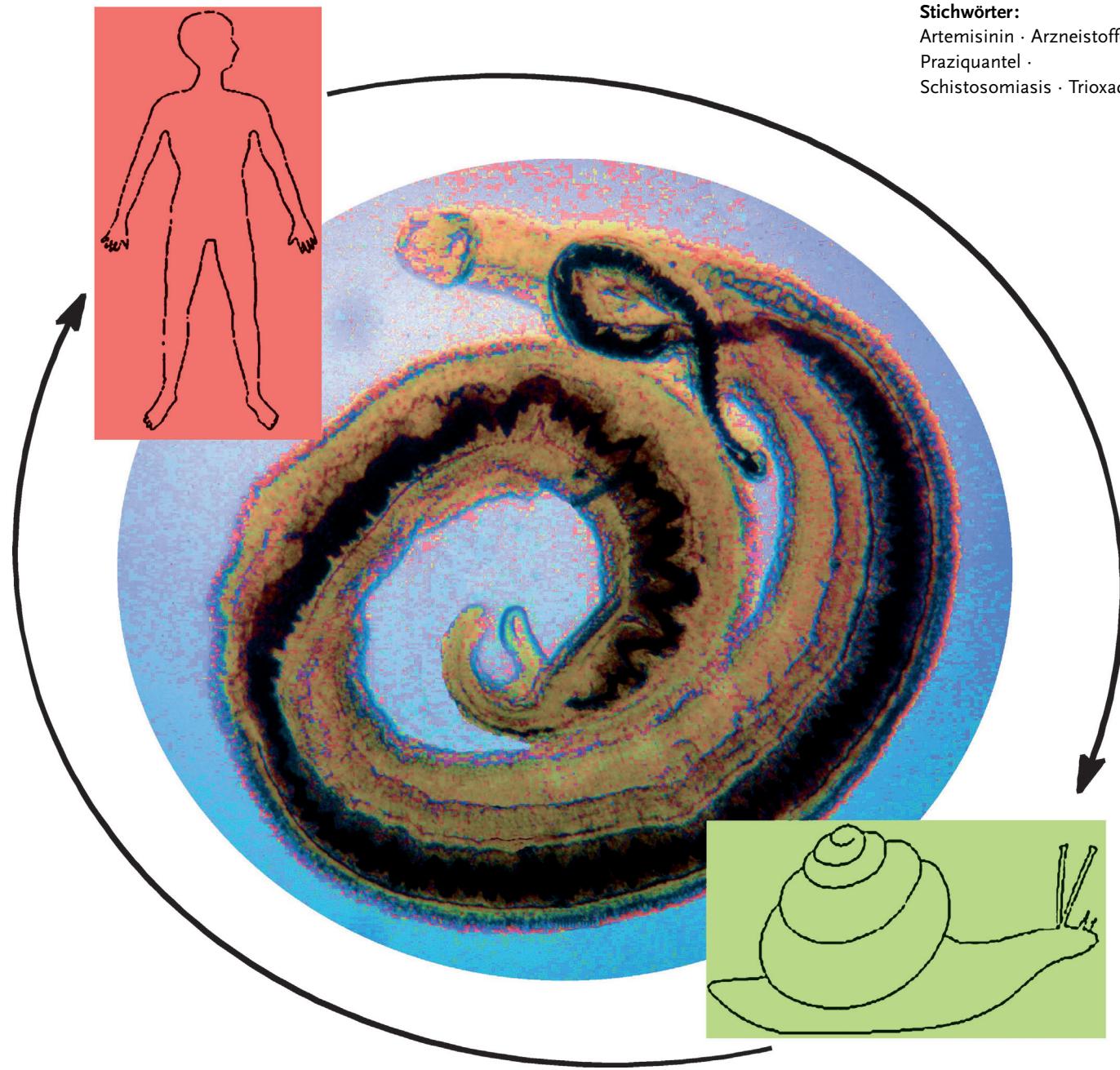


Chemotherapie gegen Schistosomiasis

Sophie A.-L. Thétiot-Laurent, Jérôme Boissier, Anne Robert* und
Bernard Meunier*

Stichwörter:
Artemisinin · Arzneistoffe ·
Praziquantel ·
Schistosomiasis · Trioxaquin



Schistosomiasis (Bilharziose) ist nach Malaria die zweithäufigste Krankheit in Afrika. Schätzungsweise 600 Millionen Menschen in über 70 Ländern in den Tropen und Subtropen haben ein hohes Ansteckungsrisiko mit mindestens 200 000 Todesfällen aus 200 Millionen Infizierten pro Jahr. Der Übertragungsweg sämtlicher Schistosoma-Arten ist der direkte Kontakt mit der in Süßwasser frei schwimmenden Form des Parasiten, den in Schnecken heranwachsenden Zerkarien. In den Blutgefäßen des Wirts versorgen sich die Schistosoma-Larven und adulte Schistosomen durch den Verdau von roten Blutkörperchen mit Aminosäuren. Impfungen gegen Schistosomiasis waren bislang nicht erfolgreich, und zur Eindämmung der Krankheit existiert zurzeit nur ein einziger Arzneistoff, das seit über 35 Jahren im Einsatz befindliche Praziquantel. Neuerdings kommen zudem Bedenken über ein mögliches Nachlassen der Wirksamkeit der Substanz auf. Deshalb müssen unbedingt neue und sichere antischistosomal Arzneistoffe entwickelt werden, die in Zweifachtherapien zusammen mit Praziquantel eingesetzt werden.

1. Was ist Schistosomiasis (Bilharziose)?

Im Jahr 1850 reiste Theodor Maximilian Bilharz, nach seiner Promotion in Medizin an der Universität Tübingen, mit einer deutschen Wissenschaftsexpedition nach Ägypten und wurde dort Leiter der Chirurgie am Kasr El-Ain Hospital und der vom französischen Chirurgen Antoine Clot in Kairo eingerichteten Medical School.^[1] Bei der Obduktion eines Ägypters fand er 1951 im Pfortaderblut des Toten lange weiße Würmer, die als eine bis dato unbekannte Trematodenart *Distomum haematobium* identifiziert und später in *Schistosum haematobium* umbenannt wurden.^[2] Die weitere Autopsie zeigte eigenständige Schleimhautveränderungen der Blase, des Darms, des Harnleiters und der Samenblase. In Briefen an seinen Zoologielehrer Carl T. von Siebold vom Mai 1851 bis Januar 1853 beschrieb Bilharz erstmalig auch die Eier von *Schistosoma mansoni*.^[1] Diese Spezies wurde dann bemerkenswerterweise bis zu ihrer Identifizierung als unabhängige Art 1907 nie wieder schriftlich erwähnt.

Die Begriffe Schistosomiasis und Bilharziose beschreiben eine chronische Krankheit, die von im Blut lebenden Saugwürmern (Trematoden) der Gattung *Schistosoma* (Pärchenegel) verursacht wird. Es gibt fünf Schistosoma-Hauptarten, die den Menschen infizieren können: *S. haematobium* (Afrika), *S. mansoni* (Afrika und Südamerika), *S. intercalatum* (Westafrika) und *S. japonicum* sowie *S. mekongi* (Asien).

Man weiß, dass Schistosomiasis schon in der Antike in Ägypten und China auftrat. Tatsächlich ist sie die nach Malaria zweithäufigste Krankheit in Afrika und tritt in über 70 Ländern in den Tropen und Subtropen auf.^[3–5] Von 2006 bis 2010 stieg die Zahl der gegen Schistosomiasis behandelten Menschen von 12.4 Millionen auf 33.5 Millionen,^[5b] vor allem aufgrund gezielter Therapiekampagnen der Weltgesundheitsorganisation (WHO). Geschätzte 600 Millionen Menschen haben ein hohes Ansteckungsrisiko, und von den 200 Millionen Infizierten (85 % südlich der Sahara) sterben

Aus dem Inhalt

1. Was ist Schistosomiasis (Bilharziose)?	8093
2. Transmission der Krankheit	8094
3. Hämoglobinverdau und Bildung von Hämozoin	8096
4. Anthelminthische Therapien	8097
5. Zukünftige Behandlungsmöglichkeiten?	8106
6. Schlussfolgerung	8110

mindestens 200 000 pro Jahr durch die schweren Auswirkungen der Infektion wie Fibrose und Verkalkung des Harntrakts, Nierenversagen oder Blasenkrebs (infolge von *S. haematobium*) sowie akute Hepatitis, Leber- und Darmfibrose und portale Hypertonie (*S. mansoni*). Ungefähr 4 % der unbehandelten mit *S. mansoni* Infizierten entwickeln eine schwere Schistosomiasis an Leber und Milz,^[6] und nach jüngsten Studien wurde Erkrankungshäufigkeit (Morbidität) und Sterblichkeit (Mortalität) bislang deutlich unterschätzt.^[7] Bei Schulkindern im Südsudan wurde 2007 eine Infektionshäufigkeit (Prävalenz) mit *S. haematobium* und *S. mansoni* von 73 % bzw. 70 % festgestellt.^[8] In der Volksrepublik China trat Schistosomiasis trotz eines in den 1950er Jahren initiierten nationalen Kontrollprogramms in den frühen 2000ern wieder auf und gilt dort mit 15 Millionen Fällen als die schwerwiegendste von Parasiten verursachte Krankheit.^[10,11] Stark betroffen ist auch Ägypten mit einer Prävalenz von über 60 % in den ländlichen Gebieten Unterägyptens.^[12]

Außer in den Gegenden, in denen Schistosomiasis als ein offensichtliches Gesundheitsproblem erkannt wurde, z. B. in Brasilien,^[13,14] China, Ägypten, den Philippinen^[15] und einigen afrikanischen Regionen (Nordsenegal und Uganda), wird

[*] Dr. S. A.-L. Thétiot-Laurent, Dr. A. Robert, Prof. Dr. B. Meunier
Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS
205 route de Narbonne, BP 44099, 31077 Toulouse cedex 4 (Frankreich)
E-Mail: anne.robert@lcc-toulouse.fr
bmeunier@lcc-toulouse.fr

Dr. J. Boissier
Université de Perpignan
Via Domitia, Perpignan, 66860 (Frankreich)
Dr. J. Boissier
CNRS, UMR 5244, Écologie et Évolution des Interactions
Perpignan, 66860 (Frankreich)
Prof. Dr. B. Meunier
Guangdong University of Technology, Department of Chemical Engineering, no. 100 Waihuan Xi road, Education Mega Center, Panyu District, Guangzhou (P.R. China)

die Krankheit seitens der Gesundheitsbehörden oft nicht als oberster Dringlichkeit eingestuft. Vor allen in den Ländern südlich der Sahara gilt eine systematische Eindämmung der Krankheit als nicht bezahlbar.

Hinzu kommt der steigende Bedarf der Bevölkerung an Wasser, vor allem zum Zweck der Stromversorgung und Bewässerung, was die Übertragung der Infektionserreger (Transmission) befördert. Durch ökologische Veränderungen und Bewässerung sind *S. haematobium* und *S. mansoni* mit- samt ihren Schneckenvektoren in viele Regionen Afrikas vorgedrungen.^[16,17] Andererseits scheint sich das Habitat der *Bulinus*-Schnecken gleichsam geändert zu haben, was den Rückgang von *S. haematobium* in Ägypten erklären könnte.^[4] Die geographische Epidemiologie der Schistosomiasis in Afrika ist in einem Übersichtsartikel dargestellt.^[18] In Südkorea kann die Einführung größerer Wasserrückhaltesysteme ebenfalls zu einer erhöhten Transmission von *S. japonicum* beigetragen haben, ebenso wie wahrscheinlich Wanderungsbewegungen der Wirtschnecken von *S. mansoni* in Nordostbrasilien infolge von Akklimatisierungen.^[17]

Verursacht durch die zunehmende Mobilität des Menschen wurden auch bereits Fälle von Schistosomiasis in Metropolregionen Amerikas und Europas registriert, allerdings gibt es noch keine genauen Informationen über die Infektionsraten unter Reisenden und Immigranten gibt.^[19] Glücklicherweise können die als reiner Zwischenwirt dienenden Schnecken in den gemäßigten Klimazonen nicht überleben, sodass der Lebenszyklus in diesen Ländern unterbrochen ist.

Da jedoch vielfach auch andere Wirtstiere infrage kommen (Schwein, Rind, Katze und Nager), ist eine effektive Eindämmung der Krankheit kompliziert. In vielen Ländern, auch in europäischen, sind Rinder und Schafe befallen.^[20] Allerdings kommt es lediglich bei *S. japonicum* zu einer nennenswerten zoonotischen Transmission; als Wirte verdächtigt werden über 40 Arten von Wild- und Haustieren. Eine Chemotherapie gegen Schistosomiasis kann ineffizient sein, wenn eine rasche Neuinfektion durch tierische Wirte auftritt. Mehr als zwischen anderen Säugern besteht z.B. bei *S. japonicum* eine Transmission zwischen Mensch und Rind.^[21,22]



Bernard Meunier, geboren 1947, studierte an den Universitäten Montpellier und Paris-Orsay. Er absolvierte ein Postdoktorat in Oxford und wechselte 1979 zum Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS. Unter anderem erforscht er die Wirkungsmechanismen von Substanzen gegen Malaria und Schistosomiasis und untersucht spezifische Kupfer-Chelatbildner als mögliche Wirkstoffe gegen Alzheimer. Seit 1999 ist er Mitglied der Französischen Akademie der Wissenschaften und seit 2005 Foreign Member of the Polish Academy of Science. Er ist Mitbegründer der Fa. Palumed (2000–2012). Derzeit ist er Emeritus Director of Research am CNRS und außerordentlicher Professor an der Guangdong University of Technology (China).

2. Transmission der Krankheit

Trotz der frühen Beschreibung der Schistosomiasis um 1850 herum, wurden die Übertragungswege und der Zwischenwirt der Schistosomiasis erst Anfang des 20. Jahrhunderts aufgeklärt. Sämtliche Schistosoma-Arten gelangen in den Menschen durch Kontakt mit Wasser, das mit Zerkarien infiziert ist. Die Zerkarien sind die frei schwimmende Larvenform des Parasiten und werden von einer Schnecke als Zwischenwirt freigesetzt.^[19a] Theoretisch sollte daher eine Unterbrechung des Lebenszyklus leicht sein: Ließe sich verhindern, dass Wasser mit Urin und Fäkalien mitsamt der darin enthaltenen Schistosoma-Eier verunreinigt wird, wäre die Transmission des Parasiten unterbrochen. Eier, die nicht das Wasser erreichen, trocknen aus und spielen in der Transmission keine Rolle mehr. Schlüsselparameter für eine Langzeiteindämmung der Krankheit sind daher die Erziehung von Kindern zur Vermeidung von Wasserverschmutzung sowie gleichzeitig die Bereitstellung von besseren sanitären Anlagen und Leitungswasser.

2.1. Schistosoma-Zyklus im Zwischenwirt Wasserschnecke (Molluske)

Bei Kontakt mit Wasser setzen die mit den menschlichen Exkreten ins Wasser gelangten Eier mikroskopisch kleine Wimpernlarven frei (Mirazidien). Diese winzigen Larven müssen eine bestimmte Wasserschnecke finden und in sie hineingelangen, um zu überleben. Hauptschneckenarten der humanen Schistosoma-Arten sind *Bulinus* (*S. haematobium* und *S. intercalatum*), *Biomphalaria* (*S. mansoni*), *Oncomelania* (*S. japonicum*) und *Neotricula* (*S. mekongi*). Sobald das Mirazidium im Schneckenwirt ist, wandelt es sich in eine Sporozyste um und vervielfältigt sich. Tochtersporozysten wandern dann in die Verdauungsorgane der Molluske und transformieren in einem ungeschlechtlichen Reproduktionszyklus zu Tausenden von neuen Parasitenlaven, den Zerkarien, die von der Schnecke in das Wasser ausgeschieden werden (Abbildung 1). Ab der vierten Woche nach Mirazidienbefall setzt eine Schnecke täglich etwa 1500 Zerkarien frei. Diese ungeschlechtliche Vermehrung erlaubt dem Parasiten eine drastische Erhöhung seiner Population, einher-



Anne Robert, geboren 1959, studierte an der Chemical Engineering School of Toulouse und der University of Toulouse und wechselte 1985 in die Forschungsgruppe von Bernard Meunier am Laboratoire de Chimie de Coordination. Derzeit ist sie Forschungsdirektorin am CNRS. Ihr Forschungsschwerpunkt liegt auf chemischen Modellen der Häminzyme und der Rolle von Redoxmetallen in der Biologie. Insbesondere ist sie an den Peroxid-Wirkungsmechanismen von Antimalariawirkstoffen interessiert und an den Möglichkeiten, Eisen(II)-Häm als Target für die Entwicklung von Arzneistoffen gegen parasitäre Krankheiten einzusetzen.

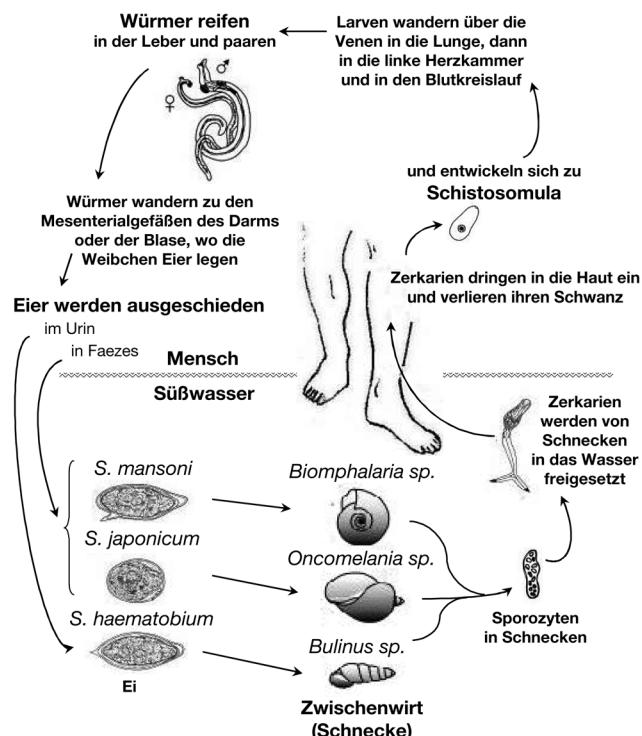


Abbildung 1. Lebenszyklus der Schistosomen.

gehend mit einer großen Chance zur Neuinfektion von Menschen.^[23]

Es gab zahlreiche Versuche zur Eindämmung der Schnecken mittels Molluskiziden und zur Einschränkung ihres Habitats. Allerdings sind die entsprechenden Maßnahmen in Anbetracht der weit verstreut liegenden Wasserhabitatem teuer und erfordern häufige Wiederholungen, mit deutlichen Folgen für die Umwelt. In den 1960er Jahren wurde Niclosamid (Bayluscid) als Molluskizid in einigen afrikanischen Staaten intensiv eingesetzt.^[4,24] Das Mittel wirkt nicht spezifisch gegen Mollusken und ist auch ein Fischgift, weshalb es für eine nachhaltige Langzeiteindämmung der Krankheit ungeeignet ist.^[25]

2.2. Schistosoma-Zyklus im Säuger-Zwischenwirt

Menschen infizieren sich bei Kontakt mit zerkarienkontaminiertem Wasser. Die Infektion erfolgt bei gewöhnlichen Aktivitäten wie Waschen, Erfrischen, Fischerei oder Landbewässerung. Weniger als eine Minute Kontakt reicht für die Larven aus, um die Hornzellschicht des Wirtes zu durchbohren und die menschliche Haut zu durchdringen.^[26,27] Dabei verlieren die Zerkarien ihren Gabelschwanz und gelangen als Schistosomula in die Kapillaren und Lymphgefäß. Bis zu 12 h nach der Infektion klagen die Betroffenen gelegentlich über ein Kribbeln oder leichten Hauausschlag, der auch als Badedermatitis (Zerkadiendermatitis) bezeichnet wird und durch die Reizung am Eintrittspunkt verursacht wird.

