


Interakce biogenních aminů s vybranými sacharidy

Karolina Klimešová

Bakalářská práce
2016

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Karolina Klimešová**
Osobní číslo: **T14914**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Interakce biogenních aminů s vybranými sacharidy**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Stručná charakteristika biogenních aminů a jejich význam v potravinách
2. Klasifikace interakcí biogenních aminů s dalšími sloučeninami
3. Popis interakcí biogenních aminů se sacharidy



Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

- [1] SILLA, Santos. Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 1996. 213-231. ISSN 0168-1605
- [2] PIPER, IM. MACLEAN, DB. KVARNSTROM, I. SZAREK, WA. Pictet Spengler reaction of biogenic amines with carbohydrates. Synthesis of novel C-nucleosides. *Canadian Journal of Chemistry*, 1983. 2721-2728. ISSN 0008-4042
- [3] MACLEAN, DB. SZAREK, WA. KVARNSTROM, I. The Pictet Spengler reaction in carbohydrate chemistry. Reactions of sugars with biogenic amines. *Journal of the Chemical Society. Chemical Communications*, 1983. 601-602. ISSN 0022-4936
- [4] ONAL, A. A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry*, 2007. 1475-1486. ISSN 0308-8146
- [5] JONES, GP. RIVETT, DE. TUCKER, DJ. The reaction of biogenic amines with proteins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1981. 805-812. ISSN 0022-5142

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. František Buňka, Ph.D.

Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

2. února 2016

Termín odevzdání bakalářské práce:

4. května 2016

Ve Zlíně dne 2. února 2016

doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: KLIMEŠOVÁ KAROLINA

Obor: CHTP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 4.5.2016

Klimešová

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odplácí-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihledne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Biogenní aminy jako produkty metabolismu mikroorganismů jsou velmi diskutovaným tématem v poslední době. Cílem této práce je charakterizovat biogenní aminy, popsat reaktivitu biogenních aminů s dalšími sloučeninami a reaktivitu sloučenin obsahujících aminoskupinu. Jelikož obsahují reaktivní aminoskupinu, mohou interagovat s velkým množstvím látek, čehož může být kladně využíváno. Hlavním cílem bakalářské práce je prostudovat dosud popsané reakce biogenních aminů s vybranými sacharidy. Byly popsány reakce, kterých se účastní biogenní aminy a sacharidy mechanismem Pictet-Spenglerovy kondenzace a Maillardovy reakce.

Klíčová slova: biogenní aminy, amin, reaktivita, sacharidy

ABSTRACT

Biogenic amines as products of the metabolism are a largely discussed theme in these days. The aim of this bachelor's thesis is to characterize biogenic amines, describe the reactivity of biogenic amines with other compounds and the reactivity of compounds involving other amines groups. Because they contains reactive amino group, biogenic amines can react with a lot of other substances. The reactivity with other substances could be positively applied. The main aim of this bachelor's thesis is to examine the reactions of biogenic amines with chosen carbohydrates, which were already described in these days, such as that ones, in which biogenic amines and carbohydrates participate and the reaction course runs through the Pictet-Spengler condensation and Maillard reaction.

Keywords: biogenic amines, amines, reactivity, carbohydrates

Tímto bych ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce panu doc. Ing. Františku Buňkovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, trpělivost a čas, který mi věnoval při zpracovávání této práce. Dále bych poděkovala mé rodině a přátelům za podporu po celou dobu studia.

Prohlašuji, že bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně veškerá a použitá literatura je citována. Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně

.....

Podpis studenta

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST.....	10
1 CHARAKTERISTIKA BIOGENNÍCH AMINŮ A JEJICH VÝZNAM V POTRAVINÁCH.....	11
1.1 BIOGENNÍ AMINY	11
1.2 VZNIK BIOGENNÍCH AMINŮ	11
1.3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VZNIK BIOGENNÍCH AMINŮ	11
1.4 ROZDĚLENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ.....	12
1.5 METODY DETEKCE BIOGENNÍCH AMINŮ	13
1.6 VYBRANÉ BIOGENNÍ AMINY A JEJICH FUNKCE	14
1.7 BIOGENNÍ AMINY V POTRAVINÁCH.....	16
1.8 ÚČINKY BIOGENNÍCH AMINŮ NA ORGANISMUS.....	18
2 INTERAKCE BIOGENNÍCH AMINŮ S DALŠÍMI SLOUČENINAMI.....	19
2.1 PŘEHLED ZÁKLADNÍCH REAKCÍ AMINŮ.....	19
2.1.1 Diazotace a nitrosace aminů.....	19
2.1.2 Oxidace aminů	21
2.1.3 Elektrofilní aromatická substituce aminů - reakce arylaminů.....	21
2.2 SYNTÉZA VYBRANÝCH DERIVÁTŮ TRYPTAMINU.....	22
2.3 SYNTÉZA BENZAMIDOVÝCH DERIVÁTŮ NA BÁZI TRYPTAMINU	24
2.4 SYNTÉZA B-HYDROXYSEROTONINU.....	29
3 INTERAKCE BIOGENNÍCH AMINŮ SE SACHARIDY	31
3.1 MAILLARDOVY REAKCE	31
3.1.1 Mechanismus Maillardovy reakce	32
3.1.1.1 Iniciační glykace	32
3.1.1.2 Propagační- degradace Amadoriho produktů.....	32
3.1.1.3 Terminační- tvorba koncových produktů glykace	32
3.1.2 Maillardova reakce 18-F-fluorodeoxyglukózy s biologickými aminy.....	32
3.2 PICTET-SPENGLEROVA REAKCE.....	33
3.2.1 Mechanismus Pictet-Spenglerovy reakce	33
3.2.1.1 Reakce hydrochloridu dopaminu s D-glukózou	34
Obr.2: Reakce hydrochloridu dopaminu s D-glukózou.....	35
3.2.1.2 Reakce hydrochlorid tryptaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou	35
Obr. 3: Reakce hydrochlorid tryptaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou.....	36
3.2.1.3 Reakce hydrochloridu dopaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou	36
Obr. 4: Reakce hydrochloridu dopaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou	36
3.2.1.4 Reakce dihydrochloridu histaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou	37
Obr. 5: Reakce dihydrochloridu histaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou	37
ZÁVĚR	38
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	39
SEZNAM OBRÁZKŮ	43
SEZNAM TABULEK.....	43

ÚVOD

Biogenní aminy tvoří rozsáhlou skupinu dusíkatých sloučenin, které jsou produktem dekarboxylace aminokyselin mikroorganismy nebo jejich enzymy. Jejich vznik je ovlivňován podmínkami, jako jsou například teplota, pH, dostupnost substrátu, vlhkost prostředí, ... Struktura obsahuje vždy aminoskupinu $-NH_2$ a může být alifatická, aromatická a heterocyklická. Ve velké míře se vyskytují v potravinách a při nadměrném příjmu mohou působit na zdraví konzumenta. Nejznámějšími biogenními aminy jsou histamin, tyramin, kadaverin, spermin a spermidin. [1, 3, 7, 19]

Biogenní aminy obsahují aminoskupinu $-NH_2$, která je velmi reaktivní díky přítomnosti volného elektronového páru na atomu dusíku, který významně ovlivňuje reaktivitu aminů. Mezi základní reakce, kterých se účastní aminosloučeniny jsou diazotace a nitrosace, které poskytují diazoniové a arendiazoniové produkty. Oxidace na nitro- nebo nitrososloučeniny a elektrofilní aromatická substituce. Aminy dále podléhají reakcím jako jsou neutralizace, nukleofilní substituce, u aromatických aminů se můžeme setkat i s kopulací. [22, 23]

Při interakci aminosloučenin se sacharidy se uplatňují dva mechanismy – část komplexu Maillardových reakcí a mechanismus Pictet-Spenglerovy kondenzace. Při Maillardových reakcích reaguje karbonylová funkční skupina redukujícího sacharidu s aminoskupinou za vzniku sensoricky aktivních látek. Při skladování jsou tyto reakce časté, většinou je snaha je potlačit, ale v pár případech jsou změny žádoucí. Mechanismus Pictet-Spenglerovy reakce vede k zisku buď β -karbolinů nebo isocholinů, přičemž výchozími látkami jsou aromatické aminy nebo aldehydy. Bylo by přínosné, kdyby interakcí mezi sacharidem (nebo deriváty sacharidů s karbonylovou skupinou) a biogenním aminem mechanismem Pictet-Spenglerovy reakce, byly využívány pro syntézu nových C-glykosidů nebo a meziproductů pro syntézu isocholinových alkaloidů. [26, 27, 28, 29, 33]

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERISTIKA BIOGENNÍCH AMINŮ A JEJICH VÝZNAM V POTRAVINÁCH

1.1 Biogenní aminy

Biogenní aminy jsou řazeny mezi základní dusíkaté sloučeniny s charakterem organických bází o nízké molekulové hmotnosti. Jsou syntetizovány enzymy mikrobiálního, rostlinného a živočišného metabolismu, převážně dekarboxylací aminokyselin, aminací nebo transaminací aldehydů a ketonů. Jejich chemická struktura může být alifatická, heterocyklická a aromatická. Další případnou skupinou mohou být tzv. polyaminy, kam někteří autoři řadí kadaverin, putrescin, spermin a spermidin mezi polyaminy. Polyaminy jsou sloučeniny obsahující ve své molekule více než jednu aminoskupinu $-NH_2$, které se účastní mnoha fyziologických procesů v rostlinném organismu, jako například buněčné dělení, růst, vývoj orgánů, stárnutí listů a další. BA jsou zdrojem dusíku a prekurzorů pro syntézu hormonů, alkaloidů, nukleových kyselin a proteinů. Mohou ovlivňovat děje v organismu, jako například regulaci tělesné teploty, zpracování výživy nebo zvyšování či snižování krevního tlaku. [1, 2, 3]

1.2 Vznik biogenních aminů

Biogenní aminy vznikají především dekarboxylací aminokyselin nebo aminací a transaminací aldehydů a ketonů. Dekarboxylací se rozumí proces, kdy při působení katalyzovaných enzymů, tzv. dekarboxyláz aminokyselin, dojde k odstranění oxidu uhličitého ze substrátu. Aminace je zavedení aminoskupiny do organické sloučeniny. Transaminace je reverzibilní reakce, při které se působením biokatalyzátoru (enzym aminotransferáza) vymění aminoskupina α -aminokyseliny s oxoskupinou 2-oxoskupiny. Při transaminaci se vytváří z aminokyseliny 2-oxokyselina a z původní 2-oxokyseliny vzniká aminokyselina. Předpokládá se, že mikroorganismy produkují BA jako ochranný mechanismus pro udržení intracelulárního homeostatického tlaku při růstu v prostředí s kyselým pH, jelikož při dekarboxylaci se spotřebuje proton a to vede ke zvýšení pH. [1, 4, 5]

1.3 Faktory ovlivňující vznik biogenních aminů

Mezi faktory ovlivňující vznik biogenních aminů v potravinách patří fyzikálně-chemické parametry (NaCl, pH a zrání teplota), podmínky skladování a distribuce, výrobní procesy a postupy, přítomnost dekarboxylázy pozitivních mikroorganismů a dostupnost volných

aminokyselin. Pro řízení biogenních aminů v potravinách je rozhodujícím faktorem právě přítomnost bakterií a inhibice jejich růstu a produkce enzymů [1, 6]

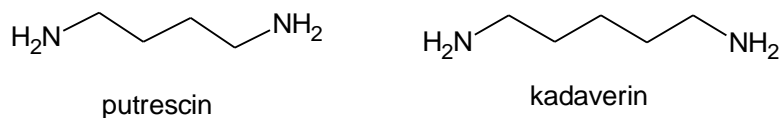
Produkce biogenních aminů je ovlivňována dostupností substrátu, koncentrací solí a teplotou. S ohledem na teplotu skladování se názory liší, protože v některých případech teplota skladování neovlivnila produkci biogenních aminů vůbec a vyšší koncentrace byly tedy způsobeny pouze dobrou skladování. Optimální teplota pro vznik biogenních aminů se udává mezi 20 °C a 37 °C, jelikož to jsou teploty, při kterých roste většina dekarboxylázu produkujících bakterií a při teplotách nižších se jejich růst snižuje až zastavuje. [1, 3]

