

DOI: 10.13376/j.cbls/20180701

文章编号: 1004-0374(2018)06-0621-07

交替氧化酶抑制剂研究进展及应用前景

徐 飞

(武汉生物工程学院应用生物技术研究中心, 武汉 430415)

摘 要: 交替氧化酶 (alternative oxidase, AOX) 是线粒体呼吸电子传递链中抗氰呼吸途径的末端氧化酶, 它广泛存在于高等植物、藻类、部分真菌及原生生物中。同时, AOX 也被发现存在于某些人体寄生虫中, 如布氏锥虫 (*Trypanosoma brucei*) 等。布氏锥虫可引起人类“嗜睡病”, 不经治疗往往有致命的危险。据统计, 在非洲地区每年有高达 7 000 多万人存在感染布氏锥虫病的风险。值得注意的是, 人类细胞中不含有 AOX。因此, AOX 可能是治疗该类疾病最有效的潜在靶标。现主要就布氏锥虫交替氧化酶的特点及其抑制剂的设计和作用效果进行阐述, 并展望 AOX 抑制剂的应用前景及研究挑战。

关键词: 交替氧化酶; 蛋白结构; 抑制剂; 布氏锥虫

中图分类号: Q946.5 文献标志码: A

Research progress and application prospects of alternating oxidase inhibitors

XU Fei

(Applied Biotechnology Center, Wuhan Bioengineering Institute, Wuhan 430415, China)

Abstract: Alternating oxidase (AOX) is the terminal oxidase that mediates the cyanide-insensitive respiration pathway in the mitochondrial respiratory electron transport chain. It has been widely found in higher plants, algae, some fungi and protozoa. Interestingly, AOX has also been found in human parasites, such as *Trypanosoma brucei* (*T. brucei*). It is evident that *Trypanosoma brucei* causes human "sleeping sickness" and is often fatal without treatment. In addition, more than 70 million people in Africa are at risk of contracting *Brucella trypanosomiasis* each year. However, there is no AOX protein in human cells. Therefore, AOX may be an attractive target for treating this kind of disease. In this paper, the characteristics of the *T. brucei* AOX, the design and effect of the AOX inhibitors are summarized, and the application prospects and research challenges of AOX inhibitors are also discussed.

Keywords: alternating oxidase; protein structure; inhibitor; *Trypanosoma brucei*

交替氧化酶 (alternative oxidase, AOX) 是线粒体呼吸电子传递链末端氧化酶, 其对氧化物不敏感, 因此也被称为抗氰氧化酶。与细胞色素氧化酶一样, AOX 可从泛醌处得到电子, 并传递氧生成水^[1]。由于 AOX 介导的电子传递减少了 ATP 的产生, 因此被视为耗能呼吸途径。尽管如此, 越来越多的研究表明, AOX 在诸多生理生化过程中发挥重要作用。AOX 最先被确定的功能是在天南星科白星海芋属植物佛焰花序开花时的呼吸产热中发挥作用^[2]。此外, AOX 也被证实在植物抵抗生物 (细菌、

真菌和病毒等) 与非生物胁迫 (盐碱、干旱和低温等) 中发挥重要作用, 其功能主要与减少活性氧的产生及维持细胞及线粒体稳态有关^[3-4]。近年来, AOX 也被证实参与了植物发育及果实成熟调节, 以及植物对光的响应等^[5-7]。

收稿日期: 2018-03-23; 修回日期: 2018-05-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(31400242); 湖北省青年科技晨光计划项目(2016B28)

