



Rifampisin Dirençli *Mycobacterium tuberculosis* Kompleks Suşları Üzerine Benzimidazolium Tuzlarının Antimikobakteriyel Etkinliğinin Araştırılması

Yaren İNCİ¹, Suna KIZILYILDIRIM², Fatih KÖKSAL³, Muhammed Tilahun MUHAMMED⁴, Senem AKKOÇ⁵

¹Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 01380, Adana, Türkiye, ²Çukurova Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 01380, Adana, Türkiye, ³Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 01380, Adana, Türkiye, ⁴Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, 32260, Isparta, Türkiye, ⁵Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı, 32260, Isparta, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-2159-9123>, ²<https://orcid.org/0000-0002-1039-8556>, ³<https://orcid.org/0000-0003-0790-1525>

⁴<https://orcid.org/0000-0003-0050-5271>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-1260-9425>

✉: suna_ky@hotmail.com

ÖZET

Çalışmada, Sağlık Bakanlığı Adana Bölge Tüberküloz Laboratuvarı'na gönderilen klinik örneklerden izole edilen rifampisin dirençli tüberküloz suşları ile referans suş *M. tuberculosis* H37Rv üzerine benzimidazol çekirdeği içeren 3 farklı bileşiğin ((S1): 1-(N-metilftalimid)-3-benzilbenzimidazolium bromür, (S2): 1-(N-metilftalimid)-3-(4-metilbenzil) benzimidazolium bromür, (S3): 1-(N-metilftalimid)-3-(naftalen-1-ilmetil) benzimidazolium bromür) antimikobakteriyel aktivitesinin tespiti amaçlandı. Benzimidazol türevi bileşiklerinin rifampisin dirençli 35 klinik *M. tuberculosis* ve H37Rv suşlarında antimikobakteriyel aktiviteleri in vitro şartlarda BACTEC MGIT 960 sistemi kullanılarak test edildi. Ayrıca, antimikobakteriyel etkili bileşiklerin olası etkileşimleri moleküler doking ile incelendi. Çalışma sonucunda sadece S2 bileşiğinin yalnız *M. tuberculosis* H37Rv suşuna karşı antimikobakteriyel aktivite gösterdiği, rifampisin dirençli *M. tuberculosis* suşlarına karşı aktivitesinin olmadığı belirlendi. S1 ve S3 bileşiklerinin ise hem klinik hem de referans suşa karşı antimikobakteriyel aktivitesi tespit edilemedi. Moleküler doking sonuçları S2'nin InhA ile bağlandığını ve onu inhibe ederek antimikobakteriyel etkisini gösterebileceği ortaya çıkardı. Sonuç olarak S2 bileşiğinin tüberküloz tedavisinde yeni ajan olarak sunulabilir ancak daha kapsamlı çalışmaların yapılmasına da ihtiyaç duyulmaktadır.

Mikrobiyoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 08.04.2023

Kabul Tarihi : 25.08.2023

Anahtar Kelimeler

Tüberküloz
Rifampisin
Moleküler doking
Benzimidazol

Investigation of the Antimicrobial Activity of Benzimidazolium Salts on Rifampicin Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Complex Strains

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the antimicrobial activity of 3 different compounds ((S1): 1-(N-methylphthalimide)-3-benzylbenzimidazolium bromide, (S2): 1-(N-methylphthalimide)-3-(4-methylbenzyl) benzimidazolium bromide, (S3): 1-(N-methylphthalimide)-3-(naphthalen-1-ylmethyl) benzimidazolium bromide) containing benzimidazole nuclei on *M. tuberculosis* reference strain H37Rv and rifampicin resistant tuberculosis strains isolated from clinical samples sent to the Ministry of Health Adana Regional Tuberculosis Laboratory. Using the BACTEC MGIT 960 system, the antimicrobial activity of benzimidazole derivative compounds were examined in vitro against *M. tuberculosis* H37Rv and 35 clinical strains of *M. tuberculosis* that were resistant to rifampicin. Furthermore, molecular docking was used to look into the possible interactions of the antimicrobial compounds. According to the results of the study, compound S2 showed antimicrobial activity against the *M. tuberculosis* H37Rv strain but it didn't have any effect on rifampicin-resistant *M. tuberculosis* strains. Compounds S1 and S3 didn't exhibit any antimicrobial activity against both clinical and reference strains. The results of the molecular docking analysis revealed that S2 could bind to InhA and thus could exert

Microbiology

Research Article

Article History

Received : 08.04.2023

Accepted : 25.08.2023

Keywords

Tuberculosis
Rifampicin
Molecular docking
Benzimidazole

its antimycobacterial activity by inhibiting it. As a result, the S2 compound can be suggested as a new agent for the treatment of tuberculosis, however, more comprehensive studies are needed.