Über das Herz wandern die Schistosomula in den nächsten zwei oder drei Tagen in die Lunge.^[28] Am 15. Tag werden

sie vermehrt in der Leber nachgewiesen, wo sie sehr rasch wachsen und dann in den Pfortaderkreislauf ausgeschüttet werden. Die jungen Larven und adulten Schistosomen ernähren sich durch den Verdau von roten Blutkörperchen. Die Entwicklung ab der Penetration bis zur Reifung dauert 3 bis 4 Wochen. Anschließend paaren sich die Würmer, wobei der männliche Wurm das Weibchen vollkommen umschließt. Das Männchen transportiert seine Partnerin zu den Mesenterialvenen (*S. mansoni*, *S. japonicum* und *S. intercalatum*) oder zum Venenplexus der Harnblase (*S. haematobium*). Direkt unter der Schleimhaut von Darm- oder Urogenitaltrakt positioniert, legt das Weibchen 200 bis 2000 Eier am Tag. Die Eiproduktion erfolgt ab dem 40. Tag nach der Penetration. Aus dem Lumen der Blutgefäße gelangen die Eier dann in die Nachbargewebe und werden mit den Fäkalien (*S. mansoni*, *S. japonicum* und *S. intercalatum*) oder dem Urin (*S. haematobium*) ausgeschieden.^[23] Ein Wurm kann 5 bis 10 Jahre alt werden und ist durch verschiedene Mechanismen in der Lage, der Immunantwort des Wirtes zu entgehen.^[29]

2.3. Gesundheitliche Auswirkungen der Schistosomiasis

Die akute Schistosomiasis (Katayama-Syndrom) kommt in Gebieten mit hoher Transmissionsrate vor und manifestiert sich vier bis sechs Wochen nach der Infektion. Typische Symptome sind Hautödem, vergrößerte Leber und Milz, Fieber, Muskelschmerzen, trockener Husten und Eosinophilie (Vermehrung der absoluten Zahl der eosinophilen Granulozyten im Blut und Gewebe), die von einer überschreitenden systemischen Reaktion auf die wandernden Schistosomula ausgelöst wird. Wird die Krankheit chronisch, verschwinden die Symptome wieder. Da die Symptome häufig nicht spezifisch sind, wird oft falsch diagnostiziert. Das Ergebnis kann fatal sein; schwerste Krankheitsverläufe sind z.B. Myelopathien mit dauerhaften Schäden am Zentralnervensystem.

Leichte Schistosomiasen können asymptomatisch verlaufen. Frühe Anzeichen einer Erkrankung, wie sie bei *S. haematobium* und *S. mansoni* auftreten und vor allem Kinder im Schulalter betreffen, sind Anämien, verringertes Wachstum und verzögerte Entwicklung sowie schlechtere kognitive und schulische Leistungen. Klares Symptom einer Infektion mit *S. haematobium* ist das Auftreten von Blut im Urin (Hämaturie). Da die Eier von *S. mansoni* mit den Fäkalien ausgeschieden werden, treten bei schweren Infektionen Symptome des Darmtrakts wie Diarrhöen auf, die auch blutig verlaufen können. Keines dieser Symptome muss jedoch spezifisch der Schistosomiasis zugeschrieben werden, und nur aufgrund des klinischen Erscheinungsbilds ist die Diagnose schwierig. Lebensbedrohlich sind jedoch die späteren Auswirkungen der Schistosomiasis wie Blasenkrebs oder Nierenversagen sowie schwere Komplikationen an Leber und Milz.

Schistosomen-Eier haben einen Dorn, der das Gewebe bei Kontakt reizt und aufreißt. Das Gewebe kann die Eier auch vollständig inkludieren. Der Körper versucht, den Schaden zu reparieren und reagiert mit der Bildung von Granulomen, um die in Leber und anderen Gewebe abgelegten Eier wieder abzustoßen.^[29] Die Zahl der Granulomen

kann so groß werden, dass das Organ verkalkt und nicht mehr normal funktionsfähig ist. Dazu treten Abszesse auf, und infolge des Einschlusses von kleinen Gefäßen stirbt das Gewebe unter Geschwürbildung ab. Gelangen die Eier ins Gehirn und Rückenmark, wird der Krankheitsverlauf sehr schwer.^[30,31] Zudem ist der erwachsene *S. mansoni*-Wurm mit 0.3–0.4 mm Durchmesser und 8 mm Länge sehr groß im Verhältnis zum Durchmesser der Mesenterialvenen (1–4 mm). Mit solchen Hindernissen in den Blutgefäßen kann der Blutfluss massiv gestört werden, mit der Folge eines verstärkten Thromboserisikos.^[32]

Intestinale Schistosomiasen schwächen zudem offenbar auch die Immunreaktion auf andere Infektionserreger.^[33,34] Bei annähernd demselben Verbreitungsgebiet sind Koinfektionen von Schistosomiasis und Malaria üblich. Werden Mäuse mit *S. mansoni* und *Plasmodium berghei* koinfiziert, entwickelt sich *P. berghei* schneller und erreicht einen hohen Umlauf im Blut (Parasitämie). Dies verzögert seine Beseitigung durch das Malariamittel Chloroquin.^[35]

3. Hämoglobinverdau und Bildung von Hämozoin

3.1. Globin als Nährstoff

Die Schistosomen ernähren sich von den roten Blutkörperchen, aus denen sie Aminosäuren für Wachstum, Entwicklung und Reproduktion gewinnen.^[36,37] Die roten Blutkörperchen werden aufgenommen und in der Speiseröhre des Parasiten aufgelöst. Das freigesetzte Hämoglobin wird dann im vorderen Bereich des Darms (Zäkum) zu den Aminosäuren abgebaut, die der Parasit zum Proteinaufbau benötigt.^[38] Erwachsene Weibchen sind metabolisch aktiver als die Männchen und verdauen größere Mengen an roten Blutkörperchen.^[36,39]

Wahrscheinlich ist Hämoglobin das einzige Wirtprotein, das die Schistosomen mit Aminosäuren versorgen kann.^[40] In Mäusen, die mit *S. mansoni* infiziert wurden, wurde der Einbau von tritiertem L-Leucin aus markierten Retikulozyten in das Schistosomengewebe festgestellt. Dies zeigt, wie wichtig das Globin für die Aminosäureversorgung von *S. mansoni* ist.^[36] Auch *in vitro* führt die Zugabe von Globin in das Medium zu einem vermehrten Wachstum und längerer Überlebenszeit von *S. mansoni*.^[41]

3.2. Häm als Abfallprodukt

Mit dem Verdau von Hämoglobin wird dessen prosthetische Gruppe Häm freigesetzt. Häm ist für aerobe Organismen grundsätzlich gefährlich, da freies Eisen(II)-Häm molekularen Sauerstoff reduzieren kann. Die dabei gebildeten reduzierten Sauerstoffspezies (ROS, O₂^{•-}, H₂O₂ und HO[•]) können viele vitale Biomoleküle des Parasiten schädigen.

3.3. Entgiftung von Häm

Hämatophage Parasiten, die Häm nicht über den Oxygenaseweg katabolisieren können, wie *Plasmodium*^[42] und *Rhodnius*,^[43] entgiften das freie Häm durch Ablagerung als dunkelbraunes kristallines Pigment namens Hämozoin. Dieses Endprodukt des Hämoglobinverdaus sammelt sich im Darm des Schistosomen (Abbildung 2) und wird kontinuier-



Abbildung 2. Ein Schistosomenpaar. Das Weibchen, mit schwarzem Hämozoinpigment ganz ausgefüllt, sitzt in einer Bauchfalte des Männchens.

lich wieder ausgewürgt.^[41,44] Interessanterweise synthetisiert *S. mansoni* das Hämozoin nicht nur im adulten Entwicklungsstadium, sondern auch im frühen Larvenstadium nach der Humaninfektion.^[45,46]

3.4. Struktur von Hämozoin

Nach Studien von 1972 sind sich die Pigmente, die die Malaria- und Schistosomiasis-Parasiten beim Hämoglobinverdau bilden, „sehr ähnlich, wenn nicht identisch“.^[47] Nach einigen Kontroversen über die Struktur des Malariapigments wird nun angenommen, dass das gereinigte Hämozoin von *Plasmodium* aus Ferriprotoporphyrin IX besteht und keine weiteren Komponenten wie Protein oder Fettsäuren enthält.^[48] Damit ist es identisch zum synthetischen kristallinen β-Hämatin.^[49] In jüngerer Zeit wurden vergleichende Analysen des polymeren Hämpigments von *S. mansoni*, von β-Hämatin und von den Häm-Pigmenten anderer Blutparasiten wie *Plasmodium*, *Hämoproteus* und *Rhodnius* durchgeführt.^[47,50,51] Alle vier Hämpolymere wiesen im IR-Spektrum die gleichen charakteristischen Peaks der Eisencarboxylat-bindung auf. Im β-Hämatin bilden die Moleküle Dimere durch reziproke Carboxylatbindungen von Eisen mit dem Propionatrest der Porphyrinringe. Die Dimere bilden dann durch Wasserstoffbrücken Ketten (Abbildung 3).^[52,53]

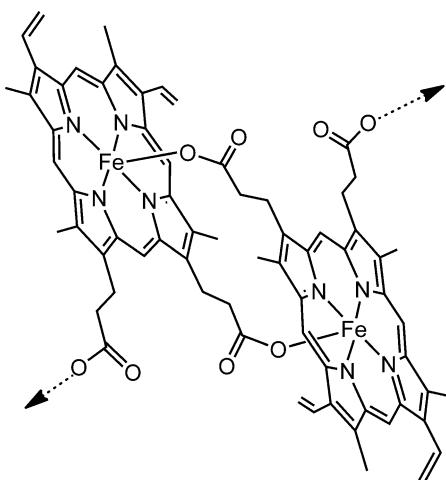


Abbildung 3. Struktur von Hämatozoin.

Anhand der für die Eisenpropionatbindung charakteristischen IR-Banden bei 1660 und 1210 cm^{-1} wurde die Polymerisation des Häms nachverfolgt.^[54] Kleine Unterschiede zwischen den vier Pigmenten wurden dennoch in der dreidimensionalen Struktur festgestellt, was eine gattungsspezifische Polymerbildung und Kettenverlängerung anzeigen.^[50]

Für die dimere Aggregationsform muss zunächst die Hälfte der Propionsäureketten des Häms dissoziieren. Bei *P. falciparum* geschieht dies in der Speisevakuole, deren pH-Wert nahe dem pK_a von Häm (4.8) liegt. Bei *Schistosoma* ist offenbar die Oberfläche von extrazellulären Lipiddropfen im Darmlumen an der Kristallisation des Hämatozoins beteiligt.^[55] Als Wirkstoff kommen daher Substanzen infrage, die sich störend auf die Hämatozoinbildung in *Schistosoma*, *Plasmodium* und *Rhodnius* auswirken.

4. Anthelminthische Therapien

4.1. Impfstoffe

Ein starkes Argument für die Entwicklung eines Impfstoffes ist die Tatsache, dass Schistosoma-Infektionen häufig lange unerkannt bleiben und sich schwerwiegende pathologische Erscheinungsbilder aufbauen können, bevor mit einer Chemotherapie begonnen wird. Zudem wirkt Praziquantel, der derzeit einzige effektive Wirkstoff, nicht bei allen Patienten zuverlässig und kann eine Neuinfektion nicht verhindern. Anders als andere Pathogene vervielfältigen sich die Schistosomen nicht im Säuger-Wirt. Hauptverursacher des pathologischen Erscheinungsbilds sind die Eier, die im Wirtsgewebe abgelegt werden, und die Pathologie verschlimmert sich ungefähr proportional zur Parasitenlast. Dies bedeutet, dass potenzielle Impfstoffe gegen Schistosomen nicht unbedingt die sterile Immunität als Ziel haben müssen. Nützlich wäre bereits eine merkliche Senkung der Wurmlast, z.B. durch Reduktion der Fertilität der Weibchen oder Vergrößerung der Viabilität der Eier.^[56] Nach solchen Impfstoffen wird seit langer Zeit gesucht. In den 1960er Jahren wurde ein Vakzin gegen Zerkarien von *S. mansoni* entdeckt, das bei

geimpften Personen einen Entwicklungsstopp des Erregers im Stadium der unreifen Würmer zur Folge hat. Leider dauerte der Schutz nur 7–30 Tage ab der Impfung.^[57]

Verschiedene Antigene, die als mögliche Impfstoffkandidaten galten, führten im Mausmodell zu weniger als 50%igem Schutz. Rekombinantes Sm-p80-Protein ergab im Pavian eine bis zu 58%ige prophylaktische Wirkung.^[58] Als Zielprotein wurde auch die Glutathion-S-Transferase von *S. mansoni* in Erwägung gezogen.^[59a] Derzeit gilt rekombinantes Sh28GST (Bilhvax, Eurogentec, Belgien), das sicher und immunogen ist, als bester Vakzinkandidat für die Harnwegsschistosomiasis. In Phase-I-Versuchen an gesunden Testpersonen wurden nach zwei Injektionen von jeweils $100\text{ }\mu\text{g}$ effektiv spezifische Antikörper gegen mehrere Sh28GST-Isoformen gebildet. Klinische Phase-II-Versuche wurden erfolgreich abgeschlossen, und Phase-III-Versuche wurden begonnen.^[59b,c]

Die adulten Schistosomen sind an das Leben im menschlichen Blutkreislauf hervorragend angepasst und können dort mehr als 30 Jahre überleben. Offensichtlich haben sie sehr effektive Strategien, das Immunsystem zu unterlaufen, weshalb die Entwicklung eines Impfstoffes keine leichte Aufgabe sein wird.^[60] Nicht zu vergessen sind übliche Probleme mit der Produktion größerer Mengen und der Konservierung von Impfstoffen. Bis auf Weiteres werden daher Gesundheitserziehung und Vorbeugung zentrale Rollen bei der Senkung der Infektionsraten zukommen, und die einzige Möglichkeit zur effektiven Bekämpfung einer Schistosomen-Infektion wird eine Chemotherapie mit einfachen und preiswerten Medikamenten sein.

Bevor wir auf die antischistosomale Chemotherapie eingehen, wollen wir kurz Arzneistoffe vorstellen, die historisch von Bedeutung waren, aber zumeist wegen hoher Toxizitätswerte wieder aufgegeben wurden. Anschließend beschreiben wir die zwei in der WHO-Liste geführten Arzneistoffe, Praziquantel und Oxamniquin. Wirkstoffe, die zwar in der Liste nicht vorkommen, aber unter anderen Umständen klinische Verwendung finden, werden ebenfalls erwähnt. Auf Verbindungen, die in jüngerer Zeit entdeckt wurden und sich in vorklinischen Studien befinden, wird ebenfalls eingegangen. Wenn möglich, wird neben maßgeblichen Übersichtsartikeln die Originalliteratur angegeben.

4.2. Nicht mehr verwendete Arzneistoffe

4.2.1. Antimonederivate

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts gab es Berichte über Patienten im Sudan, denen zur Behandlung der Leishmaniose eine intravenöse Injektion von Antimontartrat (Kaliumantimonylbitartrat, Brechweinstein; Abbildung 4) verabreicht wurde, wodurch eine durch die Koinfektion mit Schistosomen gleichzeitig auftretende Hämaturie unterbrochen wurde. Man begann dann 1918 mit der Behandlung der Schistosomiasis durch intravenöses Antimontartrat. Die Substanz wurde ungefähr einen Monat lang mehrmals am Tag verabreicht, um auf eine Gesamtaufnahme von $15\text{--}30\text{ g}$ zu kommen. In den meisten Fällen verschwanden sämtliche Symptome, und man ging von einer vollständigen Heilung

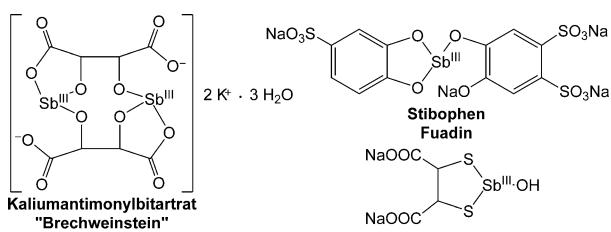


Abbildung 4. Struktur der antischistosomalen Antimonederivate.

aus.^[61] Tatsächlich wirkt Antimontartrat gegen *S. mansoni*, *S. haematobium* und – weniger stark – gegen *S. japonicum*. Nach jahrelangem Einsatz von Antimontartrat wurde der Wirkstoff wegen schwerwiegender, teilweise fatalen systemischen Reaktionen wie Störungen im Magen-Darm-System, Herz- und Gefäßsystem sowie an Leber und Haut wieder aufgegeben. Da sich Antimon wegen seiner langsamen Ausscheidung im Gewebe anreichert, verstärkt sich seine toxische Wirkung mit Fortdauer der Therapie. Bei der Suche nach besser verträglichen antimonhaltigen Arzneistoffen stellte man fest, dass nur Moleküle mit dreiwertigem Antimon und Sauerstoffliganden die maximale Wirkung zeigten (Stibophen, Abbildung 4).^[62] Verbindungen mit Schwefel liganden waren weniger wirksam, aber besser verträglich (Astiban, Abbildung 4). Auch diese Arzneistoffe, die seit den 1950er Jahren intramuskulär injiziert wurden, hatten schwere Nebenwirkungen ähnlich denen von Antimontartrat^[63–65] und wurden in den 70ern wieder verworfen. Es wurde einiges versucht, um das Verhältnis von Nutzen und Gefahr der Antimonederivate zu steigern, z. B. durch Verkapselung in Poly(*d,l*)-Milchsäure^[66] oder in Liposomen.^[67] Auch pharmazeutische Kombinationsprodukte aus Cyclodextrin und einem Antimonederivat wurden entwickelt, um Schistosomiasis und Leishmaniose zu behandeln.^[68]

Wirkungsmechanismus: Der Hauptstoffwechselweg zur Energiegewinnung in adulten *S. mansoni* ist die Glycolyse. Diese wird maßgeblich durch die Phosphofructokinase (PFK) reguliert, die Thiolgruppen enthält. Antimon-Wirkstoffe inhibieren die Schistosomen-PFK in vivo.^[69,70] In der Folge verliert der Wurm seine Haftung an den Gefäßwänden und wird in die Leber geschwemmt.^[71] Bei Schistosomenweibchen führt die Störung der Glycolyse auch zur Verhinderung der Eiproduktion.^[72]

4.2.2. Sonstige abgesetzte Medikamente

4.2.2.1. Emetin

Das Alkaloid Emetin wurde 1817 aus den Wurzeln von *Ipeca cuanha* isoliert und zunächst zur Heilung der Amöbenruhr eingesetzt.^[73,74] Dass es gegen *S. mansoni* wirksam ist, wurde bei der Behandlung von Durchfallpatienten erkannt, die mit Schistosomen koinfiziert waren.^[75] Die Wirkung von Emetin war signifikant, aber einen ganzen Monat lang mussten wiederholte Injektionen durchgeführt werden.^[76] Unter therapeutisch wirksamen Dosen traten Erbrechen und kardio- und neurotoxische Effekte als drastische Nebenwirkungen auf.^[77–79] Auf der Suche nach weniger giftigen Derivaten wurde 2,3-Dehydroemetin entwickelt (Abbildung 5).

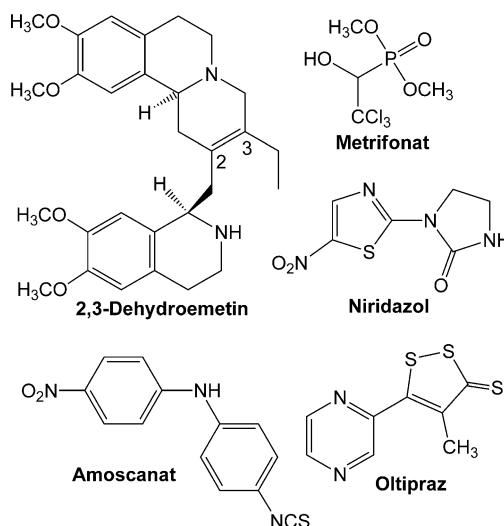


Abbildung 5. Struktur von 2,3-Dehydroemetin, Metrifonat, Amoscanat, Niridazol, Oltipraz.

