



Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Juraj Toplak

Student 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

Sinteza i primjena retinola

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za organsku kemiju

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Vesna Petrović Peroković

Zagreb, 2021. godina.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

16. srpnja 2021.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

24. rujna 2021.

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Vesna Petrović Peroković

Potpis:

Sadržaj

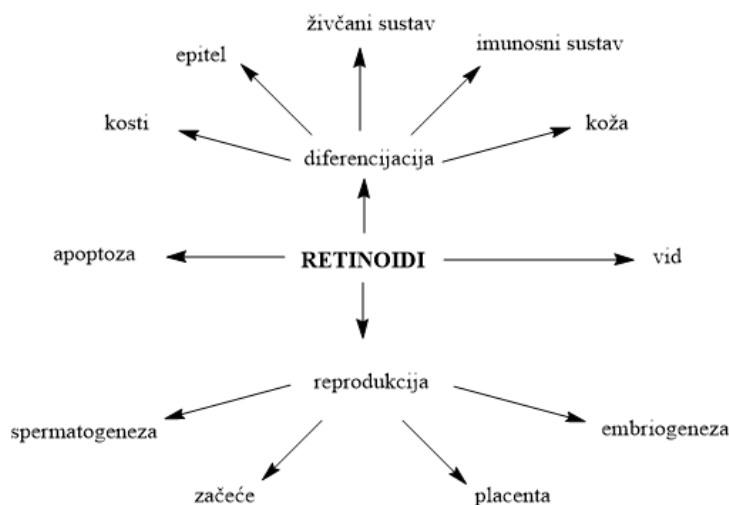
§ SAŽETAK.....	VII
§ 1. UVOD.....	1
§ 2. SINTEZA I PRIMJENA RETINOLA	3
2.1. Strukturne osobitosti retinola i njegovih derivata	3
2.2. Sinteza retinola.....	5
2.2.1. Predkomercijalne sinteze	5
2.2.2. Glavni industrijski putevi sinteze retinola.....	7
2.2.3. Citral i β -jonon kao temeljni supstrati za pripravu retinola.....	11
2.2.4. Novi sintetski putevi priprave retinola.....	14
2.3. Metabolizam retinola.....	16
2.3.1. Biosinteza retinola	16
2.3.2. Apsorpcija i transport	17
2.3.3. Uloge retinoida	19
2.4. Primjena retinoida	22
2.5. Zaključak.....	27
2.6. Popis kratica	28
§ 3. LITERATURNI IZVORI.....	XXIX

§ Sažetak

Mnogo vremena prije otkrića retinola bilo je poznato kako nedostatak određenih nutrijenata rezultira smanjenom sposobnošću noćnog vida. Stari Egipćani su otkrili kako se taj problem može riješiti konzumiranjem svježe jetre životinja. Nakon što se ustanovilo da vitamin A ima ključnu ulogu u procesu vida, znanstvenici različitih razdoblja postepeno su otkrili strukturu retinola i njegovih derivata. Retinol je diterpenoid građen od dvadeset ugljikovih atoma. Ima važnu ulogu u ljudskom organizmu prilikom diferencijacije stanica, a poznata je njegova uloga u procesu reprodukcije te funkcioniranju imunološkog sustava. Blagotvorno djeluje na kožu te pomaže u obnavljanju stanica kože zbog čega se primarno počeo koristiti u kozmetičkoj industriji gdje i danas ima važnu primjenu. Prvotne sinteze retinola kreću od citrala i β -jonona, a pravi se procvat dogodio krajem 20. stoljeća kada su otkrivene nove sintetske reakcije unakrsnog spajanja. Osim osvrta na različite načine priprave retinola, u ovome radu želi se ukazati na sve veću upotrebu retinoida u liječenju i prevenciji tumora te mnogim drugim područjima medicine. Napredak na području medicine usko je povezan s novim saznanjima o metaboličkim putevima retinoida. Ovaj rad također donosi novija saznanja o apsorpciji, transportu i ciklusu vida te kratki sažetak ostalih metaboličkih puteva retinoida.

§ 1. UVOD

Retinol i vitamin A najčešće se u strukturnom smislu smatraju sinonimima iako pod pojmom vitamin A postoji više spojeva strukturno srodnih retinolu. Prirodni izvori vitamina A mogu biti životinjskog porijekla, pri čemu se vitamin A unosi u organizam u obliku estera retinil-palmitata, te biljnog porijekla u obliku beta-karotena i likopena koji predstavljaju provitamin A.^{1,2} Retinol se u tijelu selektivno oksidira pomoću enzima alkohol-dehidrogenaze do retinala koji je aktivirani oblik retinola koji sudjeluje u procesu vida.³ U organizmu postoji ravnoteža između ova dva spoja, a daljnjom oksidacijom aldehida nastaje retinoična kiselina (RA). Navedena tri spoja spadaju u skupinu retinoida koji imaju važnu ulogu u rastu kostiju, reprodukciji, imunološkom odgovoru te sudjeluju u rastu i diferencijaciji gotovo svih stanica u ljudskom organizmu (Slika 1.).^{4,5}



Slika 1. Uloge retinoida u ljudskom organizmu

Karakterizacija vitamina A trajala je oko 130 godina i uključivala brojne eksperimente. U eksperimentu sa psima, francuski fiziolog François Magendie prvi je indirektno otkrio njegovu važnost u funkcioniranju rožnice oka. Nakon daljnjih istraživanja na žumanjku i maslinovom ulju, tridesetih godina 19. stoljeća opisana je njegova struktura i prvi puta je izoliran u obliku kristala. Metode sinteze vitamina A postavile su dvije skupine znanstvenika

1946. i 1947. godine.⁶ Od tada se detaljno istražila njegova uloga te se u novije vrijeme počeo mnogo koristiti u kozmetičkoj industriji. Kvantitativno se dokazuje Carr-Prince-ovim reagensom, antimonovim(III) kloridom otopljenim u kloroformu.⁷

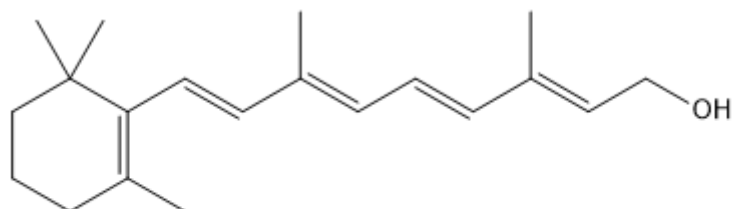
Dodatak vitamina A mnogim kremama za njegu i ljepotu kože te kremama za sunčanje predmet je brojnih rasprava među znanstvenom populacijom. Neki tvrde kako ima antioksidativna svojstva i da štiti od ultraljubičastog zračenja dok su drugi mišljenja da njegova izloženost suncu može pridonijeti ubrzanom rastu tumora. U medicini se retinol najčešće koristi pri liječenju nedostatka vitamina A u organizmu koji uzrokuje slabljenje vida, osobito pri smanjenom svjetlu što je poznato kao „noćno sljepilo“.¹ Nova otkrića na području biokemije i razvoj moderne tehnologije omogućile su primjenu retinoida u suzbijanju raka kože i dojke te liječenju pretilosti, dijabetesa i metaboličkog sindroma.^{8,9}

Cilj ovog rada jest pokazati načine na koje se retinol može sintetizirati te kroz biološke uloge i procese u kojima sudjeluje opisati njegovu primjenu u svakodnevnom životu.

§ 2. SINTEZA I PRIMJENA RETINOLA

2.1. Strukturne osobitosti retinola i njegovih derivata

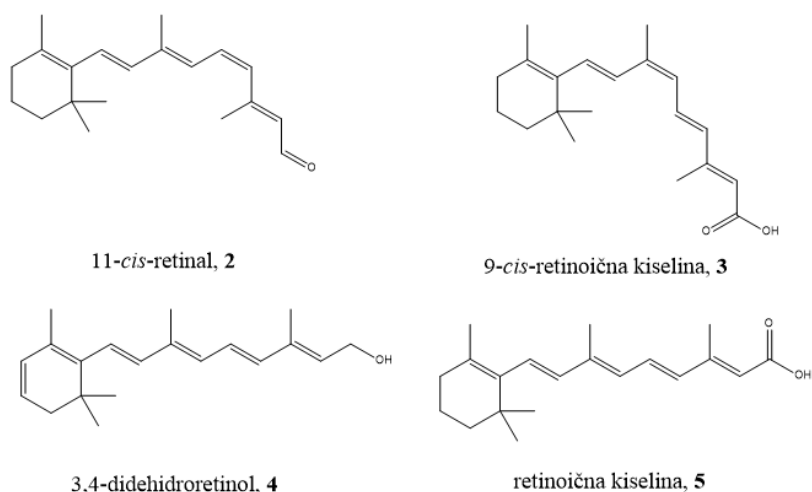
Retinol (Slika 2.) polienski je alkohol u čijoj je strukturi dvadeset ugljikovih atoma i pet konjugiranih dvostrukih veza.¹⁰ Pripada skupini diterpenoida građenih od četiri izoprenske jedinice. Sadrži β -jononski prsten i bočni lanac sa četiri dvostruke veze stoga svaka sinteza retinola mora biti stereoselektivna kako bi se dobio odgovarajući stereoizomer. Sveukupno, retinol ima 16 izomera. Na kraju lanca nalazi se hidroksilna skupina koja se može oksidirati.¹¹



retinol, 1

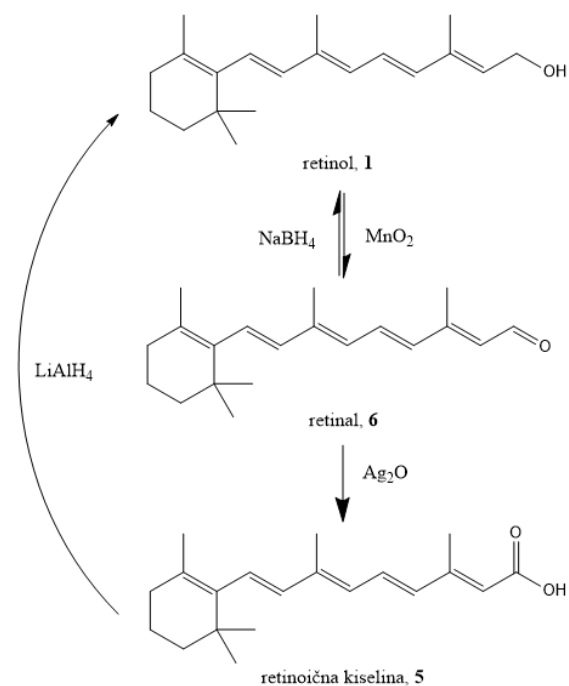
Slika 2. Strukturna formula molekule retinola

Ukoliko nije naglašeno da je neka od dvostrukih veza u *cis*- položaju, podrazumijeva se da su sve dvostruke veze *trans*- konfiguracije te se takav stereoizomer još naziva i *all-trans-retinol* ili *all-E-retinol*. Dvostruke veze na pozicijama 7- i 11- mogu lako prelaziti iz *cis*- u *trans*- konfiguraciju. 13-*cis*-retinol može se izomerizirati upotrebom joda dok je 9-*cis*-retinol stabilna molekula te se ne može lako prevesti u *trans*- izomer.¹² Esteri retinola, retinoična kiselina i retinal prisutni su u ljudskom organizmu kao produkti razgradnje β -karotena u enzimski kataliziranim reakcijama. Na Slika 3 prikazani su najznačajniji derivati retinola prisutni u organizmu.



