

RESVERATROL

JAN ŠMIDRKAL^a, VLADIMÍR FILIP^a,
KAREL MELZUCH^b, IRENA HANZLÍKOVÁ^b,
DANIELA BUCKIOVÁ^c a BOHDAN KRÍSA^d

^aÚstav technologie mléka a tuků, ^bÚstav kvasné chemie a bioinženýrství, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^cÚstav experimentální medicíny Akademie věd České republiky, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4, ^dKatedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Benátská 2, 128 01 Praha 2
e-mail: Jan.Smidrkal@vscht.cz

Došlo dne: 2.XI.2000

Klíčová slova: resveratrol, pinosylvin, viniferiny, stilbeny, antioxidanty, víno

Prolog

„Soudím, že muži i ženy, kteří pravidelně pijí malé množství alkoholu, jsou méně náchylní k nemocím a mají menší úmrtnost na srdeční onemocnění a vůbec menší úmrtnost ze všech příčin než ti, kdo trvale abstnují.“ Tato slova pronesl osmaosmdesátiletý emeritní profesor Oxfordské univerzity Sir Richard Doll roku 1991 na kongresu v australském Sydney. Jeho slova nikdo nezpochybnil, neboť právě tento gentleman, který je váženou autoritou v oboru medicíny, nezvratně prokázal souvislost kouření a rakoviny plic.

Tato slova jistě potěší tu (zřejmě značnou) část lidské populace, která je s alkoholem (ethanolem) zcela kompatibilní. Sir Richard vlastně uvedl na pravou míru slova jednoho z průkopníků tohoto oboru dietologie, Hoga Foga z filmu Limonádový Joe, který již před řadou let pronesl okřídlenou větu: „Alkohol podávaný v malých dávkách neškodí v jakémkoli množství“.

Dalším obecným důvodem, proč pít alkoholu (míněno vína) nemůže být příliš škodlivé, může být Darwinova teorie, která praví, že živé organismy se buď přizpůsobí okolním podmínkám, nebo vyhynou. Lidstvo pije víno po tisíciletí (údajně 6000 let) a nevyhynulo. Tato myšlenka logicky dovedena do důsledků vede k závěru, že pokud se lidstvo pít vína přizpůsobilo, je abstinence vlastně škodlivá, jak je uvedeno shora.

Autoři nijak nepodceňují dietologii a rady pro zdravou výživu, ale pamatují řadu doporučení, že se má jíst to či ono, a za několik let se se stejnou jistotou tvrdilo, že tomu tak úplně není, nebo dokonce je tomu právě naopak.

Obsah

1. Úvod
2. Výskyt v přírodě
3. Chemická struktura
4. Funkce v rostlině
5. Biosyntéza resveratrolu
6. Izolace resveratrolu
7. Syntéza resveratrolu
8. Praktické využití resveratrolu v současnosti
9. Závěr

1. Úvod

Zájem o sledování výskytu resveratrolu byl podmíněn existencí tzv. „francouzského paradoxu“^{1,2}. Bylo zjištěno a statisticky dokázáno, že v určitých částech Francie byla nižší četnost úmrtí na onemocnění koronárních tepen (infarktu myokardu), a to navzdory tomu, že spotřeba tuků byla vysoká. Konzumace vína byla jedním z faktorů, kterým bylo možno vysvětlit nízkou úmrtnost na onemocnění věnčitých tepen. Tato skutečnost vedla k domněnce, že požívání vína může působit proti účinkům diety s vysokým obsahem tuků, a omezit tak možnost vzniku a rozsah onemocnění věnčitých tepen. V současné době řada pracovišť testuje biologické vlastnosti resveratrolu od antioxidačních vlastností³ a vlivu na aterosklerozu a kardiovaskulární choroby^{4–7} až po antimutagenní efekt⁸ a chemoprevenci⁹ nádorových onemocnění. V řadě případů bylo dosaženo pozoruhodných výsledků.

Komplexnější poznatky o resveratrolu byly získány v osmdesátých letech minulého století, kdy přístrojové vybavení (zejména HPLC) umožnilo sledování jeho výskytu a koncentrace ve vinné révě, *Vitis vinifera* L. (*Vitaceae*)^{10–22}. Následně byly zkoumány biologické vlastnosti resveratrolu a v řadě studií bylo prokázáno, že resveratrol jakožto polyfenol přírodního původu je biologicky aktivní, má výrazné antioxidační vlastnosti a pohlcuje volné radikály. Obecně platí, že rostlinné polyfenoly jako sloučeniny s antioxidačními vlastnostmi inhibují zhoubné nádorové bujení. Kromě toho je resveratrol patrně jednou z hlavních složek rostlinných extraktů, které jsou využívány v orientální medicíně k léčení srdečních a nádorových onemocnění.

2. Výskyt v přírodě

Resveratrol byl poprvé izolován z podzemní části kýčavice velkokvěté, *Veratrum grandiflorum* A. Gray (*Liliaceae*)²³. Resveratrol byl dále nalezen ve více než 72 rostlinných druzích, které patří systematicky do 31 rodů a 12 čeledí (je pochopitelné, že se zdokonalováním analytických metod se počty rostlinných druhů obsahujících resveratrol zvyšují). Řada těchto rostlin je běžnou součástí lidské diety, např. vinné hrozny (a z nich víno jako nápoj), řada druhů zeleniny a ořechy (např. arašidy). Poměrně bohatým a rozšířeným zdrojem res-

veratrolu jsou právě hrozny révy vinné. Střední koncentrace resveratrolu v červených vínech je cca 2–6 mg.l⁻¹, v bílých vínech je jeho koncentrace nižší, cca 0,2–0,8 mg.l⁻¹ (cit.^{19,24}).

