

A szabadföldön termesztett indián dohány (*Lobelia inflata* L.) összalkaloid produkciója

The total alkaloid production of Indian tobacco (*Lobelia inflata* L.) in open field conditions

Vojnich Viktor József¹, Pölös Endre², Pető Judit³, Hüvely Attila⁴, Palkovics András⁵
^{1,2,3,4,5}Kecskeméti Főiskolai Kar, Kertészeti Tanszék, Környezettudományi Csoport

Összefoglalás: Az Észak- Amerikában honos indián dohány egy honosíthatónak bizonyuló, többoldalúan hasznosítható gyógynövény. A herba számos piperidinvázus alkaloidot tartalmaz. Főalkaloidja a lobelin, melynek a légzőközpontra serkentő hatása van, gáz- és narkotikummérgezés esetén használják. Dohányzás elleni készítményekben is alkalmazzák. Termesztés bevonási célú kísérleteinkben a nitrogén (34% ammónium-nitrát) és a magnézium (2% magnézium-szulfát) műtrágyák hatását vizsgáltuk az összalkaloid tartalom fokozása szempontjából. A legnagyobb herba összalkaloid tartalmat az 50 kg/ha Mg kezelésnél (490 mg/100 g) mértük. A herbánál mért legmagasabb lobelin tartalmat az 50 kg/ha Mg műtrágya kezelés mutatta (445 µg/g). A herba legnagyobb száraz tömeg értékét a 100 kg/ha N kezelés hatására értük el (6,7 g).

Abstract: Indian tobacco, a native North American species seems to be a useful medicinal plant that can be introduced in Hungary. The herb contains several piperidine skeleton alkaloids. Its main alkaloid is lobeline that due to its stimulating effect on the respiratory center is used in cases of gas- and narcotic poisoning. It is also used in anti-smoking preparations. The aim of our studies was to follow the total alkaloid production of the open field trials different contain of in *L. inflata* after nitrogen (ammonium-nitrate) and magnesium (magnesium-sulphate) fertilization. The highest total alkaloid content of the herb was in the 50 kg/ha Mg treatment (490 mg/100 g). Lobeline content was higher in herb of the 50 kg/ha Mg treatment 445 µg/g. The highest biomass value of the herb was in the 100 kg/ha N treatment (6.7 g).

Kulcsszavak: Indián dohány (*Lobelia inflata* L.), összalkaloid tartalom, lobelin tartalom, biomassza

Keywords: Indian tobacco (*Lobelia inflata* L.), total alkaloid, lobeline content, biomass

1. Bevezetés

Az indián dohány (*Lobelia inflata*) egy Észak-Amerikában honos növény (Gottfried, 2001). Főleg egyényári növény (Felpin-Lebreton, 2004), de kétnyári populáció is előfordulnak. A kifejlett toktermései felfújó zöld hólyagokra hasonlítanak (az „inflata” elnevezés a felfújó termésre utal). A növénynevezés tudományos neve (*Lobelia*) Mathias de L’Obel flamand orvos-botanikustól származik, aki először írta le a növényt (Mottram, 2002). Az indián dohány főként Kanada és az Amerikai Egyesült Államok keleti területein, illetve a középnyugati államokban lelhető fel (Gottfried, 2001).

A dohányzás és a depresszió elleni szerek fontos népegészségügyi szerepet töltenek be. A növény számos piperidin vázas alkaloidot tartalmaz (Kursinszki és mtsai, 2008), köztük a dohányzás elleni készítményekben is felhasznált lobelint (Glover és mtsai, 2010). Újabban a központi idegrendszerre (Beckmann és mtsai, 2010), kábítószer abúzusra, valamint a multi

drog rezisztenciára irányuló kutatások miatt került az érdeklődés előterébe (Szőke és mtsai, 2013). A piaci szükségletek kielégítéséhez fontos a növény hatóanyag termelésének növelése, amire irodalmi adatok szerint (Bálványos 2002, Takács-Hájos és mtsai, 2007) a növény tápanyag utánpótlása révén nyílhat lehetőség.

Kísérleteink célja, hogy a szabadföldön termesztett *L. inflata* növények hatóanyag-tartalmát összehasonlítsuk, azonos tápanyag ellátás (magnézium és nitrogén) hatására.

