

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



Dusíkaté sekundární metabolity lilkovitých (*Solanaceae*)

Bakalářská práce

Autor práce: Vendula Matoušková

Vedoucí práce: Ing. Matyáš Orsák, Ph.D.

© 2014 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Dusíkaté sekundární metabolity lilkovitých (*Solanaceae*)" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 31.3.2014

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu bakalářské práce Ing. Matyáši Orsákovi, Ph.D. za odborné vedení, rady a připomínky při zpracování této práce. Dále bych ráda poděkovala rodičům za podporu během celého mého studia.

Dusíkaté sekundární metabolity lilkovitých (*Solanaceae*)

Souhrn

Všechny rostliny produkují primární a sekundární metabolity. Primární zajišťují základní životní pochody rostliny a jsou to sacharidy, aminokyseliny, proteiny aj. Sekundární metabolity vychází z primárních a nemají pro rostlinu životně důležitou funkci. To ale neznamená, že nejsou pro rostlinu důležité. Většinou mají funkci ochrannou a to proti predátorům, parazitům nebo nemocem. Sekundární metabolity se dělí na terpeny, fenoly a dusík obsahující látky. Tyto dusíkaté látky se dále dělí na glykosidy a alkaloidy.

Látky obsahující dusík, převážně vázaný v heterocyklu, jsou alkaloidy. Většinou se dělí právě podle obsažené heterocyklické sloučeniny nebo také na pravé alkaloidy, pseudoalkaloidy a protoalkaloidy. V rostlině vznikají při přeměně aminokyselin. Mají silný fyziologický účinek na živočišný organismus. Rostlinné alkaloidy jsou dobře známé jedy, ale také léčiva.

Rostliny čeledi likovité (*Solanaceae*) jsou známé díky bohatému obsahu alkaloidů. Asi nejznámější skupinou alkaloidů této čeledi jsou tropanové alkaloidy. Do této skupiny patří atropin, hyoscyamin, skopolamin a další. Tyto alkaloidy jsou obsaženy v rostlinách, jako je blín černý (*Hyoscyamus niger* L.), durman obecný (*Datura stramonium* L.), rulík zlomocný (*Atropa bella-donna* L.) nebo mandragora lékařská (*Mandragora officinarum* L.). Řada tropanových alkaloidů je farmaceuticky významná. Využívá se především jejich parasimpatolytického účinku. Měly velmi široké využití jako léčiva. S postupem času se od nich upustilo a byly nahrazeny modernějšími léčivy. Dnes už jsou považována za zastaralá léčiva.

Steroidní alkaloidy nebo také glykoalkaloidy jsou zvláštní skupinou alkaloidů. Jejich molekula se skládá ze tří částí: z polární sacharidické složky, z nepolární lipofilní steroidní složky a dusík obsahující heterocyklické složky. Glykoalkaloidy v rostlinách plní ochrannou funkci proti stresovým faktorům (napadení škůdce, osvětlení, mechanické poškození) a pro člověka jsou ve větším množství toxické. Běžně se vyskytují v bramboru a rajčeti. Hlavní glykoalkaloidy lilku bramboru (*Solanum tuberosum* L.) jsou α -solanin a α -chaconin, společně se označují jako solanin. Lilek rajče (*Solanum lycopersicum* L.) obsahuje α -tomatin a dehydrotomatin, nazývají se dohromady tomatin.

Dobře známým zástupcem alkaloidů lilkovitých rostlin je alkaloid tabáku nikotin. Nikotin stojí za kuřáckou závislostí. Nemá jen svoje stinné stránky. Začal se používat jako lék

při léčbě Alzheimerovy choroby. Dalším alkaloidem využívaným v lékařství, ale i v potravinářství, je kapsaicin. Je to alkaloid paprik, který způsobuje jejich pálivou chuť.

Alkaloidy mají široké využití i zneužití. Jako drogy nebo jedy byly používány hlavně v historii.

Klíčová slova: brambor, lilek, rajče, alkaloidy, glykosidy, glykoalkaloidy

Nitrogen-containing secondary metabolites of solanaceous plants (*Solanaceae*)

Summary

All plants produce primary and secondary metabolites. Primary produce basic essential developments of plant and are carbohydrates, amino acids, proteins etc. Secondary metabolites are based on primary and for a plant don't have essentially important function. But it doesn't mean that for a plant are not important. Mostly they are having a protective function and that against predators, parasites or illnesses. Secondary metabolites are dividing on terpens, phenols and nitrogen consisting substances. These nitrogen substances are dividing on glycosides and alkaloids.

Substances consisting nitrogen, mainly tied to heterocyclic are alkaloids. Mostly are divided along consisted heterocyclic compound or also on real alkaloids, pseudoalkaloids and protoalkaloids. There starts during transformation of amino acids in a plant. They have strong physiological effect on animal organism. Plants alkaloids are well known poisons, but also medicines.

Solanaceous are known thanks to rich content of alkaloids. Maybe the most well know group of solanaceous are tropane alkaloids. Into this group belong atropine, hyoscyamine, scopolamine and so on. These alkaloids are obtained in plants as *Hyoscyamus niger*, *Datura stramonium*, *Atropa bella-donna.*, *Mandragora officinarum*. Range of tropane alkaloids is pharmaceutically important. Mostly is using its vagolytic effect. Have had very wide application as a medicine. As time passed were substitute by modern medicine. Today are considered of out of date medicine.

Steroid alkaloids or also glykoalkaloids are strange group of alkaloids. Their molecule is consists of three parts: polar carbohydrate part, from nonpolar lipophilic steroid part and parts consist of nitrogen. Glykoalkaloids in plants function as preservation against stress factors (pest assault, light, mechanical destruction) and for person are in a bigger amount toxic. Common appear in potatoes and tomatoes. The main glykoalkaloids of potatoes are α -solanine and α -chaconine together are called as a solanine. Tomatoes consist of α -tomatine and dehydrotomatine, are called together tomatine.

Well known representative of alkaloids plants is alkaloid of tobacco - nicotine. Nicotine guilt of smoking addiction. Nicotine doesn't have only dark sides. Starts to be used as a medicine during treating of Alzheimer's disease. Next alkaloid using in pharmacy, but

also in food industry is capsaicin. It is alkaloid of peppers which cause their hot taste. Alkaloids have wide use and abuse. As a drugs or poisons were used mainly in a history.

Keywords: potatoes, eggplant, tomato, alkaloids, glycosides, glycoalkaloids

Obsah

1 Úvod	10
2 Cíl práce.....	11
3 Literární rešerše.....	12
3.1 Rostliny čeledi lilkovité.....	12
3.1.1 Čeleď lilkovité (<i>Solanaceae</i>)	12
3.1.2 Vybraní zástupci čeledi lilkovité.....	12
3.1.2.1 Lilek brambor (<i>Solanum tuberosum</i> L.).....	12
3.1.2.2 Lilek rajče (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	13
3.1.2.3 Paprika roční (<i>Capsicum annuum</i> L.)	13
3.1.2.4 Tabák virginský (<i>Nicotiana tabacum</i> L.)	13
3.1.2.5 Mandragora lékařská (<i>Mandragora officinarum</i> L.).....	14
3.1.2.6 Rulík zlomocný (<i>Atropa bella-donna</i> L.).....	14
3.1.2.7 Blín černý (<i>Hyoscyamus niger</i> L.)	14
3.1.2.8 Durman obecný (<i>Datura stramonium</i> L.).....	15
3.1.3 Historie lilkovitých rostlin	15
3.1.3.1 Rulík zlomocný (<i>Atropa bella-dona</i> L.).....	15
3.1.3.2 Blín černý (<i>Hyoscyamus niger</i> L.)	16
3.1.3.3 Mandragora lékařská (<i>Mandragora officinarum</i> L.).....	16
3.1.3.4 Durman obecný (<i>Datura stramonium</i> L.).....	16
3.1.3.5 Tabák virginský (<i>Nicotiana tabacum</i> L.)	16
3.1.3.6 Paprika roční (<i>Capsicum annuum</i> L.)	17
3.2 Alkaloidy	18
3.2.1 Sekundární metabolity	18
3.2.2 Alkaloidy.....	18
3.2.3 Rozdělení alkaloidů.....	19
3.2.3.1 Chinilizidinové alkaloidy	19
3.2.3.2 Piperidinové a pyridinové alkaloidy	19
3.2.3.3 Tropanové alkaloidy.....	19
3.2.3.4 Pyrrolizidinové alkaloidy	19
3.2.3.5 Izochinolinové alkaloidy.....	20
3.2.3.6 Indolové alkaloidy.....	20
3.2.3.7 Chinolinové alkaloidy	20
3.2.3.8 Imidazolové alkaloidy	20
3.2.3.9 Diterpenové alkaloidy	20
3.2.3.10 Steroidní alkaloidy	20
3.2.4 Alkaloidy lilkovitých rostlin	21

3.2.4.1	Solanin.....	21
3.2.4.2	Tomatin.....	24
3.2.4.3	Nikotin.....	25
3.2.4.4	Kapsaicin.....	26
3.2.4.5	Atropin	27
3.2.4.6	Skopolamin	28
3.2.4.7	Hyoscyamin.....	28
3.2.5	Nežádoucí účinky.....	29
3.2.5.1	Základní pojmy	29
3.2.5.2	Fyziologický účinek na lidský a živočišný organismus	30
3.2.5.3	Nežádoucí účinky alkaloidů lilkovitých rostlin.....	32
3.2.5.3.1	Solanin.....	32
3.2.5.3.2	Tomatin	34
3.2.5.3.3	Kapsaicin.....	34
3.2.5.3.4	Nikotin.....	35
3.2.5.3.5	Toxicita tropanových alkaloidů prostřednictvím lilkovitých rostlin	36
3.3	Metody stanovení alkaloidů	39
3.3.1	Extrakce	39
3.3.2	Chromatografické metody.....	39
3.3.2.1	Plynová chromatografie (GC- Gas Chromatography).....	40
3.3.2.2	Chromatografie na tenké vrstvě (TLC- Thin-Layer Chromatography).....	40
3.3.2.3	Vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC- High Performance Liquid Chromatography)	40
3.3.3	Jiné metody	41
3.3.4	Metody stanovení glykoalkaloidů u bramboru.....	41
3.3.4.1	Chromatografické metody.....	41
3.3.4.2	Kapilární isotachoforéza	41
3.3.4.3	Biochemické metody.....	42
3.3.4.4	MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry).....	42
4	Závěr	43
5	Seznam literatury.....	44

1 Úvod

Sekundární metabolity rostlin jsou produkty sekundárního metabolismu, který je úzce spjat s primárním metabolismem. Primární metabolity jsou nezbytné pro základní životní pochody rostliny a účastní se základních biochemických reakcí. Jsou to aminokyseliny, cukry, tuky, bílkoviny aj. Sekundární metabolity nemají v metabolismu rostliny tak zásadní význam jako primární, obvykle nejsou životně nepostradatelné. Jsou to látky ovlivňující ekologické interakce mezi rostlinou a prostředím. Nejčastěji se dělí na terpeny, fenoly a dusík obsahující látky. Poslední jmenovaná skupina se dále dělí na glykosidy a alkaloidy.

Alkaloidy jsou organické sloučeniny zásaditého charakteru. Vždy obsahují dusík, který je převážně vázaný v heterocyklu. Ve většině případů se jedná o tuhé, krystalické látky, špatně rozpustné ve vodě. V rostlině se vyskytují ve formě solí, které jsou ve vodě rozpustné. Jsou opticky aktivní. Vznikají jako produkty metabolismu aminokyselin. V rostlině mají hlavně ochrannou funkci. Odpuzují býložravce a lákají opylovače. Mají výrazný fyziologický účinek na živočišný organismus. Dělí se podle obsažené heterocyklické sloučeniny. Zvláštní skupinou alkaloidů jsou glykoalkaloidy. Jejich molekula se skládá ze tří částí: polární hydrofilní cukerné části, nepolární lipofilní steroidní části a dusíkatého heterocyklu.

Významná rostlinná čeleď bohatá na alkaloidy je čeleď lilkovité (*Solanaceae*). Do čeledi lilkovité patří rostliny jedovaté, známé z dávné historie, které právě díky obsahu alkaloidů byly používány v čarodějnictví, travičství, ale i v lékařství. Mezi tyto rostliny patří durman obecný, blín černý, rulík zlomocný a mandragora lékařská. Dále do této čeledi patří rostliny hospodářsky významné, jako je lilek brambor, lilek rajče a tabák virginský. I tyto rostliny obsahují toxické alkaloidy.

