



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-18-0188

Chemoenzymatická syntéza látok s farmaceutickým potenciálom: optimalizácia procesov produkcie fenyletanoidných glykozidov

Zodpovedný riešiteľ **Ing. Vladimír Mastihuba, PhD.**

Príjemca **Chemický ústav SAV, v. v. i.**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Chemický ústav SAV, v.v.i.

Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. Hollá, V., Hill, R., Antošová, M., Polakovič, M. (2021) Design of immobilized biocatalyst and optimal conditions for tyrosol β -galactoside production, Bioprocess and Biosystems Engineering, 44(1), 93–101, DOI: 10.1007/s00449-020-02425-2.
2. Hollá, V., Karkeszová, K., Antošová, M., Polakovič, M. (2021) Transglycosylation properties of a Kluyveromyces lactis enzyme preparation: Production of tyrosol β -fructoside using free and immobilized enzyme, Process Biochemistry, 110, 168–175, DOI: 10.1016/j.procbio.2021.08.016.
- 3 Karkeszová K, Antošová M, Potocká EK, et al (2023) Medium engineering of phenylethanoid transfructosylation catalysed by yeast β -fructofuranosidase. Bioprocess Biosyst Eng 46, 237–249. DOI: 10.1007/s00449-022-02828-3
- 4 Karkeszová K, Polakovič M (2023) Production of Fructooligosaccharides Using a Commercial Heterologously Expressed Aspergillus sp. Fructosyltransferase. Catalysts 13, 843. DOI: 10.3390/catal13050843
5. Karnišová Potocká, E., Mastihubová, M., Mastihuba, V. (2021) Transrutinosylation of tyrosol by flower buds of Sophora japonica. Food Chemistry, 336, art. no. 127674. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.127674
- 6 Haluz P, Kis P, Cvečko M, et al (2023) Acuminosylation of Tyrosol by a Commercial Diglycosidase. Int J Mol Sci 24:5943.DOI: 10.3390/ijms24065943
7. Kis, P., Horváthová, E. Gálová, E., Antalová, V., Karnišová Potocká, E., Mastihuba, V., Mastihubová, M. (2021) Biochemical and Biological Activities in Cell-Free and Cellular Assays. Molecules, 26, 7607. DOI: 10.3390/molecules26247607

Uplatnenie výsledkov projektu

Projekt bol postavený na vypracovaní a optimalizácii metód enzýmovej prípravy bioaktívnych fenyletanoidných glykozidov - β -galaktopyranozidov a β -fruktofuranozidov tyrozolu a hydroxytyrozolu. Tieto postupy môžu byť využité v priemyselnom meradle na prípravu kilogramových množstiev cieľových látok

Poskytnutím produktov na biologické testy sa prehĺbili znalosti biologických účinkov fenyletanoidných glykozidov, predovšetkým voči oxidačnému stresu. Ako veľmi sľubný sa ukázal fruktozid hydroxytyrozolu, s účinnosťou ochrany proti oxidačnému poškodeniu DNA na úrovni hydroxytyrozolu pri niekoľkonásobne nižšej toxicite. Boli vypracované metódy enzýmovej prípravy diglykozidov tyrozolu (β -rutinozid, β -akuminozid, β -robinobiozid), ktoré môžu slúžiť ako stavebné bloky štrukturovaných bioaktívnych fenyletanoidov izolovaných z liečivých rastlín.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Boli vypracované metódy enzýmovej prípravy β -galaktopyranozidov a β -fruktofuranozidov tyrozolu a hydroxytyrozolu. Reakčné podmienky boli optimalizované v snahe dosiahnuť maximálne výťažky cieľových glykozidov.

Najúčinnejšie spomedzi testovaných glykozidáz (β -galaktozidáza z *Aspergillus oryzae* a invertáza zo *Saccharomyces cerevisiae*) boli imobilizované na nosiče rôznej chemickej povahy a s rôznym princípom imobilizácie pričom sa najlepšie osvedčili nosiče typu Epoxy. Pripravené biokatalyzátory s optimalizovanou operačnou stabilitou boli testované v opakovanej príprave cieľových glykozidov.

Boli identifikované a optimalizované parametre prietokového reaktora na prípravu tyrozol fruktozidov.

Boli vypracované chromatografické techniky separácie a purifikácie produktov glykozylácie a regenerácie tyrozolu z reakčnej zmesi pričom ako najúčinnnejšia sa ukázala frontálna chromatografia na nosiči Macronet MN270 s dvojestupňovou desorpciou pri rôznych koncentráciách etanolu.

Boli vypracované metódy enzýmovej prípravy niektorých diglykozidov tyrozolu (β -rutinozid, β -akuminozid, β -robinobiozid)

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

Methods for the enzymatic preparation of β -galactopyranosides and β -fructofuranosides of tyrosol and hydroxytyrosol were developed. The reaction conditions were optimized toward maximum yields of the target glycosides. The best-performing glycosidases (β -galactosidase from *Aspergillus oryzae* and invertase from *Saccharomyces cerevisiae*) were immobilized on carriers of different chemical nature and with different principles of immobilization. The activated Epoxy-type carriers proved to be the most appropriate for the desired purpose.

The prepared biocatalysts with optimized operational stability were tested in the repeated preparation of target glycosides.

The parameters of the flow reactor for the preparation of tyrosol fructosides were identified and optimized.

Chromatographic techniques for the separation and purification of glycosylation products and regeneration of tyrosol from the reaction mixture were developed, while frontal chromatography on a Macronet MN270 carrier with two-stage desorption at different concentrations of ethanol proved to be the most effective.

Methods for the enzymatic preparation of some tyrosol diglycosides (β -rutinoside, β -acuminoside, β -robinobioside) have been developed.