CZU: 616-002.5:579.873.21:615.281.873.21
https://doi.org/10.52692/1857-0011.2021.3-71.30

INHIBITORII METABOLISMULUI ENERGETIC – O NOUĂ GRUPĂ DE PREPARATE ANTITUBERCULOASE

¹Nicolae BACINSCHI, dr. hab. în șt. med., prof. univ.,

²Elena TUDOR, dr. în șt. med., conf. cercetător, membru-coresp. AȘMM,

¹Mihaela TĂRĂBURCĂ, studentă

¹IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”,
Chișinău, Republica Moldova,

²IMSP Institutul de Ftiziopulmonologie „Chiril Draganiuc”,
Chișinău, Republica Moldova

e-mail: eltudor@yandex.ru

Rezumat.

Tratamentul tuberculozei, în pofida intensificării cercetării unor medicamente noi, rămâne o problemă actuală a ftiziopulmonologiei datorită apariției micobacteriilor cu rezistență multiplă și extinsă, diminuării aderenței pacienților la tratament din cauza duratei mari a curelor și reacțiilor adverse, transformării micobacteriilor în forme cu stare metabolică latentă. Elucidarea unor compuși noi cu influență asupra metabolismului și proceselor energetice deschid noi perspective de a optimiza tratamentul TB-MDR și TB-XDR, precum și elaborarea de noi scheme de tratament ce ar permite scurtarea duratei tratamentului cu reducerea incidenței reacțiilor adverse și creșterea complianței pacienților.

Cuvinte cheie: inhibitorii bioenergetici, micobacterii cu stare metabolică latentă, rezistență multiplă, rezistență extinsă.

Summary. Energy metabolism inhibitors - a new group of antituberculous drugs.

The treatment of tuberculosis, despite the intensification of research into new drugs, remains a current problem of phthiopulmonology due to the emergence of mycobacteria with multiple and extensive resistance, decreased patient adherence to treatment due to long duration of treatment and side effects, transformation of mycobacteria into latent metabolic forms. Elucidation of new compounds influencing metabolism and energy processes opens new perspectives to optimize the treatment of TB-MDR and TB-XDR, as well as the development of new therapeutic regimens that would shorten the duration of treatment by reducing the incidence of adverse reactions and increasing patient compliance.

Keywords: bioenergetic inhibitors, mycobacteria with latent metabolic state, multiple resistance, extended resistance.

Резюме. Ингибиторы энергетического метаболизма - новая группа противотуберкулезных препаратов.

Лечение туберкулеза, несмотря на интенсификацию исследований в области новых лекарств, остается актуальной проблемой фтизиопульмонологии из-за появления микобактерий с множественной и обширной резистентностью, снижения приверженности пациентов к лечению из-за длительной продолжительности лечения и побочных эффектов, трансформации микобактерий в латентные метаболические формы. Выявление новых соединений, влияющих на метаболизм и энергетические процессы, открывает новые перспективы для оптимизации лечения TB-МЛУ и TB-ШЛУ, а также разработки новых терапевтических режимов, которые позволят сократить продолжительность лечения и снизить частоту побочных реакций и увеличить приверженность пациентов к лечению.

Ключевые слова: ингибиторы энергетического метаболизма, микобактерии с латентным метаболизмом, множественная и расширенная резистентность.

Introducere.

Tuberculoza (TBC) este o boală transmisibilă care la nivel mondial reprezintă una dintre primele 10 cauze de deces și principala cauză de deces din cauza unui singur agent infecțios. La nivel global, se estimează că aproximativ 10 milioane persoane s-au îmbolnăvit de TBC în 2019. S-au înregistrat 1,2 milioane decese provocate de TBC în rândul persoanelor HIV-negative și alte 208 000 decese în rândul persoanelor HIV-pozitive în anul 2019. Tuberculoza rezistentă la medicamente continuă să fie o problemă de sănătate publică. La nivel mondial, în 2019, aproape o jumătate de milion de oameni au dezvoltat TBC rezistentă la rifampicină (TB-RR), din care 78% au

fost diagnosticați cu TBC multirezistentă (TB-MDR) [OMS raport 2020].

Raportul OMS pentru TBC din 2021 a remarcat că pandemia de COVID-19 a inversat anii de progres în furnizarea de servicii esențiale de tuberculoză și reducerea poverii bolii tuberculoase. Țintele globale de tuberculoză sunt în cea mai mare parte deplasate, deși există unele succese la nivel național și regional. Impactul cel mai evident este o scădere globală mare a numărului de persoane nou diagnosticate cu TBC și raportate de la 7,1 milioane în 2019 la 5,8 milioane în 2020 și mult sub cele aproximativ 10 milioane de oameni care au dezvoltat tuberculoză în 2020. Datele provizorii până în iunie 2021 arată o reducere

în continuare. Concomitent s-a redus accesul la diagnosticul și tratamentul TBC, ce a determinat o creștere a deceselor. Cele mai bune estimări pentru 2020 sunt 1,3 milioane de decese de tuberculoză în rândul persoanelor HIV negative (în creștere de la 1,2 milioane în 2019) și alte 214 000 în rândul persoanelor HIV pozitive (în creștere de la 209 000 în 2019). Scăderile incidenței TBC în anii precedenți crează o impresie greșită despre reducerea numărului de bolnavi cu TBC. Se estimează că aceste impacturi vor fi mult mai grave în 2021 și 2022. Alte impacturi includ reducerea între 2019 și 2020 a numărului de persoane care au primit tratament pentru TBC rezistentă la medicamente (de la 177 100 la 150 359 sau cu 15%) și tratament preventiv al TBC (de la 3,6 milioane la 2,8 milioane sau cu 21%), precum și o scădere a cheltuielilor globale pentru serviciile de diagnosticare, tratament și prevenire a TBC (de la 5,8 miliarde la 5,3 miliarde dolari). Sunt necesare acțiuni urgente pentru atenuarea și inversarea acestor impacturi. Prioritatea imediată este restabilirea accesului și furnizarea de servicii esențiale de tuberculoză, astfel încât nivelul de detectare și tratament a cazurilor de TBC să poată reveni la nivelul anului 2019, în special în țările cele mai grav afectate [OMS raport 2021].

Schimbările de mediu, întâlnite în timpul infecției, determină micobacteriile să se adapteze cu formarea de subpopulații de bacterii în stări metabolice heterogene, precum cele în replicare activă, cu creștere intermediară și stare metabolică latentă (Mtb dormante). Această adaptare determină capacitatea micobacteriei de a genera energie din surse variabile și de a susține metabolismul în absența creșterii [Cook 2017].