2 Cíl práce

Cílem práce je sestavit literární přehled rostlin čeledi lilkovité (*Solanaceae*) a přehled jejich nejvýznamnějších obsahových látek alkaloidů. Dále popsat prospěšné i nežádoucí účinky konkrétních alkaloidů lilkovitých rostlin. Dílčím cílem je popsat analytické metody, kterými se alkaloidy stanovují.

3 Literární rešerše

3.1 Rostliny čeledi lilkovité

3.1.1 Čeleď lilkovité (*Solanaceae*)

Rostliny čeledi lilkovité jsou jednoleté, dvouleté a vytrvalé byliny, keře nebo polokeře. U vytrvalých bylin se mohou vytvářet oddenkové hlízy. Lodyha má bikolaterální cévní svazky. Listy jsou střídavé, jednoduché i složené. Květy jsou oboupohlavné, pětičetné se srostlými kališními i korunními lístky. Jsou jednotlivě nebo ve vijanech. Mají svrchní semeník. Pestík je srostlý ze dvou plodolistů. Tyčinky jsou nejčastěji čtyři nebo osm (Slavík, 2000). Květní vzorec je $K(5)C(5)A5+0G(2)$. Plodem je tobolka nebo bobule.

Rostliny této čeledi se vyskytují téměř po celé zeměkouli. Patří sem řada hospodářsky i farmaceuticky významných rostlin. Nejvýznamnější obsahové látky této čeledi jsou alkaloidy. Právě díky alkaloidům jsou rostliny jako durman obecný (*Datura stramonium* L.), rulík zlomocný (*Atropa bella-donna* L.) a blín černý (*Hyoscyamus niger* L.) známy z dávné historie. Jsou spojeny s čarodějnictvím, lidovým léčitelstvím a travičstvím. Ještě dnes se některé tyto látky používají ve farmacii. Nejznámějším zástupcem je významná zemědělská plodina lilek brambor (*Solanum tuberosum* L.). Dalšími významnými kulturními rostlinami této čeledi je lilek rajče (*Solanum lycopersicum* L.) a paprika setá (*Capsicum annum* L.). Tyto dvě rostliny se původně pěstovaly jako okrasné, až později se začaly pěstovat po celém světě jako zelenina. Důležitou kulturní plodinou je tabák virginský (*Nicotiana tabacum* L.). Čeleď obsahuje asi 96 rodů a přes 2500 druhů rostlin.

3.1.2 Vybraní zástupci čeledi lilkovité

3.1.2.1 Lilek brambor (*Solanum tuberosum* L.)

Je vytrvalá bylina s podzemními oddenkovými hlízami, dnes pěstovaná v mírném pásu po celém světě. Pochází z Jižní Ameriky, odkud byla dovezena do Evropy v 16. století. Ale až od druhé poloviny 18. století se pěstuje jako kulturní plodina.

Stonek je větvený. Listy má přetrhovaně lichozpeřené, řapíkaté, čepel je v obrysu eliptická. Květy mají bílou, žlutou nebo fialovou korunu. Plodem je bobule (Jahodář, 2011).

Jedlá část obsahuje 18 % sacharidů (hlavně škrobu), 2% bílkovin a je dobrým zdrojem vitamínu C (21 mg/100 g). Hlízy obsahují nízké bezpečné množství steroidního alkaloidu, solaninu (25-100 mg/kg), toxické množství (nad 140 mg/kg) se může ukládat v zelených částech brambor (Harborne et Baxter, 2001).

3.1.2.2 Lilek rajče (*Solanum lycopersicum* L.)

Rajče jedlé je jednoletá rostlina se žláznatě chlupatým stonkem. Listy má přetrhovaně lichozpeřené. Plodem je bobule, pro kterou se rajče pěstuje. Lilek rajče je bohatý na vitamíny A, B, C a karotenoidy. (Jahodář, 2011). Dále obsahuje toxické glykoalkaloidy: α -tomatin a dehydrotomatin. Rajče se dostalo do Evropy spolu s bramborem po objevení Ameriky. V potravinářském průmyslu se plody používají na výrobu protlaku, kečupu, rajčatových omáček aj.

3.1.2.3 Paprika roční (*Capsicum annuum* L.)

Tato vytrvalá rostlina je původem z Jižní Ameriky. Nyní se pěstuje téměř po celém světě. Vyskytuje se planě a jako kultivar v mnoha poddruzích. Listy jsou tmavozelené, oválné nebo vejčité, s řapíkem. Bíle jednotlivě uspořádané květy jsou pěti- až šesti- četné. Období květu je od června až do září. Plody jsou 5-12 cm podlouhlé, kuželovité bobule. Mohou být zelené, žluté a červené. Zralost plodů je v srpnu až září. Paprika obsahuje vysoké množství vitamínu C. Dále obsahuje kapsaicin, dihydrokapsaicin, nordihydrokapsaicin a další kapsacinoidy. Plod se využívá jako potravina, koření nebo farmaceutická droga. Již po staletí je paprika používána indiány jako koření a lék (Alberts et Mullen, 2002).

Český lékopis (2009) uvádí: *Capsici fructus* (Paprikový plod), *Capsici oleoresina raffinata et quantificata* (Papriková oleoprskyřice čištěná a kvantifikovaná), *Capsici tinctura normata* (Papriková tinktura standardizovaná).

3.1.2.4 Tabák virginský (*Nicotiana tabacum* L.)

Rod *Nicotiana* má asi 60 druhů. Dominujícím je tabák virginský (*Nicotiana tabacum*). Další významné druhy jsou: tabák selský (*Nicotiana rustica*), tabák sivý (*Nicotiana glauca*) a tabák dlouhokvětý (*Nicotiana longiflora*). Všechny tyto druhy pocházejí ze Střední a Jižní Ameriky, odkud byly postupně rozšířeny jako kulturní či okrasné rostliny téměř po celém světě. Jsou to jednoleté až víceleté rostliny vysoké 50-300 cm. Mají vejčité dlouhé listy. Trubkovité nebo široce zvonkovité květy jsou uspořádány ve vrcholových latách nebo lichohroznech, v barvách od bílé, přes růžovou až k červeno-fialové. Do Evropy pravděpodobně poprvé tabák přivezl John Nicot v roce 1560. Listy a extrakty používal pro lékařské účely. Tabák jako kuřivo začal prosazovat v roce 1585 v Anglii Sir Walter Raleigh. Kouření bylo původně výsadou šlechty, později ho převzali i měšťané. Časem kouření tabáku změnilo život lidem na celém světě. V současnosti se tabák pěstuje asi ve 117 zemích světa na

ploše asi 5,1 miliónů hektarů. Získávají se z něj některé chemikálie, potřebné v lékařství, potravinářství a kosmetice (kyselina jablečná a citronová, chlorofyl, esence, alkaloidy nikotin, anabasin, nornikotin atd.) Hlavní alkaloid nikotin byl izolován a pojmenován po dovozci v roce 1828. V té době byly zjištěny jeho silné insekticidní účinky. Tabák je významnou rostlinou, která změnila svět (Pavela, 2006).

3.1.2.5 Mandragora lékařská (*Mandragora officinarum* L.)

Mandragora roste na kamenitých stanovištích. Najdeme ji na okrajích cest a polí. Je to víceletá rostlina se silným vidlicovitým kořenem. Tmavozelené listy jsou podlouhle vejčité, dlouhé až 35 cm. Fialové květy ve tvaru zvonků jsou sdružené do okolíku. Období květu je od prosince do dubna. Plody jsou 2,5 cm velké bobule. V době zralosti jsou oranžové a silně zapáchají. Obsahuje tropanové alkaloidy skopolamin, atropin a další. Mandragora je známá z historie jako čarodějná, rituální, omamná, ale i léčivá rostlina (Alberts et Mullen, 2002).

3.1.2.6 Rulík zlomocný (*Atropa bella-donna* L.)

Je to vytrvalá, silně rozvětvená bylina. Silný oddenek je na povrchu hnědožlutý, ve vnitřku je bělavý. Příčný stonek je vysoký až 150 cm. Šedozelené listy vejčitého tvaru jsou různé velké. Jednotlivé květy na stopkách ve tvaru zvonků jsou skloněné k zemi. Hnědočervená až fialovohnědá květní koruna je asi 2 cm dlouhá. Kvete od června až do srpna. Plodem je bobule, která je v době zralosti leskle černá. Rulík najdeme na pasekách, mýtinách, v houštinách a listnatých lesích. Rozšířen je ve střední a jižní Evropě. Ojedinele se vyskytuje v Asii a severní Africe. Rulík obsahuje L-hyoscyamin, atropin, skopolamin a belladonin (Alberts et Mullen, 2002).

Český lékopis (2009) uvádí: *Belladonnae folii extractum siccum normatum* (Extrakt z rulíkového listu suchý standardizovaný), *Belladonnae folii tinctura normata* (Tinktura z rulíkového listu standardizovaná), *Belladonnae folium* (Rulíkový list), *Belladonnae pulvis normatus* (Rulíkový list práškový standardizovaný).

3.1.2.7 Blín černý (*Hyoscyamus niger* L.)

Blín černý běžně roste na polích, úhorech, zahrádkách, ale i v blízkosti lidských sídel. Mezi typická rumištní stanoviště patří komposty, skládky, zbořeniště, výsyvky, neobdělávané plochy nebo nezastavěné pozemky. Tato rostlina preferuje půdy hluboké, písčité i hlinité, bohaté na humus a živiny (především dusík). Je to světlomilný druh, který potřebuje dostatek

světla, nikoli jen při pěstování v kultuře, ale i jako plevel. Blín se rozmnožuje pouze generativně - semeny, která jsou uložena ve dvoupouzdré tobolce široce vejčitého tvaru o rozměrech 1,5 x 1,3 cm. Tobolka se zbytkem čnělky na vrcholu je blanitá, v době zralosti se otevírá. Je hnědě zbarvená a má lesklý povrch. Pětícípý kalich je dlouhý, olýsalý, síťnatě žilkovaný. V tobolce je asi 300 semen. U dvouletých forem se v prvním roce vegetace vytváří listová růžice se silným kořenem. Druhým rokem vyrůstá z růžice 30-80 cm vysoká lodyha. U jednoletých forem se netvoří růžice. Blín kvete od června až do pozdního podzimu. Patří mezi prudce jedovaté rostliny a to z důvodu obsahu tropanových alkaloidů. Dále rostlina obsahuje glykosidy, třísloviny a silice. Již ve starověku patřil blín ke známým rostlinám, neboť ho používaly všechny tehdejší kulturní národy. Ve středověku se používal jako celkové anestetikum při operacích. Dnes se blín z farmaceutického hlediska považuje za drogu zastaralou (Uhlík, 2002).

3.1.2.8 Durman obecný (*Datura stramonium* L.)

Bylina mohutného vzrůstu s větveným stonkem má vejčité, na okraji laločnatě zubaté listy. Velké jednotlivé květy mají podlouhlé nálevkovité bílé koruny. Plodem je ostnitá tobolka vejčitého tvaru. Do Evropy, původně jako okrasná květina, se dostal z Ameriky. Durman roste na rumišťích, kompostech a jako plevel teplejších oblastí. Dnes se jen zřídka pěstuje jako okrasná letnička. Obsahuje jedovaté alkaloidy (hyoscyamin, atropin, skopolamin, belladonin a další). Dříve se durman používal v lékařství a farmaceutickém průmyslu. Pro svoje účinky na centrální nervovou soustavu patřil durman k rostlinám čarodějným. Jeho odvar se používal k travičství (Novák, 2007).

3.1.3 Historie lilkovitých rostlin

3.1.3.1 Rulík zlomocný (*Atropa bella-dona* L.)

Latinský název *Atropa* je podle jména jedné ze tří řeckých bohyň Atropos. Každá bohyně hrála svou roli v lidském životě. Atropos přestřihovala nit života. Druhý latinský název *bella-dona* znamená krásná žena. Italské ženy si kapaly šťávu z rulíku do oka, aby se jim rozšířily zorničky a ony vypadaly krásnější a přitažlivější. Dříve lékaři používali rulík do směsi z bylin, kterou používali jako anestetikum při operacích (Stewart, 2011).

