

Załącznik 2

Dr inż. Radosław Michał Bonikowski

Politechnika Łódzka

Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności

Autoreferat

Pochodne wybranych terpenoidów i ich aktywność biologiczna

Spis treści

1. Dane podstawowe	3
2. Wskazane osiągnięcia wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dn. 14 marca 2003 (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.).....	4
3. Omówienie osiągnięć badawczych przedstawianych do oceny	7
3.1. Temat badawczy i jego cel.....	7
3.2. Otrzymywanie i charakterystyka osmiczna nowych związków, strukturalnie zbliżonych do naturalnych terpenoidów.....	9
3.3. Bioaktywność nowych związków wobec komórek prawidłowych i nowotworowych linii komórkowych oraz mikroflory	23
3.3.1. Aktywność cytotoksyczna/cytostatyczna	23
3.3.2. Aktywność przeciwmikrobowa	28
3.4. Podsumowanie najważniejszych osiągnięć naukowych przedstawionych do oceny	35
4. Omówienie pozostałych osiągnięć badawczych	39
5. Prace eksperckie.....	46
6. Charakterystyka dorobku dydaktycznego.....	46
8. Charakterystyka dorobku organizacyjnego i popularyzatorskiego	47

1. Dane podstawowe

Imię i nazwisko: Radosław Michał Bonikowski

Miejsce zatrudnienia: Politechnika Łódzka,
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności,
Instytut Podstaw Chemii Żywności,
ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź,

Adres e-mail: radoslaw.bonikowski@p.lodz.pl

Przebieg pracy zawodowej:

luty 2006 – styczeń 2007 Asystent w Instytucie Podstaw Chemii Żywności, PŁ

od lutego 2007 Adiunkt w Instytucie Podstaw Chemii Żywności, PŁ

Posiadane dyplomy i stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:

2001 Tytuł zawodowy **magistra inżyniera technologii chemicznej**,
Politechnika Łódzka, Wydział Chemii Spożywczej i Biotechnologii
(obecnie Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności),
Temat pracy magisterskiej: *Synteza pochodnych hydroindenu na bazie karotolu*.

Promotor: dr hab. inż. Józef Kula, prof. nadzw. PŁ

2006 Stopień naukowy **doktora nauk technicznych**
w zakresie **technologii chemicznej**, Politechnika Łódzka,
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności,
Temat rozprawy doktorskiej: *Synteza nowych hydroindenowych pochodnych z karotolu: potencjalnych odorantów i chironów do syntezy związków biologicznie aktywnych*.

Promotor: dr hab. inż. Józef Kula, prof. nadzw. PŁ

2. Wskazane osiągnięcia wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dn. 14 marca 2003 (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

Tytuł osiągnięcia naukowego, które przedstawiam do oceny to:

Pochodne wybranych terpenoidów i ich aktywność biologiczna.

Wyniki badań zostały zebrane i opisane w cyklu siedmiu powiązanych tematycznie publikacji oraz pięciu patentach:

- I. **Bonikowski R.**, Kula J., Sikora M., Kunicka A. Thienyl analogues of acyclic monoterpene alcohols and their biological activity *J Sci Food Arg*, **2009**, 89(12), 2088-2095 (IF 1,386, MNiSzW 35)**
Indywidualny wkład: współudział w opracowaniu koncepcji pracy (metodyka syntezy analogów linalolu, geraniolu i nerolu), opracowanie koncepcji pracy w zakresie syntezy analogów cytronelolu. Wiodący udział w planowaniu doświadczeń, przeprowadzeniu badań i sformułowaniu wniosków. Współudział w opracowaniu części literaturowej, badawczej oraz eksperymentalnej manuskryptu (50%).
- II. Jabłońska A., Świtakowska P., **Bonikowski R.**, Kunicka A., Kula J. Synteza 3- oraz 4-pirydyloanalogów wybranych acyklicznych terpenów - właściwości sensoryczne i aktywność przeciwdrobnoustrojowa *Zeszyty Naukowe. Politechnika Łódzka. Chemia Spożywcza i Biotechnologia*, **2009**, 73, 61-72 (MNiSzW 2)
Indywidualny wkład: koncepcja pracy, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, przeprowadzeniu badań, sformułowaniu wniosków i przygotowaniu manuskryptu (40%).
- III. Kula J., Balawejder M., **Bonikowski R.**, Sikora M. 7,8-Dihydro-4H-cyclohepta[b]furan (thiophene) skeleton from furyl (thiophene)-derived tertiary allylic alcohols *J Heterocyclic Chem*, **2009**, 46(6), 1404-1407 (IF 1,009, MNiSzW 20)
Indywidualny wkład: współudział w opracowaniu koncepcji pracy, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, przeprowadzeniu badań i sformułowaniu wniosków. Współudział w opracowaniu części literaturowej, badawczej oraz eksperymentalnej manuskryptu (30%).
- IV. **Bonikowski R.**, Kula J., Bujacz A., Wajs-Bonikowska A., Zaklos-Szyda M., Wysocki S. Hydroindene-derived chiral synthons from carotol and their cytotoxicity *Tetrahedron-Asymmetr*, **2012**, 23(14), 1038-1045 (IF 2,115, MNiSzW 25)

- Indywidualny wkład: koncepcja pracy, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, przeprowadzeniu badań i sformułowaniu wniosków. Opracowanie treści manuskryptu (55%).*
- V. **Bonikowski R.**, Świtakowska P., Jabłońska A., Kula J., Sienkiewicz M., Gabrysiak J., Kajrukszo K. Characteristics of some synthetic terpenoids with a grapefruit odour discovered by serendipity *Flavour Frag J*, **2014**, 29(6), 380-387 (**IF** 1,970, **MNiSzW** 30)
Indywidualny wkład: koncepcja pracy, pozyskanie środków w ramach projektu badawczego własnego, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, przeprowadzeniu badań, sformułowaniu wniosków. Opracowanie treści manuskryptu (45%).
- VI. **Bonikowski R.**, Świtakowska P., Kula J. Synthesis, odour evaluation and antimicrobial activity of some geranyl acetone and nerolidol analogues *Flavour Frag J*, **2015**, 30(3), 238-244 (**IF*** 2,130, **MNiSzW** 30)
Indywidualny wkład: koncepcja pracy, pozyskanie środków w ramach projektu badawczego własnego, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, przeprowadzeniu badań, sformułowaniu wniosków. Opracowanie treści manuskryptu (65%).
- VII. **Bonikowski R.**, Świtakowska P., Sienkiewicz M., Zakłos-Szyda M. Selected compounds with structure related to acyclic sesquiterpenoids and their antibacterial and cytotoxic activity *Molecules*, **2015**, 20(6), 11272-11296 (**IF*** 2,791, **MNiSzW** 30)
Indywidualny wkład: koncepcja pracy, pozyskanie środków w ramach projektu badawczego własnego, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, przeprowadzeniu badań, sformułowaniu wniosków. Opracowanie treści manuskryptu (60%).
- VIII. Kula J., Sikora M., **Bonikowski R.** Metylotienylo analog linalolu oraz sposób jego otrzymywania Patent RP **PL 210978**, 2012
Indywidualny wkład: współudział w opracowaniu koncepcji pracy, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, i przeprowadzeniu badań. Współudział w opracowaniu treści zgłoszenia patentowego (40%).
- IX. **Bonikowski R.**, Sikora M., Kula J. 5-Metylotienyloanalog cytronellolu Patent RP **PL 213677**, 2013
Indywidualny wkład: koncepcja pracy, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, i przeprowadzeniu badań. Opracowanie treści zgłoszenia patentowego (40%).
- X. **Bonikowski R.**, Sikora M., Kula J. 2-Tienyloanalog nerolidolu Patent RP **PL 213678**, 2013
Indywidualny wkład: koncepcja pracy, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, i przeprowadzeniu badań. Opracowanie treści zgłoszenia patentowego (40%).

- XI. **Bonikowski R.**, Janecka K., Kula J. Analog geranyloacetonu Patent RP **PL 216557**, 2014
Indywidualny wkład: koncepcja pracy, pozyskanie środków w ramach projektu badawczego własnego, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, i przeprowadzeniu badań. Opracowanie treści zgłoszenia patentowego (85%).
- XII. **Bonikowski R.**, Świtakowska P., Kula J., Wajs-Bonikowska A. Analog geranyloacetonu Patent RP **PL 216558**, 2014
Indywidualny wkład: koncepcja pracy, pozyskanie środków w ramach projektu badawczego własnego, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, i przeprowadzeniu badań. Opracowanie treści zgłoszenia patentowego (80%).

*5-IF 2014 – ponieważ *impact factor* dla ww. czasopism nie został obliczony za rok 2015, dlatego podany jest 5-letni IF wyliczony przez Thompson Reuters dla roku 2014, dostępny na Web of Science

**pkt MNiSW – punkty zgodne z wykazem opublikowanym przez MNiSW w dniu 31 grudnia 2014 roku

Oświadczenia współautorów odnośnie ich udziału w powstawaniu wspólnych publikacji stanowiących cykl publikacji powiązanych tematycznie zostały zamieszczone w **Załączniku 4**.

Osiągnięcie będące podstawą ubiegania się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk technicznych, w dyscyplinie technologia chemiczna zostało przedstawione w cyklu publikacji o łącznym współczynniku wpływu *Impact Factor* = **11,401**. Pozostałe osiągnięcia naukowe zostały opisane w publikacjach o IF = **21,382**. Sumaryczny *Impact Factor* wynosi **32,783**, który zgodnie z kryteriami Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego opublikowanymi w komunikacie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie wykazu czasopism naukowych z 31 grudnia 2014 roku, ocenia się łącznie na **564** punkty (**881** punktów łącznie z patentami oraz zgłoszeniami patentowymi). *Index Hirscha* według Web of Science Core Collection wynosi **5** (60 cytowań bez autocytowań).

3. Omówienie osiągnięć badawczych przedstawianych do oceny

3.1. Temat badawczy i jego cel

Pochodne wybranych terpenoidów i ich aktywność biologiczna.

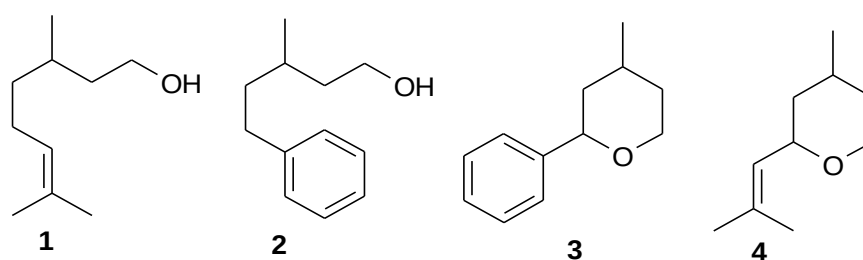
Przedstawiane do oceny osiągnięcie naukowe jest wynikiem badań prowadzonych w latach 2006–2015, które to badania obejmowały uzyskanie pochodnych terpenoidów i ich charakterystykę sensoryczną, spektralną oraz określenie aktywności wobec patogennej mikroflory i wybranych ludzkich komórek nowotworowych i prawidłowych.

Substancje zapachowe obecne są na każdym etapie naszego życia i w każdej jego chwili. Aromatyzowane są kosmetyki dla noworodków, soki owocowe w celu uzupełnienia ich „smakowości”, pasty do zębów, herbaty, wędliny czy też odzież, którą płuczemy w płynach zmiękczających. Zapach świeżego chleba uwalniany w marketach zachęca do pozostawienia w sklepie większej kwoty pieniędzy. W roku 2014 rynek związków zapachowych wygenerował sprzedaż na poziomie około 25 miliardów dolarów i nieustannie rośnie o około 4,5% rocznie (Leffingwell & Associates, 2015).

Jednocześnie najważniejsze i powszechnie stosowane związki, takie jak cytral, cytronelol, geraniol, linalol, farnesol, zgodnie z „Dyrektywą kosmetyczną” zaliczane są do grupy **26 potencjalnych alergenów kontaktowych**, a ich zawartość w produktach kosmetycznych jest ściśle limitowana (Dyrektywa Rady Europy, 1976; Rozporządzenie Ministra Zdrowia, 2005). Zgodnie z wydaną przez Komitet Naukowy ds. Bezpieczeństwa Konsumentów UE „Opinią w sprawie alergenów zapachowych w produktach kosmetycznych”, na podstawie doniesień klinicznych, 54 związki oraz 28 ekstraktów naturalnych używanych w kompozycjach zapachowych stanowi czynniki wywołujące alergię kontaktową (SCCS, 2011). Atrakcyjność zapachowa i powszechność stosowania tych związków (np. linalol obecny jest w niemal 80% kompozycji) powoduje, że konieczne jest poszukiwanie syntetycznych analogów o zbliżonej charakterystyce zapachowej. **Syntetyczne odoranty** cechują się często jakością i trwałością zapachu znacznie przewyższającą produkty naturalne i uzyskiwane są przy wielokrotnie mniejszych nakładach finansowych. Zgodnie z obecnym stanem wiedzy w przeciwieństwie do swoich naturalnych odpowiedników, z uwagi na odmienną budowę, wykazują one **brak działania alergizującego**. Nierzadko posiadają również inne korzystne cechy, takie jak działanie hamujące namnażanie patogennej mikroflory, co umożliwia wyeliminowanie lub redukcję

zawartości w różnych produktach tradycyjnie stosowanych konserwantów (Stoffels, 2012; Thormar, 2010).

Zgodnie z europejskimi standardami osiągnięcia nauki powinny wspierać rozwój nowoczesnych technologii. Dla przemysłu kosmetycznego i spożywczego, w których wykorzystuje się związki zapachowe, **ważnym elementem technologicznym** jest zastosowanie komponentów o **wysokiej substantsyjności**, co wpływa korzystnie na jakość otrzymywanych produktów oraz ekonomię procesu produkcyjnego. **Naturalne terpenoidy**, szczególnie monotereny i ich pochodne, często cechują się stosunkowo **wysoką prężnością par**, a co za tym idzie niską substantsyjnością i trwałością zapachu. Istnieje możliwość znacznego polepszenia tych parametrów poprzez zastosowanie cięższych ugrupowań mimicznych z jednoczesnym zachowaniem części olfaktoforowej odorantów. Przykładem są **syntetyczne** cząsteczki (rys. 1), w których ugrupowanie izobutenylowe zostało zastąpione podstawnikiem fenylovym: strukturalnie zbliżony do cytronelolu (**1**) phenoxanol[®] (**2**) o ponad dziesięciokrotnie **niższej prężności par** oraz doremox[®] (**3**) – zbliżony do tlenku różanego (**4**) (Kraft, 2000).



Rysunek 1. Cytronelol (**1**), phenoxanol[®] (**2**), doremox[®] (**3**), tlenek różany (**4**).

Osiągnięcie badawcze przedstawione do oceny w związku z ubieganiem się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk technicznych, w dyscyplinie technologia chemiczna, jest efektem badań naukowych, których koncepcja opracowana była przeze mnie lub przy moim znaczącym współudziale (tienyloanalogi acyklicznych terpenoidów).

Uzyskane związki były poddane charakterystyce sensorycznej (we współpracy z prof. dr hab. inż. Józefem Kulą), badaniom w zakresie określenia ich aktywności cytotoksycznej/cytostatycznej (we współpracy z dr inż. Małgorzatą Zakłos-Szyda) oraz badaniom w zakresie określenia ich aktywności antymikrobowej (we współpracy z dr hab. inż. Aliną Kunicką-Styczyńską i dr Moniką Sienkiewicz).