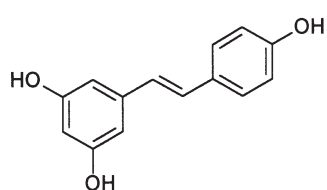
Koncentrace resveratrolu v běžně konzumovaných potravinách v České republice (stanoveno v roce 2000) je uvedena v tabulce I (cit.²⁵). Z tabulky je patrné, že množství 1 mg resveratrolu je obsaženo v 0,4 až 2,5 kg uvedených zelenin. Z hlediska obsahu resveratrolu je vhodné pro konzumaci zejména červené zelí, brokolice nebo červená řepa, neboť 0,5 kg těchto zelenin se sní spíše než 0,5 kg arašídů. Červená vína obsahují 2–6 mg.l⁻¹ resveratrolu, tedy 1 mg resveratrolu je obsažen v 0,17–0,50 l červeného vína. Optimální je patrné kombinace zeleniny a vína, což odpovídá výše uvedeným stravovacím zvykům Francouzů.

3. Chemická struktura

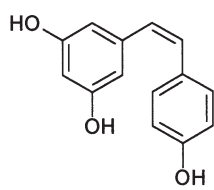
Resveratrol (triviální název) je svou strukturou 3,4',5-trihydroxystilben (*I*). Z jeho struktury je zřejmé, že mohou

existovat dva geometrické isomery, *trans-Ia* a *cis-Ib*. V rostlinném materiálu se obvykle vyskytuje směs obou isomerů, většinou převažuje *trans*-isomer. Resveratrol se vyskytuje rovněž ve formě glukosidů¹, β-glukosyloxy skupina je vázána buď v poloze 3-(triviální název piceid) *II*, nebo v poloze 4'-(resveratrolosid), od obou typů je znám *trans*- i *cis*-isomer*.

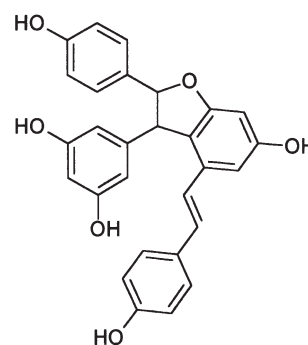
Kromě toho jsou v rostlinném materiálu přítomny oligomery (tedy přesně dehydrooligomery) resveratrolu, tzv. konstitutivní stilbeny¹, dimer resveratrolu ε-viniferin (*Ic*) a trimer α-viniferin (*Id*). Uvedené oligomery resveratrolu nejsou jediné, v poslední době byla popsána čínskými autory^{26,27} řada analogických oligomerů resveratrolu, amurensiny H (*Ie*) a G z podzemní části révy amurské, *Vitis amurensis* Rupr. (*Vitaceae*). Amurensin H je vlastně dehydro-ε-viniferin, tj. oxidační produkt ε-viniferinu. Podobně japonští autoři²⁸ izolovali z loubince trojlaločného, *Parthenocissus tricuspidata* Sieb et Zucc. (*Fabaceae*, dříve *Leguminosae*) dimer isoampelopsin F a francouzští autoři izolovali z *Cissus quadrangularis* L. (*Cissaceae*) další tři dimery, které nazvali quadrangularin A, B a C (cit.²⁹).



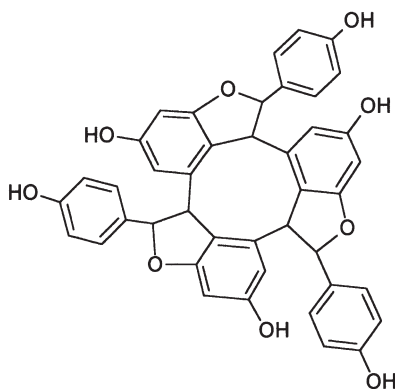
trans-resveratrol, *Ia*



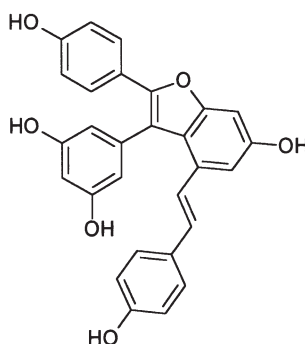
cis-resveratrol, *Ib*



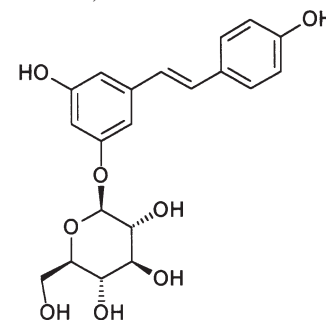
ε-viniferin, *Ic*



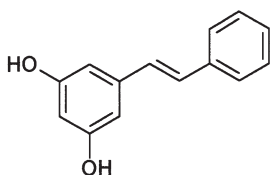
α-viniferin, *Id*



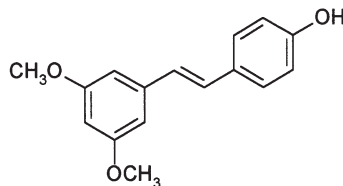
amurensin, *Ie*



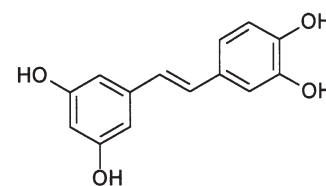
piceid, *II*



pinosylvin, *III*



pterostilben, *IV*

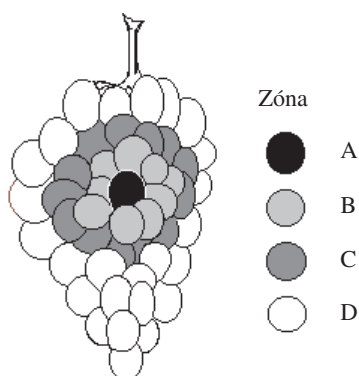


piceatannol, *VIII*

* V textu je užíván jak triviální název resveratrol, tak i systematický název 3,4',5-trihydroxystilben (*I*). Pokud není v názvu sloučeniny uvedeno, o jaký stereoisomer se jedná (citovaná literatura geometrické uspořádání neuvádí), je míněn *trans*-, tedy (*E*)-isomer.

