



Braun Tibor

■ ELTE Kémiai Intézet, MTA Könyvtár és Információs Központ

Mao elnök által kezdeményezett maláriaellenes gyógyszerkutatás Az artemizinin felfedezése

Kémiai múlt, biotechnológiai jelen és jövő

Malária a világban

Az emberek életét évezredek óta veszélyeztető malária oka a *Plasmodium falciparum* vörösvérsejtbeli szaporodása a moszkítószúnyogok terjesztésével. A malária tüneteit Kínában már Kr. e. 2700 körül leírták a „*Huang Di nei jing*”, a „Sárga Császár belső könyvé”-ben, de a *Plasmodium* parazitát Charles Louis Alphonse Laveran francia katonaeorvos fedezte fel egy maláriás beteg vérében 1880-ban. Laveran ezért a felfedezésért 1907-ben Nobel-díjjal tüntették ki. A kezdetben a kínafa (*Cinchona officinalis* L.) kéregből izolált kinin bizonyult a legeredményesebb maláriaellenes gyógyszernek, de az idők folyamán a *Plasmodium* törzsekben kininrezisztencia alakult ki. A malária elsősorban a trópusi országokat sújtja. A WHO adatai szerint napjainkban még mindig 3,3 milliárd ember van potenciálisan kitéve a megbetegedésnek a világ 109 országában [1].

Eredet és történelmi előzmények

A „négyek bandájának” később elnevezett hatalmi együttes 1974–76-ban uralta Kínát és a Mao által indított kínai kulturális forradalmat. A négyek legismertebb tagja Csiang Csing, Mao harmadik felesége, valahai sanghaji színésznő, társai Csun Csun-csiao, a teoretikus, Jao Ven-jüan, a propagandista, a média abszolút ura és Vang Hung-ven, előzőleg biztonsági őr egy textilgyárban. A négyek alapvetően antiintellektuális, a kutatókkal és műszakiakkal szembeni ellenséges nézeteket vallottak.

A négyek bandájának tevékenysége folytán és a kulturális forradalom társadalmi légkörében Mao Kínája nagymértékben elszigetelődött a fejlettebb világtól, és ebből természetesen a tudományos kutatás sem képezhetett kivételt. Így például Kínában hozzáférhetetlenné váltak a tudományos kutatáshoz többek között nélkülözhetetlen külföldi könyvek és folyóiratok.

Az „523-as projekt” és az artemizinin felfedezése

Valószínűleg Mao hosszú menetelésből származó számos emléke és a vietnamiak, különösen a legendás hírű Giap tábornok maláriával kapcsolatos segélykérései hatására a kínai kormány 1967. május 23-án eldöntötte az „523-as projekt”-nek elnevezett maláriakutatási program létrehozását. Az 523 május (5. hónap) 23-át jelenti. Koordinálására Csou En-lai akkori miniszterelnököt, végrehajtására az általa személyesen felügyelt, körülbelül 500 kutatóból álló „523 vezető csoportot” jelölték ki.

Szigorú titkosítása révén a projekt működése már eleve patológiás körülmények között zajlott úgy társadalmi, mint tudományos vonatkozásban. Ennek ellenére, valamilyen rejtélyes belső mechanizmus következtében, a tudományos kutatás egyik, egyébként szükséges és nélkülözhetetlen velejárója, a tudományos publikálás egy sajátos formája az „523-as projekt” esetében is kialakulhatott, így mély titkossága ellenére is visszagöngyölíthető a kutatás története. A projekt fő feladata „új maláriaellenes gyógyszerek felfedezése [volt] a malignus malária kezelésére trópusi területeken”. A projekt vezetése két fontos kutatási irányt jelölt meg: új, maláriaellenes gyógyszerek szintézisét (ezzel itt nem foglalkozunk), illetve a hagyományos kínai gyógyászatban évszázadok óta használatos malária elleni növényi és más eredetű szerek vizsgálatát.

