

POTENCIAIS ALVOS MOLECULARES PARA O DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FÁRMACOS ANTITUBERCULOSE

Guilherme Felipe dos Santos Fernandes^{a,b}, Chung Man Chin^b e Jean Leandro dos Santos^{a,b,*}

^aInstituto de Química, Universidade Estadual Paulista, 14800-060 Araraquara – SP, Brasil

^bFaculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, 14800-903 Araraquara – SP, Brasil

Recebido em 12/09/2016; aceito em 28/11/2016; publicado na web em 10/02/2017

POTENTIAL MOLECULAR TARGETS FOR ANTITUBERCULOSIS DRUG DISCOVERY. Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by mycobacteria from the *Mycobacterium* genus, mainly by *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). The World Health Organization (WHO) aims to reduce the number of TB cases worldwide in the coming years. Nevertheless, the increasing number of multidrug-resistant (MDR-TB) and extensive-drug resistance (XDR-TB) strains, and the ineffectiveness of the current treatment in latent tuberculosis are challenges to be overcome. In this review, we will demonstrate the recent advances in the tuberculosis drug discovery, focusing the research of new molecular targets in the *Mycobacterium tuberculosis*. Among the promising targets described herein, we highlight those, which act in different pathways in the mycobacteria, such as energy metabolism, cell wall biosynthesis, DNA synthesis, iron metabolism and transport through membranes. Furthermore, bioactive compounds discovered using phenotypic assays screening and validated through genetic approaches are also presented.

Keywords: medicinal chemistry; tuberculosis; *Mycobacterium tuberculosis*; molecular targets; new drugs.

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa causada por micobactérias do complexo *Mycobacterium*, no entanto, a espécie responsável pelo maior número de casos de morbidade e mortalidade é o *Mycobacterium tuberculosis* (MTB).¹

Ocupando o ranking mundial como a principal causa de mortes causadas por doenças infecciosas, nos últimos anos a tuberculose ultrapassou, em número de casos, a infecção causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV).^{2,3} O último levantamento realizado em 2015 pela Organização Mundial da Saúde (OMS) apontou 9.6 milhões de novos casos no mundo e 1.5 milhões de mortes causadas pela doença.³

Somado a esses dados, o surgimento e aumento de cepas de *M. tuberculosis* multirresistente aos fármacos (MDR-TB) e extensivamente resistente aos fármacos (XDR-TB) vêm alarmando as autoridades de todo o mundo. Essas formas de tuberculose apresentam baixas taxas de cura e maiores taxas de mortalidade devido às dificuldades de tratamento.⁴ Além disso, já foram relatados na clínica casos de tuberculose totalmente resistente aos fármacos (TDR-TB).^{5,6}

Ao longo dos últimos anos, é possível constatar algumas evoluções no desenvolvimento de compostos candidatos a fármacos que possam atuar contra a TB.⁷ Após um intervalo de mais de 50 anos sem novos medicamentos para o tratamento da TB, a bedaquilina foi aprovada em 2012 pela agência norte-americana U.S. Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento de MDR-TB. Atualmente, diversos candidatos a fármacos estão em estudos clínicos,⁸⁻¹² como por exemplo Q203¹³ (1) (Fase 1), sutezolida¹⁴ (Fase 2) (2), delamanida¹⁵ (Fase 3) (3) e pretomanida¹⁶ (Fase 3) (4) (Figura 1).

Apesar dos recentes avanços,^{17,18} infelizmente já foram relatadas cepas resistentes a estas novas moléculas, devido ao fato das bactérias estarem em constante evolução,¹⁹⁻²¹ reforçando a urgente necessidade do desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da tuberculose.² Todavia, após a bedaquilina houve um aumento notável no número de artigos reportando compostos com potente atividade

antituberculose.²²⁻²⁸ Diversos núcleos heterocíclicos e subunidades estruturais já foram relatados como grupamentos farmacofóricos com potente atividade antimicobacteriana, como por exemplo derivados furoxânicos,^{27,29} nitroimidazólicos,³⁰ ftalimídicos,³¹ cumarínicos,³² tiofênicos,³³ fluoroquinolônicos,³⁴ quinolínicos,^{35,36} *N*-acilhidrazônicos,³⁷ quinoxalínicos³⁸ e fluorados.³⁹

Atualmente, diversos métodos e estratégias são utilizados para o desenvolvimento de novos fármacos contra a TB, como por exemplo: 1) abordagens genéticas para identificação de novos alvos; 2) ensaios de triagem em larga escala utilizando a micobactéria como plataforma; 3) ferramentas de biologia estrutural e triagem virtual e; 4) modificações moleculares em fármacos existentes. Os métodos envolvendo o planejamento baseado no alvo e as abordagens genéticas para identificação de novos alvos na micobactéria vêm ganhando destaque nos últimos anos.^{40,41}

Desde que o genoma do MTB foi sequenciado em 1998, diversas estratégias visando a identificação de potenciais alvos farmacológicos vem sendo exploradas. A técnica de nocaute de genes é um exemplo dos diversos métodos utilizados para caracterizar alvos potenciais tanto *in vitro* como *in vivo*.⁴²

Após o ano de 1998, os métodos envolvendo ensaios baseados em um alvo molecular específico foram intensivamente explorados como uma estratégia para a descoberta de novos fármacos anti-TB; no entanto, nenhum novo fármaco surgiu através desta abordagem. As razões para isso incluem: falta de validação do alvo, falta de evidências de que o alvo é essencial para o crescimento ou sobrevivência do MTB, propriedades físico-químicas inadequadas, mecanismos de efluxo de fármacos, vias bioquímicas alternativas utilizadas pela micobactéria, toxicidade causada pelos compostos, ensaios inadequados e interferências cujos resultados levam falso-positivos, entre outros.⁴³

Por outro lado, ensaios de triagem utilizando a célula micobacteriana como um todo (*screening* fenotípico) tem se mostrado como uma estratégia promissora para a descoberta de novos fármacos anti-TB. Este tipo de abordagem apresenta diversas vantagens e permite a identificação de moléculas que sejam ativas contra a micobactéria, superando problemas como a absorção e efluxo. Além disso, ensaios envolvendo células de mamíferos são bastante simples e permitem

*e-mail: santosjl@fcar.unesp.br

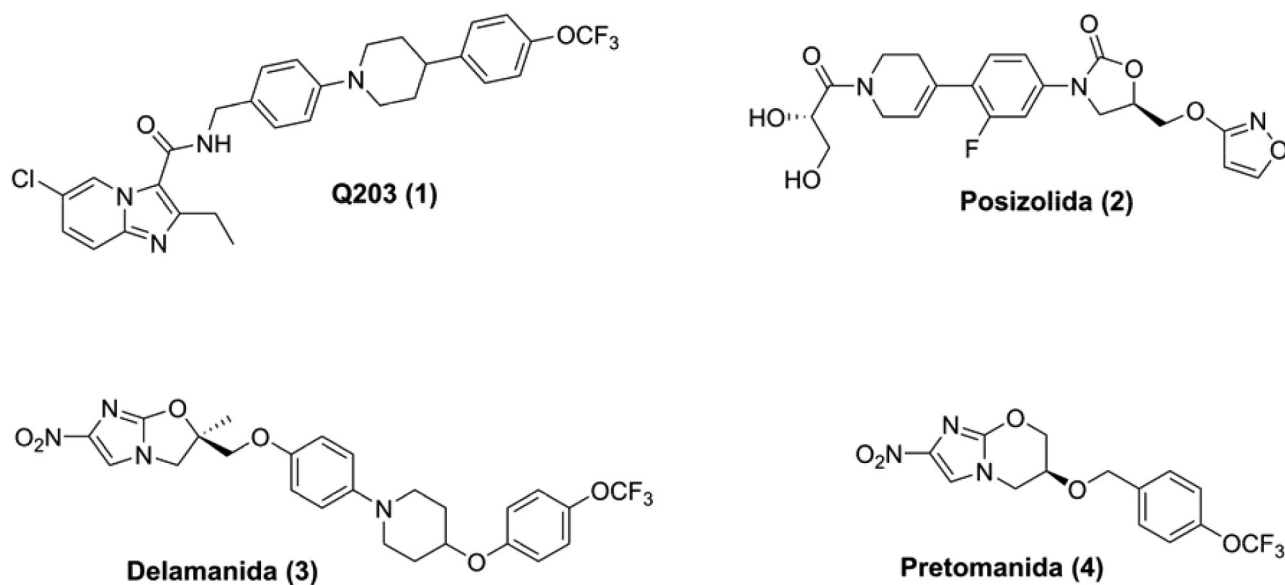


Figura 1. Estruturas de candidatos a fármacos antituberculose

ao pesquisador obter conhecimentos a respeito da seletividade de uma determinada estrutura química. Um estudo que analisou os 176 fármacos aprovados entre 1999 e 2008 revelou que a maioria das moléculas denominadas “*first-in-class*” foram descobertas através de abordagens fenotípicas usando células inteiras e não apenas os alvos moleculares.⁴⁴

A bedaquilina (5) e diversos candidatos a fármacos (NITD-349 (6) e diarilcoumarinas (7))^{45,46} (Figura 2) são exemplos de compostos descobertos utilizando ensaios fenotípicos. Apesar das vantagens da utilização desta abordagem, algumas limitações incluem a identificação do alvo e as futuras otimizações moleculares no composto protótipo, que podem ser difíceis em alguns casos.

A combinação das abordagens baseadas em alvos validados com a triagem em células parece ser uma estratégia promissora a ser explorada na busca de novos fármacos antituberculose.^{40,47} O composto Q203

(1) (Figura 1), por exemplo, foi inicialmente descoberto utilizando ensaios fenotípicos. Posteriormente, foi identificado que o composto atua na subunidade b do citocromo bc1 (QcrB).⁴⁸ A utilização de microarranjos de DNA, identificação de genes alterados em cepas mutantes com resistência ao composto teste e silenciamento de genes são algumas das técnicas que contribuíram para a identificação de diversos alvos após a identificação inicial dos compostos líderes nos ensaios fenotípicos.⁴⁹

Durante muitos anos, a biossíntese dos componentes da parede celular foi o principal alvo molecular na terapia antituberculose; no entanto, nos últimos anos, avanços vêm sendo realizados visando a identificação de novos alvos capazes de interferir em diferentes vias metabólicas/bioquímicas essenciais a sobrevivência da micobactéria. Diversos alvos potenciais já foram identificados no MTB usando a combinação dessas estratégias, como por exemplo, DNA girase

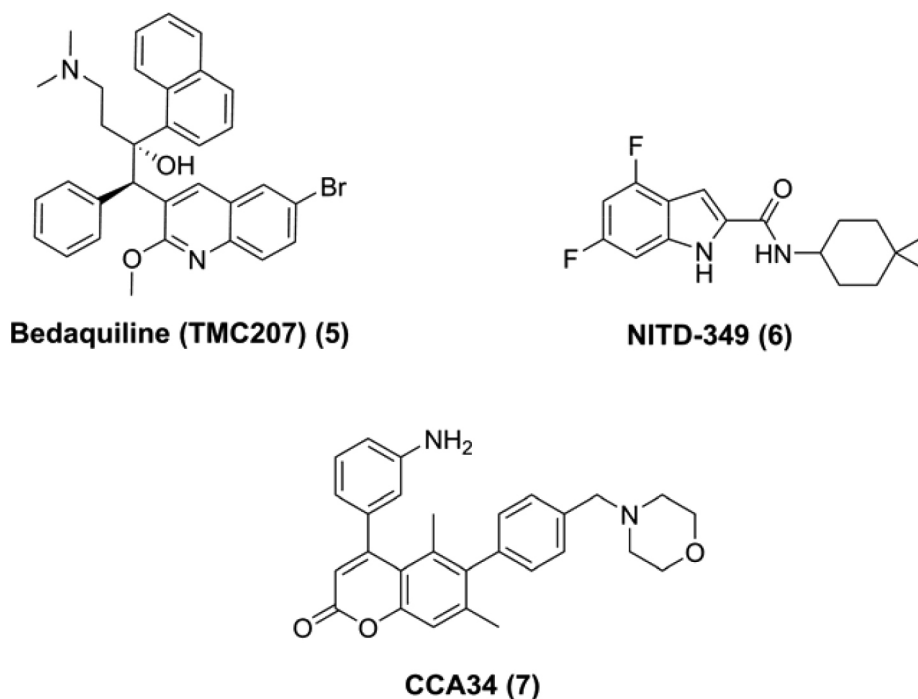


Figura 2. Compostos descobertos utilizando ensaios fenotípicos

(subunidade B) e topoisomerase I, MbtA, QcrB, NADH desidrogenase II, DprE, FASs e MmpL.^{9,50}

Nessa revisão, serão apresentados esses alvos moleculares, bem como os respectivos compostos inibidores com maior atividade antimicrobiana. O critério para seleção dos compostos apresentados se baseou nos valores de concentração inibitória mínima (CIM₉₀) inferiores que 10 µmol L⁻¹. A busca para identificação dos alvos foi realizada nas seguintes bases de dados: PubMed, Web of Science e Scopus entre os períodos de 2006 a 2016.

