

# 近年来发展抗血吸虫新药的进展

肖树华

**【提要】** 全球有 2 亿人感染血吸虫, 其治疗仅依赖吡喹酮一种药物是很不相适应的。吡喹酮虽有很好的治疗效果, 但无预防作用, 故发展抗血吸虫新药倍受关注。本文综述近年来报道的恶二唑-2-氧化物和甲氟喹等抗血吸虫新药的实验研究, 阐述这些药物的发展过程, 及其抗血吸虫特点。

**【关键词】** 血吸虫; 血吸虫病; 恶二唑-2-氧化物; 甲氟喹; 吡喹酮

中图分类号: R382.312 文献标识码: A

## Progress in Development of New Antischistosomal Drugs in Recent Years

XIAO Shu-hua

(National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention; Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, MOH; WHO collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China)

**【Abstract】** It is estimated that 200 million people have suffered the infection with schistosomes in the world. The fact that treatment of schistosomiasis only relies on a single drug praziquantel does not adapt to the demand. Although praziquantel exhibits excellent therapeutic efficacy, it shows no preventive action to the infection. Therefore, development of new anti-schistosomal drugs has been received serious attention. In this paper the recent development of new anti-schistosomal drugs such as oxadiazole-2-oxides, mefloquine, etc. has been reviewed, and the process of their development and anti-schistosomal properties recounted.

**【Key words】** Schistosome; Schistosomiasis; Oxadiazole-2-oxides; Mefloquine; Praziquantel

血吸虫病是一种流行于热带和亚热带地区、严重危害人体健康的寄生虫病, 感染人数在撒哈拉以南的非洲约有 1.7 亿, 在北部非洲、亚洲和南美州约有 3 千万, 而生活在受感染威胁的流行地区人数则达 7.79 亿, 涵盖了 76 个国家和地区<sup>[1-3]</sup>, 故全球防治血吸虫病的任务十分艰巨。在血吸虫病的多种防治措施中, 药物治疗是控制传染源不可取代的重要手段。20 世纪 70 年代中期, 吡喹酮的发明是抗血吸虫病药物发展史上的一个里程碑。由于该药口服方便、低毒、高效和疗程短(1~2d), 适于群体治疗, 故迅速得到推广应用, 并对全球血吸虫病的防治产生深远影响。1984 年 WHO 将血吸虫病的防治策略, 从以消灭中间宿主为主转变为以化疗控制传染源为重点的防治策略<sup>[4]</sup>, 同时我国血吸虫病的防治策略也作了相应的调整<sup>[5]</sup>。吡喹酮问世后, 先后取代了用于治疗血吸虫病的呋喃丙胺、敌百虫、奥沙尼喹和硝硫氰胺, 并成为 5 种人体血吸虫病惟一的治疗药物。国内外的防治实践证

明, 吡喹酮虽是治疗血吸虫病的有效药物, 但因其仅对刚钻入皮肤的早期童虫(虫龄 3~6 h)和成虫有效<sup>[6-8]</sup>, 故无预防作用。在血吸虫病重度流行地区, 因人体内可同时存在不同发育阶段的童虫和成虫, 故吡喹酮的治愈率低, 且治愈患者在传播季节接触疫水后又可重复感染, 从而制约了人群血吸虫感染率持续降低的可能<sup>[9-14]</sup>。再则反复用吡喹酮治疗可能促进其抗性虫株产生, 如抗性株一旦出现, 将使血防工作严重受挫。鉴于吡喹酮的突出优点, 自 20 世纪 80 年代后, 全球有关抗血吸虫新药的研究迅速减缓, 除我国研究者在 20 世纪末将蒿甲醚和青蒿琥酯发展为预防血吸虫病药物外<sup>[15-17]</sup>, 未再见到新研发的抗血吸虫病药物, 这显然与繁重的血吸虫病防治需求很不相适应。近年来一些实验室开展了药物筛选或抗血吸虫病药物作用靶点的探讨, 发现了一些新类型的抗血吸虫病化合物。由于有关吡喹酮<sup>[13-15, 18-30]</sup>、蒿甲醚和青蒿琥酯<sup>[15-17, 31-36]</sup>, 及其他抗血吸虫病药物的研究进展已有不少综述<sup>[37-39]</sup>。本文主要是对近 10 年来报道的有关抗血吸虫病新药发展的情况作一概述。

**作者单位:** 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所, 卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室, 世界卫生组织疟疾、血吸虫病和丝虫病合作中心, 上海 200025

## 1 血吸虫抗氧化系统的研究与新药开发

1.1 曼氏血吸虫的硫氧还蛋白谷胱甘肽还原酶(thioredoxin glutathione reductase, TGR)是一个重要的抗氧化酶。血吸虫生活在宿主体内的血液有氧环境中,它们必需通过解毒机制消除其自身的有氧呼吸和宿主的免疫反应所产生的活性氧分子(reactive oxygen species)的危害<sup>[40-42]</sup>。哺乳动物系通过 2 个独立系统消除活性氧分子达到解毒的目的,即专一的还原型辅酶 II 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADPH)依赖的谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)和硫氧还蛋白还原酶(thioredoxin reductase, TrxR),两者的底物分别为谷胱甘肽(GSH)和硫氧还蛋白(Trx),在 GR 和 TrxR 的作用下,催化 GSH 和 Trx 氧化型与还原型的相互转换,维持细胞氧化还原的平衡。业已证实曼氏血吸虫无过氧化氢酶,其基因组亦无 GR 和 TrxR,但发现有 TGR 基因。TGR 是一种含硒的多功能酶,兼有 GR 和 TrxR 的功能,维持虫体内氧化还原的平衡。由于氧化型 GSH (GSSG)和硫氧还蛋白的还原依赖单一的 TGR 调节,其失活将对维持虫体氧化还原的平衡造成很大的损害作用<sup>[40-45]</sup>。多功能的 TGR 先是在小鼠的睾丸中发现,然后又在曼氏血吸虫(*Schistosoma mansoni*)、细粒棘球绦虫(*Echinococcus granulosus*)和肥头带绦虫(*Taenia crassiceps*)中相继查见<sup>[44]</sup>,进而又观察到曼氏血吸虫的重组 TGR 的酶动力学和抑制剂的抑制效应与小鼠的 TGR 和人的 GR 与 TrxR 均不同。根据上述曼氏血吸虫与宿主的细胞氧化还原系统的差异,人们设想 TGR 可能是血吸虫的一个重要酶,并有可能作为抗血吸虫病药物作用的靶酶<sup>[41,42]</sup>。

