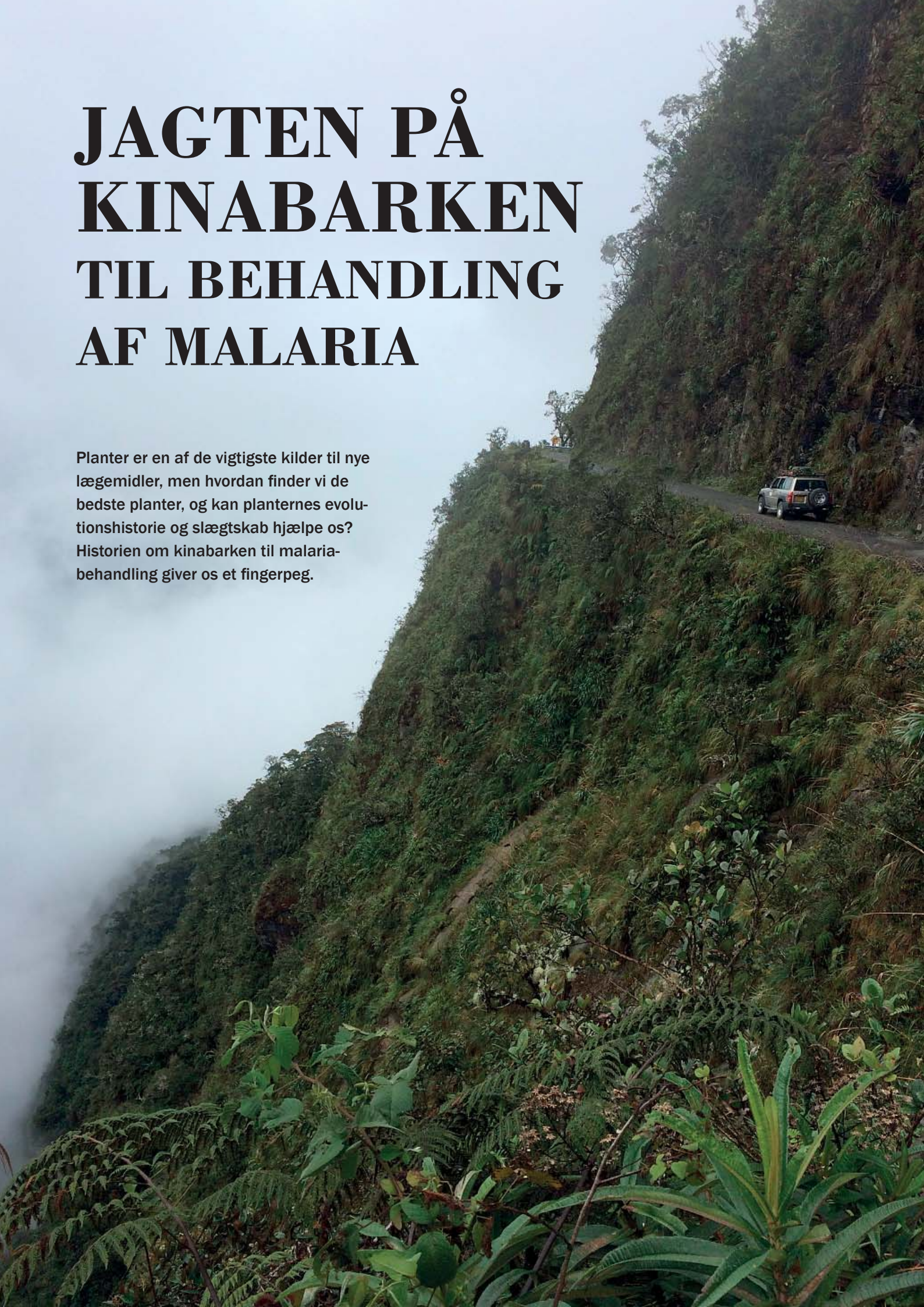


JAGTEN PÅ KINABARKEN TIL BEHANDLING AF MALARIA

Planter er en af de vigtigste kilder til nye lægemidler, men hvordan finder vi de bedste planter, og kan planternes evolutionshistorie og slægtskab hjælpe os? Historien om kinabarken til malaria-behandling giver os et fingerpeg.