Slika 3. Strukturne formule molekula 11-*cis*-retinala, 9-*cis*-retinoične kiseline, 3,4-didehidroretinola i retinoične kiseline

Mnoge *in vivo* transformacije retinola, o kojima će kasnije biti više riječi, mogu se postići i u *in vitro* uvjetima. Retinol **1** može se oksidirati do retinala **6** koristeći manganov dioksid (MnO_2) dok je obrnuta reakcija katalizirana natrijevim tetrahidroboratom (NaBH_4). Daljnja oksidacija retinala pomoću srebrova(I) oksida (Ag_2O) daje retinoičnu kiselinu **5** (engl. *retinoic acid*, RA) koja se uz litijev tetrahidroaluminat (LiAlH_4) može reducirati direktno do retinola (Slika 4.).¹²



Slika 4. Shematski prikaz oksidacijsko-redukcijskih promjena iz retinola u retinoičnu kiselinu¹²

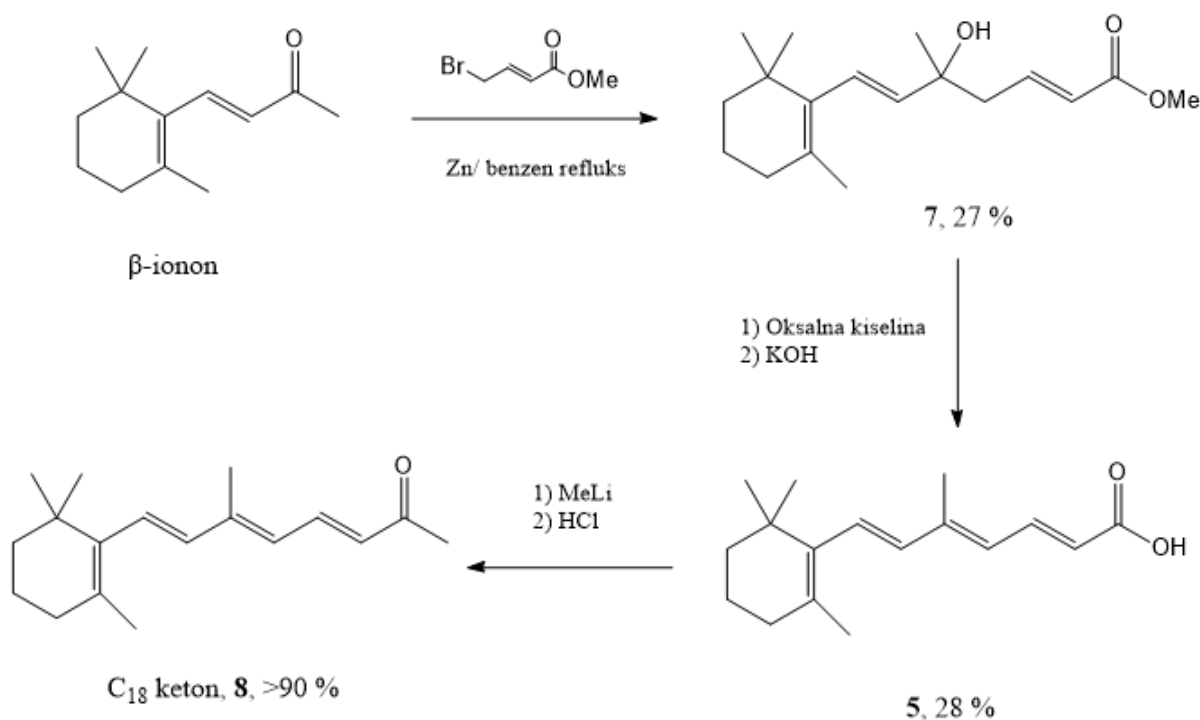
Zanimljiva struktura molekule retinola, koju je prvi otkrio dobitnik Nobelove nagrade Paul Karrer 1931. godine¹³, oduvijek je predstavljala izazovnu ciljnu molekulu sintetskim organskim kemičarima. U nastavku će upravo biti riječ o nekim sintetskim postupcima pripreme retinola.

2.2. Sinteza retinola

Prije nego se vitamin A počeo industrijski proizvoditi, glavna retinola dobivala se destilacijom iz ulja pomoću centrifugalnih pumpa s rotirajućim kružim grijaćim elementom za ravnomjernu raspodjelu ulja. Za dobivanje retinola najviše su korištena ulja iz jetre kitova i riba.¹² Međutim, danas se glavna retinola sintetizira u laboratorijima velikih kompanija uhodanim sintetskim postupcima.

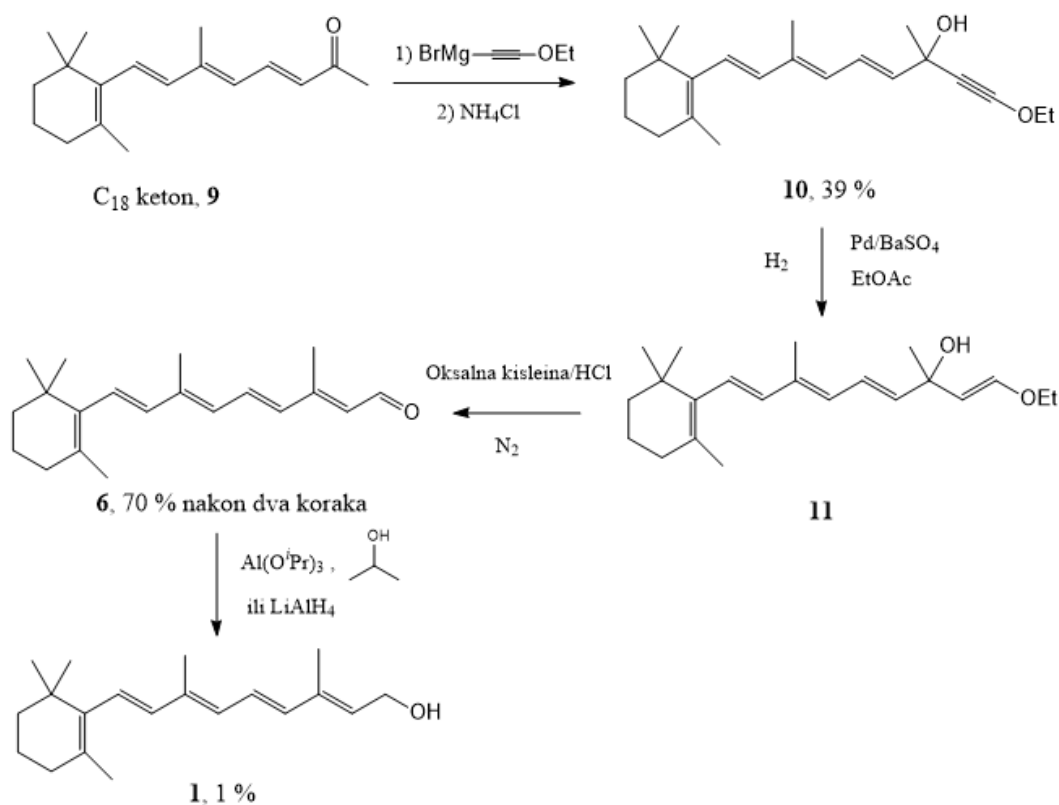
2.2.1. Predkomercijalne sinteze

Zbog velikog broja stereoizomera i biološke aktivnosti retinoida, potrebno je stereokemijski kontrolirati sintezu željenog izomera kako bi se dobio dobar prinos produkta. Prvu sintezu vitamina A objavili su Kuhn i Morris 1937. godine čiji je sintetski put rezultirao produktom s 7,5 % biološke aktivnosti zbog onečišćenja β -C₁₅-aldehidom.¹¹ Unatoč neuspjelom pokušaju, ova studija motivirala je Arensa i van Droop koji su ovaj sintetski put povezali s prijašnjom sintezom iz 1936. Njihov rad usmjeren je na sintezu različitih spojeva s aktivnošću vitamina A uz naglasak na kiseline. Primarno su istraživali linearnu sintezu u više koraka te su kao početnu molekulu odabrali β -jonon.¹⁴ Za produljenje bočnog lanca korištena je Reformatsky-eva reakcija u kojoj sudjeluje cink te najčešće α -bromirani ester pri čemu iz ketona nastaje β -hidroksi-ester. U ovom slučaju, reakcijom β -jonona i γ -bromiranog estera nastaje δ -hidroksi ester **8**. Nakon adicije i nastajanja hidroksi-estera slijedi dehidratiranje pomoću anhidrida oksalne kiseline te saponifikacija pomoću kalijevo hidrokksida. Završni korak u kojem iz kiseline **5** nastaje keton C₁₈, spoj **9**, jest metiliranje u suvišku metil-litija (Slika 5.).¹¹



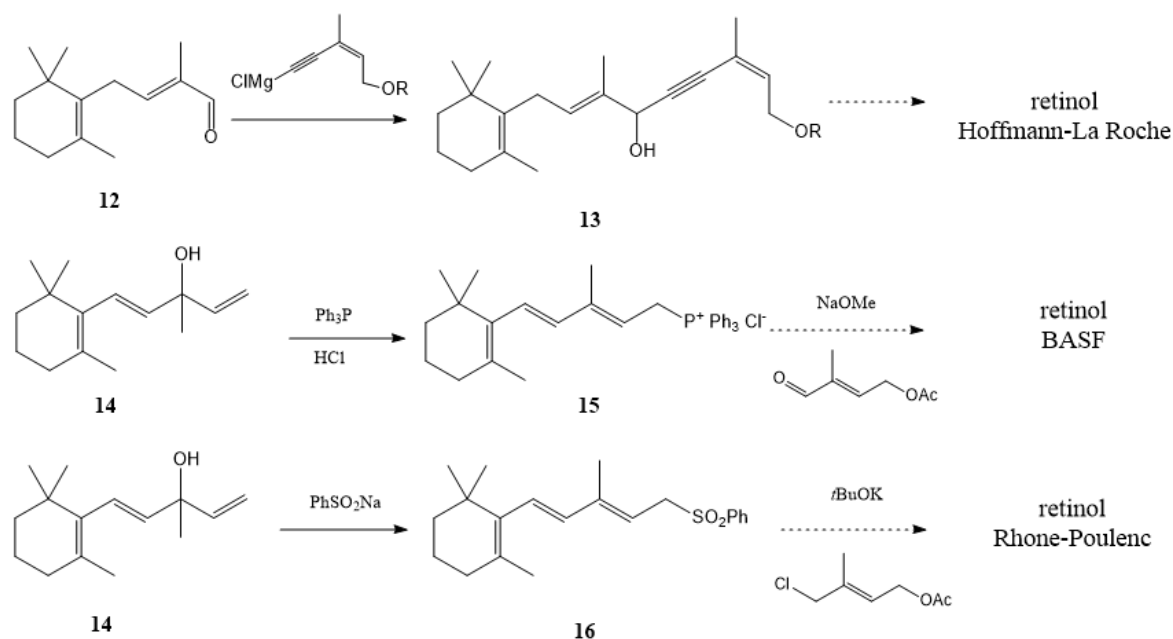
Slika 5. Shematski prikaz sinteze C_{18} ketonskog prekursora retinola prema Arensu i van Dropu¹¹

Daljnja sinteza retinola kreće iz prethodno sintetiziranog C_{18} ketona koji u Grignardovoj reakciji s etoksiacilenskim derivatom daje odgovarajući alkohol **10**. Reakciju su patentirali Arens i van Drop po kojima danas nosi ime. Slijedi kontrolirana redukcija pomoću Lindlarovog katalizatora u struji vodika. Retinal, spoj **6**, dobiven je pomoću oksalne i klorovodične kiseline, a njegovom redukcijom nastaje retinol **1** (Slika 6.). Novija istraživanja Arensa i van Dropa iz 1949. godine rezultirala su prinosom od 50 % ukoliko se u zadnjem koraku sinteze umjesto aluminijske izopropoksida i izopropilnog alkohola koristi litijev tetrahidroaluminat (LiAlH_4).¹¹