3.1.3.2 Blín černý (*Hyoscyamus niger* L.)

Blín byl základní ingredience do čarodějnického létajícího lektvaru. Mast z blínu a dalších jedovatých bylin vyvolávala pocit létání. Ve středověku se přidával do piva, aby zvýšil jeho opojné účinky. Již od dob Římanů se blín používal jako anestetikum. Až v 19. století byl nahrazen éterem a chloroformem. Pacient upadl do narkotického spánku, poté co se probрал, nic si nepamatoval. Používání takovýchto anestetik bylo velice riskantní. Při slabé dávce operovaný cítil vše. Při silné dávce se pacient nemusel probрат už nikdy (Stewart 2011).

3.1.3.3 Mandragora lékařská (*Mandragora officinarum* L.)

Tato rostlina je spojena s mnoha lidovými pověstmi. Kořen rostliny ve tvaru písmena Y vždy lidem připomínal lidskou postavu. Dříve se magické a léčebné vlastnosti rostlin odvozovaly od vzhledu rostliny. Proto se věřilo, že mandragora působí na rozmnožování a zvyšuje plodnost. Měla také působit jako afrodiziakum. Mandragora byla spojována s řeckou bohyní lásky Afroditou. Asi nejděsivější pověst je spojená se sběrem rostliny. Při vytrhávání mandragory ze země měla údajně vydávat hrozný skřek. Skřek byl tak strašlivý, že člověk, který rostlinu trhal a skřek uslyšel, zemřel (Mann, 1996).

3.1.3.4 Durman obecný (*Datura stramonium* L.)

Durman obecný, ale i ostatní druhy rodu durman, jsou už od pradávna nejznámějšími rostlinami spojovanými s čarodějnictvím a travičstvím. V roce 1558 Giambattista della Porta uvádí ve své knize *Magia naturalis* spoustu receptů na nápoje šílenství a uspávací nápoje, v nichž se používal durman. Dříve, ale i nyní durman používají některé kmeny v Kalifornii při obřadech dospívání a zasvěcení (Pendell, 2009). Durman byl také spjat se zločinem. Zloděj stříkl oběti roztok z durmanu do obličeje. Okradený upadl do stavu odevzdanosti. Poté co se probрал, nic si nepamatoval. Pachatel se nemusel bát, že bude identifikován.

3.1.3.5 Tabák virginský (*Nicotiana tabacum* L.)

Tabák se začal pěstovat asi 5000 let př. n. l. v Americe. Existují důkazy o tom, že původní obyvatelé kouřili listy tabáku před 2000 lety. Do zbytku světa se rozšířil až s příchodem Evropanů do Ameriky. Během jednoho století se rozšířil téměř do celého světa. Listy tabáku, hodnocené podle kvality sklizně, sloužily jako zákonné platidlo ve Virginii (Stewart, 2011). Jako dnes tak i v minulosti měl tabák své příznivce a odpůrce. Nejznámější

odpůrce byl král Anglie a Skotska Jakub I., který vedl tvrdý boj proti kouření. V 16. Století Jean Nicot zpopularizoval využití tabákového kouře proti bolestem hlavy. Poprvé byl nikotin izolován v čisté formě v roce 1828. Jeho farmakologické účinky byly prokázány až v roce 1898 (Mann, 1996). V dávné minulosti lidé věřili, že tabák dokáže léčit migrény, zahánět mor a překvapivě léčit kašel a rakovinu. (Stewart, 2011). Kromě tabáku jako kuřiva má dlouhou historii žvýkací tabák a šňupací tabák.

3.1.3.6 Paprika roční (*Capsicum annuum* L.)

Už v dávné minulosti se paprika používala jako léčivá rostlina. Používala se proti nadýmání, průjmům, trávicím potížím, na astma, artritidu, svalové křeče a na bolest zubů. Různé části a různé druhy paprik byly popsány v mayském lékopise v řadě bylinných léčiv, které se užívaly proti infekcím nebo při dýchacích obtížích. Paprika je odjakživa považována za afrodisiakum. I paprika jako koření má dávnou historii. První zmínky jsou z oblasti Jižní Ameriky 7500 př. n. l., kde si indiáni červeným práškem kořenili pokrmy i nápoje.

3.2 Alkaloidy

3.2.1 Sekundární metabolity

Sekundární metabolity rostlin jsou velmi početnou a pestrou skupinou látek. Jsou to produkty sekundárního metabolismu. Ten je úzce spjat s primárním (základním) metabolismem, při kterém dochází k odbourávání a biosyntéze základních látek jako jsou sacharidy, lipidy, bílkoviny a nukleové kyseliny. Nedostatek druhotných metabolitů neohrožuje přímo život rostliny, pouze ho ovlivňuje. Na rozdíl od primárních, které se přímo účastní růstu, vývoje a rozmnožování rostliny. Neznamená to, že sekundární metabolity nejsou pro rostlinu důležité. Mají mnoho funkcí, například jako atraktanty, odpuzující a obranné látky. Některé působí jako kofaktory enzymů nebo jako stavební materiál buněčných stěn, ochrana před světlem či jako skladovací formy dusíku a uhlíku (Vodrážka, 2002). Sekundární metabolity lze rozdělit z několika hledisek. MacAdam (2008) uvádí rozdělení podle chemické struktury na terpenoidy, fenolické látky a alkaloidy.

3.2.2 Alkaloidy

Alkaloidy jsou nejpočetnější skupinou látek druhotného původu, zatím jich bylo izolováno kolem 7000. Jejich název pochází z roku 1819 od C. F. W. Meissnera (Vodrážka, 2002). Jsou to organické dusíkaté sloučeniny zásaditého charakteru. Hlavním znakem je přítomnost dusíku převážně vázaného v cyklu. Proto lze alkaloidy odvodit od různých heterocyklických sloučenin. Většinou se alkaloidy vyskytují v rostlinách ve formě solí, jen málokdy volně. Jsou vázány na kyseliny, vyskytující se v rostlinách, jako na kyselinu vinnou, jablečnou, citrónovou, šťavelovou aj. Většinou jde o tuhé, dobře krystalizující látky, které jsou obvykle málo rozpustné ve vodě, ale dobře rozpustné v organických rozpouštědlech. Ve formě solí jsou ve vodě rozpustné. Jsou to látky opticky aktivní. Typickou vlastností alkaloidů je jejich velký fyziologický účinek na živočišný organismus, zejména na nervový systém. S postupem času a vývojem chemie se různými pokusy zjistilo, že alkaloidy vznikají v rostlinách z aminokyselin a z jejich metabolitů, popřípadě i z různých metabolitů cukrů (Řehoř, 1973).

3.2.3 Rozdělení alkaloidů

Alkaloidy lze rozdělit podle různých kritérií. Nejčastější dělení je podle chemické struktury. Ani Hrdina (2004) není výjimkou a dělí je podle heterocyklických systémů přítomných v molekule alkaloidu následovně.

3.2.3.1 Chinilizidinové alkaloidy

Alkaloidy biogeneticky odvozené od lysinu. Jsou bicyklickým heterocyklem chinolizidinem, který je tvořen dvěma šestičlennými cykly se společnou stranou, ale jeden ze společných uhlíkatých atomů je nahrazen dusíkem. Biologická aktivita se podobá účinku chinidinu, tj. ovlivňují převodní srdeční systém. Některé působí teratogenně. Zdrojem jsou rostliny čeledi *Fabaceae*. Alkaloidy této skupiny jsou anagyrin, cytisin, lupanin, lupinin a spartein.

3.2.3.2 Piperidinové a pyridinové alkaloidy

Nejznámějším zástupcem piperidinových alkaloidů je koniin z bolehlavu plamatého (*Conium maculatum*), který nevzniká typicky z aminokyselin, ale cestou acetátové syntézy. Mezi pyridinové alkaloidy patří alkaloidy tabáku nikotin a anabasin. Nikotin vzniká z aminokyseliny ornitinu a kyseliny nikotinové.

3.2.3.3 Tropanové alkaloidy

Tropanové alkaloidy obsahují ve své struktuře typický bicyklický pyrrolidin-piperidinový skelet 8-azabicyklo[3.2.1]oktan. Vyskytují se v čeledích *Solanaceae*, *Erythroxylaceae*, *Proteaceae*, *Euphorbiaceae*, *Rhizophoraceae*, *Convolvulaceae*, *Brassicaceae* a *Olacaceae*. Jedná se o látky terapeuticky využitelné i toxické. Zástupci této skupiny jsou apoatropin, atropin, hyoscyamin, kokain, skopolamin a tropin.

3.2.3.4 Pyrrolizidinové alkaloidy

Jsou to esterově vázané alkaloidy tvořené bazickou necinovou složkou (bicyklický pyrrolizidinový skelet, často v 1, 2-dehydro-formě) a necikovou kyselinou. Necinová báze může být nasycená nebo nenasycená. Významně toxickejší je nenasycená forma. Většina z těchto toxických alkaloidů má hepatotoxický účinek. Pyrrolizidinové alkaloidy se nacházejí v několika rostlinných rodech čeledí *Asteraceae*, *Fabaceae* a *Boraginaceae*. Mnoho rostlin

z nich jsou dobře známé léčivé rostliny. Mezi zástupce této skupiny alkaloidů patří europin, heliotridin, retronecin, senkirkin, supinin a další.

3.2.3.5 Izochinolinové alkaloidy

Jsou to alkaloidy rozdílných struktur a biogeneze, s rozsáhlým výskytem a širokým spektrem účinku. Společnou strukturální jednotkou je izochinolinový kruh. Především to jsou toxické látky makovitých rostlin (*Papaveraceae*). Jako je morfin, papaverin a bulbokaptin.

3.2.3.6 Indolové alkaloidy

Základ chemické struktury těchto alkaloidů je indol, který vychází z metabolismu aminokyseliny tryptofanu. Může být zabudován v jednoduchých molekulách, jakou má gramin, psilocybin nebo ve složitějších strukturách typu aspidosperminu či ibogainu, kdy do biogeneze je zapojena i monoterpenická struktura. Mnohem složitější strukturu mají deriváty kaseliny lysergové, známé jako námelové alkaloidy.

3.2.3.7 Chinolinové alkaloidy

Jsou to alkaloidy odvozené od tryptofanu, popř. antranilové kyseliny. V přírodě jsou málo rozšířené. Některé jsou významnými léčivy. Nejznámější zástupce této skupiny alkaloidů je chinin, který se používá jako antimalarikum a antipyretikum. Další zástupci jsou akronycidin, akronycin, arborinin a haplofylidin.

3.2.3.8 Imidazolové alkaloidy

Jsou to alkaloidy biogeneticky odvozené od histidinu. Vyskytují se v rostlinách čeledi *Rutaceae* a *Euphorbiaceae*. Známými zástupci jsou pilosin, pilokarpin a alchornein.

3.2.3.9 Diterpenové alkaloidy

Do této skupiny patří alkaloidy čeledi *Helleboraceae*. Nejznámějším zástupcem je jeden z nejprudších a nejrychleji účinkujících jedů akonitin.

3.2.3.10 Steroidní alkaloidy

Steroidní alkaloidy nebo také steroidní glykoalkaloidy jsou zvláštní skupinou alkaloidů. Tvoří je tři chemické složky. Polární, ve vodě rozpustnou sacharidickou částí, nepolární lipofilní steroidní částí a heterocyklickým systémem obsahující dusík. Steroid spolu

s heterocyklem tvoří aglykon. Vazba mezi aglykonem a sacharidem je glykosidická (typu O-C nebo N-C). Často jsou řazeny mezi pseudoalkaloidy. Jsou to alkaloidy, které nejsou biogeneticky odvozené od aminokyselin jako tzv. vlastní nebo-li pravé alkaloidy. Tyto látky jsou přítomné zejména v čeledích *Solanaceae* a *Liliaceae*.

Další možné rozdělení alkaloidů (Aniszewski, 2007): pravé alkaloidy, pseudoalkaloidy a protoalkaloidy.

Pravé alkaloidy

Pravé alkaloidy obsahují N-heterocykly odvozené od aminokyselin. Primárními prekurzory pravých alkaloidů jsou aminokyseliny jako L-ornithin, L-lysin, L-fenylalanin, L-tryptofan a L-histidin. Zástupcem je například nikotin, kokain, chinin a morfin.

Protoalkaloidy

Protoalkaloidy jsou také označovány jako neheterocyklické alkaloidy. Mezi ně patří aminy nebo amidy modifikované zavedením methylových či hydroxylových skupin a zahrnují dvě hlavní skupiny sloučenin, a to deriváty N-(fenylalkyl)aminů a alkaloidy kolchicinové. Zástupcem této skupiny je kapsaicin.

Pseudoalkaloidy

Jsou to terpenické a steroidní látky obsahující dusík vázaný v heterocyklu. Mezi pseudoalkaloidy patří glykoalkaloidy brambor a rajčat. Dále sem patří alkaloidy čaje, kávy a kaka.