Hodnota pH také významně ovlivňuje dekarboxylázovou aktivitu bakterií. Obecně lze říci, že je produkce aminů bakteriemi v kyseljším prostředí vyšší. Vyplývá to například ze zjištění, že histamin je ve víně produkován nad pH 3,77, tyramin v makrelách byl ve vyšších koncentracích pouze pod pH 5. Podobných výsledků bylo zjištěno i u dalších potravin. Je předpokládáno, že enzymy produkované bakteriemi, které dále tvoří biogenní aminy, jsou obrannými mechanismy bakterií proti kyselosti. [1, 3]

Dalšími významnými faktory je přítomnost zkvasitelných cukrů, kyslíku a soli. Přítomnost D-glukózy zvyšuje růst a dekarboxylázovou aktivitu bakterií. Optimální koncentrace D-glukózy je v rozmezí 0,5-2 % (w/w), ale pokud je obsah D-glukózy nad 3 % (w/w), je naopak aktivita bakterií inhibována. Přívod kyslíku má vliv na vznik biogenních aminů, záleží ale na přítomném mikroorganismu. Například *Enterobacter cloacae* produkuje asi o polovinu méně putrescinu v anaerobním prostředí ve srovnání s produkcí v aerobních podmínkách. V obdobných podmínkách produkuje *Klebsiella pneumoniae* výrazně méně Kadaverinu, ale získává schopnost produkovat putrescin za anaerobních podmínek. Přítomnost chloridu sodného aktivuje tyrosin dekarboxylázu. V přítomnosti 3,5 % (w/w) NaCl se zpomaluje tvorba histaminu u bakterií *Lactobacillus buchneri*, v 5 % (w/w) NaCl se jeho produkce zcela zastaví. NaCl iniciuje dekarboxylázovou aktivitu tyrosinu. [3]

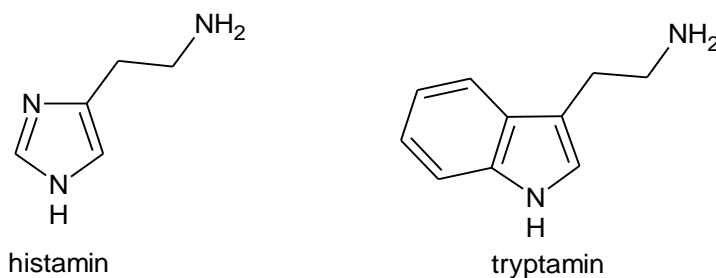
1.4 Rozdělení biogenních aminů

Základní dělení biogenních aminů je podle jejich struktury. Nejjednodušší jsou alifatické struktury, ve kterých biogenní amin neobsahuje aromatické jádro. Mezi alifatické biogenní aminy je řazen například kadaverin, putrescin, spermin a spermidin. Alifatická struktura je zobrazena na obrázku č. 1.



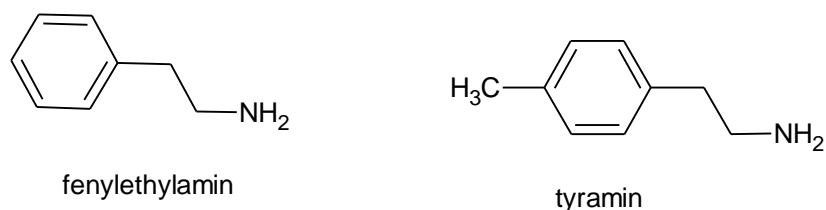
Obrázek č. 1: struktura alifatických aminů

Další skupinou biogenních aminů rozdělených podle struktury jsou sloučeniny heterocyklické, které mimo atomů uhlíku obsahují v cyklu i jiné atomy, patří sem například tryptamin a histamin.



Obrázek č. 2: struktura heterocyklických aminů

Třetí základní rozdělení biogenních aminů podle struktury zahrnuje sloučeniny aromatické, které splňují podmínky aromaticity (systém splňuje Hückelovo pravidlo, obsahuje konjugovaný systém vazeb, počet π -elektronů je $4n+2$, je planární). Je zde řazen zejména tyramin a 2-fenylethylamin. [7]



Obrázek č. 3: struktura aromatických aminů

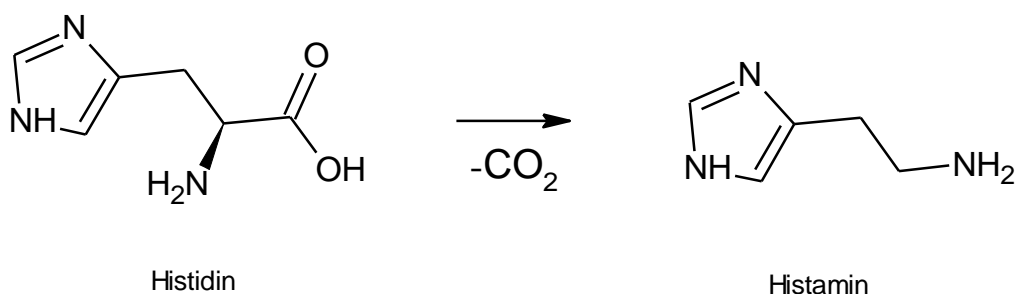
1.5 Metody detekce biogenních aminů

Preventivním opatřením biogenních aminů je detekce mikroorganismů produkujících dekarboxylázu. K identifikaci těchto bakterií se využívá jak kvalitativních tak kvantitativních metod. Mikrobiologické metody jsou založeny na použití dekarboxylačního média s pH indikátorem a jednu či více aminokyselin jako prekurzory biogenních aminů Mezi analy-

tické separační metody detekce biogenních amin je řazena tenkovrstvá chromatografie (TLC) a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC). Dále lze využít technik plynové chromatografie (GC), kapilární elektroforézu (CE) a metodu molekulární biologie polymerázovou řetězovou reakci (PCR). [8, 9, 10]

1.6 Vybrané biogenní aminy a jejich funkce

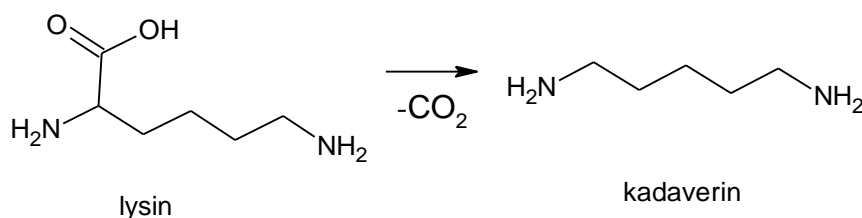
Významným biogenním aminem je **histamin**, který bývá řazen mezi hormony a neurotransmitery a ve velkém množství může působit jako alergen. Je možné jej nalézt téměř ve všech tkáních, kůži, krvinkách,... Histamin má krystalickou strukturu, je rozpustný ve vodě. Tvoří se dekarboxylací aminokyseliny histidinu působením enzymu histidindecaboxylázy. Je tvořen bakteriemi rodu *Enterobacteriaceae*, *Achromobacter histamineum*.... Nejčastěji kontaminovanými potravinami jsou ryby, zejména makrela, tuňák, treska, dále může být vyšší množství ve špenátu, lilku, banánech, sýru a vínu. Požití většího množství tohoto biogenního aminu (více než 250 mg) může vést k nežádoucím účinkům jako jsou trávicí potíže, návaly horka, bolesti hlavy. Histamin při příjmu vyšších dávek snižuje krevní tlak, způsobuje astma, záněty spojivek, kopřivky a střevní potíže. Na obrázku č. 4 je znázorněn vznik histaminu z jeho prekurzoru histidinu. [11,12,13]



Obrázek č. 4: schéma vzniku histaminu

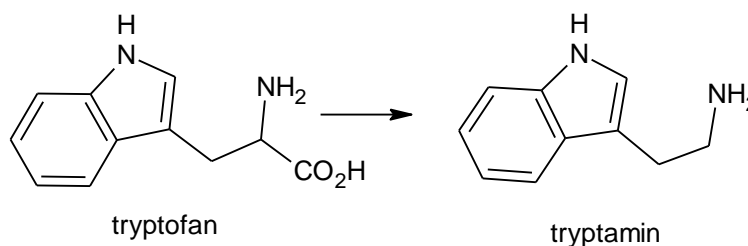
Další velmi známý biogenní amin je **putrescin**, jehož prekurzorem jsou aminokyseliny lysin a ornitin. Na obrázku č. 5 je znázorněn vznik putrescinu z ornitinu. Někteří autoři jej řadí mezi polyaminy. Spolu s kadaverinem je považován za indikátor nežádoucích přeměn bílkovin. Do lidského těla se může dostat potravou, syntézou vlastními buňkami a syntézou střevních bakterií. Při nízkém příjmu je běžně metabolizován, při zvýšeném příjmu může zapříčinit zdravotní potíže jen v kombinaci s jinou látkou, například s histaminem zvracení, bolesti hlavy, nevolnost. Samotný putrescin může být prekurzorem pro vznik karcinogenních látek. [9, 10]

přisuzována možnost tvořit prekurzor karcinogenních N-nitrososloučenin a aromatických heterocyklů. [2, 15, 16]



Obrázek č. 7: schéma vzniku kadaverinu

Tryptamin je přírodní alkaloid, monoamin, nacházející se v houbách, sýrech. Prekurzorem je tryptofan. Zvyšuje krevní tlak, jeho možné využití je léčba migrén a obezity, ale sám je neurotoxický a předpokládá se, že způsobuje neurodegenerativní onemocnění. Prokazuje protinádorovou aktivitu, spolu se svými deriváty mají vysoký potenciál pro léčbu nádorů. [17]



Obrázek č. 8: schéma vzniku tryptaminu

1.7 Biogenní aminy v potravinách

Bezpečnost potravin je jedním ze základních požadavků na výrobce a producenty. Mimo fyzikální, chemické a biologické nebezpečí je čím dál větší důraz kladen také na přítomnost biogenních aminů, neboť mohou být příčinami různých intoxikací a otrav. Dalším nežádoucím jevem může být změna organoleptických vlastností, zejména chuti a vůně. [8, 9]

Přítomnost biogenních aminů v potravinách je závislá na povaze potravin a přítomných mikroorganismů. Prakticky se nacházejí ve všech potravinách, ve kterých jsou přítomny bílkoviny nebo volné aminoskupiny a vyhovující podmínky pro metabolismus mikroorganismů tvořících biogenní aminy. Biogenní aminy se nacházejí v široké škále potravinářských výrobků, včetně výrobků z ryb, masných výrobků, mléčných výrobků, piva, vína, ořechů, zelenině i ovoci, fermentovaných výrobků. Nejrizikovější potraviny na přítomnost BA jsou ryby a rybí produkty. V České Republice legislativa stanovuje obsah histaminu

minu v rybách a rybích produktech na 100 mg/kg, pro další aminy, jako je například tyramin omezení neexistuje. Nejčastěji se v potravinách nachází histamin, putrescin, kadaverin, tyramin, tryptamin, 2-fenylethylamin, spermin a spermidin. [1, 6, 21]

Obsahy biogenních aminů v potravinách obvykle nenabývají toxických hodnot, ale jejich výskyt může způsobit problémy, jelikož aminy se vyskytují ve velkém množství potravin. Jejich výsledná koncentrace někdy přesahuje bezpečnou hladinu a vyvolává alergické reakce či jiné zdravotní problémy. [19]

Procesy, které se běžně používají při různých úpravách masa jako zmrazování a rozmrazování a přítomnost bakterií jsou hlavními faktory ovlivňující vznik BA. Nejběžnějšími druhy bakterií produkující biogenní aminy v mase jsou *Proteus* (zejména *Proteus (Morganella) morgani*), *Klebsiella* (zejm. druh *pneumoniae*), *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, z bakterií mléčného kvašení především rody *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*. Jedná se o bakterie, které mají schopnost dekarboxylovat aminokyseliny za vzniku BA. V mase se vyskytují biogenní aminy putrescin, histamin, kadaverin, vznikající za různých podmínek v různých koncentracích. [20]

