

## دراسة نمذجة جزيئية لتأثير مجموعة من المركبات المستحصلة لبعض الزيوت العطرية على إنزيم KAS I في جراثيم السل

د. هاني سليم<sup>1</sup>      ثناء مراد<sup>2</sup>  
رغد التركماني<sup>3</sup>      ليلاس عروب<sup>3</sup>

### الملخص:

الهدف: إجراء دراسة نمذجة جزيئية على مجموعة من المركبات المستحصلة من الزيوت العطرية من أجل اكتشاف مركبات طبيعية مضادة لعصيات السل. المواد والطرائق: تمت عملية النمذجة الجزيئية بواسطة برنامج iGemdock باستخدام المعيار Standard Docking . حيث تطلبت تحميل بنية الإنزيم الهدف KAS I من موقع Protein Data Bank و تم جمع صيغ المركبات الكيميائية ل 89 مركب مستخلص من الزيوت العطرية من موقع Pubchem وتم رسم الصيغ ببرنامج ChemDraw ومن ثم تمت عملية الارساء Docking بين الإنزيم الهدف KAS I والمركبات المدروسة، وبالإضافة إلى ذلك تم تطبيق قواعد لايبينسكي وفبير على مجموعة المركبات المدروسة من أجل التنبؤ بالتوافر الحيوي لهذه المركبات. حيث تم جمع بيانات هاتين القاعدتين من موقع Pubchem . النتائج: أظهرت النتائج أن 19 مركب حقق طاقة ارتباط أعلى من طاقة ارتباط المركب العياري وتشير هذه النتائج إلى أنه من الممكن اقتراحها كمركبات مضادة لجراثيم السل. الخلاصة: إن هذه الدراسة النظرية ألفت الضوء على بعض المركبات الطبيعية منها Apiginin، Arachidic Acid، Oleic Acid، Stearic acid الموجودة في بعض الزيوت العطرية والتي كانت ذات طاقات ارتباط مرتفعة مقارنة مع العياري حيث بلغت طاقته  $-78.1 \text{ KJ/mol}$ ، وبلغت طاقات ارتباط المركبات على التوالي  $(-104.81, -90.23, -89.62, -89.38)$  وبالتالي يمكن اعتبارها ركائز جديدة في استهداف العصيات والحد من مقاومتها العالية للصادات الحيوية المستخدمة.

**الكلمات المفتاحية:** النمذجة الجزيئية، المتقطرة السلية، mycolic acid، KAS I، الزيوت العطرية

1 أستاذ مساعد، قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية، كلية الصيدلة، الجامعة الوطنية الخاصة.

2 ماجستير كيمياء صيدلانية تطبيقية، قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية، كلية الصيدلة، الجامعة الوطنية الخاصة.

3 طلاب سنة خامسة، كلية الصيدلة، الجامعة الوطنية الخاصة.

## Molecular modeling study of the effect of a group of compounds extracted from some essential oils on the KAS I enzyme in tuberculosis bacteria

Prof. Hani salim<sup>1</sup>

Thanaa Mourad<sup>2</sup>

Raghad Al Trkmany<sup>3</sup>

Lilas Arroub<sup>3</sup>

### ABSTRACT:

**Objective:** Procedure a molecular modeling study on a group of compounds extracted from aromatic oils in order to discover natural compounds that are anti-Tuberculosis bacilli.

**Materials and Methods:** Molecular modeling was done by iGemdock software using Standard Docking. It required downloading the structure of the target enzyme KAS I from the Protein Data Bank website, and then the chemical compound formulas for 89 compounds extracted from essential oils were collected from the pubchem website. The formulas were drawn with the chemdraw program, and then the docking process was completed between the target enzyme KAS I and the studied compounds. In addition, the Applying Lepinski and Weber's rules to the group of studied compounds in order to predict the bioavailability of these compounds. Data for these two rules were collected from the Pubchem website..

**Results:** The results showed that 19 compounds achieved a higher binding energy than the standard compound. These results indicate that it is possible to formulate these compounds as anti-Tuberculosis drugs.