3.2. Otrzymywanie i charakterystyka ośmiu nowych związków, strukturalnie zbliżonych do naturalnych terpenoidów

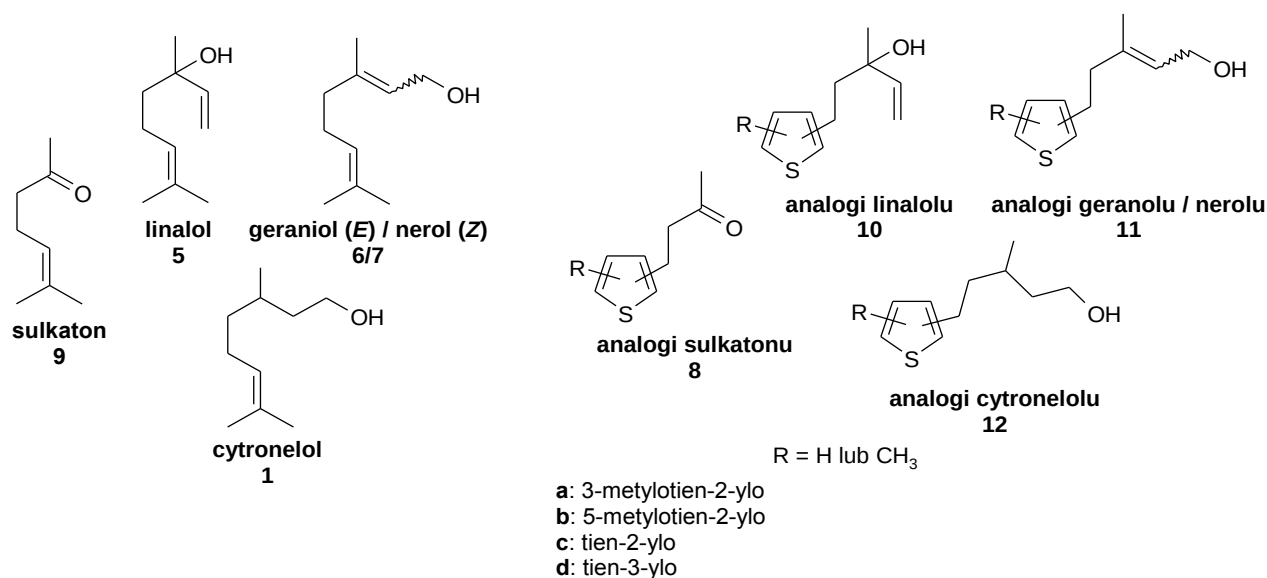
(wyniki zostały zamieszczone w publikacjach I- III oraz V-XII, zebranych w Załączniku 4)

Podstawowym założeniem prowadzonych przeze mnie badań było **otrzymanie nowych** połączeń organicznych cechujących się **korzystnymi walorami sensorycznymi**, zbliżonymi do naturalnie występujących terpenoidów, jednakże o znacznie **obniżonej lotności**.

Pierwszą grupą związków, które spełniały te wymogi były pochodne monoterpenoidów, w których część izobutenylowa zastąpiona została ugrupowaniem tienylowym lub metylotienylowym. W ramach tych prac, prowadzonych z wykorzystaniem **łatwo dostępnych substratów** (tienylometanal, metylotiofen), otrzymałem związki strukturalnie zbliżone do cenionych monoterpenoidów, zaliczanych do grupy alkoholi różanych: linalolu (**5**), geraniolu (**6**), nerolu (**7**) oraz cytronelolu (**1**) (rys. 2). Linalol, jak już wspomniałem, jest jednym z najważniejszych składników kompozycji zapachowych. Cechuje się on zapachem cytrusowo-kwiatowym z nutą różaną i drzewną. Geraniol oraz nerol to najważniejsze zapachowo składniki olejku różanego, a ich zapach opisywany jest jako słodki, kwiatowy i różany. Cytronelol posiada podobny do geraniolu i nerolu zapach z wyraźną nutą cytrusową i zieloną.

Pierwszym etapem syntezy było otrzymanie analogów sulcatonu **8** (sulcaton - 6-metylohept-5-en-2-on, struktura **9**, rys. 2) poprzez alkilowanie pierścienia aromatycznego 2- oraz 3-metylotiofenu but-3-en-2-onem w obecności trifluorku boru (Dujardin, 1994) oraz kondensację tien-2-ylometanal i tien-3-ylometanal z acetonem i selektywną redukcję wytworzonego α,β -sprzężonego wiązania podwójnego (Nishiyama, 1991). Kolejnym krokiem była addycja chlorku winylomagnezowego prowadząca do **nowych analogów linalolu 10** z wydajnością około 70%. Przegrupowanie allilowe uzyskanych alkoholi trzeciorzędowych **10** w zaadaptowanym trzyetapowym procesie skutkowało otrzymaniem **nowych odpowiedników geraniolu/nerolu 11** z wydajnością około 45%. Reakcja ta obejmowała w kolejności: substytucję nukleofilową z użyciem tribromku fosforu i utworzenie pierwszorzędowego bromku geranylu/nerylu; substytucję nukleofilową z zastosowaniem octanu potasu do analogów octanu geranylu/nerylu oraz alkaliczną hydrolizę do alkoholi pierwszorzędowych (Sakurai, 1983). W wyniku procesu otrzymałem mieszaninę produktów o stosunku analog geraniolu do analog nerolu 3:1 (*E:Z*). Wyniki zostały potwierdzone technikami jądrowego rezonansu magnetycznego. **Nowe analogi cytronelolu 12** pozyskałem wykorzystując, w celu przedłużenia łańcucha analogów sulcatonu, reakcję Hornera–Wadswortha–Emmonsa. Addycja fosfonooctanu trietylu w obecności etanolanu sodu prowadząca do α,β -nienasyconych odpowiedników estrów

etylowych kwasu geraniowego/nerowego zachodziła z wydajnością od 70 do 90%. Ze względu na obecność atomu siarki w cząsteczce, próby selektywnej redukcji wytworzonego wiązania sprzężonego gazowym wodorem z zastosowaniem katalizatorów palladowych nie przyniosły spodziewanego rezultatu. Zastosowałem **nową** dla tej grupy związków **metodę**, w której użyte zostały **wiórki magnezowe w metanolu** (Hudlicky, 1987). Pozwoliło to osiągnąć zamierzony cel. Otrzymane surowe odpowiedniki estrów metylowych kwasu cytronelowego poddałem redukcji do **nowych analogów cytronelolu** z użyciem tetrahydroglinianu litu z wydajnością 50-85%.



Rysunek 2. Struktury macierzystych terpenoidów (po lewej) oraz tienyloanalogów (po prawej).

Wszystkie omówione powyżej związki cechowały się charakterystykami **zapachowymi zbliżonymi** do macierzystych terpenoidów, przy czym wykazywały trzydziesto-czterdziestokrotnie **niższe lotności**. Parametr ten został oznaczony za pomocą **zmodyfikowanej i ulepszonej** przeze mnie **metody** określającej współczynniki lotności względnych. Pierwotnie metodyka oznaczenia współczynników lotności względnych opierała się na określeniu stosunku zawartości związku badanego i wzorca (macierzystego terpenoidu) w fazie nadpowierzchniowej w odniesieniu do stosunku ich udziałów procentowych w fazie ciekłej. W tym celu wykorzystywana była mikroekstrakcja do fazy stałej – SPME (Kula, 2005). Metodyka ta dobrze sprawdza się dla oznaczeń przeprowadzanych dla związków o podobnym powinowactwie do fazy stacjonarnej włókna SPME. Ponieważ warunek ten nie jest spełniony dla mieszanin opisywanych tienyloanalogów i macierzystych terpenoidów, zastosowałem odmianę statyczną analizy - headspace. Wyeliminowało to dyskryminację analitów na etapie ekstrakcji do nośnika

stałego na skutek różnic w powinowactwie do fazy stacjonarnej włókna SPME. Oznaczona **trwałość zapachowa** była dwudziesto- trzydziestokrotnie **wyższa**.

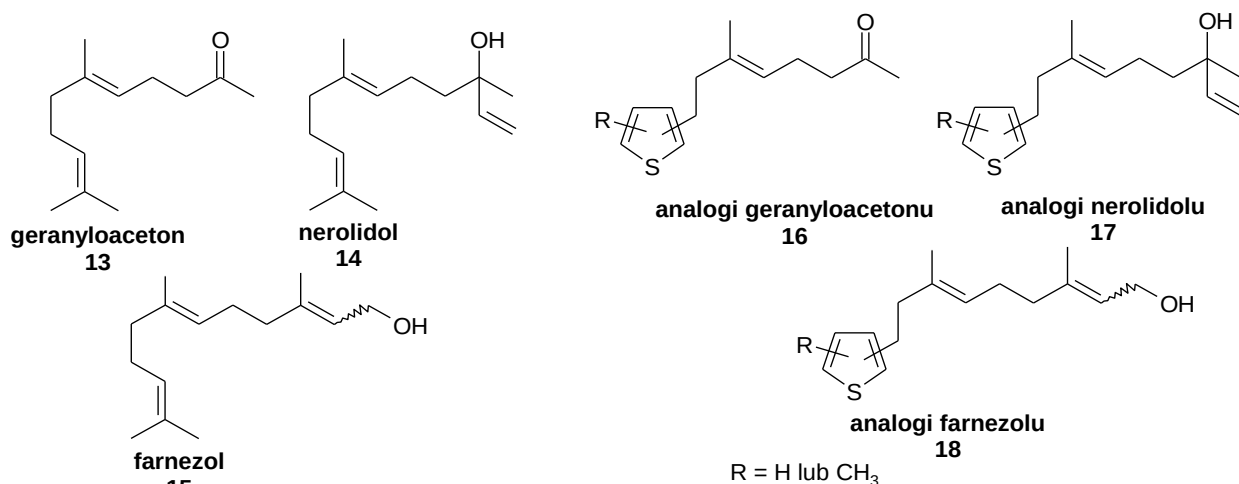
Część z opisanych powyżej związków została objęta ochroną patentową: 5-Metylotien-2-yloanalog cytronelolu (Patent RP PL **213677**), 3-metylotien-2-yloanalog cytronelolu (Patent RP PL **213676**) oraz 5-metylotien-2-yloanalog linalolu (Patent RP PL **211069**). 3-Metylo-5-(3-metylotiofen-2-ylo)pent-1-en-3-ol.

Stanowiący przedmiot patentu „Metylotienylo analog linalolu oraz sposób jego otrzymywania” (Patent RP PL **210978**) **został wdrożony** w kompozycji perfumeryjnej przez firmę Verona Products Professional sp. z o.o. **Opracowałem założenia technologiczne** i metodykę syntezy tego związku w **skali ćwierćtechnicznej**. Metylotienylo analog linalolu jest aktualnie wytwarzany w ilości 5 kg w jednej szarży produkcyjnej co pozwala na uzyskanie w przybliżeniu pół tony produktu finalnego - wody perfumowanej.

Uzyskane wyniki opisano w Bonikowski R. i inni, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **2009** oraz patentach polskich **PL 210978**, **PL 213677** i **PL 213678** (odpowiednio pozycja I, VIII, IX i X cyklu publikacji).

Ponieważ metodyka pozyskiwania nowych tienyloanalogów linalolu cechowała się wysoką czystością uzyskiwanych produktów i dobrą wydajnością, postanowiłem wykorzystać te związki jako substraty do syntezy cenionych ze względu na swoje walory sensoryczne analogów naturalnych seskwiterpenoidów takich jak geranyloaceton (**13**), nerolidol (**14**) oraz farnesol (**15**). Związki te są powszechnie używane w kompozycjach perfumeryjnych i chemii gospodarczej, w mniejszym stopniu w aromatach spożywczych. Geranyloaceton posiada zapach świeży, zielony, kwiatowy, lekko drzewny. Nerolidol cechuje się zapachem kwiatowym, zielonym, lekko woskowym. Farnesol natomiast posiada słaby zapach kwiatowy.

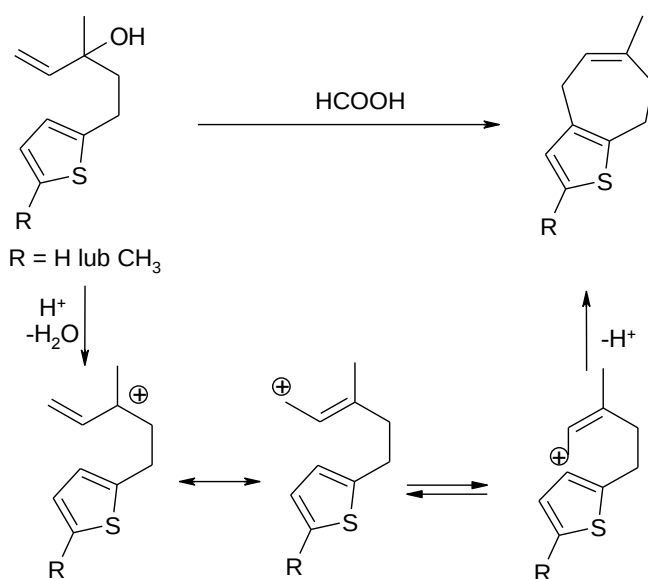
Geranyloaceton pozyskuje się, również w praktyce przemysłowej, poprzez przegrupowanie Carrolla acetylooctanu uzyskanego z linalolu. Postanowiłem wykorzystać tą metodę do syntezy **nowych związków**, zbliżonych strukturalnie do geranyloacetonu. Reakcja ta, w której rolę substratów spełniały tienylo-/metylotienyloanalogi linalolu, prowadziła do analogów geranyloacetonu **16** (wydajność 68-76%). Z tych ostatnich otrzymałem **nowe analogi** kolejnych **seskwiterpenoidów**: nerolidolu **17** w wyniku addycji chlorku winylomagnezowego (wydajność około 70%), farnesolu **18** poprzez przegrupowanie allilowe otrzymanych analogów nerolidolu z wydajnością około 40% (rys. 3).



Rysunek 3. Struktury seskwiterpenoidów (po lewej) oraz tienyloanalogów (po prawej).

W grupie tienyloanalogów acyklicznych seskwiterpenoidów **najcenniejszymi** pod względem sensorycznym okazały się **analogi geranyloacetonu** oraz **nerolidolu** stanowiące przedmiot ochrony własności intelektualnej (tien-3-yloanalog nerolidolu; Patent RP PL **213679**, tien-2-yloanalog nerolidolu; Patent RP PL **213678**, tien-2-yloanalog geranyloacetonu; Patent RP PL **214331**, 3-metylotien-2-yloanalog geranyloacetonu; Patent RP PL **214375** oraz 5-metylotien-2-yloanalog geranyloacetonu; Patent RP PL **214374**). Molekuły strukturalnie zbliżone do farnezolu były niemal bezwonne (*dane niepublikowane*). W zakresie syntezy nowych tienyloanalogów acyklicznych terpenów współpracowałem z dr inż. Magdaleną Sikorą. Projekt ten realizowany był w ramach grantu własnego, którego koncepcję opracowałem wspólnie z prof. dr hab. Józefem Kulą.

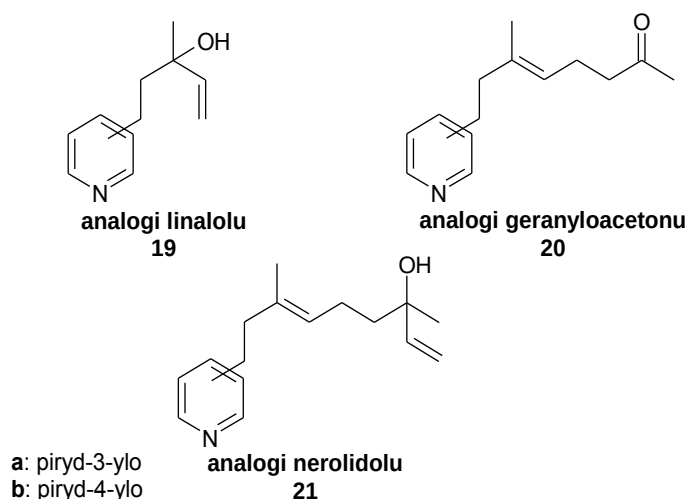
W trakcie badań prowadzonych nad doбором warunków przegrupowania alilowego analogów linalolu do analogów geraniolu i nerolu, gdzie układ aromatyczny podstawiony był w pozycji 2 lub 2 i 5, jedną z testowanych możliwości było zastosowanie kwasu mrówkowego jako katalizatora. Analiza powstałych produktów wykazała, że ulegały one zupełnie odmiennej, **nowej** dla tej klasy związków, **reakcji**, której produkt stanowił bicykliczny układ 4*H*-cyklohepta[*b*]tiofenu (rys. 4).

Rysunek 4. Synteza układu 4*H*-cyklohepta[*b*]tiofenowego.

Najprawdopodobniej reakcja ta zapoczątkowana jest przez wytworzenie trzeciorzędowego allilowego karbokationu w wyniku odszczepienia protonowanej grupy hydroksylowej. Przegrupowanie (migracja) wiązania wielokrotnego skutkuje powstaniem pierwszorzędowego karbokationu stabilizowanego przez rezonans. Kation ten atakuje pierścień aromatyczny i w wyniku substytucji elektrofilowej dochodzi do zamknięcia układu bicyklicznego z regeneracją katalizatora. Mechanizm ten potwierdza obecność w mieszaninie produktów mrówczanów odpowiednich alkoholi pierwszorzędowych (mrówczanów tienyloanalogów nerolu i geraniolu) powstałych na skutek przyłączenia reszty kwasu mrówkowego do pierwszorzędowych karbokationów. Badania te prowadzone były równolegle przez dr inż. Macieja Balawejdera, którego obiektem przekształceń były furyloanalogi terpenoidów.

Badania te zostały opisane w Kula J. i inni, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **2009** (pozycja III cyklu publikacji).

