

АКТИВНОСТЬ *IN VITRO* ЛЕКАРСТВЕННОГО КАНДИДАТА PBTZ169, ГИДРОХЛОРИД, В ОТНОШЕНИИ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* С ШИРОКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ

Л. Н. ЧЕРНОУСОВА¹, С. Н. АНДРЕЕВСКАЯ¹, Т. Г. СМЕРНОВА¹, Е. Е. ЛАРИОНОВА¹, И. Ю. АНДРИЕВСКАЯ¹, Н. А. ШЕВКУН²

¹ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», Москва

²ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС», Москва

Цель исследования: изучение специфической активности *in vitro* препарата PBTZ169, гидрохлорид, в отношении клинических штаммов микобактерий туберкулеза (МБТ) с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ).

Материалы и методы. Работа проведена на штаммах МБТ, выделенных от 20 больных туберкулезом с ШЛУ МБТ (10 штаммов – от ВИЧ-положительных пациентов и 10 – от ВИЧ-негативных), для которых была определена лекарственная чувствительность к 10 противотуберкулезным препаратам (ПТП) 1-го и 2-го рядов и линезолиду в системе Bactec MGIT 960. Бактериостатическую и бактерицидную активность PBTZ169, гидрохлорид, определяли по динамике роста штаммов МБТ в системе Bactec MGIT 960 по сравнению с ростом штаммов на среде, не содержащей препаратов, и среде, содержащей контрольные препараты (INH 0,1 мкг/мл, RIF 1 мкг/мл, AMK 1 мкг/мл и LFX 1,5 мкг/мл).

Результаты. Выбранные клинические штаммы МБТ были устойчивы к 7-10 ПТП, в том числе 3 из них к линезолиду. При определении бактериостатической активности показано, что PBTZ169, гидрохлорид, в концентрации 0,037 мкг/мл полностью подавлял рост всех 10 штаммов, выделенных от ВИЧ-негативных больных туберкулезом и от большинства ВИЧ-положительных пациентов с туберкулезом (7 из 10). В этой же концентрации PBTZ169HCl обладал бактерицидным действием в отношении всех штаммов МБТ, выделенных от ВИЧ-негативных пациентов с туберкулезом, и 4 из 10 штаммов, выделенных от ВИЧ-положительных пациентов с туберкулезом. Для остальных 6 из 10 штаммов от ВИЧ-положительных пациентов с туберкулезом МБК составила 0,111 мкг/мл.

Ключевые слова: PBTZ169, гидрохлорид; МБТ с ШЛУ; МИК; МБК.

IN VITRO ACTION OF THE DRUG CANDIDATE OF PBTZ169, HYDROCHLORIDE ACTION IN RESPECT OF CLINICAL STRAINS OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* WITH EXTENSIVE DRUG RESISTANCE

L. N. CHERNOUSOVA¹, S. N. ANDREEVSKAYA¹, T. G. SMIRNOVA¹, E. E. LARIONOVA¹, I. YU. ANDRIEVSKAYA¹, N. A. SHEVKUN²

¹Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russia

²ООО NIARMEDIK PLUS, Moscow, Russia

Goal of the study: to study the specific *in vitro* action of PBTZ169, hydrochloride, in respect of clinical strains of *M. tuberculosis* with extensive drug resistance (XDR).

Materials and methods. Strains of *M. tuberculosis* isolated from 20 XDR tuberculosis patients (10 strains from HIV positive patients and 10 strains from HIV negative patients) were used in the study, their susceptibility to 10 anti-tuberculosis first and second lines drugs plus linezolid was tested by Bactec MGIT 960. Bacteriostatic and bactericidal action of PBTZ169, hydrochloride, was defined as per the growth speed of *M. tuberculosis* strains in Bactec MGIT 960 compared to the growth of strains on the medium free from drugs and the medium containing control drugs (INH 0.1 mcg/ml, RIF 1 mcg/ml, AMK 1 mcg/ml and LFX 1.5 mcg/ml).

Results. The used clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis* were resistant to 7-10 anti-tuberculosis drugs, of them 3 were resistant to linezolid. When testing bacteriostatic action it was found that PBTZ169, hydrochloride, in the concentration of 0.037 mcg/ml fully suppressed growth of all 10 strains isolated from HIV negative patients and of the majority of strains isolated from HIV positive tuberculosis patients (7 out of 10). In the same concentration PBTZ169HCl demonstrated bactericidal action in respect of all strains isolated from HIV negative tuberculosis patients and 4 out of 10 strains isolated from HIV positive tuberculosis patients. For the remaining 6 out of 10 strains from HIV positive tuberculosis patients minimum bactericide concentration made 0.111 mcg/ml.

Key words: PBTZ169, hydrochloride, XDR *Mycobacterium tuberculosis*, MIC, MBC.

