

Sairauksia vastaan luonnon avulla -

Esimerkkeinä klorokiini, pilokarpiini ja pihka

Helsingin yliopisto

Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

Kemian laitos

Kemian opettajankoulutusyksikkö

Kandidaatintutkielma

Tekijä: Anna-Kaarina Palomäki

Pvm. 5.11.12

Ohjaajat:

Jari Yli-Kauhaluoma

Maija Aksela

Sisällys

1 Johdanto	4
2 Lääkkeet ja lääkeaineet	5
2.1 Määritelmät	5
2.2 Lääkkeiden historiaa poppamiehistä nykypäivään	6
2.3 Lääkeaineiden vaikutusmekanismit ja lääkkeiden antoreitit	7
2.4 Uuden lääkkeen kehittäminen	9
3 Esimerkkejä lääkeaineista	12
3.1 Klorokiini	12
3.1.1 Kemialliset ja fysikaaliset ominaisuudet	12
3.1.2 Valmistus	12
3.1.3 Klorokiini malarian hoidossa	14
3.2 Pilokarpiini	15
3.2.1 Kemialliset ja fysikaaliset ominaisuudet	15
3.2.2 Valmistus	16
3.2.3 Pilokarpiini sairauksien hoidossa	18
4 Pihkasalva	19
4.1 Pihka	19
4.1.1 Havupuiden pihka	20
4.3 Pihkasalva lääkinnällisessä käytössä	21
5 Yhteenveto	24
Lähteet	25
Kuvat	28

Lyhenneluettelo

DNA	deoksiribonukleiinihappo
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry, Kansainvälinen puhtaan ja sovelletun kemian liitto
MRSA	metisilliiniresistentti, <i>Staphylococcus aureus</i>
THF	tetrahydrofuraani
VOC	Volatile Organic Compound, haihtuva orgaaninen yhdiste
VRE	vankomysiiniresistentti, <i>Enterococcus faecalis</i>

1 Johdanto

Lääkkeet ovat erottamaton osa nykyistä yhteiskuntaa ja siinä elävien ihmisten elämää. Tilastojen mukaan koko 2000-luvun ajan Suomessa reseptilääkkeiden myynti on kasvanut. Itsehoitolääkkeiden myynnissä on ollut hieman vaihtelua, mutta sielläkin on trendinä ollut myynnin kasvu tämän vuosituhannen puolella. Oli lääkkeiden käytön lisääntymisen syynä sitten väestön ikääntyminen tai medikalisaatio, on lääketeollisuus ollut myös vakaa työllistäjä viimeisen parin vuosikymmenen aikana Euroopassa. Viimeisimmät lamat ovat hieman vaikuttaneet tälläkin teollisuuden alalla, mutta kasvua on silti nähtävissä 80-luvulta tähän päivään.¹ Myös erilaiset epidemiat ja pandemiat ovat viime aikoina pelottaneet ihmisiä. Kun lintuinfluenssasta selvittiin Suomessa pelkällä säikähdyksellä, odotteli sikainfluenssa jo vuoroaan. Vaikka Suomessa on välttytty pahimmalta, tuskin kukaan voi kieltää lääkkeiden ja niiden kehittämisen tärkeyttä.

Vaikka nyky-yhteiskunnassa ihmiset ymmärtäisivät lääkkeiden merkityksen, niiden historia saattaa olla hämärän peitossa. Läketeollisuus saatetaan nähdä minä tahansa muuna teollisuuden alana, eikä esimerkiksi yhteyttä luontoon tiedetä. Tässä kandidaatintutkielmassa on haluttu yleisesti kertoa lääkkeiden historiasta ja kehittämisestä, mutta samalla tuodaan esiin sitä, että tutkijat eivät ole olleet vailla lähtökohtaa alkaessaan kehittää lääkkeitä. Entisaikojen ihmisen käyttämällä lääkekasveilla on ollut suuri merkitys lääketutkimukseen. Luonnosta on haettu vuosikymmenien varrella ja haetaan jatkossakin tietoa, inspiraatiota ja materiaalia lääkkeiden kehitykseen.

Tämä kandidaatintutkielma koostuu viidestä kappaleesta, joista ensimmäinen on johdanto. Toisessa kappaleessa ”Lääkkeet ja lääkeaineet” määritellään lääkkeen ja lääkeaineen lisäksi muita aiheeseen liittyviä termejä. Kappaleessa kerrotaan lääkkeiden historiasta ja miten muun muassa kemian menetelmien syntyminen on vaikuttanut lääkeaineiden löytämiseen. Kappaleessa kerrotaan vielä, miten lääkeaineet vaikuttavat elimistössä sekä kuvataan tyypillinen lääkkeiden kehitysprosessi.

Kolmannessa kappaleessa kerrotaan kahden konkreettisen esimerkin kautta lääkeaineiden ominaisuuksista, valmistuksesta sekä käyttökohteista. Tähän tutkielmaan on valittu malarialääkkeenä käytettävä klorokiini sekä glaukooman hoidossa käytettävä pilokarpiini. Pilokarpiini on löydetty luonnosta, kun taas klorokiini on luonnonaineen johdannainen. Neljännessä kappaleessa keskitytään suomalaisille tuttuun luonnonaineeseen, havupuiden pihkaan, jota käytetään lääkinnällisissä tarkoituksissa pihkasalvan muodossa. Kappaleessa kuvataan pihkan yleisiä ominaisuuksia sekä kerrotaan suomalaisesta pihkasalvasta ja sen käyttökohteista. Viides kappale sisältää yhteenvedon tutkielmassa käsitellyistä aiheista.

2 Lääkkeet ja lääkeaineet

2.1 Määritelmät

Lääkeaine on yhdiste, jonka rakenne ja kemialliset ominaisuudet yleensä tunnetaan². Lääkeaine voidaan valmistaa synteettisesti tai se voidaan mahdollisesti eristää suoraan luonnosta. Yleensä lääkeainetta ei yksistään käytetä itse lääkkeenä, vaan yhdessä farmaseuttisten apuaineiden kanssa se muodostaa lääkevalmiste. Tällöin lääke siis sisältää yhtä tai useampaa lääkeainetta eli vaikuttavaa ainetta sekä joitain muita esimerkiksi vaikutusaikaan ja imeytymiseen vaikuttavia ainesosia³. Lääke voidaan antaa esimerkiksi tablettimuodossa.

Suomen lääkelaissa on lääkkeelle määritelmä, joka antaa laajemman käsityksen lääkkeen merkityksestä. Laissa lääkkeen kerrotaan olevan aine tai valmiste, ”jonka tarkoituksena on sisäisesti tai ulkoisesti käytettynä parantaa, lievittää tai ehkäistä sairautta tai sen oireita ihmisessä tai eläimessä”. Lisäksi lääkkeeksi voidaan luokitella aine, jolla voidaan selvittää sairauden syytä tai joka esimerkiksi korjaa elimistön toimintaa metabolisen vaikutuksen kautta. Lain tarkoituksena on edistää turvallista ja tarkoituksenmukaista lääkkeiden käyttöä.⁴

Kuten edellä on jo mainittu, lääkeaineita saadaan sekä luonnosta että synteettisesti valmistamalla. Rohdokset ovat esimerkiksi kuivattuja kasveja, joita käytetään lääkinnällisesti. Rohdokset tarkoittavat yleisesti biogeenistä alkuperää olevia materiaaleja, kuten kasveja ja kasvinosia, eläimiä sekä mikro-organismien tai entsyymien tuottamia aineita.

Rohdoksissa on kuitenkin useita aineita. Täten osa aineista vaikuttaa lääkinnällisessä käytössä ja osalla ei ole merkitystä halutun vaikutuksen aikaansaamiseksi. Usein rohdoksista eristetäänkin niin kutsuttua puhdasainetta, jolla saattaa olla suurempi teho kuin alkuperäisellä rohdoksella. Puhdasaineista voidaan edelleen syntetisoida niiden erilaisia johdannaisia, jolloin puhutaan puolisynteettisestä lääkeaineesta. Syntetisoinnilla pyritään usein vaikuttamaan lääkeaineen ominaisuuksiin positiivisella tavalla. Noin puolet kaikista markkinoilla olevista lääkeaineista valmistetaan täysin synteettisesti, eli kyse on synteettisistä lääkeaineista.⁵

2.2 Lääkkeiden historiaa poppamiehistä nykypäivään

Ihminen on osannut hyödyntää luonnosta löytyviä lääkeaineita käytännössä koko olemassaolonsa ajan. Luonnon kasveja ja muita antimia käytettiin ravintona, ja jossain vaiheessa huomattiin aina tiettyjen kasvien aiheuttavan voimakkaita reaktioita ihmisessä. Pitkään sairauksien ajateltiin olevan jumalista ja hengistä johtuvia, joten niihin oli käytettävä äärimmäisiä keinoja. Tällöin alkoi kehittyä lääkekasvien käyttö tautien hoidossa ja parantamisessa.

