

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

ORGANICKÁ BARVIVA S BIOLOGICKOU AKTIVITOU
Ludmila Michalíčková

Bakalářská práce
2020

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY

ORGANIC DYES WITH BIOLOGICAL ACTIVITY
Ludmila Michalíčková

Bachelor Thesis
2020

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Ludmila Michalíčková**
Osobní číslo: **C17073**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Téma práce: **Organická barviva s biologickou aktivitou**
Zadávací katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Zásady pro vypracování

1. Vypracovat literární rešerši zaměřenou na organická barviva přírodního původu vykazující biologickou aktivitu.
 2. Vypracovat literární rešerši zaměřenou na přípravu výše uvedených barviv.
 3. Speciálně vypracovat literární rešerši zaměřenou na kompletní syntézu apigeninu.
 5. Vyhodnotit získané výsledky z pohledu průmyslové výroby a sepsat bakalářskou práci.
-

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Veškerá dostupná odborná literatura.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Radim Hrdina, CSc.**
Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2020**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2020

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne

Ludmila Michalíčková

Poděkování:

V této části bych ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce, prof. Ing. Radimovi Hrdinovi, CSc. za veškeré rady, pomoc a připomínky při zpracování mé závěrečné práce. Je také na místě zde zmínit Ing. Fouzy Ramadan Ali Alafida, který mi udělil mnoho rad při práci v laboratoři, a tímto bych mu chtěla také poděkovat. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat celé své rodině, která mě po celou dobu mého studia podporovala.

Anotace:

Tato bakalářská práce je věnována organickým barvivům, které vykazují biologické účinky. První část tohoto textu je zaměřena na jednotlivá barviva: apigenin, kurkumin, Rose bengal, melanin a vitamin D. U vybraných barviv se věnuji jejich vlastnostem, chemickým i těm, které jsou spojené s biologickou aktivitou a jejich přípravě. Experimentální část práce je zaměřena na přípravu apigeninu a zhodnocení možnosti přenosu do technologické praxe.

Klíčová slova:

organická barviva, biologická aktivita, apigenin, kurkumin, Rose bengal, melanin, vitamin D

Annotation

This bachelor thesis is focused on organic dyes with biological activity. In the first part, there are knowledge about organic dyes: apigenin, curcumin, Rose bengal, melanin and vitamin D.

This part also includes information about properties of selected organic dyes and preparations.

The experimental part is focused on the preparation of apigenin especially to the technological production.

Keywords:

organic dyes, biological activity, apigenin, curcumin, Rose bengal, melanin, vitamin D

Obsah

1	Úvod	12
2	Teoretická část	13
2.1	Úvod o barvivech	13
2.1.1	Barevné vidění	14
2.1.2	Historie barviv	15
2.2	Rozdělení barviv podle biologické aktivity	16
2.2.1	Antioxidanty	16
2.2.2	Protizánětlivá barviva	18
2.2.3	Antiseptická barviva	18
2.2.4	Protinádorová barviva	19
2.2.5	Antivirová barviva	20
2.3	Apigenin	20
2.3.1	Vlastnosti apigeninu	20
2.3.1	Příprava apigeninu	22
2.4	Kurkumin	23
2.4.1	Vlastnosti kurkuminu	23
2.4.2	Příprava kurkuminu	25
2.4.3	Extrakce kurkuminu	25
2.5	Rose bengal	25
2.5.1	Vlastnosti Rose bengal	25
2.5.2	Příprava Rose bengal	26
2.6	Melanin	27
2.6.1	Vlastnosti melaninu	27
2.6.2	Příprava melaninu	29
2.7	Vitamin D	30
2.7.1	Vlastnosti vitamínu D	30
2.7.2	Příprava vitamínu D ₂	31
2.7.3	Příprava vitamínu D ₃	32
3	Experimentální část	34
3.1	Příprava apigeninu z naringeninu	34
4	Výsledky a diskuze	36
5	Závěr	36
6	Seznam literatury	37

Seznam ilustrací, schémat, tabulek a grafů:

Obrázek 1: Stavba oka ^[46]

Obrázek 2: Aditivní ^[2] (vlevo) a subtraktivní ^[59] (vpravo) míšení barev

Obrázek 3. Struktura apigeninu

Obrázek 4: Struktura kurkuminu – diketon tautomer

Obrázek 5: Struktura kurkuminu – keto-enol tautomer

Obrázek 6: Struktura Rose bengal

Obrázek 7: Struktura melaninu

Obrázek 8: Struktura ergokalciferolu

Obrázek 9: Struktura cholekalciferolu

Schéma 1: Příprava apigeninu z naringeninu

Schéma 2: Příprava apigeninu ethyl z trihydroxybenzenu a ethyl 3-(4-hydroxyoxypentyl)-3-oxopropanoátu

Schéma 3: Příprava apigeninu z trihydroxybenzenu a chloracetonitrilu

Schéma 4: Syntéza kurkuminu

Schéma 5: Syntéza Rose bengal

Schéma 6: Syntéza melaninu

Schéma 7: Syntéza vitamínu D₂

Schéma 8: Syntéza vitamínu D₃

Tabulka 1: Vlnové délky a k nim náležící spektrální a doplňková barvy. ^[6]

Tabulka 2: Struktury indiga, purpuru a mauveninu

Tabulka 3: Struktury tokoferolu, lycopenu, luteinu, astraxantinu, betabarotenu, antokyanu

Tabulka 4: Struktura chlorofylu

Tabulka 5: Struktury Brilantové zeleně, proflavinu, euflavinu

Tabulka 6: Struktura košenila E120

Tabulka 7: Struktura Methylenové modře

Tabulka 8: Struktury eumelaninu, feomelaninu, neuromelaninu

Graf 1: UV/Vis spektrum apigeninu

1. Úvod

Ve své práci se věnuji organickým barvivům a to těm, které mají biologické účinky. V první části se zabývám zkoumáním vlastností a příprav barviv. Barviva, kterým se věnuji, jsou apigenin, kurkumin, Rose bengal, melanin a vitamin D. Další částí bakalářské práce je experimentální část, která je zaměřena na přípravu apigeninu z naringeninu.

Vypracování závěrečné práce bylo ovlivněno mimořádným opatřením Ministerstva zdravotnictví ČR č. j.: MZDR 10676/2020-1/MIN/KAN, kterým se s účinností od 11. března 2020 zakázala osobní přítomnost studentů na studiu na vysoké škole pro potřebu ochrany před výskytem a šířením onemocnění COVID-19.

2. Teoretická část

2.1. Úvod do barviv

Barviva jsou látky schopné pohlcovat viditelné elektrochemické záření o určité vlnové délce (380 – 780 nm). Záření z této oblasti je schopno vyvolat zrakový vjem v podobě barvy. Pohlcení tzv. bílého světla vyvolá projev doplňkové barvy, která vzniká míšením neabsorbovaného záření, to je také barva, kterou vnímáme okem. [6] [32]

vlnová délka (nm)	spektrální barva	doplňková barva
400 – 435	fialová	zelenožlutá
435 – 480	modrá	žlutá
480 – 490	zelenomodrá	oranžová
490 – 500	modrozelená	červená
500 – 560	zelená	purpurová
560 – 580	zelenožlutá	fialová
580 – 595	žlutá	modrá
595 – 605	oranžová	zelenomodrá
605 – 730	červená	modrozelená
730 – 760	purpurová	zelená

Tabulka 1: Vlnové délky a k nim náležící spektrální a doplňková barvy. [6]

Pokud budeme na barviva pohlížet z hlediska organické chemie, jde o látky, které mají ve své struktuře zabudovaný konjugovaný systém dvojných vazeb. Pokud dojde k delokalizaci, snižuje se excitační energie molekuly. Ta ovlivňuje přechod molekuly barviva ze základního do excitačního stavu a na ní také závisí odstín barvy. Může se jednat o aromatické cykly, heteroaromatické sloučeniny s uzavřenými systémy konjugovaných vazeb nebo například o některou z těchto nenasycených skupin: dvojná vazba, karbonylová skupina, nitroso skupina. Tyto struktury se zároveň řadí mezi tzv. chromofory. Chromofor je jedna z částí, ze které se barvivo skládá. Jde o část molekuly, která je zodpovědná za absorpci světla. Další strukturou nacházející se v barvivu jsou tzv. auxochromy. Jedná se o skupiny s volným elektronovým

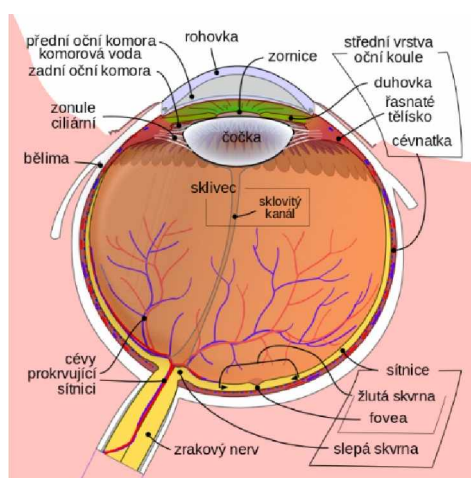
párem například $-NH_2$, $-OR$ (kde R je alkylová skupina), které podmiňují odstín daného barviva a prohlubují intenzitu absorpce záření. [6] [32]

Barviva lze rozdělit do několika skupin. Z chemického hlediska je dělíme na nitrobarviva, nitrosobarviva, azobarviva, anthrachinonová, indigoidní, ftalocyaninová, sirná, di- a triarylmethanová, chinoniminová, oxazinová, thiazinová a azinová. [6] [32]

Například nitrobarviva a nitrosobarviva jsou uzavřené řetězce obsahující nitroskupinu či nitrososkupinu. [6] Azobarviva jsou nejpočetnější skupinou barviv. Jsou to sloučeniny, které obsahují jednu nebo několik $-N=N-$ skupin, barva závisí na počtu azobarviv a druhu uhlovodíkových zbytků. Anthrachinonová barviva obsahující ve své struktuře anthrachinonový skelet. Mezi nejvýznamnější skupinu těchto barviv patří kypová. Arylmethanová barviva jsou charakteristická svými brilantními odstíny, dělí se do pěti podskupin a k této skupině barviv patří např. malachitová zeleň. [28] Indigoidní barviva jsou odvozena od indiga, jak již název napovídá. Jednou ze základních struktur je indol, barviva této skupinu obsahují různé substituenty například bromskupinu. Ftalocyaninová barviva jsou strukturně složena ze čtyř benzopyrrolových skeletů spojených pomocí atomů dusíku. [6]