Preparatele antituberculoase convenționale (izoniazida, rifampicina, etambutol, fluorochinolone, aminoglicozide) vizează în primul rând procesele necesare pentru creștere și replicare, precum sinteza acizilor nucleici, proteinelor sau componentelor peretelui celular și sunt mai puțin eficiente împotriva bacteriilor în stare metabolică latentă, rezultând în tratamente îndelungate atât în cazul TBC sensibil la medicamente, cât și în cazul TBC rezistente la medicamente. În plus, tratamentele existente pentru TBC rezistentă la medicamente sunt asociate cu rate scăzute de vindecare și toxicitate marcată. Prin urmare, pentru tratamentul eficient al bolii este necesar de dezvoltat noi medicamente antituberculoase care ar fi active împotriva subpopulațiilor Mtb cu stare metabolică latentă (dormante) și a tulpinilor rezistente la medicamente [Foo, 2020, Hasenoehrl 2020,2021, Iqbal 2018, Bald 2017, Cook 2017].

Materiale și metode. Au fost selectate 62 articole din baza de date Pubmed după cuvintele-cheie: “latent tuberculosis”, “anti-tuberculosis drugs”, “metabolically dormant bacilli”, “bioenergetic inhibitors”, cu analiza ulterioară a 39 articole pentru revizuirea literaturii ce reflectă situația în domeniul inhibitorilor bioenergetici ai micobacteriilor ca preparate antituberculoase noi.

Rezultate și discuții. O țintă care prezintă tot mai mult interes în prezent este metabolismul energetic și, în special, calea de fosforilare oxidativă, care a devenit un subiect de interes sporit, odată cu aprobarea de către FDA în 2012 a inhibitorului ATP sintazei – Bedaquilina. S-a constatat că fosforilarea oxidativă și menținerea gradientului electrochimic transmembranar sunt

Figura 1. Reprezentarea schematică a lanțului de transport al electronilor (LTE) al *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) și a căii de biosinteză a menaquinonei (MK) [Foo,2020].

esențiale pentru viabilitatea micobacteriilor care se află în stare de replicare și stare de repaus metabolic. Prin urmare, noii reprezentanți care vizează această cale au potențialul de a reduce durata tratamentului, întrunind astfel unul dintre obiectivele principale ale tratamentului antituberculos. În timpul fosforilării oxidative, electronii sunt transferați de la donatorii de electroni ai metabolismului central către oxigen prin intermediul lanțului de transport al electronilor (LTE) [Foo, 2020, Hasenoehrl 2020, Iqbal 2018, Bald 2017, Cook 2017]. [Hasenoehrl 2020, 2021].

Lanțul de transport al electronilor reprezintă o gamă de enzime și cofactori legați și asociați de membrană, care sunt responsabili de reciclarea substraturilor reduse din metabolismul central al carbonului și generarea unei forțe motrice a protonului (PMF) esențială pentru menținerea gradientilor electrochimici transmembranari și sinteza ATP prin fosforilarea oxidativă. Electronii furnizați de NADH sunt îndreptați către LTE de către NADH-dehidrogenaze (în principal NDH-2 în Mtb) cu reducerea menaquinonei (MKH₂). Menakinona, la biosinteza căreia participă opt enzime principale este singura purtătoare de electroni în LTE. Succinat dehidrogenazele (SDH1 și SDH2), de asemenea, contribuie la reducerea fondului de menaquinone. Electronii din fondul de menaquinone sunt apoi transferați la una dintre oxidazele terminale, pompa de protoni Cyt-bcc-aa3 sau Cyt-bd oxidaza, ambele catalizând reducerea oxigenului în apă. De-a lungul lanțului respirator, protonii sunt pompați de cealaltă parte a membranei, generând astfel forța motrice a protonului (PMF) care este apoi utilizată de F1F0 ATP-sintaza pentru a produce ATP (fig. 1) [Foo 2020, Hasenoehrl 2020,2021].

Eforturile mai recente în dezvoltarea medicamentelor au identificat căi metabolice alternative, care rămân esențiale pentru *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) și în timpul repausului metabolic, promițând astfel speranța pentru dezvoltarea de noi regimuri medicamentoase capabile să vindece rapid TBC. Astfel, s-a inițiat o nouă eră a dezvoltării medicamentelor antimicobacteriene axate pe dezvoltarea inhibitorilor enzimelor din lanțul de transport al electronilor (LTE), o colecție de enzime și cofactori legați și asociați de membrană, care sunt principalii factori celulari responsabili pentru reciclarea substraturilor reduse din metabolismul carbonului, generând o forță motrică a protonilor (PMF) esențială pentru menținerea gradientilor electrochimici transmembranari și sinteza ATP prin intermediul fosforilarea oxidativă (fig.1). Fiecare dintre aceste procese s-a dovedit a fi necesar în timpul persistenței în Mtb și, în mod specific, aceste mecanisme sunt esențiale în celulele latente metabolice induse de factorii de stres din mediu, cum

ar fi hipoxia sau lipsa de nutrienți. În ultimele două decenii, o gamă largă de medicamente care vizează diferite componente a LTE sunt în studiu pentru a înțelege mecanismele de acțiune ale acestor preparate cu mecanisme complexe, precum și cum să folosim aceste cunoștințe pentru dezvoltarea de terapii combinate noi, concepute rațional, pentru a vindeca TBC [Foo 2020, Hasenoehrl 2020,2021].

Inhibitorii NADH-dehidrogenazelor lanțului de transport al electronilor. În Mtb sunt trei NADH-dehidrogenaze legate de membrane, capabile să transfere electronii spre MK prin oxidarea NADH în NAD⁺, având un rol important în menținerea energizării lanțului respirator micobacterian. M. tb posedă o NADH dehidrogenază de tip 1 (NDH-1), care pompează protoni și este codificată de operonul nuo, și două NADH dehidrogenaze de tip 2, care nu pompează protoni (NDH-2). NDH-2 a fost validată ca țintă medicamentoasă împotriva Mtb deoarece, spre deosebire de NDH-1, este absentă în genomul mamiferelor, ce reprezintă un avantaj pentru dezvoltarea inhibitorilor specifici. Două studii recente realizate de Vilcheze și colab. și Beites și colab. au ajuns la concluzia că deși Mtb necesită cel puțin o enzimă NDH-2 care nu pompează protoni pentru creștere, țintirea chimică doar a NDH-2 ar putea fi inefficientă, dar este concepută ca parte a unei combinații raționale de medicamente [Foo 2020, Beites 2019, Vilcheze 2018 Hasenoehrl 2020,2021].