Atf Şekli:	İnci, Y., Kızılyıldırım, S., Köksal, F., Muhammed, MT., Akkoç S., (2023). Rifampisin Dirençli <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Kompleks Suşları Üzerine Benzimidazolyum Tuzlarının Antimikobakteriyel Etkinliğinin Araştırılması. <i>KSÜ Tarım ve Doğa Derg</i> 27(1), 114-119. https://doi.org/10.18016/ksutarimdogavi.1278595
To Cite :	İnci, Y., Kızılyıldırım, S., Köksal, F., Muhammed, MT., Akkoç S., (2023). Investigation of the Antimycobacterial Activity of Benzimidazolium Salts on Rifampicin Resistant <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Complex Strains. <i>KSU J. Agric Nat</i> 27(1), 114-119. https://doi.org/10.18016/ksutarimdogavi.1278595

GİRİŞ

Yaklaşık 30 yıllık küresel halk sağlığı çabalarına rağmen, Tüberküloz (TB), dünya çapında bulaşıcı bir patojen tarafından önde gelen ölüm nedeni olmaya devam etmektedir (WHO, 2018). *Mycobacterium tuberculosis*'ün neden olduğu TB, yılda yaklaşık 10 milyon kişiyi etkilemektedir.

TB tedavisinde ilaçların önerilen kombinasyonu, birinci basamak rifampisin, izoniazid, etambutol ve pirazinamid dahil olmak üzere 6 aylık standart bir rejimi içerir (Khan ve ark., 2021). Rifampisin, TB için standart altı aylık birinci basamak tedavi rejiminin temel ilacıdır ve 50 yılı aşkın bir süredir etkili TB tedavisinin temel taşı olmuştur (Schwöbel ve ark., 2020; Malenfant ve ark., 2021). Rifampisin dirençli TB (RD-TB), dünya çapında insan sağlığı için artan bir endişe olmuştur ve TB'nin kontrolü için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (Prasad ve ark., 2018).

İlaça dirençli TB'nin mevcut tedavisi oldukça zor ve karmaşıktır. Hasta uyumunu iyileştirmek, nüks riskini ve ilaç direnci evrimini azaltmak amacıyla daha kısa rejimleri değerlendirmek için çok fazla araştırma yapılmalıdır (Gill ve ark., 2022). Bu bağlamda dirençli TB gelişimini yavaşlatmak, dirençli varyantların bulaşmasını sınırlamak, aynı zamanda tedavi sonucunu iyileştirmek için yeni tedavi rejimlerine, ilaçlara ve teşhislere acilen ihtiyaç vardır (Gygli ve ark., 2017).

Benzimidazol çekirdeği, biyolojik aktivite çalışmalarında önemli bir yere sahiptir (Yoon ve ark., 2013). Yapılan çalışmalarda, benzimidazol iskelesinin in vitro antimikobakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu da onu yeni antimikobakteriyel ilaçlarının keşfi için umut verici bir başlangıç noktası haline getirmektedir. Yakın zamanda, benzimidazol türevlerinin TB'a karşı kullanılması ile ilgili nispeten iyi sonuçlar elde edilmiş farklı çalışmalar rapor edilmiştir (Yoon ve ark., 2013; Gong ve ark., 2014).

Bu çalışmada, 3 farklı benzimidazolyum tuzu hem klinik RD-TB suşlarına hem de duyarlı referans *M. tuberculosis* suşuna karşı in vitro şartlarda antimikobakteriyel aktivitesinin potansiyel etkinliğini belirlemek amacıyla test edilmiştir.

MATERYAL ve METOD

Çalışmada, 01.10.2021-01.06.2022 tarihleri arasında

Sağlık Bakanlığı Adana Bölge Tüberküloz Laboratuvarı'na pulmoner tüberküloz şüphesi ile gönderilen hastalara ait klinik materyallerden izole edilen ve rifampisin direnci tespit edilen 35 klinik *M. tuberculosis* suşu ile *M. tuberculosis* H37Rv referans suşuna karşı üç farklı benzimidazolyum tuzunun antimikobakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Çalışma için Çukurova Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (Karar No:55, Sayı: 114, 10.09.2021) onay alınmıştır.