通信作者: E-mail: feixu666@hotmail.com

研究表明, AOX 广泛存在于植物、藻类、真菌和原生生物(包括致病生物如布氏锥虫和隐孢子虫)^[8-9]。此外, AOX 同源物也已在 α -变形杆菌中被鉴定出来并出现在广泛的动物物种中, 其远缘亲代质体末端氧化酶也已在蓝细菌中被鉴定^[10-11]。值得关注的是, 陆续有研究表明在一类人体寄生虫中发现了 AOX 蛋白, 这类寄生虫引起严重的“嗜睡病”。例如, 在撒哈拉以南非洲地区, 这类由寄生虫引起的“嗜睡病”也被称为人类非洲锥虫病 (human African trypanosomiasis, HAT)。HAT 主要由两类布氏锥虫 (*Trypanosoma brucei*) 引起: 西非的冈比亚布氏锥虫 (*T. brucei gambiense*) 和东非的罗德西亚布氏锥虫 (*T. brucei rhodesiense*), 这两类布氏锥虫都是由采采蝇传播的^[12]。研究表明, HAT 不经治疗对人体而言是致命的, 目前每年在非洲地区发现多达 2 万宗 HAT 案例。事实上, 在非洲地区每年有高达 7 000 万人存在感染 HAT 的风险^[13]。因此, 开发 HAT 对应的有效药物具有十分重要的意义。有意思的是, 人体细胞和布氏锥虫细胞在线粒体组成上有一个明显的区别, 即布氏锥虫细胞中含有 AOX (trypanosome alternative oxidase, TAO) 而人类细胞中没有。此外, 布氏锥虫细胞呼吸几乎完全依赖于 TAO 的活性^[14]。因此, 越来越多的科学家将 TAO 视为一个重要药物靶标开展研究^[15-17]。基于此, 本文将重点总结 TAO 的结构和功能, 并讨论目前 TAO 抑制剂的研究进展及应用前景。

1 布氏锥虫(*Trypanosoma brucei*)与人的关系及TAO的作用特点

研究表明, 布氏锥虫 (*Trypanosoma brucei*) 可寄生于人体血液系统中, 引起严重的布氏锥虫病, 而人感染后若不经治疗会有生命危险^[18]。布氏锥虫的传播媒介主要是舌蝇(又称采采蝇)。布氏锥虫被采采蝇吸入后, 在中肠经过 2~3 周复杂的周期性发育繁殖, 从短膜型发育到后锥型或后循环锥虫型。后循环锥虫是感染期虫体, 它们大量地积聚于采采蝇唾液腺中。当采采蝇叮咬人体时, 后循环锥虫随同采采蝇唾液注入人体内, 使人体感染^[19]。此外, 布氏锥虫在宿主体内是一种多形的虫体, 在血液中存在具有鞭毛的细长型和没有鞭毛的短粗型(图 1)。值得注意的是, 布氏锥虫感染人体后, 可逃避人体免疫系统的攻击。研究表明这是由于其细胞表面抗原发生改变引起的, 因此难以开发针对布氏锥虫病的疫苗^[15]。

虽然布氏锥虫可以逃避人体免疫系统的攻击, 但它的线粒体有一个重要特点——在呼吸电子传递链中没有细胞色素氧化酶, 只有交替氧化酶(即 TAO 蛋白)^[9]。此外, 葡萄糖是布氏锥虫的唯一能量来源。因此, TAO 蛋白是唯一可氧化再生糖酵解产生的 NADH, 从而维持整个布氏锥虫能量代谢循环的蛋白。此外, 由于人体细胞线粒体中缺乏交替氧化酶, 这预示着 TAO 是治疗人类布氏锥虫病的最佳靶标^[12, 19]。