Dane literaturowe wskazują, że pirydyloanalogi związków zapachowych wykazują ciekawe właściwości sensoryczne. W latach 90 ubiegłego stulecia Narula (International Flavor & Fragrances) opatentował pirydyloanalogi nitylu grapefruitowego cechujące się zapachem zielonym, ziołowym, świeżo skoszonego siana z nutą miętową (Narula, 1994). Licząc na podobny efekt zastosowałem analogiczny, jak dla tienyloanalogów, schemat przekształceń do otrzymania **nowych piryd-3-yloanalogów** oraz **piryd-4-yloanalogów** linalolu, geranyloacetonu i nerolidolu (rys. 5).



Rysunek 5. Struktury pirydyloanalogów acyklicznych seskwiterpenoidów.

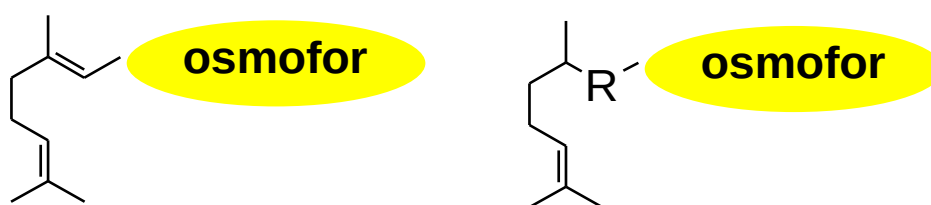
Substratami w tym szeregu przekształceń były piryd-3-ylo- oraz piryd-4-ylokarboaldehyd, które w wyniku addycji ylidu acetylometylotrifenylofosfoniowego oraz selektywnej redukcji wytworzonego sprzężonego wiązania podwójnego z wykorzystaniem przeniesienia wodoru, dały analogi sulkatonu z wydajnością około 60%. Z tychże uzyskałem pożądane związki strukturalnie zbliżone do linalolu **19**, geranyloacetonu **20** i nerolidolu **21** (wydajność odpowiednio około 70, 30 i 90%).

Związki te, prawdopodobnie ze względu na zawartość atomu azotu, charakteryzowały się odmiennymi właściwościami zapachowymi niż naturalne terpenoidy. Analogi linalolu były bezwonne, piryd-3-yloanalog geranyloacetonu (**20a**) posiadał zapach ziołowo-kwiatowo-waniliowy, natomiast piryd-4-yloanalog geranyloacetonu (**20b**) wykazywał nieprzyjemny, bardzo silny zapach mokrego drewna, mokrej ziemi i surowego ciasta. Odmienne, piryd-4-yloanalog nerolidolu (**21b**) cechował się przyjemnym, korzennym i aromatycznym zapachem, zaś piryd-3-yloanalog nerolidolu (**21a**) był go pozbawiony. Uzyskane pirydyloanalogi nie posiadały więc zadawalających charakterystyk sensorycznych, co uniemożliwiło opublikowanie wyników w specjalistycznym czasopiśmie znajdującym się na liście filadelfijskiej. Z drugiej strony, ze względu na zastosowaną metodę syntezy, jest to interesująca grupa związków. Ich zasadowy charakter znacznie ułatwia izolowanie produktów ze środowiska reakcji i często wystarcza je odmyć rozcieńczonym kwasem solnym ze środowiska reakcji. Odkrycie nowych odorantów z tej rodziny wymaga jednak dalszych poszukiwań.

Powyższe dane opisano w publikacji Jabłońska A. i inni, *Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej. Chemia Spożywcza i Biotechnologia*, **2009** (pozycja II cyklu publikacji). W zakresie syntezy nowych pirydyloanalogów acyklicznych terpenoidów współpracowałem z mgr inż.

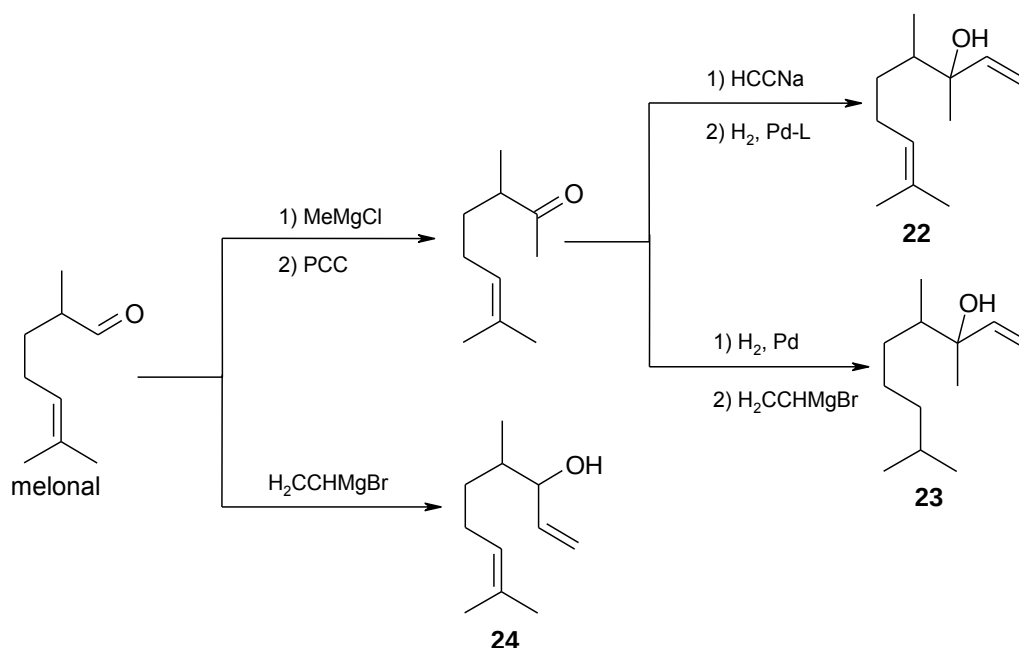
Anetą Jabłońską oraz mgr inż. Pauliną Świtakowską, które wykonywały pod moją opieką prace dyplomowe magisterskie.

W latach sześćdziesiątych ubiegłego stulecia Mińkovskii opisał szereg związków zbliżonych strukturalnie do naturalnych monoterpenuoidów, między innymi analog linalolu **22** (rys. 7). Związki te cechowała podobna charakterystyka sensoryczna jak w przypadku naturalnych terpenoidów (Mińkovskii 1969). Dysponując odpowiednią metodyką syntezy analogów seskwiterpenoidów postanowiłem uzyskać szereg związków zbliżonych strukturalnie do geranyloacetonu, nerolidolu, farnezolu, farnezalu oraz octanu farnezylu. Założeniem tych badań było zachowanie układu 6-metylohept-5-enowego macierzystych terpenoidów i ugrupowania osmoforowego. Modyfikacje (długość, stopień nienasycenia oraz liczba podstawników) zostały wprowadzone wewnątrz łańcucha oznaczonego jako R co schematycznie ilustruje rysunek 6.



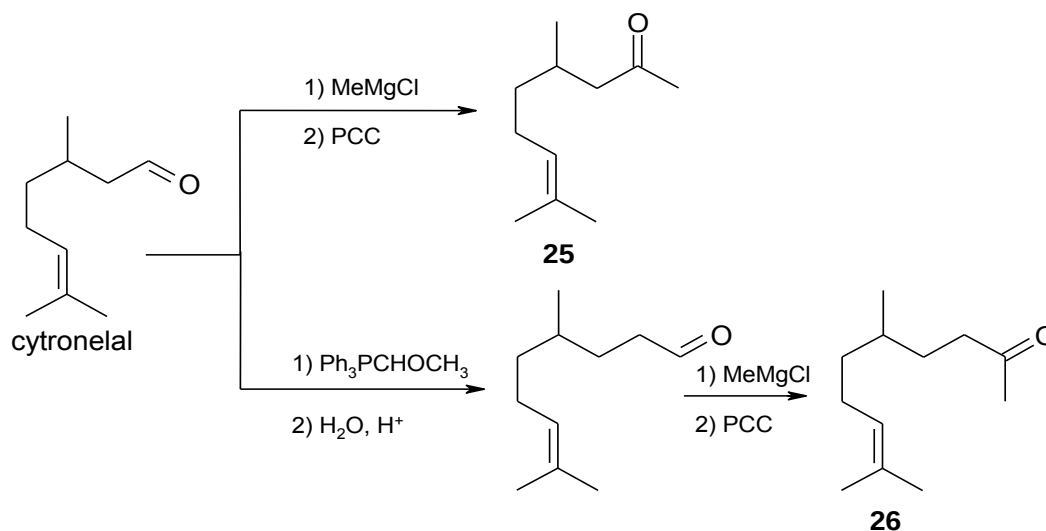
Rysunek 6. Schematyczne przedstawienie analogii strukturalnej alifatycznych analogów acyklicznych terpenoidów. Po lewej struktura naturalnych terpenoidów, po prawej analogów.

Jako substratów użyłem opisanych w literaturze alkoholi allilowych **22-24** oraz ketonów **25, 26** (Odinokov, 2000; Saucy, 1980; Saikia, 1996; Tu, 2000). Ponieważ **znana** dotychczas **metodyka** otrzymywania tych związków cechowała się **wieloetapowością**, użyciem **kosztownych katalizatorów** oraz **niskimi wydajnościami**, pozyskałem je **nowymi opracowanymi przez siebie metodami**. Alkohole **22-24** zostały otrzymane z komercyjnie dostępnego melonalu (2,6-dimetylohept-5-enal) w następujący sposób (rys. 7): **22** addycja halogenku metylomagnezowego, utlenianie chlorochromianem pirydyny (PCC), addycja acetylenku sodowego, hydrogenacja na katalizatorze Lindlara pod ciśnieniem atmosferycznym; **23**: addycja halogenku metylomagnezowego, utlenianie z użyciem PCC, redukcja wiązania podwójnego węgiel-węgiel, przyłączenie halogenku winylomagnezowego; **24**: addycja halogenku winylomagnezowego.

Rysunek 7. Metoda syntezy i struktury alkoholi **22-24**.

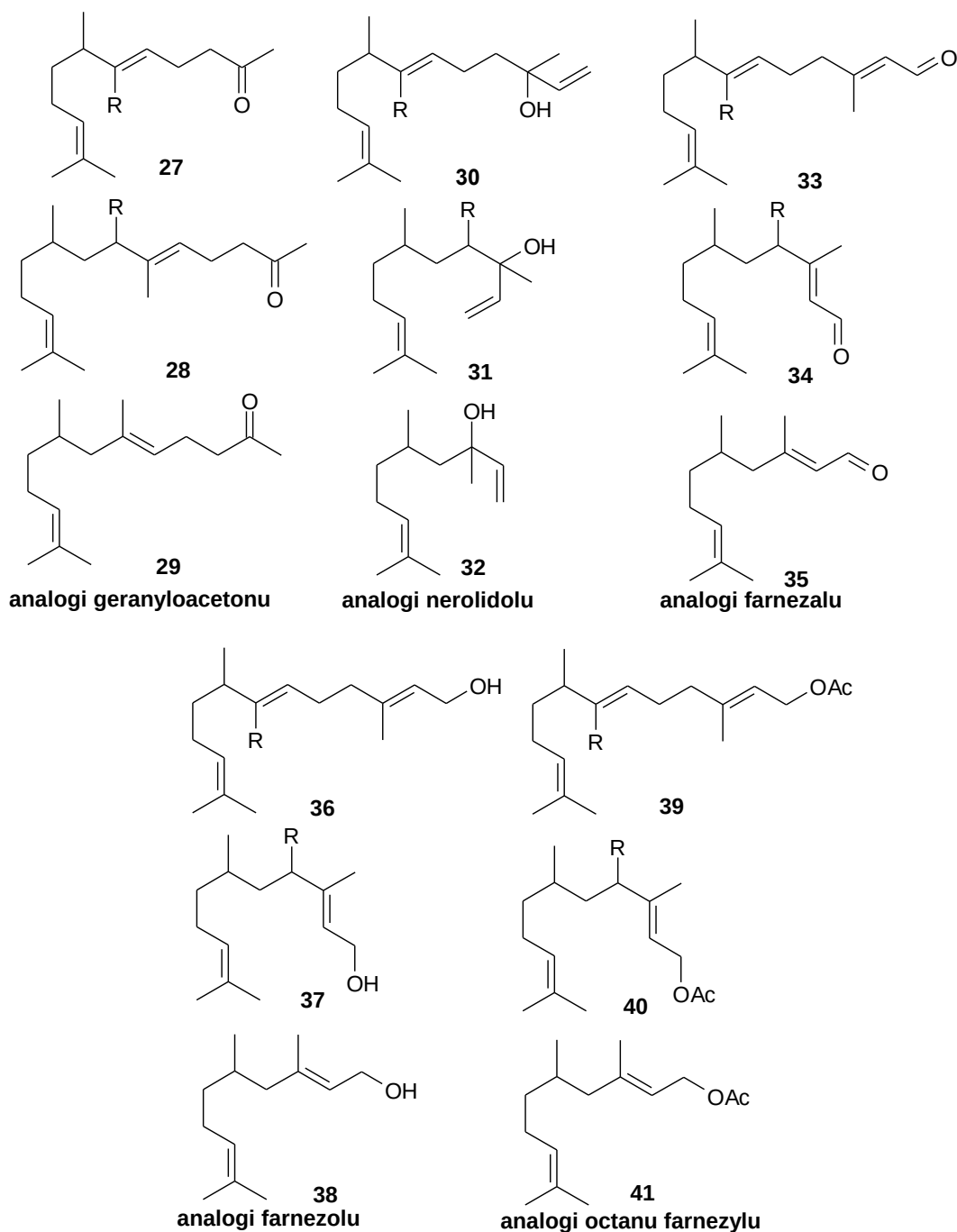
Ketony **25** i **26** otrzymałem z cytronelalu (3,7-dimetylooct-6-enal) odpowiednio poprzez (rys. 8): addycję halogenku metylomagnezowego i utlenienie z zastosowaniem PCC oraz addycję ylidu (metoksymetylo)trifenylfosfoniowego, kwasową hydrolizę uzyskanego eteru winylowego, addycję halogenku metylomagnezowego i utlenienie za pomocą PCC.

Nowe metody cechowała prostota wykonania oraz wysokie, przekraczające 50%, wydajności całkowite (w przeliczeniu na melonal oraz cytronelal).

Rysunek 8. Metoda syntezy i struktury ketonów **25** i **26**.

Podobnie jak w syntezie wcześniej opisanych tienylo- oraz pirydyloanalogów, do otrzymania analogów seskwiterpenoidów zostały wykorzystane **proste** i stosowane w praktyce przemysłowej **przekształcenia** chemiczne. Pirolityczne przegrupowanie acetylooctanów

alkoholi **22-24** i następcza dekarboksylacja powstałego oksokwasu (przegrupowanie Carrolla) prowadziło do analogów geranyloacetonu **27-29** z wydajnością 53-77%. Stosunek powstałych w wyniku przegrupowania izomerów *E/Z* był bliski 6:4, z wyjątkiem związków **27a** oraz **29** gdzie stosunek ten wynosił odpowiednio 95:5 oraz 8:2. Kolejną wykorzystywaną reakcją była addycja odczynnika Grignarda (bromku winylomagnezowego) dzięki której otrzymane zostały analogi nerolidolu **30-32** (wydajność 62-95%). Przegrupowanie allilowe uzyskanych alkoholi trzeciorzędowych (analogów nerolidolu) do sprzężonych aldehydów – analogów farnezału **33-35** – z udziałem chlorochromianu pirydyny zachodziło z wydajnością w zakresie 71-83%. Stosunek izomerów geometrycznych *E/Z* wynosił 2:1 z wyjątkiem związku **34a** – 3:2 oraz **35** gdzie wynosił 1:1. Otrzymane aldehydy cechowała niska trwałość, co wymuszało natychmiastowe dalsze przekształcenia. Redukcja uzyskanych aldehydów do analogów farnezołu **36-38** była prowadzona z wydajnością 47-49% z zastosowaniem tetrahydroboranu sodu jako czynnika redukującego. Ostatnim etapem w szeregu przekształceń była estryfikacja bezwodnikiem octowym do analogów octanu farnezyłu **39-41**, która zachodziła z wydajnością 69-90%. W wyniku tych prac otrzymano **trzydzieści nowych**, zbliżonych strukturalnie do naturalnych terpenoidów połączeń, których struktury ilustruje poniższy rysunek 9.



a: R = H, b: R = CH₃

27c, 30c, 33c, 36c, 39c: R = CH₃, uwodorniony fragment izobutenylowy

Rysunek 9. Struktury alifatycznych analogów acyklicznych terpenoidów.