ALVOS ENVOLVIDOS COM A BIOSÍNTESE DA PAREDE CELULAR

A inibição da biossíntese da parede celular é uma das abordagens mais bem estabelecidas na terapia anti-TB, e fármacos como a isoniazida e etambutol atuam através da inibição de diferentes vias envolvidas neste processo.⁵¹ Devido ao aumento das taxas de MDR-TB e XDR-TB, a busca por novos alvos relacionados a esta via bioquímica se mostra como uma estratégia promissora.⁵²

Em 2009,⁵³ foi relatada a potente atividade antituberculose do derivado BTZ038 (8) (Figura 3). Este composto demonstrou atividade bactericida com CIM₉₀ de 2,3 nmol L⁻¹ em cepas de MTB H₃₇Rv. Além disso, o composto foi capaz de reduzir o número de unidades formadoras de colônias (UFC) nos pulmões em até 2 logs. Os autores identificaram a decaprenilfosforil-β-D-ribose 20-epimerase (DprE) como o alvo molecular deste composto.⁵³

A DprE é uma enzima heterodimérica constituída de duas proteínas: DprE1 e DprE2. Ambas as proteínas participam da biossíntese do decaprenilfosforil-β-D-arabinofuranose (DPA), um dos precursores do arabinano, que por sua vez constitui a parede celular micobacteriana. A capacidade que vários compostos têm de inibir a DprE está relacionada à localização de fácil acesso desta enzima no espaço periplasmático.⁵⁴ A maioria dos inibidores de DprE apresentam um grupo nitro em sua estrutura, o qual contribuiu para a formação de uma ligação covalente com um resíduo de cisteína (Cys387) no sítio ativo da DprE1 levando a formação de um aduto.⁵⁵

O derivado nitrobenzamida DNB1 (9) foi descoberto através de ensaios fenotípicos de infecção intracelular em células Raw264.7 infectadas com MTB H₃₇Rv. Estudos de relação estrutura atividade

(SAR) envolvendo aproximadamente 155 análogos demonstraram que a presença de um grupo nitro na posição 3 e/ou 5 do anel benzênico é essencial para a atividade antituberculose. O composto 9 exibiu CIM₉₀ de 0,2 µmol L⁻¹ em ensaios de infecção intra e extracelular. Além disso, o composto levou a uma diminuição da formação de lipoarabinomanana e arabinogalactana devido à inibição da DprE.⁵⁶ Utilizando ferramentas de triagem em alta escala, o composto 10 também foi descoberto como um inibidor da enzima DprE. O derivado triazólico (10) apresentou CIM₉₀ de 0,5 µmol L⁻¹ contra cepas de MTB H₃₇Rv. Através de abordagens genéticas, foi constatado que cepas resistentes ao composto 10 apresentavam mutação no gene *dprE1* e foi demonstrado que a inibição covalente da DprE é o modo de ação deste derivado triazólico (Figura 3).⁵⁷

Inibidores não covalentes da DprE também já foram descritos na literatura. O composto TCA1 (11) por exemplo, demonstrou seletividade para o gênero *Mycobacterium*. Especificamente para este composto, o valor de CIM₉₀ igual a 0,19 µg mL⁻¹ foi observado em cepas de MTB H₃₇Rv. A estrutura cristalográfica do complexo DprE1-TCA1 foi caracterizada e demonstrou pequenas modificações em relação à estrutura da proteína sem o ligante. Foram observadas interações não covalentes caracterizadas por interações hidrofóbicas e de Van der Waals na estrutura cristalina do complexo proteína-ligante. Outro exemplo de inibidor não covalente é o derivado pirazolpiridinona 12. Este composto, sem o grupo nitro na estrutura, demonstrou potente atividade antituberculose com CIM₉₀ igual a 0,1 µmol L⁻¹. Além disso, o composto 12 exibiu IC₅₀ de 0,005 µmol L⁻¹ contra a enzima DprE (Figura 4).⁵⁸

A biossíntese da parede celular micobacteriana envolve diversas enzimas, como por exemplo ácidos graxos sintases (FASs) e policetídeos sintases (PKSs). FadD32 é uma acil-AMP ligase que catalisa a conversão de ácidos graxos em acil-adenilato na presença de ATP. Esta enzima atua em associação com a Pks13 para ativar o ácido meromicólico antes da sua condensação com a porção C24-26 do ácido graxo.⁵⁹ O operon *fadD32-pks13-accD4* é essencial para a viabilidade do MTB, e estudos de silenciamento de genes apontaram o operon *fadD32* e a enzima FadD32 como alvos potenciais na micobactéria.⁶⁰ Recentemente, foi reportada a síntese de quarenta derivados de cumarina com potente atividade e seletividade contra o MTB. Ensaios *in vivo* utilizando *zebrafish*

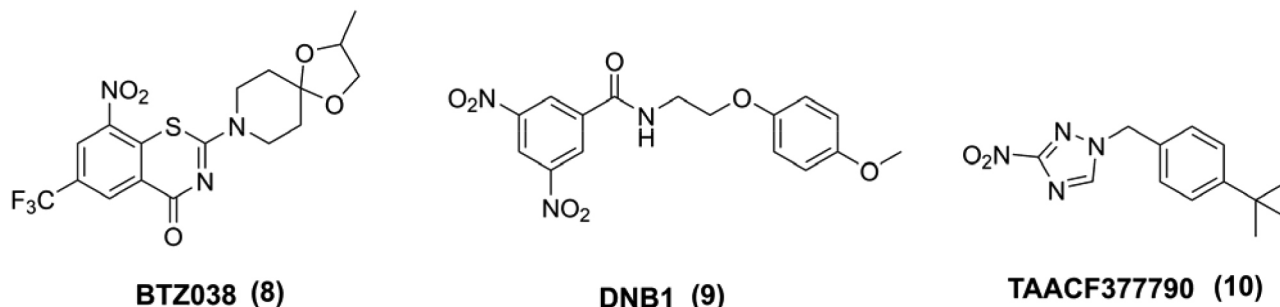


Figura 3. Inibidores covalentes da enzima DprE

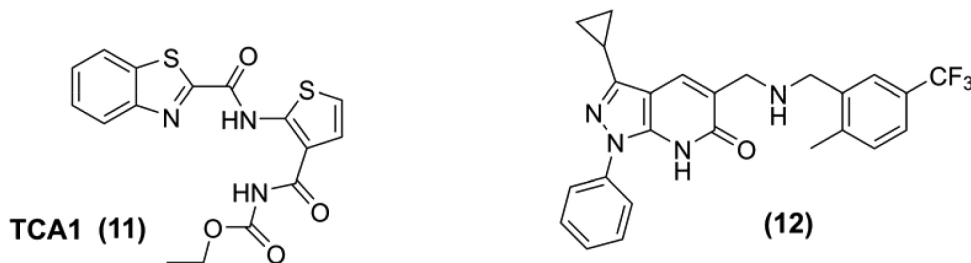


Figura 4. Inibidores não-covalentes da enzima DprE

infectados com *M. marinum* revelaram o composto **13** como o mais promissor da série. Este composto inibiu o crescimento micobacteriano na concentração de $0,24 \mu\text{mol L}^{-1}$ através da inibição da enzima FadD32 (Figura 5).^{45,61}

Nesta mesma via bioquímica, outra enzima envolvida na biossíntese de ácidos micólicos é a de policetídeos sintase (Pks13). Nesse contexto, derivados de tiofeno foram relatados como inibidores da Pks13. Especificamente, o composto **14** (Figura 5) apresentou um valor de CIM_{90} igual a $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ contra MTB. Além disso, esse composto exibiu ação bactericida e sua combinação com isoniazida resultou em efeito esterilizante.⁶² De maneira similar, foram descritos derivados de 2-aminotiofenos com potente atividade antituberculose, possuindo como alvo a enzima Pks13. Especificamente, o composto **15** (Figura 5) apresentou CIM_{90} de $0,69 \mu\text{mol L}^{-1}$ em MTB H₃₇Rv. Os autores demonstraram, ainda, através de estudos utilizando autorradiografia, que o composto atua de fato através da inibição da biossíntese de ácidos micólicos.⁶³

A enzima InhA é um dos principais alvos moleculares de fármacos no *Mycobacterium tuberculosis*, sendo a isoniazida o principal desta classe. Esta enzima é essencial para a biossíntese de ácidos micólicos através da via bioquímica de ácido graxo sintase tipo II (FASII) e atua como uma proteína transportadora de grupos acila (ACP) utilizando NADH.^{64,65} Nesse contexto, foram descritos inibidores da enzima InhA identificados através do *screening* de uma biblioteca da empresa farmacêutica GlaxoSmithKline com potente atividade antituberculose. O composto **16** (Figura 6) exibiu CIM_{90} de $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ contra MTB H₃₇Rv e valor de IC_{50} igual a 2nmol L^{-1} contra a enzima InhA. Além disso, estudos *in vivo* mostraram que o composto (**16**) apresentou a mesma eficácia que a isoniazida em camundongos infectados com tuberculose crônica.⁶⁶ Derivados de fluoreno-piperazinas também foram reportados como inibidores da enzima InhA. O composto **17** (Figura 6) apresentou potente inibição da enzima com valor de IC_{50} igual a 102nmol L^{-1} . Além disso, o composto exibiu CIM_{90} de $11 \mu\text{mol L}^{-1}$ em cepas de *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv.⁶⁷

Recentemente, diversas outras classes de heterocíclicos vêm sendo reportadas como potentes inibidores da enzima InhA, como por exemplo derivados tiazólicos identificados por pesquisadores da

AstraZeneca.⁶⁸ O composto **18** (Figura 7) foi desenvolvido a partir de um protótipo identificado anteriormente. O novo composto líder **18** apresentou CIM_{90} de $0,39 \mu\text{mol L}^{-1}$ em cepas de MTB e IC_{50} de $0,03 \mu\text{mol L}^{-1}$ no ensaio de inibição da enzima InhA. Além disso, os autores demonstraram um novo mecanismo de inibição da enzima por esses derivados. A interação com a enzima ocorreu na sua forma ligada ao NADH e não ao usual NAD⁺.⁶⁸ Derivados de tetrahidropirano também foram descritos como potentes inibidores da enzima InhA. Através de um *screening* de uma biblioteca de compostos da GlaxoSmithKline, foi identificado um protótipo que posteriormente foi otimizado ao composto **19** (Figura 7). A otimização do protótipo levou a um composto com melhor atividade antimicobacteriana ($\text{CIM}_{90} = 5 \mu\text{mol L}^{-1}$) e baixa citotoxicidade em células HepG2 ($\text{IC}_{50} = 50 \mu\text{mol L}^{-1}$). Além disso, o composto apresentou IC_{50} de inibição da enzima InhA de $0,036 \mu\text{mol L}^{-1}$.⁶⁹ Outra classe de compostos com atividade inibitória da enzima InhA são os derivados de triclosan relatados recentemente. O composto **20**, por exemplo, apresentou CIM_{90} de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ e 98% de inibição da enzima isolada na mesma concentração do CIM_{90} .⁷⁰ Exemplos pertencentes à classe dos produtos naturais também já foram descritos como inibidores da enzima InhA. A piridomicina (**21**) (Figura 7) foi inicialmente identificada em 1953,⁷¹ no entanto, foi reavaliada recentemente em um estudo que caracterizou sua potente atividade contra isolados clínicos de MTB resistentes à isoniazida com valores de CIM_{90} entre $0,31$ a $5 \mu\text{mol L}^{-1}$. Os autores demonstraram que a piridomicina inibe a enzima InhA através de um mecanismo de inibição competitiva no sítio de ligação do NADH.⁷²

Recentemente, a utilização de ferramentas computacionais vem contribuindo para a descoberta de novos inibidores da enzima InhA. O composto **22** (Figura 8) foi identificado através de triagem virtual de uma biblioteca contendo cerca de 400.000 compostos. Este composto foi sintetizado e avaliado *in vitro* com o objetivo de caracterizar sua atividade inibitória contra a enzima InhA. O composto demonstrou 35,5% de inibição da enzima InhA na concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$.⁷³ O composto **23** (Figura 8) também foi descoberto utilizando ferramentas computacionais a partir de um estudo de triagem virtual da base de dados ZINC. O composto foi capaz de inibir em 15% a enzima InhA a uma concentração de $1 \mu\text{mol L}^{-1}$.⁷⁴

