



Linnéuniversitetet

Institutionen för naturvetenskap

Examensarbete

Effekt av artemisinin och dess derivat på malaria orsakad av *Plasmodium falciparum*

Malin Sehler
Huvudområde: Farmaci
Nivå: Grundnivå
Nr: 2012:F14

Effekt av artemisinin och dess derivat på malaria orsakad av *Plasmodium falciparum*

Malin Sehler

Examensarbete i Farmaci 15hp Filosofie kandidatexamen Farmaceutprogrammet 180hp

Handledare

Peter Brodelius, Professor

Institutionen för Naturvetenskap
Linnéuniversitetet i Kalmar
SE-391 82 Kalmar

Examinator

Ann-Christin Koch-Schmidt, Universitetslektor

Institutionen för Naturvetenskap
Linnéuniversitetet i Kalmar
SE-391 82 Kalmar

Sammanfattning

Bakgrund Från växtriket och örten *Artemisia annua* har antimalarialäkemedlen artemisinin och dess derivat kunnat framställas. Många rankar dessa läkemedel som de effektivaste vapnen som finns i kampen mot malaria idag. Malaria är en sjukdom som varje år skördar en miljon människors liv och orsakar stort lidande för oerhört många människor. Syftet med detta arbete är att besvara frågan hur effektiva artemisinin och dess derivat är vid okomplicerad *falciparum* malaria samt att belysa problematiken som behandling med artemisininer kan tänkas innebära vad gäller resistens och förekomst av falska läkemedelskopior.

Metoder Projektet utgjordes av en litteraturstudie där forskning som utvärderar effekt av olika antimalarialäkemedel studerades. Utvärderingen av effekten och studieupplägget skulle vara enligt WHO:s riktlinjer och effektmåttet ACPR (adequate clinical and parasitological response), vilket innebär andelen patienter som var botade både kliniskt och parasitologiskt efter en uppföljning på 28 dagar. Den form av malaria som studerades var okomplicerad malaria orsakad av *Plasmodium falciparum*. Studier med både barn och vuxna patienter i Afrika och i Asien inkluderades.

Resultat Artemisinin och dess derivat uppvisar värden på genotypjusterad ACPR som ligger på 76% och högre. I de flesta fall ligger värdet över 90%. Motsvarande värde för läkemedel som ej innehåller artemisinin är som lägst 54%, men även här ligger talen ofta högre. Inga tydliga skillnader mellan de olika läkemedlen innehållande artemisinin och dess olika derivat kunde påvisas. Geografiska skillnader i behandlingsresultat kan ses i flera studier. Resistens för artemisinininnehållande läkemedel har påvisats i Kambodja. Förfalskade läkemedel förekommer i både Afrika och Asien.

Slutsatser Artemisinin och dess derivat har mycket god effekt när det gäller att behandla okomplicerad *falciparum* malaria i både Asien och Afrika. I delar av världen där resistens ej råder mot äldre malarialäkemedel har dessa lika god effekt som artemisinin och dess derivat. För att få bästa effekt av artemisinin och dess derivat är det viktigt att ha kunskap kring hur de bäst används. Monoterapi bör inte ske alls både för att få ut bästa effekt och för att minska risken för resistensutveckling. Anpassningar av behandling måste ske utifrån läget i det aktuella området. Studier visar att falska läkemedelskopior förekommer och orsaken till detta finns nog delvis i det faktum att artemisinin och dess derivat fortfarande hör till de dyraste malarialäkemedlen.

Efficacy of artemisinin and its derivatives on malaria caused by *Plasmodium falciparum*.

Abstract

Background

From the kingdom of plants and the herb *Artemisia annua*, the anti-malarial drugs artemisinin and its derivatives have been produced. These are the most modern anti-malaria treatments available. Many rank these drugs as the most efficient weapon in the fight against malaria today. Malaria is a disease that annually takes one million lives and a lot of suffering for many people. The purpose of this work is to answer the question how effective artemisinin and its derivatives are against uncomplicated *falciparum* malaria as well as highlight the advantages and disadvantages of treatment with artemisinin and its derivatives may have regarding resistance problems and the presence of fake drug copies.

Methods

The project consisted of a literature study of research that evaluates the efficacy of various antimalarial drugs that were studied. The evaluation of the efficacy and the study setup would be in accordance with WHO guidelines and the endpoint ACPR (adequate clinical and parasitological response), which means that patients should be cured both clinically and parasitologically after a follow-up after 28 days. The form of malaria that was studied was uncomplicated malaria caused by *Plasmodium falciparum*. Studies with both children and adult patients in both Africa and Asia were included.

Findings

Artemisinin and its derivatives exhibit values of ACPR genotype adjusted, which is 76 % and higher and in most cases a value of 90% and more. The corresponding value for drugs not containing artemisinin is lowest 54%, but even here the rates are often higher. No apparent differences between the various drugs containing artemisinin and its derivatives could be detected. Geographical differences in the patient outcomes can be seen in several studies. Resistance to artemisinin-containing drugs has been found in Cambodia. Counterfeit drugs are found in both Africa and Asia.

Conclusion

It is concluded that artemisinin and its derivatives are very effective in treating uncomplicated *falciparum* malaria in both Africa and Asia. In parts of the world where there is no resistance, older malaria drugs will be equally effective as artemisinin and its derivatives. To get the best effect of artemisinin and its derivatives, it is important to have knowledge about how to use them. Monotherapy should not be used at all because of the clinical effect and to reduce the risk of developing resistance. Adaptations of the treatment must be based on the situation in the specific area. Studies show also that fake copies exist. The main reason for this is probably the fact that artemisinin and its derivatives remains among the most expensive malaria drugs.

Innehållsförteckning

1. Introduktion.....	4
1.1 Förekomsten av malaria, symptombild och diagnos	4
1.2 Plasmodium.....	5
1.2.1 Olika arter av <i>Plasmodium</i>	5
1.2.2 <i>Plasmodiums</i> livscykel.....	6
1.2.3 Resistensproblematik	6
1.3 Behandling av malaria.....	8
1.3.1 Förebyggande av malariainfektion.....	8
1.3.2 Läkemedelsbehandling vid malariainfektion	8
1.4 <i>Artemisia annua</i>	10
1.4.1 <i>Artemisia annua</i> och dess historia.....	10
1.4.2 Det verksamma ämnet artemisinin	11
2. Metoder	14
3. Resultat.....	15
3.1 Effektjämförelser mellan artemisinin, dess derivat och andra malarialäkemedel	15
3.2 Sammanställning av studiernas ACPR-värden.....	18
3.3 Resistensproblematik med artemisinin.....	19
3.4 Förekomst av falska kopior	20
4. Diskussion	21
4.1 Effekt gentemot andra behandlingar	21
4.2 Resistensproblematik	23
4.3 Förfalskade läkemedel.....	23
5. Slutsatser	24
6. Referenser	26

1. Introduktion

Farmakognosi är vetenskapen kring läkemedel och gifter som har sitt ursprung från levande organismer. Från växtriket kommer en stor mängd av de läkemedel som används idag och nya potentiella substanser upptäcks ständigt. En stor del av dagens läkemedel kan tillskrivas farmakognosin. Det finns många läkemedel utvunna från växter som haft oerhört stor betydelse inom medicinen. Exempel på detta är morfin från opiumvallmo, taxol från idegran och inte minst kinin från Kinaträdet (Heinrich et al., 2012).

Denna uppsats kommer att studera substansen artemisinin och derivat utvecklade från denna molekyl, som kommer från växten sommarmalört (*Artemisia annua*) och används vid behandling av malaria. De äldsta beskrivningarna av *Artemisia annua* och dess läkemedelseffekt som finns bevarade är från Kina och från Mawangdui Han Dynastin (168 f. Kr.). Då beskrevs örten ha effekt mot hemorrojder. Egenskapen hos *Artemisia annua* att bota svåra febertillstånd finns beskriven från år 283 e. Kr. Det var dock inte förrän under 1970-talet som *Artemisia annuas* verksamma ämne artemisinin kom att upptäckas och utvecklas till ett registrerat läkemedel (Cui och Xin-zhuan, 2009).

Sjukdomen malaria är känd sedan lång tid tillbaka och beskrevs i text första gången redan 50 år före Kristi födelse i Italien (Malaria Consortium, 2007). Ordet ”malaria” kommer från italienskan och betyder ”dålig luft”(mal aria), vilket härrör från att sjukdomen vanligen förekom i områden med mycket sumpmarker och illaluktande luft (Brock et al., 1994).

1.1 Förekomsten av malaria, symtombild och diagnos

Varje år dör cirka en miljon människor i malaria och ungefär 270 miljoner människor insjuknar i sjukdomen (Läkemedelsboken, 2011/2012). Malaria förekommer i fler än 100 länder i världen (Hyde, 2007). Värst drabbat är Afrika söder om Sahara, delar av Asien och delar av Sydamerika samt Oceanen. Sjukdomen drabbar människor i alla åldrar men slår extra hårt på gravida kvinnor och barn och särskilt i områden där malaria är endemisk. Fattiga länder är hårdast drabbade bland annat som en följd av brist på läkarvård och läkemedel. I vissa områden i världen har malaria en gång i tiden nästan försvunnit, men ökar på senare år igen. Ett exempel på detta är Indien. Denna vändning beror till stor del på resistensutveckling för de läkemedel som finns men också på grund av andra faktorer såsom klimatförändringar, människors utvecklande av immunitet och människors ökande resande. (Malaria Consortium, 2007). I Sverige blir ca 100 personer sjuka i malaria per år och detta i samband med utlandsvistelser (Läkemedelsboken, 2011/2012).