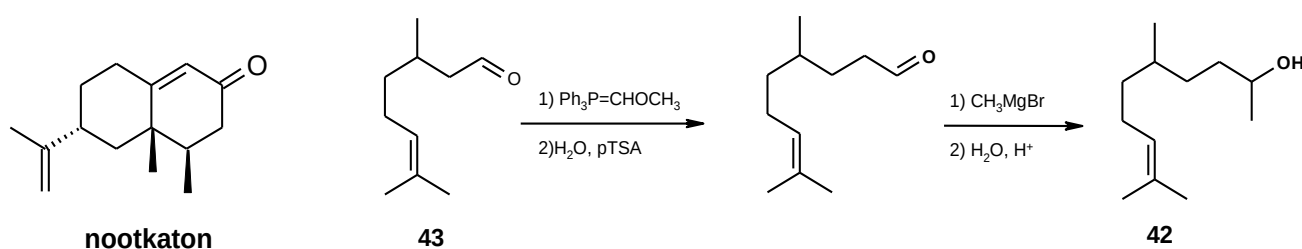
Spośród alifatycznych analogów acyklicznych terpenoidów, **najcenniejsze** pod względem zapachowym okazały się **analogi geranyloacetonu 27a** oraz **27b** stanowiące przedmiot ochrony własności intelektualnej (Patent RP PL **216557** oraz PL **216558**) o drzewno-zielonym zapachu zbliżonym do macierzystego terpenoidu z cenionymi nutami fiołkową i aldehydu MNA (metylononyloacetaldehyd). Związki **28** oraz **29** posiadały podobną charakterystykę

sensoryczną, w miarę wzrostu masy cząsteczkowej ich zapach był słabszy, nasilała się zaś nuta kwiatowa. Analogi nerolidolu posiadały przyjemny zapach kwiatowo-owocowy. Ze wzrostem masy molowej nasilała się nuta tłuszczowa. Zapach ten był jednak dużo słabszy w porównaniu do zapachu macierzystego terpenoidu. Związki strukturalnie zbliżone do farnesalu, cechujące się bardzo niską trwałością, okazały się bezwonne. Wyjątek stanowił aldehyd **35**, którego zapach można opisać jako kwiatowy z nutami tłuszczową i melonową. Analogi farnesolu posiadały słaby zapach kwiatowy. Odstępstwem był związek **34b**, który był bezwonny. Większość analogów octanu farnesylu była pozbawiona zapachu. Jedynym, który posiadał zapach, był analog **40b** o delikatnym zapachu pigwy. Związki z uwodornionym fragmentem izobutenylowym nie posiadały zapachu lub był on nikły, nieprzyjemny i tłuszczowy za wyjątkiem analogu geranyloacetonu **27c**, który charakteryzował się słabym zapachem zbliżonym do zapachu naturalnego geranyloacetonu z nutą kwiatowo-zieloną.

W zakresie syntezy alifatycznych analogów acyklicznych terpenoidów współpracowałem z mgr inż. Pauliną Świtakowską, pełniąc obowiązki promotora pomocniczego w jej przewodzie doktorskim. Otrzymane przez nas wyniki miały stanowić podstawę jej rozprawy doktorskiej. Analog geranyloacetonu **27a** otrzymywała mgr inż. Kamila Janecka w ramach swojej pracy dyplomowej magisterskiej wykonywanej pod moim nadzorem. Koncepcja zaplanowanych badań należała do mnie. Pozyskałem również środki na realizację powyższego projektu w ramach grantu własnego, którego byłem kierownikiem.

Powyższe badania zostały opisane w Bonikowski R. i inni, *Flavour and Fragrance Journal*, **2015** (analogi geranyloacetonu i nerolidolu), Bonikowski R. i inni *Molecules*, **2015** (pozostałe związki) i patentach polskich **PL 216557** oraz **PL 216558** (odpowiednio pozycja VI, VII, XI, XII cyklu publikacji).

W ramach opisanych powyżej badań, jako jeden z substratów do dalszych przekształceń, został uzyskany **nowy alkohol 42** (rys. 10). Otrzymano go z cytronelalu **43** w sekwencji reakcji: addycja ylidu (metoksymetylo)trifenylfosfoniowego, hydroliza powstałego eteru winylowego do 4,8-dimetylonon-7-enalu oraz addycja bromku metylomagnezowego.

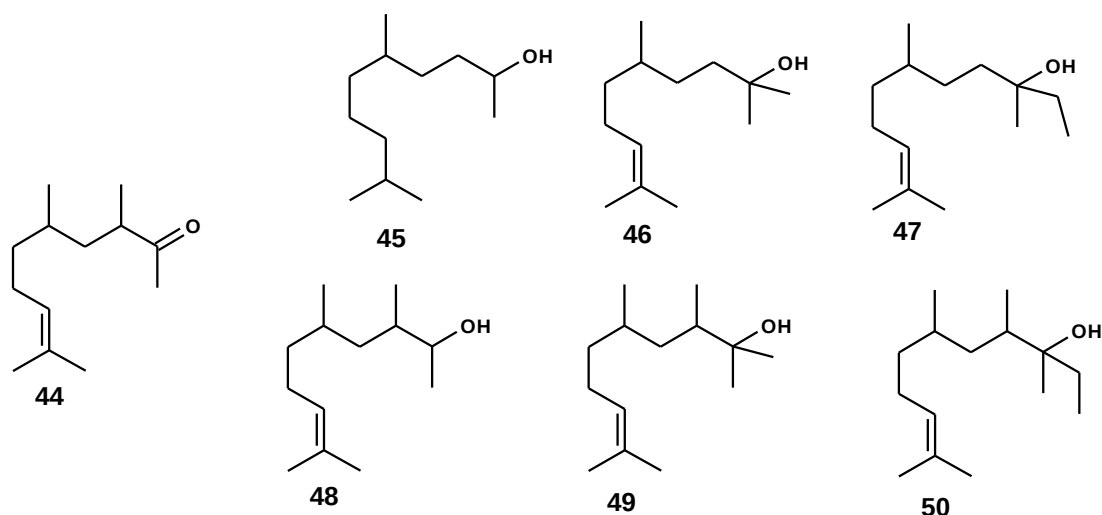


Rysunek 10. Struktura nootkatonu oraz synteza alkoholu **42**.

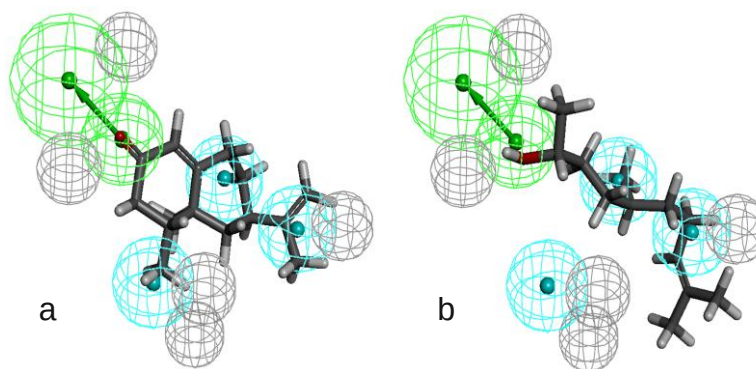
Związek ten charakteryzował się zapachem podobnym do nootkatonu, czyli charakterystycznym dla skórki grapefruita. Jest to **zapach bardzo cenny i pożądaný** zarówno w przemyśle perfumeryjnym jak i aromatów spożywczych. Ze względu na liczbę centrów stereogenicznych i wynikającą z tego trudność w syntezie nootkatonu, cena katalogowa tego związku wynosi około 600 zł za gram.

Z uwagi na dostępność cytronelalu w formie czystej optycznie, zostały otrzymane obie mieszaniny diastereoizomerów, ale o zdefiniowanej konfiguracji przy atomie węgla C-5 w łańcuchu. Ponieważ mieszaniny te, pomimo licznych prób, nie dawały się rozdzielić ani wzbogacić w poszczególne stereoizomery z zastosowaniem preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej oraz kolumnowej, podjąłem próby ich rozdzielenia na drodze enzymatycznej. Zgodnie z doniesieniami literaturowymi korzystne mogłoby okazać się zastosowanie lipazy *Candida antarctica* (Kazlauskas, 1991; Vidal, 2010). Uzyskane mieszaniny poddane zostały rozdzielowi z wykorzystaniem kinetycznie kontrolowanej estryfikacji w obecności tego enzymu i octanu winylu jako czynnika acylującego. Postęp reakcji kontrolowałem z zastosowaniem chromatografii gazowej na kolumnie z chiralną fazą stacjonarną. W wyniku przekształcenia otrzymałem czyste optycznie formy alkoholu **42** o konfiguracji *S* na atomie C-2 oraz ich octany o konfiguracji *R* i o nadmiarze enancjomerycznym powyżej 94%. Konfigurację absolutną potwierdziłem techniką protonowego jądrowego rezonansu magnetycznego estrów z kwasem Moshera. W celu pełnej charakterystyki sensorycznej i spektralnej pozyskanych produktów, alkohole przeprowadziłem w octany, natomiast octany zhydrolizowałem do alkoholi. Uzyskane alkohole nie różniły się znacznie charakterystyką zapachową i posiadały zapach cytrusowo-grapefruitowy, podobnie octany cechował zapach owocowy z nutą pigwy. W zapachu izomeru (2*R*,5*R*) alkoholu **42** wyczuwalna była dodatkowo nuta drzewna.

Ponieważ przypadkowo odkryty alkohol **42** posiadał wyjątkowo korzystne cechy sensoryczne, uzasadnione wydało się otrzymanie podobnych strukturalnie związków, które mogłyby cechować się podobną charakterystyką zapachową. W reakcji Grignarda z ketonu **26** (rys. 8, str. 16) oraz **44** (rys. 11) otrzymałem szereg, **nowych, analogicznych strukturalnie alkoholi (45-50)**. Keton **44** stanowi produkt kondensacji Darzensa związku **26** oraz 2-chloropropionianu etylu i przegrupowania powstałego kwasu glicydowego.

Rysunek 11. Keton **44** oraz alkohole o zapachu grapefruita.

Wszystkie z uzyskanych związków posiadały zapach grapefruitowy, związki **47-49** nieco słabszy aniżeli alkohol **42**. Zoptymalizowane struktury wszystkich omówionych powyżej związków o zapachu grapefruita oraz m.in. nootkatonu jako naturalnego wzorca zapachu grapefruitowego posłużyły mi do **wyznaczenia modelu olfaktora** zapachu grapefruitowego (rys. 12).

Rysunek 12. Związki dopasowane do olfaktora: a) nootkaton, b) alkohol **42**.

Rysunek zaczerpnięto z pozycji literaturowej V cyklu publikacji (Bonikowski R. i inni, *Flavour Frag J*, 2014).

Zgodnie z modelem, zapach grapefruitowy może być opisany następującymi parametrami sterycznymi: jeden akceptor wiązania wodorowego (kolor zielony), trzy części hydrofobowe (kolor błękitny) obejmujące podstawnik metylowy oraz izopropenylowy nootkatonu oraz pięć obszarów, w których nie powinien znajdować się żaden element steryczny cząsteczki (kolor szary). Dwa z nich po obu stronach akceptora wiązania wodorowego w płaszczyźnie

wyznaczonej przez skondensowany układ pierścieni nootkatonu, trzy pozostałe natomiast limitują rozmiar cząsteczki po przeciwnej do grupy karbonylowej stronie pierścienia. Jak wynika z otrzymanego modelu, słabszy zapach alkoholu **42** w stosunku do nootkatonu tłumaczy niewypełnienie jednej części hydrofobowej. Obecność podstawnika etylowego przy atomie węgla C-4 łańcucha poprawiłaby prawdopodobnie parametry sensoryczne. Prace nad otrzymaniem tego związku i weryfikacja hipotezy są w toku.

Prace nad powyżej wymienionymi związkami o zapachu grapefruita prowadziłem we współpracy z doktorantką mgr inż. Pauliną Świtakowską oraz magistrantami mgr inż. Justyną Gabrysiak i mgr inż. Krzysztofem Kajrukszo, których byłem opiekunem.

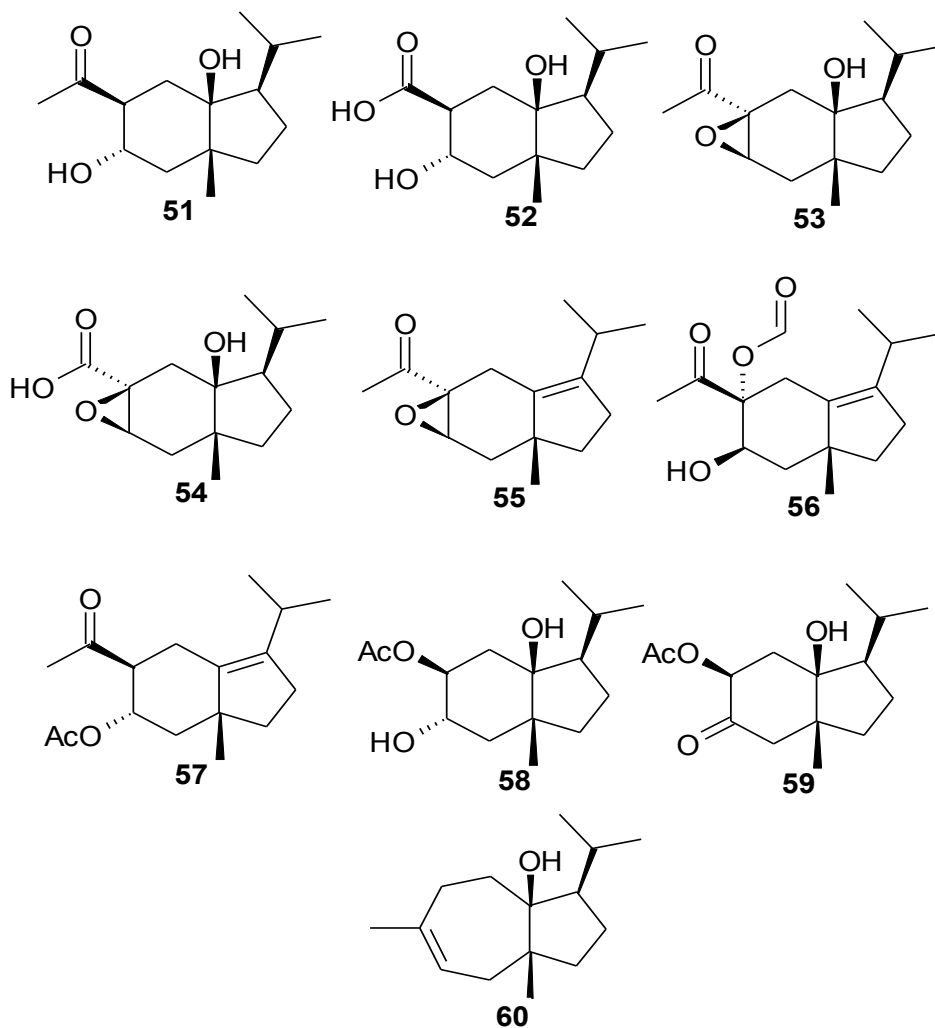
Trzy z otrzymanych związków o zapachu grejpfrutowym zgłoszone zostały do ochrony patentowej (Bonikowski R, Świtakowska P, Kula J “Homolog 2,4,8-trimetylonon-7-en-2-olu” – zgłoszenie patentowe P-**408809**, 2014, Bonikowski R, Świtakowska P, Kula J, Wajs-Bonikowska A “Pochodna 5,9-dimetylodec-8-en-2-olu” – zgłoszenie patentowe P-**408808**, 2014, Świtakowska P, Bonikowski R, Kula J, Wajs-Bonikowska A „Acykliczny alkohol, analog nootkatonu” – zgłoszenie patentowe P-**401957**, 2012). Nowe związki o zapachu grapefruita oraz model olfaktora zostały opisane w Bonikowski R. i inni *Flavour and Fragrance Journal* **2014** (pozycja V cyklu publikacji).

3.3. Bioaktywność nowych związków wobec komórek prawidłowych i nowotworowych linii komórkowych oraz mikroflory

(wyniki zostały zamieszczone w publikacjach I, II, IV, VI i VII, zebranych w Załączniku 4)

3.3.1. Aktywność cytotoksyczna/cytostatyczna

Często **polifunkcyjne** połączenia terpenoidowe wykazują **znaczącą aktywność** toksyczną wobec komórek nowotworowych. W swoich badaniach wykonanych w ramach rozprawy doktorskiej opracowałem metodykę syntezy nowych polifunkcyjnych pochodnych hydroindenu **51-59** (rys. 12), które stanowiły substraty do dalszych przekształceń. Związki te otrzymane zostały w wyniku przekształceń naturalnego (+)-karotolu **60** izolowanego z olejku eterycznego z nasion marchwi siewnej.



Rysunek 12. Chiralne, cytotoksyczne bloki budulcowe uzyskane (+)-karotolu **60**.