Tabulka I
Koncentrace resveratrolu v běžných druzích potravin

Rostlina	Latinské jméno rostliny (čeleď)	Resveratrol [mg.kg ⁻¹ _{sus.}]	Sušina [%]	Resveratrol [mg.kg ⁻¹]	Množství [kg] obsahující 1 mg res- veratolu
Zelí čínské	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>chinensis</i> (Brassicaceae)	9	5	0,5	2,2
Kapusta hlávková	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> (Brassicaceae)	7	14	1,0	1,0
Kapusta růžičková	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>gemmifera</i> (Brassicaceae)	15	17	2,6	0,4
Zelí červené	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> convar. <i>rubra</i> (Brassicaceae)	15	16	2,4	0,4
Zelí bílé	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> convar. <i>alba</i> (Brassicaceae)	8	7	0,6	1,8
Brokolice	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i> (Brassicaceae)	15	12	1,8	0,6
Čekanka	<i>Cichorium intybus</i> L. var. <i>foliosum</i> (Cichoriaceae)	20	5	1,0	1,0
Petržel naťová	<i>Petroselinum hortense</i> L. (Daucaceae)	5	19	1,0	1,1
Mrkev karotka	<i>Daucus carota</i> L. (Daucaceae)	4	10	0,4	2,5
Červená řepa	<i>Beta vulgaris</i> L. (Chenopodiaceae)	8	22	1,8	0,6
Česnek	<i>Allium sativum</i> L. (Liliaceae)	2	29	0,6	1,7
Cibule žlutá	<i>Allium cepa</i> L. (Liliaceae)	17	9	1,5	0,7
Cibule červená	<i>Allium cepa</i> L. (Liliaceae)	12	9	1,1	0,9
Podzemnice olejná	<i>Arachis hypogaea</i> L. (Fabaceae)	2	94	1,9	0,5
Čajovník čínský	<i>Thea sinensis</i> L. (Theaceae)	1	94	0,9	1,1



Obr. 1. Hrozen révy vinné napadený plísní *Botrytis cinerea*

Čínští autoři připravili amurensin H (*Ie*) oxidací resveratrolu chloridem železitým²⁶. Je možné, že analogicky při izolaci těchto sloučenin z rostlin, kde jsou obvykle přítomny v katalytickém množství železité ionty, dochází k oxidaci resveratrolu na některé z výše uvedených dimerů a trimerů.

Výše uvedené dimery a trimery jsou tedy oxidační produkty resveratrolu. Otázkou však je, zda vznikají oxidací resveratrolu v rostlině (tedy jsou obsahovou látkou rostliny), nebo zda některé z nich vznikly až oxidací resveratrolu během zpracování rostlinného materiálu, a jsou to tedy artefakty.

4. Funkce v rostlině

Resveratrol lze zařadit mezi fytoalexiny, což jsou sekundární metabolity rostlin, které se začínou tvořit *de novo* nebo ve zvýšené míře jako odpověď na stres (mechanické poškození, UV záření, ozon) nebo po napadení rostliny nepatogenními

Tabulka II
Koncentrace resveratrolu ve slupkách hroznu 48 h po napadení plísní *Botrytis cinerea*

Zóna (obr. 1)	<i>Trans</i> -resveratrol [mg.kg ⁻¹]		
	Pinot	Chardonnay	Gamay
A	6	2	6
B	28	6	16
C	22	4	9
D	20	2	9

Hodnoty jsou zaokrouhleny, přesnost stanovení je cca 20 % rel.

nebo avirulentními bakteriemi, viry či houbami. Některé fytoalexiny mají antibakteriální nebo antifungální účinnost, jiné jsou pro danou infekci neúčinné; nejsou tedy ekvivalentní protilátkám, které vyšší organismy tvoří po infekci.

Fyziologická funkce resveratrolu v rostlinách není stále zcela jasná. Tvorba fytoalexinů (*trans*-resveratrolu a ϵ -viniferinu) je jedním z mechanismů rezistence buňky. Při napadení révy vinné plísní (např. *Botrytis cinerea* či *Plasmopara viticola*)^{10–15,20} nebo po expozici UV zářením^{16,17} se začínou rychle tvořit a akumulovat fytoalexiny, maximální koncentrace *trans*-resveratrolu je dosaženo po 24–96 h od expozice, poté jeho koncentrace klesá a po cca 16 dnech se ustálí na původním stavu.

Při napadení hroznu révy vinné plísní *Botrytis cinerea* lze pozorovat, jak rostlina vytváří resveratrolovou bariéru okolo napadeného místa^{1,22} (obr. 1). V místě napadení (zóna A) je koncentrace resveratrolu nízká, je možné, že plíseň rozkládá fytoalexin, jehož působení je vystavena. Maximální koncentrace resveratrolu (cca 4× vyšší než v napadeném místě) je