На фоне глобальной эпидемии лекарственно-устойчивого туберкулеза (ТБ) необходимо включение в схемы химиотерапии новых противотуберкулезных препаратов (ПТП), эффективных в отношении туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ) [1-3]. Одним из таких перспективных препаратов является PBTZ169, гидрохлорид (PBTZ169HCl) – лидирующий противотуберкулезный агент из нового класса бензотиазинонов, который разработан коллективом уче-

ных из Политехнического университета г. Лозанна (EPFL, Швейцария) [4].

Мишенью соединения является декапренил-фосфорил-b-D-рибозо-2-эпимераза (DprE1) – необходимый фермент в синтезе арабиногалактана, что обеспечивает высокую активность PBTZ169 в отношении как лекарственно-чувствительного, так и ШЛУ/ШЛУ-ТБ [11]. Уникальный механизм действия PBTZ169HCl доказан на молекулярном уровне [6]. Для мониторинга возникновения воз-

можной лекарственной устойчивости к бензотиазинонам было протестировано 240 чувствительных и МЛУ-клинических изолятов *M. tuberculosis* (МБТ) из 4 госпиталей Европы на предмет мутации гена *dpvE1*. Во всех штаммах была подтверждена высокая чувствительность к бензотиазинонам [7].

Цель исследования: изучение специфической активности *in vitro* препарата RBTZ169, гидрохлорид, в отношении клинических штаммов МБТ с ШЛУ.

Материалы и методы

Штаммы *M. tuberculosis*. В работе использованы штаммы МБТ из коллекции ФГБНУ «ЦНИИТ», выделенные от 20 пациентов с ШЛУ-ТБ, из них 10 штаммов – от ВИЧ-положительных пациентов и 10 – от ВИЧ-негативных. Стандартизацию культуры осуществляли, как описано ранее [5]. Суспензии с количеством микобактерий 10^6 КОЕ/мл культивировали в жидкой среде Middlebrook 7H9 с обогащательной добавкой OADC в пробирках MGIT для автоматической детекции роста в системе Bactec MGIT 960 (BD, USA) [10].

Лекарственную чувствительность культур в системе Bactec MGIT 960 (BD, США) определяли согласно рекомендациям производителя [9, 10].

Приготовление серии разведений RBTZ169HCl. Раствор фармацевтической субстанции препарата RBTZ169, гидрохлорид (2-[4-(циклогексилметил)пиперазин-1-ил]-8-нитро-6-(трифторметил)-4Н-1,3-бензотиазин-4-он гидрохлорид), готовили в 50% ДМСО с концентрацией 250 мкг/мл и стерилизовали пропусканием через 0,22 мкм фильтр Millipore. Из полученного стока готовили рабочие разведения препарата в стерильной дистиллированной воде. Требуемые конечные концентрации RBTZ169HCl (0,004; 0,012; 0,037; 0,111 мкг/мл) получали при добавлении 0,1 мл рабочего раствора в пробирку MGIT (конечный объем 8,4 мл).

Контрольные ПТП. В качестве контролей при определении бактериостатической и бактерицидной активности использовали препараты: INH – 0,1 мкг/мл, RIF – 1,0 мкг/мл, AMK – 1,0 мкг/мл и LFX – 1,5 мкг/мл [9, 10].

Определение бактериостатической активности RBTZ169HCl. Антимикобактериальное действие RBTZ169HCl изучали по динамике роста штаммов МБТ в системе Bactec MGIT 960 (BD, США) в присутствии различных концентраций тестируемого соединения по сравнению с ростом штаммов на среде, не содержащей препаратов, и среде, содержащей контрольные препараты в критических концентрациях. Каждую из концентраций исследовали в трипликатах. Интерпретацию результатов осуществляли, как было описано ранее [5].

Определение бактерицидной активности RBTZ169HCl. Бактерицидную концентрацию соединения определяли путем пересева на свежую питательную среду отмытых от присутствующего

в среде соединения осадков бактериальной массы из пробирок с отсутствием признаков роста культуры на последний 42-й день исследования при проведении этапа работы по определению бактериостатической активности препарата. В качестве положительного контроля на свежую среду были пересеяны культуры МБТ, культивируемые без препарата. Инкубацию осуществляли в системе Bactec MGIT 960 в течение 42 сут [10].