Stanowią one potencjalne czyste optycznie bloki budulcowe do syntezy analogicznych do naturalnych połączeń terpenoidowych, w tym erinacyń o działaniu stymulującym wzrost komórek nerwowych (Snider, 1996; Snider, 1998; Takeda, 2000). Po uzyskaniu stopnia doktora poszukiwałem dla powyżej wymienionych związków nowego zastosowania. Wydało mi się ciekawym określić ich właściwości cytotoksycznych wobec komórek zwierzęcych. W roku 2011 rozpocząłem współpracę z zespołem prof. dr hab. Marii Koziółkiewicz (Instytut Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej) w zakresie oznaczania aktywności cytotoksycznej/cytostatycznej tych związków. Zespół ten dysponuje dużą kolekcją komórek nowotworowych i prawidłowych.

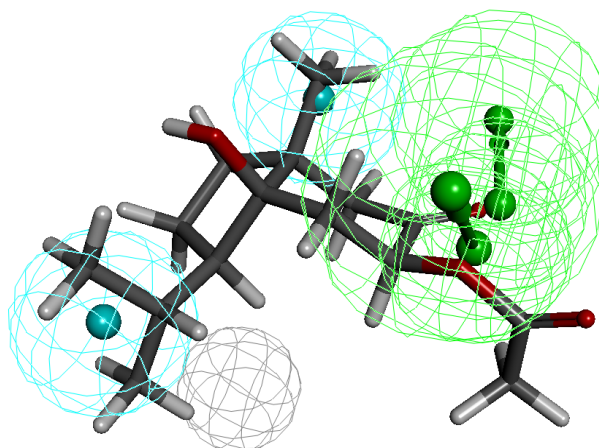
Aktywność cytotoksyczna związków została określona wobec ludzkiej linii komórkowej HL-60 (ostra białaczka promieloblastyczna). Parametry IC_{50} wyznaczone po 24-godzinnej inkubacji mieściły się w zakresie od 8 do 75 μM (szczegółowe dane zostały przedstawione w tabeli 1) i **były zbliżone do wartości IC_{50} dla bakatyny III** (część terpenoidowa paklitakselu, bez izoserynowego łańcucha bocznego), dla której oznaczone wartości IC_{50} wyniosły od 4 do 32 μM (Chakravarthi, 2013; Ueda, 2006). Chociaż były niższe aniżeli dla paklitakselu, naturalnie występującego alkaloidu terpenoidowego kory cisa krótkolistnego *Taxus brevifolia* Nutt., w mojej opinii cechują się wysoką aktywnością cytotoksyczną wobec linii komórkowej HL-60 (Kumar, 1995).

Tabela 1. Wartości stężeń hamujących przeżywalność komórek linii HL-60 o 50% (IC_{50}) przez związki **51-59** po 24 godzinach hodowli komórek w ich obecności.

Związek	IC_{50}
51	59
52	50
53	75
54	52
55	49
56	10
57	34
58	29
59	8

Dla tej serii związków wyznaczyłem **model farmakofora** (rys. 13) determinującego aktywność cytotoksyczną wobec komórek HL-60. Model ten opisują dwa akceptory wiązania wodorowego w odległości 2,5 Å od siebie (kolor zielony), dwie części hydrofobowe obejmujące podstawniki izopropylowy i metylowy pierścienia skondensowanego (błękitny) i jedną

przestrzeń wolną od zawad przestrzennych znajdującą się we wnętrzu utworzonej przez pierścień hydroindenowy.



Rysunek 13. Najaktywniejszy hydroksyoksoester **59** dopasowany do modelu farmakofora. Rysunek zaczerpnięto z pozycji literaturowej IV cyklu publikacji (Bonikowski R. i inni, *Tetrahedron Asymmetry*, **2012**).

Wyzaczyłem również zależność bioaktywności od momentu dipolowego opisywanych molekuł. Stwierdziłem, iż w miarę wzrostu polarności cząsteczki rośnie aktywność cytotoksyczna wobec komórek linii HL-60. Związane jest to ze zdolnością do tworzenia wiązań wodorowych co implikuje łatwiejszy transport przez błonę komórkową, mocniejsze wiązanie z triadą katalityczną enzymów komórkowych i inhibicję ich działania. Uzyskane wyniki okazały się bardziej interesujące niż początkowo oczekiwałem i zostały opisane w pracy Bonikowski R. i inni *Tetrahedron Asymmetry* **2012** (pozycja IV cyklu publikacji). Wyniki otrzymane w wyniku modelowania molekularnego konsultowałem z prof. dr hab. Stanisławem Wysockim.

Ze względu na owocną i efektywną współpracę z zespołem prof. Marii Koziółkiewicz w zakresie określania efektów cytotoksycznych/cytostatycznych wywoływanych przez nowe związki, postanowiłem określić te parametry również dla tienyloanalogów. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdziłem, że tienyloanalogi monoterpenoidów **10-12** (linalolu, geraniolu/nerolu, cytronelolu, rys. 2, str. 10) w stężeniach niższych niż 1000 μM nie wykazały aktywności cytotoksycznej wobec komórek linii HL60 po 24-godzinnej inkubacji. Stężenia tienyloanalogów seskwiterpenoidów **16-18** (geranyloacetonu, nerolidolu i farnezolu) hamujące w 50% aktywność metaboliczną komórek ostrej białaczki promieloblastycznej wynosiły około 20, 25 i 60 μM . Wyznaczona w sposób analogiczny wartość parametru IC_{50} dla naturalnego nerolidolu wyniosła 63 μM , natomiast dla naturalnego farnezolu - 16 μM (Dane niepublikowane, prezentowane na V Krajowym Sympozjum "Naturalne i Syntetyczne Produkty Zapachowe i Kosmetyczne").

Oddziaływanie cytotoksyczne/cytostatyczne wobec komórek prawidłowych oraz nowotworowych zostało zbadane również dla alifatycznych analogów acyklicznych terpenoidów **27-41** (rys. 9, str. 18) oraz macierzystych terpenoidów (geranyloaceton, nerolidol, farnezoł, farnezał oraz octan farnezyli) jako wzorców. Na tym etapie badań postanowiliśmy rozszerzyć spektrum badanych linii komórkowych. Eksperymenty przeprowadzono na komórkach nowotworowych: ostra białaczka promieloblastyczna (HL-60), czerniak złośliwy (MEWO), gruczolakorak jelita grubego (HT29) oraz komórkach prawidłowych: fibroblasty (HFIG), keratynocyty (HaCaT), nabłonek jelita cienkiego (IEC6). Uzyskane wyniki pozwoliły mi stwierdzić, że w badanym zakresie stężeń (10-1000 μM) żaden ze związków nie wykazuje znaczącej aktywności toksycznej wobec komórek nabłonkowych linii HT29 i IEC6. Co więcej, związki te nie wykazywały działania toksycznego wobec modelowych prawidłowych komórek skóry (fibroblasty i keratynocyty), jak i komórek czerniaka złośliwego w zakresie stężeń nieprzekraczających 450 μM . Wyniki te sugerują, że związki te mogłyby być **bezpiecznie stosowane** w preparatach kosmetycznych aplikowanych na skórę, co jednak powinno zostać poddane dalszym dogłębnym badaniom przedklinicznym i klinicznym.

Linia komórkową najwrażliwszą na badane związki okazała się być ostra białaczka promieloblastyczna HL-60. Stężenia farnezołu oraz jego analogów **36-38** hamujące o 50% aktywność metaboliczną komórek wynosiły 54-252 μM . Wartości IC_{50} dla analogów octanu farnezyli **39-41** były w zakresie 278-400 μM , związków strukturalnie zbliżonych do nerolidolu (**30-32**) 400-950 μM , analogów farnezału (**33-35**) 480-630 μM , natomiast dla analogów geranyloacetonu **27-29** wartości tej nie uzyskano w badanym zakresie stężeń. Dane zostały zebrane w tabeli 2, a wyniki badań zostały opisane w Bonikowski R. i inni *Molecules* **2015** (pozycja VII cyklu publikacji).

Tabela 2. Wartości IC_{50} (pogrubione) lub przeżywalność [%] $\pm$ odchylenie standardowe przy stężeniu 1000 μM alifatycznych analogów acyklicznych terpenoidów oraz związków macierzystych.

Związek	Komórki nowotworowe			Komórki prawidłowe		
	MEWO	HT29	HL-60	HFIG	HaCaT	IEC6
geranyloaceton	93% $\pm$ 4%	98% $\pm$ 8%	295	82% $\pm$ 7%	89% $\pm$ 3%	79% $\pm$ 6%
27a	99% $\pm$ 2%	98% $\pm$ 2%	67% $\pm$ 5%	92% $\pm$ 8%	101% $\pm$ 7%	82% $\pm$ 3%
27b	102% $\pm$ 5%	102% $\pm$ 6%	67% $\pm$ 5%	83% $\pm$ 2%	118% $\pm$ 5%	95% $\pm$ 7%
27c	94% $\pm$ 5%	111% $\pm$ 3%	72% $\pm$ 5%	81% $\pm$ 9%	90% $\pm$ 2%	97% $\pm$ 5%
28a	93% $\pm$ 5%	103% $\pm$ 9%	62% $\pm$ 8%	98% $\pm$ 7%	112% $\pm$ 8%	78% $\pm$ 4%
28b	112% $\pm$ 4%	92% $\pm$ 1%	59% $\pm$ 7%	102% $\pm$ 3%	100% $\pm$ 5%	81% $\pm$ 5%
29	83% $\pm$ 9%	107% $\pm$ 8%	69% $\pm$ 0%	85% $\pm$ 6%	89% $\pm$ 4%	76% $\pm$ 2%

Związek	Komórki nowotworowe			Komórki prawidłowe		
	MEWO	HT29	HL-60	HFIG	HaCaT	IEC6
nerolidol	99% ± 3%	103% ± 8%	135	75% ± 6%	102 ± 5%	76% ± 9%
30a	83% ± 5%	99% ± 6%	400	87% ± 7%	87% ± 6%	96% ± 5%
30b	97% ± 5%	97% ± 3	500	110% ± 7%	101% ± 6%	73% ± 8%
30c	99% ± 6%	112% ± 5%	750	99% ± 4%	106% ± 5%	65% ± 8%
31a	100% ± 7%	102% ± 3%	950	106% ± 5%	89% ± 4%	113% ± 2%
31b	112% ± 0%	108% ± 4%	750	87% ± 5%	95% ± 0%	98% ± 5%
32	104% ± 6%	104% ± 7%	750	96% ± 5%	90% ± 7%	110% ± 3%
farnezał	467	110% ± 9%	363	650	702	85% ± 2%
33a	600	96% ± 2%	550	750	850	94% ± 4%
33b	630	98% ± 9%	502	690	800	79% ± 6%
33c	690	82% ± 6%	480	610	850	64% ± 7%
34a	700	93% ± 3%	600	740	880	76% ± 3%
34b	730	87% ± 7%	630	800	900	82% ± 5%
35	640	98% ± 6%	600	830	830	91% ± 3%
farnezoł	378	930	54	350	489	58% ± 8%
36a	500	108% ± 11%	167	454	667	82% ± 2%
36b	512	78% ± 6%	100	390	686	85% ± 5%
36c	495	96% ± 5%	145	531	620	76% ± 3%
37a	512	93% ± 8%	198	687	698	101% ± 4%
37b	587	82% ± 2%	252	756	946	103% ± 2%
38	456	106% ± 2%	143	489	687	93% ± 5%
octan farnezyłu	734	105% ± 3%	121	98% ± 7%	102% ± 3%	78% ± 7%
39a	930	107% ± 8%	350	850	98% ± 7%	94% ± 5%
39b	850	96% ± 4%	289	105% ± 3%	900	86% ± 6%
39c	800	103% ± 7%	278	980	950	92% ± 4%
40a	98% ± 6%	98% ± 3%	312	99% ± 3%	110% ± 5%	79% ± 3%
40b	112% ± 5%	83% ± 5%	343	87% ± 8%	102% ± 4%	71% ± 4%
41	103% ± 5%	110% ± 9%	400	100% ± 6%	101% ± 6%	95% ± 5%

3.3.2. Aktywność przeciwmikrobowa

Linalol, pośród innych naturalnych monoterpenuoidów, posiada najszersze spektrum działania bójczego wobec mikroflory (Bakkali, 2008). Spośród otrzymanych tienyloanalogów acyklicznych monoterpenuoidów badania tejże aktywności zostały przeprowadzone dla analogów linalolu **10** (rys. 2, str. 10). Szczepy wzorcowe bakterii Gram-dodatnich (*Bacillus subtilis* i *Staphylococcus aureus*) wykazywały identyczną wrażliwość na linalol i jego tienyloanalogi, które hamowały wzrost bakterii przy stężeniu odpowiednio 86 i 92 µg/ml. W przypadku szczepów wzorcowych bakterii Gram-ujemnych (*Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*) tienyloanalogi linalolu okazały się słabszymi czynnikami hamującymi wzrost tych mikroorganizmów (1,5-3 razy) i charakteryzowały je wartości minimalnego stężenia hamującego (MIC) w zakresie od 276 do 552 µg/ml. Pleśnie (*Aspergillus niger* LOCK 0436 oraz *Penicillium expansum* LOCK 0535) wykazały natomiast większą wrażliwość na testowane analogi aniżeli na linalol. Uzyskane wartości MIC mieściły się w zakresie od 92 do 276 µg/ml. Linalol hamował wzrost obu szczepów przy stężeniu 258 µg/ml. Dane zebrano w tabeli 3, wyniki przeliczono z µl/ml (jak prezentowano w publikacji) na µg/ml uwzględniając gęstość tienyloanalogów bliską 0,92 g/ml.

Tabela 3. Aktywność przeciwmikrobowa linalolu i jego tienyloanalogów.
Wartości MIC [µg/ml].

Związek	bakterie Gram-dodatnie		bakterie Gram-ujemne		Pleśnie	
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. niger</i>	<i>P. expansum</i>
linalol	86	86	172	172	258	258
10a	92	92	552	552	184	92
10b	92	92	460	460	276	184
10c	92	92	276	276	184	92
10d	92	92	368	368	92	92

Badania te zostały zaprezentowane w Bonikowski R. i inni, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **2009** (pozycja I cyklu publikacji).

Te same mikroorganizmy oraz dodatkowo *Candida mycoderma* wykorzystano w celu określenia aktywności pirydyloanalogów **19-21** (rys. 5, str. 14). Spośród szczepów wzorcowych bakterii Gram-dodatnich *Bacillus subtilis* wykazał dziewięć- do piętnastokrotnie wyższą oporność na analogi linalolu (MIC dla piryd-3-yloanalogu linalolu 1425 µg/ml, natomiast dla

piryd-4-yloanalogu 855 µg/ml) w porównaniu z linalolem. Analogi geranyloacetonu oraz nerolidolu (**20**, **21**) wykazały zbliżoną aktywność do odpowiednich wartości MIC dla macierzystych terpenoidów. Wartości MIC wobec pozostałych szczepów wzorcowych bakterii Gram-dodatnich (*Staphylococcus aureus*), Gram-ujemnych (*Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*) i pleśni (*Aspergillus niger* oraz *Penicillium expansum*) były zbliżone do wartości MIC dla naturalnych odpowiedników, za wyjątkiem analogu nerolidolu **21b**, który wykazywał nieco wyższą aktywność (tabela 4). Wyniki przeliczono z µl/ml (jak prezentowano w publikacji) na µg/ml uwzględniając gęstość pirydyloanalogów bliską 0,95 g/ml.

Tabela 4. Aktywność przeciwmikrobowa pirydyloanalogów i ich naturalnych odpowiedników. Wartości MIC [µg/ml].

Związek	bakterie Gram-dodatnie		bakterie Gram-ujemne		Pleśnie		Drożdże
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. niger</i>	<i>P. expansum</i>	<i>C. mycoderma</i>
linalol	86	86	172	172	258	258	1720
19a	1425	285	190	570	285	285	950
19b	855	190	285	760	285	190	570
geranyloaceton	696	522	261	696	348	348	522
20a	855	190	285	760	285	285	570
20b	855	190	285	760	285	190	760
nerolidol	445	267	267	712	534	267	534
21b	950	190	190	570	285	190	190

Powyższe wyniki badań zostały opisane w Jabłońska A. i inni, *Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej. Chemia Spożywcza i Biotechnologia* **2009**, (pozycja II cyklu publikacji).

Alifatyczne analogi acyklicznych seskwiterpenoidów (**27-41**; rys. 9, str. 18), zostały przebadane pod kątem aktywności przeciwdrobnoustrojowej wobec szczepów wzorcowych bakterii Gram-dodatnich (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*) oraz Gram-ujemnych (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdziłem, że **aktywność** hamująca wzrost mikroorganizmów syntetycznych analogów **jest zbliżona** do aktywności związków macierzystych.

