BÀI DỊCH

***Introduction:***

Flavonoids bao gồm một nhóm lớn của hợp chất polyphenolic có cấu trúc là một benzo-ɣ-pyrone, thường gặp trong nhiều loài thực vật. Chúng được tổng hợp từ quá trình phenylpropanoid. Các bài báo cáo có giá trị đều có xu hướng cho rằng các chất chuyển hóa thứ cấp của phenolic bao gồm cả flavonoid đều có sức ảnh hưởng đến các hoạt động nghiên cứu thuộc về lĩnh vực dược lí. Flavonoids đươc hydroxyl hóa từ các chất phenolic và được biết đến như là một chất được tổng hợp từ cây xanh có khả năng đáp trả lại sự nhiễm khuẩn. Các hoạt động của chúng phụ thuộc vào cấu trúc. Tính chất hóa học của flavonoid phụ thuộc vào lớp cấu trúc của chúng, mức độ hydroxyl hóa, sự thay thế hoặc kết hợp khác và mức độ của sự trùng hợp. Những nghiên cứu gần đây cho thấy các chất này đã bị kích thích bởi tiềm lực lợi ích sức khỏe phát sinh từ các hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất phenolic. Nhóm hydroxyl chức năng của flavonoid gián tiếp cho hiệu lực chống oxy hóa bằng cách quét sạch các gốc tự do và/ hoặc tạo chelat với ion kim loại. Các phức vòng càng của kim loại là yếu tố chủ yếu trong việc ngăn ngừa triệt để sự phát sinh mà gây phá hủy các phân tử sinh học.

Như là một thành phần dinh dưỡng, flavonoid được cho rằng là có lợi cho sức khỏe do tính năng chống chống oxy hóa cao của chúng kể cả trong hệ thống in vivo và in vitro. Flavonoids có khả năng tạo ra hệ thống enzyme bảo vệ ở người. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra enzyme bảo vệ của flavonoid có tác dụng chống lại nhiều bệnh nhiễm trùng (do vi khuẩn và các virus gây bệnh), bệnh thoái hóa tim mạch, ung thư và các bệnh liên qua đến tuổi tác khác. Các cơ chế liên quan đến tác dụng bảo vệ của flavonoids được mô tả riêng biệt trong đánh giá này. Flavonoids cũng hoạt động như là một phòng vệ chống oxy hóa thứ cấp trong mô thực vật tiếp xúc với những áp lực phi sinh học và sinh học khác nhau. Flavonoids nằm trong nhân của tế bào diệp nhục (phần thịt lá) và trong các trung tâm của hệ ROS. Chúng cũng điều chỉnh các yếu tố tăng trưởng trong thực vật như auxin. Gen sinh tổng hợp được lắp ráp tại một số vi khuẩn và nấm để tăng cường sản xuất flavonoid. Bài đánh giá này chỉ ra khía cạnh cấu trúc của flavonoid và vai trò của chúng chống lại nhiều bệnh ở người. Chức năng của các flavonoid trong thực vật và sản phẩm từ vi khuẩn cũng được mô tả.

***Chemistry of Flavonoid:***

Flavonoids là những hợp chất tự nhiên có cấu trúc phenolic biến đổi và được tìm thấy trong thực vật. Năm 1993 một chất mới đã được phân lập từ quả cam. Trong giai đoạn này, nó được biết đến như là một chất trong nhóm vitamin mới và được gọi là vitamin P. Sau đó, chất này được gọi là flavonoid và cho tới bây giờ đã có 4000 dạng flavonoid đã được tìm thấy.

Cấu trúc hóa học của flavonoid là một bộ khung gồm 15 carbon bao gồm hai vòng benzene liên kết thông qua một pyrane dị vòng. Chúng có thể chia thành các nhóm nhỏ như flavon (vd: flavone, apigenin, andluteolin), flavonol (ví dụ, quercetin, kaempferol, myricetin, và fisetin), flavanone (ví dụ, flavanone, hesperetin và naringenin), và những nhóm khác. Cấu trúc chung của chúng được thể hiện trong Bảng 1. Các nhóm flavonoid có thể khác nhau về mức độ oxy hóa và mô hình của nhóm thế trên vòng C trong khi từng chất cụ thể trong một nhóm lại khác nhau về mô hình của nhóm thế trên vòng A.

