

**Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu**  
**Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności**  
**Katedra Chemii Żywności i Biokatalizy**

Agnieszka Krawczyk-Łebek

**Synteza i biotransformacje flawonoidów**  
**z grupą metylową**

Synthesis and biotransformation of flavonoids with  
a methyl group

Dziedzina: nauki ścisłe i przyrodnicze

Dyscyplina: nauki biologiczne

Słowa kluczowe:

biotransformacje, flawonoidy z grupą metylową, glikozylacja  
flawonoidów, entomopatogenne grzyby strzępkowe

**Wrocław, 01.06.2022**

## STRESZCZENIE

Związki flawonoidowe są wtórnymi metabolitami roślin, powszechnie występującymi w diecie człowieka. Wykazują szereg prozdrowotnych właściwości, wśród których można wymienić: przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne, kardioprotekcyjne, hepatoprotekcyjne i przeciwnowotworowe. Flawonoidy z grupą metylową charakteryzują się zwiększoną stabilnością metaboliczną, poprawioną absorpcją jelitową i biodostępnością. Zastosowanie farmakologiczne flawonoidów jest jednak niewielkie. Związki te naturalnie występują jako mieszanina, najczęściej w formie glikozydów flawonoidowych dobrze rozpuszczających się w wodzie, jednak ich ekstrakcja z materiału roślinnego jest zazwyczaj nieopłacalna z powodu ich niskiej zawartości w przeliczeniu na gram suchej masy oraz wysokiego kosztu rozdziału wieloskładnikowych mieszanin związków. Również synteza chemiczna glikozydów flawonoidowych naraża wielu problemów związanych z pracochłonnymi procedurami koniecznymi aby uzyskać regio- i stereoselektywność procesu oraz niskimi wydajnościami z powodu drastycznych warunków reakcji prowadzących do rozkładu aglikonów flawonoidowych. Rozwiązaniem tego problemu jest zastosowanie połączonych metod chemicznych i biotechnologicznych, w których otrzymane na drodze syntezy chemicznej aglikony flawonoidowe są przekształcane do glikozydowych pochodnych z wykorzystaniem układów enzymatycznych entomopatogennych grzybów strzępkowych. Takie podejście pozwala na uzyskanie nowych pochodnych flawonoidowych o poprawionych właściwościach fizykochemicznych i potencjalnie większej aktywności biologicznej.

Celem prezentowanej pracy była synteza wybranych aglikonów flawonoidowych z podstawnikiem metylowym (chalkonów, flawanonów i flawonów), a następnie uzyskanie ich pochodnych glikozydowych z wykorzystaniem całych komórek mikroorganizmów w procesie biotransformacji, a także określenie potencjalnych właściwości fizykochemicznych i aktywności wszystkich otrzymanych związków przy użyciu symulacji komputerowych. Wyniki tych badań zostały przedstawione w monotematycznym cyklu pięciu publikacji. Na podstawie wstępnych badań w małej skali zostały wytypowane trzy najaktywniejsze szczepy entomopatogennych grzybów strzępkowych, tj. *Beauveria bassiana* KCH J1.5, *Isaria fumosorosea* KCH J2 i *Isaria farinosa* KCH J2.6. Zostały one użyte jako biokatalizatory w biotransformacjach prowadzonych w zwiększonej skali, których celem było wyizolowanie i określenie struktur produktów reakcji. Dzięki zastosowaniu cienkowarstwowej chromatografii preparatywnej oczyściłam i rozdzieliłam otrzymane produkty, a następnie określiłam ich struktury chemiczne metodą magnetycznego rezonansu jądrowego ( $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, COSY HSQC, HMBC) i potwierdziłam ich masy molowe za pomocą spektroskopii masowej. W wyniku biotransformacji 8 substratów flawonoidowych (chalkonów, flawanonów i flawonów) z podstawnikiem metylowym otrzymałam 32 pochodne flawonoidowe spośród których 29 nie zostało wcześniej opisanych w literaturze (2 glikozydy chalkonów, 7 glikozydów dihydrochalkonów, 14 glikozydów flawanonów, 1 pochodna glikozydowa kwasu benzoowego, 5 glikozydów flawonów). Udowodniłam, że badane szczepy mają zdolność przyłączania 4-*O*-metyloglukopiranozy do układu flawonoidowego i są zdolne do redukcji wiązania podwójnego chalkonów pomiędzy C- $\alpha$  a C- $\beta$  prowadzącej do otrzymania dihydrochalkonów. Szczepy te prowadzą również reakcje hydroksylacji układu flawonoidowego oraz utlenienia podstawnika metylowego do grupy hydroksymetylowej. Pozycja podstawnika metylowego w strukturze związku flawonoidowego miała wpływ na regioselektywność i wydajność procesu biotransformacji. Symulacje komputerowe na podstawie struktur związków chemicznych wskazują, że otrzymane nowe pochodne

glikozydowe charakteryzują się poprawionymi właściwościami fizykochemicznymi i interesującymi aktywnościami biologicznymi, które wymagają dalszych badań w warunkach *in vitro* i *in vivo*. Uzyskane produkty są obecnie badane w celu scharakteryzowania ich właściwości i wyboru najaktywniejszych związków, dla których można będzie w przyszłości opracować zoptymalizowany proces ich otrzymywania, tak aby mogły stać się komponentami suplementów diety i leków.