

ERGOTALKALOIDOK GAZDASÁGOS ELŐÁLLÍTÁSÁNAK FAJTAKÉRDÉSEI

VÁSÁRHELYI GYÖNGYVÉR
Gyógynövény Kutatóintézet, Budakalász

UDVARDY ISTVÁNNÉ
Kőbányai Gyógyszerárugyár, Budapest

A klasszikus ergotalkaloidok ipari termelésének, mai tudásunk szerint két útja ismeretes: szaprofita *Claviceps purpurea* törzsek steril fermentációja, illetve parazita törzsek szántóföldi termesztésbe vitele. Az előbbi megoldásra is ismeretesek már nagyterfogatban realizált eljárások, ennek ellenére a világ peptidalkaloid termelésének jelentősebb hányada ma is a parazita törzsek alkaloid termeléséből származik. Különösen érvényes ez ergokrisztin és ergotamin esetében, ugyanis ezen alkaloidvegyületekre jellemző fenilalanin képződését nehezebb fermentációs bioszintézis során megfelelő szinten tartani. Az anyagsereutak egyensúlyozó regulációja az ergotamin és az ergokrisztin termelő törzseket ergokornin vagy vízdoldékony alkaloidok irányába tolhatja el. Jelenleg az ergokrisztin és az ergotamin alkaloidok előállítása erre alkalmas parazita törzsek tenyésztésével, szántóföldi termesztésével oldható meg gazdaságosan.

Az előállítás gazdaságosságát nagymértékben befolyásolja a törzsek alkaloidtermelő képessége, a mellékalkaloidok és az egyéb anyagsereutermékek mint pl. a különböző természetű zsíros anyagok mennyiségi jelenléte. A parazita törzsek nemesítésének ennél fogva több irányba kell folynia, minél nagyobb alkaloidtartalmú drogot kell nyernünk, mely mellékalkaloidot nem, vagy csak jelentéktelen mértékben tartalmaz és a zsírosolaj-tartalma sem rontja az alkaloid kinyerés lehetőségét.

Nemesítési módként a szelekciót, az ivarosnemesítést és a mutáció indukálását alkalmazzuk. A szelekciós nemesítésnél és a mutagén kezelést követő szelekciónál általános gyakorlat, hogy az egyedeket a szklerócium alkaloidtartalma alapján emelik ki. Kísérleteinkben megállapítottuk, hogy ez a jelleg csak részben törzsfüggő, másrészt a törzset egyoldalúan jellemzi. Ezért a szelekció vitelénél a törzs tenyészciklusában mindazon jellegeket figyelembe vettük (spóráképzés táptalajon, mézharmat-, illetve szklerócium-stádium átmeneti sebessége stb.), melyek összefüggésben vannak a törzs által meghatározott — potenciális — alkaloidtermelő képességgel. Szelekciót végzünk tehát a gomba egyedfejlődésének és tenyésztési fázisainak különböző szakaszaiban,

morfológiai és beltartalmi jegyek alapján, organoleptikus és analitikai módszerekkel.

A rendkívül nagyfokú reprodukciós képesség nagyszámú vizsgálat végzését teszi lehetővé, és egyben szükségessé az utódok ellenőrzése céljából. Az évente megközelítően tízezer analitikai egyedvizsgálat olyan vékonyréteggromatográfiás módszerrel történik, mely nagy szelektivitással rendelkezik, így az alkaloidok nemcsak típusuk, hanem optikai és egyéb izomérjeik szerint is elkülöníthetők. Az analitika ilyen szintű alkalmazása a kutatásban, egyre újabb célokat tűz a nemesítés elé, mint például az utóbbi évben az ergokriptin szétválaszthatósága α - és β -kriptinre, a törzsszelekció egy újabb vonalát jelölte ki. Az alkaloidok mennyiségi meghatározására a réteggromatográfiával kombinált UV spektrofotometriás módszert alkalmazzuk. Analitikai módszerünk további finomítását szolgálja a technikailag magas szinten álló nagynyomású folyadékkromatográfia, mely az alkaloidok spektrumának és volumenének még valóságosabb képét adja.

Ivaros nemesítésnél a gomba természetes fejlődésmenetét ellenőrzött körülmények között kísérjük figyelemmel. A különböző fejlődési fázisok optimális ökológiai és biológiai feltételeit mesterségesen biztosítjuk, így alkalmunk van genetikai változások előidézésére. Ezeket a változásokat mutáció indukálásával is segítjük rádióaktív gammasugárzás alkalmazásával. A pozitív mutánsok tulajdonságainak genetikai rögzítettségét az utódokban ellenőrizzük, mielőtt nagyüzemi termelésbe vinnénk.

Az utóbbi évek nemesítésének eredményeként a Gyógynövény Kutatóintézet és a Kőbányai Gyógyszerárugyár kutatási együttműködése során egy új ergokrisztint termelő törzset nyertünk, mely kiváló tulajdonságait már 3 éve bizonyítja, és jelenleg egyetlen ergokrisztines fajtaként termesztett gyógyszeriparunk számára. Ez a törzs nagymértékben fokozta az ergokrisztin alkaloid előállításának gazdaságosságát. A törzs a kiindulási tenyészethez képest több mint kétszeres ergokrisztinttartalmat biztosított a nagyüzemi termelés átlagában. Az alkaloidszint növekedésén kívül azzal a jelentős előnnyel is rendelkezik, hogy mellékalkaloidot — a vízdoldékony ergometrinen kívül — nyomnyi mennyiségben is ritkán tartalmaz, szemben az előd, a kiinduló anyag, mérhető ergotamin szennyeződéssel.

Az új törzssel az alkaloidkinyerés határfoka is javult, ami tovább fokozható a szkleróciumok zsírosolaj-tartalmának csökkentésével. Ilyen irányba kísérleteket indítottunk, melyeknél első lépésként a zsírsavak összetételét, minőségét határoztuk meg gázkromatográfiás és tömegspektrometriás módszerekkel. Továbbiakban a zsírsavcsere folyamatok jelzett izotópokkal való felderítését, a zsírmennyiség és összetétel kedvező irányba való befolyásolását célozzuk.

Szelekciós nemesítési munkánk az elmúlt években az ergotamint termelő törzseknél is alkaloidhozam növekedést eredményezett. Az eredményt azt

igazolja, hogy kidolgozott szelekciós módszerünk különböző *Claviceps* törzsek-nél is hatékony, a megállapítások tehát általános érvényűek. Itt még soron következik további nemesítési munkával a szennyeződésként jelenlevő kísérő alkaloidok eltávolítása, a kémiai kinyerés hatásfokának, valamint az előállított termék minőségének további javítása érdekében.

Az országosan többezer ha-on termesztett anyarozs nemcsak a gyógy-szeripar számára vezet jövedelmező termékhez, de a mezőgazdasági üzemek-ben is gazdaságos növénytermesztési üzemág. A szántóföldi termesztés ha-onkénti hozamát is nagymértékben befolyásolják a termesztett anyarozstörzs tulajdonságai. Ezek közül a legfontosabb az oltóspórák csíráképpessége, a vi-rulencia és az ezerszemsúly. A helyesen vitt nemesítés a beltartalmi értékeken kívül ezeket a szempontokat is előnyösen szolgálja, és ezzel a mezőgazdaság számára is gazdaságos szántóföldi növényt biztosít.

Mint ahogy egyéb termesztett növényfajoknál, a termeszto biztonságát az elismert fajták forgalmazása és központi ellenőrzése szolgálja, kívánatos lenne, hogy az anyarozstörzsek a szabadalmi védelmen kívül fajtaelismerésben is részesüljenek.