金化合物 Auranofin のがん微小環境特異的抗がん活性

百瀬 功,* 小野寺威文, 川田 学

Potential Anticancer Activity of Auranofin

Isao Momose,* Takefumi Onodera, and Manabu Kawada

Institute of Microbial Chemistry (BIKAKEN), Numazu, Microbial Chemistry Research Foundation; 18-24 Miyamoto, Numazu, Shizuoka 410-0301, Japan.

(Received August 20, 2020)

Gold compounds have been employed throughout history to treat various types of disease, from ancient times to the present day. In the year 1985, auranofin, a gold-containing compound, was approved by U.S. Food and Drug Administration (FDA) as a therapeutic agent to target rheumatoid arthritis that would facilitate easy oral drug administration as opposed to conventional intramuscular injection used in treatments. Furthermore, auranofin demonstrates promising results for the treatment of various diseases beyond rheumatoid arthritis, including cancer, neurodegenerative diseases, acquired immune deficiency syndrome, and bacterial and parasitic infections. Various potential novel applications for auranofin have been proposed for treating human diseases. Auranofin has previously been demonstrated to inhibit thioredoxin reductase (TrxR) involved within the thioredoxin (Trx) system that comprises one of the critical cellular redox systems within the body. TrxR comprises the sole known enzyme that catalyzes Trx reduction. With cancers in particular, TrxR inhibition facilitates an increase in cellular oxidative stress and suppresses tumor growth. In this review, we describe the potential of auranofin to serve as an anticancer agent and further drug repurposing to utilize this as a strategy for further appropriate drug developments.

Key words—auranofin; anticancer; thioredoxin; thioredoxin reductase; redox regulation

1. はじめに

金は古代より様々な病気の治療に使用されてきた歴史を持つ。20 世紀になり、金チオグルコースや金リンゴ酸ナトリウムなどの金化合物が関節リウマチの治療に用いられるようになった。¹⁻³⁾ 金化合物 Auranofin は、1985 年にアメリカ食品医薬品局 (U.S. Food and Drug Administration; FDA) よりリウマチ治療薬として承認され、長らく使用されてきた (Fig. 1)。⁴⁾ 近年、Auranofin はリウマチ以外に、がん、神経変性疾患、後天性免疫不全症候群、細菌性感染症及び寄生虫性感染症など、多くのヒト疾患に対して有効性が明らかとなり、新たな疾病治療薬としての可能性が見い出されている (Table 1)。このように既存薬を転用して新たな疾患治療薬として開発する方法、いわゆるドラッグリポジショニング

Fig. 1. Structure of Auranofin

研究は、探索研究や前臨床試験といった基礎研究を簡略できるため開発コストを軽減できるメリットがあり、近年頻繁に創薬研究に用いられている。そこで本稿では、ドラッグリポジショニングによって再発見された金化合物 Auranofin の抗がん剤としての可能性について、筆者らの研究成果を交えて概説したい。

2. 抗リウマチ薬としての Auranofin

抗リウマチ薬である Auranofin (1-thio- β -D-glucopyranosatotriethylphosphine gold-2,3,4,6-tetraacetate) は、トリエチルホスフィン基によって安定化された金 (Au) と硫黄 (S) の Au-S 結合を持つ

公益財団法人微生物化学研究会微生物化学研究所沼津支所 (〒410-0301 静岡県沼津市宮本 18-24)

*e-mail: imomose@bikaken.or.jp

本総説は、日本薬学会第 140 年会シンポジウム S40 で発表した内容を中心に記述したものである。

Fig. 2. The Trx System Functions as a Disulfide Reductase for a Multitude of Critical Proteins in Cells

The thioredoxin system is composed of two types of antioxidant proteins, including thioredoxin (Trx) and Thioredoxin reductase (TrxR), with NADPH serving as the electron donor. TrxR utilizes NADPH to catalyze the conversion of the oxidized form of Trx into the reduced form of Trx. Moreover, reduced thioredoxin catalyzes the reduction of a large amount of disulfide bonds within proteins. The peroxiredoxins execute a critical role within H_2O_2 scavenging. This system is crucial for the maintenance of cellular redox balance and antioxidant function, which includes the control of oxidative stress and cell death.