Результаты исследования

Определение лекарственной чувствительности клинических изолятов *M. tuberculosis*

Все 20 клинических штаммов МБТ от пациентов с различным ВИЧ-статусом (10 ВИЧ-положительные и 10 ВИЧ-негативные) по результатам определения лекарственной чувствительности в системе Bactec MGIT 960 были устойчивы к критическим концентрациям стрептомицина, изониазида, рифампицина, этионамида, левофлоксацина, моксифлоксацина и амикацина (табл. 1). Большинство изолятов были также устойчивы к этамбутолу (7/10 ВИЧ+ и 7/10 ВИЧ-), пиразинамиду (все 10 ВИЧ+ и 9/10 ВИЧ-) и капреомицину (9/10 ВИЧ+ и 7/10 ВИЧ-). Кроме этого, 3 штамма от ВИЧ-негативных пациентов с ТБ были устойчивы к линезолиду.

Бактериостатическая и бактерицидная активность RBTZ169, гидрохлорид, в отношении клинических штаммов МБТ с ШЛУ

Результаты детекции роста МБТ в системе Bactec MGIT 960 в среде без препаратов, в присутствии контрольных ПТП и RBTZ169HCl в тестируемых концентрациях представлены в табл. 2.

Рост культуры в контроле без препаратов фиксировался на 4,67-6,36 сут в зависимости от штамма. Параметры роста культуры МБТ при экспозиции с контрольными препаратами в критических концентрациях не отличались от контроля.

RBTZ169HCl в концентрации 0,111 мкг/мл полностью подавлял рост всех 20 штаммов МБТ с ШЛУ. Концентрация 0,037 мкг/мл RBTZ169HCl была МИК(100) для всех 10 штаммов, выделенных от ВИЧ-негативных больных ТБ, и для 7/10, выделенных от ВИЧ-положительных больных ТБ. Для одного штамма МБТ, выделенного от больного с ТБ и ВИЧ-инфекцией, наблюдалось ингибирование в 2 из 3 репликатов при 0,037 мкг/мл. При 0,0012 мкг/мл RBTZ169HCl было зарегистрировано полное ингибирование роста 2/10 штаммов, выделенных от ВИЧ-негативных больных ТБ, в трипликатах и 1/10 штамма от ВИЧ-негативного больного ТБ, в двух повторях. Данная концентрация RBTZ169HCl также подавляла рост 2/10 штаммов, выделенных от больных ТБ с ВИЧ-инфекцией, в одном из трех образцов. В присутствии 0,004 мкг/мл RBTZ169HCl параметры роста культуры МБТ не отличались от отрицательного контроля.

Таблица 1. Спектр резистентности клинических штаммов *M. tuberculosis*
Table 1. Resistance profile of *M. tuberculosis* strains.

ВИЧ-статус	Штамм №.	Резистентность к ПТП		
		1 ряд	2 ряд	3 ряд
ВИЧ+	1	STR, INH, RIF, EMB, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	
	25	STR, INH, RIF, EMB, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK	
	26	STR, INH, RIF, EMB, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	
	59	STR, INH, RIF, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	
	77	STR, INH, RIF, EMB, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	
	141	STR, INH, RIF, EMB, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	
	152	STR, INH, RIF, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	
	155	STR, INH, RIF, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	
	210	STR, INH, RIF, EMB, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	
	212	STR, INH, RIF, EMB, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	
ВИЧ-	27	STR, INH, RIF, EMB, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	
	30	STR, INH, RIF, EMB, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	
	46	STR, INH, RIF, EMB, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	
	58	STR, INH, RIF, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	LIN
	81	STR, INH, RIF, EMB, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	LIN
	138	STR, INH, RIF	ETH, LFX, MOX, AMK	
	196	STR, INH, RIF, EMB, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK	
	199	STR, INH, RIF, EMB, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	LIN
	202	STR, INH, RIF, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK	
	284	STR, INH, RIF, EMB, PZA	ETH, LFX, MOX, AMK, CAP	

Примечание: STR = стрептомицин, INH = изониазид, RIF = рифампицин, EMB = этамбутол, PZA = пипразинамид, ETH = этионамид, AMK = амикацин, CAP = капреомицин, LFX = левофлоксацин, MOX = моксифлоксацин, LIN = линезолид.

При изучении бактериостатической активности в ряде случаев была показана достоверная задержка начала роста культуры по сравнению с контролем без препарата, свидетельствующая об ингибции роста части микобактериальной популяции в присутствии RBTZ169HCl. Так, в концентрации 0,037 мкг/мл RBTZ169HCl приводил к задержке начала роста культуры на срок от 20,67 до 27,46 сут в зависимости от штамма, что наблюдалось на 3 штаммах МБТ, выделенных от больных ТБ с ВИЧ-инфекцией. Для концентрации 0,012 мкг/мл задержка начала роста составляла 3,14-28,44 сут в зависимости от штамма и наблюдалась у 14 исследованных штаммов. В концентрации 0,004 мкг/мл препарат приводил к задержке роста 4,07-4,72 сут, что наблюдалось у 3 штаммов от ВИЧ-негативных больных ТБ.