Slika 6. Shematski prikaz sinteze retinola prema Arensu i van Dropu¹¹

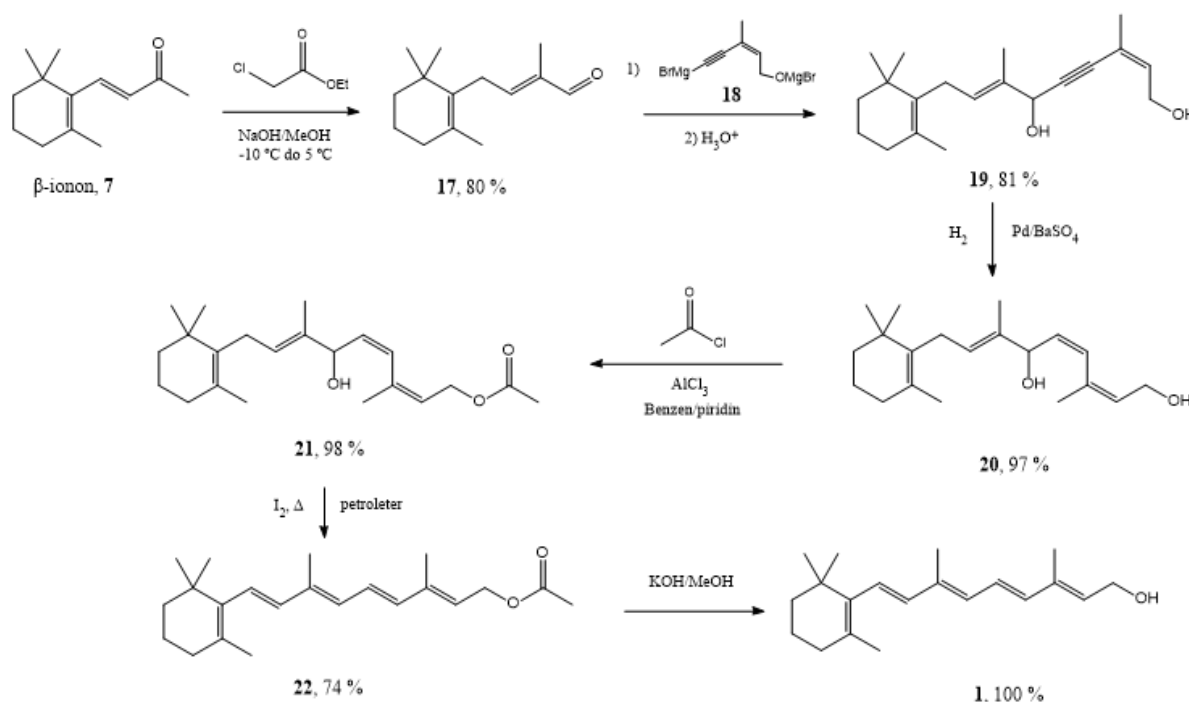
2.2.2. Glavni industrijski putevi sinteze retinola

Tri temeljna industrijska puta sinteze retinola nastala u 20. stoljeću i danas su glavni postupci njegove proizvodnje te donose profit kompanijama Hoffmann-la Roche, BASF i Sanofi (bivši Rhône-Poulenc) (Slika 7.).¹³ Aktualni nedostatak nafte na svjetskom tržištu povećao je cijenu vitamina dok je COVID-19 pandemija uzorkovala veću potražnju svih vrsta vitamina i suplemenata što je rezultiralo većim godišnjim prihodima multinacionalnih kemijskih i farmaceutskih kompanija. Vrijednost globalnog tržišta vitamina i mineralnih dodataka prehrani u 2019. godini iznosila je 51,7 milijardi \$ te se očekuje da će do 2023. godine doseći vrijednost od 74,61 milijardi \$.¹⁵

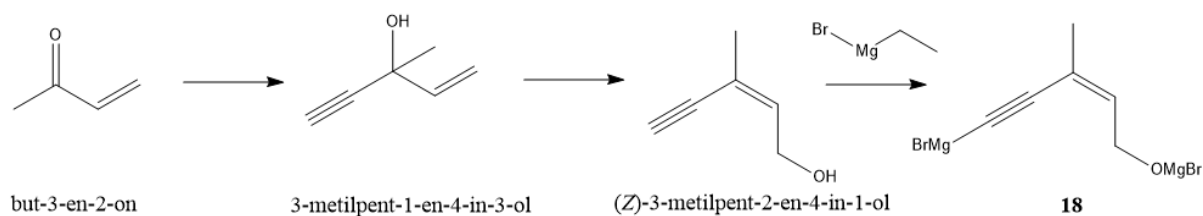
Slika 7. Shematski prikaz triju glavnih sintetskih puteva pripreve retinola¹³

Uporaba etoksiacetilena zbog njegove dugotrajne pripreme nije se pokazala učinkovitim rješenjem za komercijalnu sintezu retinola stoga je Otto Isler napravio modifikaciju Arens-van Drop-ovog puta (Slika 8.). Obje sinteze kreću od β -jonona **7**, no Isler je u prvom koraku Darzensovom reakcijom kondenzirao etil-2-kloracetat s β -jononom u bazičnim uvjetima. Međuprodukt reakcije je α,β -epoksi-ester koji se hidrolizira u suvišku natrijevog hidroksida te zatim podliježe brzom dekarboksilaciji uz tautomerizaciju pri čemu nastaje 80 % željenog C₁₄-aldehida **17**. Zajednička istraživanja Islera i Lindlara pokazala su da je međuprodukt osjetljiv na toplinu i da se lako hidrolizira stoga je potrebno izbjegavati zagrijavanje reakcijske smjese.^{10,11} Aldehydni međuprodukt se nadalje kondenzira s Grignardovim reagensom **18** te dodatkom kiseline nastaje diol **19**. Prekursor za pripravu Grignardovog reagensa je metil-vinil-keton (Slika 9.). Optimizacijom reakcije nastanka Grignardovog reagensa i diola **19** prinos se povećao na 85 %. Početkom 21. stoljeća skupina znanstvenika DSM-a (engl. *Dutch State Mines*) unaprijedila je reakciju dobivanja Grignardovog reagensa koristeći heterogeni katalizator što je rezultiralo prinosom diola **19** od 90 %. Suradnja Lindlara i Hoffmann-La Roche-a rezultirala je otkrićem Lindlarovog katalizatora koji omogućuje selektivno hidrogeniranje alkina u alkene dajući tako spoj **20** u 97 %-tnom prinosu. Acetil-klorid koristi se u esterifikaciji diola **20** pri čemu se u navedenim uvjetima selektivno acetilira primarna alilna hidroksilna skupina. Koristeći malu količinu joda otopljenog u petroleteru uz zagrijavanje,

dvostruke C=C veze spoja **21** se preurede i dolazi do dehidratiranja pri čemu nastaje spoj **22** s pet konjugiranih dvostrukih veza. Reakcija dehidratiranja spoja **21** poboljšana je korištenjem koncentriranog bromovodika otopljenog u diklormetanu pri niskim temperaturama što je povećalo prinos retinol-acetata sa 74 % na 90 %. Dobiveni ester, spoj **22**, saponifikacijom se prevede u retinol (**1**) (Slika 8.). Islerova modifikacija zaobišla je upotrebu teško dostupnog etoksiacetilenskog reaktanta i tako jednostavnijom sintezom omogućila komercijalnu proizvodnju retinola koju primjenjuje tvrtka Hoffman-La Roche.¹¹



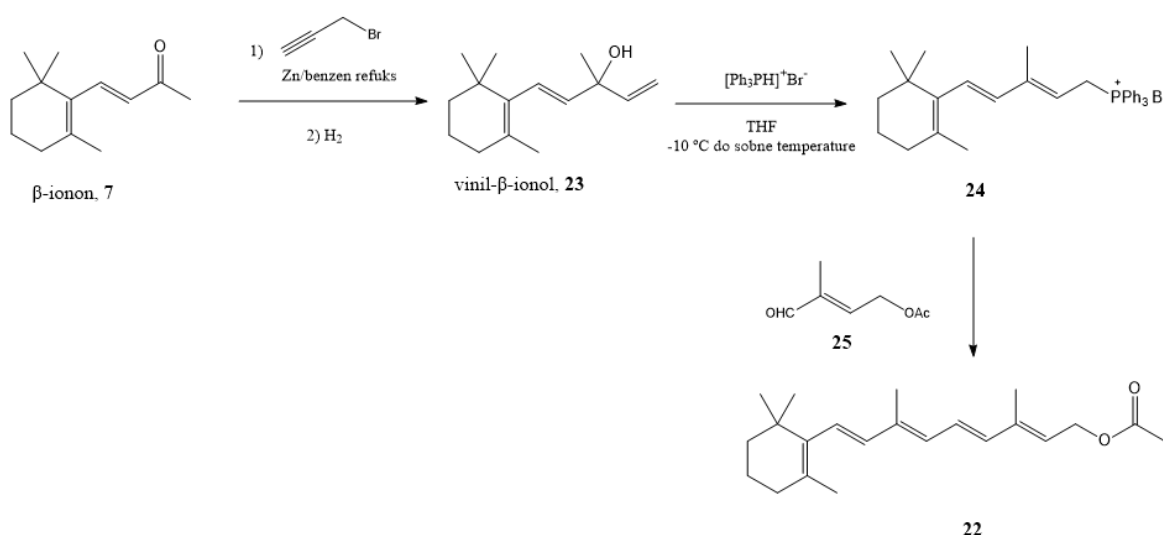
Slika 8. Shematski prikaz sinteze retinola prema Isleru¹¹



Slika 9. Shematski prikaz priprave Grignardovog reagensa¹¹

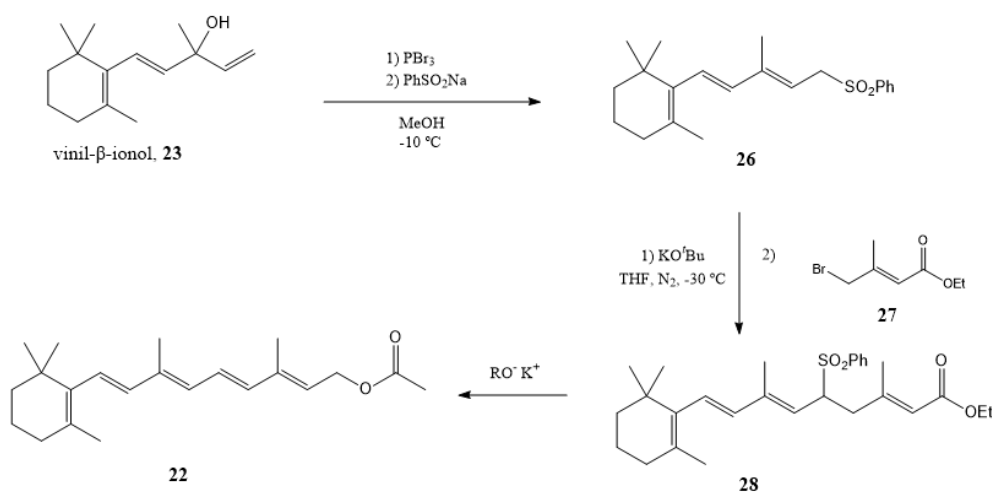
Nekoliko godina nakon što je Hoffmann-La Roche patentirao svoj sintetski put, BASF je istraživao nove putove sinteze retinola. Tadašnja najnovija Wittigova otkrića i njegova istraživanja u suradnji s Pommerom bila su revolucionarna u polienskoj kemiji. Tako je BASF

1957. godine patentirao sintezu koja kreće od vinil- β -ionola **23** dobivenog Reformatsky reakcijom β -jonona i propargil-bromida nakon koje slijedi tada novootkrivena Wittigova reakcija. Ona je omogućila direktnu sintezu retinol-acetata pomoću fosfonijevog ilida vinil- β -ionola **24** i C₅-aldehida β -formilkrotil-acetata **25** (Slika 10.).¹¹



Slika 10. Shematski prikaz sinteze retinol-acetata prema BASF-u¹¹

Dvadesetak godina kasnije, Marc Julia u suradnji s Rhone-Poulenc-om razvio je novi sintetski put pripreme retinola pomoću Julia reakcije koja koristi sulfone za stvaranje ugljik-ugljik dvostrukih veza (Slika 11.).¹¹