Fig. 3. Crystal Structure of the Human Trx and TrxR Biological Homodimer

(A) The crystal structure of human Trx (PDB entry: 1ert). The two subunits of human Trx are displayed in light green and dark green colors, respectively. The position of the catalytic site residues (Cys32/Cys35, Cys32'/Cys35') within human Trx are colored yellow, and the cross-linked Cys73 residues are displayed in orange. (B) The crystal structure of human TrxR1 as SeCys-Cys mutant in complex with NADP^+ and FAD (PDB entry: 2j3n). The homodimeric TrxR1 contains two redox centers, both of which are necessary for purpose of catalysis. The two subunits of human TrxR are displayed in slate blue and sky blue colors, respectively. Additionally, FAD and NADP^+ molecules are displayed in red and green colors, respectively. The N-terminal redox center (Cys59/Cys64, Cys59'/Cys64') is displayed in yellow. The C-terminal redox center (Cys497/Cys498, Cys497'/Cys498') is displayed in orange.

Au (I) 錯体である (Fig. 1). Auranofin は、1972 年に Smith Kline and French Laboratories により報告され、⁴⁾ 1985 年に経口投与可能な抗リウマチ薬として FDA によって承認された。特にリウマチ発症初期において症状の改善例が多く報告され、早期使用の有用性が認められている。⁵⁾ また Auranofin は他の抗リウマチ薬に比べて副作用が少ないことも知られている。^{6,7)} しかし近年、抗体医薬品や新しい低分子化合物の登場により、Auranofin はリウマチ治療の主流から外れた存在となっている。

3. Auranofin の抗がん活性

3-1. チオレドキシンとチオレドキシン還元酵素

関節リウマチに対する Auranofin の詳細な作用機序は、いまだ明らかになっていない。しかし

Auranofin に含まれる金原子は、硫黄原子及びセレン原子に対して高い親和性を示し、活性中心にセレンノシステイン (selenocystein; SeCys) を含むチオレドキシン還元酵素 (thioredoxin reductase; TrxR) を阻害することが知られている。^{8,9)} TrxR は細胞内における主要な抗酸化機構の 1 つであるチオレドキシン (thioredoxin; Trx) システムの構成タンパク質である (Fig. 2)。Trx システムの中核タンパク質である Trx は、その活性部位に特徴的な -Cys-X-X-Cys- 配列を有する酸化還元タンパク質であり、その結晶構造解析は 1996 年に Weichsel らにより報告された [Fig. 3(A)]。¹⁰⁾ Trx には、2 つのシステイン残基間でジスルフィド結合を形成する酸化型 Trx と、遊離チオール基を有する還元型 Trx が存在す

る。還元型 Trx は基質タンパク質のジスルフィド結合を還元し、自らは酸化型 Trx となる。TrxR はニコチンアミドジヌクレオチドリン酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NADPH) 依存的に酸化型 Trx の還元を触媒する唯一の酵素であり、Trx システムに欠かすことのできない酵素である。¹¹⁾ TrxR の結晶構造は 2007 年に Becker らに解析された [Fig. 3 (B)].¹²⁾ 哺乳類の TrxR には 2 つの活性部位があり、N 末端領域には-Cys-Val-Asn-Val-Gly-Cys-配列と、C 末端領域には-Gly-Cys-SeCys-Gly-配列がある。特に C 末端領域の SeCys 残基は、TrxR の酵素活性に重要な残基である。これらの 2 つの活性部位により、哺乳類の TrxR は Trx に対する直接的な還元作用以外にも幅広い基質特異性を持つ。このような Trx 及び TrxR で構成される Trx システムは、酸化還元ホメオスタシス、抗酸化防御及び細胞増殖などの広範な生物学的プロセスに関与している。さらに、Trx システムは、関節リウマチ、がん、寄生虫感染、及びアルツハイマー病などの神経変性疾患といった様々な生理的及び病理学的状態において重要な役割を果たしている。¹³⁻¹⁵⁾