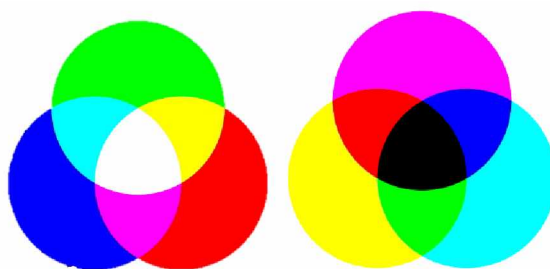
2.1.1. Barevné vidění

Lidské oko je schopno reagovat na záření ve viditelné oblasti spektra. Oko rozeznává barvu, intenzitu světla a také jeho směr. Fotosenzitivní buňky v oku jsou dvojího druhu, tyčinky a čípky. Ovšem než paprsek světla doputuje k těmto buňkám, musí projít přes rohovku, zornici a čočku. Čípky jsou přizpůsobeny k vnímání barev. Nejvíce se jich nachází v místě sítnice zvaném žlutá skvrna. Druhým typem buněk jsou tyčinky. Ty slouží k vnímání rozdílů světla. [10] [60]



Obrázek 1: Stavba oka [46]

Oko není citlivé ke všem vlnovým délkám stejně, nejvyšší citlivost byla zaznamenána při vlnových délkách 507 nm a 555 nm. Existují dva druhy skládání barev v oku. Aditivní a subtraktivní mísení. Při aditivním mísení dochází k sčítání emisních spekter pro jednotlivé barvy, výsledkem je bohatší spektrum. V případě subtraktivního mísení jde o smísení dvou barev, kdy dojde k dělbě barevného spektra, například oranžová barva vznikne ze žluté a červené.^[60]



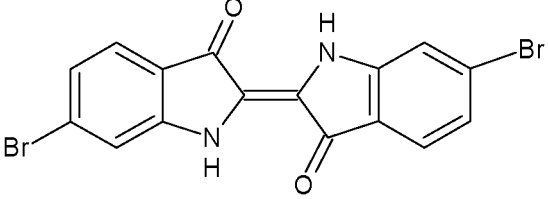
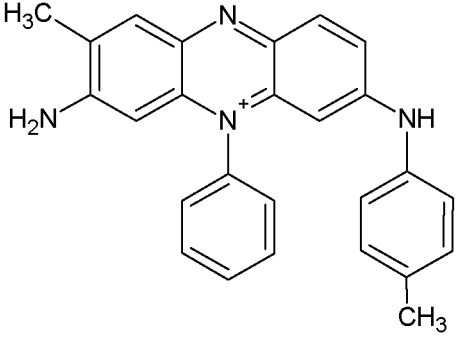
Obrázek 2: Aditivní ^[2] (vlevo) a subtraktivní ^[59] (vpravo) mísení barev

2.1.2. Historie barviv

Barviva lidé používali již v období před našim letopočtem například k malování kreseb na stěny jeskyně nebo k barvení přírodních materiálů. Mezi nepoužívanější barviva historie se řadí modré barvivo indigo, v té době získávané z listů rostliny Indigofera. První zmínka o užívání tohoto barviva je z Číny a starého Egypta. Zkušenost s barvivem se poté rozšířila do Evropy. Dnes je již používáno syntetické indigo.^[13] Syntetizuje se z o-nitrobenzaldehydu a acetonu, jedná se o aldolovou kondenzaci.^[12] Dalším barvivem užívaným i v historii je purpur, získávaný z mořských plžů.^[13]

První syntetické barvivo, mauvenin, připravil W. H. Perkin. Za další významný objev se zasadil chemik Peter Gries, který objevil diazoniové sloučeniny.^[13] Biolog Christian Gram objevil, že určitá bazická barviva nejen zbarvují, ale také usmrcují gram-pozitivní bakterie. Naopak gram-negativní bakterie jsou ty, které se neobarví.^[9] Gramovo barvení závisí na složení buněčné stěny.

Název	Struktura
Indigo	

Purpur	
Mauvenin	

Tabulka 2: Struktury indiga, purpuru a mauveninu

2.2. Rozdělení barviv podle biologické aktivity

Barviva lze rozdělit podle různých hledisek, jak již bylo zmíněno v úvodu, například podle struktury, podle vlastností jako je barva, zda jsou syntetická či přírodní atd. Ve své práci se zaměřím na dělení barviv podle jejich biologické aktivity.

Jako biologicky aktivní lze označit sloučeniny, které vykazují například antimikrobiální, antioxidační či jiný fyziologický účinek.^[21]

2.2.1. Antioxidanty

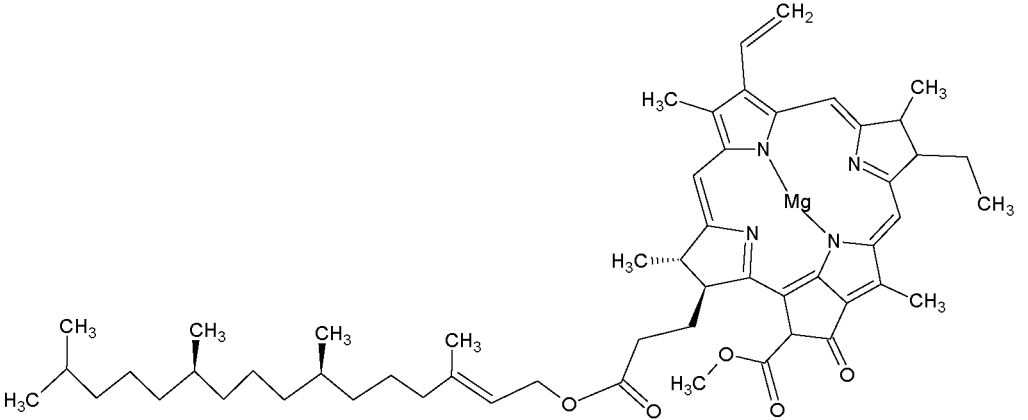
Antioxidanty jsou látky, které zabraňují vzniku reaktivních forem kyslíku (např. peroxid, singletový kyslík, radikály) nebo jejich aktivitu snižují (tzv. zhášení). Typickým zástupcem antioxidantů je tokoferol, ten se však neřadí mezi barviva.^[56] Z řad barviv to jsou například karotenoidy, jako je lykopen (působí v oblasti sítnice), lutein (zvýšená koncentrace v sítnici), astraxantin, betakaroten, antokyany (chrání především stěnu vlasečnic). Dále má tyto vlastnosti skupina flavonoidů, například apigenin a barvivo kurkumin.^[52] Těmto chemickým strukturám se ve své práci věnuji podrobněji

Název	Struktura
Tokoferol	
Lykopen	
Lutein	
Astraxantin	
Betakaroten	
Antokyan	<p>R¹: H, OH, OCH₃ R²: H, OH, OCH₃</p>

Tabulka 3: Struktury tokoferolu, lykopenu, luteinu, astraxantinu, betabarotenu, antokyanu

2.2.2. Protizánětlivá barviva

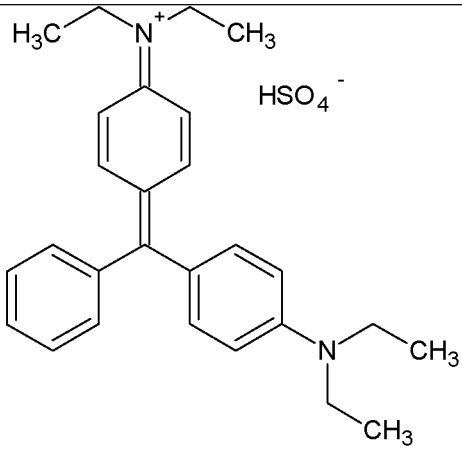
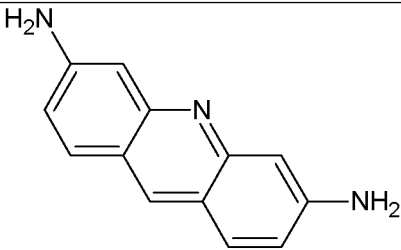
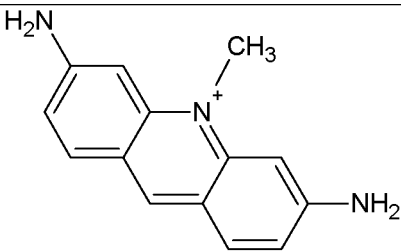
Protizánětlivé látky jsou látky, které zmírňují zánět a s tím i spojený otok, to vše se děje prostřednictvím cyklooxygenázy. Protizánětlivé látky působí tak, že snižují aktivitu cyklooxygenázy a tím i produkci prostaglandinů. [17] Mezi tyto látky se například řadí barvivo kurkumin, chlorofyl, antokyany [52] a apigenin. [32]

Název	Struktura
Chlorofyl	

Tabulka 4: Struktura chlorofylu

2.2.3. Antiseptická barviva

Antiseptická barviva jsou látky, užívané k zevnímu použití, účinně odstraňují mikroorganismy a zároveň nejsou toxické pro buňky. [41] Zástupcem této třídy je Brillantová zeleň. Účinkuje proti gram-pozitivním bakteriím a je používána k léčbě drobných poranění. [7] Proflavin a euflavin patří mezi první barviva, použitá jako antiseptika pro vyčištění ran. Proflavin je užíván ve formě obvazu, na který je nanesen. [33]

Název	Struktura
Brilantová zeleň	
Proflavin	
Euflavin	

Tabulka 5: Struktury Brilantové zeleně, proflavinu, euflavinu

2.2.4. Protinádorová barviva

Protinádorové látky lze rozdělit do několika tříd. Může se jednat o acylační činidla, přírodní látky nebo hormony. Léčba rakoviny je v celku rozmanitá, záleží na tom, kde se ložisko rakoviny nachází, na rozsahu rakoviny atd. Podle toho se volí následná léčba. ^[14] Při léčbě rakoviny vaječníků se například ukázal být účinným apigenin, viz dále. ^[1] Dalšími protinádorovými barvivy jsou kurkumin, způsobující apoptózu buněk, košenila E120 (rakovina kožních buněk), chlorofyl (k prevenci rakoviny tlustého střeva). ^[52]

Název	Struktura
Košeníla E120	

Tabulka 6: Struktura košenila E120

2.2.5. Antivirová barviva

Antivirové látky inhibují viry. ^[11] Barviva, která mají antivirové účinky, produkují reaktivní formy kyslíku na základě ozáření. Tyto reaktivní formy kyslíku ničí viry tím, že poškozují jejich nukleové kyseliny a proteiny. Dochází tedy k zamezení jejich dalšího šíření. ^[67] K antivirovým barvivům patří Rose bengal, methylenová modř ^[67] a kurkumin. ^[4]

Název	Struktura
Methylenová modř	

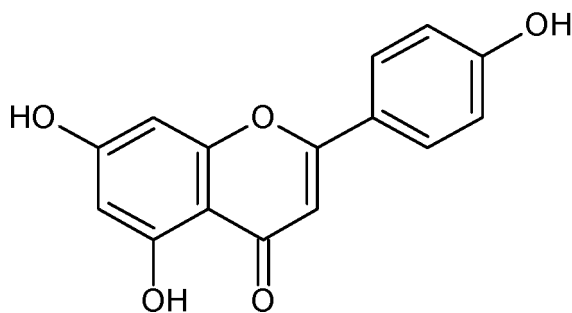
Tabulka 7: Struktura Methylenové modře

2.3. Apigenin

2.3.1. Vlastnosti apigeninu

Apigenin je zástupcem skupiny flavonoidů (Obr. 3). Flavonoidy jsou přírodní látky nacházející se v ovoci a zelenině. Mají biologické účinky, jsou to účinné antioxidanty. ^[43] ^[24] Systematický název apigeninu je 5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyfenyl)-4H-1-benzopyran-4-chromen-4-on. Jedná se o přírodní produkt, nachází se například v celeru a heřmánku pravém,

především v jeho květech (68 % flavonoidů). Jedná se o krystalickou látku ve formě jehliček bílé barvy. [28] UV/Vis spektrum odpovídá vlnovým délkám 268 nm a 332,1 nm. [30]