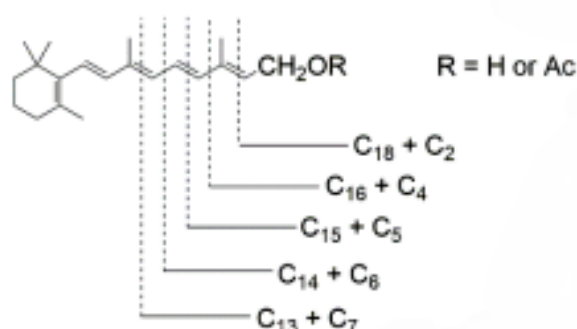


Slika 11. Shematski prikaz sinteze retinol-acetata prema Rhone-Poulenc-u¹¹

Sinteza kreće od vinil- β -ionola **23** koji u reakciji s fenilsulfonatnim anionom daje sulfon **26**. Nakon deprotoniranja sulfona **26** u prisutnosti baze slijedi kondenzacija s etil-4-brom-3-metilbut-2-enoatom **27** te nastaje C_{20} sulfon **28** koji u prisutnosti baze podliježe eliminaciji. Kalijevi alkoksidi pokazali su se najpovoljniji za eliminaciju dajući retinol-acetat, spoj **22**, u prinosu od 86 %. Također, na ovaj način mogu se sintetizirati i neki od derivata retinoične kiseline.¹¹

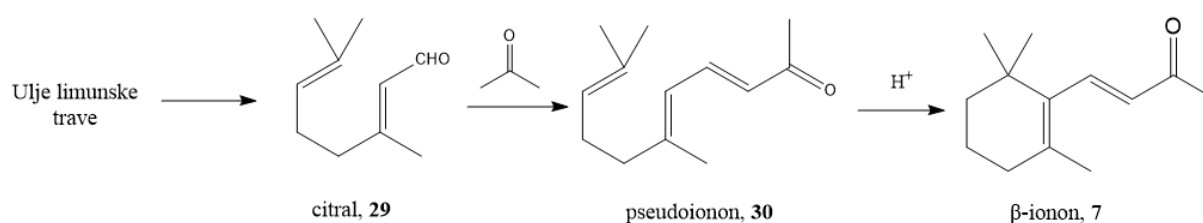
2.2.3. Citral i β -jonon kao temeljni supstrati za pripremu retinola

Svi sintetski putevi pripreme retinola razvijeni sredinom 20. stoljeća kreću od β -jonona te se mogu podijeliti prema zadnjem kondenzacijskom koraku u izgradnji ugljikovog skeleta od 20 ugljikovih atoma (Slika 12.).¹²



Slika 12. Shematski prikaz mogućnosti stvaranja ugljik-ugljik veze tijekom zadnjeg koraka kondenzacije¹¹

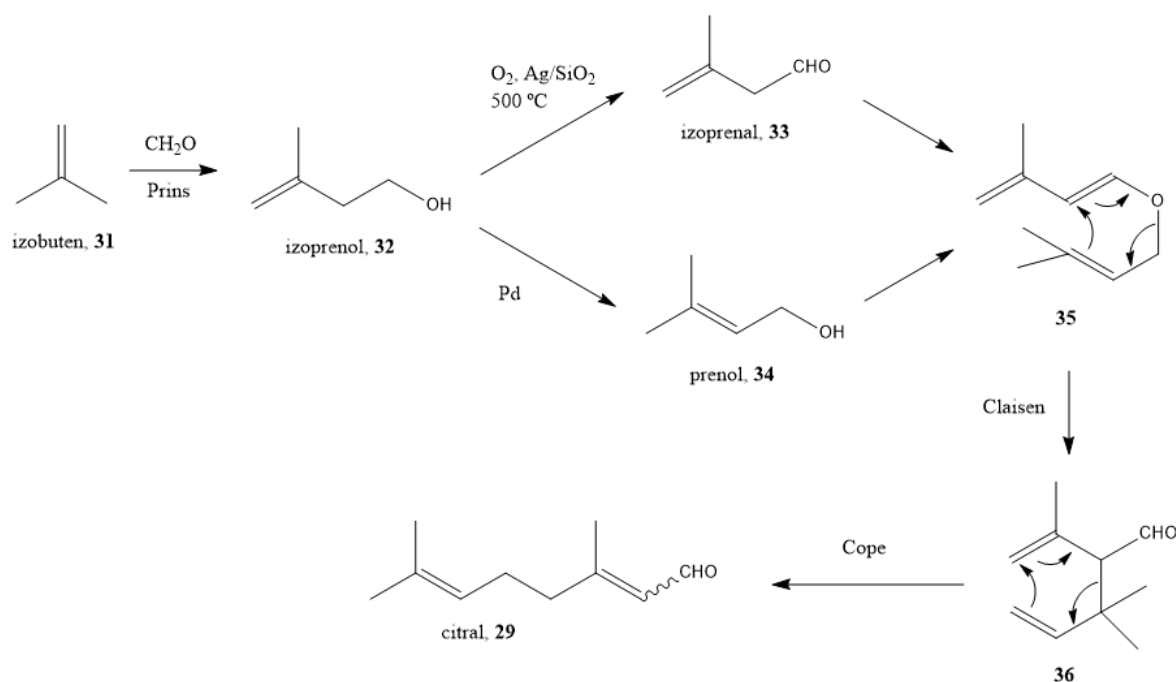
Još u 19. stoljeću, β -jonon koristio se u pripravi parfema te se dobivao iz citrala. Citral je u visokom postotku prisutan u ulju limunske trave *Cymbapogon flexnosus* (70-80 %) koje se iz biljke izolira postupkom destilacije vodenom parom. Kondenzacijom citrala **29** s acetonom nastaje pseudojonon **30** koji se u jako kiselim uvjetima ciklizira u jonon (Slika 13.).¹² Pseudojonon se može zaciklizirati u α - ili β -jonon, što ovisi o korištenoj koncentriranoj kiselini. Pokazano je kako najbolji prinos β -jonona daje koncentrirana sumporna kiselina.¹⁶



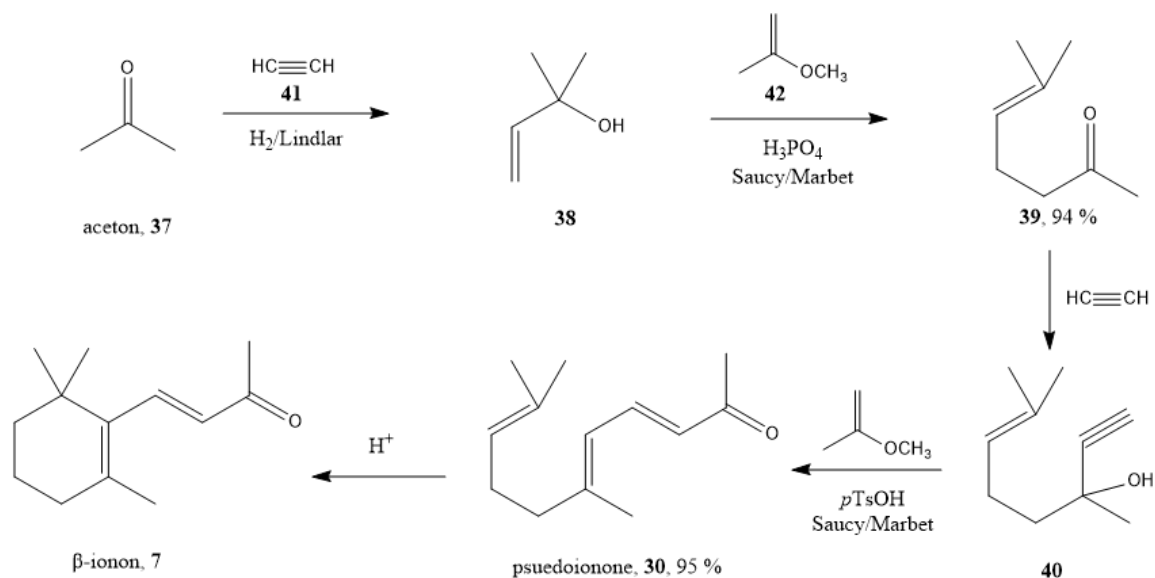
Slika 13. Shematski prikaz sinteze β -jonona iz citrala dobivenog ekstrakcijom ulja limunske trave¹¹

Ulje limunske trave prestalo je biti ekonomičan izvor citrala i β -jonona stoga su mnoge kompanije pronašle nove izvore ovih dvaju supstrata. Ključne promjene donijeli su BASF totalnom sintezom citrala iz izobutena¹¹ (Slika 14.) i Hoffmann-La Roche totalnom sintezom β -jonona iz acetona (Slika 15.).¹²

U prvom koraku postupka tvrtke BASF (Slika 14.) Prins-ovom reakcijom iz izobutena **31** i formaldehida nastaje izoprenol **32**. Reakcijski put grana se u dva smjera: oksidacijom pri povišenoj temperaturi i izomerizacijom nastaje izoprenal **33**, a korištenjem paladijevog katalizatora nastaje prenal **34**. Kondenzacijom prenola **34** i izoprenala **33** dobiva se međuprodukt koji Claisen-ovom i Cope-ovom pregradnjom daje citral **29**.¹¹

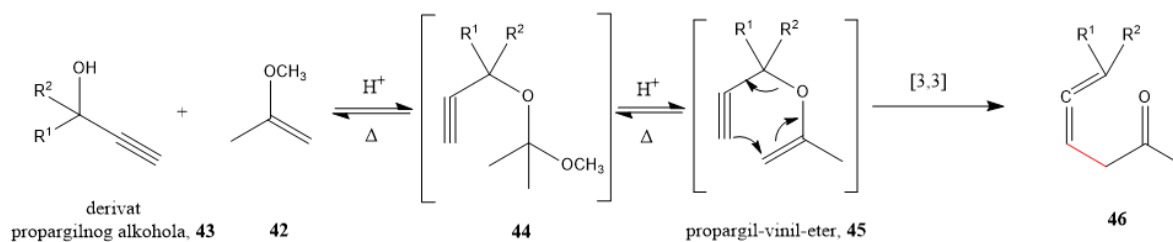


Slika 14. Shematski prikaz sinteze citrala iz izobutena prema BASF-u¹¹



Slika 15. Shematski prikaz sinteze β -jonona iz acetona prema Hoffmann-La Roche-u^{11,12}

Totalna sinteza β -jonona koju je razvila tvrtka Hoffmann-La Roche kreće od acetona **37**. Aceton se kondenzira s etinom **41**. Produljenje ugljikovog kostura etinom praćeno je selektivnim hidrogeniranjem trostruke ugljik-ugljik veze u dvostruku pomoću Lindlarovog katalizatora. Zatim se nastali produkt **38** kondenzira s izopropenilnim eterom **42**, a reakcija za čije otkriće su zaslužni Saucy i Marbet odvija se mehanizmom sigmatropne pregradnje.¹¹ Sigmatropno pregrađivanje je usklađena reakcija u kojoj se atom ili skupina atoma premješta s jednog atoma na drugi duž konjugiranog sustava jedne molekule. Nakon kondenzacije **42** i **43** pri kiselim uvjetima i izlaska metoksi-skupine nastaje propargil-vinil-eter **45**. On podliježe kataliziranoj [3,3]-sigmatropnoj pregradnji i daje odgovarajući ketoalen **46**. Ova reakcija još je poznata i pod nazivom *propargil-Claisenova pregradnja*. Mehanizam navedene pregradnje prikazan je na Slika 16.^{17,18}

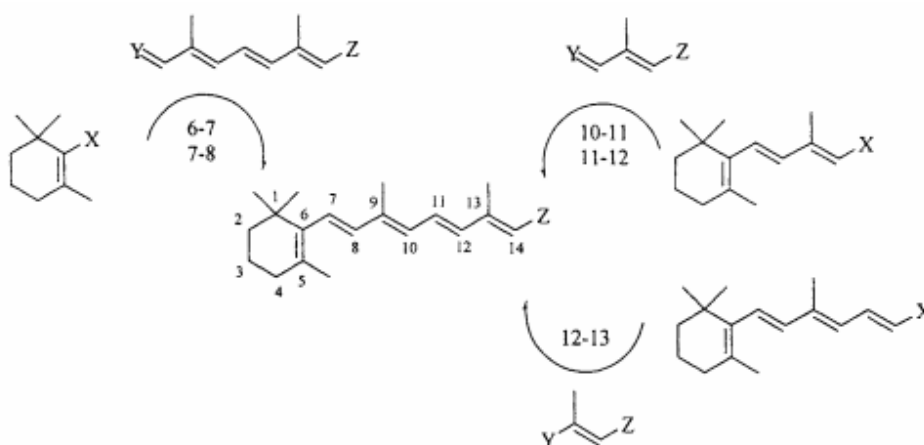


Slika 16. Mehanizam [3,3]-sigmatropne pregradnje^{17,18}

Međuprodukt **39** ponovno se kondenzira s etinom **41** i zatim s još jednim ekvivalentom izopropenilnog etera (Slika 15.). Dobivena je racemična smjesa pseudojonona **30** uz 95 % prinosa koja se sastoji od 60 % *cis*- i 39 % *trans*- izomera. Zakiseljavanjem reakcijske smjese nastaje β -jonon **7**.¹¹