A projekt keretében több mint 2000 hagyományos kínai gyógynövényből ajánlott receptet vizsgáltak meg, és úgy találták,



1. ábra. Az *Artemisia annua* növény (egynyári üröm) [3]

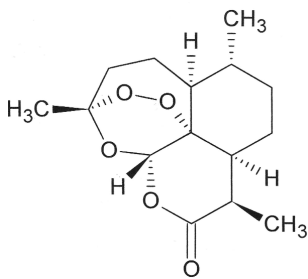
hogy 640-nek lehet valamilyen maláriaellenes hatása. Maláriás rágcsálókon végzett vizsgálataik szerint 200 gyógynövény és ezek 380 kivonata rendelkezett bizonyítható hatással. A reményt keltő növények közül eredetileg az *Artemisia annua* L. (*Qing Hao*) (1. ábra) nevű¹, Ázsiában honos, hazánkban is megtalálható (magyar neve egynyári üröm) ürömfaj leveleiből főzött tea körülbelül 68 százalékban gátolta a *Plasmodium* parazita fejlődését².

A projekt eredményeit leíró kutatásokat első ízben tízévi kémiai kutatás után 1977-ben ismertették tudományos cikk formájában. A cikk,

természetesen kínai nyelven a *Ke Xue Tong Bao* (*Chinese Science Bulletin*) című folyóiratban jelent meg. Az egyoldalas cikk címe: „A szeszkviterpén-lakton egy új változata: *qinghaosu*”. A cikk a következő szöveggel kezdődik: „Az *Artemisia annua* növényből (1. ábra) egy kristályos vegyületet (2. ábra) választottunk el, ami a kínai *qinghaosu* nevet kapta.” A cikk a vegyület tulajdonságainak vizsgálatával folytatódik. Valószínűleg ebben a cikkben említik először a *qinghaosu* elnevezést.

¹ A Qing Haót már az okorban ismerték, például aranyér kezelésére és lázcsillapításra használták.

² Diószeghy Sámuel 19. század elején kiadott könyvében is megemlíti az egynyári üröm szerepét az akkor Magyarországon is jelentős betegség, a malária kezelésében: „... az üröm igen jó sárgaságban, máj- és lépdagadásban és a napos hideglelésben”. A kiegészítésért köszönet Csopor Dezsőnek.



2. ábra. Az artemizinin szerkezete [4]

3. ábra. A kínai kulturális forradalom alatt és után publikált cikkek a (Qinghaosu) artemizininről [2]



Artemizinin molekulában a maláriaellenes gyógyszerhatáshoz a 2. ábrán is látható peroxicsoport a hatást kiváltó elengedhetetlen tényező.

Az artemizininről és hatásmechanizmusáról azóta jelentékeny mennyiségű szakirodalom jelent meg; egy hasznos összefoglalót itt is megemlítettünk [5,6].

Az artemizinin világtermelése és forgalmazása

A malária gyógyítását tekintve véve feltétlenül megemlítendő, hogy az Egészségügyi Világszervezet (WHO) jóváhagyott egy növényi artemizinin és egy másik maláriaellenes gyógyszer együttes alkalmazására épített Artemisinin Combination Therapies (ACT) gyógyszeres koktélt, amit számos maláriaérintett országban alkalmaznak.

2013 körülre a világ Artemisia-termesztését körülbelül 100 000 ázsiai és afrikai az Artemisia annua (egynyári üröm) mezőgazdasági termesztésére szakosodott kistermelő látta el (4. ábra),

A qinghaosuról beszámoló második cikk 1979-ben jelent meg, szintén kínaiul a Hua Xue Xue Bao (Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities) című folyóiratban. Szintén 1979-ben a Chinese Medical Journal ezúttal angolul publikálta azt a cikket, amely a qinghaosut (artemizinint) és malária gyógyítására való alkalmazását a világ tudomására hozta. „A qinghaosu kristályszerkezete és abszolút konfigurációja” című cikk angol nyelven jelent meg a Scientia Sinica című folyóiratban 1980-ban (3. ábra). Az 523-as projekt keretében azt is tisztázták, hogy az arte-



4. ábra. Kínai Artemisia-ültetvény és kistermelő [6]

és ezt a terméket még a Kínában vadon termő növény begyűjtése is kiegészítette. Jelenleg a világ teljes artemiziningyártásának 80%-a Kínában termesztett Artemisiából származik. Vietnam lemaradva követi, körülbelül 10%-os természetessé, a maradék Madagaszkárból, Kenyából és Ugandából származik. Csekély mennyiséget Indiában is természetesen, úgyszintén Zimbabweben, Dél-Afrikában és Nigériában. Az átlagos telepített Artemisia területe kistermelőként Kínában és Afrikában körülbelül 0,2 hektár. Egy kilogramm szárított Artemisia levélből körülbelül 8 gramm artemizinin állítható elő. Jelenleg a világ artemizinin-igénye körülbelül 150–180 metrikus tonna (MT), a fő vásárlók a WHO által javasolt gyógyszer-kombinációt (ACT) előállító gyógyszergyárak, és ára körülbelül 250–270 USD/kg.