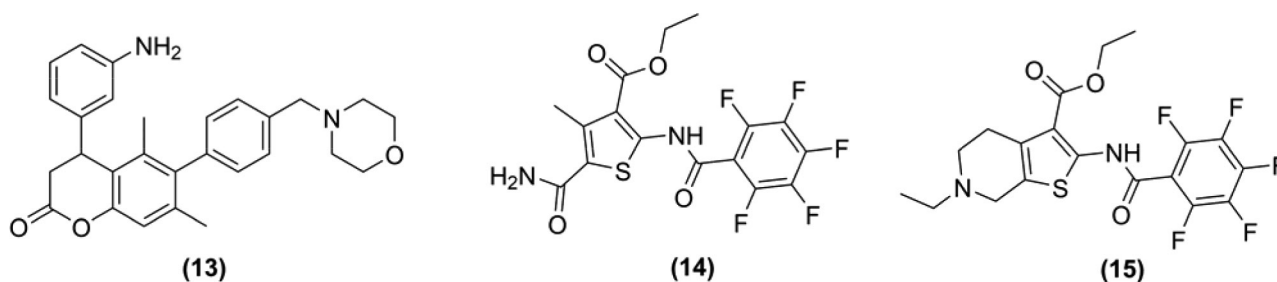


Figura 5. Estruturas de inibidores da FadD32 e Pks13

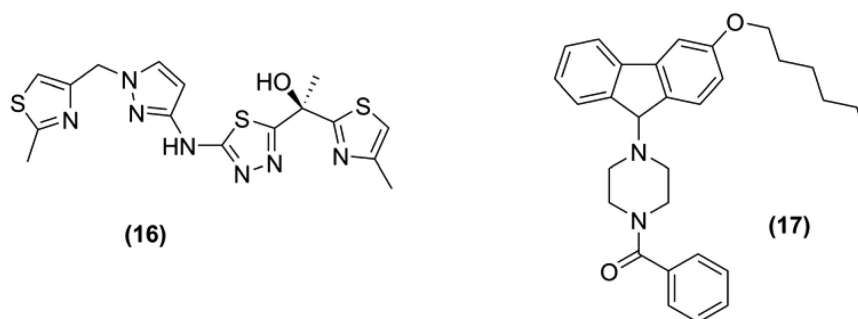


Figura 6. Estruturas de inibidores da enzima InhA

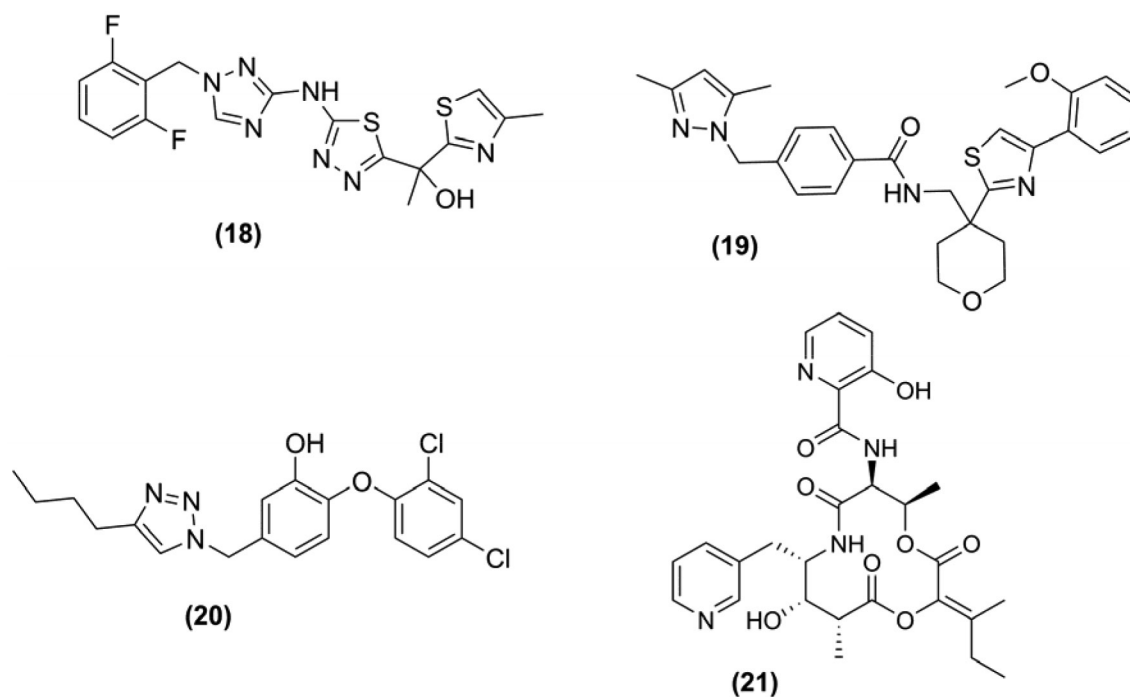


Figura 7. Inibidores da enzima *InhA*

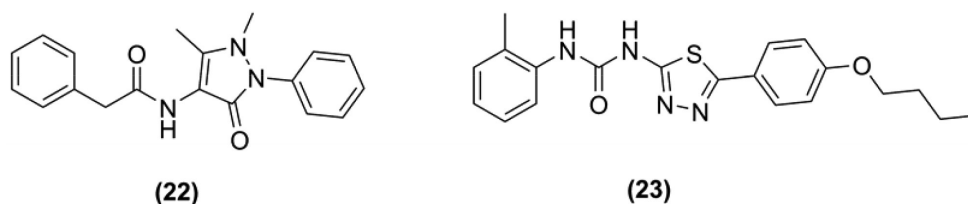


Figura 8. Inibidores da enzima *InhA* identificados por *screening* virtual

ALVOS ENVOLVIDOS COM A GERAÇÃO DE ENERGIA

Desde a descoberta da bedaquilina, a inibição da síntese de ATP tem sido considerada um alvo validado no MTB. O mecanismo de ação da bedaquilina foi descoberto através do sequenciamento do genoma de mutantes resistentes ao fármaco e foi caracterizado como sendo capaz de atuar na inibição da bomba de prótons da enzima ATP sintase através da ligação com a subunidade *c* da enzima.⁷⁵ Na terapia atual, a pirazinamida é outro fármaco que tem como alvo a inibição de vias bioquímicas relacionadas a geração de energia. Um dos mecanismos de ação propostos para a pirazinamida é a interrupção do sistema energético e de transporte da membrana pelo seu metabolito ativo, o ácido pirazinóico.⁷⁶

A inibição da subunidade *b* do citocromo (QcrB) bc1-aa3 foi identificada como alvo para derivados imidazol[1,2- α]piridina (**24**) (Figura 9).⁷⁷ O complexo citocromo bc1 apresenta um papel crucial para a cadeia transportadora de elétrons durante a síntese de ATP e, conseqüentemente, para o crescimento da micobacteria.⁷⁸ No entanto, já foi relatado que durante o crescimento aeróbio do MTB, a participação do citocromo bd oxidase pode compensar os efeitos inibitórios do complexo citocromo bc1.⁷⁹ A validação do QcrB como alvo foi descrita detalhadamente para o composto Q203 (**25**) (Figura 9). Este composto exibiu CIM₉₀ de 2,7 nmol L⁻¹ contra MTB H₃₇Rv. Além disso, em baixas doses, o Q203 foi capaz de eliminar o MTB em modelos animais com tuberculose crônica.⁴⁸ Recentemente, diversos compostos foram identificados como inibidores do complexo bc1 no MTB. Através de uma triagem de derivados de quinolina, foi identificado o composto **26** (Figura 9) como um potente antimicobacteriano

inibidor do complexo bc1 com CIM₉₀ de 0,45 μ mol L⁻¹. O alvo molecular do composto **26** foi caracterizado utilizando cepas de MTB com mutações no gene *qcrB*, o qual codifica a subunidade menaquinol citocromo c oxidoreductase do complexo bc1.⁸⁰ Interessantemente, utilizando uma ferramenta de triagem em alta escala em uma biblioteca contendo fármacos já aprovados pelo FDA, o lansoprazol (**27**) (Figura 9) foi identificado com potente atividade antimicobacteriana intracelular.⁸¹ O lansoprazol é um fármaco utilizado no tratamento de doenças estomacais e atua através da inibição da enzima (H⁺, K⁺)-ATPase na superfície secretora das células parietais gástricas.⁸² O lansoprazol (**27**) apresentou CIM₉₀ de 1,13 μ mol L⁻¹ em cepas de MTB H₃₇Rv e valores que variaram de 0,49 a 1,37 μ mol L⁻¹ em isolados clínicos multirresistentes. Os autores caracterizaram o mecanismo de ação do fármaco através do sequenciamento do genoma de um mutante resistente ao lansoprazol e identificaram um polimorfismo em um único nucleotídeo que alterou uma leucina para uma prolina na subunidade *b* do citocromo bc1. Além disso, os autores observaram uma redução drástica nos níveis de ATP produzidos pela micobacteria quando em contato com o lansoprazol (**27**).⁸¹

Derivados ftalimídicos também foram reportados como inibidores do complexo bc1 com valores de CIM₉₀ na escala nanomolar e baixa citotoxicidade em células VERO (IC₅₀ >100 μ mol L⁻¹). O composto **28** (Figura 10) apresentou CIM₉₀ de 65 nmol L⁻¹ em cepas de MTB H₃₇Rv e CIM₉₀ abaixo de 0,6 μ mol L⁻¹ em isolados clínicos multirresistentes. Os estudos para caracterizar o mecanismo de ação demonstraram que cepas mutantes com deleção do gene codificador do citocromo bd oxidase (Δ cydKO) foram hipersensíveis aos compostos da série. Além disso, os compostos foram inativos

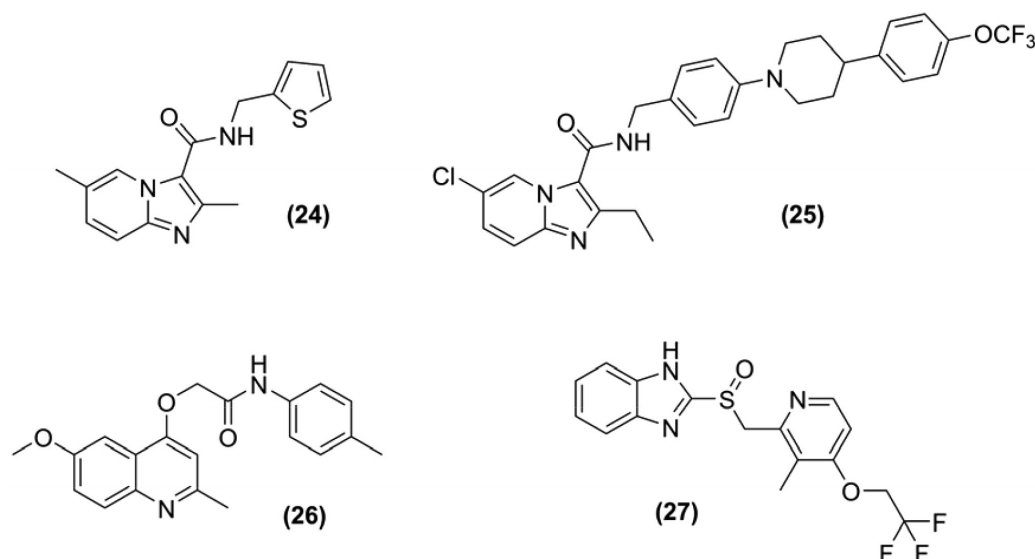


Figura 9. Estruturas de inibidores do citocromo *QcrB*

quando avaliados em uma cepa de MTB com uma mutação em um único aminoácido no citocromo *qcrB*. Os estudos farmacocinéticos demonstraram estabilidade metabólica adequada do composto **28** na presença de microsomos hepáticos de humanos, ratos e camundongos, no entanto, o composto apresentou um alto *clearance* e tempo de meia vida moderado ($t_{1/2} = 62$ min).⁸³

Outras classes de compostos também já foram reportadas como inibidores do citocromo *qcrB*, como derivados imidazol-piridinas (**29-30**) e pirazol (**31**) (Figura 10). Esses compostos apresentaram valores de CIM₉₀ entre 0,01 e 4,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em cepas de MTB H₃₇Rv. No entanto, quando avaliados em cepas com mutações em aminoácidos presentes no citocromo *qcrB*, os compostos foram inativos, caracterizando o alvo molecular no MTB.⁸⁴ A variedade estrutural de compostos com capacidade de inibição do citocromo *qcrB* no MTB apontam a promiscuidade desse alvo.^{80,81,83,84}

A NADH desidrogenase tipo-II (NDH-2) é uma enzima presente na mitocôndria do MTB e que participa do processo respiratório da micobactéria.⁸⁵ Curiosamente, a atividade antituberculose *in vitro* de derivados fenotiazínicos (como por exemplo alguns fármacos antipsicóticos) e clofazimina (anti-hansênico) tem sido relacionadas com a inibição da enzima micobacteriana NDH-2; no entanto, o uso

desses fármacos na terapia é limitado devido a efeitos adversos.⁸⁶ A enzima NDH-2 é codificada pelo genes *ndh* e *ndhA*, no entanto, somente o gene *ndh* foi associado à micobactérias não viáveis após a interrupção da mutagênese através de transpôson.⁸⁷

Interessantemente, a subunidade alquiltrifenil-fosfônio (alquil-TPP) foi relatada como sendo capaz de contribuir para o transporte de moléculas através das mitocôndrias. Assim, pesquisadores descreveram a utilização de conjugados alquilTPP-fenotiazina cujos efeitos potencializaram a inibição da enzima NDH-2. Os valores de CIM₉₀ desses conjugados foram inferiores aos derivados de fenotiazinas não conjugados (**32**) (Figura 11).⁸⁸

Através da triagem de uma biblioteca de moléculas da empresa farmacêutica AstraZeneca contendo mais de 100 mil compostos avaliados contra a enzima NDH-2, foram identificados compostos contendo a subunidade quinolinil-pirimidina como compostos anti-TB promissores. O composto pirimidina-4-il-quinolina-diamina (**33**) (Figura 11) inibiu a enzima NDH-2 com valor de IC₅₀ igual a 0,043 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Além disso, essa molécula apresentou propriedades farmacocinéticas adequadas *in vitro*, as quais permitiram identificá-la como um importante protótipo anti-TB.⁸⁹

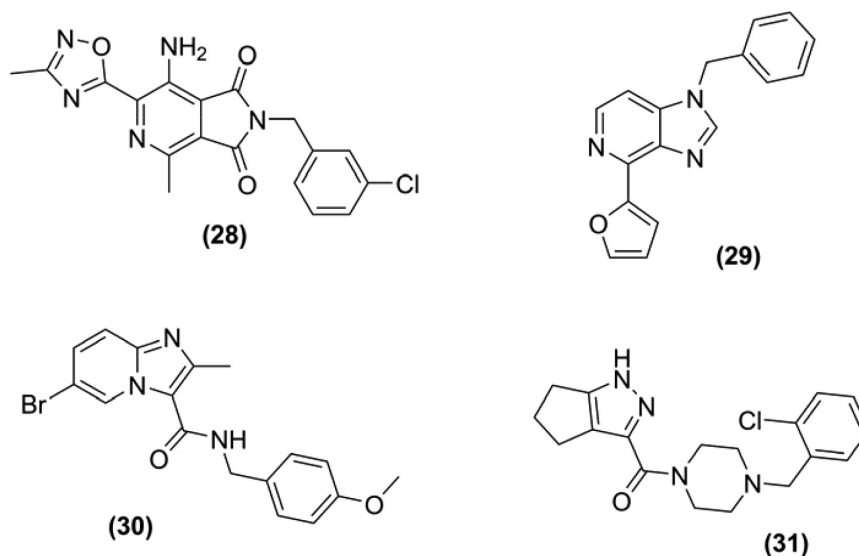


Figura 10. Inibidores do citocromo *QcrB*

ALVOS ENVOLVIDOS COM O METABOLISMO DO FERRO

O ferro é um elemento essencial para a sobrevivência do *Mycobacterium tuberculosis* devido ao seu papel como cofator em diversos processos celulares. Em condições fisiológicas, os seres humanos mantêm os níveis de ferro acima daquele necessário para a proliferação bacteriana; por conseguinte, as bactérias produzem sideróforos que sequestram o metal a partir de proteínas do hospedeiro.⁹⁰ Os dois principais sideróforos presentes no MTB são: micobactinas e carboximicobactinas.⁹¹ Estudos revelaram que cepas mutantes de MTB com deficiência em micobactina são incapazes de estabelecer infecção em camundongos.^{92,93} Esta observação aponta a biossíntese de micobactina como um potencial alvo no MTB.