3-2. Trx システムとがん 近年、がんにおける Trx システムの重要性が注目を集めている。^{8,16)} Trx システムは、がんの発生や進展に応じて異なる機能を持つ可能性が示唆されている。がんの発生においては、Trx システムによる直接的な抗酸化作用が、発がん性物質や生体異物によって引き起こされる酸化ストレスの発生を抑制することにより、がんの発生を予防している。しかし、ひとたび細胞のがん化が起こると Trx の発現が増加し、Trx によるがん細胞の増殖促進と抗アポトーシス機能によるがんの進展が促進される。^{17,18)} 進行がんにおいては、Trx が血管内皮増殖因子とマトリックスメタロプロテアーゼの活性を増強することにより、腫瘍の血管新生と転移が促進される。^{19,20)} Trx 及び TrxR の過剰発現は様々ながん細胞で確認されており、乳がん患者においては Trx 若しくは TrxR の発現量が高いと全生存期間が短くなることが報告されている。^{21,22)} このようにがんの進展や転移に重要な役割を果たしていることから、Trx システムを阻害すると、細胞の酸化還元ホメオスタシスが破綻し、活性酸素種 (reactive oxygen species; ROS) レベルの増

Table 1. Types of Diseases for Which Auranofin Is Being Studied as a Potential Therapeutic Agent

Disease	References
Cancer	
Non-small-cell lung cancer	23, 26
Breast cancer	24, 27
Hepatocellular carcinoma	28
Gastric cancer	29
Colorectal cancer	30
Prostate cancer	27
Pancreatic cancer	31
Ovarian cancer	32
Kidney cancer	33
Head and neck cancer	34
Gastrointestinal stromal tumor	35
Chronic lymphocytic leukemia	36
Chronic myelogenous leukemia	37
T-cell acute lymphoblastic leukemia	38
Neurodegenerative diseases	
Alzheimer's and Parkinson's disease	39, 40
Human immunodeficiency virus (HIV/AIDS)	41-43
Bacterial infections	
<i>Staphylococcus aureus</i>	44-46
<i>Enterococcus faecalis</i>	45, 47
<i>Clostridium difficile</i>	48-51
<i>Helicobacter pylori</i>	52, 53
Parasitic infections	
Trypanosomatida	54-56
Platyhelminthes	57-60
Apicomplexa	61-63
<i>Giardia duodenalis</i>	25, 61, 64
<i>Entamoeba histolytica</i>	25, 61

加による酸化ストレスの増大、腫瘍増殖の抑制が引き起こされる。化学療法剤や放射線照射などの多くのがん治療法は、ROS が寄与していることから、抗酸化システムの 1 つである Trx システムを阻害することにより ROS を増加させ、腫瘍増殖を抑制するという戦略は、新しいがん治療法として有望である。

3-3. がん微小環境と Auranofin の抗がん活性

Auranofin は、リウマチ治療薬として承認されていることからヒトに対する安全性が高く、体内動態も明らかとなっている。そのため Auranofin はドラッグリポジショニングによる創薬研究に盛んに用いられている。Auranofin の抗がん活性は、非小細胞肺癌、乳がん、胃がん、急性リンパ性白血病、骨肉腫、多発性骨髄腫などの様々ながん研究されており、それらの一部について紹介する (Table 1)。

2016年にLiらは、Auranofinが非小細胞肺癌細胞株に対して1.0 μM 未満の IC_{50} 値で細胞増殖を阻害し、マウスを用いたヒト非小細胞肺癌ゼノグラフトモデルにおいて有意に腫瘍増殖を抑制することを明らかにした。²³⁾ Raningaらは、乳がんは細胞内で過剰産生されたROSを除去するためにTrxシステムに高い依存性を示すことを見出し、特に高TrxR活性を有する乳がん細胞が、Auranofinに対して高い感受性を有することを明らかにした。²²⁾ さらに、Auranofinが乳がん患者の腫瘍組織移植モデルにおいて、顕著な腫瘍増殖抑制効果を示すことを報告した。

