych. Charakteryzują się zapachem zbliżonym do mimozy, głogu. Aldehyd *p*-anyżowy **24** łatwo utlenia się pod wpływem powietrza do kwasu anyżowego. Substancja ta stosowana jest w kompozycjach zapachowych słodkich kwiatów oraz w kompozycjach smakowych do wyrobów cukierniczych czy napoi. Natomiast w kosmetykach pełni funkcję filtra słonecznego.  $\alpha$ -amylocynamaldehyd **19** jest głównym aromatem pochodzącym z czarnej herbaty, jest stosunkowo niestabilny. Jest popularną substancją stosowaną w kompozycji zapachów jaśminowych. Jest odporny w warunkach zasadowych dzięki czemu może być stosowany do aromatyzowania mydeł. Kolejną substancją z grupy nut jaśminowych jest dihydrojasmon **33**, który aromatem przypomina występujący w naturze *cis*-jasmon **36**. Wykorzystuje się go w kompozycjach ogólnokwiatowych czy owocowych. Jego naturalny odpowiednik może być wyizolowany z kwiatów jaśminu jako główny składnik absolutu jaśminowego. Ze względu na podobne właściwości zapachowe jest wykorzystywany do podobnych kompozycji zapachowych jak dihydrojasmon.  $\alpha$ -Heksylocynamaldehyd **20** podobnie jak jego  $\alpha$ -amyłowy homolog łatwo ulega utlenianiu i jest stabilny w warunkach alkalicznych. Jego nuta zapachowa jest ziołowo-jaśminowa jest wykorzystywany w kompozycjach o zapachu gardenii [94]. Tolualdehydy (**21-23**) są substancjami o zapachu owocowym przypominającym wiśnię występują naturalnie m.in. orzechach makadamia czy papai. Stosowane są do aromatyzowania produktów kosmetycznych i spożywczych [95]. Safranal **28** jest głównym składnikiem olejku z szafranu uprawnego. Związek ten odpowiada za jego charakterystyczny zapach, kojarzony jest również z zapachem tytoniu, rozmarynu czy kamforowym. Stosowany jest jako substancja aromatyczna w przemyśle kosmetycznym i spożywczym. Ponadto znany jest ze swoich potencjalnych właściwości terapeutycznych. Wykazuje się właściwościami: przeciwzapalnymi przeciwdrobnoustrojowymi, przeciw niedokrwieniu, przeciw nadciśnieniowymi, antytoksycznymi a przede wszystkim szerokim oddziaływaniem na ośrodkowy układ nerwowy [96].  $\alpha$ -Izometrylojonon **27** natomiast charakteryzuje się zapachem fiołków i irysów, dzięki swojej kwiatowej nucie znajduje szerokie zastosowanie w przemyśle kosmetycznym. Jednakże jest on jednym z alergenów, które mogą powodować wyprysk kontaktowy [97]. (1*R*)-(-)-myrtenal **29** jest substancją zapachową występującą w olejkach eterycznych z rozmarynu, kminu rzymskiego czy hyzopu lekarskiego. Charakteryzuje się nutami przyprawowymi, miętowymi i bobu tonka. Podejrzewany jest o właściwości ochronne w procesie neurodegeneracyjnym czy antyoksydacyjne [98].  $\beta$ -cyklocytral **30** powstaje w procesie utleniania  $\beta$ -karotenu,

charakteryzuje się zapachem przyprawowo kwiatowym, przypominającym nieco siano. Znajduje zastosowanie w przemyśle kosmetycznym i spożywczym. W roślinach pełni funkcję sygnalizatora stresu a także bierze udział w komunikacji wewnątrzgatunkowej i międzygatunkowej [99]. (+)-dihydrokarwon **31** jest związkiem monoterpenu występującym w znaczących ilościach w olejku kminkowym. Pełni funkcję kluczowego budulca w syntezie seskwiterpenów. Charakteryzuje się zapachem ziołowo-miętowym i stosowany jest głównie w przemyśle spożywczym [100]. (1S)-(-)-Werbenon **32** charakteryzuje się zapachem kamforowo, miętowo selerowym [16]. Jest składową olejku eterycznego z rozmarynu a także jednym z feromonów kornikowatych [101]. S-(-)-Aldehyd perylowy **34** charakteryzuje się zapachem drzewnym, przyprawowym, lekko cytrusowym. Znajduje zastosowanie w przemyśle kosmetycznym i spożywczym. W śladowych ilościach występuje w wielu różnych olejkach eterycznych, w ilości ok. 2% występuje w olejku z nasion czarnego kminu. Piperyton **35** charakteryzuje się zapachem ziołowo-miętowym. Stanowi nawet połowę irańskiego olejku eterycznego pozyskiwanego z bylicy pustynnej (*Artemisia deserti krasch.*) [16]. Pełni on funkcję inhibitora jednego z owadzych feromonów [102] a także naturalnego insektycydu wobec ćmy tropikalnej [103].

#### 4.1.2. Reakcja O-alkilowania

Mechanizm reakcji został opisany w podrozdziale 2.2.2. Reakcje prowadziłam w polarnym rozpuszczalniku DMSO w obecności wodoroku sodu (I).



Schemat 4 Ogólny schemat O-alkilowania halogenkami alkilowymi

W reakcji wykorzystałam osiem halogenków alkilowych: jodek metylu, jodek etylu, jodek *n*-propylu, bromek allilu, bromek propargilu, bromek *n*-butylu, bromek *n*-amylu oraz bromek izoamylu (Schemat 4). Skoncentrowałam się na syntezie eterowych pochodnych nieopisanych dotąd w literaturze.

#### 4.1.3. Część doświadczalna

##### 4.1.3.1. Materiały i metody

Rozpuszczalniki i reagenty pochodziły z firm: Merck, TCI, ACROS, Alfa Aesar, Fluorochem, Avantor Performance Materials Poland i Honeywell. Rozpuszczalniki były stosowane bez uprzedniego oczyszczania i osuszania.

Przebieg reakcji chemicznych jak i czystość uzyskanych produktów kontrolowałam przy pomocy chromatografii gazowej (GC) na aparacie GC-2010 Plus firmy Shimadzu, wyposażonego w detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID). Do wykonania analizy stosowałam kolumnę kapilarną pochodzącą z firmy Zebron ZB-5 (faza stacjonarna 5%-difenilo-95%-dimetylopolisiloksan), której wymiary wynosiły 30 m x 0.25 mm ID o grubości 0.25  $\mu$ m. Do przeprowadzonych badań użyłam programu o następujących ustawieniach temperaturowych: 40°C (0 min), 10°C/min, 250°C (0 min). Zastosowałam dozownik typu split i współczynnik podziału 30:1. Przepływ poszczególnych gazów wynosił: N<sub>2</sub> 30 ml/min, H<sub>2</sub> 30 ml/min, powietrza 300 ml/min, a temperatura detektora sięgała 250°C. Przepływ gazu przez kolumnę wynosił 1.5 ml/min, a przepływ całkowity 49,5 ml/min.

Związki oczyszczałam przy użyciu destylacji frakcyjnej a także chromatografii typu Flash. Do tego celu wykorzystałam aparat CombiFlash® Rf+ Lumen pochodzący z firmy Teledyne ISCO. Zastosowałam kolumnę typu RediSep Rf Gold Normal Phase Silica, 24 gramy HP Silica z firmy Teledyne ISCO. Prędkość przepływu: 35 ml/min, rozpuszczalnik A: heksan, rozpuszczalnik B: octan etylu, detekcja UV: długość fali (czerwona): 254 nm, długość fali (fioletowa): 280 nm, detekcja ELSD: temperatura sprayu: 30°C, temperatura przepływu: 60°C.

Analizy HRMS wykonywane były w Centralnym Laboratorium Badań Analitycznych i Instrumentalnych na wysokorozdzielczym spektrometrze masowym WATERS LCT Premier XE.

Widma magnetycznego rezonansu jądrowego  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT, COSY, HMQC wykonywane były na aparacie Bruker Avance<sup>TM</sup> DRX 400 MHz.

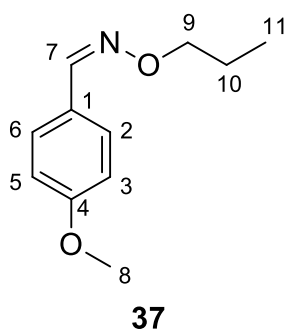
#### 4.1.3.2. Ogólna procedura reakcji *O*-alkilowania oksymów

W kolbie okrągłodennej o pojemności 250 mL umieściłam 60 mL DMSO, w którym rozpuściłam 5g oksymu **1-18**, następnie dodałam wodorku sodu (I) (nadmiar 1.5 molowy). Reakcję prowadziłam przez 2 godziny na mieszadło magnetycznym. Następnie dodawałam odpowiednich halogenków alkilowych (nadmiar 1.5 molowy) i prowadziłam reakcje przez min. kolejne 2 godziny. Postęp reakcji kontrolowałam przy pomocy GC. Po całkowitym przereagowaniu substratu mieszaninę poreakcyjną zalewałam ok. 30 mL wody w celu neutralizacji pozostałego NaH. Następnie prowadziłam ekstrakcję heksanem (3x 20 mL). Pozostałą frakcję organiczną osuszałam nad bezwodnym siarczanem sodu (VI). Następnie rozpuszczalnik odparowywałam na wyparce rotacyjnej otrzymując surowe produkty. Surowe produkty następnie oczyszczałam techniką frakcyjnej destylacji próżniowej. W przypadku nie uzyskania zadowalających czystości (powyżej 90%) prowadziłam dalsze oczyszczanie produktów na chromatografii typu Flash.

#### 4.1.4. Wyniki

##### 4.1.4.1 Pochodne oksymu *p*-aldehydu anyżowego **6**

##### 4.1.4.1.1 Eter *O*-propylowy oksymu 4-metoksybenzaldehydu



Czystość:  
98.00%

Wydajność:  
34.42%

**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm)

$\delta$  8.02 (s, 1H przy C7), 7.55 – 7.47 (m, 2H przy C2 i C6), 7.03 – 6.83 (m, 2H przy C3 i C5), 4.09 (t,  $J = 6.7$  Hz, 2H przy C9), 3.90 – 3.78 (m, 3H przy C8), 1.86 – 1.64 (m, 3H przy C10), 1.04-0.91 (m, 3H przy C11).

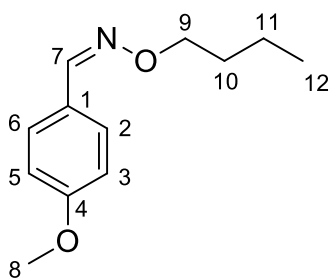
**$^{13}\text{C}$  NMR** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm)

$\delta$  160.93 C4, 148.02 C7, 128.53 C2 i C6, 125.16 C1, 114.22 C3 i C5, 75.82 C9, 55.54 C8, 22.49 C10, 10.46 C11.

**HRMS ESI+**

$m/z$  [ $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_2$ ] obliczona 194.1181, znaleziono 194.1182.

#### 4.1.4.1.2 Eter *O*-butylowy oksymu 4-metoksybenzaldehydu



**38**

Czystość:  
99.40%

Wydajność:  
27.71%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.02 (s, 1H przy C7), 7.55 - 7.46 (m, 2H przy C2 i C6), 6.92 - 6.84 (m, 2H przy C3 i C5), 4.13 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C9), 3.81 (s, 3H przy C8), 1.74 - 1.62 (m, 2H przy C10), 1.49 - 1.35 (m, 2H przy C11), 0.94 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H przy C12).

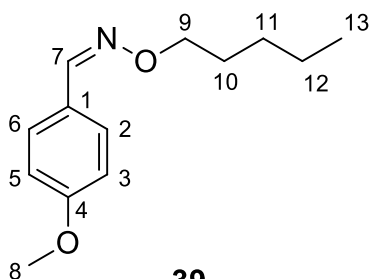
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 160.89 C4, 147.95 C7, 128.48 C2 i C6, 125.24 C1, 114.21 C3 i C5, 74.02 C9, 55.41 C8, 31.31 C10, 19.24 C11, 14.03 C12.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub>] obliczona 208.1338, znaleziono 208.1335.

#### 4.1.4.1.3 Eter *O*-amyłowy oksymu 4-metoksybenzaldehydu



**39**

Czystość:  
98.00%

Wydajność:  
52.05%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.02 (s, 1H przy C7), 7.55 - 7.44 (m, 2H przy C2 i C6), 6.92 - 6.84 (m, 2H przy C3 i C5), 4.13 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H przy C9), 3.81 (s, 3H przy C8), 1.61 - 1.51 (m, 2H przy C10), 1.45 - 1.28 (m, 4H przy C11 i C12), 0.96 - 0.85 (m, 3H przy C13).

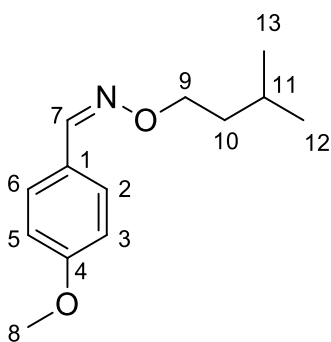
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 160.96 C4, 148.03 C7, 132.10, 128.57 C2 i C6, 125.12 C1, 114.41 C3 i C5, 74.36 C9, 55.41 C8, 28.91 C10, 28.20 C11, 22.62 C12, 14.13 C13.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>] obliczona 222.1494, znaleziono 222.1494.

#### 4.1.4.1.4 Eter *O*-izoamyłowy oksymu 4-metoksybenzaldehydu



**40**

Czystość:  
93.49%

Wydajność:  
63.11%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.01 (s, 1H przy C7), 7.55 - 7.47 (m, 2H przy C2 i C6), 6.96 - 6.84 (m, 2H przy C3 i C5), 4.17 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H przy C9), 3.81 (s, 3H przy C8), 2.25 (s, 0H), 1.81 - 1.63 (m, 1H przy C11), 1.60 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H przy C10), 0.93 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H przy C12 i C13).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

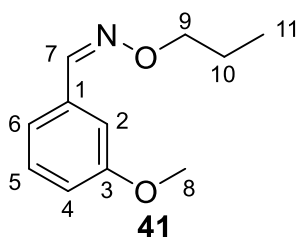
δ 160.89 C4, 147.95 C7, 128.48 C2 i C6, 125.22 C1, 114.21 C3 i C5, 75.82 C9, 55.42 C8, 37.96 C10, 25.16 C11, 22.77 C12 i C13.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>] obliczona 222.1494, znaleziono 222.1496.

#### 4.1.4.2 Pochodne oksymu *m*-aldehydu anyżowego **7**

##### 4.1.4.2.1 Eter *O*-propylowy oksymu 3-metoksybenzaldehydu



Czystość:  
96.74%

Wydajność:  
43.02%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.04 (s, 1H przy C7), 7.36 – 7.07 (m, 2H przy C2 i C6), 6.92 – 6.88 (m, 2H przy C3 i C5), 4.12 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C9), 3.82 (s, 3H przy C8), 1.81 – 1.66 (m, 2H przy C10), 0.97 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H przy C11).

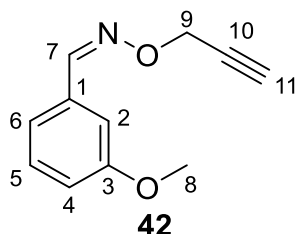
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 159.87 C3, 148.26 C7, 133.90 C1, 129.76 C5, 120.14 C6, 116.13 C4, 111.12 C2, 76.03 C9, 55.40 C8, 22.49 C10, 10.44 C11.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>] obliczona 194.1181, znaleziono 194.1183.

##### 4.1.4.2.2 Eter *O*-propargilowy oksymu 3-metoksybenzaldehydu



Czystość:  
95.78%

Wydajność:  
23.97%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.08 (s, 1H przy C7), 7.41 – 7.20 (m, 1H przy C5), 7.19 – 7.07 (m, 2H przy C2 i C6), 6.98–6.89 (m, 1H przy C4), 4.76 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H przy C9), 3.82 (s, 3H przy C8), 2.49 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H, przy C11).

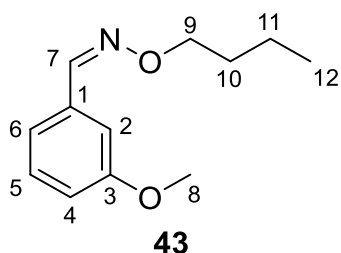
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 159.89 C3, 150.03 C7, 133.11 C1, 129.82 C5, 120.49 C6, 116.91 C4, 111.44 C2, 79.55 C11, 74.82 C10, 61.86 C9, 55.43 C8.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>] obliczona 190.0868, znaleziono 190.0867.

##### 4.1.4.2.3 Eter *O*-butylowy oksymu 3-metoksybenzaldehydu



Czystość:  
97.43%

Wydajność:  
37.56%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.03 (s, 1H przy C7), 7.30–7.22 (m, 1H przy C5), 7.18 – 7.07 (m, 2H przy C2 i C6), 6.94–6.86 (m, 1H przy C4), 4.16 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C9), 3.82 (s, 3H przy C8), 1.75 – 1.63 (m, 2H przy C10), 1.49 – 1.35 (m, 2H przy C11), 0.95 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H przy C12).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 159.88 C3, 148.21 C7, 133.92 C1, 129.76 C5, 120.13 C6, 116.10 C4, 111.15 C2, 74.25 C9, 55.40 C8, 31.30 C10, 19.22 C11, 14.02 C12.

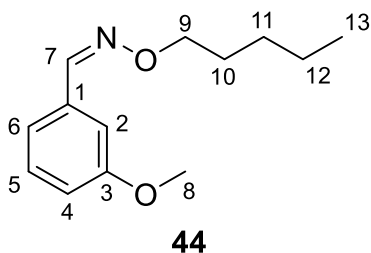
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub>] obliczona 208.1338, znaleziono 208.1336.

#### 4.1.4.2.4 Eter *O*-amyłowy oksymu 3-metoksybenzaldehydu

Czystość:  
96.76%

Wydajność:  
20.83%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.03 (s, 1H przy C7), 7.30–7.20 (m, 1H przy C5), 7.18–7.07 (m, 2H przy C2 i C6), 6.94–6.86 (m, 1H przy C4), 4.15 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H przy C9), 3.82 (s, 3H przy C8), 1.77 – 1.63 (m, 2H przy C10), 1.44 – 1.28 (m, 4H przy C11 i C12), 0.98 – 0.80 (m, 3H przy C13).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 159.88 C3, 148.21 C7, 133.92 C1, 129.76 C5, 120.13 C6, 116.10 C4, 111.14 C2, 74.55 C9, 55.40 C8, 28.91 C10, 28.18 C11, 22.61 C12, 14.13 C13.

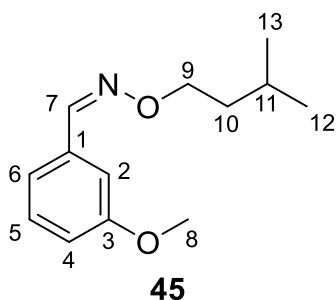
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>] obliczona 222.1994, znaleziono 222.1493.

#### 4.1.4.2.5 Eter *O*-izoamyłowy oksymu 3-metoksybenzaldehydu

Czystość:  
96.39%

Wydajność:  
37.23%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.03 (s, 1H przy C7), 7.32 – 7.22 (m, 1H przy C5), 7.18 – 7.07 (m, 2H przy C2 i C6), 6.93–6.86 (m, 1H przy C4), 4.20 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H przy C9), 3.82 (s, 3H przy C8), 1.81–1.67 (m, 1H przy C11), 1.60 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H przy C10), 0.94 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H przy C12 i C13).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 159.88 C3, 148.20 C7, 133.91 C1, 129.76 C5, 120.12 C6, 116.09 C4, 111.15 C2, 73.02 C9, 55.40 C8, 37.96 C10, 25.15 C11, 22.76 C12 i C13.

**HRMS ESI+**

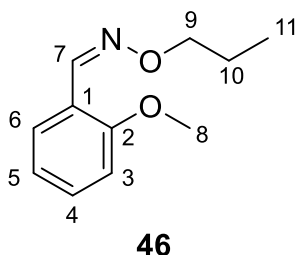
*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>] obliczona 222.1494, znaleziono 222.1493.

#### 4.1.4.3 Pochodne oksymu *o*-aldehydu anyżowego **8**

##### 4.1.4.3.1 Eter *O*-propylowy oksymu 2-metoksybenzaldehydu

Czystość:  
99.27%

Wydajność:  
67.27%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.47 (s, 1H przy C7), 7.83–7.74 (m, 1H przy C6), 7.37–7.26 (m, 1H przy C4), 7.01 – 6.84 (m, 2H przy C3 i C5), 4.11 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H przy C9), 3.83 (s, 3H przy C8), 1.82 – 1.64 (m, 2H przy C10), 0.97 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H przy C11).

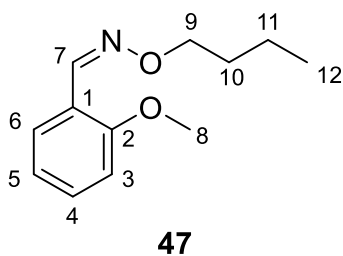
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 157.58 C2, 144.49 C7, 130.98 C4, 126.43 C6, 121.18 C1, 120.83 C5, 111.12 C3, 75.86 C9, 55.73 C8, 22.53 C10, 10.55 C11.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>] obliczona 194.1181, znaleziono 194.1183.

#### 4.1.4.3.2 Eter *O*-butylowy oksymu 2-metoksybenzaldehydu



Czystość:  
99.02%

Wydajność:  
60.17%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.46 (s, 1H przy C7), 7.81–7.74 (m, 1H przy C5), 7.36–7.27 (m, 1H przy C4), 6.99 – 6.84 (m, 2H przy C2 i C6), 4.16 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C9), 3.83 (s, 3H przy C8), 1.80 – 1.63 (m, 2H przy C10), 1.49–1.36 (m, 2H przy C11), 0.95 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H przy C12).

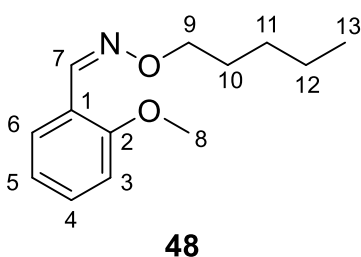
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 157.58 C2, 144.49 C7, 131.01 C4, 126.45 C6, 121.13 C1, 120.84 C5, 111.11 C3, 74.09 C9, 55.63 C8, 31.33 C10, 19.24 C11, 14.03 C12

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub>] obliczona 208.1338, znaleziono 208.1340.

#### 4.1.4.3.3 Eter *O*-amyłowy oksymu 2-metoksybenzaldehydu



Czystość:  
98.42%

Wydajność:  
64.55%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.46 (s, 1H przy C7), 7.81–7.32 (m, 1H przy C5), 7.36–7.26 (m, 1H przy C4), 6.96–6.84 (m, 2H przy C2 i C6), 4.15 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H przy C9), 3.83 (s, 3H przy C8), 1.81 – 1.65 (m, 2H przy C10), 1.44–1.29 (m, 4H przy C11 i C12), 0.97 – 0.85 (m, 3H przy C13).

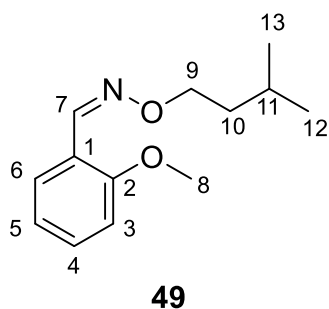
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 157.58 C2, 144.49 C7, 131.00 C4, 126.44 C6, 121.14 C1, 120.83 C5, 111.11 C3, 74.38 C9, 55.63 C8, 28.94 C10, 28.21 C11, 22.63 C12, 14.14 C13.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>] obliczona 222.1494, znaleziono 222.1496.

#### 4.1.4.3.4 Eter *O*-izoamyłowy oksymu 2-metoksybenzaldehydu



Czystość:  
99.14%

Wydajność:  
43.37%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.45 (s, 1H przy C7), 7.81–7.73 (m, 1H przy C5), 7.36–7.27 (m, 1H przy C4), 6.98 – 6.84 (m, 2H przy C2 i C6), 4.19 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H przy C9), 3.82 (s, 3H przy C8), 1.82 – 1.69 (m, 1H przy C11), 1.60 (q, *J* = 6.9 Hz 2H przy C10), 0.94 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H przy C12 i C13).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 157.58 C2, 144.48 C7, 131.01 C4, 126.44 C6, 121.13 C1, 120.84 C5, 111.11 C3, 72.85 C9, 55.63 C8, 37.99 C10, 25.15 C11, 22.77 C12 i C13.

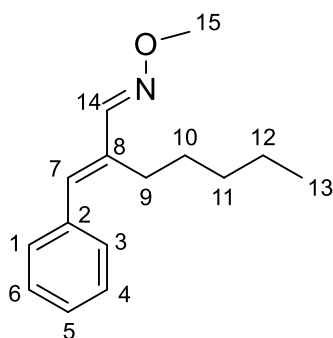
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>] obliczona 222.1494, znaleziono 222.1493.



#### 4.1.4.4 Pochodne oksymu $\alpha$ -amylocynamaldehydu **1**

##### 4.1.4.4.1 Eter *O*-metylowy oksymu 2-benzylidenoheptanal



**50**

Czystość:  
91.66%

Wydajność:  
59.75%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm)

$\delta$  8.03 (d,  $J = 0.9$  Hz, 1H przy C14), 7.73 (d,  $J = 0.7$  Hz, 1H przy C7), 7.42 – 7.15 (m, 4H przy C1, C3, C4 i C6), 6.55 (s, 1H przy C5), 3.91 (s, 3H przy C15), 2.58 – 2.48 (m, 2H przy C9), 1.67 – 1.54 (m, 2H przy C10), 1.41 – 1.26 (m, 4H przy C11 i C12), 0.96 – 0.83 (m, 3H przy C13).

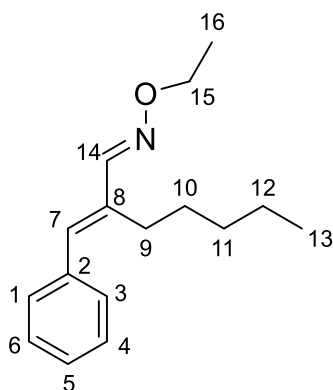
**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm)

$\delta$  153.03 C14, 148.15 C7, 137.44 C2, 136.69 C8, 135.76 C5, 129.34 C1 lub C3, 129.02 C1 lub C3, 128.48 C4 lub C6, 127.55 C4 lub C6, 61.96 C15, 32.09 C11, 28.43 C10, 26.79 C9, 22.41 C12, 14.10 C13.

**HRMS TOFMS ES+**

$m/z$  [C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>NO] obliczona 232.1701, znaleziono 232.1694.

##### 4.1.4.4.2 Eter *O*-etylowy oksymu 2-benzylidenoheptanal



**51**

Czystość:  
96.32%

Wydajność:  
37.20%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm)

$\delta$  8.04 (d,  $J = 0.9$  Hz, 1H przy C14) 7.74 (d,  $J = 0.6$  Hz, 1H przy C7), 7.42 – 7.16 (m, 4H przy C1, C3, C4 i C6), 6.55 (s, 1H przy C5), 4.16 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H przy C15), 2.57 – 2.48 (m, 2H przy C9), 1.67 – 1.55 (m, 2H przy C10), 1.41 – 1.21 (m, 7H C11, C12 i C16), 0.95 – 0.84 (m, 3H przy C13).

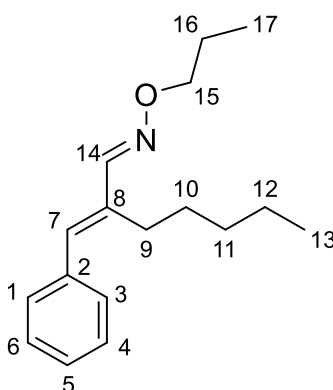
**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm)

$\delta$  152.75 C14, 147.78 C7, 137.71 C2, 136.77 C8, 135.76 C5, 129.32 C1 lub C3, 129.01 C1 lub C3, 128.46 C4 lub C6, 127.48 C4 lub C6, 69.63 C15, 32.09 C11, 28.47 C10, 26.81 C9, 22.42 C12, 14.74 C16, 14.09 C13.

**HRMS ESI+**

$m/z$  [C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>NO] obliczona 246.1858, znaleziono 246.1851.

##### 4.1.4.4.3 Eter *O*-propylowy oksymu 2-benzylidenoheptanal



**52**

Czystość:  
98.47%

Wydajność:  
43.06%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm)

$\delta$  8.12 – 8.03 (m, 1H przy C14), 7.75 (s, 1H przy C7), 7.42 – 7.14 (m, 4H przy C1, C3, C4 i C6), 6.54 (s, 1H przy C5), 4.04 (dt,  $J = 9.1, 6.7$  Hz, 2H przy C15), 2.58 – 2.48 (m, 2H przy C9), 2.47 – 2.39 (m, 2H przy C16), 1.77 – 1.54 (m, 2H przy C10), 1.41 – 1.28 (m, 4H przy C11 i C12), 1.00 – 0.84 (m, 6H przy C13 i C17).

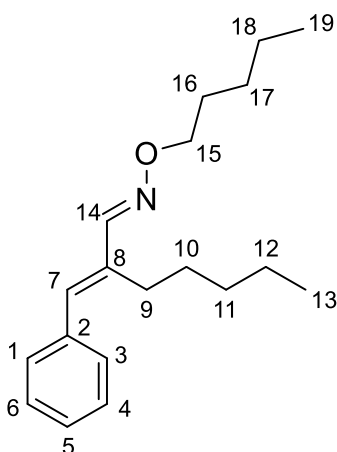
**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm)

$\delta$  152.66 C14, 147.68 C7, 137.73 C2, 136.78 C8, 135.78 C5, 129.32 C1 lub C3, 129.00 C1 lub C3, 128.46 C4 lub C6, 127.46 C4 lub C6, 75.78 C15, 32.09 C11, 28.47 C10, 26.81 C9, 22.55 C16, 22.42 C12, 14.09 C13, 10.45 C17.

**HRMS ESI+**

$m/z$  [C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>NO] obliczona 260.2014, znaleziono 260.2011.

#### 4.1.4.4.4 Eter *O*-amyłowy oksymu 2-benzylidenoheptanal



**53**

Czystość:  
92.60%

Wydajność:  
46.42%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.04 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H przy C14) 7.74 (s, 1H przy C7), 7.41 – 7.16 (m, 4H przy C1, C3, C4 i C6), 6.54 (s, 1H przy C5), 4.08 (dt, *J* = 8.9, 6.7 Hz, 2H przy C15), 2.56 – 2.48 (m, 2H przy C9), 1.74 – 1.54 (m, 4H przy C10 i C16), 1.43 – 1.26 (m, 8H przy C11, C12, C17 i C18), 0.96 – 0.73 (m, 6H przy C13 i C19).

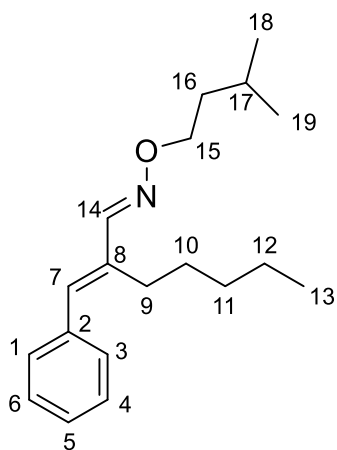
**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 152.61 C14, 147.64 C7, 137.73 C2, 136.78 C8, 135.34 C5, 129.32 C1 lub C3, 129.00 C1 lub C3, 128.46 C4 lub C6, 127.46 C4 lub C6, 74.27 C15, 32.10 C11, 28.99 C16, 28.48 C10, 28.19 C17, 26.82 C9, 22.63 C18, 22.43 C12, 14.13 C19, 14.10 C13.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>NO] obliczona 288.2327 znaleziono 288.2334.

#### 4.1.4.4.5 Eter *O*-izoamyłowy oksymu 2-benzylidenoheptanal



**54**

Czystość:  
93.00%

Wydajność:  
71.52%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.03 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H przy C14), 7.74 (s, 1H przy C7), 7.43 – 7.16 (m, 4H przy C1, C3, C4 i C6), 6.54 (s, 1H przy C5), 4.12 (dt, *J* = 8.8, 6.8 Hz, 2H przy C15), 2.58 – 2.48 (m, 2H przy C9), 1.81 – 1.57 (m, 2H przy C10), 1.60 – 1.45 (m, 1H przy C17), 1.41 – 1.25 (m, 6H przy C11, C12 i C16), 0.97 – 0.84 (m, 9H przy C13, C18 i C19).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

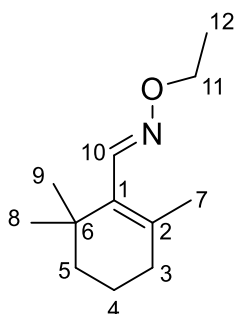
δ 152.59 C14, 147.63 C7, 137.72 C2, 136.78 C8, 135.35 C5, 129.32 C1 lub C3, 129.00 C1 lub C3, 128.46 C4 lub C6, 127.46 C4 lub C6, 72.71 C15, 38.11 C14, 32.10 C11, 28.48 C10, 26.82 C9, 25.10 C9, 22.77 C18 i C19, 22.44 C12, 14.10 C13.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>NO] obliczona 288.2327 znaleziono 288.2325.