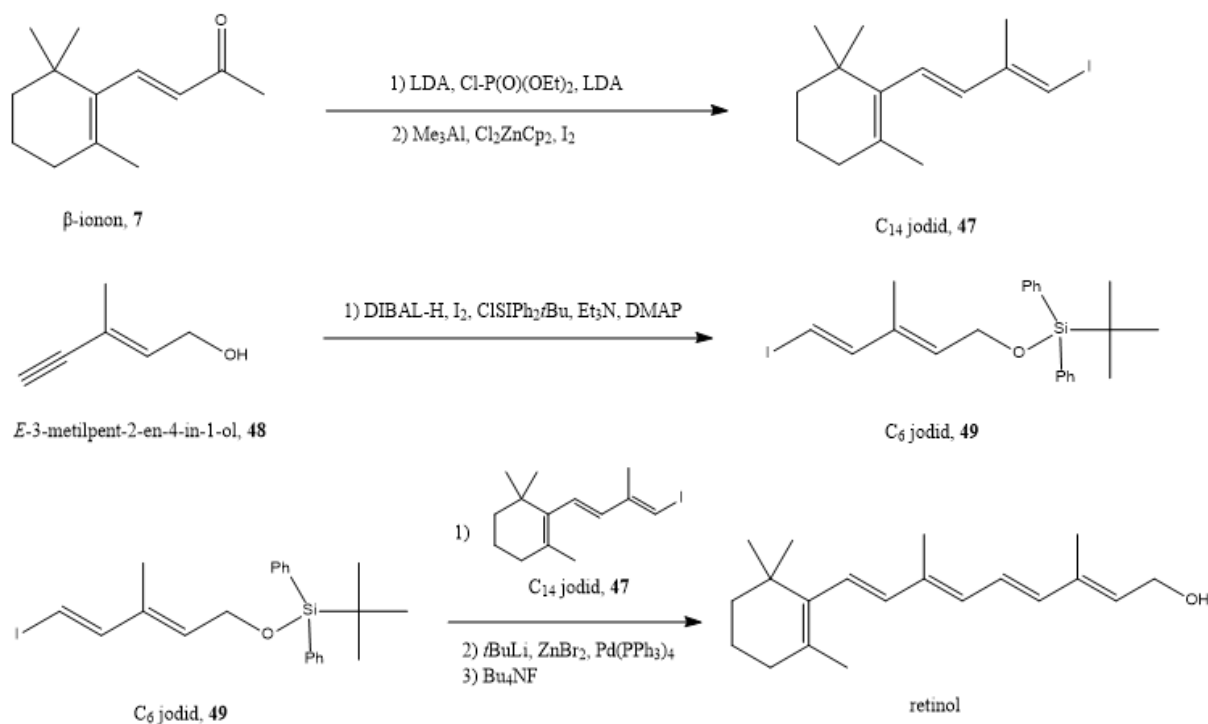
2.2.4. Novi sintetski putevi priprave retinola

Razvoj tehnologije i otkriće novih reakcija otvorili su krajem 20. i početkom 21. stoljeća nove načine sinteze retinola i njegovih derivata. U novim sintetskim putevima naglasak je na stereoselektivnoj sintezi, a upotreba β -jonona i citrala više nije nužna. Koriste se reakcije unakrsnog sprežavanja tzv. *cross-coupling* reakcije poput Stillove i Heckove reakcije, Suzukijevog i Sonogashirinog povezivanja te Negishi reakcija. Navedene reakcije razlikuju se prema mjestu nastanka ugljik-ugljik veze prilikom povezivanja (Slika 17.). Uz paladij kao standardni katalizator, koriste se novi katalizatori poput DIBAL-H i *meta*-klorperoksibenzojeve kiseline (*m*-CPBA).¹³

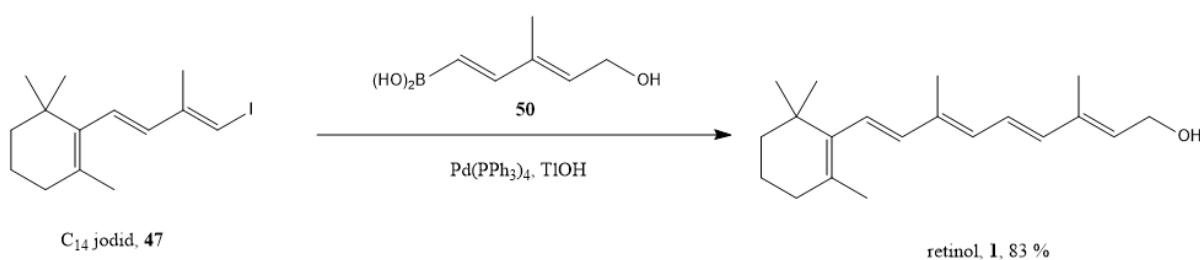


Slika 17. Strategije priprave retinola prema mjestu krajnje kondenzacije¹³

Neke od novih metoda koristile su kombinaciju starih dostupnih reaktanata poput β -jonona te novih katalizatora i spojeva za zaštitu pojedinih skupina. Tako su prvu paladijem kataliziranu reakciju unakrsnog povezivanja opisali Negishi i Owczarczyk 1991. godine. Kondenzacijom dvaju jodida (spojevi **47** i **49**) u C₁₄ + C₆ strategiji pomoću Pd(PPh₃)₄ sintetizirali su retinol u prinosu od 38 %. Postigli su potpunu stereoselektivnu i regioselektivnu kontrolu, a potrebni jodidi pripremljeni su iz β -jonona **7** i *E*-3-metilpent-2-en-4-in-1-ola **48** (Slika 18.).¹³

Slika 18. Shematski prikaz sinteze retinola prema Negishiu i Owczarczyku¹³

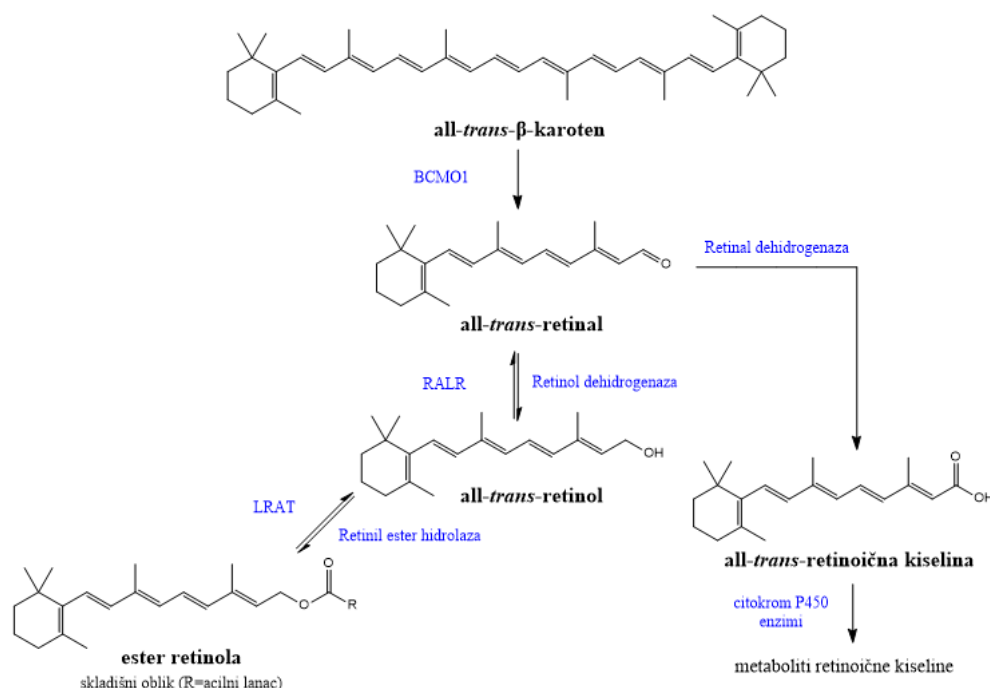
Četiri godine kasnije druga skupina znanstvenika unaprijedila je sintezu. Suzukijevom reakcijom iz C_{14} jodida **47** i C_6 alkenilborne kiseline **50** priredili su retinol uz zadržavanje geometrije navedenih reaktanata (Slika 19.). Nakon 12 sati reakcije, retinol **1** sintetiziran je u prinosu od 83 %.¹³

Slika 19. Shematski prikaz sinteze retinola prema De Leri i suradnicima iz 1995. godine¹³

2.3. Metabolizam retinola

2.3.1. Biosinteza retinola

Čovjek ne može *de novo* sintetizirati retinol i njegove derivate¹⁹ već se oni u organizam unose u obliku provitamina A ili estera retinola (Slika 20.). Od ukupno 400 karotenoida, njih 50 ima neizmijenjen β -karotenski dio strukture pa tako ti spojevi mogu prijeći u vitamin A u crijevima.¹² Najveći izvor vitamina A je β -karoten¹² koji ulaskom u organizam podliježe enzimski kataliziranom oksidativnom cijepanju.¹² Nastale molekule nazivaju se apokarotenoidi. Najranije je otkriveno simetrično cijepanje β -karotena pomoću β -karoten-15,15'-monooksigenaze 1 (engl. *β -carotene-monooxygenase 1*, BCMO1) pri čemu nastaju dvije molekule retinala (β -apo-15-karotenal). Mehanizam ovog cijepanja još je predmet rasprave, ali nedvojbeno je otkriveno kako je za cijepanje potreban enzim monooksigenaza te da on u svojoj strukturi sadrži metalni centar koji sudjeluje u reakciji epoksidacije. Ostala, nesimetrična cijepanja, dovode do nastanka jednog β -apokarotenala i jednog β -apokarotenona. Do sad je poznat enzim β -karoten-9',10'-dioksigenaza 2 koji cijepa molekulu β -karotena na β -apo-10'-karotenal i β -jonon. Smatra se da se ostala nesimetrična cijepanja mogu odvijati bez prisutnosti enzima. Druga je pretpostavka da su takva cijepanja enzimski katalizirana i da tek treba otkriti enzime koji su uključeni u cijepanje.²⁰

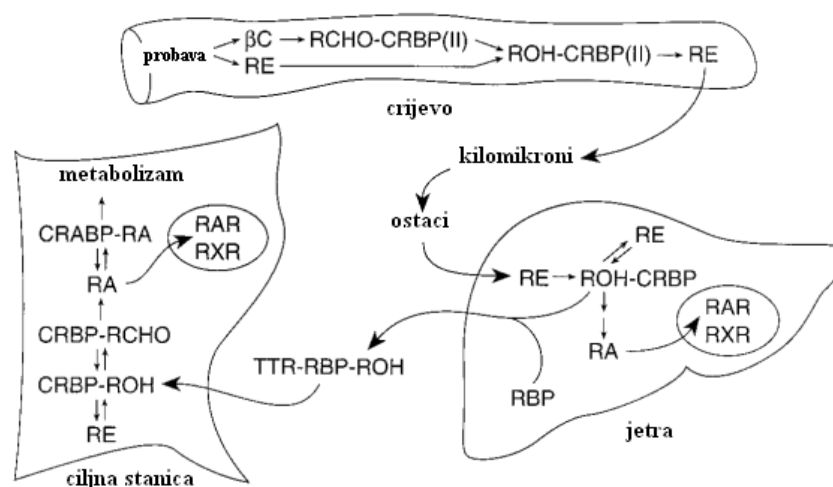


Slika 20. Metabolički putevi retinoida nakon unosa i simetričnog cijepanja β -karotena²³