Obrázek 3. Struktura apigeninu

Apigenin má antioxidační, protizánětlivé a hepatoprotektivní účinky. [38] Mezi další jeho vlastnosti patří schopnost snižovat úzkost, řadí se tedy mezi anxiolytika. Tento rys je většinou doprovázen sedativním účinkem, avšak apigenin sedativní účinky nevykazuje. [63] Co se týká antioxidačního účinku, působí jako „ničitel“ (zhášeč) volných kyslíkových radikálů. Je schopen inhibice peroxidace lipidů, která vede k poškození membrány, a tím chrání organismus před poškozením volnými radikály a reaktivními formami kyslíku. [38]

Soli apigeninu patří mezi tzv. zesilovače CYP3A (cytochromu P450 3A). Jedná se o enzym, vyskytující se především v játrech, který zajišťuje odstranění toxinů z těla. Soli apigeninu jsou tedy vítané u pacientů, kterým selhávají játra. Díky těmto solím se zlepší biotransformace a odbourávání látek. [20]

Apigenin lze také používat jako látku při bolestech kloubů. Slouží ke snížení markerů, které jsou odpovědné za destrukci chrupavky. Může tak být účinný jako léčivo při osteoartróze. [23]

Apigenin je používán jako léčivo nebo jako doplněk stravy. Užívá se v kombinaci s dalším terapeutickým činidlem. Působí prostřednictvím proteinu p53. Je schopný zastavovat angiogenezi (díky ní nádor stimuluje okolní tkáň), proliferaci (množení buněk) což bylo dokázáno na buňkách vaječnicků, které byly rezistentní vůči cis platině a dále má schopnost inhibovat expresi VEGF (vaskulární endoreliální růstový faktor), která je nutná pro iniciaci a vývoj nádoru. [22]

Dále apigenin nachází využití v oblasti léčby zánětlivých procesů, konkrétně pro jejich léčbu nebo prevenci a onemocnění chronického charakteru, které souvisí se záněty. [31] Apigenin jakožto protizánětlivé barvivo působí prostřednictvím inhibice cyklooxygenázy-2, čímž se snižuje produkce prostaglandinů. Inhibuje také NO. [29] Hraje roli při hojení jizev, používá se k urychlení hojení a k vylepšení vzhledu jizvy. [50] Je účinný v léčbě po ischemii nebo při

zraněních způsobených oxidativním stresem. [39] Může být využit pro léčbu či prevenci nemocí, které jsou způsobeny viry. [26]

2.3.2. Příprava apigeninu

V literatuře v podstatě lze nalézt tři způsoby přípravy apigeninu.

Příprava apigeninu z naringeninu je popsána ve schématu 1.

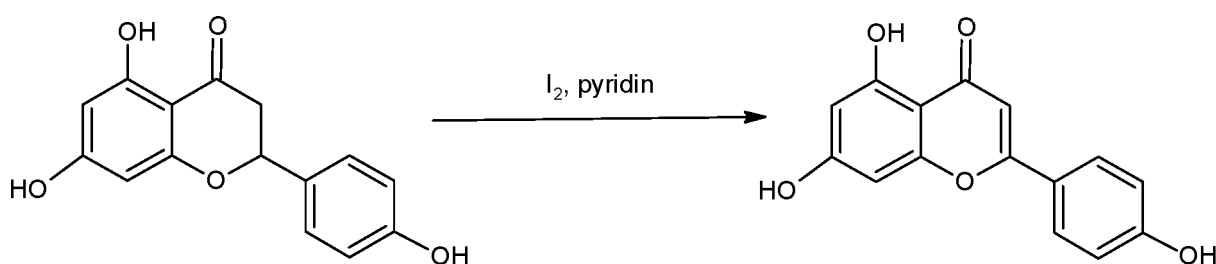


Schéma 1: Příprava apigeninu z naringeninu

Naringenin byl smíchán s I_2 v poměru 1:1 a předložen do pyridinu. Oxidace byla dokončena po 4 hodinách, kdy směs byla udržována při teplotě 90-100°C. Pro čištění byla zvolena kolonová chromatografie (SiO_2 ; ether: $CH_2Cl_2 = 1 : 3$). [28]

Příprava apigeninu z trihydroxybenzenu a ethyl 3-(4-hydroxyoxypentyl)-3-oxopropanoátu je popsána ve schématu 2.

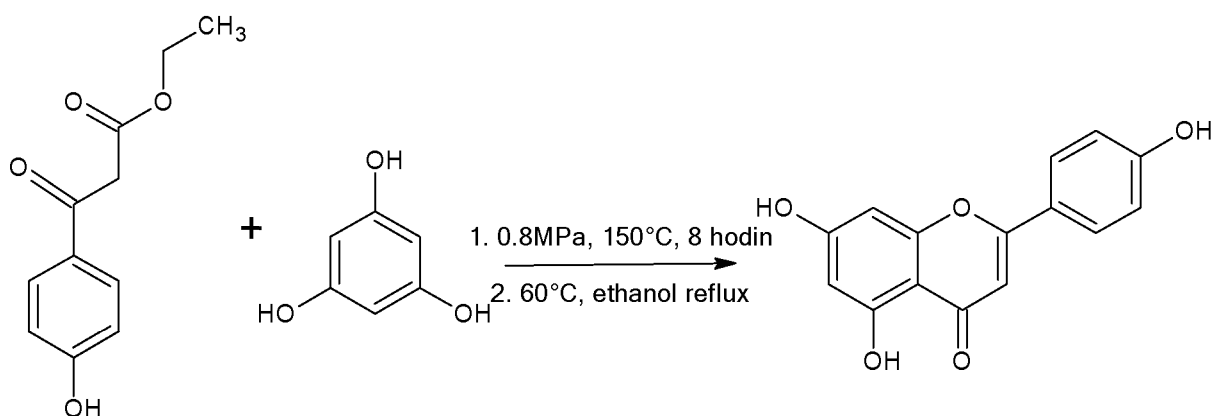


Schéma 2: Příprava apigeninu z trihydroxybenzenu a ethyl 3-(4-hydroxyoxypentyl)-3-oxopropanoátu

Ethyl 3-(4-hydroxyoxypentyl)-3-oxopropanoát reagoval s trihydroxybenzenem při specifických podmínkách: tlak 0,8MPa, teplota 150°C. Reakce je dokončena po 8 hodinách.

[54]

Příprava apigeninu z trihydroxybenzenu a chloracetonitrilu je popsána ve schématu 3.

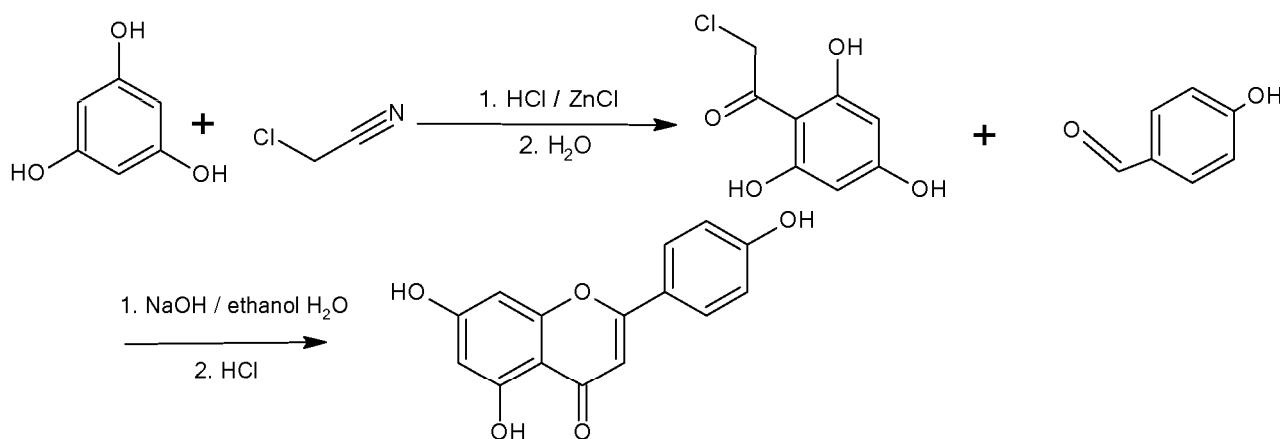


Schéma 3: Příprava apigeninu z trihydroxybenzenu a chloracetonitrilu

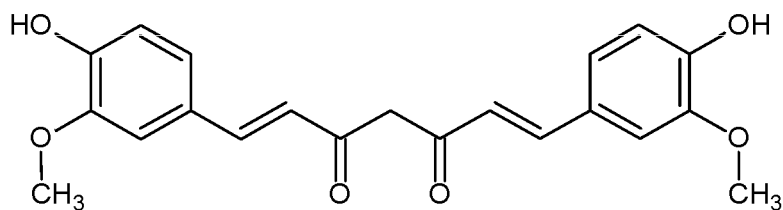
Trihydroxybenzen reaguje ekvimolárně s chloracetonitrilem za katalýzy ZnCl₂ a plynným chlorovodíkem. Následuje hydrolýza, meziprodukt reaguje s 4-hydroxybenzaldehydem také 1:1 a po okyselení je získán žádaný produkt, tedy apigenin.

[71]

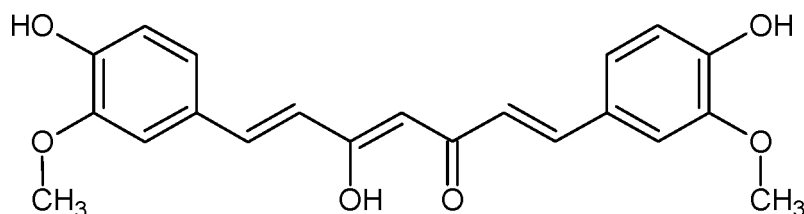
2.4. Kurkumin

2.4.1. Vlastnosti kurkuminu

Kurkumin (Obr. 4 a 5) je přírodní barvivo žluté barvy, které lze extrahovat z oddenků rostliny *Curcuma longa*. Aktivní složkou této rostliny jsou kurkuminoidy. Mezi hlavní účinek této sloučeniny patří protizánětlivá aktivita. Popsány byly ovšem i další účinky, jako například antialergické, antibakteriální. Kurkumin má také schopnost hojit rány. [35] Jeho systematický název dle IUPAC zní následovně: (1E,6E)-1,7-bis (4-hydroxy- 3-methoxyphenyl) -1,6-heptadiene-3,5-dione. Kurkumin v závislosti na prostředí se může vyskytovat ve dvou formách (Obr. 4 a 5).