Benzimidazolyum Tuzlarının Sentezi

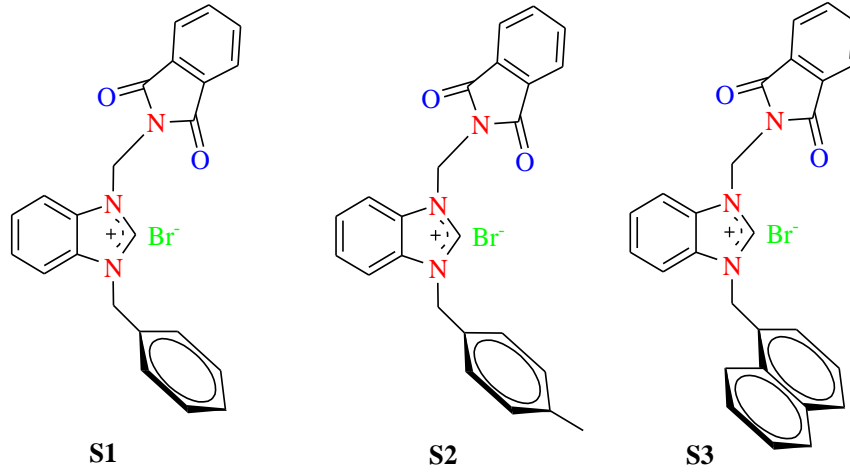
Benzimidazolyum tuzları, Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı'nda sentezlenmiştir. Benzimidazolyum tuzlarının sentezi için, 1.5 mmol oranında potasyum hidroksit, 40 ml etil alkol içindeki 1 mmol benzimidazol çözeltisine yavaş yavaş ilave edildi. Hazırlanan reaksiyon karışımı bir saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra ortama 1 mmol alkil halojenür ilave edildi ve 6 saat reflux yapıldı. Daha sonra oluşan potasyum klorür süzülerek uzaklaştırıldı. Ürün, etil alkol içinde kristallendirilerek saflaştırıldı. Sentezlenen N-alkilbenzimidazolün dimetilformamid (DMF) çözeltisine yavaş yavaş farklı bir alkil halojenür ilave edildi ve 80 °C'de 24 saat karıştırıldı. Reaksiyon bittikten sonra ortamdaki DMF vakum uygulanarak uzaklaştırıldı. Bu yöntemle, farklı benzimidazolyum tuzları sentezlendi ve ürünler etil alkol-dietil eter karışımında kristallendirilerek saflaştırıldı (Akkoç ve ark., 2016a; Akkoç ve ark., 2016b). Bu çalışma için hazırlanan benzimidazolyum tuzlarının açık yapıları aşağıda verilmiştir (Şekil 1).

Benzimidazol türevi bileşiklerin antimikobakteriyel aktivitesinin incelenmesi

Çalışmada kullanılan her bir benzimidazol türevi bileşik dimetilsülfoksit içinde çözündürülerek stok solüsyonları hazırlandı. MGIT tüplerine 800 µl OADC (MGIT Growth Supplement, BD, ABD) ve 500 µl bakteri inoküle edildi. Üreme kontrol (GC) tüpü 1:100 oranında dilüe edilmiş bakteri inokülümü hazırlandı. Test edilen ilaç konsantrasyonları, 0.25 µg/ml, 0.5 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml ve 4 µg/ml olmak üzere 5 farklı dilüsyonda değerlendirildi. Minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) değerleri, her bir örnek için benzimidazol türevi içermeyen, sadece 1.0 µg/ml

rifampisin içeren GC kontrol tüpleri ile kıyaslanarak sonuçlar BD EpiCenter veritabanında 18-24 saatte bir

kontrol edilerek analiz edildi (Juárez ve ark., 2020).



Şekil 1. Sentezlenen benzimidazolium tuzlarının açık yapıları
Figure 1. Open structures of synthesized benzimidazolium salts

(S1): 1-(N-metilftalimid)-3-benzil benzimidazolium bromür

1-Benzilbenzimidazol (1.2 g, 1 mmol)'un DMF deki çözeltisine N-(bromometil)ftalimid (1.29 g, 1 mmol) ilave edildi ve reaksiyon 24 saat 80°C de sürdürülerek bileşik S1 hazırlandı (Akkoç ve ark., 2016).