Flavonoid có thể tồn tại ở dạng aglycon, glycosides và các dẫn xuất methyl hóa. Cấu trúc cơ bản là flavonoid aglycone. Vòng 6 cạnh ngưng tụ với vòng benzene hoặc là một α-pyrone (flavonol và flavanone) hoặc dẫn xuất dihydro của chúng (flavonol và flavanone). Vị trí nhóm thế benzenoid chia nhóm flavonoid vào flavonoid (2 vị trí) và isoflavonoid (3 vị trí). Flavonol khác với flavanone bởi nhóm hydroxyl ở 3 vị trí và C2-C3 có nối đôi. Flavonoids thường hydroxy hóa ở các vị trí 3,5,7,2, 3’, 4’, và 5’. Methyl ethers và este acetyl của nhóm rượu được hình thành trong tự nhiên. Khi glycosides được hình thành, các liên kết glycosidic thường được đặt tại vị trí 3 hoặc 7 và phần đường có thể L-rhamnose, D-glucose, glucorhamnose, galactose, hoặc arabinose.

*2.1 Đặc điểm quang phổ của flavonoid:* Các nghiên cứu về flavonoid bằng quang phổ cho thấy rằng hầu hết các flavon và flavonol biểu diễn bởi hai phổ hấp thụ lớn: phổ I (320-385nm) đại diện cho sự hấp thụ vòng B, trong khi phổ II (250-285nm) tương ứng với sự hấp thu của vòng A. Nhóm chức gắn vào khung flavonoid có thể gây ra sự thay đổi hấp thụ như từ 367nm trong kaempferol (3,5,7,4’-OH) đến 371nm trong quercetin (3,5,7,3’, 4’ -OH) và 374nm trong myricetin (3,5,7,3’, 4’, 5’ -OH). Mất nhóm OH ở carbon số 3 của nhóm flavone giúp phân biệt chúng với flavonol. Flavanones có một dị vòng C bão hòa, không có sự liên hợp giữa các vòng A và B, xác định đặc tính quang phổ bởi tia UV. Flavanone được biểu diễn là phổ II cực mạnh có độ hấp thu cao nhất giữa 270nm và 295nm, cụ thể là, 288nm (naringenin) và 285nm (taxifolin), và chỉ có một chỗ uốn phổ I tại 326 và 327nm. Phổ II xuất hiện một peak (270nm) trong các chất có nhóm thế một lần trên vòng B; hai peak (258nm), điểm uốn (272nm) đối với các chất có sự có mặt của hai, ba hoặc thế ở vị trí ortho của một loại nhóm thế trên vòng B. Như anthocyanins đã chỉ ra sự khác biệt của peak của phổ I nằm trong vùng 450- 560nm do hệ thống cinnamoyl hydroxyl của vòng B và peak của phổ II trong vùng 240-280nm do hệ thống benzoyl của vòng A, màu sắc của anthocyanin thay đổi theo số lượng và vị trí của các nhóm hydroxyl.

