شیمی سبز و فناوری های پایدار

افزایش فراهمی زیستی و حلالیت رسوراترول به کمک شیمی سبز

عنوان کوتاه: شیمی سبز و رسوراترول

فیروزه علویان*[1]

*[1] دانشیار، فیزیولوژی پزشکی، گروه علوم پایه، دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران

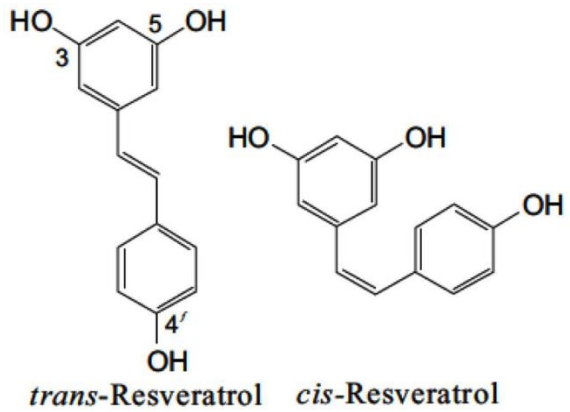
چکیده

پلی فنول‌های گیاهی موضوع چندین تحقیق علمی اخیر بوده‌اند؛ زیرا بسیاری از این مولکول‌ها در بدن انسان بسیار فعال هستند. رسوراترول، ازجمله این پلی فنول‌های مرتبط با متابولیت‌های ثانویه گیاهی است که اثرات دارویی متنوعی در درمان بیماری‌های قلبی، دیابت، سرطان و حتی پتانسیل کاهش پیری را دارد. عملکردهای همه‌جانبه این ترکیبت در سلامت انسان به‌عنوان عوامل دارویی بالقوه، در سال‌های اخیر توجه بسیاری را برای درک مسیر بیوسنتزی و خواص بیولوژیکی آن جلب کرده است. به دلیل مشکلاتی که در به دست آوردن رسوراترول و مشتقات گلوکوزیله و الیگومری آن برای ارزیابی فعالیت آن و استفاده تجاری – دارویی توسط منابع گیاهی وجود دارد، بیوتکنولوژی می‌تواند یک رویکرد رقابتی برای تولید رسوراترول در مقیاس بزرگ و کم‌هزینه ارائه کند. علاوه بر این، یکی از محدودیت‌های استفاده از رسوراترول و مشتقات آگلیکون این ترکیب به‌عنوان عوامل درمانی، فراهمی زیستی پایین و حلالیت کم آن‌ها در آب است. تحقیق حاضر از نوع مروری نَقلی است و بر اساس اطلاعات جمع‌آوری‌شده از منابع انگلیسی زبان گوگل اسکولار، Science Direct و PubMed؛ و با استفاده از کلمات کلیدی رسوراترول، فراهمی زیستی، حلالیت، آنزیم، شیمی سبز انجام شد. این مقاله روش‌هایی را برای سنتز مشتقات دارویی رسوراترول با بهره‌برداری از رویکردهای آنزیمی و بیوکاتالیستی را بررسی می‌کند که امکان استفاده کامل از آن‌ها برای کاربردهای دارویی، غذایی و آرایشی را فراهم می‌کند. همچنین، افزایش بازده محصولات و فعالیت بیولوژیکی موردنظر از طریق روش‌های گلوکوزیلاسیون و الیگومریزاسیون رسوراترول به کمک شیمی سبز در محیط‌های مختلف، موردبحث قرار می‌گیرد.

کلمات کلیدی: رسوراترول، فراهمی زیستی، حلالیت، آنزیم، شیمی سبز

مقدمه

رسوراترول[1] (۳، ۴ و ۵ تری هیدروکسی ترانس استیلبن[2]) ترکیبی پلی‌فنلی متعلق به کلاس استیلبن‌ها است که به شکل دو ایزومر سیس و ترانس وجود دارد (شکل ۱). استیلبن‌ها گروهی از متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند که با از بین بردن رادیکال‌های آزاد، از بدن در برابر بیماری‌های مزمنی مانند دیابت، سرطان، بیماری‌های قلبی، تصلب شرایین و حتی پیری حفاظت می‌کنند. بااین‌حال، رسوراترول ممکن است مزایای سلامتی بیشتری داشته باشد؛ زیرا مطالعات متعدد نشان داده‌اند که فعالیت‌های بیولوژیکی آن شامل توانایی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضد کچلی و حفاظت در برابر شیمی‌درمانی است [۴, ۵]. رسوراترول معمولاً در انگور قرمز



شکل ۱. ساختار دو ایزومر سیس و ترانس رسوراترول

(غنی‌ترین منبع)، توت سفید، کشمش، زغال‌اخته و پوسته قرمز بادام‌زمینی یافت می‌شود [۶].

تحقیقات قبلی نشان داده‌شده است رسوراترول با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش سطوح آنتی‌اکسیدان‌های کبد، سبب حفاظت در برابر شیمی‌درمانی می‌شود [۷]. همچنین ثابت‌شده، تحت تأثیر حذف‌کننده‌های رادیکال آزادی مانند رسوراترول، میزان مرگ‌ومیر مرتبط با مصرف بیش‌ازحد چربی‌های اشباع کاهش می‌یابد [۸]. اخیراً گزارش‌شده که رسوراترول می‌تواند فشارخون را در موش‌های با فشارخون بالا، کاهش دهد که راه جدیدی را برای درمان بیماری‌های قلبی عروقی ارائه می‌دهد [۹]. این ترکیب در تعدیل ایمنی سلولی نقش دارد [۱۰]. علاوه بر این، رسوراترول ممکن است اثرات حفاظتی در برابر بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی مانند پارکینسون و آلزایمر داشته باشد [۱۰, ۱۱]. رسوراترول همچنین برای استفاده احتمالی به‌عنوان یک ماده آرایشی گزارش‌شده است. درواقع، رسوراترول به‌عنوان یک عامل سفیدکننده قوی توصیف می‌شود که از تولید بیش‌ازحد و رسوب ملانین و ایجاد لکه‌های پوستی جلوگیری می‌کند. این ترکیب دارای توانایی مهار فعالیت تیروزیناز است؛ که مرحله محدودکننده سرعت سنتز ملانین در ملانوسیت‌ها و رنگ‌دانه‌ای شدن پوست است [۱۲]. اخیراً، پتانسیل درمانی رسوراترول در اختلالات هموستاتیک مرتبط با COVID-19 موردبررسی قرارگرفته است. شواهد نشان داده است که این ترکیب به دلیل خواص ضد لخته و ضدالتهابی، نقش مهمی در کاهش مرگ‌ومیر مرتبط با COVID-19 دارد. این بررسی،توانایی رسوراترول را برای تعدیل هموستاز عروقی در سطوح مختلف با هدف قرار دادن هموستاز اولیه (تداخل در فعال‌سازی و تجمع پلاکت‌ها) و هموستاز ثانویه (عوامل تعدیل‌کننده دخیل در مسیر انعقاد خون) ثابت کرده است [۱۳].

یکی از محدودیت‌های استفاده از رسوراترول و مشتقات آگلیکون این ترکیب به‌عنوان عوامل درمانی، حلالیت کم در آب و فراهمی زیستی پایین آن‌ها است. پتروستیلبن[3] (۳،۵-

[1] Resveratrol
[2] 3,5,4'-trihydroxy-trans-stilbene
[3] Pterostilbene

دی متوکسی-۴۰-هیدروکسی-ترانس-استیلبن[4]) آنالوگ متوکسیله طبیعی رسوراترول است که برای اولین بار از گیاه صندل سرخ[5] جدا شد. این ترکیب عمدتاً در زغال‌اخته، انگور و چندین چوب گیاهی دیگر یافت می‌شود. [۱۴]. پتروستیلبن ساختاری مشابه با رسوراترول دارد؛ فقط موقعیت شماره ۳ و ۵ حلقه A با یک گروه متوکسیل جایگزین شده است. این وضعیت منجر به افزایش چربی‌دوستی آن نسبت به رسوراترول می‌شود که فراهمی زیستی آن را افزایش می‌دهد [۱۵]. این مزایا منجر به فعالیت‌های زیستی قوی‌تر آن نسبت به رسوراترول؛ ازجمله عملکردهای ضد سرطان، ضد چربی، ضد دیابت و بهبود بیماری‌های قلبی عروقی است [۱۶].