3.2.4 Alkaloidy lilkovitých rostlin

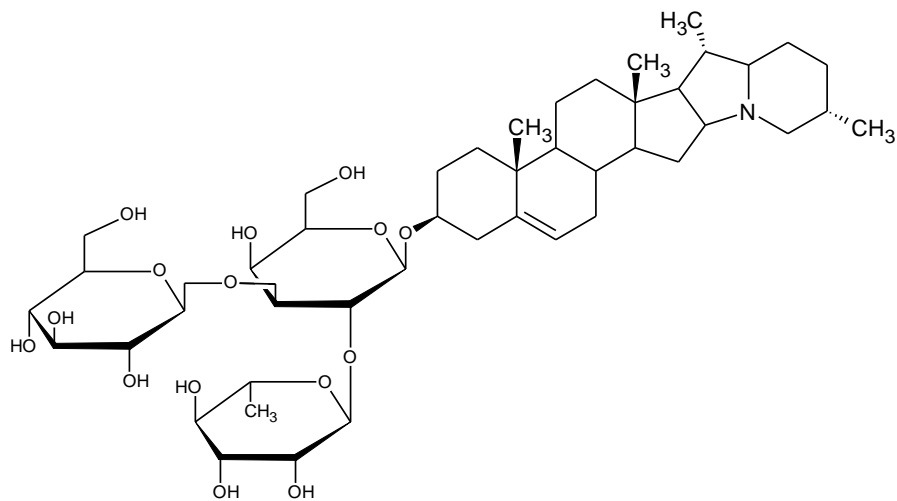
3.2.4.1 Solanin

Je souhrnný název pro skupinu velmi příbuzných glykoalkaloidů. Známo je jich přes dvacet, deset z nich bylo zjištěno u bramboru (*Solanum tuberosum*). Aglykonem solaninu je solanidin. Hlavním glykoalkaloidem brambor je α -solanin, vyskytuje se i v baklažánu nebo nezralých rajčatech. α -solanin spolu s α -chaconinem tvoří přes 95 % glykoalkaloidů brambor. Solanin je přirozenou ochranou rostliny proti škůdcům (Patočka et Míka, 2008). Nachází se téměř v celé rostlině. Největší obsahy jsou v pletivech s vysokou metabolickou aktivitou – květech, nezralých bobulích, klíčcích, okolí oček a slupce. Obsah celkových

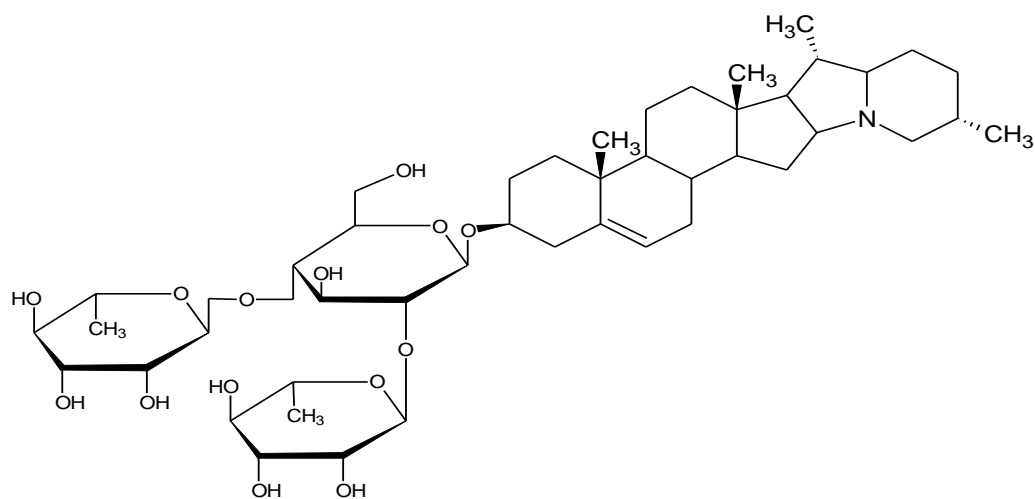
glykoalkaloidů v tržních hlízách se běžně pohybuje v desítkách mg/kg. Za zdravotně přijatelnou hladinu se považuje 200 mg/kg. U normálních hlíz je většina glykoalkaloidů nahromaděna v asi 1,5 mm silné části kůry těsně pod peridermem. Oškrábáním hlízy se odstraní 60 až 95 % obsahu glykoalkaloidů. Glykoalkaloidy jsou stále ještě při teplotách 300°C. Při tepelných úpravách se jejich obsah téměř nesnižuje. Při vaření část solaninu přechází do vody. Obsah solaninu v hlízách je z velké části ovlivněn geneticky, ale také řadou faktorů prostředí. Jeho obsah je zvýšen vyvoláním stresového faktoru – napadení hmyzem či mikroorganismy, vystavení světlu nebo mechanické poškození. Rychle se glykoalkaloidy začnou syntetizovat jako obranné látky v místě napadení či poškození. Hladina glykoalkaloidů se snižuje během dozrávání (Kalač et Míka, 1997).

Tabulka 1 Rozložení celkových glykoalkaloidů v rostlině bramboru (Kalač et Míka, 1997)

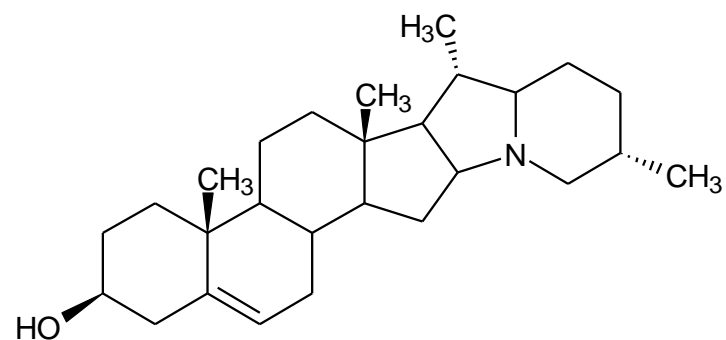
Orgán, pletivo	Obsah (mg/kg č. hm)
klíčky	2000-4000
stolony	150-540
kořeny	180-400
lodyhy	20-30
listy	400-1000
květy	3000-5000
bobule	4200
celá hlíza	75
dřeň	12-50
svrchní část hlízy (3-5 % z hmotnosti)	300-600
svrchní část hlízy (10-15 % z hmotnosti)	150-300
slupka s očky	300-500



Obrázek 1 α -solanin



Obrázek 2 α -chaconin



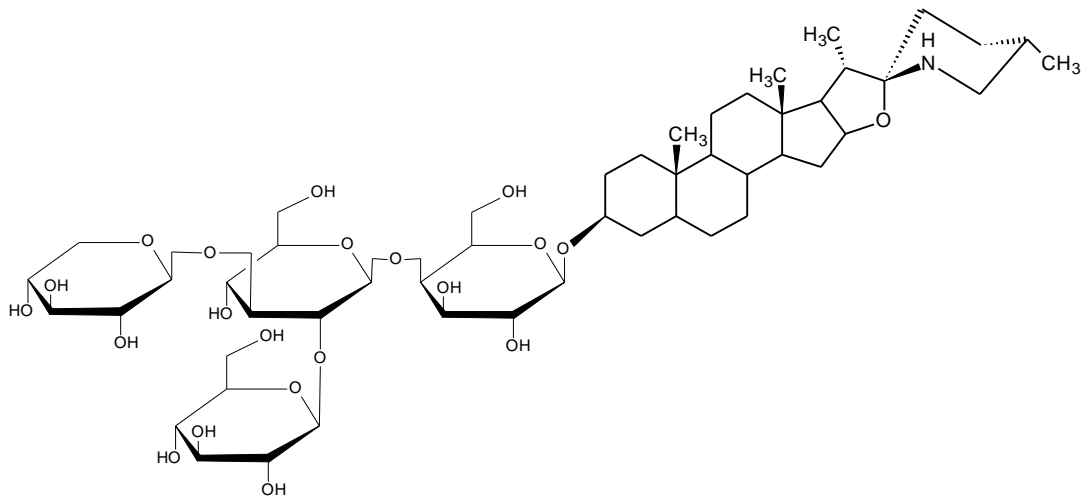
Obrázek 3 solanidin

3.2.4.2 Tomatin

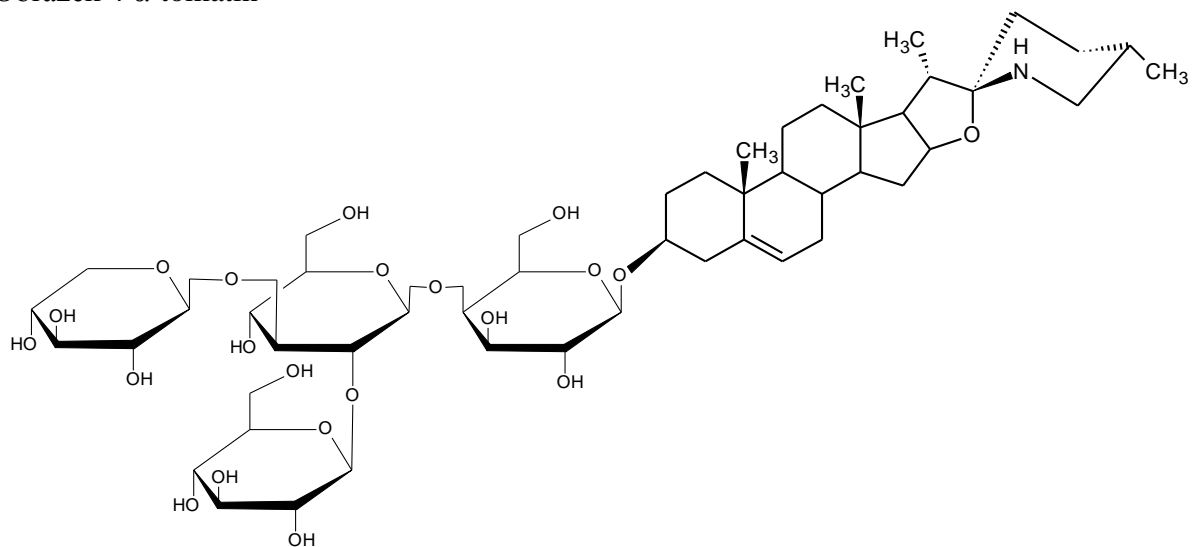
Je společný název pro dva glykoalkaloidy, a to α -tomatin a dehydrotomatin. V rajčatech je zastoupen hlavně α -tomatin, jeho obsah je několikrát vyšší než obsah dehydrotomatinu. α -tomatin je tvořen necukernou složkou (aglykonem) tomatidinem a cukernou složkou lykotetraosou. Tomatin se nachází ve všech částech rostliny. Jeho obsah v plodech je závislý na zralosti. S postupným zráním klesá obsah tomatinu až k nule. Dále závisí na podmínkách pěstování, skladování a době sklizení. Rajčata, která dozrávají již utržená, obsahují více tomatinu než rajčata, která dozrají přirozeně na rostlině. Jedno kilo zelených nezralých rajčat obsahuje až 500 mg α -tomatinu. Stejně množství zralých rajčat obsahuje asi 5mg α -tomatinu (Friedman, 2004). Pokud dojde k příjmu tomatinu s potravou, tyto glykoalkaloidy působí jako inhibitor enzymu cholinesterasy. Zjistilo se, že větší část tomatinu přijatého potravou se váže na cholesterol přítomný v trávenině do nevstřebatelných forem a vylučuje se stolicí. Jestli by se tomatin dal využít ke snížení hladiny krevního cholesterolu, teprve ukážou výsledky pokračujícího výzkumu. Dříve bylo různými pokusy zjištěno, že α -tomatin má výrazné teratogenní účinky. Následné pokusy prokázaly, že obavy byly přehnané a dnes není tomatin považován za nebezpečný (Kalač, 2009).