Planter har altid været kilde til lægemidler gennem menneskets historie, og mange af de lægemidler, vi kender i dag, er udviklet fra planter. For eksempel indeholder en Kodimagnyl både acetylsalisylsyre, der kommer fra piletræ, og kodein fra opiumsvulmen. Planternes virksomme stoffer er udviklet gennem evolutionen som forsvar mod plantesygdomme og planteædere og er derfor designet fra naturens side til at påvirke dyr og andre organismer til at lade planterne være i fred. I større mængder kan plantestoffer være giftige, og nogle kan endda slå en hel ko eller et menneske ihjel. Men i den rigtige mængde kan den samme virkningsmekanisme nogle gange have en gavnlige effekt og blive til et nyt lægemiddel. Et klassisk eksempel er kinin fra det sydamerikanske kinabarktræ, som kan slå malariaparasitten ihjel, og som gennem mere end 300 år var den eneste behandling af malaria.

Opdagelsen af kinabarken

Kinabarken blev opdaget i det 17. århundrede af katolske Jesuittermunkene i Peru, der hørte om kinabarkens evne til at kurere tropfeber fra oprindelige folk i Ecuador. Navnet kinabark kommer fra det latinske navn *Cinchona*, men kinabark-træerne vokser langs Andesbjergene og har altså intet med Kina at gøre. Ironisk nok var der ikke malaria i Sydamerika på det tidspunkt. Parasitten blev introduceret af de europæiske kolonimagter. Til gengæld var der malaria i store dele af Europa og måske endda på Lolland. Der var intet middel mod malaria i Europa, og man vidste heller ikke, at sygdommen var forårsaget af en parasit, der overføres til vores blod, når vi stikkes af den myg, der er mellemvært for parasitten. Man troede, at sygdommen kom fra den dårlige luft i sumpområderne, og navnet malaria kommer fra italiensk "mal'aira", der netop betyder dårlig luft. Kinabarken fik derfor hurtigt stor betydning for kontrollen af malaria både i Europa og i kolonierne, og importen af kinabark fra Peru steg hurtigt til



Kort over Sydamerika med markering af indsamlingssteder samt hvor de historiske indsamlinger (Mamani og Spruce) kom fra. Foto: Vejen fra La Paz til Coroico i Bolivia – også kendt som verdens farligste vej – fører fra sneklædte bjergpas over hovedstaden La Paz ned i regnskoven, hvor kinabark-træerne gro. Foto: Nina Rønsted.

en halv million kilo årligt. I 1820 lykkedes det i Paris at identificere kinin som det aktive stof i kinabark, og med denne viden kunne man herefter fremstille et langt sikrere lægemiddel.

Jagten på kinabarken

Snart opstod der dog forsyningsproblemer og irritation over det spanske monopol på handelen med kinabarken. Ligesom både englænderne og hollænderne succesfuldt kunne dyrke mange andre produkter i plantagerne i de asiatiske kolonier, ønskede man derfor også at starte egen produktion af kinabarken. Imidlertid var der ikke rigtig nogen, der vidste præcis, hvor træerne kom fra – det var en hemmelighed blandt de oprindelige folk i bjergregnskoven. Det meste af barkimporten til Europa kom fra den røde kinabark, *Cinchona pubescens*, men der var også stor usikkerhed om, hvilke træer der var de bedste. Indholdet af kinin kunne variere både mellem forskellige arter af kinabark-træer og mellem træer af samme art, men fra forskellige områder i Andesbjergene.

I 1861 lykkedes det den engelske plantejæger Richard Spruce at hjembringe frø fra den røde kinabark fra Ecuador, som blev brugt til etablering af Det Britiske Imperiums

plantager på Sri Lanka. Ved hjælp af sit gode forhold til sin indfødte tjener og ven Incra Mamani kunne en anden plantejæger, Charles Ledger, kun få år senere præsentere en anden sending frø fra Bolivia, som endte på de hollandske plantager på Java. Det viste sig, at træerne fra Mamani's frø havde et langt højere indhold af kinin end den røde kinabark og kom fra en anden art, der fik navnet *Cinchona calisaya* – eller gul kinabark.