Lévé, hogy az Artemisia termesztése a világban koordinálatlanul folyt, a termés betakarítása és így a gyógyszergyárak ellátása is rendezetlenül alakult az utóbbi évtizedek során. Ennek megfelelően a gyógyszer ára ingadozott, és időnként az ellátásban is hiányok mutatkoztak. Az ezzel kapcsolatos aggodalmakat 2004-ben egy egyesült államokbeli nagyon alapos tanulmányban is kifejezték [8]. Az aggodalom azért is különlegesen indokolt, mert kérdéses, hogy lehet-e egy olyan, körülbelül egymilliárd embert érintő betegség esetleges gyógyítására épített gyógyszert, mint az artemizinin, nyersanyagának (Artemisia) rapszodikus mezőgazdasági termesztésére alapozni akkor, amikor kimutatták, hogy a jelenlegi jelentős és nem teljesen ellátható igények a jövőben csak növekedni fognak.

A fentebb vázolt helyzet ellensúlyozására a malária gyógyítása terén jelentős kutatások folynak új maláriaellenes gyógyszerek közvetlen kémiai szintézis útján való előállítására [9], sőt maláriaellenes oltások kifejlesztésén is dolgoznak [10], de ezek megjelenése még átfogó és hosszabb időt igénylő klinikai igazolásokra vár.

Szintetikus biológiai, illetve biotechnológiai artemizinin-előállítás

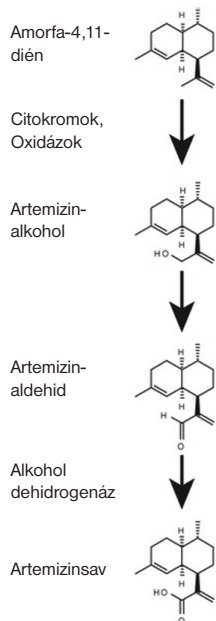
Hasznosnak láttuk ezen a ponton néhány fogalom etimológiai tisztázását. Ennek értelmében definíciószerűen szintetikus biológiának nevezik a biológiai szerkezetek és rendszerek tervezését és építését hasznos célok érdekében. Ez a biológiai kutatás és technológia ama területe, amely a biológiát és a mérnöki munkát kombinálja, gyakran átlapolva a biomérnöki és orvosi biológiai mérnöki területekkel. Magában foglal különböző megközelítéseket, metodológiákat és tudományágakat, amelyek a mérnöki



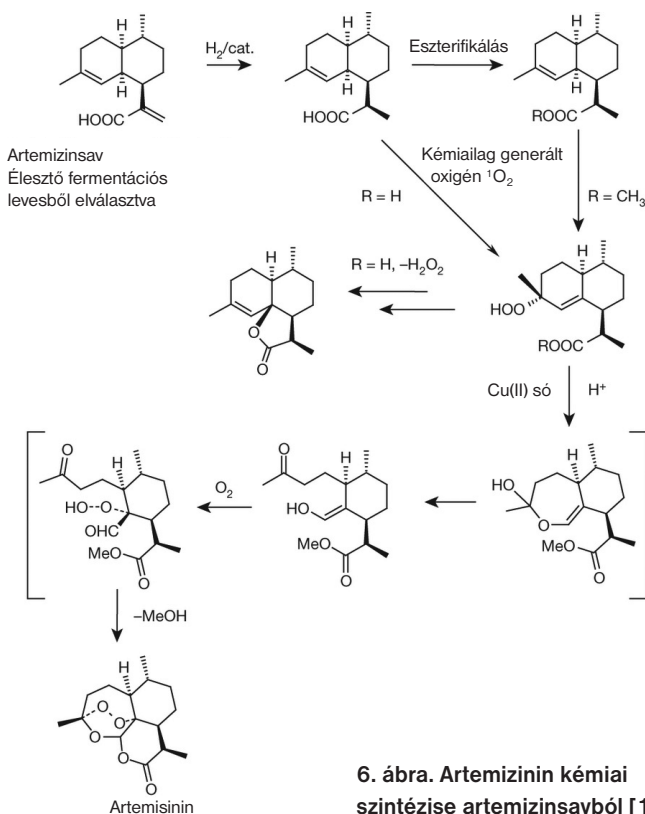
munkára, a biológiára és a biotechnológiára fókuszálnak [11]. Ehhez még hozzá kell tenni, hogy egyes vélemények az egész területet vitathatóknak tartják [12], sőt mások azt tapasztalták, hogy a szintetikus biológia definíciójára rákérdezve tíz megkérdéztet kutató tízféle meghatározást adott, de a legkimerítőbbnek azt tekintették, ami szerint a szintetikus biológia megteremti azokat a szabványokat és protokollokat, amelyekkel az új biológiai funkciók tervezése és kialakítása kiszámíthatóvá, megbízhatóvá, hatékonyra és olcsóvá válik [13]. Jelen szerző ezek után a területet meglehetősen átfedőnek véli a biotechnológiával, illetve annak létrehozója, a magyar mérnök Erekly Károly által adott klasszikus definíció szerint: „*biotechnológia minden munka, amelynek segítségével alapanyagokból termékeket állítunk elő élő organizmusok segítségével*” [14].