Symptomen för malaria kan komma flera månader efter infektionstillfället och utgörs vanligen av feber, huvudvärk, diarré och muskelvärk (Läkemedelsboken, 2011/2012). Oftast kommer dock symptomen några dagar till någon vecka efter infektionstillfället. Malaria orsakar ofta anemi och förstörd mjälte eftersom parasiten som orsakar malaria infekterar röda blodkroppar (Brock et al., 1994). De vanliga symptomen av malaria är av ganska allmän art och detta medför att det kan vara komplicerat att fastställa diagnos. Differentialdiagnoser till malaria skulle i princip kunna vara alla sjukdomar som ger feberkramper. Exempel på möjliga differentialdiagnoser är influensa, lunginflammation, meningit, rabies, trypanosomiasis (afrikansk sömnsjuka), virala hepatiter och denguefeber. Många får en mild form av malaria som inte är livshotande men som ändå kan medföra allvarliga komplikationer. En art av *Plasmodium* parasiten ger en svårare form av malaria som ofta leder till dödsfall. Ju snabbare diagnosen kan ställas, desto större möjlighet finns att behandla dessa patienter. Utvecklingen från mild till svår malaria kan gå mycket snabbt (timmar) i synnerhet hos barn. (Malaria Consortium, 2007). De olika arterna av *Plasmodium* ger skiftande symptom med exempelvis frossa av olika regelbundenhet (Claesson et al., 2005).

För att säkerställa diagnosen malaria behövs anamnes, klinisk undersökning, uteslutning av differentialdiagnoser och genomförande utav olika laborietester. De tester som är vanligast och görs ”på fältet” är mikroskopsanalys av blodutstryk samt ett snabbtest kallat RDT (rapid diagnostic test). Detta snabbtest kan med en sticka doppad i blod detektera för *Plasmodium* specifika antigener (Malaria Consortium, 2007).

För att kunna särskilja mellan återinsjuknande och nyinsjuknande hos patienter av malariainfektioner i kliniska studier bestäms parasitens genotyp vid studiestart. Detta görs vanligen med hjälp av PCR (polymerase chain reaction) och elektrofores. Efter studiens avslut undersöks de patienter som fortfarande är infekterade vad gäller parasitgenotyp. På detta sätt kan fastställas huruvida patienten blivit botad från den aktuella infektionen eller om infektionen är orsakad av en annan malariaparasit (Song et al., 2011).

1.2 Plasmodium

1.2.1 Olika arter av *Plasmodium*

Malaria orsakas av protozoen *Plasmodium spp.* och sprids med myggor av släktet *Anopheles*. Dessa myggor lever i tropiska och subtropiska klimat, vilket ger förklaringen till den geografiska fördelningen av malaria i världen. *Plasmodium* är en protozo och tillhör stammen Apicomplexa (Brock et al., 1994). Det finns ca 120 arter av parasiten *Plasmodium* (Malaria Consortium, 2007). Av dessa finns fem kända arter som kan infektera människor. Dessa är *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. knowlesi* och *P.*

ovale. Den allvarligaste formen av malaria orsakas av *P. falciparum* (Läkemedelsboken, 2011/2012). De olika arterna av parasiten finns i alla delar av världen där malaria förekommer, men vissa arter dominerar i vissa områden. *Plasmodium falciparum* är den vanligaste arten i Afrika, Haiti och Papua Nya Guinea. I Asien, Centralamerika och Nordafrika är *Plasmodium vivax* den mest förekommande arten (Malaria Consortium, 2007).

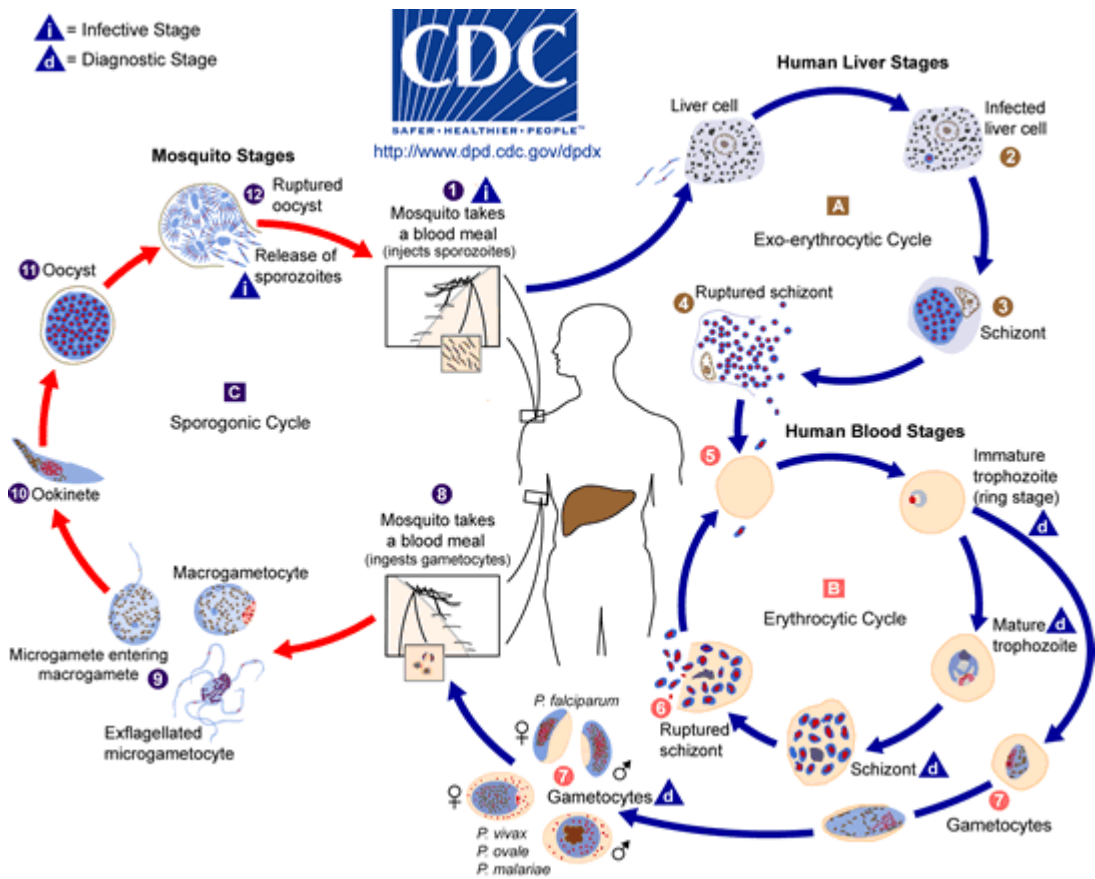
1.2.2 *Plasmodiums* livscykel

Plasmodiums livscykel äger rum både i mygga och människa, figur 1. Parasitens gameter bildas i humana röda blodkroppar. När en mygga suger blod från en infekterad människa kommer gameter (könsceller) att hamna i myggans kropp, där gameterna mognar och befruktas till zygoter (ägg). Äggen tar sig till myggans tarm där de vidareutvecklas och bildar ett stadium som kallas sporozoit. Processen då sporozoiter bildas i myggans kropp kallas för den sporogoniska cykeln. En del av sporozoiterna kommer att samlas i myggans salivkörtlar, och när en infekterad mygga sedan sticker en människa, kommer sporozoiterna att hamna i människans blod och direkt ta sig vidare till levern. I levern omvandlas sporozoiterna till schizonter i en process som kallas för den exo-erythrocytiska cykeln. Då en schizont spricker kommer en del av de små celler som bildas (merozoiter) att infektera röda blodceller varvid trophozoiter bildas. Trophozoiterna är först omogna och ringformade men utvecklas antingen åter till schizontstadiet eller till gameter. Denna process, som sker i de röda blodkropparna, kallas för erythrocytiska cykeln. Livscykeln varierar en aning mellan de olika arterna av *Plasmodium* (Brock et al., 1994).