Obrázek 4: Struktura kurkumimu – diketon tautomer



Obrázek 5: Struktura kurkuminu – keton-enol tautomer

Kurkumin se svými schopnostmi řadí k takzvaným antioxidantů. Reaktivní formy kyslíku jako jsou například peroxid, superoxid nebo singletový kyslík mohou způsobit poškození buňky, které vyvolá apoptózu (programovaná buněčná smrt). Dalšími poškozeními buňky jsou například zlomy jednovláknových DNA, které mohou vyvolat mutace. Dle výzkumu je kurkumin velmi účinným inhibitorem poškozené DNA. Tato schopnost je vyšší než u vitamínu E (tokoferol – výborný antioxidant) a je pravděpodobně zapříčiněna strukturou kurkuminu. [58]

Barvivo kurkumin je známo také pro své protizánětlivé účinky. Blokuje signalizaci TNF α , působí pomocí snížení transkripčního faktoru NF – κ B, ovlivňuje imunitu a zánětlivou reakci. [57] Potlačováním NF – κ B dochází k regulaci produkce enzymu cyklooxygenázy (zánětlivý enzym) a právě tímto mechanismem jsou prostředkovány protizánětlivé účinky kurkuminu. [3] [4]

Mezi vlastnosti kurkuminu patří také schopnost inhibovat expresi transkripčních faktorů (podílí se na transkripci DNA do RNA) a expresi VEGF v rakovinných buňkách. Tím dochází k blokaci nádorové angiogeneze. [14] V kombinaci s komplexem fosfolipidů může být použit k léčbě bolestí všeho druhu, a to buď orálně, nebo lokálně. Dle výzkumu přichází okamžitá úleva bez použití dalších léků. [64] Nachází využití také jako stabilizátor v kosmetických přípravcích. [34] U kurkuminu se také prokázaly účinky v oblasti léčby diabetu. Díky působení tohoto barviva může dojít k zlepšení homeostázy glukózy. [16]

2.4.2. Příprava kurkuminu

Příprava kurkuminu z acetylacetonu a vanilinu je popsáno ve schématu 4.

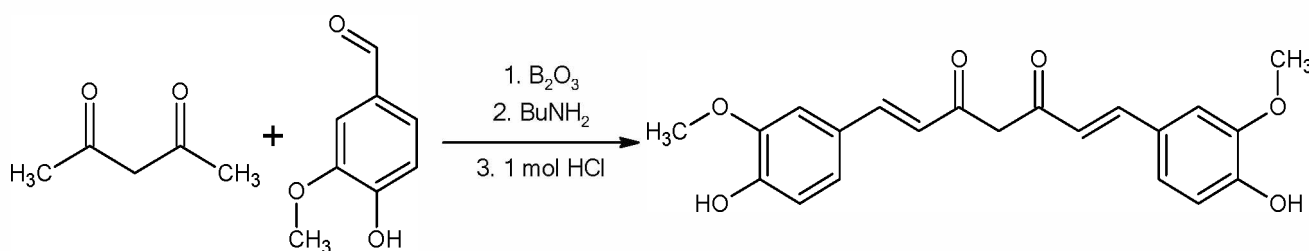


Schéma 4: Syntéza kurkuminu

Acetylaceton (10 mmol) byl dán do roztoku oxidu boritého (5 mmol) v ethyl acetátu (30 ml), poté byl přidán vanilin (20 mmol) a tributylborát (40 mmol). Reakce byla udržována při 50 °C po dobu 10 minut. Následně roztok n-butylaminu (5 mmol) v ethylacetátu (5 ml) byl přidán po kapkách po dobu 15 minut při teplotě 50 °C. Poté je směs 4 hodiny míchána a udržována při teplotě 80 °C. Přidáme kyselinu chlorovodíkovou (1 mol, 30 ml) a reakci necháme dalších 40 minut míchat. Organické vrstvy byly promyty a vysušeny Na₂SO₄. Rozpouštědlo se odpaří, rekrystalizujeme z methanolu. Získáme žluté krystaly s teplotou tání v rozmezí 185-186 °C, předpokládaný výtěžek činí 85 %. [68]

2.4.3. Extrakce kurkuminu

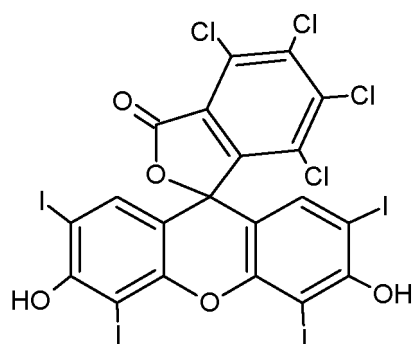
Kurkumin lze extrahovat například acetonem za pomoci ultrazvuku či například horkou vodou.

Kurkumický prášek byl smíchán s acetonem v poměru 1:10, poté byla směs dána do ultrazvukové lázně o frekvenci 40 kHz na 15 minut. Extrakce byla provedena třikrát ve 20 minutových intervalech. Poté byla směs zfiltrována za sníženého tlaku. Produkt byl získán ve formě oleje hnědé barvy. Krystalizace byla prováděna ze směsi ethanolu – voda. [69]

2.5. Rose bengal

2.5.1. Vlastnosti Rose bengal

Rose bengal (Obr. 7) se řadí ke xanthenovým barvivům a je derivátem fluoresceinu. [49] Jeho systematická název dle IUPCA zní: 2,3,4,5-tetrachloro-6-(2,4,5,7-tetrahydro-3-oxido-6-oxoxanthen-9-yl)benzoát.



Obrázek 6: Struktura Rose bengal

Jedná se o barvivo růžové až červené barvy. Známa je především disodná sůl užívaná v oftalmických roztocích, které se používají k diagnostice při podezření na poškození buněk rohovky (cornea) a spojivky (tunica conjunctiva).^[49]

Pokud na Rose bengal půsíme zeleným světlem, stane se z něj fotodynamické činidlo (při ozáření světlem produkuje singletový kyslík), které je schopné usmrcovat jak mikroorganismy, tak i rakovinné buňky. Bylo také prokázáno, že samotný Rose bengal přednostně vstupuje do rakovinných buněk. Rose bengal je účinný proti rakovině vaječníků a ledvin, inhibuje proliferaci a způsobuje apoptózu rakovinných buněk. Buňky, které byly vystaveny působení barviva Rose bengal byly výrazně poničené, zaoblené a také zmenšené.^[25]

2.5.2. Příprava Rose bengal

Příprava Rose bengal popsána ve schématu 5.

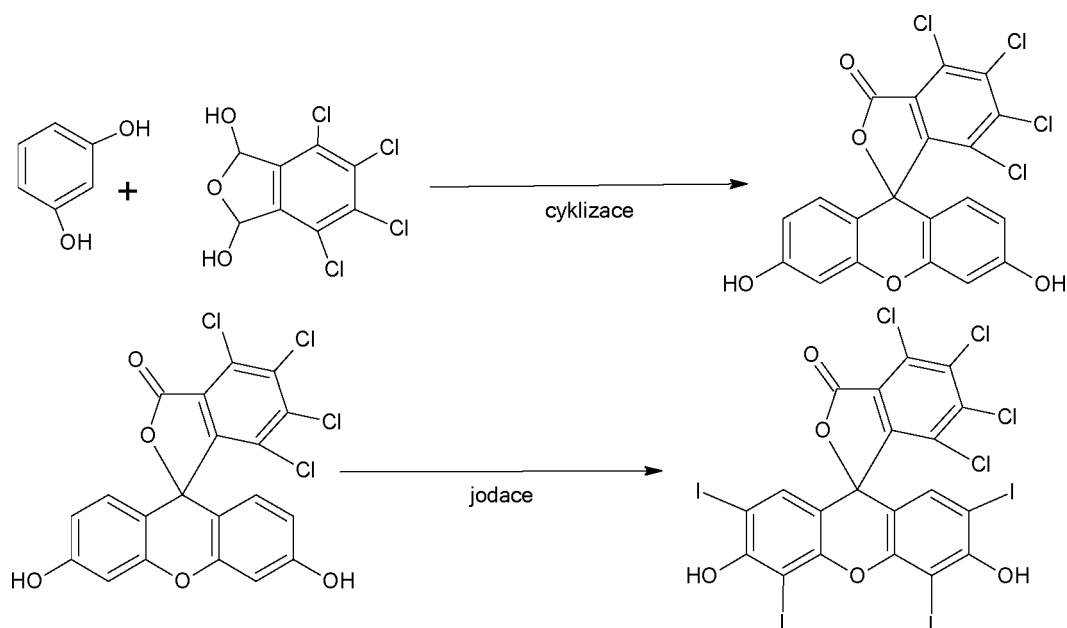


Schéma 5: Syntéza Rose bengal

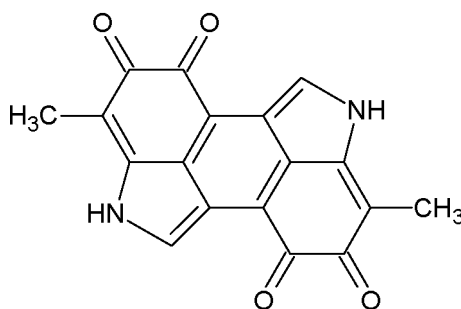
Barvivo Rose bengal vzniká sledem dvou reakcí, cyklizací a jodací.