Amivel a fentiek értelmében foglalkozni szeretnénk, az az artemizinin előállítását irányzó, 2006-ban bekövetkezett egyesült államokbeli áttörés [15].

Ugyan a hiányos és nem elegendő artemizinin-világtermelés növelését célzó kémiai szintézis gondolata már régebben is felmerült, sőt meg is valósították, kiderült, hogy kivitelezése bonyolult és drága [16]. Ezzel szemben a fent említett áttörés egy olyan úton indult, amely szerint az artemizinin felszintézése prekursor vegyületéből, a mikrobiális eredetű artemizinsavból anyagilag előnyös, környezetileg kedvező és jó minőségű terméket szolgáltat. E célból a közismert élesztőt (*Sacharomices cerevisiae*) vették igénybe, amiből fermentálással jelentős mennyiségű arte-



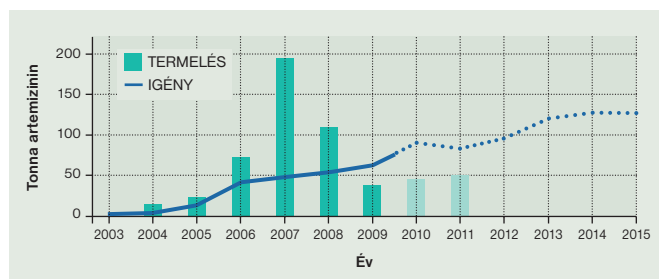
5. ábra. Artemizinsav szintetikus biológiai előállítása [17]



6. ábra. Artemizinin kémiai szintézise artemizinsavból [17]

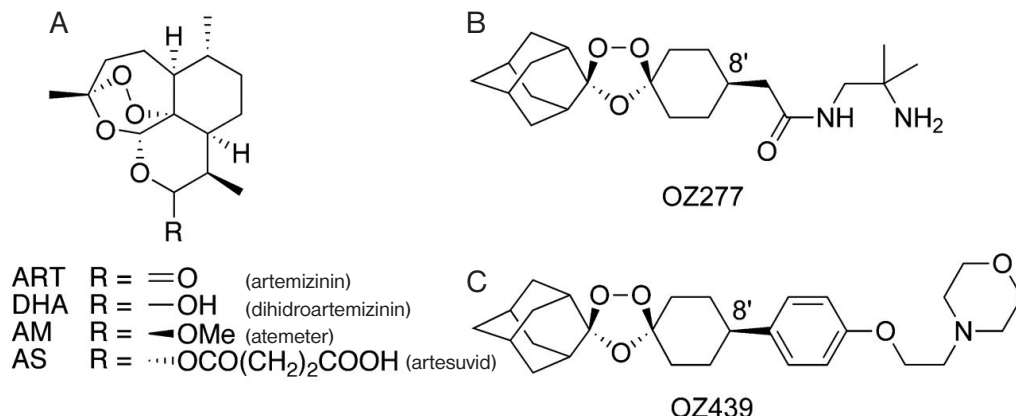
mizinsavat (körülbelül 100 mg/l) sikerült előállítani egy biotechnológiai mevalonát útvonal révén, amorfadién-szintáz és egy az *Artemisia annua* növényből származó citokrom P450 monooxygenáz (CYP71AV1) igénybevételével, ami az amorf-4,11-dién háromlépéses oxidálásával artemizinsavat eredményez. A bioszintetizált artemizinsav kiválik a feldolgozott élesztő felületén, és aránylag egyszerű tisztítás után kémiai szintézissel előállított artemizininhez vezet.