#### 4.1.4.5 Pochodne oksymu β-cyklocytralu **12**

##### 4.1.4.5.1 Eter *O*-etyłowy oksymu 2,6,6-trimetylo-1-cykloheksene-1-karboksyaldehydu



**55**

Czystość:  
97.56%

Wydajność:  
51.38%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.94 (brs, 1H przy C10), 4.12 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H przy C11), 2.06 – 2.00 (m, 2H przy C3), 1.76 (s, 3H przy C7), 1.62 – 1.50 (m, 2H przy C4), 1.50 – 1.40 (m, 2H przy C5), 1.27 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H przy C12), 1.13 (s, 6H przy C8 i C9).

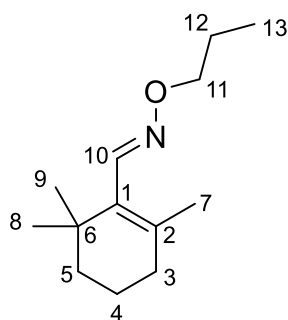
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 148.40 C10, 137.85 C2, 132.08 C1, 69.08 C11, 40.12 C5, 33.97 C6, 33.80 C3, 28.54 C8 i C9, 20.87 C7, 19.05 C4, 14.88 C12.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>NO] obliczona 196.1701, znaleziono 193.1703.

#### 4.1.4.5.2 Eter *O*-propylowy oksymu 2,6,6-trimetylo-1-cykloheksene-1-karboksyaldehydu



**56**

Czystość:  
92.54%

Wydajność:  
47.94%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.94 (brs, 1H przy C10), 4.01 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H przy C11), 2.07 – 1.92 (m, 2H przy C3), 1.76 (s, 3H przy C7), 1.73 – 1.48 (m, 2H przy C4), 1.48 – 1.40 (m, 2H przy C5), 1.13 (s, 6H przy C8 i C9), 0.93 (t, *J* = 7.0 Hz 3H).

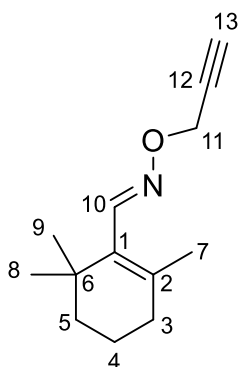
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 148.31 C10, 137.75 C2, 132.08 C1, 75.27 C11, 40.12 C5, 33.97 C6, 33.78 C3, 28.54 C8 i C9, 22.68 C12, 21.91 C7, 20.88 C7, 19.05 C4, 10.36 C13.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>NO] obliczona 210.1858, znaleziono 210.1859.

#### 4.1.4.5.3 Eter *O*-propargilowy oksymu 2,6,6-trimetylo-1-cykloheksene-1-karboksyaldehydu



**57**

Czystość:  
97.61%

Wydajność:  
48.88%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.00 (brs, 1H przy C10), 4.69 – 4.60 (m, 2H przy C11), 2.47 – 2.38 (m, 1H przy C13), 2.08–2.00 (m, 2H przy C3), 1.77 (s, 3H przy C7), 1.67 – 1.51 (m, 2H przy C4), 1.49 – 1.41 (m, 2H przy C5), 1.14 (s, 5H przy C8 i C9), 1.02 (s, 1H przy C8 lub C9).

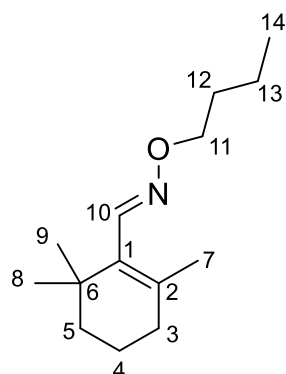
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 150.00 C10, 139.25 C2, 131.73 C1, 80.04 C13, 74.29 C12, 61.18 C11, 40.13 C5, 33.91 C6, 33.74 C3, 28.48 C8 i C9, 20.90 C7, 18.99 C4.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 206.1545, znaleziono 206.1540.

#### 4.1.4.5.4 Eter *O*-butylowy oksymu 2,6,6-trimetylo-1-cykloheksene-1-karboksyaldehydu



**58**

Czystość:  
91.80%

Wydajność:  
49.12%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.94 (s, 1H przy C10), 4.06 (t, *J* = 6.7, 0.8 Hz, 2H przy C11), 2.06–1.99 (m, 2H przy C3), 1.76 (s, 3H przy C7), 1.70 – 1.54 (m, 4H przy C4 i C12), 1.49 – 1.31 (m, 4H przy C5 i C13), 1.13 (s, 6H przy C8 i C9), 0.93 (t, *J* = 7.3, 0.8 Hz, 3H przy C14).

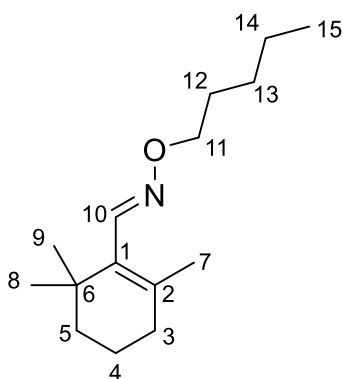
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 148.29 C10, 137.75 C2, 132.07 C1, 73.47 C11, 40.11 C5, 33.97 C6, 33.78 C3, 31.50 C12, 28.54 C8 i C9, 20.88 C7, 19.16 C13, 19.05 C4, 14.04 C14.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>14</sub>H<sub>25</sub>NO] obliczona 224.2014, znaleziono 224.2018.

#### 4.1.4.5.5 Eter *O*-amyłowy oksymu 2,6,6-trimetylo-1-cykloheksene-1-karboksyaldehydu



**59**

Czystość:  
95.58%

Wydajność:  
44.39%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.94 (s, 1H przy C10), 4.05 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H przy C11), 2.06–1.99 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H przy C3), 1.76 (s, 3H przy C7), 1.72 – 1.54 (m, 4H przy C4 i C12), 1.54 – 1.41 (m, 2H przy C5), 1.39–1.26 (m, 4H przy C13 i C14), 1.13 (s, 6H przy C8 i C9), 0.93 – 0.84 (m, 3H przy C15).

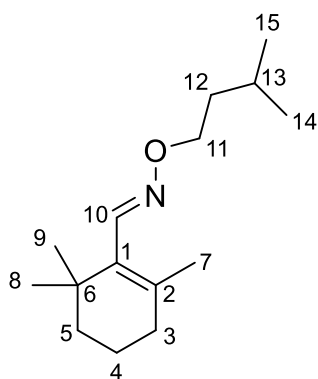
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 148.29 C10, 137.75 C2, 132.08 C1, 73.76 C11, 40.11 C5, 33.97 C6, 33.78 C3, 29.10 C12, 28.54 C8 i C9, 28.14 C13, 22.63 C14, 20.89 C7, 19.05 C4, 14.12 C15.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>NO] obliczona 238.2171, znaleziono 238.2171.

#### 4.1.4.5.6 Eter *O*-izoamyłowy oksymu 2,6,6-trimetylo-1-cykloheksene-1-karboksyaldehydu



**60**

Czystość:  
94.13%

Wydajność:  
56.08%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.93 (s, 1H przy c10), 4.09 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H przy C11), 2.06–1.99 (m, 2H przy C3), 1.76 (s, 3H przy C7), 1.74–1.65 (m, 3H przy C4 i C13), 1.66 – 1.49 (m, 2H przy C5), 1.49 – 1.40 (m, 2H przy C12), 1.13 (d, *J* = 0.8 Hz, 6H przy C8 i C9), 0.91 (d, *J* = 6.5, 0.7 Hz, 6H przy C14 i C15).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

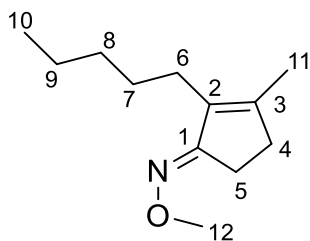
δ 148.29 C10, 137.74 C2, 132.07 C1, 72.22 C11, 40.11 C5, 38.17 C12, 33.97 C6, 33.77 C3, 28.55 C8 i C9, 25.08 C13, 22.77 C14 i C15, 20.89 C7, 19.05 C4.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>NO] obliczona 238.2171, znaleziono 238.2173.

#### 4.1.4.6 Pochodne oksymu dihydrojasmonu **15**

##### 4.1.4.6.1 Eter *O*-metyłowy oksymu 3-metylo-2-pentylo-2-cyklopenten-1-onu



**61**

Czystość:  
96.68%

Wydajność:  
41.58%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 3.85 (s, 3H przy C12), 2.58 – 2.51 (m, 2H przy C6), 2.41–2.32 (m, 2H przy C4), 2.19 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H przy C5), 1.83 (t, *J* = 1.4 Hz, 3H przy C11), 1.50 – 1.38 (m, 2H przy C7), 1.38 – 1.18 (m, 4H przy C9 i C8), 0.87 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H przy C10).

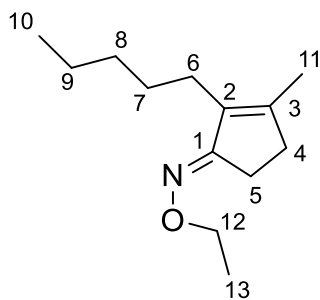
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 167.81 C1, 150.83 C3, 134.63 C2, 61.60 C12, 34.34 C6, 31.88 C8 lub C9, 27.96 C8 lub C9, 24.95 C4, 24.25 C5, 22.63 C9, 15.44 C11, 14.16 C10.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>NO] obliczona 196.1701 znaleziono 196.1703.

#### 4.1.4.6.2 Eter *O*-etylowy oksymu 3-metylo-2-pentylo-2-cyklopenten-1-onu



**62**

Czystość:  
98.44%

Wydajność:  
28.75%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 4.08 (q, 2H, *J* = 7.0 Hz przy C12), 2.60 – 2.52 (m, 2H przy C6), 2.39 – 2.31 (m, 2H przy C4), 2.23 – 2.15 (m, 2H przy C5), 1.82 (s, 3H przy C11), 1.50 – 1.37 (m, 2H przy C7), 1.37 – 1.18 (m, 7H przy C8, C9 i C13), 0.87 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz przy C10).

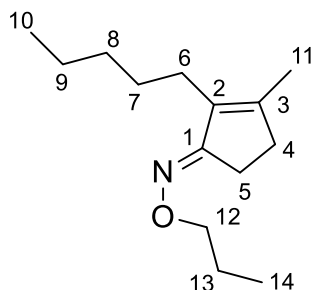
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 167.50 C1, 150.23 C3, 134.86 C2, 69.02 C12, 34.32 C6, 31.85 C8 lub C9, 27.95 C7, 25.04 C4, 24.26 C5, 22.61 C9, 15.38 C11, 14.93 C10, 14.12 C13.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>NO] obliczona 210.1858, znaleziono 210.1860.

#### 4.1.4.6.3 Eter *O*-propylowy oksymu 3-metylo-2-pentylo-2-cyklopenten-1-onu



**63**

Czystość:  
91.41%

Wydajność:  
38.31%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 3.99 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C12), 2.60 – 2.53 (m, 2H przy C6), 2.39 – 2.31 (m, 2H przy C4), 2.19 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H przy C5), 1.82 (d, *J* = 2.6 Hz, 3H przy C11), 1.73 – 1.57 (m, 2H przy C13), 1.50 – 1.38 (m, 2H przy C7), 1.37 – 1.17 (m, 4H przy C8 i C9), 0.98 – 0.81 (m, 6H przy C10 i C14).

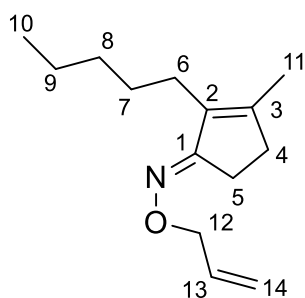
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 167.51 C1, 150.23 C3, 134.83 C2, 75.22 C12, 34.32 C4, 31.86 C8, 27.97 C7, 25.00 C6, 24.27 C5, 22.68 C9, 22.64 C13, 15.41 C11, 14.15 C10, 10.55 C14.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>14</sub>H<sub>25</sub>NO] obliczona 224.2014, znaleziono 224.2013.

#### 4.1.4.6.4 Eter *O*-allilowy oksymu 3-metylo-2-pentylo-2-cyklopenten-1-onu



**64**

Czystość:  
92.01%

Wydajność:  
35.87%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.05–5.93 (m, 1H przy C13), 5.32–5.12 (m, 2H przy C14), 4.55 (dt, *J* = 5.6, 1.4 Hz, 2H przy C12), 2.66 – 2.53 (m, 2H przy C6), 2.40–2.31 (m, 2H przy C4), 2.19 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H przy C5), 1.83 (bs, *J* = 1.4 Hz, 3H przy C11), 1.51 – 1.38 (m, 2H przy C7), 1.37 – 1.17 (m, 4H przy C8 i C9), 0.87 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H przy C10).

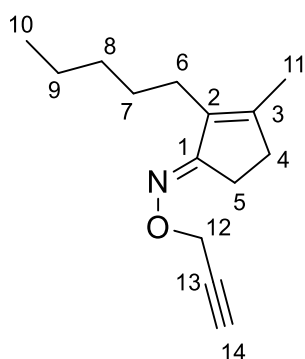
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 167.98 C1, 150.70 C3, 135.10 C13, 134.75 C2, 116.88 C14, 74.63 C12, 34.36 C4, 31.84 C8, 27.91 C7, 25.14 C6, 24.26 C5, 22.62 C9, 15.42 C11, 14.15 C10.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>NO] obliczona 222.1858, znaleziono 222.1860.

#### 4.1.4.6.5 Eter *O*-propargilowy oksymu 3-metylo-2-pentylo-2-cyklopenten-1-onu



**65**

Czystość:  
94.00%

Wydajność:  
11.07%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 4.64 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H przy C12), 2.65 – 2.56 (m, 3H przy C6 i C14), 2.44 – 2.32 (m, 2H przy C4), 2.19 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H przy C5), 1.83 (d, *J* = 1.4 Hz, 3H przy C11), 1.53 – 1.38 (m, 1H przy C7), 1.37 – 1.17 (m, 4H przy C8 i C9), 0.87 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H przy C10).

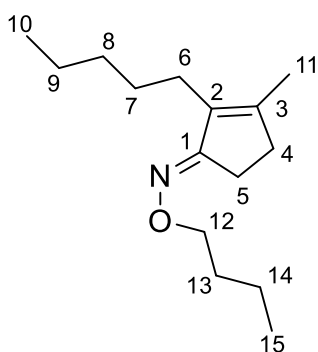
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 169.03 C1, 151.68 C3, 134.61 C2, 80.69 C13, 73.71 C12, 61.20 C14, 34.38 C4, 31.83 C8, 27.87 C7, 25.18 C6, 24.25 C5, 22.63 C9, 15.46 C11, 14.15 C10.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO] obliczona 220.1701, znaleziono 220.1707.

#### 4.1.4.6.6 Eter *O*-butylowy oksymu 3-metylo-2-pentylo-2-cyklopenten-1-onu



**66**

Czystość:  
98.60%

Wydajność:  
25.81%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 4.08 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C12), 2.63 – 2.55 (m, 2H przy C6), 2.42 – 2.33 (m, 2H przy C4), 2.23 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H przy C5), 1.84 (d, *J* = 1.4 Hz, 3H przy C11), 1.70–1.53 (m, 2H przy C13), 1.50 – 1.18 (m, 8H przy C7, C8, C9 i C14), 0.99 – 0.77 (m, 6H przy C10 i C15).

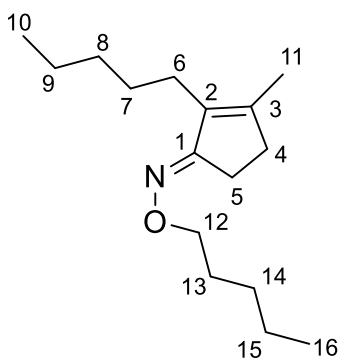
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 168.21 C1, 152.03 C3, 134.75 C2, 73.67 C12, 34.39 C4, 31.82 C8, 31.49 C13, 28.02 C7, 25.25 C6, 24.27 C5, 22.65 C9, 19.33 C14, 15.56 C11, 14.16 C10, 14.11 C15.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>NO] obliczona 238.2171, znaleziono 238.2172.

#### 4.1.4.6.7 Eter *O*-amyłowy oksymu 3-metylo-2-pentylo-2-cyklopenten-1-onu



**67**

Czystość:  
96.48%

Wydajność:  
17.45%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 4.09 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C12), 2.63 – 2.56 (m, 2H przy C6), 2.44 – 2.35 (m, 2H przy C4), 2.25 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H przy C5), 1.85 (d, *J* = 1.3 Hz, 3H przy C11), 1.71 – 1.58 (m, 2H przy C13), 1.50 – 1.39 (m, 2H przy C7), 1.39 – 1.31 (m, 1H), 1.35 – 1.18 (m, 3H przy C16), 0.95 – 0.80 (m, 3H przy C10).

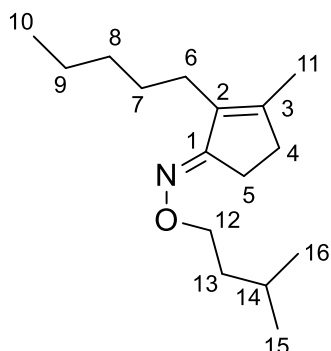
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 168.49 C1, 152.77 C3, 134.73 C2, 74.05 C12, 34.41 C4, 31.81 C8, 29.01 C13, 28.28 C14, 28.16 C15, 28.03 C7, 25.34 C6, 24.27 C5, 22.64 C9, 15.61 C11, 14.14 C10 i C16.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>16</sub>H<sub>29</sub>NO] obliczona 252.2327, znaleziono 252.2323.

#### 4.1.4.6.8 Eter *O*-izoamylowy oksymu 3-metylo-2-pentylo-2-cyklopenten-1-onu



**68**

Czystość:  
97.09%

Wydajność:  
29.99%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 4.11 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H przy C12), 2.61 – 2.54 (m, 2H przy C6), 2.40 – 2.33 (m, 2H przy C4), 2.23 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H przy C5), 1.84 (d, *J* = 1.3 Hz, 3H przy C11), 1.58–1.51 (m, 2H przy C14), 1.50 – 1.38 (m, 2H przy C7), 1.37–1.18 (m, 6H C8, C9 i C13), 1.00 – 0.79 (m, 9H przy C10, C15 i C16).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

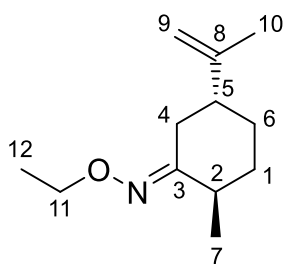
δ 168.17 C1, 152.04 C3, 134.75 C2, 72.45 C12, 38.16 C13, 34.38 C4, 31.82 C8, 28.01 C7, 25.28 C14, 24.27 C5, 22.84 C15 i C16, 22.65 C9, 15.55 C11, 14.16 C10.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>16</sub>H<sub>29</sub>NO] obliczona 252.2327, znaleziono 252.2323.

#### 4.1.4.7 Pochodne oksymu (+)-dihydrokarwonu **13**

##### 4.1.4.7.1 Eter *O*-etylowy oksymu (2*R*,5*R*)-5-izopropenylo-2-metylołcykloheksanonu



**69**

Czystość:  
94.48%

Wydajność:  
51.39%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 4.77–4.69 (m, 2H przy C9), 4.06 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H przy C11), 3.32 (ddd, *J* = 13.5, 3.9, 2.1 Hz, 1H przy C1), 2.23–2.11 (m, 1H przy C4), 2.10–1.99 (m, 1H przy C6), 1.98 – 1.76 (m, 2H przy C4 i C5), 1.72 (t, *J* = 1.2 Hz, 3H przy C10), 1.70 – 1.54 (m, 1H przy C6), 1.46–1.32 (m, 1H przy C1), 1.30 – 1.17 (m, 3H przy C7), 1.16 – 0.99 (m, 3H przy C12).

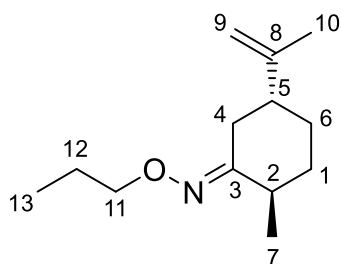
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 161.39 C3, 148.92 C8, 109.25 C9, 68.73 C11, 44.91 C2, 37.35 C5, 35.49 C4, 30.99 C6, 29.98 C1, 20.84 C10, 16.51 C7, 14.67 C12.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>NO] obliczona 196.1701, znaleziono 196.1704.

##### 4.1.4.7.2 Eter *O*-propylowy oksymu (2*R*,5*R*)-5-izopropenylo-2-metylołcykloheksanonu



**70**

Czystość:  
94.25%

Wydajność:  
63.92%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 4.78–4.71 (m, 2H przy C9), 3.96 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C11), 3.34 (ddd, *J* = 13.5, 3.9, 2.1 Hz, 1H przy C1), 2.24 – 1.97 (m, 2H przy C4 i C6), 1.97 – 1.76 (m, 2H przy C4 i C5), 1.72 (t, *J* = 1.2 Hz, 3H przy C10), 1.70 – 1.53 (m, 3H przy C6 i C12), 1.48–1.33 (m, 1H przy C6), 1.32–1.16 (m, 1H przy C1), 1.15 – 0.99 (m, 3H przy C7), 0.96 – 0.85 (m, 3H przy C13).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 161.47 C3, 148.92 C8, 109.25 C9, 74.91 C11, 44.98 C2, 37.35 C5, 35.50 C4, 30.96 C6, 29.99 C1, 22.46 C12, 20.85 C10, 16.51 C7, 10.56 C13.

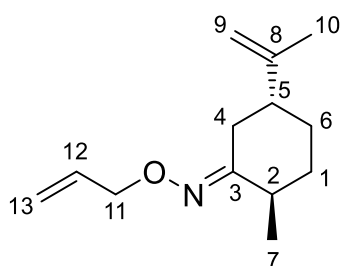
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>NO] obliczona 210.1858, znaleziono 210.1859.

#### 4.1.4.7.3 Eter *O*-allilowy oksymu (2*R*,5*R*)-5-izoopropenylo-2-metylolcykloheksanonu

Czystość:  
93.71%

Wydajność:  
55.58%



**71**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.06 – 5.92 (m, 1H przy C12), 5.31 – 5.12 (m, 2H przy C13), 4.77 – 4.70 (m, 2H przy C9), 4.56 – 4.48 (m, 2H przy C11), 3.35 (ddd, *J* = 13.5, 3.8, 2.1 Hz, 1H przy C1), 2.24 – 2.11 (m, 1H przy C6), 2.11 – 2.00 (m, 1H przy C4), 1.99 – 1.89 (m, 1H przy C5), 1.88 – 1.76 (m, 1H przy C4), 1.72 (bs, 3H przy C10), 1.65 – 1.54 (m, 1H przy C6), 1.48 – 1.33 (m, 1H przy C1), 1.31 – 1.16 (m, 1H przy C6), 1.08 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H przy C7).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 161.98 C3, 148.84 C8, 134.86 C12, 116.96 C13, 109.31 C9, 74.31 C12, 44.92 C2, 37.40 C5, 35.50 C4, 30.99 C6, 30.09 C1, 20.84 C10, 16.45 C7.

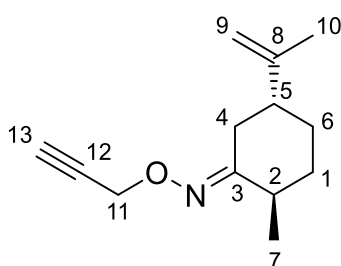
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO] obliczona 208.1701, znaleziono 208.1702.

#### 4.1.4.7.4 Eter *O*-propargilowy oksymu (2*R*,5*R*)-5-izoopropenylo-2-metylolcykloheksanonu

Czystość:  
90.60%

Wydajność:  
40.41%



**72**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 4.79 – 4.70 (m, 2H przy C9), 4.62 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H przy C11), 3.32 (ddd, *J* = 13.6, 3.8, 2.0 Hz, 1H przy C1), 2.41 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H przy C13), 2.26 – 2.13 (m, 1H przy C6), 2.12–2.00 (m, 1H przy C4), 1.99–1.89 (m, 1H przy C5), 1.88–1.78 (m, 1H przy C4), 1.76 – 1.51 (m, 3H przy C10), 1.46–1.33 (m, 1H przy C6), 1.32 – 1.18 (m, 2H przy C1 i C6), 1.10 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H przy C7).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 163.29 C3, 148.68 C8, 109.41 C9, 80.47 C13, 73.80 C12, 60.88 C11, 44.93 C2, 37.48 C5, 35.49 C4, 30.96 C6, 30.20 C1, 20.83 C10, 16.39 C7.

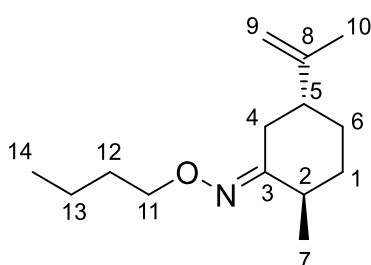
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>NO] obliczona 206.1545, znaleziono 206.1550.

#### 4.1.4.7.5 Eter *O*-butylowy oksymu (2*R*,5*R*)-5-izoopropenylo-2-metylolcykloheksanonu

Czystość:  
98.43%

Wydajność:  
34.07%



**73**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 4.78 – 4.70 (m, 2H przy C9), 4.11 – 3.98 (m, 2H przy C11), 3.42 – 3.27 (m, 1H przy C1), 2.25 – 1.98 (m, 2H przy C2 i C6), 1.97–1.87 (m, 1H przy C6), 1.86–1.77 (m, 1H przy C4), 1.76 – 1.57 (m, 3H przy C10), 1.48 – 1.30 (m, 4H przy C12 i C13), 1.29–1.20 (m, 1H przy C5), 1.21 – 1.10 (m, 1H przy C4), 1.09 (d, 3H przy C7), 1.08 – 0.99 (m, 1H przy C6), 0.92 (t, *J* = 7.4, 2.6 Hz, 3H przy C14).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

161.65 C3, 148.91 C8, 109.28 C9, 73.48 C11, 44.93 C2, 37.30 C5, 35.40 C4, 31.30 C12, 30.86 C6, 29.98 C1, 20.87 C10, 19.38 C13, 16.56 C7, 14.10 C14.

**HRMS ESI+**

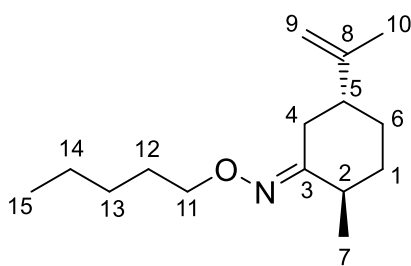
*m/z* [C<sub>14</sub>H<sub>25</sub>NO] obliczona 224.2014, znaleziono 224.2018.



#### 4.1.4.7.6 Eter *O*-amyłowy oksymu (2*R*,5*R*)-5-izopropenylo-2-metylołcykloheksanonu

Czystość:  
91.50%

Wydajność:  
62.85%



**74**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 4.76–4.70 (m, 2H przy C9), 4.04–3.91 (m, 2H przy C11), 3.33 (ddd, *J* = 13.6, 3.9, 2.1 Hz, 1H przy C1), 2.23 – 1.99 (m, 2H przy C2 i C6), 1.99 – 1.76 (m, 2H przy C4 i C6), 1.75 – 1.52 (m, 7H przy C1, C5, C10, C12), 1.49 – 1.16 (m, 5H przy C4, C13 i C14), 1.15 – 0.99 (m, 3H przy C7), 0.97 – 0.83 (m, 3H przy C15).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 161.45 C3, 148.95 C8, 109.25 C9, 73.44 C11, 44.98 C2, 37.35 C5, 35.50 C4, 30.95 C6, 30.02 C1, 28.66 C12, 28.35 C13, 22.62 C14, 20.86 C10, 16.53 C7, 14.16 C15.

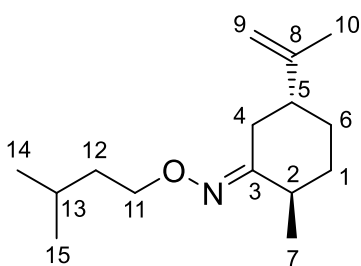
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>NO] obliczona 238.2171, znaleziono 238.2173.

#### 4.1.4.7.7 Eter *O*-izoamyłowy oksymu (2*R*,5*R*)-5-izopropenylo-2-metylołcykloheksanonu

Czystość:  
91.20%

Wydajność:  
43.68%



**75**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 4.76–4.70 (m, 2H przy C9), 4.08–3.98(m, 2H przy C11), 3.32 (ddd, *J* = 13.5, 3.8, 2.0 Hz, 1H przy C1), 2.23 – 2.09 (m, 1H przy C2), 2.08–1.98 (m, 1H przy C6), 1.98 – 1.77 (m, 2H przy C4 i C6), 1.73 – 1.33 (m, 8H przy C1, C5, C10, C12 i C13), 1.31–1.16 (m, 1H przy C4), 1.15–1.03 (m, 3H przy C7), 0.91 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H przy C14 i C15).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 161.43 C3, 148.95 C8, 109.25 C9, 71.95 C11, 44.97 C2, 37.98 C13, 37.35 C5, 35.51 C4, 30.94 C6, 30.06 C1, 25.38 C13, 22.84 C14 i C15, 16.53 C7.

**HRMS ESI+**

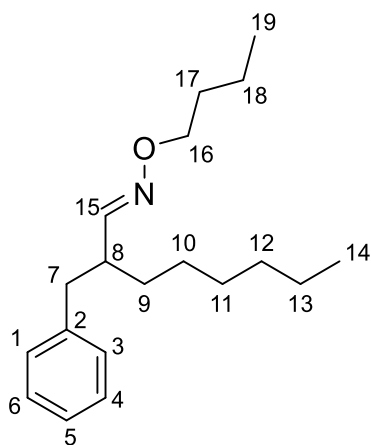
*m/z* [C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>NO] obliczona 238.2171, znaleziono 238.2173.

#### 4.1.4.8 Pochodne oksymu α-heksylcynamaldehydu **2**

##### 4.1.4.8.2 Eter *O*-butyłowowy oksymu (2*E*)-2-benzylideneoctanal

Czystość:  
98.63%

Wydajność:  
44.50%



**76**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.74 (s, 1H przy C15) 7.41 – 7.22 (m, 4H przy C1, C3, C4 i C6), 6.54 (s, 1H przy C5), 4.10 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C16), 2.56 – 2.48 (m, 1H C7), 1.72 – 1.54 (m, 3H przy C8 i C18), 1.50 – 1.21 (m, 12H przy C9, C10, C11, C12, C13 i C17), 0.99 – 0.80 (m, 6H przy C14 i C19).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 152.61 C15, 137.73 C2, 135.33 C5, 129.00 C1 i C3, 128.46 C4 i C6, 73.97 C16, 33.18 C9, 32.10 C12, 31.40 C10, 28.48 C8, 26.82 C7, 22.43 C17, 19.22 C18, 14.10 C14, 14.05 C19.

**HRMS ESI+**

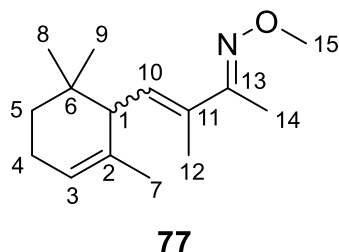
*m/z* [C<sub>19</sub>H<sub>31</sub>NO] obliczona 288.2330 znaleziono 288.2328.

#### 4.1.4.9 Pochodne oksymu $\alpha$ -izometylojononu **9**

##### 4.1.4.9.1 Eter *O*-metylowy oksymu 3-metylo-4-(2,6,6-trimetylo-2-cykloheksen-1-yl)-3-buten-2-onu

Czystość:  
90.11%

Wydajność:  
40.62%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm)

$\delta$  5.65–5.56 (m, 1H przy C10), 5.41–5.34 (m, 1H przy C3), 3.89 (s, 3H przy C15), 2.65 (d,  $J = 10.9$  Hz, 1H przy C1), 2.61 (s, 1H przy C14), 2.22 – 2.12 (m, 1H przy C1), 2.07–1.98 (m, 2H przy C4), 1.96 (s, 3H przy C12), 1.55 – 1.48 (m, 3H przy C7), 1.30 – 1.16 (m, 2H przy C5) 0.90 (s, 3H przy C8 lub C9), 0.78 (s, 3H przy C9 lub C8).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm)

$\delta$  157.07 C13, 134.83 C10, 134.14 C2, 133.23 C11, 120.96 C3, 61.70 C15, 49.33 C1, 32.87 C5, 32.19 C6, 27.42 C9, 26.94 C8, 23.16 C4, 22.91 C1, 13.30 C12, 10.79 C14.

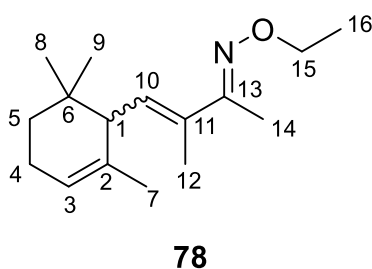
**HRMS ESI+**

$m/z$  [C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>NO] obliczona 236.2014, znaleziono 236.2024.

##### 4.1.4.9.2 Eter *O*-etylowy oksymu 3-metylo-4-(2,6,6-trimetylo-2-cykloheksen-1-yl)-3-buten-2-onu

Czystość:  
96.84%

Wydajność:  
35.50%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm)

$\delta$  5.64–5.56 (m, 1H przy C10), 5.42–5.34 (m, 1H przy C3), 4.14 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H przy C15), 2.65 (d,  $J = 11.2$  Hz, 1H przy C1), 2.08–1.98 (m, 2H przy C4), 1.97 (s, 3H przy C14), 1.94–1.89 (m, 3H przy C12), 1.60 – 1.40 (m, 3H przy C7), 1.27 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H przy C16), 1.26 – 1.16 (m, 2H przy C5), 0.91 (s, 3H przy C8 lub C9), 0.78 (s, 3H przy C9 lub C8).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm)

$\delta$  156.65 C13, 134.92 C2, 133.76 C10, 133.52 C11, 120.89 C3, 69.38 C15, 49.31 C1, 32.88 C5, 32.22 C6, 27.43 C9, 26.93 C8, 23.16 C4, 22.92 C7, 14.81 C16, 13.29 C12, 10.88 C14.