またAuranofinは、TrxR阻害とは異なる作用機序の薬剤との併用療法に関する報告もある。Ryuらは、乳がん細胞に対してAuranofinとAXL受容体型チロシンキナーゼ阻害剤R428 (Bemcentinib)を併用すると、ROSの産生増加に加えて、アポトーシス制御に重要なBcl-2ファミリーメンバータンパク質であるBaxの発現増加及びX連鎖アポトーシス抑制タンパク質(X-linked inhibitor of apoptosis protein; XIAP)の発現減少を導き、アポトーシスを誘導することを報告した。²⁴⁾ AuranofinとR428の併用は、相乗的な細胞増殖抑制効果を示し、乳がんに対する有効な治療法として提案されている。

筆者らは、これまでにがん微小環境に着目した研究を行ってきた。がん組織は正常組織とは異なる特徴的な微小環境を形成する。がん微小環境において、細胞増殖と腫瘍血管の不均衡に起因する低栄養環境に注目し、低栄養環境で特異的な細胞毒性を示す化合物は新しいタイプの抗がん剤になり得ると考え、化合物ライブラリーや天然物代謝産物より探索研究を行った。その結果、金化合物Auranofinが富栄養環境に比べて低栄養環境において強い細胞毒性を示すことを見出した。⁶⁵⁾ Auranofinはヒト膀胱がん細胞のTrxRを阻害し、酸化型Trxを増加させることによりROSの産生を亢進した (Fig. 4)。低栄養環境のがん細胞は、富栄養環境に比べて強い酸化ストレスに曝されていることから、ROSレベルの上昇に対して高感度に細胞死が誘導される。このことが、Auranofinによる低栄養環境での特異的な細胞毒性の一因であると推察された。さらに筆者らは、マウスにヒト膀胱がんを移植したゼノグラフトモデル

Fig. 4. Anticancer Therapy via Auranofin

Auranofin inhibits TrxR in the Trx system and leads to a decrease in the antioxidant activity within cancer cells and facilitates ROS accumulation. Furthermore, auranofin is capable of synergistically suppressing cancer cell growth via combinations with other anticancer agents.

において、Auranofinが明らかな抗腫瘍活性を示すことを明らかにした。以上の結果から、Auranofinは低栄養環境のようながん微小環境において有効性を示す新しい抗がん剤となる可能性が示唆された (Fig. 4)。

4. おわりに

抗リウマチ薬である金化合物Auranofinはドラッグリポジショニングにより、多くの疾患治療薬として開発が進められている。特に、がんに対するAuranofinの有効性は高く評価されており、現在、白血病 (NCT01419691)、肺がん (NCT01737502)、卵巣がん (NCT01747798, NCT03456700)において臨床試験が実施されている。30年以上も前に開発された金化合物が、ドラッグリポジショニングにより新たな輝きを取り戻したことから、金化合物は磨き続けることにより、何度でも輝きを取り戻せる魅力的な化合物であると期待する。

謝辞 本研究の遂行に際して、微生物化学研究所沼津支所の多くの研究者の方々にご助力頂きましたことを、この場を借りて深く感謝いたします。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Lande K., *Munch. Med. Wschr.*, **74**, 1132–1134 (1927).
- 2) Forestier J., *Bull. Mem. Soc. Med. Hop.*

