

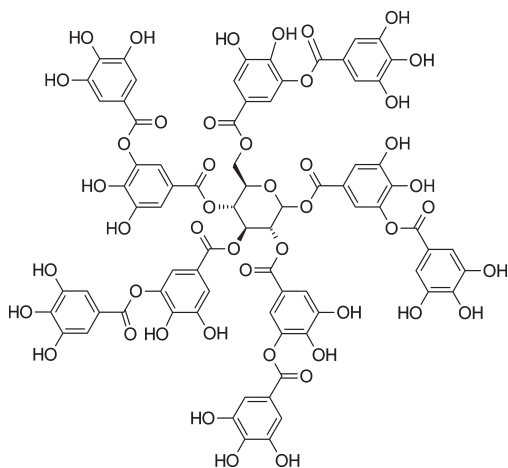
Ispitivanje antidotnog dejstva tanina pri trovanju alkaloidima

Ispitivana je sposobnost taninske kiseline na vezivanje kinina, radi mogućnosti upotrebe u terapiji trovanja. Propuštanjem različitih koncentracija kinina kroz kolonu aktiviranog Sephadex-a za koji je prethodno vezan rastvor taninske kiseline kao komercijalne forme tanina ispitivana je koncentracija tih rastvora pre i nakon propuštanja kroz kolonu. Koncentracije kinina su merene spektrofotometrijski. Rezultati su pokazali da se koncentracija kinina smanjuje nakon propuštanja kroz kolonu taninske kiseline vezane za aktivirani Sephadex. Razlika između koncentracija je statistički značajna, što otvara mogućnost upotrebe taninske kiseline kao antidota pri trovanju alkaloidima

Uvod

Tanini su biljni polifenoli koji vezuju i precipitiraju. Sadrže velike količine polifenolnih komponenti koje imaju dovoljno hidroksilnih i drugih odgovarajućih grupa (npr. karboksilnih ili fenolnih) kako bi izgradili snažne komplekse sa proteinima i drugim makromolekulima. Molekulska masa tanina kreće se od 500 do preko 3000 daltona (Florkin 1962). Inkompatibilni su sa alkalijama, želatinom, oksidima teških metala, gvožđem, krečnom vodom, solima metala, cink-sulfatom, pa i sa nekim polisaharidima i proteinima jer ih precipitiraju. Tanina ima u čaju, vinu, mnogim vrstama voća i mnogim drugim vrstama viših i nižih biljaka. Tanini mogu imati veliki uticaj na nutritivnu vrednost hranljivih sastojaka kojima se hrane ljudi, ali i životinje. Takođe, ova jedinjenja pokazuju i izvesno antibakterijsko, antivi-rusno i antiparazitarno dejstvo. Taninska (galota-

ninska) kiselina (Acidum tannicum) – $C_{76}H_{52}O_{46}$ je kompleksan organski molekul. Ima slabu kiselost (pKa je oko 10), a može se naći u biljkama kao što su hrast, orah i mahagoni i to najviše u semenju, kori i šišarci. Do sada je otkriveno da je najviše zastupljena u kori kalifornijske sekvoje. Taninska kiselina taloži proteine, ima ulogu adsorbensa, a u izvesnoj meri deluje i kao hemostatik. U kontaktu sa kožom i sluznicama stvara na površini tanak sloj nerastvorljivih denaturisanih proteina koji sprečava resorpciju toksičnih materija i štiti sluznicu creva od daljeg oštećenja. Pored toga, taninska kiselina denaturiše enterotoksine, proteine i benzil benzoat, adsorbuje soli teških metala i ublažava opekotine. Supstancama u kojima se nalazi daje gorak ukus. Najčešće se javlja u formi čvrstog agregatnog stanja u vidu žutog do praha svetle braon boje. Veoma je rastvorljiva u vodi i etanolu. Jako je oksidaciono sredstvo. Sa metalima gradi soli tanate (Hagerman 2002).



Slika 1. Molekularna struktura taninske kiseline

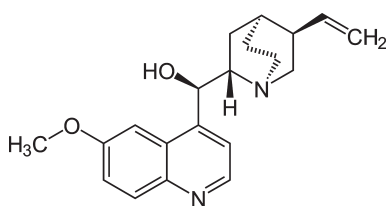
Figure 1. Molecular structure of tannic acid

Srdan Nikolovski (1989), Pančevo, Mihajla Petrovića Alasa 7/30, učenik 4. razreda Medicinske škole „Stevica Jovanović“ u Pančevu

Kinin – $C_{20}H_{24}N_2O_2$ je kristalni alkaloid izolovan iz Chinona drveta. To je snažana miorelaksant, antipiretik, antimalarik i analgetik. Takođe, ima i antiinflamatorno dejstvo. Stereoizomer je kinidina. Prvi put je korišćen u terapiji malarije, delujući protiv *Plasmodium falciparum*. U lečenju se najčešće koriste soli kinina. Kinin se koristi i u proizvodnji bezalkoholnih napitaka, ali i u hemijskim fabrikama.

Zbog raznovrsnih hemijskih grupa i većem broju osobina koji su karakteristične za alkaloidne kinin je iskorišćen kao “standardni alkaloid”

Cilj ovog rada je utvrđivanje stepena antidotnog dejstva taninske kiseline na koncentraciji kinina



Slika 2. Molekulska struktura kinina

Figure 2. Molecular structure of quinine

Materijal i metode

Radi ispitivanja međusobnog dejstva tanina i alkaloida uspostavljena je nova eksperimentalna postavka koja se zasniva na principima afinitetne hromatografije. U samom eksperimentu korišćena je taninska kiselina i kinin kao tipični predstavnik alkaloida. Princip ove metode ispitivanja se zasniva na vezivanju kinina za molekule taninske kiseline koji su prethodno vezani za kolonu Sephadex-a.