Do baňky bylo předloženo 50 g anhydridu kyseliny tetrachloroftalové, 40,44 g 1,3-dihydroxybenzenu a 250 ml čisté kyseliny methansulfonové. Suspenze byla probublávána dusíkem a udržována teplotu 90 °C. Reakční směs při teplotě 90 °C byla pomalu přidána přes potrubí do USP vody při teplotě nižší než 10 °C za použití přetlaku dusíku. Výsledkem byla suspenze, která byla zfiltrována a poskytla zeleno – hnědé krystaly. Meziprodukt byl spolu s acetonem zahříván k refluxu tak, aby teplota nepřesáhla 256 °C. Po přidání vody vznikla žlutohnědá suspenze a byla chlazená na teplotu místnosti. Dalším krokem reakce je jodace. Do baňky bylo dáno 10 g tetrachlorfluoresceinu, 30 ml 5 M hydroxidu sodného roztok a 300 ml USP vody, tím se získal tmavě červený roztok. Potom bylo přidáno 7,03 g jodidu sodného a 32,4 g jodu. Reakční směs se zahřívá na 90 °C. Tmavě růžová směs byla chlazená na teplotu nižší než 10 °C. pH roztoku bylo upraveno na hodnotu 2,03 a poté byla suspenze filtrována. Barvivo Rose bengal bylo získáno v podobě růžových krystalků. [44]

2.6. Melanin

2.6.1. Vlastnosti melaninu

Barvivo melanin (Obr. 9) je smíšený polymer, který je analogem indolu. [48] Název dle IUPAC: 6,14-dimethyl-4,12-diazapentacyclo[8.6.1.1^{2,5}.0^{13,17}.0^{9,18}]octadeka-1(17),2,5,9(18),10,13-hexaene-7,8,15,16-tetron



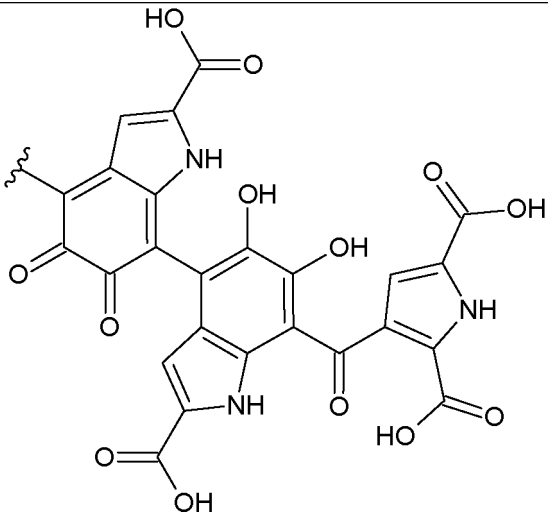
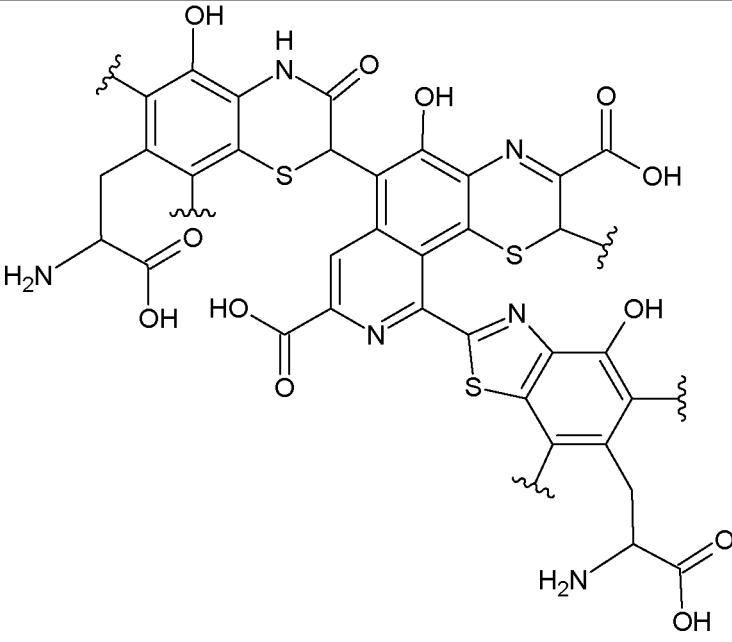
Obrázek 7: Struktura melaninu

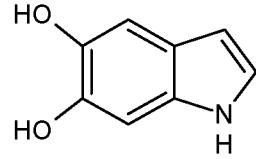
Je znám především jako ochrana proti UV záření, melanin je zabudován v buňkách naší pokožky. V přírodě je to nejúčinnější zhášec volných radikálů. Nachází se také ve vlasech či mozku. Melanin lze rozdělit do několika skupin podle chemické struktury a výskytu. Eumelanin, neuromelanin, feomelaniny. [36]

Eumelanin je černý až hnědý pigment. [55] U savců se nachází v kůži, vlasech a epitelových buňkách sítnice. [36] Je syntetizován z oxidací L – tyrosinu. To vede na sloučeninu dopaquinon, která bez přítomnosti thiolů poskytuje eumelanin. [55] Tato reakce probíhá ve melanosomech. [36]

Feomelanin je žlutý až načervenalý pigment. Vzniká z L – tyrosinu, stejně jako eumelanin, ale v tomto případě však reakce dopaquinonu vyžaduje přítomnost thio skupiny, v tomto případě cystein. [55]

Neuromelanin se nachází například v mozku. [48]

Název	Struktura
Eumelanin	
Feomelanin	

Neuromelanin	 monomer
--------------	---

Tabulka 8: Struktury eumelaninu, feomelaninu, neuromelaninu

Jak již bylo zmíněno, melanin působí jako ochrana proti fotokarcinogenitě ultrafialového záření. Toto záření svým působením vyvolává zánětlivou reakci pokožky. Jsou produkovány prozánětlivé cytokiny jako je interleukin -1β , interleukin-6 nebo faktory nádorové nekrózy (TNF). Melanin je schopen potlačovat jejich produkci. [36]

Výzkumy naznačují, že melanin má silné a zároveň selektivní účinky proti viru HIV. Působí pravděpodobně tak, že inhibuje vazbu glykoproteinu gp120 na vazebné místo CD4 (glykoprotein nacházející se na povrchu buněk, které zajišťují imunitu, např. monocyty). V budoucnu by mohl být využíván jako terapeutické činidlo v boji proti viru HIV. [37]

Buňky obsahující melanin, který se většinou vyskytuje v membráně buňky, projevují nižší náchylnost k účinkům hub a plísní než buňky nemelanizované. [66] Pigment melanin se řadí k faktorům ovlivňujícím virulence, podporuje ji. [27]

Antioxidační účinky působí tak, že zachytávají volné radikály a inaktivuje reaktivní formy kyslíku. Antioxidační účinek lze zvýšit delipidací. [65]

2.6.2. Příprava melaninu

Syntéza melaninu (schéma 6) je řada enzymatických reakcí, přesněji oxidací. Jako substrát lze použít například tyrosin, meziproductem reakce je dopachinon. Ten za katalýzy tyrosinázy poskytne melanin. [62]

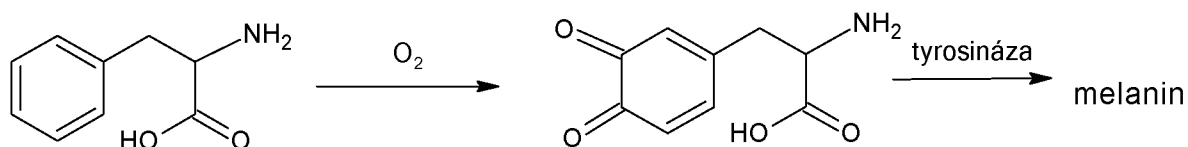
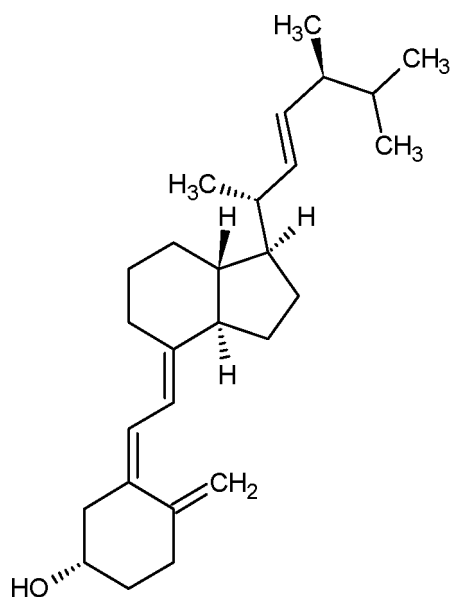


Schéma 6: Syntéza melaninu

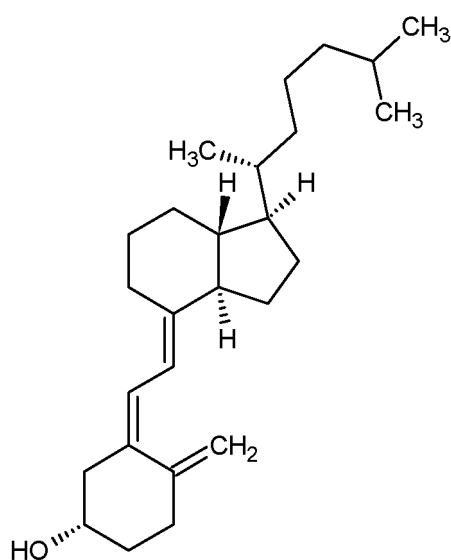
2.7. Vitamin D

2.7.1. Vlastnosti vitaminu D

Vitamin D je označován jako prohormon. Existují dvě formy tohoto vitaminu a to ergokalciferol známý také jako vitamin D₂ (Obr. 10) a cholekalciferol zvaný vitamin D₃ (Obr. 11). Rozdíl mezi těmito dvěma formami je v postranním řetězci. [61]



Obrázek 8: Struktura ergokalciferolu



Obrázek 9: Struktura cholekalciferolu

Obě tyto formy je tělo schopné si připravovat pomocí slunečního záření. Ergokalciferol se syntetizuje z ergosterolu (steroid) pomocí UV záření. [67] Cholekalciferol je syntetizován z 7-

dehydrocholesterolu na previtamin D₃ také působením UV záření. [51] Vitamin D lze považovat za neaktivní, dokud nepodstoupí dvě enzymatické reakce. První se odehrává v játrech a druhá v ledvinách. [51] Zdrojem vitamínu D jsou také potraviny například ryby či vejce.

Vitamin D je účinný proti psoriáze neboli lupénce, zajišťuje homeostázu [61] a omezuje nadměrnou produkci keratinocytů (kožních buněk) na postižených místech těla. S lupénkou souvisí obezita [41] a metabolická onemocnění. [45] [53]

Vitamin D je užíván jako terapie proti psoriáze v kombinaci s kortikosteroidy (hormony syntetizované z cholesterolu). [72] Aktivní metabolit vitamínu D má protizánětlivou funkci [70] a reguluje expresi a produkci několika zánětlivých cytokinů. [8]

Nízká koncentrace vitamínu D podporuje proliferaci keratinocytů, zatímco při vyšších dávkách se projevuje inhibiční účinek. [47] Projevem intoxikace je hyperkalcemie, která má nepříznivé účinky na srdeční a nervový systém, renální a gastrointestinální funkce. Dalším projevem je zvýšená hladina fosforu a nízká hladina alkalické fosfatázy. Z důvodu ukládání vitamínu D v tucích může toxicita přetrvávat v těle i po dobu několika měsíců. Jako terapie se aplikuje dieta s nízkým obsahem vápníku a fosforu a intravenózní hydratace fyziologickým roztokem. [42]

2.7.2. Příprava vitamínu D

2.7.2.1. Příprava vitamínu D₂

Příprava vitamínu D₂ popsána ve schématu 7. Takto se vitamin D₂ vyrábí se společností Synthesia.