(S2): 1-(N-metilftalimid)-3-(4-metilbenzil)benzimidazolium bromür

2-((1H-benzo[d]imidazol-1-il)metil)izoindolin-1,3-dion (1 g, 1 mmol)'un DMF deki çözeltisine 4-metilbenzil bromür (0.558 g, 1 mmol) ilave edildi ve reaksiyon 24 saat 80°C de sürdürülerek bileşik S2 hazırlandı (Akkoç ve ark., 2016b).

(S3): 1-(N-metilftalimid)-3-(naftalen-1-ilmetil)benzimidazolium bromür

1-(Naftalen-1-ilmetil)benzimidazol (1 g, 1 mmol)'un DMF deki çözeltisine N-(bromometil)ftalimid (0.929 g, 1 mmol) ilave edildi ve reaksiyon 24 saat 80°C de sürdürülerek bileşik S3 hazırlandı (Akkoç ve ark., 2016b)

Moleküler Doking

TB'a karşı ilaç tasarlanmasında önemli bir hedef olan InhA enzimin üç boyutlu (3B) yapısı protein veri bankası (PDB)'den elde edildi. Kullanılan protein yapısı içerisinde etkili bir ligant içermektedir (PDB kodu: 6R9W) (Kamsri ve ark., 2020). Moleküler doking işlemi AutoDock Vina kullanılarak yapıldı (Trott ve ark., 2010). Araştırılan bileşikler ise ChemDraw programı ile çizildi (Cousins ve ark., 2022).

Doking işlemi başlamadan önce grid kutusu bağlı ligandı kapsayacak şekilde belirlendi. Sonra protein yapısı içindeki su silinerek, polar hidrojen eklenerek ve Gasteiger yükü belirlenerek işleme hazırlandı. Benzer şekilde bileşikler polar hidrojen eklenerek ve Gasteiger yükü eklenerek işleme hazırlandı. Sonra ilgili parametreleri kullanılarak AutoDock Vina komutu çalıştırıldı. Doking sonuçları Biovia Discovery Studio programı kullanılarak görüntülendi ve analiz edildi (Khawbung ve ark., 2021).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmada, rifampisin dirençli *M. tuberculosis* klinik suşlarına karşı S1, S2 ve S3 bileşiklerinin antimikobakteriyel aktivitesi tespit edilmedi. Buna karşılık *M. tuberculosis* H37Rv referans suşunda S2 bileşiğinin (S2:1-(N-ftalimidometil)-3-(4-metilbenzil)-1H-benzo[d]imidazol-3-yum bromür), 2 µg/ml

konsantrasyonda antimikobakteriyel etki gösterdiği tespit edildi. S1 ve S3 bileşikleri ise *M. tuberculosis* H37Rv referans suşunda herhangi bir antimikobakteriyel aktivite göstermedi.

Günümüzde TB tedavisine yönelik yeni ajanların geliştirilmesi için çalışmalar yapılmakta ve giderek artmaktadır. Son zamanlarda, antimikobakteriyel aktivite çalışmaları için farklı fonksiyonel gruplara sahip yeni benzimidazol bileşikleri sentezlenmekte ve etkinliği araştırılmaktadır. Çalışmamızda olduğu gibi benzimidazol halkası içeren yeni bileşiklerin antimikobakteriyel etkinliği literatürlerde de mevcuttur. Çalışmalarda antimikobakteriyel aktiviteleri tespit edilen bileşiklerin 1, 2, 5 ve 6 pozisyonunda değişen bir dizi ile ikame edilen (halojenler, nitro, amino, metil gibi fonksiyonel gruplardan, triflorometil, hidroksil, alkoksi, sülfonil veya N-sülfonamid süstitüe edilmiş aril/heteroaril süstitüentleri gibi) umut verici antimikobakteriyel adaylar olduğu bildirilmiştir (Keri ve ark., 2016). Çalışmamızda ise antimikobakteriyel aktivite gösteren S2 bileşiği 4-metilbenzil grubu içermektedir.