***Flavonoid rich food and medicinal plants:***

Flavonoid là hợp chất phenolic phổ biến nhất và được phân bố rộng rãi trong các nhóm thực vật, tìm thấy hầu như trong tất cả các bộ phận của cây, đặc biệt là quá trình quang tồng hợp của tế bào thực vật. chúng là thành phần chính trong màu sắc của hoa. Flavonoid là một phần không thể thiếu trong chế độ ăn uống của con người và động vật. Một số nguồn thực phẩm có chứa các nhóm khác nhau của các flavonoid được cho trong bảng 2. Là chất có nguồn gốc từ thực vật, flavonoid không thể được tổng hợp từ người và động vật. Cho nên flavonoid được tìm thấy trong cơ thể động vật là có nguồn gốc từ thực vật (thức ăn) chứ không phải được sinh tổng hợp tại chỗ. Flavonol là flavonoid phong phú nhất trong các loại thực phẩm. Flavonoid trong thực phẩm nói chung là chịu trách nhiệm cho màu sắc, hương vị, phòng ngừa quá trình oxy hóa chất béo, bảo vệ các vitamin và enzyme. Flavonoids tìm thấy với hàm lượng cao nhất trong chế độ ăn uống của con người bao gồm các chất isoflavone trong đậu nành, flavonol, và các flavon. Mặc dù hầu hết các loại trái cây và một số cây họ đậu có chứa catechin, nhưng mức độ thay đổi từ 4,5 đến 610mg / kg. Sơ chế và chế biến thực phẩm có thể làm giảm nồng độ flavonoid tùy thuộc vào phương pháp được sử dụng. Ví dụ, trong một nghiên cứu gần đây, các loại nước ép cam đã được phát hiện có chứa 81-200mg / L flavanone hòa tan, trong khi hàm lượng ở dạng không tan là 206-644mg / L, ám chỉ rằng flavanone được tập trung trong thành dạng không tan trong chế biến và bảo quản [48 ]. Ước tính chính xác của các khẩu phần ăn trung bình của flavonoid là khó khăn, bởi vì có nhiều loại flavonoid có lợi, phân phối rộng rãi trong nhiều loài thực vật khác nhau và sự đa dạng trong quá trình tiêu thụ ở người.

Thời gian gần đây đã có sự bộc phát quan tâm đến khả năng chữa trị của cây thuốc, chủ yếu nói về các hợp chất phenolic, đặc biệt là flavonoid. Con người đã biết sử dụng flavonoid kể từ khi có sự sống trên trái đất, khoảng 4 triệu năm về trước. Những chất này có đặc tính sinh học phong phú, tăng cường sức khỏe con người và giúp giảm nguy cơ mắc bệnh. Sự thay đổi quá trình oxy hóa của LDL cholesterol được cho là đóng vai trò quan trọng trong khi mắc bệnh xơ vữa động mạch. Glabridin isoflavan, một hợp chất chính thuộc nhóm polyphenolic được tìm thấy trong Glycyrrhiza glabra (Fabaceae), có tác dụng ức chế quá trình oxy hóa LDL qua một cơ chế liên quan đến việc loại bỏ các gốc tự do. Một số nghiên cứu dịch tễ học đã cho rằng uống trà xanh hoặc trà đen có thể làm giảm nồng độ cholesterol trong máu và huyết áp, qua đó cung cấp một số bảo vệ chống lại bệnh tim mạch. Flavonoids cũng ảnh hưởng đến chất lượng và sự ổn định của các loại thực phẩm do hoạt động như là chất tạo mùi, chất màu, và chất chống oxy hóa. Flavonoids trong quả mọng có thể có một tác động tích cực đối với bệnh Parkinson và giúp cải thiện trí nhớ ở người cao tuổi. Hiệu quả hạ áp đã được quan sát thấy trong tổng số phần flavonoid của complanatus xương cựa ở chuột tăng huyết áp. Hiệu quả chống tăng huyết áp của tất cả các loại flavonoid trong cây *Astragalus complanatus* đã được quan sát thấy trên chuột tăng huyết áp. Lượng chất flavonoid chống oxy hóa có sự tương quan nghịch với nguy cơ mắc bệnh mất trí nhớ. Bảng 3 tóm tắt một số cây dược liệu giàu flavonoid.

Độ hòa tan có thể đóng vai trò quan trọng trong hiệu quả điều trị của flavonoids. Độ hòa tan của flavonoid aglycon trong nước thấp cùng với thời gian lưu lại trong ruột non ngắn cũng như sự kém hấp thu của chúng không gây ra ngộ độc cấp tính ở người dùng flavonoid, trừ trường hợp xuất hiện dị ứng. Khả năng hòa tan thấp của flavonoid trong nước thường tồn tại một vấn đề liên quan đến ứng dụng làm thuốc của chúng. Do đó, có sự phát triển của dạng flavonoid bán tổng hợp tan được trong nước, ví dụ, hydroxyethylrutosides và inositol-2-phosphatequercetin, đã từng liên quan để điều trị tăng huyết áp và microbleeding.