V rybím mase se při jeho znehodnocování nejčastěji vyskytuje histamin, putrescin a kadaverin. Často se vyskytují otravy a intoxikace zvýšenou hladinou histaminu v mořských rybách, jelikož studie prokázaly schopnost mikrobiální populace ryb produkovat velké množství histaminu i při nízkých teplotách. Další aminy, jakými mohou být trimethylamin a dimethylamin, bývají často využívány ke stanovení čerstvosti ryb. [1]

Při výrobě fermentovaných výrobků jsou využívány mikroorganismy, které mohou být významnými producenty biogenních aminů. Biogenní aminy jsou zde tvořeny dekarboxylací aminokyselin specifickými enzymy bakterií, které nejčastěji produkují bakterie mléčného kvašení. Nejčastěji se nachází BA tryptamin, kadaverin, putrescin, tyramin, a histamin. Z bakterií mléčného kvašení se na tvořbě BA podílejí především rody *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*. [1, 8]

Sýry obsahují nejvíce biogenních aminů ze všech potravin. Nejvíce v nich bývá zastoupen bývá tyramin, ale často se můžeme setkat s obsahem putrescinu, kadaverinu a histaminu. Čerstvé mléko obsahuje minimum biogenních aminů, většina intoxikací pochází z fermentovaných sýrů, sýrů vyráběných z nepasterovaného mléka. Nejčastějšími bakteriemi produkující biogenní aminy v sýrech jsou bakterie startovacích kultur, např. *Enterococcus faecium* a *Lactococcus lactis*. [1, 21]

Malé množství biogenních aminů bylo prokázáno ve fermentovaném mase, kysaném zelí, fermentované zelenině a asijských výrobcích, dále v pivu, vínu a fermentovaných rybích produktech.[1]

1.8 Účinky biogenních aminů na organismus

Konzumace jídel a nápojů s vysokým obsahem biogenních aminů může mít toxické účinky na organismus člověka, které se mohou projevat vysokým krevním tlakem, bušením srdce, bolestí hlavy, nevolností, průjmy a další. V extrémních případech může mít vysoká intoxikace fatální důsledky. Intoxikace je závislá na množství a typu požitého biogenního aminu a správné funkci detoxikačního systému organismu. Po požití malého množství biogenních aminů jsou metabolizovány v tenkém střevě na fyziologicky méně aktivní formy působením amin oxidujícími enzymy a dalšími inhibitory. Proto je těžké stanovit toxickou hladinu biogenních aminů, protože je ovlivněna individuální citlivostí a zdravotním stavem spotřebitele. [6]

2 INTERAKCE BIOGENNÍCH AMINŮ S DALŠÍMI SLOUČENINAMI

Biogenní aminy obsahují ve své molekule aminoskupinu $-NH_2$. Aminy jsou organické deriváty amoniaku, které se formálně odvozují náhradou jednoho či více atomů vodíku za uhlíkaté zbytky. Na atomu dusíku jsou dva atomy vodíku navázány jednoduchou vazbou, z toho vyplývá, že atom dusíku má stejně jako amoniak k dispozici jeden volný elektronový pár, který uděluje aminům bazické a nukleofilní vlastnosti. Aminy se chovají jako báze a jejich síla je závislá na množství elektronů na atomu dusíku, předurčují tedy většinu chemických vlastností aminů. Aminy podléhají mnoha reakcím, jako jsou neutralizace, oxidace, nukleofilní a elektrofilní substituce, u aromatických aminů se můžeme setkat i s diazotací a kopulací. [22, 23]

2.1 Přehled základních reakcí aminů

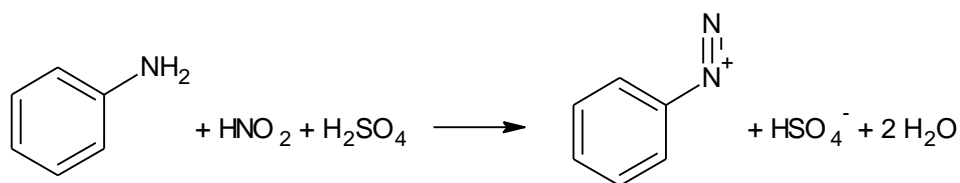
Chemické vlastnosti aminů jsou ovlivněny především přítomností volného elektronového páru na atomu dusíku, díky kterému mají aminy vlastnosti bází i nukleofilů. Reagují s kyselinami za vzniku solí, kdy z kyselin odštěpují proton, chovají se tedy jako báze. Bazicitu arylaminů je obecně nižší než alkylaminů, protože jejich volný elektronový pár je delokalizován interakcí s aromatickým π -systémem. Reagují s elektrofilními činidly v iontových reakcích. [22, 23]

Nukleofilní adice probíhají s halogenderiváty, karbonylovými sloučeninami, karboxylovými kyselinami estery, anhydridy a dalšími sloučeninami. [22]

2.1.1 Diazotace a nitrosace aminů

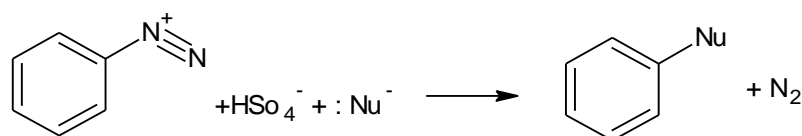
Známé jsou reakce s kyselinou dusitou, tzv. diazotace a nitrosace. S kyselinou dusitou reagují primární, alifatické i aromatické aminy v kyselém prostředí, kde elektrofilem je nitrosaniový kation, za vzniku diazoniových solí při diazotaci. Vzniklé soli jsou stále pouze za podmínek nízké teploty a pokud jsou reagující aminy aromatického charakteru.

Reaguje-li primární aromatický amin s kyselinou dusitou, vznikají relativně stabilní aren-diazoniové soli $Ar-N^+=N X^-$ (viz obrázek č. 9), reakce probíhá selektivně i za přítomnosti řady substituentů na aromatickém jádře. [22, 23]



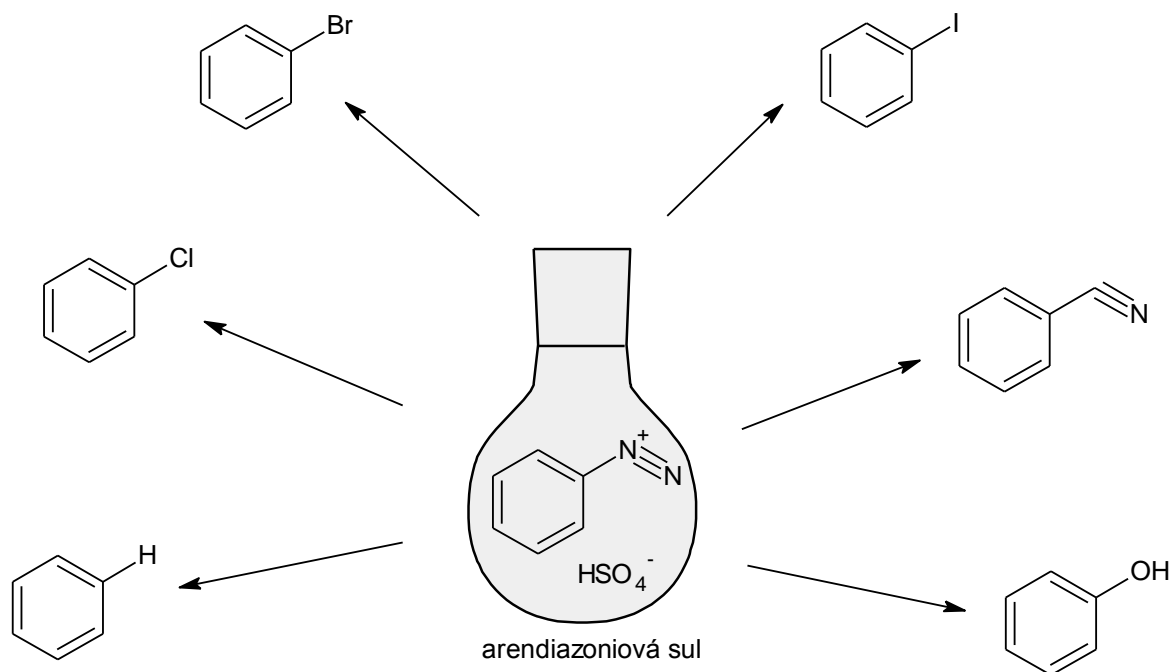
Obrázek č. 9: schéma vzniku arendiazoniových solí

Diazoniové soli jsou užitečné v syntéze, protože diazoniová skupina se může substituovat různými nukleofily, jak je znázorněno na obrázku č. 10.



Obrázek č. 10: schéma substituce diazoniové soli

S arendiazoniovými solemi reaguje spousta nukleofilů za vzniku různě substituovaných aromatických derivátů, kdy celá reakce se skládá z nitrace, redukce, diazotace a nukleofilní substituce (viz obrázek č. 11). Jedná se o jedinou univerzální metodu aromatické substituce.



Obrázek č. 11: reakce arendiazoniových solí podle McMurry [23]

Vznikne-li diazoniová sůl z alifatického aminu je extrémně nestálé, lehce odštěpí molekulu dusíku, vzniklý karbokation substitučním mechanismem reaguje se všemi nukleofily při-

tomnými v reakci. Alifatické a aromatické sekundární aminy reagují s kyselinou dusičnou za vzniku stabilní, málo rozpustné N-nitrososloučeniny při tzv. nitrosaci. [22]

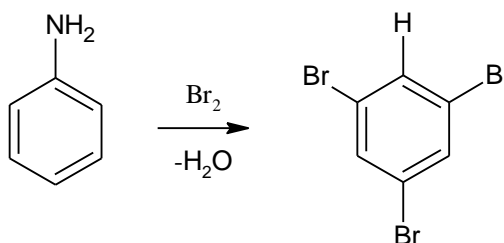
Reaguje-li primární aromatický amin s aromatickou nitrososloučeninou v kyselině octové za nízké teploty, vzniká azosloučenina a tento typ reakce se také nazývá Millsova reakce. [22]

2.1.2 Oxidace aminů

Při oxidaci aminů mohou být primární aromatické aminy oxidovány na nitro- (je-li použito silnější oxidovadlo, například manganistan draselný) nebo nitrososloučeniny (pokud je jako oxidační činidlo použita kyselina peroxysírová nebo peroxid vodíku v kyselině octové) [22]

2.1.3 Elektrofilní aromatická substituce aminů - reakce arylaminů

Reakce aromatických uhlovodíků ochotně probíhá mechanismem elektrofilní aromatické substituce, protože obsahují jádro vykazující silný mezomerní efekt. Aminoskupina je silně aktivující substituent, který řídí vstup elektrofilu při elektrofilní aromatické substituci do polohy *ortho* a *para* (viz obrázek č. 12). [22, 23]



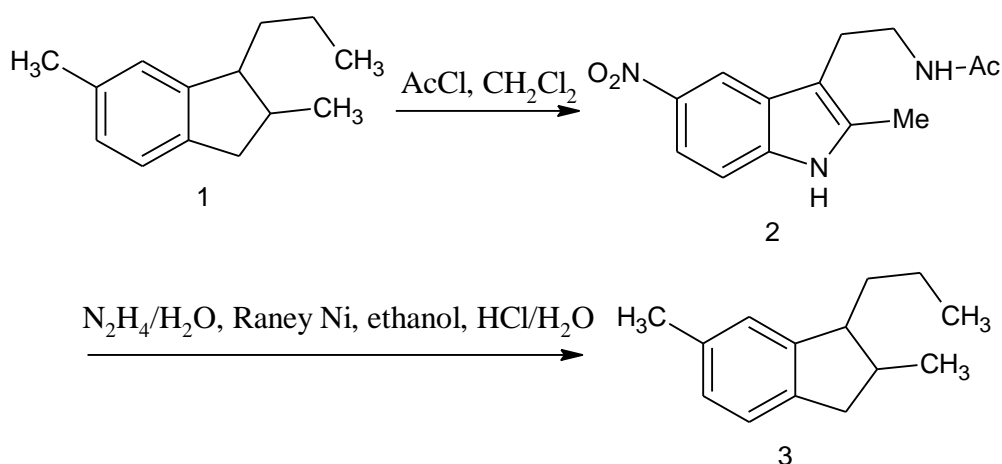
Obrázek č. 12: elektrofilní aromatická substituce aminů