Durante a biossíntese de micobactina, a inibição da enzima formadora de adenilato (MbtA) por análogos de nucleotídeo leva a uma diminuição do crescimento micobacteriano. Especificamente, o análogo nucleosídeo (**34**) demonstrou CIM₉₉ de 0,29 μmol L⁻¹, similar a isoniazida (0,18 μmol L⁻¹) (Figura 12).⁹¹ Entretanto, apesar das características farmacodinâmicas promissoras, a molécula demonstrou características farmacocinéticas inadequadas, como baixa biodisponibilidade e tempo de meia vida reduzido (t_{1/2} = 11 min).⁹⁴ Estudos adicionais descreveram um inibidor (**35**) (Figura 12) da enzima MbtA com CIM₉₉ de 0,78 μmol L⁻¹ contra cepas de MTB H₃₇Rv e melhores propriedades farmacocinéticas (t_{1/2} = 62 min) que o seu análogo (**34**).⁹⁵

Outro alvo envolvido na captura de ferro é o EccB3, o qual é um componente do sistema de secreção ESX-3 tipo VII. Evidências sugerem que este sistema está envolvido com a obtenção de ferro e zinco. A ausência do sistema ESX-3 já foi associada com a incapacidade do *Mycobacterium tuberculosis* em utilizar a micobactina, levando a uma inibição do crescimento micobacteriano no interior dos macrófagos.⁹⁶

No genoma do MTB, os genes *IrtAB* são conhecidos por codificar as proteínas constituintes do sistema de transporte

transmembrânico ABC, o qual está envolvido na mobilização do ferro para a carboximicobactina. Interessantemente, foi demonstrado que a ausência do gene *IrtAB* reduziu o processo de infecção pelo MTB.⁹⁷ Outro alvo potencial envolvido na obtenção de ferro inclui o EsX-3 e o sistema de sideróforos mmpS4/S5.⁹⁸ No entanto, não somente a obtenção como também o estoque de ferro é crucial para a sobrevivência do MTB. Altas concentrações intracelulares de ferro são tóxicas para a micobactéria; portanto, o MTB armazena o ferro em proteínas como a ferritina (BfrB). Interessantemente, cepas mutantes de MTB com deficiência em ferritina não foram capazes de causar infecção em camundongos e foram mais susceptíveis aos antibióticos.⁹⁹

MMPL3

MmpL, de “*mycobacterial membrane protein large*”, é um complexo proteico presente na membrana que atua no transporte de moléculas orgânicas e íons do meio extracelular para o interior do MTB. Os genes de *MmpL* codificam 12 proteínas diferentes desta família. A proteína MmpL7 está envolvida com o efluxo de fármacos antituberculose, como por exemplo a isoniazida¹⁰⁰ e também com o transporte de fatores de virulência para a superfície celular.¹⁰¹ MmpL3, MmpL4 e MmpL5 colaboram com o transporte de ferro.¹⁰² MmpL8 tem um papel importante na biogênese de sulfatídeos e também contribui para a virulência do MTB.¹⁰³

A proteína MmpL3 tem um papel crucial durante o crescimento do MTB e está envolvida no transporte de ferro, ácidos micólicos e monomicolato trealose. Diferentes compostos, incluindo SQ109 (**36**), BM212 (**37**), AU1234 (**38**), THPP (**39**) e Spiro (**40**), tem como alvo o MmpL3 no MTB (Figura 13 e 14). O composto BM212 (**37**) foi descoberto através de triagem de uma biblioteca contendo diversos derivados azólicos. Este composto apresentou atividade contra diversas micobactérias, incluindo cepas MDR. Abordagens genéticas caracterizaram mutações no gene *MmpL3* em cepas resistentes ao BM212, apontando o MmpL3 como um possível alvo para o BM212 e potencial alvo no MTB.¹⁰⁴

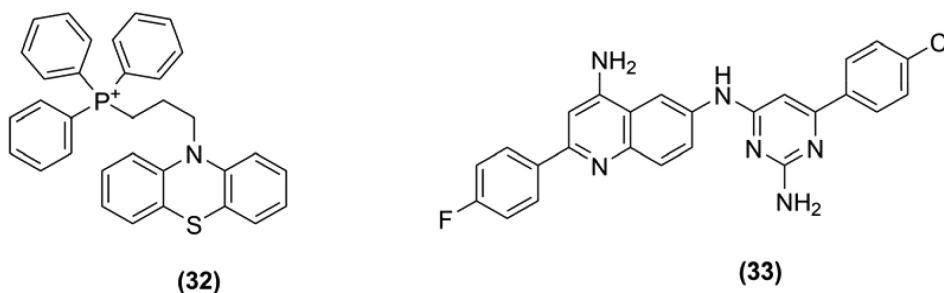


Figura 11. Estruturas de inibidores da enzima NDH-2

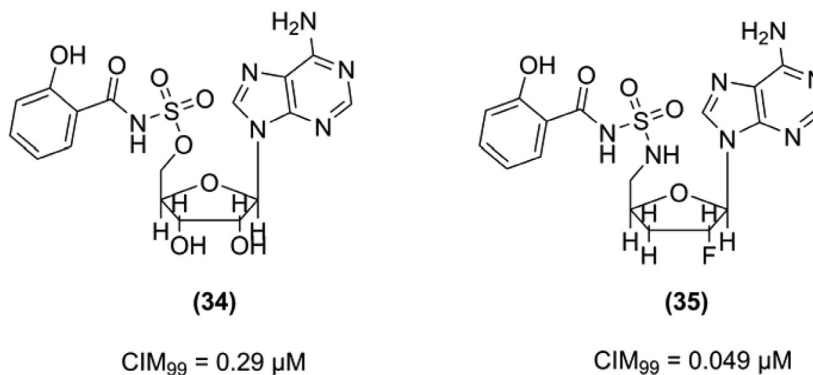


Figura 12. Estruturas de inibidores da enzima MbtA

Outro exemplo de composto descoberto através de estudos fenotípicos é o AU1234 (**38**) (Figura 13), o qual demonstrou CIM_{90} igual a $0,03 \mu\text{mol L}^{-1}$ contra MTB H₃₇Rv.¹⁰⁵ Inicialmente, acreditava-se que o mecanismo de ação deste composto se desse através da inibição da hidrólise de epóxidos; no entanto, o sequenciamento de mutantes resistentes revelou o MmpL3 como o alvo desta molécula. A alta lipofilia ($c\text{LogP} = 5.1$) e baixa solubilidade em água ($<0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$) do composto **38** levou ao planejamento de novos análogos contendo diferentes heterocíclicos, como isoxazol, oxadiazol e pirazol. Esses novos derivados apresentaram uma melhora significativa no perfil farmacocinético *in vitro*, no entanto, poucos compostos apresentaram melhora significativa nos valores de CIM_{90} comparados ao composto precursor.¹⁰⁶

Os compostos THPP (**39**) e Spiro (**40**) foram descobertos através de estudos fenotípicos em *Mycobacterium bovis* BCG. Ambos os compostos apresentaram eficácia contra MTB H₃₇Rv intracelular e demonstraram valores de CIM_{90} iguais a $0,16 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,63 \mu\text{mol L}^{-1}$ para os compostos **39** e **40**, respectivamente (Figura 14). Os autores demonstraram que a inibição do MmpL3 por esses compostos resultou em um acúmulo de monomicolato trealose. Além disso, foram sintetizados análogos otimizados que foram capazes de reduzir o número de UFC nos pulmões de camundongos em até 2 logaritmos.¹⁰⁷

DNA GIRASE E TOPOISOMERASE I

É bem estabelecido na literatura o importante papel que as fluoroquinolonas têm no tratamento de MDR-TB através da inibição da enzima DNA girase. Esta classe de fármacos é inclusive utilizada em pacientes com tuberculose que não respondem aos medicamentos de primeira linha.¹⁰⁸

As fluoroquinolonas se ligam a subunidade GyrA da enzima DNA girase; no entanto, apesar de sua eficácia, elevadas taxas de resistência já foram relatadas na literatura.¹⁰⁹ A principal causa de resistência é a mutação no sítio de da enzima onde ocorre a ligação das fluoroquinolonas. Estudos já demonstraram que não somente a subunidade GyrA da enzima, mas também a subunidade GyrB tem potencial para ser explorado como um alvo terapêutico contra MTB. Compostos como a novobiocina e a coumermicina inibem a atividade ATPase da subunidade GyrB. Além disso, a atividade biológica de

diversos heterocíclicos já foram descritos como sendo ativos contra a subunidade GyrB, como por exemplo derivados de cumarina, benzimidazol uréia, pirazol, indazol e indolinona.^{110,111}

Utilizando inibidores de GyrB identificados previamente, foram sintetizados 26 derivados do etil 5-(piperazina-1-il) benzofurano-2-carboxilato, que foram avaliados contra cepas de MTB H₃₇Rv. O composto **41** se apresentou como o mais promissor da série, exibindo uma CIM_{90} de $9,18 \mu\text{mol L}^{-1}$. Além disso, o composto **41** foi capaz de inibir a enzima DNA girase B (GyrB) no *Mycobacterium smegmatis* com IC_{50} de $3,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 15).¹¹⁰

Em outro estudo, foram identificados derivados de benzimidazol uréias em uma biblioteca da empresa farmacêutica AstraZeneca como potenciais inibidores da enzima GyrB contra *M. smegmatis*. O composto **42** (Figura 15) exibiu CIM_{90} igual a $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ contra MTB H₃₇Rv e valor de IC_{50} igual a $0,5 \text{nmol L}^{-1}$ na inibição da enzima GyrB. Estudos *in vivo* utilizando camundongos com infecção aguda de tuberculose revelaram ação bactericida deste composto em dois diferentes regimes de administração oral (300mg kg^{-1} uma vez ao dia ou 150mg kg^{-1} duas vezes ao dia) durante 10 dias.¹¹¹ Esses resultados sugerem a importância da subunidade GyrB como potencial alvo terapêutico a ser explorado no desenvolvimento de fármacos antituberculose.