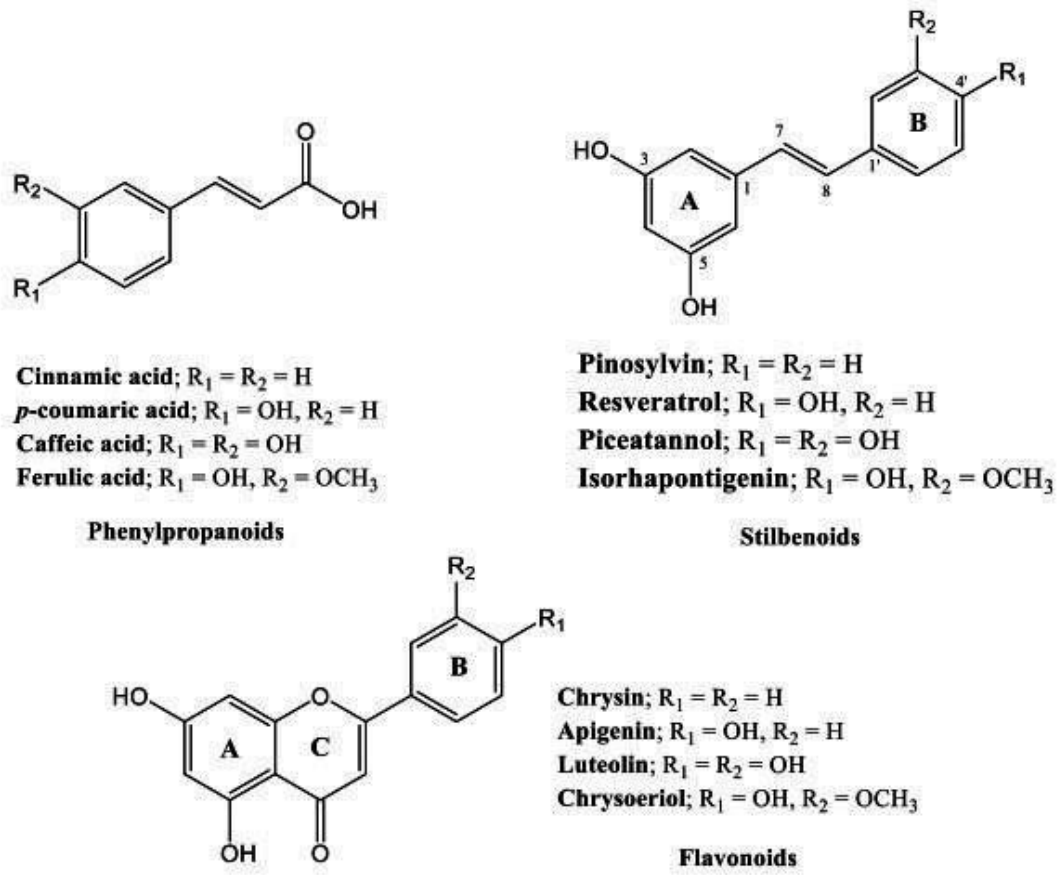
با توجه به کاربردهای احتمالی رسوراترول و مشتقات آن در سلامت و بیماری انسان، یافتن مسیرهای جدید برای تولید این ترکیبات به‌منظور غلبه بر مشکلات مربوط به فرآیند استخراج آن‌ها از منابع گیاهی یا سنتز کامل سریع آن‌ها اهمیت زیادی پیداکرده است. براین اساس، تولید استیلبن با استفاده از کشت سلولی میکروبی؛ شامل باکتری‌ها و مخمرها یا با استفاده از سوسپانسیون‌های سلولی گیاهی (مهندسی یا غیر مهندسی‌شده) در بیوراکتورها انجام می‌شود. بسته به منبع کربن، تیترهای رسوراترول بازیابی شده از صد میلی‌گرم تا چند گرم متغیر است، مشتقات گلوکوزیله و متیله این ترکیب نیز با این سیستم‌های نوترکیب تولیدشده‌اند؛ بر این اساس، این مقاله روش‌هایی را برای سنتز مشتقات استیلبن فعال دارویی با بهره‌برداری از رویکردهای آنزیمی و بیوکاتالیستی را بررسی می‌کند که امکان استفاده از آن‌ها برای کاربردهای دارویی، غذایی و آرایشی را فراهم می‌کند. هدف مقاله حاضر بحث در مورد چشم‌انداز فعلی و آینده تحولات میکروبی و آنزیمی رسوراترول و مشتقات آن و همچنین روش‌های سبز برای بازیابی این ترکیبات است.

درگیری بیوشیمی و شیمی سبز در بیوسنتز مشتقات رسوراترول و استیلبن

استیلبن‌ها از انواع محصولات طبیعی با پیکره اصلی ۱ و ۲-دی فنیل اتیلن[6] هستند. این ترکیبات ازنظر ساختار، بیوسنتز و فعالیت‌های بیولوژیکی شباهت زیادی با ترکیباتی همچون فنیل پروپانوئیدها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها و پلی‌کتیدها دارند (شکل ۲) [۵].

یکی از فرآیندهای متابولیک متداول در موجودات زنده، گلیکولیز سیتوزولی است که گلوکز را به پیروویک اسید تبدیل

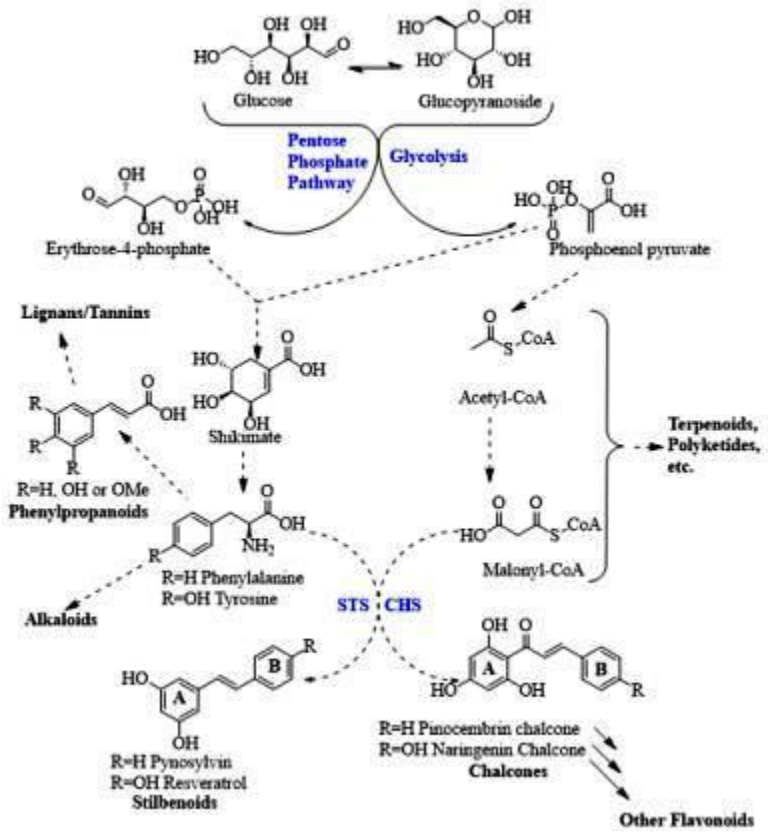
[4] 3,5-dimethoxy-40-hydroxy-trans-stilbene
[5] Pterocarpus santalinus
[6] 1,2-diphenylethylene



شکل ۲. مقایسه ساختارهای شیمیایی ترکیبات فنلی (فنیل پروپانوئیدها، استیل بنوئیدها، فلاونوئیدها). این شکل بر رابطه بیوسنتزی بین فنیل پروپانوئیدها، استیل بنوئیدها و فلاونوئیدها تاکید می‌کند. شماره گذاری کربن‌های مختلف، مونومرهای استیلبن را مشخص می‌کند.