Vysoká reaktivita aminů přináší mnoho nevýhod, je někdy obtížné zamezit polysubstituci a reakci není možné přes silnou aktivaci aromatického jádra zastavit ve stádiu monosubstituovaného produktu. Jednoduchým řešením vysoké reaktivity aminosubstituovaných benzenů je převedení na amidy, poté je možné realizovat celou řadu elektrofilních aromatických substitucí, které jsou jinak neuskutečnitelné. [23]

Jiným způsobem probíhají elektrofilní substituce v silně kyselém prostředí. Aminoskupina je zde přítomna ve formě amoniového kationtu, jádro pak vykazuje záporný indukční efekt, jádro je dezaktivováno a například nitrace anilinu probíhá do polohy 3. [22]

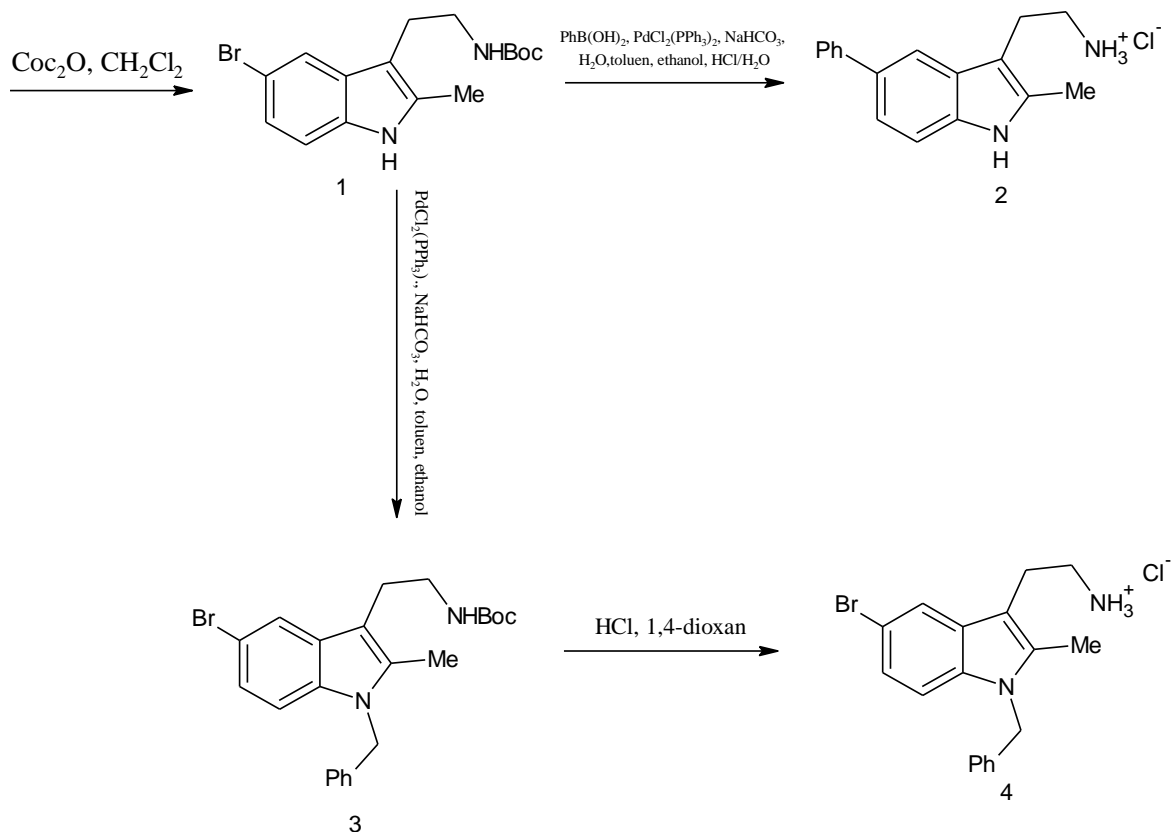
2.2 Syntéza vybraných derivátů tryptaminu

V popisované syntéze byl použit tryptamin. Tento biogenní amin a jeho deriváty mají velký potenciál pro možnou léčbu nádorových onemocnění. Byla provedena studie syntézy a popisu cytotoxických derivátů tryptaminu. Bylo zjištěno, že přítomnost nitroskupiny ve sloučenině umožňuje získat potřebný amino-substituovaný derivát tryptaminu. Acylace aminoskupiny vede k formacím (viz schéma x, krok 2), které se dále podrobují redukci s hydrátem hydrazinu a Raneyovým niklem následuje konverze aminu do hydrochloridu, čímž se získá žádaný derivát tryptaminu. (viz obrázek 13, krok 3). [24]



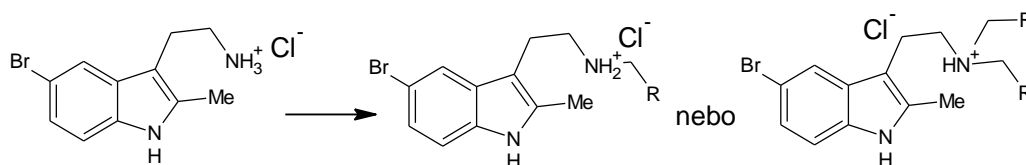
Obrázek č. 13: schéma přípravy derivátu tryptaminu

Pro studium substituovaných aromatických derivátů tryptaminu byla provedena substituce bromu na fenylovou skupinu vzniklého derivátu tryptaminu prostřednictvím tzv. Suzukiho kopulační reakce. Použití hydrochlorid tryptaminu v reakci se získala směs produktů, N-Boc-chráněný tryptamin (viz obrázek 14, krok 1), který prokázal vyšší selektivitu a byl získán 5-fenyltryptamin po odstranění chránící skupiny (viz obrázek 14, krok 2). N-Boc-derivát byl také podroben benzylaci za vzniku složitějšího derivátu (viz obrázek 14, krok 3), byl substituován dusík na indolu ve sloučenině, konečným produktem byla amoniová sůl (viz obrázek 14, krok 4). Takto připravený derivát tryptaminu byl dále využíván k různým reakcím vedoucím k zisku očekávaných derivátů tryptaminu. V reakci označení N-Boc značí chránící skupinu, která bývá stabilní vůči většině nukleofilů a bází. [24]



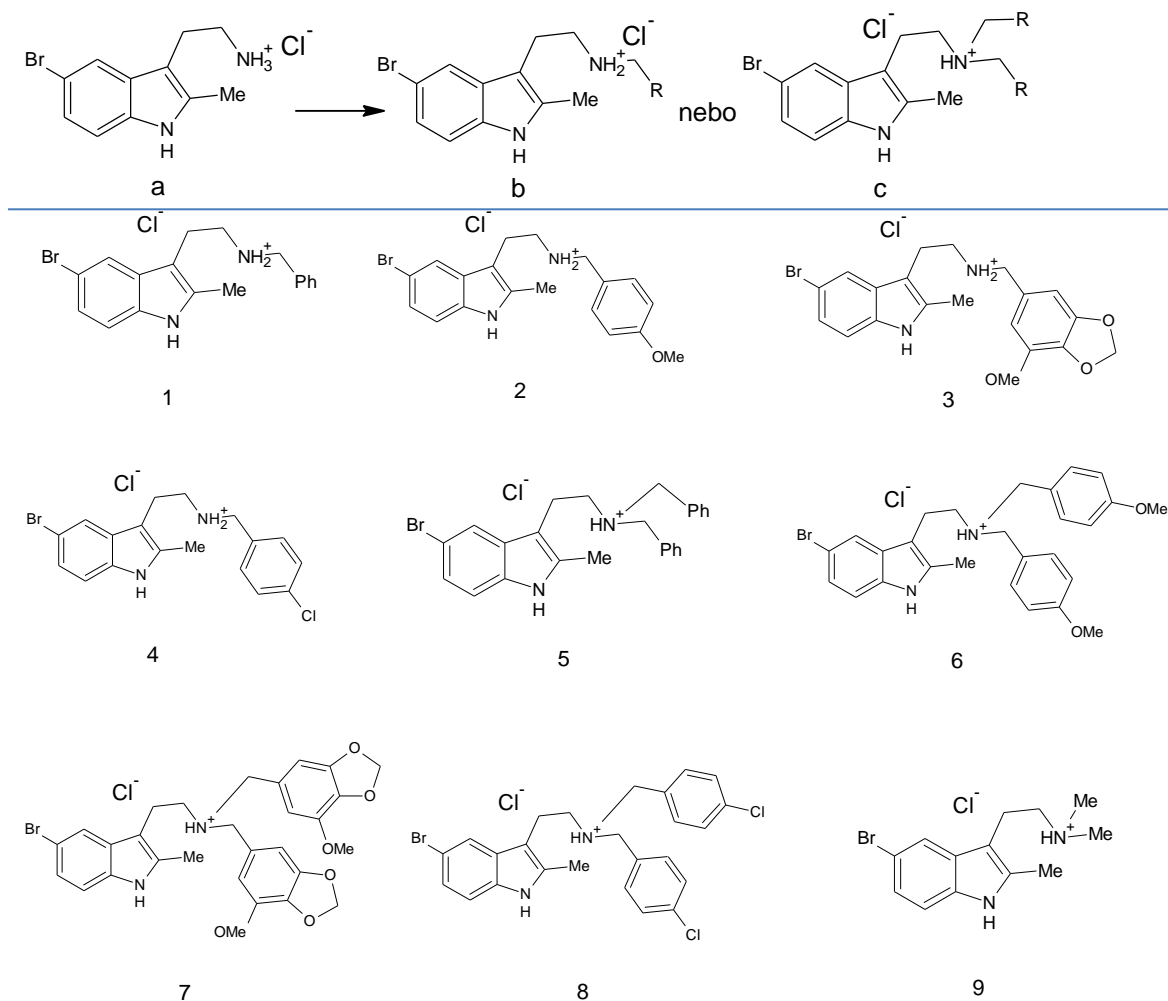
Obrázek č. 14: schéma přípravy substituovaného derivátu tryptaminu

Ve studii byl syntetizován mono- dibenzyl- a dimethyltryptamin s různými substituenty v benzylových fragmentech přes derivát tryptaminu z předchozí reakce s korespondujícími aldehydy v různých poměrech v přítomnosti kyanoborhydridu sodného (viz obrázek č. 15).. [24]



Obrázek č. 15: syntéza 5-bromtryptamin derivátů

Cílem studie byla syntéza řady tryptaminových derivátů odvozených od heterocyklických fragmentů a aminoskupiny a jejich vliv na životaschopnost určitých buněk. Vzniklé sloučeniny byly testovány na ledvinových buňkách. Získaná data naznačila, že sloučeniny pravděpodobně vyvolaly odlišné signální dráhy buněk vedoucích k jejich apoptóze nebo nekróze v závislosti na typu buněk. Získané deriváty tryptaminu jsou uvedeny v následujícím obrázku č. 16. [24]



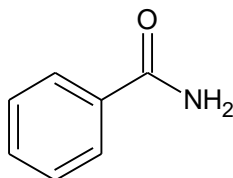
Obrázek č.16: syntéza 5-bromtryptaminu přes aminoskupinu