A DNA topoisomerase I (Topo I) é uma enzima responsável pela relaxação das fitas de DNA durante os processos de replicação e transcrição. Interessantemente, estudos revelaram que o silenciamento do gene *topA* (codificador da enzima Topo I) no *M. tuberculosis* levou a perda da capacidade da micobactéria em estabelecer infecção em camundongos. Além disso, a depleção deste gene leva o MTB à morte. Assim, esta enzima se consolidou como um alvo terapêutico promissor no *Mycobacterium*.¹¹² Através de uma triagem de uma biblioteca de 1500 compostos da empresa AstraZeneca, foi identificada a molécula dihidrobenzofuranil ureia (**43**) como inibidora da enzima Topo I (Figura 16) com valor de IC_{50} igual a $60 \mu\text{mol L}^{-1}$.¹¹³

CLPP PROTEASE

ClpP1 e ClpP2 são enzimas homólogas codificadas pelo *M. tuberculosis* que desempenham importante função para a viabilidade da micobactéria. Essas enzimas estão envolvidas no processo de

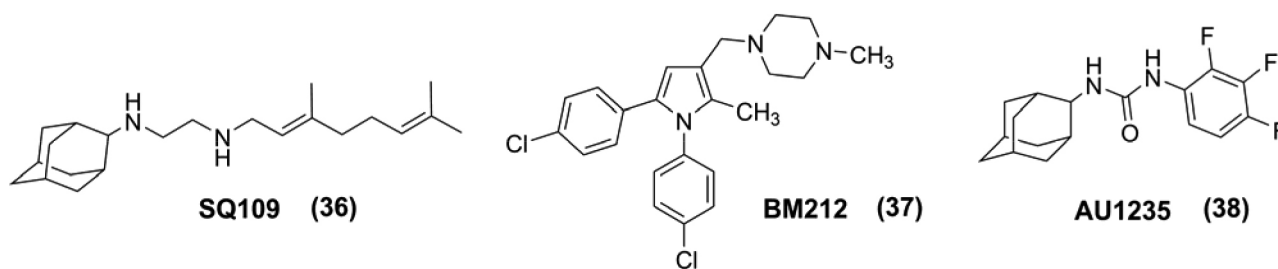


Figura 13. Moléculas bioativas inibidoras do complexo proteico MmpL3

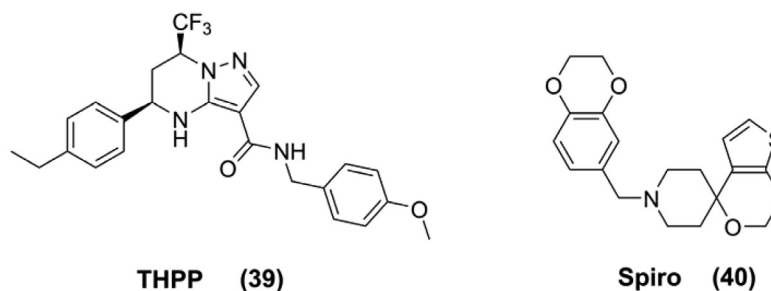


Figura 14. Estruturas de inibidores do complexo proteico MmpL3

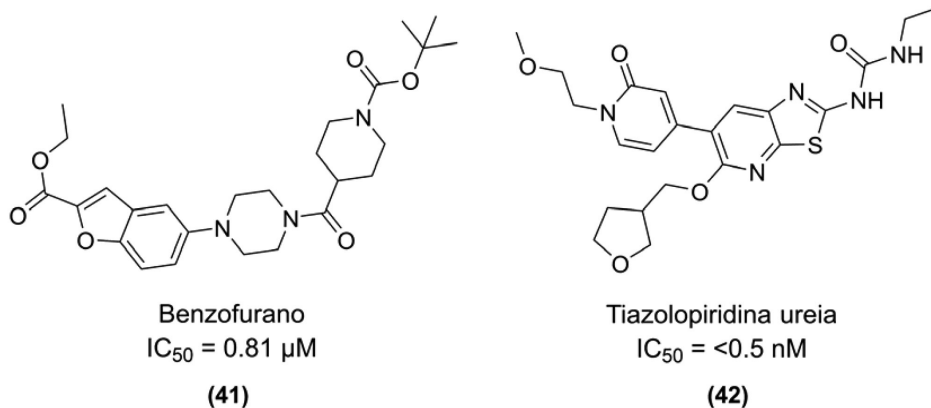


Figura 15. Estruturas de inibidores das enzimas DNA girase B

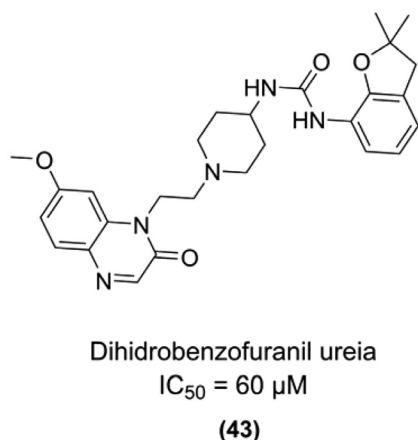


Figura 16. Estrutura de um inibidor da enzima topoisomerase I

renovação e degradação de proteínas não funcionais. O complexo proteolítico formado entre a ClpP1 e ClpP2, denominada ClpP1P2, é essencial para o crescimento do MTB durante o processo infeccioso.¹¹⁴ Especificamente, a enzima ClpP apresenta uma câmara interior na qual degrada pequenos peptídeos; no entanto, algumas proteínas podem ser degradadas nessa câmara na presença de ATPases associadas com diferentes atividade (AAA+) através de reações utilizando ATP.¹¹⁵ Interessantemente, foi relatada a atividade antituberculose do peptídeo cíclico ciclomarina A (**44**) (Figura 17) contra cepas de isolados clínicos de MDR-TB. A atividade anti-TB deste peptídeo está relacionada com a capacidade de interação com as AAA+ levando à inibição da atividade catalítica da enzima ClpP.^{116,117}

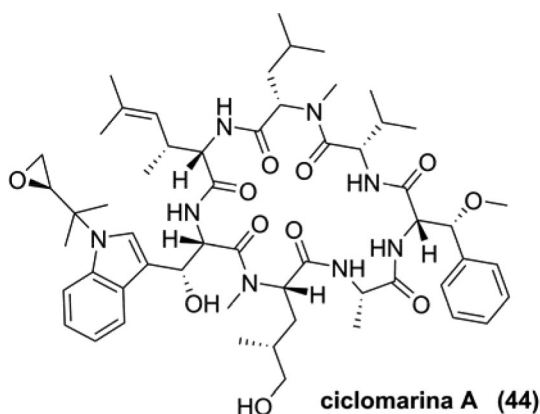
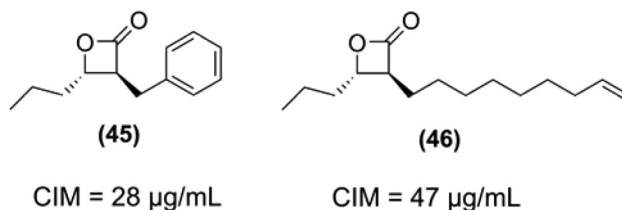


Figura 17. Estruturas da ciclomarina A e de β -lactonas inibidoras da ClpP

β -lactonas foram descritas como inibidores irreversíveis da enzima ClpP. A subunidade lactona atua como sítio eletrofílico que leva a formação de um produto *O*-acil-enzima após o ataque nucleofílico de uma serina presente no sítio ativo da enzima.¹¹⁸ Estudos demonstraram que β -lactonas, como por exemplo as moléculas **45** e **46**, são ativas contra *M. tuberculosis* (Figura 17), e estudos *in vitro* caracterizaram que o mecanismo de ação desses compostos é de fato a inibição da enzima ClpP. No entanto, apesar dos resultados promissores obtidos, as β -lactonas são metabolicamente instáveis e sofrem hidrólise em poucos minutos no plasma humano. A substituição da subunidade β -lactâmica por outros grupos, como carbamato, lactona, éster e oxetano levou à perda da atividade antituberculose devido a restrições no sítio ativo da enzima.¹¹⁹

Outros produtos naturais capazes de inibir a ClpP também já foram relatados. A lassomicina (**47**) (Figura 18) foi identificada através de um *screening* fenotípico contra MTB. Interessantemente, este peptídeo demonstrou atividade bactericida contra formas ativas e latentes do *Mycobacterium*. Além disso, em um painel de cepas de MDR-TB e XDR-TB, a lassomicina exibiu valores de CIM₉₀ em uma faixa que variou entre 0,8 - 3 $\mu g mL^{-1}$.¹²⁰ Através de estudos computacionais, os autores demonstraram a capacidade da lassomicina de interagir com a enzima ClpP. A ecumicina (**48**) (Figura 18) é outro peptídeo cíclico isolado da actinobacteria *Nonomuraea sp* MJM5123 com potente atividade antituberculose cujo valor de CIM₉₀ foi de 0,2 $\mu g mL^{-1}$ contra MTB H₃₇Rv e cepas de MDR-TB e XDR-TB. Estudos *in vivo* utilizando camundongos revelaram a completa inibição do crescimento do MTB nos pulmões após 12 doses de 20 mg kg⁻¹ ou 32 mg kg⁻¹. Além disso, os autores demonstraram que a ecumicina atua através da inibição da atividade proteolítica do complexo ClpP1P2.¹²¹



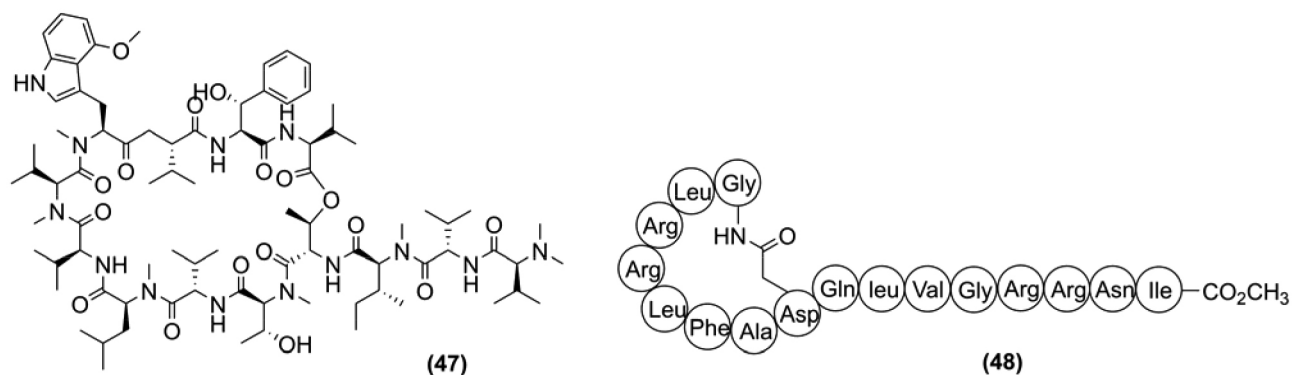


Figura 18. Produtos naturais bioativos inibidores da ClpP

OUTROS ALVOS

Asps

A enzima aspartil-tRNA sintetase (AspS) é essencial para o *M. tuberculosis* devido ao seu importante papel no processo de síntese de proteínas. Estudos demonstraram a caracterização bioquímica desta enzima e avaliaram a capacidade inibitória de derivados de tiazol. O composto **49** (Figura 19) demonstrou notável atividade inibitória na enzima AspS.¹²²

Nade

A depleção da enzima nicotinamida adenina dinucleótido sintetase (NadE) pode levar à morte do *M. tuberculosis* em condições de crescimento ativo ou latente. A nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) é um cofator essencial para diversos processos bioquímicos, além de ser substrato para as enzimas DNA ligases, ADP ribosilases e deacetilases proteicas.¹²³ A micobactéria sintetiza NAD através de um processo *de novo* e as recicla através de vias alternativas. Ambas as vias bioquímicas compartilham as reações catalisadas pelas enzimas NadE e a mononucleótido ácido nicotínico adeniltransferase (codificada pela nadD). Estudos já demonstraram em cepas mutantes de MTB que o correto funcionamento das enzimas NadE e NadD é essencial para o crescimento micobacteriano, tornando-se assim um alvo potencial para o desenvolvimento de novos fármacos anti-TB.¹²⁴

Mptpb

A enzima MptpB fosfatase atua como um fator de virulência secretado pelo *M. tuberculosis* e tem papel central na sobrevivência da micobactéria no interior dos macrófagos.¹²⁵ O composto **50** (Figura 19) foi identificado como potente inibidor seletivo da enzima MptpB, e capaz de reverter a inibição dos macrófagos frente ao *Mycobacterium*. Esse mecanismo se mostra promissor devido à capacidade do *M. tuberculosis* de permanecer no interior dos macrófagos e de certa forma imune ao sistema imunológico. Além

disso, esse composto atua restabelecendo a resposta imunológica dos macrófagos frente ao MTB.¹²⁶

Ahas

A enzima acetohidroxiácido sintase (AHAS) encontra-se presente no início da via biosintética de aminoácidos de cadeia ramificada (BCAAs).¹²⁷ O primeiro relato envolvendo esta enzima como alvo no *Mycobacterium tuberculosis* é de 1998, com o herbicida inibidor de AHAS sulfometuron metil.¹²⁸ No entanto, somente após a determinação da estrutura cristalográfica da enzima foi possível o planejamento de protótipos baseados na estrutura do receptor.¹²⁹ Interessantemente, foi relatada uma série de derivados de quinazolina inibidoras da enzima AHAS. Dentre as 24 moléculas avaliadas, o composto **51** (Figura 20) se mostrou como o mais promissor da série, exibindo CIM₉₀ igual a 6,6 μmol L⁻¹ contra MTB H₃₇Rv e valor de IC₅₀ de 6,5 μmol L⁻¹ contra a enzima AHAS do *M. tuberculosis*. Além disso, a molécula **51** apresentou o mesmo valor de CIM₉₀ quando avaliado em cepas de MDR-TB e XDR-TB.¹³⁰ Estes resultados sugerem que a enzima AHAS como um alvo molecular promissor para o planejamento de novos fármacos anti-TB.

