

UNIVERSITY OF COPENHAGEN



## **Biomedicine production: Is it environmentally safe?**

### **a case study of ecotoxicity, release routes and chemical behaviour of artemisinin in terrestrial systems**

Jessing, Karina Knudsmark

*Publication date:*  
2012

*Document version*  
Peer reviewed version

*Citation for published version (APA):*  
Jessing, K. K. (2012). *Biomedicine production: Is it environmentally safe? a case study of ecotoxicity, release routes and chemical behaviour of artemisinin in terrestrial systems*. Department of Basic Sciences and Environment, University of Copenhagen.

## Abstract

Artemisinin, produced by *Artemisia annua* L. (sweet wormwood, annual wormwood, sweet annie, sweet sagewort) is a sesquiterpene lactone with an endoperoxide bridge, very bioactive against chloroquine-resistant strains of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. At present, total chemical synthesis or *in vitro* production of artemisinin is not economically feasible, and cultivation of the plant is still the only cost effective source of artemisinin. The area covered with *A. annua* is estimated to be 12,000 hectare, mainly situated in Southeast-Asia and East-Africa, but there are also experimental fields in Europe and North America. Artemisinin and semisynthetic derivatives thereof have also activity against cancer cells and various viral diseases. Therefore there is a potential for a more widespread introduction of *A. annua* as a medicinal source in new regions.

During cultivation on average 15 % over the growing season of the plant production of artemisinin was lost to the soil environment. Debris of dead leaves was identified as the major contributor to input of soil artemisinin and the distribution of artemisinin was heterogeneous and patchy; artemisinin has been measured up to 15 m away from the plantation. Rain off did also contribute to a minor degree continuously over the growing season, whereas root secretion gave a very small input. Even though sorption, degradation and leaching contribute to outputs of artemisinin from the topsoil layer, artemisinin concentrations measured in field cultures was 0.4-2034 µg/kg soil in Kenya, 161-351 µg/kg in Italy, 140-429 µg/kg in West Virginia, and up to 433 µg/kg in Denmark in the top 15 cm soil. In Egerton, Kenya the concentration was 99 µg/kg and in Italy 140 µg/kg, one year after *A. annua* cultivation, hence, disappearance from the soil environment is a relatively slow process. Artemisinin leached in a Danish *A. annua* field study could be measured down in the depth of drainage pipes. Artemisinin is insect antifeedant, lethal to some invertebrates and toxic to some plant pathogens, both fungal and bacterial, and results from a field study indicated effects on the composition and activity of microbial fauna *in situ* after exposure over a growing season. The most sensitive group of organisms was, however, plants, where the phytotoxicity of artemisinin equals the toxicity of widely used commercial herbicides.

Even though *A. annua* is cultivated worldwide at different climate conditions, temperature was not to be encounter for in risk assessment of *A. annua* cultivation, as the observed differences in toxicity with temperature were minor. Cultivating *A. annua* poses a risk of reduced soil quality in terms of reduced number of decomposing worms in the soil, and also in terms of changes in the

microbial community. No effect was observed for soil living nematodes and potworms. The most vulnerable species were plants, and the risk assessment showed risk of reduced floral biodiversity in the near surrounding of *A. annua* fields. A change in the flora will also indirectly affect the faunal composition and diversity. Cultivation of *A. annua* poses a risk to aquatic plants in surface waters near the cultivations as well. The risk assessment did also show a risk of reduced yield of the following crop, a problem especially in third world countries where the largest areas of *A. annua* are cultivated and the food sources in general scarce.

Hence, even though plant produced active compounds are not yet subjects for regulation and risk assessment, either when used against pests or, as here, produced in the environment, the present study show that it could be very relevant to do so. Crop rotation with resistant crops and intercropping are recommended in farming systems with *A. annua* to minimize the exposure of artemisinin. As decay of dead leaves was the largest contributor to soil artemisinin, it is highly recommend being very careful during the harvest process in order to collect as much plant material as possible and avoid drying the plants directly on the ground.