Wegen der langen Behandlungsdauer und schlechten Resultate, insbesondere gegen *S. haematobium*, wurde dieser Arzneistoff in der klinischen Praxis wieder abgesetzt.^[64,80,81]

Wirkungsmechanismus: Emetin ist ein wirkungsvoller Inhibitor der Proteinsynthese in eukaryotischen Zellen. Es blockiert das Ribosom entlang der mRNA und hemmt somit die Verlängerung der Peptidkette.^[82]

4.2.2.2. Metrifonat

Mehrere phosphororganische Verbindungen wurden auf ihre schistosomizide Wirkung hin getestet. Das zuvor unter den Handelsnamen Dipterex und Dylox geführte Insektizid Metrifonat (2,2,2-Trichlor-1-hydroxyethylidimethylphosphonat, Abbildung 5) zeigte hierbei in Maus, Hund und Mensch eine gewisse Aktivität gegen *S. japonicum* und im Menschen gegen *S. haematobium*. In die klinische Praxis wurde es 1955 eingeführt.^[83,84] Bei Schulkindern, die mit *S. haematobium* infiziert waren, stellte man nach der Behandlung mit Metrifonat einen erheblichen Rückgang des Parasiten fest (50–60 %), aber keine vollständige Heilung.^[85] Zudem war die Wirkung gegen *S. mansoni* nur marginal.^[84] Metrifonat ist gut verträglich und für Warmblüter nur sehr wenig giftig. Aus diesem Grund empfahl die WHO Metrifonat zur Behandlung der Harnwegs-Schistosomiasis (deren Ursache *S. haematobium* ist). Trotzdem sind wiederholte Dosen nötig, und diese verschlechtern die Verträglichkeit. Daher zog die WHO 2000 ihre Empfehlung wieder zurück. Metrifonat schien nicht so wirksam zu sein wie das Medikament der Wahl, Praziquantel (siehe unten). Die therapeutische Dosis von Metrifonat sind drei orale Verabreichungen von $7.5\text{--}10\text{ mg kg}^{-1}$ in 14-tägigem Abstand. Die Eiproduktion verringert sich um 90–95 %, und die Symptome verschwinden bei 44–93 % der Patienten.^[86]

Gegen Metrifonat wurde Resistenzbildung festgestellt. Wurden Mollusken mit *S. haematobium* infiziert und dann mit Metrifonat behandelt, so waren die von ihnen produzierten Schistosomula in vitro weniger empfindlich gegenüber dem Arzneistoff.^[87] Bei kenianischen Schulkindern, die jährlich

einer Metrifonatbehandlung unterzogen wurden, wurde ein kontinuierliches Nachlassen der Wirkung festgestellt (von 79% im Jahr 1984 auf 47% 1987).^[88] Nach welchem Mechanismus der Wirkungsverlust stattfindet, ist unbekannt.

Wirkungsmechanismus: Im Menschen wird Metrifonat spontan zu 2,2-Dichlorvinylidimethylphosphat (auch bekannt als Dichlorvos) umgewandelt.^[89] Da die Dichlorvinylgruppe leicht abgespalten werden kann, kommt es leicht zu einer Umesterung mit dem Serinrest im aktiven Zentrum der Acetylcholinesterase. Dieses Enzym befindet sich in der umhüllenden Körperhaut (Tegument) des Schistosomen und wird auf diese Weise langsam reversibel inhibiert. Die Ansammlung von Acetylcholin führt dann zu einer reversiblen Paralyse der Wurmumuskulatur. Der Wurm verliert seine Haftung an den Blutgefäßwänden und wandert in die Leber (*S. mansoni* und *S. japonicum*) oder Lunge (*S. haematobium*).^[90] Diese spezifische Wirkung von Metrifonat auf *S. haematobium* passt zur viermal höheren spezifischen Aktivität der Acetylcholinesterase in adulten *S. haematobium* als in *S. mansoni*, und diese Differenz erhöht sich noch (zwanzigmal höhere Aktivität), betrachtet man nur das Tegument der beiden Spezies.^[91] Sobald die Konzentration des Arzneistoffs wieder abnimmt und die Paralyse zurückgeht, können *S. mansoni* allerdings aus der Leber wieder in das Mesenterialvenensystem zurückkehren. Dagegen bleibt *S. haematobium* fest in der Lunge und kann dort nicht überleben oder zumindest keine Eier mehr ablegen.^[90] Eine Übersicht von Cioli et al.^[64] beschreibt den Wirkungsmechanismus ausführlich. Allerdings wurde der Mechanismus wieder in Frage gestellt. Organophosphate wirken nämlich nicht spezifisch auf Cholinesterasen, sondern sind Inhibitoren für viele unterschiedliche Esterasen.^[92]

Da Metrifonat eine lange andauernde Hemmwirkung auf die Acetylcholinesterase ausübt, wurde der Arzneistoff klinisch bei Alzheimer-Patienten mit mildem bis mittelschwerem Verlauf getestet. Unter der Behandlung mit Metrifonat verlangsamte sich der fortschreitende Aktivitätsverlust und die Verhaltensänderung signifikant.^[93]

4.2.2.3. Niridazol

Das Nitrothiazol-Derivat Niridazol (Abbildung 5) wurde in den 60er Jahren von Ciba-Geigy ursprünglich wegen dessen antibakteriellen Wirkung entwickelt.^[94–96] Kinder oder Erwachsene, die mit *S. haematobium* infiziert waren, wiesen eine Heilungsrate von 92% auf. Die Patienten erhielten den Wirkstoff sieben Tage lang in oralen Dosen zu $25 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$.^[97,98] Bei den wenigen Patienten, die nicht vollständig parasitenfrei wurden, kam es zumindest zu einer erheblichen Abnahme der Eiproduktion. Bei Patienten mit *S. mansoni* infizierten Erwachsenen lag die Heilungsrate mit dem Standardverfahren zwischen 70 und 100%. Um bei Kindern, die mit *S. mansoni* infiziert waren, eine ähnliche Heilungsrate zu erzielen, musste die Dosierung auf bis zu $35–40 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ angehoben werden. Dies war möglich, weil die Kinder den Arzneistoff besser vertrugen als Erwachsene.^[97,99] Bei ungefähr 3% der Erwachsenen wurden allerdings schwere Nebenwirkungen auf das Zentralnervensystem beobachtet (Bewusstseinsverlust, Krämpfe).^[100] Bei Patienten mit Leber-

und Milz-Schistosomiasis (durch *S. mansoni*) muss die Behandlung in fast 40% der Fälle wegen neurologischer Nebenwirkungen abgebrochen werden.^[101] Andere Nebenwirkungen betreffen Veränderungen im Verdauungsapparat und Herz-Kreislauf-System. Letztere Symptome waren aber deutlich seltener als bei der damals gängigen Antimon-Therapie.^[98] Daher ging man davon aus, dass Kinder, die an Infektionen mit *S. haematobium* oder *S. mansoni* leiden, im großen Umfang mit Niridazol behandelt werden können. Infizierte Kinder gelten als Hauptquellen für die Ausbreitung der Krankheit.^[99] Des Weiteren wurde im Menschen eine Langzeitunterdrückung des Immunsystems nachgewiesen; karzinogene embryotoxische Effekte wurden in Nagern dokumentiert.^[64]

Wirkungsmechanismus: Bei adulten *S. mansoni* kommt es zuerst zur metabolischen Reduktion der Nitrogruppe von Niridazol. Anschließend bindet das reduzierte Niridazol kovalent an die Sulphydrylgruppen von Schistosoma-Proteinen und – in geringerem Ausmaß – an Nucleinsäuren.^[102] Mit Niridazol oder seinen Stoffwechselprodukten wurde in Mäusen auch die Überempfindlichkeit gegen Schistosoma-Eier unterdrückt.^[103] Grund für die verschiedenen Nebenwirkungen, einschließlich der mutagenen und karzinogenen Effekte, ist vermutlich der oxidative P450-abhängige Stoffwechselweg in Säugetieren.^[64,104]

4.2.2.4. Amoscanat

Die antihelmintische Aktivität von Amoscanat (Abbildung 5) wurde erstmals 1976 beschrieben. In einer einzigen oralen Dosis verabreicht, war dieses Molekül in verschiedenen Wirbeltieren (einschließlich Primaten) bei Infektionen mit *S. haematobium* und *S. mansoni* gleichermaßen effektiv.^[105] In China wurde Amoscanat umfassend am Menschen getestet. Der Heilungserfolg lag nach Verabreichung einer auf drei Tage verteilten Gesamtdosis von 7 mg kg^{-1} bei 92%.^[64] Da der Wirkstoff aber stark lebertoxisch war, wurde Amoscanat durch Praziquantel ersetzt.

Wirkungsmechanismus: Möglicherweise werden Aminofunktionen der Plasmaproteine des Schistosomen durch die Isothiocyanatgruppe acyliert.^[105] Die Isocyanatgruppe kann auch der Grund für die extrem starke Bindung des Wirkstoffs an Plasmaproteine (80%) sein, weshalb die antischistosomal Wirkung von Amoscanat wahrscheinlich nicht allein auf der Acylierung beruht. Zudem behielten Derivate, bei denen die Isothiocyanatfunktion durch ein Thionocarbamat oder Methylpiperazin ersetzt wurde, ihre antischistosomal Aktivität bei.^[64]

4.2.2.5. Oltipraz

Ebenfalls in den 70er Jahren wurde die antischistosomal Aktivität eines 1,2-Dithiol-3-thion-Derivats namens Oltipraz beschrieben (Abbildung 5). Dieses Molekül wirkte gegen *S. haematobium*, *S. intercalatum* und *S. mansoni*, nicht aber gegen *S. japonicum*. Seine Bioverfügbarkeit war verbessert, wenn gleichzeitig Nahrung aufgenommen wurde. Außer den Nebenwirkungen auf den Verdauungstrakt traten jedoch auch Empfindungsstörungen und akute Schmerzen an den

Fingerspitzen auf. Diese phototoxische Reaktion betraf bis zu 30 % der Patienten, die Sonnenlicht ausgesetzt waren. In manchen Fällen wurde eine lichtinduzierte Onycholyse (partielle Ablösung der Nägel vom Nagelbett) beobachtet. Infolge der Toxizität wurden die klinischen Versuche abgebrochen.^[64]

Wirkungsmechanismus: Nach der Behandlung von infizierten Mäusen mit Olipraz wurde eine verringerte Aktivität der Glutathionreduktase und der Glutathion-S-Transferase bei den überlebenden Würmern festgestellt.^[106] Da somit deren antioxidativer Schutz geschwächt ist, lassen sich die Würmer möglicherweise leichter durch den oxidativen Stress des Wirts angreifen.^[107] Umgekehrt wurde ein dosisabhängiger Anstieg der Aktivität der Glutathion-S-Transferase in der Mausleber beobachtet.^[108] Auch die Bindung eines radioaktiv markierten Stoffwechselprodukts von Oltipraz an die Glutathionreduktase wurde beschrieben.^[109,110] Neben der antischistosomal Aktivität hemmte Oltipraz ebenfalls die Karzinogenese, die durch verschiedene Reagentien in unterschiedlichen Zielorganen ausgelöst wurde.^[111] Diese Wirkung beruhte wahrscheinlich auf der Regulation der Aktivität der Glutathion-S-Transferase.

4.2.2.6. Myrazil, Benzodiazepine, Cyclosporin A usw.

Im Jahr 2001 kam eine Myrrhenzubereitung als Schistosomizid auf den Markt. Deren Wirkung, falls es überhaupt eine gibt, ist jedoch nur sehr schwach.^[112,113] Auch noch andere Verbindungen, zum Beispiel Cyclosporin A, das Benzodiazepin Ro 11-3128 oder Tubercidin (ein Purinanalog), erwiesen sich als aktiv gegen eine oder mehrere Schistosomenarten. Sie wurden jedoch nicht weiter verfolgt, da die Selektivität fehlte oder Nebenwirkungen beobachtet wurden, die bei für die Heilung notwendigen Dosen nicht abgeschaltet werden konnten. In den frühen 90er Jahren wurde ein Acridanonhydrazon-Derivat, Ro15-5458, gegen die *S.-mansoni*-Schistosomiasis^[114] und, etwas später, gegen die Schistosomiasis durch *S. haematobium*^[115] vorgeschlagen. Soweit wir wissen, wurde die Entwicklung dieses Wirkstoffs jedoch nicht weiter verfolgt. Die aromatischen, von Myrazil A inspirierten Derivate Lucanthon, Hycanthone und Mirasan werden im Abschnitt 4.3.1 über Oxamniquin behandelt.

4.3. Klinische Verbindungen

4.3.1. Derivate von Miracil A: Lucanthon, Hycanthon, Oxamniquin

Drei Jahrzehnte lang wurde eine größere Gruppe von Substanzen mit *p*-Aminotoluol- oder *p*-Aminobenzylalkoholgerüst erforscht. Ergebnis war der Wirkstoff Oxamniquin, der nach wie vor in der WHO-Liste der unverzichtbaren Arzneistoffe aufgeführt ist. Oxamniquin wird dann verwendet, wenn Praziquantel nicht erfolgreich ist.^[116]

1938 führte ein systematisches Schistosomizidprogramm von Bayer, Elberfeld, zur Isolierung von Miracil A, das ein 9H-Oxoxanthenmotiv enthält (Abbildung 6). Das Thioxanthanenanalogen mit der wichtigen *p*-Methylanilineinheit, Lucanthon (oder Miracil D, Abbildung 6), hatte einige Aktivität

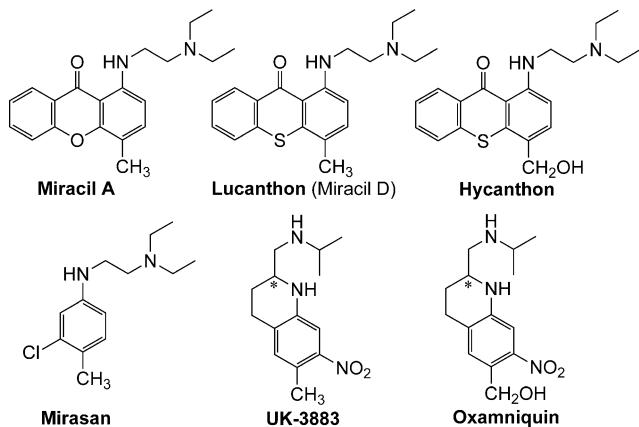


Abbildung 6. Struktur antischistosomaler Wirkstoffe, die sich aus Miracil A ableiten oder von dessen Struktur inspiriert wurden, einschließlich Oxamniquin.

gegen *S. haematobium* und *S. mansoni* und wurde in die klinische Praxis übernommen. Es war jedoch weniger wirksam als die Antimonpräparate und hatte ebenfalls toxische Nebenwirkungen wie Übelkeit, Erbrechen und gelegentlich schwere Störungen des Zentralnerven- und Kardiovaskularsystems.^[117]

Lucanthon wirkte interessanterweise nur oral und hatte weder bei Injektion noch in vitro einen Effekt. Dies lässt auf eine Umwandlung durch den Wirtorganismus schließen. Hycanthon, das am aromatischen Methylsubstituenten hydroxyliert ist (Abbildung 6), war hingegen in vitro aktiv,^[118] und intraperitoneal (in das Bauchfell) appliziert war es sogar fünfmal aktiver als in der oralen Aufnahme. Man nimmt daher an, dass Hycanthon der biologisch aktive Metabolit von Lucanthon ist.^[119] In der klinischen Praxis wurde dann bei Patienten mit *S.-mansoni* und *S.-haematobium*-Infektionen Lucanthon durch Hycanthon ersetzt. Die Patienten erhielten 4–5 Tage lang orale Dosen von 3 mg kg^{-1} oder eine einzige intramuskuläre Dosis von 3 mg kg^{-1} . Allerdings erwies sich Hycanthon als akut lebertoxisch (bei Lebernekrose kann der Verlauf tödlich sein) und führte auf lange Sicht zu mutagenen,^[120] teratogenen^[121] und möglicherweise karzinogenen Schäden.^[122] Als das sicherere Praziquantel auf den Markt kam, wurde die klinische Verwendung eingestellt. Zudem ist eine einzige *S.-mansoni*-Generation in der Lage, stabile und übertragbare Resistenzen gegen Hycanthon auszubilden. Dies wurde im Mausmodell gezeigt, indem unreife Parasiten dem Arzneistoff ausgesetzt wurden. Während der Resistenzbildung wurden im Genom reproduzierbare charakteristische Umlagerungen festgestellt. Dies lässt darauf schließen, dass sich der resistente Phänotyp durch Induktion und nicht durch Selektion aus schon vorhandenen Formen bildet.^[123,124]

Es wurde dann versucht, eine Reihe von einfachen *N*-Alkyl-*p*-methylanilin-Derivaten herzustellen, die eine ähnliche Effizienz wie Hycanthon haben sollten. Mirasan (Abbildung 6) ist wirksam in Mäusen, aber unwirksam in Affen und Menschen. In den 60er Jahren entwickelte Pfizer unter Verwendung von *Aspergillus sclerotiorum* die Verbindung UK-3883 und sein Oxidationsprodukt, was die Markteinführung von Oxamniquin 1969 zur Folge hatte.^[64] So wie beim Hy-

canthon/Lucanthon-System war Oxamniquin *in vitro* und *in vivo* wirksam, seine Vorstufe UK-3883 jedoch nicht.^[125] Im Vergleich zu Lucanthon hat Oxamniquin relativ milde Nebenwirkungen. Abgesehen davon ist Oxamniquin selektiv gegen *S. mansoni*. Die therapeutisch wirksame orale Dosis beträgt 12–15 mg kg⁻¹ (20 mg kg⁻¹ für Kinder unter einem Gewicht von 25 kg). In einer ländlichen Region im Nordosten Brasiliens mit einer schweren endemischen Form der Schistosomiasis wurden etwa eine Million Menschen auf diese Weise systematisch behandelt. Die Krankheit ließ sich heilen und die Transmission drastisch reduzieren.^[126] Leider ist Oxamniquin nach wie vor teuer und seine weitere kommerzielle Verfügbarkeit ist nicht gesichert.^[127]

Neben der Wirkung auf die adulten Würmer sind in Mäusen auch die Zerkarien massiv in ihrer Entwicklung gestört, wenn Oxamniquin in hohen Dosen injiziert wird.^[128] Sowohl Hycanthon- als auch Oxamniquin-resistente Schistosomen wurden aus Versuchstieren und Menschen isoliert.^[124, 129] Daher ist anzunehmen, dass beide Wirkstoffe den gleichen Wirkungsmechanismus haben.