- Paris*, **53**, 323–324 (1929).
- 3) Forestier J., *J. Lab. Clin. Med.*, **20**, 827–840 (1935).
 - 4) Sutton B. M., McGusty E., Walz D. T., DiMartino M. J., *J. Med. Chem.*, **15**, 1095–1098 (1972).
 - 5) Egsmose C., Lund B., Borg G., Pettersson H., Berg E., Brodin U., Trang L., *J. Rheumatol.*, **22**, 2208–2213 (1995).
 - 6) Felson D. T., Anderson J. J., Meenan R. F., *Arthritis Rheum.*, **33**, 1449–1461 (1990).
 - 7) Ward J. R., Williams H. J., Egger M. J., Reading J. C., Boyce E., Altz-Smith M., Samuelson C. O., Jr., Willkens R. F., Solsky M. A., Hayes S. P., Blocka K. L., Weinstein A., Meenan R. F., Guttadauria M., Kaplan S. B., Klippel J., *Arthritis Rheum.*, **26**, 1303–1315 (1983).
 - 8) Tonissen K. F., Di Trapani G., *Mol. Nutr. Food Res.*, **53**, 87–103 (2009).
 - 9) Liu Y., Li Y., Yu S., Zhao G., *Curr. Drug Targets*, **13**, 1432–1444 (2012).
 - 10) Weichsel A., Gasdaska J. R., Powis G., Montfort W. R., *Structure*, **4**, 735–751 (1996).
 - 11) Mustacich D., Powis G., *Biochem. J.*, **346** (Pt 1), 1–8 (2000).
 - 12) Fritz-Wolf K., Urig S., Becker K., *J. Mol. Biol.*, **370**, 116–127 (2007).
 - 13) Biaglow J. E., Miller R. A., *Cancer Biol. Ther.*, **4**, 6–13 (2005).
 - 14) Holmgren A., Lu J., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **396**, 120–124 (2010).
 - 15) Duan D., Zhang J., Yao J., Liu Y., Fang J., *J. Biol. Chem.*, **291**, 10021–10031 (2016).
 - 16) Benhar M., Shytaj I. L., Stamler J. S., Savarino A., *J. Clin. Invest.*, **126**, 1630–1639 (2016).
 - 17) Powis G., Oblong J. E., Gasdaska P. Y., Berggren M., Hill S. R., Kirkpatrick D. L., *Oncol. Res.*, **6**, 539–544 (1994).
 - 18) Saitoh M., Nishitoh H., Fujii M., Takeda K., Tobiume K., Sawada Y., Kawabata M., Miyazono K., Ichijo H., *EMBO J.*, **17**, 2596–2606 (1998).
 - 19) Welsh S. J., Bellamy W. T., Briehl M. M., Powis G., *Cancer Res.*, **62**, 5089–5095 (2002).
 - 20) Farina A. R., Tacconelli A., Cappabianca L., Masciulli M. P., Holmgren A., Beckett G. J., Gulino A., Mackay A. R., *Eur. J. Biochem.*, **268**, 405–413 (2001).
 - 21) Lincoln D. T., Ali Emadi E. M., Tonissen K. F., Clarke F. M., *Anticancer Res.*, **23**, 2425–2433 (2003).
 - 22) Raninga P. V., Lee A. C., Sinha D., Shih Y. Y., Mittal D., Makhale A., Bain A. L., Nanayakarra D., Tonissen K. F., Kalimutho M., Khanna K. K., *Int. J. Cancer*, **146**, 123–136 (2020).
 - 23) Li H., Hu J., Wu S., Wang L., Cao X., Zhang X., Dai B., Cao M., Shao R., Zhang R., Majidi M., Ji L., Heymach J. V., Wang M., Pan S., Minna J., Mehran R. J., Swisher S. G., Roth J. A., Fang B., *Oncotarget*, **7**, 3548–3558 (2016).
 - 24) Ryu Y. S., Shin S., An H. G., Kwon T. U., Baek H. S., Kwon Y. J., Chun Y. J., *Biomol. Ther.*, **28**, 473–481 (2020).
 - 25) Capparelli E. V., Bricker-Ford R., Rogers M. J., McKerrow J. H., Reed S. L., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **61**, e01947–16 (2017).
 - 26) Fan C., Zheng W., Fu X., Li X., Wong Y. S., Chen T., *Cell Death Dis.*, **5**, e1191 (2014).
 - 27) Li L., Fath M. A., Scarbrough P. M., Watson W. H., Spitz D. R., *Redox Biol.*, **4**, 127–135 (2015).
 - 28) Lippmann J., Petri K., Fulda S., Liese J., *Transl. Oncol.*, **13**, 100785 (2020).
 - 29) Zou P., Chen M., Ji J., Chen W., Chen X., Ying S., Zhang J., Zhang Z., Liu Z., Yang S., Liang G., *Oncotarget*, **6**, 36505–36521 (2015).
 - 30) Liu C., Zhao Y., Wang J., Yang Y., Zhang Y., Qu X., Peng S., Yao Z., Zhao S., He B., Mi Q., Zhu Y., Liu X., Zou J., Zhang X., Du Q., *Cancer Lett.*, **470**, 29–42 (2020).
 - 31) Kshattray S., Saha A., Gries P., Tiziani S., Stone E., Georgiou G., DiGiovanni J., *NPJ Precis. Oncol.*, **3**, 16 (2019).
 - 32) Marzano C., Gandin V., Folda A., Scutari G., Bindoli A., Rigobello M. P., *Free Radic. Biol. Med.*, **42**, 872–881 (2007).
 - 33) Elie B. T., Fernández-Gallardo J., Curado N., Cornejo M. A., Ramos J. W., Contel M., *Eur. J. Med. Chem.*, **161**, 310–322 (2019).
 - 34) Sobhakumari A., Love-Homan L., Fletcher E. V., Martin S. M., Parsons A. D., Spitz D. R., Knudson C. M., Simons A. L., *PLoS One*, **7**, e48175 (2012).
 - 35) Pessetto Z. Y., Weir S. J., Sethi G., Broward