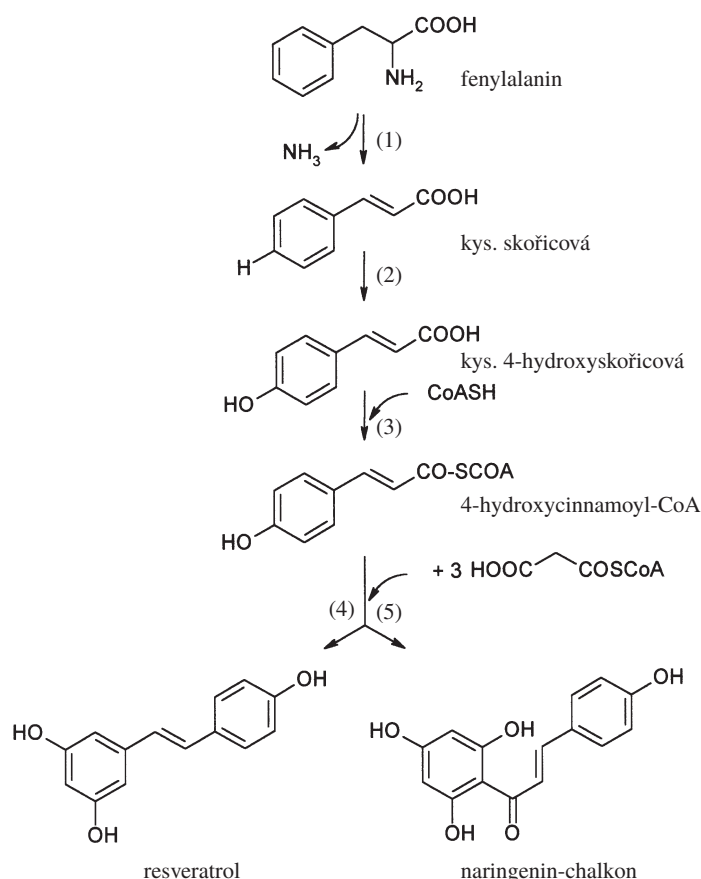


Schéma 1. Biosyntéza resveratrolu. Reakce jsou katalyzovány těmito enzymy: 1) fenylalanin amonium-lyasa (EC 4.3.1.5), systematický název: L-fenylalanin amonium-lyasa, 2) cinnamát-4-hydroxylasa (EC 1.14.13.11), systematický název: *trans*-cinnamát, NADPH:kyslík-oxidoreduktasa (4-hydroxylující), 3) 4-kumarát-CoA ligasa (AMP) (EC 6.2.1.12), systematický název: 4-kumarát: CoA ligasa(AMP), 4) trihydroxystilben syntasa, nebo resveratrol syntasa (EC 2.3.1.95), systematický název: malonyl-CoA: 4-kumaroyl-CoA, malonyl transferasa (cyklizující), 5) naringenin-chalcon syntasa, nebo chalcon syntasa (EC 2.3.1.74), systematický název: malonyl-CoA:4-kumaroyl-CoA, malonyl transferasa (cyklizující)

v sousední zóně B (nabízí se přirovnání sanitární kordon), se zvyšující se vzdáleností od centra napadení pak koncentrace zvolna klesá. Koncentrace resveratrolu v jednotlivých zónách je uvedena v tabulce II. Podobná bariéra se rovněž vytváří kolem napadeného místa listu révy vinné¹².

Je pravděpodobné, že ve zralých hroznech je syntéza *trans*-resveratrolu nebo jeho glykosidu nějakým způsobem iniciována. Kromě výše uvedených faktorů i mechanické poškození slupky bobulí indukuje i u neinfikovaných hroznů syntézu fytoalexinů, zřejmě jako preventivní ochranu před napadením plísňemi. Předpokládá se, že zdrojem *trans*-resveratrolu ve vinně (jako nápoji) jsou polyfenolické sloučeniny (konstitutivní stilbeny, tedy viniferiny), extrahované ze slupek bobulí, zbytků třepin a stonků, ze kterých vzniká *trans*-resveratrol během dalších procesů.

5. Biosyntéza resveratrolu

Původním prekurzorem pro biosyntézu¹ resveratrolu (schéma 1) jsou glykosidy, ze kterých vzniká nejprve Shikimatovou cestou fenylalanin. Fenylalanin je fenylalanin amonium-ly-

sou přeměněn na kyselinu skořicovou, která je pak oxidována cinnamát-4-hydroxylasou na kyselinu 4-hydroxyskořicovou. Z této skořicové kyseliny vzniká reakcí s volným CoA za působení specifické CoA ligasy 4-hydroxycinnamoyl-CoA, ze kterého kondenzací s třemi molekulami malonyl CoA (vzniká karboxylací acetylkoenzymu A) za působení resveratrol syntasy se v řadě druhů čeledi *Vitaceae* syntetizuje resveratrol, přičemž se uvolňují čtyři molekuly oxidu uhličitého.

Rostliny čeledi *Vitaceae* mají kromě stilben syntasy k dispozici ještě jeden enzym, chalcon syntasu, která katalyzuje kondenzaci 4-hydroxycinnamoyl-CoA se třemi molekulami malonyl-CoA, při které se však uvolňují pouze tři molekuly oxidu uhličitého a jejímž produktem je naringenin-chalkon, ze kterého pak dalšími reakcemi vznikají flavonoidy. Skupina flavonoidů zahrnuje taniny a anthocyaniny, které způsobují hořkost, resp. pigmentaci slupky zralých hroznů.

Zajímavé je, že v řadě druhů borovic (např. borovice lesní, *Pinus sylvestris* L. (*Pinaceae*)) je kyselina skořicová konvertována jinou ligasou na cinnamoyl-CoA, ze kterého pak analogickým způsobem vzniká pinosylvin ((*E*)-3,5-dihydroxystilben, III), který, stejně jako resveratrol, působí jako fytoalexinový fungicid v jádře dřeva¹.

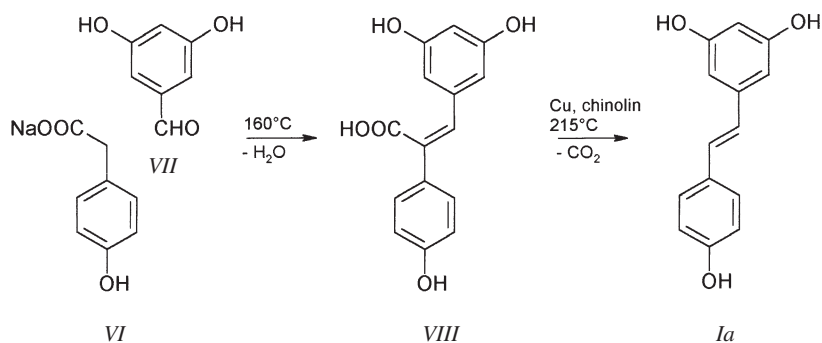


Schéma 2. Syntéza resveratrolu podle Spätha

6. Izolace resveratrolu

Jak je uvedeno v kapitole 2, koncentrace resveratrolu ve víně jako nápoji je cca $2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, tj. $2 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$. I když jeho koncentrace je ve slupkách bobulí, zbytcích třapin a stoncích vyšší ($4\text{--}40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ čerstvého materiálu), jeho získání jako chemicky čistého individua je poměrně obtížné, neboť je doprovázen řadou dalších sloučenin obdobné struktury. Čistý resveratrol byl pro experimentální účely získáván izolací z rostlinného materiálu, často z rdesna kadeřavého, *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. (*Polygonaceae*)^{30,31}, nebo z peruánské *Cassia quinquangulata* Rich. (*Caesalpiniaceae*)⁹, kde z 1 kg drogy bylo získáno 30 mg resveratrolu. V současnosti se pro experimenty spíše používá resveratrolu získaného synteticky (viz další kapitola).