Znanstvenici su otkrili i *de novo* sintezu retinola. U svom radu iz 2011., Jang i suradnici opisali su metaboličke putove sinteze retinola u genetski modificiranoj bakterijskoj stanici *E. coli*. Bakterije su kultivirane u dvofazni sustav pomoću dodekanskog prekrivajućeg sloja te imaju povećanu ekspresiju egzogenih β -karoten-15,15'-mono(di)oksigenaza enzima i mevalonatni put za sintezu izopentenil-difosfata i dimetilalil-difosfata – potrebnih građevnih jedinica za pripravu retinoida.²¹

2.3.2. Apsorpcija i transport

Široka uloga retinoida kao metabolita posljedica je koordinirane interakcije s više hormona i višestruko vezujućih proteina i enzimskih kompleksa. Već spomenutim cijepanjem β -karotena BCMO1 enzimom nastaje retinal koji se pomoću retinal-reduktaze (engl. *retinal-reductase*, RALR) prevodi u retinol, ključni oblik retinoida koji neprestano kruži u organizmu. Retinal se u crijevima veže za stanični retinol-vezujući protein (engl. *cellular retinol-binding protein*, CRBP(II)) koji ga štiti od oksidacije, ali omogućuje njegovu redukciju. Retinol nastao hidrolizom unesenih retinilnih estera u crijevnom lumenu također se veže za CRBP(II). Takav kompleks služi kao supstrat za ponovnu pretvorbu retinola u retinil-ester (Slika 21.). Reakcija je katalizirana pomoću enzima lecitin:retinol-aciltransferaze (engl. *lecithin:retinol acyltransferase*, LRAT).²² Najčešći su esteri masnih kiselina poput palmitinske, oleinske, stearinske i linoleinske kiseline. Njihova glavna uloga je pohrana retinola, a uz to služe kao supstrati za formiranje 11-*cis*-retinala u enzimski kataliziranoj reakciji.²³



Slika 21. Apsorpcija, transport i raspodjela retinoida koji sudjeluju u metaboličkim putevima ljudskog organizma (RE- esteri retinola, engl. *retinyl esters*; ROH – retinol)²²

Retinilni esteri dalje se inkorporiraju u kilomikrone i uz ostale vitamine topljive u mastima izlučuju se u limfu. Nakon uklanjanja triacilglicerida iz kilomikrona, većina retinilnih estera ostaje zajedno s kolesterolom u kilomikronskim ostatcima. Endocitozom tih ostataka jetrenim lipoproteinima, retinilni esteri se putem receptora dostavljaju u hepatocite. U kralježnjacima, 80 % ukupnog retinola i estera retinola pohranjeno je u jetri²² dok je ostalih 20 % pohranjeno u adipoznom tkivu, očima, plućima, testisima, koži i slezeni.²³ U jetri se esteri ponovno hidroliziraju i slobodni retinol se veže za retinol vezujući protein (engl. *retinol-binding protein*, RBP) koji ga prenosi u zvjezdaste stanice jetre. Reesterificirani retinol u zvjezdastim stanicama pohranjuje se u citoplazmi u obliku lipidnih kapljica zajedno s ostalim mastima.²²

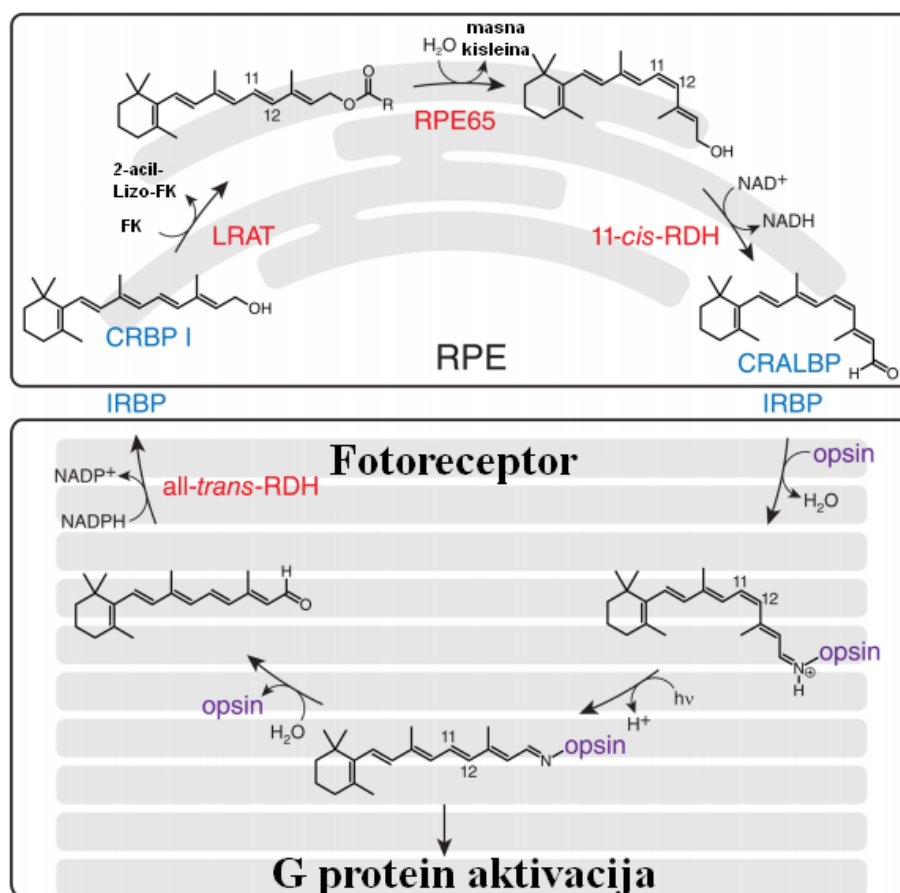
Retinol se mobilizira ponovnom hidrolizom, a da bi se otpustio u plazmu mora se vezati za RBP. Retinol i RBP su međusobno ovisni jedan o drugom i uvijek zajedno napuštaju zvjezdaste stanice. RBP olakšava transport retinola kroz vodeni medij, štiti ga od razgradnje, oksidacije te izomerizacije. U plazmi, holo-RBP kompleksira s transtiretinom (engl. *transthyretin*, TTR) u molarnom omjeru 1:1 i transportira retinol do ciljanih stanica. Mehanizam unosa retinola u ciljne stanice ostaje predmetom rasprave.²²

Budući da nema poznatih enzima koji mogu reducirati RA do retinola, višak se izlučuje iz tijela. Katabolizam je kataliziran s nekoliko citokromskih enzima koji povećavaju topljivost retinoida kako bi se lakše izlučili iz organizma.²³

2.3.3. Uloge retinoida

Najpoznatija funkcija retinoida u ljudskom tijelu je sudjelovanje u procesu vida, no njihova važnost daleko premašuje ovu ulogu. Funkcionalni retinoidi dijele se u dvije skupine: (i) kofaktore, u koje se ubraja 11-*cis*-retinal koji se kovalentno povezuje s proteinom opsinom formirajući rodopsin te (ii) humoralne agense koju reguliraju ekspresiju gena. U drugu skupinu ubrajaju se retinoična kiselina, 9-*cis*-retinoična kiselina (engl. *9-cis-retinoic acid*, 9cRA) te 3,4-didehidroretinoična kiselina.²² Također, u tu skupinu se ubrajaju spojevi s potencijalnom imunološkom funkcijom, retro- i anhidro-retinoidi.²³

Proces vida započinje kada fotoreceptorske stanice na mrežnici oka detektiraju svjetlost. Ljudi posjeduju dvije vrste fotoreceptora: štapiće koji su vrlo osjetljivi na svjetlost i omogućuju vid pri prigušenom svjetlu i čunjiće koji djeluju pri većem intenzitetu svjetlosti i daju vidu oštrinu i boju.²⁴ Oko je jedini organ u ljudskom tijelu koji sadrži 11-*cis*-retinal koji se prilikom izlaganja rodopsina svjetlosti prevodi u all-*trans*-retinal. Do ovog se zaključka došlo na temelju pokusa u kojem je rodopsin izložen svjetlosti pri čemu se njegov crveni pigment izbijelio. Kasnije je otkriveno da se izbjeljivanje rodopsina odvija u fotoreceptorima mrežnice i da je povezano s redukcijom retinala u retinol koji se pomoću inter-fotoreceptorskog retinoidnog vezujućeg proteina (engl. *interphotoreceptor retinoid binding protein*, IRBP) transportira u epitel pigmenta mrežnice (engl. *retinal pigment epithelium*, RPE). Obrnuti proces događa se u mraku – rodopsin se regenerira, a oslobođeni se retinal esterificira u RPE. Ciklus vida u stanicama štapića prikazan je na Slika 22.^{19,25}

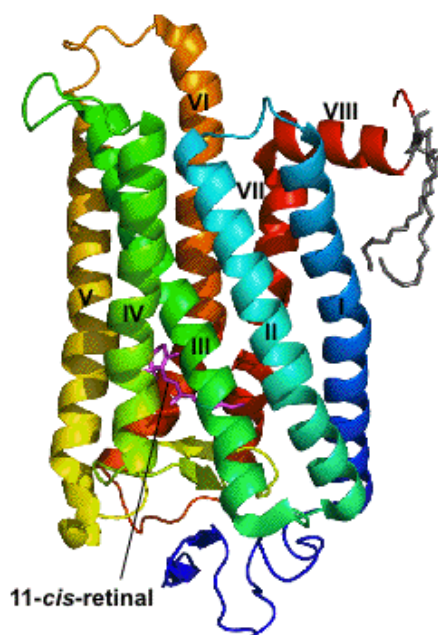


Slika 22. Klasični retinoidni ciklus. Enzimi su prikazani crvenom, a vezujući proteini plavom bojom. Ključni enzimi metaboličkih transformacija koje se odvijaju u RPE u ciklusu vida nalaze se u endoplazmatskom retikulumu (FK-fosfatidilkolin, engl. *phosphatidylcholine*, PC)¹⁹

Zanimljivo je da je svaki korak klasičnog retinoidnog ciklusa (ciklusa vida) identificiran na temelju oštećenja vida i prilikom traženja uzroka sljepoće kod ljudi. Ciklus započinje u vanjskom dijelu štapića apsorpcijom svjetlosti pri čemu se u fotoreceptor otpušta retinal. Retinal se zatim reducira pomoću *all-trans-retinol dehidrogenaze* (engl. *all-trans-retinol dehydrogenase*, at-RDH) u retinol uz $NADPH$ kao kofaktor. Nadalje, IRBP prenosi retinol iz fotoreceptora u RPE gdje se uz pomoć tri enzima asociiranih na glatki endoplazmatski retikulum prevodi u 11-*cis*-retinal. Nakon što disocira s IRBP, retinol ulazi u kompleks s CRBP(I) te se djelovanjem LRAT prevodi u ester. Spontana hidroliza i izomerizacija odvija se uz pomoć RPE65 proteina. Nastali 11-*cis*-retinol veže se za stanični retinal-vezujući protein (engl. *cellular retinaldehyde binding protein*, CRALBP) te se oksidira u 11-*cis*-retinal. Reakcija je katalizirana 11-*cis*-retinol-dehidrogenazom (engl. *11-cis-retinol dehydrogenase*, 11-*cis*-RDH)

uz nastajanje NADH. Potrebni kromofor se transportira natrag u fotoreceptor pomoću IRBP gdje se ponovno veže na opsin regenerirajući vizualni pigment.²⁴

Opsin je integralni transmembranski protein spregnut s G-proteinom²⁶ koji se sastoji od sedam α -heliksa koji zatvaraju džep za 11-*cis*-retinal (Slika 23.).²⁴ Sa svojim slobodnim N-krajem adira se na 11-*cis*-retinal te u reakciji primarnog amina i aldehida daje Schiffovu bazu.