***Microbial Production of Flavonoids***

Trong các phản ứng tổng hợp từ thực vật và phương pháp hóa học đều cho hiệu suất thấp, các nhóm nghiên cứu đã hướng đến việc tổng hợp flavonoid bằng kĩ thuật chuyển hóa và tổng hợp sinh học thực hiên trên vi sinh vật. Tổng hợp flavonoid bằng phương pháp hóa học đòi hỏi điều kiện phản ứng khắc nghiệt và sử dụng hóa chất độc hại. Do sự phát triển nhanh chóng của công cụ sinh học phân tử và sự tràn ngập thông tin bộ gen từ một loạt các sinh vật, sinh tổng hợp tổ hợp cung cấp lợi thế để sản xuất ra các sản phẩm tự nhiên và đắt tiền. Phương pháp này có thể được sử dụng trong cả những biến đổi đơn giản và phức tạp mà không cần tốn sức trong việc thực hiện các giai đoạn phóng thích hoạc kiềm hãm thường phổ biến trong tổng hợp hữu cơ. Một số sinh vật nhân sơ và sinh vật nhân chuẩn như E.coli, nấm men Saccharomyces cerevisiae, Streptomyces venezuelae và Phellinus igniarius, nấm dược liệu đã được sử dụng để sản xuất flavonoid.

*7.1 Quá trình phenylpropanoid:* trong cây naringenin chalcone là tiền chất để tổng hợp một lượng lớn flavonoid bằng con đường tổng hợp phenylpropanoid. Sản phẩm lên men mà E.coli mang do quá trình lắp ráp nhân tạo theo con đường phenylpropanoid là ví dụ đầu tiên cho thấy rằng con đường sinh tổng hợp gần như hoàn thiện trong cây đã được thiết lập trên loài vi sinh vật để sản xuất flavanone từ các tiền chất acid amin, phenylalanine và tyrosine. Bước đầu tiên của con đường phenylpropanoid ở cây là phenylalanine bị khử amin để tạo thành acid cinnamic do tác động của phenylalanine ammonialyase (PAL). Acid cinnamic bị hydroxy hóa bởi cinnamate4-hydroxylase (C4H) tạo axit p-coumaric, sau đó được kích hoạt để tạo p-coumaroyl-CoA do tác động của 4 coumarate: CoA ligase. Chalcone synthase (CHS) xúc tác quá trình ngưng tụ từng bước của ba đơn vị acetate từ malonyl-CoA với p-coumaroyl-CoA để cho ra naringenin chalcone. Naringenin chalcone được chuyển thành naringenin bởi chalcone isomerase (CHI) hoặc nonenzymatically in vitro.

7.2 *Tăng cường sản xuất flavonoid:* Sự kết hợp của các gen khởi động (promoter) và gen đích; loại trực tiếp của các gen có liên quan; tăng quá mức malonyl-CoA; và xây dựng các enzym P450 nhân tạo là các phương pháp công nghệ sinh học phân tử quan trọng được sử dụng trong sản xuất flavonoid ngoại lai. Mỗi gen từ con đường phenylpropanoid được nhân bản vô tính trong vật chủ dưới sự kiểm soát của promoter mà thường đóng một vai trò quan trọng trong biểu hiện đặc tính ngoại lai của các chất chuyển hóa thứ cấp. Một số promoter đã được sử dụng để tăng cường sản xuất các flavonoid theo nhu cầu của vật chủ cụ thể như T7, ermE \*, và GAL1 promoter. Nồng độ cực thấp của malonyl-CoA trong tế bào vi khuẩn là một trong những hạn chế trong sản xuất vi sinh của flavonoid. Thông qua việc tăng quá mức gen qui định tổng hợp carboxylase acetyl-CoA từ *Photorhabdus luminescens* nơi chứa malonyl-CoA nội bào được khuếch đại dẫn đến tăng sản xuất của flavonoid. Thông qua việc tăng quá mức các gen qui định tổng hợp carboxylase acetyl-CoA từ *Photorhabdus luminescens* nơi chứa malonyl-CoA nội bào được khuếch đại dẫn đến tăng sản xuất của flavonoid. Việc cung cấp UDP-glucose cũng là một effector (vị trí tác động) quan trọng trong sinh tổng hợp các chất flavonoid. Điều đó đã được chứng minh bởi một thí nghiệm mà trong đó các nhà nghiên cứu loại bỏ các gen Uracil mã hóa cho UDG dehydrogenase. Điều này dẫn đến loại bỏ sự tiêu thụ các UDP-glucose nội sinh, gây tăng nồng độ của UDP-glucose nội bào và hệ quả là sự gia tăng sản xuất flavonon và anthocyanidin đã được chú ý đến.