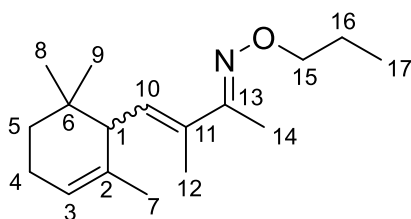
**HRMS ESI+**

$m/z$  [C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>NO] obliczona 250.2171, znaleziono 250.2172.

4.1.4.9.3 Eter *O*-propylowy oksymu 3-metylo-4-(2,6,6-trimetylo-2-cykloheksen-1-yl)-3-buten-2-onu

Czystość:  
97.37%

Wydajność:  
55.12%



**79**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 5.66 – 5.57 (m, 1H przy C10), 5.42 – 5.35 (m, 1H przy C3), 4.06 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C15), 2.65 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H przy C1), 2.07 – 1.99 (m, 2H przy C4), 1.98 (s, 3H przy C14), 1.93 (d, *J* = 1.3 Hz, 3H przy C12), 1.76 – 1.62 (m, 2H przy C5), 1.57 – 1.41 (m, 3H przy C17), 1.27 – 1.16 (m, 2H przy C16), 1.00 – 0.86 (m, 3H przy C8 lub C9), 0.78 (s, 3H przy C8 lub C9).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 157.09 C13, 134.84 C2, 134.33 C10, 133.32 C11, 120.97 C3, 75.66 C15, 49.35 C1, 32.89 C5, 32.17 C6, 27.41 C9, 26.98 C8, 23.16 C4, 22.94 C7, 22.54 C16, 13.39 C12, 10.99 C14, 10.60 C17.

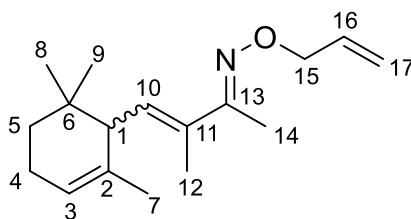
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>17</sub>H<sub>29</sub>NO] obliczona 264.2327, znaleziono 264.2327.

4.1.4.9.4 Eter *O*-allilowy oksymu 3-metylo-4-(2,6,6-trimetylo-2-cykloheksen-1-yl)-3-buten-2-onu

Czystość:  
93.98%

Wydajność:  
44.37%



**80**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.10 – 5.95 (m, 1H przy C10), 5.66 – 5.58 (m, 1H przy C16), 5.44 – 5.24 (m, 1H przy C3), 5.23 – 5.16 (m, przy C17), 4.61 (dt, *J* = 5.8, 1.4 Hz, 2H przy C15), 2.65 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H C1), 2.10 – 1.94 (m, 2H C4), 1.99 (s, 3H przy C14), 1.91 (d, *J* = 1.3 Hz, 3H przy C12), 1.61 – 1.55 (m, 2H przy C5), 0.90 (s, 3H przy C8 lub C9), 0.78 (s, 3H przy C8 lub C9)

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 157.28 C13, 134.83 C2, 134.68 C10, 134.23 C16, 133.33 C11, 120.97 C3, 117.30 C17, 74.94 C15, 49.33 C1, 32.88 C6, 32.18 C5, 27.41 C9 lub C8, 26.95 C9 lub C8, 23.16 C4, 23.00 C15, 22.92 C7, 13.30 C12, 11.00 C14.

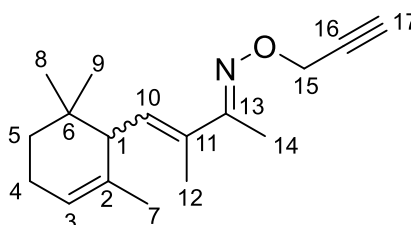
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>NO] obliczona 262.2171, znaleziono 262.2174.

4.1.4.9.5 Eter *O*-propargilowy oksymu 3-metylo-4-(2,6,6-trimetylo-2-cykloheksen-1-yl)-3-buten-2-onu

Czystość:  
97.54%

Wydajność:  
67.92%



**81**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 5.69 – 5.60 (m, 1H przy C10), 5.42 – 5.35 (m, 1H przy C3), 4.70 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H przy C15), 2.65 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H przy C1), 2.45 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H przy C17), 2.09 – 1.90 (m, 7H przy C4, C12, C14 i C16), 1.55 – 1.40 (m, 3H przy C7), 1.33 – 1.14 (m, 2H przy C5), 0.96 – 0.72 (m, 7H przy C8 i C9).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 158.26 C13, 134.85 C2, 134.71 C10, 133.10 C11, 121.06 C3, 80.31 C17, 74.03 C16, 61.42 C15, 49.33 C1, 32.88 C6, 32.15 C5, 27.40 C9 lub C8, 26.63 C9 lub C8, 23.15 C4, 22.93 C7, 13.29 C12, 11.05 C14.

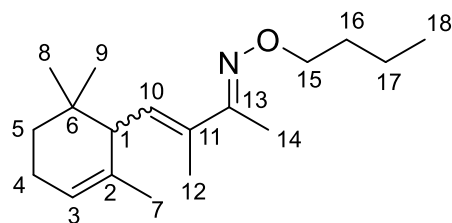
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>NO] obliczona 260.2014, znaleziono 260.2017.

4.1.4.9.6 Eter *O*-butylowy oksymu 3-metylo-4-(2,6,6-trimetylo-2-cykloheksen-1-yl)-3-buten-2-onu

Czystość:  
97.20%

Wydajność:  
3.99%



**82**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 5.68 – 5.60 (m, 1H przy C10), 5.42–5.36 (m, 1H przy C3), 4.13 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H przy C15), 2.66 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H przy C1), 2.07 – 2.00 (m, 2H przy C4), 1.99 (s, 3H przy C14), 1.96–1.93 (d, *J* = 1.3 Hz, 2H przy C16), 1.91 (bs, 3H przy C12), 1.71 – 1.60 (m, 2H przy C5), 1.54 – 1.33 (m, 3H przy C7), 1.26–1.16 (m, 2H przy C17), 1.00 – 0.87 (m, 3H przy C18), 0.89 (m, 3H przy C8 lub C9), 0.79 (s, 3H przy C8 lub C9).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 157.33 C13, 134.77 C2, 134.72 C10, 133.19 C11, 121.03 C3, 73.98 C15, 49.39 C1, 32.91 C6, 32.17 C5, 31.36 C16, 27.41 C9 lub C8, 26.97 C9 lub C8, 23.16 C4, 22.93 C7, 19.36 C17, 14.06 C18, 13.45 C12, 11.11 C14.

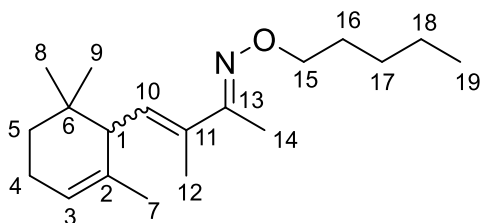
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>18</sub>H<sub>31</sub>NO] obliczona 278.2484, znaleziono 278.2489.

4.1.4.9.7 Eter *O*-amylowy oksymu 3-metylo-4-(2,6,6-trimetylo-2-cykloheksen-1-yl)-3-buten-2-onu

Czystość:  
96.64%

Wydajność:  
1.90%



**83**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 5.64–5.55 (m, 1H przy C10), 5.41–5.34 (m, 1H przy C3), 4.08 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C15), 2.65 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H przy C1), 2.07 – 1.98 (m, 2H przy C4), 1.97 (s, 3H przy C14), 1.92 (bs, 3H przy C12), 1.73 – 1.61 (m, 2H przy C16), 1.59–1.50 (m, 3H przy C7), 1.51 – 1.41 (m, 2H przy C5), 1.42–1.27 (m, 4H przy C17 i C18), 1.26–1.16 (m, 1H), 0.96 – 0.86 (m, 6H przy C8 i C9), 0.78 (s, 3H przy C19).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

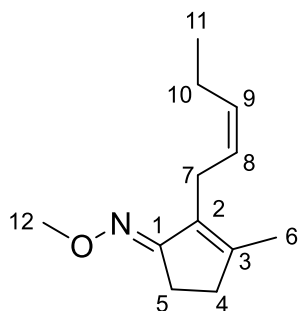
δ 156.67 C13, 134.94 C2, 133.78 C10, 133.49 C11, 120.89 C3, 74.08 C15, 49.31 C1, 32.88 C6, 32.20 C5, 29.00 C16, 28.36 C17, 27.42 C8 lub C9, 26.95 C8 lub C9, 23.16 C4, 22.93 C7, 22.64 C18, 14.15 C19, 13.32 C12, 10.88 C14.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>19</sub>H<sub>33</sub>NO] obliczona 292.2640, znaleziono 292.2638.

#### 4.1.4.10 Pochodne oksymu *cis*-jasmonu **17**

##### 4.1.4.10.1 Eter *O*-metylowy oksymu *cis*-3-metylo-2-(2-pentenylo)-2-cyklopenten-1-onu



**84**

Czystość:  
91.76%

Wydajność:  
35.02%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 5.43 – 5.28 (m, 2H przy C8 i C9), 3.85 (s, 3H przy C12), 2.96 (d, *J* = 5.3 Hz, 2H przy C7), 2.60 – 2.51 (m, 2H przy C4), 2.40 – 2.32 (m, 2H przy C5), 2.22 – 2.10 (m, 2H przy C10), 1.88 – 1.81 (m, 3H przy C6), 0.98 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H przy C11).

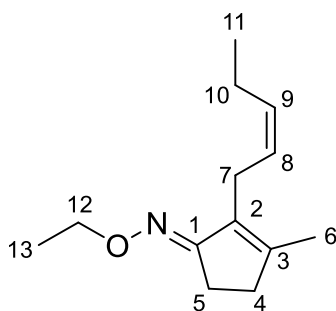
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 167.27 C1, 150.99 C3, 133.19 C2, 131.84 C9, 125.91 C8, 61.66 C12, 34.48 C5, 24.93 C4, 22.59 C7, 20.65 C10, 15.41 C6, 14.35 C11.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 194.1545, znaleziono 194.1542.

##### 4.1.4.10.2 Eter *O*-etylowy oksymu *cis*-3-metylo-2-(2-pentenylo)-2-cyklopenten-1-onu



**85**

Czystość:  
93.55%

Wydajność:  
46.59%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 5.41 – 5.29 (m, 2H przy C8 i C9), 4.08 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H przy C12), 2.96 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H przy C7), 2.61 – 2.52 (m, 2H przy C4), 2.40 – 2.32 (m, 2H przy C5), 2.22 – 2.10 (m, 2H przy C10), 1.85 (d, *J* = 1.4 Hz, 3H przy C6), 1.25 (t, *J* = 7.0, 3H przy C13), 1.02 – 0.89 (m, 3H przy C11).

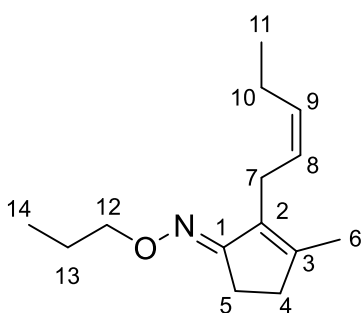
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 166.98 C1, 150.45 C3, 133.39 C2, 131.74 C9, 126.02 C8, 69.14 C12, 34.46 C5, 25.03 C4, 22.63 C7, 20.63 C10, 15.38 C6, 14.93 C13, 14.36 C11.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO] obliczona 208.1701 znaleziono 208.1698.

##### 4.1.4.10.3 Eter *O*-propylowy oksymu *cis*-3-metylo-2-(2-pentenylo)-2-cyklopenten-1-onu



**86**

Czystość:  
92.90%

Wydajność:  
59.56%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 5.41 – 5.28 (m, 2H przy C8 i C9), 3.99 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C12), 2.96 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H przy C7), 2.61 – 2.53 (m, 2H przy C4), 2.40 – 2.31 (m, 2H przy C5), 2.22 – 2.10 (m, 2H przy C10), 1.85 (t, *J* = 1.3 Hz, 3H przy C6), 1.74 – 1.59 (m, 2H przy C13), 1.03 – 0.86 (m, 6H przy C11 i C14).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 166.99 C1, 150.47 C3, 133.38 C2, 131.73 C9, 126.01 C8, 75.33 C12, 34.46 C5, 27.58, 25.00 C4, 22.64 C7, 20.63 C10, 15.39 C6, 14.35 C11, 10.54 C14.

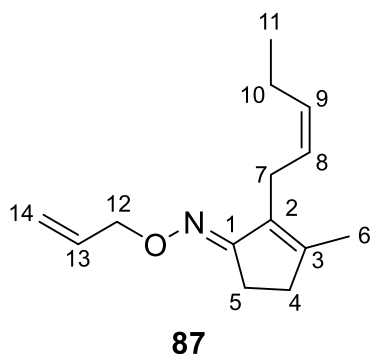
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>NO] obliczona 222.1858, znaleziono 222.1856.

#### 4.1.4.10.4 Eter *O*-allilowy oksymu *cis*-3-metylo-2-(2-pentenylo)-2-cyklopenten-1-onu

Czystość:  
91.10%

Wydajność:  
61.72%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.08 – 5.94 (m, 2H przy C13), 5.43 – 5.22 (m, 2H przy C8 i C9), 5.21 – 5.12 (m, 1H przy C14), 4.59 – 4.51 (m, 2H przy C12), 2.96 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H przy C7), 2.65 – 2.55 (m, 2H przy C4), 2.41 – 2.32 (m, 2H przy C5), 2.23 – 2.08 (m, 2H przy C10), 1.85 (d, *J* = 1.4 Hz, 3H przy C6), 0.97 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H przy C11).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 167.45 C1, 150.89 C3, 135.09 C13, 133.29 C2, 131.80 C9, 125.94 C8, 116.95 C14, 74.75 C12, 34.49 C5, 25.12 C4, 22.62 C7, 20.63 C10, 15.40 C6, 14.37 C11.

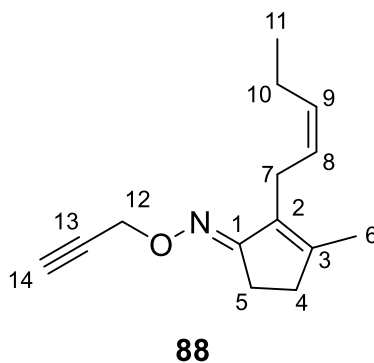
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO] obliczona 220.1701, znaleziono 220.1699.

#### 4.1.4.10.5 Eter *O*-propargilowy oksymu *cis*-3-metylo-2-(2-pentenylo)-2-cyklopenten-1-onu

Czystość:  
96.08%

Wydajność:  
7.46%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 5.49 – 5.28 (m, 2H przy C8 i C9), 4.72 – 4.59 (d, *J* = 3.9 Hz, 2H przy C12), 3.02 – 2.88 (m, 2H przy C7), 2.70 – 2.56 (m, 2H przy C4), 2.47 – 2.33 (m, 3H przy C5 i C14), 2.22 – 2.06 (m, 2H przy C10), 1.88 – 1.82 (m, 3H przy C6), 1.02 – 0.82 (m, 3H przy C11).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 168.54 C1, 151.90 C3, 133.14 C2, 131.92 C9, 125.77 C8, 80.63 C14, 73.76 C12, 61.28 C13, 34.51 C5, 25.18 C4, 22.61 C7, 20.64 C10, 15.44 C6, 14.37 C11.

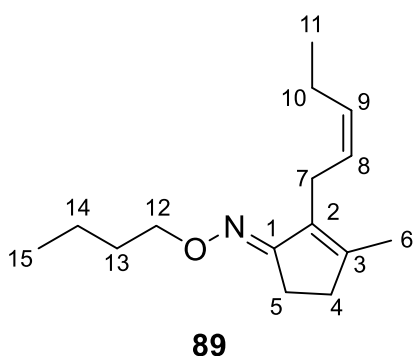
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 218.1545, znaleziono 218.1541.

#### 4.1.4.10.6 Eter *O*-butylowy oksymu *cis*-3-metylo-2-(2-pentenylo)-2-cyklopenten-1-onu

Czystość:  
91.44%

Wydajność:  
30.33%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 5.42 – 5.29 (m, 2H przy C8 i C9), 4.06 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C12), 2.99 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H przy C7), 2.64 – 2.54 (m, 2H przy C4), 2.41 – 2.33 (m, 2H przy C5), 2.20 – 2.10 (m, 2H przy C10), 1.86 (d, *J* = 2.6 Hz, 3H przy C6), 1.72 – 1.55 (m, 2H przy C13), 1.44 – 1.31 (m, 2H przy C14), 1.03 – 0.83 (m, 6H przy C11 i C15).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 167.44 C1, 151.65 C3, 133.31 C2, 131.83 C9, 125.88 C8, 73.71 C12, 34.50 C5, 31.47 C13, 25.17 C4, 22.65 C7, 20.66 C10, 19.33 C14, 15.50 C6, 14.37 C11, 14.11 C15.

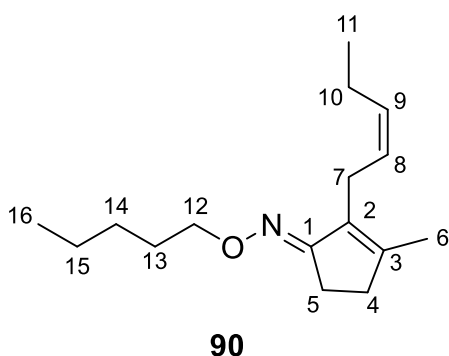
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>NO] obliczona 236.2014, znaleziono 236.2012.

#### 4.1.4.10.7 Eter *O*-amyłowy oksymu *cis*-3-metylo-2-(2-pentenylo)-2-cyklopenten-1-onu

Czystość:  
93.10%

Wydajność:  
5.94%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 5.43 – 5.29 (m, 2H przy C8 i C9), 4.06 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C12), 3.00 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H przy C7), 2.65 – 2.53 (m, 2H przy C4), 2.45 – 2.30 (m, 2H przy C5), 2.22 – 2.00 (m, 2H przy C10), 1.86 (d, *J* = 1.4 Hz, 3H przy C6), 1.72 – 1.58 (m, 2H przy C13), 1.39 – 1.26 (m, 4H przy C14 i C15) 1.03 – 0.82 (m, 6H przy C11 i C16).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 167.59 C1, 152.03 C3, 133.31 C2, 131.87 C9, 125.84 C8, 74.04 C12, 34.52 C5, 29.03 C13, 28.30 C14, 25.22 C4, 22.71 C7, 22.66 C15, 20.66 C10, 15.53 C6, 14.35 C11, 14.16 C16.

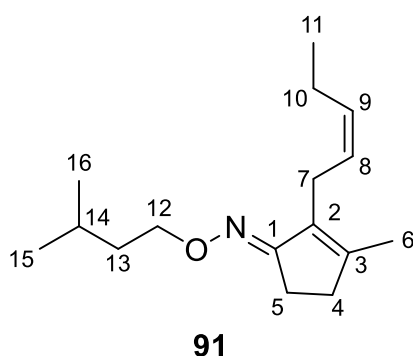
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>NO] obliczona 250.2171, znaleziono 250.2168.

#### 4.1.4.10.8 Eter *O*-izoamyłowy oksymu *cis*-3-metylo-2-(2-pentenylo)-2-cyklopenten-1-onu

Czystość:  
93.50%

Wydajność:  
30.39%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 5.43 – 5.30 (m, 2H), 4.06 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.96 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 2.60 – 2.52 (m, 2H), 2.40 – 2.31 (m, 2H), 2.16 (tdd, *J* = 7.5, 6.4, 4.9 Hz, 2H), 1.84 (d, *J* = 1.4 Hz, 3H), 1.69 (dp, *J* = 13.3, 6.7 Hz, 1H), 1.59 – 1.49 (m, 3H), 0.98 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 0.91 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 166.90 C1, 150.40 C3, 133.37 C2, 131.73 C9, 126.03 C8, 72.34 C12, 38.21 C13, 34.45 C5, 25.31 C4, 25.05 C1, 22.85 C7, 22.64 C15 i C16, 20.64 C10, 15.39 C6, 14.37 C11.

**HRMS ESI+**

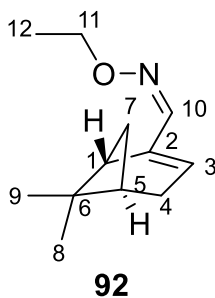
*m/z* [C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>NO] obliczona 250.2171, znaleziono 250.2172.

#### 4.1.4.11 Pochodne oksymu (1*R*)-(–)-myrtenalu

##### 4.1.4.11.1 Eter *O*-etyłowy oksymu (1*R*)-6,6-dimetylobicyklo[3.1.1]hept-2-en-2-karboksyaldehydu

Czystość:  
99.16%

Wydajność:  
79.76%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.66 (s, 1H przy C10), 5.83–5.77 (m, 1H przy C3), 4.08 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H przy C11), 2.82 (td, *J* = 5.7, 1.5 Hz, 1H przy C1), 2.48 – 2.36 (m, 3H przy C4 i C7), 2.16–2.08 (m, 1H przy C5), 1.32 (s, 3H przy C8 lub C9), 1.24 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H przy C12), 1.14 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H przy C7), 0.80 (s, 3H przy C8 lub C9).

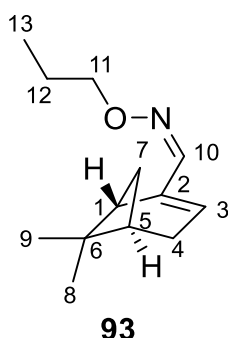
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 150.00 C10, 143.17 C2, 130.82 C3, 69.38 C11, 40.81 C5, 40.46 C1, 37.73 C6, 32.41 C4, 31.23 C9, 26.09 C8 lub C9, 20.96 C8 lub C9, 14.56 C12.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO] obliczona 194.1545, znaleziono 194.1548.

4.1.4.11.2 Eter *O*-propylowy oksymu (1*R*)-6,6-dimetylobicyklo[3.1.1]hept-2-en-2-karboksyaldehydu



Czystość:  
98.55%

Wydajność:  
70.90%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.67 (s, 1H przy C10), 5.83–5.86 (m, 1H przy C3), 3.98 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H przy C11), 2.82 (td, *J* = 5.7, 1.5 Hz, 1H przy C1), 2.49 – 2.29 (m, 3H przy C4 i C7), 2.16–2.08 (m, 1H przy C5), 1.65 (sex, *J* = 7.3 Hz, 2H przy C12), 1.31 (s, 3H przy C8 lub C9), 1.14 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H przy C7), 0.92 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H przy C13), 0.80 (s, 3H przy C8 lub C9).

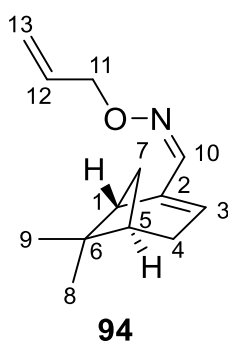
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 149.92 C10, 143.19 C2, 130.71 C3, 75.55 C11, 40.81 C5, 40.46 C1, 37.72 C6, 32.41 C4, 31.24 C7, 26.09 C8 lub C9, 22.37 C12, 20.96 C8 lub C9, 10.46 C13.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 208.1701, znaleziono 208.1703.

4.1.4.11.3 Eter *O*-allilowy oksymu (1*R*)-6,6-dimetylobicyklo[3.1.1]hept-2-en-2-karboksyaldehydu



Czystość:  
99.40%

Wydajność:  
61.12%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.70 (s, 1H przy C10), 6.05–5.91 (m, 1H przy C12), 5.85–5.78 (m, 1H przy C3), 5.29 (dq, *J* = 17.3, 1.6 Hz, 1H przy C13), 5.19 (dq, *J* = 10.4, 1.3 Hz, 1H przy C13), 4.54 (dt, *J* = 5.8, 1.4 Hz, 2H przy C11), 2.81 (td, *J* = 5.7, 1.5 Hz, 1H przy C5), 2.48 – 2.30 (m, 3H przy C4 i C7), 2.16–2.07 (m, 1H C5), 1.32 (s, 3H przy C8 lub C9), 1.14 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H przy C7), 0.80 (s, 3H przy C8 lub C9).

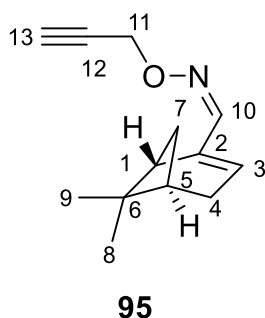
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 150.45 C10, 143.05 C2, 134.12 C12, 131.22 C3, 117.81 C13, 74.87 C11, 40.78 C5, 40.44 C1, 37.73 C6, 32.45 C4, 31.22 C7, 26.08 C8 lub C9, 20.95 C8 lub C9.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO] obliczona 206.1545, znaleziono 206.1548.

4.1.4.11.4 Eter *O*-propargilowy oksymu (1*R*)-6,6-dimetylobicyklo[3.1.1]hept-2-en-2-karboksyaldehydu



Czystość:  
97.08%

Wydajność:  
46.56%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.70 (s, 1H przy C10), 5.89–5.83 (m, 1H przy C3), 4.64 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H przy C11), 2.82 (td, *J* = 5.6, 1.5 Hz, 1H przy C1), 2.48 – 2.39 (m, 3H przy C4 i C7), 2.39 – 2.30 (m, 1H przy C13), 2.17 – 2.08 (m, 1H przy C5), 1.32 (s, 3H przy C8 lub C9), 1.14 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H przy C7), 0.80 (s, 3H przy C8 lub C9).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 151.41 C10, 142.71 C2, 132.28 C3, 74.54 C12, 61.42 C11, 40.73 C5, 40.41 C1, 37.71 C6, 32.51 C4, 31.20 C7, 26.06 C8 lub C9, 20.95 C8 lub C9.

**HRMS ESI+**

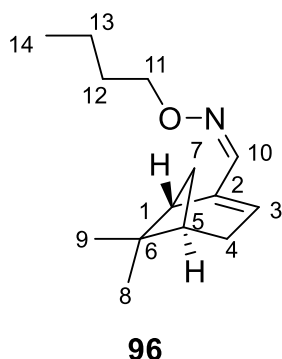
*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO] obliczona 204.1388, znaleziono 204.1391.



4.1.4.11.5 Eter *O*-butylowy oksymu (1*R*)-6,6-dimetylobicyklo[3.1.1]hept-2-en-2-karboksyaldehydu

Czystość:  
97.68%

Wydajność:  
78.16%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.66 (s, 1H przy C10), 5.83–5.76 (m, 1H przy C3), 4.03 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C11), 2.82 (td, *J* = 5.7, 1.5 Hz, 1H przy C1), 2.48 – 2.29 (m, 3H przy C4 i C7), 2.16 – 2.07 (m, 1H przy C5), 1.69 – 1.53 (m, 2H przy C12), 1.44 – 1.31 (m, 2H przy C13), 1.32 (s, 3H przy C8 lub C9), 1.14 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H przy C7), 0.92 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H przy C14), 0.80 (s, 3H przy C8 lub C9).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 149.89 C10, 143.20 C2, 130.66 C3, 73.78 C11, 40.81 C5, 40.46 C1, 37.72 C6, 32.41 C4, 31.24 C7, 31.18 C7, 26.09 C8 lub C9, 20.96 C8 lub C9, 19.25 C13, 14.02 C14.

**HRMS ESI+**

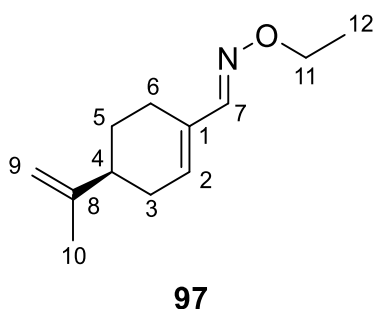
*m/z* [C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>NO] obliczona 222.1858, znaleziono 222.1854.

4.1.4.12 Pochodne oksymu (*S*)-(–)-perylaldehydu **16**

4.1.4.12.1 Eter *O*-etylowy oksymu (*S*)-4-izopropenylo-cyklohekseno-1-karboksyaldehydu

Czystość:  
98.81%

Wydajność:  
47.87%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.65 (s, 1H przy C7), 5.99–5.92 (m, 1H przy C2), 4.76 – 4.68 (m, 2H przy C9), 4.09 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H przy C11), 2.52–2.40 (m, 1H przy C4), 2.36 – 2.00 (m, 4H przy C3 i C6), 1.91 – 1.81 (m, 1H przy C5), 1.73 (s, *J* = 1.1 Hz, 3H przy C10), 1.55–1.37 (m, 1H przy C5), 1.25 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H przy C12).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 151.49 C7, 149.37 C8, 134.55 C2, 132.91 C1, 109.08 C9, 69.36 C11, 41.01 C3, 31.41 C6, 26.95 C5, 24.02 C4, 20.83 C10, 14.61 C12.

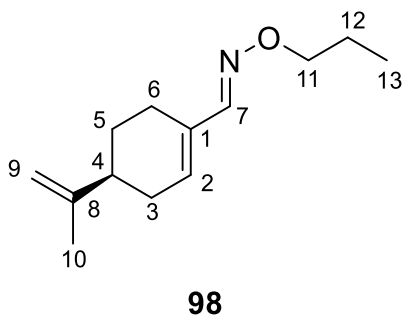
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 194.1545, znaleziono 194.1548.

4.1.4.12.2 Eter *O*-propylowy oksymu (*S*)-4-izopropenylo-cyklohekseno-1-karboksyaldehydu

Czystość:  
98.18%

Wydajność:  
62.16%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.66 (s, 1H przy C7), 5.99–5.91 (m, 1H przy C2), 4.76 – 4.68 (m, 2H przy C9), 3.99 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C11), 2.52 – 2.41 (m, 1H przy C4), 2.35 – 2.00 (m, 4H przy C3 i C6), 1.92 – 1.81 (m, 1H przy C5), 1.73 (d, *J* = 2.4 Hz, 3H przy C10), 1.71 – 1.59 (m, 2H przy C13), 1.54 – 1.39 (m, 1H przy C5), 0.93 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H przy C13).

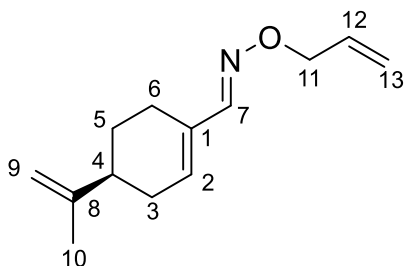
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 151.41 C7, 149.37 C8, 134.47 C2, 132.92 C1, 109.07 C9, 75.53 C11, 41.02 C3, 31.41 C6, 26.95 C5, 24.03 C4, 22.41 C12, 20.83 C10, 10.44 C13.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO] obliczona 208.1701, znaleziono 208.1705.

4.1.4.12.3 Eter *O*-allilowy oksymu (*S*)-4-izopropenylo-cyklohekseno-1-karboksyaldehydu



**99**

Czystość:

97.60%

Wydajność:

50.55%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.69 (s, 1H przy C7), 6.06 – 5.92 (m, 2H przy C2 i C12), 5.34–5.16 (m, 2H przy C13), 4.77 – 4.68 (m, 2H przy C9), 4.58 – 4.52 (m, 2H przy C11), 2.51 – 2.39(m, 1H przy C4), 2.35 – 2.00 (m, 4H C3 i C6), 1.91 – 1.81(m, 1H przy C5), 1.73 (t, *J* = 1.1 Hz, 3H przy C10), 1.56 – 1.38 (m, 1H przy C5).

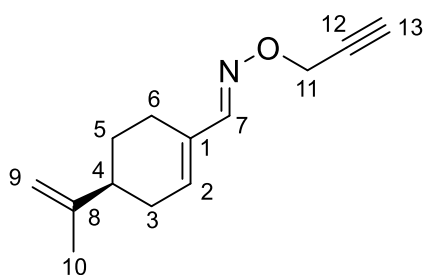
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 151.98 C7, 149.33 C8, 134.96 C2, 134.25 C12, 132.79 C1, 117.78 C13, 109.10 C9, 74.84 C11, 40.98 C3, 31.43 C6, 26.92 C5, 23.99 C4, 20.84 C10.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 206.1545, znaleziono 206.1541.

4.1.4.12.4 Eter *O*-propargilowy oksymu (*S*)-4-izopropenylo-cyklohekseno-1-karboksyaldehydu



**100**

Czystość:

95.03%

Wydajność:

44.70%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.69 (s, 1H przy C7), 6.05 – 5.97 (m, 1H przy C2), 4.77–4.68 (m, 2H przy C9), 4.67 – 4.61 (m, 2H przy C11), 2.52 – 2.41 (m, 2H przy C4 i C16), 2.36 – 2.01 (m, 4H przy C3 i C6), 1.91 – 1.81 (m, 1H przy C5), 1.73 (t, *J* = 1.1 Hz, 3H przy C10), 1.57 – 1.39 (m, 1H przy C5).

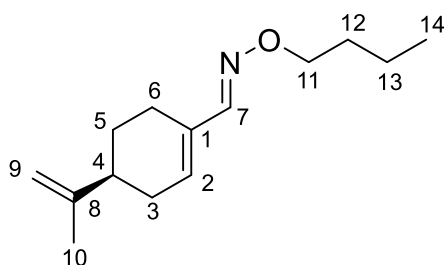
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 152.98 C7, 149.25 C8, 135.98 C2, 132.54 C1, 109.16 C9, 79.78 C13, 74.45 C11, 61.41 C12, 40.91 C3, 31.46 C6, 26.86 C5, 23.92 C4, 20.83 C10.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO] obliczona 204.1388, znaleziono 204.1386.