S-a stabilit că două clase mari de medicamente, fenotiazinele (FTZ) și riminofenazinele (RFZ) interacționează cu NADH-dehidrogenazele Mtb, dovedindu-se a fi eficiente în tratamentul TB-MDR. Fenotiazinele fac parte dintr-o clasă de medicamente numite antipsihotice tipice, iar eficacitatea lor împotriva infecției TBC a fost declarată pentru prima dată în rapoartele de cazuri clinice la pacienții cu psihoză concomitentă care au primit fenotiazine [Hasenoehrl 2020,2021, Fischer 1959]. Tioridazina, clorpromazina și trifluoperazina sunt fenotiazinele studiate pe scară largă împotriva Mtb. S-a stabilit că acestea au activitate *in vitro* împotriva Mtb la concentrații minime inhibitoare (CMI) care variază între 5 și 32 μg/mL. Cu toate acestea, profilul toxicologic nefavorabil și potența lor limitată, exclud utilizarea lor clinică pentru tratamentul TBC [Foo 2020].

Lucrările recente pun sub semnul întrebării dacă eficacitatea clinică a FTZ se datorează numai inhibării NADH și unei game mai largi de efecte, precum perturbarea biosintezei peretelui celular, inhibarea pompei de eflux bacterian sau potențarea directă a macrofagelor care facilitează eliminarea Mtb [Hasenoehrl 2020, Machado 2016, Dutta 2011, Amaral 2017]. Deși concentrațiile necesare pentru a obține aceste efecte *in vitro* au fost supratherapeutice, s-a stabilit că FTZ

cumulează în macrofage și sunt deosebit de eficiente împotriva *Mtb* intracelulare [Foo 2020, Hasenoehrl 2020]. Cel mai promițător dintre aceste medicamente este tioridazina, care are un profil de efecte secundare redus și a demonstrat eficiență în monoterapia și terapia combinată la șoareci, precum și în studii clinice limitate pentru tratarea TB-XDR [Hasenoehrl 2020, Dutta 2014, Abbate 2012]. Îmbunătățirile actuale ale tehnicii au facilitat desfășurarea a o serie de studii, care au generat noi derivați ai PTZ cu CIM mai mici și activitate neurogenică redusă. În prezent, eforturile cercetătorilor sunt îndreptate spre elucidarea exactă a mecanismelor de acțiune ale FTZ, dar și spre dezvoltarea unor noi derivați cu activitate înaltă împotriva *Mtb* și toxicitate redusă [Hasenoehrl 2020].

A doua clasă majoră de medicamente care interacționează cu NDH sunt riminofenazinele (RFZ), care de fapt nu sunt inhibitori ai NDH, dar se presupune că necesită activare prin NDH pentru a-și exercita acțiunea. Clofazimina (CFZ), reprezentantul cel mai important al acestei grupe, manifestă activitatea bactericidă prin producția de specii reactive de oxigen (SRO), ca urmare a reducerii CFZ de către enzima NADH-dehidrogenază (NDH-2). S-a demonstrat, că CFZ reduce durata tratamentului cu antibiotice de primă linie pentru TBC sensibilă la medicamente și potențează regimurile medicamentoase de a doua linie pentru TBC rezistentă la medicamente în modele de murine infectate *in vivo* prin țintirea populațiilor bacteriene cu replicare lentă și dormante. Lipofilitatea marcată și efectele secundare precum colorarea portocalie a pielii datorită acumulării în țesutul adipos și cutanat, limitează utilizarea clofaziminei în clinică [Foo 2020, Xu 2019, Hasenoehrl 2020].

Un studiu sistematic a mai mult de 500 de analogi ai CFZ a fost realizat pentru a identifica compuși de nouă generație cu eficacitate echivalentă sau mai bună decât cea a CFZ și cu un potențial redus de pigmentare a pielii. O activitate *in vitro* superioară față de CFZ împotriva replicării *Mtb* H37Rv au demonstrat 12 dintre acești compuși, inclusiv TBI-166 [Xu 2019]. Administrarea TBI-166 a câte 20 mg/kg/zi timp de 3 săptămâni, a demonstrat o eficacitate superioară comparativ cu 20 mg/kg CFZ într-un model de murine afectate de TBC acută [Xu 2019, Lu 2011].

Inhibitorii succinat dehidrogenazelor micobacteriilor. Succinat dehidrogenaza (SDH), cunoscută și sub numele de complexul II al LTE, cuplează oxidarea succinatului în fumarat, reducând MK la menaquinol (MKH₂) în *Mtb*. Acest complex conectează direct ciclul acidului tricarboxilic și calea fosforilării oxidative, jucând astfel un rol critic în metabolismul bacterian și respirație. În *Mtb* există două succinat dehidrogenaze adnotate (SDH1 și SDH2) și

o fumarat reductază (FRD), care catalizează reacția inversă. SDH1 este esențială pentru o creștere optimă în condiții aerobe, în timp ce SDH2 pare să joace un rol mai semnificativ în *Mtb* la oprirea creșterii și în repaus în timpul tranziției sale de la condițiile aerobe la cele hipoxice [Foo 2020, Hasenoehrl 2020].

Un studiu genetic realizat de Hartman și colab. a arătat că eliminarea țintită a SDH1 în *Mtb* a împiedicat reglarea descendentă a respirației ca răspuns la scăderea conținutului de oxigen, a inhibat regenerarea celulelor după o fază staționară extinsă și a atenuat virulența la șoareci. Eliminarea SDH2 a avut efecte mai modeste: întârziere în reglarea descendentă a respirației, reluarea creșterii parțiale după faza staționară extinsă și lipsa efectului asupra virulenței [Hasenoehrl 2020, 2021, Hartman 2014].

În pofida rolului central al SDH în metabolismul carbonului și LTE, inhibitorii succinat dehidrogenazei nu au fost examinați foarte detaliat, din cauza prezenței a două SDH, a fumarat reductazei și a unui omolog la mamifere, care complică proiectarea inhibitorilor. Deși există preocupări legate de designul inhibitorilor SDH, acesta nu exclude utilitatea acestor enzime. Enzimele SDH ale *Mtb* sunt diferite de cele ale mamiferelor prin domeniului lor hidrofob și conținutului de hem. Astfel, prin vizarea regiunilor care diferă în situsul activ, un inhibitor selectiv poate fi identificat cu o inhibare minimă sau fără inhibiție a complexului II [Hasenoehrl 2020, 2021].