Alkukantaisten heimojen poppamiehet keittelivät keitoksiaan luonnosta löytämistään ainesosista, ja näitä olivat kasvien ohella esimerkiksi eläinten ulosteet ja raadot. Myös annostelu oli usein alkukantaisten ihmisten harjoittamassa lääkinnässä pielessä, sillä ihmisruumista ja sen toimintoja tunnettiin huonosti. Potilaan kohtalona saattoi usein joka tapauksessa olla kuolema. Vaikka tietämys ihmisruumiista ja vaikuttavista ainesosista oli olematonta, on muinaisten lääkekasvien tutkimisesta ollut nykyihmiselle paljon hyötyä. Nykyisellä tekniikalla on mahdollista eristää poppamiesten käyttämistä lääkekasveista vaikuttavat aineet, ja näin niitä voidaan tutkia ja hyödyntää modernissa lääketieteessä.

Antiikin Kreikassa kehittyi hippokraattinen lääkintä, jossa huomio kiinnittyi enemmän terveyden edistämiseen kuin sairauksien parantamiseen. Hyvän terveyden saavuttamiseksi hoitokeinoina käytettiin esimerkiksi rauhallista ympäristöä, kylpyjä ja lepoa sekä oikeaa ruokavaliota terveyttä edistävien yrttien kera.⁶ Kreikkalainen Galenos (131–201) vaikutti merkittävästi tulevien vuosisatojen lääkintään. Galenoksella oli lennokkaita teorioita eri elementtien, tulen, maan, ilman ja veden, tasapainosta ihmiskehossa, mutta hän tutki myös paljon rohdoksia. Galenoksen kirjoittamia kirjoja on säilynyt nykypäivään asti, ja hänen oppinsa kasvien käytöstä olivat vallitsevia lähes 1500 vuoden ajan.

Lääkkeiden kehitys kohti modernia lääkintää lähti hiljalleen liikkeelle 1500-luvulta lähtien, jolloin ensimmäiset lääketieteen uranuurtajat hylkäsivät vanhat auktoriteetit. Ymmärrys ihmisen anatomiasta ja fysiologiasta kehittyi uutterien tutkimusten myötä, esimerkiksi verenkierron periaate selvitettiin 1628.⁷ Kemia ja sen menetelmät alkoivat kehittyä 1700-luvun loppupuolella, ja siitä lääkeaineiden tutkimus sai lisäpontta. Tärkeänä virstanpylväänä pidetään esimerkiksi vuotta 1806, jolloin Frederick Sertüner (1783–1841) ensimmäisenä eristi rohdoksesta puhtaan lääkeaineen. Tuo lääkeaine on edelleen käytössä ja tunnetaan nimellä morfiini.

Menetelmät lääkeaineiden eristämiseen olivat siis kehittyneet. Tiedettiin, että tietty vaikuttava aine parantaa tiettyä sairautta, ja ihmisen elintoimintoja oli onnistuttu kartoittamaan. Lääkkeiden valmistus teollisesti saattoi siis alkaa. 1800-luvun lopulla tuotettiin jo suuria määriä eri lääkkeitä, esimerkiksi erilaisia säryn lievitykseen tarkoitettuja valmisteita. Lääkeaineita pyrittiin tuottamaan täysin synteettisesti, mutta usein synteesit olivat monivaiheisia ja saannot huonoja. 1800-luvulla oli ja on edelleen nykypäivänäkin usein edullisempaa hyödyntää tai käyttää suoraan luonnosta saatavia lääkeaineita.⁶

2.3 Lääkeaineiden vaikutusmekanismit ja lääkkeiden antoreitit

Lääkeaineet vaikuttavat elimistössä eri tavoin. Joidenkin lääkeaineiden vaikutusmekanismit perustuvat hyvin yksinkertaisiin kemiallisiin reaktioihin, kuten emäksisen natriumbikarbonaatin käyttö mahan sisällön neutraloinnissa tai lääkeaineet, jotka muodostavat imeytymättömiä komplekseja veressä kolesterolin kanssa. Joissain tapauksissa käytettävät lääkkeet eivät ole lainkaan vuorovaikutuksessa elimistön kanssa, vaan esimerkiksi ummetuksen hoidossa lääkeaineet muokkaavat suolen sisällön koostumusta. Anemian hoidossa käytetään rautavalmisteita, jotka lisäävät elimistöön rautaa eli lähtöainetta, jota tarvitaan hemoglobiinin hemiosan biosynteesiin.

Valtaosa lääkeaineiden vaikutusmekanismeista liittyy reseptoreihin. Reseptorit ovat solujen proteiinimolekyylejä, jotka ovat erikoistuneet tiettyihin tehtäviin solussa. Reseptori on siis kohdemolekyyli, johon lääkeainemolekyyli sitoutuu. Kun lääkeainemolekyyli ja reseptorimolekyyli ovat sitoutuneena toisiinsa, ne ovat vuorovaikutuksessa toistensa kanssa. Tällöin solussa tapahtuu muutoksia ja saadaan aikaan niin toivotut vaikutukset kuin myös mahdolliset ei-toivotut sivuvaikutukset.

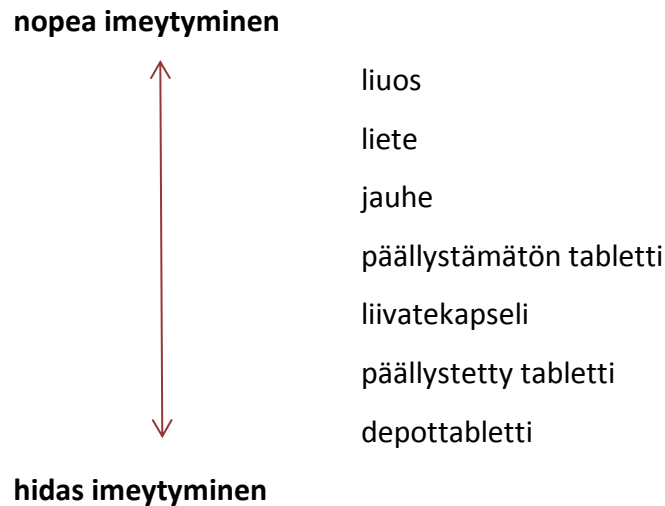
Yleensä lääkeaineilla pyritään vaikuttamaan elimistön omien viestimolekyylien reseptoreihin. Lääkeaine toimii kuin elimistön oma viestimolekyyli joko saamalla aikaan eli aktivoimalla signaalinvälityksen tai estämällä sen. Signaalinvälitystä aktivoivia lääkeaineita kutsutaan agonisteiksi ja viestinvälitystä salpaavia aineita antagonisteiksi eli reseptorinsalpaajiksi. Lääkeaineiden kohdemolekyylit voivat olla myös entsyymejä, kuljettajaproteiineja tai jopa nukleiinihappoja, kuten syövän hoidossa.

Lääkeaineen sitoutuminen reseptoriin on hyvin usein ohimenevää, mikä on myös käytäntöä ajatellen hyvä asia. Kun lääkeaineen pitoisuus elimistössä laskee, reseptorilääkeainekompleksit alkavat hajota ja solut alkavat toimia kuten ennen lääkeaineen sitoutumista. Sitoutuminen on ohimenevää sen vuoksi, että lääkeaineen ja reseptorin vuorovaikutus perustuu suhteellisen heikkoihin voimiin. Lääkeaineet voivat sitoutua reseptoreihin ionisidoksilla, vetysidoksilla sekä dispersiovoimilla. Molekyylien kolmiulotteinen muoto vaikuttaa myös sitoutumiseen, ja eri stereoisomeerit saattavatkin vaikuttaa hyvin eri tavoin elimistössä.⁸

Lääkkeiden antoreittejä:

- suun kautta (imeytyminen ohutsuolessa)
- suuonteloon (imeytyminen limakalvoilta)
- hengityselimiin (nenän limakalvot, inhalaatio keuhkoihin)
- iholle ja ihon kautta (imeytyminen ihoon tai verenkiertoon)

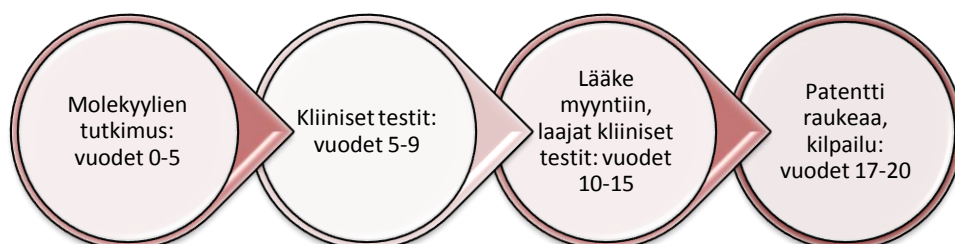
Lääkkeiden liukeneminen on hyvin tärkeää, koska vain liuenneessa muodossa lääkeaineiden on mahdollista imeytyä elimistöön ja etsiä kohdemolekyylien luokse. On olemassa erilaisia tapoja, joilla vaikutetaan lääkeaineiden liukenemiseen. Esimerkiksi liuokset ja lietteet sisältävät jo valmiiksi liuenneessa muodossa lääkeaineen, joten se imeytyy omien liukoisuusominaisuuksiensa mukaan ja yleensä nopeasti (kuva 1.). Toisaalta tabletteja päällystämällä voidaan kohdentaa lääkeaineen imeytyminen tapahtuvaksi vasta ohutsuolessa. Esimerkiksi depottabletit luovuttavat pikkuhiljaa kalvon läpi lääkeainetta elimistöön.⁹