Tabulka 2 Rozložení α -tomatinu v rostlině rajčete (Hajšlová et Schulzová, 2007)

Část rostliny	Obsah (mg/kg č. hm.)
Květy	1148
Kořeny	402
Lodyha	351
Listy	1225
Plod	5-20



Obrázek 4 α -tomatin

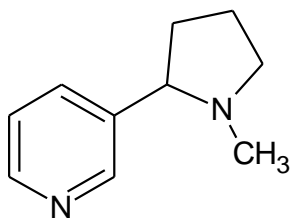


Obrázek 5 dehydrotomatin

3.2.4.3 Nikotin

Je tekutý alkaloid obsažený v listech tabáku (*Nicotiana tabacum*). Jedná se o pyridin-N-methylpyrrolidin. Je levotočivý. V rostlině se vyskytuje vázaný na kyselinu jablečnou nebo citrónovou. Je dobře rozpustný ve vodě, v lihu a v olejích. Vstřebává se kůží a při kouření se nikotin uvolňuje z listu tabáku do kouře a tak se vstřebává ústní, trávicí a dýchací sliznicí. Odbouráván je v játrech a částečně je vylučován močí (Riedl et Voráček, 1980). Nikotin je agonista nejrozšířenějšího neurotransmiteru v lidském těle – acetylcholinu. Znamená to, že nikotin aktivuje receptor podobně jako acetylcholin a k přenosu nervového vzruchu dojde i bez přítomnosti neurotransmiteru. Nikotinové receptory jsou v mozku a v kosterních svalech. Jejich aktivace v mozku krátkodobě zvyšuje bdělost a snižuje dráždivost. Aktivace ve svalech vyvolává záškuby nebo třes. To se projevuje u vyšších dávek jako intoxikace

u začínajících kuřáků, kteří ještě nemají vyvinutou toleranci k nikotinu nebo u silných kuřáků, kteří překračují míru tolerance nikotinu. Tolerance k nikotinu se vyvíjí zároveň se závislostí. S opakovaným dávkováním nikotinu roste počet nikotinových receptorů v mozku i ve svalech. Proto na dosažení stejného efektu je jich třeba obsadit více a dávka se zvyšuje. Kuřácký návyk je považován za jednu z nejsilnějších závislostí (Linhart, 2012). Ukázalo se, že nikotin může být i užitečným lékem. Výzkum na zvířatech dokázal, že stimulace nikotinových receptorů pro acetylcholin zlepšuje schopnost učení a paměť. Na základě těchto znalostí byly do léčby Alzheimerovy choroby zavedeny nikotinové náplasti. Nyní jsou ve vývoji léky, které působí jen na mozkové nikotinové receptory. Tím by se předešlo nežádoucím účinkům nikotinu na střevo, krevní tlak a srdeční frekvenci (Darlingová et Stone, 2003).

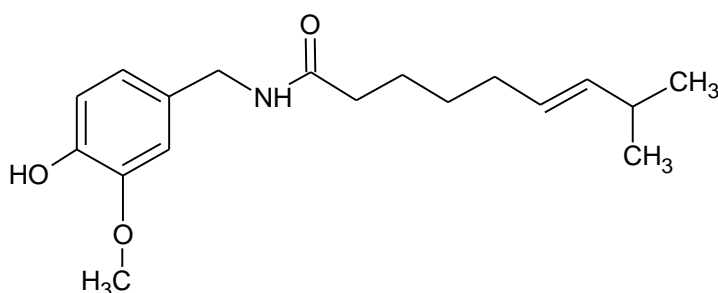


Obrázek 6 nikotin

3.2.4.4 Kapsaicin

Je to rostlinný alkaloid rodu *Capsicum*, který stojí za ostrou a pálivou chutí paprik. Kapsaicin a jeho deriváty (dihydrokapsaicin, nordihydrokapsaicin, homokapsaicin, homodihydrokapsaicin a další) se souhrnně označují jako kapsaicinoidy. Nejvíce zastoupen v paprikách je kapsaicin a dihydrokapsaicin. Sumární vzorec kapsaicinu je $C_{18}H_{27}NO_3$. Jeho molární hmotnost je 305,40 g/mol. Je to krystalická lipofilní látka bez barvy a zápachu. V roce 1876 ho poprvé v krystalické formě izoloval L. T. Tresh, který jej pojmenoval kapsaicin. Nelson a Dawson v roce 1919 objasnili jeho molekulární strukturu. Tento alkaloid se vyskytuje ve dvou izomerech cis a trans, nicméně stabilnější je trans izomer (Reyes-Escogido et al., 2001). Kapsaicinoidy jsou nejvýznamnější pro potravinářský a farmaceutický průmysl. Ovlivňují vnímání bolesti a termoregulaci. Jejich působení na nociceptivní zakončení nervů je zprostředkováno membránovým receptorem spřaženým s kationtovým kanálem, označovaným TRPV 1. TRPV 1 se aktivuje i jinými, strukturálně odlišnými látkami, látkami odvozenými od kyseliny vanilové. Dále se může aktivovat teplem (42- 43 °C) nebo kyselým extracelulárním prostředím (pH pod 6,3). Nezbytná podmínka aktivity

kapsaicinoidů je přítomnost amidové vazby (Lapčík et al, 2011). Různé studie prokázaly ochrannou roli kapsaicinu na zažívací trakt. Kapsaicin stimuluje sekreci žaludečních šťáv. Má silné antibakteriální účinky, hlavně vůči *Helicobacter pylori*. Je obsažen v léčích, které se používají na ochranu před žaludečními vředy. Dále je kapsaicin obsažen v přípravcích na hubnutí (Fattorusso et Taglialatela-Scafati, 2008). Masti, krémy a náplasti obsahující kapsaicin se používají na bolest kloubů a svalů. Z počátku přípravek pálí, ale po opakované aplikaci se citlivost nervů snižuje, takže vysílají do mozku méně bolestivých vzruchů a bolesti svalů a kloubů se zmírňují.

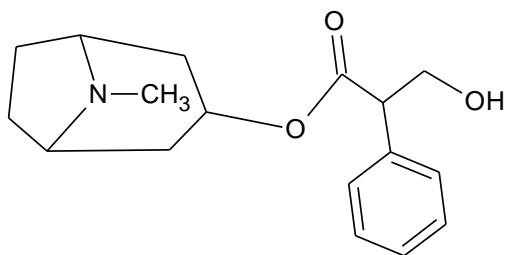


Obrázek 7 kapsaicin

3.2.4.5 Atropin

Atropin je tropanový alkaloid. Je to ester tropinu a kyseliny tropové. Jedná se o racemickou směs enantiomerů hyoscyaminu. Atropin je obsažený v lilkovitých rostlinách a to v rulíku zlomocném (*Atropa bella-donna*), blínu černém (*Hyoscyamus niger*), durmanu obecném (*Datura stramonium*) a mandragoře lékařské (*Mandragora officinarum*). Atropin se v těchto rostlinách vyskytuje společně s dalšími tropanovými alkaloidy, hlavně s hyoscyaminem, skopolaminem. Je to hořká bezbarvá krystalická látka, dobře rozpustná v etanolu a chloroformu. Poprvé byl izolován v roce 1833. Atropin má blokující účinky na acetylcholinové muskarinové receptory. Používá se jako parasympatolytikum například u hypermotility gastrointestinálního traktu, žaludeční hypersekrece, bradykardii aj. Dále se používá v očním lékařství. Způsobuje rozšíření zornic, což napomáhá diagnóze některých očních chorob. Oční kapky obsahující atropin se používají při poškození oka nebo léčbě vad. Původně byl atropin jakožto anticholinergikum podáván jako antiparkinsonikum, ale kvůli velkým nežádoucím účinkům, byl nahrazen novodobějšími anticholinergními látkami. Velmi dobře se atropin vstřebává z gastrointestinálního traktu, pomaleji sliznicí spojivek a proniká do centrální nervové soustavy. Hromadí se hlavně v játrech a ledvinách, kde je odbouráván. Přibližně čtvrtina se vylučuje močí v nezměněné podobě. Atropin je významným antidotem

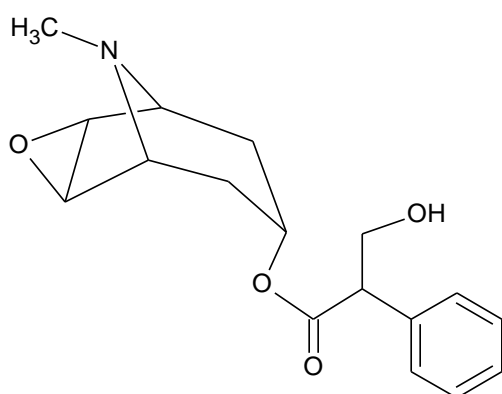
při otravě inhibitory acetylcholinesterázy, jako jsou organofosfátové a karbamátové insekticidy a organofosforové nervově paralytické látky.



Obrázek 8 atropin

3.2.4.6 Skopolamin

Je to tropanový alkaloid lilkovitých rostlin. Je to ester skopinu a kyseliny tropové. Chemicky je velmi blízký atropinu. Pouze levotočivá forma skopolaminu je účinná, právě jako u atropinu. Mají stejné farmakologické využití. Zřetelný rozdíl od atropinu je pouze v působení na centrální nervovou soustavu. Skopolamin nemá stimulační fázi na centrální nervovou soustavu. Je silným mydriatikem. Dnes se používá už jen vzácně a to jako antiparkinsonikum nebo jako antiemetikum při kinetózách (Hynie, 2001).



Obrázek 9 skopolamin

3.2.4.7 Hyoscyamin

Je tropanový alkaloid lilkovitých rostlin. Stejně jako dva předchozí alkaloidy ho nalezneme v durmanu obecném, rulíku zlomocném, blínu černém a dalších. Jedná se vlastně o levotočivý izomer atropinu. L-hyoscyamin má mnohem větší účinek než D-hyoscyamin a tím má menší účinek i atropin. Má stejné anticholinergní účinky jako atropin a skopolamin. Používá se jako spasmolytikum a mydriatikum.

3.2.5 Nežádoucí účinky

3.2.5.1 Základní pojmy

Dávka

Je to množství látky, které se dostalo do organismu a bylo vstřebáno.

Letální dávka (LD)

Je to dávka smrtelná. Udává se LD₅₀ – letální dávka, která vyvolá úhyn 50 % sledovaných jedinců.

Toxická dávka (TD)

Dávka jedu, která vede ke vzniku otravy, ale není smrtelná.

Toxická látka (jed)

Je to látka, která je schopna vyvolat nepříznivý účinek - otravu - již v malých dávkách.

Jedovatá rostlina

Jedovatá rostlina způsobuje po požití nebo vniknutí do těla poraněním poruchu zdraví (otravu) organismu. Jedovatost jednotlivých rostlin závisí na mnoha faktorech, například stáří rostliny, roční doba, kdy byla rostlina použita (Baloun, 1989).

Toxicita látek

Nejčastěji se vyjadřuje velikostí dávky potřebné k dosažení určitého účinku.

Akutní otrava

Akutní otrava je stav po jednorázovém požití jedovaté látky, popřípadě po požití opakovaném v poměrně krátkém intervalu, charakterizovaný klinickým obrazem prudké otravy ohrožující základní životní funkce postiženého (Baloun, 1989).

Chronická otrava

Chronická otrava je způsobena opakovaným příjmem jedu v dlouhém časovém rozmezí a obvykle v malých dávkách, které nevyvolávají akutní příznaky. Její průběh neohrožuje bezprostředně život, ale dlouhodobě nebo trvale poškozuje zdraví postiženého (Baloun, 1989).

Antidotum (Protijed)

Je to látka, která ruší účinek jedu na organismus.

Teratogenní účinek – poškození plodu vedoucí k narození defektního jedince. Látky s teratogenním účinkem mají schopnost poškodit embryo, případně plod při dávkách, které nejsou pro matku toxické. Teratogenní látky způsobují, že se dítě narodí životaschopné, ale deformované (Horák et al, 2004).

Mutagenní účinek - změna genetické informace vedoucí ke změně vlastnosti následujících generací. Genetická informace je uchována a přenášena prostřednictvím kyseliny deoxyribonukleonové (DNA) a ribonukleonové (RNA). Obě kyseliny jsou tvořeny dvoušroubovicemi - helixy. Vlákna šroubovice jsou k sobě poutány vodíkovými můstky v párech purinových a pyrimidinových bází. V DNA tvoří páry adenin-thymin a guanin-cytosin. V RNA je místo thyminu uracil. Pokud dojde působením chemické látky ke změně struktury některé base nukleonové kyseliny, ta poté není schopna vytvořit příslušný pár. Dochází tak ke změně kódované či přenášené genetické informace. Tato změna je mutace (Horák et al., 2004).

Karcinogenní účinek – změna genetické informace vedoucí ke zhoubnému nádorovému bujení. Mechanismus vzniku nádoru je složitý. Prvotní příčinou může být mutace. Vztah mezi mutagenitou a karcinogenitou není jednoznačný. Většina karcinogenů má mutagenní účinek, ale nádorové bujení může vyvolat i látka nemutagenní. V takovém případě se může jednat o poškození opravných mechanismů, které za normálních podmínek rozpoznají a opraví poškozenou DNA. Mutagen nemusí mít vždy karcinogenní účinek (Horák et al., 2004).