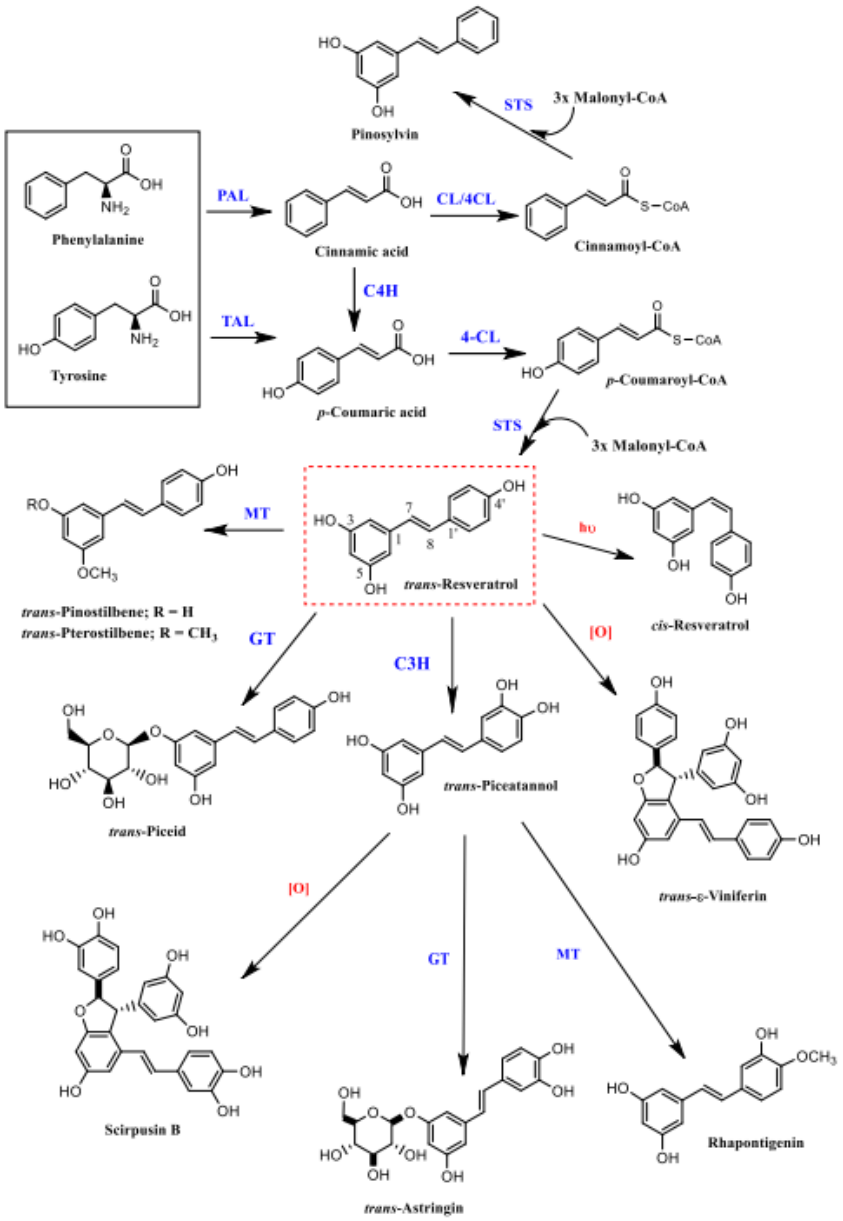
می‌کند و منجر به تولید متابولیت اصلی کلیدی استیل کوآنزیم A (استیل COA) می‌شود. استیل COA نقش مهمی در بیوسنتز بسیاری از ترکیبات ثانویه گیاهی به‌عنوان پیش ساز مالونیل-CoA دارد (شکل‌های ۳ و ۴). مسیر موازی دیگر با گلیکولیز، مسیر پنتوز فسفات است که منجر به تولید اریتروز ۴-فسفات می‌شود. اریتروز ۴-فسفات برای سنتز اسیدهای آمینه آروماتیک (فنیل آلانین و تیروزین) به کار می‌رود. همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده‌شده است، مسیر پیونددهنده استیلبنوئیدها و فلاونوئیدها، مسیر فنیل پروپانوئیدی است که بخشی از اسکلت آن‌ها (فلاونوئیدها / استیلبنوئیدها)؛ یعنی حلقه B را فراهم می‌کند [۱۷]. دو آنزیم بیوسنتزی کلیدی که این مسیر را به سمت استیلبن ها یا فلاونوئیدها منحرف می‌کنند به ترتیب شامل استیلبن سنتاز (STS) و کالکون سنتاز (CHS) هستند. به دلیل بیان محدود STS، استیلبنوئیدها فقط در چند خانواده از گیاهان وجود دارند [۱۸]. از سوی دیگر، آنزیم‌های کلیدی درگیر در سنتز استیلبن‌ها (شکل ۴) شامل آنزیم‌هایی هستند که در تولید فنیل پروپانوئیدها به‌عنوان مسیر رایج بیوسنتز فلاونوئیدها

استفاده می‌شوند. گیاهان همچنین دارای تیروزین آمونیاک لیاز (TAL) هستند که روی تیروزین عمل می‌کند و مستقیماً P-کومارات را تولید می‌کند. همانند بسیاری از واکنش‌های نهایی در مسیر بیوسنتزی استیلبن شامل تراکم P-کومارات – کوآنزیم A با سه واحد مالونیل-CoA تحت اثر کاتالیزوری STS است؛ که از ترکیب حاصل، می‌توان استیلبنوئیدها را



شکل ۳. مسیرهای بیوسنتزی استیلبنوئیدها و فلاونوئیدها. مسیر پنتوز فسفات باعث تشکیل اریتروز-۴-فسفات می‌شود. گلیکولیز، فسفوانول پیروات را تشکیل می‌دهد. ترکیب اریتروز-۴- فسفات با فسفوانول پیروات منجر به تشکیل اسکلت ۷ کربنی شیکیمات (shikimate) می‌شود که منجر به تشکیل فنیل آلانین و تیروزین می‌شود. ترکیب نهایی استیلبنوئیدها و فلاونوئیدها را تولید می‌کند که به ترتیب توسط استیلبن سنتاز و کالکون سنتاز کاتالیز می‌شوند. CHS: کالکون سنتاز و STS: استیلبن سنتاز.

بیولوژیکی در سیستم‌های زنده که کوآنزیم A به‌طور گسترده در بیوسنتز متابولیت‌های گیاهی ثانویه استفاده می‌شود، این ماده طی واکنش آنزیمی به P-کومارات اضافه می‌شود. مرحله تولید کرد [۶]. با مشخص شدن اسکلت اصلی استیلبن ها،



شکل ۴. مسیر فنیل پروپانوئید و متابولیسم بعدی رسوراترول. فنیل آلانین و تیروزین باعث تشکیل P-coumarate می‌شوند که پس از فعال شدن به شکل یک مشتق CoA منجر به تشکیل P-coumaroyl-CoA می‌شود. یک واحد P-coumaroyl-CoA با ۳ واحد مالونیل-CoA ترکیب می‌شود تا رسوراترول را تحت اثر کاتالیزوری استیلبن سنتاز تشکیل دهد. متابولیسم بعدی رسوراترول و ترکیبات مرتبط شامل متیلاسیون، گلوکوزیلاسیون و واکنش‌های اکسیداسیون است. اختصارات: مسیر فنیل پروپانوئید: PAL و TAL، به ترتیب، فنیل آلانین و تیروزین آمونیاک لیاز. C4H، سینامات-۴-هیدروکسیلاز؛ لیگازهای CL, 4CL, cinnamoyl/4-cinammoyl-CoA. STS، استیلبن سنتاز؛ CHS، کالکون سنتاز؛ آنزیم‌های تزئینی: MT، O- متیل ترانسفرازها. GT، O-گلوکوزیل ترانسفرازها؛ C3H، P-کومارات ۳-هیدروکسیلاز. [O]، اکسیدازها. سایر اختصارات: ۳x Malonyl-CoA نشان می‌دهد که سه واحد مالونیل-CoA برای ساخت حلقه A از استیلبن ها ضروری است.

ممکن است تغییرات ساختاری بیشتری از طریق طیف وسیعی از واکنش‌های آنزیمی حاصل شود. مسیرهای اضافی برای تنوع شیمیایی در بین استیلبن‌ها از طریق اصلاح گروه‌های هیدروکسیل آروماتیک از طریق متیلاسیون یا گلوکوزیلاسیون کاتالیز می‌شود. فرآیند اکسیداسیون استیلبن‌ها مسیری مشابه فنیل پروپانوئیدها را دنبال می‌کند تا لیگنان‌ها و لیگنین‌ها را که هر دو خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند، تشکیل دهند.

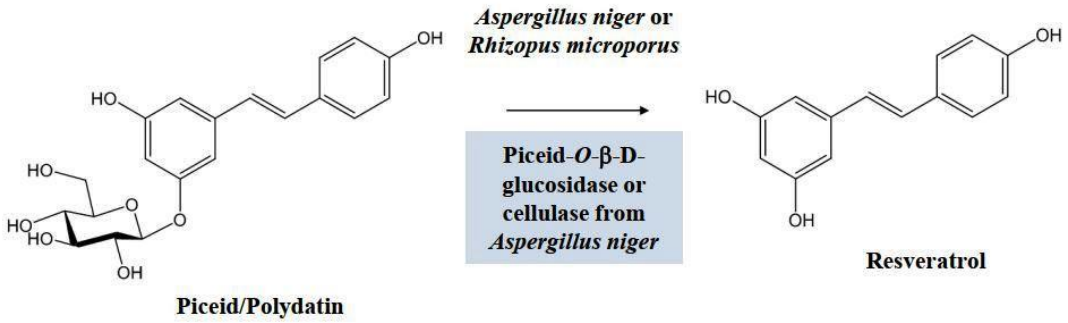
افزایش حلالیت و فراهمی زیستی استیلبن ها

به‌طورکلی، آگلیکون‌های پلی‌فنولیک، حلالیت آبی ضعیفی دارند و همین موضوع سبب جذب محدود آن‌ها می‌شود؛ درنتیجه غلظت آن‌ها در خون کم می‌شود. خوشبختانه پلی‌فنل‌ها عمدتاً به شکل مشتقات گلوکوزیله در طبیعت وجود دارند. در بین پلی‌فنولیک ها، فیتواستیلبن ها و نماینده نمادین آن‌ها رسوراترول، فعالیت‌های بیولوژیکی بسیار متنوعی را نشان داده‌اند. بااین‌حال، بیشتر مزایای سلامتی امیدوارکننده مشاهده‌شده، ناشی از مطالعات آزمایشگاهی انجام‌شده بر روی سلول‌ها، بافت‌ها یا بخش‌های درون‌سلولی است [۱۹]. به نظر می‌رسد مقادیر رسوراترول در سطح بافت‌ها یا سلول‌ها برای رسیدن به کارایی در مدل‌های حیوانی یا انسانی بسیار کم باشد. چنین وضعیتی ممکن است به اختلال در جذب یا فراهمی زیستی رسوراترول و همچنین متابولیسم آن مرتبط باشد. اگرچه جذب خوراکی رسوراترول در انسان بالاست، فراهمی زیستی واقعی آن کمتر از ۱٪ است [۱۹]؛ بنابراین، ایده‌های نوظهور شیمی سبز در مورد امکان افزایش جذب و فراهمی زیستی رسوراترول با اصلاح حلالیت و قطبیت آن در آب، جای تأمل دارد [۲۰]. درواقع، تغییر حلالیت و قطبیت رسوراترول برای جذب، انتقال در خون و رساندن آن به بافت‌ها یا سلول‌های هدف، تعیین‌کننده به نظر می‌رسد.