Kuva 1. Suun kautta annettavien lääkemuotojen imeytyminen

2.4 Uuden lääkkeen kehittäminen

Kuten edellä on jo lääkkeiden historian yhteydessä kerrottu, niin aiemmin lääkeaineita on tutkittu ja löydetty uteliaisuuden ohjaamana. On huomattu, että jokin kasvi on aiheuttanut reaktioita ihmisessä. Kun kemian menetelmät ja ihmisruumiin tuntemus edistyivät, voitiin luonnon kasveista alkaa systemaattisemmin etsimään lääkeaineita. Nykyisin lääkkeiden kehitys lähtee usein liikkeelle tarpeesta. Todetaan, että johonkin sairauteen tai kliiniseen tilaan ei ole saatavilla sopivaa lääkehoitoa¹⁰. Tässä luvussa kuvataan tyypillinen lääkkeiden kehitysprosessi (kuva 2.).



Kuva 2. Lääkkeen kehittämisen eri vaiheet ja siihen kuluva aika

Kun on havaittu tarve uudelle lääkkeelle, tutkitaan ensin, mikä olisi se reseptori, jota aktivoimalla tai inhiboimalla saataisiin toivottu vaikutus aikaan ihmisessä. Lääketutkimuksessa tärkeitä reseptoreita ovat esimerkiksi entsyymit ja nukleiinihapot. Kaikki, mitä soluissa tapahtuu, perustuu kemiallisiin reaktioihin, jotka eivät tapahtuisi riittäväällä nopeudella ilman entsyymien katalysoivaa vaikutusta. Toisaalta myös ei-toivotut reaktiot soluissa saattavat olla entsyymien vaikutuksen tuotosta. Jos esimerkiksi havaitaan, että sairaus johtuu liiallisesta entsyymitoiminnasta, niin täytyy löytää tapa hidastaa entsyymin toimintaa. Nukleiinihapoista DNA on elintärkeä solujen kasvulle. Siksi syöpän lääkehoidossa pyritään löytämään aineita, jotka jollain tavalla hidastaisivat tai häiritsisivät DNA-molekyylien toimintaa siten, etteivät haitalliset syöpäsolut pääse lisääntymään ja kasvamaan.^{11,12}

Sairauden parantamiseksi sopivaa reseptoria tutkitaan esimerkiksi solukokeilla sekä eläinmalleilla. Kun kohde on valittu, aletaan seuloa sopivia molekyyliä, joista voisi tulla lääkeaineita. Alkuvaiheessa tutkimusta tehdään nykyisin tietokoneavusteisesti laskemalla molekyylien ominaisuuksia ja päättelemällä sitoutuvatko ne halutulla tavalla reseptorin kanssa. Tällöin saadaan nopeasti rajattua joukko potentiaalisia lääkeainemolekyyliä ainakin siihen verrattuna, että aiemmin jokainen molekyyli on täytynyt syntetisoida ja tutkia erikseen.¹³

Seuraavaksi mahdollisista lääkeaineista karsitaan pois ne, jotka ovat myrkyllisiä tai aiheuttavat muuten epätoivottuja vaikutuksia. Molekyylien vaikutuksia tutkitaan sekä in vitro että in vivo eli ensimmäisessä tapauksessa solukokein elävän organismin ulkopuolella ja jälkimmäisessä elävillä organismeilla. Yleensä eläinkokeiden avulla saadaan tietoa lisäksi molekyylien farmakologisista ominaisuuksista, tehokkuudesta ja turvallisuudesta. Tutkimuksen kohteena on useita eri molekyyliä, jotta myöhäisemmässä tutkimuksen vaiheessa mahdollisten takaiskujen sattuessa ei tarvitse lähteä alusta alkaen liikkeelle.¹⁰

Tässä vaiheessa molekyyliä voidaan myös muokata synteettisen kemian keinoin. Molekyyleistä pyritään yleensä päättelemään niin kutsuttu farmakofori. IUPAC:in¹⁴ määritelmän mukaan farmakofori on muun muassa niiden steeristen ominaisuuksien joukko, joka määrää molekyylien väliset vuorovaikutukset. Farmakofori on siis ne ”osat” molekyylistä, jotka saavat aikaan tai estävät reseptorissa tietyt toiminnot. Kun farmakofori on tunnettu, voidaan molekyylin kemiallista rakennetta muokata niin, että esimerkiksi sen selektiivisyys paranee.

Noin viiden vuoden kuluessa siitä, kun lääkkeen kehitysprosessi on aloitettu, ollaan siinä pisteessä, että on onnistuttu rajaamaan pieni potentiaalisten lääkeaineiden joukko. Tätä huomattavasti pienempää molekyylien joukkoa voidaan alkaa tutkia kliinisin testein. Ensimmäiset kliiniset testit toteutetaan pienellä joukolla ihmisiä. Testeillä pyritään selvittämään edelleen lääkkeen turvallisuutta ja sopivuutta ihmiselle. Lääkeaineen annostukseen kiinnitetään huomiota ja yleisiä sivuvaikutuksia pyritään kartoittamaan. Lopulta noin reilun kymmenen vuoden tutkimuksen jälkeen lääkettä voidaan alkaa myydä.

Vielä siinäkin vaiheessa, kun lääke on jo markkinoilla, tutkimus jatkuu. Lääkkeen turvallisuutta valvotaan, koska se on aiempia testejä suuremman ihmisjoukon käytössä. Muutaman vuoden kuluttua markkinoille tulemisen jälkeen lääkkeen patentti raukeaa, jolloin kyseinen lääke on kaikkien lääkeyritysten valmistettavissa ja yleinen kilpailu markkinaosuuksista alkaa.¹⁵

Kaikista yhdisteistä, joita tutkitaan, ei aina tule lääkeaineita. Ensinnäkään kaikki tutkitut yhdisteet eivät toimi niin kuin pitäisi tai ne eivät ole turvallisia käyttää. On otettava myös huomioon se, että lääkeainetta on saatavilla luonnosta tai synteettisesti ja että kulut eivät nouse liian suuriksi valmistusprosessissa. Lisäksi on olemassa tiettyjä kemiallisia kriteereitä, jotka pätevät suurimmalle osalle lääkeainemolekyylejä ja jotka antavat suuntaviivoja lääkeainetutkimukselle:

- yhdisteen moolimassa alle 500 g/mol
- yhdisteessä vähemmän kuin viisi vetysidoksen luovuttavaa funktionaalisuutta
- yhdisteessä vähemmän kuin 10 vetysidoksen vastaanottavaa funktionaalisuutta
- yhdisteellä tulisi olla laskennallinen jakautumiskerroin $\log P$ -1 ja +5 välillä¹⁶

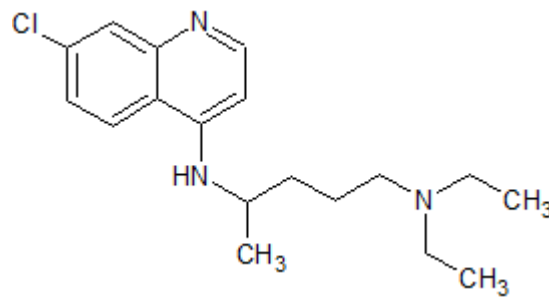
Lääkeaineen löytäminen, tutkiminen ja lääkkeeksi asti markkinoille saattaminen on pitkä ja hintava prosessi. On esitetty arvio, että esimerkiksi vuonna 1997 päivittäin lääkeainetutkimuksen parissa seulottiin noin 100 000 erilaista yhdistettä. Lisäksi yhden lääkkeen kehittämiseen voi kuluja enemmän kuin miljardi Yhdysvaltain dollaria (782 miljoonaa euroa) ja 15 vuotta tutkimustyötä. Arvioidaan, että tutkimuksen alussa 7000 molekyyliä kohden yksi molekyyli valikoituu lääkeaineeksi myyntiin asti. Lääkeaineita kehitettäessä tarvitaan lisäksi useiden eri tieteenalojen tuntemusta ja yhteistyötä, kuten esimerkiksi kemian, biokemian, farmakologian, molekyylibiologian, anatomian ja tietojenkäsittelytieteen.^{10,17}