2. Anyag és módszer

A 2010-2011 évben végrehajtott szabadföldi kísérlet során alkalmazott tápanyag-utánpótlási kezelések, hatóanyagra (kg) vonatkoztatva, a következők 2010-ben: kezeletlen kontroll, 50 kg/ha N-, 100 kg/ha nitrogén és 50 kg/ha Mg műtrágya kezelés. A 2011 kísérleti évben használt kezelések: kezeletlen kontroll, 50 kg/ha N-, 100 kg/ha nitrogén, 50 kg/ha Mg- és 100 kg/ha Mg műtrágya kezelés. A palánták üvegházi nevelése januárban kezdődött meg a magvetéssel. A 2010-es évben június 15-én ültettük ki a palántákat, míg 2011-ben május 26-27-én. 2010-ben parcellánként 27 darabot, 2011-ben 40 darab palántát ültettem ki. Egy héttel a szabadföldi kiültetés előtt, a felásott talajra NPK műtrágyát (N 15%, P₂O₅ 15%, K₂O 15%) szórtam ki. A N-műtrágya (NH₄NO₃ 34%) és a Mg-műtrágya (MgSO₄ 2%) kijuttatása mindkét évben a kiültetés előtti napon történt. A kezeléseket négy ismétlésben, random elhelyezésben végeztem. Az állomány morfológiai felmérésre 2010-ben 4 alkalommal (július 8-án, július 17-én, július 24-én és augusztus 1-én), illetve 2011-ben 3 alkalommal (július 22-én, július 29-én és augusztus 7-én) került sor. A betakarítás időpontja: 2010 augusztus 5-6., illetve 2011 augusztus 9-10. Ekkor megmértem a frisstömeget (g), majd a felaprított növényeket üvegházban, árnyékos, szellős helyen szárítottam. A légszáraz növények súlyát 2010 augusztus 30-án, és 2011 szeptember 1-én mértem le. A növények hatóanyag tartalmi vizsgálataira a Semmelweis Egyetem, Farmakognóziailag Intézet laboratóriumában került sor.

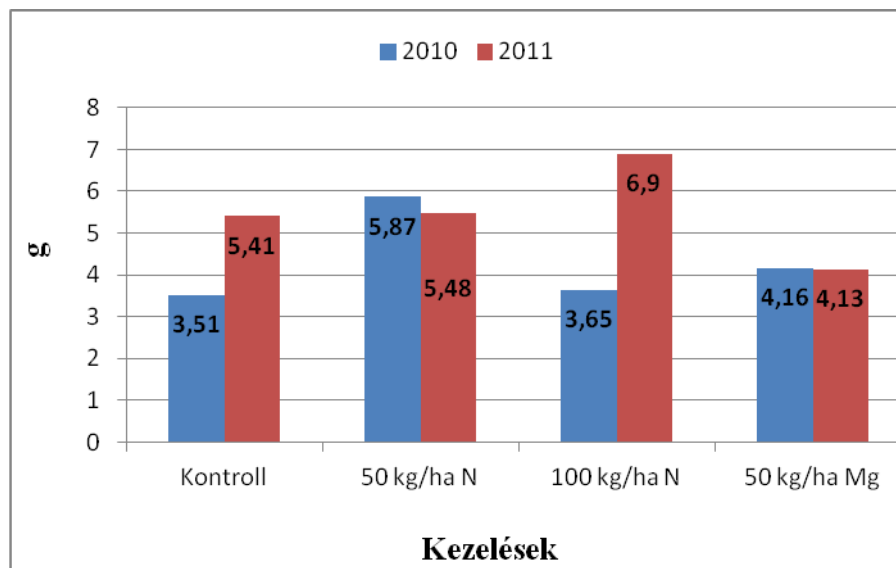
Az összes alkaloid tartalmat a Mahmud és El-Masry (1980) által kidolgozott, majd Krajewska (1986) által módosított módszer alapján végeztük el. Az 1 g liofilizált és elporított *L. inflata*-t háromszor extraháltuk (20, 15, 15 ml) metanol és 0,1n HCl (1:1) eleggyével. Szűrés után az extraktumot 50 ml-re egészítettük ki a kivonó eleggyel. Ebből 5 ml-t 0,1n NaOH-dal semlegesítettünk (pH=7), majd 10,0 ml 0,01%-os metil-narancs oldatot adunk hozzá Mc-Ilvaine pufferben (3,69 g Na₂HPO₄ * 12 H₂O és 1,02 g citromsav-monohidrát 100 ml vízben oldva, pH = 5,0) (Todd, 1975). Az elegyet 3*20 ml kloroformmal rázótolcsérben kiráztuk, majd az egyesített kloroformos fázist rázótolcsérben 3*15 ml 5%-os NaCl-ot tartalmazó 0,1 n HCl oldattal ráztuk ki. A kirázást követően a vizes fázis alkaloid tartalomtól függő vöröses elszíneződése volt megfigyelhető. Az egyesített vizes fázist mérőlombikban 5% NaCl-ot tartalmazó 0,1 n HCl oldattal pontosan 50 ml-re egészítettük ki, majd az oldat abszorbanciáját 510 nanométeren mértük Hitachi U 1100 spektrofotométerben az 5% NaCl-ot tartalmazó 0,1 n HCl oldattal szemben. Az összalcaloid tartalmat lobelin bázisra vonatkoztattuk. A lobelin (0,1 n HCl-ban felvett) UV spektrumának maximuma 249 nm (Szőke, 1994).