Sangani ve arkadaşları, kinolin ve metil grubuna eklenen eter bağlantılı aril halkasında flor grubuna sahip benzimidazol bileşiklerinin *M. tuberculosis* H37Rv'ye karşı daha yüksek aktivite sergilediğini tespit etmişlerdir (Sangan ve ark., 2013). Farklı

fonksiyonel gruba sahip (E)-N'-(4-ariloksibenziliden)-1H-benzimidazol-2-karbohidrazid türevlerinin *M. tuberculosis* H37Rv suşuna karşı MIC değerlerinin 1.5-25 µg/mL konsantrasyonlarında iyi bir antimikobakteriyel aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir (Siddiki ve ark., 2014). Malasa ve arkadaşları yeni benzimidazol-2-il kinazolin türevlerini, umut verici antimikrobiyal ajanlar olarak tanımlamışlardır (Malasala ve ark., 2021). *M. tuberculosis* H37Rv'ye karşı 2,6-diarilpiperidin-4-on benzimidazol türevlerinin, standart rifampisin ilacına kıyasla %200 antimikobakteriyel aktivite sergilediğini tespit etmişlerdir (Aridoss ve ark., 2008). *M. tuberculosis* H37Rv suşu ve çoklu ilaca dirençli TB klinik suşlara karşı benzoimidazol-5-karbohidrazid türevlerinin potansiyel in vitro antimikobakteriyel aktiviteleri araştırılmış ve bileşiklerin orta düzeyde

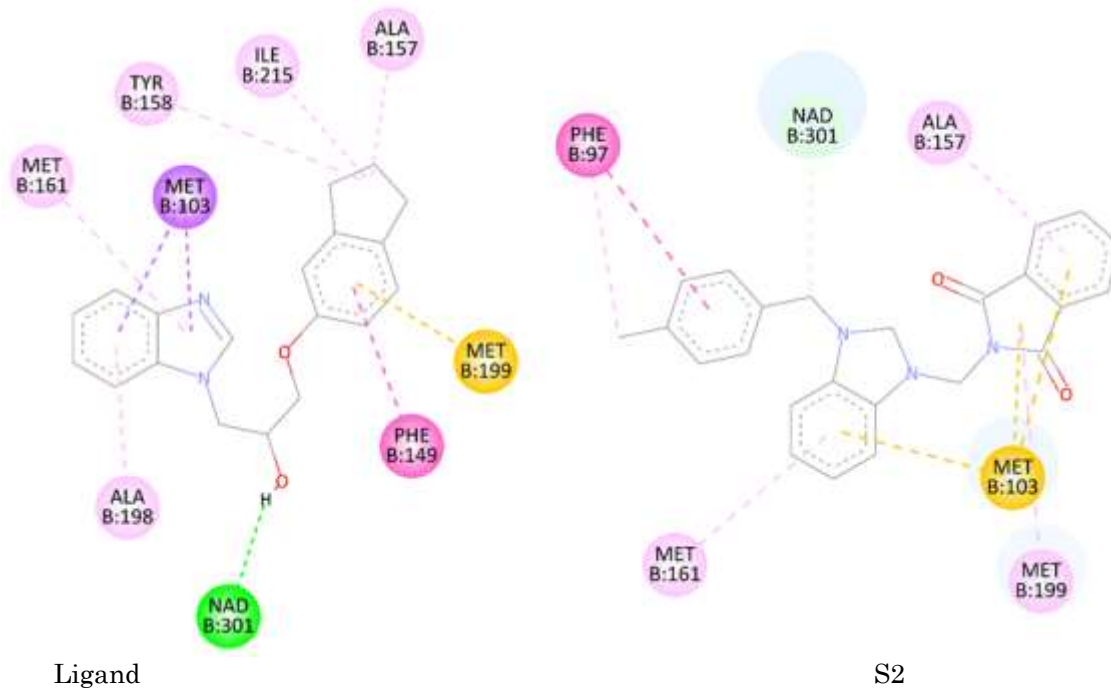
bir antimikobakteriyel aktivite sergilediğini bildirmişlerdir (Camacho ve ark., 2011).