在获得曼氏血吸虫重组 TGR 基因后进行表达和纯化,继而进行酶学分析、动力学分析、抑制剂对体外培养血吸虫的作用、对感染鼠的疗效试验和 RNA 的干扰试验(RNA silencing)等。结果,在 RNA 干扰试验中发现 TGR 对血吸虫的存活是必需的,在 TGR 停止表达后,体外培养血吸虫的 TGR 活力被抑制 60%, 90%的血吸虫在 4 d 内被杀死;在抑制剂中发现有抗类风湿病类药[含金的金诺芬(auranofin, AF)]对纯化的 TGR 是一个有效的抑制剂,并认为由金诺芬释放的金原子对 TGR 有抑制作用<sup>[41,46]</sup>;培养在其生理浓度为 5 mol/L 的血吸虫被迅速杀死,而用金诺芬治疗感染血吸虫的小鼠,其减虫率为 59%~63%。此外,以往用于治疗血吸虫病的酒石酸锑钾和吡嗪硫酮(oltipraz)亦有抑制血吸虫 TGR 的作用。由此可见,血吸虫的 TGR 符合作为抗血吸虫病药物作用靶位的主要标准,这是首次通过遗传学和生化方法确认的抗血吸虫病药物的作用靶酶<sup>[41]</sup>。

1.2 定量高通量筛选抑制曼氏血吸虫 TGR 的化合物在曼氏血吸虫的抗氧化系统中,除 TGR 外尚有抗氧化酶,即过氧化物氧化还原酶(Peroxiredoxins, Prx)的参与。血吸虫的 Prx 能接受从 Trx 和 GSH 提供的电子,还原过氧化氢和其他有机过氧化物。为了筛选能抑制血吸虫抗氧化系统的酶的化合物,用曼氏血吸虫的重组 TGR 和 Prx、待测化合物、NADPH、GSH、含乙二胺四乙酸(EDTA)的磷酸盐缓冲液、过氧化氢,及其他装置组成的微量定量高通量筛选系统,筛选了 71 028 个化合物。通过对筛选资料的分析,追踪测试初筛有效化合物及其类似物的半数抑制有效浓度(IC<sub>50</sub>),再进行作用靶的重叠分析,确定 TGR 是惟一的作用靶酶,并筛选出很低浓度( $\mu\text{mol/L}$  或  $\text{nmol/L}$ )的次磷酸胺(phosphinamides)和恶二唑-2-氧化物(oxadiazole-2-oxides)类型化合物具有抑制曼氏血吸虫 TGR 的作用<sup>[42-43]</sup>。

1.3 有效化合物的体外和体内试验 在通过定量高通量筛选对曼氏血吸虫重组 TGR 有效的 10 个化合物中,选择其中的次磷酸胺化合物, N-苯并噻唑-2-基-苯磷酰基)-1,3-噻唑-2-胺(N-benzothiazole-2-yl-phenyl-phosphoryl)-1,3-thiazole-2-amind, 化合物 3)和恶二唑-2-氧化物, 4-苯基-1,2,5-恶二唑-3-睛-2-氧化物(4-ph-enyl-1,2,5-oxadiazole-3-carbonitrile-2-oxide, furoxan, 化合物 9), 观察它们对体外培养血吸虫的作用<sup>[42]</sup>。结果表明,化合物 9 的浓度为 10  $\mu\text{mol/L}$  时,可使曼氏血吸虫在 24 h 内全部死亡;浓度为 2  $\mu\text{mol/L}$  时,皮肤期、肺期和肝期童虫和成虫在 120 h 内死亡。该化合物对日本血吸虫(*Schistosoma japonicum*)和埃及血吸虫(*Schistosoma haematobium*)亦有效。未见死亡虫其内部结构和皮层有明显变化。此外,将含药培养液吸移,加入不含药物的培养液继续培养时,未见虫的活力恢复。次磷酸胺化合物 3 的体外抗虫作用明显低于化合物 9,其浓度为 50  $\mu\text{mol/L}$  和 25  $\mu\text{mol/L}$  时,才可使体外培养的曼氏血吸虫分别于 24 h 和 96 h 全部死亡。体外培养的曼氏血吸虫成虫经化合物 9 (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 作用 18 h 后,其 TrxR 和 GR 活力分别降低 83% 和 93%, 而用化合物 3 (50  $\mu\text{mol/L}$ ) 培养相同时间的虫则各降低 69% 和 59%, 证明它们的抗虫作用与抑制虫的 TGR 有关,而且化合物 9 对虫 TGR 的抑制作用较化合物 3 的为强。已知化合物 9 是一氧化氮(NO)的供体,具有明显的生物活性,如抗微生物、免疫抑制、抗癌和舒张心血管等作用<sup>[47]</sup>。进一步的试验证明,化合物 9 在 TGR 和 NADPH 存在的情况下可释放 NO,在加入 NO 清除剂后其体外抗血吸虫作用减弱,提示在化合物 9 抑制虫的 TGR 时,可导致活性氧分子储积而使虫死亡的过程中尚有 NO 的

参与。

根据以上试验结果选用了化合物 9 进行体内试验,即小鼠于感染曼氏血吸虫尾蚴 1、23 和 37 d 后分别用化合物 9 腹腔注射治疗,剂量为 10 mg/(kg·d) ×5 d (1 次/d),并于感染后 49 d 剖检,各组的减虫率分别为 99%、89%和 94%,表明化合物 9 对曼氏血吸虫童虫和成虫均有很好的杀灭作用,是一个新类型的抗血吸虫病化合物。这一新发现有可能对其他以 TGR 作为巯基-氧化还原系统的细粒棘球蚴和带绦虫也有效<sup>[42,44]</sup>。最近有报道,通过对化合物 9 的化学结构和疗效关系的研究,确认 3-硝基-2-氧化物为有效基团模型,并建立了以围绕苯环为核心结构的构效关系。同时通过生物素转换试验确证 TGR 与化合物 9 作用可导致巯基亚硝基化(或硒亚硝基化),进一步确定此类化合物对虫 TGR 的选择性,而对体外有选择性的药代动力学,包括水溶性、对 Caco-2 细胞(人结肠肠癌上皮细胞)的渗透性和微粒体的稳定性的初步评价,认为该类型化合物有可能发展为口服治疗血吸虫病的药物<sup>[48]</sup>。

## 2 甲氟喹

血吸虫和疟原虫都须摄入宿主的红细胞,而抗疟药青蒿素类药物(蒿甲醚和青蒿琥酯)和螺金刚烷氧化物均对血吸虫有效,故于 2007 年对一些抗疟药,即阿莫地喹(amodiaquine)、阿托伐醌(atovaquone)、乙胺嘧啶(pyrimethamine)、咯萘啶(pyronaridine, malaridine)、磺胺多辛(sulfadoxine)、磺胺-3-甲氧吡嗪(sulfamethoxypyrazine)、氯喹(chloroquine)和甲氟喹(mefloquine, 氨基乙醇抗疟药)等进行抗曼氏血吸虫初筛,发现后者对血吸虫童虫和成虫均有很高的杀灭作用,继而进行一系列实验研究,证明甲氟喹是一个有效的抗曼氏血吸虫和日本血吸虫的新类型药物<sup>[49]</sup>。但在此前,另一实验室用单剂甲氟喹(150 mg/kg)治疗感染曼氏血吸虫达 8 周的小鼠,发现甲氟喹可明显减少曼氏血吸虫虫卵,但对虫的负荷则无影响<sup>[50]</sup>。