Wirkungsmechanismus: Ursprünglich wurde vermutet, dass Hycanthon die Acetylcholinesterase von *S. mansoni* hemmt.^[130] Heute nimmt man an, dass Oxamniquin und Hycanthon Inhibitoren der parasitären Nucleinsäuresynthese sind.^[131, 132] Die Inhibition korreliert mit dem Tod des Parasiten; bei resistenten Schistosomen ist die Wirkung nur vorübergehend. Klingt der Wirkstoff ab (*in vitro* oder *in vivo*), setzt die Nucleinsäuresynthese wieder normal ein.^[132] Zudem binden tritiiertes Hycanthon und Oxamniquin irreversibel an die DNA der Fraktion der Wirkstoff-empfindlichen *S. mansoni*-Würmer, nicht aber an die der resistenten Schistosomenfraktion. Als Ursache für die Resistenzbildung lassen sich mit großer Sicherheit Unterschiede in der Membranpermeabilität oder in den Aufnahmemechanismen ausschließen. Vielmehr deuten die Befunde auf eine Alkylierung der schistosomal DNA als Wirkungsmechanismus hin. Daher wurde für die Wirkstoff-empfindlichen Schistosomen eine enzymatische Umwandlung von Oxamniquin zu einem Alkylierungsreagens, und zwar einem aktivierten Benzylalkoholester, vorgeschlagen. Als Oxamniquin-aktivierendes Enzym wurde eine schistosomale Sulfotransferase identifiziert.^[133, 134]

Hycanthon und Lucanthon interkalieren in die DNA-Basenpaare, was ihre Mutagenität erklärt. Oxamniquin hingegen fehlt das Dreiringsystem und interkaliert deshalb nicht. Abgesehen von Mechanismen wie die DNA-Alkylierung haben Thioxanthone jedoch auch antikanzerogene Eigenschaften. So binden sie direkt an die Topoisomerase II und inhibieren das Reparaturenzym Apurin/Apyrimidin-Endonuclease 1 (APE1).^[135, 136] Die Inhibition der humanen Topoisomerase II durch Lucanthon verhindert die Reparatur von Strahlungsschäden an der DNA in Krebszellen. Lucanthon und ein Analog waren daher auch zur Unterstützung bei der Strahlungstherapie von Krebs vorgesehen.^[135, 137, 138] Nach neuesten Berichten hemmt Lucanthon die Autophagozytose, indem es in die Lysosomenfunktion eingreift. Dies verstärkt den pro-apoptotischen Effekt von bestimmten Antikrebsreagentien.^[139]

Oxamniquin ist chiral, wird aber als Racemat vermarktet. Zur Aktivität/Toxizität der einzelnen Enantiomere fanden wir keine Informationen. Studien an Mausleberfraktionen deuten nicht auf eine enantioselektive Umwandlung der Oxamniquin-Enantiomere hin.^[140] Dagegen wird bevorzugt das rechtsdrehende Enantiomer von UK-3883 zu Oxamniquin hydroxyliert.^[141]

4.3.2. Praziquantel

Praziquantel (Abbildung 7) ist seit den 80er Jahren der Arzneistoff der Wahl gegen Schistosomiasis. Grund ist seine starke Wirkung gegen alle fünf Schistosoma-Arten nach eintägiger oraler Verabreichung. Bei Infektionen mit *S. mansoni* wirkt es erheblich besser als Oxamniquin.^[6] Auch Patienten, die mit Oxamniquin-resistenten *S. mansoni*-Stämmen infiziert sind, können effektiv behandelt werden.^[129] Zudem ist das Medikament sehr billig (0.2 US-Dollar für ein Kind) und wird in den therapeutisch wirksamen Dosen sehr gut vertragen. Auch in der Tiermedizin wird der zu diesem Zweck 1980 zugelassene Arzneistoff umfangreich eingesetzt. Da das Vieh ein mögliches Parasitenreservoir ist, muss die Verbreitung auf diesem Weg ausgeschlossen werden. Praziquantel hat zudem ein breites anhelminthisches Wirkungsspektrum und ist ebenfalls aktiv gegen verschiedene Bandwurmarten.

4.3.2.1. Entdeckung

Pyrazinoisochinolin-Derivate wurden ursprünglich von Merck, Darmstadt, für die Entwicklung von Beruhigungsmitteln erforscht. Bei einem gemeinsamen Programm von Merck und der Bayer AG (Leverkusen) 1972 wurde die antihelminthische Aktivität entdeckt. Sehr schnell war klar, dass die Substanz bessere Eigenschaften als die früheren anhelminthischen Wirkstoffe hat.^[142, 143] Bis zur Zulassung für den Menschen 1982 wurde Praziquantel dann durch die Food and Drug Administration weiterentwickelt. Auf den internationalen Markt kam Praziquantel in den 80er Jahren. In Afrika ist Merck nach wie vor Anbieter.^[144]

Die koreanische Shin Poong patentierte 1983 eine neue Synthesemethode für PZQ, die an Eipico (Ägypten) und später an andere Produzenten in vielen Ländern lizenziert wurde. Durch den Wettbewerb im Markt und das Auslaufen der ursprünglichen Patente von Merck und Bayer fiel der Preis für Praziquantel in den 90er Jahren massiv.^[145] Empfohlen wird die Behandlung mit einer einzigen Dosis von 40 mg kg⁻¹ (PZQ-Tabletten enthalten im Allgemeinen 600 mg Wirkstoff). Für Kinder ist ebenfalls ein Sirup (600 mg/5 mL) erhältlich. Die Bioverfügbarkeit von Praziquantel erhöht sich sehr stark, wenn gleichzeitig Nahrung aufgenommen wird.^[146]

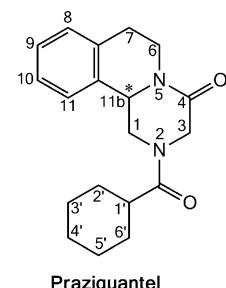


Abbildung 7. Struktur von Praziquantel.

4.3.2.2. Aktivität von Praziquantel

Praziquantel oder 2-(Cyclohexylcarbonyl)-1,2,3,6,7,11b-hexahydro-4H-pyrazino[2,1a]isochinolin-4-on ist eine farblose kristalline Substanz von bitterem Geschmack, stabil und praktisch unlöslich in Wasser. Unabdingbar für die Aktivität sind die 4-Oxogruppe und die 2-Acylfunktion. Für eine maximale Aktivität muss an 2-Position eine Cyclohexylcarbonylgruppe vorhanden sein, aber auch Benzoyl- oder *para*-Aminobenzoylreste vermitteln Aktivität.^[147]

Die C11b-Position ist ein Asymmetriezentrum. Der Arzneistoff ist als racemische Mischung von 11b(R)- und 11b(S)-Produkt auf dem Markt, aber nur das *levo*-Enantiomer (–)-(11bR)-PZQ hat antischistosomale Aktivität.^[148] Beim Menschen entspricht eine einzige Dosis von 20 mg kg^{-1} (–)-PZQ der Aktivität von 40 mg kg^{-1} Racemat, und beide PZQ-Enantiomere haben die gleiche Toxizität.^[149]

Nach oraler Gabe von racemischem PZQ wurde als Hauptmetabolit im humanen Serum (–)-(11bR)-*trans*-4'-Hydroxypraziquantel nachgewiesen, das an Position 4' der Cyclohexyleinheit hydroxyliert ist. Das inaktive Enantiomer (+)-11bS-PZQ wurde zusammen mit dem 4'-hydroxylierten Derivat nachgewiesen. Wahrscheinlich wird Praziquantel sofort in der Leber metabolisiert.^[150] Wahrscheinlich ist (–)-(11bR)-*trans*-4'-Hydroxypraziquantel substanzial an der antischistosomalen Effizienz von PZQ beteiligt. Bei vergleichbarer Aktivität verfügt dieses Derivat *in vivo* über eine längere Halbwertszeit als die Stammverbindung (–)-(11bR)-PZQ.^[150,64]

4.3.2.3. Toxizität/Sicherheit von Praziquantel

Im Gegensatz zu vielen anderen antischistosomalen Wirkstoffen ist Praziquantel für viele Spezies einschließlich Bakterien, Hefe, Insekten und Säugern nicht mutagen.^[143] Seine akute Toxizität in Ratten, Mäusen und Hunden ist sehr gering im Vergleich zu der von anderen Schistosomiden. Ratten vertragen während 4 Wochen orale Dosen bis zu $1000 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und Hunde über 13 Wochen bis zu $180 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$, ohne dass Organschäden auftreten. Praziquantel beeinträchtigte nicht die Reproduktion in Ratten und hatte auch keine teratogene Wirkung auf Ratten, Mäusen und Kaninchen.^[143] Im Menschen verursachte PZQ keine klinisch relevanten Veränderungen.^[147,151]

4.3.2.4. Wirkungsmechanismus

Wie effizient PZQ ist, hängt vom Alter der Infektion, dem Geschlecht des Wurms und dem Umstand ab, ob schon eine Paarung erfolgt ist. Die frühesten Wurmstadien (Zerkarien bis hin zu den ersten Tagen nach der Infektion) sind empfindlich gegen den Wirkstoff, danach sinkt die Empfindlichkeit bis auf sehr niedrige Werte etwa 3–4 Wochen nach der Infektion (je nach Schistosomenart). Nach und nach werden die Schistosomen dann wieder für den Wirkstoff erreichbar, und etwa in der 6. bis 7. Woche nach der Infektion sind sie wieder vollständig angreifbar. Gegen unreife *S.mansoni*-Würmer in Mäusen (4 Wochen nach der Infektion) war die ED₅₀ von PZQ mindestens 30-mal höher als gegen reife

Würmer (6 oder 7 Wochen nach der Infektion).^[152,153] Dass die unreifen Würmer so wenig empfindlich sind, stellt tatsächlich das größte Problem für die klinische Verwendung von PZQ dar.^[152,153]

Bei *in vitro* mit Praziquantel in Konzentrationen von 10^{-6} bis 10^{-7} M behandelten *S.mansoni* und *S.japonicum* wurden leichte Veränderungen im Metabolismus beobachtet. Durch Praziquantel werden die Glucoseaufnahme, die Lactatexkretion und die Aktivität der Cholinesterase modifiziert, und die Konzentration bestimmter Enzyme nimmt ab (ATPase, alkalische Phosphatase).^[64] Nach subkurativer Behandlung des Mauswirts mit dem Wirkstoff kam es zu einer vorübergehenden Abnahme des Glycogengehalts im Parasiten.^[147] Diese Schwankungen wurden allgemein nach einer langandauernden Exposition mit dem Wirkstoff beobachtet (Stunden) und gelten allgemein als „sekundäres“ Phänomen. In viel kürzerer Zeit (Sekunden) ändern sich der Ca²⁺-Gehalt und die Morphologie.^[64] Es gibt keine Daten, nach denen PZQ mit Nucleinsäuren oder Neurotransmittern wechselwirkt.

Morphologische Veränderungen: Bei direktem Kontakt von adulten Schistosomen mit Praziquantel kommt es sofort zu einer tetanischen Muskelkontraktion. Der Wurm löst sich von den mesenterialen Gefäßwänden und wird in die Leber geschwemmt. Gleichzeitig verändert sich die Morphologie des Teguments, und es bildeten sich Bläschen und Vakuolen. *In vitro* traten beide Effekte 30 s nach Kontakt mit dem Wirkstoff auf. Allerdings musste bei *S.mansoni* für die Vesikelbildung die Konzentration von PZQ 10- bis 60-mal höher sein als nur zur Induktion einer erhöhten Bewegungsaktivität oder Muskelkontraktion. Eine minimale effektive Dosis (MEC) von 16–32 nM reichte bei *S.mansoni* für Kontraktionen aus, unabhängig vom Entwicklungsstadium. Diese Konzentration war nicht tegumentschädigend, selbst nach einer Einwirkung von 12–24 h. Unreife Entwicklungsstadien von *S.mansoni* waren weniger anfällig für Vesikelbildung als reife Würmer (ab dem 35. Tag).^[152] Gegen Tegumentschädigungen waren insbesondere frühe Schistosomulastadien (0. bis 7. Tag) unempfindlich. Am empfindlichsten waren die adulten Würmer (35. bis 42. Tag), bei denen sich bei einer Konzentration von 0.3 μM eine intensive Vesikelbildung und Desintegration der auf der Tegumentoberfläche befindlichen Dornen feststellen ließ. Bei dieser Konzentration bildeten adulte Weibchen weniger Vesikel als die Männchen, und in der Regel auch erst nach ungefähr 2–4 h und nicht schon 15 min nach Wirkstoffgabe.^[152]

Bei subkurativer Behandlung von Mäusen wurden paralyisierte Würmer sofort zur Leber transferiert. Von der Paralyse können sich die Würmer aber auch wieder erholen und zurück in die Mesenterialgefäßwand wandern. Dies bedeutet, dass die Verringerung der Wurmlast *in vivo* vor allem auf die Tegumentschädigung und nicht so sehr auf die Veränderung der motorischen Aktivität zurückgeht.^[152] Andererseits zeigten elektronenmikroskopische Aufnahmen, dass die Tegumentmatrix nach der Behandlung nur leicht modifiziert war, während die unterliegenden Muskelbündel erheblich anschwollen.^[154] Daraus folgt aber, dass PZQ hauptsächlich die Muskulatur angreift und nicht das Tegument, wie zuvor berichtet.^[155]

Immunantwort des Wirts: Wurden *in vitro* männliche Schistosomen mit PZQ behandelt, nahm als erstes die Antigenbelegung auf dem Tegument zu.^[156] Durch die Freisetzung von Antigenen aus dem geschädigten Tegument oder durch dieses hindurch wird zum einen eine Sensibilisierung der Immunantwort des Wirts ausgelöst. Zum anderen könnte dadurch die Widerstandskraft bei künftigen Neuinfektionen erhöht sein.^[152] Bei T-Zellen-freien Mäusen, die mit *S. mansoni* infiziert wurden, war PZQ (wie Hycanthon, Oxamniquin und die Antimonverbindungen) weniger effektiv als in immunologisch intakten Tieren. Möglicherweise gibt es daher eine synergistische Beziehung zwischen Wirkstoff und immunologischen Effektormechanismen, um adulte Schistosomen zu vernichten.^[157] Wurde in die Mäuse umgekehrt antikörperhaltiges Serum zusammen mit PZQ injiziert, blieb die antischistosomale Aktivität erhalten. Ein 200-kDa-Glycoprotein aus Tuberkeln des Parasiten war unmittelbar an diesem Synergismus von PZQ und Immunantwort beteiligt.^[158]

Rolle von Calcium: Obwohl die Wirkungsweise von Praziquantel auf molekularer Ebene noch nicht bekannt ist, nimmt man an, dass die beiden Haupteffekte, Muskelkontraktion und Tegumentschädigung, auf eine Praziquantel-abhängige Unterbrechung der Ca^{2+} -Homöostase in den Würmern zurückgehen.^[159] Verschiedene Hinweise deuten auf eine Wechselwirkung von PZQ mit den spannungsaktivierte Ca^{2+} -Kanälen des Schistosomen hin. Durch eine mögliche PZQ-induzierte Unterbrechung der Wechselwirkung zwischen den β - und α_1 -Untereinheiten öffnen sich mehr Kanäle, oder es fließt mehr Strom durch die einzelnen Kanäle. Diese ungewöhnliche Funktion lässt sich durch die β -Interaktionsdomänen (BID, Domänen, an denen die β - und die α_1 -Untereinheiten wechselwirken) erklären.^[160] Durch ortsgerichtete Mutagenese wurde nachgewiesen, dass die ungewöhnliche Struktur der schistosomalen β -Untereinheit mit der PZQ-Empfindlichkeit korreliert.^[161]

Auch weitere calciumbindende Proteine wurden in Schistosomen identifiziert. Eine (Ca^{2+} - Mg^{2+})-ATPase des sarco-/endoplasmatischen Retikulums (SERCA) von *S. mansoni* reagierte 140- bis 250-fach weniger empfindlich gegen Inhibitoren, die selektiv gegen das entsprechende Protein von Säugern gerichtet waren.^[162] Kloniert, exprimiert und charakterisiert wurden auch ein Calmodulin^[163,164] und ein Calreticulin^[165] aus *S. mansoni*.

Ebenfalls eine Rolle spielen Paramyosin und Actin aus dem Tegument des Schistosomen, denn die Actin-/Myosin-Wechselwirkung wird durch Ca^{2+} -Ionen gesteuert. Die Oberflächendornen von *S. mansoni* bestehen aus para-kristallinen Anordnungen von Aktinfilamenten. An Stellen, die sich von den Schädigungen erholen, findet man Aktin. Entsprechend scheint dieses Strukturprotein eine wichtige Reparaturfunktion auf das Tegument auszuüben.^[166] Wurden adulte *S. mansoni*-Würmer in Kontakt mit dem depolymerisierenden Cytochalasin D gebracht, überlebten die Würmer eine Konzentration von $3 \mu\text{M}$ PZQ. Für die Kontrollkulturen war diese Konzentration letal.^[167] Auch eine direkte Bindung von Praziquantel an die leichte Myosinkette des Schistosomen (SmMLC) wurde vermutet. Durch die dadurch indu-

zierte Phosphorylierung der Kette wird Calcium vermehrt mobilisiert.^[168]

Auch wenn die Schäden am Tegument von *S. mansoni* durch PZQ nicht übermäßig groß sind, haben sie wahrscheinlich eine entscheidende Funktion. Nach neuen Berichten produzieren *in vitro* behandelte Würmer entlang ihres Teguments etwas mehr Stickoxid (Faktor 1.5). Auf eine Störung des Redoxzustands wies auch eine doppelt so hohe Produktion von Superoxid-Anionen im Vergleich zu Kontrollwürmern hin.^[154]

4.3.2.5 Resistenzbildung oder Therapieversagen?

Da die Chemotherapie mit entsprechendem Langzeitdruck bereits seit dreißig Jahren angewendet wird, gibt es Bedenken, dass sich gegen PZQ inzwischen Resistzenzen bilden könnten. Unter Laborbedingungen können bei *S. mansoni* und *S. japonicum* in Mäusen Resistzenzen gegen PZQ ausgelöst werden. Kreuzresistenzen von Praziquantel und Oxamniquin wurden jedoch nicht beobachtet. Dies deutet auf einen unterschiedlichen Wirkungsmechanismus beider Substanzen hin.^[169]

Bei wenig empfindlichen oder mutmaßlich resistenten *S. mansoni*-Stämmen wurde mehrfach über Therapieversagen berichtet.^[169–172] Dennoch wiesen Isolate von nicht geheilten afrikanischen Patienten nur 5- bis 6-mal höhere ED_{50} -Werte als normal empfindliche Isolate auf. Im Vergleich zur Hycanthon- und Oxamniquin-Resistenz, bei denen die ED_{50} bis auf das Tausendfache steigen kann,^[127] ist dieser Wert klein. Dennoch kann schon ein geringer Effizienzrückgang von PZQ klinisch bedeutend sein. Dazu kommt, dass viele Patienten in Gegenden mit hoher Transmissionsrate unreife Schistosomawürmer in sich tragen, gegen die die PZQ-Behandlung ineffektiv ist. Schlechte Heilungsraten können auch an der letzten Ausprägung von schon vorhandenen Infektionen oder Neuinfektionen liegen und müssen nicht notwendigerweise auf resistente Schistosomen schließen lassen.^[127,173] Ein Versagen der Standardbehandlung mit Praziquantel (einmalige Verabreichung von 40 mg kg^{-1}) wurde auch bei Reisenden von Afrika nach Spanien beobachtet, die sich mit *S. haematobium* infiziert hatten. In diesem Fall lag die ursprüngliche Behandlungskonzentration jedoch deutlich unterhalb der Wirkungsschwelle, und nach einer Behandlung mit $40 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ während drei aufeinanderfolgenden Tagen waren die Patienten geheilt.^[174] Nach jüngeren Studien in China wurden bei *S. japonicum* gegen Praziquantel weder Toleranzen noch Resistzenzen nachgewiesen, zumindest in Gegenden, wo der Erreger noch wenig endemisch war.^[175]

Adulte Schistosomen müssen in den Blutgefäßen des Wirts Nährstoffe zu sich nehmen und ihre Stoffwechselprodukte wieder ausscheiden. Dafür brauchen sie Wirkstofftransporter mit breitem Substratspektrum. Die Resistenzbildung gegen PZQ könnte an solche Mehrfachresistenz-MDR-Transportern liegen. Wurden *S. mansoni*-Stämme subletalen Konzentrationen von Praziquantel ausgesetzt, exprimierten sie mehr Multidrug resistance-associated protein 1 (SmMRP1). Auch ein schistosomales Homolog des P-Glykoproteins aus Säugern wird in mit PZQ behandelten Würmer heraufreguliert. Juvenile Würmer, die PZQ-un-

empfindlich sind, exprimieren dieses Parasitenprotein erheblich stärker.^[176]

Daraus folgt, dass die Berichte über gelegentliches individuelles Versagen von Praziquantel noch kein Beweis einer umfassenden Resistenz des Parasiten sind. Laboruntersuchungen geben jedoch kaum mehr Zweifel, dass Resistenzen gegen PZQ erworben werden können, und allein schon deswegen sollte nach neuen antischistosomal Wirkstoffen gesucht werden.