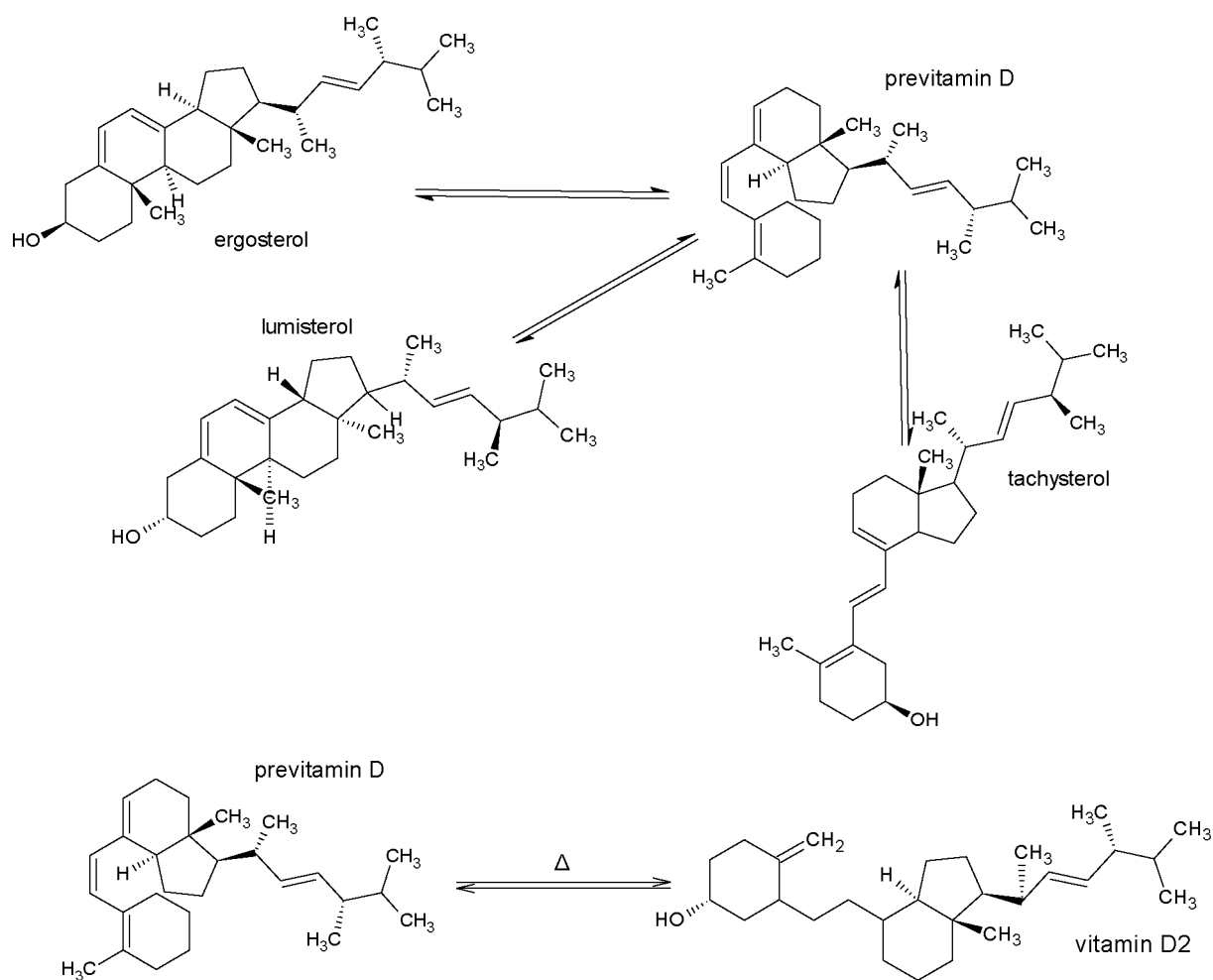


Schéma 7: Syntéza vitamínu D₂

Výchozí komponentou je ergosterol získávaný z pekařských kvasnic. Roztok ergosterolu je ozařován UV zářením. Tato reakce poskytne směs provitaminu, tachysterolu a lumisterolu. Finální produkt vzniká z provitaminu rovnovážnou reakcí. [18]

2.7.2.2. Příprava vitamínu D₃

Příprava vitamínu D₃ popsána ve schématu 8. Takto se vitamin D₃ vyrábí se společností Synthesia.

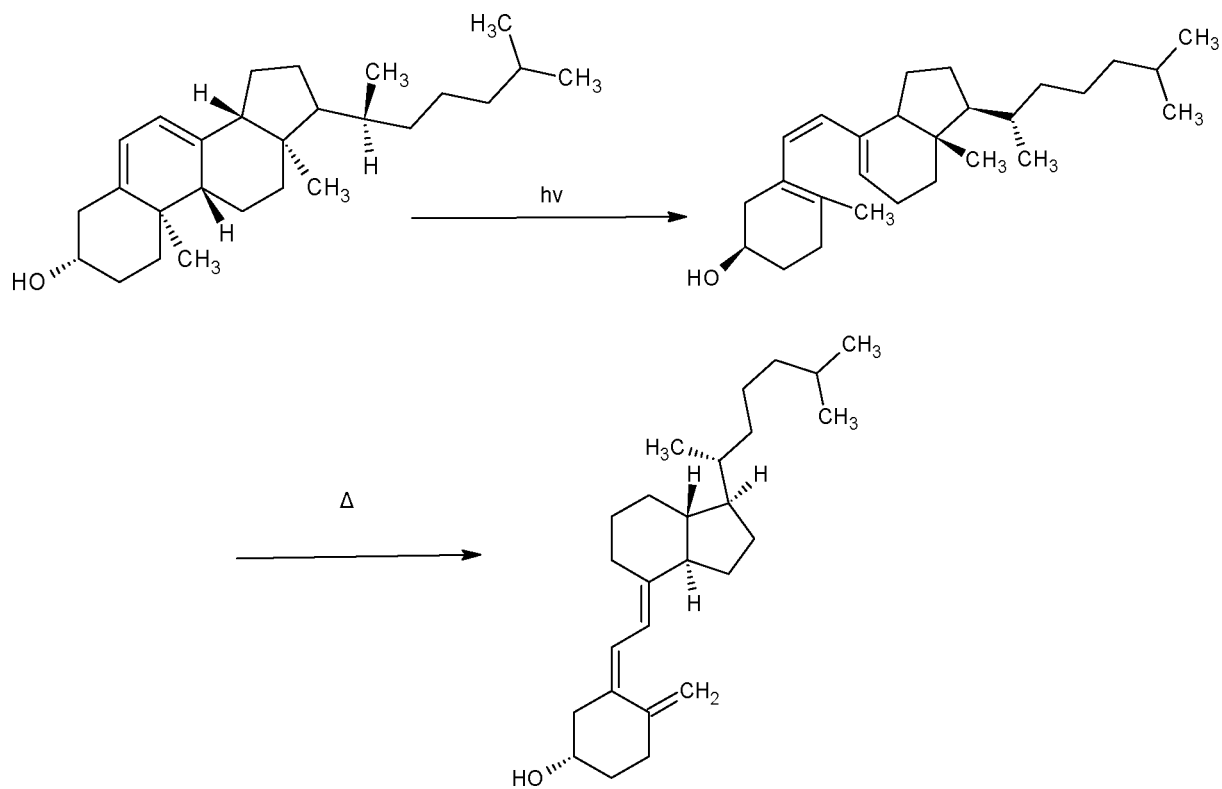


Schéma 8: Syntéza vitaminu D₃

Previtamin se získává z roztoku 7-dehydrocholesterolu ozařováním ultrafialovým zářením. Roztok previtaminu D₃ v toluenu je zahříván na 80-90°C. Poté se roztok po dobu 12-30 hodin ochlazuje na teplotu 30°C. [19]

3. Experimentální část

3.1. Příprava apigeninu z naringeninů.

Použité chemikálie, tj. naringenin, jod, pyridin byly dodány firmu Sigma-Aldrich Group.

Použité přístroje: UV/VIS spektrometr Lambda 35, Perkin Elmer.

Postup přípravy apigeninu byl převzat z literatury [28]

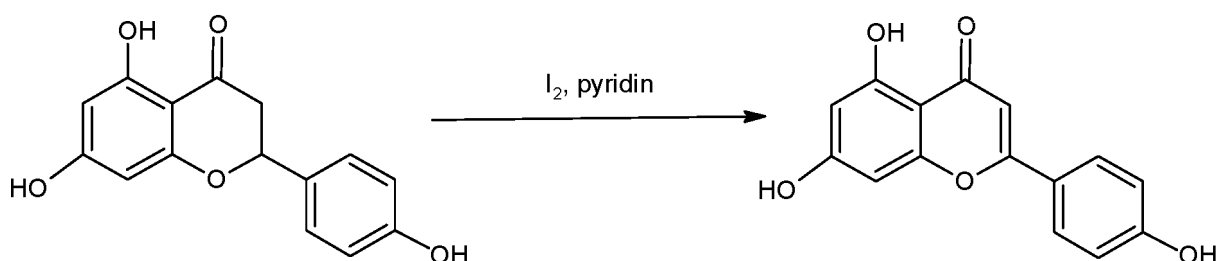
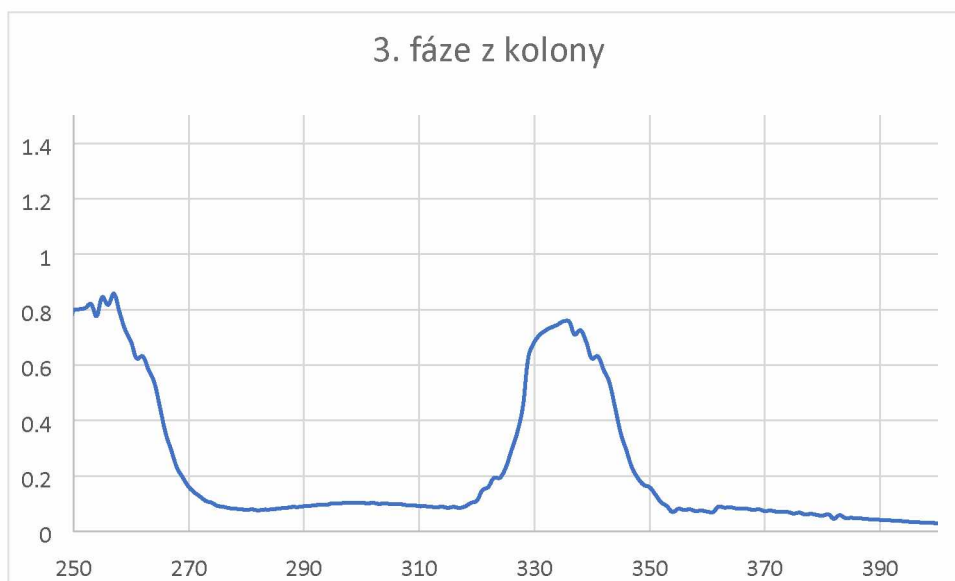


Schéma 1: Příprava apigeninu z naringeninů

Naringenin (2 g, 7,3 mmol) byl smíchán s 1,85 g jodu a předložen do 10 ml pyridinu. Reakční směs byla zahřívána po dobu 4 hodin při teplotě 90 – 100°C. Po ochlazení byla směs zfiltrována a získaný filtrát byl podroben kolonové chromatografii (SiO₂; ether:CH₂Cl₂ = 1:3). Filtrát z kolony byl jímán v několika fázích, podle barvy filtrátu.