1.2.3 Resistensproblematik

Ett stort bekymmer när det gäller behandling av malaria är att *Plasmodium*parasiten utvecklar resistens mot de olika läkemedel som finns tillgängliga, vilket medför att respektive behandlingar blir mer eller mindre överksamma. Anledningar till att resistensutveckling hos parasiterna sker, kan vara att behandling av infektion inte görs på rätt sätt, exempelvis genom att behandla vid fel diagnos, inte använda rätt doser eller effektiva läkemedel. Även överanvändning av malarialäkemedel som profylax ökar risken för resistensutveckling. Det finns också en aspekt kring parasitens förmåga att utvecklas och förändra sig för att motstå läkemedel. Klorokinin, som exempel, har funnits i syntetisk form sedan 30-talet och har varit ett mycket viktigt läkemedel för att bekämpa malaria men är idag i princip helt verkningslöst. Liknande scenario finns för flera andra malarialäkemedel (Hyde, 2007). För att bestämma förekomsten av resistens görs både *in vitro* och *in vivo* tester. *In vivo* testerna innebär att clearancetiden för parasitförekomst mäts och jämförs med kontrollgrupp. Är

clearancetiden statistiskt signifikant förlängd tyder detta på resistensförekomst. *In vitro* tester görs genom att ta fram IC₅₀ värdet för den aktiva metaboliten dihydroartemisinin och jämföra med kontrollgrupp. Ett högt IC₅₀ värde jämfört med kontrollgruppens värde tyder på förekomst av resistens (Noedl et al., 2010).



Figur 1. Livscykel för *Plasmodium* spp. med den sporogoniska cykeln som äger rum inuti *Anopheles*myggan och de två utvecklingscykler, exo-erythrocytiska cykeln och erythrocytiska cykeln som sker inuti människans lever respektive erythrocyter. (CC by CDC/Alexander J. da Silva, PhD/Melanie Moser, wikimediacommons)

Behandling med artemisininer rekommenderas ske i kombination med andra malarialäkemedel för att minska risken för resistensutveckling. Kombinationsbehandling med olika artemisininer kallas för ACT (artemisinin combination therapy). Dock finns en komplexitet kring hur kombinationsbehandling ska ske eftersom ett antal andra läkemedel redan är överksamma hos många stammar av *Plasmodium*. Även för artemisininer har resistensutveckling kunnat visas, bland annat för kombinationen artemeter och lumefantrine (Hyde, 2007).

1.3 Behandling av malaria

1.3.1 Förebyggande av malariainfektion

Malaria kan förebyggas och hållas kontroll över på olika sätt. Att skydda sig från att bli stucken av en mygga är kanske det allra bästa. Detta kan göras genom att handha myggnät behandlade med myggmedel över sovplatsen under natten. *Anopheles* är nämligen ett myggsläkte som främst suger blod nattetid. Besprutning med insektmedel inomhus görs också för att minska förekomsten av myggor. En annan strategi att minska mängden myggor, är att försöka minimera andelen mygglarver som kläcks, genom att på olika sätt angripa de platser där myggorna lägger sina larver. Tillvägagångssättet för detta varierar med de olika myggornas leverne. Vissa *Anopheles* arter lägger till exempel sina larver i stilla vatten medan andra i rinnande vatten (Malaria Consortium, 2007). Historiskt sett har det också gjorts försök att utrota myggan genom att bespruta med DDT (diklorodifenyltrikloroetan), vilket inte har gett särskilt effektiva resultat (Claesson et al., 2005). När det gäller besprutning inomhus för att minska mängden mygg används DDT fortfarande i hög grad, likaså malathion. Dessa produkter är effektiva och mycket billiga. Dock förekommer även här en del resistensproblematik. På senare år har pyrethroider börjat användas. Dessa är betydligt dyrare, men kan användas i lägre doser och anses tillhöra de ”mer hälsosamma” insekticiderna (Malaria Consortium, 2007).

Det går att behandla malaria profylaktiskt. Samma läkemedel används i stort som profylax liksom vid behandling av etablerad infektion (Läkemedelsboken, 2011/2012). Användning av malarialäkemedel som profylax i större skala ökar dock riskerna för resistensutveckling (Hyde, 2007).

1.3.2 Läkemedelsbehandling vid malariainfektion

Det finns många läkemedel som idag används vid behandling av malaria. Kininer, antibiotika antifolater och artemisinin är alla exempel på läkemedelsgrupper, som ingår i behandlingsarsenalen för att bekämpa malaria (Läkemedelsboken, 2011/2012).

Kininer är alkaloider, som ursprungligen utvunnits från Kinaträdets bark (*Chinona sp.*). Effekten av kininer tros vara att de interagerar med parasitens möjligheter att använda sig av hemoglobinet i de röda blodkropparna. Hemoglobin fungerar som födoämne för *Plasmodium*. (Claesson et al., 2005) Kinin isolerades redan under 1820-talet och har sedan utvecklats och stått som mall för många olika syntetiska varianter (Heinrich et al., 2012). I tabell I sammanfattas ett antal kininer och andra malarialäkemedel.

Antibiotika som hämmar proteinsyntesen, såsom doxycyklin, tetracyklin och clindamycin, används i kombination med andra läkemedel vid malariabehandling (WHO, 2010).

Sulfadoxin och proguanil är två malarialäkemedel, vars effekt hämmar parasitens folsyrasyntes och kallas därför för antifolater. Proguanil är en prodrug, som metaboliseras till aktiva metaboliten cykloguanil (Claesson et al., 2005). Sulfadoxin ges i kombination med pyrimethamin. Pyrimethamins effekt består i att döda schizonter och hämma den sporogoniska cykeln (WHO, 2010). Dapsone är också en antifolat, som används vid behandling av malaria (Whegang et al., 2010). Atovakon, ytterligare en typ av malarialäkemedel, är en kinon som hämmar parasitens exo-erythrocytiska cykel i levern samt utvecklingen av ägg i myggor (WHO, 2010). Atovakon är en coenzym Q analog och hämmar parasitens elektrontransportkedja (Claesson et al., 2005 och Hyde, 2007). Effekt, farmakokinetik och behandlingsstrategi för användandet av artemisinin beskrivs i avsnitt 1.4.2.

Behandlingstid och doseringar skiftar mellan olika typer av läkemedel. Detaljer kring detta finns noggrant sammanställda i WHO:s riktlinjer för behandling av malaria. Generellt kan sägas att den vanligaste behandlingstiden är tre dagar och att dosen justeras efter kroppsvikt. Samma läkemedel används för vuxna och barn. Olika malarialäkemedel har olika administreringsformer såsom tabletter, kapslar, torrsuspensioner och injektionsvätskor (Malaria Consortium, 2007).

Tabell I. Sammanställning av ett urval av läkemedel som används för behandling av malaria. Läkemedlens verkningsmekanism och typtillhörighet anges, samt förkortningar i de fall som förekommer senare i rapporten (WHO, 2011, Whegang et al., 2010).

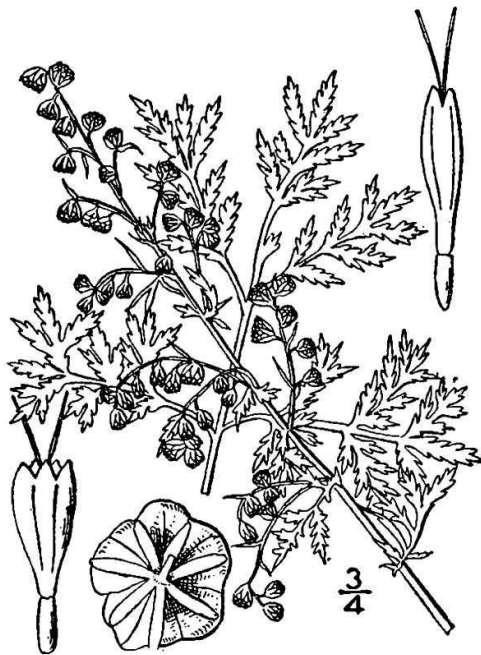
Substans	Förkortning	Typ av läkemedel	Verkningsmekanism
Amodiakin	AQ	Kinin	hämma anv. av Hb
Clindamycin		antibiotika	hämma proteinsyntes
Klorokin	CQ	Kinin	hämma anv. av Hb
Doxycyklin		antibiotika	hämma proteinsyntes
Meflokin	MQ	Kinin	hämma anv. av Hb
Nafrokin		Kinin	hämma anv. av Hb
Proguanil		antifolat	folatreduktashämmare
Piperakin	PP	Kinin	hämma anv. av Hb
Primakin		Kinin	hämma anv. av Hb
Kinin		Kinin	hämma anv. av Hb
Sulfadoxin-pyrimethamin	SP	antifolater	hämmar folsyrasyntesen på två olika sätt.
Tetracyklin		antibiotika	hämmar proteinsyntesen
Atovakon		Kinon	hämmar e-transport kedjan, bara i kombination med proguanil
Dapsone		antifolat	folatreduktashämmare

1.4 Artemisia annua

1.4.1 *Artemisia annua* och dess historia

Artemisia annua är en växt som på svenska heter sommarmalört och på engelska heter den sweet wormwood. Den tillhör släktet *Artemisia* och familjen *Asteraceae*. Dess blad påminner om ormbunkar och den kan bli upp till två meter hög (Ferreira och Janick, 1995). De gröna bladen på växten sitter mittemot varandra parvis. Sommarmalörten har små gula blommor som sitter arrangerade i vippor och dess doft är söt och aromatisk (Heinrich et al., 2012). Både blommor och blad kan användas för att framställa artemisinin (Sherman, 2011).

Växten kommer ursprungligen från Kina men finns idag även i stora delar av Asien, Europa och i Nordamerika. Det kinesiska namnet är Qinghao (Ferreira och Janick, 1995). En schematisk illustration av *Artemisia annua*, dess blad, stjälk, blommor och frökapslar visas i figur 2.