**Conclusion:** This theoretical study shed light on some natural compounds, including Apiginin, Stearic acid, Oleic Acid, and Arachidic Acid found in some essential oils, which had high binding energies compared to the standard ones, as their energy reached  $-78.1$  KJ/mol

and reached the binding energies of the compounds are respectively (-104.81, -90.23, -89.62, -89.38) and therefore they can be considered as new substrates in targeting bacilli and reducing their high resistance to the antibiotics used.

**KEYWORDS:** Molecular Modeling, Mycobacterium Tuberculosis, Mycolic acid, KAS I, Aromatic Oils.

---

1 assistant professor, Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control, College of Pharmacy, Al-Wataniya Private University.

2 MSc in Applied Pharmaceutical Chemistry, Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control, College of Pharmacy, Aleppo, Al-Wataniya Private University.

3 Fifth year students, College of Pharmacy, Al-Wataniya Private University.

## 1. مقدمة

استنادًا إلى مراكز السيطرة على الأمراض والوقاية منها يصاب حوالي ثمانية ملايين شخص حول العالم بمرض السل سنويًا، لذلك يعدّ السل (Tuberculosis(TB أحد أكثر الأمراض فتكًا في العالم(Lawn & Zumla, 2011)، حيث يُصنّف السل ضمن الأسباب العشرة الأولى للوفاة على المستوى العالمي (Shegaze et al., 2020)، وتعدّ المتقطرة السلّية العامل المسبب لمرض السل، على الرغم من أن المتقطرة السلّية تؤثر عادة على الرئتين (السل الرئوي)، فإنه يمكن أن تسبب المرض في أي عضو آخر(السل خارج الرئة)(Organization, 2021)، حيث تحدث أكثر من 15% من حالات السل على شكل عدوى خارج الرئة (Behr et al., 2019) قبل عقدين من الزمن، كان يُعتقد أن مرض السل أصبح تحت السيطرة وإنّ الأمر مجرد مسألة وقت قبل أن يتم استئصاله، اليوم، أعاد هذا المرض ترسيخ نفسه بسبب عدة عوامل أدت إلى عودة ظهور مرض السل مثل عدم الامتثال للأدوية، ظهور سلالات مقاومة للأدوية المتعددة، ووباء الإيدز (Takayama et al., 2005). إنّ أنظمة الأدوية المتاحة حاليًا والتي يتم استخدامها لعلاج السل ترتبط بـ: آثار جانبية ضارة على المرضى، و لها تكلفة عالية، بالإضافة إلى تطور المقاومة الجرثومية عليها، وبالتالي كانت هناك حاجة ماسة إلى اكتشاف أهداف دوائية جديدة مضادة للبكتيريا لمعالجة هذه المشكلة(Singh et al., 2022).

يعتبر اكتشاف المضادات الحيوية عاملاً هاماً ساهم في إنقاذ العديد من الأرواح، ففي السنوات الأخيرة تركزت الأبحاث على تطوير عوامل جديدة مضادة للجراثيم، والتي قد تعمل من خلال هدف جديد من أجل التغلب على مشكلة المقاومة والتخفيف من الآثار الجانبية الضارة. والهدف الواعد هو استهداف الإنزيمات المشاركة في تكوين الأحماض التي تدخل في اصطناع الجدار الخلوي الجرثومي حيث تعتبر أهدافاً مناسبة لاكتشاف عوامل جديدة مضادة لجراثيم السل (Bhatt et al., 2007). وفي الآونة الأخيرة تزايد الاهتمام بالزيوت العطرية بسبب تعدد استخداماتها وزيادة طلب المرضى على المنتجات الطبيعية لأنها آمنة ومتوفرة وبالتالي يمكن استخدامها في العديد من التطبيقات الطبية(2012, Doukas et al., 2010; Horrigan et al.)، لذلك تمت دراسة مكونات الزيوت العطرية كعوامل محتملة مضادة للميكروبات عن طريق استخدام تقنية النمذجة الجزيئية حيث شكلت ثورة في عالم تطوير الدواء لأنها تقوم بإجراء دراسة حاسوبية سريعة ومن ثم اختيار المركبات التي تعطي أفضل طاقة ارتباط بين النتائج حتى الوصول إلى مجموعة من المركبات من ضمنها المركب المثالي ويتلو ذلك إجراء الاصطناع الكيميائي لعدد من المركبات المنتقاة، ثم الاختبار الحيوي للمركبات المصنعة بهدف الوصول إلى المركب الدوائي المنشود