Investigațiile asupra inhibitorilor SDH ai *Mtb* au constatat că 3-nitropropionat (3-NP), pare a fi capabil să inhibe SDH cu o pierdere a viabilității *Mtb* în timpul adaptării la hipoxie. Tratamentul cu 3-NP a *M. smegmatis*, aflată în hipoxie, a permis să se concluzioneze că activitatea SDH este esențială pentru adaptarea la hipoxie. Siccanina, mimicanul ubiquinonei, s-a dovedit a fi un inhibitor specific al SDH. Testarea activității siccaninei împotriva *Mtb* va permite de a identifica un inhibitor puternic al SDH *Mtb* care nu inhibă complexul II al LTE [Hasenoehrl 2020, 2021, Hartman 2014, Eoh 2013, Mogi 2009].

Inhibitorii biosintezei menachinonei. Menachinona (MK), singura lipochinonă din *Mtb*, are un rol central și esențial în fosforilarea oxidative și o țintă foarte atractivă pentru elaborarea de medicamente, deoarece este absentă la om și s-a demonstrat că este critică pentru menținerea supraviețuirii micobacteriene în condiții aerobe și anaerobe. Menachinona este sintetizată din precursorul printr-o cale biosintetică care implică opt enzime (MenF, MenD, MenH, MenC, MenE, MenB, MenA și MenG) (fig.1). Inhibitorii chimici ai MenA, MenB, MenG, MenD și MenE s-au dovedit eficienți în inhibarea creșterii *in vitro* a *Mtb* atât cu replicare activă, cât și stare metabolică

latentă. O investigație suplimentară asupra mecanismului de acțiune a arătat că inhibarea căii biosintetice a menachinonei are ca rezultat epuizarea ATP și diminuarea respirației. MenE codifică o o-succinilbenzoat-CoA ligază care transformă o-succinilbenzoatul (OSB) în OSB-CoA printr-un intermediar OSB-AMP. Datorită instabilității OSB, eforturile de a crea inhibitori MenE s-au concentrat pe inhibarea asamblării intermediarului OSB-AMP. Analogi sulfoniladenozinici ai intermediarului de reacție înrudit, OSB-AMP, au fost dezvoltati ca inhibitori ai enzimelor MenE din Mtb (mtMenE). MenA codifică o DHNA-octapreniltransferază, care este implicată în biosinteza MK și catalizează conversia 1,4-dihidroxi-2-naftoatului (DHNA) în demetilmenaquinonă (DMK). Inhibitorul Ro 48-8071 al MenA a redus de 8 ori activitatea MenA. S-a arătat că Ro 48-8071 are activitate dublă împotriva MenA prin comportarea ca un inhibitor necompetitiv al substratului DHNA și ca un inhibitor competitiv al izoprenil difosfatului. MenG catalizează metilarea DMK-9 folosind S-adenosilmetionina pentru a forma MK, o ultimă etapă a biosintezei MK în Mtb. Compusul GSK1733953A, cunoscut și sub denumirea de DG70, este un compus bactericid cu activitate specifică împotriva Mtb sensibile și rezistente la medicamente. DG70 posedă efect bactericid împotriva Mtb lipsite de nutrienți, o subpopulație care este deosebit de dificil de distrus. De asemenea, s-a constatat că DG70 blochează de novo biosinteza MK, subliniind rolul său ca inhibitor al MenG, ceea ce a dus la o reducere > 50% a ATP intracelular și la inhibarea consumului de oxigen. Acest compus posedă sinergism cu BDQ, izoniazida (INH) și rifampicina (RIF), sugerând că inhibitorii MenG ar putea face parte dintr-o combinație puternică de medicamente antituberculoase [Foo 2020 Hasenoehrl 2020,2021, Sukheja 2017, Lu 2012,Dhiman 2019].

Unul dintre cei mai promițători inhibitori ai menaquinonei se consideră SQ109, considerat inițial un inhibitor al MmpL3 (transportator important implicat în biosinteza peretelui celular), după ce s-a depistat că acesta posedă activitate împotriva bacteriilor care nu au MmpL3. S-a raportat că SQ109 acționează și ca un decuplator al LTE și ca un inhibitor al biosintezei menaquinonei prin inhibarea activității MenA și MenG. Tratamentul cu SQ109 al șoarecilor infectați cu Mtb a redus unitățile formatoare de colonii în plămâni și splină după 28 de zile, ceea ce a fost comparabil cu șoarecii tratați cu etambutol (EMB). Substituirea EMB cu SQ109 într-un regim standard de tratament cu patru medicamente (INH, RIF, PZA și SQ109), a determinat o ameliorare a încărcăturii bacteriene pulmonare după 8 săptămâni într-un model de murine. Aceste rezultate evidențiază faptul că SQ109 este un

tratament eficient pentru tratamentul Mtb și ar putea fi inclus în schemele terapeutice curente [Hasenoehrl 2020,2021, Jia 2008, Nikonenko 2007].

În afară de inhibarea căii biosintetice a menachinonei, este investigată și țintirea directă a menaquinonei. Această abordare implică utilizarea peptidelor ciclice care se leagă direct de menachinonă pentru a preveni reacțiile redox dependente. Hamamoto și colab au identificat o peptidă ciclică, lizocina E, care a exercita activitatea bactericidă puternică interacționând cu menachinona din membrana bacteriană, ce a indicat că lizocina E poate constitui o nouă clasă de antituberculoase. Aceasta se leagă în mod specific de menachinonă și nu de ubichinonă, astfel încât toxicitatea pentru mitocondriile mamiferelor este puțin probabilă [Hasenoehrl 2020, 2021, Hammamoto 2015].

Astfel, se poate presupune că acțiunea asupra menachinonei Mtb ar putea provoca moartea celulelor prin mecanisme multiple, precum întreruperea fluxului de electroni prin LTE asociată cu reducerea producției de ATP și întreruperea directă a PMF. Rolul menachinonei în creșterea și supraviețuirea atât a Mtb replicante, cât și a în stare metabolică latentă sugerează că acești inhibitori ar putea fi medicamente eficiente pentru tratamentul infecțiilor persistente și rezistente la medicamente [Hasenoehrl 2020,2021].