## Resumé

Artemisinin produceret af *Artemisia annua* L. (Kinesisk Malurt), er en sesquiterpen lakton med en endoperoxid bro, som er meget bioaktiv mod chloroquin-resistente stammer af malariaparasitten *Plasmodium falciparum*. I dag er hverken total kemisk syntese eller *in vitro* fremstilling af artemisinin økonomisk muligt, og dyrkning af planten er stadig den eneste pris effektive produktionsform af artemisinin. Arealet dyrket med *A. annua* er anslået til 12.000 hektar, hovedsageligt i Syøstasien og Østafrika, men der findes også marker i Europa og Nord Amerika med eksperimentelle formål. Artemisinin og semi-syntetiske derivater heraf har også potentiale i behandling af kræft og som medicin mod forskellige virussygdomme. *A. annua* kan derfor blive introduceret i nye regioner som medicin resource i fremtiden.

I gennemsnit over en vækstsæson tabes 15 % af den artemisinin planterne producerer til jordmiljøet. Det største input til jordmiljøet kom fra nedbrydning af døde blade og spredningen af artemisinin i jord var heterogen og pletvis; artemisinin kunne måles op til 15 meter fra beplantningen.

Afvaskning af regnvand bidrog også i mindre grad til jordindholdet af artemisinin, mens sekretion fra rødderne gav et meget lille input. På trods af at sorption, nedbrydning og udvaskning bidrager til at fjerne artemisinin fra det øverste jordlag, blev artemisinin målt i markbeplantninger i følgende koncentrationer; 0.4-2034 µg/kg jord i Kenya, 161-351 µg/kg i Italien, 140-429 µg/kg i West Virginia, og op til 433 µg/kg i Danmark i de øverste 15 cm jord. I Egerton, Kenya var koncentrationen 99 µg/kg og i Italien 140 µg/kg året efter dyrkning af *A. annua* og forsvinding af artemisinin fra jordmiljøet er en langsom proces. Artemisinin blev udvasket i en dansk *A. annua* beplantning, hvor stoffet kunne måles til drændybde. Artemisinin er insekt afvisende, dødelig for nogle invertebrater og giftig for nogle plante patogener, både svampe og bakterier, og resultaterne fra et feltstudie viste effekter på sammensætningen og aktiviteten af mikrobiel fauna efter lang tids eksponering. Den mest følsomme gruppe af organismer er dog planter, hvor phytotoksiciteten af artemisinin er på samme niveau som brugte kommercielle herbicider.

Selvom *A. annua* dyrkes verden over under forskellige klimatiske forhold, er det ikke nødvendigt at inddrage temperaturforskelle i risikovurderingen af *A. annua* dyrkning, da forskellene i toksicitet ved forskellig temperatur er små. Dyrkning af *A. annua* giver risiko for reduceret jordkvalitet i form af reduceret antal af nedbrydende orme og ændringer i det mikrobielle samfund. Ingen effekter var observeret på jordlevende nematoder og enchytraeus. De mest sårbare organismer var dog

planter og risikovurderingen viste risiko for reduceret plantebiodiversitet i og nær *A. annua* marker. En ændring i floraen vil også indirekte påvirke sammensætningen og diversiteten af faunaen. Dyrkning af *A. annua* udgør også en risiko for akvatiske planter i overfladevand tæt på markerne. Risikovurderingen viste også at der er risiko for reduceret udbytte af næste års afgrøde, et problem generelt i tredje verdens lande hvor størstedelen af *A. annua* er dyrket og hvor der generelt er mangel på fødevarer.

Selvom planteproducerede bioaktive forbindelser ikke endnu er reguleret og risikovurderet, hverken når de bruges mod skadedyr og ukrudt eller som her produceres i miljøet, viser dette studie at det vil være meget relevant at gøre. Afgrøderotation med resistente afgrøder og dyrkning af *A. annua* i blanding med andre afgrøder er anbefalet i dyrkningssystemer med *A. annua* for at minimere eksponeringen af artemisinin. Da nedbrud af døde blade gav det største input til artemisinin koncentrationen i jord, er det højst anbefalelsesværdigt at være meget omhyggelig ved høst og samle så meget bladmateriale som muligt samt at undgå at tørre planterne direkte på jorden.