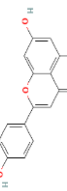
للدراستات السريرية اللاحقة (Ooms, 2000). وهي بذلك توفر بشكل كبير الوقت والتكلفة والجهد وتقدم مركبات دوائية آمنة و فعالة للمرضى بكفاءة أكبر (Sinha & Vohora, 2018).

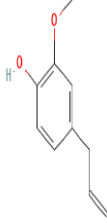
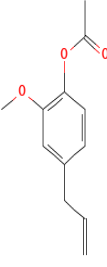

## 2. مواد البحث وطرائقه

1- **بنية المركب الهدف:** تم تحميل بنية الإنزيم الهدف KAS I وهو عبارة عن أحد إنزيمات مسار اصطناع الحموض الدسمة في جراثيم السل من موقع PDB ورمزه بالموقع هو 6p9L ، وهو ذو عامل دقة يبلغ  $2.31 \text{ \AA}$  ، و هو مرتبط مع ركيزة تم تصميمها من قبل العلماء بالأشعة السينية تدعى بـ 4-fluoro-N-(3-methyl-1H-indazol-5-butane-1-sulfonamid) (yl) و يرمز لها بـ JFX حيث سيتم اعتبارها على أنها المركب العياري الذي سيتم مقارنة جميع المركبات المدروسة معه و هو مركب كيميائي صناعي من مشتقات السلفوناميد إندازول و تم تطويره بعدما وجد أن مركب ثيوأكتومايسين (Thioactomycin) ذو ارتباط ضعيف (Sreenivasa et al., 2020).

2- **تحضير الصيغ الكيميائية:** أثارت مركبات الزيوت العطرية اهتماماً كبيراً مؤخراً بسبب تأثيراتها المفيدة المحتملة على صحة الإنسان، حيث تم دراسة عدة مركبات طبيعية مستخلصة من الزيوت العطرية واختيرت هذه الزيوت بناء على دراسات حديثة تؤكد على أهمية مكوناتها كمضادات حيوية (Elshafie & Camele, 2017; Sharifi-Rad et al., 2017) لذلك تم اجراء دراسة إحصائية مرجعية لأهم المركبات في الزيوت العطرية فكانت مجموعة المركبات المختارة لهذه الدراسة عبارة عن 89 مستخلص من الزيوت العطرية حيث تم جمع الصيغ الكيميائية لمركبات الزيوت العطرية من موقع Pubchem ورسمها بواسطة برنامج Chem 3D و تخفيض طاقتها للحصول على الشكل الفراغي الأمثل و حفظها باللاحقة 2 MOL من أجل استخدامها في برامج النمذجة التي يمكن أن تساعد على إيجاد مركبات جديدة و توضّح المركبات الأفضل ارتباطاً مع الإنزيم الهدف. تم تصميم مكتبة للمركبات المستخلصة من الزيوت العطرية المرشحة للدراسة من أجل القيام بإرسائها مع الإنزيم الهدف. كما هو موضح في الجدول (1) الذي يوضّح بعض الصيغ الكيميائية.