Inhibitorii oxidazelor terminale. În Mtb sunt prezente două oxidaze terminale care catalizează reducerea oxigenului cu patru electroni în apă. Una dintre ele este citocromul de tip menachinol oxidază (Cyt-bd), în care electronii sunt transferați direct de la MK (redus) la oxigen, iar cealaltă reprezintă un supercomplex format din menachinol-citocrom c oxidoreductază (complexul bc1) și citocrom oxidaza de tip aa3. Supercomplexul Cyt-bc1-aa3 pompează protoni din celulă în timpul transferului de electroni către oxigen, în timp ce oxidaza de tip bd nu pompează protoni, dar are o afinitate mai mare pentru oxigen [Foo 2020,Iqbal 2018].

Citocrom bd oxidaza. Citocromul de tip menachinol oxidază (Cyt-bd) al Mtb este codificat de operonul cydABDC, și nu pompează protoni, fiind deci o oxidază terminală mai puțin eficientă din punct de vedere energetic. Operonul cydAB codifică citocromii funcționali, în timp ce produsele cydDC contribuie la asamblarea citocromului bd. S-a constatat că inactivarea Cyt-bd prin inserția transposonului în cydDC, afectează atât toleranța față de INH, cât și menținerea infecției cronice în modele de murine. Aceste observații subliniază rolul important pe care această enzimă îl poate juca în protecția Mtb față de tratament, și prin urmare, valoarea sa ca țintă terapeutică de reducere a termenelor de tratament antituberculos. Au fost identificați ca inhibitori ai Cyt-bd Aurachina D, Microci-

na J25 (MccJ25) și ND-011992, care promit progrese în dezvoltarea medicamentelor antituberculoase și ar putea potența eficacitatea altor inhibitori bioenergetici [Hasenoehrl 2020,2021, Iqbal 2018].

Aurachinele sunt o familie de produse naturale sintetizate de *Stigmatella aurantiaca* care s-au dovedit a inhiba atât mitocondriile mamiferelor, cât și bacteriilor. Un studiu realizat de Meunier și colab. a constatat că, în timp ce unele aurachine inhibă neselectiv toate citocrom oxidazele complexului III din *E. coli*, aurachina D inhibă în mod specific Cyt-bd. Transpunerea acestui studiu pe *M. smegmatis*, a constatat că aurachina D duce la o inhibare dependentă de doză a consumului de oxigen până la 50% în membrana veziculelor, dar nu a avut niciun efect asupra creșterii celulelor micobacteriene întregi. Asocierea Q203 cu aurachina D a abolit respirația în membrana veziculelor și a potențat distrugerea *Mtb*. Dezvoltarea ulterioară a aurachinei D este dificilă din cauza naturii lipofile, lipsei de selectivitate și toxicității [Meunier 1995, Hasenoehrl 2020,].

Microcinele sunt peptide antimicrobiene modificate post-tranlațional produse de organisme gram-negative. Microcina J25 (MccJ25) este o peptidă cu greutate moleculară mică produsă în mod natural de tulpina AY25 *E. coli*. Un studiu realizat de Galván și colab. în 2019, a constatat că Microcina J25 este capabilă să inhibe activitatea enzimatică a citocromului izolat bd-I din *E. coli* și induce în același timp producerea de specii reactive de oxigen. Efectele sale asupra Cyt-bd micobacteriană sunt neclare, dar demne de investigații suplimentare [Hasenoehrl 2020,, Galvan 2019].

Un studiu realizat de Lee și colab. a identificat că ND-011992 este un presupus inhibitor al Cyt-bd, care în combinație cu Q203 (telacebec) a inhibat sinergic consumul de oxigen și sinteza ATP în agentul patogen, demonstrând că redundanța funcțională a două oxidaze terminale în micobacterii limitează eficacitatea candidatului clinic de fază 2 telacebec. Combinația de medicamente a fost activă împotriva diferitor linii filogenetice ale bacteriei, împotriva izolatelor de TBC-MDR și XDR și a inactivat *in vitro* micobacteriile cu replicare activă și în stare metabolică latentă [Hasenoehrl 2020, 2021 Lee 2021].

Aceste observații sugerează rolul Cyt-bd în protecția celulei împotriva stresului hipoxic, oxidativ și chimioterapeutic. Deși rolul său în protecția împotriva hipoxiei și a stresului oxidativ nu a fost încă demonstrat direct în *Mtb*., studiul acestei enzime unice rămâne un domeniu promițător pentru cercetări ulterioare și dezvoltarea de noi preparate antituberculoase [Hasenoehrl 2020,2021].

Citocrom bc1:aa3 oxidaza. Complexul Cyt-bcc:aa3 este oxidaza terminală aerobă primară din *Mtb*. Complexul bc1, componentă cheie a căii bc1-aa3, este necesar pentru a transfera cea mai mare parte a electronilor către oxigen în condițiile normoxiei. O varietate de compuși chimici inhibă bc1 oxidaza în *Mtb* prin legarea la locul Qp (unul dintre cele două site-uri catalitice chinol de pe QcrB) al subunității QcrB. Derivații imidazopiridinei s-au dovedit a fi deosebit de activi împotriva *Mtb*, iar QcrB este țintă cea mai probabilă a acestora. Pethe și colab. au identificat derivatul de amidă imidazopiridină, Q203 (Telacebec), care este cel mai bun compus din această clasă și care se află în faza 2 a studiilor clinice [Hasenoehrl 2020,2021, Foo 2020, Iqbal 2018, Pethe 2013].

Compusul Q203 a demonstrat o inhibiție a izolatelor clinice de MDR-TBC și XDR-TBC, selectivitate înaltă pentru micobacterii, toxicitate scăzută față de celulele mamiferelor și farmacocinetică promițătoare. Telacebecul, deși are efect bacteriostatic propriu față de *Mtb*, devine extrem de bactericid atunci când oxidaza alternativă Cyt-bd este absentă, lucru demonstrat în macrofagele infectate cu *Mtb* și într-un model de șoareci infectați cu TBC acută [Kalia 2017, Moosa 2017 Hasenoehrl 2020,2021, Pethe 2013].

Lansoprazolul (LPZ), inhibitor al pompei de protoni, s-a dovedit a fi un promedicament care este transformat în LPZ-sulfat (LPZS) în citoplasma celulei gazdă și protejează de infecția cu *Mtb*. Acest metabolit a fost identificat ca inhibitor al QcrB, dar la un loc diferit de cel vizat de compușii imidazopiridinei. Lansoprazolul sulfat a demonstrat lipsa citotoxicității și reducerea semnificativă a sarcinii bacteriene într-un model de infecție la șoarece. În cadrul studiului de cohortă bazat pe populația Regatului Unit a constatat că utilizatorii de lansoprazol, prescris pentru boala de reflux gastroesofagian, au avut rate mai mici de infecție cu TBC decât cei cărora li s-au prescris inhibitori alternativi ai pompei de protoni [Hasenoehrl 2020,2021, Rybniker 2013, Yates 2017].