Figur 2. Bilden visar olika delarna av växten *Artemisia annua*. (CC by USDA-NRCS PLANTS Database Britton, N.L., and A. Brown. 1913. Illustrated flora of the northern states and Canada. Vol. 3: 526., wikipedia).

Bladen från *Artemisia annua* har använts i kinesisk örtmedicin i flera tusen år både för att behandla malaria och för att behandla andra sjukdomar. Upptäckten av det verksamma ämnet artemisinin komgjordes under 1970-talet av kinesiska forskare till följd av ett hemligt militärt projekt som startades under Vietnamkriget då många soldater slogs ut av malaria. Den militära forskningen kom att kallas Projekt 523.

Projekt 523 gick ut på att finna både snabb hjälp och mer långsiktig hjälp mot malaria. Mängder av olika växter undersöktes och ett tiotal olika arter visade sig vara verksamma mot malaria. *Artemisia annua* visade sig vara mest effektiv (Cui och Xin-zhuan, 2009). Tester gjordes till att börja med på råttor och apor innan småskaliga humana studier gjordes. Forskningen gick vidare kring hur artemisinin bäst extraheras från växten och vad för sorts substans artemisinin var (Sherman, 2011). Traditionellt sätt hade växten använts som tebrygd, men artemisinin löser sig dåligt i vatten. Därefter gjordes kliniska studier i större skala. Från artemisinin har också ett antal olika derivat utvecklats. I projekt 523 upptäcktes även fler malarialäkemedel såsom pyronaridin, lumefantrin och naphthokin (Cui och Xin-zhuan, 2009).

När Vietnamkriget var slut och forskningen kring artemisinin hade nått långt fanns en motvilja i Kina att dela med sig om de kunskaper som fanns kring *Artemisia annua* och dess egenskaper att bota malaria. Rädsla fanns att västvärldens läkemedelsföretag skulle utnyttja och missbruka de kinesiska kunskaperna bara för att tjäna pengar. Detta medförde att det dröjde innan västvärlden fick kunskap om artemisinin. Västvärlden fick från början bedriva egen forskning på områden där kineserna redan hade stor kännedom. Inte förrän år 2000 började WHO att rekommendera malarialäkemedel innehållande artemisinin och det tog ytterligare några år innan dessa läkemedel fanns att tillgå i stor skala i världen (Sherman, 2011).

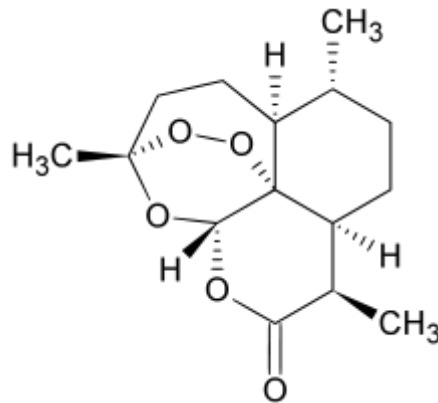
Varje år delar The Lasker Foundation ut ett pris för framstående klinisk medicinsk forskning. År 2011 gick det priset till Professor Tu Youyou (China Academy of Chinese Medical Sciences, Peking) och hennes forskningslag för upptäckandet och framtagandet av artemisinin. Motiveringen löd bland annat att artemisinin var den viktigaste medicinska upptäckten under de senaste femtio åren (www.laskerfoundation.org, 2012).

1.4.2 Det verksamma ämnet artemisinin

Artemisinin tillhör sesquiterpener, som är kolföreningar innehållande femton kolatomer (Heinrich et al., 2012). Den kemiska formeln för artemisinin är $C_{15}H_{22}O_5$ (Sherman, 2011). Den kemiska strukturen för artemisinin visas i figur 3. Flera av dessa terpen har effekter som verkar hämmande på mikroorganismer. Artemisinin innehåller en cyklisk ester (lakton), en eter och en peroxid grupp. Det är peroxidgruppen som är substansens funktionella grupp. Verkningsmekanismen för artemisinin är ej helt klarlagd. Troligen

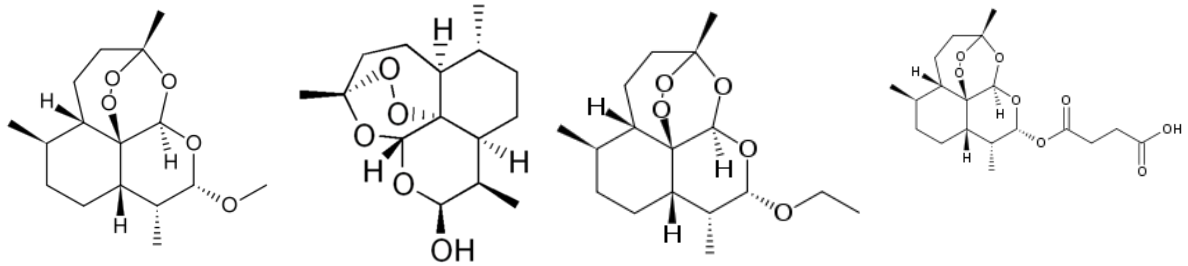
binder peroxidgruppen hemjärnet i röda blodkroppar varvid fria syreradikaler bildas. Dessa radikaler tros sedan förstöra DNA och olika proteiner hos parasiten (Heinrich et al., 2012). Det finns även teorier som säger att peroxidgruppens oxidering av hemjärnet leder till att de röda blodkropparna inte kan användas som föda för malariaparasiten (Claesson et al., 2005).

Artemisinin har avdödande effekt på samtliga asexuella stadier hos alla *Plasmodium* arter. Hos *P. falciparum* dödar substansen även gameter. Forskare har kunnat visa att artemisinin hämmar ett för *Plasmodium* essentiellt enzym, nämligen adenosine triphosphatase (PfATPase) (WHO, 2010).



Figur 3. Den kemiska strukturen för artemisinin (CC by Ragimiri, wikipedia).

Artemisinin är en mycket fettlöslig substans och kan ta sig över blod-hjärn-barriären. Detta gör att artemisinin kan användas vid cerebral malaria. Från artemisinin har flera derivat utvecklats bland annat för att få stabilare former (Heinrich et al., 2012). Artemisinin omvandlas i kroppen till dihydroartemisinin (Sherman, 2011). Exempel på derivat av artemisinin är artesunate, artemether, dihydroartemisinin och artemotil. De kemiska strukturerna för derivaten visas i figur 4. Halveringstiden för artemisinin och dess derivat är kort. Den ligger på 45-60 minuter. Vissa av läkemedlen kan administreras intramuskulärt och får då en förlängd halveringstid (WHO, 2010).



Figur 4. Kemiska strukturer för fyra vanliga derivat av artemisinin. Från vänster till höger: artemeter, dihydroartemisinin, artemotil och artesunate (CC by Fvasconcellos, Edgar 181, wikipedia).

Idag anses artemisinin och dess derivat vara de effektivaste läkemedlen som finns att tillgå för behandling av *falciparum* malaria eftersom de har en mycket snabb clearancetid gällande både parasiter och symptom (Malaria consortium, 2007). Clearancehastigheten uppgår till cirka 10 000 parasiter på 48 timmar i den asexuella delen i parasitens livscykel. Artemisinin och dess derivat rekommenderas numera av WHO att enbart användas enligt behandlingsregimen ACT. Orsaken till rekommendationen att kombinationsbehandla beror på flera saker, dels elimineras artemisinin och dess derivat i monoterapi mycket snabbt (och hinner inte ge tillräcklig verkan) och dels minskas risken för resistensutveckling. Följande kombinationer rekommenderas av WHO i ACT behandling: artemeter och lumefantrin, artesunate och amodiakin, artesunate och mefloquine, dihydroartemisinin och piperazine samt artesunate och sulfadoxin-pyrimethamin. Lumefantrin som används vid malaria enbart i kombination med artemeter är ett fluorderivat vars verkningsmekanism liknar kininernas (WHO, 2010).

Malaria i sig är en allvarlig sjukdom som i många fall leder till döden. Om sjukdomen upptäcks i tid och behandlas med adekvat behandling är dock prognosen god. Ett problem som försvårar kampen mot malaria är förekomsten av falska läkemedel. Det finns rapporter både från Asien och Afrika som visar att förfälskade artemisininpreparat är i omlopp (Dondorp et al., 2004 och Atemnkeng et al., 2007).

Huvudsyftet med detta arbete är att ta reda på hur effektiva artemisininer är vid behandling av okomplicerad *falciparum* malaria. Som sekundärt syfte att beröra frågan om vilka fördelar respektive nackdelar som finns vid behandling av *falciparum* malaria med artemisinin för att belysa en vidare bild av användningen av artemisinin. I den senare frågeställningen kommer frågor tas upp som rör resistensproblematik, förekomst av falska kopior samt prisfrågor.