Itt kötelezőnek érezzük, hogy újra visszatérjünk a szintetikus biológia egyik jellemzéséhez, ami szerint az a természetben megfigyelhető mechanizmusokat próbálja reprodukálni, saját céljaira fordítani anélkül, hogy azok működését 100 százalékban megértse [13]. Ezek szemléletében kerülnek bemutatásra az 5. és a 6. ábrán a fentebb vázolt biológiai és kémiai szintézis lépései [15,17]. Mint már említésre került, 2009-re az artemizinin nyersanyaga, az *Artemisia annua* mezőgazdasági termelése már nem tudott lépést tartani a világszerte megnövekedett artemizinin-igényekkel, illetve a gyógyszer ára is emelkedni kezdett. Ez a 7. ábrán is jól követhető [18].



7. ábra. Az artemizinin termelése, igény és ár [18, 19]

Ennek a helyzetnek az előrelátása során kezdett el a 2000-es évek elején Ray Kiesling [15,17] a Kaliforniai Egyetemen a szintetikus biológiai megoldással, illetve azzal foglalkozni, hogy a növényben jelen lévő gének és a mikrobiológiai fermentáció segítségével állítson elő artemizint. Ehhez a DNS szekvenálásával kellett fedezni az *Artemisia annua*-ban meglévő géneket, és utat találni azoknak a baktériumokba való beépítéséhez. A gyógyszert addig gyártó Sanofi gyógyszergyár ugyan beleegyezett abba, hogy nagyjából gyártási áron forgalmazza a már említett CIA artemizinin-koktét, de a Kiesling által tervezett kutatáshoz nem



8. ábra. Artemizinin-származékok és ozonidek szerkezete [21].

A: artemizinin,
 B: dihidroartemizinin,
 C: OZ439

akadt anyagi támogató. Ekkor jelentkezett a Bill és Melania Gates Alapítvány egy 42 millió dolláros támogatással. Ezzel indult el több helyen Kiesling vezetésével az artemizinin szintetikus biológiai előállításának kutatása, amit aztán ugyancsak a Kiesling által létesített start-up cég követett.

Végszó

A jövőt tekintve a maláriaellenes gyógyszerek kutatása, illetve a malária gyógyászata világszerte több szinten és irányban folyik [20]. Ezek közül kettőt tartunk itt megjegyzésre érdemesnek. Az egyik irány az olyan vegyületekre vonatkozik, amelyek kémiai szintézise az artemizininénél egyszerűbb és olcsóbb. Ezek közé tartoznak a szintetikus ozonideknek nevezett artemizininszármazékok [21] (8. ábra), különösképpen az OZ439 kódnévvel el látott vegyület.

A másik irány a jelenleg szintetikus biológiára, különösképpen a Kiesling által kezdeményezett, az élesztő fermentálására épített lehetőségek. Bár a biológiai gyógyszer-szintézist eredetileg finanszírozó alapítvány vezetője, *Bill Gates* hangsúlyozta, hogy nem biztos, hogy ez az olcsó artemizinin-termelést végleg megoldja, de az élelmiszeriparban a fermentálásra épített szintetikus biológiára biztos fényes jövő vár.



IRODALOM

- [1] http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/9789241564403_eng.pdf
 World Health Organization. World Malaria Report, 2011
- [2] Braun Tibor, A qinghaosu (artemizinin) felfedezése, *Természet Világa* (2012) 143, 358.