A lobelin tartalmat HPLC (nagynyomású folyadék kromatográfia) módszerrel, a Kursinszki és munkatársai (2008) által módosított módszerrel határoztuk meg. A liofilizált *L. inflata* minták 1 g-ját kétszer 10 ml 0,01n HCl-dal extraháltam ultrahang készülékben 5–5 percig, szobahőmérsékleten. A szűrés megkönnyítése érdekében az extraktumot centrifugáltam (f=6000 1/s, T=10 min). A folyadék fázist kis vattapamaton 100 ml-es Erlenmeyer lombikba szűrtem és a vattapamaton 3-4 ml metanollal mostam. A centrifugacsőben maradt drogot a kivonóedénybe jutattam, a kivonást még kétszer megismétltem 20- és 10 ml kivonószer eleggyel. Az így kapott egyesített kivonatból a

metanolt rotációs vákuum-bepárlón elpároltuk. Ezt követően a kivonatot folyadék-folyadék extrakcióval tisztítottam, majd injektáltam a HPLC rendszerbe, ami a következőkből áll: kvaterner gradiens pumpa, PDA detektor, valamint a Rheodyne 7125 injektor. Az adatok feldolgozása Thermo Finnigan ChromQuest 4.0 szoftverrel történt. Az elválasztást Eurosphere 100-C8 (5 μ m) fordított fázisú Vertex oszlopon (250 mm * 3 mm I.D.; 5 μ m) végeztem, előtétoszlopot alkalmazva (5*3 mm I.D.). Az eluens acetonitril 0,1 % trifluorecetsav (30:70, v/v) arányú elegye volt. Az áramlási sebesség 0,8 ml/min.

3. Eredmények

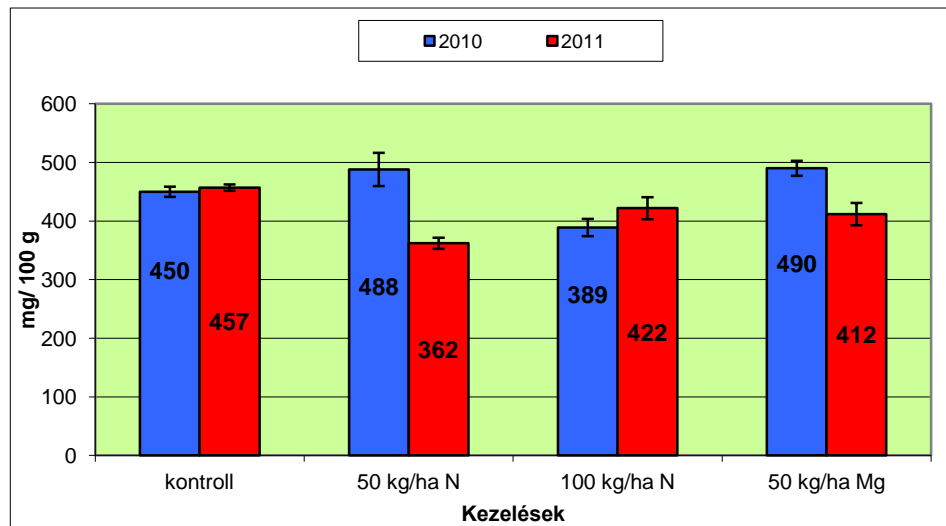
A szabadföldön termesztett *L. inflata* herbájának száraz tömeg értékét az 1. ábra prezentálja. A különböző tápanyagellátás hatására a 2010 évben a biomassza tartalom minden esetben meghaladta a kontroll értéket. A 2011 évben a 100 kg/ha N műtrágya kezelés adta a legnagyobb száraz tömeg értéket.