Korišćeno je šest različitih koncentracija rastvora kinina: 5, 10, 25, 50, 100 i 200 mg/L. Kako bi se ispunili uslovi slični onima koji vladaju u želucu čoveka, kao rastvarač u rastvorima kinina korišćena je hlorovodonična kiselina (0.01 M, pH 2). Taninska kiselina je rastvorena u karbonatnom puferu (0.2 M, pH 8.6) tako da koncentracija tog rastvora bude 100 g/L. Potom je rastvor taninske kiseline vezan za kolonu Sephadex-a. Korišćen je rastvor CNBr-Sephadex-a 4B u fosfatnom puferu (0.1 M, pH 7.4). U pripremljeni Sephadex dodato je 5 mL rastvora taninske kiseline. Nakon 24 časa odličen je super-

natant nevezanih molekula taninske kiseline za kolonu Sephadex-a. Tada je kroz kolonu propuštan po 3 mL redom od svake koncentracije kinina, s tim da je između propuštanja kinina kroz Sephadex kolona ispirana prvo 1 M rastvorom natrijum-hlorida u fosfatnom puferu (0.1 M, pH 7.4) radi uklanjanja suvišnih nevezanih molekula, a potom čistim fosfatnim puferom. Propušteni rastvori kinina su hvatani u frakcije.

Druga faza je predstavljala spektrofotometrijsko merenje frakcija svake od šest propuštenih koncentracija kinina kroz kolonu, kao i rastvora kinina istih koncentracija koji nisu propušteni kroz kolonu Sephadex-a. Spektrofotometrijska merenja su rađena na talasnoj dužini od 250 nm.

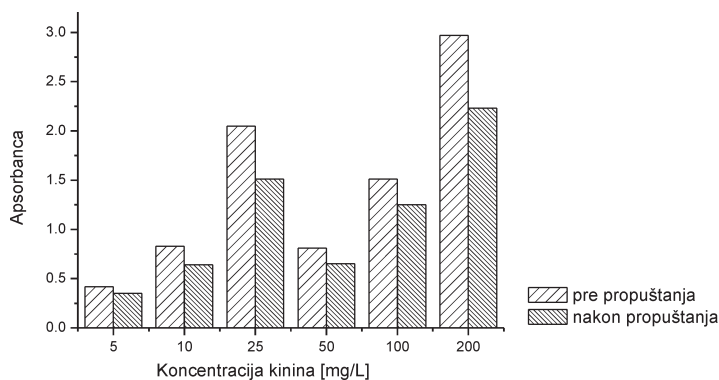
Rezultati i diskusija

Spektrofotometrijskim merenjem određivana je apsorbancna na 330 nm rastvora kinina različitih koncentracija. Dobijene su koncentracije rastvora kinina pre i nakon propuštanja kroz kolonu Sephadex-a. Upoređivane su apsorbance rastvora kinina istih koncentracija pre i nakon propuštanja kroz kolonu.

Tabela 1. Apsorbancna različitih koncentracija rastvora kinina pre i nakon propuštanja kroz kolonu Sephadex-a

Koncentracija kinina (mg/L)	Apsorbancna rastvora kinina	
	pre propuštanja	nakon propuštanja
5	0.424	0.345
10	0.827	0.636
25	2.046	1.512
50	0.805	0.654
100	1.610	1.250
	2.975	2.231

Iz rezultata se vidi da su apsorbance rastvora kinina opale nakon propuštanja kroz kolonu Sephadex-a za koju je bio vezan rastvor taninske kiseline. To istovremeno ukazuje i na pad koncentracije kinina nakon propuštanja kroz kolonu u proseku za 22.3%. Suprotno očekivanjima, nije definisana zavisnost propuštene količine kinina od primenjene. Za ovu pojavu nije nadjeno adekvatno objašnjenje.



Slika 3.

Apsorbanca različitih koncentracija rastvora kinina pre i nakon propuštanja kroz kolonu Sephadex-a

Figure 3.

Absorbance of different concentrations of the quinine solution before and after applying to the Sephadex column

Sa grafika se uočava da je količina kinina koja je apsorbovana na kolonu pri koncentraciji od 50 mg/L približno jednaka količini koja je apsorbovana pri koncentraciji od 10 mg/L

Kako je pri svim koncentracijama došlo dovezivanja kinina može se zaključiti da nije probijen kapacitet kolone, kao i da srazmerno male količine taninske kiseline mogu da apsorbuju veće koncentracije kinina.

Zaključak

Kao što dobijeni rezultati pokazuju, koncentracija kinina u rastvoru opada pri interakciji sa taninskom kiselinom. Ovaj podatak može značiti da tanini imaju određena antidotna svojstva pri trovanju alkaloidima. U daljim istraživanjima je poželjno odrediti maksimalnu koncentraciju kinina na koju će tanini delovati što bi i bila jedna od smernica za dalja ispitivanja.

Srdan Nikolovski

Influence of Tannins as Antidotes on Alkaloid Intoxication

The aim of this project was testing influence of tannic acid as an antidote on quinine concentration. Different concentrations of quinine solution have been applied to Sephadex columns with bind tannic acid solution. Tannic acid has been used as the representative of tannins as a commercial form of tannins. After the application, concentrations of quinine solutions were measured by spectrophotometric method. Results show quinine concentrations fell after application on Sephadex columns with a solution of tannic acid. This difference shows that tannins can be used as an antidote for intoxication by alkaloids.



Literatura

Florkin M., Mason H. S. 1962. *Comparative biochemistry*. New York: Academic Press

Hagerman E. Ann 2002. *Tannin chemistry*. Miami: Department of chemistry and biochemistry- Miami University