2. Metoder

Metoden som använts för att genomföra detta examensarbete är litteratursökning och bearbetning av utvald forskning i aktuellt område. För att få fram studier som kan ge relevant svar på frågeställningen i projektet har urvalet av studier gjorts enligt följande; enbart studier som undersöker okomplicerad *falciparum* malaria, studier som inkluderar både barn och vuxna eller enbart barn, eller enbart vuxna, detta baserat på att samma läkemedel används för alla åldrar och att doseringen baseras på vikten i kilogram. Studier som inkluderar gravida kvinnor har exkluderats eftersom det finns speciella riktlinjer för hur behandling ska ske för den patientgruppen. (Malaria consortium, 2007)

Studier som jämför olika behandlingar, både de som innehåller artemisininer och de som inte innehåller artemisininer, har valts för att kunna svara på eventuell effektskillnad av artemisinin gentemot icke artemisininbaserade behandlingsregimer samt för att kunna ge ett svar på hur effektiva artemisininer är.

Studierna som granskas i detta projekt är alla baserade på WHO:s riktlinjer för forskning kring evidensbaserad vetenskap gällande *falciparum* malaria. Dessa riktlinjer finns att läsa i *“Assessment and monitoring of antimalarial drug efficacy for the treatment of uncomplicated falciparum malaria”* från 2003 (WHO, 2003) och utgör ett speciellt utformat material kring hur studier lämpligen genomförs med mycket detaljerade uppgifter. Detta gör att studier lättare kan tolkas, jämföras med varandra, samt ge uppfattning om förändringar av svar på behandling som sker med tiden. I riktlinjerna beskrivs hela studieupplägget, vilket inte redovisas i sin helhet i detta arbete.

Hur effekten av behandling mäts kommer dock att vara elementärt i detta arbete varför en kort summering av detta sammanfattas här. Den gemensamma nämnaren för de utvalda studierna i detta arbete är nämligen att effekten mäts enligt WHO:s riktlinjer. Utvärdering av effekten sker enligt fyra olika kategorier och beskrivs enligt följande: ETF (early treatment failure) innebär att parasiter hittas i blodet under dag 2 i behandlingen. LCF (late clinical failure) innebär att feber kvarstår vid dag 14 (i områden där malariarisken är stor) eller vid dag 28 (i områden där malariarisken är medelhög). LPF (late parasitological failure) innebär asymptomatisk förekomst av parasiter vid dag 28 (kan variera i tid beroende på malariarisken). ACPR (adequate clinical and parasitological response) innebär att patienter ska vara botade både kliniskt och parasitologiskt vid slutet av studien (vanligen dag 28). Det är ACPR jag har valt att i första hand studera i de utvalda studierna. En förenklande överskådning av effektkategorierna visas i tabell II (WHO, 2003).

Tabell II. Tabellen visar tolkning av effektutvärdering för kliniska studier enligt WHO:s riktlinjer.

Effektkategori	Förkortning	Innebörd
Early treatment failure	ETF	Förekomst av parasiter i blodprov dag 2.
Late clinical failure	LCF	Feber kvarstår vid dag 14/28
Late parasitological failure	LPF	Asymptomatisk förekomst av parasiter dag 28
Adequate clinical and parasitological response	ACPR	Botad både klinisk och parasitologiskt dag 28

I detta arbete studeras enbart två malariadrabbade områden i världen, och Afrika och Sydostasien. Afrika för att det är det område som är hårdast drabbat och där flest människor varje år dör i malaria och för att förekomsten av falciparum malaria är störst i just Afrika. Sydostasien är valt för att artemisininer har använts mycket längre här än i andra delar av världen. Dessutom belyser två olika världsdelar det faktum att malaria skiljer sig åt i olika delar av världen (Malaria consortium, 2007).

När det gäller urval av studier gällande de sekundära frågeställningarna i arbetet kring resistens och förfalskningar har tanken varit att leta studier där frågeställningen är att ta reda på om resistens förekommer eller ej samt studier som aktivt undersökt om läkemedel är äkta eller förfalskade. Denna del av arbetet är främst tänkt att ge en djupare dimension av de komplikationer som finns när det gäller behandling med artemisininer.

3. Resultat

3.1 Effektjämförelser mellan artemisinin, dess derivat och andra malarialäkemedel

I en studie från 2005 jämfördes tre olika behandlingar på okomplicerad malaria (*falciparum*) hos 2160 patienter i Uganda (Yeka et al., 2005). Studien utvärderade effekten av kombinationsbehandling innehållande artemisininderivat jämfört med kombinationsbehandlingar utan artemisinin. Följande behandlingar jämfördes: klorokinin (CQ) plus sulfadoxin-pyrimetamin (SP), amodiakin (AQ) plus SP samt AQ plus artesunate (AS). Doserna var rimliga enligt riktlinjer av WHO. Power beräknades och uppnåddes. Studiens primära endpoint var effekt av behandlingen: ETF, LCF, LPF och ACPR. De totala resultaten efter dag 28 gällande de tre olika behandlingarna visar att risken att

återinsjukna i samma infektion var störst i gruppen som fick CQ-SP (22-46%), vilket ger ett justerat ACPR värde som varierar mellan 54-78%. I båda de grupper som fick AQ-SP respektive AQ-AS var återinsjuknandet statistiskt signifikant lägre, 7-18% respektive 4-12%. Detta ger ett justerat ACPR värde för AQ-SP på 82-93% och för AQ-AS blir justerat ACPR 88-96% (Yeka et al., 2005).

Studien genomfördes i fyra olika områden i Uganda där risken att drabbas av malaria skiftade från mycket låg risk till mycket hög risk. Tre av områdena var endemiska i mycket hög grad, medan det i den fjärde regionen rådde medelhög endemicitet. Resultaten av behandlingen mellan AQ-SP och AQ-AS skiljde sig åt i dessa områden. Risken att återinsjukna var högre med AQ-SP i tre av dessa områden (ett fall signifikant, medelendemisk, låg risk). Risken att drabbas av en ny infektion var lika mellan behandlingarna med AQ-SP och AQ-AS i de två områden där det var lägre risk att få malaria. Det var statistiskt signifikant högre frekvens av att drabbas av ny infektion efter AQ-AS behandling jämfört med AQ-SP behandling i de två områden där risken att få malaria var som störst (Yeka et al., 2005).

Ovan angivna resultat överensstämmer med en annan studie från ett medelendemiskt område i Uganda (Staedke et al., 2004). Där studerades 418 barn med okomplicerad *falciparum* malaria med samma tre behandlingar; CQ-SP, AQ-SP och AQ-AS. Både AQ-SP och AQ-AS var signifikant bättre än CQ-SP. AQ-AS botade fler från aktuell infektion än vad AQ-SP gjorde, men i AQ-AS gruppen var det fler som drabbades av en ny infektion än vad som skedde i AQ-SP gruppen. ACPR justerade för genotyp var för CQ-SP 65%, för AQ-SP 91% och för AQ-AS 98% (Staedke et al., 2004).

Likande resultat som i de två ovan nämnda studierna finns att finna i en studie från Madagaskar publicerad 2007. I denna studie jämfördes fem olika behandlingar; SP, AQ, CQ, AQ-SP samt AQ-AS på 287 barn mellan sex månader och 15 år. Patienterna hade okomplicerad *falciparum* malaria. Risken att bli smittad i detta område uppskattades vara ganska låg. WHO:s klassificeringar användes för att studera behandlingseffekten. Utvärdering gjordes 14 dagar respektive 28 dagar efter behandling. Resultaten visar att samtliga behandlingar är effektivare än CQ i monoterapi. CQ är det mest använda läkemedlet mot malaria på Madagaskar. De båda kombinationsbehandlingarna var lika effektiva statistiskt sett med avseende på ACPR. Risken att få en ny infektion var dock signifikant statistiskt större i den grupp som fick AQ-AS jämfört med de som fick AQ-SP. ACPR var efter 28 dagar och korrigerade efter PCR genotypning för AQ-SP 96,2% och för AQ-AS 92,1%. ACPR (justerat, 28 dagar) för övriga behandlingsarmar; CQ 55,6%, AQ 97,2% och SP 97,4% (Ménard et al., 2007).

I en meta-analys publicerad 2010 från Kamerun studerades nio olika behandlingar på 1337 barn med okomplicerad *falciparum* malaria (Whegang et al., 2010). Åtta av dessa behandlingar studerades med det primära effektmåttet; andelen ACPR efter dag 28 dagar och utgjorde då 859 patienter. I dessa studier jämfördes följande behandlingar parvis eller

med tre behandlingar i gruppen: AQ, AS-AQ, AS-SP, AQ-SP, AS-MQ (meflokin), AM-LM (artemeter kombinerat med lumefantrin), AS-CD (kloroproguanil och dapson) samt DH (dihydroartemisinin) och PP (piperakin). Behandlingarna inkluderade både läkemedel med artemisininer och utan denna typ av läkemedel. ACPR (PCR justerade) efter 28 dagar och var för AQ 86 %, AS-AQ 88,3 % och AS-SP 88,5%. I denna jämförelse kunde inga signifikanta skillnader påvisas. Vidare var ACPR (PCR justerade) efter 28 dagar för AS-AQ 88,7% och för AM-LM 98,3%. Inga signifikanta skillnader förelåg mellan dessa behandlingar. I jämförelsen mellan AS-AQ och DH-PP visade sig en signifikant fördel för DH-PP (92,7%) jämfört med AS-AQ (88,0%). ACPR (PCR justerade) efter 28 dagar för AS-CD var 76% och för AS-SP 91,7%. Denna skillnad var statistiskt signifikant. Slutligen visade ACPR (PCR justerade) efter 28 dagar för AQ-SP 92,5 och för AS-MQ 88,4%. Ingen skillnad kunde visas statistiskt i detta fall. Resultaten för de olika behandlingarna avseende ACPR visas i tabell III. För samtliga behandlingar innehållande artemisininer låg clearance av parasiter vid dag tre på över 95 %. Denna siffra för AQ var 88% och för AQ-SP 87% (Whegang et al.,2010).