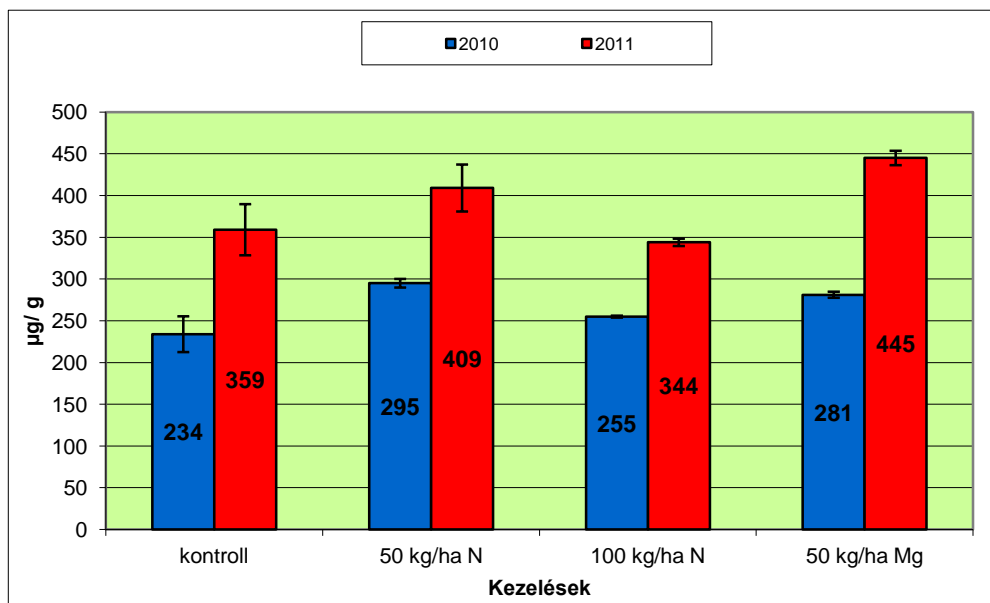
1. ábra: A *L. inflata* herba száraz tömeg értéke

A 2. ábra a herba összalkaloid tartalmát ismerteti. A 2010 kísérleti évben a legnagyobb összalkaloid értéket az 50 kg/ha Mg műtrágya kezelésnél, míg az egy évvel későbbi kutatásban már a kontrollnál mértük a legnagyobb értéket.

A herba lobelin tartalom értékét a 3. ábra szemlélteti. 2010-ben a kontrollnál mértük a legkisebb, míg az 50 kg/ha N kezelésnél a legnagyobb értéket. 2011-ben az 50 kg/ha Mg műtrágya kezelésnél mértük a legnagyobb lobelin tartalmat.



2. ábra: A *L. inflata* herba összalkaloid tartalma



3. ábra: A *L. inflata* herba lobelin tartalma.

4. Következtetések

A kísérletek során megállapítottuk, hogy a szabadföldi feltételek között szaporított növények száraz tömeg értéke a nitrogén kezelés hatására fokozódott a legjobban. A 2010-es évben az 50 kg/ha N (5,87 g), míg a 2011-es évben a 100 kg/ha N műtrágya kezelés (6,9 g) hatására mértük a legmagasabb biomassza értéket.

Az összalkaloid értékeket elemezve kijelenthető, hogy a 2010 évi szabadföldi kezelések közül az 50 kg/ha Mg kezelés adta a legmagasabb alkaloid tartalmat (490 mg/ 100g). 2011-

ben a kontrollnál mértük a legnagyobb értéket (457 mg/100 g).

A lobelin tartalmat vizsgálva megállapítható, hogy az 50 kg/ha N és -Mg kezelések hatására érték el a legnagyobb értékeket. 2010-ben az 50 kg/ha nitrogén műtrágya kezeléssel 295 µg/g, 2011-ben az 50 kg/ha Mg kezeléssel 445 µg/g lobelin tartalmat mértünk.

Összefoglalólag megállapítható, hogy a szabadföldi körülmények között, magnézium-szulfát és ammónium-nitrát kezelések hatásaként eredményesen bár eltérő arányban lehet növelni a *Lobelia inflata* hatóanyag-tartalmát.