4.1.4.12.5 Eter *O*-butylowy oksymu (*S*)-4-izopropenylo-cyklohekseno-1-karboksyaldehydu



**101**

Czystość:

97.11%

Wydajność:

52.55%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.65 (s, 1H przy C7), 5.99 – 5.91 (m, 1H przy C2), 4.76 – 4.68 (m, 2H przy C9), 4.04 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C11), 2.52 – 2.41 (m, 1H przy C4), 2.35 – 2.00 (m, 4H przy C3 i C6), 1.91 – 1.81 (m, 1H przy C5), 1.68 – 1.29 (m, 8H przy C5, C10, C12 i C13), 0.92 (t, *J* = 7.4, 3H przy C14).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

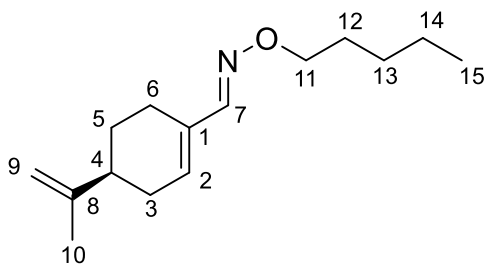
δ 151.38 C7, 149.39 C8, 134.46 C2, 132.92 C1, 109.07 C9, 73.76 C11, 41.02 C3, 31.41 C6, 31.24 C12, 26.96 C5, 24.03 C4, 20.84 C10, 19.23 C13, 14.01 C14.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>NO] obliczona 222.1858, znaleziono 222.1852.

#### 4.1.4.12.6 Eter *O*-amyłowy oksymu (*S*)-4-izopropenylo-cyklohekseno-1-karboksyaldehydu

Czystość: 97.90%  
Wydajność: 60.09%



**102**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.65 (s, 1H przy C7), 5.99 – 5.92 (m, 1H przy C2), 4.76 – 4.68 (m, 2H przy C9), 4.03 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H przy C11), 2.52 – 2.39 (m, 1H przy C4), 2.35 – 2.00 (m, 4H przy C3 i C6), 1.91 – 1.81 (m, 1H przy C5), 1.74 (s, 3H przy C10), 1.70 – 1.39 (m, 3H przy C5 i C12), 1.38 – 1.25 (m, 4H przy C13 i C14), 0.95 – 0.82 (m, 3H przy C15).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

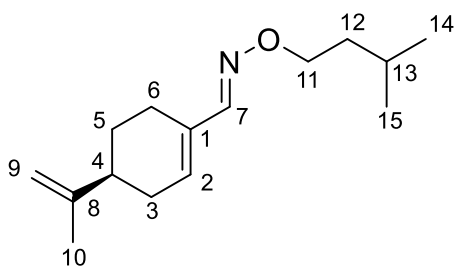
δ 151.39 C7, 149.39 C8, 134.47 C2, 132.92 C1, 109.08 C9, 74.05 C11, 41.02 C3, 31.41 C6, 28.84 C12, 28.20 C13, 26.95 C5, 24.03 C4, 22.61 C14, 20.84 C10, 14.12 C15.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>NO] obliczona 236.2014, znaleziono 236.2016.

#### 4.1.4.12.7 Eter *O*-izoamyłowy oksymu (*S*)-4-izopropenylo-cyklohekseno-1-karboksyaldehydu

Czystość: 97.80%  
Wydajność: 57.56%



**103**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.65 (s, 1H przy C7), 5.99 – 5.92 (m, 1H przy C2), 4.76 – 4.68 (m, 2H przy C9), 4.07 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H przy C11), 2.52 – 2.40 (m, 1H przy C4), 2.35 – 2.00 (m, 4H przy C3 i C6), 1.91 – 1.81 (m, 1H przy C5), 1.77 – 1.61 (m, 4H przy C10 i C13), 1.60 – 1.51 (m, 2H przy C12), 1.51 – 1.39 (m, 1H przy C5), 0.91 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H przy C14 i C15).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 151.38 C7, 149.39 C8, 134.48 C2, 132.91 C1, 109.08 C9, 72.51 C11, 41.02 C3, 37.90 C13, 31.41 C6, 26.95 C5, 25.15 C12, 24.03 C4, 22.75 C14 i C15, 20.84 C10.

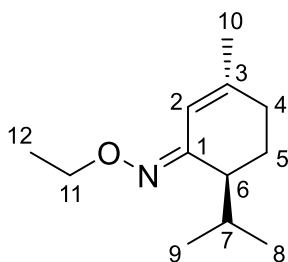
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>NO] obliczona 236.2014, znaleziono 236.2016.

#### 4.1.4.13 Pochodne oksymu piperytonu **18**

##### 4.1.4.13.1 Eter *O*-etyłowy oksymu 6-izopropyl-3-metylo-2-cykloheksen-1-onu

Czystość: 90.02%  
Wydajność: 72.29%



**104**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.46 (s, 1H przy C2), 4.14–4.07 (m, 2H przy C11) 2.00–1.94 (m, 4H przy C4 i C5), 1.85 (s, 3H przy C10), 1.84–1.81 (m, 1H przy C7) 1.29 (s, 3H przy C12), 1.30–1.26 (m, 1H przy C6), 0.93–0.98 (dd, *J*=3,36 i *J*=6,66, 6H przy C8 i C9).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 155.71 C1, 148.21 C3, 113.25 C2, 68.86 C11, 43.97 C6, 37.46 C4, 28.32 C7, 26.78 C5, 24.01 C10, 20.77 C8 i C9, 14.60 C12.

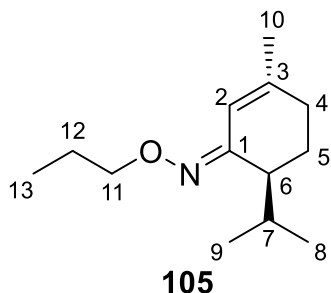
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>NO] obliczona 196.1701, znaleziono 196.1704.

#### 4.1.4.13.2 Eter *O*-propylowy oksymu 6-izopropyl-3-metylo-2-cykloheksen-1-onu

Czystość:  
92.61%

Wydajność:  
64.24%



**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ: 6.46 (s, 1H przy C2), 4.05–4.00 (m, 2H przy C11), 2.05–1.94 (m, 4H przy C4 i C5), 1.86 (s, 3H przy C10), 1.85–1.80 (m, 4H przy C7 i C12), 1.72–1.67 (m, 1H przy C6), 0.96–0.93 (dd,  $J=7.44$  i  $J=6.54$ , 6H przy C8 i C9) 0.92–0.89 (t, 3H przy C13).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 155.73 C1, 148.10 C3, 113.24 C2, 75.12 C11, 43.96 C6, 37.47 C4, 28.32 C7, 26.79 C5, 24.02 C10, 22.57 C12, 20.77 C8 i C9, 10.39 C13.

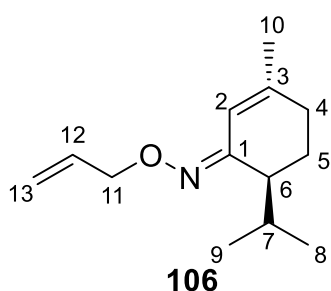
**HRMS ESI+**

$m/z$  [C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>NO] obliczona 210.1858 znaleziono 210.1854.

#### 4.1.4.13.3 Eter *O*-allilowy oksymu 6-izopropyl-3-metylo-2-cykloheksen-1-onu

Czystość:  
90.05%

Wydajność:  
52.44%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.49 (s, 1H przy C2), 6.06–6.01 (m, 1H przy C12), 5.34 (d,  $J=1.68$ , 2H przy C13), 4.60–4.59 (d,  $J=1.38$ , 2H przy C11) 2.05–1.96 (m, 5H przy C4, C5 i C7), 1.86 (s, 3H przy C10) 1.84–1.80 (m, 1H przy C6) 0.98–0.93 (dd, 6H,  $J=6.72$  i  $J=6.66$  przy C8 i C9).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 156.26 C1, 148.53 C3, 134.87 C12, 119.73 C13, 113.24 C2, 74.34 C11, 43.89 C6, 37.57 C4, 28.33 C7, 26.78 C5, 24.03 C10, 20.77 C8 i C9.

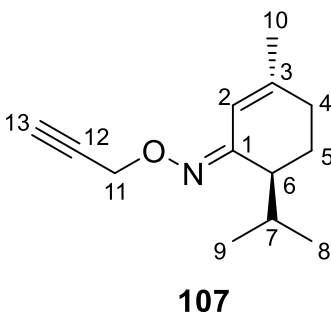
**HRMS ESI+**

$m/z$  [C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO] obliczona 208.1701, znaleziono 208.1706.

#### 4.1.4.13.4 Eter *O*-propargilowy oksymu 6-izopropyl-3-metylo-2-cykloheksen-1-onu

Czystość:  
90.51%

Wydajność:  
32.91%



**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.46 (s, 1H przy C2), 4.64 (t, 2H przy C11), 2.45 (s, 1H przy C13), 2.07–2.01 (m, 2H przy C4), 1.98–1.93 (m, 2H przy C5), 1.86 (s, 3H przy C10) 1.70–1.66 (m, 1H przy C7), 1.28–1.26 (m, 1H przy C6) 0.98–0.94 (dd,  $J=6.72$  i  $J=6.66$ , 6H przy C8 i C9).

**<sup>13</sup>C NMR** (140 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 157.24 C1, 149.28 C3, 113.10 C2, 80.45 C13, 73.86 C11, 60.91 C14, 43.78 C6, 37.59 C4, 28.34 C7, 26.71 C5, 24.34 C10, 20.75 C8 i C9.

**HRMS ESI+**

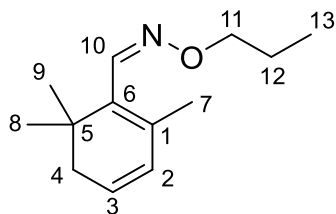
$m/z$  [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 206.1545, znaleziono 206.1554.

#### 4.1.4.14 Pochodne oksymu safranalu **10**

##### 4.1.4.14.1 Eter *O*-propylowy oksymu 2,3-dihydro-2,2,6-trimetylobenzaldehydu

Czystość:  
93.47%

Wydajność:  
48.48%



**108**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.97 (s, 1H przy C10), 5.87 – 5.77 (m, 2H przy C2 i C3), 4.03 (t, *J* = 6.8, 2H przy C11), 2.13 – 2.06 (m, 2H przy C4), 1.89 (s, 3H przy C7), 1.76 – 1.62 (m, 2H przy C12), 1.11 (s, 6H przy C8 i C9), 0.94 (t, *J* = 7.4, 3H przy C13).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 147.59 C10, 133.33 C1, 131.63 C6, 129.52 C2, 127.83 C3, 75.49 C11, 40.33 C4, 33.56 C5, 26.79 C8 i C9, 22.63 C12, 19.39 C7, 10.40 C13.

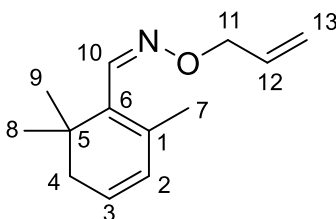
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO] obliczona 208.1701, znaleziono 208.1703.

##### 4.1.4.14.2 Eter *O*-allilowy oksymu 2,3-dihydro-2,2,6-trimetylobenzaldehydu

Czystość:  
96.56%

Wydajność:  
70.73%



**109**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.00 (s, 1H przy C10), 6.09 – 5.95 (m, 1H przy C3), 5.83 (m, 2H przy C12), 5.34 – 5.18 (m, 2H przy C2), 4.61–4.55 (m, 2H przy C13), 2.09 (d, *J* = 2.8 Hz, 2H przy C4), 1.89 (s, 3H przy C7), 1.11 (s, 6H przy C8 i C9).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 148.20 C10, 134.51 C12, 133.74 C1, 131.44 C6, 129.50 C2, 128.04 C3, 117.82 C13, 74.83 C11, 40.33 C4, 33.55 C5, 26.78 C8 i C9, 19.42 C7.

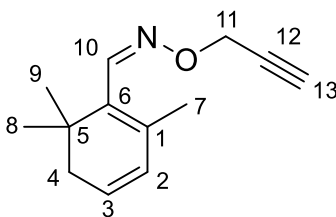
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 206.1545, znaleziono 206.1539.

##### 4.1.4.14.3 Eter *O*-propargilowy oksymu 2,3-dihydro-2,2,6-trimetylobenzaldehydu

Czystość:  
96.00%

Wydajność:  
60.95%



**110**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.01 (s, 1H przy C10), 5.91–5.79 (m, 2H przy C2 i C3), 4.68 (d, *J* = 2.4, 2H przy C11), 2.45 (t, *J* = 2.4, 1H przy C13), 2.10 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H przy C4), 1.90 (s, 3H przy C7), 1.12 (s, 6H przy C8 i C9).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

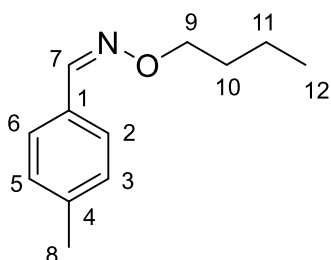
δ 149.26 C10, 134.57 C1, 131.10 C6, 129.43 C2, 128.46 C3, 79.92 C13, 74.35 C12, 61.36 C11, 40.32 C4, 33.52 C5, 26.75 C8 i C9, 19.43 C7.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>NO] obliczona 204.1388, znaleziono 204.1391.

#### 4.1.4.15 Pochodne oksymu *p*-tolualdehydu **3**

##### 4.1.4.15.1 Eter *O*-butylowy oksymu 4-metylobenzaldehydu



**111**

Czystość:  
97.90%

Wydajność:  
39.57%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.34 (s, 1H, przy C8), 7.69 (d, *J* = 1.6 Hz, 2H przy C2 i C6 lub C3 i C5), 7.20 (d, 2H przy C2 i C6 lub C3 i C5), 4.18 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C9), 2.40 (s, 3H przy C8), 1.76 – 1.64 (m, 2H przy C10), 1.50 – 1.36 (m, 2H przy C11), 0.96 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H przy C12).

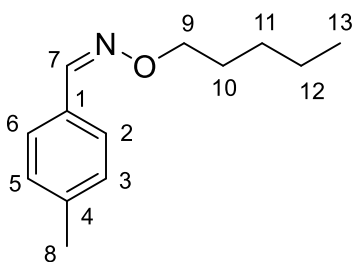
**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 147.19 C7, 136.70 C4, 130.84 C3, 130.74 C1, 129.52 C5, 126.75 C2, 126.20 C6, 74.18 C9, 31.34 C10, 19.88 C8, 19.24 C11, 14.03 C12.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO] obliczona 192.1388 znaleziono 192.1384.

##### 4.1.4.15.2 Eter *O*-amylowy oksymu 4-metylobenzaldehydu



**112**

Czystość:  
98.38%

Wydajność:  
28.21%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.04 (s, 1H przy C7), 7.49 – 7.43 (d, *J* = 1,6 Hz, 2H przy C2 i C6 lub C3 i C5), 7.16 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H przy C2 i C6 lub C3 i C5), 4.14 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H przy C9), 2.35 (s, 3H przy C8), 1.70 – 1.62 (m, 2H przy C10), 1.44 – 1.28 (m, 4H przy C11 i C12), 0.92 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H przy C13).

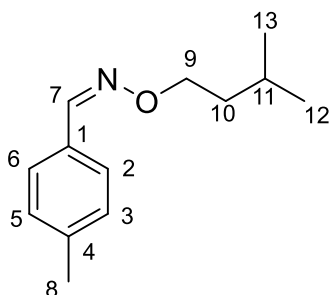
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 148.36 C7, 139.92 C4, 129.75 C1, 129.48 C2 i C6 lub C3 i C5, 127.00 C2 i C6 lub C3 i C5, 74.41 C9, 28.92 C10, 28.20 C11, 22.62 C12, 21.53 C8, 14.14 C13.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 206.1545, znaleziono 206.1549.

##### 4.1.4.15.3 Eter *O*-izoamylowy oksymu 4-metylobenzaldehydu



**113**

Czystość:  
97.02%

Wydajność:  
36.65%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.03 (s, 1H przy C7), 7.46 (d, *J* = 1.6 Hz, 2H przy C2 i C6 lub C3 i C5), 7.16 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H przy C2 i C6 lub C3 i C5), 4.18 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H przy C9), 2.35 (s, 3H przy C8), 1.81 – 1.67 (m, 1H przy C11), 1.60 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H przy C10), 0.94 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H przy C12 i C13).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 148.35 C7, 139.93 C4, 129.74 C1, 129.48 C2 i C6 lub C3 i C5, 127.00 C2 i C6 lub C3 i C5, 72.88 C9, 37.96 C10, 25.15 C11, 22.76 C13 i C14, 21.53 C8.

**HRMS ESI+**

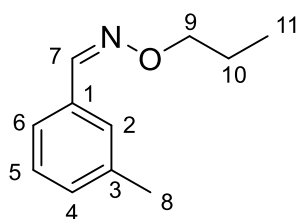
*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 206.1545, znaleziono 206.1547.

#### 4.1.4.16 Pochodne oksymu *m*-tolualdehydu 4

##### 4.1.4.16.1 Eter *O*-propylowy oksymu oksymu 3-metylobenzaldehydu

Czystość:

Wydajność:



**114**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.05 (s, 1H przy C7), 7.41 (s, 1H przy C2), 7.38 – 7.11 (m, 3H przy C4, C5 i C6), 4.12 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C9), 2.35 (s, 3H przy C8), 1.82 – 1.67 (m, 2H przy C10), 0.97 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H przy C11).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 148.54 C7, 138.47 C3, 132.45 C1, 130.60 C4, 128.65 C5, 127.37 C2, 124.47 C6, 75.96 C9, 22.50 C10, 21.40 C8, 10.44 C11.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>NO] obliczona 178.1232, znaleziono 178.1234.

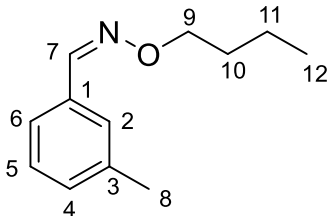
##### 4.1.4.16.2 Eter *O*-butylowy oksymu 3-metylobenzaldehydu

Czystość:

Wydajność:

99.49%

33.57%



**115**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 7.99 (s, 1H przy C7), 7.35 (s, 1H przy C2), 7.23 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H przy C6), 6.99 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H przy C5), 6.83 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H przy C4), 4.14 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C9), 3.90 (d, *J* = 10.4 Hz, 3H przy C8), 1.79 – 1.62 (m, 2H przy C10), 1.49 – 1.34 (m, 2H przy C11), 0.99 – 0.79 (m, 3H przy C12).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 150.62 C3, 149.34 C1, 148.16 C7, 125.50 C2, 121.59 C5, 110.77 C4, 108.03 C6, 55.99 C9, 31.29 C10, 29.79 C11, 19.24 C8, 14.03 C12.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO] obliczona 192.1388, znaleziono 192.1389.

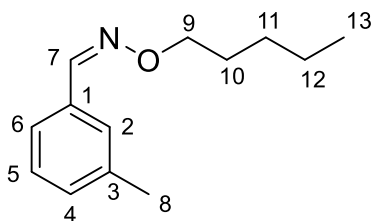
##### 4.1.4.16.3 Eter *O*-amylowy oksymu 3-metylobenzaldehydu

Czystość:

Wydajność:

99.28%

26.04%



**116**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.04 (s, 1H, przy C7), 7.41 (s, 1H przy C2), 7.34 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H przy C6), 7.24 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H przy C5), 7.16 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H przy C4), 4.15 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C9), 2.35 (s, 3H, przy C8), 1.77 – 1.65 (m, 2H, przy C10), 1.37 (m, 4H przy C11 i C12), 0.95 (m, 3H, przy C13).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 148.51 C7, 138.47 C3, 132.46 C1, 130.59 C4, 128.65 C2, 127.37 C5, 124.46 C6, 74.48 C9, 28.92 C10, 28.19 C11, 22.62 C12, 21.40 C8, 14.14 C13.

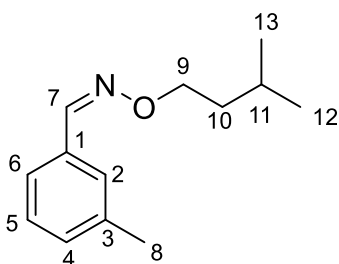
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 206.1545, znaleziono 206.1549.

#### 4.1.4.16.4 Eter *O*-izoamylowy oksymu 3-metylobenzaldehydu

Czystość:  
99.37%

Wydajność:  
29.01%



**117**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.03 (s, 1H przy C7), 7.41 (s, 1H przy C2), 7.34 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H przy C6), 7.24 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H przy C5), 7.17 (d, 1H przy C4), 4.19 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H przy C9), 2.35 (s, 3H, przy C8), 1.82 – 1.67 (m, 1H przy C11), 1.60 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H przy C10), 0.94 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H przy C12 i C13).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 148.49 C7, 138.47 C3, 132.46 C1, 130.59 C4, 128.65 C2, 127.37 C5, 124.46 C6, 72.96 C9, 37.96 C10, 25.16 C11, 22.76 C12 i C13, 21.40 C8.

**HRMS ESI+**

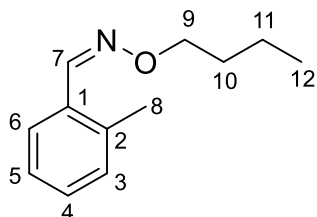
*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 206.1545, znaleziono 206.1550.

#### 4.1.4.17 Pochodne oksymu *o*-tolualdehydu **5**

##### 4.1.4.17.1 Eter *O*-butylowy oksymu 2-metylobenzaldehydu

Czystość:  
95.17%

Wydajność:  
28.27%



**118**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.04 (s, 1H przy C7), 7.46 (d, 1H przy C6), 7.26–7.11 (m, 3H przy C3, C4 i C5), 4.15 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C9), 2.35 (s, 3H przy C8), 1.72–1.62 (m, 2H przy C10), 1.49 – 1.35 (m, 2H przy C11), 0.95 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H przy C12).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 148.33 C7, 139.89 C2, 129.78 C1, 129.47 C3, C4 i C5, 126.98 C6, 74.11 C9, 31.31 C10, 21.52 C8, 19.23 C11, 14.03 C12.

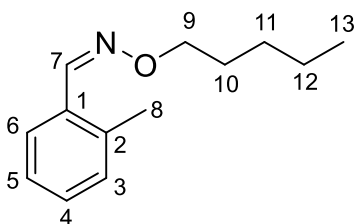
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO] obliczona 192.1388, znaleziono 192.1391.

##### 4.1.4.17.2 Eter *O*-amylowy oksymu 2-metylobenzaldehydu

Czystość:  
97.23%

Wydajność:  
66.25%



**119**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.34 (s, 1H przy C7), 7.69 (d, 1H przy C6), 7.34 – 7.13 (m, 3H przy C3, C4 i C5), 4.17 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H przy C9), 2.41 (s, 3H przy C8), 1.79 – 1.66 (m, 2H przy C10), 1.45 – 1.30 (m, 4H przy C11 i C12), 0.97 – 0.85 (m, 3H przy C13).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

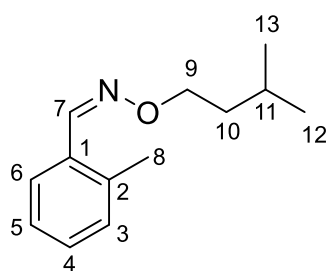
δ 147.20 C7, 136.70 C2, 130.84 C6, 130.74 C1, 129.52 C3, 126.76 C6, 126.20 C5, 74.48 C9, 28.94 C10, 28.20 C11, 22.63 C12, 19.88 C8, 14.13 C13.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 206.1545, znaleziono 206.1550.



#### 4.1.4.17.3 Eter *O*-izoamylowy oksymu 2-metylobenzaldehydu



**120**

Czystość:  
97.90%

Wydajność:  
59.99%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 8.33 (s, 1H przy C7), 7.69 (dd, *J* = 7.6, 1.5 Hz, 1H przy C6), 7.29 – 7.13 (m, 3H przy C3, C4 i C5), 4.21 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H przy C9), 2.40 (s, 3H przy C8), 1.83–1.68 (m, 1H, C11), 1.61 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H przy C10), 0.95 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H przy C12 i C13).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

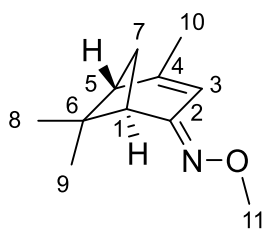
δ 147.18 C7, 136.70 C2, 130.84 C6, 130.74 C1, 129.52 C3, 126.75 C6, 126.20 C5, 72.94 C9, 38.00 C10, 25.14 C11, 22.77 C12 i C13, 19.88 C8.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 206.1503 znaleziono 206.1533.

#### 4.1.4.18 Pochodne oksymu (1*S*)-(–)-werbenonu **14**

##### 4.1.4.14.1 Eter *O*-metylowy oksymu (1*S*,5*S*)-4,6,6-trimetylobicyklo[3.1.1]hept-3-en-2-onu



**121**

Czystość:  
94.68%

Wydajność:  
44.24%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.35–6.29 i 5.75–5.74 (2 x m, 1H przy C3), 3.81 (2 x d, 3H, *J* = 4.4 Hz przy C11), 2.69 – 2.51 (2 x m, 2H przy C5 i C7), 2.25 – 2.15 (2 x m, 1H przy C1), 1.86 (2 x dd, 3H, *J* = 12.6, 1.6 Hz przy C10), 1.74 – 1.63 (2 x m, 1H przy C7), 1.59–1.39 (2 x m, 3H przy C8 lub C9), 0.88 (2 x d, 3H, *J* = 9.9 Hz przy C8 lub C9).

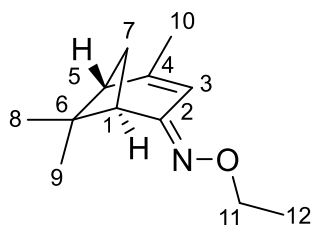
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 161.73 C4<sup>a</sup>, 159.39 C4<sup>b</sup>, 159.00 C2<sup>a</sup>, 154.39 C2<sup>b</sup>, 115.69 C3<sup>a</sup>, 109.98 C3<sup>b</sup>, 61.43 C11<sup>a</sup>, 61.35 C11<sup>b</sup>, 49.39 C1<sup>a</sup>, 49.13 C5<sup>a</sup>, 48.39 C1<sup>b</sup>, 48.02 C5<sup>b</sup>, 47.24 C6<sup>a</sup>, 42.19 C6<sup>b</sup>, 37.66 C7<sup>a</sup>, 36.39 C7<sup>b</sup>, 26.19 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 26.10 C8<sup>b</sup> lub C9<sup>b</sup>, 23.62 C10<sup>a</sup>, 23.21 C10<sup>b</sup>, 22.29 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 21.87 C8<sup>b</sup> lub C9<sup>b</sup>.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>NO] obliczona 180.1388, znaleziono 180.1389.

##### 4.1.4.14.2 Eter *O*-etylowy oksymu (1*S*,5*S*)-4,6,6-trimetylobicyklo[3.1.1]hept-3-en-2-onu



**122**

Czystość:  
92.13%

Wydajność:  
39.32%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.39 – 6.33 i 5.75–5.74 (2 x m, 1H przy C3), 4.13 – 3.98 (2 x m, 2H przy C11), 2.70 – 2.60 (2 x m, 1H przy C7), 2.59 – 2.50 (2 x m, 1H przy C5), 2.25 – 2.15 (2 x m, 1H przy C1), 1.86 (2 x dd, *J* = 14.0, 1.7 Hz, 3H przy C10), 1.69 (2 x d, *J* = 8.5 Hz, 1H przy C7), 1.40 (2 x d, *J* = 8.1 Hz, 5H przy C1 i C10), 1.33–1.16 (2 x m, 3H przy C12), 0.88 (2 x d, *J* = 10.8 Hz, 6H przy C8 i C9).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 161.49 C4<sup>a</sup>, 159.20 C4<sup>b</sup>, 158.56 C2<sup>a</sup>, 153.94 C2<sup>b</sup>, 115.93 C3<sup>a</sup>, 110.23 C3<sup>b</sup>, 69.07 C11<sup>a</sup>, 68.96 C11<sup>b</sup>, 49.39 C1<sup>a</sup>, 49.13 C5<sup>a</sup>, 48.47 C1<sup>b</sup>, 47.89 C5<sup>b</sup>, 47.12 C6<sup>a</sup>, 42.27 C6<sup>b</sup>, 37.58 C7<sup>a</sup>, 36.31 C7<sup>b</sup>, 26.19 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 26.13 C8<sup>b</sup> lub C9<sup>b</sup>, 23.60 C10<sup>a</sup>, 23.19 C10<sup>b</sup>, 22.28 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 21.89 C8<sup>b</sup> lub C9<sup>b</sup>, 14.65 C12<sup>a</sup>, 14.61 C12<sup>b</sup>.

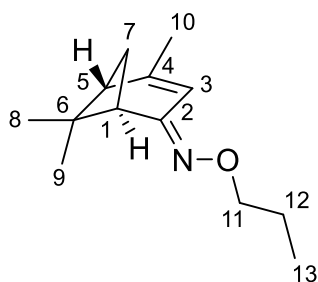
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 194.1545, znaleziono 194.1550.

4.1.4.14.3 Eter *O*-propylowy oksymu (1*S*,5*S*)-4,6,6-trimetylobicyklo[3.1.1]hept-3-en-2-onu

Czystość:  
94.33%

Wydajność:  
31.88%



**123**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.39–6.33 (m, 1H przy C3), 4.03–3.89 (m, 2H przy C11), 2.73 – 2.51 (m, 2H przy C5 i C7), 2.25 – 2.15 (m, 1H przy C1), 1.86 (dd, *J* = 14.8, 1.6 Hz, 3H przy C10), 1.73 – 1.62 (m, 2H przy C12), 1.67 – 1.57 (m, 1H przy C7), 1.40 (d, *J* = 8.1 Hz, 3H przy C13), 0.99 – 0.84 (m, 6H przy C8 i C9).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 161.61 C4<sup>a</sup>, 159.30 C4<sup>b</sup>, 158.67 C2<sup>a</sup>, 154.04 C2<sup>b</sup>, 115.89 C3<sup>a</sup>, 110.23 C3<sup>b</sup>, 75.22 C11<sup>a</sup>, 75.16 C11<sup>b</sup>, 49.41 C1<sup>a</sup>, 49.15 C5<sup>a</sup>, 48.43 C1<sup>b</sup>, 47.98 C5<sup>b</sup>, 47.20 C6<sup>a</sup>, 42.26 C6<sup>b</sup>, 37.60 C7<sup>a</sup>, 36.31 C7<sup>b</sup>, 26.20 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 26.16 C8<sup>b</sup> lub C9<sup>b</sup>, 23.63 C10<sup>a</sup>, 23.20 C10<sup>b</sup>, 22.45 C12<sup>a</sup>, 22.42 C12<sup>b</sup>, 22.28 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 21.88 C8<sup>b</sup> lub C9<sup>b</sup>, 10.49 C13<sup>a</sup>, 10.41 C13<sup>b</sup>.

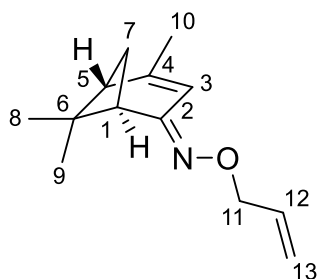
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO] obliczona 208.1701, znaleziono 208.1705.

4.1.4.14.4 Eter *O*-allilowy oksymu (1*S*,5*S*)-4,6,6-trimetylobicyklo[3.1.1]hept-3-en-2-onu

Czystość:  
95.33%

Wydajność:  
31.88%



**124**

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.41–6.36 (m, 1H C3<sup>a</sup>), 6.06–5.90 (2 x m, 2H przy C12), 5.80–5.74 (m, 1H przy C3<sup>b</sup>), 5.33–5.21 i 5.20–5.12 (2 x m, 2H przy C13), 4.58–4.47 (2 x m, 2H przy C11), 2.72 – 2.51 (2 x m, 2H przy C5 i C7), 2.26 – 2.13 (2 x m, 1H przy C1), 1.86 (2 x dd, *J* = 14.7, 1.7 Hz, 3H przy C10), 1.69 i 1.59 (2 x d, *J* = 8.9 Hz, 1H przy C7), 1.40 i 0.88 (2 x d, *J* = 8.7 Hz, 6H przy C8 i C9).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 162.03 C4<sup>a</sup>, 159.75 C4<sup>b</sup>, 159.00 C2<sup>a</sup>, 154.39 C2<sup>b</sup>, 134.75 C12<sup>a</sup>, 134.73 C12<sup>b</sup>, 117.08 C13<sup>a</sup>, 117.00 C13<sup>b</sup>, 115.77 C3<sup>a</sup>, 110.23 C3<sup>b</sup>, 74.48 C11<sup>a</sup>, 74.39 C11<sup>b</sup>, 57.68 C1<sup>a</sup>, 49.40 C5<sup>a</sup>, 49.14 C1<sup>b</sup>, 48.38 C5<sup>b</sup>, 48.11 C6<sup>a</sup>, 42.35 C6<sup>b</sup>, 37.68 C7<sup>a</sup>, 36.41 C7<sup>b</sup>, 26.19 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 26.15 C8<sup>b</sup> lub C9<sup>b</sup>, 23.64 C10<sup>a</sup>, 23.22 C10<sup>b</sup>, 22.31 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 21.89 C8<sup>b</sup> lub C9<sup>b</sup>.