3 Esimerkkejä lääkeaineista

3.1 Klorokiini

3.1.1 Kemialliset ja fysikaaliset ominaisuudet

Klorokiini ($C_{18}H_{26}ClN_3$, kuva 3.) on 4-aminokinoliineihin kuuluva synteettinen lääkeaine¹⁸. Klorokiinia käytetään raseemisena seoksena, joten absoluuttista konfiguraatiota ei esitellä tässä yhteydessä¹⁹. Moolimassa klorokiinille on 319,87 g/mol. Klorokiini on valkoinen, kiteinen jauhe, jonka sulamispiste on 87 °C. Se liukenee laimeisiin happoihin, kloroformiin sekä eetteriin. Veteen klorokiini liukenee vain hyvin niukasti ja tästä johtuen se on lääkkeissä joko difosfaattina tai sulfaattina.²⁰



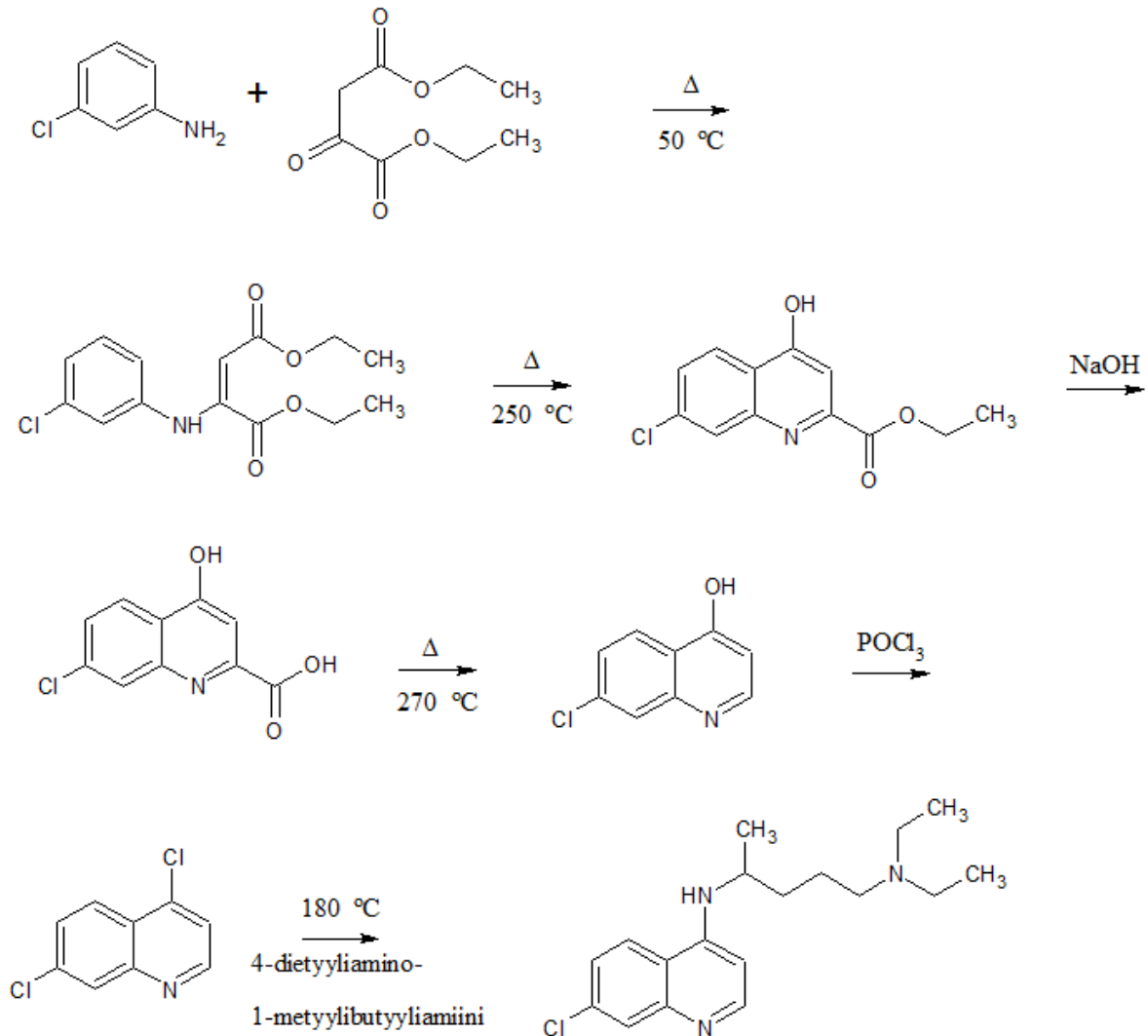
kuva 3. Klorokiini.

3.1.2 Valmistus

Klorokiini on täysin synteettinen lääkeaine, mutta sen lähtökohtana on ollut luonnosta löytyvä kiniini. Kiniinin rakenteen pohjalta on kehitetty monia yksinkertaisempia analogeja, joista klorokiini on yksi esimerkki. Kiniini on kiinapuun kuoresta löytyvä kinoliini-alkaloidi, joka eristettiin ensimmäisen kerran vuonna 1817. Kiniini oli ensimmäinen malarian oireisiin tehoava lääkeaine ja sitä käytettiin hyvin runsaasti ennen kuin muita malarialääkkeitä vielä oli.¹⁹

Vuonna 1934 saksalainen Johann ”Hans” Andersag syntetisoi ensimmäisen kerran lääkeaineen, joka myöhemmin tulitaisiin tuntemaan klorokiinina. Lääkeainetta testattaessa sen todettiin kuitenkin oleva myrkyllinen ja se unohdettiin lääketutkimuksessa kymmenen vuoden ajaksi. Lopulta 1940-luvun puolivälissä 4-aminokinoliinit otettiin uudestaan tutkimuskohteeksi ja klorokiini ansaitsi paikkansa johtavana malarialääkkeenä, kun sitä osattiin annostella oikein ja haittavaikutukset tunnettiin paremmin.²¹

Suuressa mittakaavassa klorokiinia valmistetaan Surreyn ja Hammerin prosessilla (kuva 4.). Synteesi aloitetaan m-kloorianiliinin ja dietyyli-2-oksobutaanidioaatin kondensaatiolla. Renkaan sulkemisella saadaan aikaan etyyli-4-hydroksi-7-kloorikinoliinikarboksylaatti, joka ensin hydrolysoidaan ja tästä saatu välituote dekarboksyloidaan. Tuotteena muodostuu 4-hydroksikinoliini, jonka reaktio POCl_3 :n kanssa tuottaa 4-kloorikinoliinin. Tähän liitetään vielä nukelofiilisen substituutioreaktion avulla 4-dietyyliamino-1-metyyli-1-butyliamiini.^{19,22}



Kuva 4. Klorokiinin synteesi Surreyn ja Hammerin prosessilla

3.1.3 Klorokiini malarian hoidossa

Malaria on kuumetauti, jonka aiheuttaa loinen. Ihmiselle malariaa voivat aiheuttaa neljä eri loista, jotka kaikki kuuluvat yksisoluiseen *Plasmodium*-sukuun. Näistä loisista selvästi yleisin on *Plasmodium falciparum* ja muut harvinaisemmat ovat *P. vivax*, *malariae* ja *ovale*. Malarian aiheuttavat loiset lisääntyvät suvullisesti naaraspuolisissa *Anopheles*-sukuun kuuluvien hyttysten elimistössä. Hyttysten pistosta loinen leviää ihmiseen ja ihmisen elimistössä loinen lisääntyy suvuttomasti.

Jotta voidaan kehitellä sopivia lääkkeitä ja määrätä oikeanlaista hoitoa malariaan sairastuneille, on hyvä tuntea malarian loiskierto. Infektoitunut naarashyttynen siirtää loisen aluksi ihmiseen. Loisen esiasteet siirtyvät hyttysten sylkirauhasista ihmisen verenkiertoon, josta ne edelleen päätyvät ihmisen maksaan. Maksassa loiset alkavat lisääntyä nopeasti. Parin viikon kuluessa ihmisen verenkiertoon on vapautunut valtava määrä loisen seuraavaa kehitysastetta. Lähes kaikki loiset päätyvät punasoluihin, joissa ne jatkavat lisääntymistään. Punasolut alkavat hajota loisten vuoksi, jolloin potilaalle ilmaantuu malarialle tyypillisiä oireita, kuten korkea kuume. Punasolukierron aikana voi muodostua myös kantasukusoluja, jotka voivat edelleen päätyä ihmistä pistävään hyttyseseen, jolloin loinen kulkeutuu taas eteenpäin.²³

Eri malarialääkkeet vaikuttavat loisten kiertokulun eri vaiheissa. Klorokiinia sisältäviä lääkkeitä käytettäessä malarian oireet helpottuvat sen lisäksi, että lääkeaine pyrkii katkaisemaan loiskiertoa. Klorokiinilla ja muilla 4-aminokinoliineilla on solujen DNA-molekyyleihin haitallinen vaikutus ja ne tuhoavat punasolukierrossa olevia loisen kehitysasteita. Klorokiini kertyy sekä ihmisen soluihin että loisen soluihin, mutta suuremmissa määrin loisen soluihin. Tällöin vaikutus nisäkässolujen DNA:han on siedettävällä tasolla. Klorokiinia käytetään sekä malarian ehkäisyssä että taudin hoidossa.