Irodalomjegyzék

- Bálványos, I.: Studies on the growth and secondary metabolite production of *Lobelia inflata* L. hairy root cultures, PhD thesis, Budapest (2002)
- Beckmann, J.S., Siripurapu, K.B., Nickell, J.R., Horton, D.B., Denehy, E.D., Vartak, A., Crooks, P.A., Dwoskin, L.P., Bardo, M.T.: The novel pyrrolidine Nor-Lobelane analog UKCP-110 [cis-2,5-di-(2-phenetyl)-pyrrolidine hydrochloride] inhibits VMAT2 function, methamphetamine-evoked dopamine release, and methamphetamine self-administration in rats, *J. Pharmacol Exp. Ther.* 335:841-851. (2010)
- Felpin, F.-X., Lebreton J.: History, chemistry and biology of alkaloids from *Lobelia inflata*, *Tetrahedron* 60:10127-10153. (2004)
- Gottfried, Y.: *Lobelias-Beautiful components of our Fall Flora*, The plant press, Vol. V, No.4. (2001)
- Glover, E.D., Rath, J.M., Sharma, E., Glover, P.N., Laflin, M., Tonnesen, P., Repsher, L., Quiring, J.A.: Multicenter phase 3 trial of *Lobelia sulphate* for smoking cessation, *Am. J. Health Bahav* 34:101-109. (2010)
- Krajewska, A.: The effect of new type of growth regulators on the *Lobelia inflata* L. tissue cultures (in Hungarian), Theses, Budapest (1986)
- Kursinszki, L., Ludányi, K., Szőke, É.: LC-DAD and LC-MS-MS analysis of piperidine alkaloids of *Lobelia inflata* L. (in vitro and in vivo), *Chromatographia* 68:27-33. (2008)
- Mahmoud, Z.F., El-Masry, S.: Colorimetric determination of lobeline and total alkaloid in *Lobelia* and its preparations, *Sci. Pharm.* 48:365-369. (1980)
- Mottram, R.: Charles Plumier, the King's Botanist - his life and work. With a facsimile of the original cactus plates and text from *Botanicon Americanum* (1689-1697), *Bradleya* 20:79-120. (2002)
- Szőke, É.: *Lobelia inflata* L. (lobelia) in vitro culture and the production of lobeline and other related secondary metabolites. In: Bajaj YPS (ed) *Biotechnology in Agriculture and Forestry 28, Medicinal and Aromatic Plants VII*. Springer, Berlin, Heidelberg, 289–327. (1994)
- Szőke, É., Lemberkovics, É., Kursinszki, L.: Alkaloids derived from lysine: Piperidine alkaloids, In: Ramawat K.G., Mérillon J.M., (eds) *Natural Products*, Spinger, Berlin/Heidelberg, 303-341. (2013)
- Takács-Hájos, M., Szabó, L., Rácz, I-né., Máthé, Á., Szőke, É.: The effect of Mg-leaf fertilization on Quality parameters of some horticultural species, *Cereal Research Communications* 35(2):1181-1184. (2007)
- Todd, R.G.: *Pharmaceutical Handbook*. The Pharmaceutical Press, London 218. (1975)

Szerzők

Vojnich Viktor József: Környezettudományi Csoport, Kecskeméti Főiskola, Kertészeti Főiskolai Kar, Kecskemét, Erkel Ferenc tér 1-3. 6000 Magyarország. E-mail: vojnich.viktor@kfk.kefo.hu

Pölös Endre: Környezettudományi Csoport, Kecskeméti Főiskola, Kertészeti Főiskolai Kar, Kecskemét, Erkel Ferenc tér 1-3. 6000 Magyarország. E-mail: polos.endre@kfk.kefo.hu

Pető Judit: Környezettudományi Csoport, Kecskeméti Főiskola, Kertészeti Főiskolai Kar, Kecskemét, Erkel Ferenc tér 1-3. 6000 Magyarország. E-mail: peto.judit@kfk.kefo.hu

Hüvely Attila: Környezettudományi Csoport, Kecskeméti Főiskola, Kertészeti Főiskolai Kar, Kecskemét, Erkel Ferenc tér 1-3. 6000 Magyarország. E-mail: huvely.attila@kfk.kefo.hu

Palkovics András: Környezettudományi Csoport, Kecskeméti Főiskola, Kertészeti Főiskolai Kar, Kecskemét, Erkel Ferenc tér 1-3. 6000 Magyarország. E-mail: palkovics.andras@kfk.kefo.hu