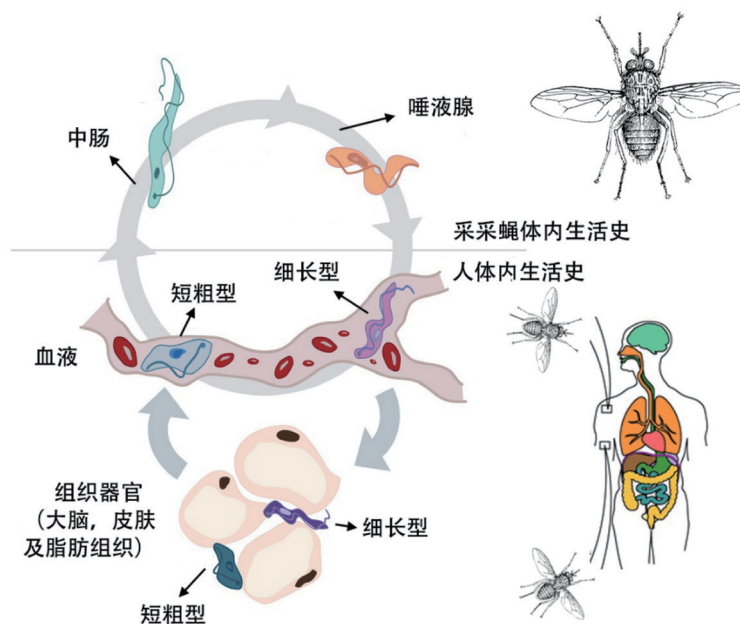


图1 布氏锥虫在采采蝇及人体内的生活史^[19]

2 TAO蛋白结构解析

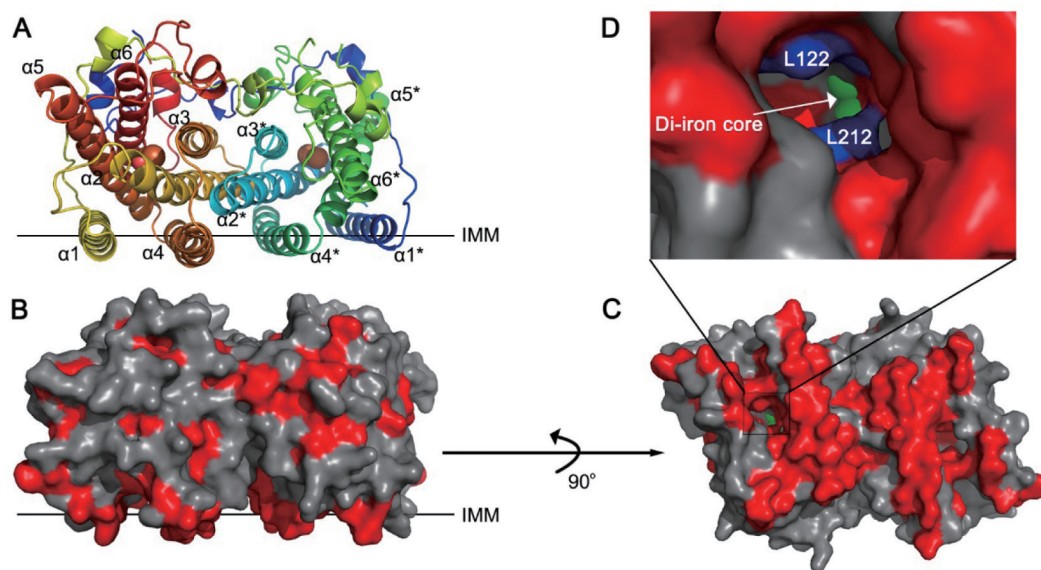
相比较 AOX 的功能研究, AOX 的蛋白结构解析进展缓慢, 主要原因是 AOX 蛋白不易获得结晶。直到 2010 年, TAO 的蛋白晶体技术才得以突破^[20], 随后在 2013 年 TAO 的蛋白结构被成功解析(图 2)^[21]。截至目前, TAO 是唯一被解析的 AOX 蛋白。从图 2 可以看出, TAO 以同型二聚体的形式存在, 其中每个单体由 6 个长 α 螺旋($\alpha 1\sim 6$) 和 4 个短 α 螺旋组成(图 2A)。螺旋 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 5$ 和 $\alpha 6$ 形成四螺旋束, 并在中间构成蛋白活性中心。在单体的一侧有一个比较大的由螺旋 $\alpha 1, \alpha 1^*$ 和 $\alpha 4, \alpha 4^*$ 构成的疏水区域, 其被认为可能是与线粒体内膜结合的部分(图 2B)。此外, 通过氨基酸极性分析发现, 这个单体一侧的疏水区域还分散有大量保守的亲水性残基, 可与膜结构中脂质双分子层带负电的磷酸基团相互作用(图 2B、C), 这进一步表明这 4 个 α 螺旋是膜结合区域。