2.1 氨基乙醇类抗疟药的抗血吸虫作用 在抗疟药中,甲氟喹、苯茛醇(lumefantrine)、奎宁(quinine)和卤泛曲林(helofantrine)均属于氨基乙醇喹啉化合物。感染曼氏血吸虫成虫的小鼠用上述 4 种药物 400 mg/kg 顿服治疗,甲氟喹的减虫率和减雌虫率分别为 77.3%和 100%,奎宁的分别为 54.7%和 62.0%,卤泛曲林的分别为 51.7%和 57.4%,而苯茛醇则无效。用感染日本血吸虫成虫的小鼠顿服甲氟喹、奎宁和奎尼丁 400 mg/kg 的减虫率和减雌虫率相仿,分别为 90.3%~100%、86.2%~97.1%和 80.9%~89.1%。口服相同剂量的卤泛

曲林具有中等疗效,而苯茛醇的疗效则差,减虫率分别为 67.5%和 38.4%<sup>[49,51]</sup>。

2.2 对不同发育期血吸虫的作用 甲氟喹对不同发育期的曼氏血吸虫和日本血吸虫的童虫和成虫有相仿的杀灭作用。感染曼氏血吸虫童虫[d<sub>0</sub> (3 h)、d<sub>7</sub>、d<sub>14</sub>、d<sub>21</sub>和 d<sub>28</sub>]和成虫(d<sub>35</sub>、d<sub>42</sub>和 d<sub>49</sub>)的小鼠顿服甲氟喹 400 mg/kg,减虫率(除 d<sub>0</sub> 组为 43.2%外)各组为 83.9%~100%,减雌虫率为 85.4~100%。感染不同发育期日本血吸虫的小鼠顿服甲氟喹 400 mg/kg 的结果与上述相仿<sup>[49]</sup>。

2.3 剂量与疗效 感染曼氏血吸虫童虫期(d<sub>21</sub>)小鼠顿服甲氟喹 25、50、100、200 和 400 mg/kg 治疗,除 25 mg/kg 的无效(减虫率为 16.9%)和 50 mg/kg 的疗效差(减虫率为 38.3%)外,100~400 mg/kg 的减虫率为 94.2%~97.6%。用上述剂量治疗感染成虫期(d<sub>49</sub>)小鼠,25 mg/kg(减虫率为 13.1%)和 50 mg/kg(减虫率为 34.3%)的疗效差,100、200 和 400 mg/kg 的减虫率分别为 45.8%、72.3%和 77.3%,减雌虫率则分别为 56.3%、93.0%和 100%。感染日本血吸虫童虫期(d<sub>14</sub>)和成虫期(d<sub>35</sub>)小鼠顿服相同剂量甲氟喹的疗效与感染曼氏血吸虫童虫期和成虫期的相似<sup>[49]</sup>。

2.4 药物异构体与疗效 用甲氟喹的 2 个赤型异构体(erythro-enantiomers)(-)(11S,2'R)和(+)(11R,2'S)治疗感染曼氏血吸虫尾蚴 21 d 和 49 d 的小鼠,分别顿服 50、100、200 和 400 mg/kg,结果除 50 mg/kg 的疗效差外,两种异构体对童虫(d<sub>21</sub>)的减虫率分别为 91.3%~100%和 90.7%~91.0%,对成虫(d<sub>49</sub>)的减虫率分别为 64.0%~91.0%和 57.1~87.6%,表明两者的疗效相仿。此外,感染日本血吸虫成虫期的小鼠顿服 400 mg/kg 奎宁及其异构体奎尼丁的减虫率和减雌虫率相仿,分别为 86.2%~97.0%和 80.9%~89.1%<sup>[49,51]</sup>。

2.5 感染度对疗效的影响 感染 20、40 和 80 条血吸虫尾蚴 35 d 的小鼠顿服甲氟喹 200mg/kg 或 400 mg/kg 后,不同感染度各组的疗效相仿,减虫率为 59.9%~73.0%(200 mg/kg)和 89.1%~85.0%(400 mg/kg),减雌虫率则分别为 77.5%~88.9%和 93.1%~95.6%<sup>[51]</sup>。

2.6 对仓鼠多次感染的疗效 为观察甲氟喹对同一宿主体内不同发育期日本血吸虫的作用,同时感染 14 d 和 21 d 童虫或同时感染 14 d、21 d 童虫和 35 d 成虫的仓鼠顿服甲氟喹 100 mg/kg 或 200 mg/kg。结果 100 mg/kg 对感染两种虫龄童虫和同时感染童虫和成虫仓鼠的减虫率分别为 45.4%和 82.5%,剂量为 200 mg/kg 则分别为 89.9%和 90.6%<sup>[51]</sup>。

2.7 甲氟喹与吡喹酮的疗效比较 小鼠于感染日本

血吸虫尾蚴后  $d_0$  (虫龄 3 h)、 $d_3$ 、 $d_7$ 、 $d_{14}$ 、 $d_{21}$ 、 $d_{28}$  和  $d_{35}$  分别顿服吡喹酮或甲氟喹 400 mg/kg。结果, 吡喹酮对  $d_0$  童虫有效, 减虫率为 83.6%, 但对  $d_3$ 、 $d_7$ 、 $d_{14}$  和  $d_{21}$  童虫均无效, 减虫率为 0~8%, 而对  $d_{28}$  和  $d_{35}$  成虫开始显现疗效, 减虫率为 43.4% 和 69.3%。用甲氟喹治疗, 除对  $d_0$  童虫无效外, 对其余童虫和成虫的减虫率为 81.1%~100%, 减雌虫率为 91.5%~100%。同时, 甲氟喹对  $d_3$ ~ $d_{28}$  各组的平均虫数均显著少于吡喹酮的各对应组, 但两种药物对  $d_{35}$  组的平均虫数的差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。感染小鼠分别用甲氟喹和吡喹酮(200 mg/kg)治疗的结果与上述相仿<sup>[51]</sup>。

