

Izolace a identifikace nikotinu v droze *Nicotianae folium*, *Nicotiana tabacum*, Solanaceae

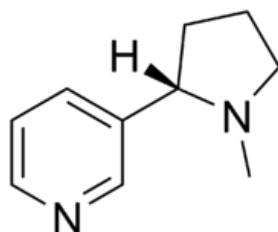
Úvod: Nikotin je olejovitá prchavá látka, v přírodní formě levotočivá, postupně žlutne a hnědne. NIKOTIN JE POTENTNÍM JEDEM PRO VĚTŠINU ŽIVOČICHŮ. Akutní toxický efekt je podmíněn interakcí s nikotinovými cholinergními receptory v periferním i centrálním nervovém systému, přičemž periferní efekt je dominantní. V organismu se velmi rychle vstřebává a rychle metabolizuje v játrech a vylučován ledvinami, významná presystémová eliminace, částečně je vylučován i mateřským mlékem.

1mg/kg, tj. cca 40 -60 mg koncentrovaného extraktu je smrtelné pro průměrného dospělého člověka, pro dítě 10 mg. Tato dávka je zapsaná ve všech dostupných databázích, je však možné, že se jedná o omyl tradovaný z 19. století věhlasnou kapacitou. Dle kazuistických sdělení u intoxikací, se předpokládá dávka asi 10x vyšší, tj. cca 12 mg/kg. Nicméně akceptujeme hodnotu původně publikovanou v odborné literatuře.

Dávky kolem 1-4 mg u dospělého způsobí záněty sliznice dutiny ústní, pálení v hrdle, slinění, pocity horka začínající v žaludku a šířící se do hrudi a hlavy, nevolnost, bolest hlavy a závratě. Zorničky mohou být zúžené i dilatované.

Vyšší dávky způsobují nejasné vidění, poruchy sluchu, ztuhlost, bledost tváře, nervozitu, suchost v ústech, výrazné pocity slabosti končetin., průjmy, zvracení, svalový třes, rychlý nepravidelný a namáhavý dech. Letální dávky (40-60 mg) způsobí během několika minut vytvoření nahnědlé pěny v nose a ústech, poleptání sliznic, cirkulační kolaps, tonicko-klonické křeče. Frekvence dechu je zpočátku zvýšená, později slabá s příznaky dušení. Smrt nastává respirační paralýzou a zástavou srdce. *Avšak* tato dávka rozložená do celého dne je u chronických kuřáků běžná. 1 cigareta obsahuje průměrně 10-15 mg (záleží na výrobci, kvalitě materiálu aj.)

Nikotin způsobuje skeletární malformace a rozštěpy patra podobně jako anagyrin.



Nikotin

Nikotin se používá jako insekticid, proti savým a žravým škůdcům na rostlinách. Extrakt se ředí na 10-20% roztok

Postup extrakce:

0,5 g listů tabáku zalijeme 10 ml methanolu, přidáme 5 kapek 10 % roztoku amoniaku a necháme 15 minut extrahovat na ultrazvukové lázni. Poté zfiltrujeme přes skládaný filtr s 0,5 g bezvodého síranu sodného do odpařovací misky. Na vodní lázni zahustíme do celkového objemu cca 2-3 ml.

Chromatografický důkaz přítomnosti nikotinu na TLC:

Na tenký proužek silufolu s indikátorem pro UV₂₅₄ nanese odděleně čirý extrakt z tabákových listů a roztok standardu nikotinu. Vrstvu vysušíme a vložíme do mobilní fáze vysycené chromatografické kyvety a necháme vyvíjet po dráze cca 8 cm. Poté vysušíme fénem a provedeme detekci pod UV lampou při vlnové délce 254 nm. Vyhodnotíme-

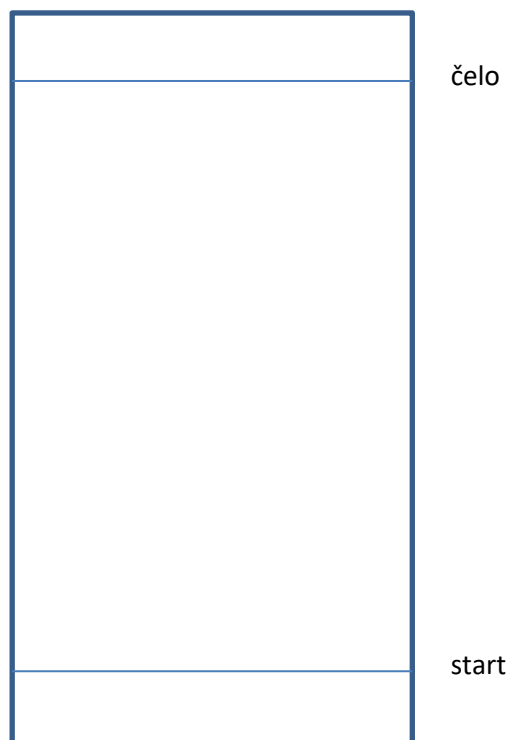
Dále použijeme detekční činidlo č. 1, zaznamenáme změnu zbarvení a následně detekujeme detekčním činidlem č. 2. Zahřejeme na plotýnce vařiče a vyčkáme do objevení se barevných změn.

Mobilní fáze: toluen-ethylacetát-diethylamin, 70:20:10

Detekční činidlo č. 1: zředěné Dragendorfovo činidlo (2 ml Dragendorfova činidla + 2 ml konc. kyseliny octové+ 10 ml voda), (už připravené zředěné)

Detekční činidlo č. 2: 5% vodný roztok dusitanu sodného

Vyhodnocení: Vypočítáme R_f hodnotu barevných skvrn na dráze vzorku a standardu. Srovnáme s Atlasem TLC, str. 86

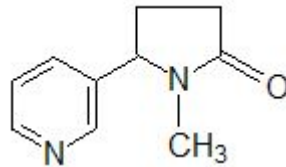


R_f hodnota

3) Kontaktní test na rostlinných parazitech – červci, svilušky

Na infikovaný list skleníkové rostliny necháme skápnout cca 10 μ l 1% roztoku nikotinu. Sledujeme efekt nikotinu na hmyz. Sledujeme pod mikroskopem.

4) Kotininový test



Nikotin se rychle metabolizuje na kotinin. Na detekci kotininu ve slinách jsou založeny jednorázové testy, které lze koupit v lékárně.

Jednorázový kotininový test COT ze slin ve formě kazety je průtokový chromatografický imunologický test, sloužící ke zjištění přítomnosti kotininu v lidských slinách od uvedeného detekčního limitu:

Test	Kalibrátor	Detekční limit (ng/ml)
Kotinin (COT)	Kotinin	30

Otázky:

1. Co je to nikotin? Biosyntéza, zastoupení v rostlinné říši.
2. Jakým způsobem se z rostlinného materiálu izoluje a jaké jsou jeho organoleptické vlastnosti?
3. Jaká je biologická aktivita nikotinu, mechanismus účinku, toxicita?
4. Jaký je biologický poločas nikotinu, jak se v organismu metabolizuje, hlavní metabolit.
5. Příznaky intoxikace.