4.4. Derivate von Artemisinin: Artemether und Artesunat; Komplementarität zu Praziquantel

Trotz ihres großen phylogenetischen Abstands weisen die beiden hämatophagen Parasiten *Plasmodium* und *Schistosoma* einen ähnlichen Hämoglobinmetabolismus auf, und beide bilden Hämazoin. Deshalb wurden auch Wirkstoffe gegen Malaria, die gegen das Häm gerichtet sind, auf ihre mögliche antischistosomale Wirkung getestet. Artemisinin (ART, Abbildung 8) und dessen halbsynthetische Derivate, insbeson-

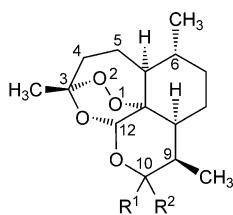
sechs Tagen) erhielten, sank die Wurmlast um 83 und 98 %. Wurden die Mäuse am 56. Tag nach der Infektion behandelt, führte eine derartig hohe Dosis lediglich zu einem Wurmrückgang von 39%.^[178] ARTM war bei einer Dosis von 800 mg kg^{-1} bei adulten *S.-mansoni*-Würmern inaktiv.^[179] Bei einer insgesamt mäßigen Aktivität war die Aktivität von ARTM gegen 2 bis 3 Wochen alte Schistosomula dennoch doppelt so hoch wie gegen adulte Parasiten. Auch gegen weniger als 28 Tage alte *S.-haematobium*-Schistosomulen in Hamstern war ARTM sehr aktiv (300 mg kg^{-1}).^[180] Die Aktivität von Artesunat (ARTS, Abbildung 8) war geringer als die von ARTM.^[181] Toxische Effekte von ARTM bei adulten *S. mansoni* und *S. japonicum* wurden in vitro nur bei Konzentrationen von über $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ bzw. $40 \mu\text{g mL}^{-1}$ beobachtet.^[177,178] Dies bestätigte die Notwendigkeit von hohen Dosen der ART-Derivate, um die Schistosomen abtöten zu können.

In Feldstudien wurde eine gewisse Effizienz bei wiederholter oraler Gabe von ARTM bei Infektionen mit *S. japonicum*^[182] oder *S. mansoni* festgestellt.^[183] Tatsache ist aber, dass die WHO derzeit Artemisinin-Derivate zur Behandlung der Schistosomiasis nicht vorsieht. Andererseits sind aber Malariapatienten, die eine Kombinationstherapie auf Basis von Artemisinin (ACT) erhalten, häufig mit Schistosomen koinfiziert. Mehrfach wurde berichtet, dass die derzeit empfohlene Malariabehandlung mit ACT ebenfalls zu einem steilen Abfall der *S.-haematobium*-Last,^[184] einer Reduktion der *S.-haematobium*-Eier^[185] oder einem Rückgang der *S. mansoni*-Morbidität führte.^[186] Leider konnten groß angelegte Studien diese vielversprechenden Ergebnisse nicht bestätigen.^[187,188]

Folglich ist die Wirkung der ACTs gegen die beiden Hauptschistosomenarten *S. haematobium* und *S. mansoni* zu schwach, als dass diese als Ersttherapiewahl gegen Schistosomiasis infrage kommen könnten. Zudem ist es möglich, dass die Verwendung von Wirkstoffen resistente Malariaparasiten selektiert; nach vielfacher Meinung sollten die ACTs daher zur Malariaeindämmung zurückgehalten werden.^[188,189] Ein neuester Bericht beschreibt einen möglichen Rückgang der Empfindlichkeit von *S. japonicum* gegen ARTS, das 10 Jahre lang in China verwendet wurde.^[190] Allerdings entkräfteten methodische Fehler diese Befunde wieder.^[191] Seit Ende der 90er Jahre stieg zudem die Nachfrage nach ACTs steil an, was zu einem Engpass an Artemisinin führte. Neuerdings kann Artemisinin aber auch durch Durchflusssynthese aus Artemisininsäure hergestellt werden. Diese weniger komplexe natürliche Vorstufe wird in höherer Ausbeute aus der gleichen Pflanze extrahiert und könnte die ständig wachsende Nachfrage für preiswertes Artemisinin bedienen.^[192]

4.4.2. Kombinationstherapie aus Artemisininderivaten plus Praziquantel

Da die ART-Derivate im Gegensatz zu PZQ – das am aktivsten gegen adulte Würmer ist – die höchste Aktivität gegen die jungen Stadien der Schistosomen haben, sollte eine Kombinationsbehandlung mit ARTM und PZQ sämtliche Entwicklungsstadien des Parasiten ansprechen und den Hei-



Artemisinin (ART): $R^1, R^2 = O$
Dihydroartemisinin (DHA): $R^1 = H, R^2 = OH$
Artemether (ARTM): $R^1 = H, R^2 = \beta-OCH_3$
Arteether (ARTE): $R^1 = H, R^2 = \alpha-OCH_2CH_3$
Artesunat (ARTS): $R^1 = H, R^2 = \alpha-OCO(CH_2)_2-COOH$

Abbildung 8. Struktur von Artemisinin und halbsynthetischer Derivate: Dihydroartemisinin, Artemether, Arteether und Artesunat.

dere Artemether (ARTM), wurden von der WHO in Kombinationstherapien gegen schwere oder resistente *P.falciparum*-Malaria empfohlen. Artemisinin, das aus dem einjährigen Beifuß *Artemisia annua* gewonnen wird, wurde als erstes in China auch gegen endemische *S.japonicum*-Infektionen eingesetzt, lange vor der Erforschung des Wirkungsmechanismus.

4.4.1. Aktivität der Artemisininderivate gegen Schistosomen

Mit *S. japonicum* infizierte Mäuse wurden 1–2 Tage lang oral oder intramuskulär mit Artemether von $200 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ oder $100 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ behandelt. Wurde die Behandlung am 7. Tag nach der Infektion durchgeführt, reduzierten sich die Schistosomen um 74–92 %. Adulte Schistosomen waren weniger empfindlich als Schistosomula. Am 35. Tag reduzierte sich die Wurmlast nur um 47–70 %, und die anderen Entwicklungsstadien sprachen noch weniger auf die ARTM-Behandlung an.^[177] Bei Mäusen, die mit *S. mansoni* infiziert wurden und am 14. oder 21. Tag nach der Infektion eine Gesamtdosis von 1200 mg kg^{-1} ($200 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ während

lungserfolg verbessern. Bei Versuchen mit *S. japonicum*- oder *S. mansoni*-infizierten Tieren führte die Kombination von ARTM und PZQ zu einem wesentlich größeren Rückgang der Wurmlast als bei getrennter Verabreichung.^[193] Leider reduzierte sich im Vergleich zu einer alleinigen Gabe von PZQ im Menschen bei Kombinationsgabe von ARTS (12 mg kg⁻¹) und PZQ nicht die Anzahl der Eier von *S. mansoni*.^[194]

4.4.3. Wirkungsmechanismus der Artemisininderivate

Häm und Redoxzustand: Maßgeblich für die Antimalaria-Aktivität der Artemisininderivate ist die Peroxidbindung des 1,2,4-Trioxancyclus. In *Plasmodium*-infizierten Mäusen aktiviert zunächst Eisen(II)-Häm die Peroxidfunktion und wird dann durch den Wirkstoff alkyliert, sodass sich Häm-Wirkstoff-Addukte bilden.^[195,196] Häm-ARTM-Addukte wurden in Extraktten von adulten *S. mansoni*-Würmern nachgewiesen, die mit ARTM behandelt waren. Parallel dazu reduzierte sich der Hämozoingehalt im Darm (~25 % gegenüber den unbehandelten Würmern).^[154] Und in vitro führte die Zugabe von Häm in das Kulturmedium mit ARTM-Konzentrationen, die alleine für eine Aktivität gegen *S. japonicum* nicht ausreichten (5 µg mL⁻¹), zu geschädigten Schistosomen, je nach Zusammensetzung der Kultur.^[197] Allein durch Häm in lässt sich Artemether jedoch nicht reduktiv aktivieren. Vielmehr muss Eisen in der Oxidationsstufe +II vorliegen (in dieser reduzierten Form ist es in der Lage, ein Elektron in das antibindende Orbital eines Peroxids zu übertragen). Entsprechend sollte die Effizienz der Peroxidwirkstoffe von der Verfügbarkeit eines Reduktionsmittel wie Glutathion abhängig sein, das Eisen(III) zu Eisen(II) reduzieren kann (zur Erinnerung: die Oxidationsstufe des Eisens in Hämozoin ist +III). Interessanterweise waren in adulten *S. japonicum*-Würmern aus ARTM-behandelten Mäusen die Glutathion-S-Transferaseaktivität und – etwas weniger ausgeprägt – die Aktivität der Superoxid-Dismutase erheblich niedriger als in unbehandelten Tieren.^[198] In Mäusen, die mit *S. mansoni* infiziert wurden, scheint eine gleichzeitige Gabe von N-Acetylzystein das therapeutische Potenzial von ARTM zu erhöhen.^[199]

Sonstige Targets: ARTM führte in Mäusen, bei denen sich die Würmer bereits in der Leber befanden, zu einem merklichen Schrumpfen und dann zur Degeneration von Tegument, Darm und Geschlechtsdrüse der Parasiten.^[177,200] In vivo wurden 14 Tage nach der Behandlung Längenverkürzungen von 30 und 50 % bei den männlichen bzw. weiblichen *S. mansoni*-Würmern beobachtet. Die Veränderungen waren nach 56 Tagen wieder vorüber und die Würmer waren wieder gleich groß wie die Kontrollgruppe. Auch Effekte auf die Hoden der Männchen und Eierstöcke der Weibchen waren reversibel.^[178] Daraus folgt, dass die Schäden an der Muskulatur oder den Geschlechtsorganen durch ARTM nicht direkt den Tod des Parasiten herbeiführen. Als stärkste Schädigung durch ARTM an *Schistosoma* oder anderen Trematoden wie *Clonorchis sinensis*^[203] oder *Fasciola hepatica*^[204] wurde eine intensive Erosion des Teguments und dessen Abschälen^[154,201,202] festgestellt. Allerdings hielten sich diese Tegmentschäden im Vergleich zu denen durch andere

Wirkstoffe wie PA1259 (Abbildung 12) oder Mefloquin (Abbildung 9) in Grenzen.^[154] Schädigungen an der Ultrastruktur wurden bei Schistosomulen auch für die Untergeschicht-Muskulatur, das Parenchymgewebe und die Gastrodermis festgestellt. In überlebenden Larven erwiesen sich die Tegumentenschäden sowie andere Veränderungen aber als reversibel.^[202]

Warum die jungen schistosomal Stadien in der Leber gegen Artemisininderivate empfindlicher sind als die adulten, ist noch nicht klar. Vorgeschlagen wurde, dass die Schistosomula noch über keinen geeigneten antioxidativen Schutzmechanismus verfügen.^[178] Möglich wären aber auch größere immunologische Unterschiede zwischen Schistosomula und adulten Würmern.^[205]

4.5. Mefloquin

Im Gegensatz zu den Häm alkylierenden Trioxanderivaten wirken die Antimalariamittel auf Chinolinbasis durch Aufstapelung von Häm-Molekülen.^[206] Unter den Chinolin-Wirkstoffen, die gegen Schistosomiasis geprüft wurden, war nur Mefloquin (MFQ, Abbildung 9) nennenswert aktiv. Nach

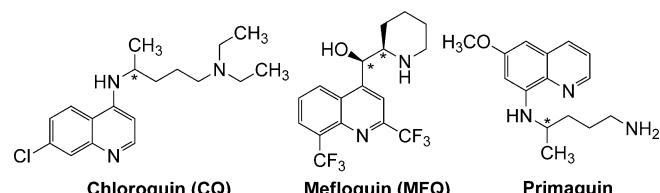


Abbildung 9. Struktur der Chinolinlderivate Chloroquin, Mefloquin und Primaquin.

einer einzigen oralen Dosis von Mefloquin reduzierte sich die Wurmlast bei Mäusen, die mit entweder juvenilen oder adulten *S. mansoni*- oder *S. japonicum*-Würmern infiziert wurden, um bedeutende 87–95 %. Anders als bei PZQ wurde hier ein Rückgang der Würmer in den jungen Entwicklungsstadien beobachtet.^[207] In einer Konzentration von 5 µg mL⁻¹ tötet Mefloquin Zerkarienkulturen effektiver ab als PZQ oder ARTM. Möglicherweise wirkt die Substanz daher gegen sämtliche Entwicklungsstadien der Schistosomen.^[154]

In Mäusen mit juvenilen und adulten *S. mansoni*-Würmern erwies sich eine Kombinationstherapie aus Mefloquin und Praziquantel als effizienter als der jeweils einzelne Wirkstoff.^[208] Bei Kindern in der Elfenbeinküste, die mit *S. haematobium* infiziert waren, schienen MFQ und ARTS in Kombination additiv oder sogar synergistisch zu wirken.^[185] In Gegenden, in denen Malaria und Schistosomiasis koexistieren, wurden bereits Millionen von Menschen mit MFQ und MFQ-ARTS-Kombinationen behandelt. Der Vorteil, den kombinierte Medikationen gegen Malaria bieten, könnte also auch ausschlaggebend für die Behandlung der Schistosomiasis sein.

Wirkungsmechanismus: Chinolinlderivate hemmen in *Plasmodium spp.* die Bildung von Hämozoin. Während MFQ

im Mausmodell deutlich gegen Schistosomen aktiv ist, wirken andere Chinolin-Methanol-Derivate kaum oder gar nicht. Ebenfalls inaktiv ist Chloroquin, das eine 4-Aminochinolin-Einheit enthält. Auch sonstige Antimalariamittel mit erweitertem Arenensystem (Acridin- und Benzochinonderivate) wirken nicht antischistosomal. Also kann die aromatische π - π -Wechselwirkung zwischen Häm und Wirkstoff nicht der einzige Grund für die antischistosomal Aktivität von Mefloquin sein, und kürzlich wurde auch ein Nichthäm-Target von Mefloquin vorgeschlagen.^[209]

Gegen Malaria wird Mefloquin als racemische Mischung der *erythro*-Enantiomere ($11S,12R$) + ($11R,12S$) eingesetzt. Tatsächlich sind die Enantiomere der Chinolinpräparate innerhalb einer gewissen experimentellen Variabilität gleich aktiv gegen Malaria.^[210a] Beide *erythro*-Enantiomere von Mefloquin, die *S.-mansoni*-infizierten Mäusen verabreicht wurden, zeigten vergleichbare antischistosomale Eigenschaften.^[207] In vivo hatte das *threo*-Enantiomer von MFQ ungefähr die gleiche antischistosomale Aktivität wie das *erythro*-Racemat. In vitro war die Aktivität des *threo*-Racemats erheblich schwächer. Daher wird vermutet, dass die *threo*-Verbindung in vivo durch asymmetrische Inversion zur *erythro*-Form metabolisiert wird.^[210b]

Wurde MFQ (400 mg kg^{-1}) Mäusen verabreicht, die mit adulten *S. japonicum* infiziert waren, konnte eine äußerst starke Schädigung des Teguments, der darunter liegenden Gewebe und der Vitellinzellen beobachtet werden.^[211] In elektronenmikroskopischen Aufnahmen von erwachsenen *S. mansoni*-Weibchen, die mit $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ MFQ behandelt wurden, war eine poröse Oberfläche des Wurms zu erkennen. Die äußeren Strukturen waren vollständig zerstört und die Vitellinzellen stark verändert. Ebenfalls wurde eine erhebliche Verringerung des Hämozoingehalts im Wurmdarm beobachtet. Verglichen mit PZQ, ARTM und Trioxaquin PA1259 (siehe unten) wirkte MFQ am zerstörerischsten, vor allem auf die Vitellinzellen.^[154] Da MFQ alle Schistosomenstadien angreift, mehrere Zielorte hat und verschiedenartige Schäden verursacht, ist der Wirkungsmechanismus wahrscheinlich komplex. Sowohl ein Häm-abhängiger als auch ein Häm-unabhängiger Mechanismus wurden vorgeschlagen.

5. Zukünftige Behandlungsmöglichkeiten?

Als effizient gilt eine Behandlung, bei der die Wurmlast um mehr als 80–85 % zurückgeht. Gegen Schistosomen wurden auch Arzneistoffe (oder Arzneistoffkombinationen) geprüft, die gegen bodenübertragene Wurmerkrankungen, lymphatische Erkrankungen durch Fadenwürmer und Onchozerkose (Flussblindheit) empfohlen werden. Bei Erkrankungen mit *S. japonicum*, *S. mansoni* und *S. haematobium* trugen jedoch Albendazol, Diethylcarbamazin und Ivermectin oder Kombinationen von diesen nicht zur Heilungsrate von PZQ bei.^[212] Auch Folat-Antagonisten (Sulfadoxin, Sulfamethoxypyrazine, Pyrimethamin), die als Antimalariamittel verwendet werden, waren im Mausmodell inaktiv.^[207] Nach wie vor werden Pflanzen auf mögliche neue antischistosomale Wirkstoffe hin durchsucht.^[213] Die neuen chemischen Sub-

stanzen mit dem größten Potenzial werden weiter unten beschrieben.

5.1. Wirkstoffe gegen Parasitenproteine, Oxadiazol

Schistosomen können vier Jahrzehnte im menschlichen Körper überdauern und verfügen über einen einmaligen Satz von antioxidativen Enzymen. Diese bauen kontinuierlich die vom Immunsystem des Wirts produzierten reaktiven Sauerstoffspezies ab. In *S. mansoni* wurden zwei Hauptkomponenten dieses Abwehrsystems identifiziert, die Thioredoxin-/Glutathionreduktase (TGR) und Peroxiredoxin (Prx). Diese Enzyme sind interessante Targets für die Entwicklung von antischistosomal Wirkstoffen.^[214] So wurden unter den TGR-Inhibitoren die Oxadiazol-2-oxide als neue chemotherapeutische Leitverbindungen gegen Schistosomiasis identifiziert (bei intraperitonealen Injektionen von 10 mg kg⁻¹ täglich an 5 aufeinanderfolgenden Tagen). Mit dem effizientesten Oxadiazolderivat wurde bei einer Behandlung von *S. mansoni*-infizierten Mäusen nach 23 und 37 Tagen die Wurmlast um 89 % bzw. 94 % verringert. Nur einen Tag nach der Infektion (Parasiten noch in der Haut) wurde die Wurmlast sogar um >99 % gegenüber der Kontrollgruppe verringert. Diese Schutzwirkung übertrifft die von der WHO ausgegebenen Richtwertkriterien für die Entwicklung von antischistosomal Arzneistoffen.^[215] Der Wurm wird wahrscheinlich durch die kombinierte TGR-Inhibition durch kovalente Modifikation eines Cysteins oder Selenocysteins und der anschließenden Freisetzung von NO getötet.^[215, 216]

5.2. Trioxolane

Halbsynthetische Derivate von Artemisinin, deren 1,2,4-Trioxaneinheit durch ein Trioxolan ersetzt war (Abbildung 10), lagen im gleichen Wirkungsbereich wie Artemisi-

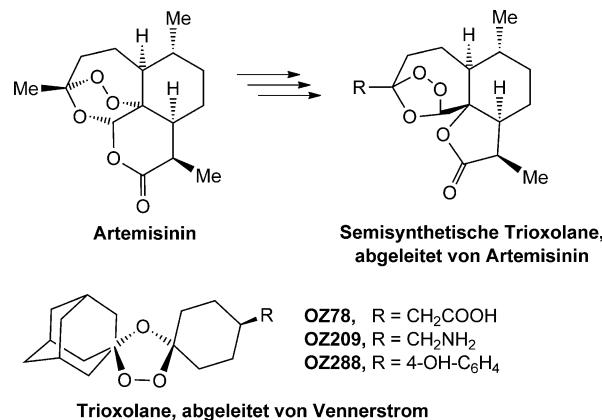


Abbildung 10. Struktur der Trioxolane (Me steht für Methyl, R für Methyl-, Propyl-, Isobutyl- oder Benzylrest).

nin. Sie führten in *S.-mansoni*-infizierten Mäusen zu einer Verringerung der Wurmlast von 30 bis 60% bei Behandlungsdosen von 300 mg kg^{-1} . Um diese Verbindungen herzu-

stellen, bedarf es allerdings mehrerer Syntheseschritte ausgehend von Artemisinin, und die Herstellungskosten sind nicht zufriedenstellend.^[217] Vannerstrom und Mitarbeiter beschrieben eine Reihe von neuen synthetischen Trioxolanen, hauptsächlich jedoch in Bezug auf ihre Antimalariawirkung.^[218] Ihre antischistosomal Wirkung wurde in *S.japonicum*-infizierten Mäusen geprüft.^[219] Unter den Verbindungen zeigten OZ78, OZ209 und OZ288 (Abbildung 10) eine hohe Aktivität in Mäusen, die eine 21 Tage alte Infektion mit *S.mansoni* trugen. Nach Verabreichung einer einzigen oralen Dosis von 200 mg kg^{-1} verringerte sich die Wurmlast um 79–96%. Gegen adulte *S.mansoni*-Infektionen führte nur OZ288 nach einer einzigen Dosis von 400 mg kg^{-1} zu einer signifikanten Verringerung der Wurmlast (52–65%). Eine hohe Aktivität der OZ-Derivate wurde in Hamstern auch gegen die juvenilen und adulten Stadien von *S.mansoni* und die adulten Stadien von *S.japonicum* festgestellt. Die unterschiedliche Aktivität gegen adulte Schistosomen bei Hamster- und Mausmodell beruht möglicherweise auf Unterschieden in der Immunantwort oder der Pharmakokinetik zwischen den Tierarten. Die niedrige Toxizität, metabolische Stabilität und die günstigen pharmakokinetischen Eigenschaften unterstreichen das hohe Potenzial dieser Wirkstoffkandidaten.^[220]

5.3. Trioxaquantele

Mit Blick auf die Komplementarität von Praziquantel und den Artemisininderivaten begannen wir mit der Entwicklung neuer Hybridverbindungen, bezeichnet als Trioxaquantele. Diese Verbindungen fassen die 1,2,4-Trioxan-Einheit von Artemisin und die Pyrazinoisochinolin-Einheit von Praziquantel in einem einzigen Wirkstoff zusammen (Abbildung 11). Bei einer vorläufigen Prüfung dieser Wirkstoffe in

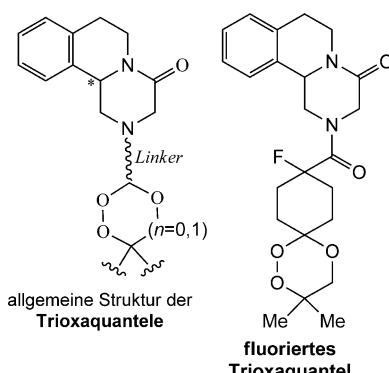


Abbildung 11. Struktur der Trioxaquantele.