2.8 对血吸虫形态和组织病理学的观察 感染日本血吸虫成虫期( $d_{35}$ )小鼠顿服甲氟喹 400 mg/kg 后 1~14 d 采集血吸虫, 用酸性卡红染色观察。结果, 治疗后 1 d, 虫的肠管严重扩大, 虫体肿胀, 生殖腺(包括睾丸、卵巢和卵黄腺)明显退化; 治后 3 d, 上述变化进一步加重, 特别是卵黄腺, 以致虫卵形成受损, 终至停止产卵。治后 3~7 d, 雌、雄虫受损局部查见宿主白细胞附着。治后 14 d 仅采集到少量明显退化的雄虫。成虫经甲氟喹作用后 24 h, 虫的皮层和肌层肿胀; 肠管扩大, 局灶性肠上皮脱落和肠腔色素颗粒减少, 以及卵黄细胞质内出现色素颗粒。治后 48 h, 2/3 的雌虫和 1/4 的雄虫被判定为死虫。治后 3~14 d, 雄虫示有皮层空泡变化, 实质组织肿胀和肠管扩大, 雌虫则示有崩解和炎性细胞浸润形成死虫脓肿和早期死虫肉芽肿。治后 14 d, 查见的雌虫已 100% 死亡(雄虫的为 60%), 至治后 35 d, 仅在肝组织内可查见雌、雄虫的死虫肉芽肿。感染日本血吸虫童虫期( $d_{14}$ )小鼠顿服甲氟喹 400 mg/kg 后 8 h, 51.5% 的童虫示有肠管扩大、肠上皮细胞脱落, 皮层、肌层和实质组织肿胀和炎性细胞附着于受损皮层。治后 24 h, 死虫及退化虫各为 43.2% 和 48.4%, 而且虫的损害加重, 包括皮层严重肿胀和空泡变化, 受损肠管破溃, 以及出现以嗜酸粒细胞浸润为主的死虫。治后 3 d, 96% 以上的童虫死亡或有严重退化, 并有部分虫示有局部或广泛的炎性细胞浸润伴有内部结构坏死。治后 7~14 d, 60.1%~86.3% 死虫发展为死虫肉芽肿。结果表明, 甲氟喹对日本血吸虫童虫和成虫均有很强的杀灭作用, 且以童虫较敏感<sup>[52-54]</sup>。

2.9 体外抗血吸虫作用 甲氟喹对体外培养的日本血吸虫成虫的最低有效浓度为 10  $\mu\text{g/ml}$ 。虫经甲氟喹作用后先表现为活动兴奋, 继则减弱, 虫体局部肿胀、伸长和体表有空泡形成, 并逐渐增大和破裂, 培养 24~72 h 内有 56.3% 的虫死亡。甲氟喹的浓度增至 20  $\mu\text{g/ml}$  和 30  $\mu\text{g/ml}$ , 则虫于 4~24 h 内死亡。甲氟

喹对  $d_0$ 、 $d_7$  和  $d_{14}$  童虫的最低有效浓度为 5  $\mu\text{g/ml}$ , 可引起  $d_0$  和  $d_7$  童虫的死亡和部分  $d_{14}$  童虫的活动受影响。甲氟喹的浓度为 10  $\mu\text{g/ml}$ ,  $d_{14}$  童虫大部分在 4 h 内死亡。进一步的观察表明, 甲氟喹对体外培养的血吸虫有直接杀死作用, 而且该过程为不可逆<sup>[55]</sup>。甲氟喹除对血吸虫有效外, 对麝猫后睾吸虫亦有效<sup>[56]</sup>。

### 3 半胱氨酸蛋白酶抑制剂的抗血吸虫作用

一些半胱氨酸蛋白酶对于许多寄生虫的代谢是必需的, 而且已发现一些半胱氨酸蛋白酶抑制剂可在体外和动物体内杀死一些原虫, 并观察到用氟甲基酮半胱氨酸蛋白酶抑制剂治疗感染曼氏血吸虫小鼠可减少虫数和虫卵数。其后又改进新一代半胱氨酸蛋白酶抑制剂, 提高它们的溶解度、生物利用度和降低毒性, 其中的 N-甲基-哌嗪-苯丙氨酰-高苯丙氨酰-乙烯砷苯基(K11777)是一个用于治疗美洲锥虫病(Chagas disease)的新药, 并用以观察其对血吸虫的作用。小鼠于感染曼氏血吸虫尾蚴后 7~35 d, 每天腹腔注射 K11777 25 mg/kg, bid, 雌、雄虫的减虫率各为 80.0% 和 79.0%, 肝的虫卵减少率为 92.0%。小鼠感染后 1~14 d, 每天腹腔注射剂量同上, 受治的 7 鼠中有 5 鼠被治愈, 余 2 鼠的雌、雄虫各减少 90.0% 和 88.0%。小鼠感染后 30 d 腹腔注射 K11777 50 mg/kg (bid), 连给 8 d, 雌、雄虫的减少率分别为 54.0% 和 57.0%。作者等应用半胱氨酸蛋白酶的特异性底物和活性位点的标记, 证明 K11777 作用的分子靶是血吸虫与肠相关的组织蛋白酶 B1<sup>[57]</sup>。

### 4 螺金刚烷臭氧化物(1,2,4,-trioxolanes)

青蒿素类药物问世后, 由于其化学结构复杂, 故一些实验室致力于简化其结构的研究, 螺金刚烷臭氧化物(简称 OZ 化合物)就是其中经过结构简化的一类过氧化物<sup>[58]</sup>, 是从 20 世纪末开始研制的抗疟新药, 其化学结构较青蒿素类的简单, 易于合成, 而且有些化合物的效果优于青蒿素<sup>[59]</sup>。与此同时, 在筛选试验中发现该类化合物对血吸虫有效, 故又对此类化合物的抗血吸虫作用进行了系统观察。在体外抗曼氏血吸虫成虫试验中, 有些化合物, 如 OZ209 (20  $\mu\text{g/ml}$ ) 对血吸虫有直接作用, 血吸虫的皮层受损, 活动减弱, 并在 72 h 内死亡。但有些化合物, 如 OZ78 (20  $\mu\text{g/ml}$ ) 对血吸虫无直接作用, 与蒿甲醚相似需在培养系统中加入血红素后, 虫的活动和皮层始见逐渐减弱和损害, 而且大部分虫在 96 h 内死亡, 杀虫效果较蒿甲醚与血红素伍用为弱。OZ 化合物对曼氏血吸虫童虫有很好的杀灭作用, 1 次口服 OZ03、OZ78 和 OZ209

200 mg/kg 对  $d_{21}$  童虫的减虫率为 79.2%~87.3%，而 OZ288 的为 95.4%。用这些化合物 400 mg/kg 顿服治疗感染曼氏血吸虫成虫期( $d_{49}$ )小鼠，仅 OZ288 有 52.2% 的减虫率，OZ209 则在此剂量下无效，并有部分鼠死亡。由此可见，此类化合物对感染童虫期的小鼠有很好的疗效，而对成虫的作用则甚差。但用感染曼氏血吸虫童虫( $d_{21}$ )和成虫( $d_{49}$ )的仓鼠模型观察，OZ78 和 OZ288 50~200 mg/kg 对童虫的减虫率各为 73.4%~93.2% 和 82.7%~86.5%，对成虫的分别为 46.1%~85.0% 和 46.6%~71.7%。即在仓鼠模型中 OZ 化合物显示对成虫亦有效，但逊于对童虫的疗效。此外用 OZ78 200 mg/kg 顿服治疗感染日本血吸虫成虫的仓鼠，减虫率和减雌虫率分别为 94.2% 和 100%；而顿服 15 mg/kg 对感染日本血吸虫成虫的兔无明显疗效，减虫率为 40.7%<sup>[60]</sup>。OZ78 尚对小鼠的棘口吸虫和大鼠的肝片形吸虫及华支睾吸虫有效<sup>[61-63]</sup>。构效关系的研究结果表明，OZ 化合物的过氧键是其抗血吸虫所必需的<sup>[60]</sup>。