从图 2C 可以看出, TAO 蛋白活性中心有 2 个铁原子组成的双铁中心, 其作用是将泛醌(UQH₂)的电子传给 O₂ 生成 H₂O, 这也是所有交替氧化酶被称为双铁羧基蛋白的原因^[22]。在双铁中心的外面, 有 2 个亮氨酸(L122 和 L212)组成的瓶颈结构, 这个特殊结构目前被认为是确保泛醌头部进行正确定位并与双铁核心互作反应的关键部位(图 2D)。

3 常见 AOX/TAO 抑制剂及作用效率

如前所述, AOX 是线粒体呼吸电子传递链末端氧化酶, 它对细胞色素氧化酶抑制剂不敏感(如氰化物), 因此也被称为抗氰呼吸^[11]。但是, AOX 可被水杨基羟肟酸(salicylhydroxamic acid, SHAM)和没食子酸丙酯(n-propyl gallate, nPG)所抑制。SHAM 和 nPG 是最早被使用(分别于 1971 年和 1980 年被鉴定使用), 同时也是最常见的两种 AOX 活性抑制剂, 两者均可与氰化物(如氰化钾, 可抑制细胞色素途径呼吸)结合使用以测定分析线粒体呼吸电子传递链中细胞色素途径呼吸和抗氰途径呼吸所占比例情况^[24-25]。从化学结构上看, SHAM 和 nPG 与泛醌有极大相似之处, 即均含有苯环结构, 因此 SHAM 和 nPG 可充当泛醌的竞争性抑制剂, 从而阻止泛醌与 AOX 结合并进行电子传递(图 3)。尽管如此, SHAM 和 nPG 并不适用于所有的 AOX 蛋白功能研究, 其抑制效率也随 AOX 蛋白结构的改变而发生变化。因此, 越来越多的科学家开始考虑设计更多的 AOX 抑制剂, 以满足不同实验的需求。

例如, 针对非洲布氏锥虫(含有 TAO 蛋白)引起的人类 HAT 疾病, 当使用 SHAM 和 nPG 时测得对 TAO 蛋白的半抑制率(IC₅₀ 值)高达 4 $\mu\text{mol/L}$ 和 200 nmol/L , 此浓度可用于植物 AOX 功能研究, 但无法应用于人类 HAT 疾病治疗。值得庆幸的是,

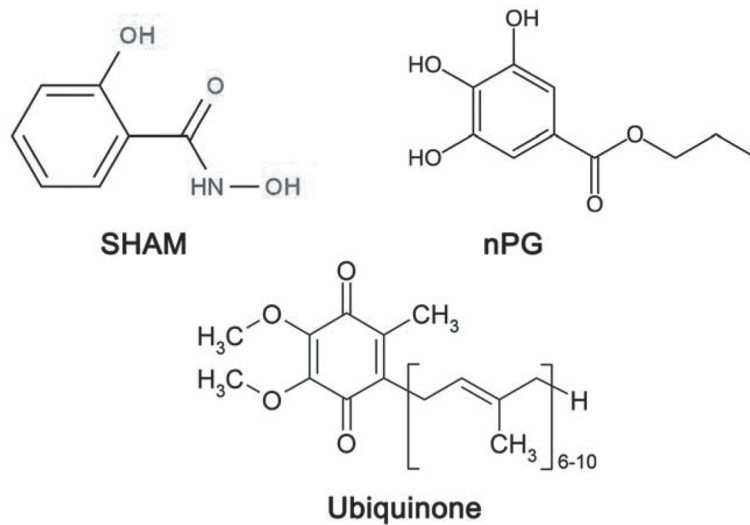


A: TAO蛋白(PDB ID: 3VV9)二聚体二级结构示意图。B: TAO蛋白表面结构展示, 其中红色代表疏水区域。C: TAO蛋白表面结构向上翻转90度示意图, 其中方框区域为TAO蛋白活性中心。D: TAO蛋白活性中心示意图, 绿色代表双铁中心, 蓝色代表2个亮氨酸(Leu)形成的闸门。IMM: 线粒体内膜。图2参考May等^[23]的方法进行制作。