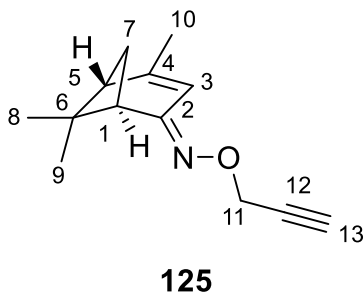
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO] obliczona 206.1545, znaleziono 206.1548.

4.1.4.14.5 Eter *O*-propargilowy oksymu (1*S*,5*S*)-4,6,6-trimetylobicyklo[3.1.1]hept-3-en-2-onu

Czystość:  
96.62%

Wydajność:  
39.50%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.38–6.36 and 5.80–5.79 (2x m, 1H przy C3), 4.62 (t, *J* = 2.6 Hz, 2H przy C11), 2.75 – 2.52 (m, 2H przy C5 i C7), 2.46 – 2.40 (m, 1H przy C15), 2.27 – 2.17 (m, 1H przy C1), 1.87 (dd, *J* = 12.7, 1.7 Hz, 3H przy C10), 1.72 i 1.61 (2x d, *J* = 8.7 i *J* = 8.9 Hz, 1H przy C7), 1.41 i 0.89 (2 x d, *J* = 7.2 Hz i *J* = 8.3 Hz, 3H przy C8 i C9)

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 163.07 C4<sup>a</sup>, 160.81 C4<sup>b</sup>, 159.69 C2<sup>a</sup>, 155.30 C2<sup>b</sup>, 115.50 C3<sup>a</sup>, 110.15 C3<sup>b</sup>, 80.24 C12<sup>a</sup>, 80.17 C12<sup>b</sup>, 74.17 C11<sup>a</sup>, 74.08 C11<sup>b</sup>, 61.06 C13<sup>a</sup>, 60.95 C13<sup>b</sup>, 49.39 C1<sup>a</sup>, 49.12 C5<sup>a</sup>, 48.39 C1<sup>b</sup>, 48.30 C5<sup>b</sup>, 47.68 C6<sup>a</sup>, 42.44 C6<sup>b</sup>, 37.80 C7<sup>a</sup>, 36.57 C7<sup>b</sup>, 26.19 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 26.13 C8<sup>b</sup> lub C9<sup>b</sup>, 23.65 C10<sup>a</sup>, 23.25 C10<sup>b</sup>, 22.27 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 21.86 C8<sup>b</sup> lub C9<sup>b</sup>.

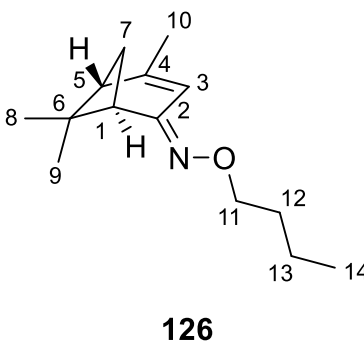
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO] obliczona 204.1388, znaleziono 204.1394.

4.1.4.14.6 Eter *O*-butylowy oksymu (1*S*,5*S*)-4,6,6-trimetylobicyklo[3.1.1]hept-3-en-2-onu

Czystość:  
95.30%

Wydajność:  
25.41%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.39–6.32 (m, 1H przy C3), 4.12–3.97 (m, 2H przy C11), 2.79–2.70 (m, 1H przy C7), 2.70 – 2.50 (m, 1H przy C5), 2.28 – 2.17 (m, 1H przy C1), 1.88 (dd, *J* = 17.6, 1.6 Hz, 3H przy C10), 1.75 – 1.62 (m, 1H przy C7), 1.66 – 1.51 (m, 2H przy C12), 1.51 – 1.26 (m, 5H przy C13 i C14), 1.04 – 0.84 (m, 7H przy C8, C9 i C14).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 162.04 C4<sup>a</sup>, 160.81 C4<sup>b</sup>, 159.65 C2<sup>a</sup>, 154.90 C2<sup>b</sup>, 115.64 C3<sup>a</sup>, 110.15 C3<sup>b</sup>, 73.68 C11<sup>a</sup>, 73.62 C11<sup>b</sup>, 49.49 C1<sup>a</sup>, 49.19 C5<sup>a</sup>, 48.61 C1<sup>b</sup>, 48.26 C5<sup>b</sup>, 42.36 C6<sup>a</sup>, 37.93 C7<sup>a</sup>, 36.57 C7<sup>b</sup>, 31.17 C6<sup>b</sup>, 26.21 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 26.18 C8<sup>b</sup> lub C9<sup>b</sup>, 23.76 C10<sup>a</sup>, 23.28 C10<sup>b</sup>, 22.27 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 21.87 C8<sup>b</sup> lub C9<sup>b</sup>, 19.30 C13<sup>a</sup>, 19.25 C13<sup>b</sup>, 14.06 C14<sup>a</sup>, 14.02 C14<sup>b</sup>.

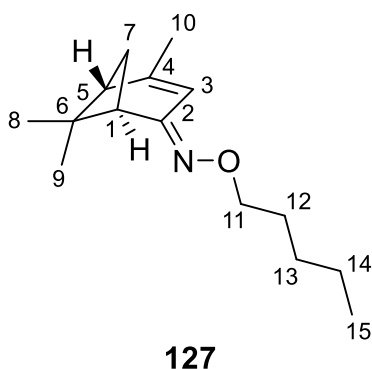
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>NO] obliczona 222.1858, znaleziono 222.1852.

4.1.4.14.7 Eter *O*-amytowy oksymu (1*S*,5*S*)-4,6,6-trimetylobicyklo[3.1.1]hept-3-en-2-onu

Czystość:  
95.30%

Wydajność:  
25.41%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.39 – 6.33 (m, 1H przy C3), 4.07 – 3.95 (m, 2H przy C11), 2.70 – 2.64 (m, 1H przy C7), 2.64 – 2.51 (m, 1H przy C5), 2.25 – 2.15 (m, 1H przy C1), 1.86 (dd, *J* = 14.7, 1.6 Hz, 3H przy C10), 1.72 – 1.57 (m, 1H przy C7), 1.40 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H przy C12), 1.37–1.26 (m, 9H przy C13, C14 i C15), 0.94 – 0.84 (m, 6H przy C8 i C9).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 161.54 C4<sup>a</sup>, 159.18 C4<sup>b</sup>, 158.46 C2<sup>a</sup>, 153.90 C2<sup>b</sup>, 115.94 C3<sup>a</sup>, 110.26 C3<sup>b</sup>, 73.77 C11<sup>a</sup>, 73.71 C11<sup>b</sup>, 49.40 C1<sup>a</sup>, 49.14 C5<sup>a</sup>, 48.47 C1<sup>b</sup>, 47.89 C5<sup>b</sup>, 47.14 C6<sup>a</sup>, 42.27 C6<sup>b</sup>, 37.56 C7<sup>a</sup>, 36.28 C7<sup>b</sup>, 28.87 C12<sup>a</sup>, 28.83 C12<sup>b</sup>, 28.30 C13<sup>a</sup>, 26.20 C13<sup>b</sup>, 26.16 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 23.62 C10<sup>a</sup>, 23.20 C10<sup>b</sup>, 22.63 C14<sup>a</sup>, 22.59 C14<sup>b</sup>, 22.30 C8<sup>b</sup> lub C9<sup>b</sup>, 21.89 C15<sup>a</sup>, 14.15 C15<sup>b</sup>.

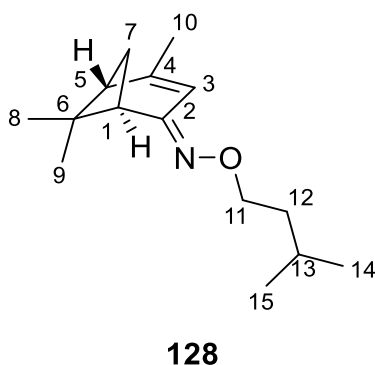
**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>NO] obliczona 236.2014, znaleziono 236.2010.

4.1.4.14.7 Eter *O*-izoamyłowy oksymu (1*S*,5*S*)-4,6,6-trimetylobicyklo[3.1.1]hept-3-en-2-onu

Czystość:  
95.31%

Wydajność:  
34.40%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 6.38 – 6.31 (m, 1H przy C3), 4.09 – 3.99 (m, 2H przy C11), 2.70 – 2.50 (m, 1H przy C7), 2.25 – 2.15 (m, 1H przy C1), 1.86 (dd, *J* = 13.8, 1.6 Hz, 3H przy C10), 1.78 – 1.45 (m, 3H przy C7 i C13), 1.40 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H przy C12), 0.98 – 0.84 (m, 12H przy C8, C9, C14 i C15).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm)

δ 161.52 C4<sup>a</sup>, 159.17 C4<sup>b</sup>, 158.46 C2<sup>a</sup>, 153.91 C2<sup>b</sup>, 115.93 C3<sup>a</sup>, 110.27 C3<sup>b</sup>, 72.32 C11<sup>a</sup>, 72.21 C11<sup>b</sup>, 49.40 C1<sup>a</sup>, 49.14 C5<sup>a</sup>, 48.46 C1<sup>b</sup>, 47.89 C5<sup>b</sup>, 47.14 C6<sup>a</sup>, 42.30 C6<sup>b</sup>, 37.88 C7<sup>a</sup>, 36.28 C7<sup>b</sup>, 26.20 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 25.35 C13<sup>a</sup> i 13C<sup>b</sup>, 22.85 C14<sup>a</sup> i C15<sup>a</sup>, 22.80 C14<sup>b</sup> i C15<sup>b</sup>, 22.77 C8<sup>a</sup> lub C9<sup>a</sup>, 21.89 C8<sup>b</sup> lub C9<sup>b</sup>.

**HRMS ESI+**

*m/z* [C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>NO] obliczona 236.2014, znaleziono 236.2010.

## 4.2. Badania nad aktywnością przeciwdrobnoustrojową

### 4.2.1. Krótka charakterystyka metod oznaczania aktywności przeciwdrobnoustrojowej

#### 4.2.1.1. Metoda krążkowo-dyfuzyjna

Jest to najpopularniejsza metoda analizy ilościowej aktywności przeciwdrobnoustrojowej opracowana w latach 40-tych XX w. Wyróżnić możemy trzy zasadnicze techniki obejmujące tę metodę:

- umieszczenie bibułowych krążków nasączonych badaną substancją na podłożu stałym z uprzednio wysianą hodowlą badanego mikroorganizmu
- wprowadzenie badanej substancji do otworów w podłożu stałym z uprzednio wysianą hodowlą badanego mikroorganizmu
- wprowadzenie badanego związku do cylindrów znajdujących się na powierzchni podłoża stałego z uprzednio wysianą hodowlą badanego mikroorganizmu [104].

W niniejszej pracy zastosowałam pierwszą metodę, dlatego też skupię się na jej dokładniejszym omówieniu. Wykorzystuje się tutaj szalki Petriego z odpowiednimi dla danych mikroorganizmów podłożami stałymi, na których wysiewa się mikroorganizmy, metodą posiewu gładzonego z hodowli płynnej w określonym wcześniej standardzie (ilości komórek na mL). Następnie na tak przygotowaną płytkę nanosi się uprzednio nasączony, znanym stężeniem substancji badanej, krążek bibułowy. Następnie płytki inkubuje się we właściwych warunkach przez okres czasu charakterystyczny dla wzrostu danego mikroorganizmu. W tym czasie znajdująca się w podłożu stałym woda zaczyna nasączać krążek a znajdująca się na nim substancja badana zaczyna promieniście dyfundować w podłoże. Stężenie tej substancji jest największe przy brzegach krążka i maleje wraz z odległością od niego. W przypadku substancji o aktywności przeciwdrobnoustrojowej obserwujemy promieniste strefy zahamowania wzrostu mikroorganizmów. Im większa jest strefa zahamowania wzrostu mikroorganizmu tym bardziej wrażliwy na daną substancję jest mikroorganizm. Do wyznaczenia wielkości stref określa się ich średnicę, używając w tym celu linijek, suwmiarek lub czytników automatycznych. W ten sposób możemy określić czy dany mikroorganizm jest na daną substancję wrażliwy, średnio wrażliwy lub niewrażliwy [105].

Niewątpliwymi zaletami takiego testu jest szybkość i prostota wykonania, niska cena oraz łatwość interpretacji wyników. Niestety metoda ta jest obarczona wieloma wadami. Przede wszystkim na szybkość przenikania danej substancji z krążka do podłoża ma wpływ jego masa cząsteczkowa, rozpuszczalność w podłożu stałym, jego grubość, a także właściwości dyfuzyjne. Nie da się więc jednoznacznie określić stężenia danego związku, który dyfundował do podłoża a tym samym wyznaczyć minimalnego stężenia hamującego wzrost mikroorganizmów (MIC). Nie da się również określić czy mamy do czynienia z działaniem bakteriobójczym czy bakteriostatycznym danej substancji badanej [104].

#### 4.2.1.2 Metody rozcieńczeniowe

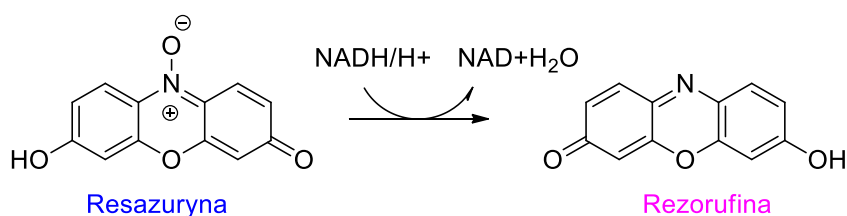
W metodach rozcieńczeniowych wykorzystuje się zarówno makro- jak i mikrorozcieńczenia. Pozwalają one na wyznaczenie parametru MIC, który najczęściej wyraża się w mg/mL lub  $\mu\text{g/mL}$ . W badaniu tym najczęściej przeprowadza się serię dwukrotnych rozcieńczeń badanej substancji, którą można prowadzić zarówno w podłożu stałym jak i w podłożu płynnym. W obu przypadkach przygotowuje się określone stężenia substancji w podłożu, które następnie zaszczepia się mikroorganizmem w określonym standardzie. Po okresie inkubacji odczytuje się wynik. W przypadku podłoży stałych obserwuje się ilość powstałych kolonii na płytkach, natomiast w przypadku podłoży płynnych obserwuje się zmętnienie [106].

Niewątpliwą zaletą testów rozcieńczeniowych jest możliwość ich miniaturyzacji, zwłaszcza w przypadku hodowli płynnych. W tym celu wykorzystuje się np. płytki 96-dolkowe, dzięki temu ogranicza się zużycie odczynników a ponadto można wykorzystać do pomiarów różnego rodzaju czytniki mikropłetek, które przyspieszają odczyt wyników. Ponadto wprowadzić można metody kolorymetryczne np. z użyciem barwnika alamarBlue®, która szczegółowo zostanie omówiona w kolejnym podrozdziale [104].

#### 4.2.1.3 Test seryjnych mikrorozcieńczeń w hodowli płynnej z alamarBlue®

Odczynnik alamarBlue® jest stosowany w badaniach na próbkach biologicznych od 1929 r. Stosowany jest głównie do oceny żywotności komórek zarówno prokariotycznych jak i eukariotycznych, a także do oceny cytotoksyczności. Głównym składnikiem tego odczynnika jest resazuryna, która jest niebieskim wskaźnikiem redox i pozwala na kontrolę cyklu życiowego komórki oraz apoptozy. Barwnik ten jest nietoksyczny dla komórek, łatwo przenika przez błony i nie rozkłada się w pożywcę. Na drodze naturalnych procesów

metabolicznych zachodzących w komórce ulega on redukcji do silnie fluorescencyjnej, różowej rezorufiny (Schemat 5). Barwnik pełni funkcję pośredniego akceptora elektronów i jest redukowany np. przez NADH, FADH czy NADPH. Resazuryna nie ingeruje w naturalny transfer elektronów. Wykorzystanie alamarBlue® w testach seryjnych mikrorozcieńczeń ułatwia odczyt wyników. Zmiana barwy z niebieskiej na różową świadczy o obecności żywych komórek [107].



*Schemat 5 Reakcja przekształcenia resazuryny do rezorufiny*

Dzięki tej widocznej zmianie w testach jakościowych łatwo jest ocenić, przy którym stężeniu dochodzi do śmierci komórek [108]. W testach ilościowych należy zastosować odczyt emitowanej fluorescencji próbek przy długości fali 590 nm lub odczyt ich absorbancji przy długościach 570 nm lub 540 nm oraz 600 nm lub 640 nm. Procedura testu jest tożsama z klasyczną metodą mikrorozcieńczeń a odczynnik jest dodawany w kolejnym etapie testu. Płytki z barwnikiem inkubuje się przez 1-4 h w odpowiednich dla wzrostu mikroorganizmów temperaturach. Zbyt długa inkubacja może doprowadzić do zaniknięcia fluorescencji i wytworzenia dihydrorezorufinu. Czynniki wpływającymi na fałszywe wyniki testu mogą być: parowanie próbek, pH poza 7.0 i 7.4, światło, a także niezachowanie sterylności. Do innych czynników istotnych przy wykonywaniu tego testu zaliczyć można dobranie odpowiedniej fazy wzrostu mikroorganizmów. Powinny one znajdować się w fazie wykładniczej [107]. Metoda ta została przez mnie wykorzystana w celu wyznaczenia parametru MIC.

#### 4.2.2. Część doświadczalna

##### 4.2.2.1. Materiały i metody

Wszystkie badane substancje zostały rozpuszczone w DMSO w stężeniu wyjściowym 30 mg/mL. Odczynnik alamarBlue® został pozyskany z Bio-Rad-Antibodies UK. Krążki bibułowe wraz z antybiotykami pochodziły z firmy Biomaxima. Mikropłytki 96-dołkowe otrzymano z NEST Biotechnology Co., Ltd. Chiny.

Mikroorganizmy testowe pochodziły z następujących firm: *Enterococcus hirae* (ATCC 10541) (MediMark), *Bacillus cereus* (ATCC 10876) (TCS), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) (MediMark), *Kocuria rhizophila* (ATCC 9341)(Mecconti s.á.r.l.), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228)(Mecconti s.á.r.l.), *Escherichia coli* (ATCC 10536) (MediMark), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) (TCS), *Legionella pneumophila* (ATCC 33152) (TCS), *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048)(Mecconti s.á.r.l.), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 12883)(Mecconti s.á.r.l.), *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 13525)(Mecconti s.á.r.l.), *Pseudomonas putida* (ATCC 49128)(Mecconti s.á.r.l.), *Enterobacter gergoviae* (ATCC 33028) (Mecconti s.á.r.l.), *Burkholderia cepacia* (ATCC 25416)(Mecconti s.á.r.l.), *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) (MediMark), *Candida albicans* (ATCC 10231) (MediMark), *Aspergillus fumigatus* (ATCC 204305) (Mecconti s.á.r.l.), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019) (Mecconti s.á.r.l.), *Talaromyces pinophilus* (ATCC 36839)(DSMZ).

Tab. 8 Optymalne temperatury hodowli poszczególnych mikroorganizmów

Mikroorganizm	Temperatura hodowli [°C]
<i>Enterococcus hirae</i>	37
<i>Bacillus cereus</i>	37
<i>Staphylococcus aureus</i>	37
<i>Kocuria rhizophila</i>	30
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	37
<i>Escherichia coli</i>	37
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
<i>Legionella pneumophila</i>	37
<i>Enterobacter aerogenes</i>	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	37
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	26
<i>Pseudomonas putida</i>	30
<i>Enterobacter gergoviae</i>	37
<i>Burkholderia cepacia</i>	30
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	20-25
<i>Candida albicans</i>	24-26
<i>Aspergillus fumigatus</i>	20-25
<i>Candida parapsilosis</i>	30-35
<i>Talaromyces pinophilus</i>	24-26



Wszystkie szczepy przechowywano w temperaturze 4°C w Katedrze Chemii Biologicznej i Bioobrazowania, Politechniki Wrocławskiej. W większości szczepy bakteryjne były hodowane na płytkach z podłożem Nutrient LAB-AGAR™ (Biocorp Polska), wyjątkiem były *P. putida* oraz *B. cepacia*, które hodowałam na płytkach z podłożem Tryptone Soya Agar z firmy OXOID oraz *L. pneumophila* na Legionella CYE LAB-AGAR™ Base (BioMaxima S.A.). Szczepy grzybów hodowałam na płytkach z Sabouraud Dextrose LAB-AGAR™ (Biocorp Polska). Wyjątkiem był szczep *T. pinophilus*, który utrzymywano na płytkach z Potato Dextrose Agar (Biocorp Polska). Hodowle prowadzono w temperaturach optymalnych właściwym szczepom (Tabela 8).

#### 4.2.2.2. Procedura testu przesiewowego I – związki karbonylowe i ich oksymy

Wstępne testy przesiewowe wykonałam w pierwszej kolejności dla związków karbonylowych oraz ich oksymów, które zdecydowałam się włączyć do testów nad aktywnością przeciwdrobnoustrojową, żeby umożliwić sobie dokładne porównanie wyników. Testy wg. tej procedury przeprowadziłam dla szczepów mikroorganizmów: *E. coli*, *E. hirae*, *S. aureus*, *B. cereus*, *L. pneumophila*, *P. aeruginosa*, *A. brasiliensis* i *C. albicans*.

Wszystkie szczepy bakteryjne hodowałam w pożywce Nutrient Broth (Biocorp), dla *L. pneumophila* stosowałam Legionella CYE Growth Supplement (BioMaxima S.A.) i inkubowałam we właściwych dla wzrostu mikroorganizmów temperaturach, przez 24 godziny. Następnie komórki bakteryjne zawieszałam w roztworze soli fizjologicznej zgodnie z protokołem McFarlanda [109], aby uzyskać zawiesinę komórek  $1-2 \times 10^8$  CFU/mL. Kolejno na płytki z właściwym podłożem agarowym nanosiłam 250 µl tej zawiesiny i rozprowadzałam na agarze (posiew dywanowy). Krążki (średnica 6 mm) impregnowałam 10 µl środka testowego o właściwym stężeniu uzyskując (300 µg/krążek) i umieszczałam go na zaszczepionym agarze. Jako kontrolę ujemną zastosowano czysty rozpuszczalnik (10 µl), natomiast krążki zawierające ofloksacynę (5 µg) i netylmocynę (30 µg) zastosowałam jako pozytywne wzorce odniesienia do określenia czułości każdego szczepu badanych gatunków bakterii. Płytki obserwowałam po 24 godzinach inkubacji. Wszystkie testy przeprowadzałam w trzech powtórzeniach, a aktywność przeciwbakteryjną wyrażałam jako średnią średnic stref hamowania (mm) wytworzonych przez każdy testowany środek.

Analogicznie test nad aktywnością przeciwgrzybiczą został wykonany tą samą metodą. Wprowadziłam jednak pewne modyfikacje. W przypadku drożdży hodowlę wstępną prowadziłam w pożywce Sabouraud Dextrose Broth (Biocorp) i następnie dostosowałam do  $1 \times 10^7$  CFU/mL zgodnie z protokołem McFarlanda. W przypadku pleśni zawiesinę dojrzałych zarodników otrzymywałam poprzez delikatne przemycie powierzchni stałego podłoża 0.05% (obj./obj.) roztworem Tween 80 (Greenaction), a powstałą zawiesinę doprowadzałam do stężenia  $10^6$  zarodników/mL. Naniesienie i przygotowanie krążków oraz kontrolę negatywną przeprowadziłam analogicznie jak dla bakterii natomiast krążki z flukonazolem (25  $\mu$ g) i krążki netylmycyny (30  $\mu$ g) zastosowałam jako pozytywne wzorce odniesienia do określenia czułości każdego testowanego szczepu grzybów. Płytki obserwowałam po 48 i 72 godzinach inkubacji we właściwej temperaturze. Również odczyt wyników przeprowadziłam analogicznie jak dla bakterii.

#### 4.2.2.3. Interpretacja wyników testu krążkowo-dyfuzyjnego

W celu uzyskania spójnych i porównywalnych wyników zastosowałam jednolitą analizę wyników. Kontrola negatywna z rozpuszczalnikiem nie wykazała żadnego działania hamującego na wzrost mikroorganizmów. Kontrole pozytywne wykazały średnice hamowania w zakresie 12-30 mm (ofloksacyna), 25-28 mm (netylmycyna) i 22-25 mm (flukonazol). Wszystkie strefy zahamowania porównałam z wynikami dla antybiotyków dla wszystkich mikroorganizmów. Jeśli strefa zahamowania była mniejsza niż 10 mm, uznawałam, że nie występuje aktywność przeciwdrobnoustrojowa, jeśli była mniejsza niż 13 mm uważałam substancję za średnio aktywną, a wyższa niż 13 mm uznawałam za silną. Wszystkie substancje, które wykazały aktywność średnią lub silną zostały zakwalifikowane do testów właściwych. Wyniki dostępne w załączniku.

Ponieważ testy krążkowo-dyfuzyjne są obarczone dużym błędem ze względu na chociażby temperaturę otoczenia w trakcie eksperymentu czy też inne czynniki omówione w podrozdziale 4.2.1.1 zdecydowałam się zmienić metodę testu przesiewowego i prowadzić je metodą mikrorozcieńczeń, której procedurę omówię w kolejnym podrozdziale.

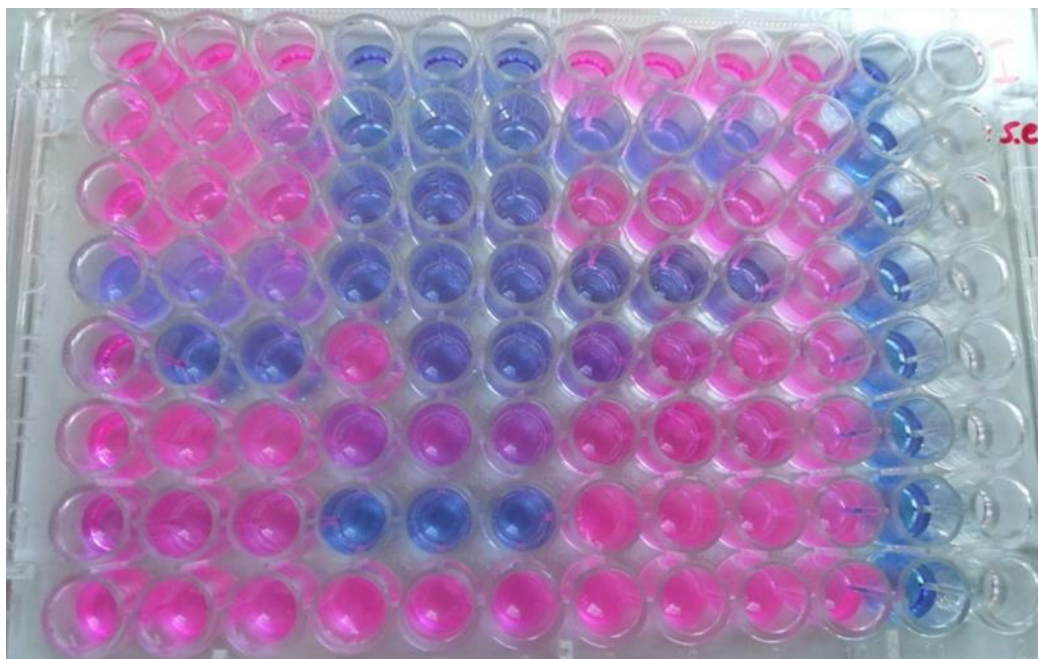
#### 4.2.3.4. Procedura testu przesiewowego II – związki karbonylowe i ich oksymy

Wstępne testy przesiewowe wykonałam nową metodą w pierwszej kolejności dla eterów oksymów wobec szczepów mikroorganizmów związanych z systemami wentylacyjnymi i klimatyzacyjnymi. Następnie przeprowadziłam testy dla związków

karbonylowych oraz ich oksymów jak również dla eterów oksymów wobec mikroorganizmów związanych z wtórnymi zakażeniami kosmetyków a także testami konserwacji.

Płynne hodowle bakterii przygotowywałam analogicznie jak w procedurze opisanej w podrozdziale 4.2.3.1. Następnie inokulum rozcieńczałam w soli fizjologicznej do końcowego stężenia równego  $5 \times 10^5$  CFU/mL (OD550 = 0.125). Każdy dołek w płytce 96-dołkowej zawierał objętość końcową 100  $\mu$ L. Każdy z badanych związków наносzono na płytkę w stałym stężeniu 2.4 mg/mL w trzech powtórzeniach. Kontrola pozytywna była w kolumnie 10, kolumna 11 stanowiła kontrolę negatywną a kolumna 12 tzw. ślepa próbę. Na płytce 96-dołkowej nałożyłam medium hodowlane do kolumn 1-9 wprowadziłam 82  $\mu$ L, do kolumny 10 90  $\mu$ L, do kolumny 11: 100  $\mu$ L i do kolumny 12: 110  $\mu$ L. Następnie do kolumn 1-9 dodałam badane związki. Na koniec do kolumn 1-10 dodałam zawiesinę mikroorganizmów w objętości: 10  $\mu$ L. Tak przygotowane płytki poddawałam inkubacji przez 24 godziny w temperaturze właściwej dla wzrostu mikroorganizmów. Po inkubacji do kolumn 1-11 dodałam 10  $\mu$ L odczynnika alamarBlue® i pozostawiłam przez 3 godziny w analogicznych warunkach w celu odczytania wyniku. Na podstawie braku zmiany barwy odczynnika obserwowałam, które z badanych substancji w stężeniu 2.4 mg/mL zabijają badane mikroorganizmy (Rysunek 5).

Analogicznie test nad aktywnością przeciwgrzybiczą został wykonany tą samą metodą. Wprowadziłam jednak pewne modyfikacje. W przypadku drożdży hodowlę wstępną dostosowałam do  $1 \times 10^6$  CFU/mL zgodnie z protokołem McFarlanda. W przypadku pleśni zawiesinę doprowadzałam do stężenia  $2.5 \times 10^4$  zarodników/mL. Reszta procedury została przeprowadzona analogicznie jak dla szczepów bakteryjnych.



Rys. 5 Zdjęcie przykładowej płytki po wykonaniu testu przesiewowego metodą II

Testy przesiewowe dla eterów oksymów przeprowadzono metodą drugą, jednakże w tym przypadku badane stężenie wynosiło 600  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Zmiana ta spowodowana była poszukiwaniem jak najaktywniejszych substancji przy czym stężenia powyżej 1  $\text{mg}/\text{mL}$  uznawane są powszechnie za mało satysfakcjonujące.

#### 4.2.3.5. Wyniki testów przesiewowych wykonanych metodą II

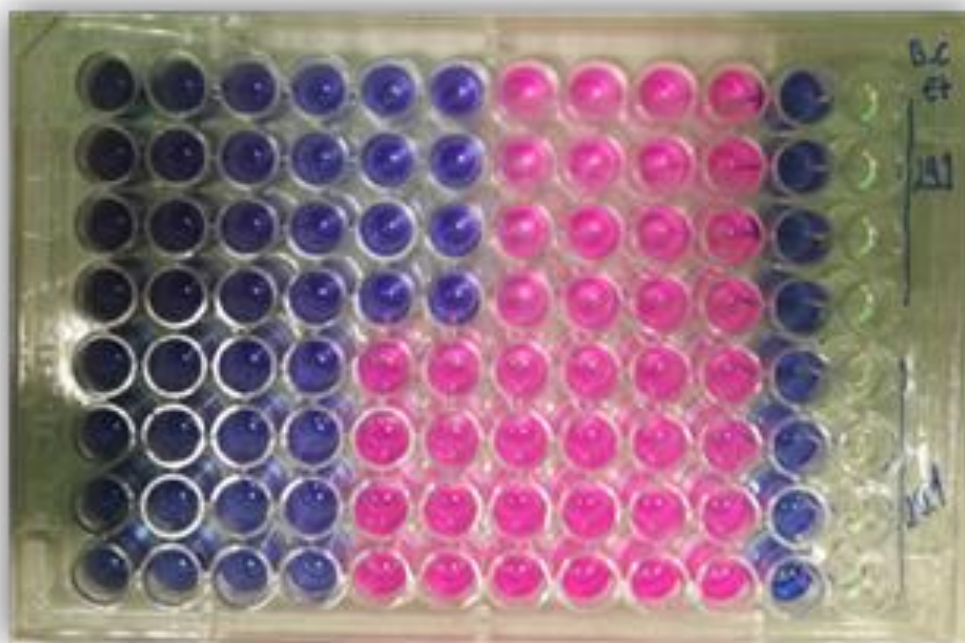
Wszystkie substancje, które wykazały śmiertelność mikroorganizmów przy stężeniach 2.4  $\text{mg}/\text{mL}$  dla substratów oraz odpowiednio 600  $\mu\text{g}/\text{mL}$  dla eterów oksymów zostały zakwalifikowane do testów właściwych.