Fandt datidens plantejægere den bedste kinabark?

I betragtning af de store vanskeligheder, der var med at finde den bedste bark, og den store variation, der kan være mellem arterne og mellem træer fra forskellige områder, er det nærliggende at spekulere på, om datidens plantejægere nogensinde fandt den bedste kinabark, eller om der stadig er en bedre kilde til kinin i bjergregnskoven. Som forskerhold med en fælles interesse i at opdage nye lægemidler fra planter, syntes vi historien om kinabarken var en spændende mulighed for at teste, om vi kunne udnytte vores forskellige ekspertiser indenfor botanik, evolutionsbiologi og kemi til hurtigere at finde frem til de bedste medicinplanter. Vi satte os derfor for at følge i plantejægerens fodspor langs Andesbjerg-

Om forfatterne



Nina Rønsted er farmaceut, evolutionsbiolog, og professor i planters diversitet og kurator for botaniske samlinger ved Statens Naturhistoriske Museum, Københavns Universitet, og leder af projektet om jagten på kinabarken. nronsted@snm.ku.dk



Alexandre Antonelli er professor i systematik og biodiversitet ved Institut for Biologi og Miljøvidenskab, Göteborgs Universitet og kurator ved Göteborgs Botaniske Have. alexandre.antonelli@gu.se



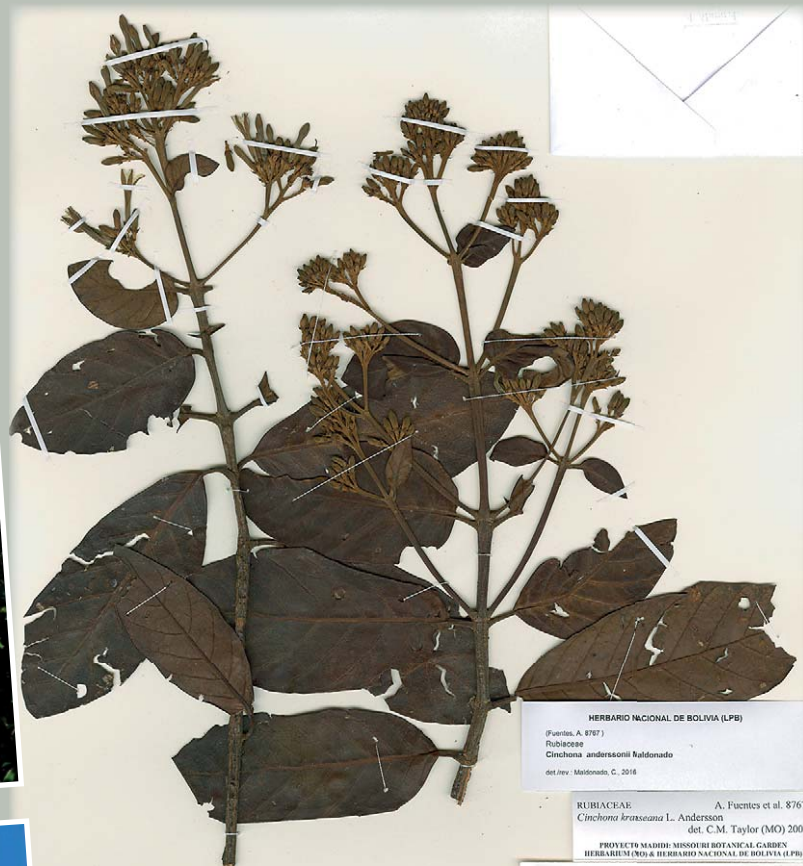
Carla Maldonado har en ph.d.-grad i botanik fra Statens Naturhistoriske Museum, Københavns Universitet, og er direktør for Bolivias Nationale Herbarium i La Paz. carla.maldonado1@gmail.com



Steen Honoré Hansen er professor emeritus i analytisk kemi ved Institut for Farmaci, Københavns Universitet. steen.honorehansen@sund.ku.dk



Inksamling af kinabark-træ i Peru.
Foto: Nina Rønsted



HERRARIO NACIONAL DE BOLIVIA (LPB)
Fuentes, A. 8767
Rubiaceae
Cinchona anderssonii Maldonado
det. rev. Maldonado, C. 2016