2.3 Syntéza benzamidových derivátů na bázi tryptaminu

Benzamidy a tryptamin jsou biologicky významné látky, proto byly syntetizovány různé benzamidy, které byly téměř analogy tryptaminu za jeho použití a různé benzoylchloridy za účelem nalézt nové biologicky aktivní látky. Vztahy mezi strukturou a účinky byly hodnoceny dvěma mikrobiálními kmeny *Bacillus subtilis* a *Aspergillus niger*. Všech 5 připravených sloučenin vykazovalo vysokou výtěžnost a odolnost proti růstu testovaného mikroorganismu, proto mohou mít takto připravené nové deriváty tryptaminu významnou antimikrobiální aktivitu. Hledání nových antimikrobiálních je důsledkem zvyšujícího se počtu multirezistentních patologických mikroorganismů. [17]

Amidy jsou jednoduché deriváty amoniaku, ve kterých je jeden atom vodíku nahrazen acylovou skupinou, jak je znázorněno na obrázku č. 17. Amidová vazba je součástí běžných

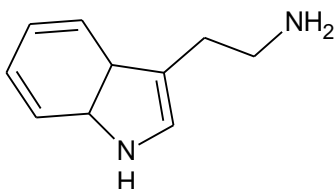
přírodních látek, jako jsou peptidy a proteiny, je využita v různých syntetických transformacích, neboť ji obsahují biologicky aktivní molekuly. Amidové deriváty vykazují biologicky aktivní účinky, například antihistaminické, protinádorové, antibakteriální, antimykotické, antibakteriální, diabetické, hypoglykemické,... [17]



Obrázek č. 17: struktura amidu

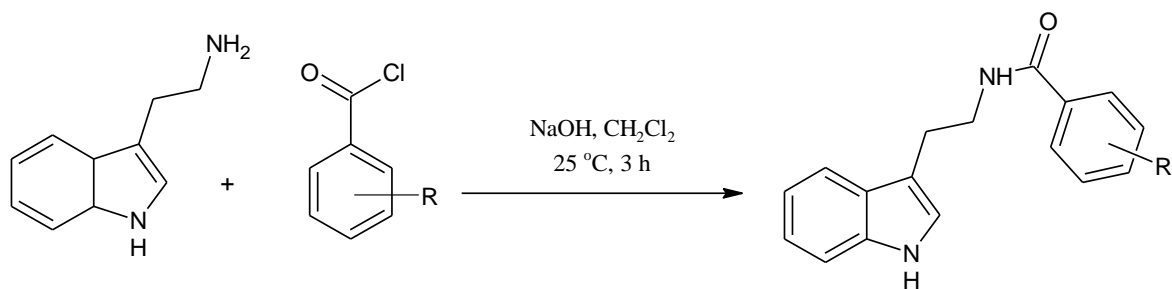
Benzamidy uplatňují svůj význam v chemickém průmyslu, kde jsou využívány jako významné meziprodukty v syntetických reakcích. Skupina benzamidů nese farmakologické účinky a syntéza se soustřeďuje na přípravu nových derivátů s různými biologicky aktivními částmi a jejich následné hodnocení účinků jako antimikrobiologických látek. [20]

Tryptamin je přírodní monoamin nacházející se především v houbách, jeho struktura je znázorněna na obrázku č. 18. Tryptamin poskytuje velké množství léčivých látek v organické chemii, protože se účastní některých biologických procesů. [17]



Obrázek č. 18- struktura tryptaminu

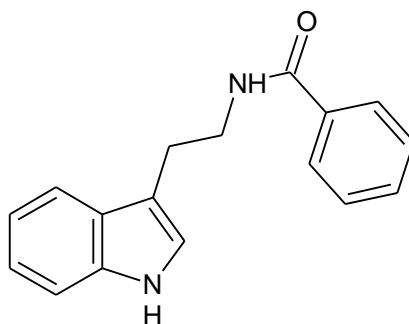
Rozdílné benzamidy se mohou připravit za použití aminoskupiny a benzoylové halogeniny z vodného roztoku hydroxidu sodného, ke kterému byl přidán tryptamin a rozpuštěn za přítomnosti rozpouštědla dichlormethanu. Benzoylchlorid se přidává po kapkách, následuje míchání a test přítomnosti produktu pomocí vody a chromatografií na tenké vrstvě, oddělení organické vrstvy od vodné, sušení síranem hořečnatým, filtrace a odpaření produktu. [17]



Obrázek č. 19: schéma syntézy substituovaných benzaminů

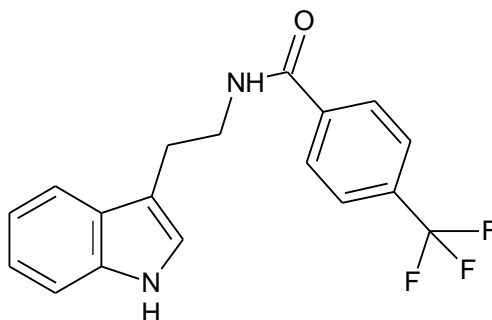
Pro studium mikrobiální aktivity byla použita agarová jamková metoda na misce. Testovnými mikroorganismy byl *Bacillus subtilis* a *Aspergillus niger*. Testované mikroorganismy byly pěstovány na živném agaru (*Bacillus subtilis*), test hub (*Aspergillus niger*) byl na vogelově médiu. Velmi malé množství (0,01 g) vzorku se rozpustilo v methanolu (200 μ l) a očkovovalo se 50 μ l. Po inkubaci 72 hodin/37°C pro bakterie a 72 hodin/teplota místnosti pro houby byla stanovena aktivita měřením inhibiční zóny. [17]

Produkt **N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)benzamid** byl bílé barvy, krystalické struktury, výtěžek 91,4 % (w/w), teplota tání 95-98°C. Struktura je na obrázku č. 20, dále jako produkt I. [17]



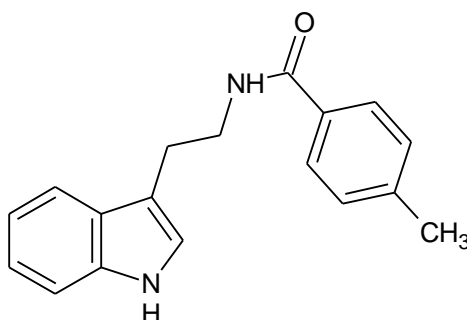
Obrázek č. 20: (N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)benzamid)

Produkt **N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-4-(trifluoromethyl)benzamid** byl taktéž bílé barvy a krystalické struktury. Výtěžek byl 88,8 % (w/w), teplota tání 170-175°C. Jeho struktura je na obrázku 21. Dále jako produkt II. [17]



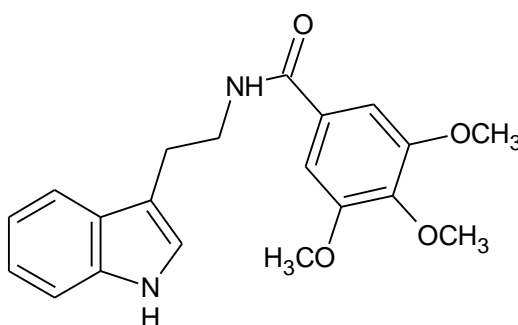
Obrázek č. 21: N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-4-(trifluoromethyl)benzamid

Produkt **N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-4-methylbenzamid** taktéž bílé barvy a krystalického charakteru, výtěžek byl 80,9 % (w/w). Teplota tání 131-134°C. Struktura je na obrázku 22, dále jako produkt III. [17]



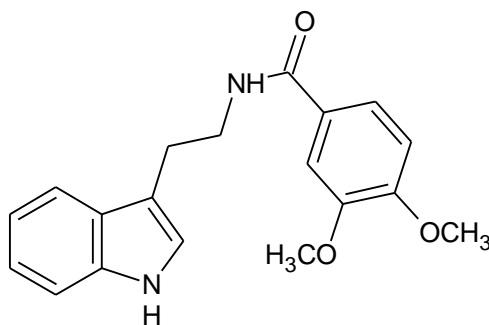
Obrázek č. 22: N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-4-methylbenzamid

Produkt **N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-3,4,5-trimethoxybenzamid** barvy nažloutlé, bílé, krystalické struktury ve výtěžku 73,9 % (w/w), bod tání byl 204-207°C. Struktura je na obrázku 23, dále jako produkt IV. [17]



Obrázek č. 23: N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-3,4,5-trimethoxybenzamid

Produkt **N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-3,4-dimethoxybenzamid** byl nažloutlý, hnědý, krystalické struktury, výtěžek byl 92,8 % (w/w). Teplota tání 168-171°C. Struktura je znázorněna na obrázku 24, dále jako produkt V. [17]



Obrázek č. 24: N-(2-(1H-indol-3-yl) ethyl)-3, 4-dimethoxybenzamid

Tabulka č. 1: Velikost inhibičních zón v mm u mikroorganismu *Bacillus subtilis* [17]

Produkt	Velikost inhibičních zón u <i>Bacillus subtilis</i> [mm]
I	10.55±0.05
II	11.10±0.07
III	10.17±0.14
IV	10.62±0.12
V	12.07±0.08

Tabulka č. 2: Velikost inhibičních zón v mm u mikroorganismu *Aspergillus niger* [17]

Produkt	Velikost inhibičních zón u <i>Aspergillus niger</i> [mm]
I	0.0023±0.0007
II	0.0046±0.0015
III	0.0011±0.0003
IV	0.0023±0.0007
V	0.0011±0.0003

Tabulka č. 3: Minimální inhibiční koncentrace (MIC) syntetizovaných sloučenin proti *Bacillus subtilis* [17]

Produkt	<i>Bacillus subtilis</i> [mm]
I	0.0046±0.0015
II	0.0046±0.0015
III	0.0023±0.0007
IV	0.0023±0.0007
V	0.0046±0.0015

Tabulka č. 4: Minimální inhoboční koncentrace (MIC) syntetizovaných sloučenin proti *Aspergillus niger* [17]

Produkt	<i>Aspergillus niger</i> [mm]
I	10.02±0.14
II	10.27±0.12
III	11.27±0.08
IV	12.20±0.10
V	10.55±0.08

Antimikrobiální účinky vykazovaly všechny připravené sloučeniny, největší účinek měla však sloučenina V proti *Bacillus subtilis*, ostatní sloučeniny také bránily růstu bakterií, měly však účinek menší. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1 a 3. Účinnost proti plísním (*Aspergillus niger*) byla prokázána pozitivně u všech připravených sloučeniny, největší inhibiční účinek prokazovaly sloučeniny III a IV, ostatní sloučeniny byly účinné na podobných úrovních. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2 a 4. Ve studii byla prokázána ze všech pěti připravených sloučenin jako nejúčinnější sloučenina V, která prokazovala největší inhibici mikrobů. Tento fakt je přisuzován přítomnosti dvou methoxy skupin na benzenovém jádře složité struktury benzoylchloridu. Účinek látky ovlivňuje syntetizovaná skupina na benzenovém jádře. Získané produkty byly charakterizovány teplotou tání, vykazovaly vysokou výtěžnost a faktu, že jsou schopny odolávat růstu testovaného mikroorganismu až do určité hranice. Látky by mohly dále sloužit k návrhu antimikrobiálních léčiv. [17]

2.4 Syntéza β -hydroxyserotoninu

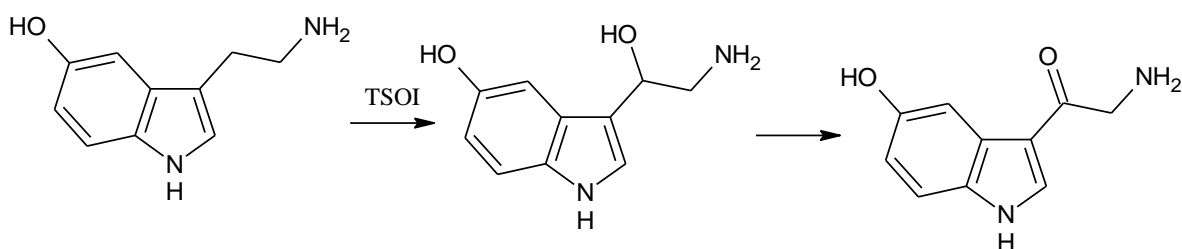
Serotonin neboli 5-hydroxytryptamin je důležitý biogenní amin u zvířat, může mít velké množství efektů na centrální nervovou soustavu prostřednictvím receptorů. Účastní se regulace nálady, chuti k jídlu, spánku, svalové kontrakce, srážení krve, některých kognitivních funkcí, včetně paměti a učení se. Syntetizovaný β -hydroxyserotonin může být potenciální farmakologické činidlo jako analog adrenalinu a efedrinu. Jeho syntéza však dříve nebyla příliš úspěšná pro její obtížnost, nestabilitě sloučeniny a identifikaci. [25]