图2 TAO蛋白结构示意图

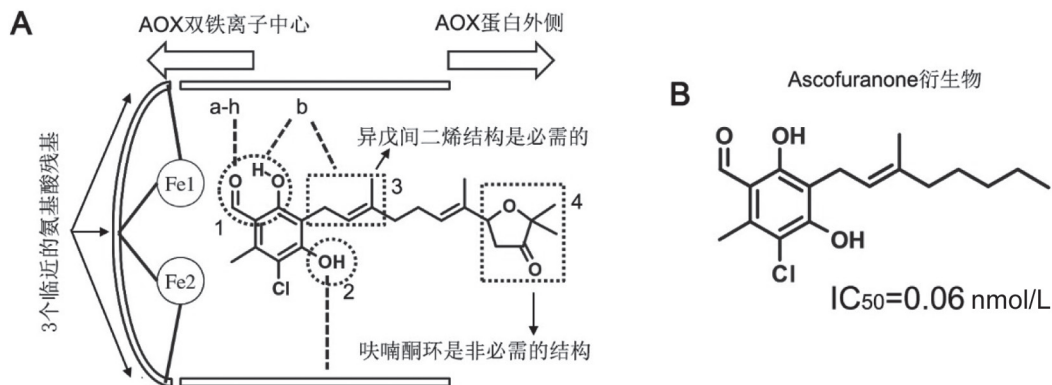
近二十年来陆续有研究表明, Ascofuranone (壳二孢呋喃酮) 能高效抑制 TAO 蛋白活性, 其 IC_{50} 值约为 0.13 nmol/L (表 1)。同时, Ascochlorin (壳二孢氯素)、Colletochlorin B 和 Colletochlorin D 也被证实能高效抑制 TAO 蛋白活性 (表 1), 但这 4 种新型 TAO 蛋白抑制剂相比较而言, Ascofuranone 的 IC_{50} 值最低, 因此 Ascofuranone 被认为是最有潜力应用于人类 HAT 疾病研究的药物分子。尽管如此, 科学家仍在不断努力寻求新的 TAO 蛋白抑制剂, 或在 Ascofuranone 的基础上进行改造, 以求获得更

高效率的抑制剂结构形态。Saimoto 等^[16]曾在 Ascofuranone 的基础上改造成 30 种衍生物, 并比较分析其抑制效率, 从而证明了 Ascofuranone 作用的必需结构 (如 1-甲酰基和 6-羟基) 和非必需结构 (如呋喃酮环) 区域 (图 4A)。在此基础上, 他们也成功设计出一个比 Ascofuranone 更加高效的 TAO 蛋白抑制剂 (图 4B)。从图中可以看出, 仅保留了 Ascofuranone 的必需结构区域便产生了高效的抑制效果 ($IC_{50} = 0.06$ nmol/L), 比未改造的 Ascofuranone ($IC_{50} = 0.13$ nmol/L) 的抑制效率提高了近一半以上。



SHAM: 水杨基氧肟酸; nPG: 没食子酸丙酯; Ubiquinone: 泛醌(或称为辅酶Q)。

图3 AOX常见抑制剂结构展示



A: Ascofuranone抑制剂和TAO的相互作用及Ascofuranone结构分析。半圆柱和2个Fe离子代表了AOX的双铁催化中心及其底物结合腔。虚线圈1: 研究表明1-甲酰基和6-羟基的氢键结合能力是Ascofuranone产生高效抑制的关键(a-h, AOX氨基酸残基形成的氢键供体; b, AOX氨基酸残基形成的氢键受体)。虚线圈2: -OH是必需结构, 对抑制剂的结合起辅助作用。虚线圈3: 异戊间二烯结构对于抑制作用是必需结构。虚线圈4: 呋喃酮环对于抑制作用是非必需的结构, 表明此部分可能朝向AOX蛋白结构外。B: Ascofuranone衍生物。上图来源于Saimoto等^[16]并进行了注释。