الجدول (1): الصيغ الكيميائية لبعض المركبات المدروسة

No	Oil or Plant Name	Compound Name	IUPAC Name	compound structure	Total energy (Kcal/mol)	Reference
1	Geranium Oil	Citronellyl Acetate	3,7-dimethyloct-6-enyl acetate		13.0791	(Gallardo et al., 2012)
2	Calamus Oil	$\alpha$ -Bisabolol	(2S)-6-methyl-2-[(1S)-4-methylcyclohex-3-en-1-yl]hept-5-en-2-ol		14,7954	(Liu et al., 2013; de Sousa Oliveira et al., 2017)
3	Mint Oil	Stearic Acid	octadecanoic acid		17.2158	(Zhao et al., 2022)
4	Moringa Oil	Oleic Acid	(Z)-octadec-9-enoic acid		9.0893	(Ekiert et al., 2020)
5	Chamomile Oil	Apigenin	5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one		14,4728	(Narayanankutty et al., 2021)

6	Cinnamon Oil	Eugenol	2-methoxy-4-prop-2-enylphenol		12,0059	(Narayanankutty et al., 2021; Marchese et al., 2017)
7	Clove Oil	Eugenol Acetate	(2-methoxy-4-prop-2-enylphenyl) acetate		13,9740	(Haro-González et al., 2021)
8	Clove Oil	Arachidic Acid	icosanoic acid		10,8124	(Haro-González et al., 2021; Das, 2018))

**3- مرحلة الإرساء:** تم إجراء عملية الإرساء بين المركبات المستخلصة من الزيوت العطرية والإنزيم KAS I عن طريق استخدام برنامج iGemDock الذي يقوم على التنبؤ بتشكيل الارتباط بين المركبات المدروسة وموقع الارتباط المستهدف على الإنزيم الهدف وذلك من خلال القيام بحسابات كمية دقيقة لطاقات الارتباط المختلفة.

### 3. النتائج ومناقشتها

استهدفت هذه الدراسة مسار اصطناع الحموض الدسمة عند العصيات السلبية باعتباره أهم مسلك يعطي مقاومة لهذه الجرثومة. وقد أظهرت نتائج النمذجة الجزيئية طاقات ارتباط تتراوح ما بين -48.64 و -104.81 KJ/mol وقد حقق تسعة عشر مركباً قيم طاقات ارتباط أعلى من العياري JFX الذي بلغت قيمته -78.1 KJ/mol ، كما تم دراسة مركب الإيزونيازيد مع المركبات الطبيعية باعتباره الخط العلاجي الأول لهذه الجرثومة حيث كانت قيمة طاقة ارتباطه -83.3 KJ/mol.







الجدول (2): يوضح المركبات التي حققت قواعد لايبينسكي وفيرير وأعطت قيم طاقة ارتباط مرتفعة مقارنة مع العياري

NO	Compound Name	Compound Formula	Molecular Weight (g/mol)	Log p	HB DONORS	HB Acceptors	RB	PSA (Å <sup>2</sup> )
1	Apiginin	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	270.24	1.7	3	5	1	87
2	α-Bisabolol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.37	3.8	1	1	4	20.2
3	Eugenol	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	164.20	2	1	2	3	29.5
4	Eugenol Acetate	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	206.24	2.3	0	3	5	35.5
5	Citronellyl Acetate	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	198.30	3.8	0	2	7	26.3
6	Arachidic Acid	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	312.5	8.5	1	2	18	37.3
7	Stearic Acid	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	284.5	7.4	1	2	16	37.3
8	Oleic Acid	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	282.5	6.5	1	2	15	37.3