Для определения бактерицидной активности RBTZ169HCl были взяты тщательно отмытые осадки МБТ в пробирках с препаратом в концентрациях, приведших к полному подавлению роста МБТ при проведении эксперимента на определение бактериостатической активности. Результаты роста МБТ в течение 42-дневного культивирования в системе Bactec MGIT 960 представлены в табл. 3.

Концентрация 0,037 мкг/мл RBTZ169HCl была МБК(100) для всех 10 штаммов, выделенных

от ВИЧ-негативных больных ТБ, и для 5/10 штаммов от ВИЧ-положительных больных ТБ. Для остальных 5 штаммов МБТ с ШЛУ, выделенных от больных ТБ с ВИЧ-инфекцией, МБК(100) была 0,111 мкг/мл.

Обобщая полученные данные, показано, что полное подавление роста в присутствии RBTZ169HCl в концентрации 0,012 мкг/мл наблюдалось у 2 штаммов (№ 27 и 58), выделенных от больных с отрицательным ВИЧ-статусом. Для этих двух культур был подтвержден бактерицидный эффект RBTZ169HCl в концентрации 0,012 мкг/мл.

Кроме того, данная концентрация RBTZ169HCl оказывала негативное влияние на рост 14 штаммов, приводя к задержке начала роста культуры по сравнению с контролем без препарата более 3 сут, из них у 8 штаммов срок задержки начала роста культуры составлял более 9 сут, т. е. подавление роста культуры в присутствии тестируемого соединения в концентрации 0,012 мкг/мл составило более 99%.

Инкубация МБТ с RBTZ169HCl в концентрации 0,037 мкг/мл приводила к полному подавлению роста 15/20 штаммов (7 ВИЧ+ и 8 ВИЧ-), являясь минимальной бактерицидной для 12 штаммов из них (4 ВИЧ+ и 8 ВИЧ-). Для 3 оставшихся штаммов с МИК(100) 0,037 мкг/мл был показан частичный бактерицидный эффект данной концентрации, что выражалось в задержке начала роста пересеянной

Таблица 2. Бактериостатическая активность RBTZ169HCl в отношении клинических штаммов МБТ с ШЛУ
Table 2. Bacteriostatic action of RBTZ169HCl in respect of clinical strains of *M. tuberculosis* with XDR

ВИЧ-статус	Штамм №	Начало роста культуры, дни (среднее ± стандартное отклонение)								
		Без препарата	в присутствии RBTZ169HCl (мкг/мл)				в присутствии контролей			
			0,004	0,012	0,037	0,111	INH, 0,1 мкг/мл	RIF, 1 мкг/мл	LFX, 1,5 мкг/мл	АМК, 1 мкг/мл
ВИЧ+	1	7,24 ± 0,21	7,19 ± 0,21	10,37 ± 0,14	нет	нет	7,33 ± 0,23	7,53 ± 0,28	7,37 ± 0,11	7,79 ± 0,11
	25	5,94 ± 0,19	6,17 ± 0,22	13,74 ± 0,38	33,40 ± 2,61	нет	6,11 ± 0,05	6,01 ± 0,02	6,81 ± 0,72	6,76 ± 0,06
	26	6,18 ± 0,09	6,12 ± 0,14	9,96 ± 0,29	26,85 ± 5,83	нет	5,99 ± 0,10	6,37 ± 0,11	5,99 ± 0,09	6,42 ± 0,04
	59	5,28 ± 0,12	5,28 ± 0,06	31,19 ± 0,50*	нет	нет	5,28 ± 0,06	5,26 ± 0,06	6,82 ± 0,12	5,51 ± 0,02
	77	5,51 ± 0,10	5,39 ± 0,10	5,53 ± 0,30	26,67†	нет	5,51 ± 0,02	5,49 ± 0,09	5,97 ± 0,34	5,33 ± 0,11
	141	5,53 ± 0,19	5,42 ± 0,08	5,36 ± 0,09	нет	нет	5,62 ± 0,07	5,54 ± 0,11	7,74 ± 0,31	5,21 ± 0,15
	152	5,39 ± 0,10	6,17 ± 0,55	17,17 ± 3,18*	нет	нет	5,40 ± 0,17	5,51 ± 0,13	5,69 ± 0,05	6,56 ± 0,35
	155	4,90 ± 0,09	5,06 ± 0,21	6,40 ± 0,50	нет	нет	4,94 ± 0,09	4,90 ± 0,02	5,01 ± 0,05	5,01 ± 0,02
	210	4,76 ± 0,09	5,56 ± 0,40	21,81 ± 12,08	нет	нет	4,99 ± 0,09	4,89 ± 0,05	6,04 ± 0,49	5,36 ± 0,21
	212	4,97 ± 0,10	5,03 ± 0,12	9,18 ± 1,11	нет	нет	5,17 ± 0,04	5,10 ± 0,09	5,54 ± 0,04	4,88 ± 0,07
ВИЧ-	27	5,10 ± 0,13	11,60 ± 0,54	нет	нет	нет	5,26 ± 0,05	5,38 ± 0,00	6,58 ± 0,18	5,43 ± 0,02
	30	5,35 ± 0,09	5,38 ± 0,18	10,03 ± 0,28	нет	нет	5,42 ± 0,11	5,46 ± 0,07	6,32 ± 0,10	6,82 ± 0,15
	46	5,74 ± 0,16	6,67 ± 0,22	20,17 ± 0,93	нет	нет	5,72 ± 0,05	5,64 ± 0,05	7,08 ± 1,15	6,67 ± 0,08
	58	5,89 ± 0,13	9,96 ± 1,66	No	нет	нет	5,81 ± 0,05	6,06 ± 0,13	7,11 ± 0,48	6,29 ± 0,04
	81	5,69 ± 0,13	5,75 ± 0,23	25,26 ± 6,56	нет	нет	5,83 ± 0,14	5,99 ± 0,09	6,81 ± 0,21	6,53 ± 0,06
	138	4,67 ± 0,04	4,76 ± 0,23	11,40 ± 1,40	нет	нет	4,65 ± 0,17	4,75 ± 0,00	6,32 ± 0,17	7,06 ± 0,02
	196	6,18 ± 0,34	10,90 ± 0,58	34,63†	нет	нет	6,11 ± 0,06	5,93 ± 0,06	7,76 ± 0,17	6,85 ± 0,09
	199	6,32 ± 0,06	6,43 ± 0,17	8,76 ± 0,32	нет	нет	6,35 ± 0,17	6,35 ± 0,09	6,94 ± 0,10	7,18 ± 0,06
	202	6,36 ± 0,02	7,56 ± 0,71	29,32 ± 7,34	нет	нет	6,32 ± 0,10	6,39 ± 0,06	7,04 ± 0,00	6,69 ± 0,09
	284	4,86 ± 0,13	4,89 ± 0,10	19,53 ± 2,19	нет	нет	4,86 ± 0,05	4,78 ± 0,02	5,33 ± 0,11	5,57 ± 0,31