I en studie från 2011 jämfördes i Kambodja och Thailand tre olika kombinationsbehandlingar alla innehållande derivat av artemisinin (Song et al., 2011). Patienterna var 220 till antalet och medelåldern var 25 år. Alla patienter hade diagnosticerad okomplicerad *falciparum* malaria. Primära effektmått var ETF, LCF, LPF och ACPR och de kombinationer som studerades var följande: artemisinin-piperaquine (AP), artemeter- lumefantrin (AM-LM) och dihydroartemisinin-piperaquine phosphate (DH-PP). ACPR, kontrollerade 28 dagar efter behandling, visade efter PCR justering för AP 95,1 % (97/102), AM-LM 82,4% (42/51) respektive DH-PP 98,2% (54/55). I denna studie visade det sig att både AP och DH-PP hade statistiskt signifikant bättre effekt än AM-LM. När det gäller tid för clearance av parasiter kunde ingen statistisk skillnad ses mellan de olika behandlingarna. I genomsnitt låg clearancetiden på 66 timmar för de tre olika behandlingarna (Song et al., 2011).

I en studie från 2011 jämfördes effekten av DH-PP och AM-LM på okomplicerad *falciparum* malaria i Kamerun, Senegal och Elfenbenskusten (Yavo et al., 2011). Behandling skedde i tre dagar varav DH-PP i en dos och AM-LM i två doser. Medelåldern var 14 år hos de 384 patienterna. Primär endpoint var andelen ACPR efter 28 dagars uppföljning. Resultaten visar att ACPR efter 28 dagar låg på 99,5% för DH-PP och 98,9% för AM-LM (justerade för genotyp). Inga statistiska skillnader mellan behandlingarna förelåg (Yavo et al., 2011).

I en studie från 2011 studerades fyra olika artemisinininnehållande läkemedel på 4116 patienter med okomplicerad *falciparum* malaria i sju länder och på 12 olika plaster i Afrika söder om Sahara (4ABC Study Group, 2011). De läkemedel som studerades var AM-LM, AQ-AS, DH-PP samt ett läkemedel som var under utveckling, nämligen chloroproguanil-dapson-artesunate. Den senare kom sedan att dras tillbaka på grund av biverkningar. Resultaten från detta läkemedel redovisas ej i detta material. Patienterna var barn och

medelåldern låg på 2,5 år. Syftet var att jämföra de olika preparatens effekt som definierades enligt WHO's klassifikationer. Primär endpoint var PCR-justerad och icke justerad ACPR på dag 28 efter behandling. Uppföljning gjordes också 63 dagar efter avslutad behandling. Jämförelser av effekten gjordes parvis mellan behandlingarna. Resultaten för justerad APCR efter 28 dagar var för AM-LM 95,5% jämfört med DH-PP 97,3 % och för AS-MQ 96,8 % jämfört med DH-PP 97,6 % samt för AQ- AS 97,1 % jämfört med AM-LM 94,4%. Dessa värden var nästan desamma då uppföljning gjordes dag 63. Inga statistiskt signifikanta skillnader mellan de olika behandlingarna kunde visas för de justerade ACPR-värdena. När det gäller risken att drabbas av en ny infektion låg DH-PP signifikant lägre än de andra två behandlingarna i de områden där risken att drabbas av malaria var störst (4ABC Study Group, 2011).

3.2 Sammanställning av studiernas ACPR-värden.

I alla de sju studier, som jämför olika behandlingar där effektmåttet är ACPR efter 28 dagar, ligger samtliga värden för behandlingar innehållande artemisininderivat över 76 %. I de allra flesta fall är siffran betydligt högre än så och ligger över 90 %. För läkemedel som inte innehåller artemisinin ligger den lägsta siffran i ovan nämnda studier på 54 %, men även här är resultat oftast större än så. En sammanställning av de för genotyp justerade värdena på APCR i procent finns i tabell III.

Tabell III. Sammanställning av värden för APCR (%) efter 28 dagar justerade för genotyp i de olika studierna från resultatdelen 3.1. Studie A är Yeka et al., 2005; B är Staedke et al., 2004; C är Menard et al., 2007; D är Whegang et al., 2010; E är Song et al., 2011; F är 4ABC Study Group., 2011; G är Yavo et al., 2011. I de fall resultat i samma studie redovisas med en och samma behandling redovisas medelvärden för dessa resultat i tabellen.

Studie	A	B	C	D	E	F	G
Läkemedel							
SP			97				
CQ			56				
CQ-SP	54	65					
AQ-SP	82	91	96	93			
AQ			97	86			
AQ-AS	88	98	92	88		97	
AS-SP				90			
DH-PP				93	98	97	100
AS-MQ				88			
AM-LM				98	82	95	99
AS-CD				76			
AP					95		

3.3 Resistensproblematik med artemisinin

Risken att *Plasmodium* parasiten ska bli resistent mot artemisinin och dess derivat i stor skala är ett hot mot kampen mot malaria. I synnerhet eftersom det i dagsläget inte finns så mycket annat att ta till då resistens redan är utbredd då det gäller många andra läkemedel och det är ett faktum att resistens förekommer (Hyde, 2007). Forskning görs för att undersöka det faktiska läget när det gäller resistensproblematiken och för att belysa detta tas i följande stycke upp ett par studier som visar hur denna problematik studeras.

En studie genomförd i västra Kambodja genomfördes med syftet att detektera eventuell resistens mot artemisinin. Studieläkemedlet som undersöktes var artesunate i monoterapi och som kontroll användes kombinationsbehandlingen kinin-tetracyklin. Studien genomfördes på vuxna patienter med *falciparum* malaria (behandling i sju dagar). Primär endpoint var ACPR efter 28 dagar. För att ett fall skulle räknas som resistens mot artemisinin skulle följande kriterier uppnås: kvarvarande parasiter efter 7 dagars behandling alternativt återfall av parasiter efter 28 dagars uppföljning. Dessutom skulle mätbara plasmakoncentrationer av dihydroartemisinin (DHA, aktiv metabolit) kunna

påvisas samt förlängd clearance av parasiter och en ökad känslighet för DHA-nivåer (*in vitro*). ACPR för artesunate efter 28 dagar blev i studien 93,6 %. Resultaten visar att av de 60 patienter, som fick högdos artesunate, var det två personer där resistens enligt ovannämnda kriterier kunde påvisas. Hos dessa personer var clearance-tiden 95 h respektive 133 h jämfört med ett medeltal på 52 h för övriga patienter. De två fallen hade adekvata doser av DHP efter 1,5 och 2,5 h intag av läkemedel. Testet av *in vitro* DHA-känslighet visade att IC₅₀ värdet för de resistenta fallen var 14,2 nmol/l jämfört med 3,53 nmol/l för de som botades (Noedl et al., 2010).

I en studie publicerad två år senare än ovan nämnda inkluderades patienter med okomplicerad *falciparum* malaria för att undersöka eventuell resistensförekomst (Dondorp et al., 2009). Patienter från västra Kambodja jämfördes med patienter från nordvästra Thailand. Studieläkemedlen var artesunate i monoterapi i sju dagar jämfört med artesunate (3 dagar) kombinerat med meflokin (dag tre och dag fyra). De 40 patienterna behölls på sjukhuset under uppsikt och för provtagningar under sju dagar. Tester togs för att bestämma farmakokinetiken för artesunate respektive den aktiva metaboliten DHA. Tester gjordes också för att bestämma IC₅₀ värdet. Dessutom mättes tiden för clearance av parasiten. Resultaten visade att clearance för artesunate i monoterapi var snabbare för patienterna i Thailand (median 54 h) än för patienterna i Kambodja (median 84 h). Dessa resultat uppvisar statistisk skillnad även efter olika justeringar såsom för ålderskillnader och parasitförekomst vid start. Resultaten av IC₅₀ för artesunate i monoterapi visar för DHA i Kambodja 2,4 nmol/l och i Thailand 1,5 nmol/l. Här kunde inga statistiska skillnader påvisas. Studien visar att det råder resistens påvisad som *in vivo* känslighet (clearancetid) men inte påvisad *in vitro* känslighet (IC₅₀) i jämförelsen mellan Kambodja och Thailand (Dondorp et al., 2009).