Dhfr

A dihidrofolato redutase (DHFR) é uma importante enzima catalítica que participa do processo de redução do dihidrofolato para tetrahidrofolato, o qual é um precursor essencial para a biossíntese de diversos componentes da estrutura do DNA, RNA e proteínas, como timidilato, nucleotídeos purínicos, metionina, serina e glicina.¹³¹ Diversos inibidores de DHFR são conhecidos, a exemplo do metotrexato. No entanto, a maioria desses compostos não apresentam ação seletiva na enzima DHFR do *Mycobacterium*, exercendo também atividade inibitória na enzima humana.^{132,133}

Nesse contexto, foi descrito através do *screening* de uma biblioteca com mais 265 mil compostos do Instituto Nacional do Câncer (NCI-USA) potenciais inibidores seletivos da enzima DHFR micobacteriana. O composto **52** (Figura 20) se mostrou como a mais promissora, exibindo IC₅₀ de 6 μmol L⁻¹ na enzima DHFR micobacteriana e

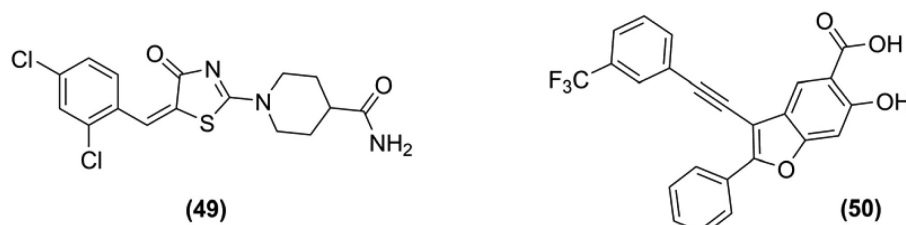


Figura 19. Estruturas de inibidores das enzimas AspS e MptpB

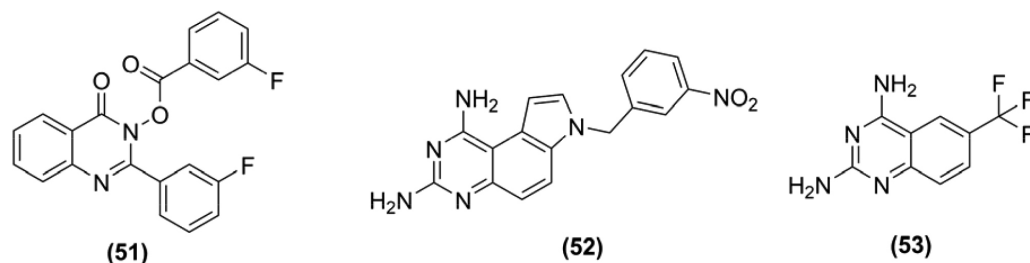


Figura 20. Estruturas de inibidores das enzimas AHAS e DHFR

33 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na enzima DHFR humana, indicando, assim, seletividade de 5.5 vezes maior para a enzima micobacteriana. Além disso, o composto **52** inibiu o crescimento micobacteriano na concentração de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$.¹³⁴ De maneira similar, o composto **53** (Figura 20) foi identificado através da triagem de uma biblioteca contendo 32.000 estruturas da empresa farmacêutica Novo Nordisk A/S. Este derivado diaminoquinazolínico apresentou IC_{50} de 22,4 nmol L^{-1} contra a enzima DHFR micobacteriana.¹³⁵

CONCLUSÃO

A pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da tuberculose, especialmente suas formas resistentes, vêm demonstrando avanços nos últimos anos. O *pipeline* de candidatos a fármacos que atualmente estão em estudos clínicos, como por exemplo delamanida, sutezolida, pretomanida, SQ109 e Q203 demonstra que a pesquisa em tuberculose tem atraído o interesse das indústrias farmacêuticas e universidades, através do estabelecimento de redes colaborativas e parcerias envolvendo diversos países. Entretanto, o surgimento de cepas resistentes à compostos recém descobertos é ainda uma preocupação imensa das autoridades de saúde ao redor do mundo e que justificam a busca de novos fármacos que sejam efetivos e seguros. Nesse contexto, a busca por novos alvos moleculares e o planejamento de novos compostos com mecanismo de ação inovador é crucial para o sucesso da terapia das formas resistentes da tuberculose. Assim, nesta revisão, são apresentados os recentes avanços da Química Medicinal na busca de novos alvos terapêuticos contra *Mycobacterium tuberculosis*. Entre os alvos apresentados se destacam: a) aqueles envolvidos com a biossíntese da parede celular (decaprenilfosforil- β -D-ribose 20-epimerase (DprE); ácidos graxos sintases (FASs); policetídeos sintases (PKSs); 2-trans-enoil-acil redutase (InhA); acil-AMP ligase (FadD32); b) alvos envolvidos com a geração de energia (subunidade b do citocromo (QcrB); NADH desidrogenase tipo-II (NDH-2); c) alvos envolvidos com o metabolismo do ferro (enzima formadora de adenilato (MbtA); proteína de membrana de micobactéria (MmpL3); d) DNA girase e topoisomerase I; e) CLPP protease e f) outros alvos (enzima aspartil-tRNA sintetase (AspS); enzima nicotinamida adenina dinucleótido sintetase (NadE); enzima MptpB fosfatase; enzima acetohidroxiácido sintase (AHAS); enzima dihidrofolato redutase (DHFR).

Dos alvos apresentados foi possível identificar que aqueles envolvidos com a geração de energia e metabolismo de ferro apresentaram os compostos mais potentes com valores de MIC_{90} inferiores a 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$, mostrando a importância dessas vias na sobrevivência da micobactéria. Além disso, muitos desses compostos foram ativos contra cepas multirresistentes.

Observa-se ainda nos últimos anos que a comunidade científica vem caracterizando majoritariamente a atividade antituberculose de novos compostos em estudos envolvendo avaliação fenotípica utilizando células micobacterianas inteiras. Após a identificação de compostos promissores é que se caracterizam os alvos moleculares através de estudos de proteômica e transcriptômica. Essa abordagem

parece ser mais efetiva na identificação de alvos que são posteriormente validados através de abordagens genéticas em estudos *in vitro* e *in vivo*.

Este artigo de revisão busca retratar os avanços na pesquisa de novos alvos para tuberculose nos últimos dez anos, bem como apresentar os compostos mais ativos identificados com valores de MIC_{90} inferiores a 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Desta forma, pretende-se fomentar na comunidade científica a busca por novas alternativas terapêuticas que reduzam o tempo de tratamento, aumentem a eficácia e diminuam a resistência.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo FAPESP: 2014/02240-1; 2014/24811-0).

REFERÊNCIAS

- World Health Organization; *Global Tuberculosis Report*, 2013.
- World Health Organization *Global Tuberculosis Report*, 2014 (WHO/HTM/TB/2014.08).
- World Health Organization *Global Tuberculosis Report*, 2015.
- Lapausa, R. M.; Pareja, J. F. P.; Asensio, A.; *Med. Clin.* **2013**, *141*, 306.
- Klopper, M.; Warren, R. M.; Hayes, C.; van Pittius, N. C. G.; Streicher, E. M.; Muller, B.; Sirgel, F. A.; Chabula-Nxiweni, M.; Hoosain, E.; Coetzee, G.; van Helden, P. D.; Victor, T. C.; Trollip, A. P.; *Emerg. Infect. Dis.* **2013**, *19*, 449.
- Slomski, A.; *J. Am. Med. Assoc.* **2013**, *309*, 1097.
- Koul, A.; Arnoult, E.; Lounis, N.; Guillemont, J.; Andries, K.; *Nature* **2011**, *469*, 483.
- Ma, Z.; Lienhardt, C.; McIlleron, H.; Nunn, A. J.; Wang, X.; *Lancet* **2010**, *375*, 2100.
- Fernandes, G. F. S.; Jornada, D. H.; Souza, P. C.; Man Chin, C.; Pavan, F. R.; Santos, J. L.; *Curr. Med. Chem.* **2015**, *22*, 3133.
- Pai, M.; Behr, M. A.; Dowdy, D.; Dheda, K.; Divangahi, M.; Boehme, C. C.; Ginsberg, A.; Swaminathan, S.; Spigelman, M.; Getahun, H.; Menzies, D.; Ravignone, M.; *Nature Reviews Disease Primers* **2016**, *2*, 1.
- Branco, F. S. C.; Pinto, A. C.; Boechat, N.; *Rev. Virtual Quim.* **2012**, *4*, 287.
- Branco, F. S. C.; Pinto, A. C.; Boechat, N.; *Curr. Top. Med. Chem.* **2013**, *13*, 2808.
- Ahn, S.; Jiricek, J.; Jung, J.; Jeon, H. K.; Cechetto, J.; Christophe, T.; Lee, H.; Kempf, M.; Jackson, M.; Lenaerts, A. J.; Pham, H.; Jones, V.; Seo, M. J.; Kim, Y. M.; Seo, M.; Seo, J. J.; Park, D.; Ko, Y.; Choi, I.; Kim, R.; Kim, S. Y.; Lim, S.; Yim, S.-A.; Nam, J.; Kang, H.; Kwon, H.; Oh, C.-T.; Cho, Y.; Jang, Y.; Kim, J.; Chua, A.; Tan, B. H.; Nanjundappa, M. B.; Rao, S. P. S.; Barnes, W. S.; Wintjens, R.; Walker, J. R.; Alonso, S.; Lee, S.; Kim, J.; Oh, S.; Oh, T.; Nehrass, U.; Han, S.-J.; No, Z.; Lee, J.; Brodin, P.; Cho, S.-N.; Nam, K.; Kim, J.; *Nat. Med.* **2013**, *19*, 1157.