Примечание: параметры роста *M. tuberculosis* в присутствии критических концентраций контрольных препаратов не отличались от отрицательного контроля; * – рост культуры отмечен только в двух образцах из трех; † – рост культуры отмечен только в одном образце из трех.

культуры по сравнению с исходным контролем без препарата.

Для 3 культур, выделенных от больных с ВИЧ-инфекцией (№ 25, 26 и 77), при определении бактериостатической активности показано негативное влияние RBTZ169HCl в концентрации 0,037 мкг/мл на рост культуры, приводящее к подавлению роста культуры более 99% (задержка начала роста культуры колебалась от 20,67 до 27,46 сут). В отношении этих культур МИК(100) и МБК(100) RBTZ169HCl была одинакова и составила 0,111 мкг/мл.

Суммарное влияние тестируемых концентраций RBTZ169HCl на клинические штаммы МБТ с ШЛУ представлено в табл. 4.

Следовательно, было показано, что МИК(100) RBTZ169HCl в отношении большинства (15/20)

тестируемых штаммов МБТ с ШЛУ составила 0,037 мкг/мл, причем в этой концентрации RBTZ169HCl полностью подавлял рост всех культур, выделенных от больных с отрицательным ВИЧ-статусом, и 7 культур от больных с ВИЧ-инфекцией. Следует отметить, что RBTZ169HCl в концентрации 0,037 мкг/мл во всех случаях приводил к 99% ингибиции роста культуры.

МБК(100) RBTZ169HCl в отношении более половины (12/20) тестируемых штаммов МБТ с ШЛУ составила также 0,037 мкг/мл. Однако при анализе по категориям больных, от которых были выделены культуры, показано, что RBTZ169HCl в концентрации 0,037 мкг/мл обладал бактерицидным действием в отношении всех штаммов, полученных от ВИЧ-негативных больных, и лишь для 4/10

Таблица 3. Бактерицидная активность PBTZ169HCl в отношении клинических штаммов МБТ с ШЛУ
Table 3. Bactericidal action of PBTZ169HCl in respect of clinical strains of *M. tuberculosis* with XDR