Resveratrol jako antioxidant je citlivý na působení vzdušného kyslíku, takže izolace z přírodního materiálu je poměrně pracná. Ostatně kauzální otázkou zůstává, proč resveratrol jako potravní doplněk z rostlinného materiálu izolovat, když je možno hrozny révy vinné nebo zeleninu konzumovat jako takové v čerstvém stavu nebo pít víno jako nápoj.

7. Syntéza resveratrolu

Takaoka²³ izoloval resveratrol (b.t. 261°C) z podzemní části kýchavice velkokvěté, *Veratrum grandiflorum* A. Gray (*Liliaceae*). Určil jej jako fenolickou sloučeninu a připravil z ní methylací resveratroltrimethylether (V, b.t. $56\text{--}57^\circ \text{C}$), který oxidací oxidem chromovým poskytl kyselinu 3,5-dimethoxybenzoovou a kyselinu 4-methoxybenzoovou. Na základě struktury těchto rozkladných produktů určil resveratrol jako 3,4',5-trihydroxystilben (I). Späth se spolupracovníky^{32–35}, který se zabýval konstitucí a syntézou přírodních stilbenů, např. pterostilbenu (4'-hydroxy-3,5-dimethoxystilbenu, IV) izolovaného z červeného santalového dřeva *Pterocarpus santalinoides* l'Herit (*Fabaceae*), připravil z pterostilbenu IV methylether (b.t. $56\text{--}57^\circ \text{C}$), který byl totožný s trimethyletherem resveratrolu (V), a tak byla ještě jednou potvrzena struktura pterostilbenu IV i struktura resveratrolu.

Späth³⁴ syntetizoval resveratrol kondenzací natrium-2-(4-hydroxyfenyl)-acetátu (VI) a 3,5-dihydroxybenzaldehydu (VII) a následnou dekarboxylací vzniklé stilbenkarboxylové kyseliny VIII (schéma 2). Obdobným způsobem syntetizoval Späth³⁵ i pinosylvin (III).

Po těchto klasických průkopnických pracích japonských

a rakouských autorů uplynulo téměř půl století, než studium působení fytoalexinů v révě vinné vyvolalo potřebu většího množství čistého resveratrolu jako substance. Izolace z rostlinného materiálu je pracná, jak bylo uvedeno výše, tímto způsobem se za vynaložení přiměřeného množství práce dá v laboratorním měřítku připravit resveratrol v množství $0,1\text{--}1,0 \text{ g}$. Kromě toho se jako výchozí suroviny používá poměrně exotického rostlinného materiálu. Rovněž není znám vhodný přírodní či syntetický meziprodukt, který by se dal na resveratrol snadno chemicky transformovat. Jako jediný způsob přípravy resveratrolu zbývá tedy totální syntéza.

Fytoalexiny se obvykle studují tam, kde roste vinná réva a je následně rozvinuta výroba vína jako nápoje. Je tedy pochopitelné, že první novější syntetické studie pocházejí od španělských autorů³⁶ z Barcelony (Moreno-Mañas a Pleixats), neboť Španělsko je země vína, stejně jako Francie a Itálie. Jako výchozí látky bylo použito kyseliny dehydroacetové (3-acetyl-4-hydroxy-6-methylpyran-2-on, IX), která byla převedena na orcinol (5-methylbenzen-1,3-diol, X). Orcinol (X) byl nejprve acetylován acetanhydridem na diacetylorcinol, ten pak byl následně bromován *N*-bromsukcinimidem v tetrachlormethanu na 5-brommethylbenzen-1,3-diyl-diacetát (XI). Reakcí XI s trifenylofosfinem byl připraven 3,5-diacetoxybenzyltrifenylofosfonium-bromid (XII), z něhož reakcí s methanolem za katalýzy *p*-TsOH (podle Reimanna³⁷) připraven odpovídající dihydroxyderivát XIII, a ten Wittigovou reakcí s 4-(trimethylsilyloxy)-benzaldehydem poskytl *trans*-resveratrol (Ia) v 10 % výtěžku (schéma 3). Postup podle Moreno-Mañase a Pleixatse použili i francouzští autoři, Jeandet a spol.³⁸

Je popsána řada způsobů provedení Wittigovy reakce. Moreno-Mañas použil jako bázi fenyllithium v trojnásobném molárním přebytku v etheru (2 moly fenyllithia reagují s $-\text{OH}$ skupinami fosfoniové soli XIII). Japonští autoři³⁹, kteří použili pro Wittigovu syntézu methoxysloučenin (3,5-dimethoxybenzaldehydu, XIV a trifenyl-4-methoxybenzyl-fosfonium-bromidu XV), zvolili jako bázi kalium-*tert*-butoxid v ekvimolárním množství v tetrahydrofuranu. Produktem Wittigovy reakce byla směs (*E*)- a (*Z*)-isomeru 3,4',5-trimethoxystilbenu (*Va* a *Vb*) v poměru 48:52, celkový výtěžek reakce byl 99 %. Směs isomerů *Va* a *Vb* byla isomerizována za katalýzy difenylsulfidem na čistý (*E*)-isomer *Va*, a ten byl demetylován bromidem boritým na *trans*-resveratrol (Ia).

Wittigovu-Hornerovu reakci pro syntézu resveratrolu aplikoval profesor Cushman se spolupracovníky⁴⁰. Jako výchozí sloučeniny použil benzyloxyderiváty. I v tomto případě vzniká