Ketony (analogi geranyloacetonu) **27-29** wykazały najwyższą aktywność spośród wszystkich badanych związków wobec szczepów wzorcowych bakterii z rodzaju *Enterococcus* oraz szczepów wzorcowych bakterii Gram-ujemnych. Związki te cechowały się wartościami MIC od 12 µg/ml do 32 µg/ml.

Szczep wzorcowy *Staphylococcus aureus* okazał się najbardziej odporny spośród badanych szczepów bakterii. Związkiem charakteryzującym się najniższą wartością MIC dla tego szczepu (18 µg/ml) był analog farnezału **33b**.

Szczepy wzorcowe z rodzaju *Enterococcus* były najbardziej wrażliwe na związki strukturalnie zbliżone do geranyloacetonu oraz analog octanu farnezyłu **40b**.

Wszystkie szczepy wzorcowe bakterii Gram-ujemnych wykazywały największą wrażliwość na analogi geranyloacetonu oraz octanu farnezyłu **40b**.

Tabela 5. Aktywność przeciwbakteryjna alifatycznych analogów acyklicznych seskwiterpenoidów wobec szczepów wzorcowych. Wartości MIC [µg/ml].

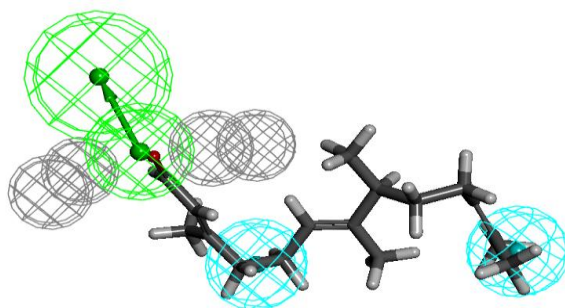
Związek	bakterie Gram-dodatnie			bakterie Gram-ujemne		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>
geranyloaceton	48	36	28	26	18	18
27a	26	16	18	16	16	14
27b	26	18	16	14	14	12
27c	38	26	28	18	18	22
28a	46	26	18	32	18	16
28b	26	22	18	28	28	14
29	28	18	14	28	18	16
nerolidol	48	38	32	46	16	26
30a	46	42	38	40	20	22
30b	48	46	42	40	28	26
30c	48	38	36	38	18	28
31a	48	38	36	32	24	22
31b	48	38	38	46	18	16
32	46	48	38	28	16	16
farnezał	24	22	36	46	44	36
33a	28	34	38	44	36	42
33b	18	22	28	52	46	46
33c	22	20	32	48	38	38
34a	26	24	46	44	36	36
34b	28	26	36	46	34	36
35	32	38	42	54	48	52
farnezol	26	18	16	28	16	18
36a	28	32	34	50	48	44
36b	22	18	32	52	44	40
36c	32	30	36	48	42	38
37a	26	18	16	28	16	18
37b	28	22	18	38	36	32
38	28	26	18	36	18	34
octan farnezyłu	28	20	20	28	22	22

Związek	bakterie Gram-dodatnie			bakterie Gram-ujemne		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>
39a	24	20	20	26	22	18
39b	30	24	18	30	24	24
39c	28	22	20	28	18	22
40a	32	20	18	18	20	18
40b	34	16	14	16	18	12
41	26	18	16	26	18	22

Rozbieżność uzyskanych wartości MIC pomiędzy danymi dla tienyloanalogów oraz pirydyloanalogów, a danymi dla alifatycznych analogów wynika z zastosowania różnych metod oceny wrażliwości mikroorganizmów. Dla pierwszych dwóch grup związków zastosowano metodę impedymetryczną, natomiast dla ostatniej grupy związków metodę mikrorozcieńczeń. Dodatkowym czynnikiem wpływającym na uzyskane wyniki było zastosowanie różnych szczepów badanych mikroorganizmów.

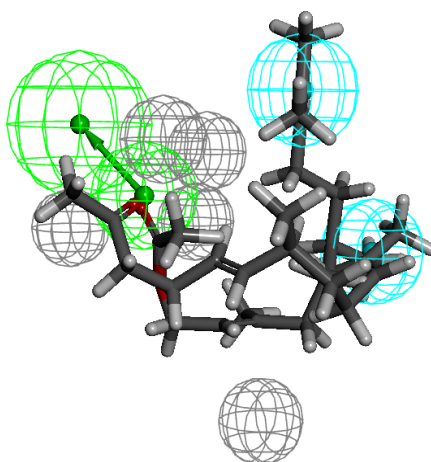
Tak duża populacja strukturalnie zbliżonych związków pozwoliła mi na **określenie czynników sterycznych** warunkujących ich **aktywność biologiczną** (antymikrobową; rysunki od 14 do 17 zaczerpnięte zostały z Bonikowski R. i inni, *Molecules*, **2015** – VII pozycja w cyklu publikacji).

Obecność akceptora wiązania wodorowego (kolor zielony) otoczonego czterema przestrzeniami wolnymi od zawał przestrzennych (kolor szary) oraz dwóch części hydrofobowych (kolor turkusowy) obejmujących łańcuch determinuje wysoką aktywność wobec *Staphylococcus aureus*. Części hydrofobowe oddalone są od akceptora wiązań wodorowych o 5,7 i 12,4 Å. W model ten najlepiej wpisuje się analog farnezu **33b** (MIC 18 µg/ml), co przedstawia rysunek 14. Najmniej aktywne wobec tej bakterii związki charakteryzują się zbyt małą długością łańcucha lub też, w swej najkorzystniejszej energetycznie konformacji nie wypełniają odleglejszej od akceptora wiązania wodorowego części hydrofobowej.



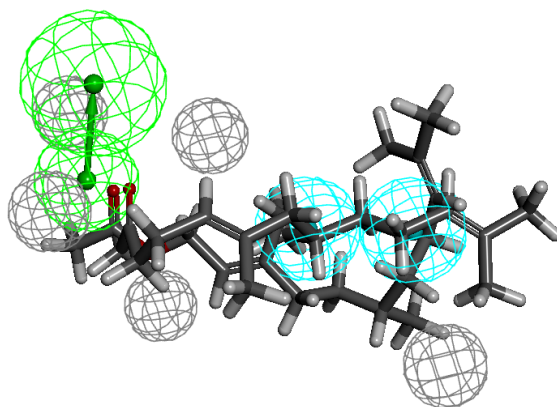
Rysunek 14. Najaktywniejszy analog farnezu **33b** dopasowany do modelu farmakofora związków aktywnych wobec *Staphylococcus aureus*.

W skład modelu farmakofora związków aktywnych wobec *Enterococcus faecalis* wchodzi jeden akceptor wiązania wodorowego, dwie części hydrofobowe i pięć części wolnych od zawad przestrzennych. Podobnie jak w przypadku farmakofora związków aktywnych wobec *Staphylococcus aureus* w pobliżu akceptora wiązań wodorowych nie powinna znajdować się żadna zawada przestrzenna o czym świadczy otoczenie tej grupy przez cztery objętości wykluczone. Części hydrofobowe znajdują się w niewielkiej odległości od akceptora wiązań wodorowych (5,8 i 7,2 Å). Najmniej aktywne analogi nerolidolu **30b** oraz **32** (MIC odpowiednio 46 i 48 µg/ml) najgorzej wpisują się w otrzymany model ze względu na zbyt małą długość łańcucha oraz niekorzystne położenie grupy funkcyjnej – wewnątrz łańcucha w porównaniu z najbardziej aktywnymi analogami geranyloacetonu **27a** oraz octanu farnezyli **40b** (MIC 16 µg/ml). Model został zaprezentowany na rysunku 15.



Rysunek 15. Model farmakofora dla związków aktywnych wobec *Enterococcus faecalis* z ukazaniem dopasowania ketonu **27a** oraz octanu **40b**.

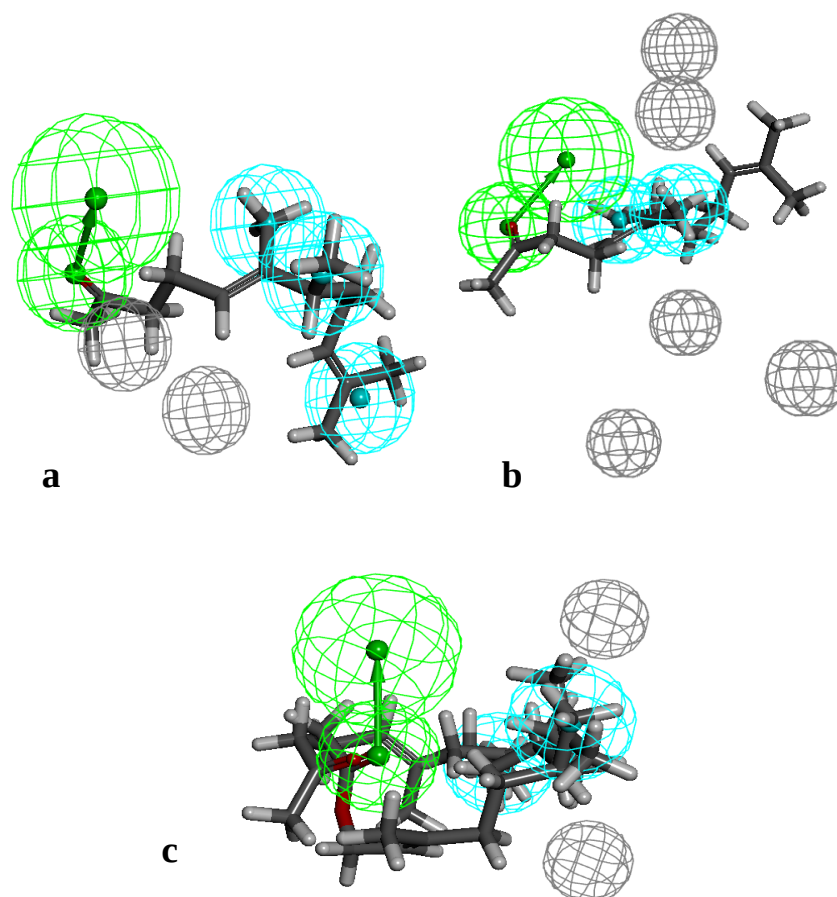
Keton **29** oraz octan **40b** wykazały najwyższą aktywność wobec *Enterococcus faecium* spośród badanych alifatycznych analogów terpenoidów. Model opisujący ten rodzaj aktywności składa się z akceptora wiązań wodorowych, dwóch części hydrofobowych oraz pięciu objętości wykluczonych (wolnych od zawad przestrzennych). Części hydrofobowe znajdują się w odległości 6,9 i 10,0 Å od akceptora wiązań wodorowych i w linii prostopadłej do linii wyznaczonej przez akceptor wiązań wodorowych (rys. 16).



Rysunek 16. Model farmakofora dla związków aktywnych wobec *Enterococcus faecium* i dopasowane do niego keton **29** oraz octan **40b**.

W stosunku do szczepów bakterii Gram-ujemnych (*E. coli*, *K. pneumoniae* i *A. baumannii*) największą aktywność wykazał analog geranyloacetonu **27b**. Analog octanu farnezyli **40b** wykazał zbliżoną aktywność w stosunku do *A. baumannii*. W przypadku wszystkich modeli (rys. 17) ważnym czynnikiem jest obecność akceptora wiązań wodorowych. Farmakofory dla związków aktywnych wobec *E. coli* zawierają trzy, natomiast dla związków aktywnych wobec *K. pneumoniae* i *A. baumannii* dwie części hydrofobowe oddalone od akceptora wiązań wodorowych o 5,5, 7,2, 9,0 i 3,4, 4,2 i 5,8, 6,1 Å odpowiednio w modelach farmakoforów związków aktywnych wobec *E. coli*, *K. pneumoniae* i *A. baumannii*.

W modelu farmakofora związków aktywnych wobec *E. coli* części hydrofobowe obejmują ugrupowanie izobutenylowe i podstawniki metylowe atomu węgla C-6 i C-7 związków **27b** oraz **40b**. Te same grupy metylowe wpasowują się w części hydrofobowe farmakofora dla *K. pneumoniae*. Podstawnik metylowy atomu węgla C-7 oraz część izobutenylowa łańcucha odgrywa istotną rolę w modelu farmakofora związków aktywnych wobec *A. baumannii*.



Rysunek 17. Modele farmakoforów związków aktywnych wobec badanych szczepów Gram-ujemnych z dopasowanymi najaktywniejszymi związkami **a)** *E. coli* (dopasowany keton **27b**), **b)** *K. pneumoniae* (dopasowany keton **27b**) oraz **c)** *A. baumannii* (dopasowane keton **27b** i octan **40b**).

Uzyskane modele wskazują, że **w celu wywołania pożądanego efektu** hamowania wzrostu drobnoustrojów wymagane jest odpowiednie wyeksponowanie grupy funkcyjnej. W przypadku badanych **szczepów Gram-dodatnich** grupa funkcyjna powinna znajdować się **bliżej krańca łańcucha**, natomiast jeśli rozważana jest aktywność wobec szczepów **Gram-ujemnych**, grupa funkcyjna powinna być ulokowana **bliżej środka łańcucha**. Ważnym czynnikiem jest również obecność **zawady przestrzennej** w **pozycji β** w stosunku do grupy funkcyjnej w przypadku rozpatrywania aktywności bójczej wobec szczepu *Staphylococcus aureus*. Wyniki badań zostały opisane w Bonikowski R. i inni, *Flavour and Fragrance Journal*, **2015** (dane dla analogów nerolidolu i geranyloacetonu) oraz Bonikowski R. i inni, *Molecules*, **2015** (dane dla pozostałych związków).

3.4. Podsumowanie najważniejszych osiągnięć naukowych przedstawionych do oceny

1. Opracowanie **nowej metody syntezy** dotychczas nieopisanych w literaturze analogów acyklicznych terpenoidów takich jak: linalol, geraniol, nerol, cytronelol, geranyloaceton, nerolidol i farnesol. Przedstawiona procedura zakłada proste, wydajne przekształcenia chemiczne tanich i łatwo dostępnych substratów (tiofen, metylotiofen, sulkaton, melonal), co jest konieczne dla ewentualnego zastosowania opracowanych metod w procesach technologicznych.
2. Otrzymanie **24 nowych tienyloanalogów** acyklicznych terpenoidów. Związki te mają podobne do swoich naturalnych odpowiedników właściwości zapachowe i mogą stanowić **zamienniki** dla terpenoidów wyszczególnionych na liście **potencjalnych alergenów** "Dyrektywy kosmetycznej". Ponadto związki te cechują się znacznie **większą substancywnością**, o czym świadczą współczynniki lotności względnych oznaczone zmodyfikowaną i udoskonaloną metodą. Dziewięć z uzyskanych tienyloanalogów objętych zostało **ochroną patentową**.
3. Otrzymanie **6 nowych pirydyloanalogów** linalolu, geranyloacetonu oraz nerolidolu. Związki te, z wyjątkiem piryd-3-yloanalogu geranyloacetonu i piryd-4-yloanalogu nerolidolu, ze względu na zawartość atomu azotu w cząsteczce, nie cechowały się korzystnymi walorami zapachowymi.
4. Synteza **30 nowych alifatycznych analogów seskwiterpenoidów**. Spośród otrzymanych związków najcenniejsze pod względem zapachowym okazały się analogi geranyloacetonu o drzewno-zielonym zapachu zbliżonym do aromatu naturalnego terpenoidu. Dodatkowo posiadały także inne cenione nuty zapachowe: fiołkową i metylononyloacetaldehydu (ambrowa, aldehydowa). Dwa z analogów geranyloacetonu chronione są **polskim patentem**. Alifatyczne analogi seskwiterpenoidów cechuje zbliżona lub nieco wyższa substancywność w stosunku do związków macierzystych.
5. Wykazanie, że nowe alifatyczne analogi seskwiterpenoidów mają **niską toksyczność** wobec ludzkich komórek skóry i mogą być **bezpiecznie stosowane** w preparatach kosmetycznych.
6. **Odkrycie nowej grupy** acyklicznych alkoholi o **unikalnym zapachu grapefruita**. Trzy z nich zostały zgłoszone do ochrony patentowej (1 **patent** uzyskany, 2 **zgłoszenia patentowe**). Związki te mogą skutecznie zastąpić drogi w stosowaniu, ze względu na skomplikowaną syntezę oraz niską zawartość w surowcach naturalnych, nootkaton.