چنین رویکردهایی به اصلاح هسته استیلبن یا توسط مسیرهای مبتنی بر شیمی صناعی، سنتز آنزیمی یا تبدیل‌های باکتریایی/ قارچی مبتنی است. بااین‌حال، در مواجهه با چالش‌های زیست‌محیطی کنونی، اکنون تأکید بیشتری بر توسعه فرآیندهای جدید برای تولید استیلبن با استفاده از روش‌های شیمی سبز است [۶].

حلالیت، نفوذپذیری از طریق دستگاه گوارش (GIT) و همچنین فراهمی زیستی و متابولیسم، ویژگی‌های مهمی هستند که بر عملکرد یک ماده یا فعالیت درمانی آن تأثیر می‌گذارند. در مورد ترکیبات پلی‌فنلی به‌طورکلی، گلوکزیدهای آن‌ها حلالیت بالاتری نسبت به فرم آگلیکون آن‌ها دارند. گلوکزیدهای پلی‌فنولیک عموماً توسط گلوکوزیدازهای موجود در سطح GIT، گلوکوزیدازهای متصل به غشاء سلول‌ها یا داخل سلول‌های پوشاننده سطح روده باریک و همچنین توسط گلوکوزیدازهای میکروفلور، دکونژوگه می‌شوند [۲۱]. درواقع، به نظر می‌رسد که هیدرولیز بخش قندی، برای جذب ترکیبات پلی‌فنلی نوعی پیش‌نیاز باشد. همین رفتار ممکن است در مورد رسوراترول و مشتقات آن نیز رخ دهد [۲۲]. پس از جذب از دیواره روده، رسوراترول بیشتر از طریق عملکرد UDP[۷] گلوکورونوزیل‌ترانسفراز و سولفوترانسفرازها متابولیزه می‌شود. گلوکورونیداسیون و سولفاته شدن عمدتاً در موقعیت ۳- هیدروکسی فنیل رخ می‌دهد [۲۳]. ازآنجایی‌که حلالیت و قطبیت، عوامل تعیین‌کننده در جذب رسوراترول هستند، رویکرد منطقی افزایش فراهمی زیستی رسوراترول و مشتقات آن از طریق ساخت مشتقات محلول‌تر و قطبی‌تر، عمدتاً به شکل گلوکوزیدها است. گلوکوزیلاسیون هیدروکسی استیلبن‌ها نیز مهم است؛ زیرا متابولیسم بعدی استیلبن‌ها در سلول گیاهی (متیلاسیون، ایزوپرنیلاسیون) احتمالاً در شکل‌های گلوکوزیله

[7] Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase



شکل ۵. هیدرولیز پلی دایتین توسط سلول‌های میکروبی کامل یا برش آنزیمی. رسوراترول را می‌توان با انکوباسیون ۱) در سوسپانسیون‌های سلول کامل Aspergillus niger یا Rhizopus microporous یا ۲) در حضور β-گلوکوزیداز (piceid-O-β-D-glucosidase) بازیابی کرد [۱-۳].

آن‌ها اتفاق می‌افتد؛ بنابراین، مطالعات به سمت تولید رسوراترول گلوکوزیدهای بسیار متنوعی انجام می‌شود که حلالیت بالاتر و خواص سورفکتانت[۸] (سورفکتانت‌ها یا مواد فعال سطحی، موادی هستند که باعث کاهش کشش سطحی آب می‌شوند) بهتری نسبت به همتایان خود نشان می‌دهند [۲۲]. این کار، توسط میکروارگانیسم‌های کامل، روش‌های مصنوعی یا بیوکاتالیستی قابل انجام است.

برخی محققان گزارش کرده‌اند که مشتقات متیله رسوراترول مانند پتروستیلبن (۳،۵-دی متوکسی-۴'-هیدروکسی استیلبن[۹])، ۳،۵،۴'-تری متوکسی استیلبن[۱۰] (TMS) و ۳،۴،۵،۴'-تترا متوکسی استیلبن[۱۱] (DMU212) علیرغم خاصیت آب‌گریزی بالا، خواص فارماکوکینتیک مطلوب‌تری نسبت به خود رسوراترول، نشان می‌دهند [۲۴-۲۶]؛ بنابراین، تولید مشتقات متیله رسوراترول را نباید در استراتژی بهبود فراهمی زیستی ترکیبات استیلبن نادیده گرفت. اشکال متیله رسوراترول حلالیت آبی قابل‌توجه کمتری نسبت به هیدروکسی استیلبن ها دارند. به همین دلیل، مشخص شد که میزان DMU212 در مقایسه با رسوراترول در پلاسما، کبد و قلب موش‌ها پس از مصرف خوراکی کاهش‌یافته است [۲۶]. بااین‌حال، این ترکیب در مقایسه با رسوراترول با مقادیر زیادی در مخاط روده و همچنین در مغز تجمع می‌یابد. مطالعات دیگر، خواص فارماکوکینتیک بهتر استیلبن‌های متیله (پتروستیلبن و TMS) را تأیید کرده‌اند، زیرا به نظر می‌رسد ویژگی چربی‌دوستی آن‌ها برای جذب خوب روده‌ای مناسب است [۲۵].

شیمی سبز و تبدیل میکروبی پلی‌داتین به رسوراترول

گلوکوزیدهای رسوراترول مانند پلی‌داتین[۱۲]، منابع جالبی برای تولید رسوراترول هستند. پلی‌داتین یا piceid، ماده مؤثری است که از Polygonum cuspidatum استخراج می‌شود.

[8] Surfactant
[9] 3,5-dimethoxy-4'-hydroxystilbene
[10] 3,5,4'-trimethoxystilbene
[11] 3,4,5,4'-tetra methoxy stilbene
[12] Polydatin

تبدیل زیستی پلی‌داتین به رسوراترول با تخمیر مواد خام در حضور میکروارگانیسم‌های کامل یا آنزیم‌های جداشده از سلول‌ها قابل انجام است [۲۷] (شکل ۵). از طریق انکوبه کردن پودر ۶٪ ازPolygonum cuspidatum ، با آسپرژیلوس نایجر در تخمیرگرهای ۵ لیتری، تبدیل تقریباً ۱۰۰٪ پلی‌داتین به رسوراترول انجام می‌شود [27]. از سوی دیگر، برای تبدیل پلی‌داتین به رسوراترول از ریشه P. Cuspidatumاز تثبیت هم‌زمان آن با آسپرژیلوس نایجر و مخمر ساکارومایسس سرویزیه در محلول‌های آلژینات سدیم ۶٪ نیز می‌توان استفاده کرد [۲]. همچنین، تبدیل پلی‌داتین به رسوراترول توسط گلوکوزیداز یا سلولاز از آسپرژیلوس نایجر اتفاق می‌افتد [3].

تولید کم‌هزینه رسوراترول به دلیل عدم نیاز به منبع کربن است؛ زیرا در این شرایط، منبع کربن، گلوکز آزادشده پس از دگلوکوزیلاسیون پلی‌داتین است. تبدیل میکروبی پلی‌داتین به رسوراترول از P. Cuspidatum درنهایت از طریق تخمیر با پاتوژن قارچی ریزوپوس میکروپور[۱۳] صورت می‌گیرد. برای رسیدن به بازده ۹۸٪، تخمیر طولانی ۳۶ ساعته موردنیاز است [۲۸]. بااین‌حال، تمام این آزمایش‌ها منجر به غلظت نهایی بسیار پایین رسوراترول در حدود چند صد میکروگرم است.

تولید بیوکاتالیستی مونومرها و دیمرهای استیلبن

حتی ساختارهای مونومر آگلیکون‌های استیلبن، حلالیت آبی ضعیفی دارند. یکی از مشکلات عمده‌ای که محققان در استفاده از روش‌های بیوکاتالیستی برای سنتز مشتقات استیلبن (استیلبن‌های گلوکوزیله، متیله و الیگومریزه) با آن مواجه هستند، مشکل یافتن سیستم‌های مناسبی است که اجازه انحلال خوب آن‌ها را از یک‌سو و فعالیت آنزیمی مناسب را از سوی دیگر بدهند. براین اساس، چندین رویکرد را می‌توان در نظر گرفت: استفاده از ۱) یک سیستم حلال آلی تک فازی، ۲) یک سیستم تک فازی آب / حلال‌های آلی قابل اختلاط با آب، ۳) سیستم‌های دوفازی متشکل از حلال‌های آلی غیرقابل اختلاط با آب، ۴) مایعات یونی، ۵) سیستم‌های شامل آنزیم‌های بدون حرکت ثابت و ۶) سیکلودکسترین‌ها در محیط‌های بدون حلال آلی.

سیستم‌هایی که فقط شامل یک حلال آلی هستند، با فعالیت آنزیمی خوب سازگار نیستند؛ بنابراین، برای گلوکوزیلاسیون استیلبن و الیگومریزاسیون، واکنش‌ها عمدتاً در سیستم‌های تک فازی متشکل از آب و یک حلال آلی قابل اختلاط با آب (اتانول، استون، n- بوتانول و DMSO[۱۴] در نسبت‌های مختلف) انجام می‌شوند. سیستم‌های دوفازی استفاده‌شده مانند اتیل استات / استات سدیم هستند؛ ولی به‌ندرت از آن‌ها استفاده می‌شود [29] .