图4 Ascofuranone抑制剂结构分析及其衍生物的结构形式

表1 常见抑制剂的种类及抑制效率

药物分子	IC ₅₀ (nmol/L)	参考值来源
Salicylhydroxamic acid (SHAM)	4 000.00	[24]
n-Propyl gallate (nPG)	200.00	[25]
Ascofuranone (AF)	0.13	[21]
Ascochlorin (AC)	1.50	[16]
Colletochlorin B (CB)	0.20	[16]
Colletochlorin D (CD)	33.00	[23]

注: IC₅₀, 半抑制率, 即达到最大抑制效率一半时所需底物浓度; Salicylhydroxamic acid (SHAM), 水杨基羟肟酸; n-Propyl gallate (nPG), 没食子酸丙酯; Ascofuranone (AF), 壳二孢咪喃酮; Ascochlorin (AC), 壳二孢氯素; Colletochlorin B (CB), 盘孢氯素B; Colletochlorin D (CD), 盘孢氯素D。

4 AOX抑制剂在人类寄生虫病症治疗中的应用前景

众所周知, 由寄生虫引发的疾病折磨了人类数千年之久, 并且已成为重要的全球性健康问题。其中, 自从发现布氏锥虫会引起人类 HAT 疾病以来, 科学家就没有停止过对其开展药物治疗。考虑到布氏锥虫的生命史依赖于交替氧化酶 (AOX) 的功能, 而人类细胞中不含有 AOX, 于是 AOX 成为了最好的药物治疗靶标^[12, 17]。值得庆幸的是, 科学家在不断进行药物改进的过程中也取得了不错的成绩, 除了通过纯化目标蛋白进行活性抑制性研究, 药物离体实验及小鼠活体实验也取得了较大突破。Yabu 等^[26-27]曾多次尝试将不同种类及剂量的布氏锥虫交替氧化酶 (TAO) 抑制剂施用于感染有布氏锥虫的小白鼠, 发现 TAO 抑制剂能治愈感染后的小白鼠, 其中通过腹腔注射比口服效果更好。同样, Ott 等^[28]将 TAO 抑制剂施用于感染有布氏锥虫的小白鼠, 发现抑制剂能显著降低布氏锥虫呼吸速率及生长速度, 且剂量越大效果越明显, 但无论什么剂量均不影响小白鼠的正常呼吸。此外, 人体细胞培养实验也表明, 施用 TAO 抑制剂对人体细胞 (如 HepG2, 人肝肿瘤细胞株) 的生长无任何影响^[28]。这些研究为进一步开展 HAT 疾病药物研究奠定了基础, 也为最终的临床试验可行性提供了理论和实验依据。

事实上, 除了布氏锥虫这类寄生虫含有 AOX, 2010 年, Williams 等^[29]研究发现, AOX 广泛存在于微孢子虫 (Microsporidia) 体内, 其中包括易感染人的肠毛滴虫 (*T. hominis*)。据报道, 微孢子虫感染可导致多种人畜共患病, 但目前尚缺乏有效的治疗方法, 而 AOX 的发现为该病的治疗提供了新的思路和方法。此外, 美国疾病预防控制中心 (CDC) 报告称, 一种新兴的多重耐药真菌——耳道假丝酵

母菌 (*Candida auris*) 正在引起人类侵袭性感染, 死亡率极高。研究调查表明, 自 2009 年一位日本患者的外耳道分泌物中首次分离出耳道假丝酵母菌以来, 耳道假丝酵母菌感染病 (尤其是败血症) 目前已在韩国、印度、南非、科威特、哥伦比亚、委内瑞拉、巴基斯坦和英国等多个国家被确诊^[30]。更为严重的是, 耳道假丝酵母菌对常规抗菌药物有较强的耐药性。但同时值得注意的是, 耳道假丝酵母菌具有 AOX 功能蛋白, 因此若能针对该 AOX 蛋白设计出高效的抑制剂, 将可能是解决这类病症的最佳方案。