### 5 干扰血吸虫色素形成是抗疟药奎宁类药物抗血吸虫的重要作用机制

血红素对于大多数生物的存活具有重要的意义，但其一旦呈游离状态就产生毒性作用，即游离的血红素能引起氧自由基的形成，脂质过氧化和蛋白质及 DNA 氧化，同时由于其亲水脂分子的特性，游离血红素可干扰磷脂膜的稳定性和溶解性。食血生物，包括疟原虫和曼氏血吸虫，具有有效的途径对由消化血红蛋白所产生的游离血红素解毒，关键的机制是将血红素结晶化为色素(即 Hemozoin, HZ)，并起着抗氧化的防御作用。由于 HZ 的形成是食血寄生虫所特有，而且在以前的实验中观察到感染曼氏血吸虫的小鼠用氯喹治疗后，其病情减轻，认为 HZ 的形成可能是一个有吸引力的药物作用靶，故又用奎宁(QN)、奎尼丁(QND)和喹纳克林(即阿的平, QCR)治疗感染曼氏血吸虫小鼠，并用生化、细胞生物学和分子生物学进行评价分析。结果，小鼠于感染曼氏血吸虫尾蚴后 11~17 d，每天腹腔注射 QN、QND 或 QCR 75 mg/kg 后，前两者的减虫率为 39%~61%，虫卵减少率为 42%~98%，QCR 的分别为 24% 和 24%~84%；从 QD 和 QND 治疗小鼠检获的雌虫的 HZ 形成被明显抑制(40%~65%)，但 QCR 对 HZ 的形成无明显影响；QN 治疗后，雌、雄虫的超微结构有明显变化，特别是肠的上皮细胞和肝内虫卵肉芽肿反应减轻。此外，微阵列基因表达数据分析表明，QN 治疗增加与肌层、蛋白质合成和修复有关的转录表达。作者等认为，干扰

血吸虫 HZ 的形成是 QN 和 QND 抗血吸虫的重要作用机制，即血红素结晶化过程是抗血吸虫药物的一个有效作用靶<sup>[64]</sup>。

### 6 其他

罗氏制药公司(Hoffmann-La Roche, 瑞士)于 20 世纪 80 年代初合成了吡啶类衍生物，发现这些化合物对小鼠和仓鼠的曼氏血吸虫感染有很好的治疗作用，其中之一是 9-吡啶肼(Ro 15-5458)。国内曾有综述报道<sup>[65]</sup>。2009 年，国外对 Ro 15-5458 及另一化合物 Ro 11-3128 的实验研究进行了综述<sup>[45]</sup>。现作一简要归纳。

1989 年，感染曼氏血吸虫的长尾猴用 Ro 15-5458 15 mg/kg 和 25 mg/kg 治疗后，排卵停止，血吸虫被杀灭。1995 年，感染曼氏血吸虫的卷尾猴用 Ro 15-5458 12.5 mg/kg 单剂治疗后 29~226 d，粪检虫卵阴性；受治猴无虫或残留虫数条，而未治疗的对照猴则检获虫 83 条；未见受治猴有不良反应。其后用 25 mg/kg 对感染曼氏血吸虫童虫期( $d_7$ )的卷尾猴治疗，获得治愈，表明该化合物有预防作用，而吡喹酮则无。进一步用感染曼氏血吸虫成虫期的小鼠观察疗效，表明 Ro 15-5458 的减虫率和肝、肠组织的虫卵减少率与剂量相关，治后 2 周肝脏无或仅有轻度病理变化。2003 年，用 Ro 15-5458 20 mg/kg 或吡喹酮 100 mg/kg 治疗感染 4 周虫龄埃及血吸虫的仓鼠，两者的减虫率各为 83.2% 和 55.6%，但虫龄为 8 和 12 周，则 Ro 15-5458 和吡喹酮的疗效相仿，故认为 Ro 15-5458 治疗成虫感染的疗效与吡喹酮相仿，而对童虫感染的疗效则优于吡喹酮。在 Ro 15-5458 的抗虫作用方面，观察到感染曼氏血吸虫小鼠用 15 mg/kg 治疗 4 d 后，仅见虫的蛋白质含量降低和虫的重量减轻，但对虫利用葡萄糖、虫的糖原含量和肠管色素或 ATP 水平则无明显影响，故虫的死亡可能因蛋白质减少所致，并与药物引起的 mRNA 减少有关。感染小鼠用上述剂量的 Ro 15-5458 治疗后 12、72 和 96 h，虫的总 RNA 分别减少 14.0%、30.0% 和 41.0%。进一步分析表明，Ro 15-5458 可能直接抑制虫的基因表达。

Ro 11-3128(甲胺西洋, meclonazepam)是一个抗焦虑药。1978 年，苯二氮卓类的氯硝西洋(benzodiazepines clonazepam)和 Ro 11-3128 有抗血吸虫病作用已被证实。实验证明 Ro 11-3128 对感染曼氏血吸虫和埃及血吸虫的仓鼠有效，但对日本血吸虫无作用。曾在南非用该化合物(0.2~0.3 g/kg)治疗曼氏血吸虫病和埃及血吸虫病患者均有效。用该化合物治疗出现

有嗜睡的不良反应。氟吗西尼(flumazenil)是苯二氮卓类药物的拮抗剂,可拮抗 Ro 11-3128 的中枢神经效应,但不影响其抗血吸虫病作用。与吡喹酮相似,低浓度的 Ro 11-3128 可引起曼氏血吸虫雄虫痉挛性麻痹,此作用在培养液中移去钙离子或加入镁离子后可被阻断,这可能与钙离子内流有关。但在其后的试验中未发现 Ro 11-3128 的杀虫作用与虫的收缩相关。应用 $[^{14}\text{C}]$ 标记的 Ro 11-3128 观察到该药能与曼氏血吸虫皮层的特异苯二氮卓位点结合,而日本血吸虫则无此特性。新近的研究结果表明,吡喹酮和 Ro 11-3128 与血吸虫有不同的结合位点。虽然从 20 世纪 80 年代中期至今陆续有关 Ro 11-3128 的上述或其他方面的作用机制的研究,但因该药有镇静、睡眠作用,所以未作进一步发展。新近合成 2- 和 4- 位取代的甲胺西洋,体外试验有麻痹虫体和杀虫作用,但尚未有体内试验的报道<sup>[45]</sup>。