روش‌های سبز شامل مایعات یونی و سیکلودکسترین‌هایی که امکان حذف کامل حلال‌های آلی را فراهم می‌کنند هم اخیراً برای گلوکوزیلاسیون استیلبن‌ها توصیف‌شده‌اند [۳۰]. درنهایت، استفاده از آنزیم‌های تثبیت‌شده روی دانه‌های شیشه‌ای یا غربال‌های مزوپور می‌تواند جایگزین مناسبی برای انجام واکنش‌های تبدیل زیستی استیلبن‌ها باشند[۳۱]. از سوی دیگر، روش‌های بیوکاتالیستی این مزیت رادارند که واکنش‌های یک مرحله‌ای را در مقایسه با واکنش‌های چندمرحله‌ای موردنیاز برای سنتز کل استیلبن‌ها و مشتقات آن‌ها ممکن می‌سازند.

تبدیل آنزیمی پلی‌داتین به رسوراترول

[13] Rhizopus microporous

[14] Dimethylsulfoxide

به‌جای استفاده از میکروارگانیسم‌های کامل که با فعالیت آنزیمی بهینه گلوکوزیدازها و درنتیجه زمان‌های تخمیر طولانی مدت (۴۸ تا-۷۲ ساعت) مطابقت ندارد [۲۷, ۲۸]، محققان کارایی آنزیم‌های مؤثر در تبدیل دقیق پلی‌داتین به آگلیکون را گزارش کرده‌اند [۲]؛ به‌طوری‌که Piceid-β-D- گلوکوزیداز تخلیص شده از قارچ آسپرژیلوس اوریزا [۳۲]، تبدیل ۱۰۰٪ پلی‌داتین به رسوراترول را در یک محیط اسیدی در عرض ۳ تا ۴ ساعت به همراه داشته است.

گلوکوزیلاسیون آنزیمی هیدروکسی استیلبن‌ها

جایگزینی گروه‌های هیدروکسی فنیل (که از این به بعد به‌عنوان گروه‌های OH معرفی می‌شوند) رسوراترول با معرفی یک بخش گلوکوزیل یا گاهی اوقات یک گروه متیل، ممکن است فعالیت زیستی ترکیبات حاصل را بسته به موقعیت آن‌ها بر روی هسته استیلبن؛ و همچنین حلالیت و فراهمی زیستی آن‌ها را تغییر دهد [22]. به‌عنوان‌مثال، استیلبن گلوکزیدهای α-O-3 حلالیت بهتری نسبت به گلوکزیدهای β-O-3 و آگلیکون نشان می‌دهند. از سوی دیگر، مطالعات در مورد فعالیت آنتی‌اکسیدانی استیلبن ها در رابطه با موقعیت گروه‌های جایگزین متفاوت است. گلوکوزیلاسیون در موقعیت OH-3 باعث فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتر نسبت به گلوکوزیلاسیون در موقعیت OH-4 است [22]. برخی گزارش‌ها نقش مثبت گروه‌های OH-4 استیلبن‌ها در افزایش فعالیت زیستی آن‌ها را گزارش کرده‌اند علاوه بر این، جایگزینی OH-4 رسوراترول به آن مقاومت کامل در برابر اکسیداسیون آنزیمی توسط تیروزینازها را می‌دهد. درحالی‌که جایگزینی در موقعیت OH-3 منجر به مقاومت ضعیف‌تر است [۳۳].

بتا گلوکوزیدهایی همچون پلی‌داتین و رسوراترولوزید[۱۵] را می‌توان از طریق یک مسیر مبتنی بر سنتز شیمیایی با مخلوط کردن رسوراترول با استوبرومو- α -β-گلوکز در حضور هیدروکسید پتاسیم به دست آورد [33]. از سوی دیگر، پر استری شدن رسوراترول و به دنبال آن محافظت از گروه‌های هیدروکسیل گلوکز باعث ایجاد گلوکزید غیرطبیعی با حلالیت بالا در آب می‌شود. حلالیت گزارش‌شده این ترکیب ۹۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آب بود؛ درحالی‌که برای رسوراترول تنها ۰/۰۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود؛ یعنی ۳۰۰۰ برابر بیشتر. بااین‌حال، تجویز خوراکی آن منجر به افزایش جذب رسوراترول در مقایسه با آگلیکون؛ به دلیل هیدرولیز تأخیری این استر در سطح GIT نشد [۳۴]. این مثال به‌وضوح پیچیدگی واکنش‌های اجراشده برای سنتز شیمیایی گلوکوزیدهای رسوراترول؛ ازجمله مراحل فعال‌سازی متعدد و محافظت را نشان می‌دهد.

همه روش‌هایی که تاکنون شرح داده‌شده، تولید رسوراترول آلفا-گلوکوزیدهایی را هدف قرار داده‌اند که حلالیت آبی آن‌ها ۶ برابر بیشتر از بتا-گلوکوزیدهای طبیعی است [۲۲]. درواقع، مشکل اصلی در گلوکوزیلاسیون ترکیبات آب‌گریز مانند رسوراترول، متعادل کردن حلالیت رسوراترول و پایداری گلوکوزیداز مورداستفاده است. در این هدف، مخلوطی از بافر استات ۰/۲ مولار و DMSO به‌عنوان بهترین گزینه برای بازده ۵۰ درصدی گلوکوزیلاسیون رسوراترول گزارش‌شده است [22].

در تحقیقی، استفاده از سیکلودکسترین گلوکانوترانسفراز باکتری‌های بی‌هوازی گرمادوست منجر به تولید یک سری

[15] 3،5،4'-trihydroxystilbene-4'-O-β-D-glucopyranoside

گلوکوزیدهای رسوراترول در PH=5/6 و دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد شد. بازده نهایی در گلوکزیدهای بازیافت شده نیز بالاتر بود. تمام گلوکوزیدهای به‌دست‌آمده به‌طور کامل با یک آمیل‌گلوکوزیداز خالص هیدرولیز شدند که نشان‌دهنده جذب کارآمد آن‌ها در سطح GIT است. درواقع به‌خوبی شناخته‌شده است که هیدرولیز گلوکزیدهای پلی‌فنلی به آگلیکون‌های مربوطه در این سطح، پیش‌نیاز جذب آن‌ها توسط سلول‌های روده است [۳۴].

جالب‌توجه است که آلفا-گلوکوزیلاسیون رسوراترول، خواص سورفکتانت آن را ارائه می‌دهد که در مورد فرم طبیعی β-آنومریک، پلی‌داتین گزارش نشده است [۲۲].

سنتز گلوکوزیدهای رسوراترول در حلال‌های سبز

در استفاده از حلال‌های آلی، به‌منظور تولید گلوکوزیدهای رسوراترول [۲۲]، تحقیقات بیشتری برای متعادل کردن حلالیت رسوراترول و پایداری آنزیم‌ها، با معرفی حلال‌های سبز در مخلوط واکنش انجام‌شده است [۳۵]. برای این منظور، مایعات یونی مناسب به‌عنوان حلال برای گلوکوزیلاسیون رسوراترول انتخاب می‌شوند. مایعات یونی برای املاح غیر قطبی مانند استیلبن‌ها به‌عنوان حلال‌های غیر قطبی و برای املاح قطبی به‌عنوان حلال‌های قطبی عمل می‌کنند. دی وینتر و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که یک محلول مایع یونی ۶۰٪، انحلال فوق‌العاده رسوراترول را تضمین می‌کند و همچنین اجازه انحلال خوب ساکاروز به‌عنوان منبع گلوکز را می‌دهد. بااین‌حال، یکی از اشکالات استفاده از آن‌ها در بیوکاتالیز این است که می‌توانند بر پایداری آنزیم تأثیر منفی بگذارند. به همین دلیل، این محققان سیستمی را با استفاده از نوعی مایع یونی که یک نمک آمونیوم چهارتایی اتوکسیله[16] است، در ترکیب با بافر MES[17]، به‌عنوان حلالی کارآمد برای حل شدن رسوراترول با بازده بالا را معرفی کرده‌اند [۳۵].

به‌طور متفاوت، سیکلودکسترین‌ها خانواده بزرگی از اولیگوساکاریدهای حلقوی را تشکیل می‌دهند که از واحدهای گلوکز مرتبط با α-(۱ و ۶) تشکیل‌شده‌اند. سیکلودکسترین ها مانند یک سیستم دوفازی رفتار می‌کنند؛ زیرا دارای ساختار قفس مانندی هستند که حفره آب‌گریز مرکزی، محیط مناسبی برای ایجاد مجموعه سیکلودکسترین-رسوراترول است. دیواره‌های اطراف سیکلودکسترین ها نیز معمولاً آب‌دوست هستند [۳۶]. از سیکلودکسترین معمولاً در محیط کشت سلولی گیاهی به‌عنوان محرک‌های تولید زیستی استیلبن استفاده می‌شوند. همچنین می‌توانند به‌عنوان اهداکننده گروه‌های گلوکوزیل در واکنش‌های ترانس گلوکوزیلاسیون عمل کنند [۳۷]. اخیراً، سنتز رسوراترول-α-گلوکزیدها در یک محیط بدون حلال آلی با استفاده از یک β-سیکلودکسترین به‌عنوان دهنده گروه‌های گلوکوزیل توسعه‌یافته است [۳۰].