3.4 Förekomst av falska kopior

I fem länder i sydöstra Asien gjordes 2004 en undersökning av antimalarialäkemedel för att studera dess innehåll. Malarialäkemedel köptes upp på apotek och i affärer för att sedan kemiskt med hjälp av HPLC (high performance liquid chromatography) undersökas på dess innehåll av både artesunate och meflokin. Hälften av de läkemedel som påstods innehålla artesunate innehöll inga spår av denna substans. Detta var en 15 % ökning från en liknande studie som gjordes i samma område av samma författare fyra år tidigare. De falska läkemedlen var dessutom oftast välgjorda och svåra att skilja från äkta läkemedel (Dondorp et al., 2004).

Det har precis som i Asien gjorts studier i Afrika för att slumpvis kontrollera innehållet i artemisininer köpta på apotek. I en studie från 2007 utförd i Kenya och Demokratiska

republiken Kongo undersöktes artemether, arteether, artesunate och dihydroartemisinin med hjälp av HPLC analys. Beredningsformerna var av olika slag såsom tabletter, kapslar, torr suspensioner och injektionsvätskor. Förpackningarna undersöktes okulärt för att ge uppfattning kring förfalskade förpackningar. Äkta läkemedel användes som referenser vid analyserna och alla analyser gjordes som trippelprov. Undersökningen omfattade 24 olika läkemedel och 15 (62,5%) av dessa innehöll 95% till 105% av den mängd aktiv substans som de utgav sig för att innehålla. Detta var den gräns som krävdes för att betraktas som äkta (enligt European pharmacopoeia). Alla prover innehöll dock den substans som de utgav sig för att göra. Tre av läkemedlen angavs på förpackningen vara tillverkade i Belgien, men efterforskningar visade att företaget inte existerade åtminstone inte på den adress som förpackningen angav. För samtliga beredningsformer hittades läkemedel med felaktiga doser. Förfalskningar förekom från båda länderna där läkemedlen var inhandlade (Atemnkeng et al., 2007)

Priset för läkemedel som innehåller artemisinin eller dess derivat är dyrare än äldre läkemedel som finns att tillgå för behandling av malaria (Yeka et al., 2005). Som exempel kan ges att AQ-AS är ungefär fyra gånger dyrare än motsvarande behandling med AQ-SP (Ménard et al., 2007).

4. Diskussion

4.1 Effekt gentemot andra behandlingar

I studien av Yeka et al., 2005 visas att både AQ-AS och AQ-SP är bättre än CQ-SP. I Uganda har uppenbarligen AQ ännu effekt (ej resistens). AQ-AS antyder bättre effekt än AQ-SP på att bota infektionen. Dock är resultaten sämre eller likvärdiga mellan AQ-AS och AQ-SP då det gäller att drabbas av ny infektion. Detta i synnerhet i områden med hög risk att drabbas av malaria. Liknande resultat visas i en mindre studie från Madagaskar (Ménard et al., 2007) och i en annan studie från Uganda (Staedke et al., 2004). Det gemensamma är att kombinationen innehållande AS gör patienterna friska, men att de i högre grad insjuknar i ny malariainfektion jämfört med kombinationen AQ-SP. I de två senare studierna visas detta resultat trots att risken att drabbas av malaria uppskattas vara låg. Vad kan förklaringen till detta vara nyinsjuknandet vara? Troligen är det kopplat till att både AQ och SP har långa halveringstider medan AS har kort halveringstid och att det då i kombinationen AQ-AS bara är AQ som har lång halveringstid (Yeka et al., 2005). Den längre halveringstiden ger en sorts profylax för att drabbas av malaria igen. I ett område där resistens ej råder för AQ och SP ligger fördelen till att behandla malaria med AQ-SP både för behandlingsresultat (färre nyinsjuknanden) och för att denna behandling är betydligt

billigare än AQ-AS. Orsak till att artesunate inte visar bättre resultat jämfört med AQ-SP kan bero på att det finns andra kombinationer som skulle passa bättre i kombination med artesunate än i detta fall amodiakin (Yeka et al., 2005).

I studien av Ménard et al., 2007 visas monoterapier (AQ, SP) i stort vara lika effektiva med avseende på ACPR (även ETF,LCF,LPF) som kombinationsbehandlingarna AQ-SP respektive AQ-AS på Madagaskar. Vad kan det bero på? Troligen finns ännu ingen resistens för AQ och SP på Madagaskar. Resistens förekommer för CQ som visar signifikant betydligt sämre resultat (Ménard et al., 2007).

I metaanalysen av Whegang et al., 2010 där jämförelser görs mellan åtta olika behandlingar i Kamerun visas att AQ fortfarande är potent i detta land vid behandling av okomplicerad *falciparum* malaria. Behandlingarna innehållande artemisininer kan inte sägas vara effektivare än de andra två behandlingarna, AQ respektive AQ-SP, som ej innehöll artemisininer. Artemisininerna påvisar en snabbare clearance av parasiter än vad de övriga behandlingar gör. Vid jämförelserna av artemisininbehandlingarna emellan är det svårt att säga att en behandling är bättre än den andra. Enbart i ett par av jämförelserna mellan artemisinkombinationerna kunde en signifikant skillnad mellan ACPR påvisas. Vid granskning av andelen som återinsjuknar verkar framförallt AM-LM men även DH-PP ha bättre resultat än övriga behandlingar. Till nackdel för AM-LM gentemot övriga behandlingar är att AM-LM har 6 dos regim jämfört med de andra med tredos-regim. (Kombinationer med SP sparas i stora delar av Afrika till gravida då det används som profylax för gravida) (Whegang et al., 2010).

I flera jämförelser mellan olika kombinationsläkemedel, där alla innehåller derivat av artemisinin, finns skillnader behandlingarna emellan även om alla preparat anses som effektiva (Song et al., 2011, Yavo et al., 2011 och Whegang et al., 2010). En nackdel med AM-LM är att det är sexdos-regim och på så vis riskerar att medföra sämre compliance (Yavo et al., 2011). I studien av Song et al., 2011 från Kambodja och Thailand visar AM-LM signifikant sämre resultat på ACPR än jämförande behandlingar AP och DH-PP. Resultaten stämmer inte helt med andra resultat som visat att AM-LM är effektivare än så (Whegang et al., 2010 och 4ABC, 2011). Detta skulle kunna ha sin förklaring i att lumefantrin har ett dåligt upptag om det inte administreras samtidigt som mat innehållande fett. Studier har visat att AM-LM upptaget kan öka 16 gånger vid samtidigt intag av fettrik mat jämfört med icke samtidigt intag av fettrik mat (Song et al., 2011). Tillgången till fettrik mat är ej självklar i alla delar av världen (Song et al., 2011 och Yavo et al., 2011).

I studien genomförd av 4ABC Study Group, 2011 visar alla artemisininbehandlingar mycket god effekt. Justerat ACPR-värde låg som lägst på 95%. De skillnader som kan påvisas mellan de olika platserna och de olika behandlingarna är att färre får ny infektion med DH-PP behandling än med AM-LM och med AQ-AS i områden där risken att få en ny infektion är stor. Förklaringen tros ligga i att piperakin har en så lång halveringstid, vilket ger postprofylatiskt skydd. Halveringstiden för piperakin är 33 dagar (Tangpukdee et al.,

2008). Denna teori stämmer överens med vad som visats i andra studier med andra läkemedel som har lång halveringstid, exempelvis SP (Yeka et al., 2005). I denna studie uppvisar AM-LM mycket god effekt jämfört med studien av Song et al., 2011. Detta kan bero på att behandlingen i studien av Yeka et al., 2005 gavs tillsammans med fettrik kost för att få bästa möjliga upptag av AM- LM. Denna typ av studie kan vara till hjälp för att kunna ge bästa möjliga behandling för ett specifikt malariadrabbat område. I vissa områden råder hög resistens mot de läkemedel som är kombinerade med artemisininderivatet och kan vara avgörande för val av specifik ACT (4ABC Study Group, 2011).

4.2 Resistensproblematik

När det gäller studierna som berör resistensproblematiken kan de två studier, som studerats i detta arbete, naturligtvis inte ge någon övertäckande information om hur stor förekomsten är gällande resistens för artemisinin och dess derivat hos *Plasmodium* parasiten. Dock visar de två studierna att resistens förekommer i Kambodja, medan resistens i dessa studier inte kunnat påvisas i Thailand. Orsaken till denna geografiska skillnad beror troligen på att artemisinin och dess derivat använts under längre tid i Kambodja och dessutom från början i monoterapi. Detta faktum understryker vikten av att använda sig av kombinationsbehandling ACT för att minska risken för resistensutveckling i andra delar av världen (Dondorp et al., 2009). I Afrika där artemisinin och dess derivat inte använts vid malariabehandling lika länge som i Asien är WHO mycket tydliga med att rekommendera ACT behandling redan vid start av användningen av artemisinin och dess derivat. WHO rekommenderar också att behandling om möjligt sker med preparat där substanserna är fasta kombinationer, eftersom detta säkrar användning av ACT (WHO, 2010).

Den korta halveringstiden av artemisinin och dess derivat är en fördel när det gäller risken att *Plasmodium* parasiten ska utveckla resistens. Det gäller dock att hitta olika kombinationsmöjligheter med andra antimalaria läkemedel för att få en effektiv behandling av malaria (Tangpukdee et al., 2008).