Antimikobakteriyel etkinliği bulunan S2 bileşiğinin, InhA enzimi üzerindeki olası etkisini aydınlatmak amacıyla moleküler doking yapılmıştır. Moleküler doking işleminde kullanılan PDB yapıda bağlı bulunan ligandın InhA enzimiyle olan bağlanma noktaları ve bağlanma enerjisi doking işlemi valide etmek için belirlenmiştir. Ligandın InhA enzimiyle etkileşimi iyi olması ile birlikte elde edilen etkileşim noktalar bundan önce yapılmış deneysel çalışmalarla uyumlu olduğu ortaya çıkmıştır. Moleküler doking işlemi sonucunda bağlı ligandın NAD301, Met103, Phe149, Ala157, Tyr158, Met161, Ala198, Met199 ve Ile215 noktalarında InhA ile bağlandığı ortaya çıkmıştır (Şekil 2, Çizelge 1).

Çizelge 1. Standart ligandın ve S2 kodlu bileşiğin InhA (6R9W) ile etkileşim noktaları

Table 1 The interaction points of the standard ligand and the S2-encoded compound with InhA (6R9W)

Bileşikler	Bağlanma Enerji (kcal/mol)	Hidrojen Bağı	Diğer Etkileşim Noktalar				
			Karbon-hidrojen bağı	Pi-sigma	Pi-kükürt	Pi-pi	Alkil/Pi-alkil
Ligant	8.5	NAD301	-	Met103 (2)	Met199	Phe149	Ala157, Tyr158, Met161, Ala198, Ile215
S2	7.5	-	NAD301	-	Met103 (3)	Phe97	Phe97, Ala157, Met161, Met199



Şekil 2. Standart ligandın ve S2 kodlu bileşiğin InhA (6R9W) ile etkileşimlerin 2 boyutlu gösterimi

Figure 2. 2D representation of the interactions of the standard ligand and the S2-encoded compound with InhA (6R9W).

Standart ligandı içeren InhA enzimin X-ışını kristalografisi ile belirlendiğinde Met103, Phe149,

Ala157, Tyr158, Ala198, Met199 ve Ile215 noktalarında bir bağlanma olduğu tespit edilmiştir (Kamsri ve ark., 2020). X-ışını kristalografisi çalışmasında belirlenen yapının içerisindeki bileşiğin InhA ile NAD301 ve Met 161 dâhil burada tespit edilen bağlanma noktalarının çoğunluğuyla bağlandığı açıklanmıştır (Rozwarski ve ark., 1999). Farklı bir çalışmada, birkaç ortak bağlanma noktalarının belirlenmesi ile birlikte NAD ile hidrojen bağı etkileşimi tespit edilmiştir (Sullivan ve ark., 2006). Deneysel bir çalışmada triklosan'ın InhA ile burada belirlenen noktaların çoğunluğuyla etkileşimi olduğu ve NAD ile de hidrojen bağı oluşturduğu açıklanmıştır (Kuo ve ar., 2003) ve yapılan diğer çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Manjunatha ve ark., 2015). Bir inhibitörün InhA enzimiyle Phe97 amino asidiyle hidrofobik bir etkileşiminin olduğu yapılan deneysel çalışmada gözlemlenmiştir (Martínez-Hoyos ve ark., 2016). Bu modelleme çalışmasında belirlenen bağlanma noktalarının hepsi daha önceki yapılan deneysel çalışmalarda da tespit edilmiştir. Dolayısıyla moleküler doking çalışmanın sonuçları literatürdeki sonuçlara uygun oldukları ortaya çıkmıştır. Ayrıca, S2'nin etkileşimleri standart ligandın InhA ile olan etkileşimlerine benzer olduğu görülmüştür. Bu bağlamda NAD301, Met103, Ala157, Met161 ve Met199 noktalarındaki etkileşimlerin iki bileşikte de görülmüştür. Bununla birlikte S2'nin standart liganda göre daha az etkileştiği ortaya çıkmıştır. S2'nin bağlanma enerjisi standart liganttan daha yüksek olduğundan dolayı InhA enzimine bağlanma afinitesinin daha az olması beklenir (Tablo 1). Kısacası, moleküler doking çalışma sonuçları S2'nin InhA enzimiyle bağlanabildiği görülmüştür. Dolayısıyla da antimikobakteriyel etkisini InhA enzimini inhibe ederek gösterebildiği ortaya çıkmıştır.