5 小结与展望

综上, 国际上有关 AOX 的研究由来已久, 从最初 AOX 在植物中被发现并被广泛研究, 到后来在真菌、绿藻、原生生物及无脊椎动物中逐渐发现 AOX 的存在, 表明 AOX 在生物进化过程中及维持生命活动过程中具有重要意义。但同时值得注意的是, 在人类疾病的诸多病原体中含有 AOX 功能蛋白, 而人类自身不具有 AOX, 因此 AOX 成为这些病症治疗的重要靶标蛋白。鉴于此, 开发针对 AOX 蛋白的有效抑制剂成为国际上研究的热点和难点问题。

尽管目前有关 AOX 抑制剂的研究取得了一些进展, 但仍面临着巨大挑战。首先, AOX 蛋白结构仅解析了布氏锥虫 AOX (即 TAO), 因此目前仅针对 TAO 蛋白的活性抑制实验取得了较好成绩。来自不同生物体的 AOX 蛋白在空间结构、反应中心及与抑制剂的结合效率等方面是否相同, 目前不得而知。但从以往的研究报道来看, 同样的抑制剂对于不同来源的 AOX 的抑制效率大不相同^[23]。因此, 进一步解析 AOX 蛋白结构, 将有助于药物的开发设计。其次, 在目前已解析的 TAO 蛋白基础上,

应加入不同种类抑制剂, 与 TAO 蛋白共同结晶并分析抑制剂的结合位点, 从而为药物分子的设计、改造提供依据, 同时也有助于通过蛋白质序列比对的方法分析针对其他 AOX 蛋白可以施用的最佳抑制剂种类及结构形态。第三, 除布氏锥虫呼吸依赖于 TAO 蛋白外(因其不含有细胞色素氧化酶), 其他病原体对 AOX 的依赖性如何, 目前还缺乏相关报道。今后的研究应重点分析病原体在什么发育时期或是什么条件下与 AOX 的功能关系最密切, 从而为药物的施用提供更多参考。

[参 考 文 献]