4.3 Förfalskade läkemedel

Vad gäller förekomst av förfalskade läkemedel uppger FDA (US Food and Drug Administration) att så mycket som hälften av alla antimalarialäkemedel i Afrika är förfalskningar (Atemnkeng et al., 2007). Hur omfattande problemet är med förfalskningar av artemisininer kan inte denna undersökning ge svar på utifrån det material som studerats. Dock kan det konstateras att förfalskningar förekommer i både Asien och Afrika och det studerade materialet i detta arbete belyser ett problem som försvårar kampen mot malaria i världen (Atemnkeng et al., 2007 och Dondorp et al., 2004).

5. Slutsatser

I de studier som jag studerat anser jag att jag kan dra slutsatsen att artemisinin och dess derivat visat sig ha mycket god effekt när det gäller att behandla *falciparum* malaria. De artemisininbaserade läkemedlen botar (höga värden på ACPR) många patienter i både Asien och Afrika. I vissa delar av världen har äldre läkemedel lika god effekt som artemisinin och dess derivat. Det gäller i synnerhet områden där resistens för äldre läkemedel ännu inte råder i så hög grad (Yeka et al., 2005, Ménard et al., 2007, Whegang et al., 2010).

Naturligtvis finns svagheter vad gäller behandlingen med dessa läkemedel innehållande artemisininer och dess derivat, såsom den korta halveringstiden som medför risk att insjukna i nya malariainfektioner (Yeka et al., 2005). För att få bästa effekt av artemisinin och dess derivat är det viktigt att ha kunskap kring hur de används. Monoterapi bör inte ske alls. Olika kombinationer fungerar olika bra i olika delar av världen och här behövs studier som visar vad som är mest lämpligt på olika platser. Anpassningar av behandling måste ske utifrån läget i det aktuella området (WHO, 2010). I vissa områden i Afrika visar artemisinin och dess derivat god effekt på att bota infektion, men många insjuknar snabbt igen med denna behandling och då är det viktigt att välja rätt kombination av läkemedel som både botar och skyddar på bästa sätt (Yeka et al., 2005).

Enligt WHO finns inga starka bevisade kliniska skillnader mellan artemisinin och dess derivat även om det finns skillnader i de olika substansernas farmakokinetik (WHO, 2010). Detta stämmer i stort med vad jag kommit fram till om de olika läkemedlen. Det som avgör vilket derivat som ska användas är beroende på vilket/vilka andra läkemedel som artemisininderivatet kombineras med samt anpassningar efter olika geografiska skillnader. Till detta kommer också att vissa läkemedel kräver fettrik kost för att ge god effekt, vilket inte alltid är en självklar resurs (Song et al., 2011 och Yavo et al., 2011).

Jag vill också tillägga att trots att de studier som jag läst har liknande studieupplägg är det svårt att utvärdera malariabehandling och jämföra olika patienter i olika områden. Många aspekter spelar in som är svåra att bedöma såsom exempelvis om det förekommer immunitet bland populationen och hur stor risk det är att bli smittad i ett visst område. Även många andra faktorer spelar in såsom möjligheten till att få rätt diagnos ställd och tillgången till och användning av myggnät och insektsbekämpningsmedel (WHO, 2010).

En aktuell frågeställning när det gäller att behandla malaria med artemisinin och dess derivat är frågan om tillgång till läkemedel. Studier visar att falska kopior förekommer och orsaken till detta finns nog delvis i det faktum att artemisinin och dess derivat fortfarande hör till de dyraste malarialäkemedlen (Atemnkeng et al., 2007, Dondorp et al., 2004, Ménard et al., 2007).

Vad gäller utveckling av resistens för artemisinin och dess derivat finns studier som visar att resistens förekommer (Dondorp et al., 2009, Noedl et al., 2010). Därför är det mycket viktigt att informera om vikten av att inte ge dessa läkemedel i monoterapi för att bevara dess effekt så bra som det bara går.

6. Referenser

Atemnkeng M. A., De Cock K., Plaizier-Vercammen J. (2007). Quality control of active ingredients in artemisinin-derivate antimalarials within Kenya and DR Congo. *Tropical Medicine and International Health*. 12(1):68-74.

Brock T.D., Madigan M. T., Martinko J. M, et al. (1994). *Biology of microorganisms*, ed 7, Prentice-Hall International Inc. A Simon & Schuster Company, Englewood Cliffs, New Jersey. ISBN 0-13-176660-0. 557-559.

Claesson A., Danielsson B., Svensson U. (2005). *Läkemedelskemi*, ed 3. Apotekarsocieteten, Stockholm. ISBN 91-9743-187-7. s.303-307.

Cui Liwang, Su Xin-zhuan. (2009). Discovery, mechanisms of action and combination therapy of artemisinin. *Expert review of anti- infective therapy*. 7(8): 999–1013.

Dondorp A. M., Newton P.N., Mayxay M., et al. (2004). Fake antimalarials in Southeast Asia are a major impediment to malaria control: multinational cross-sectional survey on the prevalence of fake antimalarials. *Tropical Medicine and International Health*. 9(12): 1241-1246.

Dondorp A. M., Nosten F., Yi P., et al. (2009). Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *New England Journal of Medicine*. 361(5): 455-467.

Ferreira J.F.S, Janick J. (1995). Floral morphology of *Artemisia annua* with special reference to trichomes. *International Journal of Plant Sciences*. 156 (6): 807-815.

Heinrich M., Barnes J., Gibbons S., et al. (2012). *Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy*, ed. 2. Elsevier Churchill Livingstone, London. ISBN 978-0-7020-3388-9.

Hyde John, E. (2007). Drug-resistant malaria – an insight. *FEBS Journal* 274, 4688-4698.

Liwang Cui., Xin-zhuan Su. (2009). Discovery, mechanisms of action and combination therapy of artemisinin. *Expert review of anti- infective therapy*. 7(8): 999–1013.

Läkemedelsboken 2011/2012, Läkemedelsverket. ISBN 978-91-979605-0-2. s. 680-686.

Malaria consortium. (2007). *Malaria. A handbook for health professionals*. Macmillan Education, Oxford. ISBN 978-0-333-68916-5.

Ménard D., Andrianina N. N. H., Ramiandrasoa Z., et al. (2007). Randomized clinical trial of artemisinin *versus* non-artemisinin combination therapy for uncomplicated *falciparum* malaria in Madagascar. *Malaria Journal* 6 (65).

Noedl H., Se Y., Sriwichai S., et al. (2010). Artemisinin resistance in Cambodia: a clinical trial designed to address an emerging problem in Southeast Asia. *Clinical Infectious Disease*. 51(11):82-89.

Sherman, Irwin W. (2011). *Magic bullets to conquer malaria. From quinine to qinghaosu*. ASM press, Washington, DC. ISBN 978-1-55581-543-1.

Song J., Socheat D., Tan B., et al. (2011). Randomised trials of artemisinin-piperaquine, dihydroartemisinin-piperaquine phosphate and artemether-lumefantrine for the treatment of multi-drug resistant *falciparum* malaria in Cambodia-Thailand border area. *Malaria Journal* 12 (231).

Staedke S. G., Mpimbaza A., Kanya M. R., et al. (2004) Combination treatments for uncomplicated *falciparum* malaria in Kampala, Uganda: randomized clinical trial. *The Lancet*. Volume 364. Issue 9449:1950-1957.

Tangpukdee N., Krudsood S., Thanachartwet V., et al. (2008) Efficacy of artequick versus artesunate-mefloquine in the treatment of acute uncomplicated *falciparum* malaria in Thailand. *Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health* 39(1):1-8.

The Four Artemisinin-Based Combinations (4ABC) Study Group. (2011). A head-to-head comparison of four artemisinin-based combinations for treating uncomplicated malaria in African children: a randomized trial. *PLoS Medicine* 8 (11):1-16.

Whegang S. Y., Tahar R., Foumane V. N., et al. (2010). Efficacy of non-artemisinin- and artemisinin-based combination therapies for uncomplicated *falciparum* malaria in Cameroon. *Malaria Journal* 9 (56).

WHO. (2003). Assessment and monitoring of antimalarial drug efficacy for the treatment of uncomplicated *falciparum* malaria.

WHO. (2010). *Guidelines for the treatment of malaria*. Ed 2, World Health Organization. ISBN 978- 92- 4 154792- 5. 14-16.

www.laskerfoundation.org. 2012-03-27.

Yavo W., Faye B., Kuete T., et al. (2011) Multicentric assessment of the efficacy and tolerability of dihydroartemisinin-piperaquine compared to artemether-lumefantrine in the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in sub-Saharan Africa. *Malaria Journal* 10(198).

Yeka A., Banek K., Bakyaite N., et al. (2005). Artemisinin versus nonartemisinin combination therapy for uncomplicated malaria: randomized clinical trial from four sites in Uganda. *PLoS Medicine*. 7(2):654-662.

Kalmar Växjö

391 82 Kalmar
Tel 0480-446200
info.nv@lnu.se
Lnu.se



Linnéuniversitetet