#### 4.2.3.6. Procedura testów właściwych

Testy właściwe prowadziłam dla substancji, które wykazały się aktywnością w testach przesiewowych. Preinkubację mikroorganizmów prowadziłam w analogiczny sposób jak w testach przesiewowych. Następnie hodowlę rozcieńczałam do stężenia  $5 \times 10^6$  CFU/mL w soli fizjologicznej. Do wyznaczenia minimalnego stężenia hamującego wzrost mikroorganizmów wykonałam szereg dwukrotnych rozcieńczeń badanych substancji w zakresie stężeń: 2.4  $\text{mg}/\text{mL}$  – 9.375  $\mu\text{g}/\text{mL}$  dla związków karbonylowych i oksymów oraz 600  $\mu\text{g}/\text{mL}$  – 2.47  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , horyzontalnie na płytce, w pożywce płynnej. Do kolumny 1 wprowadziłam 164  $\mu\text{L}$  pożywki, do kolumn 2-10 90  $\mu\text{L}$ , do kolumny 11 100  $\mu\text{L}$  i kolumna 12: 110  $\mu\text{L}$ . Następnie do kolumny 1 nałożyłam w 4-krotnych powtórzeniach (Rzędy A-D)

badane substancje i wykonałam serię dwukrotnych rozcieńczeń poprzez przenoszenie 90  $\mu\text{L}$  roztworu do kolejnych kolumn. Odrzucając nadmiar z kolumny 9. Po przygotowaniu rozcieńczeń badanych związków do każdej studzienki w kolumnach 1-10 dodano 10  $\mu\text{L}$  zawiesiny mikroorganizmów o właściwym stężeniu i pozostawiłam do inkubacji w temperaturze właściwej dla wzrostu mikroorganizmów przez 24 godziny. Następnie do kolumn 1-11 dodałam odczynnik alamarBlue® i inkubowałam płytki w tych samych warunkach jak wcześniej przez 3 godziny. Kolejno na podstawie zmiany barwy z niebieskiej na różową odczytałam minimalne stężenie hamujące wzrost mikroorganizmów (Rysunek 6). Kolumny 10-12 analogicznie jak w przypadku testu przesiewowego (podrozdział 4.2.3.4) stanowiły kontrolę oraz „ślepią próbę”.

Testy właściwe dla grzybów wykonano w analogiczny sposób jak dla bakterii. Wprowadziłam pewne modyfikacje. W przypadku drożdży hodowlę wstępną dostosowałam do  $1 \times 10^6$  CFU/mL zgodnie z protokołem McFarlanda. W przypadku pleśni zawiesinę doprowadzałam do stężenia  $2.5 \times 10^4$  zarodników/mL. Reszta procedury została przeprowadzona tożsamo jak dla szczepów bakteryjnych.



Rys. 6 Zdjęcie przykładowej płytki po wykonaniu testu właściwego

#### 4.2.3.7. Wyniki testów właściwych

Do uzyskania porównywalnych wyników przeprowadziłam testy tą samą metodą, w tych samych warunkach oraz na tych samych szczepach mikroorganizmów. Dlatego też do badań zostały włączone zarówno związki karbonylowe jak i ich oksymy. Dzięki temu możliwa była weryfikacja hipotezy, którą postawiłam na początku badań, że oksymacja prowadzi do wzmocnienia aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Na podstawie analizy danych literaturowych stwierdziłam, że oksymy o większej masie cząsteczkowej są skutecznymi środkami przeciwko infekcjom przeciwbakteryjnym [26]. Do swoich badań wybrałam uniwersalne podłoża dla bakterii i grzybów, które są proste i wspomagają dobry wzrost drobnoustrojów a przy tym są niedrogie. W pierwszym etapie badań skoncentrowałam się na działaniu przeciwdrobnoustrojowym przeciwko powszechnym patogenom wymagany w testach nad aktywnością przeciwdrobnoustrojową środków do dezynfekcji w obszarach wykorzystania: spożywczym, przemysłowym, domowym i instytucjonalnym. W kolejnym etapie do badań włączyłam również mikroorganizmy wymagane w testach konserwacji produktu kosmetycznego a także powiązanych z jego wtórnym zakażeniem. Wśród testowanych związków karbonylowych i ich oksymów [5], a także eterów oksymów o niskiej masie cząsteczkowej, kilka wykazało zadowalającą aktywność przeciwdrobnoustrojową. W porównaniu z dobrze znanymi antybiotykami, wszystkie związki były mniej skuteczne w stosunku do rozważanych szczepów drobnoustrojów. Chociaż w porównaniu z powszechnie stosowanymi konserwantami czy innymi środkami o udowodnionym działaniu przeciwdrobnoustrojowym pochodzenia naturalnego, uzyskane wyniki można uznać za zadowalające. Wiele olejków eterycznych znanych ze swojej aktywności przeciwdrobnoustrojowej ma niższe wartości MIC w stosunku do rozważanych gatunków. Ponieważ olejki eteryczne są kompozycjami związków niskocząsteczkowych można zaobserwować ich działanie synergistyczne. Przykładem może być tutaj olejek z drzewa herbacianego, który jest powszechnie znany ze swoich właściwości przeciwdrobnoustrojowych, znajduje zastosowanie w kosmetykach do pielęgnacji skóry trądzikowej, zwalczania łupieżu, pielęgnacji stóp i.in. [110]. Jego MIC wynosi od 750 mg/L do 25 mg/L wobec *E.coli*, *S.aureus*, *S.epidermidis*, *K. pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *C. albicans*, *C. parapsilosis* [111]. Głównym składnikiem tego olejku jest terpinen-4-ol, którego MIC wobec *S.epidermidis* i *S. aureus* wynosi 0.31-0.63% (v/v) [112], wobec *E. coli* 1.20 mg/L a wobec *P. aeruginosa* 9.30-4.70 mg/L [113]. Innym przykładem wykorzystania aktywności przeciwdrobnoustrojowej związków zapachowych mogą być

tymol MIC = 75.3-150.7 mg/L ( *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*) [114], mentol 1000 mg/L (*S.aureus*) i eukaliptol 8000 mg/L [115], które są dodawane do płynu do płukania ust Listerine® jako składniki pomocnicze [116].

Tab. 9 Wartości MIC dla związków karbonylowych, ich oksymów oraz poszczególnych eterów oksymów. n/a – nie aktywny wobec badanych szczepów.

Nazwa	Mikroorganizm	MIC [mg/L] (mM)	
<i>p</i> -Aldehyd anyżowy <b>24</b>	<i>E. aerogenes</i>	1200.00 (8.81)	
	<i>P. fluorescens</i>	1200.00 (8.81)	
	<i>E. gergoviae</i>	1200.00 (8.81)	
	<i>B. cepacia</i>	2400.00 (17.63)	
Oksym <i>p</i> -aldehydu anyżowego <b>6</b>	<i>E.aerogenes</i>	1200.00 (7.94)	
	<i>P. fluorescens</i>	600.00 (3.97)	
	<i>E. gergoviae</i>	1200.00 (7.94)	
	<i>K. rhizophila</i>	1200.00 (7.94)	
Eter <i>O</i> -propylowy oksymu <i>p</i> -aldehydu anyżowego <b>37</b>	<i>E.coli</i>	300.00 (1.55)	
	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (3.10)	
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu <i>p</i> -aldehydu anyżowego <b>38</b>	<i>E.coli</i>	300.00 (1.45)	
Eter <i>O</i> -amylowy oksymu <i>p</i> -aldehydu anyżowego <b>39</b>	<i>E.coli</i>	300.00 (1.36)	
Eter <i>O</i> -izoamylowy oksymu <i>p</i> -aldehydu anyżowego <b>40</b>	<i>E.coli</i>	600.00 (2.71)	
	<i>A. brasiliensis</i>	600.00 (2.71)	
	<i>E. hirae</i>	1200.00 (8.81)	
<i>m</i> -Aldehyd anyżowy <b>7</b>	<i>S. aureus</i>	2400.00 (17.63)	
	<i>E. aerogenes</i>	1200.00 (8.81)	
	<i>P. fluorescens</i>	1200.00 (8.81)	
	<i>E. gergoviae</i>	1200.00 (8.81)	
	<i>B. cepacia</i>	600.00 (4.41)	
	<i>A. fumigatus</i>	300.00 (2.20)	
	<i>P. pinophilium</i>	150.00 (1.10)	
	Oksym <i>m</i> -aldehydu anyżowego <b>25</b>	<i>L. pneumophila</i>	1200.00 (7.94)
		<i>S. aureus</i>	1200.00 (7.94)
<i>E. aerogenes</i>		1200.00 (7.94)	
<i>P. fluorescens</i>		1200.00 (7.94)	
<i>E. gergoviae</i>		2400.00 (15.88)	
<i>K. rhizophila</i>		1200.00 (7.94)	
<i>C. parapsilosis</i>		2400.00 (15.88)	
Eter <i>O</i> -propylowy oksymu <i>m</i> -aldehydu anyżowego <b>41</b>	-	n/a	
Eter <i>O</i> -propargilowy <i>m</i> -aldehydu anyżowego <b>42</b>	<i>P. fluorescens</i>	300.00 (1.59)	
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu <i>m</i> -aldehydu anyżowego <b>43</b>	<i>E.coli</i>	600.00 (2.89)	
Eter <i>O</i> -amylowy oksymu <i>m</i> -aldehydu anyżowego <b>44</b>	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (2.71)	
Eter <i>O</i> -izoamylowy oksymu <i>m</i> -aldehydu anyżowego <b>45</b>	<i>E.coli</i>	300.00 (1.36)	
<i>o</i> -Aldehyd anyżowy <b>8</b>	<i>L. pneumophila</i>	300.00 (2.20)	
	<i>E. aerogenes</i>	1200.00 (8.81)	
	<i>P. fluorescens</i>	1200.00 (8.81)	
	<i>E. gergoviae</i>	1200.00 (8.81)	
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (17.63)	
	<i>B. cepacia</i>	2400.00 (17.63)	
Oksym <i>o</i> -aldehydu anyżowego <b>26</b>	<i>P. fluoerscens</i>	1200.00 (7.94)	
	<i>K.rhizophila</i>	2400.00 (15.88)	

	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (3.97)
Eter <i>O</i> -propylowy oksymu <i>o</i> -aldehydu anyżowego <b>46</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu <i>o</i> -aldehydu anyżowego <b>47</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -amylowy oksymu <i>o</i> -aldehydu anyżowego <b>48</b>	<i>E.coli</i>	150.00 (0.68)
Eter <i>O</i> -izoamylowy oksymu <i>o</i> -aldehydu anyżowego <b>49</b>	<i>E.coli</i>	300.00 (1.36)
$\alpha$ -amylcynamaldehyd <b>19</b>	<i>E. hirae</i>	1200.00 (5.93)
Oksym $\alpha$ -amylcynamaldehydu <b>1</b>	<i>E. hirae</i>	150.00 (0.69)
	<i>C. albicans</i>	1200.00 (5.52)
	<i>L. pneumophila</i>	1200.00 (5.52)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (11.04)
Eter <i>O</i> -metylowy oksymu $\alpha$ -amylcynamaldehydu <b>50</b>	<i>E.coli</i>	75.00 (0.32)
	<i>E. hirae</i>	75.00 (0.32)
	<i>K. rhizophila</i>	<b>18.25 (0.08)</b>
	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (2.59)
Eter <i>O</i> -etylowy oksymu $\alpha$ -amylcynamaldehydu <b>51</b>	<i>E.coli</i>	150.00 (0.61)
	<i>E. hirae</i>	75.00 (0.29)
	<i>B. cereus</i>	300.00 (1.22)
	<i>K. rhizophila</i>	150.00 (0.61)
Eter <i>O</i> -propylowy oksymu $\alpha$ -amylcynamaldehydu <b>52</b>	<i>E.coli</i>	75.00 (0.29)
	<i>E. hirae</i>	75.00 (0.29)
	<i>A. fumigatus</i>	300.00 (1.16)
Eter <i>O</i> -amylowy oksymu $\alpha$ -amylcynamaldehydu <b>53</b>	<i>E.coli</i>	150.00 (0.52)
	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (2.09)
Eter <i>O</i> -izoamylowy oksymu $\alpha$ -amylcynamaldehydu <b>54</b>	<i>E.coli</i>	300.00 (1.04)
$\beta$ -Cyklocytral <b>30</b>	<i>E. hirae</i>	1200.00 (7.88)
	<i>P.aeruginosa</i>	300.00 (1.97)
	<i>L. pneumophila</i>	150.00 (0.99)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (15.77)
	<i>P. putida</i>	2400.00 (15.77)
	<i>B. cepacia</i>	600.00 (3.94)
	<i>A. fumigatus</i>	1200.00 (7.88)
	<i>P. pinophilium</i>	600.00 (3.94)
Oksym $\beta$ -cyklocytralu <b>12</b>	<i>E. aerogenes</i>	2400.00 (14.35)
	<i>E. gergoviae</i>	2400.00 (14.35)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (14.35)
Eter <i>O</i> -etylowy oksymu $\beta$ -cyklocytralu <b>55</b>	<i>A. brasiliensis</i>	300.00 (1.54)
Eter <i>O</i> -propylowy oksymu $\beta$ -cyklocytralu <b>56</b>	<i>E. coli</i>	300.00 (1.43)
	<i>P. aeruginosa</i>	600.00 (2.87)
	<i>A. brasiliensis</i>	600.00 (2.87)
Eter <i>O</i> -propargilowy $\beta$ -cyklocytralu <b>57</b>	<i>B. cereus</i>	600.00 (2.92)
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu $\beta$ -cyklocytralu <b>58</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -amylowy oksymu $\beta$ -cyklocytralu <b>59</b>	<i>A. brasiliensis</i>	600.00 (2.53)
Eter <i>O</i> -izoamylowy oksymu $\beta$ -cyklocytralu <b>60</b>	<i>E.coli</i>	300.00 (1.26)
Dihydrojasmon <b>33</b>	<i>S. aureus</i>	1200.00 (7.22)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (14.44)
Oksym dihydrojasmonu <b>15</b>	<i>E. hirae</i>	600.00 (3.31)
	<i>S. aureus</i>	300.00 (1.65)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (13.24)
Eter <i>O</i> -metylowy oksymu dihydrojasmonu <b>61</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -etylowy oksymu dihydrojasmonu <b>62</b>	<i>P. aeruginosa</i>	600.00 (2.87)
	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (2.87)



Eter <i>O</i> -propylowy oksymu dihydrojasmonu <b>63</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -allilowy oksymu dihydrojasmonu <b>64</b>	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (2.71)
Eter <i>O</i> -propargilowy dihydrojasmonu <b>65</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu dihydrojasmonu <b>66</b>	<i>E. coli</i>	150.00 (0.63)
Eter <i>O</i> -amyłowy oksymu dihydrojasmonu <b>67</b>	<i>E. coli</i>	75.00 (0.30)
Eter <i>O</i> -izoamyłowy oksymu dihydrojasmonu <b>68</b>	<i>E. hirae</i>	600.00 (2.39)
(+)-Dihydrokarwon <b>31</b>	-	n/a
Oksym (+)-dihydrokarwonu <b>13</b>	<i>E. hirae</i>	600.00 (3.59)
	<i>E. aerogenes</i>	2400.00 (14.35)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (14.35)
	<i>P. putida</i>	2400.00 (14.35)
Eter <i>O</i> -etyłowy oksymu (+)-dihydrokarwonu <b>69</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -propylowy oksymu (+)-dihydrokarwonu <b>70</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -allilowy oksymu (+)-dihydrokarwonu <b>71</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -propargilowy (+)-dihydrokarwonu <b>72</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu (+)-dihydrokarwonu <b>73</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -amyłowy oksymu (+)-dihydrokarwonu <b>74</b>	<i>E. coli</i>	150.00 (0.63)
Eter <i>O</i> -izoamyłowy oksymu (+)-dihydrokarwonu <b>75</b>	-	n/a
$\alpha$ -Heksylocynamaldehyd <b>20</b>	<i>E. hirae</i>	1200.00 (5.55)
	<i>S. aureus</i>	300.00 (1.04)
	<i>L. pneumophila</i>	300.00 (1.38)
	<i>P. fluorescens</i>	2400.00 (11.09)
	<i>E. gergoviae</i>	2400.00 (11.09)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (11.09)
	<i>P. putida</i>	2400.00 (11.09)
	<i>B. cepacia</i>	150.00 (0.69)
	<i>C. parapsilosis</i>	150.00 (0.69)
	<i>P. pinophilium</i>	2400.00 (11.09)
Oksym $\alpha$ -heksylocynamaldehydu <b>2</b>	<i>E. coli</i>	600.00 (2.57)
	<i>E. hirae</i>	42.18 (0.18)
	<i>C. albicans</i>	300.00 (1.29)
	<i>L. pneumophila</i>	1200.00 (5.14)
	<i>S. aureus</i>	37.50 (0.16)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (9.18)
	<i>A. fumigatus</i>	2400.00 (9.18)
	<i>P. pinophilium</i>	2400.00 (9.18)
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu $\alpha$ -heksylocynamaldehydu <b>76</b>	<i>S. epidermidis</i>	600.00 (2.07)
$\alpha$ -Izometrylojonon <b>27</b>	<i>E. hirae</i>	1200.00 (5.82)
	<i>L. pneumophila</i>	1200.00 (5.82)
Oksym $\alpha$ -izometrylojononu <b>9</b>	<i>E. coli</i>	1200.00 (5.42)
	<i>E. hirae</i>	<b>18.75 (0.08)</b>
	<i>C. albicans</i>	600.00 (2.71)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (10.84)
Eter <i>O</i> -metyłowy oksymu $\alpha$ -izometrylojononu <b>77</b>	<i>E. hirae</i>	300.00 (1.27)
	<i>K. pneumoniae</i>	600.00 (2.55)
	<i>E. aerogenes</i>	75.00 (0.32)
	<i>P. aeruginosa</i>	150.00 (0.64)
Eter <i>O</i> -etyłowy oksymu $\alpha$ -izometrylojononu <b>78</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -propylowy oksymu $\alpha$ -izometrylojononu <b>79</b>	<i>E. coli</i>	37.50 (0.14)
	<i>E. hirae</i>	37.50 (0.14)
	<i>P. aeruginosa</i>	600.00 (2.28)
Eter <i>O</i> -allilowy oksymu $\alpha$ -izometrylojononu <b>80</b>	<i>E. gergoviae</i>	150.00 (0.57)

	<i>B. cereus</i>	75.00 (0.28)
	<i>S. epidermidis</i>	<b>9.87 (0.04)</b>
	<i>K. pneumoniae</i>	600.00 (2.30)
	<i>E. aerogenes</i>	75.00 (0.28)
	<i>P. aeruginosa</i>	37.50 (0.14)
Eter <i>O</i> -propargilowy $\alpha$ -izometylojononu <b>81</b>	<i>E. hirae</i>	150.00 (0.58)
	<i>S. epidermidis</i>	37.50 (0.14)
	<i>E. aerogenes</i>	75.00 (0.27)
	<i>P. fluorescens</i>	300.00 (1.16)
	<i>P. aeruginosa</i>	75.00 (0.27)
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu $\alpha$ -izometylojononu <b>82</b>	<i>E. coli</i>	<b>18.75 (0.07)</b>
	<i>E. hirae</i>	37.50 (0.14)
Eter <i>O</i> -amylowy oksymu $\alpha$ -izometylojononu <b>83</b>	<i>E. coli</i>	150.00 (0.51)
	<i>E. hirae</i>	600.00 (2.06)
	<i>A. brasiliensis</i>	300.00 (1.03)
<i>cis</i> -Jasmon <b>36</b>	<i>E. hirae</i>	600.00 (3.65)
	<i>A. brasiliensis</i>	75.00 (0.46)
	<i>S. aureus</i>	1200.00 (7.31)
	<i>L. pneumophila</i>	75.00 (0.46)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (14.61)
	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (3.65)
Oksym <i>cis</i> -jasmonu <b>18</b>	<i>E. hirae</i>	600.00 (3.40)
	<i>A. brasiliensis</i>	37.50 (0.21)
	<i>S. aureus</i>	300.00 (1.70)
	<i>C. albicans</i>	300.00 (1.70)
	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (3.40)
Eter <i>O</i> -metylowy oksymu <i>cis</i> -jasmonu <b>84</b>	<i>A. brasiliensis</i>	300.00 (1.55)
Eter <i>O</i> -etylowy oksymu <i>cis</i> -jasmonu <b>85</b>	<i>E. coli</i>	600.00 (2.89)
	<i>S. aureus</i>	600.00 (2.89)
Eter <i>O</i> -propylowy oksymu <i>cis</i> -jasmonu <b>86</b>	<i>E. coli</i>	300.00 (1.36)
	<i>S. aureus</i>	600.00 (2.71)
Eter <i>O</i> -allilowy oksymu <i>cis</i> -jasmonu <b>87</b>	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (2.74)
Eter <i>O</i> -propargilowy <i>cis</i> -jasmonu <b>88</b>	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (2.76)
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu <i>cis</i> -jasmonu <b>89</b>	<i>E. coli</i>	300.00 (1.38)
Eter <i>O</i> -amylowy oksymu <i>cis</i> -jasmonu <b>90</b>	<i>E. coli</i>	150.00 (0.64)
	<i>S. epidermidis</i>	600.00 (2.55)
Eter <i>O</i> -izoamylowy oksymu <i>cis</i> -jasmonu <b>91</b>	-	n/a
(1 <i>R</i> )-(-)-Myrtenal <b>29</b>	<i>E. hirae</i>	600.00 (4.00)
	<i>B. cereus</i>	600.00 (4.00)
	<i>L. pneumophila</i>	300.00 (2.00)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (15.98)
	<i>B. cepacia</i>	600.00 (4.00)
	<i>A. fumigatus</i>	2400.00 (15.98)
	<i>P. pinophilium</i>	150.00 (1.00)
Oksym (1 <i>R</i> )-(-)-myrtenalu <b>11</b>	<i>L. pneumophila</i>	600.00 (3.65)
	<i>B. cereus</i>	300.00 (1.67)
	<i>E. aerogenes</i>	1200.00 (6.69)
	<i>E. gergoviae</i>	600.00 (3.65)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (13.39)
	<i>P. putida</i>	2400.00 (13.39)
	<i>B. cepacia</i>	600.00 (3.65)
	<i>A. fumigatus</i>	300.00 (1.67)

Eter <i>O</i> -etylowy oksymu (1 <i>R</i> )-(-)-myrtenalu <b>92</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -propylowy oksymu (1 <i>R</i> )-(-)-myrtenalu <b>93</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -allilowy oksymu (1 <i>R</i> )-(-)-myrtenalu <b>94</b>	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (2.92)
Eter <i>O</i> -propargilowy (1 <i>R</i> )-(-)-myrtenalu <b>95</b>	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (2.95)
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu (1 <i>R</i> )-(-)-myrtenalu <b>96</b>	-	n/a
(S)-(-)-Perylaldehyd <b>34</b>	<i>S. aureus</i>	1200.00 (7.99)
	<i>E. aerogenes</i>	2400.00 (15.97)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (15.97)
	<i>A. fumigatus</i>	300.00 (2.00)
	<i>P. pinophilium</i>	75.00 (0.50)
Oksym (S)-(-)-perylaldehydu <b>16</b>	<i>E. hirae</i>	600.00 (3.63)
	<i>S. aureus</i>	1200.00 (7.26)
	<i>E. aerogenes</i>	2400.00 (14.53)
	<i>E. gergoviae</i>	2400.00 (14.53)
Eter <i>O</i> -etylowy oksymu (S)-(-)-perylaldehydu <b>97</b>	<i>A. brasiliensis</i>	600.00 (3.10)
	<i>A. fumigatus</i>	300.00 (1.55)
Eter <i>O</i> -propylowy oksymu (S)-(-)-perylaldehydu <b>98</b>	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (2.89)
Eter <i>O</i> -allilowy oksymu (S)-(-)-perylaldehydu <b>99</b>	<i>A. brasiliensis</i>	300.00 (1.46)
	<i>A. fumigatus</i>	300.00 (1.46)
Eter <i>O</i> -propargilowy (S)-(-)-perylaldehydu <b>100</b>	<i>E. coli</i>	150.00 (0.74)
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu (S)-(-)-perylaldehydu <b>101</b>	<i>E. coli</i>	150.00 (0.68)
Eter <i>O</i> -amylowy oksymu (S)-(-)-perylaldehydu <b>102</b>	<i>E. coli</i>	300.00 (1.27)
Eter <i>O</i> -izoamylowy oksymu (S)-(-)-perylaldehydu <b>103</b>	<i>E. coli</i>	300.00 (1.27)
	<i>A. brasiliensis</i>	600.00 (2.55)
Piperyton <b>35</b>	<i>S. aureus</i>	1200.00 (7.88)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (15.77)
	<i>C. parapsilosis</i>	1200.00 (7.88)
Oksym piperytonu <b>17</b>	<i>E. hirae</i>	600.00 (3.59)
	<i>S. aureus</i>	600.00 (3.59)
	<i>C. albicans</i>	600.00 (3.59)
	<i>E. aerogenes</i>	1200.00 (7.17)
	<i>E. gergoviae</i>	1200.00 (7.17)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (14.35)
	<i>P. putida</i>	2400.00 (14.35)
	<i>E. gergoviae</i>	2400.00 (14.35)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (14.35)
	<i>B. cepacia</i>	300.00 (0.90)
Eter <i>O</i> -etylowy oksymu piperytonu <b>104</b>	<i>A. brasiliensis</i>	600.00 (3.07)
Eter <i>O</i> -propylowy oksymu piperytonu <b>105</b>	<i>E. coli</i>	300.00 (1.43)
Eter <i>O</i> -allilowy oksymu piperytonu <b>106</b>	<i>S. epidermidis</i>	600.00 (2.89)
Eter <i>O</i> -propargilowy piperytonu <b>107</b>	<i>S. epidermidis</i>	600.00 (2.89)
Safranal <b>28</b>	<i>E. coli</i>	2400.00 (15.98)
	<i>E. hirae</i>	1200.00 (7.99)
	<i>P. aeruginosa</i>	1200.00 (7.99)
	<i>B. cereus</i>	2400.00 (15.98)
	<i>S. aureus</i>	2400.00 (15.98)
	<i>L. pneumophila</i>	2400.00 (15.98)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (15.98)
	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (3.99)
Oksym safranal <b>10</b>	<i>E. hirae</i>	600.00 (3.63)

	<i>C. albicans</i>	300.00 (1.82)
	<i>S. aureus</i>	150.00 (0.91)
	<i>E. aerogenes</i>	300.00 (1.82)
	<i>E. gergoviae</i>	2400.00 (14.53)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (14.53)
	<i>B. cepacia</i>	300.00 (1.82)
Eter <i>O</i> -propylowy oksymu safranalu <b>108</b>	<i>E. coli</i>	600.00 (2.89)
	<i>S. epidermidis</i>	600.00 (2.89)
	<i>P. aeruginosa</i>	600.00 (2.89)
	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (2.89)
Eter <i>O</i> -allilowy oksymu safranalu <b>109</b>	<i>E. coli</i>	300.00 (1.46)
	<i>S. epidermidis</i>	600.00 (2.92)
	<i>B. cereus</i>	600.00 (2.92)
	<i>P. aeruginosa</i>	600.00 (2.92)
	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (2.92)
Eter <i>O</i> -propargilowy oksymu safranalu <b>110</b>	<i>E. coli</i>	300.00 (1.48)
	<i>B. cereus</i>	600.00 (2.95)
	<i>P. aeruginosa</i>	600.00 (2.95)
	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (2.95)
<i>p</i> -Tolualdehyd <b>21</b>	<i>E. hirae</i>	1200.00 (9.99)
	<i>C. albicans</i>	600.00 (4.99)
	<i>S. aureus</i>	2400.00 (19.98)
Oksym <i>p</i> -tolualdehydu <b>3</b>	<i>E. hirae</i>	150.00 (1.11)
	<i>S. aureus</i>	1200.00 (8.88)
	<i>C. albicans</i>	300.00 (2.22)
	<i>E. aerogenes</i>	600.00 (4.44)
	<i>P. fluorescens</i>	600.00 (4.44)
	<i>E. gergoviae</i>	600.00 (4.44)
	<i>K. rhizophila</i>	600.00 (4.44)
	<i>B. cepacia</i>	600.00 (4.44)
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu <i>p</i> -tolualdehydu <b>111</b>	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (3.14)
Eter <i>O</i> -amylowy oksymu <i>p</i> -tolualdehydu <b>112</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -izoamylowy oksymu <i>p</i> -tolualdehydu <b>113</b>	-	n/a
<i>m</i> -Tolualdehyd <b>22</b>	<i>B. cereus</i>	1200.00 (9.99)
	<i>P. fluorescens</i>	2400.00 (19.98)
	<i>E. gergoviae</i>	2400.00 (19.98)
	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (4.99)
	<i>P. pinophilium</i>	37.50 (0.31)
Oksym <i>m</i> -tolualdehydu <b>4</b>	<i>P. aeruginosa</i>	1200.00 (8.88)
	<i>B. cereus</i>	1200.00 (8.88)
	<i>L. pneumophila</i>	1200.00 (8.88)
	<i>E. aerogenes</i>	600.00 (4.44)
	<i>P. fluorescens</i>	1200.00 (8.88)
	<i>E. gergoviae</i>	1200.00 (8.88)
	<i>K. rhizophila</i>	1200.00 (8.88)
	<i>P. putida</i>	1200.00 (8.88)
	<i>B. cepacia</i>	600.00 (4.44)
Eter <i>O</i> -propylowy oksymu <i>m</i> -tolualdehydu <b>114</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu <i>m</i> -tolualdehydu <b>115</b>	<i>A. fumigatus</i>	600.00 (3.14)
Eter <i>O</i> -amylowy oksymu <i>m</i> -tolualdehydu <b>116</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -izoamylowy oksymu <i>m</i> -tolualdehydu <b>117</b>	-	n/a

<i>o</i> -Tolualdehyd <b>23</b>	<i>B. cereus</i>	1200.00 (9.99)
	<i>L. pneumophila</i>	600.00 (4.99)
	<i>E. gergoviae</i>	2400.00 (19.98)
	<i>P. fluorescens</i>	2400.00 (19.98)
	<i>B. cepacia</i>	2400.00 (19.98)
	<i>A. fumigatus</i>	1200.00 (9.99)
	<i>P. pinophilium</i>	300.00 (2.50)
Oksym <i>o</i> -tolualdehydu <b>5</b>	<i>B. cereus</i>	1200.00 (8.88)
	<i>E. aerogenes</i>	1200.00 (8.88)
	<i>P. fluorescens</i>	1200.00 (8.88)
	<i>E. gergoviae</i>	1200.00 (8.88)
	<i>K. rhizophila</i>	1200.00 (8.88)
	<i>B. cepacia</i>	2400.00 (17.76)
	<i>A. fumigatus</i>	300.00 (2.22)
	<i>P. pinophilium</i>	75.00 (0.55)
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu <i>o</i> -tolualdehydu <b>118</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -amylowy oksymu <i>o</i> -tolualdehydu <b>119</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -izoamylowy oksymu <i>o</i> -tolualdehydu <b>120</b>	<i>A. fumigatus</i>	300.00 (1.46)
(1 <i>S</i> )-(-)-Werbenon <b>32</b>	<i>E. coli</i>	1200.00 (7.99)
	<i>L. pneumophila</i>	150.00 (1.00)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (15.98)
Oksym (1 <i>S</i> )-(-)-werbenonu <b>14</b>	<i>L. pneumophila</i>	2400.00 (14.53)
	<i>E. aerogenes</i>	2400.00 (14.53)
	<i>K. rhizophila</i>	2400.00 (14.53)
	<i>P. putida</i>	2400.00 (14.53)
Eter <i>O</i> -metylowy oksymu (1 <i>S</i> )-(-)-werbenonu <b>121</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -etylowy oksymu (1 <i>S</i> )-(-)-werbenonu <b>122</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -propylowy oksymu (1 <i>S</i> )-(-)-werbenonu <b>123</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -allilowy oksymu (1 <i>S</i> )-(-)-werbenonu <b>124</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -propargilowy (1 <i>S</i> )-(-)-werbenonu <b>125</b>	-	n/a
Eter <i>O</i> -butylowy oksymu (1 <i>S</i> )-(-)-werbenonu <b>126</b>	<i>E. coli</i>	300.00 (1.36)
Eter <i>O</i> -amylowy oksymu (1 <i>S</i> )-(-)-werbenonu <b>127</b>	<i>E. coli</i>	300.00 (1.27)
Eter <i>O</i> -izoamylowy oksymu (1 <i>S</i> )-(-)-werbenonu <b>128</b>	<i>E. coli</i>	300.00 (1.27)