الیگومریزاسیون هیدروکسی استیلبن ها

استیلبن‌های ساده ممکن است تحت فرآیند الیگومریزاسیون هم در گیاهان که عمدتاً توسط پراکسیدازها کاتالیز می‌شوند و هم در قارچ‌ها، تحت تأثیر اکسیدازهای قارچی مانند لاکازها قرار گیرند. تولید اشکال بسیار پلیمریزه شده رسوراترول در گیاه نه‌تنها نشان‌دهنده ظرفیت فوق‌العاده سلول گیاهی برای تولید مولکول‌های بسیار پیچیده است، بلکه به مکانیسم‌های دفاعی آن‌ها نیز کمک می‌کند؛ زیرا برخی از الیگومرهای استیلبن، سمی‌تر از مونومرها هستند. از سوی دیگر،

[16] ethoxylated

[17] 2-(N-morpholino) ethane sulfonic acid

اکسیداسیون مونومرهای استیلبن توسط لاکازهای قارچی یا برخی پراکسیدازها مطابق با یک مکانیسم سازگاری تکامل‌یافته برای مقابله با عمل فیتوالکسین‌های تولیدشده توسط گیاهان میزبان آن‌ها است. تبدیل فیتوالکسین‌های مونومر به الیگومرهای کمتر محلول در آب ممکن است وسیله‌ای برای فرار پاتوژن‌های قارچی از عمل فیتوالکسین باشد [۳۸] و بنابراین، در شیمی از فعالیت این آنزیم‌های اکسیداتیو برای سنتز بیومیمتیک الیگومرهای استیلبن متعدد استفاده می‌شود.

الیگومریزاسیون هیدروکسی استیلبن‌ها با پراکسیداز

الیگومرهای رسوراترول دارای اثرات سیتوتوکسیک روی رده‌های سلولی سرطان ملانوم پوست انسان هستند [۳۹]. به دلیل علاقه روزافزون به این ترکیبات، اخیراً چندین رویکرد برای به دست آوردن آن‌ها در مقادیر زیاد ایجادشده است که امکان ارزیابی فعالیت بیولوژیکی آن‌ها را فراهم می‌کند. ازجمله می‌توان به روش‌های بیوکاتالیستی با استفاده از پراکسیدازها یا لاکازهای قارچی اشاره کرد. رسوراترول تیمار شده با عوامل اکسیدکننده معدنی و حلال‌های آلی مختلف، بازدهی متنوعی از ۳۰ تا ۹۷ درصد داشته است [۴۰]. به‌طوری‌که در گزارش لانگ‌کاک و پریس (۱۹۷۷) [۴۱]، پراکسیداز ترب کوهی (HRP[18]) در استون آبی برای تبدیل رسوراترول به ساختارهای دیمری استفاده شد که منجر به تولید دهیدرودایمر ترانس رسوراترول؛ با بازدهی ۴۱٪ شد. آزمایش‌های مشابه با استفاده از پراکسیدازهای مختلف سویا و پراکسیداز قارچی نیز در سیستم‌های حلال مختلف (اتانول/ استون/ آب) (۱:۱) در دمای ۲۷ درجه و بازدهی ۱/۸٪ تا ۲۱/۴٪ انجام‌شده است [۴۰]. جالب‌توجه است، زمانی که مقدار رسوراترول مورداستفاده برای دیمرازسیون استیلبن از ۱۰ به ۵۰ میلی‌گرم تغییر کرد، مقادیر دیمرهای بازیابی شده، افزایش یافت که نشان می‌دهد مقیاس‌گذاری این روش امکان‌پذیر است. پراکسیداز سویا همچنین برای دیمریزاسیون رسوراترول با بازده تبدیل آنزیمی بیش از ۹۹ درصد استفاده‌شده است که منجر به ایجاد دهیدرودیمر- رسوراترول- ترانس (۶۰٪) و پالیدول[19] (۲۰٪) شد [۴۲].

HRP معمولاً برای اکسیداسیون استیلبن بیوکاتالیستی برای تشکیل الیگومرهای استیلبن بسیار متراکم استفاده می‌شود. در مطالعه‌ای، هی و همکاران (۲۰۰۸) مکانیسم‌های تشکیل برخی از تریمرهای رسوراترول، در حضور HRP در ۵۰٪ استون آبی را رمزگشایی کرده‌اند. این محققان گزارش کردند که این تریمرها با افزودن یک واحد رسوراترول به یک دایمر آغازین تشکیل‌شده‌اند. همه این تریمرها در مقادیر میلی‌گرم و با بازده تقریبی ۱۵٪ بازیابی شدند [۴۳]. سنتز انتخابی هفت دایمر رسوراترول با روش HRP با تغییر pH نیز گزینه بعدی است؛ که تنوع ترکیبات به‌دست‌آمده را می‌توان به این شکل محدود کرد [۴۴].

دیمریزاسیون هیدروکسی استیلبن‌ها با لاکاز

لاکازها گروهی از آنزیم‌های اکسیداتیو هستند که بهره‌برداری از آن‌ها به‌عنوان کاتالیزورهای زیستی در گذشته نادیده گرفته‌شده است. جستجوی فرآیندهای جدید، کارآمد و بی‌خطر برای محیط‌زیست، صنایع نساجی، خمیر و کاغذ، علاقه به این کاتالیزورهای اساساً «سبز» را افزایش داده است. به‌عنوان‌مثال، لاکازها به‌عنوان عواملی برای ساخت داروی ضد سرطان وین‌بلاستین [۴۵] یا به‌عنوان کاتالیزور سبز برای بیوسنتز پلی فنول‌ها [۴۶] به کار می‌روند. لاکازها به دلیل

[18] horseradish

[19] Pallidol

محتوای مس، به‌عنوان «آنزیم‌های آبی‌رنگ برای شیمی سبز» توصیف‌شده‌اند [۴۷]. این بیوکاتالیست‌ها، می‌توانند فرآیندهای پلیمریزاسیون یا دپلیمریزاسیون را کاتالیز کنند. واکنش‌های کاتالیز شده توسط لاکازها با اکسیداسیون تک الکترونیکی یک مولکول بستر مناسب (فنل‌ها و آمین‌های آروماتیک یا آلیفاتیک) به رادیکال واکنش‌دهنده مربوطه صورت می‌گیرد. فرآیند ردوکس به کمک خوشه‌ای از چهار اتم مس که هسته کاتالیزوری آنزیم را تشکیل می‌دهند انجام می‌شود. نتیجه کلی چرخه کاتالیزوری، کاهش یک مولکول اکسیژن به دو مولکول آب؛ و اکسیداسیون هم‌زمان چهار مولکول بستر برای تولید چهار رادیکال است. سپس، این واسطه‌های واکنشی می‌توانند دیمرها، الیگومرها و پلیمرها؛ ازجمله الیگومرهای متعدد رسوراترول را تولید کنند [۴۷].

استفاده از این آنزیم خالص امکان تشکیل ε-وینیفرین (نوعی دایمر رسوراترول)، با بازده تبدیل رسوراترول قابل‌توجه (۹۷٪)؛ اما با استفاده از مقادیر بسیار کمی (چند ده میکروگرم) از استیلبن اولیه را فراهم می‌کند. تثبیت لاکاز روی تکیه‌گاه، همراه با استفاده از یک حلال آلی قابل امتزاج با آب مانند n-بوتانول، جالب‌ترین گزینه برای تبدیل بیوکاتالیستی رسوراترول به دیمرهای آن را ارائه می‌کند. هنگامی‌که لاکاز در یک سیستم دوفازی بافر اتیل استات / سدیم استات حرکت داده شود، یک سری مونومرهای استیلبن هیدروکسیله و متیله، پلیمریزه می‌شوند که نتیجه آن ایجاد طیف گسترده‌ای از دیمرها است [۶].

اشکال عمده استفاده از پراکسیداز یا لاکاز الیگومریزاسیون زیستی رسوراترول این است که الیگومرهای متعددی به دلیل تنوع تراکم رادیکال به دست می‌آیند. این امر تصفیه بیشتر و شناسایی استیلبن‌های تولیدشده را دشوارتر می‌کند.

بحث و نتیجه‌گیری

در این مقاله مروری، روش‌هایی برای به دست آوردن رسوراترول و برخی از مشتقات آن (الیگومرها و گلوکوزیدها) با استفاده از روش‌های بیوکاتالیستی، آنزیمی و شیمی سبز شرح داده شد. اگرچه استیلبن ها کاربردهای زیادی در پزشکی و تهیه لوازم‌آرایشی دارند، اما استفاده احتمالی آن‌ها به دلیل حلالیت کم در آب یا فعالیت بیولوژیکی کم، محدود است که رویکردهای جدید برای سنتز مشتقات استیلبن گلوکوزیله را توجیه می‌کند [۲۲]. درواقع، حلالیت و فراهمی زیستی رسوراترول و الیگومرهای آن از طریق ساخت چنین مشتقات گلوکوزیله ای افزایش می‌یابد.