Slika 23. Struktura goveđeg rodopsina koji se sastoji od proteinskog dijela opsina i kromofora 11-*cis*-retinala²⁶

Regulacijom ekspresije gena, hormonalni retinoidi kontroliraju procese diferencijacije, umnožavanja i smrti stanica kralježnjaka od njihovog rođenja pa do smrti. RA i 9cRA imaju utjecaj na ekspresiju gena tako što se vežu za aktivirane transkripcijske faktore RA-receptora (engl. *retinoic acid receptors*, RAR) i retinoid X receptora (engl. *retinoid X receptors*, RXR).²² RXR su povezani s peroksisomskim proliferator-aktiviranim receptorima (engl. *peroxisome proliferator-activated receptor*, PPAR) koji reguliraju ekspresiju gena povezanih s metabolizmom masnih kiselina, adipogenezom te osjetljivošću na inzulin. Nakon prvotne hipoteze da RA inhibira adipogenezu i diferencijaciju adipocita, otkriveno je da male doze RA diferencijaciju i da su neučinkovite u inhibiranju njezinih kasnijih faza. Pretpostavljen uzrok tih efekata je raznolikost u signalizacijskim putevima i interakciji RA s RAR, RXR i PPAR. Također je pokazano kako se RA s velikim afinitetom veže za PPAR δ u procesu diferencijacije

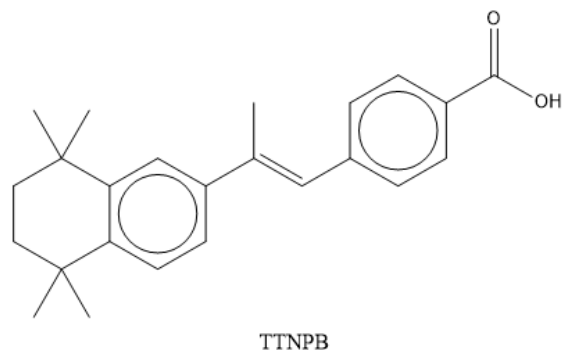
adipocita. Potonje može biti ciljno mjesto za sintetske molekule u regresiji pretilosti.⁸ Uz to, ova dva retinoida imaju ključne uloge u imunom sustavu tako što mogu kontrolirati razvoj timocita inhibirajući aktiviranu apoptozu.²² Te funkcije omogućuju njihovu primjenu u svrhu liječenja tumora.^{8,9,27}

2.4. Primjena retinoida

Nedostatak vitamina A najčešći je nedostatak mikronutrijenata u svijetu²⁸ i prvi je uzrok sljepoće, osobito u zemljama trećeg svijeta.²⁵ Svake godine od pothranjenosti umre više od 3 milijuna djece. Oskudica hrane nije jedini problem. Preko 160 milijuna djece nema normalan rast i razvoj zbog nedostatka potrebnih vitamina i minerala. Novije studije pokazale su da čak 50 % svjetskog stanovništva ima nedostatak željeza, joda, cinka, folne kiseline ili vitamina A. Vodeće zemlje svijeta s dobro razvijenim zdravstvenim organizacijama i financijskom podlogom, sastavile su nove programe implementiranja tih nutrijenata u komercijalno dostupnu hranu. Zbog troškova, takvi programi ne mogu biti toliko uspješni u siromašnim zemljama stoga se kao glavna alternativa javio genetski inženjering. Oko 2005. godine pokrenut je jedan od prvih velikih projekta nazvan *Golden Rice*. Genetskom modifikacijom ugrađuje se β -karoten u rižu i tako se omogućuje unos vitamina A pomoću hrane koja ga prirodno ne sadrži. Ipak, zbog mnogih sumnji na štetnost genetski modificirane hrane, ovaj projekt još u potpunosti nije zaživio u svojim ciljnim zemljama. To može biti opravdano u pojedinim zemljama gdje se mogu uzgajati kulture koje su bogatije β -karotenom i potrebnim vitaminima od zlatne riže.²⁹ Do danas, korištenje vitamina A kao dodatka prehrani glavni je način suzbijanja nedostatka vitamina A. Smrtnost djece može se smanjiti do 38 % ukoliko se pokrije visok udio ciljne populacije, a glavni parametar praćenja napretka u pojedinoj zemlji je smrtnost djece do pete godine života.³⁰

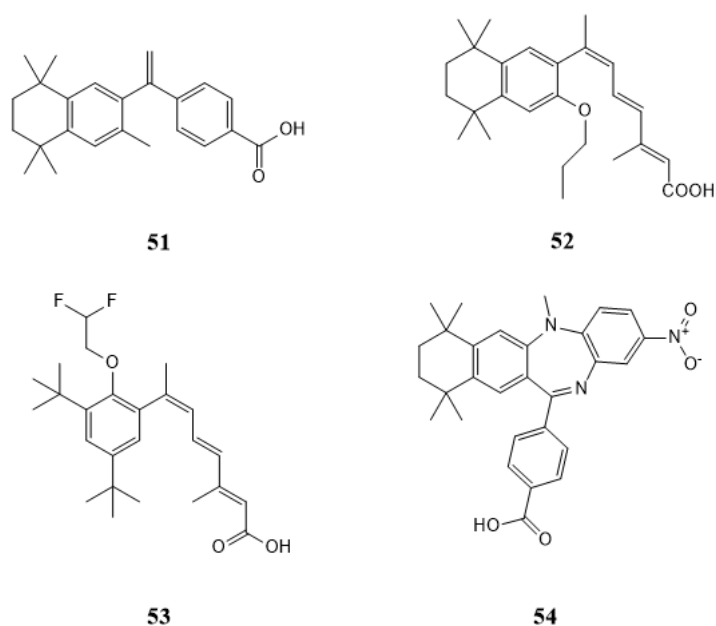
Oprečno gore navedenom, jedan od glavnih globalnih problema prema mišljenju Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organization*, WHO) je pretilost. Saznanja o utjecaju retinoida, primarno RA, na hormonsku regulaciju, potaknula su znanstvenike na daljnje istraživanje njihove primjene. Zadnjih nekoliko desetljeća intenzivno se proučava uloga retinoida u liječenju pretilosti, dijabetesa i metaboličkog sindroma. U tu svrhu, razvijaju se novi sintetski retinoidi specifični za RXR. Prethodnik većine sintetskih retinoida i okosnica prema kojoj su se unaprjeđivala selektivnost djelovanja jest 4-[(1E)-2-(5,

5, 8, 8-tetrametil-5, 6, 7, 8- tetrahidronaftalen-2-il)prop-1-en-1-il]benzojeva kiselina (TTNPB) (Slika 24).⁸

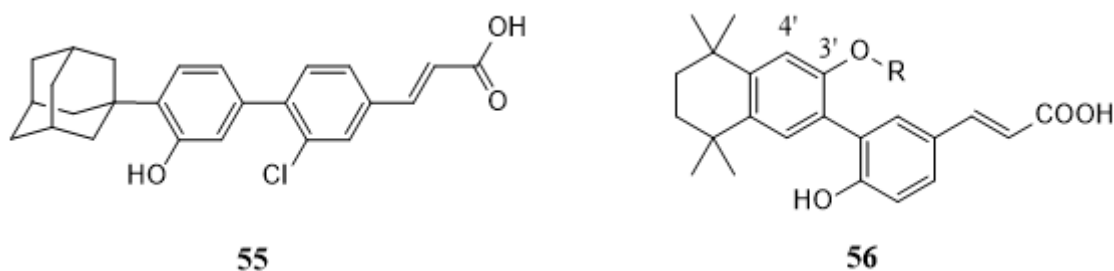


Slika 24. Strukturna formula molekule TTNPB-a⁸

Početkom 90-tih godina 20. stoljeća sintetiziran je prvi učinkoviti i selektivni RXR agonist („rexinoid“) LGD1069 **51**. Ovaj konformacijski ograničen reksinoid strukturno više nalikuje 9cRA. Primarno je sintetiziran za liječenje tumora, a sada se upotrebljava za suzbijanje nastanka kožnih T-stanica limfoma. Uočeno je da inducira diferencijaciju adipocita što ga svrstava u potencijalne lijekove raka dojke⁹ i diferencijacije stanica liposarkoma. Novija otkrića intrinzične neuređenosti RXR dovela su do razvoja LG100754 **52** i LG101506 **53** koji pokazuju selektivnu aktivaciju RXR-PPAR heterodimera. Otkriveno je da čak i antagonisti RXR mogu reducirati pretilost. Tako je pokazano da HX531 **54** poboljšava otpornost na leptin i smanjuje naslage masnog tkiva u miševima na normalnoj prehrani. Navedeni spoj poslužio je znanstvenicima kao okosnica za sintezu nove generacije spojeva sličnih svojstava. Strukturne formule navedenih spojeva prikazane su na Slika 25.^{8,31}

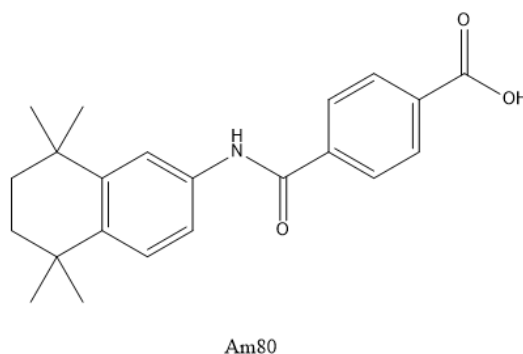
Slika 25. Strukturne formule molekula sintetskih RAR i RXR liganada⁸

Retinoidi koji nemaju afinitet za vezanje na navedene receptore ili je taj afinitet vrlo malen, pripadaju skupini tzv. neklasičnih retinoida. Primjer takvog retinoida je 3-Cl-AHPC **55** čija strukturna formula sadrži cimetnu kiselinu. Pokazuje dobra antitumorska svojstva što nije neočekivano s obzirom da derivati cimetne kiseline također pokazuju inaktivaciju tumorskih stanica. Sintetski potomci ovog retinoida, poput spoja strukture **55**, zadržavaju prijašnje svojstvo i ovisno o R-skupini (spoj **56**) mogu biti agonisti i antagonisti (Slika 26.).⁸

Slika 26. Strukturne formule nove generacije sintetskih RXR liganada⁸

Brojni retinoidi sintetizirani su u svrhu liječenja kožnih bolesti i tumora. Strukturno analogan TTNPB-u, retinoid Am80 agonist je RAR α i RAR β afiniteta jačeg od RA. Koristi se u liječenju akutne promijelocitne leukemije u Japanu ako pacijent postane rezistentan na RA

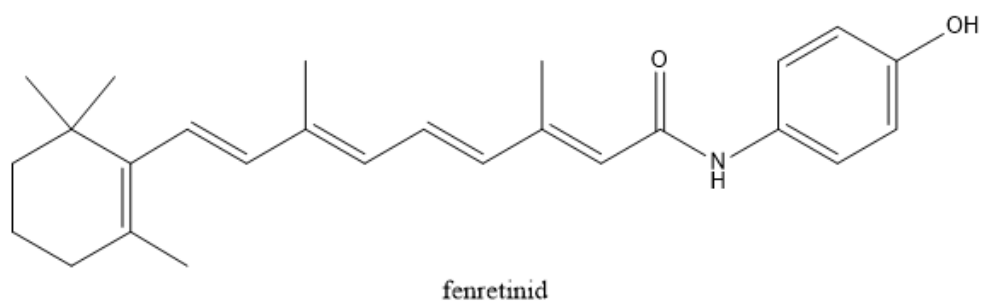
što je prilično čest slučaj. Prednost ovog spoja jest njegova inaktivacija hidrolizom amidne veze (Slika 27).⁸



Slika 27. Strukturna formula molekule Am80⁸

Uz to, retinoidi se povezuju sa sprječavanjem štetnog utjecaja i nastanka reaktivnih kisikovih vrsta (engl. *reactive oxygen species*, ROS), no pri njihovoj upotrebi treba paziti na doze. Preveliki unos može izazvati upalne poremećaje, što je uočeno pri povišenoj koncentraciji RA, pa čak i letalnih komplikacija poput sindroma retinoične kiseline. Sindrom retinoične kiseline nepredvidiva je i česta komplikacija uzrokovana prevelikim unosom RA prilikom liječenja akutne mijeloične leukemije.⁹ Obično se javlja sedam dana nakon početka liječenja. Uzrokuje respiratorne tegobe, groznicu i debljanje, a teži slučajevi mogu izazvati zatajenje srca i bubrega te plućnu hemoragiju.³² Potpuni oporavak je moguć uz pravovremenu dijagnozu i primjenu visokih doza steroidnih lijekova. Potrebne su daljnje studije kako bi se saznalo koji čimbenici povećavaju rizik od nastanka sindroma. Na taj način osigurao bi se i bolji uvid u korištenju steroidnih lijekova kao profilaktičkih sredstava.⁹