14. Wallis, R. S.; Dawson, R.; Friedrich, S. O.; Venter, A.; Paige, D.; Zhu, T.; Silvia, A.; Gobey, J.; Ellery, C.; Zhang, Y.; Eisenach, K.; Miller, P.; Diacon, A. H.; *PLoS One* **2014**, *9*, e94462.
15. Ryan, N. J.; Lo, J. H.; *Drugs* **2014**, *74*, 1041.
16. Ginsberg, A. M.; Laurenzi, M. W.; Rouse, D. J.; Whitney, K. D.; Spigelman, M. K.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 3720.
17. Souza, M. V. N. de; Vasconcelos, T. R. A.; *Quim. Nov.* **2005**, *28*, 678.
18. Zumla, A.; Nahid, P.; Cole, S. T.; *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, *12*, 388.
19. Bloemberg, G. V.; Keller, P. M.; Stucki, D.; Trauner, A.; Borrell, S.; Latshang, T.; Coscolla, M.; Rothe, T.; Hömke, R.; Ritter, C.; Feldmann, J.; Schulthess, B.; Gagneux, S.; Böttger, E. C.; *N. Engl. J. Med.* **2015**, *373*, 1986.
20. Zhang, S.; Chen, J.; Cui, P.; Shi, W.; Shi, X.; Niu, H.; Chan, D.; Yew, W. W.; Zhang, W.; Zhang, Y.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2016**, *60*, 2542.
21. Segala, E.; Sougakoff, W.; Nevejans-Chauffour, A.; Jarlier, V.; Petrella, S.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, *56*, 2326.
22. Oliveira, C. G.; Miyata, M.; Pavan, F. R.; Leite, C. Q. F.; Almeida, E. T.; Deflon, V. M.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2014**, *25*, 1848.
23. Pavan, F. R.; Leite, C. Q. F.; Batista, A. a; Back, D. F.; Lang, E. S.; Ellena, J.; Salistre-de-Araujo, H. S.; Deflon, V. M.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, *21*, 1177.
24. Samadhiya, P.; Sharma, R.; Srivastava, S. K.; Srivastava, S. D.; *Quim. Nov.* **2012**, *35*, 914.
25. Cardoso, S. H.; De Assis, J. V.; De Almeida, M. V.; Lourenço, M. C. S.; Vicente, F. R. C.; De Souza, M. V. N.; *Quim. Nov.* **2009**, *32*, 1557.
26. Gallardo, H.; Conte, G.; Bryk, F.; Lourenço, M. C. S.; Costa, M. S.; Ferreira, V. F.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2007**, *18*, 1285.
27. Fernandes, G. F.; Souza, P. C.; Marino, L. B.; Chegaev, K.; Guglielmo, S.; Lazzarato, L.; Fruttero, R.; Chung, M. C.; Pavan, F. R.; Santos, J. L.; *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *123*, 523.
28. Baldwin, P. R.; Reeves, A. Z.; Powell, K. R.; Napier, R. J.; Swimm, A. I.; Sun, A.; Giesler, K.; Bommarius, B.; Shinnick, T. M.; Snyder, J. P.; Liotta, D. C.; Kalman, D.; *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *92*, 693.
29. Hernández, P.; Rojas, R.; Gilman, R. H.; Sauvain, M.; Lima, L. M.; Barreiro, E. J.; González, M.; Cerecetto, H.; *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *59*, 64.
30. Moreth, M.; Ornelas, D.; Gomes, C. R. B.; De Souza, M. V. N.; *Rev. Virtual Quim.* **2010**, *2*, 105.
31. Santos, J. L.; Yamasaki, P. R.; Chin, C. M.; Takashi, C. H.; Pavan, F. R.; Leite, C. Q. F.; *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 3795.
32. Cardoso, S. H.; Barreto, M. B.; Lourenço, M. C. S.; Graças, M. das; Henriques, M. de O.; Candéa, A. L. P.; Kaiser, C. R.; De Souza, M. V. N.; *Chem. Biol. Drug Des.* **2011**, *77*, 489.
33. Lourenço, M. C. S.; Vicente, F. R.; Henriques, M. G. M. de O.; Candéa, A. L. P.; Gonçalves, R. S. B.; Nogueira, T. C. M.; Ferreira, M. L.; De Souza, M. V. N.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 6895.
34. Almeida, M. V. de; Saraiva, M. F.; De Souza, M. V. N.; Costa, C. F.; Vicente, F. R. C.; Lourenço, M. C. S.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 5661.
35. Candéa, A. L. P.; Ferreira, M. L.; Pais, K. C.; Cardoso, L. N. F.; Kaiser, C. R.; Henriques, M. G. M. O.; Lourenço, M. C. S.; Bezerra, F. A. F. M.; De Souza, M. V. N.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 6272.
36. De Souza, M. V. N.; Pais, K. C.; Kaiser, C. R.; Peralta, M. A.; Ferreira, M. L.; Lourenço, M. C. S.; *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 1474.
37. Lourenço, M. C. S.; Ferreira, M. L.; De Souza, M. V. N.; Peralta, M. A.; Vasconcelos, T. R. A.; Henriques, M. G. M. O.; *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1344.
38. Santivañez-Veliz, M.; Pérez-Silanes, S.; Torres, E.; Moreno-Viguri, E.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 2188.
39. Boechat, N.; Bastos, M. M.; *Curr. Top. Med. Chem.* **2013**, *13*, 2885.
40. Cooper, C. B.; *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 7755.
41. Wyatt, P. G.; Gilbert, I. H.; Read, K. D.; Fairlamb, A. H.; *Curr. Top. Med. Chem.* **2011**, *11*, 1275.
42. Schnappinger, D.; O'Brien, K.M.; Ehrhart, S.; *Methods. Mol. Biol.* **2015**, *1285*, 151.
43. Wyatt, P.G.; Gilbert, I.H.; Read, K.D.; Fairlamb, A.; *Curr. Top. Med. Chem.* **2011**, *11*, 1275.
44. Swinney, D.C.; Anthony, J.; *Nat. Rev. Drug Discov.* **2011**, *10*, 507.
45. Stanley, S. a; Kawate, T.; Iwase, N.; Shimizu, M.; Clatworthy, A. E.; Kazyanskaya, E.; Sacchetti, J. C.; Ioerger, T. R.; Siddiqi, N. a; Minami, S.; Aquadro, J. a; Grant, S. S.; Rubin, E. J.; Hung, D. T.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2013**, *110*, 11565.
46. Rao, S. P. S.; Lakshminarayana, S. B.; Kondreddi, R. R.; Herve, M.; Camacho, L. R.; Bifani, P.; Kalapala, S. K.; Jiricek, J.; Ma, N. L.; Tan, B. H.; Ng, S. H.; Nanjundappa, M.; Ravindran, S.; Seah, P. G.; Thayalan, P.; Lim, S. H.; Lee, B. H.; Goh, A.; Barnes, W. S.; Chen, Z.; Gagaring, K.; Chatterjee, A. K.; Pethe, K.; Kuhnen, K.; Walker, J.; Feng, G.; Babu, S.; Zhang, L.; Blasco, F.; Beer, D.; Weaver, M.; Dartois, V.; Glynne, R.; Dick, T.; Smith, P. W.; Diagan, T. T.; Manjunatha, U. H.; *Sci. Transl. Med.* **2013**, *5*, 214ra168.
47. Sacchetti, J. C.; Rubin, E. J.; Freundlich, J. S.; *Nat. Rev. Microbiol.* **2008**, *6*, 41.
48. Pethe, K.; Bifani, P.; Jang, J.; Kang, S.; Park, S.; Ahn, S.; Jiricek, J.; Jung, J.; Jeon, H. K.; Cechetto, J.; Christophe, T.; Lee, H.; Kempf, M.; Jackson, M.; Lenaerts, A. J.; Pham, H.; Jones, V.; Seo, M. J.; Kim, Y. M.; Seo, M.; Seo, J. J.; Park, D.; Ko, Y.; Choi, I.; Kim, R.; Kim, J.; *Nat. Med.* **2013**, *19*, 1157.
49. Cooper, C. B.; *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 7755.
50. Lamichhane, G.; *Trends Mol. Med.* **2011**, *17*, 25.
51. Global Alliance for TB Drug Development Handbook of anti-tuberculosis agents. *Tuberculosis* **2008**, *88*, 85.
52. Singh, V.; Mizrahi, V.; *Drug Discov. Today* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2016.09.010>.
53. Makarov, V.; Manina, G.; Mikusova, K.; Möllmann, U.; Ryabova, O.; Saint-Joanis, B.; Dhar, N.; Pasca, M. R.; Buroni, S.; Lucarelli, A. P.; Milano, A.; De Rossi, E.; Belanova, M.; Bobovska, A.; Dianiskova, P.; Kordulakova, J.; Sala, C.; Fullam, E.; Schneider, P.; McKinney, J. D.; Brodin, P.; Christophe, T.; Waddell, S.; Butcher, P.; Albrethsen, J.; Rosenkrands, I.; Brosch, R.; Nandi, V.; Bharath, S.; Gaonkar, S.; Shandil, R. K.; Balasubramanian, V.; Balganes, T.; Tyagi, S.; Grosset, J.; Riccardi, G.; Cole, S. T.; *Science* **2009**, *324*, 801.
54. Brecik, M.; Centárová, I.; Mukherjee, R.; Kolly, G. S.; Huszár, S.; Bobovská, A.; Kilacsková, E.; Mokošová, V.; Svetlíková, Z.; Šarkan, M.; Neres, J.; Korduláková, J.; Cole, S. T.; Mikušová, K.; *ACS Chem. Biol.* **2015**, *10*, 1631.
55. Riccardi, G.; Pasca, M. R.; Chiarelli, L. R.; Manina, G.; Mattevi, A.; Binda, C.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2013**, *97*, 8841.
56. Christophe, T.; Jackson, M.; Hee, K. J.; Fenistein, D.; Contreras-Dominguez, M.; Kim, J.; Genovesio, A.; Carralot, J. P.; Ewann, F.; Kim, E. H.; Lee, S. Y.; Kang, S.; Seo, M. J.; Eun, J. P.; Škovierová, H.; Pham, H.; Riccardi, G.; Youn, N. J.; Marsollier, L.; Kempf, M.; Joly-Guillou, M. L.; Oh, T.; Won, K. S.; No, Z.; Nehrass, U.; Brosch, R.; Cole, S. T.; Brodin, P.; *PLoS Pathog.* **2009**, *5*, e1000645.
57. Stanley, S. a; Grant, S. S.; Kawate, T.; Iwase, N.; Shimizu, M.; Wivagg, C.; Silvis, M.; Kazyanskaya, E.; Aquadro, J.; Golas, A.; Fitzgerald, M.; Dai, H.; Zhang, L.; Hung, D. T.; *ACS Chem. Biol.* **2012**, *7*, 1377.
58. Panda, M.; Ramachandran, S.; Ramachandran, V.; Shirude, P. S.; Humnabadkar, V.; Nagalapuri, K.; Sharma, S.; Kaur, P.; Gupta, S.; Narayan, A.; Mahadevaswamy, J.; Ambady, A.; Hegde, N.; Rudrapatna, S. S.; Hosagrahara, V. P.; Sambandamurthy, V. K.; Raichurkar, A.; *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 4761.
59. Gavalda, S.; Léger, M.; van der Rest, B.; Stella, A.; Bardou, F.; Montrozier, H.; Chalut, C.; Bulet-Schiltz, O.; Marrakchi, H.; Daffé, M.; Quémard, A.; *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 19255.
60. Galandrin, S.; Guillet, V.; Rane, R. S.; Léger, M.; N, R.; Eynard, N.;

- Das, K.; Balganes, T. S.; Mourey, L.; Daffé, M.; Marrakchi, H.; *J. Biol. Screen.* **2013**, *18*, 576.
61. Kawate, T.; Iwase, N.; Shimizu, M.; Stanley, S. A.; Wellington, S.; Kazyanskaya, E.; Hung, D. T.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 6052.
62. Wilson, R.; Kumar, P.; Parashar, V.; Vilchêze, C.; Veyron-Churllet, R.; Freundlich, J. S.; Barnes, S. W.; Walker, J. R.; Szymonifka, M. J.; Marchiano, E.; Shenai, S.; Colangeli, R.; Jacobs, W. R.; Neiditch, M. B.; Kremer, L.; Alland, D.; *Nat. Chem. Biol.* **2013**, *9*, 499.
63. Thanna, S.; Knudson, S. E.; Grzegorzewicz, A.; Kapil, S.; Goins, C. M.; Ronning, D. R.; Jackson, M.; Slayden, R. A.; Sucheck, S. J.; *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 6119.
64. Vilchêze, C.; Jacobs, W. R.; *Annu. Rev. Microbiol.* **2007**, *61*, 35.
65. Marrakchi, H.; Lanéelle, G.; Quémar, A.; *Microbiology* **2000**, *146*, 289.
66. Martínez-Hoyos, M.; Perez-Herran, E.; Gulten, G.; Encinas, L.; Álvarez-Gómez, D.; Alvarez, E.; Ferrer-Bazaga, S.; García-Pérez, A.; Ortega, F.; Angulo-Barturen, I.; Rullas-Trincado, J.; Ruano, D. B.; Torres, P.; Castañeda, P.; Huss, S.; Menéndez, R. F.; del Valle, S. G.; Ballell, L.; Barros, D.; Modha, S.; Dhar, N.; Signorino-Gelo, F.; McKinney, J. D.; García-Bustos, J. F.; Lavandera, J. L.; Sacchetti, J. C.; Jimenez, M. S.; Martín-Casabona, N.; Castro-Pichel, J.; Mendoza-Losana, A.; *EBioMedicine* **2016**, *8*, 291.
67. Chollet, A.; Mori, G.; Menendez, C.; Rodriguez, F.; Fabing, I.; Pasca, M. R.; Madacki, J.; Kordulakova, J.; Constant, P.; Quemard, A.; Bernardes-Genisson, V.; Lherbet, C.; Baltas, M.; *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *101*, 218.
68. Shirude, P. S.; Madhavapeddi, P.; Naik, M.; Murugan, K.; Shinde, V.; Nandishai, R.; Bhat, J.; Kumar, A.; Hameed, S.; Holdgate, G.; Davies, G.; McMiken, H.; Hegde, N.; Ambady, A.; Venkatraman, J.; Panda, M.; Bandodkar, B.; Sambandamurthy, V. K.; Read, J. A.; *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 8533.
69. Pajk, S.; Živec, M.; Šink, R.; Sosič, I.; Neu, M.; Chung, C.; Martínez-Hoyos, M.; Pérez-Herrán, E.; Álvarez-Gómez, D.; Álvarez-Ruiz, E.; Mendoza-Losana, A.; Castro-Pichel, J.; Barros, D.; Ballell-Pages, L.; Young, R. J.; Convery, M. A.; Encinas, L.; Gobe, S.; *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *112*, 252.
70. Stec, J.; Vilchêze, C.; Lun, S.; Perryman, A. L.; Wang, X.; Freundlich, J. S.; Bishai, W.; Jacobs, W. R.; Kozikowski, A. P.; *ChemMedChem* **2014**, *9*, 2528.
71. Maeda, K.; Kosaka, H.; Okami, Y.; Umezawa, H.; *J. Antibiot.* **1953**, *6*, 140.
72. Hartkoorn, R. C.; Sala, C.; Neres, J.; Pojer, F.; Magnet, S.; Mukherjee, R.; Uplekar, S.; Boy-Röttger, S.; Altmann, K.-H.; Cole, S. T.; *EMBO Mol. Med.* **2012**, *4*, 1032.
73. Kumar, U. C.; BVS, S. K.; Mahmood, S.; D, S.; Kumar-Sahu, P.; Pulakanam, S.; Ballell, L.; Alvarez-Gomez, D.; Malik, S.; JARP, S.; *Future Med. Chem.* **2013**, *5*, 249.
74. Pauli, I.; Dos Santos, R. N.; Rostirola, D. C.; Martinelli, L. K.; Ducati, R. G.; Timmers, L. F. S. M.; Basso, L. A.; Santos, D. S.; Guido, R. V. C.; Andricopulo, A. D.; De Souza, O. N.; *J. Chem. Inf. Model.* **2013**, *53*, 2390.
75. Mahajan, R.; *Int. J. Appl. Basic Med. Res.* **2013**, *3*, 1.
76. Zhang, Y.; Wade, M. M.; Scorpio, A.; Zhang, H.; Sun, Z.; *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *52*, 790.
77. Abrahams, K. A.; Cox, J. G.; Spivey, V. L.; Loman, N. J.; Pallen, M. J.; Constantinidou, C.; Fernández, R.; Alemparte, C.; Remuñán, M. J.; Barros, D.; Ballell, L.; Besra, G. S.; *PLoS One* **2012**, *7*, e2951.
78. Matsoso, L. G.; Kana, B. D.; Crellin, P. K.; Lea-smith, D. J.; Pelosi, A.; Powell, D.; Dawes, S. S.; Rubin, H.; Coppel, R. L.; Mizrahi, V.; *J. Bacteriol.* **2005**, *187*, 6300.
79. Arora, K.; Ochoa-Montano, B.; Tsang, P. S.; Blundell, T. L.; Dawes, S. S.; Mizrahi, V.; Bayliss, T.; Mackenzie, C. J.; Cleghorn, L. A. T.; Ray, P. C.; Wyatt, P. G.; Uh, E.; Lee, J.; Barry, C. E.; Boshoff, H. I.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2014**, *58*, 6962.
80. Phummarin, N.; Boshoff, H. I.; Tsang, P. S.; Dalton, J.; Wiles, S.; Barry, C. E.; Copp, B. R.; *MedChemComm* **2016**, *7*, 2122.
81. Rybniker, J.; Vocat, A.; Sala, C.; Busso, P.; Pojer, F.; Benjak, A.; Cole, S. T.; *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 1.
82. Welage, L. S.; *Curr. Gastroenterol. Rep.* **2003**, *23*, 74.
83. van der Westhuyzen, R.; Winks, S.; Wilson, C. R.; Boyle, G. A.; Gessner, R. K.; de Melo, C. S.; Taylor, D.; Kock, C.; Njoroge, M.; Brunschwig, C.; Lawrence, N.; Rao, S. P. S.; Sirgel, F.; van Helden, P.; Seldon, R.; Moosa, A.; Warner, D. F.; Arista, L.; Manjunatha, U. H.; Smith, P. W.; Street, L. J.; Chibale, K.; *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 9371.
84. Arora, K.; Ochoa-Montaño, B.; Tsang, P. S.; Blundell, T. L.; Dawes, S. S.; Mizrahi, V.; Bayliss, T.; Mackenzie, C. J.; Cleghorn, L. A. T.; Ray, P. C.; Wyatt, P. G.; Uh, E.; Lee, J.; Barry, C. E.; Boshoff, H. I.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2014**, *58*, 6962.
85. Weinstein, E. A.; Yano, T.; Li, L.S.; Avarbock, D.; Avarbock, A.; Helm, D.; McColm, A. A.; Duncan, K.; Lonsdale, J. T.; Rubin, H.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2005**, *102*, 4548.
86. Yano, T.; Lin-Sheng, L.; Weinstein, E.; Teh, J. S.; Rubin, H.; *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 11456.
87. Sassetti, C. M.; Rubin, E. J.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, *100*, 12989.
88. Dunn, E. A.; Roxburgh, M.; Larsen, L.; Smith, R. A. J.; McLellan, A. D.; Heikal, A.; Murphy, M. P.; Cook, G. M.; *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 5320.
89. Shirude, P. S.; Paul, B.; Roy Choudhury, N.; Kedari, C.; Bandodkar, B.; Ugarkar, B. G.; *ACS Med. Chem. Lett.* **2012**, *3*, 736.
90. Ratledge, C.; *Tuberculosis* **2004**, *84*, 110.
91. Somu, R. V.; Boshoff, H.; Qiao, C.; Bennett, E. M.; Barry, C. E.; Aldrich, C. C.; *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 31.
92. De Voss, J.J.; Rutter, K.; Schroeder, B.G.; Su, H.; Zhu, Y.; Barry, C. E.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2000**, *97*, 1252.
93. Reddy, P.V.; Puri, R.V.; Chauhan, P.; Kar, R.; Rohilla, A.; Khera, A.; Tyagi, A. K.; *J. Infect. Dis.* **2013**, *208*, 1255.
94. Lun, S.; Guo, H.; Adamson, J.; Cisar, J. S.; Davis, T. D.; Chavadi, S. S.; Warren, D. J.; Quadri, L. E. N.; Tan, D. S.; Bishai, W. R.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, *57*, 5138.
95. Nelson, K. M.; Viswanathan, K.; Dawadi, S.; Duckworth, B. P.; Boshoff, H. I.; Barry, C. E.; Aldrich, C. C.; *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 5459.
96. M. Sloan Siegrist, Meera Unnikrishnan, Matthew J. McConnell, Mark Borowsky, Tan-Yun Cheng, Noman Siddiqi, Sarah M. Fortune, D. Branch Moody, E. J. R.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2009**, *106*, 18792.
97. Rodriguez, G. M.; Smith, I.; *J. Bacteriol.* **2006**, *188*, 424.
98. Mdluli, K.; Kaneko, T.; Upton, A.; *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2014**, *1323*, 56.
99. Pandey, R.; Rodriguez, G. M.; *Infect. Immun.* **2012**, *80*, 3650.
100. Pasca, M. R.; Guglielme, P.; De Rossi, E.; Zara, F.; Riccardi, G.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 4775.
101. Jain, M.; Cox, J. S.; *PLoS Pathog.* **2005**, *1*, 12.
102. Wells, R. M.; Jones, C. M.; Xi, Z.; Speer, A.; Danilchanka, O.; Doornbos, K. S.; Sun, P.; Wu, F.; Tian, C.; Niederweis, M.; *PLoS Pathog.* **2013**, *9*, e1003120.
103. Domenech, P.; Reed, M. B.; Dowd, C. S.; Manca, C.; Kaplan, G.; Barry, C. E.; *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 21257.
104. La Rosa, V.; Poce, G.; Canseco, J. O.; Buroni, S.; Pasca, M. R.; Biava, M.; Raju, R. M.; Porretta, G. C.; Alfonso, S.; Battilocchio, C.; Javid, B.; Sorrentino, F.; Ioerger, T. R.; Sacchetti, J. C.; Manetti, F.; Botta, M.; De Logu, A.; Rubin, E. J.; De Rossi, E.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, *56*, 324.
105. Brown, J. R.; North, E. J.; Hurdle, J. G.; Morisseau, C.; Scarborough, J. S.; Sun, D.; Korduláková, J.; Scherman, M. S.; Jones, V.; Grzegorzewicz, A.; Crew, R. M.; Jackson, M.; McNeil, M. R.; Lee, R. E.; *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 5585.