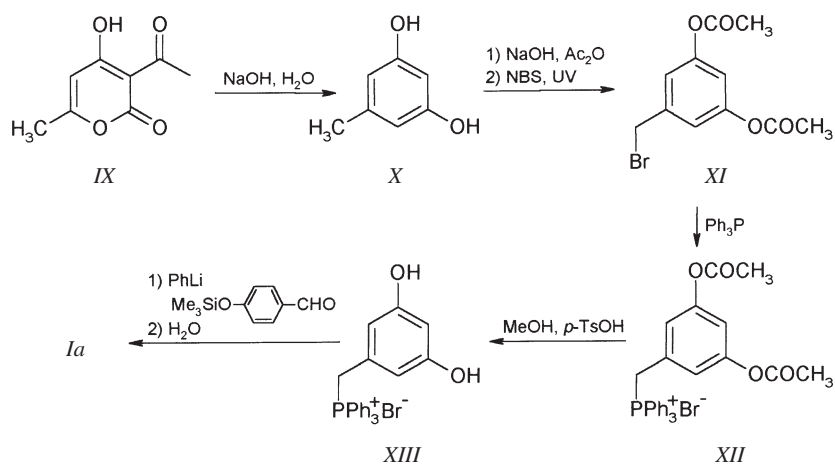


Schéma 3. Syntéza resveratrolu podle Moreno-Mañase a Pleixatse

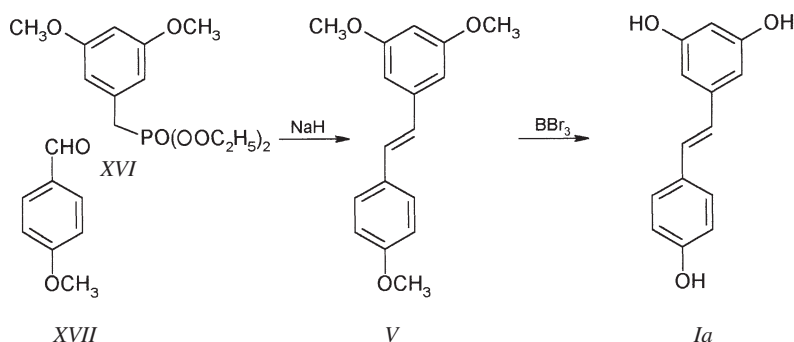


Schéma 4. Syntéza resveratrolu Wittigovou-Hornerovou reakcí

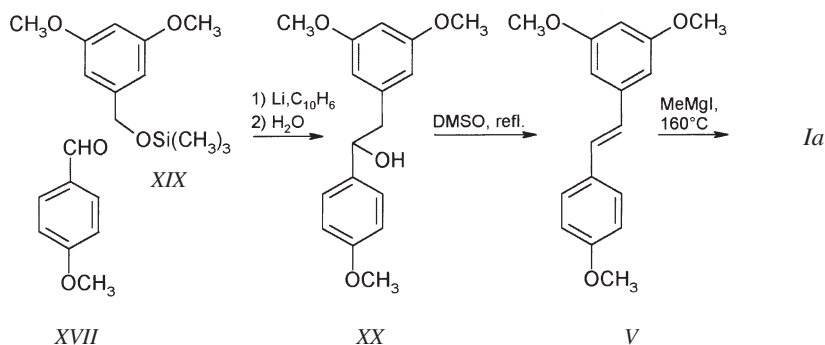


Schéma 5. Syntéza resveratrolu dle Alonsa a spol.

směs (*E*)- a (*Z*)-isomerů, izolován byl pouze (*E*)-isomer (výtěžek 76 %). Benzylskupiny byly odštěpeny působením chloridu hlinitého v přítomnosti dimethylanilinu a *trans*-resveratrol (*Ia*) byl získán ve výtěžku 69 %. Analogicky byla Wittigova-Hornerova metoda užita německými autory⁴¹, čínskými autory⁴² a českými autory⁴³ (schéma 4), kde reakcí diethyl-3,5-dimethoxybenzylfosfonátu (*XVI*) a 4-methoxybenzaldehydu (*XVII*) byl připraven (*E*)-trimethylether *V*, a ten byl demetylován bromidem boritým na *trans*-resveratrol (*Ia*). Analogicky byl tímto způsobem připraven pinosylvin (*III*) (cit.⁴⁴) a piceatannol (*XVIII*) (cit.⁴⁰).

Španělští autoři Alonso a spol.⁴⁵ publikovali originální syntézu resveratrolu (schéma 5), jejímž klíčovým stupněm je reakce (3,5-dimethoxybenzyl)-trimethylsilyletheru (*XIX*) a 4-methoxybenzaldehydu (*XVII*) na hydroxysloučeninu (*XX*), ze které následnou dehydratací v dimethylsulfoxidu za varu vzniká (*E*)-3,4',5-trimethoxystilben (*V*) (vzniká pouze *E*-isomer), a ten demethylací methylmagnesiumjodidem (molární poměr 1:20) při 100–160 °C poskytne *trans*-resveratrol (*Ia*).

Je popsána i syntéza glykosidu resveratrolu⁴⁶ (schéma 6). Piceid, tedy (*E*)-3-(β -D-glucopyranosyloxy)-4',5-dihydroxystilben (*II*) byl připraven následujícím způsobem. Wittigovou

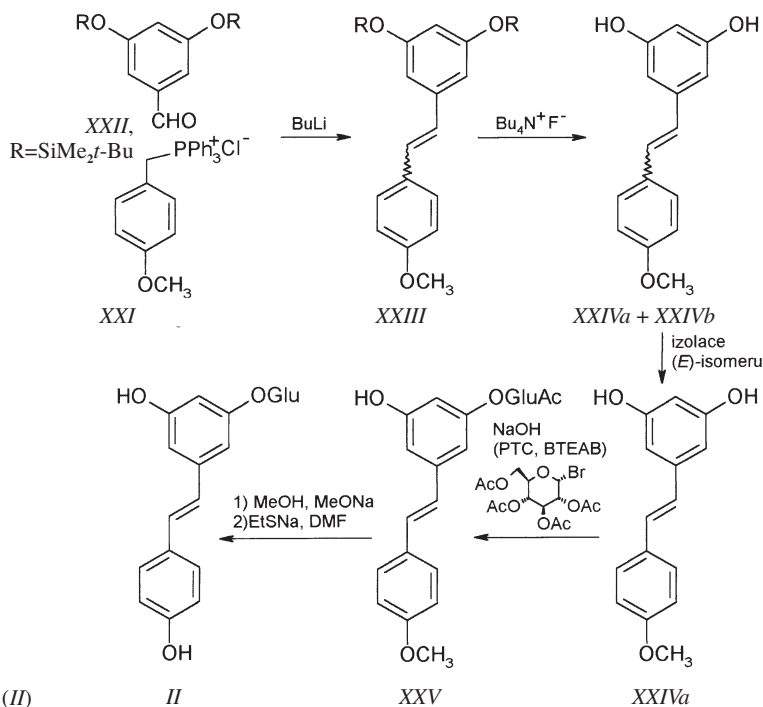


Schéma 6. Syntéza piceidu (II)