V této reakci byl úspěšně syntetizován β -hydroxyserotonin z 5-hydroxytryptaminu nebo serotoninu za použití mikrobiálních enzymů, konkrétně enzymů TSOI (obsahuje postranní

řetězec s oxidázou) mikroorganismů *Pseudomonas*, postranní řetězec tvořil tryptofan a sloučenina byla charakterizována pomocí nukleární magnetické rezonance. Spektra nevykazovala optickou aktivitu, což naznačuje vzniku racemické směsi. Rozdílné produkty byly odděleny a obě izolované frakce se vrátily k diastereizomerní směsi v průběhu pěti hodin při hodnotě pH 5. Později bylo zjištěno, že β -hydroxyserotonin za kyselých podmínek snadno reaguje s nukleofily jako jsou například alkoholy nebo thioley, čímž je možno získat mnoho derivátů β -hydroxyserotoninu. [25]

Pseudomonas byl pěstován za aerobních podmínek při teplotě 25 °C v živné půdě a ve stacionární fázi růstu byl uložen ve zmrazeném stavu při teplotě -80 °C a poté z něj získáván potřebný enzym TSOI. [25]

Enzymatická syntéza β -hydroxyserotoninu ze serotoninu byla jednodušší než bez přispěvku enzymu. Serotonin prošel dvěma po sobě jdoucími dehydrogenacemi jak je zobrazeno na obrázku č. 25. První dehydrogenací byl získán β -hydroxyserotonin, další dehydrogenací byl získán β -ketoserotonin. [25]



Obrázek č. 25: schéma enzymatické syntézy β -hydroxyserotoninu

Získaný β -hydroxyserotonin byl bílý hygrokopický prášek, který zůstal stabilní po dobu jednoho měsíce při 4 °C a několik měsíců při -80 °C. Teplota tání je asi 190 až 200 °C. Podobné vlastnosti měl i vzniklý β -ketoserotonin. [25]

Syntetizované sloučeniny v této studii představují zájem ve farmacii, neboť mohou být analogy adrenalinu a efedrinu, ale obsahují místo benzenového jádra indolový kruh. Různé indolové deriváty jsou známy také pro své antibakteriální, antivirové protizánětlivé vlastnosti a také mohou působit proti rakovině. Mechanismus jejich přípravy může v budoucnu pomoci k vytvoření nové třídy terapeutických činidel. [25]

3 INTERAKCE BIOGENNÍCH AMINŮ SE SACHARIDY

Reakce mezi aminy a sacharidy, jak *in vitro* tak *in vivo*, mají velký význam. Známe jsou tzv. Maillardovy reakce (též nazývané reakce neenzymového hnědnutí), kdy interaguje karbonylová funkční skupina redukujícího sacharidu s aminoskupinou příslušné aminokyseliny bez příspěvku enzymů. Vznikají sensoricky aktivní látky, které dodávají produktům charakteristickou barvu, chuť a vůni. V běžném životě je tato reakce součástí pečících a jiných procesů. V současné době se výzkum zaměřuje na reakce biogenních aminů se sacharidy tzv. Pictet-Spenglerovou kondenzací. [26, 27]

3.1 Maillardovy reakce

Vazba karbonylových sloučenin, do kterých jsou řazeny také redukující cukry, na volné aminokyseliny bez přítomnosti katalyticky působícího enzymu se nazývá glykace. Reakci poprvé popsal Louis Maillard na počátku 20. století, který pozoroval změnu barvy bílkovin při zahřívání s cukry na hnědou (vznik hnědých pigmentů- melanoidů). Tato reakce patří mezi nejznámější a nejvýznamnější reakce aminosloučenin a redukujících sacharidů, neboť je v potravinářství často se vyskytujícím jevem během skladování a zpracování surovin. V mnoha případech je změna barvy v důsledku zahřívání nežádoucí, například při výrobě sušeného mléka, ale existují produkty, pro které je tato barva typická (výroba sójových omáček). Produkty Maillardových reakcí jsou stále studovány také v důsledku podezření z možné karcinogenity. [28, 29]

Sacharidy nejvíce podléhající těmto reakcím jsou monosacharidy glukóza, fruktóza, pentóza a ribóza, disacharidy maltóza a laktóza. Mezi nejlépe reagující sloučeniny se sacharidy jsou řazeny bílkoviny a volné aminokyseliny, u některých potravin také diskutované biogenní aminy. [28, 29]

3.1.1 Mechanismus Maillardovy reakce

Maillardova reakce probíhá ve třech různých fázích. Podobně jako řetězové radikálové reakce probíhají na třech úrovních, kterými jsou iniciace (tvoří se glykosylaminy a Amadoriho produkty), propagace (degradují se Amadoriho produkty) a terminace (tvorba koncových produktů glykace). [28, 29]

Iniciace glykace

V počáteční fázi reakce se aduje neprotonizovaná aminoskupina aminosloučeniny na uhlíkový atom karbonylové skupiny redukujícího cukru, který má elektronový deficit za vzniku Schiffovy báze. Schiffova báze je nestabilní iminová sloučenina, která podléhá dalšímu přesmyku a vzniká stabilnější Amadoriho produkt (je-li redukující cukr aldóza) nebo Heynsův (redukujícím cukrem je zde ketóza). [28, 29]

Propagace- degradace Amadoriho produktů

Amadoriho produkty jsou buď nevratně oxidovány nebo se rozkládají na původní amin a 1-, 3- nebo 4-deoxyglukozon v závislosti na podmínkách pH. Deoxyglukozony jsou reaktivní sloučeniny, které jsou schopny reagovat s volnou aminoskupinou a tím podporují Maillardovu reakci za ireverzibilní tvorby heterocyklických produktů. Tato fáze reakce se zahrnuje tzv. Streckerovu degradaci, při které vznikají senzory aktivní aldehydy a amoniak. Pokud tyto aldehydy dále reagují s α -aminokarbonylovou sloučeninou, dávají vznik heterocyklickým sloučeninám a hnědým pigmentům. [28, 29]

Terminace- tvorba koncových produktů glykace

Deoxyglukozony vzniklé v předešlé fázi reakce mohou poskytovat dalšími reakcemi sloučeniny jako jsou furfuralaldehyd, reduktony nebo pyranony. Pokud však reagují s aminy, vznikají pyrroly, pyrroliny,... Tyto produkty jsou bezbarvé a jejich společný název je pre-melanoidy. Mohou dále reagovat s aminy a dalšími karbonylovými sloučeninami za vzniku hnědých, termostabilních produktů ukončujících Maillardovu reakci. Jsou často nazývány koncové produkty glykace (Advanced Glycation End Products). [28, 29]

3.1.2 Maillardova reakce 18-F-fluorodeoxyglukózy s biologickými aminy

V této reakci byla zkoumána interakce 18-F-fluorodeoxyglukózy (FDG) s příslušnými aminy N-allyl-2-aminomethylpyrrolidinu (NAP) a 2-(4'aminofenyl)-6-

hydroxybenzothiazolu a předpokládal se vznik glykosilaminů výsledný produkt byl získán v 57 % (w/w) výtěžku. [30] Pictet-Spenglerova reakce

Reakce mezi biogenními aminy a sacharidy nebo jejich deriváty dříve nebyly známy, pouze několik málo interakcí biogenních aminů se sacharidy bylo publikováno, ale téměř všechny obsahovaly rozsáhlé eliminace a přesmyky. Výsledné produkty, kterými jsou tetrahydroisocholiny a β -karboliny, mohou sloužit k syntézám alkaloidů a jiných přírodních produktů a také k syntéze nových C-glykosidů. [26, 27]

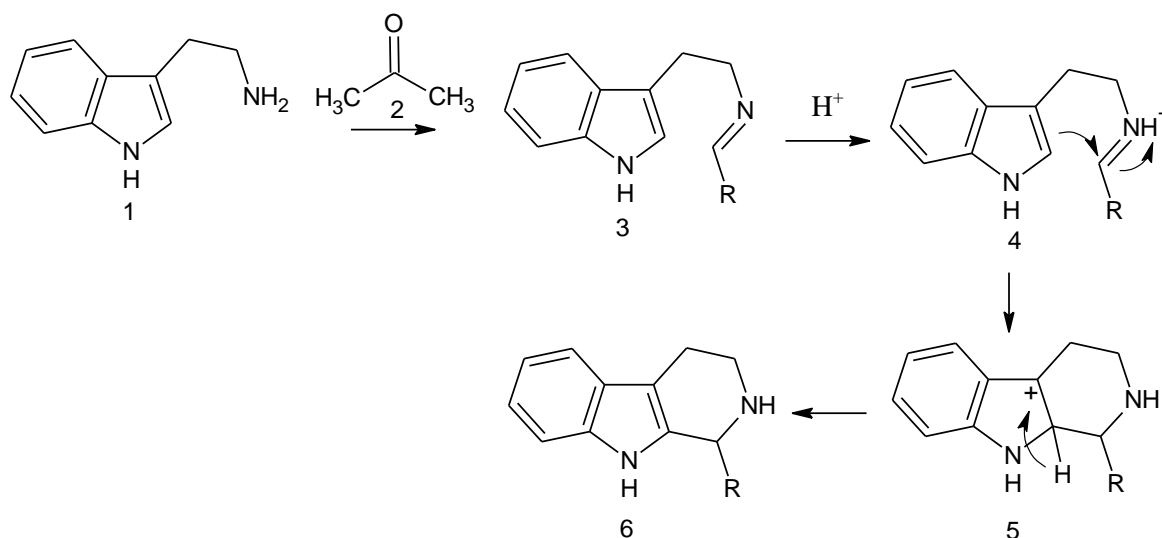
První zmínky o této kondenzaci jsou známy z roku 1911. Za objevitele jsou považováni Amé Pictet a Theodor Spengler, kteří popsali syntézu feny(ethyl)aminu s dimethoxy-methanem za vzniku tetraisocholeolu. [31]

Pictet-Spenglerova reakce je reakce, která vede k získání buď β -karbolinů nebo isocholinů, přičemž výchozími látkami jsou aromatické aminy nebo aldehydy. Reakce byla hojně využívána v syntéze tetrahydroisocholinů a dalších příbuzných heterocyklických sloučenin, dále je tato syntéza využívána za použití enzymů izolovaných z rostlin alkaloidů k získání různých synteticky připravených rostlinných alkaloidů a přírodních produktů. [27, 32]

Předpokládá se, že interakcí mezi sacharidem (nebo deriváty sacharidů s karbonylovou skupinou) a biogenním aminem mechanismem Pictet-Spenglerovy reakce, by mohly být využívány pro syntézu nových C-glykosidů nebo poskytovala meziproducty pro syntézu isocholinových alkaloidů. Navíc by bylo přínosné, kdyby použitím asymetrických sacharidových skupin se podporovala stereoselektivita při tvorbě nového chirálního centra v heterocyklickém produktu. [27, 33]