Một trong những rào cản của việc sản xuất flavonoid và hợp chất liên quan ở vi sinh vật bằng phương pháp lắp ráp gen sinh tổng hợp để hình thành một con đường nhân tạo là sự khó khăn trong việc bộc lộ gen qui định cinnamate-4-hydroxylase gắn màng. Enzyme này không thể hiện được hiệu quả trong vi khuẩn do sự bất ổn và thiếu reductase cytochrome P450 có cùng nguồn gốc với nó trong vật chủ. Một lợi thế của sản xuất flavonoid trong nấm men và nấm là khả năng bộ lộ được chức năng hoạt động của các enzym P450 microsome cytochrome, trong khi chức năng hoạt động của các enzyme này khó được bộc lộ trong tế bào vi khuẩn. Có rất nhiều enzyme microsome cytocrom P450 có liên quan đến con đường sinh tổng hợp flavonoid. Sự cấy ghép tế bào vi khuẩn và tế bào nhân chuẩn thành một thể cho phép các nhà nghiên cứu tạo ra một thư viện rộng lớn hơn của các sản phẩm tự nhiên và sản phẩn không tự nhiên so với những hệ thống báo cáo bất kì trước đó. Quá trình tạo ra de novo của flavonoid chính có chất trung gian là naringenin đã được chứng minh lần đầu tiên từ khuynh hướng sử dụng đường của chủng S. cerevisiae mà cho nồng độ cao hơn gấp bốn lần so với các báo cáo nghiên cứu trước đây về sinh tổng hợp de novo.

***6. Vai trò của flavonoid đối với thực vật***

*6.1 Chống mất cân bằng ion hóa (stress oxy hóa).* Flavonoid từ lâu đã được báo cáo là cung cấp nhiều chức năng trong cây. Các yếu tố vô sinh và hữu sinh khác nhau hỗ trợ cho hệ ROS trong cây dẫn đến tạo stress oxy hóa. Sự tăng sinh tổng hợp flavonoid trong cây là do có stress oxy hóa. Flavonoid có khả năng hấp thu các bước sóng mặt trời năng lượng mạnh nhất (tức là, UV-B và UV-A), ức chế hệ ROS, và bất hoạt ROS khi chúng được hình thành. Flavonoid có thể phóng thích được tia UV-B sơ cấp để che chắn ở thực vật sơ khai khi chúng chuyển từ nước lên mặt đất. Mức độ khả năng chống oxy hóa và khả năng hấp thụ sóng tử ngoại phụ thuộc vào bản chất của sự thế vào vòng khác nhau ở flavonoids. Sự thế ở vòng B dihydroxy flavonoid có khả năng chống oxy hóa cao hơn, trong khi cũng sự thế giống như trên ở vòng B monohydroxy lại cho khả năng hấp thu các bước sóng tia tử ngoại cao hơn.

Các nhóm hydroxyl linh động nhất (7-OH trong flavon hoặc 3-OH trong flavonol) của flavonoid thường được glycosyl hóa. Glycosyl hóa làm tăng khả hòa tan trong môi trường nước của tế bào, bảo vệ nhóm hydroxyl linh động khỏi quá trình tự oxy hóa, cho phép vận chuyển flavonoid từ lưới nội sinh chất đến các ngăn bào khác nhau và bài tiết vào màng và thành tế bào. Bằng chứng gần đây cho thấy rằng flavonoid chống oxy hóa nằm trong nhân của tế bào diệp nhục và trong các trung tâm của hệ ROS, đó là lục lạp. Tại đây, chất này có thể dễ dàng bất hoạt H2O2, gốc hydroxyl và oxy singlet.