Dle předpisu měla reakce poskytnout 93% výtěžek, tedy 1,85 gramů ve formě bílých krystalů.

Všechny fáze odebrané z kolony byly podrobeny metodě UV/VIS. Apigenin byl předpokládán ve 3. jímáné fázi. Tento předpoklad potvrdily naměřené hodnoty vlnových délek, změřené metodou UV/VIS spektrofotometrie (Graf 1). Apigenin odpovídal hodnotám vlnových délek 268 nm a 332,1 nm. [30] Praktický výtěžek apigeninu byl v miligramech.



Graf 1: UV/Vis spektrum apigeninu

4. Výsledky a diskuze

V laboratoři jsme se pokusili experimentálně ověřit přípravu apigeninu z naringeninů jeho oxidací. I přes dodržení postupu reakce poskytla velmi malé množství apigeninu. Tato cesta syntézy apigeninu je využitelná v laboratorním prostředí, ale pro technologické účely je bohužel tento způsob přípravy neschůdný, a to především kvůli manipulaci s kolonou, kdy dochází k velkým ztrátám. Navíc v technologické praxi, kde je požadovaná výroba v řádech tun, je kolonová chromatografie nemyslitelná.

Navrhuji proto jiný postup přípravy apigeninu a to reakcí trihydroxybenzenu a ethyl 3-(4-hydroxyoxypentyl)-3-oxopropanoátu (Schéma 2). Opět ale platí, že se bude muset experimentálně ověřit v laboratoři.

5. Závěr

V závěrečné práci jsou shrnuty biologické vlastnosti a přípravy vybraných barviv. V experimentální části jsem se zaměřila na přípravu apigeninu z naringeninů. Bohužel jsem dospěla k závěru, že tento způsob přípravy je nepoužitelný v technologické praxi. Vzhledem k tomu že požadavek na výrobu syntetického apigeninu stále trvá, zaměřím se v budoucnu na jeho syntézu, která by byla použitelná v technologické praxi.

6. Seznam literatury

[1] ACC Therapeutics Inc. Apigenin for chemoprevention, and chemotherapy combined with therapeutic reagents. Inventors: Bing-Hua JIANG, Jing FANG. US8377918B2. 31. 01. 2006

[2] Aditivní míchání [Obrázek]. In: *Wikipedie* [online]. Editováno 16. 11. 2017. [Cit. 29. 1. 2020]. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Aditivní_míchání_barev#/media/Soubor:AdditiveColorMixiing.svg

[3] AGARWAL, S. et al. Curcumin (diferuloylmethane) downregulates expression of cell proliferation and antiapoptotic and metastatic gene products through suppression of I κ B α kinase and Akt activation. *Molecular Pharmacology*. 2006, 69 (1), 195–206.

[4] AGARWAL, Bharat B, SUNG, B.. Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets. *Trends in Pharmacological Science*. 2009, 30 (2), 85-94.

[5] AMMON, Hermann P. T., WAHL, Martin A. Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta Medica*. 1991, 57(1), 1–7. DOI: 10.1055/s-2006-960004. Dostupné z: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2006-960004>

[6] BORODKIN, V. F. *Chemie organických barviv*. Přeložil Vladimír MATOUŠ. Praha: SNTL-Nakladatelství technické literatury, 1987. 366 s.

[7] Brilliant green. Drugbank. [online]. Alberta, British Colombia, 03.12. 2015. 02. 12. 2019. [cit. 11.11. 2019]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB11279>

[8] CALTON, E.K., KEANE, K.N., NEWSHOLME, P., SOARES, M. J. The impact of vitamin D levels on inflammatory status: a systematic review of immune cell studies. *PLoS One*. 2015, 10(11), e0141770. DOI: 10.1371/journal.pone.0141770.

[9] CAMMACK, R., ATTWOOD, T. K., CAMPBELL, P. N., PARISH, J. H., SMITH, A. D., STIRLING, J. L., VELLA, F.. *Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology (2nd Edition)*. Gram staining. Oxford University Press. 2006. [30.1. 2020]. Dostupné z:

<https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt008O65K7/oxford-dictionary-biochemistry/gram-staining>

[10] ČIHÁK, Radomír. Anatomie 3, druhé upravené a doplněné vydání. Praha: Grada, 2013. ISBN 978-80-247-3817-8.

[11] DAINTITH, John, MARTIN, Elizabeth. *Dictionary of Science (6th Edition) - antiviral*. Oxford University Press. (2010). Retrieved from <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt007X44P1/dictionary-science-6th/antiviral>

[12] DINÇALP, Haluk, SALTAN, Gözde Murat, ZAFER, Ceylan, KIYMAZ, Deniz Aykut. Bromo-substituted cibalackrot backbone, a versatile donor or acceptor main core for organic optoelectronic devices. *Journal of Molecular Structure*. 2018, 1173, 512 – 520.

[13] DUŠEK, Libor. *Organické pigmenty*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2004, 240 s. ISBN 80-7194-635-4.

[14] EMORY UNIVERSITY. Curcumin analogs with anti-tumor and anti-angiogenic properties. Inventors: James P. SNYDES, Matthew C. DAVIS, Brian ADAMS, Mamoru SHOJI, Dennis C. LIOTTA, Eva M. FERSTL, Ustun B SUNAY. US2002/19382. 04.12. 2002.

[15] ENCYKLOPAEDIE BRITANNICA. Anticancer drug [online]. Chicago. [cit. 15. 12. 2019]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/anticancer-drug>

[16] HARTOGH, Danja J. Den, GABRIEL, Alessandra, TSIANI, Evangelia. Antidiabetic Properties of Curcumin II: Evidence from In Vivo Studies. *Nutrients*. 2020, 12 (1), 58. DOI: 10.3390/nu12010058

[17] HINZ, Burkhard, DORN, Conrad P. Jr., SHEN, Tsung Ying, BRUNE, Kay. Anti-inflammatory-Antirheumatic Drugs. In: ELVERS, Barbara, ed. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. 7th completely rev. ed. Weinheim: Wiley-WCH. 2011, 3, 579-582. ISBN 978-3-527-32943-4.

[18] HRDINA, Radim, NEPRAŠ, Miloš, LUŇÁK, Stanislav Jr., KALHOUSOVÁ, Marta, KRÁLOVSKÝ, Josef, TITZ, Miloš. *Optimalizace výroby vitamínu D₂*. *Chem. průmysl*. 1987, 37/82, 11, 582-586.

[19] HRDINA, Radim, NEPRAŠ, Miloš, LUŇÁK, Stanislav, TITZ, Miloš, KALHOUSOVÁ, Marta, KRÁLOVSKÝ, Josef, KOTYK, Milan, BESTOVÁ, Jana, FUKA, Viktor. Method for the preparation of vitamin D₃ by thermolysis of previtamin D₃. Application: CS 85-8340 19851119.

[20] HU, Oliver Yoa-Pu. Cytochrome P450 3A inhibitors and enhancers Inventors: Oliver Yoa-Pu HU, Cheng-Huei HSIONG, Benjamin Pei-Chung KUO, Li-Heng PAO. US2003/ 166584 A1. 22. 02. 2002

[21] International Food Information Service. *Dictionary of Food Science and Technology*. International Food Information Service. Wiley-Blackwell, 2009.2nd Edition. [cit. 13. 11. 2019] ISBN978-0-86014-186-0. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpDFSTE001/dictionary-food-science/dictionary-food-science>

[22] JIANG. Bing-Hua. Apigenin for chemoprevention, and chemotherapy combined with therapeutic reagents. Inventors: JIANG, Bing-Hua, FANG, Jing. US2006 / 189680. 31. 01. 2006

[23] KMSI CO LTD. Composition for treatment of osteoarthritis containing apigenin as chondroregenerative agent. Inventors: Chang Shin PARK, Ju Hee KANG, Gyoung Mi KIM. 21.04. 2005. US2004 / 279260. WO2005034937 (A1)

[24] KOES, R. E., QUATTROCCHIO, F. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: Function and evolution. *BioEssays*. 1994, 16 (2), 123-132. DOI: 10.1002/bies.950160209.

[25] KOEVARY, Steven B.. Selective toxicity of rose bengal to ovarian cancer cells in vitro. *International Journal of Physiology Pathophysiology and Pharmacology*. 2012, 4(2), 99–107.

[26] KOREA RES INST OF BIOSCIENCE, KWON. Flavonoid compound having an antiviral activity. Inventors: Dur Han KWON, Wha Jeong CHOI, Choong Hwan LEE, Jin Hee KIM, Man Bae KIM. PCT/KR2006/004566 21. 06. 2007.

[27] KWON-CHUNG, K. J., RHODES, J. C. Encapsulation and melanin formation as indicators of virulence in *Cryptococcus neoformans*. *Infection and Immunity*. 1986, 51 (1), 218-223.

[28] LEE, Yean-Jang, WU Tsao-Dong: Total Synthesis of Kaempferol and Methylated Kaempferol Derivatives *Journal of the Chinese Chemical Society*. 2001, 48, 201.

[29] LIANG Y.C., HUANG Y.T., TSAI S.H., LIN-SHIAU S.Y., CHEN C.F., LIN J.K.. Suppression of inducible cyclooxygenase and inducible nitric oxide synthase by apigenin and related flavonoids in mouse macrophages. *Carcinogenesis*. 1999, 20 (10), 1945–1952.

[30] LI, Wei, DAI, Rong-Ji, YU, Yu-Hong, LI, Liang, Wu, Chong-Ming, LUAN, Wei-Wei, MENG, Wei-Wei, ZHANG, Xin-Sheng, DENG, Yu-Lin. Antihyperglycemic Effect of *Cephalotaxus sinensis* Leaves and GLUT-4 Translocation Facilitating Activity of Its Flavonoid Constituents. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2007, 30 (6), 1123-1129.

[31] LORENTE SALINAS, Juan. Use of compounds derived from 2,3-dihydronaringenin for the treatment of inflammatory processes and pharmaceutical composition containing said derivatives. Inventors: Juan LORENTE SALINAS, Julian CASTILLO SANCHEZ, Obdulio BENAVENTE-GARCIA GARCIA, Vicente VICENTE ORTEGA, Josefa YANEZ GASCON, Francisco SOLANO MUNOZ, Miguel ALCARAZ BANOS, Jose Carlos GARCIA BORRON, Jose Antonio LOZANO TERUEL. US2006/20021 A1. 26. 01. 2006.

[32] MACHÁČEK, Vladimír, PANCHARTEK, Josef, PYTELA, Oldřich. *Organická chemie*. Vyd. 3. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2005. 311 s.

[33] MCDONNELL, Gerald E... 3.7 Antimicrobial Dyes. *Antisepsis, Disinfection, and Sterilization - Types, Action, and Resistance*. Washington: ASM Press, 2007, 93-96. ISBN: 9781555813925 Dostupné z:

<https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt009K2ZE1/antisepsis-disinfection/antimicrobial-dyes>

[34] MEREK PATENT GmbH. Methods for stabilizing ingredients within cosmetics, personal care and household products. Inventors: Ratan CHAUDHURI, Germain PUCETTI, Francois MARCHIO, Zoia LASCU. US 2005/0244349 A1. 27. 04. 2005.

