

Streszczenie

Glikozydy karotenoidów to szczególny rodzaj ksantofili, w których rdzeń karotenoidowy połączony jest z resztą cukrową. Grupa ta podzielona jest dodatkowo na estrowe glikozydy karotenoidów i eterowe glikozydy karotenoidów. Eterowe glikozydy karotenoidów występują niemal wyłącznie w cyjanobakteriach (sinicach), u których stanowią znaczący składnik pul barwników. Na tę grupę składają się: przeważające monoglikozydowe miksoksantofile oraz rzadsze i słabiej poznane diglikozydowe oscyllaksantyny.

Rdzeń karotenoidowy miksoksantofili (miksol) może ulegać modyfikacjom i występować w postaci pochodnej ketonowej i hydroksylowej. Resztami cukrowymi są niemal wyłącznie pentozy takie jak fukoza, ramnoza czy chinowoza. Reszta cukrowa także może podlegać modyfikacjom zależnym od gatunku. Miksoksantofile posiadają udowodnioną rolę strukturalną i są konieczne do prawidłowej budowy ścian komórkowych i błon tylakoidów modelowej cyjanobakterii *Synechocystis* PCC6803. Ich względna zawartość w komórkach wzrasta w odpowiedzi na wiele rodzajów stresu: m.in. stresu świetlnego, UV, ciepła, chłodu czy zmian metabolicznych wywołanych mutacjami. Ze względu na fakt specyfikę, a także zróżnicowanie gatunkowe co do rodzaju pochodnej karotenoidowego rdzenia oraz reszty cukrowej, miksoksantofile mogą służyć w charakterze swoistego indykatora obecności sinic.

Celem pracy było opracowanie metody pozyskiwania glikozydów karotenoidów o wysokiej czystości w skali większej od analitycznej. Możliwość uzyskania większej ilości miksoksantofili pozwalała przeprowadzić badania, których efektem było poszerzenie wiedzy na temat roli ochronnej w organizmach cyjanobakteryjnych, szczególnie w kontekście oddziaływań tych cząsteczek z ich środowiskiem.

Preparatywna metoda otrzymywania eterowych glikozydów karotenoidów została oparta na ekstrakcji materiału biologicznego z użyciem alkoholu etylowego, wstępnego oczyszczania za pomocą ekstrakcji ciecz-ciecz z wykorzystaniem benzyny ekstrakcyjnej i właściwego oczyszczania techniką chromatografii cieczowej używając żelu krzemionkowego jako złoża oraz z wykorzystaniem acetonu i eteru naftowego oraz metanolu jako eluentów. Czystość ekstraktów została potwierdzona metodami wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

W otrzymanych czystych izolatach wykryto nieopisane wcześniej izomery cis miksoksantofili z *Synechocystis* PCC6803 oraz *Anabaena* PCC7120. Formy te zostały odkryte dzięki sp. mas i sp. UV. Wygenerowane komputerowo potencjalne struktury izomerów pozwoliły zilustrować, jak izomeryzacja wiązania wpływa na kształt cząsteczki.

Wyniki badań z użyciem technik spektrofotometrii i spektroskopii dichroizmu kołowego dały wgląd w interakcje miksoksantofili z ich otoczeniem. Związki te wykazują solwatochromizm, czyli różnice w absorpcji promieniowania UV-Vis polegające na przesunięciu maksimów absorpcji. Zmiany te korelują z refrakcją rozpuszczalnika, która jest miarą ich polaryzowalności. Nie są skorelowane natomiast z miarami polarności środowiska: empiryczną znormalizowaną polarnością Reinhardta oraz stałą dielektryczną. Wskazuje to na występowanie efektów dyspersyjnych. W roztworach wodno-alkoholowych występuje zjawisko zaniku struktury widma w roztworach o wysokiej zawartości wody. Można to

przypisać tworzeniu się supramolekularnych agregatów miksoksantofili – zjawiska charakterystycznego dla karotenoidów.

Badania nad wygaszaniem tlenu singletowego przez miksoksantofile z *Synechocystis* PCC6803 oraz *Anabaena* PCC7120 wskazały na wysoką aktywność w tym zakresie, podobną do innych karotenoidów. W mieszaninach zawierających znaczną zawartość wody pojawiła się konieczność zastosowania modelu dwuskładnikowego będącego układem dwóch, następujących po sobie prostych opisujących zależność odwrotności czasu wygaszania od stężenia miksoksantofili i w konsekwencji dwóch stałych wygaszania. Najodpowiedniejszym wytłumaczeniem tego procesu było występowanie zjawiska agregacji, które zmieniało kinetykę wygaszania. Pomiar wartości stałych wygaszania tlenu singletowego pokazały wysoką zdolność antyoksydacyjną miksoksantofili, nawet w formach zagregowanych.

Podsumowując, nowa metoda uzyskiwania czystych eterowych glikozydów karotenoidów w ilościach preparatywnych, pozwala na uzyskanie materiału potrzebnego do badań i potencjalnych zastosowań przy użyciu tanich i łatwo dostępnych materiałów. Jest też szybka i nieskomplikowana. Przeprowadzone badania wskazały na wyraźną tendencję do formowania agregatów w środowiskach wodnych, co przybliżyło do wyjaśnienia roli biologicznej tych związków. Jest to szczególnie interesujące w kontekście proponowanych supramolekularnych „tratw” jako struktur protekcyjnych w błonach komórkowych. Zidentyfikowane formy cis mogą mieć znaczenie w tych procesach ze względu na zmienioną geometrię cząsteczek.