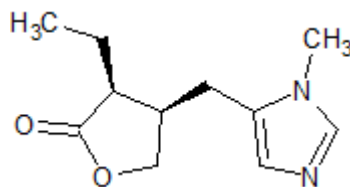
Klorokiini on ollut erittäin tehokas malarialääke ja sitä on käytetty runsaasti malaria-alueilla. Sen käytöstä on jouduttu kuitenkin monin paikoin lähes luopumaan, sillä yleisin malarialoinen, *Plasmodium falciparum*, on kehittänyt resistenttejä kantoja klorokiinille. Tästä syystä klorokiinista on pyritty edelleen kehittämään johdannaisia, jotka toimisivat yhtä tehokkaasti malarian hoidossa.

Malaria on yksi yleisimpiä sairauksia maailman trooppisilla ja subtrooppisilla alueilla¹⁹ ja siihen sairastuu arviolta vuosittain 100-250 miljoonaa ihmistä²³. Tartunnan saaneista 1 % kuolee. Prosenttiluku kuulostaa pieneltä, mutta todellisuudessa joka minuutti kuolee kaksi ihmistä malariaan. Ongelmalliseksi malarian hoidon tekee juuri se, että on kehittynyt eri lääkeaineille resistenttejä loiskantoja. Lisäksi, koska suurin osa malariatartunnoista tapahtuu kehittyvissä maissa, joudutaan malarialääkkeitä kehitettäessä ottamaan huomioon monia seikkoja. Lääkkeen on esimerkiksi oltava halpa valmistaa ja sen pitää olla annettavissa suun kautta länsimaisten sairaalolosuhteiden puuttuessa. Loisen vastustuskyvystä johtuen uuden mahdollisen malarialääkkeen annostuksen tulee myös olla kohtuullinen, jotta loinen ei pystyisi nopeasti kehittämään vastustuskykyä myös sille.²⁴ Jotta malariaa vastaan voidaan taistella tehokkaasti, tulee ottaa huomioon myös millaisissa ympäristöissä hyttynen elää ja miten sen elintilaa voitaisiin mahdollisesti kaventaa.²³

3.2 Pilokarpiini

3.2.1 Kemialliset ja fysikaaliset ominaisuudet

Pilokarpiini (kuva 5.) eristettiin ensimmäistä kertaa luonnosta 1875²⁵ ja se kuuluu alkaloideihin. Alkaloidit ovat usein heterosyklisiä yhdisteitä ja sisältävät typpeä. Niitä on lukuisia erilaisia ja alkaloidien rakenteet ovat monesti monimutkaisia. Näitä yhdisteitä esiintyy enimmäkseen kasveissa, mutta alkaloideja löytyy myös eläimistä. Alkaloideilla on emäsluonnetta. Alkaloidien ryhmään kuuluvien yhdisteiden tarkka rajaaminen on hankalaa, sillä eri alkaloidit eroavat usein kemiallisilta ominaisuuksiltaan kuten myös vaikutuksiltaan lääkekäytössä. Edellä kuvatut ominaisuudet kuitenkin pätevät yhteisesti kaikille alkaloideille. Pilokarpiinin lisäksi alkaloideja ovat esimerkiksi kokaiini, atropiini ja kiniini.



Kuva 5. Pilokarpiini

Alkaloidit voidaan edelleen luokitella monella eri tavalla. Useimmin ne on jaoteltu järjestelmiin joko kemiallisen rakenteen perusteella tai kasvisukujen mukaan. Jos käytetään kemiallisen rakenteen samankaltaisuuteen perustuvaa jakoa, voidaan pilokarpiini lukea kuulumaan imidatsolialkaloideihin. Imidatsolialkaloideissa on se erikoinen piirre, että niitä on löydetty luonnosta vähän.²⁶

Eristettynä pilokarpiini ($C_{11}H_{16}N_2O_2$) on hygroskooppinen aine ja se on ulkomuodoltaan öljy tai kiteinen. Se liukenee veteen, etanoliin ja kloroformiin. Pilokarpiinin sulamispiste on $34\text{ }^{\circ}\text{C}$ ja moolimassa $208,26\text{ g/mol}$. Lääkkeissä pilokarpiini on joko hydrokloridina tai nitraattina, jotka molemmat liukenevat veteen.²⁷

3.2.2 Valmistus

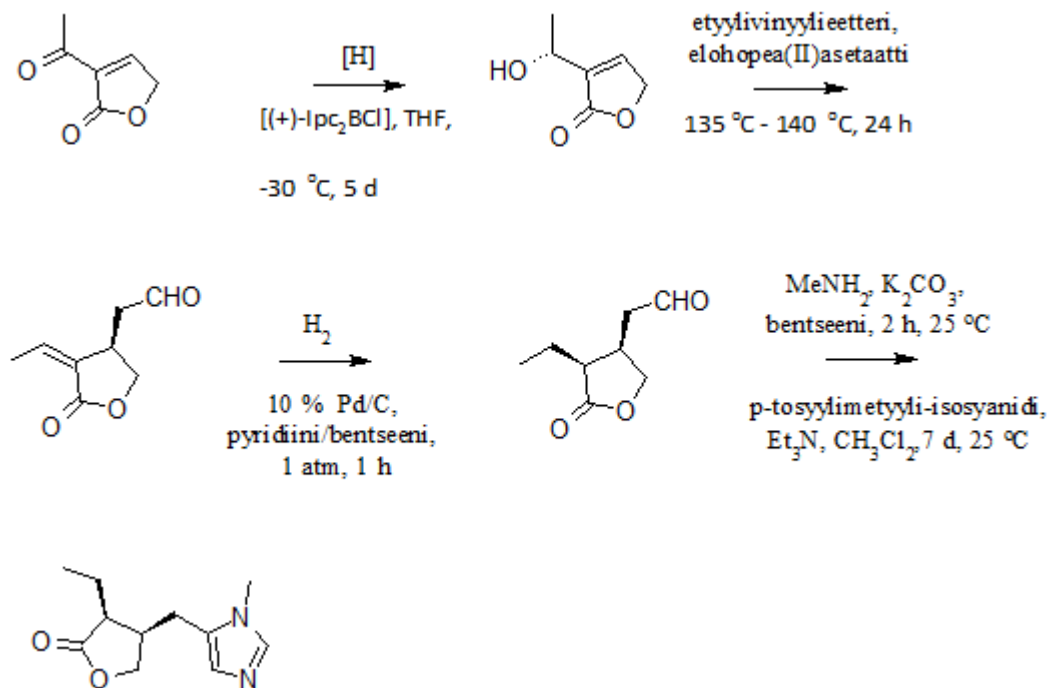
Luonnossa eri alkaloidit, joihin pilokarpiini myös kuuluu, muodostuvat siis kasveissa, eläimissä ja mikro-organismeissa. Vaikka alkaloidit ovat keskenään erilaisia ja niitä esiintyy runsaasti luonnossa, voidaan niiden biosynteesiä eli luonnossa muodostumista kuvata parilla yksinkertaisella periaatteella:

- 1) Perusrungot ovat muodostuneet tavallisista aminohapoista ja jossain määrin eräistä muista pienistä molekyyleistä, jotka ovat biologista alkuperää.
- 2) Alkaloidien rakenteiden moninaisuus johtuu siitä, että perusrungot reagoivat yksinkertaisten reaktioiden avulla eteenpäin. Näitä reaktioita ovat esimerkiksi:

- aldolikondensaatio
- karbinoliamiinikondensaatio
- aldehydi-amiini kondensaatio
- dehydratoituminen
- hapettuminen
- dekarboksylaatio

Pilokarpiinin biosynteesiä ei tunneta tarkasti, mutta tiedetään, että imidatsolialkaloidien perusrunkona on L-histidiini. Pilokarpiinia esiintyy *Pilocarpus*-lajiin kuuluvien puiden ja pensaiden lehdissä. Lajit ovat kaikki luonnonvaraisina kotoisin Etelä-Amerikasta. Erityisen runsaasti pilokarpiinia on Amazonin alueella Brasiliassa viihtyvän *Pilocarpus microphyllus* -lajin lehdistä. *Pilocarpus*-lajin lehdistä on noin 1 % eri alkaloideja. Pääalkaloidina on pilokarpiini.²⁶

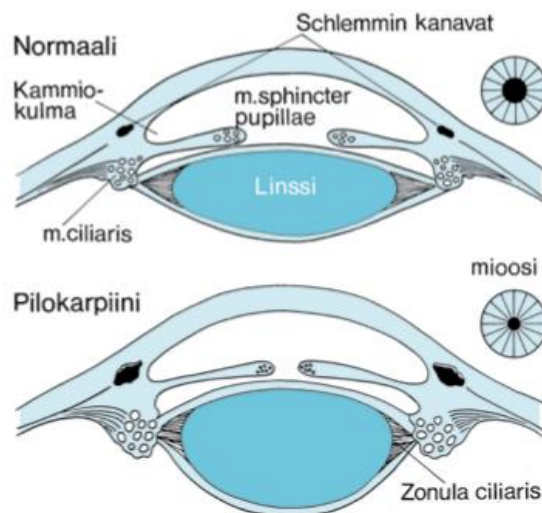
Pilokarpiinin totaalisynteesiä on tutkimuskirjallisuuden perusteella tehty monin eri tavoin. Tässä esitellään 4-vaiheinen synteesi²⁸ (kuva 6.), jonka saanto on 61 % ja jonka sivutuotteena ei synny pilokarpiinin isomeeria, isopilokarpiinia. Synteesi aloitetaan pelkistämällä 3-asetyyli-2-furanoni 3-(1-hydroksietyyli)-2-furanoniksi. Claisen toisiintumisreaktiolla saadaan kaksoissidos renkaan ulkopuolelle ja yhdisteeseen saadaan liitettyä asetaldehydi-sivuketju, joka on välttämätön imidatsolirenkaan muodostumiselle. Saatu välituote hydrataan ja tämän jälkeen sykloadditio- sekä eliminaatioreaktiolla saadaan aikaan pilokarpiini.