Već spomenuti utjecaj u prevenciji raka dojke i potreba za smanjenje toksičnosti sintetskih retinoida dovela je do razvoja izrazito selektivnog fenretinida (Slika 28.). Fenretinid ne inducira točkaste mutacije niti kromosomske aberacije stoga nije genotoksičan. Njegova dugotrajna upotreba može spriječiti pretilost izazvanu dijetama bogatim masnoćom i rezistencija na inzulin.^{8,9}

Slika 28. Strukturna formula molekule fenretinida⁹

Nadalje, retinoidi imaju blagotvorni učinak u reduciranju sekundarnih primarnih tumora, a to su oni koji se javljaju nakon izlječenja prvotnih tumora. Otkriveno je da 13-*cis*-RA reducira sekundarne tumore probavnog trakta u pacijentima s kirurški uklonjenim tumorom glave i vrata. Novija istraživanja pokazuju da 13-*cis*-RA pomaže pri liječenju visokorizičnog neuroblastoma nakon transplantacije koštane srži. Kod pacijenata s reseciranim rakom pluća, sekundarni primarni tumor pluća je reduciran upotrebom retinil palmitata.⁹

Zbog svojih antioksidativnih svojstava i karotenoidi se proučavaju kao potencijalni antitumorski lijekovi. β -karoten povećava aktivnost „natural killer“ stanica i poboljšava funkciju pluća stoga se ispituje njegoa upotreba u prevenciji raka pluća. Te hipoteze temelje se na interakciji karotenoida s DNA te redukciji u H1-DNA (engl. *histone 1-deoxyribonucleic acid*) kompleksu. Pokazana je ovisnost broja kopija mitohondrijske DNA (engl. *mitochondrial DNA*, mtDNA) po stanici o razvoju raka gušterače pa može poslužiti kao biomarker za njegovo pravovremeno uočavanje. U ranijim fazama tumora broj mtDNA je povećan. Pretilost, dim cigareta te ostali rizični faktori povećavaju broj ROS koji mogu prouzročiti štetu na mitohondrijskoj DNA zbog nedostatka zaštitnih histona. Posljedično, mitohondrij sintetizira veći broj kopija mtDNA. S obzirom na to da antioksidativna svojstva karotenoida neutraliziraju ROS, njihova primjena može reducirati broj kopija mtDNA i tako smanjiti rizik od tumora gušterače.⁹

Daleko najraširenija upotreba retinola jest u kozmetičkim proizvodima za njegu kože. Tomu pridonosi njegova stabilnost u formulacijama različitih proizvoda. Uz njega još se koriste retinal i retinoična kiselina. Navedeni tri spoja smanjuju aktivnost enzima koji sudjeluju u lipogenezi te se koriste u liječenju akni, psorijaze, prekomjerne suhoće i keratoze kože te poremećaja kose i noktiju. Mogu doći u obliku spreja, gelova i krema. Optimalna koncentracija

koja uravnotežuje iritaciju kože i učinkovitost ovih proizvoda nije utvrđena pa dozvoljena koncentracija retinola u proizvodu iznosi između 0,0015 % i 0,3 %.³³ Prije korištenja nekog kozmetičkog proizvoda koji sadrži retinoide, korisnik bi trebao analizirati hormonske i genetske čimbenike. Također treba uzeti u obzir i anatomske varijante jer one ograničuju uspjeh kozmetičkog proizvoda na svaku vrstu kože. Slično tome, treba razmotriti izlaganje suncu, pušenje i ostale vanjske čimbenike koji mogu imati utjecaj na učinkovitost proizvoda.³⁴

2.5. Zaključak

Retinol je diterpenoid vrlo velike važnosti za normalan rast i razvoj čovjeka te ima nekoliko bitnih funkcija u ljudskom organizmu. Otkriće strukturne formule retinola omogućilo je njegovu sintezu u velikim količinama krećući od citrala ili β -jonona. Zbog dvostrukih veza u svojoj strukturi, ima mnogo izomera koji se mogu nalaziti u različitim oksidacijskim stanjima. U organizam se unosi konzumacijom karotenoida, pretežno β -karotena, čijim cijepanjem nastaje retinol. Retinol se može oksidirati do retinal koji može prijeći u retinoičnu kiselinu. Navedena tri spoja čine glavne spojeve i okosnicu ostalih derivata u metaboličkim putevima. Retinoična kiselina i 11-*cis*-retinal najbolje su poznati bioaktivni metaboliti vitamina A.

Mnogobrojne uloge retinola postepeno su se otkrivale s razvojem njegove sinteze koja je doživjela svoj vrhunac krajem 20. stoljeća. Tadašnje novootkrivene reakcije doprinijele su sintezi njegovih derivata poznatih pod imenom retinoidi. U početku retinoidi su se koristili u kozmetičkoj industriji, a retinol se davao pacijentima koji su patili od nedostatka vitamina A. Razvojem tehnologije otkrivena su nova svojstva retinoida koji su se počeli koristiti za liječenje dijabetesa, pretilosti te kao potencijalni antitumorski lijekovi. U te svrhe sintetizirane su nove generacije spojeva koji izgledom nalikuju na retinoide, a imaju bolja svojstva od svojih prethodnika. Također je otkriveno kako retinoidi smanjuju nastanak ROS te imaju antioksidativno djelovanje. Većina mehanizama i načini na koji retinoidi djeluju na navedene bolesti te sudjeluju u metaboličkim procesima još nisu otkriveni i predmet su brojnih istraživanja znanstvenika.

2.6. Popis kratica

9cRA – 9-*cis*-retinoična kiselina

at-RDH – all-*trans*-retinol dehidrogenaza

BASF – Badische Anilin und Soda Fabrik

BCM(D)O – β-karoten 15,15'-mono(di)oksigenaza

BCMO1 – β-karoten 15,15'-monooksigenaza 1

CRALBP – stanični retinal-vezujući protein

CRBP – stanični retinol-vezujući protein

DSM – Dutch State Mines

H1-DNA – kompleks histona H1 i deoksiribonukleinske kiseline

IRBP – inter-fotoreceptorski retinoidni vezujući protein

LRAT – lecitin:retinol-aciltransferaza

m-CPBA – *meta*-klorperoksibenzojeva kiselina

mtDNA – mitohondrijska deoksiribonukleinska kiselina

NADH – nikotinamid-adenin-dinukleotid

NADPH – nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat

PPAR – peroksisomski proliferator-aktivirani receptor

RA – retinoična kiselina

RALR – retinal-reduktaza

RAR – receptor retinoične kiseline

RBP – retinol-vezujući protein

ROS – reaktivne kisikove vrste

RPE – epitel pigmenta mrežnice

RXR – retinoid X receptor

TTNPB – 4-[(1*E*)-2-(5,5,8,8-tetrametil-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)prop-1-en-1-il]benzojeva kiselina

TTR – transtiretin

tzv. – takozvani

WHO – Svjetska Zdravstvena Organizacija

§ 3. LITERATURNI IZVORI

1. https://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin_A (datum pristupa 17. svibnja 2021.)
2. <https://druginfo.nlm.nih.gov/drugportal/rn/68-26-8> (datum pristupa 17. svibnja 2021.)
3. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biokemija*, Školska knjiga, Zagreb, 2013, str. 424
4. <https://lpi.oregonstate.edu/mic/vitamins/vitamin-A> (datum pristupa 16. svibnja 2021.)
5. <https://www.drugs.com/monograph/vitamin-a.html> (datum pristupa 16. svibnja 2021.)
6. R. D. Semba, *Ann. Nutr. Metab.* **61** (2012) 192-198.
7. M. J. Caldwell, D. B. Parrish, *J. Biol. Chem.* **158** (1945) 181-186.
8. R. W. Curley Jr., *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Biol. Lipids* **1821** (2012) 3-9.
9. F. Alizadeh, A. Bolhassani, A. Khavari, S. Z. Bathaie, T. Naji, S. A. Bidgoli, *Int. Immunopharmacol.* **18** (2014) 43-49.
10. O. Isler, W. Huber, A. Roneo, M. Kofler, *Helv. Chim. Acta.* **30** (6) (1947) 1911-1927.
11. G. L. Parker, L. K. Smith, I. R. Baxendale, *Tetrahedron* **72** (13) (2016) 1645-1652.
12. O. Isler, *Pure Appl. Chem.* **51** (1979) 447-462.
13. A. R. Valla, D. L. Cartier, R. Labia, *Stud. Nat. Prod. Chem.* **28** (2003) 69-107.
14. D. A. van Dorp and J. F. Arens, *Recl. des Trav. Chim. des Pays-Bas* **65** (1946) 338-345.
15. https://www.reportlinker.com/p05933759/Vitamins-And-Mineral-Supplement-Global-Market-Report-30-COVID-19-Implications-and-Growth.html?utm_source=PRN (datum pristupa 10. srpnja 2021.)
16. E. E. Royals, *Ind. Eng. Chem.* **38** (1946) 546-548.
17. <https://en.chem-station.com/reactions-2/2015/10/saucy-marbet-rearrangement.html> (datum pristupa 30. kolovoza 2021.)
18. G. Saucy, R. Marbet, *Helv. Chim. Acta* **50** (4) (1967) 1158-1167.
19. P. D. Kiser, M. Golczak, K. Palczewski, *Chem. Rev.* **114** (1) (2014) 194-232.
20. A. Eroglu, E. H. Harrison, *J. Lipid Res.* **54** (7) (2013) 1719-1730.
21. H.-J. Jang, S.-H. Yoon, H.-K. Ryu *et al.*, *Microb. Cell. Fact.* **10** Article number:59 (2011)
22. J. L. Napoli, *Clin. Immunol. Immunopathol.* **80** (3) (1996) S52-S62.
23. S. M. O'Byrne, W. S. Blaner, *J. Lipid Res.* **54** (7) (2013) 1731-1743.

-
24. *Generation of 11-cis Retinal for Photoreceptors*, Storm Eye Institute, Charleston, 2009.
25. R. R. Rando, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **29** (5) (1990) 461-480.
26. *Molecular Evolution and Functional Diversity of Opsin-Based Photopigments*, Department of Biology and Geosciences, Osaka, 2010.
27. E.-J. Rhee, J. Plutzky, *Diabetes Metab J.* **36** (2012) 167-180.
28. M. A. Lane, S. J. Bailey, *Prog. Neurobiol. (Oxford, U. K.)* **75** (2005) 275-293.
29. <https://sitn.hms.harvard.edu/flash/2015/good-as-gold-can-golden-rice-and-other-biofortified-crops-prevent-malnutrition/> (datum pristupa 13.srpnja 2021.)
30. W. Schultink, *Use of Under-Five Mortality Rate As an Indicator for Vitamin A Deficiency in a Population*, 20. internacionalni sastanak savjetodavne skupine za vitamin A, New York, 2002, Zbornik radova str. 2881S-2883S.
31. L. Altucci, M. D. Leibowitz, K. M. Ogilvie, A. R. de Lera, H. Gronemeyer, *Nat Rev Drug Discov.* **6** (10) (2007) 793-810.
32. F. J. Ross, G. J. Latham, u C. Cote (ur.), J. Lerman (ur.), B. Anderson (ur.), *A Practice of Anesthesia for Infants and Children*, Vol. 6, Elsevier, Philadelphia, 2019, str. 240-256.
33. M. Zasada, E. Budzisz, *Adv. Dermatol. Allergol.* **26** (4) (2019) 392-397.
34. M. Ramos-e-Silva, L.R. Celem, S. Ramos-e-Silva, A.P. Fucci-da-Costa, *Clin. Dermatol.* **31** (6) (2013) 750-758.