[35] METAPROTEOMICS LLC. Curcuminoid compositions exhibiting synergistic inhibition of the expression and/or activity of cyclooxygenase-2. Inventors: John G. BABISH, Terrence M. HOWELL, Linda M. PACIORETTY. PCT/US2002/022710. 30.01.2003

[36] MOHAGHEGHPOUR, Nahid, WALEH, Nahid, GARGER, Stephen J., DOUSMAN, Linda, GRILL, Laurence K., TUSÉ, Daniel. Synthetic Melanin Suppresses Production of Proinflammatory Cytokines. *Cellular Immunology*. 2000, 199 (1), 25-36.

[37] MONTEFIORI, David C., ZHOU, Jiyang. Selective antiviral activity of synthetic soluble L-tyrosine and L-dopa melanins against human immunodeficiency virus. *Antiviral research*. 1991, 15 (1), 11-25. DIO: [10.1016/0166-3542\(91\)90037-r](https://doi.org/10.1016/0166-3542(91)90037-r)

[38] NIJVELDT, Robert J., VAN NOOD, Els, VAN HOORN, Danny E.C., BOELEN, Petra G., VAN NORREN Klaske, VAN LEEUWEN Paul A.M.. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2001, 74 (4) 418–425.

[39] NUTRICIA NV. Compositions suitable for the treatment of damage caused by ischemia/reperfusion or oxidative stress. Inventors: Klaske VAN NORREN, Eduad Christiaan VAN HOORN, Henrik Gerrit Derk LEUVENINK, Zandrie HOFMAN. PCT/NL2001/000233. 26. 09. 2001.

[40] ORGAZ-MOLINA, J., BUENDÍA-EISMAN, A., ARRABAL-POLO, M.A., RUIZ, J.C., ARIAS-SANTIAGO, S. Deficiency of serum concentration of 25-hydroxyvitamin D in psoriatic patients: a case-control study. *Journal of the American Academy of dermatology Dermatol*. 2012, 67 (5), 931–938. doi: [10.1016/j.jaad.2012.01.040](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2012.01.040).

[41] OXFORD UNIVERSITY PRESS. *Dictionary of Science*. DAINTITH, John, MARTIN, Elizabeth. New York. 2010. 6th Edition. [cit. 11. 11. 2019] ISBN 978–0–19–956146–9.

Dostupné z:

<https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpDSE00001/dictionary-science-6th/dictionary-science-6th> GREENE, Theodora W. Protective Groups in Organic Chemistry. New York: Wiley, 1981. 49 s. ISBN 0-471-05764-9

[42] OZKAN, B., HATUN, S., BERKET, A. Vitamin D intoxication. *The Turkish journal of pediatrics*. 2012, 54 (2), 93 – 98.

[43] PANCHE, A. N., DIWAN, A. D., CHANDRA, S. R. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*. 2016, 5, 1-15. DOI: [10.1017/jns.2016.41](https://doi.org/10.1017/jns.2016.41)

[44] PROVECTUS PHARMACEUTICALS, Inc. Process for the synthesis of 4,5,6,7-tetrachloro-3',6'-dihydroxy 2',4',5',7'-tetraiodo-3h-spiroisobenzofuran-19'-xanthen-3-one(rose bengal) and related xanthenes. Inventors: Jamie SINGER, Eric A. WATCHER. Timothy SCOTT, Marlon LUTZ, Kevin BABIAK. US8530675B2.

[45] REICH, K. The concept of psoriasis as a systemic inflammation: implications for disease management. *Journal of The European Academy Dermatology and Venereology*. 2012, 26, 3–11. doi: [10.1111/j.1468-3083.2011.04410.x](https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2011.04410.x).

[46] Průřez lidského oka [Obrázek]. In: *Wikipedie* [online]. Editováno 24. 3. 2020. [Cit. 28. 1. 2020]. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Lidské_oko.

[47] REICHRATH, J. Vitamin D and the skin: An ancient friend, revisited. *Experimental Dermatology*. 2007, 16(7), 618–625. doi: [10.1111/j.1600-0625.2007.00570.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2007.00570.x).

[48] RILEY, P. A.. Melanin. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 1997, 29 (11), 1235-1239

[49] Rose bengal. Drugbank. [online]. Alberta, British Colombia, 03.12. 2015. 26. 1. 2020. [cit. 11. 11. 2019]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB11182>

[50] ROSENBLOOM, Richard A.. Methods for the treatment of scar tissue. Inventors: Richard A ROSENBLOOM. US2006/293257. 2006.

- [51] ROSS, C. A., TAYLOR, C. L., YAKTIME, A. L., DEL VALLE, H. B. et al., editors. Overview of vitamin D. *Dietary Reference Intakes for calcium and vitamin D*. Institute of Medicine. Washington, DC: National Academies Press, 2010, s. 1132. ISBN 978-0-309-212038
- [52] RŮŽKOVÁ, Barbora. Barviva a jejich vliv na lidský organizmus. *Klinická farmakologie a farmacie*. 2012, 26 (3), 148-152.
- [53] SANTOS, M., FONSECA, H. M., JALKH, A. P., GOMES, G. P., CAVALCANTE, A. S. Obesity and dyslipidemia in patients with psoriasis treated at a dermatologic clinic in Manaus. *Anais Brasileiros Dermatologia*. 2013, 88, 913–916. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20132090.
- [54] SHAANXI JIAHE PLANT CHEMICAL CO. Synthetic method of apigenin. Inventors: Xiao Jinxia, Jin Sha Yang, Xuefeng Guo Wenhua. 10. 9. 2014. CN104031016A
- [55] SHOSUKE, Ito, KAZUMASA, Wakamatsu, HIROYUKI, Ozeki. Chemical Analysis of Melanins and its Application to the Study of the Regulation of Melanogenesis. *Pigment cell research*. 2000, 13 (8), 103-109.
- [56] SIES, Helmut. Oxidativ stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*. 1997, 82, 291-295.
- [57] SINGH, S., AGGARWAL, B.B. Activation of transcription factor NF-kB is suppressed by curcumin (diferuloylmethane). *Journal of Biological Chemistry*. 1995, 270, 24995–25000.
- [58] SUBRAMANIAM, M., SREEJAYAN, DEVASAGAYAM, Thomas P. A., SINGH, B.B.. Diminution of singlet oxygen-induced DNA damage by curcumin and related antioxidants. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 1994. 311 (2), 249-255.

[59] Subtraktivní míchání tří základních barev [Obrázek]. In: *Wikipedie* [online]. Editováno 6. 4. 2019. [Cit. 29.1.2020]. Dostupné z:

https://cs.wikipedia.org/wiki/Subtraktivní_míchání_barev#/media/Soubor:Synthese-.svg

[60] ŠULCOVÁ, Petra, DOHNALOVÁ, Žaneta. *Anorganické pigmenty, vlastnosti a metody hodnocení*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2015. ISBN 978-80-7395-947-0.

[61] TRIPKOVIC, Laura, LAMBERT, Helen, HART, Kathryn, SMITH, Colin P., BUCCA, Giselda, PENSON, Simon, CHOPE, Gemma, HYPPÖNEN, Elina, BERRY, Jacqueline, VIETH, Reinhold, NEW-LANHAM, Susan. Comparison of vitamin D₂ and vitamin D₃ supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2012, 95 (6), 1357 – 1364.

[62] UNIV DALIAN TECH. Antioxidant inhibiting melanin production small peptide, preparation method and application thereof. Inventors: Yu HAINING, Feng LAN, Wang YIPENG. CN107266534A. 20. 10. 2017.

[63] UNIVERSITY OF STRATHCLYDE. Flavonoid and bioflavonoid derivatives, their pharmaceutical compositions, their anxiolytic activity. Inventors: Bruce Kennedy CASSELS, Frederico Jose DAJAS, Rodolfo Horacio SILVEIRA, Alejandro Constantino PALADINI, Jorge Horacio MEDINA. PCT/GB94/01803. WO 0 558 245 A1. 17. 08. 1993.

[64] UNIV RAMOT, MEDICAL RES FUND AT THE TEL AV, ARBER, Nadir, LEV-ARI, Shahar, LICHTENBERG, Dov. Compositions for treatment of cancer and inflammation with curcumin and at least one nsaid. Inventors: Nadir ARBER, Shahar LEV-ARI, Dov LICHTENBERG. PCT/IL05/00173. 26. 04. 2007.

[65] USHAKOVA, N., DONTSOV, A., SAKINA, N., BASTRAKOV, A., OSTROVSKY, M. Antioxidative Properties of Melanins and Ommochromes from Black Soldier Fly *Hermetia illucens*. *Biomolecules*, 2019, 9(9), 408. DOI:10.3390/biom9090408

[66] WANG, Yulin, CASADEVALL, Arturo. Susceptibility of Melanized and Nonmelanized *Cryptococcus neoformans* to Nitrogen- and Oxygen-Derived Oxidants. *Infection and immunity*. 1994, 62 (7), 3004-3007.

[67] WIEHE, Arno, O'BRIEN, Jessica M., SENGE, Mathias O. Trends and targets in antiviral phototherapy. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2019, 11 (18), 2565 – 2612. doi:10.1039/c9pp00211a

[68] YA-KUN, Cao, HUI-JING, Li, ZHI-FANG, Song, YANG, Li, QI-YONG, Huai. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Curcuminoid Derivatives. *Molecules*. 2014. 19, 16349-16372. DIO: 10.3390/molecules191016349

[69] YULIANTO, M. E., PARAMITA, V., HARTATI, I., AMALIA, R. Response surface methodology of pressurized liquid water extraction of curcumin from *curcuma domestica* val. *Rasayan journal of chemistry*. 2018, 11, 1564 – 1571.

[70] ZHANG, Young, LEUNG, Donald Y. M., RICHERS, Brittany N., LIU, Yusen, REMIGIO, Linda K., RICHES, David W., GOLEVA, Elena. Vitamin D inhibits monocyte/macrophage proinflammatory cytokine production by targeting MAPK phosphatase-1. *The Journal of Immunology*. 2012, 188(5), 2127–2135. DOI: 10.4049/jimmunol.1102412.

[71] ZHENG, Xing, MENG, Wei-Dong, QING, Feng-Ling. Synthesis of gem-difluoromethylenated biflavonoid via the Suzuki coupling reaction. *Tetrahedron Letters*. 2004, 45 (43), 8083-8085.

[72] ZUCHI, Manuela Ferrasso, AZEVEDO, Paula de Oliveirs, TANAKA, Anber Ancel, SCHMITT, Juliano Vilaverde, MARTINS, Luis Eduardo Agner. Serum levels of 25-hydroxy vitamin D in psoriatic patients. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2015, 90(3), 430–432. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20153524.