SONUÇ ve ÖNERİLER

TB, küresel halk sağlığını tehdit eden salgın hastalıklardan biridir. TB tedavisi, *M. tuberculosis* in ilaca dirençli varyantlarının ortaya çıkmasıyla daha zor hale gelmiştir (Khawbung ve ark., 2021). İlaça dirençli TB vakalarının arttığı bildirilmekte ve TB tedavisine yönelik yeni ajanların geliştirilmesi gerekmektedir.

Çalışmada olduğu gibi diğer yapılan çalışmalarda da yapısal olarak ortak basit benzimidazol halkasına sahip, fonksiyonel grupları farklı türevlerdeki bileşiklerin TB tedavisinde etkili olabileceği açıkça gösterilmiştir. Ancak bu bileşiklerin yeni TB ajanı olarak sunulması için makrofaj içi basillere karşı etkinliğinin araştırılması ve kapsamlı in vivo çalışmaların yapılmasına da ihtiyaç duyulmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TYL-2021-14313), tarafından

desteklenmiştir. Çukurova Üniversitesi'ne desteğinden dolayı teşekkür ederiz.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Akkoç, S., Gök, Y., İlhan, İ.Ö., & Kayser, V. (2016a). N-Methylphthalimide substituted benzimidazolium salts and PEPPSI Pd-NHC complexes: synthesis, characterization and catalytic activity in carbon-carbon bond forming reactions. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* 12, 81-88.
- Akkoç, S., Gök, Y., İlhan, İ.Ö., & Kayser, V. (2016b). In situ generation of efficient palladium N-heterocyclic carbene catalysts using benzimidazolium salts for the Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction. *Current Organic Synthesis* 13(5), 761-766.
- Aridoss, G., Amirthaganesan, S., Kumar, N.A., Kim, J.T., Lim, K.T., Kabilan, S.,... & Jeong, Y.T. (2008). A facile synthesis, antibacterial, and antitubercular studies of some piperidin-4-one and tetrahydropyridine derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 18, 6542-8.
- Camacho, J., Barazarte, A., Gamboa, N., Rodrigues, J., Rojas, R., Vaisberg, A.,... & Charris, J. (2011). Synthesis and biological evaluation of benzimidazole-5-carbohydrazide derivatives as antimalarial, cytotoxic and antitubercular agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 19, 2023-9.
- Cousins, K.R. (2011). Computer review of ChemDraw ultra 12.0. *Journal of the American Chemical Society* 133, 8388.
- Gill, C.M., Dolan, L., Piggott, L.M., & McLaughlin, A.M. (2022). New developments in tuberculosis diagnosis and treatment. *Breathe (Sheff)* 18(1), 210149.
- Gong, Y., Karakaya, S.S., Guo, X., Zhenga, P., Gold, B., Ma, Y.,... & Liu, G. (2014). Benzimidazole-based compounds kill *M. tuberculosis*. *European Journal of Medicinal Chemistry* 75, 336-353.
- Gygli, S.M., Borrell, S., Trauner, A., & Gagneux, S. (2017). Antimicrobial resistance in *M. tuberculosis*: mechanistic and evolutionary perspectives. *FEMS Microbiology Reviews* 41(3), 354-373.
- Juárez, R.J., Chávez, W.C., Ramírez, N.J., Ramírez, G.I.C., González, I.U., Mejía, G.M.,... & García-Pérez, B.E. (2020). Synthesis and Antimycobacterial Activity of 2,5-Disubstituted and 1,2,5-Trisubstituted Benzimidazoles. *Frontiers in Chemistry* 8, 433.