ВИЧ-статус	Штамм №	Начало роста пересейанной культуры в свежей среде после 42-дневной инкубации с PBTZ169HCl (дни)								
		PBTZ169HCl 0,012 мкг/мл			PBTZ169HCl 0,037 мкг/мл			PBTZ169HCl 0,111 мкг/мл		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
ВИЧ+	1	–	–	–	22,16	14,79	12,37	Нет роста		
	25	–	–	–	–	–	–	Нет роста		
	26	–	–	–	–	–	–	Нет роста		
	59	4,71	–	–	Нет роста			Нет роста		
	77	–	–	–	33,29	Нет роста	–	Нет роста		
	141	–	–	–	12,95	10,83	11,16	Нет роста		
	152	9,21	–	–	Нет роста			Нет роста		
	155	–	–	–	19,71	Нет роста		Нет роста		
	210	–	–	–	Нет роста			Нет роста		
	212	–	–	–	Нет роста			Нет роста		
ВИЧ-	27	Нет роста			Нет роста			Нет роста		
	30	–	–	–	Нет роста			Нет роста		
	46	–	–	–	Нет роста			Нет роста		
	58	Нет роста			Нет роста			Нет роста		
	81	–	–	–	Нет роста			Нет роста		
	138	–	–	–	Нет роста			Нет роста		
	196	30,63	Нет роста	–	Нет роста			Нет роста		
	199	–	–	–	Нет роста			Нет роста		
	202	–	–	–	Нет роста			Нет роста		
	284	–	–	–	Нет роста			Нет роста		

Примечание: «–» не были протестированы по причине роста в эксперименте по определению бактериостатической активности

Таблица 4. Влияние тестируемых концентраций PBTZ169HCl на рост *in vitro* клинических штаммов МБТ с ШЛУ
Table 4. Action of tested concentrations of PBTZ169HCl on *in vitro* growth of clinical strains of *M. tuberculosis* with XDR

Концентрация PBTZ169HCl (мкг/мл)	Число штаммов из 20 (ВИЧ+/ВИЧ-)			
	Ингибция роста в присутствии PBTZ169HCl (бактериостатическая активность)		Ингибция роста после инкубации с PBTZ169HCl (бактерицидная активность)	
	100%	99%	100%	99%
0,004	–	–	–	–
0,012	2 (0/2)	10 (3/7)	2 (0/2)	3 (0/3)
0,037	17 (7/10)	20 (10/10)	14 (4/10)	16 (6/10)
0,111	20 (10/10)	20 (10/10)	20 (10/10)	20 (10/10)

штаммов, полученных от ВИЧ-положительных больных. Для большей части штаммов (6/10), выделенных от больных с ВИЧ-инфекцией, бактерицидной являлась концентрация 0,111 мкг/мл.

Закключение

Тестирование лекарственной чувствительности на жидких средах показало, что 20/20 выбранных клинических штаммов *M. tuberculosis* были устойчивы к 7-10 ПТП, в том числе 3 из них к линезолиду – препарату 3-го ряда, устойчивость к которому встречается достаточно редко по причине недавнего введения в клиническую практику в России [8]. Эти 20 штаммов МБТ с ШЛУ были использованы

для изучения специфической *in vitro* активности препарата PBTZ169HCl.

В ходе исследований *in vitro* показана высокая бактерицидная активность PBTZ169HCl на панели из 20 клинических образцов МБТ с ШЛУ, в том числе от пациентов с ВИЧ-инфекцией. Специфическое бактериостатическое и бактерицидное действие PBTZ169HCl, оцененное в самых жестких по времени условиях, было зафиксировано в отношении самых опасных штаммов – МБТ с ШЛУ, большинство из которых было устойчиво как минимум к 9 основным и резервным ПТП.

При инкубации *in vitro* с PBTZ169HCl в концентрации 0,037 мкг/мл происходило полное подавление роста всех штаммов, выделенных от ВИЧ-нега-

тивных больных и от большинства ВИЧ-положительных. В этой же концентрации RBTZ169HCl обладал бактерицидным действием в отношении всех штаммов МБТ, выделенных от ВИЧ-негативных больных ТБ, и 4/10 штаммов, выделенных от больных ВИЧ-инфекцией. Для остальных 6/10 штаммов от ВИЧ-положительных пациентов МБК составила 0,111 мкг/мл.

На основании проведенного исследования можно заключить, что RBTZ169, гидрохлорид, в настоящее время является наиболее перспективным лекарственным кандидатом, активным в отношении штаммов МБТ, резистентным ко всем известным препаратам. Полученные данные коррелируют с результатами определения чувствительности к бензотиазинонам на штаммах из госпиталей Европы [7] и демонстрируют высокий потенциал RBTZ169HCl для клинических испытаний.

Благодарность

Авторы признательны спонсору исследования ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС», которому предоставлены исключительные права от EPFL на разработку и коммерциализацию кандидата в ПТП RBTZ169, гидрохлорид, на территории стран ЕАПО, Украины, Грузии, Монголии и Узбекистана.