S.mansoni-infizierten Mäusen^[221] erwies sich das in Abbildung 11 dargestellte Trioxaquantel als am aktivsten. Als orale Dosis von $200 \text{ mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ während fünf aufeinanderfolgenden Tagen verabreicht, reduzierte es die Wurmlast um 27%. Diese Aktivität liegt nahe an der von Artemether (Verringerung der Wurmlast um 41% bei $400 \text{ mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ während fünf aufeinanderfolgenden Tagen) und ist eher mäßig. Grund

für das schwache Abschneiden der Verbindungen kann die schlechte Löslichkeit mit folglich schwacher oraler Absorption sein.

5.4. Trioxaquine, PA1259, PA1647; Synergie mit Praziquantel

Die Trioxaquine (TXQ, Abbildung 12) sind Hybride aus zwei Antimalaria-Pharmakophoren in einem einzigen Molekül: einem 1,2,4-Trioxan und einem 4-Aminochinolin.^[222]

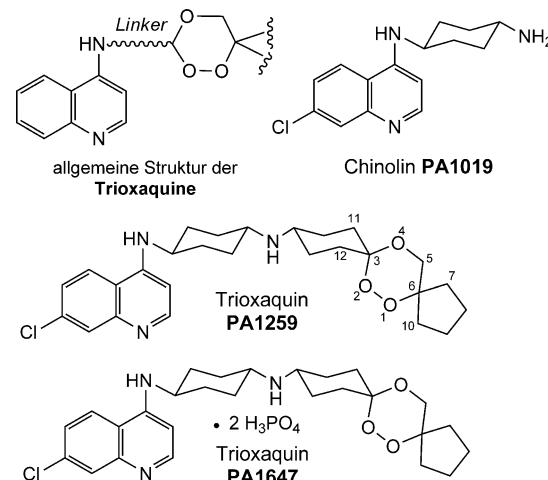


Abbildung 12. Struktur der Trioxaquine (Me steht für Methyl).

Ursprünglich gegen die Malaria entwickelt, wirken sie nach einem Dualmodus: die Trioxaneinheit alkyliert und die Aminochinolineinheit stapelt das Häm. In vitro hemmen die Moleküle die Hämozoinbildung.^[223–225] Wie bei den Artemisininderivaten werden sie durch Eisen(II)-Häm aktiviert. Die entstandenen kovalenten Häm-Wirkstoff-Addukte wurden in der Milz von Malaria-infizierten Mäusen nachgewiesen.^[224,228]

5.4.1. In-vitro-Aktivität

Einige Trioxaquele waren gegen die Larven- und reifen Entwicklungsstadien von kultivierten *S.mansoni* aktiv.^[229] PA1259 zeigte signifikante antischistosomal Aktivität gegen sämtliche Parasitenstadien. Es war somit ähnlich aktiv wie MFQ und wirkte stärker gegen das freie Zerkarienstadium als PZQ. ARTM ist gegen Zerkarien inaktiv. Gegen den reifen Parasiten (49 Tage) war die Aktivität von PZQ, MFQ und PA1259 hingegen ähnlich. Gegen 21 Tage alten Schistosomulen lag die Aktivität von PA1259 nahe der von PZQ, aber signifikant höher als die von MFQ und ARTM.^[154]

5.4.2. In-vivo-Aktivität

Bei Mäusen, die mit *S.mansoni* infiziert und am 21. oder 49. Tag nach der Infektion mit 4 oralen Dosen von 50 mg kg^{-1} PA1259 behandelt wurden, erwies sich das Trioxquin als etwas aktiver gegen das Larvenstadium (53% Reduktion der Wurmlast) als PZQ (41% Reduktion). Bei den adulten Sta-

dien führte PA1259 zu einer halb so hohen Reduktion der Wurmlast wie PZQ (40% gegenüber 86%).^[154] Zum Vergleich war ARTM bei 800 mg kg^{-1} in mit *S. mansoni* infizierten Mäusen inaktiv.^[179] Bemerkenswert war, dass PA1259 die Wurmlast in den verschiedenen Parasitenstadien ähnlich stark senkte. Demnach wirkt PA1259 nach einem anderen Mechanismus als das stadienspezifische PZQ.

5.4.3. Synergie mit Praziuantel

Mit *S. mansoni* infizierte Mäuse wurden am 21. Tag nach der Infektion mit PZQ und PA1647 (das Diphosphatsalz von PA1259, siehe Abbildung 12 für die Struktur) gleichzeitig behandelt. Das Ergebnis nach 4 oralen Kombinationsdosen von jeweils 25 mg kg^{-1} der Wirkstoffe deutet auf einen synergistischen Effekt hin (73% Reduktion der Schistosomula- last gegenüber der von unbehandelten Mäusen; zum Vergleich betrug die Reduktion nur 24% bzw. 18% unter PZQ und PA1647 als Monotherapie). Demnach gehören PA1259 und sein Phosphatsalz PA1647 zu den wirksamsten bisher getesteten Wirkstoffen gegen Schistosomen. Angesichts der Synnergie, die sich aus der Assoziation von PZQ mit PA1647 ergibt, ist eine effiziente Zweifachtherapie denkbar.^[154]

Da die Trioxaquine jedoch auf ihre Antimalaria-Aktivität hin entwickelt wurden, könnte eine Selektion auf *Plasmodium*-resistente Stämme zum Problem werden. Nach zwei Jahren kontinuierlichen Drucks durch den Arzneistoff konnte allerdings noch kein Trioxquin-resistenter *Plasmodium*-Stamm selektiert werden (F. Benoit-Vical und Mitarbeiter, unveröffentlicht).

5.4.4. Wirkungsmechanismus der Trioxaquine

Das Chinolinfragment von PA1259, PA1019 (Abbildung 12) ist wesentlich weniger aktiv gegen Schistosomen als PA1259. Dies stärkt die Vermutung, dass Chinolin- und Trioxaneinheit von PA1259 synergistisch wirken.^[225] Für *S. mansoni* wurde unlängst ein allgemeines Schadensbild durch PA1259 beschrieben und mit den entsprechenden Schadensbildern von PZQ, ARTM und MFQ verglichen.^[154]

5.4.4.1. Häm als Target

Häm ist ein wichtiges Target bei blutsaugende Parasiten. Dies manifestiert sich in der Hämalkylierung durch PA1259 bei adulten *S.-mansoni*-Weibchen. Auch Häm-Wirkstoff-Addukte aus behandelten Würmern wurden charakterisiert.^[230] Wurden adulte *S.-mansoni*-Weibchen *in vitro* mit PA1259 behandelt, würgten sie sofort Hämozoin (Hz) aus – sichtbar als braune „Wolke“ rechts in Abbildung 13a. Das übrige Hz, das in den Kontrollwürmern schwarz war (Abbildung 13d,e), veränderte wenige Minuten nach der Behandlung seine Farbe nach hellbraun (Abbildung 13b). Dies deutet auf eine Spaltung des Häm-Makrocyclus hin. In behandelten Schistosomen wurden Produkte nachgewiesen, die auf eine oxidative Spaltung des Häms an der *meso*-Position hindeuten.^[154] Einige Zeit nach der In-vitro-Behandlung erfüllte das braune Pigment den gesamten Wurmkörper (Abbildung 13c). Diese Ergebnisse wurden durch Transmissionselektronenmikroskopie von ultradünnen Querschnitten bestätigt: Der Darm von PA1259-behandelten Schistosomen enthielt nur noch

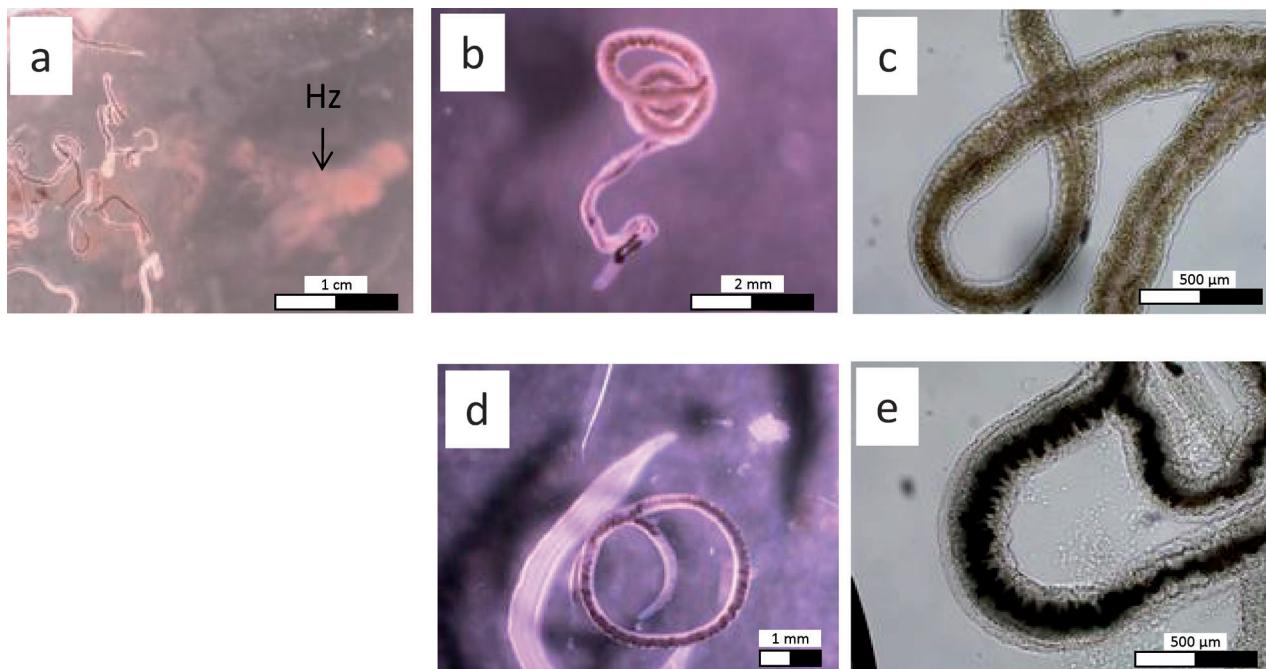


Abbildung 13. Lichtmikroskopische Aufnahmen von weiblichen *S. mansoni* nach Behandlung mit $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ PA1259 (a,b,c) und von Kontrollwürmern (d und e). Nach der Behandlung mit PA1259 würgen die Schistosomen das Hämozoin (Hz) wieder aus (braune „Wolke“ rechts in (a)). In (d) und (e) (unbehandelte Würmer) befindet sich Hz als definierte Einheit im Darm. In (b) und (c) (behandelte Würmer) schlug die Farbe von Hz nach hellbraun um und erfüllt jetzt den ganzen Wurmkörper. Der Häm-Makrocyclus wurde wahrscheinlich durch radikalische Spezies oxidativ gespalten und perforierte das Darmepithel.

etwa 10 % der Hämatozoinmenge, die in unbehandelten Schistosomen gefunden wurde. Zudem befand sich ein Teil der Hämatozoinplättchen direkt an der äußeren Epithelmembran, was auf eine Perforation des Darmepithels durch PA1259 schließen lässt.^[154] Keine derartige Modifikation gab es hingegen mit den Vergleichssubstanzen PZQ, ARTM und MFQ. Dies deutet auf eine oxidative und radikalische Schädigung des Häm-Makrocyclus und der Darmwand durch PA1259 hin.

5.4.4.2. Rolle von Stickoxid

In adulten *S.mansoni*-Weibchen wurde nach der Behandlung mit PA1259 auch die Produktion von NO[·] gemessen (anhand der Fluoreszenz in Gegenwart von DAF2-DA). Gegenüber den Kontrollwürmern war die Fluoreszenz hauptsächlich im Darm und den Vitellinzelnen signifikant erhöht. Zum Vergleich stieg die NO[·]-Produktion durch PZQ weniger stark, und das NO[·] wurde dicht am Tegument nachgewiesen (Abbildung 14). Die Produktion von Superoxid und

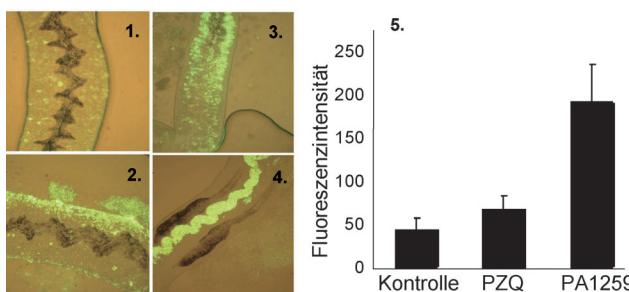


Abbildung 14. Quantifizierung von Stickoxid (NO[·]) in adulten weiblichen *S. mansoni*. In unbehandelten Würmern (1) ist die Produktion von NO[·] (nachgewiesen anhand der DAF2-DA-Fluoreszenz) niedrig; in PZQ-behandelten Würmern lässt sich NO[·] dicht am Wurmtegument nachweisen (2); in PA1259-behandelten Würmern wird die mit NO[·] assoziierte Fluoreszenz hauptsächlich in den Vitellinzelnen (3) und im Darm (4) gemessen. Quantifizierung der Gesamtfluoreszenz von NO[·] in PZQ- und PA1259-behandelten Würmern gegenüber der Kontrolle (5., die Fluoreszenzintensität steigt um das 1.5- und 4.5-fache in PZQ bzw. PA1259-behandelten Würmern).

Wasserstoffperoxid bei PA1259-behandelten Würmern stieg dagegen nicht signifikant. Anders hingegen bei PZQ: Hier war die O₂^{·-}-Produktion doppelt so hoch wie in Kontrollwürmern. Auch diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Wirkstoffe verschiedene Targets und Wirkungsmechanismen haben. Dies macht eine Zweifachtherapie aus PZQ in Kombination mit einem Trioxaquon hochinteressant.

5.4.4.3. Andere Targets als Häm

Trioxaquon PA1259 wirkt ebenso wie der Chinolinwirkstoff Mefloquin auf das Zerkarienstadium.^[154] Da die Zerkarien kein Häm enthalten, PA1259 (oder MFQ) aber auch gegen dieses Stadium aktiv ist, kann Häm nicht das der einzige Target sein. Wahrscheinlich spielt der Chinolinteil von PA1259 ebenfalls eine Rolle, besonders auf das Zerkarienstadium.

Muskulatur und Tegument: Stämme von *S. mansoni* falteten sich bei Behandlung mit PA1259 und anderen Trioxaquinen ausnahmslos in die Form eines losen Knotens ein. Demnach wirken die Substanzen auf die Muskulatur.^[229] In TEM-Mikrographen von PA1259-behandelten Würmern sind starke Schwellungen und ein Verlust der Organisation der subtegmentalen Muskulatur zu erkennen. Das Trioxaquon bewirkte die Erosion des gesamten Teguments oder sogar dessen vollständiges Verschwinden. Die schwerwiegendsten Tegumentenschäden richteten PA1259 und MFQ an. Weil somit Oberflächenantigene des Wurms exponiert werden, kann das Immunsystem des Wirts den Parasiten angreifen.^[154]

Vitellinzelnen: Auch die Ultrastruktur der Vitellinzelnen von mit PA1259 behandelten *S.mansoni*-Würmern wies ausgedehnte Veränderungen auf. Schäden dieser Art bewirkte auch MFQ, aber mit PZQ oder ARTM blieben die meisten Vitellinzelnen intakt. Somit sind diese Veränderungen dem Chinolinteil des Wirkstoffs zuzuschreiben. Zudem löste PA1259 in den Vitellinzelnen die Produktion von NO[·] aus (siehe oben).^[154] Trotz einiger gemeinsamer Effekte der Häm-Wirkstoffe ist aber das morphologische Bild sowie die Intensität des Effekts sehr variabel – egal, ob der Wirkstoff eine Trioxan-, Chinolin- oder Hybridstruktur wie bei den Trioxaquinen hat. Offenbar unterscheiden sich die Wirkungsmechanismen spezifisch. Die elektronenmikroskopisch (TEM und SEM) ermittelten relativen Schadensintensitäten bei *S.mansoni*-Kulturen sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1: Relative Intensität der Schäden nach In-vitro-Behandlung von adulten weiblichen *S. mansoni* mit PA1259 gegenüber der Intensität mit den Vergleichssubstanzen Praziquantel, Mefloquin und Artemether.

Zielort	PZQ	PA1259	MFQ	ARTM
Hämatozoin	++	++++	++	+
Vitellinzelnen	+	++	+++	+
Tegument	+	+++	+++	++
Muskulator	+++	+++	+++	-

Der Wirkungsmechanismus der Trioxaquine gegen die Schistosomen ist noch nicht ganz geklärt. So können die starke Schädigung der Zerkarien, die Veränderung des äußeren Teguments und der Effekt auf die Vitellinzelnen durch PA1259 nicht allein mit dessen Aktivität gegen Häm erklärt werden. Die Sequenz Hämoglobin-Häm-Hämatozoin ist in den Schistosomen jedoch nicht die einzige Quelle für Eisen. Mehrere andere eisenhaltige Protein können ebenfalls eine Rolle spielen. Schistosomen haben einen hohen Eisenbedarf und während ihrer frühen Entwicklungsstufen im Säuger sind sie abhängig von der Eisenzufuhr durch ihren Wirt.^[231–233] In mehreren neueren Artikeln wird daher vorgeschlagen, den Eisenmetabolismus als Target für entweder Chemotherapeutika oder Impfstoffe gegen Schistosomen zu verwenden.^[59,234]

6. Schlussfolgerung

Die Schistosomiasis hat viele Charakteristika einer seltenen Krankheit, trotz der hohen Durchseuchung in vielen tropischen Ländern. In der Mitte des letzten Jahrhunderts wurde noch intensiv an der Entwicklung von neuen Chemotherapien geforscht, aber infolge verringriger Anstrengungen reduzierte sich das Therapiearsenal auf einen einzigen Arzneistoff: Praziquantel. Umgehend sollten daher neue Strategien zur Eindämmung der Krankheit in den tropischen Regionen ausgearbeitet werden, am besten auf der Basis von niedermolekularen Verbindungen, da die Impfung mit großen Vakzinen mit Problemen behaftet ist.