اخیراً، استراتژی‌های بیوکاتالیستی به روش‌های سبز تبدیل‌شده‌اند که امکان استفاده از آنزیم‌ها در آب یا بافرها و درنتیجه حذف حلال‌های آلی را فراهم می‌کنند. سؤال مهمی که در سنتز بیومیمتیک استیلبن باقی می‌ماند، تعادل بین حلالیت پذیرنده (در اینجا هیدروکسی استیلبن‌های آغازین) و حلالیت و پایداری آنزیم‌ها است. درواقع، دوگانگی که در سنتز سبز مشتقات استیلبن یا ترکیبات پلی‌فنلی و به‌طورکلی بسیاری از محصولات طبیعی دیگر وجود دارد، عمدتاً به دلیل محدودیت آب‌دوست بودن آن‌ها است. این مشکل را می‌توان تا حدی با استفاده از سیستم‌های تک فازی حلال‌های آلی قابل اختلاط با آب و محلول در آب (عمدتاً استون آبی) یا سیستم‌های دوفازی حاوی آب و حلال‌های آلی غیرقابل اختلاط با آب که انتقال بین دو فاز را با هم زدن یا تکان دادن تضمین می‌کنند، برطرف کرد [۳۵]. از سوی دیگر، روش‌های مصنوعی بیومیمتیک را می‌توان برای تولید استیلبن‌های غیرطبیعی به کار برد. درواقع، لاکاز استخراج‌شده از قارچ Myceliophtora thermophyla می‌تواند استیلبن‌های غیرطبیعی مانند مشتق ۳،۵-دی-O-رسوراترول را اکسید کند تا دایمر مربوطه، تترا استیل-رسوراترول ترانس

دهیدرودایمر را تشکیل دهد. این امر نشان می‌دهد لاکازها می‌توانند استیلبن‌های پیش ساز را ازنظر ساختاری، متفاوت از بسترهای معمول خود اکسید کنند؛ بنابراین از این خاصیت می‌توان برای بیوسنتز ترکیبات استیلبن غیرطبیعی با انحلال و فعالیت بالاتر نسبت به ترکیبات طبیعی استفاده کرد [۴۸]. همچنین، واکنش‌های کاتالیز شده با پراکسیداز می‌تواند راه را برای به دست آوردن الیگومرهای هترو جدید؛ مانند هترودیمر متشکل از تراکم رسوراترول و فرولیک اسید غیر استیلبنوئید، تحت تأثیر پراکسیداز باز کند. درنهایت، ترکیبات جدید به‌دست‌آمده، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را به‌عنوان پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد از خود نشان می‌دهد. بااین‌حال، بازده محاسبه‌شده تبدیل زیستی رسوراترول به یکی از الیگومرهای متناظر آن معمولاً کم تا متوسط است (کمتر از ۱٪ تا ۴۱٪). این بازده تبدیل کم تا متوسط را می‌توان به این واقعیت نسبت داد که فرآیند الیگومریزاسیون به‌جای اینکه به یک ترکیب منفرد منجر شود، به تعداد زیادی دایمر، تریمر یا تترامر منجر می‌شود. به‌هرحال هدایت مکانیسم واکنش به سمت تشکیل تعداد محدودی الیگومر به‌سادگی با تغییر pH مخلوط واکنش می‌تواند استراتژی جالبی برای تولید استیلبن‌های دیمری باشد [۴۴]. از سوی دیگر، سنتز بیوکاتالیستی استیلبن‌های گلوکوزیله در حال حاضر در بهبود حلالیت و فراهمی زیستی استیلبن مؤثر است که دلیل آن، حلالیت خوب آن‌ها در آب، به‌ویژه آلفا گلوکوزیدها در مقابل β-گلوکوزیدهای طبیعی است (حلالیت گلوکزید α-رسوراترول ۶۷ برابر بیشتر از β-رسوراترول است!)؛ بنابراین، گلوکوزیدهای استیلبن می‌توانند تأثیر قابل‌توجهی در پیشبرد اهداف پزشکی و آرایشی داشته باشند. استیلبن‌های محلول در آب ممکن است برای درمان برخی از سرطان‌های پوست یا در زیبایی‌شناسی مؤثر باشند. علاوه بر این، گلوکوزیلاسیون استیلبن ها برای تسهیل جذب آن‌ها در سطح GIT مناسب است [۲۲, ۳۰].

استراتژی موفق و امیدوارکننده در گلوکوزیلاسیون کارآمد رسوراترول، استفاده از سیکلودکسترین ها است. این ترکیبات دارای چندین ویژگی جالب مربوط به ساختار خاص خود هستند. درواقع، این پلی‌ساکاریدها نوعی قفس محدود ایجاد می‌کنند که بخش داخلی آب‌گریز آن حلالیت خوب آگلیکون‌های استیلبن را تضمین می‌کند. دیواره‌های اطراف سیکلودکسترین‌ها نیز معمولاً آب‌دوست هستند که این خاصیت امکان استفاده از حلال‌های آب‌دوست یا حتی آب را برای افزایش حلالیت فراهم می‌کند. استفاده از آب یا بافرها منجر به انحلال خوب آنزیم‌های مورداستفاده برای گلوکوزیلاسیون هسته استیلبن می‌شود [۳۰]. سیکلودکسترین‌ها همچنین در تثبیت رسوراترول در محیط، با محافظت از آن در برابر اکسیداسیون شیمیایی احتمالی دخالت می‌کنند. درنهایت، آن‌ها به‌عنوان اهداکنندگان گلوکز در واکنش‌های ترانس گلوکوزیلاسیون کاتالیز شده توسط آنزیم نقش دارند. همچنین، طیف گسترده‌ای از مشتقات گلوکوزیله در مقادیر قابل‌توجهی بازیابی شده‌اند و نتایج به‌دست‌آمده برای افزایش مقیاس این فرآیند کاملاً دلگرم‌کننده هستند. درنهایت، تحقیق بیشتر در این مسیر، سیستمی کارآمد برای به دست آوردن مشتقات استیلبن زیستی با اثربخشی مناسب فارماکولوژیک و بهداشتی فراهم می‌کند.

منابع

[۱] Chen, M., et al., Enzymatic transformation of polydatin to resveratrol by piceid-β-d-glucosidase from Aspergillus oryzae. *Bioprocess and biosystems engineering*. ۲۰۱۴. ۳۷(۱), ۱۴۱۶-۱۴۱۱.

[۲] Jin, S., et al., Biotransformation of polydatin to resveratrol in Polygonum

cuspidatum roots by highly immobilized edible Aspergillus niger and Yeast. *Bioresource technology*. ۲۰۱۳. ۱۳۶, ۷۷۰-۷۶۶.

[۳] Chong, Y., et al., An optimum fermentation model established by genetic algorithm for biotransformation from crude polydatin to resveratrol. *Applied biochemistry and biotechnology*. ۲۰۱۲. ۱۶۶, ٤٥٧-٤٤٦.

[٤] Bhat, K.P., J.W. Kosmeder, and J.M. Pezzuto, Biological effects of resveratrol. *Antioxidants and redox signaling*. ۲۰۰۱. ۳(٦), ۱۰٦٤-۱۰٤۱.

[٥] Gianchecchi, E. and A. Fierabracci, Insights on the effects of resveratrol and some of its derivatives in cancer and autoimmunity: a molecule with a dual activity. *Antioxidants*. ۲۰۲۰. ۹(۲), ۹۱.

[٦] Jeandet, P., et al., Whole-cell biocatalytic, enzymatic and green chemistry methods for the production of resveratrol and its derivatives. *Biotechnology advances*. ۲۰۲۰. ۳۹, ۱۰۷٤٦۱.

[۷] Lee, P.S., et al., Chemoprevention by resveratrol and pterostilbene: Targeting on epigenetic regulation. *BioFactors*. ۲۰۱۸. ٤٤(۱), ۳٥-۲٦.

[۸] Fauconneau, B., et al., Comparative study of radical scavenger and antioxidant properties of phenolic compounds from Vitis vinifera cell cultures using in vitro tests. *Life sciences*. ۱۹۹۷. ٦۱(۲۱), ۲۱۱۰-۲۱۰۳.

[۹] Prysyazhna, O., et al., Blood pressure–lowering by the antioxidant resveratrol is counterintuitively mediated by oxidation of cGMP-dependent protein kinase. *Circulation*. ۲۰۱۹. ۱٤۰(۲), ۱۳۷-۱۲٦.

[۱۰] Malaguarnera, L., Influence of resveratrol on the immune response. *Nutrients*. ۲۰۱۹. ۱۱(٥), ۹٤٦.

[۱۱] Bastianetto, S., C. Ménard, and R. Quirion, Neuroprotective action of resveratrol. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. ۲۰۱٥. ۱۸٥۲(٦), ۱۱۹٥-۱۲۰۱.

[۱۲] Jeandet, P., et al., Use of grapevine cell cultures for the production of phytostilbenes of cosmetic interest. *Comptes Rendus Chimie*. ۲۰۱٦. ۱۹(۹), ۱۰۷۰-۱۰٦۲.

[۱۳] Giordo, R., et al., Therapeutic potential of resveratrol in COVID-۱۹-associated hemostatic disorders. *Molecules*. ۲۰۲۱. ۲٦(٤), ۸٥٦.