RUBIACEAE: A. Fuentes et al. 8767
Cinchona brassiana L. Andersson
det. C.M. Taylor (MO) 2008

PRODUCTA MAHDI, MISSOURI BOTANICAL GARDEN
HERBARIUM NO. 4, HERBARIUM NACIONAL DE BOLIVIA (LPB)

BOLIVIA
Rubiaceae
Dpto. La Paz: Prov. Franz Tamayo
Parque Nacional Madidi, entre Churkani y Tolosa. Bosque de
jungla montana pluvial. Plantas alcoholizadas.
14°02' 51" S 68°20' 22" W 2673 m
Arbusto 2 m; botones rosas, flores con el interior de los lobos
blancos.
25 Junio 2005
A. Fuentes, R. L. Jimenez, C. Hurtado & R. Cuevas 8267
HERRARIO NACIONAL DE BOLIVIA (LPB) & MISSOURI BOTANICAL GARDEN
HERBARIUM (MO)

HERRARIO NACIONAL
DE BOLIVIA

Cinchona anderssonii, en helt ny kinabark art fundet i Bolivias bjergregnskov af Carla Maldonado og beskrevet officielt i 2017. Forskerne finder hvert år nye ukendte plantearter rundt om i verden, nye arter som måske kan vise sig at være kilde til nye lægemidler. Hver indsamling dokumenteres med et herbarieark, som kan opbevares i museets samlinger de næste mange hundrede år. Fotos: Carla Maldonado.

gene og se, om vi ved hjælp af DNA og kemiske analyser kunne finde en bedre kilde til kinin eller måske et endnu bedre nyt lægemiddel til behandling af malaria.

Planternes slægtskab som genvej til nye lægemidler

Forskning har vist, at stoffer, der ligner kinin, kan findes i andre planteslægter i samme plantefamilie. Når man tænker over, at de gavnlige stoffer i planterne er udviklet og nedarvet gennem evolutionen, giver det også god mening at forestille sig, at planter, der er tæt beslæg-

tede, vil kunne producere nogle af de samme forsvarsstoffer. Vi kan sammenligne med, at vi mennesker selv arver en masse karaktertræk fra vores forældre og til en hvis grad ligner vores nærmeste familie mere, end vi ligner andre mennesker. Når vi kender til menneskers slægtskab, kan vi altså bruge denne viden til at lave et kvalificeret gæt på, hvilke karaktertræk et andet menneske i samme familie kan have. På samme måde kan vi måske bruge planternes slægtskab til at gætte på, hvor vi kan finde nye lægemidler, og derved spare en masse tid og penge på at

undersøge planter, der viser sig ikke at have nogen gavnlige effekt. I Danmark findes der omkring 1300 arter af frøplanter, men på verdensplan er der måske 400.000 forskellige arter. Med så mange arter vil det derfor være en nærmest umulig opgave at undersøge alle arter nærmere for at finde nye potentielle lægemidler.

I plantejægerens fodspor

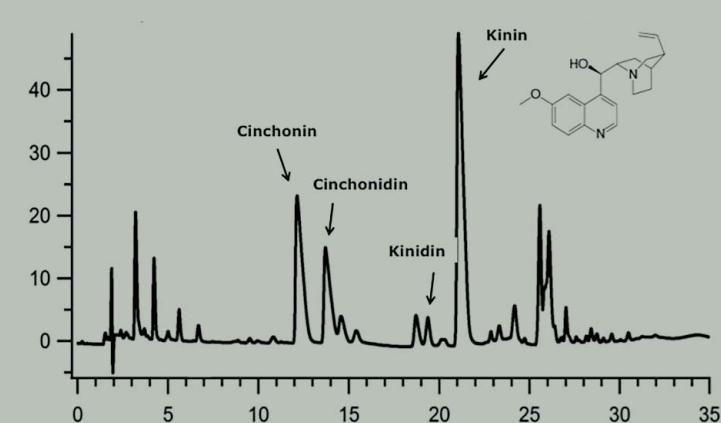
For at finde ud af, hvor vi skulle tage hen for at lede efter kinabark-træer, gik vi først på jagt i litteraturen og i de historiske samlinger, der findes på Statens Naturhistoriske Museum