**المناقشة:** استهدفت هذه الدراسة المقاومة الجرثومية عند عصيات السل و قد كان للنمذجة الجزيئية دور في التعرف على المركبات المحتملة كركائز جديدة للعلاج ضد العصيات حيث كانت قيم طاقات الارتباط تعبر عن ألفة المركبات للأنزيم و بالتالي كلما كانت طاقة الارتباط للمركب المدروس أعلى من المركب العياري كلما كانت فعاليته جيدة و لكن هذا بشكل نظري و قد حقق مركب Apiginin أعلى قيمة طاقة ارتباط من بين المركبات المدروسة حيث كانت قيمة طاقته 104.81- بالإضافة إلى أنه حقق قواعد لايبينسكي أي أن توافره الحيوي يعتبر جيداً و هو من الفلافونويدات حيث يتواجد في العديد من المستخلصات النباتية و منها زيت البابونج حيث يستخدم بشكل شائع كمضاد للجراثيم ومضاد أكسدة وفي دراسة إحصائية للباحث Ali وزملاؤه أظهرت أن للفلافونويدات دوراً مضاداً لعصيات السل (Rabaan et al., 2022). أما مركب α-Bisabolol فهو مركب سيسكو تربين كحولي موجود في عدة زيوت عطرية فقد حقق أيضاً قيمة طاقة ارتباط أعلى من المركب العياري حيث بلغت قيمة طاقته 88.52- وكذلك حقق قواعد لايبينسكي ومنه يمكن اعتباره أيضاً ركيزة جديدة للأنزيم الهدف ومضاد حيوي طبيعي ضد جراثيم السل، وتؤكد عدة دراسات على دوره كمضاد جرثومي ولكن تأثيره على عصيات السل غير مدروس حالياً (Pereira da Cruz et al., 2020). يتوفر مركب Eugenol Acetate في زيت القرفة و

زيت القرنفل أما مركب Eugenol فهو موجود بتركيز عالي في القرنفل و قد حقق كل منهما طاقة ارتباط 85.15- و 80.01- على التوالي وإن تحقيق هذين المركبين لقيم طاقة ارتباط عالية تجعل منهما ركيزتين مهمتين وبالتالي يمكن استخدامهما كمركبات مضادة لعصيات السل وخاصة أن توافرها الحيوي جيد وقد تمت دراسة هذين المركبين على عصيات السل من قبل الباحث Aryandene وزملائه من غير تحديد الهدف داخل الجراثيم (de Almeida et al., 2019). ولكن تبين في هذه الدراسة أن ارتباطهما جيد مع إنزيم KAS I مما قد يجعل منه آلية محتملة لتأثيره في تلك العصيات. كما أنه يوجد دراسات تؤكد دور المركب Citronellyl Acetate في زيادة نفوذية الصادات الحيوية داخل الخلية الجرثومية (Bhatti et al., 2014) و بما أنه أعطى طاقة ارتباط عالية حيث بلغت 78.14- و حقق شروط قواعد لايبينسكي فيمكن اقتراحه كمضاد حيوي لعلاج مرض السل. أما بالنسبة للحموض الدسمة: Arachidic Acid, Stearic acid, Oleic فقد حققت قيم طاقات ارتباط عالية أيضاً حيث كانت هذه القيم 89.62، -90.23، - Acid فقد حققت قيم طاقات ارتباط عالية أيضاً حيث كانت هذه القيم 89.62، -90.23، - LogP كان مرتفعاً نسبياً عند حساب قواعد لايبينسكي لذلك يعتبر انحلالها بالدم مرتفعاً وهناك العديد من الدراسات التي تؤكد على دورها في تعزيز اختراق الصادات الحيوية عبر الجدار الخلوي الجرثومي مما يجعل لها تأثيراً تآزرياً عند استخدامها مع هذه الصادات (Kanetsuna, 1985). وفي هذه الدراسة كان ارتباطهم مع الإنزيم الهدف أفضل من المركب العياري لذلك يمكن اقتراحها كمثبطات للإنزيم الهدف المدروس.

#### 4. الاستنتاجات

بينت هذه الدراسة أنه من الممكن اقتراح المركبات المستخلصة من الزيوت العطرية التي حققت نتائج جيدة كمركبات مضادة لعصيات السل واعتبارها كركائز جديدة للإنزيم الهدف وبالتالي يمكن أن تساعد في الحد من المقاومة الجرثومية للصادات الحيوية المستخدمة.

#### 5. المراجع

- [1] Behr, M. A., Edelstein, P. H., & Ramakrishnan, L. (2019). Is Mycobacterium tuberculosis infection life long? Bmj, 367.
- [2] Bhatt, A., Molle, V., Besra, G. S., Jacobs Jr, W. R., & Kremer, L. (2007). The Mycobacterium tuberculosis FAS-II condensing enzymes: their role in mycolic acid biosynthesis, acid-fastness, pathogenesis and in future drug development. Molecular microbiology, 64(6), 1442-1454 .