ЛИТЕРАТУРА

- ВОЗ. Глобальный отчет по туберкулезу 2015. WHO/HTM/TB/2015.22, Женева, Швейцария: WHO, 2015.
- Годовой отчет 2015. TB Alliance. <http://www.tballiance.org/annualreport2015/xdr-tb.php>
- Эпидемическая ситуация по туберкулезу в России. Противотуберкулезные мероприятия. Федеральный Центр мониторинга противодействия распространению туберкулеза. (URL: <http://www.mednet.ru/images/stories/files/CMT/tb2015.pdf>)
- Makarov V., Manina G., Mikusova K. et al. Benzothiazinones kill *Mycobacterium tuberculosis* by blocking arabinan synthesis // Science. – 2009. – Vol. 324(5928). – P. 801-804.
- Matyugina E., Khandazhinskaya A., Chernousova L. et al. The synthesis and antituberculosis activity of 5'-nor carbocyclic uracil derivatives // Bioorg. Med. Chem. – 2012. – Vol. 20, № 22. – P. 6680-6686.
- Neres J., Pojer F., Molteni E. et al. Structural basis for benzothiazinone-mediated killing of *Mycobacterium tuberculosis* // Sci. Transl. Med. – 2012. – Vol. 4(150):150ra121/
- Pasca M. R., Degiacomi G., Ribeiro A. L. et al. Clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* in four European hospitals are uniformly susceptible to benzothiazinones // Antimicrob. Agents Chemother. – 2010. – Vol. 54, № 4. – P. 1616-1618.
- Richter E., Rusch-Gerdes S., Hillemann D. First linezolid-resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* // Antimicrob. Agents Chemother. – 2007. – Vol. 51, № 4. – P. 1534-1536.
- Salman H. Siddiqi. Guidelines for Second-line Drug Susceptibility Testing in MGIT Based on Published Studies. Critical Concentrations and Procedures // H. Siddiqi. Salman. – 2014. – P. 28.
- Siddiqi S. H., Rusch-Gerdes S. MGIT Procedure Manual for BACTEC MGIT 960TB System. Guidelines on BACTEC MGIT 960 operation. 2006.
- Trefzer C., Škovierová H., Buroni S. et al. Benzothiazinones are suicide inhibitors of mycobacterial decaprenylphosphoryl-β-D-ribofuranose 2-oxidase DprE1 // J. Am. Chem. Soc. – 2012. – Vol. 134, № 2. – P. 912-915.
- WHO, Global Tuberculosis Report 2015. WHO/HTM/TB/2013.2 [Internet] URL: WHO, 2015. (In Russ.)
- Annual Report 2015. TB Alliance. (In Russ.) <http://www.tballiance.org/annualreport2015/xdr-tb.php>
- Epidemicheskaya situatsiya po tuberkulezu v Rossii. Protivotuberkuleznye meropriyatiya. [Tuberculosis epidemic situation in Russia. Tuberculosis control activities]. Federal Monitoring Center of Tuberculosis Transmission Control. (Available at: <http://www.mednet.ru/images/stories/files/CMT/tb2015.pdf>)
- Makarov V., Manina G., Mikusova K. et al. Benzothiazinones kill *Mycobacterium tuberculosis* by blocking arabinan synthesis. Science, 2009, vol. 324(5928), pp. 801-804.
- Matyugina E., Khandazhinskaya A., Chernousova L. et al. The synthesis and antituberculosis activity of 5'-nor carbocyclic uracil derivatives. Bioorg. Med. Chem., 2012, vol. 20, no. 22, pp. 6680-6686.
- Neres J., Pojer F., Molteni E. et al. Structural basis for benzothiazinone-mediated killing of *Mycobacterium tuberculosis*. Sci. Transl. Med., 2012, vol. 4(150),
- Pasca M.R., Degiacomi G., Ribeiro A. L. et al. Clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* in four European hospitals are uniformly susceptible to benzothiazinones. Antimicrob. Agents Chemother., 2010, vol. 54, no. 4, pp. 1616-1618.
- Richter E., Rusch-Gerdes S., Hillemann D. First linezolid-resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob. Agents Chemother., 2007, vol. 51, no. 4, pp. 1534-1536.
- Salman H. Siddiqi. Guidelines for Second-line Drug Susceptibility Testing in MGIT Based on Published Studies. Critical Concentrations and Procedures. H. Siddiqi. Salman. 2014, pp. 28.
- Siddiqi S.H., Rusch-Gerdes S. MGIT Procedure Manual for BACTEC MGIT 960TB System. Guidelines on BACTEC MGIT 960 operation. 2006.
- Trefzer C., Škovierová H., Buroni S. et al. Benzothiazinones are suicide inhibitors of mycobacterial decaprenylphosphoryl-β-D-ribofuranose 2-oxidase DprE1. J. Am. Chem. Soc., 2012, vol. 134, no. 2, pp. 912-915.