W części moich badań udało się potwierdzić, że ugrupowanie oksymowe może wzmacniać aktywność przeciwdrobnoustrojową. W kilku przypadkach oksymy o niskiej masie cząsteczkowej były bardziej aktywne niż związki karbonylowe natomiast etery oksymów bardziej aktywne niż oksymy. Ciekawym przykładem może być (+)-dihydrokarwon **31**, który nie wykazywał aktywności przeciwdrobnoustrojowej we wzorcu odniesienia, natomiast jego oksym **13** wykazał nieznaczną aktywność wobec *E. hirae*, *E. aerogenes*, *K. rhizophila* i *P. putida*. Ponadto spośród eterów oksymów tego związku jedynie eter amylowy **74** wykazał znaczącą aktywność MIC = 150mg/L, wobec *E. coli*, w badanym zakresie referencyjnym. Dobrym przykładem sytuacji, w której oksym był znacznie bardziej aktywny niż jego substrat może być  $\alpha$ -izometylojonon **27** (Tabela 9), jego MIC wynosi 1200 mg/L wobec *E. hirae*, a dla jego oksymu **9** 18.75 mg/L. Pośród eterów oksymów tego

związku najlepszą aktywnością wykazał się eter allilowy **80** wobec *S. epidermidis* uzyskując najlepszy wynik spośród wszystkich zsyntezowanych eterów (MIC = 9.87 mg/L) a także eter butylowy **82** wobec *E. coli* (MIC = 18.75 mg/L). W przypadku (-)-werbenonu **32**, który był związkiem średnio aktywnym zaobserwowałam, że wprowadzenie ugrupowania oksymowego zmniejszyło jego aktywność. Również etery tego oksymu z krótkimi łańcuchami **121-125** okazały się nieaktywne, dopiero dołączenie łańcucha cztero- i pięciowęglowego **126-128** sprawiło ponowny wzrost aktywności do poziomu średniego (300 mg/L). Więcej związków było aktywnych wobec bakterii Gram-dodatnich niż Gram-ujemnych, co może to być związane z różnicami w strukturze komórek i zróżnicowanej przepuszczalności błony lipidowej i ściany komórkowej. Należałoby jednak przeprowadzić dokładniejsze badania dla potwierdzenia tej tezy. W dostępnej literaturze jest mało publikacji dotyczących badań nad aktywnością niepodstawionych oksymów wobec analizowanych szczepów mikroorganizmów. Dla związków karbonylowych takich publikacji jest więcej, natomiast ze względu na różnice w metodologii badań nad aktywnością hamującą wzrost drobnoustrojów, a także różnice w szczepach mikroorganizmów, postanowiłam odnieść się jedynie do części wyników dostępnych w danych literaturowych i porównać wartości parametrów MIC. Aldehyd perylowy jest jednym ze wcześniej analizowanych związków pod względem jego aktywności przeciwdrobnoustrojowej, niestety autorka badania nie podała jego konfiguracji, co dodatkowo utrudnia porównanie wyników. W niniejszym badaniu Kim wykazała że jest on aktywny wobec *E. coli* (MIC = 500 mg/L) [117]. Nie udało mi się potwierdzić tego wyniku ponieważ w testach przesiewowych nie zaobserwowałam aktywności (-)-perylaldehydu **34** wobec *E. coli*. Ponadto, wyniki przeze mnie uzyskane wobec innych mikroorganizmów nie były tak niskie, wobec *S. aureus* MIC wynosił 1200 mg/L a wobec *A. fumigatus* 300 mg/L. Etery propargilowy **100**, butylowy **101**, amyłowy **102** i izoamyłowy **103** oksymu **16** tego związku, wykazały się średnią aktywnością wobec badanego szczepu *E. coli* MIC 300-150 mg/L. Można więc uznać, że były one znacznie bardziej aktywne niż odpowiadający związek karbonylowy **34** i oksym **16**. Kolejnym niskocząsteczkowym związkiem karbonylowym, który ze względu na różne zastosowania przemysłowe był wielokrotnie analizowany pod względem aktywności przeciwdrobnoustrojowej jest *cis*-jasmon **36**. W moich badaniach wykazał on znaczącą aktywność wobec *A. brasiliensis* (MIC = 75 mg/L), średnią wobec *A. fumigatus* (300 mg/L) a słabą wobec *E. hirae* (MIC = 600 mg/L) i *S. aureus* (MIC = 1200 mg/L). Dane literaturowe dotyczące badań nad tym związkiem prezentują różne wartości. W niektórych badaniach *cis*-jasmon **36** wykazywał się lepszą aktywnością

przeciwdrobnoustrojową. Np. wobec gronkowca złocistego literaturowa wartość MIC wynosi 250 mg/L [118], co jest wartością prawie 5-krotnie niższą, niż ta uzyskana w moich badaniach. Te same badania potwierdziły słabą aktywność tego związku wobec *E. coli* i *P. aeruginosa* oraz średnią aktywność wobec *C. albicans*. W moim badaniu nie zaobserwowano aktywności wobec tych szczepów. W innych badaniach *cis*-jasmon **36** umiarkowanie hamował wzrost *P. aeruginosa*, *E. coli* i *S. aureus* (MIC powyżej 800 mg/L) [119]. Oksym *cis*-jasmonu **18** wykazał silną aktywność hamującą wzrost jedynie wobec *A. brasiliensis* (MIC = 37.50 mg/L). Pochodne oksymu *cis*-jasmonu **84-90** wykazały średnią aktywność wobec przytoczonych szczepów, w zakresie 600 – 150 mg/L. Innym eterem oksymu, który wykazał się znaczącą wartością MIC jest eter *O*-metylowy oksymu  $\alpha$ -amylocynamaldehydu **50** MIC = 18.75 mg/L wobec *K. rhizophila*. Jest to wartość 128-krotnie niższa niż dla wyjściowego oksymu **1** (MIC = 2400 mg/L). Najszerszym spektrum działania wykazał eter *O*-allilowy oksymu  $\alpha$ -izometylojononu **80**. W badanym zakresie stężeń zahamował wzrost sześciu mikroorganizmów: *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *E. gergoviae*, *S. epidermidis*, *K. pneumoniae* i *E. aerogenes*. Jedynie wobec *K. pneumoniae* zaobserwowana aktywność była średnia MIC=600 mg/L podczas gdy wobec pozostałych szczepów były to wartości poniżej 150 mg/L. Żaden z eterów oksymów nie był aktywny wobec *L. pneumophila* i *P. putida* w badanym zakresie referencyjnym. Eterami, które okazały się nie hamować wzrostu żadnego z badanych mikroorganizmów są: etery *O*-metylowe oksymów dihydrojasmonu **61** i (-)-werbenonu **121**, etery *O*-etylowe oksymów (+)-dihydrokarwonu **69**, (-)-myrtenalu **92** i (-)-werbenonu **122**, etery *O*-propylowe oksymów *m*-aldehydu anyżowego **41**, *o*-aldehydu anyżowego **46**, dihydrojasmonu **63**, (+)-dihydrokarwonu **70**, *m*-tolualdehydu **114** i (-)-werbenonu **123**, etery *O*-allilowe oksymów (+)-dihydrokarwonu **71**, (-)-werbenonu **124**, etery *O*-propargilowe oksymów dihydrojasmonu **65**, (+)-dihydrokarwonu **72**, (-)-werbenonu **125**, etery *O*-butylowe oksymów *o*-aldehydu anyżowego **47**,  $\beta$ -cyklocytralu **58**, (+)-dihydrokarwonu **73**, (-)-myrtenalu **96**, *o*-tolualdehydu **118**, etery *O*-amylowe oksymów *p*-tolualdehydu **112**, *m*-tolualdehydu **116**, *o*-tolualdehydu **118**, etery *O*-izoamylowe oksymów (+)-dihydrokarwonu **75**, *cis*-jasmonu **91**, *p*-tolualdehydu **113** i *m*-tolualdehydu **117**.

### 4.3. Analiza profili zapachowych i progów wyczuwalności wybranych eterów

#### 4.3.1 Analiza sensoryczna

Próg wyczuwalności to takie stężenie, przy którym dana substancja jest wyczuwalna przez zmysł węchu człowieka. Zależy on od kształtu cząsteczki, polarności, ładunków częściowych i masy molekularnej danej cząsteczki. Mechanizm odpowiedzialny za ocenę progu wyczuwalności nie jest dokładnie poznany, dlatego też nie jest możliwe wyznaczenie go empiryczne. Konieczne są testy z udziałem ludzi [120].

Analiza profili zapachowych opiera się na subiektywnym wrażeniu testera i przypisaniu do poszczególnych wzorców zapachu lub też werbalnego określenia cech wrażenia przez niego wywoływanego [121]. Zbiór poszczególnych wzorców zapachów a tym samym usystematyzowana klasyfikacja zapachów została zaproponowana przez perfumiarzy na początku XX w. Do poszczególnych nazw zapachów dopisuje się jednak kolejne deskryptory ze względu na sprzeczne odczucia specjalistów. Żaden z dostępnych systemów klasyfikacji nie jest jednak powszechnie akceptowany a opisy profili zapachowych różnią się między sobą [7].

Analizę sensoryczną prowadzi się dwiema podstawowymi metodami:

- metodą oznaczania wartości progowych
- metodą testów różnicowych

Pierwsza z nich dotyczy głównie testów nad wrażliwością sensoryczną. Pośród nich w celu wyznaczenia progu wyczuwalności wyróżnia się metodę limitów oraz schodkową. W metodzie limitów testujący otrzymuje serię próbek uszeregowanych najczęściej względem malejącego natężenia bodźca. Zadaniem testera jest określenie, przy której próbce przestał odczuwać zapach. W metodzie schodkowej testerowi podaje się serie próbek uszeregowanych względem rosnącego natężenia bodźca. Analogicznie zadaniem testera jest określenie, przy której próbce zaczyna odczuwać zapach a następnie podaje się testerowi próbkę o niższym stężeniu w celu wyeliminowania ewentualnej błędnej odpowiedzi. Metoda testów różnicowych opiera się na wykrywaniu różnic między próbkami. W zależności od obranego podejścia podaje się testerowi próbki spośród, których probant ma wybrać lepszą próbkę względem danych cech analizowanych. Wyróżnia się metodę parzystą, gdzie probant wybiera między dwiema próbkami, spośród których probant wybiera „lepszą” próbkę tj.



bardziej pasującą do określonych cech. Metodę „duo-trio”, w której oprócz dwóch próbek poddawanych ocenie dodaje się próbkę będącą standardem. Probatant ma za zadanie wybrać próbkę najbardziej zbliżoną do standardu. Metodę podwójnych standardów, która z zasady jest podobna do poprzedniej metody, jednakże w tym przypadku probant otrzymuje dwie próbki analizowane oraz dwa standardy. Zadaniem jest dopasowanie odpowiednich próbek do właściwego standardu. Metoda trójkątowa polega na podaniu testerowi próbek w zestawieniu trójkowym. Dwie próbki są ze sobą identyczne a trzecia jest różna. Probatant wskazuje próbki identyczne i próbkę różną. Wariacją tej metody jest metoda „dwa z pięciu” gdzie tester otrzymuje pięć próbek. Dwie należące do jednego zestawu, identyczne ze sobą oraz trzy należące do drugiego zestawu próbek identycznych ze sobą. W testach różnicowych wyniki poddaje się analizie statystycznej na podstawie, której wyznacza się właściwy efekt badania. Efektem badania może być np. zakwalifikowanie poszczególnych próbek do właściwych do odpowiednich profili zapachowych [122].

#### 4.3.2 Analiza z wykorzystaniem technik olfaktometrii

Olfaktometria sprzężona z chromatografią gazową (GC-O) stanowi jedną z technik stosowanych w analizie zapachów. Metoda ta znajduje zastosowanie w analizie mieszanin substancji zapachowych. Dana próbka zostaje poddana rozdziałowi na odpowiedniej kolumnie chromatograficznej a wypływający z kolumny gaz nośny wraz z odpowiednią frakcją próbki zostaje rozdzielony pomiędzy detektor oraz przystawkę olfaktometryczną. Probatant stanowi dodatkowy niezwykle czujny i specyficzny detektor, który ma za zadanie dopasowanie zapachu do zbioru wzorców [123].

Elektroniczny nos jest kolejnym urządzeniem wykorzystywanym w analizie zapachu. Jest to urządzenie, które ma za zadanie jak najwiarygodniej oddawać właściwości nabońka węchowego człowieka. W tym celu stosuje się zespół detektorów mających na celu wykrywanie poszczególnych właściwości jak np. obecność specyficznych wiązań. Poszczególne zbiory uzyskanych sygnałów pobudzenia poszczególnych czujników przypisywane są wzorcom zapachu. Zapach zostaje więc rozpoznany, jeśli stopień zgodności obu zbiorów będzie wysoki [121].

#### 4.3.3 Wyniki analizy sensorycznej

Do analizy profili zapachowych i progów wyczuwalności zakwalifikowane zostały wybrane etery oksymów na podstawie subiektywnej oceny ich potencjału zapachowego.

Badania te zostały wykonane przez prof. Józefa Kulę z Zespołu Chemii Bioorganicznej i Surowców Kosmetycznych Politechniki Łódzkiej a także grupę perfumierek Panią Monikę Kaleta oraz Agnieszkę Pieńkosz-Żagań z firmy FSZ "Pollena-Aroma" Sp. z o.o.

Tab. 10 Profile zapachowe i progi wyczuwalności wybranych eterów oksymów

Nazwa	Profil zapachowy	Próg wyczuwalności zapachu [ppm]
Eter <i>O</i> - <i>n</i> -propylowy oksymu (+)-dihydrokarwonu <b>70</b>	Słodki, kwiatowy, piwonia/warzywny	33
Eter <i>O</i> -metylowy oksymu dihydrojasmonu <b>61</b>	Świeży, kwiatowy, jaśminowy, herbaciany, plastikowy, zamienia się w zielono-anyżowy, koper/jaśmin, po kilku minutach delikatnie grzybowy	53
Eter <i>O</i> -etylowy oksymu dihydrojasmonu <b>62</b>	Wodnisty, jaśminowo-herbaciany/kwiatowy, jaśminowo-kokosowy	58
Eter <i>O</i> -etylowy oksymu (-)-aldehdu perylowego <b>97</b>	Białe kwiaty, lilia, aldehydowy, tłusty/kwiatowy o słodkiej nucie	50
Eter <i>O</i> -metylowy oksymu (-)-werbenonu <b>121</b>	Rustykalny (przydomowy ogród, roślinny, warzywny), zielony, werbena, drzewny, irysowo-fioletowy/kwiatowy	33
Eter <i>O</i> -etylowy oksymu (-)-werbenonu <b>122</b>	Przydomowy ogródek, werbena/ zieleń, galbanum	13
Eter <i>O</i> -propargilowy oksymu (-)-werbenonu <b>125</b>	Delikatny, kwiatowy, piwonia, herbaciany/kwiatowy	53

Pośród zbadanych związków najniższy próg wyczuwalności 13 ppm posiada eter *O*-etylowy oksymu (-)-werbenonu **122** (Tabela 10) i wykazuje się zapachem przydomowego ogródka, zielonym z nutą werbeny i galbanum.

## 5. Podsumowanie

Efektem przeprowadzonych przeze mnie badań było otrzymanie 92 nowych, nieopisanych dotąd w literaturze lotnych oksymów. Wszystkie z nich poddałam badaniom nad aktywnością przeciwdrobnoustrojową, której efektem było wyznaczenia parametru MIC. Połączenie właściwości zapachowych z aktywnością przeciwdrobnoustrojową może być cenną cechą przy wykorzystaniu zsyntezowanych przeze mnie związków w przemyśle kosmetycznym i produkcji środków czystości.

Wyniki badań potwierdzają aktywność eterów oksymów lotnych związków karbonylowych hamującą wzrost mikroorganizmów związanych z analizą skuteczności środków dezynfekcyjnych, konserwantów dla przemysłu kosmetycznego a także szczepami odpowiedzialnymi za wtórne zakażenia kosmetyków. 30 spośród nowo zsyntezowanych eterów oksymów wykazało się wartością parametru MIC poniżej 150 mg/L. 27 eterów nie wykazało się aktywnością hamującą wzrost badanych mikroorganizmów. Można zaobserwować, że wpływ na aktywność poszczególnych eterów oksymów ma przede wszystkim aktywność substratu (oksymu) wykorzystanego do jego syntezy a dopiero w drugiej kolejności długość i struktura dołączanego łańcucha.

Poszczególne substancje znajdujące się na liście konserwantów dla przemysłu kosmetycznego mają różne dopuszczalne zawartości procentowe w gotowym produkcie, uważa się jednak, że zawartość konserwantu w kosmetyku nie powinna przekraczać 2%, ze względu na potencjalne działanie alergizujące. Jedynie eter *O*-metylowy oksymu  $\alpha$ -amylocynamaldehydu **50**, *O*-allilowy **80** i *O*-butylowy **82** oksymu  $\alpha$ -izometylojononu uzyskały dość niskie parametry MIC aby rozważać je jako potencjalne konserwanty. Niestety ze względu na wąski zakres działania w dopuszczalnym stężeniu nie znajdą one zastosowania jako konserwanty. Dodatkowe badania analizujące synergizm działania eterów oksymów z powszechnie stosowanymi konserwantami mogą dowieść, że etery oksymów zastosowane jako dodatek zapachowy pozwolą obniżyć stężenie dodawanych konserwantów.

Kolejnym potencjalnym zastosowaniem dla nowo zsyntezowanych eterów jest ich wykorzystanie jako konserwantów w środkach czystości. Przepisy dotyczące używania substancji hamujących rozwój mikroflory w tym przypadku nie są tak restrykcyjne jak dla kosmetyków. Oczywiście przed wdrożeniem poszczególnych związków do formulacji

gotowych produktów wymagane są poszerzone testy pod względem ich oddziaływania na człowieka i środowisko a także analiza ich stabilności w poszczególnych produktach.

Dla siedmiu nowych pochodnych wykonano charakterystykę zapachową przy współpracy z prof. Józefem Kulą z Zespołu Chemii Bioorganicznej i Surowców Kosmetycznych Politechniki Łódzkiej a także grupą perfumierek Panią Moniką Kaletą oraz Agnieszką Pieńkosz-Żagań z firmy FSZ "Pollena-Aroma" Sp. z o.o. Pochodna oksymu dihydrokarwonu **70** wykazała się zapachem słodkim, kwiatowo-warzywnym przypominającym piwonie. Pochodne oksymu dihydrojasmonu **61, 62** podobnie jak wyjściowy związek karbonylowy zachowały jaśminową nutę zapachową z dodatkową nutą herbacianą. Eter metylowy **61** przypominał nieco zapach plastiku przechodząc w nuty grzybowe natomiast eter etylowy **62** miał dodatkowo nuty wodniste przechodząc w kokosowe. Pochodna oksymu aldehydu perylowego **97** miała zapach białych kwiatów o nucie aldehydowej. Pochodne oksymu werbenonu **121, 122 i 125** wykazywały się zapachem kwiatowo-zielonym. Wszystkie z tych związków poddałam procedurze patentowej, zgłoszenie to zostało wdrożone do przemysłu na podstawie umowy licencyjnej.

## 6. Literatura

1. Berg JM, Tymoczko JL, S.L. A Wide Variety of Organic Compounds Are Detected by Olfaction. In *Biochemistry. 5th edition*; W.H. Freeman: New York, 2002; pp. 925–930.
2. Surowiak, A.K.; Kannenberg-Leszczyńska, D.; Strub, D.J.; Lochyński, S. Przemysłowy Potencjał Rozmarynu Lekarskiego (*Rosmarinus Officinalis* L.). *Przemysl Chem.* **2020**, *99*, pp. 259–263.
3. Mayers D.L, Lerner S.A., Ouelette M., et al. *Antimicrobial Drug Resistance C: Clinical and Epidemiological Aspects*; Springer Dordrecht Heidelberg: London, **2009**; pp. 681-1347.
4. Sutton, S. *Cosmetic Microbiology : A Practical Approach*; Taylor and Francis, **2006**; pp. 112-196.
5. Surowiak, A.K.; 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. *Sci. Rep.*, **2022**, *12*, pp. 5319, <https://doi.org/10.1038/s41598-022-09210-z>
6. Genva, M.; Kemene, T.K.; Deleu, M.; Lins, L.; Fauconnier, M.L. Is It Possible to Predict the Odor of a Molecule on the Basis of Its Structure? *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, pp. 3018.
7. Brud, W.; Konopacka-Brud, I. *Podstawy Perfumerii Historia, Pochodzenie i Zastosowania Substancji Zapachowych*; Oficyna Wydawnicza MA: Łódź, **2009**; pp. 29-79, 179-199.
8. Mitka K.; Staryńska J. Synteza Substancji Zapachowych – Pochodnych Aldehydów. *Chemia Czasopismo Techniczne* **2012**, *17*, pp. 135–148.
9. Bojarowicz, H.; Ziółkowska, A.; Krysiński, J. Wyjątkowość Zapachu. *Hygeia Public Health* **2016**, pp. 154-160.
10. Sell, Ch.S. *A Fragrant Introduction to Terpenoid Chemistry*; **2003**; pp. 1-18.
11. Fragrantica. Strona internetowa: <https://www.fragrantica.pl/> [Dostęp: 05.05.2022]
12. IFRA. Strona internetowa: <https://ifrafragrance.org/> [Dostęp: 20.05.2022]
13. Dziennik Ustaw **2001** r. nr 42, poz. 473 Ustawa z Dnia 30 Marca 2001 r. o Kosmetykach;
14. Vogel, A.I. *Preparatyka Organiczna*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, **2018**; pp. 558-989.
15. Morrison, R.T.;; Boyd, R.N. *Chemia Organiczna T1*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, **2010**; pp. 708-821.
16. TGSC Information System. Strona internetowa: <http://www.thegoodscentcompany.com/> [Dostęp: 15.05.2022]

17. Berger, R.G. *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*; **2007**; pp. 408-821.
18. Seigler, D.S. Introduction. In *Plant Secondary Metabolism*; Springer US: Boston, MA, 1998; pp. 1–15.
19. Surowiak, A.K.; Balcerzak, L.; Lochyński, S.; Strub, D.J. Biological Activity of Selected Natural and Synthetic Terpenoid Lactones. *Int. J. Mol.* **2021**, *22*, pp. 5036, <https://doi.org/10.3390/ijms22095036>.
20. Surowiak, A.K.; Lochyński, S. Aktywność Biologiczna Oksymów. In *Na pograniczu chemii i biologii. T. 37*; Koroniak, H., Barciszewski, J., Eds.; Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza: Poznań, 2017; pp. 21–28.
21. Sørensen, M.; Neilson, E.H.J.; Møller, B.L. Oximes: Unrecognized Chameleons in General and Specialized Plant Metabolism. *Mol Plant* **2018**, *11*, pp. 95–117, doi:10.1016/j.molp.2017.12.014.
22. Politzer P, M.J. Structural Analysis of Hydroxyloamines, Oximes and Hydroxamic Acids: Trends and Patterns. In *The Chemistry of Hydroxylamines, Oximes and Hydroxamic Acids. Part 1*; Rappoport Z, L.J.F., Ed.; John Wiley and Sons: New Jersey, **2009**; pp. 29–52.
23. Ashani Y, S.I. Hydroxylamines and Oximes: Biological Properties and Potential Uses as Therapeutic Agents. In *The Chemistry of Hydroxylamines, Oximes and Hydroxamic Acids. Part 1*; Rappoport Z, L.J.F., Ed.; John Wiley and Sons: New Jersey, **2009**; pp. 609–653.
24. Kölmel, D.K.; Kool, E.T. Oximes and Hydrazones in Bioconjugation: Mechanism and Catalysis. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, pp. 10358–10376, doi:10.1021/acs.chemrev.7b00090.
25. Okolotowicz, K.J.; Dwyer, M.; Smith, E.; Cashman, J.R. Preclinical Studies of Noncharged Oxime Reactivators for Organophosphate Exposure. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* **2014**, *28*, pp. 23–31, doi:10.1002/jbt.21519.
26. Surowiak, A.; Strub, D.; Lochyński, S. Unsubstituted Oximes as Potential Therapeutic Agents. *Symmetry (Basel)* **2020**, *12*, pp. 575, doi:10.3390/sym12040575.
27. Akihisa T, Yasukawa K, T.H. Potentially Cancer Chemopreventive and Anti-Inflammatory Terpenoids from Natural Sources. In *Bioactive Natural Products*; Atta-ur-Rahman, Ed.; Elsevier: Amsterdam, **2003**; pp. 73–126.
28. Hughes, D.L. Patent Review of Manufacturing Routes to Fifth-Generation Cephalosporin Drugs. Part 2, Ceftaroline Fosamil and Ceftribiprole Medocaril. *Org Process Res Dev* **2017**, *21*, 800–815, doi:10.1021/acs.oprd.7b00143.
29. 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 Chem.* **2019**, *301*, pp. 125283, doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125283.
30. Zviely, M. Ketoximes for Fragrances. *Perfum.Flavor.* **2013**, *38*, pp. 36.
  31. Ābele, E.; Lukevics, E. Recent Advances In The Chemistry Of Oximes. *Org. Prep. Proced. Int.* **2000**, *32*, pp. 235–264, doi:10.1080/00304940009355921.
  32. Mirjafary, Z.; Abdoli, M.; Saeidian, H.; Kakanejadifard, A.; Farnia, S.M.F. Review of the Synthesis of Acyclic and Cyclic Oxime Ethers. *RSC Advances* **2016**, *6*, pp. 17740–17758, doi:10.1039/C5RA25591K.
  33. Kaiser, R. Trapping, Investigation and Reconstitution of Flower Scents. In *Perfumes: Art, Science and Technology*; Müller, P.M., Lamparsky, D., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, **1994**; pp. 213–250 ISBN 978-94-011-3826-0.
  34. Narula, A.P.S.; Mahesh, R.; Pawlak, M.; Brooks, C.D.W. US 6.924.263 B2 **2005**.
  35. Narula, A.P.S.; Mahesh, R.; Pawlak, M.; Brooks, C.D.W. U.S. Pat. 7015189 B2 **2006**.
  36. Kaiser R, Naegeli P, N.C. C. Eur. Pat. 0672746 A1, **1995**.
  37. Gospodarek, E.; Mikucka, A.; Budzyńska Mikrobiologia w Kosmetologii; PZWL: Warszawa, **2013**; pp. 96-119.
  38. Libudzisz, Z.; Kowal, K.; Żakowska, Z. *Mikrobiologia Techniczna*; Libudzisz, Z., Kowal, K., Żakowska, Z., Eds.; PWN: Warszawa, **2009**; Vol. 2; pp. 411-434.
  39. Dziennik Ustaw **2015** r. poz. 1926 Ustawa z Dnia 9 Października 2015 r. o Produktach Biobójczych;
  40. Betlej, I. Normy Dotyczące Chemicznych Preparatów Dezynfekcyjnych. *Chemia i Biznes. Rynek Kosmetyczny i Chemii Gospodarczej*, **2016**, *1*, pp. 20–23.
  41. Norma: PN-EN 14885 :2019 Chemiczne Środki Dezynfekcyjne i Antyseptyczne - Zastosowanie Norm Europejskich Dotyczących Chemicznych Środków Dezynfekcyjnych i Antyseptycznych;
  42. Batt , Tortorello, Mary Lou,, C.A. Encyclopedia of food microbiology **2014**.
  43. Athumani Msalale Lupindu Isolation and Characterization of Escherichia Coli from Animals, Humans, and Environment. In *Escherichia coli - Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications*; Samie, A., Ed.; InTech: West Palm Beach, **2017**.
  44. Cieślik K, Pabiańczyk R, P.A. Cieślik K, Pabiańczyk R, Pasternak A, Rany oparzeniowe zakażone *Pseudomonas aeruginosa* – ocena występowania pozytywnych hodowli w zależności od zastosowania swoistej szczepionki. *Leczenie Ran* **2008**, *1*, pp. 1–6.
  45. Felix Anthony Perriello US6110372A **1999**.

46. Irving, W.; Boswell, T.; Aldeen, D. *Mikrobiologia Medyczna. Krótkie Wykłady.*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, **2008**;
47. Abu Khweek, A.; Amer, A.O. Factors Mediating Environmental Biofilm Formation by *Legionella Pneumophila*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* **2018**, *8*, pp. 38, doi:10.3389/fcimb.2018.00038.
48. Rokosz, N.; Rastawicki, W.; Zasada, A.A.; Baczewska-Rej, M. Mikrobiologiczna Diagnostyka Zakażeń Układu Oddechowego Wywołanych Przez Pałeczki *Legionella Pneumophila* Microbiological Diagnosis of Respiratory Infections Caused. **2010**, pp. 54–59.
49. Fisher, K.; Phillips, C. The Ecology, Epidemiology and Virulence of *Enterococcus*. *Microbiology (Reading)* **2009**, *155*, 1749–1757, doi:10.1099/mic.0.026385-0.
50. Bourafa, N.; Loucif, L.; Boutefnouchet, N.; Rolain, J.M. *Enterococcus Hirae*, an Unusual Pathogen in Humans Causing Urinary Tract Infection in a Patient with Benign Prostatic Hyperplasia: First Case Report in Algeria. *New Microbes New Infect* **2015**, *8*, 7–9, doi:10.1016/j.nmni.2015.08.003.
51. Chan, T. S.; Wu, M.-S.; Suk, F. M.; Chen, C.N.; Chen, Y.F.; Hou, Y.H.; Lien, G.S. *Enterococcus Hirae*-Related Acute Pyelonephritis and Cholangitis with Bacteremia: An Unusual Infection in Humans. *Kaohsiung J Med Sci* **2012**, *28*, pp. 111–114, doi:10.1016/j.kjms.2011.06.027.
52. Li, Z. A Review of *Staphylococcus Aureus* and the Emergence of Drug-Resistant , *8*, 65-76. Doi: 10.4236/Aim.2018.81006. *Problem. Adv. Microbiol.* **2018**, *8*, pp. 65–76, doi:10.4236/aim.2018.81006.
53. Bottone, E.J. *Bacillus Cereus*, a Volatile Human Pathogen. *Clin Microbiol Rev* **2010**, *23*, pp. 382–398, doi:10.1128/CMR.00073-09.
54. Kabir, M.A.; Hussain, M.A.; Ahmad, Z. *Candida Albicans*: A Model Organism for Studying Fungal Pathogens. *ISRN Microbiol* **2012**, *2012*, pp. 538694, doi:10.5402/2012/538694.
55. Varga, J.; Kocsubé, S.; Tóth, B.; Frisvad, J.C.; Perrone, G.; Susca, A.; Meijer, M.; Samson, R.A. *Aspergillus Brasiliensis* Sp. Nov., a Biseriate Black *Aspergillus* Species with World-Wide Distribution. *Int J Syst Evol Microbiol* **2007**, *57*, pp. 1925–1932, doi:10.1099/ijs.0.65021-0.
56. Budzyńska, A.; Różalska, B. Potencjalne Wykorzystanie Roślinnych Olejków Eterychnych w Zwalczeniu Zakażeń z Udziałem Biofilmów Drobnoustrojów. *Życie Weterynaryjne* **2012**, *8*, pp. 213–215.
57. Nowak, K.; Szyfter, W. Problematics of Fungal Infections in the Ear. *Otolaryngologia Polska* **2008**, *62*, pp. 254–260, doi:10.1016/s0030-6657(08)70250-6.
58. Halla, N.; Fernandes, I.P.; Heleno, S.A.; Costa, P.; Boucherit-Otmani, Z.; Boucherit, K.; Rodrigues, A.E.; Ferreira, I.C.F.R.; Barreiro, M.F. Cosmetics Preservation: A Review on Present Strategies. *Molecules* **2018**, *23*, pp. 1571.



59. SCCS, The SCCS Notes Of Guidance For The Testing Of Cosmetic Ingredients And Their Safety Evaluation, SCCS/1628/21, **2021**;
60. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1223/2009 z Dnia 30 Listopada 2009 r. Dotyczące Produktów Kosmetycznych;
61. Siegert, W. Comparison of Microbial Challenge Testing Methods for Cosmetics. *H&PC Today*, **2013**, 8, pp. 32–39.
62. Poblete-Castro, I.; Becker, J.; Dohnt, K.; Santos, V.M. dos; Wittmann, C. Industrial Biotechnology of *Pseudomonas Putida* and Related Species. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, 93, pp. 2279-90.
63. Anzai, Y.; Kim, H.; Park, J.Y.; Wakabayashi, H.; Oyaizu, H. Phylogenetic Affiliation of the *Pseudomonads* Based on 16S RRNA Sequence. *Int J Syst Evol Microbiol*, **2000**, 50, pp. 1563-1589.
64. Davin-Regli, A.; Pagès, J.M. *Enterobacter Aerogenes* and *Enterobacter Cloacae*; Versatile Bacterial Pathogens Confronting Antibiotic Treatment. *Front. Microbiol.* **2015**.
65. Chan, K.G.; Tee, K.K.; Yin, W.F.; Tan, J.Y. Complete Genome Sequence of *Pluralibacter Gergoviae* FB2, an N-Acyl Homoserine Lactone-Degrading Strain Isolated from Packed Fish Paste. *Genome Announc.* **2014**, pp. e01276-14
66. Tang, J.S.; Gillevet, P.M. Reclassification of ATCC 9341 from *Micrococcus Luteus* to *Kocuria Rhizophila*. *Int J Syst Evol Microbiol* **2003**, 53, pp. 995-997.
67. Peterson, S.; Jurjević, Ž. The *Talaromyces Pinophilus* Species Complex. *Fungal Biology* **2019**, 123, pp. 745-762, doi:10.1016/j.funbio.2019.06.007.
68. Stock, I.; Wiedemann, B. Natural Antibiotic Susceptibility of *Enterobacter Amnigenus*, *Enterobacter Cancerogenus*, *Enterobacter Gergoviae* and *Enterobacter Sakazakii* Strains. *Clin Microbiol Infect* **2002**, 8, pp. 564-578.
69. Thiolas, A.; Bollet, C.; La Scola, B.; Raoult, D.; Pagès, J.M. Successive Emergence of *Enterobacter Aerogenes* Strains Resistant to Imipenem and Colistin in a Patient. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, 49, pp. 1354–1358.
70. Kandi, V.; Palange, P.; Vaish, R.; Bhatti, A.B.; Kale, V.; Kandi, M.R.; Bhoomagiri, M.R. Emerging Bacterial Infection: Identification and Clinical Significance of *Kocuria* Species. *Cureus* **2016**, 8, pp. e731.
71. Scales, B.S.; Dickson, R.P.; Lipuma, J.J.; Huffnagle, G.B. Microbiology, Genomics, and Clinical Significance of the *Pseudomonas Fluorescens* Species Complex, an Unappreciated Colonizer of Humans. *Clin. Microbiol. Rev.* **2014**, 4, pp. 927-948.
72. Steen, A.; Ütkür, F.Ö.; Borrero-de Acuña, J.M.; Bunk, B.; Roselius, L.; Bühler, B.; Jahn, D.; Schobert, M. Construction and Characterization of Nitrate and Nitrite Respiring *Pseudomonas Putida* KT2440 Strains for Anoxic Biotechnical Applications. *J. Biotechnol.* **2013**, 163; pp. 155-165.