- [3] Bhatti, H. N., Khan, S. S., Khan, A., Rani, M., Ahmad, V. U., & Choudhary, M. I. (2014). Biotransformation of monoterpenoids and their antimicrobial activities. *Phytomedicine*, 21(12), 1597–1626 .
- [4] Das, U. N. (2018). Arachidonic acid and other unsaturated fatty acids and some of their metabolites function as endogenous antimicrobial molecules: A review. *Journal of advanced research*, 11, 57–66.
- [5] de Almeida, A. L., Caleffi–Ferracioli, K. R., de L Scodro, R. B., Baldin, V. P., Montaholi, D. C., Spricigo, L. F., Nakamura–Vasconcelos, S. S., Hegeto, L. A., Sampiron, E. G., & Costacurta, G. F. (2019). Eugenol and derivatives activity against *Mycobacterium tuberculosis*, nontuberculous mycobacteria and other bacteria. *Future Microbiology*, 14(4), 331–344.
- [6] de Sousa Oliveira, F., de Freitas, T. S., da Cruz, R. P., do Socorro Costa, M., Pereira, R. L. S., Quintans–Júnior, L. J., de Araújo Andrade, T., dos Passos Menezes, P., de Sousa, B. M. H., & Nunes, P. S. (2017). Evaluation of the antibacterial and modulatory potential of  $\alpha$ -bisabolol,  $\beta$ -cyclodextrin and  $\alpha$ -bisa
- [7] Doukas, D. J., McCullough, L. B., & Wear, S. (2010). Re-visioning Flexner: Educating physicians to be clinical scientists and humanists. *The American journal of medicine*, 123(12), 1155–1156 .
- [8] Ekiert, H., Pajor, J., Klin, P., Rzepiela, A., Ślesak, H., & Szopa, A. (2020). Significance of *Artemisia vulgaris* L. (Common Mugwort) in the history of medicine and its possible contemporary applications substantiated by phytochemical and pharmacological studies. *Molecules*, 2.4415 ,(19)5
- [9] Elshafie, H. S., & Camele, I. (2017). An overview of the biological effects of some mediterranean essential oils on human health. *BioMed research international*, 2017(1), 9268468 .

- [10] Gallardo, A., Picollo, M. I., Gonzalez–Audino, P., & Mougabure–Cueto, G. (2012). Insecticidal activity of individual and mixed monoterpenoids of geranium essential oil against *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). *Journal of medical entomology*, 49(2), 332–335.
- [11] Haro–González, J. N., Castillo–Herrera, G. A., Martínez–Velázquez, M., & Espinosa–Andrews, H. (2021). Clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, chemical composition, food applications, and essential bioactivity for human health. *Molecules*, 26(21), 6387.
- [12] Horrigan, B., Lewis, S., Abrams, D. I., & Pechura, C. (2012). Integrative medicine in America—how integrative medicine is being practiced in clinical centers across the United States. *Global Advances in Health and Medicine*, 1(3), 18–52 .
- [13] Kanetsuna, F. (1985). Bactericidal effect of fatty acids on mycobacteria, with particular reference to the suggested mechanism of intracellular killing. *Microbiology and immunology*, 29(2), 127–141 .
- [14] Lawn, S .D., & Zumla, A. I. (2011). Tuberculosis. *Lancet*, 378(9785), 57–72.
- [15] Liu, X. C., Zhou, L. G., Liu, Z. L., & Du, S. S. (2013). Identification of insecticidal constituents of the essential oil of *Acorus calamus* rhizomes against *Liposcelis bostrychophila* Badonnel .*Molecules*, 18(5), 5684–5696.
- [16] Marchese, A., Barbieri, R., Coppo, E., Orhan, I. E., Daglia, M., Nabavi, S. F., Izadi, M., Abdollahi, M., Nabavi, S. M., & Ajami, M. (2017). Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. *Critical reviews in microbiology*, 43(6), 668–689.