没药(myrrh)是一种油胶树脂,由没药树(*Commiphora molmol* Engier)的茎提取所得。Mirazid<sup>®</sup>系其商品名,2001 年起在埃及用该药治疗肝吸虫病和血吸虫病,其治疗作用尚不清楚,抗血吸虫病作用尚有争议,主要是动物实验和临床观察存在有效和无效截然不同的结果,故须重新对没药进行实验和临床疗效的评价<sup>[39]</sup>。最近 Abdul-Ghani 等<sup>[66]</sup>对没药的安全性、在埃及的实验和临床治疗吸虫感染的疗效、对吸虫中间宿主螺类的杀灭作用及可能的作用方式等进行了综述。

## 7 结语

长期以来,人们都希望通过已知有效抗血吸虫药物的作用机制,寻求药物作用的靶部位,用以设计新药。自 1918 年酒石酸锑钾用于治疗血吸虫病,开拓了血吸虫病的化疗后,直至吡喹酮在内的一些抗血吸虫药物的出现和应用,所有有关药物杀虫机制的研究都是围绕这一目的进行探讨,但鲜有成功案例。就吡喹酮而言,血吸虫的  $\text{Ca}^{2+}$  通道是其惟一的作用分子靶部分,但确切的作用机制尚未阐明<sup>[23,67]</sup>。近年来一些研究者通过对血吸虫抗氧化系统的研究,通过生物化学和遗传学方法寻求哺乳动物和血吸虫在消除活性氧分子的酶系统之间的差异,发现血吸虫将哺乳动物消除活性氧分子的 2 个独立的 TrxR 和 GR 酶系统合并为单一的 TGR。通过一系列生化、酶学和抑制剂的实验观察,设想 TGR 可能是血吸虫的一个重要的酶和药物的作用靶,继而通过定量、高通量筛选,发现恶二唑-2-氧化物的化合物 9 (furoxan)不仅低浓度有很好的体外杀虫作用,体内试验对不同发育期童虫和

成虫均有很好的疗效,从而为进一步发展新药提供了坚实的基础。这一发现受到普遍关注<sup>[42,68,69]</sup>。由于报道的化合物 9 是腹腔注射,疗程为 5 d,故还有待于向口服、单剂和短疗程方向发展。

自吡喹酮问世后,除蒿甲醚和青蒿琥酯在 20 世纪末被发展为预防血吸虫病药物外,发展新的抗血吸药物几乎沉寂了 20 余年。直至 2007 年,一种用于治疗非洲锥虫病的半胱氨酸蛋白酶抑制剂(K11777),被报道腹腔注射对小鼠的曼氏血吸虫童虫有很好的疗效,但对成虫的疗效差。同时又由于 K1177 的疗程长[2 次/dx (2~28) d],似无进一步发展的前景,但提示可从组织蛋白酶抑制剂寻求有效的抗血吸虫药物<sup>[57]</sup>。同年,由简化青蒿素结构而合成的螺金刚烷臭氧化物(OZ 化合物)不仅有很好的抗疟作用,而且对血吸虫亦有效。这类化合物和青蒿素类化合物均为过氧化物,它们在抗血吸虫方面有相似之处,即单剂对小鼠体内不同发育期曼氏血吸虫童虫有很好的杀灭作用,但对成虫的作用较蒿甲醚为差或无效。在体外杀虫方面,此类化合物大部分需与血红素伍用才显示抗血吸虫作用,少数则有直接的杀虫作用,而且与这些药物的体内杀虫作用无相关性。有趣的是,OZ 化合物对大鼠感染曼氏血吸虫和日本血吸虫的童虫和成虫均有效,且以童虫较敏感<sup>[60]</sup>。由于上述 OZ 化合物对感染血吸虫成虫期的小鼠疗效差,故未能作进一步的发展。

由上述可见,近年来一些抗血吸虫新药的发展均与抗疟药有关联。疟原虫和血吸虫是两种完全不同的寄生虫,其共同点是两者均需要从消化宿主的血红蛋白中获取营养,这也是青蒿素类药物和 OZ 化合物对血吸虫都有效的基础。在对其他抗疟药的筛选中发现了甲氟喹的抗血吸虫病作用。这一发现的意义是:①甲氟喹是一类新型的抗血吸虫病药物,它与青蒿素类和 OZ 化合物不同,对不同发育期血吸虫童虫和成虫均有相似的杀灭作用;②在等剂量下甲氟喹的疗效优于吡喹酮,前者可用于治疗和预防,而后者则仅用于治疗。从动物试验结果评价,甲氟喹是现有抗血吸虫药物中最好的一个,但由于它是现用的抗疟药,目前多采用与青蒿琥酯伍用治疗疟疾,而剂量大则有神经和精神等不良反应<sup>[70]</sup>,故用以发展为临床治疗血吸虫病药物有一定难度。因此一方面要通过其衍生物或类似物的合成发展低毒和可用于预防及治疗的抗血吸虫药物,另一方面则要在甲氟喹抗血吸虫病作用的基础上,探讨甲氟喹的杀虫机制,特别是涉及血吸虫的肠管受损,与肠相关的组织蛋白酶和肠管内血红蛋白的代谢和血红素的结晶化等,后者被认为与奎宁和奎

尼丁抗血吸虫童虫有关, 这些都是值得我们关注的。

参考文献

[1] Fenwick A. New initiatives against Africa's worms[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2006, 100(3): 200-207.

[2] Steinmann P, Keiser J, Bos R, et al. Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk[J]. Lancet Infect Dis, 2006, 6(7): 411-425.

[3] Chitsulo L, Engels D, Montresor A, et al. The global status of schistosomiasis and its control[J]. Acta Trop, 2000, 77(1): 41-51.

[4] World Health Organization. The control of schistosomiasis[C]// Report of a WHO Committee. WHO Tech Rep Series 728. Geneva: WHO, 1985: 1-113.

[5] Huang YX, Xiao SH. Praziquantel, an Anthelmintic Drugs Research and Application[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008: 1-16. (in Chinese)  
(黄一心, 肖树华, 主编. 抗蠕虫药吡喹酮的研究与应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 1-16.)

[6] Yue WJ, You JQ, Mei JY. Prophylactic activity of praziquantel in animals infected with *Schistosoma japonicum*[J]. Acta Pharmacol Sin, 1985, 6(3): 186-188. (in Chinese)  
(乐文菊, 尤纪青, 梅静艳. 吡喹酮预防动物日本血吸虫病的作用[J]. 中国药理学报, 1985, 6(3): 186-188.)

[7] Sabah AA, Fletcher C, Webbe G, et al. *Schistosoma mansoni*: chemotherapy of infections of different ages[J]. Exp Parasitol, 1986, 61(3): 294-230.