Inhibitorii ATP-sintazei. F1FO-ATP sintaza catalizează etapa finală a fosforilării oxidative prin sinteza ATP-ului din ADP și fosfat anorganic prin mobilizarea energiei potențiale din gradientul de protoni generat de respirație în LTE (fig.1). Bedacvilina (BDQ), derivat de diarilquinolone, este inhibitorul prototipic al fosforilării oxidative și se presupune că acționează prin legarea la subunitățile c și ε de pe ATP-sintază, inhibând sinteza ATP, esențial pentru supraviețuirea *Mtb*. La concentrații mai mari, BDQ poate fi, de asemenea, să acționeze ca un protonofor și/sau ionofor, ducând la decuplarea LTE prin colapsul gradientului de protoni (ΔpH) și a potențialului de membrană ($\Delta \Psi$), care degradează PMF și previne

sinteza ATP (fig.1). Bedacvilina acționează eficient asupra micobacteriilor care se replică, dar, îndeosebi, și celor în stare metabolică latentă (dormantă) datorită nivelului de ATP de 5-10 ori mai mici în aceste bacterii. Capacitatea BDQ de a inhiba bacteriile dormante corelează cu activitatea bactericidă excepțional de marcată pe modele experimentale de TBC și cu timpul redus pentru conversia culturii sputei la pacienții cu TBC. Bedacvilina este foarte eficientă împotriva TBC susceptibile la medicamente, TBC-MDR și TB-XDR, însă utilizarea sa este limitată în prezent la pacienții cu TBC MDR și XDR. Bedacvilina are unele dezavantaje: activitate bactericidă întârziată (3–5 zile) *in vitro* și *in vivo*, care pare a fi mediată de remodelarea metabolică care reglează NDH-2 și Cyt-bd; pericol de aritmii cauzate de prelungirea intervalului QT; dezvoltarea rezistenței peste trei ani de la implementare (datorită unei mutații în *atpE*, care codifică subunitatea Fo a ATP-sintazei). În ultimii ani, eforturile au fost intensificate pentru a îmbunătăți unele dintre proprietățile ale BDQ (lipofilitate, timp de înjumătățire terminal lung, inhibarea proteinei canalului de potasiu cardiac). O serie de cercetări recente au identificat, de asemenea, noi inhibitori cu mecanisme noi de acțiune la nivelul ATP-sintazei, iar studiile clinice vor trebui să decidă dacă acești compuși pot înlocui BDQ în chimioterapia TBC. Un derivat al 3,5-dialcoxipiridinelor, TBAJ-876, vizează subunitățile c și ε ale ATP-sintazei la același loc de legare ca BDQ, având mecanism de acțiune similar BDQ, dar care este mai puțin cardiotoxic și de 10 ori mai puternic [Foo 2020, Iqbal 2018, Hasenoehl 2020,2021].

Preparate cu mecanisme extinse de acțiune.

Concomitent cu dezvoltarea inhibitorilor țintă-specifi ai componentelor LTE, au fost identificați mai mulți inhibitori cu mecanism larg de acțiune, care sunt capabili să perturbe procesele bioenergetice, cum ar fi funcția forței motrice a protonului (PMF) și citocrom oxidaza, precum și alte procese celulare non-bioenergetice, cum ar fi metabolismul central al carbonului și biosinteza peretelui celular. S-a descoperit că acești inhibitori au efecte bactericide puternice împotriva Mtb și sunt în general capabili să elimine celulele persistente dormante. Pirazinamida (PZA) este în prezent standardul de aur în inhibarea Mtb și este o componentă majoră a regimului de primă linie cu antibiotice utilizat pentru tratamentul TBC, iar mai multe studii clinice demonstrând că aceasta reduce durata tratamentului cu 3 luni. Aceasta se datorează în mare măsură faptului că PZA este activă împotriva Mtb cu creștere lentă și celor cu stare metabolică latentă (dormante). Mecanismul de acțiune al PZA este incomplet definitivat. Pirazinamida penetrează în celulă prin difuzie, unde este activată de pirazinamidaza ci-

toplasmatică în metabolitul bioactiv, acidul pirazinoic (POA), care acționează ca: un protonofor care duce la acidifierea citoplasmei bacteriene; un inhibitor al sintazei I al acidului gras; un inhibitor al translației; un inhibitor al biosintezei coenzimei A. Multiple dovezi sugerează că mecanismul principal de acțiune poate fi prin întreruperea biosintezei CoA prin inhibarea *panD* și perturbarea ulterioară a reacțiilor dependente de CoA în metabolismul central al carbonului. S-a constatat că PZA și metabolitul POA scad nivelul PMF și ATP în Mtb, având acțiune sinergică cu inhibitorii bioenergetici [Hasenoehl 2020,]. [Hasenoehl 2020,2021 Lamont 2020].

Alți inhibitori ai Mtb cu mecanism larg sunt nitroimidazolii, pretomanida și delamanida, care inhibă biosinteza acidului micolic, componentă majoră a peretelui celular al Mtb. Pretomanida și delamanida necesită să fie activate de enzima nitroreductază - F420, care produce metaboliți des-nitro. Conversia pretomanidei în acești metaboliți duce la producerea de NO, care are efect toxic asupra citocrom oxidazelor și se presupune a fi responsabil pentru distrugerea anerobă a Mtb. Pretomanida determină o scădere rapidă a nivelului de ATP intracelular, creșterea raportului menachinol/menachinone și expresia crescută a citocromului bd oxidază și nitrat reductazei (narGHIJ) cu inhibarea Mtb care se replică și dormante. Rezultatele studiului clinic de fază III a demonstrat o rată de scutec de 90% la tratarea pacienților infectați cu TB-XDR sau TB-MDR de asocierea pretomanidă, bedacvilină și linezolid. Delamanida este aprobată în prezent pentru tratamentul pacienților cu TB-XDR și TB-MDR, demonstrând îmbunătățirea semnificativă a ratelor de conversie a culturii când este combinată cu regimurile de medicamente de fond pentru tratamentul TB-MDR [Conrade 2020,Hasenoehl 2020,2021].