Kuva 6. Pilokarpiinin synteesi

3.2.3 Pilokarpiini sairauksien hoidossa

Pilokarpiini stimuloi muskariinireseptoreita ja sitä käytetään glaukooman hoidossa. Glaukooma on silmänpainetauti, josta ennen on käytetty nimitystä viherkaihi. Hoitamattomana glaukooma vahingoittaa näköhermoa ja saattaa johtaa sokeutumiseen.²⁹ Pilokarpiinia käytetään erityisesti ahdaskulmaglaukooman hoidossa. Sairauden oireita ovat kova kipu silmässä, suuri silmäterä sekä silmän verestys. Pilokarpiinia annetaan silmätippoina ja paine silmässä laskee jo muutaman minuutin kuluttua tippojen ottamisesta. Vaikutus kestää 4-8 tuntia. Pilokarpiinia sisältävien silmätippojen ottamisen jälkeen (kuva 7) silmäterä ja mukauttajalihas alkavat supistua. Lisäksi pilokarpiini laajentaa kammiokulmaa ja Schlemmin kanavia. Lääkeaineen vaikutuksesta linssin kuperuus myös kasvaa.



Kuva 7. Pilokarpiinin vaikutukset silmässä.

Pilokarpiinia on hyödynnetty myös muissa lääkinällisissä tarkoituksissa. Sisäisesti nautittuna pilokarpiini aiheuttaa syljen- ja hienerityksen lisääntymistä. Suomessa pilokarpiinia ei ole saatavana tabletteina, mutta niitä voidaan käyttää esimerkiksi Sjögrenin oireyhtymän hoidossa. Oireyhtymä aiheuttaa muun muassa silmien ja suun kuivuutta, jolloin pilokarpiini tilapäisesti lievittää kuivuutta. Pilokarpiinia voidaan käyttää lievittämään kuivuutta myös esimerkiksi silloin, jos potilas on saanut sädehoitoa kaulan ja niskan alueelle, koska potilaalla saattaa esiintyä syljenerityksen häiriötilanteita.^{30,31}

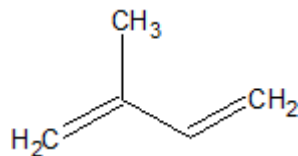
4 Pihkasalva

4.1 Pihka

Pihka on hyvin laaja käsite kasvimaailmassa. Jossain määrin pihkan voidaan katsoa koostuvan aineista, jotka ovat pääasiassa veteen liukenemattomia ja jotka kovettuvat ollessaan riittävän kauan tekemisissä ilman kanssa. Toisaalta tällöin tähän kategoriaan voidaan laskea kuuluvaksi joukko muitakin aineita kuin pihkaa, esimerkiksi kumi, öljyt ja vaha. Kun kemian eri analyysimenetelmät alkoivat kehittyä, pystyttiin myös kasvikunnan tuotteiden koostumusta selvittämään paremmin. Ekologiset tutkimukset sekä parempi ymmärrys kasvien anatomiasta 1900-luvulla vauhdittivat pihkaan liittyvää tutkimusta. Tällöin pihkan käsite muuttui selvärajaisemmaksi eikä sen alle enää voitu luokitella koko joukkoa erilaisia aineita.

Pihka koostuu siis rasva-liukoisista yhdisteistä, joista toiset ovat helposti haihtuvia, kun taas toiset eivät. Kasvit erittävät näitä yhdisteitä erikoistuneissa osissaan, jotka sijaitsevat joko kasvin sisässä tai pinnassa. Yhdisteet ovat pääasiassa sekundäärisiä metaboliitteja eli niillä ei ole tämänhetkisen tiedon mukaan juurikaan perustavanlaatuista merkitystä kasvien fysiologiassa. Pihkan yhdisteillä on kuitenkin mahdollisesti merkitystä ekologisissa interaktioissa. Esimerkiksi kasvin pinnan mennessä rikki, alkaa erittyä pihkaa, joka suojaaa kasvia infektioilta. Pihkaa esiintyy pääasiassa puuvartisissa siemenkasveissa.³²

Pihka sisältää muun muassa isoprenoideja. Isoprenoidit ovat joukko orgaanisia yhdisteitä, jotka muodostuvat biosynteettisesti 2-metyyli-1,3-butadieeni- eli isopreeniyksiköistä (kuva 8). Erilaisten reaktioiden kautta näistä perusyksiköistä muodostuu lukuisia erilaisia yhdisteitä. Esimerkiksi monoterpeenit muodostuvat kahdesta, seskviterpeenit kolmesta ja diterpeenit neljästä isopreeniyksiköstä.³³



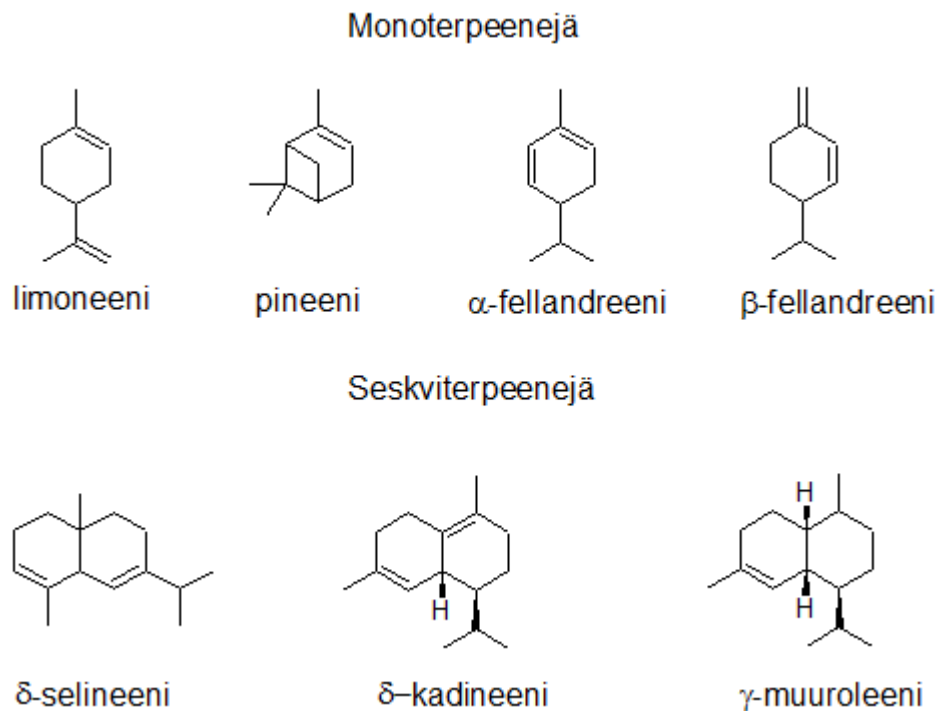
Kuva 8. 2-metyyli-1,3-butadieeni eli isopreeni

4.1.1 Havupuiden pihka

Havupuiden pihkan tunnusomaiset piirteet ovat seuraavat:

- haihtuvien yhdisteiden osuus suuri (20–50 %)
- monoterpeenejä enemmän kuin seskviterpeenejä
- molempia edellä mainittuja yhdisteryhmiä esiintyy pääasiassa hiilivetyinä, vain joitain hapettuneita muotoja

Luonnon oloissa monoterpeenit haihtuvat vaihtelevalla nopeudella ja ne esimerkiksi vastaavat hyväntuoksuisista aromeista, joita voi lämpimänä päivänä havaita havumetsässä tai joulunaikaan sisätiloissa olevan kuusen lähellä. Monoterpeenit saattavat haihtuessaan saavuttaa ilmakehässä huomattavia pitoisuuksia, ja ne ovat yksi haitallisten VOC-päästöjen lähde³⁴. Sekä mono- että seskviterpeenit suojaavat havupuita hyönteisiltä ja tauteja aiheuttavilta pieneliöiltä. Joitain yleisimpiä havupuiden pihkassa olevia mono- ja seskviterpeenejä on esitelty ohessa (kuva 9).³⁵