[8] Xiao SH, Yue WJ, Yang YQ, et al. Susceptibility of *Schistosoma japonicum* of different developmental stages to praziquantel [J]. Chin Med J, 1987, 100(9): 759-768.

[9] Wu Z, Bu K, Yuan L, et al. Factors contributing to reinfection with schistosomiasis japonica after treatment in the lake region of China[J]. Acta Trop, 1993, 54(2): 83-88.

[10] Dabo A, Doucoure B, Koita O, et al. Reinfection by *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni* despite repeated praziquantel office treatment in Niger, Mali[J]. Med Trop(Mars), 2000, 60(4): 351-355.

[11] Danso-Appiah A, de Vlas SJ. Interpreting low praziquantel cure rates of *Schistosoma mansoni* infections in Senegal[J]. Trends Parasitol, 2002, 18(3): 125-129.

[12] N'Goran EK, Gnaka HN, Tanner M, et al. Efficacy and side-effects of two praziquantel treatments against *Schistosoma haematobium* infection, among schoolchildren from Côte d'Ivoire[J]. Ann Trop Med Parasitol, 2003, 97(1): 37-51.

[13] Cioli D, Pica-Mattoccia L. Praziquantel[J]. Parasitol Res, 2003, 90(Suppl): 3-9.

[14] Doenhoff MJ, Pica-Mattoccia L. Praziquantel for the treatment of schistosomiasis: its use for control in areas with endemic disease and prospects for drug resistance[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2006, 4(2): 199-210.

[15] Xiao SH. Development of antischistosomal drugs in China, with particular consideration to praziquantel and the artemisinins[J]. Acta Trop, 2005, 96(2-3): 153-167.

[16] Xiao SH, Booth M, Tanner M. The prophylactic effects of artemether against *Schistosoma japonicum* infections[J]. Parasitol Today, 2000, 16(3): 122-126.

[17] Utzinger J, Xiao SH, Tanner M, et al. Artemisinins for schistosomiasis and beyond[J]. Curr Opin Investig Drugs, 2007, 8(2): 105-116.

[18] Fenwick A, Savioli L, Engels D, et al. Drugs for the control of parasitic diseases: current status and development in schistosomiasis[J]. Trends Parasitol, 2003, 19(11): 509-515.

[19] Utzinger J, Keiser J. Schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis: common drugs for treatment and control[J]. Expert Opin Pharmacother, 2004, 5(2): 263-285.

[20] Chen MG. Use of praziquantel for clinical treatment and morbidity control of schistosomiasis japonica in China: a review of 30 years' experience[J]. Acta Trop, 2005, 96(2-3): 168-176.

[21] Greenberg RM. Are Ca<sup>2+</sup> channels targets of praziquantel action? [J]. Int J Parasitol, 2005, 35(1): 1-9.

[22] Jeziorski MC, Greenberg RM. Voltage-gated calcium channel subunits from platyhelminths: potential role in praziquantel action[J]. Int J Parasitol, 2006, 36(6): 625-632.

[23] Doenhoff MJ, Cioli D, Utzinger J. Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis[J]. Curr Opin Infect Dis, 2008, 21(6): 659-667.

[24] Fenwick A, Webster JP. Schistosomiasis: challenges for control, treatment and drug resistance[J]. Curr Opin Infect Dis, 2006, 19(6): 577-82.

[25] Xiao SH. Study progress on the mode of action of praziquantel against schistosomes[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2007, 25(6): 492-502. (in Chinese)  
(肖树华. 吡喹酮抗血吸虫作用的研究进展[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2007, 25(6): 492-502.)

[26] Caffrey CR. Chemotherapy of schistosomiasis: present and future [J]. Curr Opin Chem Biol, 2007, 11(4): 433-439

[27] Ronketti F, Ramana AV, Xia CM, et al. Praziquantel derivatives I: Modification of the aromatic ring[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17(15): 4154-4157.

[28] Xiao SH. Impact of host factors on the schistosome-killing process induced by praziquantel [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2008, 26(3): 217-225. (in Chinese)  
(肖树华. 宿主因素在吡喹酮抗血吸虫过程中的作用[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2008, 26(3): 217-225.)

[29] Zhang L, Zhou XN. Research progress on the action of praziquantel on voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channel in schistosome [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2008, 26(1): 58-62. (in Chinese)  
(张玲, 周晓农. 吡喹酮对血吸虫电压门控 Ca<sup>2+</sup>通道作用的研究进展[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2008, 26(1): 58-62.)

[30] Doenhoff MJ, Hagan P, Cioli D, et al. Praziquantel: its use in control of schistosomiasis in sub-Saharan Africa and current research needs[J]. Parasitology, 2009, 136(13): 1-11.

[31] Xiao SH, Hotez PJ, Tanner M. Artemether, an effective new agent for chemoprophylaxis against schistosomiasis in China: its *in vivo* effect on the biochemical metabolism of the Asian schistosome[J]. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth, 2000, 31(4): 724-732.

[32] Utzinger J, Xiao S, N'Goran EK, et al. The potential of artemether for the control of schistosomiasis[J]. Int J Parasitol, 2001, 31(14): 1549-1562.

[33] Utzinger J, Xiao S, Keiser J, et al. Current progress in the development and use of artemether for chemoprophylaxis of major human schistosome parasites[J]. Curr Med Chem, 2001, 8(15): 1841-1860.

[34] Xiao S, Tanner M, N'Goran EK, et al. Recent investigations of artemether, a novel agent for the prevention of schistosomiasis japonica, mansoni and haematobia[J]. Acta Trop, 2002, 82(2): 175-181.

[35] Wu TX, Liu GJ, Zhang MM, et al. Systematic review of benefits and harms of artemisinin-type compounds for preventing schistosomiasis[J]. Chin Med J, 2003, 83(14): 1219-1224.

[36] Xiao SH. Study on prevention and cure of artemether against schistosomiasis[J]. Chin J Schisto Control, 2005, 17(4): 310-320. (in Chinese)  
(肖树华. 蒿甲醚防治血吸虫病的研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2005, 17(4): 310-320.)

[37] Cioli D, Pica-Mattoccia L, Archer S. Antischistosomal drugs: past, present and future?[J]. Pharmacol Ther, 1995, 68(1): 35-38.

[38] Cioli D. Chemotherapy of schistosomiasis: an update[J]. Parasitol Today. 1998, 14(10): 418-422.

[39] Abdul-Ghani RA, Loutfy N, Hassan A. Current chemotherapy arsenal for schistosomiasis mansoni: alternatives and challenges[J]. Parasitol Res, 2009, 104: 955-965.