- [17] Narayanankutty, A., Kunnath, K., Alfarhan, A., Rajagopal, R., & Ramesh, V. (2021). Chemical composition of Cinnamomum verum leaf and flower essential oils and analysis of their antibacterial, insecticidal, and larvicidal properties. *Molecules*, 26(20), 6303 .
- [18] National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 137523337, 4-fluoro-N-(3-methyl-1H-indazol-5-yl)butane-1-sulfonamide. Retrieved July 21, 2024 from .
- [19] Ooms, F. (2000). Molecular modeling and computer aided drug design. Examples of their applications in medicinal chemistry. *Current medicinal chemistry*, 7(2), 141-158.
- [20] Organization, W. H. (2021). (Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2021: 2019 data.
- [21] Pereira da Cruz, R., Sampaio de Freitas, T., Socorro Costa, M. D., Lucas Dos Santos, A. T., Ferreira Campina, F., Pereira, R. L. S., Bezerra, J. W. A., Quintans-Júnior, L. J., De Souza Araújo, A. A., Júnior, J. P. S., Iriti, M., Varoni, E. M., Menezes, I. R. A., Melo Coutinho, H. D., & Morais-Braga, M. F. B. (2020). Effect of  $\alpha$ -Bisabolol and Its  $\beta$ -Cyclodextrin Complex as TetK and NorA Efflux Pump Inhibitors in *Staphylococcus aureus* Strains. *Antibiotics (Basel)*, 9(1).
- [22] Rabaan, A. A., Alhumaid, S., Albayat, H., Alsaeed, M., Alofi, F. S., Al-Howaidi, M. H., Turkistani, S. A., Alhajri, S. M., Alahmed, H. E., & Alzahrani, A. B. (2022). Promising antimycobacterial activities of flavonoids against *Mycobacterium* sp. drug targets: A comprehensive review. *Molecules*, 27(16), 5335
- [23] Sharifi-Rad, J., Salehi, B., Varoni, E. M., Sharopov, F., Yousaf, Z., Ayatollahi, S. A., Kobarfard, F., Sharifi-Rad, M., Afdjei, M. H., &

- Sharifi-Rad, M. (2017). Plants of the *Melaleuca* genus as antimicrobial agents: From farm to pharmacy. *Phytotherapy Research*, 31(10), 1475–1494
- [24] Shegaze, M., Adal, T., Mesfin, D., & Shibiru, T. (2020). The burden of cancer in Ethiopia, 2000–2016: analysis of evidence from the Global Burden of Disease study and Global Health Estimate. *Medical Studies/Studia Medyczne*, 36(2), 83–89 .
- [25] Singh, S., Singh, D., Hameed, S., & Fatima, Z. (2022). An overview of mycolic acids: structure–function–classification, biosynthesis, and beyond. *Biology of Mycobacterial Lipids*, 1–25 .
- [26] Sinha, S., & Vohora, D. (2018). Drug discovery and development: An overview. *Pharmaceutical medicine and translational clinical research*, 19–32.
- [27] Sreenivasa, N., Shashiraj Kareyallappa, N., Bidhayak, C., Meghashyama Prabhakara, B., Pallavi Sathyanarayana, S., Dattatraya, A., Halaswamy, H., Muthuraj, R., Dhanyakumara Shivapoojar, B., & Anusha Rohidas, P. (2020). (Antimicrobial and Enzymatic potential of *Streptomyces* sp. KAS–1 isolated from the microbiologically unexplored estuary of Kali river ecosystem. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 11(2), 1655–1666
- [28] Takayama, K., Wang, C., & Besra, G. S. (2005). Pathway to Synthesis and Processing of Mycolic Acids in *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(1), 81–101.
- [29] Zhao, H., Ren, S., Yang, H., Tang, S., Guo, C., Liu, M., Tao, Q., Ming, T., & Xu, H. (2022). Peppermint essential oil: Its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 154, 113559 .