3.1.3 Mechanismus Pictet-Spenglerovy reakce

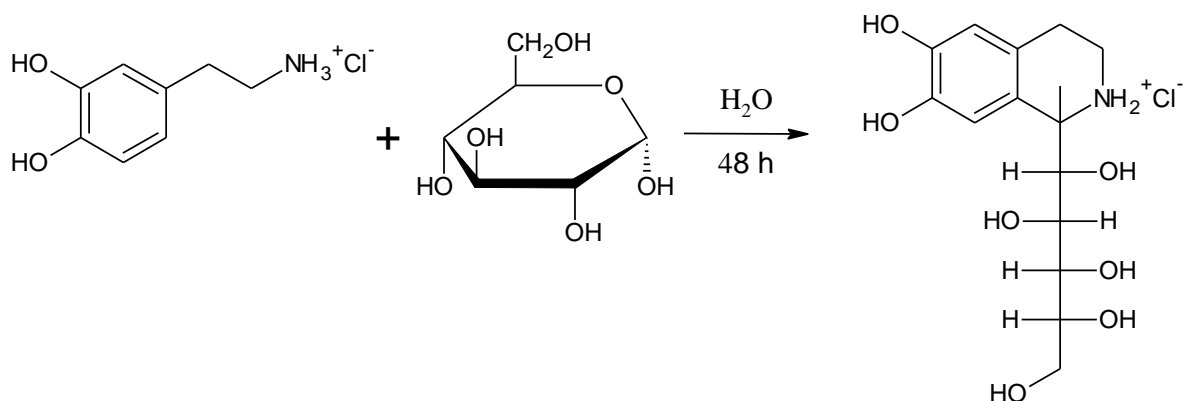
Pictet-Spenglerova reakce se prakticky skládá ze dvou částí. V první části na elektrony bohatý amin reaguje s aldehydem za vzniku iminiové soli (dusíkatý derivát karbonylové sloučeniny) (viz obrázek č. 26, kroky 1-3) Ve druhé části reakce dojde k elektrofilní aromatické substituční reakci, kdy aryllová skupina aminu napadne iminiovou část sloučeniny a je získán kladně nabitý meziproduct (viz obrázek č. 26, krok 4), který je v dalším kroku deprotonován a je získán β -karbolinový produkt. [32, 34]



Obrázek č. 26: Mechanismus Pictet- Spenglerovy reakce

3.1.3.1 Reakce hydrochloridu dopaminu s D-glukózou

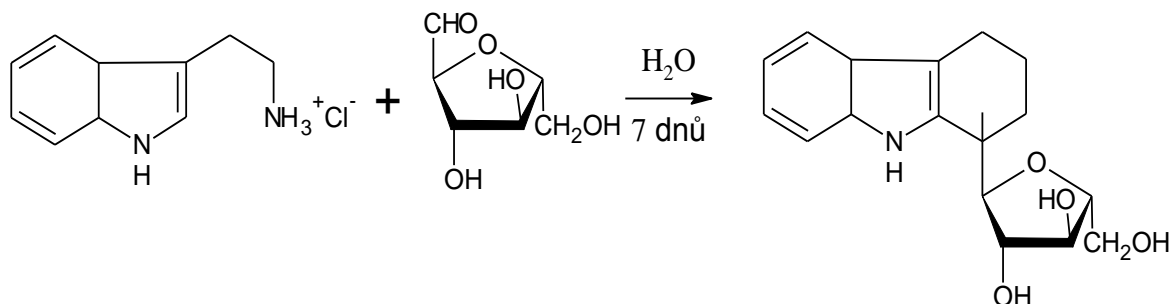
Hydrochlorid dopamin (2-(3,4-dihydroxyfenyl)ethylamin) je biogenní amin, který je metabolizován v játrech a plazmě. Glukóza, označována také jako hroznový nebo krevní cukr, je redukující monosacharid. Při reakci těchto dvou sloučenin bylo v rozpuštěno ve 30 ml destilované vody 1,33 g (7 mmol) hydrochlorid dopaminu a 5,05 g (28 mmol) D-glukózy a zahříváno na teplotu varu pod zpětným chladičem 48 hodin. Následně zchlazen a přefiltrován. Výsledný tmavě hnědý produkt byl upravován dalšími postupy, byl míchán po dobu jedné hodiny s katexem, následovala opět filtrace a promytí vodou k odstranění nečistot. Kyselý filtrát byl odpařen za vzniku žluto-hnědého prášku. Ten se dále čistil na koloně za použití silikagelu a směsi acetonitrilu s vodou (9:1), čímž byl získán další produkt, tentokrát čistě žluté barvy a hygroskopické povahy (2,3 g). Při studii NMR spekter byla prokázána přítomnost dvou isomerů v přibližném poměru 4:1. Isomery byly dále odděleny sloupcovou chromatografií za použití ethylacetátu. Hlavní isomer byl získán v čisté formě jako světle žlutý sirup. Výsledné produkty reakce byly isomery 6,7-dihydroxy-1(R) a 1(S)-(D-glukopentitol-1'-yl)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin hydrochloridu. [27, 33]



Obrázek č. 27: Reakce hydrochloridu dopaminu s D-glukozou

3.1.3.2 Reakce hydrochloridu tryptaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou

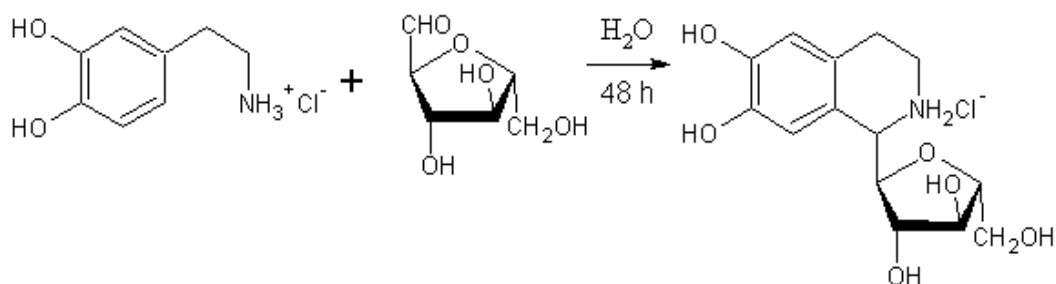
V nedávných studiích byla popsána syntéza nových C-nukleosidů mechanismem Pictet-Spenglerovy kondenzace. Takto získané sloučeniny obsahovaly α -D-arabinofuranosyl připojený prstencově k tetrahydropyridinovému jádru. Při reakci hydrochlorid tryptaminu v množství 1,38 g (7 mmol), který byl přidán k 20 ml vodného roztoku 2,5-anhydro-D-mannosu, který byl připraven hydrochloridu 2-amino-2-deoxy-D-glukózy. Směs byla mírně zahřívána k teplotě kolem 40 °C do rozpuštění veškerých složek a poté udržována při pokojové teplotě po dobu sedmi dní. Odpařením byla získána hnědá amorfnní pevná látka, která byla čištěna na sloupci silikagelu s použitím acetonitrilu a vody v poměru 9:1, čímž byl získán žlutohnědý prášek. Výsledný produkt se skládal z dvou isomerů v přibližném poměru 40:60. Výsledná směs isomerů byla dále separovaná pomocí chromatografie na silika gelu s použitím ethyl-acetátu, methanolu a vody v poměru 85:10:5. Oba isomery krystalizovaly za tvorby bílých jemných bílých jehliček z methanolu. Byla změřena teplota tání obou isomerů, která se pohybovala v rozmezí 228-230 °C, zatímco směr těchto isomerů měla bod varu 216-18 °C. Výsledný produkt byla směs dvou isomerů I(R)- a I(S)-(a-D-arabinofuranosyl)-1,2,3,4-tetrahydro- β -karbolin, každý z nich v čisté formě. Hlavní isomer je S, menší podíl tvořil isomer R. [27, 33]



Obrázek č. 28: Reakce hydrochlorid tryptaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou

3.1.3.3 Reakce hydrochloridu dopaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou

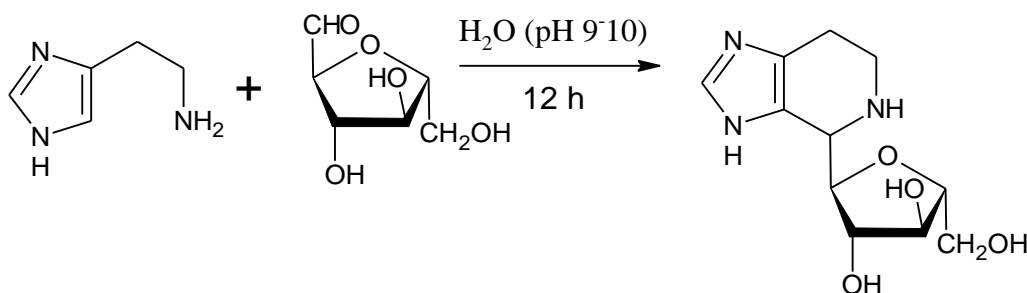
Hydrochlorid dopamin v množství 1,33 g (7 mmol) byl přidán k 10 ml roztoku 2,5-anhydro-D-mannosy, který byl připraven hydrochloridu 2-amino-2-deoxy-D-glukózy. Výsledný roztok byl udržován 48 hodin v pokojové teplotě. Poté následovalo odpaření do sucha a byla získána hnědá pevná látka. Chromatografií na krátkém sloupci silikagelu za použití acetonitrilu a vody v poměru 9:1 byl získán produkt reakce práškovité konzistence, hygroskopického charakteru a žluté barvy. Následovala metoda spektroskopie nukleární magnetické resonance, která prokázala přítomnost dvou isomerů v přibližném poměru 4:1. Sloučenina byla částečně separována za pomoci chromatografie s použitím ethyl-acetátu. Byly získány isomery 1(R)- a 1(S)-(a-D-arabinofuranosyl)-6,7-dihydroxy-1,2,3,4 tetrahydroisochinolin hydrochloridu. [27]



Obrázek č. 29: Reakce hydrochloridu dopaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou

3.1.3.4 Reakce dihydrochloridu histaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou

Dihydrochlorid histaminu v množství 1,84 g (10 mmol) společně s hydroxidem draselným v množství 1,18 g (21 mmol) byly rozpuštěny v 5 ml vody. Poté byl přidán roztok, který se skládal z 1,78 g (10,5 mmol) a 5 ml vody. Vzniklý bezbarvý roztok byl přes noc míchán, poté z něj bylo odpařeno 5 ml a vzniklá pevná bílá látka byla filtrována a promyta malým množstvím ledové vody, překrystalizuje se a vzniklý produkt je ve formě bílých krystalů o teplotě tání 234-236 °C. [27]



Obrázek č. 30: Reakce dihydrochloridu histaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou

ZÁVĚR

V této bakalářské práci bylo cílem charakterizovat biogenní aminy, popsat reakce mezi biogenními aminy a různými sloučeninami a vybranými sacharidy. Biogenní aminy jsou popsány jako látky, s kterými přicházíme stále do kontaktu, neboť jako produkty metabolismu mikroorganismů je téměř nemožné se jich vyvarovat. Některé však mohou plnit řadu prospěšných úloh v lidském těle.

Látky obsahující aminoskupinu se účastní mnoha reakcí. Konkrétní reakce, ve které interagoval biogenní amin, byla popsána jako syntéza derivátů tryptaminu, kdy bylo získáno 9 různých derivátů tryptaminu odvozených od heterocyklických fragmentů a aminoskupiny. Takto připravené deriváty měly vliv na životaschopnost buněk. Dále bylo syntetizováno 5 benzamidových derivátů na bázi tryptaminu, které byly testovány jako antimikrobní látky a prokázaly kladné výsledky, čehož by mohlo být využíváno při výzkumu nových antimikrobních činidel. Syntéza β -hydroxyserotoninu za použití enzymu izolovaného z bakterie *Pseudomonas* vykazovala taktéž kladný výsledek, protože syntéza může být využívána k přípravě analogů adrenalinu a efedrinu. Různé indolové deriváty jsou známy pro své antibakteriální, antivirové protizánětlivé vlastnosti a také mohou působit proti rakovině, mohou být vytvořena nová terapeutická činidla.