Jagt på lægemidler i laboratoriet

For at undersøge, om der kan være nye lægemiddelstoffer i en plante, laver man først et ekstrakt af planten – lidt ligesom man trækker smagsstofferne fra the-bladene ud i en kop the med kogende vand. Man kan bruge vand eller alkohol eller mere olieagtige væsker alt efter hvilken slags stoffer, man gerne vil lede efter. Nogle stoffer er hydrofile eller vandelskende og kan let trækkes ud i vand eller alkohol, mens andre stoffer er hydrofobe eller vandskyende og kræver anvendelse af tilsvarende hydrofobe væsker.

Kinin er et vandelskende stof, og vi brugte derfor en blanding af vand, methanol og lidt myresyre til at lave vores ekstrakter fra de pulveriserede barkprøver.

De forskellige stoffer i ekstraktet kan derefter adskilles ved hjælp af en teknik kaldet kromatografi. Her adskilles stofferne i ekstraktet ud fra deres størrelse og polaritet, fordi de passerer med forskellige hastighed gennem en særlig kolonne. Kolonnen er pakket med materiale, som stofferne reagerer med og dermed tilbageholdes eller forsinkes på kolonnen i forskellig grad. Kolonnen forbindes også til en detektor, der viser et signal, hver gang et stof kommer i gennem kolonnen – for eksempel kan det være en ultraviolet detektor, der måler stoffer,



som absorberer ultraviolet lys. Man kan så sammenligne signalerne fra ekstraktet med signalerne fra kendte stoffer som for eksempel kinin ud fra signalet og den tid, det tager stoffet at komme gennem kolonnen. Hvis det er et ukendt stof, man gerne vil vide mere om, kan man lave andre analyser som kernemagnetisk resonans spektroskopi (NMR), der kan afsløre stoffets struktur (hvilke atomer stoffet indeholder, og hvordan de er sat sammen). Ofte er man dog nødt til at isolere en større mængde stof for at kunne lave de mere avancerede analyser. I kinabark-projektet leder vi efter kinin og andre stoffer, der ligner kinin, som vi jo allerede ved virker mod malaria. På figuren ses et kromatogram, der er optaget ved hjælp af ultraviolet detektion, hvor

man kan se mængden af nogle af de vigtigste stoffer i ekstraktet. Y-aksen viser tiden, det tager stofferne at komme gennem kolonnen, og x-aksen viser koncentrationen af stofferne. For at undersøge, om stofferne har en lægemiddel-effekt, kan man tilsætte en smule af ekstraktet eller et af de isolerede stoffer til nogle malariaparasitter og se, om de kan slå dem ihjel. På samme måde kan man teste andre planteekstrakter eller isolerede stoffer for andre virkninger på celler og senere, hvis det ser lovende ud, på forsøgsdyr og mennesker. Men der er mange, mange undersøgelser, der skal laves, før et nyt lægemiddel kan komme på markedet, så man ved, at det virker, som det skal og er sikkert at bruge. Det kan let tage yderligere 10 års forskning.

og i en række andre museer i udlandet. Med udgangspunkt i de historiske indsamlinger tog vi nu selv på en række indsamlingsture langs Andesbjergene i Bolivia, Brasilien, Colombia, Ecuador og Peru. Efter flere års indsamling havde vi prøver fra mere end 100 individuelle træer svarende til 25 forskellige arter af både kinabark og en række af de nærmeste slægtninge. Vi opdagede endda en hel ny kinabark-art i Bolivia, som vi har kaldt Anderssons kinabark eller *Cinchona anderssonii* efter en tidligere botaniker med ekspertise i kinabark.

Hjemme i laboratorierne lavede vi en masse forskellige analyser. Ved hjælp af DNA-analyser kunne vi opbygge et stamtræ, også kaldet en fylogeni, som viser, hvordan arterne er beslægtet med hinanden. Stykker af barken blev analyseret for indhold af kinin og lignende naturstoffer. Desuden indsamlede vi jordprøver og en række klimadata for at se, om der var forskelle mellem planternes voksesteder, der kunne forklare den store variation i kininindhold mellem forskellige områder.