- M. A., Godwin A. K., *Mol. Cancer Ther.*, **12**, 1299–1309 (2013).
- 36) Fiskus W., Saba N., Shen M., Ghias M., Liu J., Gupta S. D., Chauhan L., Rao R., Gunewardena S., Schorno K., Austin C. P., Maddocks K., Byrd J., Melnick A., Huang P., Wiestner A., Bhalla K. N., *Cancer Res.*, **74**, 2520–2532 (2014).
- 37) Chen X., Shi X., Zhao C., Li X., Lan X., Liu S., Huang H., Liu N., Liao S., Zang D., Song W., Liu Q., Carter B. Z., Dou Q. P., Wang X., Liu J., *Oncotarget*, **5**, 9118–9132 (2014).
- 38) Lake R. J., Haynes M. K., Dreval K., Bilkis R., Sklar L. A., Fan H. Y., *SLAS Discov.*, **25**, 895–905 (2020).
- 39) Madeira J. M., Renschler C. J., Mueller B., Hashioka S., Gibson D. L., Klegeris A., *Life Sci.*, **92**, 1072–1080 (2013).
- 40) Madeira J. M., Bajwa E., Stuart M. J., Hashioka S., Klegeris A., *J. Neuroimmunol.*, **276**, 71–79 (2014).
- 41) Chirullo B., Sgarbanti R., Limongi D., Shytaj I. L., Alvarez D., Das B., Boe A., DaFonseca S., Chomont N., Liotta L., Petricoin E. I., Norelli S., Pelosi E., Garaci E., Savarino A., Palamara A. T., *Cell Death Dis.*, **4**, e944 (2013).
- 42) Shytaj I. L., Chirullo B., Wagner W., Ferrari M. G., Sgarbanti R., Corte A. D., LaBranche C., Lopalco L., Palamara A. T., Montefiori D., Lewis M. G., Garaci E., Savarino A., *Retrovirology*, **10**, 71 (2013).
- 43) Diaz R. S., Shytaj I. L., Giron L. B., Obermaier B., Della Libera E. Jr., Galinskas J., Dias D., Hunter J., Janini M., Gosuen G., Ferreira P. A., Sucupira M. C., Maricato J., Fackler O., Lusic M., Savarino A., SPARC Working Group, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **54**, 592–600 (2019).
- 44) Hokai Y., Jurkowicz B., Fernández-Gallardo J., Zakirkhodjaev N., Sanaú M., Muth T. R., Contel M., *J. Inorg. Biochem.*, **138**, 81–88 (2014).
- 45) She P., Zhou L., Li S., Liu Y., Xu L., Chen L., Luo Z., Wu Y., *Front. Microbiol.*, **10**, 2453 (2019).
- 46) Tharmalingam N., Ribeiro N. Q., da Silva D. L., Naik M. T., Cruz L. I., Kim W., Shen S., Dos Santos J. D., Ezikovich K., D'Agata E. M., Mylonakis E., Fuchs B. B., *Future Med. Chem.*, **11**, 1417–1425 (2019).
- 47) Srivastava M., Mallard C., Barke T., Hancock L. E., Self W. T., *J. Bacteriol.*, **193**, 1643–1652 (2011).
- 48) Abutaleb N. S., Seleem M. N., *Sci. Rep.*, **10**, 7701 (2020).