reakcí trifenyl-4-methoxybenzylfosfonium-chloridu (XXI) a 3,5-bis-(*t*-butyldimethylsilyloxy)-benzaldehydu (XXII) byl získán XXIII (směs (*Z/E*)-isomeru v poměru 2,3:1). Desilylací XXIII tetrabutylamonium-fluoridem vznikla směs XXIVa a XXIVb, ze které byl izolován (*E*)-3,5-dihydroxy-4'-methoxystilben (XXIVa). Z dihydroxystilbenu XXIVa byla reakcí s 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-glukopyranosyl-bromidem za podmínek fázové katalýzy připravena směs acetylmonglukosidu XXV a acetyldiglukosidu. Acetylmonglukosid XXV byl izolován, deacetylován methoxidem sodným v methanolu na monglukosid, který byl demethylován natrium-ethanthioátem na piceid (II).

Lze říci, že totální syntéza resveratrolu není složitá, spíše je pracná a zdlohouvá a některé výchozí sloučeniny (zvláště 3,5-disubstituované) jsou obtížněji dostupné. To je také důvod, proč cena komerčně nabízeného resveratrolu je na úrovni cca 20 000,- Kč.g⁻¹) (cit.⁴⁷).

8. Praktické využití resveratrolu v současnosti

V USA se v současné době nabízí řada preparátů obsahujících buď čistý resveratrol, nebo směs polyfenolů z vinných hroznů, často v kombinaci s extraktem z jader vinných hroznů. Přípravky jsou deklarovány jako potravinové fortifikační doplňky.

Přípravek LifePath[®] 50 (cit.⁴⁸) obsahuje extrakt z jader hroznů (50 mg), dále koncentrát bioflavonoidů a extrakt z červeného vína, který je uveden jako resveratrol, obsah resveratrolu však není deklarován (cena 180 kapslí je 104 \$). U přípravku jsou uváděny antioxidační, antimutagenní a protizánětlivé účinky. MaxiLife Resveratrol (cit.⁴⁹) je deklarován jako antioxidant s obsahem čistého resveratrolu (60 kapslí za 18 \$). Přípravek ResVerin[™] (cit.⁵⁰) je deklarován jako čistý resveratrol s antioxidačními a chemopreventivními účinky.

Přípravek Resveratrol (cit.⁵¹) je roztok resveratrolu (obsah resveratrolu není udán) v 11 % alkoholu, láhev o obsahu 32 oz (není jasné, zda se jedná o „fluid ounce“ tj. 28,413 ml či „ounce apothecaries“ tj. 31,1035 g), tj. cca 0,9 l, se nabízí za 14,95 \$ a je určena na 1 týden (kvalitní červené víno má stejný obsah alkoholu a obsahuje také resveratrol, pozn. aut.).

Vitamins, po poznání jejich významu pro výživu, byly nejprve podávány v lékové formě jako doplňky k výživě a následně pak byly aplikovány v kosmetice. Stejně tak je tomu s resveratolem. Jak je uvedeno výše, preparáty pro výživu s resveratolem se již nabízejí. Kosmetické přípravky s resveratolem na trhu ještě nejsou, ale přední světová francouzská firma L'ORÉAL již podala patentové přihlášky na použití hydroxystilbenů (zmíněn je resveratrol) v kosmetických přípravcích⁵²⁻⁵⁴.

9. Závěr

Biologické účinky resveratrolu a dalších antioxidantů se v současné době intenzivně studují. Konzumace potravin obsahujících resveratrol (tedy zeleniny) je zcela jistě zdraví prospěšná, jako ostatně byla i předtím, než bylo zjištěno, že obsahuje resveratrol.

Určitým pokrokem nepochybně je, že na základě výsledků řady studií se ukázalo pití vína v rozumném množství spíše zdravé než škodlivé. Tento fakt jistě přivítají konzumenti vína i jeho výrobci.

Lze předpokládat, že během několika let se resveratrol stane běžnou složkou komerčních multivitaminových preparátů a bude tak dlouho propagován jako nezbytný pro lidské zdraví, než se objeví něco nového stejně nezbytného. Rovněž není vyloučeno, že se stane i účinnou složkou nového léčiva.

Projekt je podporován grantem GA ČR 525/99/1338.