7. Opracowanie **modelu opisującego parametry steryczne** (olfaktofor) warunkujące wywołanie **zapachu grapefruitowego**.
8. Ustalenie **uwarunkowań przestrzennych determinujących aktywność przeciwmikrobową** syntetycznych, alifatycznych analogów acyklicznych seskwiterpenoidów. Wykazanie, że silniejsze działanie antymikrobowe wobec bakterii Gram-dodatnich, spośród otrzymanych związków, mają molekuły w których tlenowa grupa funkcyjna ulokowana jest w pobliżu krańca łańcucha, natomiast wobec bakterii Gram-ujemnych związki w których grupa funkcyjna jest mniej wyeksponowana.
9. Odkrycie **nowych polifunkcyjnych pochodnych hydroindenu o właściwościach cytotoksycznych** wobec ludzkiej linii komórkowej HL-60 (ostra białaczka promieloblastyczna). Stwierdzono, że duża liczba tlenowych grup funkcyjnych, powodująca wzrost polarności cząsteczek, wpływa korzystnie na ich bioaktywność, obniżając wymaganą wartość stężenia powodującego hamowanie namnażania się komórek ostrej białaczki promieloblastycznej.
10. Opracowanie **modelu farmakofora** opisującego aktywność cytotoksyczną polifunkcyjnych pochodnych hydroindenu **wobec linii komórkowej HL-60**.
11. **Przygotowanie założeń technologicznych i wdrożenie** do produkcji tienyloanalogu linalolu (Patent RP PL 210978).

Literatura:

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem Toxicol* **2008**, 46, 446–475.

Chakravarthi B.V.S.K.; Sujay, R.; Kuriakose, G.C.; Karande, A.A.; Jayabaskaran Ch. Inhibition of cancer cell proliferation and apoptosis-inducing activity of fungal taxol and its precursor baccatin III purified from endophytic *Fusarium solani*. *Cancer Cell International* **2013**, 13, 105–115.

Dujardin, G.; Poirier, J.M. Michael addition of aromatic heterocyclic compounds to α,β -unsaturated ketones. 3-Oxoalkylation of furans, indols and thiophenes. *Bull Soc Chim Fr* **1994**, 131, 900–909.

Dyrektywa Rady z dnia 27 lipca **1976** r. w sprawie zbliżenia ustawodawstw Państw Członkowskich dotyczących produktów kosmetycznych (76/768/EWG) Dziennik Urzędowy L 262 , 27/09/1976 P. 0169 – 0200, z późniejszymi zmianami.

Hudlicky, T.; Sinai-Zingde, G.; Natchus, M.G. Selective reduction of α,β -unsaturated esters in the presence of olefins. *Tetrahedron Lett* **1987**, 28, 5287–5290.

Kazlauskas R.J.; Weissfloch A.N.E.; Rappaport A.T.; Cuccia L.A. A rule to predict which enantiomer of a secondary alcohol reacts faster in reactions catalyzed by cholesterol esterase, lipase from *Pseudomonas cepacia*, and lipase from *Candida rugosa*. *J Org Chem*, **1991**, 56, 2656–2665.

Kraft, P.; Bajgrowicz, J.A.; Denis, C.; Frater G. Odds and trends: recent development in the chemistry of odorants. *Angew Chem Int Ed* **2000**, 39, 2980–3010.

Kula, J.; Sikora, M.; Hammad, D.; Bonikowski, R.; Balawejder, M.; Nowicki, J. Synthesis of furyl analogues of acyclic monoterpenes. *Flavour Fragr J* **2005**, 20, 487–491.

Kumar, G.; Ray, S.; Walle, T.; Huang, Y.; Willingham, M.; Self, S.; Bhalla, K. Comparative in vitro cytotoxic effects of taxol and its major human metabolite 6 α -hydroxytaxol. *Cancer Chemother Pharmacol* **1995**, 36, 129–135.

Leffingwell & Associates, 2015. Flavor & Fragrance Industry Leaders [online]. Dostępny w internecie: http://www.leffingwell.com/top_10.htm (dostęp 26-09-2015).

Mińkovskii M.M.; Cherkaev V.G. *J Org Chem USSR (English Translation)*, **1969**, 5, 629–635

Narula A.P.S.; De Virgilio J.J.; Schreiber W.L. Perfumery use of 2,2-dimethyl-4(2' or 4' pyridyl) butyronitrile and process for preparing same. *patent amerykański*, **US 5236897**, 1993

Nishiyama, Y.; Yoshida, M.; Ohkawa, S.; Hamanaka, S. New agents for the selective reduction of the carbon–carbon double bond of α,β -unsaturated carbonyl compounds. *J Org Chem* **1991**, 56, 6720–6722.

Odinokov, V.N.; Spivak, A.Y.; Emelyanova, G.A.; Syutkina, E.V.; Ushakova, Z.I.; Khalilov L.M. Synthesis of optically active analogs of α -tocopherol based on (S)-(+)-dihydromyrcene. *Russ Chem Bull* **2000**, 49, 1620–1623.

Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 30 marca **2005** r. w sprawie list substancji niedozwolonych lub dozwolonych z ograniczeniami do stosowania w kosmetykach oraz znaków graficznych umieszczanych na opakowaniach kosmetyków Dz.U. 2005 nr 72 poz. 642 z późniejszymi zmianami.

Sakurai, K.; Takahashi, K.; Yoshida, T. Two new m-cresol derivatives and a new terpene alcohol from peppermint oil. *Agric Biol Chem* **1983**, *47*, 1249–1256.

Saucy, G.; Cohen, N.; Banner, B.L.; Trullinger, D.P. Orthoacrylate Claisen rearrangement. An approach to aliphatic α -methylene esters *J Org Chem* **1980**, *45*, 2080-2083.

Saikia, A.K.; Barua, N.C.; Sharma, R.P.; Ghosh, A.C. Zinc-trifluoroacetic acid reaction in organic solvents - a facile procedure for the conversion of nitroolefins into carbonyl-compounds under mild conditions. *J Chem Res S*, **1996**, *2*, 124-125.

SCCS, Scientific Committee on Consumer Safety. Opinion on Fragrance allergens in cosmetic products SCCS/1459/11 [online]. Unia Europejska, **2011**, Dostępny w internecie: http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_102.pdf (dostęp 26-09-2015).

Snider, B.B.; Vo, N.H.; O'Neil, S.V.; Foxman, B.M. Synthesis of ($\pm$)-allocyathin B2 and (+)-erinacine A. *J Am Chem Soc* **1996**, *118*, 7644–7645.

Snider, B.B.; Vo, N.H.; O'Neil, S.V. Synthesis of ($\pm$)-allocyathin B2 and (+)-erinacine A. *J Org Chem* **1998**, *63*, 4732–4740.

Stoffels, K.M. Modern and safe antimicrobial stabilization of cosmetic products. *H & PC Today* **2012**, *7*, 18–21.

Takeda, K.; Nakane, D.; Takeda, M. Synthesis of the tricyclic skeleton of cyathins using Brook rearrangement-mediated [3 + 4] annulation. *Org Lett* **2000**, *2*, 1903–1905.

Thormar, H. Lipids and essential oils as antimicrobial agents; John Wiley & Sons, Ltd.: Chichester, UK, 2010; 211–223.

Tu, Y.Q.; Hubener, A.; Zhang, H.; Moore, C.J.; Fletcher, M.T.; Hayes, P.; Dettner, K.; Francke, W.; McErlean, C.S.P.; Kitching, W. Synthesis and stereochemistry of insect derived spiroacetals with branched carbon skeletons. *Synthesis* **2000**, *13*, 1956-1978.

Ueda, J.-Y.; Awale, S.; Tezuka, Y.; Shimamura, E.; Hirai, K.-I.; Nobukawa, T.; Sato, A.; Kadota, S. Growth inhibitory activity of wood of *Taxus yunnanensis* and its liquid chromatography Fourier-transform mass spectrometry analysis. *Planta Medica*, **2006**, *72*, 1241-1244.

Vidal D.M.; Fonseca M.G.; Zarbin P.H.G. Enantioselective synthesis and absolute configuration of the sex pheromone of *Hedypathes betulinus* (Coleoptera: Cerambycidae) *Tetrahedron Lett* **2010**, *51*, 6704-6706.

4. Omówienie pozostałych osiągnięć badawczych

W latach 2001-2006 rozpocząłem studia doktoranckie prowadzone przy Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej. Moja rozprawa doktorska obejmowała badania nad wykorzystaniem w syntezie związków zapachowych izolowanego z olejku eterycznego pozyskiwanego z nasion marchwi siewnej, (+)-karotolu. W latach 2004-2005 badania te finansowane były z grantu promotorskiego przyznanego przez Komitet Badań Naukowych. Owocem tych prac było m.in. opracowanie dwóch nowych metod syntezy bardzo istotnego z zapachowego punktu widzenia policyklicznego związku o zapachu piżma oraz innych związków, które znajdują zastosowanie jako chirony w syntezie związków naturalnych takich jak erinacyny.

Jeszcze w trakcie trwania prac nad rozprawą doktorską (rok 2005) zostałem włączony jako wykonawca do projektu badawczego, którego kierownikiem był dr hab. Józef Kula. Projekt ten obejmował badania nad furyloanalogami acyklicznych monoterpenuoidów. W ramach tych prac zostały otrzymane związki zbliżone strukturalnie do linalolu, geraniolu, cytralu, cytronelolu oraz cytronelalu. Związki te wykazywały bliskie do naturalnych terpenoidów walory zapachowe i cechowała je blisko dwukrotnie niższa lotność.

Wyniki tych prac zostały opublikowane w artykułach naukowych oraz prezentowane na konferencjach:

Publikacje:

1. Kula J., Sikora M., Hammad D., **Bonikowski R.**, Balawejder M., Nowicki J. Synthesis of furyl analogues of acyclic monoterpenes. *Flavour Frag J*, **2005**, 20(5), 487-491
2. **Bonikowski R.**, Balawejder M., Sikora M., Kula J. 4-furanyl and 4-thiophenylbutan-2-one oximes. *Zeszyty Naukowe. Politechnika Łódzka. Chemia Spożywcza i Biotechnologia*, **2007**, 71, 5-11
3. Stobiecka A., **Bonikowski R.**, Kula J. Free radical scavenging properties of thienyl and furyl linalool analogues: an experimental and DFT/B3LYP study. *Flavour Frag J*, **2014**, 29(6), 325-333

Doniesienia konferencyjne:

1. **Bonikowski R.**, Kula J. Naturalny karotol jako substrat w syntezie optycznie czystych hydroindenowych bloków budulcowych. III Seminarium Sekcji Chemii Organicznej PTChem. Postępy w Syntezie Związków Nieracemicznych. Karpacz, 2006.

2. **Bonikowski R.**, Kula J. Czy karotol może być dobrym substratem do syntezy erinacyń? IV Postępy w Laboratoryjnej i Przemysłowej Syntezie Organicznej. Ustroń-Jaszowiec, 2007.
3. Balawejder M., **Bonikowski R.**, Sikora M., Kula J. Synteza furylo- i tienyloanalogów składników olejku różanego. IV Postępy w Laboratoryjnej i Przemysłowej Syntezie Organicznej. Ustroń-Jaszowiec, 2007.
4. Sikora M., **Bonikowski R.**, Kula J., Balawejder M. Synteza i charakterystyka zapachowa furylo- i tienyloanalogów dimetyloheptenolu. 50th Anniversary Polish Chemical Society and Polish Association of Chemical Engineers Congress and 11th EuCheMS - DCE. International Conference on Chemistry and the Environment. Toruń, 2007.
5. **Bonikowski R.**, Sikora M., Kula J., Raj A. Furyl and thienyl analogues of citronellol. 39th International Symposium on Essential Oils. Quedlingburg, Niemcy, 2008.
6. **Bonikowski R.**, Balawejder M., Sikora M., Kula J. 7,8-Dihydro-4H-cyclohepta[b]furan (thiophene) Skeleton from Furyl (thiophene)-derived tertiary allylic alcohols. Postępy w Chemii Związków Heteroorganicznych. XII Ogólnopolskie Sympozjum Sekcji Chemii Heteroorganicznej PTCh. Łódź, 2009.
7. Kula J., **Bonikowski R.**, Bui Quang T., Sikora M., Staniszevska M., Śmigielski K., Ciołak K., Aneta Jabłońska, Arkadiusz Krakowiak. Transformacja wybranych izolatów roślinnych w związki aktywne biologicznie. V Krajowe Sympozjum "Naturalne i Syntetyczne Produkty Zapachowe i Kosmetyczne". Łódź, 2012.

Od roku 2006 jednym z głównych obszarów moich zainteresowań badawczych jest wykorzystanie technik chromatograficznych w analizie produktów pochodzenia naturalnego, takich jak olejki eteryczne, oleje i ekstrakty (analiza jakościowa i ilościowa kwasów tłuszczowych, tokoferoli i fitosteroli). W tematyce tej prowadzę współpracę z dr hab. Jolantą Nazaruk (Zakład Farmakognozji, Uniwersytet Medycznego w Białymstoku), zespołem prof. Edwarda Roja (Instytut Nowych Syntez Chemicznych w Puławach), dr Konradem Celińskim (Zakład Genetyki, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu) oraz dr Katarzyną Szewczyk (Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie). Moje umiejętności w tej dziedzinie pozwoliły mi włączyć się do realizacji dwóch projektów badawczych współfinansowanych ze środków Unii Europejskiej w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka – „Biotransformacje użyteczne w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym” nr POIG.01.03.01-00-158/09, realizowany w latach 2007-

2013 (prof. dr hab. Tadeusz Antczak, kierownik zadania 7. realizowanego na PŁ) i „Zastosowanie biomasy do wytwarzania polimerowych materiałów przyjaznych środowisku” nr POIG 01.01.02-10-123/09, realizowany w latach 2009-2015 (lider Politechnika Łódzka, koordynator prof. dr hab. Andrzej Okruszek), projekcie w ramach Europejskiego Programu Współpracy w Dziedzinie Badań Naukowo-Technicznych „COST action Forests, their Products and Services (FPS) Action FP0901, Analytical Techniques for Biorefineries” (w którym pełniłem rolę zastępcy w Komitecie Zarządzającym) realizowanym w latach 2009-2013 oraz projekcie rozwojowym Narodowego Centrum Badań i Rozwoju „Opracowanie nowej generacji, ekologicznych, bezpiecznych w stosowaniu kosmetyków i produktów chemii gospodarczej z udziałem ekstraktów roślinnych otrzymywanych w warunkach nadkrytycznego CO₂” nr PBS1/A5/18/2012 realizowanym w latach 2012-2015 (koordynator na PŁ prof. dr hab. Józef Kula). W wyniku tej współpracy powstały liczne publikacje (9) i doniesienia konferencyjne (lista poniżej).

Publikacje:

1. Wajs A., **Bonikowski R.**, Kalembe D. Composition of essential oil from seeds of *Nigella sativa* L. cultivated in Poland. *Flavour Frag J*, **2008**, 23(2), 126-132
2. Wajs A., **Bonikowski R.**, Kalembe D. Different isolation methods for determination of composition of volatiles from *Nigella damascena* L. seeds. *Nat Prod Commun*, **2009**, 4(11), 1577-1580
3. Wajs A., Urbańska J., Zaleśkiewicz E., **Bonikowski R.** Composition of Essential Oil from Seeds and Cones of *Abies alba*. *Nat Prod Commun*, **2010**, 5(8), 1291-1294
4. Nazaruk J. Wajs-Bonikowska A., **Bonikowski R.** Components and antioxidant activity of fruits of *Cirsium palustre* and *C. rivulare*. *Chem Nat Compd*, **2012**, 48(1), 8-10
5. Wajs-Bonikowska A., Olejnik K., **Bonikowski R.**, Banaszczyk P. Composition of essential oils from seeds of *Abies koreana*. *Nat Prod Commun*, **2013**, 8(2), 227-230
6. Wajs-Bonikowska A., Olejnik K., **Bonikowski R.**, Banaszczyk P. Analysis of volatile components, fatty acids, and phytosterols of *Abies koreana* growing in Poland. *Nat Prod Commun*, **2013**, 8(9), 1297-1300
7. Nakonieczna I., **Bonikowski R.**, Roj E., Janczak R., Kozłowski K., Dobrzyńska-Inger A. Fractionation of berry seed oils by countercurrent extraction with supercritical carbon dioxide. *Przem Chem*, **2014**, 93(4), 485-488

8. Celiński K., **Bonikowski R.**, Wojnicka-Półtorak A., Chudzińska E., Maliński T. Volatiles as chemosystematic markers for distinguishing closely related species within the *Pinus mugo* complex. *Chem Biodivers*, **2015**, 12(8), 1208-1213
9. **Bonikowski R.**, Celiński K., Wojnicka-Półtorak A., Maliński T. Composition of essential oils isolated from the needles of *P. uncinata* Ramond ex. Mirb. and *P. uliginosa* Neumann ex Wimmer grown in Poland. *Nat Prod Commun*, **2015**, 10(2), 371-373

Doniesienia konferencyjne:

1. Wajs A., **Bonikowski R.**, Kalembe D. Isolation and structure determination of two new monoterpenoides from the essential oil of *Nigella Sativa* L. 5th International Symposium on Chromatography of natural Products (ISCNP0). The Application of Chromatographic Methods in Phytochemical and Biomedical Analysis. Lublin, 2006.
2. Wajs A., **Bonikowski R.**, Maciejewski M. Different isolation methods for determination of composition of volatiles from plant material. Challenges in food flavor analysis. A workshop. Poznań, 2009.
3. Szewczyk K., Smolarz D.H., **Bonikowski R.**, Myślińska K. Analiza frakcji sterolowych z *Impatiens glandulifera* royle i *Impatiens noli-tangere* L. XXI Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego. Farmacja polska na tle Unii Europejskiej. Gdańsk, 2010.
4. Stańczyk Ł., Struszczyk K., Szczęsna-Antczak M., Hiler D., **Bonikowski R.**, Kalinowska H., Florczak T., Krosowiak K., Antczak T. Opracowanie metody wytwarzania preparatów immobilizowanych enzymów w skali preparatywnej adresowanych do prowadzenia ciągłych procesów biokonwersji. XVI Seminarium Robocze: Nowe Aspekty w Chemii i Zastosowaniu Chityny i jej Pochodnych. Zakopane, 2010.
5. Wajs A., **Bonikowski R.**, Danuta Kalembe. Isolation and identification of volatile organic compounds from seeds of coniferous trees. COST Action FP0901. Analytical Techniques for Biorefineries. Workshop on analytical methods for non-wood raw materials and their products and processes. Hamburg, Niemcy, 2010.
6. Stańczyk Ł., Struszczyk-Świta K., Szczęsna-Antczak M., Hiler D., **Bonikowski R.**, Antczak T. Biotransformation for pharmaceutical and cosmetics industry. Task 7. The development of a method of preparative scale production of immobilized enzyme preparations destined for continuous bioconversion processes. XLIII Ogólnopolskie Kolokwium Katalityczne. Kraków, 2011.