Concluzii. În baza literaturii analizate se poate concluziona că inhibitorii bioenergetici existenți și cei care sunt la diferite etape de studiu, ținesc următoarele structuri din cadrul LTE al Mtb (fig.3): F1FO-ATP-sintaza (bedaquilina); citocrom oxidază (Q203, Lansoprazol, Aurachina D, Microcina J25, ND-011992); NADH dehidrogenaza (fenotiazinele – clorpromazina, tioridazina, riminofenazinele – clofazimina, TBI-166); succinat dehidrogenaza (3-nitropropionat, siccanina); biosinteza menachinonei (SQ109, DG70, Ro 48-8071, lisocina E); preparate cu mecanisme extinse de acțiune (pirazinamida, pretomanida, delamanida).

Progresele în elaborarea unor preparate antituberculoase noi, inclusiv prin influențarea proceselor metabolice, îndeosebi la Mtb în stare latent (dormantă), ar ameliora semnificativ povara globală a TBC și ar reduce dezvoltarea rezistenței la medicamente. Intro-

Figura 2. Reprezentarea schematică a lanțului transportator de electroni al Mtb și inhibitorii acestuia [Hasenoehrl 2021].

ducerea BDQ a deschis o nouă eră pentru dezvoltarea de noi medicamente, în special pentru inhibitorii bioenergetici, care ar putea fi capabili să ocolească factorii sociali, politici și economici imobilizați pentru a vindeca TBC. Descoperirea inhibitorilor care vizează aproape fiecare enzimă din lanțul respirator au arătat în studiile clinice rezultate promițătoare. Capacitatea aproape universală a inhibitorilor bioenergetici de a inactiva celulele cu stare metabolică latentă oferă perspective pentru dezvoltarea de noi regimuri pentru a scurta termenele de tratament și a vindeca infecțiile TB-MDR. Această perspectivă este susținută de eficacitatea dovedită a multora dintre acești inhibitori bioenergetici în regimuri combinate cu preparatele de primă linie și alți inhibitori care vizează lanțul respirator. Dezvoltarea de noi regimuri combinate antituberculoase care cresc eficacitatea și reduc termenele de tratament au capacitatea de a îmbunătăți complianța pacientului, inclusiv limitarea efectelor secundare, reducerea costurilor și capacitatea practică de a finaliza tratamentul. Cu toate acestea, mai sunt necesare investigații pentru a înțelege exact întreruperile biochimice și mecanismele morții celulare cauzate de inhibitorii bioenergetici.

Bibliografia.

1. Foo CS-Y., Pethe K., Lupien A. *Oxidative Phosphorylation-an Update on a New, Essential Target Space for Drug Discovery in Mycobacterium tuberculosis*. Applied Sciences. 2020; 10(7):2339. doi.org/10.3390/app10072339.
2. Hasenoehrl E.J., Wiggins T.J., Berney M. *Bioenergetic Inhibitors: Antibiotic Efficacy and Mechanisms of Action in Mycobacterium tuberculosis*. Front Cell Infect Microbiol. 2021 Jan 11;10:611683. doi: 10.3389/fcimb.2020.611683.
3. Beites T., O'Brien K., Tiwari D. et al. *Plasticity of the Mycobacterium tuberculosis respiratory chain and*

its impact on tuberculosis drug development. Nat Commun 2019; 10, 4970. doi.org/10.1038/s41467-019-12956-2

4. Vilchère C., Weinrick B., Leung L. W., Jacobs W. R. *Plasticity of Mycobacterium tuberculosis NADH dehydrogenases and their role in virulence*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2018; 115(7), 1599-1604. doi.org/10.1073/pnas.1721545115.

5. Xu J., Wang B., Fu L. et al. *In Vitro and In Vivo Activities of the Riminophenazine TBI-166 against Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother. 2019;63(5):e02155-18. Published 2019 Apr 25. doi:10.1128/AAC.02155-18.

6. Lu Y., Zheng M., Wang B. et al. *Clofazimine analogs with efficacy against experimental tuberculosis and reduced potential for accumulation*. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(11):5185-5193. doi:10.1128/AAC.00699-11

7. Hartman T., Weinrick B., Vilchère C. et al. *Succinate dehydrogenase is the regulator of respiration in Mycobacterium tuberculosis*. PLoS Pathog. 2014 Nov 20; 10(11): e1004510. doi: 10.1371/journal.ppat.1004510

8. Eoh H., Rhee K.Y. *Multifunctional essentiality of succinate metabolism in adaptation to hypoxia in Mycobacterium tuberculosis*. PNAS April 16, 2013 110 (16) 6554-6559; doi.org/10.1073/pnas.1219375110.

9. Dhiman R.K., Pujari V., Kincaid J.M. et al. *Characterization of MenA (isoprenyl diphosphate:1,4-dihydroxy-2-naphthoate isoprenyltransferase) from Mycobacterium tuberculosis*. PLoS One. 2019;14(4):e0214958. doi:10.1371/journal.pone.0214958.

10. Hasenoehrl E.J., Wiggins T.J., Berney M. *Bioenergetic Inhibitors: Antibiotic Efficacy and Mechanisms of Action in Mycobacterium tuberculosis*. Front Cell Infect Microbiol. 2021 Jan 11; 10:611683. doi: 10.3389/fcimb.2020.611683.

11. Sukheja P., Kumar P., Mittal N. et al. *A Novel Small-Molecule Inhibitor of the Mycobacterium tuberculosis Dimethylmenaquinone Methyltransferase MenG Is*

Bactericidal to Both Growing and Nutritionally Deprived Persister. Cells. mBio. 2017 Feb 14;8(1):e02022-16. doi: 10.1128/mBio.02022-16.

12. Lu X., Zhou R., Sharma I. et al. *Stable analogues of OSB-AMP: potent inhibitors of MenE, the o-succinylbenzoate-CoA synthetase from bacterial menaquinone biosynthesis*. Chembiochem. 2012 Jan 2;13(1):129-36. doi: 10.1002/cbic.201100585.

13. Hamamoto H., Urai M., Ishii K. et al. *Lysocin E is a new antibiotic that targets menaquinone in the bacterial membrane*. Nat Chem Biol. 2015 Feb;11(2):127-33. doi: 10.1038/nchembio.1710.

14. Cook G.M., Hards K., Vilchèze C. et al. *Energetics of Respiration and Oxidative Phosphorylation in Mycobacteria*. Microbiol Spectr. 2014;2(3): doi:10.1128/microbiolspec.MGM2-0015-2013.

15. Sindhu T., Debnath P. *Cytochrome bcl-aa3 oxidase supercomplex as emerging and potential drug target against tuberculosis*. Curr Mol Pharmacol. 2021 Sep 28. doi: 10.2174/1874467214666210928152512.