LITERATURA

1. Soleas G. J., Diamandis E. P., Goldberg D. M.: *Clin. Biochem.* 30, 91 (1997).
2. Soleas G. J., Diamandis E. P., Goldberg D. M.: *J. Clin. Lab. Anal.* 11, 287 (1997).
3. Kimura Y., Ohminami H., Okuda H., Baba K., Kozawa K., Arichi S.: *J. Med. Plant Res.* 49, 51 (1983).
4. Arichi S., Kimura Y., Okuda H., Baba K., Kozawa M., Arichi S.: *Chem. Pharm. Bull.* 30, 1766 (1982).
5. Frankel E. N., Waterhouse A. L., Teissedre P. L.: *J. Agric. Food Chem.* 43, 890 (1995).
6. Pace-Asciak C. R., Hahn S., Diamandis E. P., Soleas G., Goldberg D. M.: *Clin. Chim. Acta* 235, 207 (1995).
7. Pace-Asciak C. R., Rounova O., Hahn S. E., Diamandis E. P., Goldberg D. M.: *Clin. Chim. Acta* 246, 163 (1996).
8. Uenobe F., Nakamura S., Miyazawa M.: *Mutat. Res.* 373, 197 (1997).
9. Jang M., Cai L., Udeani G. O., Slowing K. V., Thomas C. F., Beecher C. W. W., Fong H. H. S., Farnsworth N. R., Kinghorn A. D., Mehta R. G., Moon R. C., Pezzuto J. M.: *Science* 275, 218 (1997).
10. Langcake P., Pryce R. J.: *Physiol. Plant Pathol.* 9, 77 (1976).
11. Langcake P., Cornford C. A., Pryce R. J.: *Phytochemistry* 18, 1025 (1979).
12. Langcake P., McCarthy W. V.: *Vitis* 18, 244 (1979).
13. Langcake P.: *Physiol. Plant Pathol.* 18, 213 (1981).
14. Pool R. M., Creasy L. L., Frackelton A. S.: *Vitis* 20, 136 (1981).
15. Barlass M., Miller R. M., Douglas T. J.: *Am. J. Enol. Vitic.* 38, 65 (1987).
16. Fritzemeier K.-H., Kindl H.: *Planta* 151, 48 (1981).
17. Creasy L. L., Coffee M.: *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 113, 230 (1988).
18. Hoos G., Blaich R.: *J. Phytopathol.* 129, 102 (1990).
19. Siemann E. H., Creasy L. L.: *Am. J. Enol. Vitic.* 43, 49 (1992).
20. Krpeš C.: *Vinohrad* 1993, 21.
21. Jeandet P., Bessis R., Sbaghi M., Meunier P., Trollat P.: *Am. J. Enol. Vitic.* 46, 1 (1995).
22. Jeandet P., Bessis R., Sbaghi M., Meunier P.: *J. Phytopathol.* 143, 135 (1995).
23. Takaoka M.: *J. Faculty Sci., Hokkaido Imp. Univ. Ser. III*, 3, 1 (1940); citováno dle: Späth E., Kromp K.: *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 74, 189 (1941) a Siemann E. H., Creasy L. L.: *Am. J. Enol. Vitic.* 43, 49 (1992).
24. Hanzlíková I.: *Diplomová práce*. Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT, Praha 1999.
25. Blahová R.: *Diplomová práce*. Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT, Praha 2000.
26. Huang K. S., Lin M., Wang Y. H.: *Chin. Chem. Lett.* 10, 817 (1999); *Chem. Abstr.* 132, 78410 (2000).
27. Huang K. S., Lin M., Yu L. N., Kong M.: *Chin. Chem. Lett.* 10, 775 (1999); *Chem. Abstr.* 132, 76063 (2000).
28. Tanaka T., Ohyama M., Morimoto K., Asai F., Iinuma M.: *Phytochemistry* 48, 1241 (1998).
29. Adesanya S. A., Nia R., Martin M.-T., Boukamcha N., Montagnac A., Paies M.: *J. Nat. Prod.* 62, 1694 (1995).
30. Hata K., Kozawa M., Baba K.: *Yakugaku Zasshi.* 95, 211 (1975).
31. Kimura Y., Ohminami H., Okuda H., Baba K., Kozawa K., Arichi S.: *J. Med. Plant Res.* 49, 51 (1983).
32. Nonomura S., Kanagawa H., Makimoto A.: *Yakugaku Zasshi* 83, 983 (1963), citováno dle: Arichi S., Kimura Y., Okuda H., Baba K., Kozawa M., Arichi S.: *Chem. Pharm. Bull.* 30, 1766 (1982).
33. Späth E., Schläger J.: *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 73, 881 (1940).
34. Späth E., Kromp K.: *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 74, 189 (1941).
35. Späth E., Kromp K.: *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 74, 867 (1941).
36. Späth E., Liebherr F.: *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 74, 869 (1941).
37. Moreno-Mañas M., Pleixats R.: *An. Quim. Ser. C* 81, 157 (1985).
38. Reimann E.: *Liebigs Ann. Chem.* 750, 109 (1971).
39. Jeandet P., Bessis R., Gautheron B.: *Am. J. Enol. Vitic.* 42, 41 (1991).
40. Ali M. A., Kondo K., Tsuda Y.: *Chem. Pharm. Bull.* 40, 1130 (1992).
41. Thakkar K., Geahlen R. L., Cushman M.: *J. Med. Chem.* 36, 2950 (1993).
42. Meier H., Dullweber U.: *J. Org. Chem.* 62, 4821 (1997).
43. Feng Y. A., Wang L., Zhao Z. Z.: *Chin. Chem. Lett.* 9, 1003 (1998); *Chem. Abstr.* 132, 3275 (2000).
44. Šmidrkal J., Filip V., Melzoch K., Hanzlíková I., Buckiová D., Drašar P.: *Chem. Listy* 93, 727 (1999).
45. Bachelor F. W., Loman A. A., Snowdon L. R.: *Can. J. Chem.* 48, 1554 (1970).
46. Alonso E., Ramón D. J., Yus M.: *J. Org. Chem.* 62, 417 (1997).
47. Orsini F., Pelizzoni F., Bellini B., Miglierini G.: *Carbohydr. Res.* 301, 95 (1997).
48. Sigma Company: *firemní bulletin sv. 3, č. 1, Spring 1997.*
49. The Enrich Corporation, http://www.enrich.com/us/prod_cat_eng/prod_13620.htm
50. Vitamin Plus, <http://www.vitaminplus.com/cgi-vin/vplus/vplus.exe>
51. Resverin; <http://www.resverin.com/specs.html>
52. Lighthouse Health Products Inc., USA; <http://www.lighthousehealth.com/order.html>
53. Breton L., Pineau N. (Oreal S. A.): FR 2777183A1; *Chem. Abstr.* 132, 26656 (2000).
54. Breton L., Pineau N. (Oreal S. A.): FR 2777184A1; *Chem. Abstr.* 132, 26657 (2000).
55. Breton L., Liviero C. (Oreal S. A.): FR 2777186A1; *Chem. Abstr.* 132, 26659 (2000).

J. Šmidrkal^a, V. Filip^a, K. Melzoch^b, I. Hanzlíková^b, D. Buckiová^c, and B. Křísá^d (^aDepartment of Dairy and Fat Technology, ^bDepartment of Fermentation Chemistry and Bioengineering, Institute of Chemical Technology Prague, ^cInstitute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, ^dDepartment of Botany, Faculty of Science, Charles University, Prague): **Resveratrol**

Resveratrol is the parent compound of a family of compounds exhibiting interesting biological activities. Their discovery, total synthesis, content in wine and some vegetables, and biological properties are discussed in this review.