- 49) Roder C., Athan E., *Drugs R D*, **20**, 209–216 (2020).
- 50) Hutton M. L., Pehlivanoglu H., Vidor C. J., James M. L., Thomson M. J., Lyras D., *J. Antimicrob. Chemother.*, **75**, 409–417 (2020).
- 51) AbdelKhalek A., Abutaleb N. S., Mohammad H., Seleem M. N., *Int. J. Antimicrob. Agents*, **53**, 54–62 (2019).
- 52) Owings J. P., McNair N. N., Mui Y. F., Gustafsson T. N., Holmgren A., Contel M., Goldberg J. B., Mead J. R., *FEMS Microbiol. Lett.*, **363**, fnw148 (2016).
- 53) Epstein T. D., Wu B., Moulton K. D., Yan M., Dube D. H., *ACS Infect. Dis.*, **5**, 1682–1687 (2019).
- 54) Abou-El-Naga I. F., Mady R. F., Fawzy Husien Mogahed N. M., *Biomedica*, **40**, 89–101 (2020).
- 55) da Silva M. T., Silva-Jardim I., Portapilla G. B., de Lima G. M., Costa F. C., Anibal Fde F., Thiemann O. H., *Exp. Parasitol.*, **166**, 189–193 (2016).
- 56) Sharlow E. R., Leimgruber S., Murray S., Lira A., Sciotti R. J., Hickman M., Hudson T., Leed S., Caridha D., Barrios A. M., Close D., Grögl M., Lazo J. S., *ACS Chem. Biol.*, **9**, 663–672 (2014).
- 57) Caroli A., Simeoni S., Lepore R., Tramontano A., Via A., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **417**, 576–581 (2012).
- 58) Kuntz A. N., Davioud-Charvet E., Sayed A. A., Califf L. L., Dessolin J., Arnér E. S. J., Williams D. L., *PLoS Med.*, **4**, e206 (2007).
- 59) Plancarte A., Nava G., *Exp. Parasitol.*, **149**, 65–73 (2015).
- 60) Song L., Li J., Xie S., Qian C., Wang J., Zhang W., Yin X., Hua Z., Yu C., *PLoS One*, **7**, e31456 (2012).
- 61) Debnath A., Ndao M., Reed S. L., *Gut Microbes*, **4**, 66–71 (2013).
- 62) Andrade R. M., Chaparro J. D., Capparelli E., Reed S. L., *PLoS Negl. Trop. Dis.*, **8**,

- e2973 (2014).
- 63) Ssemaganda A., Low L. M., Verhoeft K. R., Wambuzi M., Kawoozo B., Nabasumba S. B., Mpendo J., Bagaya B. S., Kiwanuka N., Stanisic D. I., Berners-Price S. J., Good M. F., *Metallomics*, **10**, 444–454 (2018).
- 64) Tejman-Yarden N., Miyamoto Y., Leitsch D., Santini J., Debnath A., Gut J., McKerrow J. H., Reed S. L., Eckmann L., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **57**, 2029–2035 (2013).
- 65) Onodera T., Momose I., Adachi H., Yamazaki Y., Sawa R., Ohba S., Kawada M., *J. Biol. Chem.*, **295**, 16678–16690 (2020).