16. Iqbal I.K., Bajeli S., Akela A.K. et al. *Bioenergetics of Mycobacterium: An Emerging Landscape for Drug Discovery*. Pathogens. 2018 Feb 23;7(1):24. doi: 10.3390/pathogens7010024.

17. Lamont E.A., Dillon N.A., Baughn A.D. *The Bewildering Antitubercular Action of Pyrazinamide*. Microbiol Mol Biol Rev. 2020 Mar 4;84(2):e00070-19. doi: 10.1128/MMBR.00070-19.

18. Conradie F., Diacon A.H., Ngubane N. et al. *Treatment of Highly Drug-Resistant Pulmonary Tuberculosis*. N. Engl. J. Med. 2020 Mar 5;382(10):893-902. doi: 10.1056/NEJMoa1901814.

19. Global tuberculosis report 202. Geneva: World Health Organization; 202. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

20. Global tuberculosis report 2021. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

20. Bald D., Villellas C., Lu P., Koul A. *Targeting Energy Metabolism in Mycobacterium tuberculosis, a New Paradigm in Antimycobacterial Drug Discovery*. mBio. 2017 Apr 11;8(2):e00272-17. doi: 10.1128/mBio.00272-17.

21. Cook G.M., Hards K., Dunn E. et al. *Oxidative Phosphorylation as a Target Space for Tuberculosis: Success, Caution, and Future Directions*. Microbiol Spectr. 2017 Jun; 5(3):10.1128/microbiolspec.TBTB2-0014-2016. doi: 10.1128/microbiolspec.

22. Pethe K., Bifani P., Jang J. *Discovery of Q203, a potent clinical candidate for the treatment of tuberculosis*. Nat Med. 2013 Sep;19(9):1157-60. doi: 10.1038/nm.3262.

23. Rybníček J., Vocat A., Sala C. et al. *Lansoprazole is an antituberculous prodrug targeting cytochrome bcl*. Nat Commun. 2015 Jul 9;6:7659. doi: 10.1038/ncomms8659.

24. Yates T.A., Tomlinson L.A., Bhaskaran K. et al. *Lansoprazole use and tuberculosis incidence in the United Kingdom Clinical Practice Research Datalink: A population based cohort*. PLoS Med. 2017 Nov 21; 14(11):e1002457. doi: 10.1371/journal.pmed.1002457.

25. Meunier B., Madgwick S.A., Reil E. et al. *New inhibitors of the quinol oxidation sites of bacterial cytochromes bo and bd*. Biochemistry. 1995 34(3), 1076-1083.

26. Lee B.S., Hards K., Engelhart C.A. et al. *Dual inhibition of the terminal oxidases eradicates antibiotic-tolerant Mycobacterium tuberculosis*. EMBO Mol Med. 2021 Jan 11;13(1):e13207. doi: 10.15252/emmm.202013207.

27. Fisher R.A., Teller E. *Clinical experience with ataractic therapy in tuberculous psychiatric patients*. Dis Chest. 1959 Feb;35(2):134-9. doi: 10.1378/chest.35.2.134.

28. Machado D., Pires D., Perdigão J. et al. *Ion Channel Blockers as Antimicrobial Agents, Efflux Inhibitors, and Enhancers of Macrophage Killing Activity against Drug Resistant Mycobacterium tuberculosis*. PLoS One. 2016 Feb 26; 11(2): e0149326. doi: 10.1371/journal.pone.0149326.

29. Dutta N.K., Mazumdar K., Dastidar S.G. et al. *New patentable use of an old neuroleptic compound thioridazine to combat tuberculosis: a gene regulation perspective*. Recent Pat Antiinfect Drug Discov. 2011 May;6(2):128-38. doi: 10.2174/157489111796064597.

30. Amaral L., Viveiros M. *Thioridazine: A Non-Antibiotic Drug Highly Effective, in Combination with First Line Anti-Tuberculosis Drugs, against Any Form of Antibiotic Resistance of Mycobacterium tuberculosis Due to Its Multi-Mechanisms of Action*. Antibiotics (Basel). 2017 Jan 14;6(1):3. doi: 10.3390/antibiotics6010003.

31. Dutta N.K., Pinn M.L., Karakousis P.C. *Reduced emergence of isoniazid resistance with concurrent use of thioridazine against acute murine tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother. 2014 Jul;58(7):4048-53. doi: 10.1128/AAC.02981-14.

32. Abbate E., Vescovo M., Natiello M. et al. *Successful alternative treatment of extensively drug-resistant tuberculosis in Argentina with a combination of linezolid, moxifloxacin and thioridazine*. J Antimicrob Chemother. 2012 Feb;67(2):473-7. doi: 10.1093/jac/dkr500.

33. Mogi T., Kawakami T., Arai H. et al. *Siccanin re-discovered as a species-selective succinate dehydrogenase inhibitor*. J. Biochem. 2009 Sep;146(3):383-7. doi: 10.1093/jb/mvp085.

34. Nikonenko B.V., Protopopova M., Samala R. et al. *Drug therapy of experimental tuberculosis (TB): improved outcome by combining SQ109, a new diamine antibiotic, with existing TB drugs*. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51(4):1563-1565. doi:10.1128/AAC.01326-06.

35. Jia L., Noker P.E., Piazza G.A. et al. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of Phor21-betaCG(ala), a lytic peptide conjugate*. J Pharm Pharmacol. 2008;60(11): 1441-1448. doi:10.1211/jpp.60.11.0004.

36. Galván A.E., Chalón M.C., Ríos Colombo N.S. et al. *Microcin J25 inhibits ubiquinol oxidase activity of purified cytochrome bd-I from Escherichia coli*. Biochimie. 2019 May;160:141-147. doi: 10.1016/j.biochi.2019.02.007.

37. Kalia N.P., Hasenoehrl E.J., Ab Rahman N.B. et al. *Exploiting the synthetic lethality between terminal respiratory oxidases to kill Mycobacterium tuberculosis and clear host infection*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Jul 11;114(28):7426-7431. doi: 10.1073/pnas.1706139114.

38. Moosa A., Lamprecht D.A., Arora K. et al. *Susceptibility of Mycobacterium tuberculosis Cytochrome bd Oxidase Mutants to Compounds Targeting the Terminal Respiratory Oxidase, Cytochrome c*. Antimicrob Agents Chemother. 2017 Sep 22; 61(10): e01338-17. doi: 10.1128/AAC.01338-17.