Farmakodynamické účinky alkaloidů:

analgetikum- látka snižující pocit bolesti,

spasmolytikum- látka uvolňující křeče,

mydriatikum- látka rozšiřující oční zornice,

antiemetikum- látka potlačující nevolnost a zvracení,

parasymptolytikum-látka tlumící činnost parasymptolytického systému.

3.2.5.2 Fyziologický účinek na lidský a živočišný organismus

Alkaloidy mají výrazný fyziologický účinek. Ve větších dávkách působí jako prudké jedy, v malých se používají jako léčiva. Účinek glykoalkaloidů lilkovitých rostlin spočívá v inhibici acetylcholinesterázy. Proto je nutné vysvětlit mnoho pojmů jako je receptor, acetylcholin, acetylcholinesteráza a další.

Receptor

Je specializovaná buněčná komponenta, se kterou látka reaguje a tím vyvolá charakteristickou odpověď. Většina receptorů je bílkovinné povahy. Receptor má dvě podstatné vlastnosti a to: 1. nese specifické vazebné místo, které umožňuje navázat pouze

určitý transmitter; 2. po vazbě transmitteru změni konformaci, popřípadě funkční stav receptorového proteinu. Receptory pro přenos signálů lze rozdělit podle struktury do čtyř skupin: 1. Receptory jako součást kanálů otvíraných transmittery, 2. receptory spřažené s G proteiny, 3. Receptory spřažené s enzymy, 4. Receptory jako součást transkripčních regulátorů ovlivnitelných ligandy.

Acetylcholin

Acetylcholin je neurotransmitter mnoha živočichů včetně člověka (nervový přenašeč, který chemicky zprostředkovává přenos impulsu z neuronu na cílovou tkáň). Působí na několika místech. Zprostředkovává přenos nervového podráždění na zakončení parasymptiku na cílovou tkáň, v sympatických i parasymptických gangliích, umožňuje přenos podráždění na nervosvalové ploténce a v některých oblastech centrální nervové soustavy. Vzniká v nervových zakončeních reakcí cholinu a acetylkoenzymu A za přítomnosti enzymu cholinacetyltransferázy. Je uložen v synaptických váčcích. Při nervovém podráždění, vlivem akčního potenciálu, dochází k vstupu vápníkových iontů do parasymptického nervového zakončení a acetylcholin je uvolňován z váčků do synaptické štěrby. Po uvolnění se rychle hydrolyzuje acetylcholinesterázou na acetát a cholin. Většina cholinu je použita znovu při syntéze acetylcholinu.

Acetylcholinesteráza

Acetylcholinesteráza je enzym, který rozkládá acetylcholin na cholin a acetát. Rychlý rozklad acetylcholinu je životně důležitý. Pokud by tento enzym nepracoval vůbec nebo pracoval méně, došlo by v důsledku nahromadění acetylcholinu k vážným zdravotním potížím.

Inhibice acetylcholinesterázy

Inhibicí acetylcholinesterázy dochází k hromadění acetylcholinu v nervové tkáni, což má za následek pokles krevního tlaku, malátnost, dušení, kolaps, střevní koliky a celkové křeče. Právě tento účinek mají glykoalkaloidy solanin a tomatin.

Parasympatolytický účinek tropanových alkaloidů

Parasympatolytický účinek tlumí činnost parasymptického systému (parasymptiku), který je součástí autonomního nervového systému, tedy není ovlivnitelný vůlí. Nervy parasymptiku uvolňují do žláz a hladkých svalů neurotransmitter acetylcholin. Acetylcholin

působí na muskartinové receptory neboli M – receptory. Aktivace M – receptorů zvyšuje činnost trávicí soustavy, vyvolává slinění, vylučování trávicích šťáv, zvyšuje pohyblivost trávicí trubice, zpomaluje srdeční činnost, zužuje průdušky a zmenšuje zornici. Parasympatikus má opačný účinek než sympatikus. Za normálních podmínek parasympatikus a sympatikus pracují v rovnováze. Tropanové alkaloidy jako je atropin, skopolamin a hyoscyamin inhibují činnost parasympatiku tak, že blokují muskarinové receptory parasympatiku. Látky s paralytickým účinkem se používají jako spasmolytika, bronchodilatancia, antiarytmika, mydriatika, antiemetika, antiparkinsonika a jako antidotum při otravě inhibitory acetylcholinesterázy.

3.2.5.3 Nežádoucí účinky alkaloidů lilkovitých rostlin

3.2.5.3.1 Solanin

Nepříjemná chuť hlíz brambor s velkým množstvím glykoalkaloidů představuje přirozenou překážku pro konzumaci zdravotně rizikového množství. Nicméně i ve vyspělých zemích jsou zaznamenány akutní otravy, z nichž některé skončily smrtí (Kalač et Míka, 1997). Otrava u člověka se projevuje zvracením, bolestmi břicha, průjemem. Dále neurologickými symptomy jako je neklid, otupění, poblouznění a halucinace. Ostatní pozorované příznaky byly např. horečka, rychlý, ale slabý puls, nízký krevní tlak, změny zbarvení pokožky, obtížný zrychlený dech a poruchy vidění (Jůzl et al, 2008). Tyto projevy a příznaky otravy se dostavují 0,5 až 12 hodin po požití. Solanin působí na lidský organismus dvěma odlišnými mechanismy. Prvním je inhibice enzymu acetylcholinesterázy, který je nezbytný pro přenos nervového vzruchu. Druhým mechanismem je narušení funkce membrán, konkrétně střevní mukózy, a tím ovlivnění činnosti trávicího traktu. Z dosavadních poznatků se zdá, že nejprve dojde k poškození střev a až poté k neurologickým poruchám (Kalač et Míka, 1997). Letální (smrtelná) dávka pro člověka je odhadnuta na 3-6 mg/kg tělesné hmotnosti. Což je dávka srovnatelná se strychninem nebo arzenikem. Toxická dávka pro člověka se v literatuře pohybuje od 2 do 5 mg solaninu na kg tělesné hmotnosti. Rozdíl mezi letální dávkou steroidních glykoalkaloidů a dávkou běžně přijímanou v potravě je vysvětlován rychle se zvětšující permeabilitou stěn trávicího traktu po dosažení jejich určité koncentrace ve střevním obsahu. Solanin se hromadí hlavně v játrech, ledvinách a plicích. K jeho mobilizaci dochází při metabolických stresech, jako je hladovění, těhotenství nebo oslabení nemocí. Rozdíl mezi dávkou přijatou z běžné stravy a z brambor s vysokým obsahem solaninu je překvapivě malý. Dospělý člověk v závislosti na hmotnosti může přijmout z 500g brambor až 0,7-0,9 mg solaninu/kg. Což je pouze čtyřikrát méně než dávka toxická. Původně se vědci

domnívali, že toxicita hlavních glykoalkaloidů u brambor je stejná. Avšak při pokusech se žabími embryi se ukázalo, že α -chaconin je toxičtější než α -solanin. Pokusy na zvířatech se také přišlo na to, že aglykony mají slabší toxické účinky než glykosidy. Dlouho se diskutovalo o teratogenním účinku solaninu, ale studie prováděné na laboratorních zvířatech teratogenitu neprokázaly. U žen, které chtějí otěhotnět nebo jsou v počátečním období těhotenství, se doporučuje v této souvislosti jistá opatrnost. Nabízí se otázka, zda glykoalkaloidy mohou vyvolat chronickou otravu. Zatímco akutní toxicita solaninu je podrobně prozkoumá, o chronických účincích je zatím jen málo informací. V posledních desetiletích se díky rozsáhlé osvětě o závadnosti zezelenalých a naklíčených brambor počet otrav snížil (Jůzl et al, 2008). Maximální povolená koncentrace solaninu v konzumních bramborách je podle zákona č. 110/1997 Sb. 200 mg/kg hlíz.

Pokud dojde k otravě a postižený nezvrací, je nutné vyvolat zvracení. V horším případě se provádí výplach žaludku suspenzí aktivního uhlí. Při křečích se podává diazepam. Léčí se příznaky.

Maximální povolená koncentrace v konzumních bramborách je podle zákona č. 110/1997 Sb. 200 mg/kg hlíz.

Doporučení pro konzumenty: skladovat hlízy ve tmě a za optimálních teplotních podmínek, nekonzumovat netradiční a neregistrované odrůdy, nekonzumovat silně mechanicky poškozené a zelené hlízy, při konzumaci oloupat slupku a vykrojit okolí oček, včasné zpracování oloupaných, rozkrájených nebo strouhaných hlíz.

U hospodářských zvířat doposud nejsou spolehlivé údaje o toxických a letálních dávkách. U skotu a prasat se otrava projevuje ztrátou chuti k jídlu, zvýšeným sliněním, zažívacími poruchami, neklidem, rozšířením zorniček, někdy i selháním krevního oběhu. Dlouhodobé krmení mladého skotu velkými dávkami bramboru způsobilo těžkou chronickou anémií. Drůbež je nejspíš odolnější vůči glykoalkaloidům než ostatní hospodářská zvířata. Avšak chovatelské zkušenosti poukázaly na značnou citlivost hus. V minulosti proběhl pokus krmení prasat naklíčenými bramborami v končícím výkrmu. Zvíře přijalo během 57 dní 27,5 g α -solaninu a α -chakoninu. Po skončení pokusu se ve hřbetním sádle zjistilo 0,30 mg/kg solanidinu. Z toho vyplývá, že konzumace těchto živočišných produktů není pro člověka zdravotním problémem (Kalač et Míka, 1997).

Doporučení pro chovatele: nezkrmovat zelené a mechanicky poškozené hlízy, odstranit klíčky z naklíčených brambor, po vaření slít varnou vodu a tu zásadně nezkrmovat.

3.2.5.3.2 Tomatin

Toxicita tomatinu se projevuje obdobně jako u solaninu zvracením, bolestmi břicha, průjmem a neurologickými symptomy. Podle testů na zvířatech se ukázalo, že tomatin je o něco mírnější než solanin.

3.2.5.3.3 Kapsaicin

Kapsaicin, který způsobuje pálivost paprik, dráždí receptory bolesti v ústech a vyvolává pocit pálení. K měření pálivosti se používá Scovilleho stupnice, která je pojmenována po americkém chemikovi Wilburu L. Scovillovi, který v roce 1912 publikoval metodu kvantitativního srovnávání pálivosti papriček - Scovilleho organoleptický test. K měření dle tohoto testu je zapotřebí paprika, voda a cukr. Paprika se smíchá s cukrem a vodou a následně se ochutná. Pokud roztok pálí, opět se naředí vodou a ochutná se. Tento proces se opakuje do té doby, kdy roztok nepálí. Stupeň naředění odpovídá náležitému číslu SHU. Sladká paprika má na Scovilleho stupnici hodnotu 0, protože neobsahuje žádný kapsaicin. Chuťové buňky si časem na opakovanou konzumaci paprik obsahující kapsaicin zvyknou a citlivost na ostrost poklesne. Takto vzniká závislost na ostřejších pokrmech. Otázkou zůstává, zda je pálivost paprik nežádoucí účinek, když právě pro tuto vlastnost, ji konzumenti vyhledávají. Dlouho se lidé domnívali, že ostré papričky způsobují vředy, ale ukázalo se, že tomu tak není. Zdravý jedinec se nemusí bát konzumace ostrých papriček i ve větším množství. Opatrní by měli být pouze jedinci, kteří trpí poruchami trávení, záněty močových cest nebo mají zvýšenou citlivost žaludku. Při používání přípravků obsahující kapsaicin, které se aplikují na kůži, se mohou projevit nežádoucí účinky v podobě nepříjemného svědění nebo zčervenání kůže. U citlivých osob může vzniknout alergická reakce typu kopřivkového zánětu kůže.