7. Stańczyk Ł., Struszczyk-Świta K., Szczęsna-Antczak M., Hiler D., **Bonikowski R.**, Antczak T. Opracowanie metody wytwarzania preparatów immobilizowanych enzymów w skali preparatywnej adresowanych do prowadzenia ciągłych procesów biokonwersji. 54. Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego. Materiały zjazdowe. Warszawa, 2011.
8. Stańczyk Ł., Struszczyk-Świta K., Szczęsna-Antczak M., Krzysztof Makowski, Hiler D., **Bonikowski R.**, Antczak T. Opracowanie metody wytwarzania preparatów immobilizowanych enzymów w skali preparatowej adresowanych do prowadzenia ciągłych procesów biokonwersji. XLIV Ogólnopolskie Kolokwium Katalityczne. Kraków, 2012.
9. Strawa J., Wajs-Bonikowska A., **Bonikowski R.**, Zapałowska E., Nazaruk J. Badania składu chemicznego wyciągu heksanowego z korzeni *Cirsium rivulare* (Jacq.) All. i możliwości jego wykorzystania w leczeniu cukrzycy. XXII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego. Farmacja - Nauka - Społeczeństwo. Białystok, 2013.
10. Stańczyk Ł., Struszczyk-Świta K., Szczęsna-Antczak M., **Bonikowski R.**, Antczak T. Otrzymywanie w skali mikrotechnicznej immobilizowanych lipaz *Mucor* oraz ich wykorzystywanie do biotransformacji lipidowych surowców odnawialnych. XLV Ogólnopolskie Kolokwium Katalityczne. Kraków, 2013.
11. Stańczyk Ł., Struszczyk-Świta K., Szczęsna-Antczak M., Hiler D., **Bonikowski R.**, Antczak T. Preparative scale production of immobilized lipase preparations for continuous bioconversion processes. World Biotechnology Congress. Boston, USA, 2013.
12. Stańczyk Ł., Struszczyk-Świta K., Szczęsna-Antczak M., **Bonikowski R.**, Antczak T. Otrzymywanie w skali mikrotechnicznej immobilizowanych lipaz *Mucor* i ich potencjalne zastosowanie w przemyśle. VII Kopernikańskie Seminarium Doktoranckie. Toruń, 2013.
13. Stańczyk Ł., Struszczyk-Świta K., Szczęsna-Antczak M., **Bonikowski R.**, Antczak T. Metody wytwarzania immobilizowanych lipaz *Mucor* do prowadzenia ciągłych procesów biokonwersji. VII Kopernikańskie Seminarium Doktoranckie. Toruń, 2013.
14. **Bonikowski R.**, Wajs-Bonikowska A., Kula J., Sikora M., Maciąg A. Ekstrakt z nasion truskawki pozyskany metodą ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym jako cenny składnik produktów kosmetycznych. I Międzynarodowa Konferencja "Ziołolecznictwo, Biokosmetyki i Żywność Funkcjonalna". Krosno, 2013.

15. Wajs-Bonikowska A., **Bonikowski R.** Ekstrakt z nasion jodły koreańskiej jako potencjalny składnik preparatów kosmetycznych. I Międzynarodowa Konferencja "Ziołolecznictwo, Biokosmetyki i Żywność Funkcjonalna". Krosno, 2013.
16. Wajs-Bonikowska A., **Bonikowski R.**, Kula J., Sikora M., Maciąg A. Ekstrakt pozyskiwany z nasion czarnej porzeczki w warunkach nadkrytycznego CO₂ jako cenny surowiec kosmetyczny. I Międzynarodowa Konferencja "Ziołolecznictwo, Biokosmetyki i Żywność Funkcjonalna". Krosno, 2013.
17. Celiński K., **Bonikowski R.**, Bączkiewicz A., Wajs-Bonikowska A., Wojnicka-Półtorak A., Chudzińska E., Buczkowska K., Maliński T. The application of volatiles for species identification within the *Pinus mugo* complex. 9th International Symposium on Chromatography of Natural Products. The Application of Analytical Methods for the Development of Natural Products. Lublin, 2014.
18. **Bonikowski R.**, Sikora M., Maciąg A., Wajs-Bonikowska A., Stobiecka A., Kula J. Bioaktywne składniki ekstraktów otrzymywanych w warunkach nadkrytycznego CO₂. 57. Zjazd Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego. Chemia - nadzieje i marzenia. Warszawa, 2014.
19. Szymczak K., **Bonikowski R.**, Kałużna-Czaplińska J. Pomidor zwyczajny - tajemnica smaku. VI Krajowe Sympozjum "Naturalne i Syntetyczne Produkty Zapachowe i Kosmetyczne". Łódź, 2015.
20. **Bonikowski R.**, Wajs-Bonikowska A., Maciąg A., Sikora M., Kula J., Stobiecka A., Dobrzyńska-Inger A., Kostrzewa D., Rój E. Ekstrakty szalwii lekarskiej – bogate źródło witaminy E. VI Krajowe Sympozjum "Naturalne i Syntetyczne Produkty Zapachowe i Kosmetyczne". Łódź, 2015.

Zagadnieniem, któremu poświęcam wiele uwagi jest również wykorzystanie surowców naturalnych jako donorów chiralności. W tej dziedzinie współpracowałem przy opracowaniu chemoenzymatycznej metody syntezy optycznie czystych (*R*)- i (*S*)-lawanduloli z (*R*)- i (*S*)-limonenu oraz opracowaniu metody syntezy kwasu (*S*)-rycynolowego z (*R*)-rycynolowego. Tematyka ta przedstawiona została w dwóch publikacjach naukowych, jednym patencie i trzech doniesieniach konferencyjnych (lista poniżej).

1. Gliszczyńska A., **Bonikowski R.**, Kula J., Wawrzenczyk C., Ciołak K. Chemomicrobial synthesis of (*R*)- and (*S*)-lavandulol. *Tetrahedron Lett*, **2011**, 52(34), 4461-4463

2. Kula J., **Bonikowski R.**, Szewczyk M., Ciołak K. Synthesis of (S)-ricinoleic acid and its methyl ester with the participation of ionic liquid. *Chem Phys Lipids*, **2014**, 183, 137-141
3. Gliszczyńska A., Wawrzeńczyk Cz., Kula J., Bonikowski R. Nowy (S)-(+)-5-metylo-2-(prop-1-en-2-ylo)heksan-1,5-diol i nowy (R)-(-)-5-metylo-2-(prop-1-en-2-ylo)heksan-1,5-diol oraz sposób ich wytwarzania, *patent polski*, **PL 212559**, 2012
4. Ciołak K., Gliszczyńska A., **Bonikowski R.**, Kula J., Wawrzeńczyk Cz. Synteza R- i S-lawanduloli z limonenu. Postępy w Chemii Związków Heteroorganicznych. XIII Ogólnopolskie Sympozjum Sekcji Chemii Heteroorganicznej PTChem. Łódź, 2010.
5. Gliszczyńska A., **Bonikowski R.**, Ciołak K., Kula J., Wawrzeńczyk Cz. Chemomikrobiologiczna synteza (R)- i (S)-lawandulolu. 54. Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego. Materiały zjazdowe. Warszawa, 2011.
6. Kula J., **Bonikowski R.**, Ciołak K. Synteza kwasu (S)-rycynolowego z udziałem cieczy jonowej. 57. Zjazd Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego. Chemia - nadzieje i marzenia. Warszawa, 2014.

W roku 2014 nawiązałem **międzynarodową współpracę** z prof. Felixem Tomi (Uniwersytet na Korsyce) dotyczącą analiz metodą jądrowego rezonansu magnetycznego estrów alkoholi monoterpenowych. W wyniku tej współpracy powstał artykuł p.t. „Chromatographic and spectral characteristic of some esters of a common monoterpene alcohols” przyjęty do recenzji we *Flavour and Fragrance Journal* (przesłany 17 lipca 2015 r.).

Swój warsztat badawczy udoskonalałem biorąc udział w szkoleniach, między innymi: z zakresu analizy aromatów spożywczych "Challenges in Food Flavor Analysis" (Poznań, 2009), z zakresu obsługi zestawu do dwuwymiarowej chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (Łódź, 2012) oraz "Using the Statistical Compare and Fisher Ratio ChromaTOF software Features" (Praga, Czechy, 2013).

Od roku 2005 byłem wykonawcą w siedmiu projektach badawczych (nie wliczając grantu promotorskiego), w tym dwóch finansowanych ze środków Unii Europejskiej oraz jednego w ramach programu **COST**.

W latach 2010-2014 realizowałem projekt badawczy własny przyznany w ramach 39. konkursu MNiSzW.

Aktualnie staram się pozyskać środki na finansowanie projektu badawczego, którego celem jest zbadanie zależności pomiędzy aktywnością biologiczną, a strukturą nowych syntetycznych alkaloidów powstałych w wyniku połączenia chiralnych, polifunkcyjnych syntonów uzyskanych z (+)-karotolu z wybranymi niebiałkowymi *N*-benzoilohydroksyaminokwasami. Planowane badania pozwolą na zaprojektowanie nowych struktur charakteryzujących się wysoką aktywnością biologiczną (cytotoksyczność, właściwości antymikrobowe).

Od roku 2010 rozpocząłem współpracę, jako recenzent artykułów naukowych, z czasopismami o zasięgu międzynarodowym tj. *Analytical Chemistry* (IF=5,36; 1 recenzja), *Molecules* (IF=2,416; 4 recenzje), *International Journal of Molecular Sciences* (IF=2,862; 1 recenzja).

5. Prace eksperckie

Od roku 2009 współpracuję z Zakładem Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi jako biegły w zakresie analizy i określania zawartości środków odurzających i substancji psychotropowych w materiale biologicznym. Wprowadziłem między innymi metodykę oznaczania poziomu amfetaminy i pochodnych, kokainy i pochodnych, opiatów, benzodiazepin oraz naturalnych kanabinoidów we krwi.

Od roku 2011 wydaję opinie i ekspertyzy dla Prokuratury Apelacyjnej w Łodzi oraz Prokuratury Okręgowej w Łodzi w zakresie analizy chemicznej materiałów dowodowych.

Od rozpoczęcia pracy w Instytucie Podstaw Chemii Żywności PŁ zrealizowałem ponad 120 prac na zlecenie jednostek gospodarczych głównie z przemysłu spożywczego oraz kosmetycznego takich jak: Laboratoria Natury, P.P.CH i P.R.S. Anita Grzegorz Mordalski, Jaskulski Estates, JAR Jaskulski Aromaty, Stock Polska, T.B. Fruit Polska, T.G. Bewa, Polmos Żyrardów.

6. Charakterystyka dorobku dydaktycznego

Od 2001 roku (od rozpoczęcia studiów III stopnia) do chwili obecnej prowadzę na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ, na kierunkach: Biotechnologia, Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka oraz Ochrona Środowiska zajęcia laboratoryjne z chemii organicznej. Ćwiczenia audytoryjne z chemii organicznej prowadzę od 2006 roku. W 2008 roku opracowałem i wprowadziłem nowe na wydziale zajęcia z Technologii i Analizy Aromatów Spożywczych (wykład oraz ćwiczenia laboratoryjne) na kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka

(studia stacjonarne i niestacjonarne), które prowadzę do chwili obecnej. Od roku 2011 prowadzę wykład oraz projekt z zakresu Środowiskowej Oceny Cyklu Życia Produktu (LCA) dla studentów Ochrony Środowiska w ramach zajęć Ochrona Przyrody, Zagrożenia Cywilizacyjne i Zrównoważony Rozwój. Przedmiot Środowiskowa ocena cyklu życia – LCA wprowadziłem w formie fakultetu dla studentów kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka w roku 2012. W tym samym roku opracowałem i wprowadziłem nowe zajęcia laboratoryjne z Organicznej Chemii Technicznej oraz Inżynierii Materiałowej dla studentów międzywydziałowego Kolegium Towaroznawstwa Politechniki Łódzkiej. Od roku 2010 współprowadzę zajęcia laboratoryjne z Podstaw Perfumerii i Analizy Sensorycznej na Podyplomowym Studium „Kosmetologia”. Wykład Chemia Produktów Naturalnych prowadzę od 2014 roku.

W latach 2006-2015 byłem opiekunem 10 prac dyplomowych na studiach I stopnia oraz 12 prac dyplomowych magisterskich, na kierunku Technologia Żywności i Żywnienia Człowieka.

Od 2012 roku jestem promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim mgr inż. Pauliny Świtakowskiej.

W okresie listopad 2014 - marzec 2015 oraz w lipcu 2015 byłem opiekunem stażu naukowego mgr inż. Kamila Szymczaka (wówczas Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka).

8. Charakterystyka dorobku organizacyjnego i popularyzatorskiego

Od roku 2006, z ramienia Instytutu Podstaw Chemii Żywności Politechniki Łódzkiej, jestem członkiem komisji przetargowych ds. sprzętu komputerowego, materiałów i aparatury laboratoryjnej oraz odczynników chemicznych.

W latach 2007, 2012 oraz 2015 byłem członkiem komitetu organizacyjnego Krajowego Sympozjum "Naturalne i Syntetyczne Produkty Zapachowe i Kosmetyczne".

W roku 2011 doprowadziłem do modernizacji pomieszczeń i utworzenia wydziałowej pracowni chromatograficznej „Laboratorium Chromatograficznej Analizy Związków Bioorganicznych”, której jestem kierownikiem. Na wyposażeniu pracowni znajdują się liczne chromatografy gazowe oraz chromatografy gazowe sprzężone ze spektrometrami masowymi, w tym dwuwymiarowy chromatograf gazowy sprzężony ze spektrometrem masowym z analizatorem czasu przelotu jonów (GCxGC-TOFMS). Na zakup zestawu GCxGC-TOFMS

pozyskałem środki w ramach wniosku o przyznanie dotacji na inwestycję w zakresie dużej infrastruktury badawczej (rok 2012).

W latach 2013 oraz 2014 organizowałem i prowadziłem wspólnie z firmą LECO Polska warsztaty dotyczące wykorzystania dwuwymiarowej chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas w analizie produktów spożywczych.

W lipcu 2015 przeprowadziłem szkolenie obejmujące obsługę i konserwację zestawu GCxGC-TOFMS.

Od 2012 roku jestem członkiem komisji i egzaminatorem na egzaminach dyplomowych inżynierskich na kierunku Technologia Żywności i Żywienia Człowieka.

W latach 2013-2015 pełniłem rolę opiekuna roku na kierunku Technologia Żywności i Żywienia Człowieka.

Od roku 2014 jestem pełnomocnikiem Dziekana Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ ds. modułów Laboratoria i Aparatura oraz Projekty Naukowe bazy POL-on.

W roku 2014 zostałem wybrany na przedstawiciela nauczycieli niebędących samodzielnymi pracownikami naukowymi do Rady Instytutu Podstaw Chemii Żywności.

W latach 2014-2015 byłem członkiem Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej.

We wrześniu 2015 roku otrzymałem powołanie na stanowisko zastępcy dyrektora Instytutu Podstaw Chemii Żywności PŁ ds. dydaktycznych.



Łódź, 1.12.2015 r.