[40] Alger HM, Williams DL. The disulfide redox system of *Schistos-*

- oma mansoni* and the importance of a multifunctional enzyme, thioredoxin glutathione reductase[J]. Mol Biochem Parasitol, 2002, 121(1): 129-139.
- [41] Kuntz AN, Davioud-Charvet E, Sayed AA, et al. Thioredoxin glutathione reductase from *Schistosoma mansoni*; an essential parasite enzyme and a key drug target[J]. PLoS Med, 2007, 4(6): e206.
- [42] Sayed AA, Simeonov A, Thomas CJ, et al. Identification of oxadiazoles as new drug leads for the control of schistosomiasis[J]. Nat Med, 2008, 14(4): 407-412.
- [43] Simeonov A, Jadhav A, Sayed AA, et al. Quantitative high-throughput screen identifies inhibitors of the *Schistosoma mansoni* redox cascade[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2008, 2(1): e127.
- [44] Cioli D, Valle C, Angelucci F, et al. Will new antischistosomal drugs finally emerge?[J]. Trends Parasitol, 2008, 24(9): 379-382.
- [45] Abdul-Ghani RA, Loutfy N, Hassan A. Experimentally promising antischistosomal drugs; a review of some drug candidates not reaching the clinical use[J]. Parasitol Res, 2009, 105(4): 899-906.
- [46] Angelucci F, Sayed AA, Williams DL, et al. Inhibition of *Schistosoma mansoni* thioredoxin glutathione reductase by auranofin: Structural and kinetic aspects[J]. J Biol Chem, 2009, 284(42): 28977-28985.
- [47] Cerecetto H, Porcal W. Pharmacological properties of furoxans and benzofuroxans; recent developments[J]. Mini Rev Med Chem, 2005, 5(1): 57-71.
- [48] Rai G, Sayed AA, Lea WA, et al. Structure mechanism insights and the role of nitric oxide donation guide the development of oxadiazole-2-oxides as therapeutic agents against schistosomiasis [J]. J Med Chem, 2009, 52(20): 6474-6483.
- [49] Keiser J, Chollet J, Xiao SH, et al. Mefloquine-an aminoalcohol with promising antischistosomal properties in mice[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2009, 3(1): e350
- [50] Van Nassauw L, Toovey S, Op V, et al. Schistosomicidal activity of the antimalarial drug, mefloquine, in *Schistosoma mansoni*-infected mice[J]. Travel Med Infect Dis, 2008, 6(5): 253-258
- [51] Xiao SH, Mei JY, Jiao PY. Further study on mefloquine concerning several aspects in experimental treatment of mice and hamsters infected with *Schistosoma japonicum*[J]. Parasitol Res, 2009, 106(1): 131-138.
- [52] Xiao SH, Chollet J, Utzinger J, et al. Effect of single-dose oral mefloquine on the morphology of adult *Schistosoma japonicum* in mice[J]. Parasitol Res, 2009, 105(3): 853-861.
- [53] Zhang CW, Xiao SH, Utzinger J, et al. Histopathological changes in adult *Schistosoma japonicum* harbored in mice treated with a single dose of mefloquine[J]. Parasitol Res, 2009, 104(6): 1407-1416.
- [54] Xiao SH, Zhang CW. Histopathological alteration of juvenile *Schistosoma japonicum* in mice following treatment with single-dose mefloquine[J]. Parasitol Res, 2009, 105(6):1733-1740.
- [55] Xiao SH, Mei JY, Jiao PY. The *in vitro* effect of mefloquine and praziquantel against juvenile and adult *Schistosoma japonicum*[J]. Parasitol Res, 2009 Oct 23. [Epub ahead of print]
- [56] Keiser J, Odermatt P, Tesana S. Dose-response relationships and tegumental surface alterations in *Opisthorchis viverrini* following treatment with mefloquine *in vivo* and *in vitro*[J]. Parasitol Res, 2009, 105(1): 261-266.
- [57] Abdulla MH, Lim KC, Sajid M, et al. Schistosomiasis mansoni: novel chemotherapy using a cysteine protease inhibitor[J]. PLoS Med. 2007, 4(1): e14.
- [58] Yang ZS, Li Y. Recent advances in the study of artemisinin-related 1,2,4-trioxanes and ozonides (1,2,4-trioxolanes) as antimalarials[J]. Acta Pharmaceutica Sin, 2005, 40(12): 1057-1063. (in Chinese)  
(杨忠顺, 李英. 与青蒿素相关的 1,2,4-三恶烷及臭氧化物的研究进展[J]. 药学报, 2005, 40(12): 1057-1063.)
- [59] Vennerstrom JL, Arbe-Barnes S, Brun R, et al. Identification of an antimalarial synthetic trioxolane drug development candidate [J]. Nature. 2004, 430(7002): 900-904.
- [60] Xiao SH, Keiser J, Chollet J, et al. *In vitro* and *in vivo* activities of synthetic trioxolanes against major human schistosome species[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(4): 1440-1445.
- [61] Keiser J, Utzinger J, Tanner M, et al. The synthetic peroxide OZ78 is effective against *Echinostoma caproni* and *Fasciola hepatica*[J]. J Antimicrob Chemother, 2006, 58(6): 1193-1197.
- [62] Keiser J, Xiao SH, Dong Y, et al. Clonorchicidal properties of the synthetic trioxolane OZ78[J]. J Parasitol, 2007, 93(5): 1208-1213.
- [63] Keiser J, Xiao SH, Smith TA, et al. Combination chemotherapy against *Clonorchis sinensis*: experiments with artemether, artesunate, OZ78, praziquantel, and tribendimidine in a rat model[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(9): 3770-3776.
- [64] Corrêa Soares JB, Menezes D, Vannier-Santos MA, et al. Interference with hemozoin formation represents an important mechanism of schistosomicidal action of antimalarial quinoline methanols [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2009, 3(7): e477.
- [65] Huang YX, Cai DD. A hopeful and new antischistosomal drug Ro 15-5458[J]. Chin J Schisto Control, 1995, 7(2): 125-126. (in Chinese)  
(黄一心, 蔡德弟. 一个有希望的抗血吸虫新化合物 Ro15-5458[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 1995, 7(2): 125-126.)
- [66] Abdul-Ghani RA, Loutfy N, Hassan A. Myrrh and trematodes in Egypt: an overview of safety, efficacy and effectiveness profiles [J]. Parasitol Int, 2009, 58(3): 210-214.
- [67] Pica-Mattocchia L, Orsini T, Basso A, et al. *Schistosoma mansoni*: lack of correlation between praziquantel-induced intra-worm calcium influx and parasite death[J]. Exp Parasitol, 2008, 119(3): 332-335.
- [68] Loukas A, Bethony JM. New drugs for an ancient parasite[J]. Nat Med, 2008, 14(4):365-367.
- [69] Shadan S. Drug discovery: schistosome treatment[J]. Nature, 2008, 452(7185): 296.
- [70] Toovey S. Mefloquine neurotoxicity: a literature review[J]. Travel Med Infect Dis, 2009, 7(1): 2-6.

(收稿日期: 2009-10-14 编辑: 盛慧锋)