Tabulka 3 Škála pálivé chuti (Scoville scale)

Pálivost	Příklad
15000000–16000000	kapsaicin
8600000–9100000	kapsaicinoidy jako homokapsaicin
5000000–5300000	pepřový sprej
855000–1075000	Naga Jolokia
350000–580000	Red Savina habanero
100000–350000	Habanero chili, jamajský pepř
50000–100000	thajský pepř
30000–50000	kayenský pepř, papričky tabasco
10000–23000	pepř serrano
2500–8000	jalapeño, maďarská pálivá paprika, omáčka „Tabasco“ (červená)
500–2500	anaheimský pepř
100–500	pimento, peperoncini
0	bez pálivé chuti, sladká paprika

3.2.5.3.4 Nikotin

Závislost

Za kuřáckou závislost může samotný nikotin. Aktivace nikotinových receptorů v mozku zvyšuje uvolnění dopaminu. Dopamin je přenašeč nervového vzruchu a hormon hypotalamu. Opakované působení nikotinu snižuje aktivitu enzymu monoaminoxidázy (MAO) v mozku, která rozkládá dopamin. Inhibice tohoto enzymu zvyšuje množství dopaminu v mozku. Zvýšené uvolnění dopaminu a snížení jeho rozkladu je s největší pravděpodobností příčina návyku kuřáků na nikotin (Darlingová et Stone, 2003).

Léčba nikotinismu

Závislost na nikotinu je označována jako nikotinismus. Při odvykání kouření se postupuje tak, aby kuřáci nepozorovali vážnější abstinenční příznaky. Při léčbě se používají nikotinové náplasti, ze kterých se droga pomalu a trvale vstřebává kůží. Takto se kuřák zbavuje zvykových a rituálních stránek kouření, aniž by pociťoval příznaky z odnětí nikotinu. Dávka v náplastech se postupně snižuje. Nově byl do léčby zařazen bupropion. Jeho účinek je sporný. Potlačuje úzkost, běžnou součást abstinenčních příznaků, ale zdá se, že působí i přímo na touhu po nikotinu. Michael Pianezza z Addiction Research Foundation v Ontariu se svými

spolupracovníky zjistil, že silní kuřáci mají poruchu enzymu, který mění nikotin na jinou sloučeninu, na konitin. Už před tím bylo zjištěno, že návyk na kouření může způsobovat spíše konitin (Darlingová et Stone, 2003).

Rakovina plic

Bezpochyby je nikotin a kouření tabáku spojováno s rakovinou plic. I přesto, že nikotin není karcinogenní, stojí za návykovostí tabákových výrobků. Tedy návykovost hraje klíčovou roli. Karcinogenní účinek kouření je nejspíš důsledkem kombinovaného působení mnoha složek tabákového kouře. V cigaretovém kouři byly rozpoznány desítky karcinogenních látek: benzen, aromatické aminy, N-Nitrosoaminy, kadmium, nikl, akrylonitril a další. Ještě před 100 lety byla rakovina plic vzácným onemocněním. Nyní je v Evropě rakovina plic nejrozšířenějším druhem rakoviny. První náznaky, že kouření souvisí se zhoubnými nádory v plicích, se objevily již v 30. letech minulého století. Avšak trvalo dlouhou dobu, než se nashromáždily dostatečné epidemiologické důkazy, které poukazují na nárůst plicních nádorů v souvislosti se spotřebou cigaret (Linhart, 2012).

3.2.5.3.5 Toxicita tropanových alkaloidů prostřednictvím lilkovitých rostlin

Rulík zlomocný (*Atropa bella-dona* L.)

Všechny části této rostliny jsou jedovaté, nejvíce kořen a semena. Z celkového množství všech alkaloidů obsažených v rulíku je asi 70 % L-hyosciaminu. Další přítomné alkaloidy jsou atropin, L-skopolamin, apoatropin a belladonin (Jahodář et Baloun, 1989). Smrtelná dávka pro dítě se uvádí 3 až 4 bobule, pro dospělého 10 až 12 bobulí (Hrstková et Šebánek, 2002). Po pozření bobulí rulíku zlomocného se dostávají stavy podrážděnosti, zrychlené dýchání, sucho v ústech, rozšíření zorniček, bušení srdce, následně i smrt ochrnutím dýchacího centra. Rulík má halucinogenní účinky (Alberts et Mullen, 2002). Ve většině případů byly hospitalizovány s otravou děti, které se nechali zlákat bobulemi rulíku, které připomínají jedlé plody. V minulosti, ale byl zaznamenán případ, kdy dospělá žena si spletla bobule rulíku s borůvkami.

Pokud dojde k otravě, je nutné vyhledat lékařskou pomoc. Provádí se výplach žaludku velkým množstvím vody a aktivního uhlí. Ještě před zásahem lékaře je vhodné podat postiženému emetikum a vyvolat zvracení (Jahodář et Baloun, 1989).

Durman obecný (*Datura stramonium* L.)

Všechny části rostliny jsou jedovaté. Durman obsahuje 0,2-0,7 % tropanových alkaloidů, z nichž hlavní jsou L-hyosciamin a atropin. Starší rostliny obsahují více L-hyosciaminu, mladší zase L-skopolamin. Obsah alkaloidů v rostlině se mění v závislosti na půdních a povětrnostních podmínkách. Jako droga se používá sušený list (Folium stramonii). Jednotlivá dávka 0,3 g této drogy působí toxicky (Jahodář et Baloun, 1989). Příznaky otravy jsou euforie, pomnutí smyslů, rozšíření zornic, omámení, poruchy vidění, zástava dechu. Pokud dojde k intoxikaci, je nutné dostat jed z těla a to vyvoláním zvracení, výplachem žaludku nebo podáním živočišného uhlí. V případě poruchy dechových funkcí a apnoe se podává kyslík s intubací (Hrstková et Šebánek, 2002).

Blín černý (*Hyoscyamus niger* L.)

Celá rostlina je jedovatá, nejvíce však semena. Z celkového množství tropanových alkaloidů v rostlině je L-hyosciamin zastoupen z 60-75 %. Dalšími alkaloidy jsou L-skopolamin, atropin a apoatropin. Účinek Folium hyoscyami (sušené listy blínu) je slabší než účinek rulíkových nebo durmanových listů z důvodu jiného procentuálního zastoupení jednotlivých tropanových alkaloidů. Droga Folium hyoscyami již není oficiální v našem lékopise. Sušina listů obsahuje 0,05-0,15 % alkaloidů. Semena obsahují až 0,3 % alkaloidů (Jahodář et Baloun, 1989). Smrtelná dávka pro dítě je 15 semen. Příznaky otravy jsou křeče, stav rozrušení, halucinace, silný pocit žízně, zvracení, rozšíření zornic, omámení, poruchy polykání a řeči, nakonec poruchy vědomí a dechu (Hrstková et Šebánek, 2002).

Lilkovité rostliny jako plevele v krmivech pro hospodářská zvířata

Mezi jedovaté lilkovité rostliny, které produkují tropanové alkaloidy, patří například rulík zlomocný, blín černý, durman obecný a mandragora lékařská. Právě tyto rostliny se mohou vyskytovat jako plevele v porostech sóji, lnu, kukuřice, pšenice a čiroku. Jejich semena se mohou dostat do krmiv. V našich podmínkách se uvedené lilkovité rostliny jako plevele běžně nevyskytují. Vyskytují se hlavně v oblasti tropů a subtropů, kde nejčastěji znečišťují sóju. Byl proveden pokus, kdy byl sledován vliv *Datura ferox* u brojlerových kuřat a slepic na užitkovost a zdravotní stav. Alkaloidy byly dávkovány 1,5; 15; 75; 150 ppm. U kuřat došlo ke snížení růstu, ale nebyl zjištěn žádný vliv na srdeční činnost a dechovou frekvenci. U slepic množství 150 ppm snížilo snášku, ale neovlivnilo hmotnost vajec. Za bezpečné množství alkaloidů je považováno 75 ppm. Stejně jako u drůbeže se tropanové alkaloidy mohou dostat k prasatům prostřednictvím durmanu v krmné dávce sóji. U prasat

alkaloidy ovlivňují hlavně nervový systém (Opletal et Skřivanová, 2010). Je dokázáno, že králíci oproti lidem nebo jiným hospodářským zvířatům jsou značně odolní vůči tropanovým alkaloidům. Jejich maso se stává pro člověka jedovatým, pokud byli krmeni rostlinami obsahujícími tyto alkaloidy.

3.3 Metody stanovení alkaloidů

První alkaloidy byly izolovány již na počátku 19. Století. Přestože metody pro identifikaci a objasnění struktury alkaloidů se hodně změnily, metody izolace používané v minulosti jsou stále hojně používány (Jackson et Linskens, 1994). Aby mohl být proveden průkaz alkaloidu v rostlinném materiálu, léčivu, biologickém materiálu nebo v potravině, je nutné nejprve provést extrakci a popřípadě i jejich zakoncentrování. Extrakce slouží k odstranění dalších látek, které materiál obsahuje a jež by působily rušivě při další analýze. Zakoncentrování se používá velmi často, protože obsah alkaloidů bývá velmi malý.

3.3.1 Extrakce

Je to dělicí metoda, při které se převede ze směsi do roztoku jen jedna látka na základě větší rozpustnosti ve vhodném rozpouštědle. Existují různé způsoby extrakce, jako je perkolace, digesce a macerace aj. Běžně a dlouho používaná metoda je extrakce v Soxhletově extraktoru. Klasická metoda je extrakce kapalina/kapalina. Jedná se o dvě nemísitelné kapaliny, kdy látka z jedné fáze po protřepání přechází do druhé fáze. Alkaloidy jsou buď extrahovány z vodného roztoku s nemísitelným organickým rozpouštědlem (např. dichlormetan, dietyléter, chloroform) nebo z organického rozpouštědla s vodným okyseleným roztokem (např. kyselina fosforečná, sírová a citrónová). Další metoda často využívaná k izolaci alkaloidů je extrakce na tuhou fázi (SPE – Solid phase extraction). Nejčastěji používaným sorbentem je silikagel s chemicky vázanými oktadecylovými skupinami (C18). Výhodou oproti extrakci kapalina/kapalina je snížená spotřeba organických rozpouštědel. Dochází k zakoncentrování a odstranění rušících látek (Jackson et Linskens, 1994).

3.3.2 Chromatografické metody

Chromatografie jsou nejdůležitější a nejrozšířenější separační metody. Princip metody je rozdělování složek směsi vzorku mezi dvě fáze, nepohyblivou (stacionární) a pohyblivou (mobilní). Tyto dvě fáze se od sebe liší některou fyzikálně-chemickou vlastností. Vzorek je unášen soustavou spolu s pohybující se mobilní fází. Dělené složky vzorku reagují v různé míře se stacionární a mobilní fází. Podle použitých principů a podle charakteru separační funkce se chromatografie dělí na adsorpční, rozdělovací a iontově výměnnou. Podle povahy mobilní fáze se chromatografie dělí na plynovou nebo kapalnou. Dále se chromatografie dělí podle uspořádání stacionární fáze na sloupcovou nebo také kolonovou a plošnou. Dnes se

nejvíce používá chromatografie plynová a kapalinová. Obě jsou dostatečně citlivé, pracují s malým množstvím vzorku a vyhodnocování lze dobře automatizovat použitím výpočetní techniky.

3.3.2.1 Plynová chromatografie (GC- Gas Chromatography)

Plynová chromatografie je analytická separační metoda, která má hlavní postavení v analýze těkavých látek. Výhody této techniky jsou: jednoduché a rychlé provedení analýzy, účinná separace a malé množství vzorku potřebné k provedení analýzy. V praxi jsou nejvíce rozšířeny plynové chromatografy s kapilárními kolonami. Plynová chromatografie se dělí na chromatografii v systému plyn/pevná látka a na chromatografii plyn/kapalina. Mobilní fáze této chromatografie je nosný plyn. Nejčastěji jako nosný plyn se používá vodík, dusík nebo helium. Pro použití vhodného nosného plynu rozhodují tyto faktory: viskozita, účinnost, čistota, reaktivita, typ detektoru, cena plynu. V současné době je nejvíce rozšířena technika spojení plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GC/MS). Tato metoda spojuje vysokou separační účinnost plynové chromatografie a cenné strukturní informace hmotnostní spektroskopie. GC/MS se používá většinou ve spojení s elektronovou (EI) nebo chemickou (CI) ionizací.

3.3.2.2 Chromatografie na tenké vrstvě (TLC- Thin-Layer Chromatography)

Tenkovrstvá chromatografie slouží k rychlému a účinnému rozdělení jednotlivých extrahovaných a zakoncentrovaných látek. Pro zjišťování látek na chromatografické desce se využívá kombinace UV-detekce a postřik jednotlivých separovaných látek detekčními činidly. Nejpoužívanějšími mobilními fázemi pro tenké vrstvy silikagelu jsou chloroform – metanol, chloroform-etanol-amoniak a etyl acetát-pyridin-voda. Detekce je většinou prováděna Dragendorffovým činidlem, jodem nebo chloridem antimonitým. Touto metodou je možné například stanovit tropanové alkaloidy.