- [3] http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/20/Artemisia_annua.jpg
- [4] <http://en.wikipedia.org/wiki/Artemisinin#mediaviewer/File:Artemisinin.svg>
- [5] Ying Li, Qinghaosu (artemisinin): chemistry and pharmacology, *Acta Pharmacologica Sinica* (2012) 33, 1141.
- [6] S.Krishna, A.C.Uhlemann, R. K.Haynes, Artemisinins: mechanisms of action and potential for resistance, *Drug Resistance Updates* (2004) 7, 233.
- [7] <http://www.etcgroup.org/sites/www.etcgroup.org/files/ETC-artemisinin-synbio-case-study2014.pdf>
- [8] „Saving Live, Buying Time: Economics of Malaria Drugs in an Age of Resistance” National Academy of Sciences, 2004.
- [9] J.L. Vennerstrom et al., Identification of an antimalarial synthetic trioxolane drug development candidate, *Nature* (2004) 430, 900.
- [10] S.Hoffman, Save the children, *Nature* (2004) 430, 940.
- [11] http://en.wikipedia.org/wiki/Synthetic_biology
- [12] <http://www.theguardian.com/global-development/poverty-matters/2013/apr/12/synthetic-malaria-compound-artemisia-farmers>
- [13] http://www.medicalonline.hu/tudomany/cikk/mire_valo_a_szintetikus_biologia_
- [14] <http://hu.wikipedia.org/wiki/Biotechnol%C3%B3gia>
- [15] D.K. Ro et al., Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast, *Nature* (2006), 440, 940.
- [16] G. Schmid, W. Hofheinz, Total synthesis of qinghaosu, *J. Am. Chem. Soc.* (1983) 105, 624.
- [17] C. J. Paddon et al., High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin, *Nature* (2013) 496, 528.
- [18] R. Van Norden, Demand for malaria drugs soars, *Nature* (2010) 466, 672.
- [19] M. Peplow, Malaria drug made in yeast causes market ferment, *Nature* (2013) 494, 160.
- [20] A.C.Aguiar, E.da Rocha, N.de Souza, T.França, A. Krettl, New approaches in antimalarial drug discovery and development. A review, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* (2014) 109, 631.
- [21] S.A. Charman et al., Synthetic ozonide drug candidate OZ439 offers new hope for a single-dose cure of uncomplicated malaria, *Proc. Natl.Acad.Sci.* (2011) 108, 4400.
- [22] J. J Moehrle et al., First-in-man safety and pharmacokinetics of synthetic ozonide OZ439 demonstrates an improved exposure profile relative to other peroxide antimalarials, *Br.J.Clin.Pharmacol.* (2013) 75, 524.
- [23] <http://arstechnica.com/science/2012/04/after-artemisinin-prospects-for-new-malaria-drugs/>
- [24] C. Barras, Anything plants can grow, *New Scientist* (2014) April, 34.

Kilencedszer nyert az EGIS innovációs díjat

Az Egis Gyógyszergyár Zrt. bisoprolol-amlodipin hatóanyagú fix kombinációs készítménye nyerte el a 2014. évi Ipari Innovációs Díjat. Az Egis a világon elsőként fejlesztett, gyártott és hozott forgalomba bisoprolol és amlodipin hatóanyagokat egyetlen tablettában tartalmazó vérnyomáscsökkentő készítményt.

Környezetvédelmi innovációs díjat nyert a Mol-gumibitumenből épített út

A Mol-gumibitumen alkalmazásának előnyei, hogy a normál bitumenes úthoz képest másfélszer hosszabb élettartam érhető el,

ásványi anyaghoz való kiváló tapadása csökkenti a kátyúk kialakulásának esélyét, a forgalmi terheléssel szembeni jobb ellenálló képesség alacsonyabb fenntartási költséget eredményez. Emellett kisebb a menetzaj, valamint nagyobb a közlekedésbiztonság a rövidebb fékút miatt. A termék alkalmazásával a használt gumibroncsok környezetbarát újrahasznosítása valósul meg értéktartó módon. Új nyomvonalú út építésénél a Strabag alkalmazta először a Mol új termékét: a Villányt elkerülő 4,2 km hosszúságú út teljes aszfalt pályaszerkezetének építése gumibitumenes aszfalttal történt. A munkához 22 ezer tonna aszfaltot használt fel a Strabag, az ehhez szükséges gumibitumen-gyártáshoz a Mol 22 ezer darab elhasznált személygépkocsi-gumibroncsból előállítható gumiőrleményt hasznosított.

B. E.