Kuva 9. Joitain yleisimpiä mono- ja seskviterpeenejä havupuiden pihkassa

4.3 Pihkasalva lääkinällisessä käytössä

Pihkasalva on rekisteröity haavanhoitotuotteeksi. Apteekeissa on saatavilla pihkasalvaa itsehoitotuotteena (Abilar®, 10 % pihkaa), mutta myös sairaaloissa ja terveyskeskuksissa sitä on käytössä potilaiden ihohaavojen hoitoon.³⁶

Pihkan lääkinällinen käyttö ei ole mikään uusi keksintö. Esimerkiksi Pohjois-Amerikassa on valmistettu niin kutsuttua Kanadan balsamia palsamipihdan (*Abies balsamea*) pihkasta.³⁷ Pohjois-Amerikan alkuperäisasukkaat ovat käyttäneet sitä niin kaikenlaisten iho-oireiden hoitoon kuin moniin muihinkin sairauksiin. Balsami on ollut merkittynä jopa lääkeaineeksi U.S. Pharmacopeiassa vuosina 1820–1916. Myös Pohjois-Suomessa on kansanparannuksessa ollut laajalti käytössä pihkasalva haavojen hoidossa³⁸. Suomalaiset tutkijat ovat kiinnostuneita nykyäänkin pihkasta ja sen ominaisuuksista, sillä pihkasalvalla on havaittu olevan antibakteerisia ominaisuuksia³⁸⁻⁴⁰.

Perinteisesti pihkavoidetta on valmistettu usean eri vaiheen kautta. Pihkaa kerätään metsäkuusista (*Picea Abies*, kuva 10) leikkaamalla veitsellä puun runkoa, jolloin alkaa erittyä pihkaa. Kun pihkaa on kerätty riittävästi, se erotellaan mekaanisesti kaikista epäpuhtauksista, kuten kaarnan palasista. Sen jälkeen pihkaa keitetään suolattoman voin kanssa noin +100 °C. Sopivan seossuhteen aikaansaamiseksi, pihkan ja voin massojen suhde on 1:3. Kun seoksen komponentit ovat sulaneet nesteeksi ja sekoittuneet toisiinsa, seos jäähdytetään ja se on valmis käytettäväksi.^{38,39}

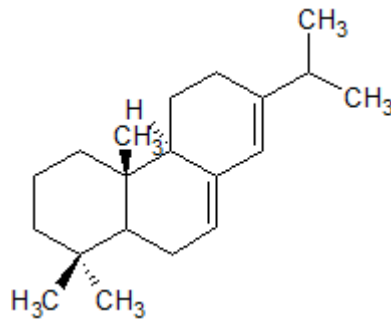


Kuva 10. Metsäkuusi eli kuusi

Pihkasalvaa on tähän mennessä testattu lähinnä in vitro -kokein. Toisaalta kansanparantajien ja muiden maallikoiden keskuudessa pihkasalvaa käytetään jatkuvasti. In vitro -kokeissa pihkasalvalla on havaittu olevan antibakteerisia vaikutuksia tiettyihin bakteereihin. Pihkasalva hidastaa grampositiivisten bakteerien kasvua. Grampositiiviset bakteerit aiheuttavat ihotulehduksia ja näitä bakteereja ovat esimerkiksi *Staphylococcus aureus* (MRSA) sekä *Enterococcus faecalis* (VRE). Pihkasalvan ei ole testeissä havaittu vaikuttavan gramnegatiivisiin bakteereihin, tosin poikkeuksena on *Proteus vulgaris*, jonka kasvua pihkasalva hidastaa. Pihkasalvan on todettu siis olevan ennemminkin bakteriostaattinen eli bakteerien kasvua hidastava kuin bakterisidinen eli bakteereja tappava.³⁹

Pihkavoiteen tehoa on testattu ihmisillä esimerkiksi paine- eli makuuhaavojen hoidossa. Pienellä ihmisryhmällä testattuna pihkavoiteen käyttäjillä haavat parantuivat suuremmissa määrin kuin verrokkiryhmällä, jolle käytettiin jotain muuta haavojen hoidossa käytettyä menetelmää⁴⁰. In vitro –kokeissa on havaittu myös pihkasalvan hidastavan kynsisientä aiheuttavien bakteerien toimintaa. Pihkavoiteen tulee tällöin kuitenkin sisältää vähintään 30-40% pihkaa, jotta teho on merkittävä⁴¹.

Pihkavoiteen vaikutusmekanismia ei ole vielä täysin pystytty selvittämään. On olemassa tutkimuksia, joissa muun muassa eräiden terpeenien on havaittu tuhoavan hiivasolujen mitokondrioita⁴². Suomalaiset tutkijat lisäksi olettavat, että pihkan hartsihappoihin kuuluva abietenihappo (kuva 11.) voi olla yksi ratkaisu pihkasalvan mekanismin selvittämiseen. Tutkijat ovat saaneet alustavissa tutkimuksissa selville, että pelkästään abietenihapolla on hyvin samankaltaisia antibakteerisia ominaisuuksia kuin itse pihkavoiteella. Lisäksi mielenkiintoinen seikka on se, että pihkavoiteessa vähäisinä pitoisuuksina esiintyvillä vesiliukoisilla ainesosilla on myös antibakteerisia vaikutuksia. On kuitenkin muistettava, että aiheen suhteen tarvitaan vielä paljon tutkimusta, ennenkuin voidaan varmistua pihkavoiteen vaikuttavista ainesosista.³⁹



Kuva 11. Abietenihappo

5 Yhteenveto

Ihminen on aikoinaan elänyt hyvin läheisessä yhteydessä luontoon, ja sen antimia on pyritty hyödyntämään niin ravintona kuin lääkinnällisissä tarkoituksissa. Vaikka esimerkiksi kasvien lääkinnällisestä käytöstä saatavat hyödyt ovat olleet useimmissa tapauksissa kyseenalaisia, ei uudemman ajan tutkijoilla ole ollut varaa jättää tutkimatta vanhoja lääkekasveja. Kemian eri tekniikoiden kehittyessä on ollut mahdollista löytää rohdoksista vaikuttavat aineet, jolloin nykyaikainen lääkkeiden kehitys on saanut syntynsä. Suoraan luonnosta on saatu paljon lääkeaineita, joita on käytetty viime päiviin saakka tai jopa edelleen. Tällaisista lääkeaineista esimerkkeinä käyvät malariakuumeen hoidossa käytetty kiniini sekä kovaa kipua lievittävä morfiini.

Tässä tutkielmassa on tarkasteltu klorokiinia ja pilokarpiinia, jotka ovat lääkeaineita, sekä pihkaa, josta tehtyä voidetta käytetään lääkinnällisesti. Nämä kolme ainetta kuvaavat hyvin sitä, miten edelleen luonto on joko suoraan tai välillisesti mukana lääkinnässä. Klorokiini on täysin synteettinen lääkeaine, mutta sen juuret ovat luonnossa. Aiemmin mainittu kiniini ei ollut riittävä lääkeaine malarian hoitoon, joten sen pohjalta kehitettiin tehokkaampia analogeja, joista klorokiini oli erityisen merkityksellinen.

Luonnonaine kiniini on siis ollut inspiraation lähteenä uudelle ja tehokkaalle lääkeaineelle, josta tuli pääasiallinen malarian hoitokeino pitkäksi aikaa. Nyt, kun malarialoinen on kehittänyt resistenttejä loiskantoja klorokiinille, niin siitä onkin tullut uuden lääketutkimuksen lähtökohta. Seuraavaksi pyritään kehittämään klorokiinin analogeja, jotka olisivat yhtä tehokkaita kuin alkuperäinen lääkeaine²⁴. Klorokiinin tarina kuvaa hyvin tieteen eteenpäin pyrkivää luonnetta: luonnosta on saatu lähtökohta prosessille ja sen päälle rakennetaan uutta ja parempaa jatkuvasti.

Pilokarpiini on suoraan luonnosta saatava alkaloidi, joten sen yhteys luontoon on varsin selkeä. Pilokarpiinin löytämisestä ja eristämisestä on kulunut jo aikaa, mutta se on edelleen täysin pätevä lääkeaine silmänpainetaudin hoidossa.

Vaikka lääkeaineiden tutkimus on parin sadan vuoden ajan ollut vilkasta, ei kaikkea ole silti vielä löytetty. Suomalaisen pihkavoiteen tutkimus on selvä osoitus siitä, että luonnolla on vielä paljon tarjottavaa ihmisen hyvinvoinnille. Tällä hetkellä tutkijat eivät tiedä, millä aineilla pihkassa on antibakteerisia ominaisuuksia. Koska tutkimustyö on yhä meneillään, niin kenties tulevaisuudessa pihkasta voidaan eristää jokin tietty yhdiste, jota voidaan yksistään käyttää lääkeaineena esimerkiksi erilaisiin ihovaivoihin.