Reakce mezi sacharidy a biogenními aminy nebo jejich deriváty probíhají mechanismem Pictet-Spenglerovy kondenzace nebo Maillardovou reakcí, která probíhá bez přispěvku enzymů a poskytuje sensoricky aktivní látky. V první části Pictet-Spenglerovy reakce amin reaguje s aldehydem za vzniku iminiové soli (dusíkatý derivát karbonylové sloučeniny), ve druhé části arylová skupina aminu napadne iminiovou část sloučeniny a je získán meziprodukt, který je v dalším kroku deprotonován za vzniku β -karbolinového produktu. Konkrétně byly popsány reakce hydrochloridu dopaminu s D-glukozou, hydrochloridu tryptaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou, hydrochloridu dopaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou, dihydrochloridu histaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou.

Biogenní aminy mohou poskytovat interakcemi s různými látkami velké množství různých produktů a pro jejich dostupnost mohou tvořit v budoucnu oblast výroby sloužící v různých odvětvích nejen průmyslu chemického, ale mohou hrát roli v oblastech zabývajících se vývojem léků, prostředků k dezinfekci a sanitaci.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SILLA, Santos. Biogenic amines: their importance in food. *International Journal of Food Microbiology*, 1996, 213-231. ISSN 0168-1605.
- [2] ADÁMKOVÁ, Š. PETŘIVALSKÝ, M. Vztah metabolismu a signálních funkcí oxidu dusnatého a polyaminů v rostlinách. *Chemické listy*, 2012. 166-173. ISSN 1213-7103.
- [3] KAROVIČOVÁ, J. KOHAJDOVÁ, Z. Biogenic Amines in Food. *Chemical papers*, 2005. 70-79. ISSN 0366-6352.
- [4] FONTANA, J. LAVRÍKOVÁ, P. Metabolismus aminokyselin. Funkce buněk a lidského těla. Multimediální skripta. Dostupné z: <http://fb.lt.cz/skripta/ii-premena-letek-a-energie-v-bunce/12-metabolismus-aminokyselin/>
- [5] BOVER CID, S. MIGUÉLEZ-ARRIZADO, MJ. BECKER, B. HOLZAPFEL, WH., VIDAL-CAROU, MC. Amino acid decarboxylation by *Lactobacillus curvatus* CTC 273 affected by the pH and glucose availability. *Food Microbiology*, 2008. 269-277. ISSN 0168-1605.
- [6] SUZZI, G.. TORRIANI, S. Editorial: Biogenic amines in foods. *Frontiers in Microbiology*, 2015. 472. ISSN 1664-302X.
- [7] JANOUŠKOVÁ, M. Biogenní aminy. Brno, 2010. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta, Ústav preventivního lékařství. Vedoucí bakalářské práce Danuše Lefnerová.
- [8] BUŇKOVÁ, L. BUŇKA, F. HLOBILOVÁ, M. DRÁB, V. KRÁČMAR, S. Komparace různých metod detekce dekarboxylázové aktivity u bakterií mléčného kvašení. *Potravinářstvo*, 2010. 372-380. ISSN 1337-0960
- [9] WUNDERLICHOVÁ, L. Vývoj nových molekulárně biologických metod detekce putrescin produkujících bakterií. Zlín, 2014. Dizertační práce. Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická, Ústav technologie potravin. Školitel František Buňka.
- [10] SMĚLÁ, D. PECHOVÁ, P. KOMPRDA, T. KLEJDUS, B. KUBÁŇ, V. Chromatografické stanovení biogenních aminů v trvanlivých salámech během fermentace a skladování. *Chemické listy*, 2004. 432-437. ISSN 1213-7103.

- [11] MALONE, M. METCALFE, D. Histamine in foods: Possible Role in Non-Allergic Adverse Reaction to Ingestants. New England and regional allergy proceedings, 1986. 241-5.
- [12] BĚLOHLÁVKOVÁ, S. FUCHS, M. Scombroid syndrom. Alergie, 2005. 230-233. ISSN 1212-3536.
- [13] KOMPRDA, T. DOHNAL, V. CWIKOVÁ, O. Chromatografické stanovení biogenních aminů a polyaminů ve zrajících sýrech. Chemické listy, 2014. 1140-1144. ISSN 1213-7103.
- [14] BURDYCHOVÁ, R. DOHNAL, V. Využití HPLC ke stanovení produktu exprese genu pro mikrobiální tyrosindekarboxylasu. Chemické listy, 2007. 907-910. ISSN 1213-7103.
- [15] PELIKÁNOVÁ, J. Stanovení biogenních aminů pro fluorescenční senzory: Příprava citlivé vrstvy s rutheniovým komplexem a enzymem. Praha, 2012. Týmový projekt. České vysoké učení v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství, Katedra biomedicínské techniky. Vedoucí projektu Marie Pospíšilová.
- [16] ŠTAJNOCHOVÁ, K. Dekarboxylázová aktivita bakterie *Serratia marcescens* v neutrálním a zásaditém prostředí. Zlín, 2012. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická, Ústav technologie a mikrobiologie potravin. Vedoucí diplomové práce Zuzana Lazárková.
- [17] KIRAN, A. KINZA, A. KOUSARL. S. NADEEM MJUH. Synthesis, characterization and biological evaluation of tryptamine based benzamide derivatives. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 2016. 423-428. ISSN 1011-601X.
- [18] Vyhláška č.305/2004 Sb., kterou se stanoví druhy kontaminujících a toxikologicky významných látek a jejich přípustné množství v potravinách, částka 100, str. 6406.
- [19] FIALOVÁ, J. CHUMCHALOVÁ J. MÍKOVÁ K. GREIFOVÁ M. GREIF G. Výskyt rodu *Lactobacillus* a biogenních aminů v laboratorně vyrobené majonéze a tatarské omáčce. Chemické listy, 2013. 308-312. ISSN 1213-7103.
- [20] DURLU-ÖZKAYA, F. AYHAN, K. VURAL, N. Biogenic amines produced by Enterobacteriaceae isolated from meat products. Meat science. 2001, 163-166. ISSN 0309-1740.

- [21] ATIYA, A. M. POORYLIET E. POORTYLIET, R. STRÖMBERG, A. YNGVE, A. Polyamines in foods: development of a food database. *Food Nutr. Res.* 55., 2011. 5572. ISSN 1654-6628.
- [22] HANUSEK, J. *Organická chemie - Vlastnosti a reaktivita organických sloučenin.* Pardubice: Univerzita Pardubice, 2010. ISBN 978-80-7395-314-0.
- [23] MCMURRY, J. *Organická chemie.* 1. vydání. Brno: Vysoké učení technické, 2007. ISBN 978-80-214-3291-8.
- [24] SALIKOV, RF. BELYY, AY. KHUSNUTDINOVA, NS. VAKHITOVA YV. TOMILOVA YV. Synthesis and cytotoxic properties of tryptamine derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2015. 3597-3600. ISSN 0960-894X.
- [25] KAWASHIMA, T. SALINGER, J. HIDA, K. TAKAI, K. OGISO, EN. Unusual reactivity of β -hydroxy-serotonin, a forgotten serotonin derivative. *Amino Acids*, 2015. 189-198. ISSN 0939-4451.
- [26] MACLEAN, D., SZAREK, W., KVARNSTRÖM, I. The Pictet-Spengler Reaction in Carbohydrate Chemistry. *Reactions of Sugars with Biogenic Amines.* *Journal of the Chemical Society*, 1983. 601-602. ISSN 0022-4936.
- [27]) PIPER, IM. MACLEAN, DB. KVARNSTRÖM, I. SZAREK, WA. Pictet-Spengler reaction of biogenic amines with carbohydrates. *Synthesis of novel C-nucleosides.* *Canadian Journal of Chemistry*, 1983, 2721-2728. ISSN 0008-4042.
- [28] OBŠIL, T. PAVLÍČEK, Z. Glykace proteinů a fosfolipidů: Maillardova reakce in vivo. *Chemické listy*, 1997. 558-569. ISSN 1213-7103.
- [29] MARXOVÁ, Ž. Maillardova reakce. Zlín, 2011. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická, Ústav biochemie a analýzy potravin. Vedoucí bakalářské práce Ignác Hoza.
- [30] BARANWAL, A. PATEL, HH. MUKHERJEE, J. ^{18}F -Fluorodeoxyglycosylamines: Maillard reaction of ^{18}F -fluorodeoxyglucose with biological amines. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 2013. 86-91. ISSN 1099-1344.
- [31] COX, E. COOK, J. The Pictet-Spengler Condensation: A New Direction for an Old Reaction. *Chemical reviews*, 1995. 1797-1842. ISSN 0009-2665.
- [32] MARESH, J. GIDDINGS, L. FRIEDRICH, A. LORIS, E. PANJIKAR, S. TROUT, B. STÖCKIGT, J. PETERS, B. O'CONNOR, S. Strictosidine Synthase:

Mechanism of Pictet-Spengler Catalyzing Enzyme. Journal of American Chemical Society, 2008. 710-723. ISSN 0002-7863.

[33] PIPER, IM. MACLEAN, DB., FAGGIANI, R. LOCK, CJL. SZAREK, W. Configurational and conformational studies on condensation products of biogenic amines with 2,5-anhydro-D-mannose. Canadian Journal of Chemistry. 1985, 2915-2921. ISSN 0008-4042.

[34]) SVOBODA, J. Organická syntéza I. 1. vydání. Praha: Vysoká škola chemicko technologická v Praze, 2000. ISBN 80-7080-385-1.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: struktura alifatických aminů.....	14
Obrázek č. 2: struktura heterocyklických aminů.....	14
Obrázek č. 3: struktura aromatických aminů	14
Obrázek č. 4: schéma vzniku histaminu	15
Obrázek č. 5: schéma vzniku putrescinu	16
Obrázek č. 6: schéma vzniku tyraminu	16
Obrázek č. 7: schéma vzniku kadaverinu	17
Obrázek č. 8: schéma vzniku tryptaminu.....	17
Obrázek č. 9: schéma vzniku arendiazoniových solí.....	21
Obrázek č. 10: schéma substituce diazoniové soli.....	21
Obrázek č. 11: reakce arendiazoniových solí.....	21
Obrázek č. 12: elektrofilní aromatická substituce aminů.....	22
Obrázek č. 13: schéma přípravy derivátu tryptaminu.....	23
Obrázek č. 14: schéma přípravy substituovaného derivátu tryptaminu.....	24
Obrázek č. 15: syntéza 5-bromtryptamin derivátů.....	24
Obrázek č. 16: Syntéza 5-bromtryptaminu přes aminoskupinu.....	25
Obrázek č. 17: struktura amidu.....	26
Obrázek č. 18- struktura tryptaminu.....	26
Obrázek č. 19: schéma syntézy substituovaných benzaminů.....	27
Obrázek č. 20: (N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)benzamid).....	27
Obrázek č. 21: N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-4-(trifluoromethyl)benzamid.....	28
Obrázek č. 22: N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-4-methylbenzamid.....	28
Obrázek č. 23: N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-3,4,5-trimethoxybenzamid	28
Obrázek č. 24: N-(2-(1H-indol-3-yl) ethyl)-3, 4-dimethoxybenzamid.....	29
Obrázek č. 25: schéma enzymatické syntézy β -hydroxyserotoninu.....	31
Obrázek č. 26: Mechanismus Pictet- Spenglerovy reakce.....	35

Obrázek č. 27: Reakce hydrochloridu dopaminu s D-glukozou.....	36
Obrázek č. 28: Reakce hydrochlorid tryptaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou.....	37
Obrázek č. 29: Reakce hydrochloridu dopaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou.....	37
Obrázek č. 30: Reakce dihydrochloridu histaminu s 2,5-anhydro-D-mannosou.....	38

SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: Velikost inhibičních zón v mm u mikroorganismu <i>Bacillus subtilis</i>	29
Tabulka č. 2: Velikost inhibičních zón v mm u mikroorganismu <i>Aspergillus niger</i>	29
Tabulka č. 3: Minimální inhibiční koncentrace (MIC) syntetizovaných sloučenin proti <i>Bacillus subtilis</i>	29
Tabulka č. 4: Minimální inhoboční koncentrace (MIC) syntetizovaných sloučenin proti <i>Aspergillus niger</i>	30