3.3.2.3 Vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC- High Performance Liquid Chromatography)

HPLC je nejrozšířenější chromatografická metoda a celkově nejčastěji používaná separační metoda. Obecně je tato metoda vhodná pro dělení organických méně těkavých kapalných a tuhých látek, které jsou rozpustné ve vodě, v organických rozpouštědlech nebo zředěných kyselinách. HPLC je založena na separaci analytů na základě jejich pohybu mezi stacionární a mobilní fází, která je vždy kapalná. Stacionární fáze je ukotvená

v chromatografické koloně. Během procesu izolace dochází k mnoha typům interakcí. Prosazují se interakce analytů s mobilní fází, interakce mobilní fáze se stacionární a sorpce analytů na stacionární fázi. Jako stacionární fáze se používá silikagel nebo méně často oxid hlinitý. Jako mobilní fáze se používá voda, organická rozpouštědla a jejich směsi. Pro stanovení alkaloidů touto metodou se používají různé mobilní a stacionární fáze a také různé druhy detekcí. Velmi častou detekcí je UV (ultrafialové) záření. Ještě větší citlivost než detekce pomocí UV záření, má vysoce účinná kapalná chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (MS-Mass spectrometry). HPLC/MS je nejvíce spojována s ionizačními technikami pracujícími za atmosférického tlaku (API- Atmospheric Pressure Ionization) a ionizace elektrosprejem (ESI) a chemická (APCI) (Gilbert et Senyuva, 2008).

3.3.3 Jiné metody

Ke stanovení alkaloidů se využívá nukleární magnetická rezonance (NMR). Je to metoda založená na absorpci radiofrekvenčního elektromagnetického záření jádru některých atomů v molekulách analyzovaných látek umístěných v magnetickém poli. Pro stanovení alkaloidů se používají dva typy NMR: ^1H NMR a ^{13}C NMR. Dále se používají biochemické metody nebo kapilární isotachoforéza.

3.3.4 Metody stanovení glykoalkaloidů u bramboru

Před vlastním stanovením glykoalkaloidů je vzorkování, extrakce a čištění vzorků.

3.3.4.1 Chromatografické metody

Pro stanovení glykoalkaloidů u brambor se používá tenkovrstvá (TLC), plynová (GC) a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC). Nejrozšířenější a nejvýhodnější chromatografickou metodou je HPLC. Nejčastěji se pro separaci používá kolona plněná silikagelem s vázanými C18 nebo s vázanými aminopropylovými skupinami. Jako mobilní fáze se používá směs acetonitrilu a vody, někdy vodného pufru. Nejčastější u HPLC je UV detekce.

3.3.4.2 Kapilární isotachoforéza

Je separační technika, která využívá vlastnosti heterocyklické dusíkaté části molekuly glykoalkaloidů. Tato metoda umožňuje vedle sebe separovat glykoalkaloidy a jejich aglykony. Výhodou kapilární isotachoforézy jsou nízké provozní náklady. Nevýhodou je, že nelze separovat solanin od chaconinu.

3.3.4.3 Biochemické metody

Ke stanovení glykoalkaloidů se také dají využít biochemické metody ELISA a RIA. Výhodou těchto metod je, že nevyžadují extrakci ani čištění vzorku. Jsou vysoce specifické, rychlé a citlivé. Nevýhodou je vysoká cena. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) se využívá pro stanovení celkových glykoalkaloidů. RIA (Radioimmunosay) je metoda citlivější, která se využívá ke stanovení solanidinu v tělních tekutinách. Tyto metody jsou vhodné hlavně pro šlechtitelské účely.

3.3.4.4 MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry)

Je metoda, která nevyžaduje čištění ani koncentrování vzorků před analýzou. Výhodou této techniky je stanovené množství vzorků za krátký čas. Během dvou hodin lze stanovit 10 až 15 vzorků. Nevýhodou jsou pořizovací náklady spektrometru.

4 Závěr

Alkaloidy jsou dusíkaté sekundární metabolity rostlin. Jsou to organické sloučeniny zásaditého charakteru. Dusík obsahují vázaný převážně v heterocyklu. V rostlině mají většinou ochrannou funkci. Alkaloidy mají silný fyziologický účinek na živočišný organismus. V malé dávce mohou působit terapeuticky, ve větším množství mohou způsobit otravu až smrt.

Rostliny čeledi lilkovité (*Solanaceae*) jsou bohaté na alkaloidní strukturu. Do této čeledi patří rostliny prudce jedovaté, farmaceuticky a hospodářsky významné. Durman obecný, blín černý a rulík zlomocný obsahují tropanové alkaloidy. Tyto rostliny byly hojně používány v minulosti v léčitelství, dále jako drogy nebo jedy. Atropin, hyoscyamin a skopolamin jsou nejvýznamnější tropanové alkaloidy. Mají paralytický účinek. Nejčastěji se používají jako spasmolytikum a mydriatikum.

Lilek brambor a lilek rajče obsahují zvláštní skupinu alkaloidů glykoalkaloidy. Jejich molekula se skládá z nepolární steroidní části, z polární sacharidické části a dusíkatého heterocyklu. V bramboru se nachází α -solanin a α -chaconin, společně se označují solanin. Rajče obsahuje α -tomatin a dehydrotomatin, dohromady jsou nazývané jako tomatin. Ve větším množství mohou být pro konzumenty toxické. Jejich účinek na živočišný organismus spočívá v inhibici acetylcholinesterázy. Povolené pěstované odrůdy bramboru a rajčete nepředstavují riziko pro konzumenty, neboť zdaleka nedosahují maximální povolenou hranici obsahu glykoalkaloidů 200 mg/kg.

Dobře známým alkaloidem lilkovitých rostlin je nikotin, který je obsažen v tabáku. Nikotin je zodpovědný za kuřáckou závislost. Nově je používán při léčbě Alzheimerovy choroby. Nikotin je přirozenou ochranou rostliny tabáku před škůdci, a proto je používán jako insekticid. Kapsaicin je alkaloid rodu paprika (*Capsicum*), který způsobuje jejich ostrou a pálivou chuť. Dnes je používán v lékařství při léčbě vředů nebo proti bolesti kloubů a svalů.

Pro stanovení alkaloidů se používá mnoho metod, nejvíce metody chromatografické. Nejvýhodnější a nejčastěji používanou je vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC).

5 Seznam literatury

- Alberts, A., Mullen, P. 2002. Psychoaktivní rostliny, houby a živočichové. Svojtka. Praha. 267s. ISBN: 80-723-7518-0.
- Aniszewski, T. 2007. Alkaloids – secret of life: alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role. Elsevier. Oxford. 316p. ISBN: 978-0-444-52736-3.
- Český lékopis 2009 = Pharmacopoea Bohemica MMIX: 2. díl, Evropská část. 1. Vyd. 2009. Grada. Praha. 1496s. ISBN: 978-80-247-2994-7.
- Fattorusso, E., Tagliatalata-Scafati, O. 2008. Modern alkaloids: structure, isolation, synthesis and biology. Wiley-VCH. Weinheim. ISBN: 35-273-1521-7.
- Friedman, M. 2004. Analysis of biologically active compounds in potatoes (*Solanum tuberosum*), tomatoes (*Lycopersicon esculentum*), and jimson weed (*Datura stramonium*) seeds. *Journal of Chromatography A*. vol. 1054. 143-155.
- Gilbert, J., Senyuva, H. Z. 2008. Bioactive compounds in foods. Blackwell Pub. Oxford. 409p. ISBN: 14-051-5875-1.
- Hajšlová, J., Schulzová, V. 2007. Toxické alkaloidy v potravním řetězci člověka. VŠCHT. Praha.
- Harborne, J., Baxter, H. 2001. Chemical dictionary of economic plants. New York: John Wiley. 217p. ISBN: 04-714-9226-4.
- Horák, J., Linhart, I., Klusoň, P. 2004. Úvod do toxikologie a ekologie pro chemiky. VŠCHT. Praha. 188s. ISBN: 80-708-0548-X.
- Hrdina, V. 2004. Přírodní toxiny a jedy. Galén. Praha. 302s. ISBN: 80-726-2256-0.
- Hrstková, H., Šebánek, J. 2002. Významné jedovaté rostliny v našem okolí. Institut pro vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví. Brno. 253s. ISBN: 80-701-3353-8.
- Hynie, S. 2001. Farmakologie v kostce. Triton. Praha. 520s. ISBN: 80-725-4181-1.
- Jackson, J. F., Linskens, H., F. 1994. Modern Methods of Plant Analysis. Alkaloids. Springer-Verlag. Berlin. ISBN: 03-875-2738-9.
- Jahodář, L. 2011. Farmakobotanika: semenné rostliny. Karolinum. Praha. 287s. ISBN: 978-80-246-2015-2.
- Jahodář, L., Baloun, J., 1989. Rostliny způsobující otravy a alergie. Avicem. Praha. 235s. ISBN: K51441.

- Jůzl, M., Zrůst, J., Hlušek, J. 2008. Rizikové látky v bramboru (*Solanum tuberosum L.*) a ve výrobcích z hlíz: Hazardous substances in potato plants (*Solanum tuberosum L.*) and potato-tuber products: monografie. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Brno. 139s. ISBN: 978-80-7375-167-8.
- Kalač, P. 2009. Lykopen a tomatin v rajčatech. *Výživa a potraviny*. 64 (4). 89-91.
- Kalač, P., Míka, V. 1997. Přirozené škodlivé látky v rostlinných krmivech. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 317s. ISBN: 80-851-2096-8.
- Lapčík, O., Opleta, I. L., Moravcová, J., Čopíková, J., Drašar, P. 2011. Přírodní látky a jejich deriváty chuti pálivé. *Chemické listy*. 105. 452-457.
- Linhart, I. 2012. Toxikologie: interakce škodlivých látek s živými organismy, jejich mechanismy, projevy a důsledky. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Praha. 375s. ISBN: 80-701-3353-8.
- MacAdam, J. W. 2009. Structure and function of plants. Wiley-Blackwell. Iowa. 287p. ISBN: 08-138-2718-3.
- Mann, J. 1996. Jedy, drogy, léky. Academia. Praha. 203s. ISBN: 80-200-0508-0.
- Novák, J. 2007. Jedovaté rostliny kolem nás. Grada. Praha. 176s. ISBN: 978-802-4715-490.
- O potravinách a tabákových výrobcích: Zákon č. 110/1997Sb. o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů. *Ekonomický a právní poradce podnikatele*, 24.06. 1997.
- Opletal, L., Skřivánková, V. 2010. Přírodní látky a jejich biologická aktivita. Karolinum. Praha. 653s. ISBN: 978-802-4618-012.
- Patočka, J., Míka, V. 2008. Nutriční toxikologie. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. České Budějovice. 71s. ISBN: 978-80-7394-055-3.
- Pavela, R. 2006. Rostlinné insekticidy: hubíme hmyz bez chemie. Grada. Praha. 75s. ISBN: 80-247-1019-6.
- Pendell, D. 2009. Pharmako gnosis: fantastika a daimonika: [moc rostlin a cesta jedů]. Dybbuk. Praha. 447s. ISBN: 978-808-6862-910.
- Reyes-Escogido, M., Gonzalez-Mondragon. E. G., Vazquez-Tzompantzi, E. 2011. Chemical and Pharmacological Aspects of Capsaicin. *Molecules*. 16. (12). 1253-1270.
- Riedl, O., Vondráček, V., a kol. 1980. Klinická toxikologie: toxikologie léků, potravin, jedovatých živočichů a rostlin aj. Avicem. Praha. 820s.
- Řehoř, J. 1973. Organická chemie. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 645s.

- Slavík, B. 2000. Květena České republiky. Academia. Praha. 770s. ISBN: 80-200-0306-1.
- Stewart, A., Darlingová, G. 2011. Zlé rostliny a další botanická zvěrstva: rostliny, které zabíjejí, poškozují, omamují a jinak zlobí. Grada. Praha. 236s. ISBN: 978-802-4739-366.
- Stone, T., Darlingová, G. 2003. Léky, drogy, jedy. Academia. Praha. 440s. ISBN: 80-200-1065-3.
- Uhlík, J. 2002. Blín černý – *Hyoscyamus niger* L. Rostlinolékař. 13 (3). 27-29.
- Vodrážka, Z. 2002. Biochemie. Academia. Praha. 191s. ISBN: 80-200-0600-1.