[۱٤] Schmidlin, L., et al., A stress-inducible resveratrol O-methyltransferase involved in the biosynthesis of pterostilbene in grapevine. *Plant physiology*. ۲۰۰۸. ۱٤۸(۳), ۱٦۳۹-۱٦۳۰.

[۱٥] Yeo, S.C.M., P.C. Ho, and H.S. Lin, Pharmacokinetics of pterostilbene in S prague-D awley rats: The impacts of aqueous solubility, fasting, dose escalation, and dosing route on bioavailability. *Molecular nutrition & food research*. ۲۰۱۳. ٥۷(٦), ۱۰۱٥-۱۰۲٥.

[۱٦] Satheesh, M.A. and L. Pari, The antioxidant role of pterostilbene in streptozotocin-nicotinamide-induced type ۲diabetes mellitus in Wistar rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. ۲۰۰٦. ٥۸(۱۱), ۱٤۸۳-۱٤۹۰.

[۱۷] Nabavi, S.M., et al., Flavonoid biosynthetic pathways in plants: Versatile targets for metabolic engineering. *Biotechnology advances*. ۲۰۲۰. ۳۸, ۱۰۷۳۱۶.

[۱۸] Shen, T., X.-N. Wang, and H.-X. Lou, Natural stilbenes: an overview. *Natural product reports*. ۲۰۰۹. ۲۶ (۱), ۹۳۵-۹۱۶.

[۱۹] Walle, T., Bioavailability of resveratrol. *Annals of the new York Academy of Sciences*, ۲۰۱۱, ۱۲۱۵ ,-۹ ۱۵.

[۲۰] Chimento, A., et al., Progress to improve oral bioavailability and beneficial effects of resveratrol. *International journal of molecular sciences*. ۲۰۱۹. ۲۰ (۶), ۱۳۸۱.

[۲۱] Setchell, K.D., et al., Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*. ۲۰۰۲. ۷۶ (۲), ٤٥۳-٤٤۷.

[۲۲] Torres, P., et al., Enzymatic Synthesis of α-Glucosides of Resveratrol with Surfactant Activity. *Advanced Synthesis & Catalysis*. ۲۰۱۱. ۳٥۳(۱), ۱۰۸٦-۱۰۷۷.

[۲۳] Courtois, A., et al., In vitro glucuronidation and sulfation of ε-viniferin, a resveratrol dimer, in humans and rats. *Molecules*. ۲۰۱۷. ۲۲(٥), ۷۳۳.

[۲٤] Kapetanovic ,I.M., et al., Pharmacokinetics, oral bioavailability, and metabolic profile of resveratrol and its dimethylether analog, pterostilbene, in rats. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. ۲۰۱۱. ٦۸ (۲), ٦۰۱-٥۹۳.

[۲٥] Lin, H.-S. and P.C. Ho, A rapid HPLC method for the quantification of ۳, ٥, ٤′-trimethoxy-trans-stilbene (TMS) in rat plasma and its application in pharmacokinetic study. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. ۲۰۰۹. ٤۹ (۲), ۳۹۲-۳۸۷.

[۲٦] Sale, S., et al., Pharmacokinetics in mice and growth-inhibitory properties of the putative cancer chemopreventive agent resveratrol and the synthetic analogue trans ۳, ٤, ٥, ٤′-tetramethoxystilbene. *British journal of cancer*. ۲۰۰٤. ۹۰(۳), -۷۳٦ ۷٤٤.

[۲۷] Wang, H., et al., Biotransformation of piceid in Polygonum cuspidatum to resveratrol by Aspergillus oryzae. *Applied microbiology and biotechnology*. ۲۰۰۷. ۷٥ (٤), -۷٦۳ ۷٦۸.

[۲۸] Tian, T., et al., Microbial transformation of polydatin and emodin-۸-β-d-glucoside of Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc into resveratrol and emodin respectively by Rhizopus microsporus. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. ۲۰۰۸. ۲٤ (٦), ۸٦٦-۸٦۱.

[۲۹] Ponzoni, C., et al., Laccase-catalyzed dimerization of hydroxystilbenes. *Advanced synthesis & catalysis*. ۲۰۰۷. ۳٤۹, ۱٥۰٦-۱٤۹۷.

[۳۰] Marié, T., et al., Enzymatic synthesis of resveratrol α-glycosides from β-cyclodextrin-resveratrol complex in water. *ACS Sustainable Chemistry &*

[۳۸] Breuil, A.-C., et al., Characterization of a pterostilbene dehydrodimer produced by laccase of Botrytis cinerea. *Phytopathology*. ۱۹۹۹. ۸۹ (٤), ۳۰۲-۲۹۸.

[۳۹] Nivelle, L., et al., Cytotoxicity of labruscol, a new resveratrol dimer produced by grapevine cell suspensions, on human skin melanoma cancer cell line HT-. ۱٤٤ *Molecules*. ۲۰۱۷. ۲۲(۱۱), ۱۹٤۰.

[٤۰] Takaya, Y., et al., Biomimic transformation of resveratrol. *Tetrahedron*. ۲۰۰٥. ٦۱ (٤۳), -۱۰۲۸٥ ۱۰۲۹۰.

[٤۱] Langcake, P. and R.J. Pryce, Oxidative dimerisation of ٤-hydroxystilbenes in vitro: production of a grapevine phytoalexin mimic. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. ۱۹۷۷ (۱), ۲۱۰-۲۰۸.

[٤۲] Mora-Pale, M., et al., Antimicrobial mechanism of resveratrol-trans-dihydrodimer produced from peroxidase-catalyzed oxidation of resveratrol. *Biotechnology and bioengineering*. ۲۰۱٥. ۱۱۲ (۱۲), ۲٤۲۸-۲٤۱۷.

[٤۳] He, S., et al., Stilbene oligomers from Parthenocissus laetevirens: isolation, biomimetic synthesis, absolute configuration, and implication of antioxidative defense system in the plant. *The Journal of organic chemistry*. ۲۰۰۸. ۷۳ (۱٤), -٥۲۳۳ ٥۲٤۱.

[٤٤] Li, C., et al., pH-switched HRP-catalyzed dimerization of resveratrol: A selective biomimetic synthesis. *Engineering*. ۲۰۱۸. ٦ (٤),-٥۳۷۰ ٥۳۸۰.

[۳۱] Zhang, H., et al., Immobilization of laccase for oxidative coupling of trans-resveratrol and its derivatives. *International journal of molecular sciences*. ۲۰۱۲. ۱۳(٥), ٦۰۰۸-٥۹۹۸.

[۳۲] Zhang, C., et al., Purification and characterization of piceid-β-D-glucosidase from Aspergillus oryzae. *Process Biochemistry*. ۲۰۰۷. ٤۲(۱), ۸۸-۸۳.

[۳۳] Regev-Shoshani, G., et al., Glycosylation of resveratrol protects it from enzymic oxidation. *Biochemical Journal*. ۲۰۰۳. ۳۷٤(۱), ۱٦۳-۱٥۷.

[۳٤] Biasutto, L., et al., Soluble polyphenols: Synthesis and bioavailability of ۳, ٤, ٥-tri (α-d-glucose-۳-O-succinyl) resveratrol. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. ۲۰۰۹. ۱۹(۲۳), ٦۷۲٤-٦۷۲۱.

[۳٥] De Winter, K., et al., Ionic liquids as cosolvents for glycosylation by sucrose phosphorylase: balancing acceptor solubility and enzyme stability. *Green chemistry*. ۲۰۱۳. ۱٥ (۷), ۱۹٥٥-۱۹٤۹.

[۳٦] Jeandet, P., C. Clément, and E. Courot, Use of plant cell suspensions as a basis for large-scale production of resveratrol in bioreactors. Eng. *Life Sci*. ۲۰۱٤. ۱٤, ٦۳۲-٦۲۲.

[۳۷] Zhou, W.-b., et al., Enzymatic synthesis of α-glucosyl-timosaponin BII catalyzed by the extremely thermophilic enzyme: Toruzyme ۳,۰ L. *Carbohydrate research*. ۲۰۱۰. ۳٤٥(۱۲), ۱۷٥۹-۱۷٥۲.

Green chemistry. ۲۰۱۲. ۱٤ (۱۲), ۳۲۸٤-۳۲۸۱.

[٤٥] Kunamneni, A., et al., Engineering and applications of fungal laccases for organic synthesis. *Microbial cell factories*. ۲۰۰۸. ۷(۱), ۱۷-۱.

[٤٦] Su, J., et al., Laccase: a green catalyst for the biosynthesis of poly-phenols. *Critical reviews in biotechnology*. ۲۰۱۸. ۳۸(۲), ۳۰۷-۲۹٤.

[٤۷] Riva, S., Laccases: blue enzymes for green chemistry. *TRENDS in Biotechnology*. ۲۰۰٦. ۲٤ (٥), -۲۱۹ ۲۲٦.

[٤۸] Nicotra, S., et al., Biotransformation of resveratrol: synthesis of trans-dehydrodimers catalyzed by laccases from Myceliophtora thermophyla and from Trametes pubescens. *Tetrahedron*. ۲۰۰٤. ٦۰(۳), ٦۰۰-٥۹٥.