Den gule kinabark fra Bolivia er stadig den bedste

Vores kemiske analyser viste, at barkprøverne fra den gule kinabark, *Cinchona calisaya*, generelt havde det højeste indhold af kinin. Det ser altså ud til, at Ledgers tjener Mamaní vidste, hvad han ledte efter for mere end 150 år siden og fandt den bedste kilde til kinin, selvom han hverken var uddannet botaniker, kemiker eller farmaceut. På samme måde har oprindelige folks viden hjulpet med at finde mange andre lægemidler gennem tiden. Men selvom mennesker har brugt

Videre læsning:
Et genom – mange historier. *Aktuel Naturvidenskab* nr. 3/2012

Ingefær – mere end bare en knold. *Aktuel Naturvidenskab* nr. 6/2010

Planternes slægtskab som skattekort til nye lægemidler. *Lægemedelforskning* 6-2010. www.farma.ku.dk/fileadmin/Publicationer/LMF/LMF2010/2010_Artikel6.pdf

Læs mere om forskningsprojektet om kinabark på Statens Naturhistoriske Museums hjemmeside: <http://snm.ku.dk>

Undervisningsmateriale om fylogeni:

LIVETS TRÆ - jagten på ny medicin

I samarbejde med skoletjenesten ved Statens Naturhistoriske Museum og Alpha Film og Kommunikation er forskerne ved at producere en dokumentarfilm om jagten på kinabark projektet med tilhørende online interaktivt undervisningsmateriale til gymnasieskolen om fylogener kaldet *LIVETS TRÆ - jagten på ny medicin*. Her kan eleverne analysere DNA-sekvenser fra udvalgte arter af kinabark, selv bygge en fylogeni og finde frem til, hvor forskerne skal lede efter ny medicin.

snm.ku.dk/skoletjenesten/gymnasium/materialer/livets-trae/

planter som medicin i tusindvis af år, er mindre end 15 % af verdens planter undersøgt for aktivitet eller indholdsstoffer. Og det er heller ikke alle sygdomme, der kendes medicinplanter for. For eksempel kan alvorlige og komplekse sygdomme som kræft og andre lidelser i immunforsvaret være svære at forstå uden en lægevidenskabelig tilgang, og det er derfor typisk almindelige og ikke helt så alvorlige lidelser, som man har behandlet med medicinplanter.

Hvorfor er kininindholdet højere i nogle områder?

De kemiske analyser bekræftede også, at der kan være stor variation i indholdet af kinin mellem træer af den samme art fra forskellige områder. Vi indsamlede prøver fra mere end 20 træer af den gule kinabark i Bolivia, og ved hjælp af DNA-analyserne kunne vi se, at der var en gruppe af tætbeslægtede træer fra et bestemt område, der havde højere kininindhold end resten af prøverne. Disse træer vokser mellem

1100 og 1300 meter over havets overflade. Andre forskere har vist, at netop omkring dette højdeområde i troperne mødes højlands- og lavlands flora og fauna, og man mener derfor, at der i denne højdezone kan være ekstra stor konkurrence om ressourcerne. Måske er det derfor kinabark-træerne her producerer ekstra meget kinin som forsvar mod planteædere, skadedyr, eller sygdomme.

Hvad DNA-detektiven fandt ud af

Når vi sammenholdt det stamtræ, vi fik fra vores DNA-analyser, med vores kemiske undersøgelser, kunne vi se, at evnen til at producere kinin og lignende naturstoffer må have været opstået tidligt i kinabark-træernes evolutionshistorie, og at der derfor sagtens kan være nye måske endnu bedre stoffer mod malaria i andre arter og andre slægter, der ikke har været undersøgt før. I flere af disse kan vi se, at der er ukendte indholdsstoffer, som vi nu kan gå i gang med at se nærmere på. ■

NY FACEBOOKSIDE

Til dig, der vil læse en naturvidenskabelig uddannelse

Følg siden og få:

- * Film om vores ni naturvidenskabelige uddannelser
- * Ansøgningsfrister, adgangskrav og garantikvotienter
- * Artikler om studievalg og livet som studerende
- * Opslag om studiemiljø, Odense som Studieby og SDU
- * Alt det gode – først!



www.facebook.com/laesnaturvidenskabpaasdu