Lähteet

1. Lääketeollisuus ry:n kokoamia tilastoja www-sivustossa *Tilastot ja raportit*. <<http://www.laaketeollisuus.fi/Tiedostot/01%20tukkumyynti%20trendi.pdf>> ja <<http://www.laaketeollisuus.fi/Tiedostot/06%20L%C3%A4%C3%A4keteollisuus%20ty%C3%B6llist%C3%A4j%C3%A4n%C3%A4.pdf>> viitattu 30.8.2012
2. Tuomisto, J. ja Koulu, M. teoksessa *Farmakologia ja toksikologia*, toim. Koulu, M. ja Tuomisto, J. 7. uudistettu p., Medicina, Kuopio, 2007, s. 20.
3. Mönkkönen, J. teoksessa *Farmakologia ja toksikologia*, toim. Koulu, M. ja Tuomisto, J. 7. uudistettu p., Medicina, Kuopio, 2007, s. 105.
4. Lääkelaki 10.4.1987/395 www-sivustossa *Finlex® Ajantasainen lainsäädäntö*. <<http://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/1987/19870395>> viitattu 6.1.2012
5. Hiltunen, R. ja von Schantz, M. teoksessa *Farmakognosia : farmaseuttinen biologia*. toim. Hiltunen, R. ja Holm, Y. Yliopistopaino, Helsinki, 2000, s. 3 ja 8-9.
6. Viite 5, s. 6-7
7. Viite 2. s.22-23
8. Scheinin, M. teoksessa *Farmakologia ja toksikologia*, toim. Koulu, M. ja Tuomisto, J. 7. uudistettu p., Medicina, Kuopio, 2007, s. 27-31
9. Viite 3, s. 105-112
10. Hughes, J. P., Rees, S., Kalindjian, S. B., Philpott, K. L. Principles of early drug discovery. *Br J Pharmacol* 162 (2011) 1239
11. Copeland, R. A. ja Anderson P. S. teoksessa *Textbook of drug design and discovery*, toim. Krogsgaard-Larsen, P., Liljefors, T. ja Madsen, U., Taylor & Francis, Lontoo, 2002, luku 12, s.328
12. Kjølner Larsen, I. ja Sandholm Kastrup S. teoksessa *Textbook of drug design and discovery*, toim. Krogsgaard-Larsen, P., Liljefors, T. ja Madsen, U., Taylor & Francis, Lontoo, 2002, luku 17, s.511
13. Mitscher, L. A. teoksessa *Textbook of drug design and discovery*, toim. Krogsgaard-Larsen, P., Liljefors, T. ja Madsen, U., Taylor & Francis, Lontoo, 2002, luku 1, s.5
14. Wermuth, C. G., Ganellin, C. R., Lindberg, P. ja Mitscher, L. A. www-sivustossa GLOSSARY OF TERMS USED IN MEDICINAL CHEMISTRY, IUPAC, 1998. <<http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/medchem/>> viitattu 6.4.2012
15. Viite 13, s. 9-10
16. Viite 13, s. 7

17. Viite 13, s.6
18. Männistö, P. T. ja Tuominen, R. K. teoksessa *Farmakologia ja toksikologia*, toim. Koulu, M. ja Tuomisto, J. 7. uudistettu p., Medicina, Kuopio, 2007, s. 920
19. Kumar, V., Mahajan, A., Chibale, K. Synthetic medicinal chemistry of selected antimalarial natural products. *Bioorg. Med. Chem.* 17 (2009) 2236-2275
20. O'Neil M. J., Heckelman, P. E., Koch, C. B., Roman, K. J. *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. 14 p. Merck & Co. Inc. Whitehouse Station, NJ, USA, 2006, monografia 02163
21. Krafts, K., Hempelmann, E., Skórska-Stania, A. From methylene blue to chloroquine: a brief review of the development of an antimalarial therapy. *Parasitol Res* 111 (1) (2012) 1-6
22. Surrey, A. R., Hammer, H. F. Some 7-Substituted 4-Aminoquinoline Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* 68 (1) (1946) 113-116
23. Viite 18. s. 917-919
24. Gelb, M. H. Drug discovery for malaria: a very challenging and timely endeavor. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 11 (4) (2007) 440-445
25. Davies, S. G., Roberts, P. M., Stephenson, P. T., Storr, H. R. ja Thomson, J. E. A Practical and scaleable total synthesis of the jaborandi alkaloid (+)-pilocarpine. *Tetrahedron* 65 (2009) 8283.
26. Hiltunen, R. ja Holm, Y. teoksessa *Farmakognosia : farmaseuttinen biologia*. toim. Hiltunen, R. ja Holm, Y. Yliopistopaino, Helsinki, 2000, s.279-293
27. O'Neil M. J., Heckelman, P. E., Koch, C. B., Roman, K. J. *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. 14 p. Merck & Co. Inc. Whitehouse Station, NJ, USA, 2006, monografia 07424
28. Horne, D. A., Burkhard, F., Kenichi, Y. ja Büchi, G. A Synthesis of Pilocarpine. *J. Org. Chem.* 58 (1993) 62-64
29. Duodecim: Terveyskirjasto. Artikkelin Silmänpainetauti (Glaukooma) Artikkelin on tarkastettu 30.11.2010, Artikkelin tunnus: dlk00452 (013.000), © 2012 Kustannus Oy Duodecim.
<http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00452> viitattu 27.8.2012
30. Koulu, M. teoksessa *Farmakologia ja toksikologia*, toim. Koulu, M. ja Tuomisto, J. 7. uudistettu p., Medicina, Kuopio, 2007, s. 200-201

31. Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri www-sivustossa Sjögrenin oireyhtymä., 2006. <<http://www.hus.fi/default.asp?path=1,32,818,1733,1993,1990>> viitattu 11.3.2012
32. Langenheim, J. H., *Plant Resins – Chemistry, Evolution, Ecology, and Botany* Timber Press, Inc. USA, 2003, s.23.
33. Hiltunen, R. ja Holm, Y. teoksessa *Farmakognosia : farmaseuttinen biologia*. toim. Hiltunen, R. ja Holm, Y. Yliopistopaino, Helsinki, 2000, s.185
34. Ruuskanen, T. *Measurements of Volatile Organic Compounds – from Biogenic Emissions to Concentrations in Ambient Air*, väitöskirja, Helsingin yliopisto, Helsinki, 2009. <<http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-5822-01-4>>
35. Viite 32. s. 35
36. Sipponen, A. Kuusen pihkasalva- Kansanperinteestä apteekin tiskille. *Haava 4* (2008) 40-42.
37. Viite 32. s. 342-343
38. Sipponen, A., Rautio, M., Jokinen, J. J., Laakso, T., Saranpää, P. ja Lohi, J. Resin salve from Norway spruce – a potential method to treat infected chronic skin ulcers? *Drug Metab Lett* I (2007) 143-145.
39. Rautio, M., Sipponen, A., Peltola, R., Lohi, J., Jokinen, J. J., Papp, A., Carlson, P. ja Sipponen, P. Antibacterial effects of home-made resin salve from Norway spruce (*Picea abies*). *APMIS 115* (2007) 335-340.
40. Sipponen, A., Jokinen J. J., Sipponen, P., Papp, A., Sarna, S. ja Lohi, J. Beneficial effect of resin salve in treatment of severe pressure ulcers: a prospective, randomized and controlled multi-center trial. *Br J Dermatol 158* (2008) 1055-1062.
41. Laitinen, K., Sipponen, A., Jokinen, J. J., Koukila-Kähkölä, P., Lohi, J. ja Rautio, M. Kuusen pihkasalvalla on antimykoottinen vaikutus kynsisilsan aiheuttajasieniä vastaan. The 19th Conference of the European Wound Management Association (EWMA), 20.–22.5.2009, Helsinki, Finland.
42. Sikkema, J., de Bont, J. A. M. ja Poolman, B. Mechanisms of Membrane Toxicity of Hydrocarbons. *Microbiol. Rev.* 59 (1995) 2. 201–222

Kuvat

Kuva 1: Tekijän itsensä tekemä kuva, jossa lähteenä käytetty: Mönkkönen, J. teoksessa *Farmakologia ja toksikologia*, toim. Koulu, M. ja Tuomisto, J. 7. uudistettu p., Medicina, Kuopio, 2007, s. 108

Kuvat 2-6, 8-9 sekä 11 ovat tekijän itsensä piirtämiä

Kuva 7: kuvakaappaus, Koulu, M. teoksessa *Farmakologia ja toksikologia*, toim. Koulu, M. ja Tuomisto, J. 7. uudistettu p., Medicina, Kuopio, 2007, s. 200
<http://www.medicina.fi/index.php?option=com_content&view=article&id=80&Itemid=78> 30.8.2012

Kuva 10: Wikipedia www-sivustossa Metsäkuusi

<<http://fi.wikipedia.org/wiki/Mets%C3%A4kuusi>> 30.8.2012