106. North, E. J.; Scherman, M. S.; Bruhn, D. F.; Scarborough, J. S.; Maddox, M. M.; Jones, V.; Grzegorzewicz, A.; Yang, L.; Hess, T.; Morisseau, C.; Jackson, M.; McNeil, M. R.; Lee, R. E.; *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 2587.
107. Remuñián, M. J.; Pérez-Herrán, E.; Rullás, J.; Alemparte, C.; Martínez-Hoyos, M.; Dow, D. J.; Afari, J.; Mehta, N.; Esquivias, J.; Jiménez, E.; Ortega-Muro, F.; Fraile-Gabaldón, M. T.; Spivey, V. L.; Loman, N. J.; Pallen, M. J.; Constantinidou, C.; Minick, D. J.; Cacho, M.; Rebollo-López, M. J.; González, C.; Sousa, V.; Angulo-Barturen, I.; Mendoza-Losana, A.; Barros, D.; Besra, G. S.; Ballell, L.; Cammack, N.; *PLoS One* **2013**, *8*, e60933.
108. Miotto, P.; Cirillo, D.M.; Migliori, G. B.; *Chest* **2015**, *147*, 1135.
109. Zignol, M.; Dara, M.; Dean, A.S.; Falzon, D.; Dadu, A.; Kremer, K.; Hoffmann, H.; Hoffner, S.; Floyd, K.; *Drug Resist Updates* **2013**, *16*, 108.
110. Renuka, J.; Indrasena, K.; Srihari, K.; Ullas, V.; Shraavan, M.; Padma, J.; Yogeewari, P.; Sudhakar, K.; Sriram, D.; *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 4924.
111. Kale, M. G.; Raichurkar, A.; Shahul Hameed, P.; Waterson, D.; McKinney, D.; Manjunatha, M. R.; Kranthi, U.; Koushik, K.; Jena, L. K.; Shinde, V.; Rudrapatna, S.; Barde, S.; Humnabadkar, V.; Madhavapeddi, P.; Basavarajappa, H.; Ghosh, A.; Ramya, V.; Guptha, S.; Sharma, S.; Vachaspati, P.; Kumar, K. N. M.; Giridhar, J.; Reddy, J.; Panduga, V.; Ganguly, S.; Ahuja, V.; Gaonkar, S.; Kumar, C. N. N.; Ogg, D.; Tucker, J. a.; Boriack-Sjodin, P. A.; De Sousa, S. M.; Sambandamurthy, V. K.; Ghorpade, S. R.; *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 8834.
112. Godbole, A. A.; Leelaram, M. N.; Bhat, A.; Jain, P.; Nagaraja, V.; *Arch. Biochem. Biophys.* **2012**, *528*, 197.
113. Ravishankar, S.; Ambady, A.; Awasthy, D.; Mudugal, N. V.; Menasinakai, S.; Jatheendranath, S.; Guptha, S.; Sharma, S.; Balakrishnan, G.; Nandishaiyah, R.; Ramachandran, V.; Eyermann, C. J.; Reck, F.; Rudrapatna, S.; Sambandamurthy, V. K.; Sharma, U. K.; *Tuberculosis* **2015**, *95*, 589.
114. Raju, R. M.; Unnikrishnan, M.; Rubin, D. H. F.; Krishnamoorthy, V.; Kandror, O.; Akopian, T. N.; Goldberg, A. L.; Rubin, E. J.; *PLoS Pathog.* **2012**, *8*, e1002511.
115. Baker, T. A.; Sauer, R. T.; *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Res.* **2012**, *1823*, 15.
116. Schmitt, E. K.; Riwanto, M.; Sambandamurthy, V.; Roggo, S.; Mialut, C.; Zwingelstein, C.; Krastel, P.; Noble, C.; Beer, D.; Rao, S. P. S.; Au, M.; Niyomrattanakit, P.; Lim, V.; Zheng, J.; Jeffery, D.; Pethe, K.; Camacho, L. R.; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2011**, *50*, 5889.
117. Vasudevan, D.; Rao, S. P. S.; Noble, C. G.; *J. Biol. Chem.* **2013**, *288*, 30883.
118. Gersch, M.; Gut, F.; Korotkov, V. S.; Lehmann, J.; Böttcher, T.; Rusch, M.; Hedberg, C.; Waldmann, H.; Klebe, G.; Sieber, S. A.; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2013**, *52*, 3009.
119. Compton, C. L.; Schmitz, K. R.; Sauer, R. T.; Sello, J. K.; *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 2669.
120. Gao, W.; Kim, J.; Chen, S.; Cho, S.; Choi, J.; Jaki, B. U.; Jin, Y.; Lankin, D. C.; Lee, J.; Lee, S.; Mcalpine, J. B.; Napolitano, J. G.; Franzblau, S. G.; Suh, J.; Pauli, G. F.; *Org. Lett.* **2014**, *16*, 6044.
121. Gao, W.; Kim, J.; Anderson, J. R.; Akopian, T.; Hong, S.; Jin, Y.; Kandror, O.; Kim, J.; Lee, I.; Lee, S.; Mcalpine, J. B.; Mulugeta, S.; Sunoqrot, S.; Wang, Y.; Yang, S.; Yoon, T.; Goldberg, A. L.; Pauli, G. F.; Suh, J.; Franzblau, S. G.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2015**, *59*, 880.
122. Gurucha, S. S.; Usha, V.; Cox, J. A. G.; Fu, K.; Abrahams, K. A.; Bhatt, A.; Alderwick, L. J.; Reynolds, R. C.; Loman, N. J.; Nataraj, V.; Alemparte, C.; Barros, D.; Lloyd, A. J.; Ballell, L.; Hobrath, J. V.; Besra, G. S.; *PLoS One* **2014**, *9*, e113568.
123. Rodionova, I. A.; Schuster, B. M.; Guinn, K. M.; Sorci, L.; Scott, D. A.; Li, X.; Kheterpal, I.; Shoen, C.; Cynamon, M.; Locher, C.; Rubin, E. J.; Osterman, A. L.; *mBio* **2014**, *5*, 1.
124. Kim, J.H.; O'Brien, K. M.; Sharma, R.; Boshoff, H. I. M.; Rehren, G.; Chakraborty, S.; Wallach, J. B.; Monteleone, M.; Wilson, D. J.; Aldrich, C. C.; Barry, C. E.; Rhee, K. Y.; Ehrst, S.; Schnappinger, D.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2013**, *110*, 19095.
125. Beresford, N.; Mulhearn, D.; Szczepankiewicz, B.; Liu, G.; Johnson, M. E.; Fordham-Skelton, A.; Abad-Zapatero, C.; Cavet, J. S.; Taberner, L.; *J. Antimicrob. Chemother.* **2009**, *63*, 928.
126. He, Y.; Xu, J.; Yu, Z.; Gunawan, A. M.; Wu, L.; Wang, L.; Zhang, Z.; *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 832.
127. McCourt, J. A.; Duggleby, R. G.; *Amino Acids* **2006**, *31*, 173.
128. Grandoni, J. A.; Marta, P. T.; Schloss, J. V.; *J. Antimicrob. Chemother.* **1998**, *42*, 475.
129. Choi, K. J.; Yeon, G. Y.; Hoh, G. H.; Choi, J. Do; Yoon, M. Y.; *FEBS Lett.* **2005**, *579*, 4903.
130. Lu, W.; Baig, I. A.; Sun, H. J.; Cui, C. J.; Guo, R.; Jung, I. P.; Wang, D.; Dong, M.; Yoon, M. Y.; Wang, J. G.; *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *94*, 298.
131. Blakley, R. L.; *Advan. Enzym. Relat. Areas Mol. Biol* **1995**, *70*, 23.
132. White, E. L.; Ross, L. J.; Cunningham, A.; Escuyer, V.; *FEMS Microbiol. Lett.* **2004**, *232*, 101.
133. Robson, C.; Meek, M. A.; Grunwaldt, J. D.; Lambert, P. A.; Queener, S. F.; Schmidt, D.; Griffin, R. J.; *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3040.
134. Hong, W.; Wang, Y.; Chang, Z.; Yang, Y.; Pu, J.; Sun, T.; Kaur, S.; Sacchetti, J. C.; Jung, H.; Lin Wong, W.; Fah Yap, L.; Fong Ngeow, Y.; Paterson, I. C.; Wang, H.; *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 1.
135. Kumar, A.; Zhang, M.; Zhu, L.; Liao, R. P.; Mutai, C.; Hafsat, S.; Sherman, D. R.; Wang, M. W.; *PLoS One* **2012**, *7*, e39961.