Die große Herausforderung wird es sein, nicht auf die „nativen“ Antimalariawirkstoffe wie die Artemisininderivate zurückzugreifen, sondern neue Substanzen zu entwickeln. Grundlage hierfür sind die Wirkungsmechanismen der Antimalariamoleküle, die Nebeneffekte auf Schistosomen haben. Gute Kandidaten sind Wirkstoffe, die den Hämverdau und/oder die Hämpolymerisation angreifen. Da häufig Koinfektionen mit mehreren Parasitenarten auftreten, wäre somit auch eine kombinierte Eindämmung der von diesen ausgelösten Krankheiten möglich. Hilfreich könnten Wirkstoffe auf Peroxidbasis sein, die auch Malariaparasiten angreifen, ohne allerdings eine Selektion auf resistente *Plasmodium*-Stämme auszulösen. Solche Moleküle sind dann gegen beide Parasiten aktiv und haben wenig Nebenwirkungen.

Danksagung

Die Arbeiten zu den Trioxaquinen wurde durch Palumed, das CNRS, die University of Perpignan Via Domitia und die „Agence Nationale pour la Recherche“ (ANR grant no. ANR-08-MIEN-026-02) unterstützt. Die Autoren danken Frédéric Cosédan (Palumed) für seine aktive Mitarbeit beim Design und der Evaluierung der Trioxaquine.

Eingegangen am 18. Oktober 2012
Online veröffentlicht am 27. Juni 2013

Übersetzt von Dr. Roswitha Harrer, Otterberg

- [1] H. Von Schadewaldt, *Munch. Med. Wochenschr.* **1962**, *104*, 1730–1734.
- [2] *Rev. Infect. Dis.* **1982**, *4*, 727–732. (Auszüge aus den Originalbriefen von T. Bilharz an C. T. von Siebold, veröffentlicht in: „Ein Beitrag zur Helminthographia humana“: Z. Wiss. Zool. **1853**, *4*, 53–76 und Z. Wiss. Zool. **1853**, *4*, 453–456; der Band ist kostenlos erhältlich unter <http://books.google.fr/books?id=DwMXAAAAAYAAJ&printsec=frontcover&hl=fr&ie=ISO-8859-1#v=onepage&q&f=false>. January 7, 2013).
- [3] L. Chitsulo, D. Engels, A. Montresor, L. Savioli, *Acta Trop.* **2000**, *77*, 41–51.
- [4] A. Fenwick, D. Rollinson, V. Southgate, *Adv. Parasitol.* **2006**, *61*, 567–622.
- [5] a) B. Gryseels, K. Polman, J. Clerinx, L. Kestens, *Lancet* **2006**, *368*, 1106–1118; b) D. Rollinson, S. Knopp, S. Levitz, J. R. Stothard, L.-A. Tchouem Tchuenté, A. Garba, K. A. Mohammed, N. Schur, B. Person, D. G. Colley, J. Utzinger, *Acta Trop.*, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.04.013>;
- c) WHO Fact sheet No. 115, January **2012**; Dokument erhältlich unter <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/index.html>; October 12, 2012.
- [6] M. L. A. Ferrari, P. M. Z. Coelho, C. M. F. Antunes, C. A. P. Tavares, A. S. da Cunha, *Bull. W. H. O.* **2003**, *81*, 190–196.
- [7] C. H. King, K. Dickman, D. J. Tish, *Lancet* **2005**, *365*, 1561–1569.
- [8] R. Deganello, M. Cruciani, C. Beltramello, O. Duncan, V. Oyugi, A. Montresor, *Emerging Infect. Dis.* **2007**, *13*, 1504–1506.
- [9] X.-N. Zhou, L.-Y. Wang, M.-G. Chen, T.-P. Wang, J.-G. Guo, X.-H. Wu, Q.-W. Jiang, J. Zheng, X.-Y. Chen, *Acta Trop.* **2005**, *96*, 255–265.
- [10] X.-N. Zhou, L.-Y. Wang, M.-G. Chen, T.-P. Wang, J.-G. Guo, X.-H. Wu, Q.-W. Jiang, J. Zheng, X.-Y. Chen, *Acta Trop.* **2005**, *96*, 97–105.
- [11] S. Liang, C. Yang, B. Zhong, D. Qiu, *Bull. W. H. O.* **2006**, *84*, 139–144.
- [12] Bericht Nr. 44466 der Weltbank, 25. Juni **2008**. Dokument erhältlich unter http://siteresources.worldbank.org/EXTWBASSHEANUTPOP/Resources/egypt_schistosomiasis_ppar.pdf. Sept. 12, 2012.
- [13] M. J. Conceição, J. Borges-Pereira, J. R. Coura, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2007**, *102*, 1007–1009.
- [14] M. J. Enk, A. C. Lima, C. L. Massara, P. M. Coelho, V. T. Schall, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2008**, *78*, 140–146.
- [15] H. Madsen, H. Carabin, D. Balolong, V. L. Tallo, R. Olveda, M. Yuan, S. T. McGarvey, *Acta Trop.* **2008**, *105*, 235–241.
- [16] J. A. Patz, T. K. Graczyk, N. Geller, A. Y. Vittor, *Int. J. Parasitol.* **2000**, *30*, 1395–1405.
- [17] J.-P. Pointier, R. J. DeJong, L. A. T. Tchuenté, T. K. Kristensen, E. S. Loker, *Acta Trop.* **2005**, *93*, 191–199.
- [18] S. Brooker, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2007**, *101*, 1–8.
- [19] a) A. G. P. Ross, P. B. Bartley, A. C. Sleigh, G. R. Olds, Y. Li, G. M. Williams, D. P. McManus, *N. Engl. J. Med.* **2002**, *346*, 1212–1220; b) P. Z. Fuertes, A. Pérez-Ayala, J. A. P. Molina, F. F. Norman, B. A. Monge-Maíllo, M. Navarro, R. López-Vélez, *J. Travel. Med.* **2010**, *17*, 303–309.
- [20] H. Moné, G. Mouahid, S. Morand, *Adv. Parasitol.* **1999**, *44*, 99–138.
- [21] T. P. Wang, J. Shrivastava, M. V. Johansen, S. Q. Zhang, F. F. Wang, J. P. Webster, *Int. J. Parasitol.* **2006**, *36*, 1317–1325.
- [22] D. J. Gray, G. M. Williams, Y. Li, H. Chen, R. S. Li, S. J. Forsyth, A. G. Barnett, J. Guo, Z. Feng, D. P. McManus, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2007**, *77*, 866–874.
- [23] T. C. Cheng, *General Parasitology*, 2nd ed., Academic Press, Orlando, **1986**.
- [24] I. Takougang, J. Meli, J. W. Poné, F. Angwafo III, *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **2007**, *101*, 479–486.
- [25] D. Lowe, J. Xi, X. Meng, Z. Wu, D. Qiu, R. Spear, *Parasitol. Int.* **2005**, *54*, 83–89.
- [26] M. A. Stirewalt, J. R. Hackey, *J. Parasitol.* **1956**, *42*, 565–580.
- [27] M. A. Stirewalt, F. J. Kruidenier, *Exp. Parasitol.* **1961**, *11*, 191–211.
- [28] G. N. Gobert, M. Chai, D. P. McManus, *Parasitology* **2007**, *134*, 453–460.
- [29] D. L. Boros, *Clin. Microbiol. Rev.* **1989**, *2*, 250–269.
- [30] F. J. Carod-Artal, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2008**, *102*, 107–116.
- [31] a) S. Jauréguiberry, S. Ansart, L. Perez, M. Danis, F. Bricaire, E. Caumes, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2007**, *76*, 964–966; b) Y.-G. Jiang, M.-M. Zhang, J. Xiang, *Surg. Neurol.* **2008**, *69*, 392–397.
- [32] Y. P. Wu, P. J. Lenting, A. G. M. Tielens, P. G. De Groot, J. J. van Hellemond, *J. Thromb. Haemostasis* **2007**, *5*, 2146–2165.
- [33] L. M. Diniz, E. Zandonade, R. Dietze, F. E. L. Pereira, R. Ribeiro-Rodrigues, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2001**, *65*, 852–854.

- [34] D. Elias, D. Wolday, H. Akuffo, B. Petros, U. Bronner, S. Britton, *Clin. Exp. Immunol.* **2001**, *123*, 219–225.
- [35] M. Legesse, B. Erko, F. Balcha, *Acta Trop.* **2004**, *91*, 161–166.
- [36] R. A. Zussman, P. M. Bruman, J. C. Petruska, *J. Parasitol.* **1970**, *56*, 75–79.
- [37] B. J. Bogitsh, *Exp. Parasitol.* **1978**, *45*, 247–254.
- [38] P. J. Brindley, B. H. Kalinna, J. P. Dalton, S. R. Day, J. Y. M. Wong, M. L. Smythe, D. P. McManus, *Mol. Biochem. Parasitol.* **1997**, *89*, 1–9.
- [39] J. D. Lawrence, *J. Parasitol.* **1973**, *59*, 60–63.
- [40] A. R. Timms, E. Bueding, *Br. J. Pharmacol.* **1959**, *14*, 68–73.
- [41] K. Kloetze, R. M. Lewert, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1966**, *15*, 28–31.
- [42] D. E. Goldberg, A. F. G. Slater, R. Beavis, B. Chait, A. Cerami, G. B. Henderson, *J. Exp. Med.* **1991**, *173*, 961–969.
- [43] M. F. Oliveira, J. R. Silva, M. Danso-Petretski, W. de Souza, C. M. S. Braga, H. Masuda, P. L. Oliveira, *FEBS Lett.* **2000**, *477*, 95–98.
- [44] W. P. Rogers, *J. Helminthol.* **1940**, *18*, 53–62.
- [45] B. J. Bogitsh, O. S. Carter, *Trans. Am. Microsc. Soc.* **1977**, *96*, 219–227.
- [46] M. F. Oliveira, J. C. P. d'Avila, C. R. Torres, P. L. Oliveira, A. J. Tempone, F. D. Rumjanek, C. M. S. Braga, J. R. Silva, M. Danso-Petretski, M. A. Oliveira, W. de Souza, S. T. Ferreira, *Mol. Biochem. Parasitol.* **2000**, *111*, 217–221.
- [47] C. A. Homewood, J. M. Jewsbury, M. L. Chance, *Comp. Biochem. Physiol.* **1972**, *43*, 517–523.
- [48] C. D. Fitch, P. Kanjananggulpan, *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 15552–15555.
- [49] D. S. Bohle, R. E. Dinnebier, S. K. Madsen, P. W. Stephens, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 713–716.
- [50] M. M. Chen, L. Shi, D. J. Sullivan, Jr., *Mol. Biochem. Parasitol.* **2001**, *113*, 1–8.
- [51] M. F. Oliveira, S. W. Kycia, A. Gomez, A. J. Kosar, D. S. Bohle, E. Hempelmann, D. Menezes, M. A. Vannier-Santos, P. L. Oliveira, S. T. Ferreira, *FEBS Lett.* **2005**, *579*, 6010–6016.
- [52] A. F. G. Slater, W. J. Swiggard, B. R. Orton, W. D. Flitter, D. E. Goldberg, A. Cerami, G. B. Henderson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 325–329.
- [53] S. Pagola, P. W. Stephens, D. S. Bohle, A. D. Kosar, S. K. Madsen, *Nature* **2000**, *404*, 307–310.
- [54] C. Loup, J. Lelièvre, F. Benoit-Vical, B. Meunier, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 3768–3770.
- [55] J. B. R. Corrêa Soares, C. M. Maya-Monteiro, P. R. B. Bitten-court-Cunha, G. C. Atella, F. A. Lara, J. C. P. d'Avila, D. Menezes, M. A. Vannier-Santos, P. L. Oliveira, T. J. Egan, M. F. Oliveira, *FEBS Lett.* **2007**, *581*, 1742–1750.
- [56] a) N. R. Bergquist, D. G. Colley, *Parasitol. Today* **1998**, *14*, 99–104; b) R. A. Wilson, P. S. Coulson, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2006**, *101*, 13–20.
- [57] a) M. G. Radke, E. H. Sadun, *Exp. Parasitol.* **1963**, *13*, 134–142; b) D. Richter, D. A. Harn, F.-R. Matuska, *Parasitol. Today* **1995**, *11*, 288–293.
- [58] G. Ahmad, W. Zhang, W. Torben, A. Ahrorov, R. T. Damian, R. F. Wolf, G. L. White, D. W. Carey, P. N. M. Mwinzi, L. Ganley-Leal, R. C. Kennedy, A. A. Siddiqui, *J. Infect. Dis.* **2011**, *204*, 1437–1449.
- [59] a) A. Capron, G. Riveau, M. Capron, F. Trottein, *Trends Parasitol.* **2005**, *21*, 143–149; b) G. Riveau, D. Deplanque, F. Remoué, A.-M. Schacht, H. Vodougnon, M. Capron, M. Thiry, J. Martial, C. Libersa, A. Capron, *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2012**, *6*, e1704; c) <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00870649>.
- [60] D. P. McManus, A. Loukas, *Clin. Microbiol. Rev.* **2008**, *21*, 225–242.
- [61] J. B. Christopherson, M. D. Cantab, *Lancet* **1918**, *192*, 325–327.
- [62] M. J. Miller, H. P. Lyon, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1955**, *4*, 1049–1056.
- [63] G. E. Malaret, *JAMA* **1964**, *188*, 761–761.
- [64] D. Cioli, L. Pica-Mattoccia, S. Archer, *Pharmacol. Ther.* **1995**, *68*, 35–85, zit. Lit.
- [65] G. Ribeiro-dos-Santos, S. Verjovski-Almeida, L. C. C. Leite, *Parasitol. Res.* **2006**, *99*, 505–521, zit. Lit.
- [66] P. C. Gopalratnam, N. S. Mason, R. E. Sparks, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **1984**, *10*, 213–220.
- [67] A. L. de Melo, N. M. Silva-Barcellos, C. Demicheli, F. Frézard, *Int. J. Pharm.* **2003**, *255*, 227–230.
- [68] R. D. S. Milan, C. P. Demichele, F. J. G. Frezard, A. L. Demelo, L. A. M. Ferreira, R. O. Bejarano, P. C. T. Int. Appl. **2006**, WO 2006000069.
- [69] E. Bueding, J. M. Mansour, *Br. J. Pharmacol. Chemother.* **1957**, *12*, 159–165.
- [70] E. Bueding, J. Fisher, *Biochem. Pharmacol.* **1966**, *15*, 1197–1211.
- [71] N. M. Woolhouse, *Biochem. Pharmacol.* **1979**, *28*, 2413–2418.
- [72] T. E. Mansour, E. Bueding, *Br. J. Pharmacol. Chemother.* **1954**, *9*, 459–462.
- [73] L. Rogers, *Br. Med. J.* **1912**, *1*, 1424–1425.
- [74] L. Rogers, *Br. Med. J.* **1912**, *2*, 405–408.
- [75] C. Bonne, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1919**, *12*, 82–85.
- [76] F. G. Cawston, *Br. Med. J.* **1922**, *2*, 661–661.
- [77] M. W. Jepps, J. C. Meakins, *Br. Med. J.* **1917**, *2*, 645–648.
- [78] S. Dack, R. E. Moloshok, *Arch. Int. Med.* **1947**, *79*, 228–238, zit. Lit.
- [79] T. H. Brem, B. E. Konwaler, *Am. Heart J.* **1955**, *50*, 476–481.
- [80] H. H. Salem, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1965**, *59*, 307–317.
- [81] H. M. Gilles, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1967**, *61*, 571–574.
- [82] R. S. Gupta, L. Siminovitch, *J. Biol. Chem.* **1978**, *253*, 3978–3982.
- [83] W. C. Campbell, A. C. Cuckler, *J. Parasitol.* **1966**, *52*, 827–828.
- [84] L. M. Werbel, P. E. Thompson, *J. Med. Chem.* **1967**, *10*, 32–36.
- [85] E. Doebring, H. Feldmeier, A. A. Dafalla, J. H. H. Ehrlich, U. Vester, U. Poggensee, *J. Infect. Dis.* **1984**, *149*, 615–620.
- [86] J. Utzinger, J. Keiser, *Expert Opin. Pharmacother.* **2004**, *5*, 263–285.
- [87] G. C. Coles, J. I. Bruce, *Int. J. Parasitol.* **1987**, *17*, 767–771.
- [88] C. H. King, E. M. Muchiri, J. H. Ouma, *Emerging Infect. Dis.* **2000**, *6*, 585–594.
- [89] I. Nordgren, M. Bergström, B. Holmstedt, M. Sandoz, *Arch. Toxicol.* **1978**, *41*, 31–41.
- [90] D. A. Denham, R. J. Holdsworth, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1971**, *65*, 696–696.
- [91] M. Camacho, M. Terrab-Hazdai, B. Espinoza, R. Arnon, B. Agnew, *Parasitology* **1994**, *108*, 153–160.
- [92] A. Bloom, *Acta Pharmacol. Toxicol.* **1981**, *49*, 109–113.
- [93] M. A. Raskind, P. A. Cyrus, B. B. Ruzicka, B. I. Gulanski, *J. Clin. Psychiatry* **1999**, *60*, 318–329.
- [94] P. Schmidt, M. Wilhelm, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1966**, *5*, 850–855; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1966**, *78*, 850–855;
- [95] H. Hof, O. Zak, E. Schweizer, A. Denzler, *J. Antimicrob. Chemother.* **1984**, *14*, 31–39.
- [96] R. Foster, B. L. Cheetham, E. T. Mesmer, D. F. King, *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **1971**, *65*, 45–58.
- [97] H. L. Wolfe, *Lancet* **1967**, *1*, 350–354.
- [98] A. Abdallah, M. Saif, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1969**, *160*, 686–695.
- [99] F. Fontanilles, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1969**, *160*, 811–820.
- [100] P. Jordan, *Br. Med. J.* **1966**, *1*, 276–278.
- [101] A. Coutinho, F. T. Barreto, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1969**, *160*, 612–628.
- [102] J. W. Tracy, B. A. Catto, L. T. Webster, *Mol. Pharmacol.* **1983**, *24*, 291–299.
- [103] J. C. Daniels, K. S. Warren, J. R. David, *J. Immunol.* **1975**, *115*, 1414–1421.
- [104] J. L. Blumer, A. Friedman, L. W. Meyer, E. Fairchild, L. T. Wenster, Jr., W. T. Speck, *Cancer Res.* **1980**, *40*, 4599–4605.