REFERENCES

- WHO, Global Tuberculosis Report 2015. WHO/HTM/TB/2013.2 [Internet] URL: WHO, 2015. (In Russ.)
- Annual Report 2015. TB Alliance. (In Russ.) <http://www.tballiance.org/annualreport2015/xdr-tb.php>
- Epidemicheskaya situatsiya po tuberkulezu v Rossii. Protivotuberkuleznye meropriyatiya. [Tuberculosis epidemic situation in Russia. Tuberculosis control activities]. Federal Monitoring Center of Tuberculosis Transmission Control. (Available at: <http://www.mednet.ru/images/stories/files/CMT/tb2015.pdf>)
- Makarov V., Manina G., Mikusova K. et al. Benzothiazinones kill *Mycobacterium tuberculosis* by blocking arabinan synthesis. Science, 2009, vol. 324(5928), pp. 801-804.
- Matyugina E., Khandazhinskaya A., Chernousova L. et al. The synthesis and antituberculosis activity of 5'-nor carbocyclic uracil derivatives. Bioorg. Med. Chem., 2012, vol. 20, no. 22, pp. 6680-6686.
- Neres J., Pojer F., Molteni E. et al. Structural basis for benzothiazinone-mediated killing of *Mycobacterium tuberculosis*. Sci. Transl. Med., 2012, vol. 4(150),
- Pasca M.R., Degiacomi G., Ribeiro A. L. et al. Clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* in four European hospitals are uniformly susceptible to benzothiazinones. Antimicrob. Agents Chemother., 2010, vol. 54, no. 4, pp. 1616-1618.
- Richter E., Rusch-Gerdes S., Hillemann D. First linezolid-resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob. Agents Chemother., 2007, vol. 51, no. 4, pp. 1534-1536.
- Salman H. Siddiqi. Guidelines for Second-line Drug Susceptibility Testing in MGIT Based on Published Studies. Critical Concentrations and Procedures. H. Siddiqi. Salman. 2014, pp. 28.
- Siddiqi S.H., Rusch-Gerdes S. MGIT Procedure Manual for BACTEC MGIT 960TB System. Guidelines on BACTEC MGIT 960 operation. 2006.
- Trefzer C., Škovierová H., Buroni S. et al. Benzothiazinones are suicide inhibitors of mycobacterial decaprenylphosphoryl-β-D-ribofuranose 2-oxidase DprE1. J. Am. Chem. Soc., 2012, vol. 134, no. 2, pp. 912-915.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза»,
107564, Москва, Яузская аллея, д. 2.

Черноусова Лариса Николаевна

доктор биологических наук, профессор, руководитель
отдела микробиологии.
Тел.: 8 (499) 785-90-91.
E-mail: lchernousova@mail.ru

Андреевская Софья Николаевна

кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник
отдела микробиологии.
E-mail: andsofia@mail.ru

Смирнова Татьяна Геннадьевна

кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник
отдела микробиологии.
E-mail: s_tatka@mail.ru

Ларионова Елена Евгеньевна

кандидат биологических наук, старший научный
сотрудник отдела микробиологии.
E-mail: larioanova_lena@mail.ru

Андреевская Ирина Юрьевна

младший научный сотрудник отдела микробиологии.
E-mail: andrievskaya.iri@mail.ru

Шевкун Наталия Александровна

ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС»,
кандидат биологических наук, проектный менеджер
департамента по развитию проектов.
125252, Москва, ул. Авиаконструктора Микояна, д. 12,
БЦ «Линкор».
Тел.: 8 (495) 741-49-89, доб. 3871.
E-mail: nataliya.shevkun@nearmedic.ru

Поступила 11.06.2016

FOR CORRESPONDENCE:

Central Tuberculosis Research Institute,
2, Yauzskaya Alleya, Moscow, 107564

Larisa N. Chernousova

Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of Microbiology
Department.
Phone: +7 (499) 785-90-91.
E-mail: lchernousova@mail.ru

Sophya N. Andreevskaya

Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher
of Microbiological Department.
E-mail: andsofia@mail.ru

Tatyana G. Smirnova

Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher
of Microbiological Department.
E-mail: s_tatka@mail.ru

Elena E. Larionova

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher
of Microbiological Department.
E-mail: larionova_lena@mail.ru

Irina Yu. Andrievskaya

Junior Researcher of Microbiological Department.
E-mail: andrievskaya.iri@mail.ru

Natalia A. Shevkun

ООО NIARMEDIK PLUS,
Candidate of Biological Sciences, Project Manager of Project
Development Department.
Linkor Business Center, 12, Aviakonstruktora Mikoyana St.,
Moscow, 125252
Phone: +7 (495) 741-49-89 3871).
E-mail: nataliya.shevkun@nearmedic.ru

Submitted on 11.06.2016