Stress oxy hóa do dư thừa năng lượng kích thích trong lục lạp có thể làm xấu thêm tình trạng hạn chế sự khuyếch tán CO2 vào nơi có phản ứng carboxyl hóa và ảnh hưởng hiệu quả của phản ứng carboxyl hóa. Những hạn chế của môi trường ảnh hưởng đến tỉ lệ đồng hóa CO2 bao gồm hạn hán/ độ mặn, nhiệt độ cao/thấp và khan hiếm chất dinh dưỡng. Dưới tình trạng các enzyme giải độc ROS có thể giảm đáng kể trong lục lạp, mà lần lượt có sự tăng điều chỉnh sinh tổng hợp ROS loại bỏ các flavonoid. Sự giảm chức năng của flavonoid có ý nghĩa rất quan trọng đối với tình trạng stress nặng ở thực vật. Vai trò của những chức năng này kèm theo sự thế trên vòng B dihydroxy của flavonoid ở nồng độ rất cao. Flavonoids được đề xuất là chất đại diện cho một hệ thống bảo vệ thứ cấp chống oxy hóa ở mô thực vật tiếp xúc với những stress khác nhau. Peroxid hóa lipid là hậu quả thường gặp của stress oxy hóa mà phá vỡ sự toàn vẹn của màng tế bào. Quercetin3-O-rutinoside (Rutin) có thể tương tác với các đầu cực của các phospholipid tại mặt phân cách của lipid và nước, tăng cường độ rắn chắc màng tế bào và do đó bảo vệ màng khỏi bị hủy hoại bởi oxy hóa.

*6.2 Điều chỉnh sự tăng trưởng.* Flavonoid đóng vai trò quan trọng đáng kinh ngạc trong sự tương tác giữa thực vật và môi trường. Flavonoid (trong phạm vi nanomol) có thể điều chỉnh sự biến đổi của auxin và quá trình dị hóa. Khả năng tạo ra gradient auxin của flavonoid được chuyển đổi thành các kiểu hình với những đặc điểm hình thái khác nhau. Sự kiểm soát của flavonoid trong biến đổi auxin có thể có giá trị to lớn trong sự đáp trả hình thái cảm ứng stress như việc cho thực vật không cuốn tiếp xúc với môi trường không thuận lợi. Những loài thực vật giàu flavonoid dihydroxy biểu hiện kiểu hình với những đặc điểm hình thái nổi bật khác nhau so với những loài giàu flavonoid monohydroxy. Kiểu hình dạng cây bụi, lùn với số lượng lá ít, nhỏ và dày để hướng ánh sáng mặt trời trực tiếp thường hiện diện trong môi trường có nắng, do đó bảo vệ được lá nằm sâu trong các tán khỏi sự rối loạn cân bằng nội mô nghiêm trọng do ánh sáng gây ra trong tế bào. Ngược lại, đối với các cây trong bóng râm, rất giàu kaempferol và/ hoặc các dẫn xuất apigenin (có nồng độ không đáng kể của các dẫn xuất quercetin), có lóng dài, và lá lá lớn đi đôi với giảm độ dày lá.

Flavonoid trên màng tế bào là chất ức chế có hiệu quả của PIN (pin-formed) glycoprotein và MDR glycoprotein (kháng đa thuốc) mà có liên quan trong tế bào đến tế bào biến đổi auxin. Khả năng của flavonoid ngăn cản các hoạt động thúc đẩy sự phóng thích Pin protein và MDR protein phụ thuộc vào sự hiện diện của nhóm catechol trên vòng B của khung flavonoid. Ngoài ra còn có các flavonoid điều hòa hoạt động của IAA-oxidase với các hiệu ứng khác nhau rõ rệt dựa trên cấu trúc hóa học của chúng. Bằng chứng gần đây cho thấy sự hỗ trợ của flavonoid có vị trí hạt nhân (cũng như các enzyme sinh tổng hợp flavonoid) là những flavonoid có khả năng điều chỉnh hoạt động của các protein liên quan đến sự tăng trưởng của tế bào. Do đó hoạt động của các flavonoid được xem như là chất điều chỉnh phiên mã.