- [1] Vanlerberghe GC. Alternative oxidase: a mitochondrial respiratory pathway to maintain metabolic and signaling homeostasis during abiotic and biotic stress in plants. *Int J Mol Sci*, 2013, 14: 6805-47
- [2] McDonald AE. Alternative oxidase: an inter-kingdom perspective on the function and regulation of this broadly distributed 'cyanide-resistant' terminal oxidase. *Funct Plant Biol*, 2008, 35: 535-52
- [3] Millenaar F, Lambers H. The alternative oxidase: *in vivo* regulation and function. *Plant Biol*, 2003, 5: 2-15
- [4] Vanlerberghe GC, Cvetkovska M, Wang J. Is the maintenance of homeostatic mitochondrial signaling during stress a physiological role for alternative oxidase? *Physiol Plant*, 2009, 137: 392-406
- [5] Xu F, Yuan S, Zhang DW, et al. The role of alternative oxidase in tomato fruit ripening and its regulatory interaction with ethylene. *J Exp Bot*, 2012, 63: 5705-16
- [6] Yoshida K, Watanabe CK, Terashima I, et al. Physiological impact of mitochondrial alternative oxidase on photosynthesis and growth in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ*, 2011, 34: 1890-9
- [7] Zhang DW, Xu F, Zhang ZW, et al. Effects of light on cyanide-resistant respiration and alternative oxidase function in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Cell Environ*, 2010, 33: 2121-31
- [8] 徐飞, 袁澍, 梁厚果, 等. 交替氧化酶和解偶联蛋白在植物线粒体中的作用及其相互关系. *植物生理学通讯*, 2009, 45: 105-10
- [9] Chaudhuri M, Ott RD, Hill GC. Trypanosome alternative oxidase: from molecule to function. *Trends Parasitol*, 2006, 22: 484-91
- [10] Moore AL, Shiba T, Young L, et al. Unraveling the heater: new insights into the structure of the alternative oxidase. *Annu Rev Plant Biol*, 2013, 64: 637-63
- [11] McDonald AE, Vanlerberghe GC, Staples JF. Alternative oxidase in animals: unique characteristics and taxonomic distribution. *J Exp Biol*, 2009, 212: 2627-34
- [12] Menzies SK, Tulloch LB, Florence GJ, et al. The trypanosome alternative oxidase: a potential drug target? *Parasitology*, 2018, 145: 175-83
- [13] Simarro PP, Cecchi G, Franco JR, et al. Estimating and mapping the population at risk of sleeping sickness. *PLoS Negl Trop Dis*, 2012, 6: e1859
- [14] Zikova A, Hampl V, Paris Z, et al. Aerobic mitochondria of parasitic protists: diverse genomes and complex functions. *Mol Biochem Parasitol*, 2016, 209: 46-57
- [15] Nakamura K, Fujioka S, Fukumoto S, et al. Trypanosome alternative oxidase, a potential therapeutic target for sleeping sickness, is conserved among *Trypanosoma brucei* subspecies. *Parasitol Int*, 2010, 59: 560-4
- [16] Saimoto H, Kido Y, Haga Y, et al. Pharmacophore identification of ascofuranone, potent inhibitor of cyanide-insensitive alternative oxidase of *Trypanosoma brucei*. *J Biochem*, 2013, 153: 267-73
- [17] West RA, O'Doherty OG, Askwith T, et al. African trypanosomiasis: Synthesis & SAR enabling novel drug discovery of ubiquinol mimics for trypanosome alternative oxidase. *Eur J Med Chem*, 2017, 141: 676-89
- [18] Peacock L, Cook S, Ferris V, et al. The life cycle of *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* in the tsetse fly. *Parasite Vector*, 2012, 5: 109
- [19] Smith TK, Bringaud F, Nolan DP, et al. Metabolic reprogramming during the *Trypanosoma brucei* life cycle. *F1000Res*, 2017, 6: 683-711
- [20] Kido Y, Shiba T, Inaoka DK, et al. Crystallization and preliminary crystallographic analysis of cyanide-insensitive alternative oxidase from *Trypanosoma brucei brucei*. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*, 2010, 66: 275-8
- [21] Shiba T, Kido Y, Sakamoto K, et al. Structure of the trypanosome cyanide-insensitive alternative oxidase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 4580-5
- [22] Moore AL, Carre JE, Affourtit C, et al. Compelling EPR evidence that the alternative oxidase is a diiron carboxylate protein. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1777: 327-30
- [23] May B, Young L, Moore AL. Structural insights into the alternative oxidases: are all oxidases made equal? *Biochem Soc Trans*, 2017, 45: 731-40
- [24] Lambowitz AM, Slayman CW. Cyanide-resistant respiration in *Neurospora crassa*. *J Bacteriol*, 1971, 108: 1087-96
- [25] Siedow JN, Girvin ME. Alternative respiratory pathway: its role in seed respiration and its inhibition by propyl gallate. *Plant Physiol*, 1980, 65: 669-74
- [26] Yabu Y, Minagawa N, Kita K, et al. Oral and intraperitoneal treatment of *Trypanosoma brucei brucei* with a combination of ascofuranone and glycerol in mice. *Parasitol Int*, 1998, 47: 131-7
- [27] Yabu Y, Yoshida A, Suzuki T, et al. The efficacy of ascofuranone in a consecutive treatment on *Trypanosoma brucei brucei* in mice. *Parasitol Int*, 2003, 52: 155-64
- [28] Ott R, Chibale K, Anderson S, et al. Novel inhibitors of the trypanosome alternative oxidase inhibit *Trypanosoma brucei brucei* growth and respiration. *Acta Tropica*, 2006,

- 100: 172-84
- [29] Williams BA, Elliot C, Burri L, et al. A broad distribution of the alternative oxidase in microsporidian parasites. *PLoS Pathog*, 2010, 6: e1000761
- [30] Chowdhary A, Sharma C, Meis JF. *Candida auris*: A rapidly emerging cause of hospital-acquired multidrug-resistant fungal infections globally. *PLoS Pathog*, 2017, 13: e1006290