73. Li, C.X.; Zhao, S.; Zhang, T.; Xian, L.; Liao, L.S.; Liu, J.L.; Feng, J.X. Genome Sequencing and Analysis of *Talaromyces Pinophilus* Provide Insights into Biotechnological Applications. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, pp. 490 doi:10.1038/s41598-017-00567-0.
74. Buommino, E.; De Filippis, A.; Nicoletti, R.; Menegozzo, M.; Menegozzo, S.; Ciavatta, M.L.; Rizzo, A.; Brancato, V.; Tufano, M.A.; Donnarumma, G. Cell-Growth and Migration Inhibition of Human Mesothelioma Cells Induced by 3-O-Methylfunicone from *Penicillium Pinophilum* and Cisplatin. *Invest. New Drugs* **2012**, *30*, pp. 1343–1351, doi:10.1007/s10637-011-9698-1.
75. Zhai, M.M.; Niu, H.T.; Li, J.; Xiao, H.; Shi, Y.P.; Di, D.L.; Crews, P.; Wu, Q.X. Talaromycolides A–C, Novel Phenyl-Substituted Phthalides Isolated from the Green Chinese Onion-Derived Fungus *Talaromyces Pinophilus* AF-02. *Agric. Food Chem.* **2015**, *63*, pp. 9558–9564. doi:10.1021/acs.jafc.5b04296.
76. Yossa, N.; Arce, G.; Smiley, J.; Huang, M.-C.J.; Yin, L.; Bell, R.; Tallent, S.; Brown, E.; Hammack, T. Optimized Culture Conditions for the Detection of Selected Strains of *Bacillus* in Eye Creams. *Cosmetics* **2017**, *4*, pp. 56, doi:10.3390/cosmetics4040056.
77. Yossa, N.; Hoang, S.T.; Canida, T.; Bell, R.; Tallent, S.; Brown, E.; Hammack, T. Comparison of Different Culture Methods for the Detection of *Bacillus Cereus* Group in Cosmetics. *J. AOAC Int.*, *103*, pp. 1129–1139, doi:10.1093/jaoacint/qsaa016.
78. Devanga Ragupathi, N.K.; Veeraraghavan, B. Accurate Identification and Epidemiological Characterization of *Burkholderia Cepacia* Complex: An Update. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* **2019**.
79. Rojas-Rojas, F.U.; López-Sánchez, D.; Meza-Radilla, G.; Méndez-Canarios, A.; Ibarra, J.A.; Estrada-de los Santos, P. El Controvertido Complejo *Burkholderia Cepacia*, Un Grupo de Especies Promotoras Del Crecimiento Vegetal y Patógenas de Plantas, Animales y Humanos. *Rev. Argent. Microbiol.* **2019**, pp.84-92.
80. Neza, E.; Centini, M. Microbiologically Contaminated and Over-Preserved Cosmetic Products According Rapex 2008-2014. *Cosmetics* **2016**, *3*, pp. 3, doi:10.3390/cosmetics3010003.
81. Bengoechea, J.A.; Sa Pessoa, J. *Klebsiella Pneumoniae* Infection Biology: Living to Counteract Host Defences. *FEMS Microbiol. Rev.* **2019**, *43*, pp. 123-144.
82. Martin, R.M.; Bachman, M.A. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella Pneumoniae*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2018**, *8*, pp. 4.
83. Riquelme, S.A.; Ahn, D.; Prince, A. *Pseudomonas Aeruginosa* and *Klebsiella Pneumoniae* Adaptation to Innate Immune Clearance Mechanisms in the Lung. *J Innate Immun* **2018**, *10*, pp. 442–454, doi:10.1159/000487515.
84. Namvar, A.E.; Bastarahang, S.; Abbasi, N.; Ghehi, G.S.; Farhadbakhtiaran, S.; Arezi, P.; Hosseini, M.; Baravati, S.Z.; Jokar, Z.; Chermahin, S.G. Clinical

Characteristics of *Staphylococcus Epidermidis*: A Systematic Review. *GMS Hyg Infect Control* **2014**, doc23.

85. Campana, R.; Scesa, C.; Patrone, V.; Vittoria, E.; Baffone, W. Microbiological Study of Cosmetic Products during Their Use by Consumers: Health Risk and Efficacy of Preservative Systems. *Letters in Applied Microbiology* **2006**, *43*, pp. 301–306, doi:<https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01952.x>.
86. David, T.; Attila, G.; D., N.J. Candida Parapsilosis, an Emerging Fungal Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews* **2008**, *21*, pp. 606–625, doi:[10.1128/CMR.00013-08](https://doi.org/10.1128/CMR.00013-08).
87. Toth R; Nosek, J; Mora-Montes, H.M; Gabaldon T.; Bliss J.M; Nosanchuk J.D.; et al. *Candida Parapsilosis*: From Genes to the Bedside. *Clin Microbiol Rev.* **2021**, *32*, pp. e00111-18, doi:[10.1128/CMR.00111-18](https://doi.org/10.1128/CMR.00111-18).
88. Budecka, A.; Kunicka-Styczyńska, A. Biotechnology and Food Sciences Microbiological Contaminants in Cosmetics – Isolation and Characterization. *Biotechnol Food Sci* **2014**, *78*, pp. 15–23.
89. Anelich, L.E.; Korsten, L. Survey of Micro-Organisms Associated with Spoilage of Cosmetic Creams Manufactured in South Africa. *Int. J. Cosmet. Sci.* **1996**, *18*, pp. 25–40, doi:<https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.1996.tb00133.x>.
90. Wilson, L.A.; Julian, A.J.; Ahearn, D.G. The Survival and Growth of Microorganisms in Mascara during Use. *Am J Ophthalmol* **1975**, *79*, pp. 596–601, doi:[10.1016/0002-9394\(75\)90798-9](https://doi.org/10.1016/0002-9394(75)90798-9).
91. Jean-Paul, L.; Georgios, C. *Aspergillus Fumigatus* and Aspergillosis in 2019. *Clin. Microbiol. Rev.* **2021**, *33*, pp. e00140-18. doi:[10.1128/CMR.00140-18](https://doi.org/10.1128/CMR.00140-18).
92. Muhammed, H.J. Bacterial and Fungal Contamination in Three Brands of Cosmetic Marketed in Iraq. *Iraqi J Pharm Sci* **2011**, *20*, pp. 38-42.
93. Dashen, M.M.; Chollom, P.F.; Okechalu, J.N.; Ashulee Ma 'aji, J. Microbiological Quality Assessment of Some Brands of Cosmetics Powders Sold within Jos Metropolis, Plateau State. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research Scholars Research Library J. Microbiol. Biotech. Res* **2011**, *1*, pp. 101–106.
94. Surburg H., Panten J., Individual Fragrance and Flavor Materials. *Common Fragr. Flavor Mater.* **2016**, pp. 7–192.
95. Api, A.M.; Belsito, D.; Biserta, S.; Botelho, D.; Bruze, M.; Burton, G.A.; Buschmann, J.; Cancellieri, M.A.; Dagli, M.L.; Date, M.; et al. RIFM Fragrance Ingredient Safety Assessment, *p*-Tolualdehyde, CAS Registry Number 104-87-0. *Food Chem.Toxicol.* **2021**, *149*, pp. 111982, doi:<https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.111982>.
96. Rezaee, R.; Hosseinzadeh, H. Safranal: From an Aromatic Natural Product to a Rewarding Pharmacological Agent. *Iran J Basic Med Sci* **2013**, *16*, pp. 12–26.
97. Lapczynski, A.; Lalko, J.; Politano, V.T.; McGinty, D.; Bhatia, S.; Letizia, C.S.; Api, A.M. Fragrance Material Review on Alpha-Iso-Methylionone. *Food Chem. Toxicol.* **2007**, *45*, pp. S280–S289, doi:<https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.051>.

98. Dragomanova, Stela; Tancheva, Lyubka; Georgieva, M. A Review: Biological Activity of Myrtenal and Some Myrtenal-Containing Medicinal Plant Essential Oils. *Scr. Sci. Pharm.* **2018**, *5*, pp. 22–33.
99. Havaux, M.  $\beta$ -Cyclocitral and Derivatives: Emerging Molecular Signals Serving Multiple Biological Functions. *Plant Physiol. Biochem.* **2020**, *155*, pp. 35–41, doi:<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.07.032>.
100. Api, A.M.; Belsito, D.; Botelho, D.; Bruze, M.; Burton Jr, G.A.; Buschmann, J.; Dagli, M.L.; Date, M.; Dekant, W.; Deodhar, C. RIFM Fragrance Ingredient Safety Assessment, *p*-Menth-8-En-2-One, CAS Registry Number 7764-50-3. *Food Chem. Toxicol* **2019**, *127*, pp. S200-s7.
101. Müller, M.; Buchbauer, G. Essential Oil Components as Pheromones. A Review. *Flavour and Frag. J.* **2011**, *26*, pp. 357–377, doi:<https://doi.org/10.1002/ffj.2055>.
102. Byers, J.A.; Maoz, Y.; Wakarchuk, D.; Fefer, D.; Levi-Zada, A. Inhibitory Effects of Semiochemicals on the Attraction of an Ambrosia Beetle *Euwallacea Nr. Fornicatus* to *Quercivorol*. *J. Chem. Ecol.* **2018**, *44*, pp. 565–575, doi:10.1007/s10886-018-0959-8.
103. Krinski, Diones, Foerster, Luís Amilton and Deschamps, C. Ovicidal Effect of the Essential Oils from 18 Brazilian Piper Species: Controlling *Anticarsia Gemmatalis* (Lepidoptera, Erebidae) at the Initial Stage of Development. *Acta Sci. Agron.* [online] **2018**, *40*, pp. e35273.
104. Balouiri, M.; Sadiki, M.; Ibsouda, S.K. Methods for *in Vitro* Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *J. Pharm. Anal.* **2016**.
105. Hudzicki, J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol Author Information. *Am. Soc. Microbiol.* **2012**, pp. 1–13.
106. Wiegand, I.; Hilpert, K.; Hancock, R.E.W. Agar and Broth Dilution Methods to Determine the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobial Substances. *Nat. Protoc.* **2008**, *3*, pp. 163–175, doi:10.1038/nprot.2007.521.
107. Rampersad, S.N. Multiple Applications of Alamar Blue as an Indicator of Metabolic Function and Cellular Health in Cell Viability Bioassays. *Sensors* **2012**.
108. Baker, C.N.; Banerjee, S.N.; Tenover, F.C. Evaluation of Alamar Colorimetric MIC Method for Antimicrobial Susceptibility Testing of Gram-Negative Bacteria. *J Clin Microbiol* **1994**, *32*, pp. 1261–1267.
109. McFarland, J. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *J. Am. Med. Assoc.* **1907**, XLIX, pp. 1176–1178. doi:10.1001/jama.1907.25320140022001f.
110. Aburjai, T.; Natsheh, F.M. Plants Used in Cosmetics. *Phytother. Res.* **2003**, *17*, pp. 987–1000, doi:<https://doi.org/10.1002/ptr.1363>.
111. Garbusińska, A.; Mertas, A.; Szliszka, E.; Król, W. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa Olejku z Drzewa Herbacianego (Tea Tree Oil) w Badaniach *in Vitro*. Cz. II. *Post Fitoter* **2011**, *3*, pp. 175–184.

112. Raman, A.; Weir, U.; Bloomfield, S.F. Antimicrobial Effects of Tea-Tree Oil and Its Major Components on *Staphylococcus Aureus*, *Staph. Epidermidis* and *Propionibacterium Acnes*. *Lett. Appl. Microbiol.* **1995**, *21*, pp. 242–245, doi:https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1995.tb01051.x.
113. Cox, S.D.; Markham, J.L. Susceptibility and Intrinsic Tolerance of *Pseudomonas Aeruginosa* to Selected Plant Volatile Compounds. . *J Appl Microbiol.***2007**, *103*, pp. 930–936, doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03353.x.
114. Gallucci, M.N.; Oliva, M.; Casero, C.; Dambolena, J.; Luna, A.; Zygadlo, J.; Demo, M. Antimicrobial Combined Action of Terpenes against the Food-Borne Microorganisms *Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus* and *Bacillus Cereus*. *Flavour Fragr. J* **2009**, *24*, pp. 348–354, doi:https://doi.org/10.1002/ffj.1948.
115. Kifer, D.; Mužinić, V.; Klarić, M.Š. Antimicrobial Potency of Single and Combined Mupirocin and Monoterpenes, Thymol, Menthol and 1,8-Cineole against *Staphylococcus Aureus* Planktonic and Biofilm Growth. *J. Antibiot.* **2016**, *69*, pp. 689–696, doi:10.1038/ja.2016.10.
116. Buckle J. *Clinical Aromatherapy Essential Oils in Healthcare*; Third Edit.; Churchill Livingstone: St. Louis, **2015**; pp. 37-72.
117. Kim, J.M.; Marshall, M.R.; Cornell, J.A.; III, J.F.P.; Wei, C.I. Antibacterial Activity of Carvacrol, Citral, and Geraniol against *Salmonella typhimurium* in Culture Medium and on Fish Cubes. *J. Food Sci.* **1995**, *60*, pp. 1364–1368 doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb04592.x.
118. Pawełczyk, A.; Sowa-Kasprzak, K.; Michalak, J.; Kędzia, B.; Zaprutko, L. Ocena Aktywności Antybiotycznej Z-Jasmonu Oraz Jego Pochodnych Heterocyklicznych; *Post. Fitoter.* **2017**, *3*, pp. 171-177.
119. Kubo, I.; Muroi, H.; Himejima, M. Antimicrobial Activity of Green Tea Flavor Components and Their Combination Effects. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 245–248, doi:10.1021/jf00014a015.
120. Dżaman, K. Współczesne Metody Badania Węchu i Smaku Modern Methods of Olfactory and Gustatory Examination. *Otorynolaryngologia* **2008**, *7*, pp. 173–177.
121. Kośmider, Joanna; Mazur-Chrzanowska, Barbara; Wyszynski, B. *Odory*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, **2002**;
122. Feliczyk-Guzik Agnieszka; Bazarnik Katarzyna; Nowak Izabela Analiza Sensoryczna i Ocena Organoleptyczna Substancji Zapachowych w Kosmetykach. *Kosmetologia Estet.* **2014**, *3*, pp. 23–27.
123. Berdagué, J.L.; Tournayre, P.; Cambou, S. Novel Multi-Gas Chromatography–Olfactometry Device and Software for the Identification of Odour-Active Compounds. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1146*, pp. 85–92, doi:https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.12.102.

## 7. Wykaz rysunków

Rys. 1 Struktura izoprenu oraz sposoby łączenia jednostek izoprenowych .....	12
Rys. 2 Wzór ogólny aldoksymu i ketoksymu .....	13
Rys. 3 Wzory oksymów wykorzystanych w reakcji O-alkilowania.....	31
Rys. 4 Wzory związków karbonylowych będących substratami oksymów .....	32
Rys. 5 Zdjęcie przykładowej płytki po wykonaniu testu przesiewowego metodą II .....	76
Rys. 6 Zdjęcie przykładowej płytki po wykonaniu testu właściwego .....	77

## 8. Wykaz tabel

Tab. 1 Przykłady zastosowania substancji syntetycznych w perfumach z XX i XIX w. [7,11].....	8
Tab. 2 Przykładowe syntetyczne substancje zapachowe z grupy aldehydów i ketonów z profilami zapachowymi [7,11,16].....	10
Tab. 3 Oksymy wykorzystywane w kompozycjach zapachowych[16,30].....	14
Tab. 4 Charakterystyka mikroorganizmów objętych normami PN-EN 1276:2019, PN-EN 13697+A1:2019, PN-EN 1650:2019 i PN-EN 13623:2021 [42,46,53–55].....	20
Tab. 5 Zestawienie drobnoustrojów wykorzystywanych w testach konserwacji wraz z czasem prowadzenia eksperymentu i kryteriami akceptacji [61] Legenda: (*)- testu nie prowadzi się w danym dniu, (-) – brak wzrostu mikroorganizmów.....	24
Tab. 6 Charakterystyka mikroorganizmów wykorzystywanych w teście konserwacji KoKo Shülke [62–67].....	26
Tab. 7 Charakterystyka mikroorganizmów odpowiedzialnych za zakażenie wtórne kosmetyków .....	28
Tab. 8 Optymalne temperatury hodowli poszczególnych mikroorganizmów .....	72
Tab. 9 Wartości MIC dla związków karbonylowych, ich oksymów oraz poszczególnych eterów oksymów. n/a – nie aktywny wobec badanych szczepów. ....	79
Tab. 10 Profile zapachowe i progi wyczuwalności wybranych eterów oksymów .....	90

## 9. Aktywność naukowa

### Publikacje:

1. **Alicja K. Surowiak**, Marta Sowała, Michał Talma, Katarzyna Groborz, Lucyna Balcerzak, Stanisław Lochyński, Daniel J. Strub, Cytotoxicity, early safety screening, and antimicrobial potential of minor oxime constituents of essential oils and aromatic extracts. *Scientific Reports*, **2022**, 12, 5319. IF: 4.58, MEiN: 140
2. **Alicja K. Surowiak**, Lucyna Balcerzak, Stanisław Lochyński, Daniel J. Strub, Biological activity of selected natural and synthetic terpenoid lactones, *International Journal of Molecular Sciences*, **2021**, 22(9), 5036. IF: 4,556 MEiN: 140
3. **Alicja K. Surowiak**, Stanisław Lochyński, Daniel J. Strub Unsubstituted oximes as potential therapeutic agents. *Symmetry*. **2020**, vol. 12, nr 4, art. 575, s. 1-17. IF: 2.71 MEiN:: 70
4. **Alicja K. Surowiak**, Dorota Kannenberg-Leszczynska, Daniel J. Strub, Stanisław Lochyński Przemysłowy potencjał rozmarynu lekarskiego (*Rosmarinus officinalis* L.). *Przemysł Chemiczny*. **2020**, vol. 99, nr 2, s. 259-263. IF: 0.428 MEiN: 40
5. **Surowiak A.**, Lochyński S. Aktywność biologiczna oksymów, Na pograniczu chemii i biologii, Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań **2018**, tom XXXVII MEiN: 80
6. Józef Hoffmann, Marta Huculak-Mączka, Andrzej Surowiak, Sylwia Surowiak, **Alicja K. Surowiak**. Dziś trudny odpad - jutro surowiec. *Recykling*. **2014**, nr 1, s. 22-23.

### Patenty udzielone:

1. Daniel J. Strub, Stanisław Lochyński, Agnieszka Dudek, **Alicja K. Surowiak**  
Eterowa pochodna oksymu piperytonu i sposób wytwarzania eterowej pochodnej oksymu piperytonu. PL 240173 28.02.2022
2. Daniel J. Strub, Stanisław Lochyński, Agnieszka Dudek, **Alicja K. Surowiak**  
Eterowa pochodna oksymu piperytonu i sposób wytwarzania eterowej pochodnej oksymu piperytonu. PL 240174 28.02.2022
3. Daniel J. Strub, Stanisław Lochyński, Agnieszka Dudek, **Alicja K. Surowiak**

terowa pochodna oksymu piperytonu i sposób wytwarzania eterowej pochodnej oksymu piperytonu. PL 240175 28.02.2022

4. Daniel J. Strub, Stanisław Lochyński, Agnieszka Dudek, **Alicja K. Surowiak**  
Eterowa pochodna oksymu piperytonu i sposób wytwarzania eterowej pochodnej oksymu piperytonu. Patent na podstawie zgłoszenia: P 432399 z 24.12.2019. 7 s. 2019
5. Daniel J. Strub, **Alicja K. Surowiak**, Wojciech Kołodyński  
Eter n-propylowy oksymu 3-metoksybenzaldehydu i sposób jego wytwarzania.  
Patent na podstawie zgłoszenia: P 432404 z 24.12.2019. 5 s. 2019
6. Daniel J. Strub, **Alicja K. Surowiak**, Wojciech Kołodyński  
Eter etylowy oksymu 3-metoksybenzaldehydu i sposób jego wytwarzania.  
Patent na podstawie zgłoszenia: P 432401 z 24.12.2019. 5 s. 2019

#### **Zgłoszenia patentowe :**

1. Daniel J. Strub, Stanisław Lochyński, Maria Błaszczuk, **Alicja K. Surowiak**  
(*EZ*, *2EZ*)-3,7-dimetylo-N-(oksiran-2(*RS*)-ylometoksy)okta-2,6-dien-1-imina i sposób jej wytwarzania. Patent na podstawie zgłoszenia: P 432400 z 24.12.2019. 5 s. 2019
2. Daniel J. Strub, Lucyna Balcerzak, **Alicja K. Surowiak**, Eterowe związki zapachowe i sposób wytwarzania. P 436291 z 09.12.2020. 16 s. 2021

#### **Wdrożone do przemysłu w firmie Liquid Technologies sp. z o.o na podstawie umowy licencyjnej**

#### **Komunikaty konferencyjne:**

1. **Alicja K. Surowiak**, Julia Gibka, Maria Błaszczuk, Józef Kula, Lucyna Balcerzak, Magdalena Sikora, Stanisław Lochyński, Katarzyna Piekarska, Daniel J., Synteza, charakterystyka zapachowa i wstępne badania toksyczności eterów oksymu cytralu 60 Zjazd PTChem, Wrocław, 17-21.09.2017
2. Daniel J. Strub, Julia Gibka, Maria Błaszczuk, Józef Kula, Lucyna Balcerzak, Magdalena Sikora, **Alicja K. Surowiak**, Stanisław Lochyński, Katarzyna Piekarska. Synthesis, olfactory evaluation and preliminary environmental impact of citral oxime ethers. Natural Volatiles & Essential Oils [Dokument elektroniczny]. 2017, vol. 4, nr



- 3, s. 172-172. 48th International Symposium on Essential Oils, Pecs, Hungary, 10-13.09.2017
3. **Alicja K. Surowiak**, Stanisław Lochyński, Daniel J. Strub, Antimicrobial activity of low-molecular oximes, Na Pograniczu Chemii i Biologii, Karpacz, 17-20.06.2018
  4. **Alicja K. Surowiak**, Agnieszka Dudek, Stanisław Lochyński, Daniel J. Strub. Aktywność przeciwbakteryjna i przeciwgrzybowa lotnych oksymów. VII Krajowe Sympozjum "Naturalne i Syntetyczne Produkty Zapachowe i Kosmetyczne", Łódź, 2-4 lipca 2018
  5. **Alicja K. Surowiak**, Stanisław Lochyński, Daniel J. Strub. Antimicrobial activity of low-molecular oximes The 4th Symposium on Biotransformations for Pharmaceutical and Cosmetic Industry, Trzebnica, Poland, 25-27 czerwiec 2018
  6. **Alicja K. Surowiak**, Agnieszka Dudek, Stanisław Lochyński, Daniel J. Strub Microbial growth inhibition by oximes derived from natural volatile carbonyl compounds *Facta Universitatis. Physics, Chemistry and Technology*. 2018, vol. 16, nr 1, spec. iss.
  7. **Alicja K. Surowiak**, Stanisław Lochyński, Daniel J. Strub, Oximes derived from natural volatile compounds as antimicrobial active agents, 3rd Wrocław Scientific Meetings, Wrocław, 1-2 marca 2019
  8. **Alicja K. Surowiak**, Daniel J. Strub, Stanisław Lochyński, Microbial safety of cosmetics. W: XVII Ogólnopolskie Seminarium dla Doktorantów i Studentów "Na pograniczu chemii i biologii", 12-15 maja 2019 r., Jastrzębia Góra : książka abstraktów / [Uniwersytet Gdański, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza. [B.m. : b.w., 2019]. s. 76-76.
  9. Lucyna Balcerzak, **Alicja K. Surowiak**, Stanisław Lochyński, Anna Adamowicz. Monika Kaleta, Agnieszka Pienkosz-Żagań, Daniel J. Strub, Combinatorial synthesis of fragrant volatiles from natural raw materials - a sustainable approach towards discovery of new odorants, Book of abstracts, 50th International Symposium on Essential Oils, Wiedeń, 9-12 września 2019.
  10. **Alicja K. Surowiak**, Marta Sowała, Stanisław Lochyński, Daniel J. Strub, Evaluation of antimicrobial activity of oximes derived from natural volatile compounds, Book of abstracts, 50th International Symposium on Essential Oils, Wiedeń, 9-12 września 2019.

11. **Alicja K. Surowiak**, Dorota Kannenberg-Leszczyńska, Stanisław Lochyński, Rosemary's biological activity, Book of abstracts, 6th World Congress on Medicinal and Aromatic Plants, Famagusta, 13-17 listopada 2019
12. **Alicja K. Surowiak**, Lucyna Balcerzak, Stanisław Lochyński, Daniel J. Strub  
Low molecular weight oxime ethers as potential fragrances. W: ChemBiotIC, Chemistry & Biotechnology International Conference : June 24-25 2021, Wrocław, Poland / Politechnika Wrocławska. [Wrocław : Oficyna Wydawnicza PWr, 2021]. s. 60-60.
13. **Alicja K. Surowiak**, Lucyna Balcerzak, Stanisław Lochyński, Daniel J. Strub, Mutagenic, genotoxic, ecotoxic, and antimicrobial properties of low molecular oxime ethers, 51st International Symposium on Essential Oils – 2021, 12-14 listopada, Online.

#### **Wykonawca w grantcie:**

„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, a także sama ubiegałam się o grant Small Grant Scheme EEA and Norway Grants 2020 „Applied research” realizowany przez NCBiR.

#### **Nagrody:**

1. II miejsce w sesji plakatowej I Ogólnopolskiej Doktoranckiej Konferencji Interdyscyplinarnej
2. Nagrodę Dziekana za wybitne osiągnięcia w nauce w roku 2019/2020

#### **Aktywność organizacyjna:**

1. Członek komitetu organizacyjnego 60-tego Zjazdu PTChem, 2017, Wrocław
2. Pomysłodawczyni i organizatorka „Chemistry and Biotechnology International Conference (ChemBiotIC)”, 2021, Wrocław
3. Członek komitetu organizacyjnego 52nd International Symposium on Essential Oils “ISEO 2022”, Wrocław

Załącznik Do Rozprawy Doktorskiej:

SYNTEZA I ANALIZA AKTYWNOŚCI  
PRZECIWDROBNOUSTROJOWEJ LOTNYCH ZWIĄZKÓW  
ORGANICZNYCH

Alicja Karolina Surowiak

Tab. Z11 Wyniki testów przesiewowych metodą krążkowo-dyfuzyjną dla związków karbonylowych i ich oksymów

Nazwa	Mikroorganizm	Strefa inhibicji [mm]
$\alpha$ -Amylocynamaldehyd	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	7.00
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	8.00
	<i>S. aureus</i>	10.00
	<i>A. brasiliensis</i>	7.33
	<i>C. albicans</i>	7.00
Oksym $\alpha$ -amylocynamaldehydu	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	12.67
	<i>P.aeruginosa</i>	7.33
	<i>B. cereus</i>	7.00
	<i>S. aureus</i>	8.00
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	12.67
<i>m</i> -Aldehyd anyżowy	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	10.00
	<i>P.aeruginosa</i>	7.33
	<i>B. cereus</i>	7.33
	<i>S. aureus</i>	9.00
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	7.00
Oksym <i>m</i> -aldehydu anyżowego	<i>E. coli</i>	9.00
	<i>E. hirae</i>	7.00
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	7.00
	<i>S. aureus</i>	43.33
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	7.00
<i>o</i> -Aldehyd anyżowy	<i>E. coli</i>	7.33
	<i>E. hirae</i>	9.33
	<i>P.aeruginosa</i>	7.67
	<i>B. cereus</i>	8.33
	<i>S. aureus</i>	10.67
	<i>A. brasiliensis</i>	9.00
	<i>C. albicans</i>	7.00
Oksym <i>o</i> -aldehydu anyżowego	<i>E. coli</i>	10.00

	<i>E. hirae</i>	10.00
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	7.00
	<i>S. aureus</i>	7.00
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	10.00
<i>p</i> -Aldehyd anyżowy	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	7.00
	<i>P.aeruginosa</i>	7.67
	<i>B. cereus</i>	8.33
	<i>S. aureus</i>	9.00
	<i>A. brasiliensis</i>	9.67
	<i>C. albicans</i>	7.00
Oksym <i>p</i> -aldehydu anyżowego	<i>E. coli</i>	9.00
	<i>E. hirae</i>	7.00
	<i>P.aeruginosa</i>	8.00
	<i>B. cereus</i>	7.00
	<i>S. aureus</i>	7.00
	<i>A. brasiliensis</i>	10.00
	<i>C. albicans</i>	7.00
$\beta$ -Cyklocytral	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	12.33
	<i>P.aeruginosa</i>	12.67
	<i>B. cereus</i>	10.00
	<i>S. aureus</i>	9.33
	<i>A. brasiliensis</i>	8.00
	<i>C. albicans</i>	7.00
Oksym $\beta$ -cyklocytralu	<i>E. coli</i>	10.00
	<i>E. hirae</i>	9.67
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	7.33
	<i>S. aureus</i>	7.00
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	9.67
(+) -Dihydrokarwon	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	9.33
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	7.67
	<i>S. aureus</i>	9.33
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	7.00
Oksym (+)-dihydrokarwonu	<i>E. coli</i>	8.67
	<i>E. hirae</i>	10.33
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	7.00
	<i>S. aureus</i>	7.00
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	9.67
Dihydrojasmon	<i>E. coli</i>	8.00

	<i>E. hirae</i>	8.00
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	9.67
	<i>S. aureus</i>	12.67
	<i>A. brasiliensis</i>	9.00
	<i>C. albicans</i>	9.00
Oksym dihydrojasmonu	<i>E. coli</i>	9.33
	<i>E. hirae</i>	12.33
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	7.00
	<i>S. aureus</i>	21.67
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	10.00
$\alpha$ -Heksylcynamaldehydu	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	10.33
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	9.33
	<i>S. aureus</i>	11.67
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	7.00
Oksym $\alpha$ -heksylcynamaldehydu	<i>E. coli</i>	12.33
	<i>E. hirae</i>	14.00
	<i>P.aeruginosa</i>	7.67
	<i>B. cereus</i>	9.33
	<i>S. aureus</i>	10.67
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	14.00
$\alpha$ -Izometylojononu	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	7.00
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	9.33
	<i>S. aureus</i>	8.33
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	7.00
Oksym $\alpha$ -izometylojononu	<i>E. coli</i>	10.00
	<i>E. hirae</i>	14.67
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	8.67
	<i>S. aureus</i>	8.00
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	14.67
<i>cis</i> -Jasmon	<i>E. coli</i>	8.00
	<i>E. hirae</i>	11.00
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	9.67
	<i>S. aureus</i>	11.33
	<i>A. brasiliensis</i>	13.00
	<i>C. albicans</i>	9.00
Oksym <i>cis</i> -jasmonu	<i>E. coli</i>	7.67

	<i>E. hirae</i>	12.67
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	7.00
	<i>S. aureus</i>	9.33
	<i>A. brasiliensis</i>	13.00
	<i>C. albicans</i>	12.67
(-)-Myrtenal	<i>E. coli</i>	11.00
	<i>E. hirae</i>	11.67
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	8.33
	<i>S. aureus</i>	8.00
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	9.33
Oksym (-)-myrtenalu	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	7.00
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	10.67
	<i>S. aureus</i>	10.67
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	7.00
(-)-Perylaldehyd	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	9.33
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	7.33
	<i>S. aureus</i>	19.00
	<i>A. brasiliensis</i>	9.00
	<i>C. albicans</i>	7.00
Oksym (-)-perylaldehydu	<i>E. coli</i>	8.67
	<i>E. hirae</i>	10.33
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	7.00
	<i>S. aureus</i>	7.00
	<i>A. brasiliensis</i>	8.33
	<i>C. albicans</i>	10.00
Piperyton	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	7.00
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	7.67
	<i>S. aureus</i>	9.67
	<i>A. brasiliensis</i>	10.00
	<i>C. albicans</i>	7.00
Oksym piperytonu	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	12.67
	<i>P.aeruginosa</i>	7.33
	<i>B. cereus</i>	7.17
	<i>S. aureus</i>	14.00
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	12.67
Oksym safranalu	<i>E. coli</i>	8.00

	<i>E. hirae</i>	12.00
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	8.50
	<i>S. aureus</i>	11.33
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	12.00
<i>m</i> -Tolualdehyd	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	8.33
	<i>P.aeruginosa</i>	7.33
	<i>B. cereus</i>	9.00
	<i>S. aureus</i>	10.00
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	7.00
Oksym <i>m</i> -tolualdehydu	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	8.33
	<i>P.aeruginosa</i>	10.67
	<i>B. cereus</i>	11.17
	<i>S. aureus</i>	7.00
	<i>A. brasiliensis</i>	9.67
	<i>C. albicans</i>	8.33
<i>o</i> -Tolualdehyd	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	7.67
	<i>P.aeruginosa</i>	8.00
	<i>B. cereus</i>	9.00
	<i>S. aureus</i>	10.00
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	7.00
Oksym <i>o</i> -Tolualdehydu	<i>E. coli</i>	10.67
	<i>E. hirae</i>	7.00
	<i>P.aeruginosa</i>	8.33
	<i>B. cereus</i>	22.67
	<i>S. aureus</i>	7.00
	<i>A. brasiliensis</i>	9.33
	<i>C. albicans</i>	7.00
<i>p</i> -Tolualdehyd	<i>E. coli</i>	10.00
	<i>E. hirae</i>	7.67
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	8.00
	<i>S. aureus</i>	7.00
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	7.00
Oksym <i>p</i> -tolualdehydu	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	12.00
	<i>P.aeruginosa</i>	8.00
	<i>B. cereus</i>	7.00
	<i>S. aureus</i>	28.33
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	12.00
(-)-Werbenon	<i>E. coli</i>	7.33

	<i>E. hirae</i>	9.67
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	7.67
	<i>S. aureus</i>	9.00
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	9.00
Oksym (-)-werbenonu	<i>E. coli</i>	7.00
	<i>E. hirae</i>	7.00
	<i>P.aeruginosa</i>	7.00
	<i>B. cereus</i>	7.00
	<i>S. aureus</i>	7.00
	<i>A. brasiliensis</i>	7.00
	<i>C. albicans</i>	7.00