- Kamsri, P., Hanwarinroj, C., Phusi, N., Pornprom, T., Chayajarus, K., Punkvang, A.,... & Pungpo, P. (2020). Discovery of new and potent inha inhibitors as antituberculosis Agents: Structure-based virtual screening validated by biological assays and X-ray Crystallography. *Journal of Chemical Information and Modeling* 60(1), 226-234.
- Keri, R.S., Rajappa, C.K., Patil, S.A., & Nagaraja, B.M. (2016). Benzimidazole-core as an antimycobacterial agent. *Pharmacological Reports* 68(6), 1254-1265.
- Khan, A.S., Phelan, J.E., Khan, M.T., Ali, S., Qasim, M., Napier, G.,... & Khan, T.A. (2021). Characterization of rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Scientific Reports* 11, 14194.
- Khawbung, J.L., Nath, D., & Chakraborty, S. (2021). Drug resistant Tuberculosis: a review. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases* 74, 101574.
- Kuo, M.R., Morbidoni, H.R., Alland, D., Sneddon, S.F., Gourlie, B.B., Staveski, M.M.,... & Fidock, D.A. (2003). Targeting tuberculosis and malaria through inhibition of enoyl reductase: Compound activity and structural data. *The Journal of Biological Chemistry* 278, 20851-9.
- Malasala, S., Ahmad, N., Akunuri, R., Shukla, M., Kaul, G., Dasgupta, A.,... & Nanduri, S. (2021). Synthesis and evaluation of new quinazoline-benzimidazole hybrids as potent anti-microbial agents against multidrug resistant *Staphylococcus aureus* and *M. tuberculosis*. *European Journal of Medicinal Chemistry* 212, 112996.
- Malenfant, J.H., & Brewer, T.F. (2021). Rifampicin mono-resistant tuberculosis-a review of an uncommon but growing challenge for global tuberculosis control. *Open Forum Infectious Diseases* 8(2), ofab018.
- Manjunatha, U.H., Rao, S.P.S., Reddy, R.R., Noble, C.G., Camacho, L.R., Tan, B.H.,... & Diagana, T.T. (2015). Direct inhibitors of InhA active against *M. tuberculosis*. *Science Translational Medicine* 7(269), 269ra3.
- Martínez-Hoyos, M., Perez-Herran, E., Gulten, G., Encinas, L., Álvarez-Gómez, D., Alvarez, E.,... & Mendoza-Losana, A. (2016). Antitubercular drugs for an old target: GSK693 as a promising InhA direct inhibitor. *EBioMedicine* 8, 291.
- Muhammed, M.T., Kuyucuklu, G., Kaynak-Onurdag, F., Aki-Yalcin, E. (2022). Synthesis, antimicrobial activity, and molecular modeling studies of some benzoxazole derivatives. *Letters in Drug Design & Discovery* 19, 757-768.
- Prasad, R., Gupta, N., & Banka, A. (2018). Multidrug-resistant tuberculosis/rifampicin-resistant tuberculosis: Principles of management. *Lung India* 35(1), 78-81.
- Rozwarski, D.A., Vilchèze, C., Sugantino, M., Bittman, R., Sacchettini, J.C. (1999). Crystal structure of the *M. tuberculosis* enoyl-ACP reductase, InhA, in complex with NAD⁺ and a C16 fatty acyl substrate. *The Journal of Biological Chemistry* 274, 15582-15589.
- Sangani, C.B., Jardosh, H.H., Patel, M.P., Patel, R.G. (2013). Microwave-assisted synthesis of b-aryloxyquinoline and their antimicrobial and antituberculosis activities. *Medicinal Chemistry Research* 22, 3035-47.
- Schwöebel, V., Trebucq, A., Kashongwe, Z., Bakayoko, A.S., Kuaban, C., Noeske, J.,... & Rieder, H.L. (2020). Outcomes of a nine-month regimen for rifampicin-resistant tuberculosis up to 24 months after treatment completion in nine African countries. *EClinical Medicine* 20, 100268.
- Siddiki, A.A., Bairwa, V.K., Telveka, V.N. (2014). Synthesis and biological evaluation of novel N' (4-aryloxybenzylidene)-1H-benzimidazole-2-carbohydrazide derivatives as anti-tubercular agents. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 17(7), 630-8.
- Sullivan, T.J., Truglio, J.J., Boyne, M.E., Novichenok, P., Zhang, X., Stratton, C.F.,... & Tonge, P.J. (2006). High affinity InhA inhibitors with activity against drug-resistant strains of *M. tuberculosis*. *ACS Chemical Biology* 1, 43-53.
- Trott, O., & Olson, A. (2010). Autodock vina: improving the speed and accuracy of docking. *Journal of Computational Chemistry* 3, 455-461.
- World Health Organization. (2018). Global Tuberculosis Report 2018. Geneva: World Health Organization (WHO). Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565646>. Erişim tarihi: 02 Ocak 2023.
- Yoon, Y.K., Ali, M.A., Choon, T.S., Ismail, R., Wei, A.C., Kum, R.S.,... & Beevi, F. (2013). Antituberculosis: Synthesis and antimycobacterial activity of novel benzimidazole derivatives. *BioMed Research International* Article ID 926309. <https://doi.org/10.1155/2013/926309>.