



**UNIwersYTET MEDYCZNY**  
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

**Katarzyna Bednarska**

**Potencjał wybranych środków wazoprotekcyjnych i substancji  
roślinnych do hamowania nieenzymatycznej glikacji oraz  
pułapkowania reaktywnych związków  $\alpha$ -dikarbonylowych**

The potential of selected vasoprotective agents and plant substances to inhibit  
nonenzymatic glycation and trap reactive  $\alpha$ -dicarbonyl compounds

**Rozprawa doktorska**

w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki farmaceutyczne

Promotor:

Prof. dr hab. n. farm. Izabela Fecka

Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego

UMW

Wrocław 2023

## STRESZCZENIE

Związki  $\alpha$ -dikarbonylowe ( $\alpha$ -DC) są głównymi prekursorami procesu nieenzymatycznej glikacji prowadzącego do powstawania AGE (końcowych produktów zaawansowanej glikacji). Metylglioksal (MGO) uważany jest za najbardziej reaktywny związek karbonylowy w największym stopniu odpowiedzialny za indukcję procesu glikacji. Zwiększone stężenia MGO i AGE w ustroju generalnie związane są z chorobami kardiometabolicznymi. Uważa się, że zarówno MGO jak i AGE są kluczowymi czynnikami rozwoju powikłań naczyniowych, stanowiących główną przyczynę śmiertelności wśród osób chorych na cukrzycę. Wykazano, że obniżenie poziomu MGO w surowicy obniża ryzyko wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych u osób z cukrzycą. Badania *in vitro* i *in vivo* dowodzą, że polifenole wykazują zdolność do wiązania  $\alpha$ -DC i hamowania procesu glikacji na drodze różnych mechanizmów. W niniejszej rozprawie doktorskiej postawiono hipotezę, że środki wazoprotekcyjne, ich analogi strukturalne i wybrane flawonoidowe substancje roślinne posiadają zdolność hamowania nieenzymatycznej glikacji i/lub neutralizowania reaktywnych  $\alpha$ -DC. Na podstawie tej hipotezy głównym celem badawczym było zidentyfikowanie nowych substancji o wysokim potencjale antyglykacyjnym i/lub pułapkującym  $\alpha$ -DC. Cel zakładał również weryfikację zdolności do obniżania systemowego stężenia  $\alpha$ -DC w modelu *in vivo* dla wyslekcjonowanej w testach *in vitro* hesperydyny. W badaniach zastosowano metody chromatograficzne, spektrometryczne, spektrofotometryczne i spektrofluorymetryczne. Wyniki potwierdziły hipotezę, że wybrane związki wazoprotekcyjne, ich analogii i flawonoidowe substancje roślinne posiadają zdolność do hamowania procesu nieenzymatycznej glikacji, a niektóre także silne właściwości wiążące  $\alpha$ -DC. Związkami najsilniej hamującymi proces glikacji w modelu *in vitro* z jednoczesnym efektem pułapkującym MGO były hesperetyna, hesperydyna, kwercetyna, izowitekyna, witekyna i floretyna (przewyższyły aminoguanidynę i metforminę). W badaniu *in vivo* u pacjentów otrzymujących przez okres 4 tygodni suplement diety, którego głównym składnikiem była hesperydyna w dawce dobowej 450 mg, zaobserwowano istotne statystycznie obniżenie stężenia MGO w osoczu w porównaniu z placebo. W oparciu o przeprowadzone badania fitochemiczne, a następnie testy *in vitro*, stwierdzono, że ziele rutwicy (*Galega officinalis*) i rooibos (*Aspalathus linearis*), stosowane jako hipoglikemizujące i wspomagające układ krążenia, są bogatym źródłem związków pułapkujących  $\alpha$ -DC (guanidynowych, flawonoidowych i innych polifenoli) oraz wykazujących silny efekt antyoksydacyjny i antyglykacyjny.

## ABSTRACT

$\alpha$ -Dicarbonyl compounds ( $\alpha$ -DC) are the main precursors of the non-enzymatic glycation process leading to the formation of AGEs (advanced glycation end products). Methylglyoxal (MGO) is considered the most reactive carbonyl compound largely responsible for inducing the glycation process. Elevated levels of MGO and AGEs in the body are generally associated with cardiometabolic diseases. Both MGO and AGEs are believed to be key factors in the development of vascular complications, which are the main cause of mortality among diabetic patients. It has been shown that reducing serum MGO levels decreases the risk of cardiovascular incidents in diabetic individuals. *In vitro* and *in vivo* studies demonstrate that polyphenols can bind  $\alpha$ -DC and inhibit the glycation process through various mechanisms. In this doctoral thesis, it was hypothesized that vasoprotective agents, their structural analogs, and selected flavonoid plant substances can inhibit non-enzymatic glycation and/or neutralize reactive  $\alpha$ -DC. Based on this hypothesis, the main research objective was to identify new substances with high antiglycation potential and/or  $\alpha$ -DC trapping capability. The aim also included verifying the ability to reduce systemic  $\alpha$ -DC concentration in an *in vivo* model for hesperidin selected in *in vitro* tests. Chromatographic, spectrometric, spectrophotometric, and spectrofluorometric methods were used in the studies. The results confirmed the hypothesis that selected vasoprotective compounds, their analogs, and flavonoid plant substances have the ability to inhibit the non-enzymatic glycation process, and some also have strong  $\alpha$ -DC binding properties. The compounds that most strongly inhibited the glycation process in an *in vitro* model, while simultaneously showing an MGO trapping effect, were hesperetin, hesperidin, quercetin, isovitexin, vitexin, and phloretin (higher than aminoguanidine and metformin). In an *in vivo* study of patients receiving a supplement for 4 weeks, with hesperidin being the main ingredient at a daily dose of 450 mg, a statistically significant reduction in plasma MGO concentration was observed compared to placebo. Based on the conducted phytochemical studies and subsequent *in vitro* tests, it was found that goat's rue (*Galega officinalis*) and rooibos (*Aspalathus linearis*) used as hypoglycemic and circulatory support agents are rich sources of  $\alpha$ -DC trapping compounds (guanidine, flavonoids, and other polyphenols) and exhibit strong antioxidant and antiglycation effects.