- [105] H. P. Striebel, *Experientia* **1976**, *32*, 457–458.
- [106] G. M. Mkoji, J. M. Smith, R. K. Prichard, *Biochem. Pharmacol.* **1989**, *38*, 4307–4313.
- [107] B. Nare, J. M. Smith, R. K. Prichard, *Biochem. Pharmacol.* **1991**, *42*, 1287–1292.
- [108] S. S. Ansher, P. Dolan, E. Bueding, *Hepatology* **1983**, *3*, 932–935.
- [109] N. Moreau, T. Martens, M.-B. Fleury, J.-P. Leroy, *Biochem. Pharmacol.* **1990**, *40*, 1299–1305.
- [110] M.-B. Fleury, M. Largeron, T. Martens, *Biochem. Pharmacol.* **1991**, *41*, 361.
- [111] M. L. Clapper, L. C. Everley, L. A. Strobel, A. J. Townsend, P. F. Engstrom, *Mol. Pharmacol.* **1994**, *45*, 469–474.
- [112] R. Barakat, H. Elmorshed, A. Fenwick, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2005**, *73*, 365–367.
- [113] M. M. Osman, H. A. El-Taweel, A. Y. Shehab, H. F. Farag, *East. Medit. Health J.* **2010**, *16*, 932–936.
- [114] F. Eshete, J. L. Bennett, *Exp. Parasitol.* **1990**, *71*, 69–80.
- [115] F. R. Guirguis, *Arzneim.-Forsch.* **2003**, *53*, 57–61.
- [116] http://whqlibdoc.who.int/hq/2011/a95053_eng.pdf. July 16, 2012.
- [117] D. M. Blair, F. Hawking, W. F. Ross, *Lancet* **1947**, *2*, 911–912.
- [118] D. Cioli, P. M. Knopf, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1980**, *29*, 220–226.
- [119] D. Rosi, G. Peruzzotti, E. W. Dennis, D. A. Berberian, H. Freele, B. F. Tullar, S. Archer, *J. Med. Chem.* **1967**, *10*, 867–876.
- [120] P. E. Hartman, K. Levine, Z. Hartman, H. Berger, *Science* **1971**, *172*, 1058–1060.
- [121] J. A. Moore, *Nature* **1972**, *239*, 107–109.
- [122] W. H. Haese, D. L. Smith, E. Bueding, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1973**, *186*, 430–440.
- [123] P. J. Brindley, S. Heath, A. P. Waters, T. F. McCutchan, A. Sher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 7754–7758.
- [124] S. H. Rogers, E. Bueding, *Science* **1971**, *172*, 1057–1058.
- [125] L. Pica-Mattoccia, D. Cioli, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1985**, *34*, 112–118.
- [126] A. C. Sleigh, R. Hoff, K. E. Mott, J. H. Maguire, J. T. Da França Silva, *Lancet* **1986**, *327*, 635–637.
- [127] M. J. Doenhoff, J. R. Kusel, G. C. Coles, D. Cioli, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2002**, *96*, 465–469.
- [128] A. L. Melo, L. H. Pereira, C. R. Corrêa, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1978**, *72*, 158–159.
- [129] L. C. de Souza Dias, P. de Jesus, E. R. Deberaldini, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1982**, *76*, 652–659.
- [130] G. R. Hillman, A. W. Senft, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1975**, *24*, 827–834.
- [131] L. Pica-Mattoccia, D. Cioli, *Mol. Biochem. Parasitol.* **1983**, *8*, 99–107.
- [132] L. Pica-Mattochia, D. Cioli, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1985**, *34*, 112–118.
- [133] L. Pica-Mattoccia, D. Cioli, S. Archer, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1989**, *83*, 373–376.
- [134] L. Pica-Mattoccia, D. Carlini, A. Guidi, V. Cimica, F. Vigoroso, D. Cioli, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2006**, *101*, 307–312.
- [135] L. Dassonneville, C. Bailly, *Biochem. Pharmacol.* **1999**, *58*, 1307–1312.
- [136] M. D. Naidu, R. Agarwal, L. A. Pena, L. Cunha, M. Mezei, M. Shen, D. M. Wilson III, Y. Liu, Z. Sanchez, P. Chaudhary, S. H. Wilson, M. J. Waring, *PLoS One* **2011**, *6*, e23679.
- [137] M. P. Nobler, A. J. Sher, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **1978**, *4*, 1039–1044.
- [138] J. D. Del Rowe, J. Bello, R. Mitnick, B. Sood, C. Filippi, J. Moran, K. Freeman, F. Mendez, R. Bases, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **1999**, *43*, 89–93.
- [139] J. S. Carew, C. M. Espitia, J. A. Esquivel II, D. Mahalingam, K. R. Kelly, G. Reddy, F. J. Giles, S. T. Nawrocki, *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 6602–6613.
- [140] T. A. Noctor, A. F. Fell, B. Kaye, *Chirality* **1990**, *2*, 269–274.
- [141] A. F. Fell, T. A. Noctor, B. Kaye, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1989**, *7*, 1743–1748.
- [142] H. Frohberg, M. S. Schencking, *Arzneim.-Forsch.* **1981**, *31*, 555–565.
- [143] H. Frohberg, *Arzneim.-Forsch.* **1984**, *34*, 1137–1144.
- [144] http://www.merckgroup.com/en/responsibility/society/global_responsibility_projects/praziquantel.html. July 18th, 2012.
- [145] <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/whozip48e/whozip48e.pdf>.
- [146] N. Castro, R. Medina, J. Sotelo, H. Jung, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**, *44*, 2903–2904.
- [147] P. Andrews, H. Thomas, R. Pohlke, J. Seubert, *Med. Res. Rev.* **1983**, *3*, 147–200.
- [148] S.-H. Xiao, B. A. Catto, *J. Infect. Dis.* **1989**, *159*, 589–592.
- [149] M.-H. Wu, C.-C. Wei, Z.-Y. Xu, H.-C. Yuan, W.-N. Lian, Q.-J. Yang, M. Chen, Q.-W. Jiang, C.-Z. Wang, S.-J. Zhang, Z.-D. Liu, R.-M. Wei, S.-J. Yuan, L.-S. Hu, Z.-S. Wu, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1991**, *45*, 345–349.
- [150] F. Westhoff, G. Blaschke, *J. Chromatogr. Biomed. Appl.* **1992**, *578*, 265–271.
- [151] G. Leopold, W. Ungethüm, E. Groll, H. W. Diekmann, H. Nowak, D. H. G. Wegner, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1978**, *14*, 281–291.
- [152] S.-H. Xiao, B. A. Catto, L. T. Webster, Jr., *J. Infect. Dis.* **1985**, *151*, 1130–1137.
- [153] L. Pica-Mattoccia, D. Cioli, *Int. J. Parasitol.* **2004**, *34*, 527–533.
- [154] J. Portela, J. Boissier, B. Gourbal, V. Pradines, V. Collière, F. Coslédan, B. Meunier, A. Robert, *PLoS Neglected Trop. Dis.* **2012**, *6*, e1474.
- [155] C. A. Redman, A. Robertson, P. G. Fallon, J. Modha, J. R. Kusel, M. J. Doenhoff, R. J. Martin, *Parasitol. Today* **1996**, *12*, 14–20.
- [156] W. Harnett, J. R. Kusel, *Parasitology* **1986**, *93*, 401–405.
- [157] A. A. Sabah, C. Fletcher, G. Webbe, M. J. Doenhoff, *Exp. Parasitol.* **1985**, *60*, 348–354.
- [158] P. J. Brindley, M. Strand, A. P. Norden, A. Sher, *Mol. Biochem. Parasitol.* **1989**, *34*, 99–108.
- [159] a) R. Pax, J. L. Bennett, T. A. Fetterer, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **1978**, *304*, 309–315; b) R. M. Greenberg, *Int. J. Parasitol.* **2005**, *35*, 1–9.
- [160] a) A. B. Kohn, P. A. V. Anderson, J. M. Roberts-Misterly, R. M. Greenberg, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 36873–36876; b) M. C. Jeziorski, R. M. Greenberg, *Int. J. Parasitol.* **2006**, *36*, 625–632.
- [161] R. M. Greenberg, *Parasitology* **2005**, *131*, S97–S108.
- [162] F. Noël, V. M. N. Cunha, C. L. M. Silva, D. L. Mendonça-Silva, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2001**, *96*, 85–88.
- [163] D. P. Thompson, G. Z. Chen, A. K. Sample, D. R. Semeyn, J. L. Bennett, *Am. J. Physiol.* **1986**, *251*, R1051–R1058.
- [164] A. S. Taft, T. P. Yoshino, *J. Parasitol.* **2011**, *97*, 72–81.
- [165] J. Khalife, J. L. Liu, R. Pierce, E. Porchet, C. Godin, A. Capron, *Parasitology* **1994**, *108*, 527–532.
- [166] Y. Matsumoto, G. Perry, R. J. C. Levine, R. Blanton, A. A. F. Mahmoud, M. Aikawa, *Nature* **1988**, *333*, 76–78.
- [167] L. Pica-Mattoccia, C. Valle, A. Basso, A. R. Troiani, F. Vigoroso, P. Liberti, A. Festucci, D. Cioli, *Exp. Parasitol.* **2007**, *115*, 344–351.
- [168] M. Gnanasekar, A. M. Salunkhe, A. K. Mallia, Y. X. He, R. Kalyanasundaram, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 1054–1060.
- [169] a) P. G. Fallon, M. J. Doenhoff, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1994**, *51*, 83–88; b) W. Wang, L. Wang, Y.-S. Liang, *Parasitol. Res.* **2012**, *111*, 1871–1877.
- [170] M. Ismail, A. Metwally, A. Farghaly, J. Bruca, L.-F. Tao, J. L. Bennett, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1996**, *55*, 214–218.

- [171] L. Van Lieshout, F. F. Stelma, F. Guisse, S. T. M. F. Ferreira, K. Polman, G. J. Van Dam, M. Diakhate, S. Sow, A. Deelder, B. Gryseels, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1999**, *61*, 760–765.
- [172] N. Katz, R. S. Rocha, C. P. De Souza, P. Coura, J. I. Bruce, G. C. Coles, G. C. Kinoti, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1991**, *44*, 509–512.
- [173] B. Gryseels, A. Mbaye, S. J. De Vlas, F. F. Stelma, F. Guissé, L. Van Lieshout, D. Faye, M. Diop, A. Ly, L. A. Tchouem-Tchuenté, D. Engels, K. Polman, *Trop. Med. Int. Health* **2001**, *6*, 864–873.
- [174] D. Alonso, J. Muñoz, J. Gascón, M. E. Valls, M. Cochran, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2006**, *74*, 342–344.
- [175] W. Wang, J.-R. Dai, H.-J. Li, X.-H. Shen, Y.-S. Liang, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2012**, *86*, 834–836.
- [176] R. S. Kasinathan, W. M. Morgan, R. M. Greenberg, *Mol. Biochem. Parasitol.* **2010**, *173*, 25–31.
- [177] J.-Q. You, J.-Y. Mei, S.-H. Xiao, *Acta Pharmacol. Sin.* **1992**, *13*, 280–284 (article in Chinese, abstract in English).
- [178] S.-H. Xiao, B. A. Catto, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1989**, *33*, 1557–1562.
- [179] P. W. Pappas, *Exp. Parasitol.* **1975**, *37*, 469–530.
- [180] S.-H. Xiao, J. Utzinger, J. Chollet, Y. Endriss, E. K. N'Goran, M. Tanner, *Int. J. Parasitol.* **2000**, *30*, 1001–1006.
- [181] J. Utzinger, J. Chollet, Z. Tu, S.-H. Xiao, M. Tanner, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2002**, *96*, 318–323.
- [182] Y.-S. Li, H.-G. Chen, H.-B. He, X.-Y. Hou, M. Ellis, D. P. McManus, *Acta Trop.* **2005**, *96*, 184–190.
- [183] a) J. Utzinger, E. K. N'Goran, A. N'Dri, C. Lengeler, S.-H. Xiao, M. Tanner, *Lancet* **2000**, *355*, 1320–1325; b) D. De Clercq, J. Vercruyse, P. Verlé, F. Niasse, A. Kongs, M. Diop, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2000**, *94*, 90–91.
- [184] D. Boulanger, Y. Dieng, B. Cisse, F. Remoue, F. Capuano, J.-L. Dieme, T. Ndiaye, C. Sokhna, J.-F. Trape, B. Greenwood, F. Simondon, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2007**, *101*, 113–116.
- [185] J. Keiser, N. A. N'Guessan, K. D. Adouby, K. D. Silué, P. Vounatsou, C. Hatz, J. Utzinger, E. K. N'Goran, *Clin. Infect. Dis.* **2010**, *50*, 1205–1213.
- [186] I. Adam, O. A. Elhardello, M. O. Elhadi, E. Abdalla, K. A. Elmardi, F. H. Jansen, *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **2008**, *102*, 39–44.
- [187] S. Borrmann, N. Szlezák, J.-F. Faucher, P.-B. Matsiegui, R. Neubauer, R. K. Binder, B. Lell, P. G. Kremsner, *J. Infect. Dis.* **2001**, *184*, 1363–1366.
- [188] C. O. Obonyo, E. M. O. Muok, P. N. M. Mwinzi, *Lancet Infect. Dis.* **2010**, *10*, 603–611.
- [189] J. Utzinger, M. Tanner, J. Keiser, *Lancet Infect. Dis.* **2010**, *10*, 579–580.
- [190] H.-Y. Hua, Y.-S. Liang, Y. Zhang, J.-F. Wei, H.-X. Guo, *Parasitol. Res.* **2010**, *107*, 873–878.
- [191] R. Liu, H.-F. Dong, M.-S. Jiang, *Parasitol. Res.* **2012**, *110*, 1563–1564.
- [192] F. Lévesque, P. H. Seeberger, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 1738–1741; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 1706–1709.
- [193] J. Utzinger, J. Chollet, Y. Jiqing, M. Jinyan, M. Tanner, S.-H. Xiao, *Acta Trop.* **2001**, *80*, 9–18.
- [194] D. De Clercq, J. Vercruyse, P. Verlé, A. Kongs, M. Diop, *Trop. Med. Int. Health* **2000**, *5*, 744–746.
- [195] A. Robert, F. Benoit-Vical, C. Claparols, B. Meunier, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 13676–13680.
- [196] B. Meunier, A. Robert, *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 1444–1451, zit. Lit.
- [197] a) S. H. Xiao, J. Chollet, J. Utzinger, H. Matile, J. Mei, M. Tanner, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2001**, *95*, 67–71; b) S.-H. Xiao, Y.-L. Wu, M. Tanner, W.-M. Wu, J. Utzinger, J.-Y. Mei, B. Scorneaux, J. Chollet, Z. Zhai, *Parasitol. Res.* **2003**, *89*, 459–466.
- [198] S.-H. Xiao, J.-Q. You, H.-F. Gao, J.-Y. Mei, P.-Y. Jiao, J. Chollet, M. Tanner, J. Utzinger, *Exp. Parasitol.* **2002**, *102*, 38–45.
- [199] S. H. Seif el-Din, A. M. Al-Hroob, F. A. Ebeid, *Exp. Parasitol.* **2011**, *128*, 230–235.
- [200] J.-W. Yin, Y.-Q. Yang, S.-H. Xiao, Y. Li, H.-J. Jiang, *Acta Pharmacol. Sin.* **1991**, *12*, 478–480 (article in Chinese, abstract in English).
- [201] W. Jiraungkoorskul, S. Sahaphong, P. Sobhon, S. Riengrojpitak, N. Kangwanrangsar, *Exp. Parasitol.* **2006**, *113*, 16–23.
- [202] S. H. Xiao, B. G. Shen, J. Utzinger, J. Chollet, M. Tanner, *Acta Trop.* **2002**, *81*, 53–61.
- [203] S. H. Xiao, J. Keiser, J. Xue, M. Tanner, G. Morson, J. Utzinger, *Parasitol. Res.* **2009**, *104*, 533–541.
- [204] J. Keiser, G. Morson, *Exp. Parasitol.* **2008**, *118*, 228–237.
- [205] J. P. Hewitson, P. A. Hamblin, A. P. Mountford, *Parasite Immunol.* **2005**, *27*, 271–280.
- [206] S. R. Vippagunta, A. Dorn, H. Matile, A. K. Bhattacharjee, J. M. Karle, W. Y. Ellis, R. G. Ridley, J. L. Vennerstrom, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4630–4639.
- [207] J. Keiser, J. Chollet, S.-H. Xiao, J.-Y. Mei, P.-Y. Jiao, J. Utzinger, M. Tanner, *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2009**, *3*, e350.
- [208] N. M. el-Lakkany, S. H. S. el-Din, A.-N. Abdel-Aal Sabra, O. A. Hammam, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2011**, *106*, 814–822.
- [209] a) T. Manneck, Y. Haggenmüller, J. Keiser, *Parasitology* **2010**, *137*, 85–98; b) M. C. Holtfreter, M. Loebermann, S. Klammt, M. Sombetzki, P. Bodammer, D. Riebold, R. Kinzelbach, E. C. Reisinger, *Exp. Parasitol.* **2011**, *127*, 270–276.
- [210] a) S. Fu, A. Björkman, B. Wåhlin, D. Ofori-Adjei, O. Ericsson, F. Sjöqvist, *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1986**, *22*, 93–96; b) T. Manneck, O. Braissant, W. Ellis, J. Keiser, *Exp. Parasitol.* **2011**, *127*, 260–269.
- [211] S.-H. Xiao, J. Xue, B. Shen, *Parasitol. Res.* **2010**, *106*, 1179–1187.
- [212] A. Olsen, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2007**, *101*, 747–758.
- [213] a) S. C. Caixeta, L. G. Magalhães, N. I. de Melo, K. A. L. Wakabayashi, G. D. P. Aguiar, D. D. P. Aguiar, A. L. L. Mantovani, J. M. Alves, P. F. Oliveira, D. C. Tavares, M. Groppo, V. Rodrigues, W. R. Cunha, R. C. S. Veneziani, A. A. da Silva Filho, A. E. M. Crotti, *Chem. Biodiversity* **2011**, *8*, 2149–2157; b) O. M. S. Mostafa, R. A. Eid, M. A. Adly, *Parasitol. Res.* **2011**, *109*, 395–403; c) F. Yousif, G. Wassel, L. Boulos, T. Labib, K. Mahmoud, S. El-Hallouty, S. El Bardicy, S. Mahmoud, F. Ramzy, L. Gohar, M. El-Manawaty, M. A. M. El Gendy, W. Fayad, B. El-Menshawi, *Pharm. Biol.* **2012**, *50*, 732–739.
- [214] A. N. Kuntz, E. Davioud-Charvet, A. A. Sayed, L. L. Califf, J. Dessolin, E. S. J. Arnér, D. L. Williams, *PLoS Med.* **2007**, *4*, e206.
- [215] A. A. Sayed, A. Simeonov, C. J. Thomas, J. Inglese, C. P. Austin, D. L. Williams, *Nat. Med.* **2008**, *14*, 407–412.
- [216] G. Rai, A. A. Sayed, W. A. Lea, H. F. Luecke, H. Chakrapany, S. Prast-Nielsen, A. Jadhav, W. Leister, M. Shen, J. Inglese, C. P. Austin, L. Keefer, E. S. J. Arnér, A. Simeonov, D. J. Maloney, D. L. Williams, C. J. Thomas, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6474–6483.
- [217] Z.-S. Yang, W.-M. Wu, Y.-L. Wu, *Helv. Chim. Acta* **2005**, *88*, 2865–2872.
- [218] J. L. Vennerstrom, S. Arbe-Barnes, R. Brun, S. A. Charman, F. C. K. Chiu, J. Chollet, Y. Dong, A. Dorn, D. Hunziker, H. Matile, K. McIntosh, M. Padmanilayam, J. S. Tomas, C. Scheurer, B. Scorneaux, Y. Tang, H. Urwyler, S. Wittlin, W. N. Charman, *Nature* **2004**, *430*, 900.
- [219] J. L. Vennerstrom, Y. Dong, J. Chollet, H. Matile, M. Padmanilayam, Y. Tang, W. N. Charman, Patent US 2004/01 861 68 A1.
- [220] S.-H. Xiao, J. Keiser, J. Chollet, J. Utzinger, Y. Dong, Y. Endriss, J. L. Vennerstrom, M. Tanner, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 1440–1445.
- [221] S. A.-L. Laurent, J. Boissier, F. Coslédan, H. Gornitzka, A. Robert, B. Meunier, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 895–913.

- [222] O. Dechy-Cabaret, F. Benoit-Vical, A. Robert, B. Meunier, *ChemBioChem* **2000**, *1*, 281–283.
- [223] F. Benoit-Vical, J. Lelièvre, A. Berry, C. Deymier, O. Dechy-Cabaret, J. Cazelles, C. Loup, A. Robert, J.-F. Magnaval, B. Meunier, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 1463–1472.
- [224] F. Coslédan, L. Fraisse, A. Pellet, F. Guillou, B. Mordmüller, P. G. Kremsner, A. Moreno, D. Mazier, J.-P. Maffrand, B. Meunier, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 17579–17584.
- [225] B. Meunier, *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 69–77.
- [226] A. Robert, O. Dechy-Cabaret, J. Cazelles, B. Meunier, *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 167–174.
- [227] B. Meunier, A. Robert, *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 1441–1451.
- [228] F. B.-E. Garah, C. Claparols, F. Benoit-Vical, B. Meunier, A. Robert, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, *52*, 2966–2969.
- [229] J. Boissier, F. Coslédan, A. Robert, B. Meunier, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 4903–4906.
- [230] V. Pradines, J. Portela, J. Boissier, F. Coslédan, B. Meunier, A. Robert, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, *55*, 2403–2405.
- [231] L. E. Clemens, P. F. Basch, *J. Parasitol.* **1989**, *75*, 417–421.
- [232] D. J. Smyth, A. Glanfield, D. P. McManus, E. Hacker, D. Blair, G. J. Anderson, M. K. Jones, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 2242–2248.
- [233] D. J. Hirzmann, D. Preis, P. Symmons, W. Kunz, *Mol. Biochem. Parasitol.* **1992**, *50*, 245–254.
- [234] A. Glanfield, D. P. McManus, G. J. Anderson, M. K. Jones, *Trends Parasitol.* **2007**, *23*, 583–588.