

Изучение эффективности 1-[(5-нитрофуран-2-ил) карбонил]-2'-циклогексил-1h,7'h-спиро[азетидин-3,5'-фуоро[3,4-d] пиримидин] при экспериментальном туберкулезе мышей C57BL/6, инфицированных микобактериями с различными биологическими свойствами

Т.И. Виноградова¹, Н.В. Заболотных¹, М.З. Догонадзе¹, М.Л. Витовская¹,
Д.С. Эсмедляева¹, М.Е. Дьякова¹, **Б.М. Ариэль¹**, А.Ю. Лукин^{1,2},
К.Ю. Комарова², Л.В. Худякова², Д.В. Дарьин^{1,3}, М.Е. Журавлев²,
П.К. Яблонский¹

¹Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии

²МИРЭА — Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва

³Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии

The effectiveness of 1-[(5-nitrofuranyl)carbonyl]-2'-cyclohexyl-1h,7'h-spiro[azetidin-3,5'-furo[3,4-d]pyrimidin] in experimental tuberculosis of C57BL/6 mice infected with mycobacteria of various biological properties

T. Vinogradova¹, N. Zabolotnykh¹, M. Dogonadze¹, M. Vitovskaya¹,
D. Esmedlyeva¹, M. Dyakova¹, **B. Ariel¹**, A. Lukin^{1,2}, K. Komarova²,
L. Khudyakova², D. Dar'in^{1,3}, M. Zhuravlev², P. Yablonskiy¹

¹St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology

²Russian Technological University, Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, Moscow

³Institute of Chemistry, St. Petersburg State University

© Коллектив авторов, 2025 г.

Резюме

Цель настоящего исследования: изучить эффективность нового вещества LK1676 из ряда нитрогетероциклических соединений, обладающего *in vitro* противотуберкулезной активностью в отношении лекарственно-чувствительного (ЛЧ) и лекарственно-устойчивого (ЛУ) штаммов МБТ, в условиях моноте-

рапии экспериментальной туберкулезной инфекции. Мышам линии C57BL/6 инокулировали в хвостовую вену суспензию ЛЧ международного вирулентного тест-штамма *M. tuberculosis* H37Rv или клинического штамма *M. tuberculosis* генотипа *Beijing* с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). LK1676 вводили в течение 6 нед в виде монотерапии *per os*

в дозе 10 мг/кг, препараты сравнения: пиразинамид (Z); этамбутол (E), моксифлоксацин (Mfx), линезолид (Lzd) в терапевтических дозах. Эффективность терапии оценивали с использованием биометрических, бактериологических и гистологических методов. Монотерапия LK1676 мышей, инфицированных ЛЧ штаммом *M. tuberculosis* H37Rv, снижала бактериальную нагрузку в легких ($p < 0,03$), биометрические показатели легких ($p < 0,005$) и селезенки ($p < 0,007$), распространенность специфического поражения в ткани легких, исчезновение признаков деструкции, повышала местный иммунитет легких по выраженности периваскулярной и перибронхиальной инфильтрации, а также по клеточному составу индуцибельной бронхоассоциированной лимфоидной ткани (iBALT). Эффективность LK1676 была сопоставима с Mfx и Z, но существенно ниже, чем у E. Монотерапия LK1676 при МЛУ туберкулезе привела к значимому сокращению клиренса МБТ из легких, коэффициента массы легких и индекса их поражения, что соответствовало уровню эффекта Mfx, но менее выраженному, чем у E и Lzd. Полученные результаты свидетельствуют, что соединение 1-[(5-нитрофуран-2-ил)карбонил]-2'-циклогексил-1h,7'h-спиро [азетидин-3,5'-фуоро[3,4-d]пиримидин] с лабораторным шифром LK1676 является перспективным для дальнейшего углубленного доклинического исследования.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*; монотерапия LK1676; обсемененность легких МБТ, специфическое воспаление

Summary

The purpose of this study is to investigate the effectiveness of a new substance, LK1676, from the series of nitroheterocyclic compounds, which has in vitro antitubercu-

losis activity against drug-sensitive (DS) and drug-resistant (DR) *Mycobacterium tuberculosis* strains, in the context of monotherapy for experimental tuberculosis infection. C57BL/6 mice were inoculated into the tail vein with a suspension of LK1676, an international virulent test strain of *M. tuberculosis* H37Rv, or a clinical strain of *M. tuberculosis* of the Beijing genotype with multiple drug resistance (MDR). LK1676 was administered for 6 weeks as a monotherapy *per os* at a dose of 10 mg/kg, while the comparison drugs were pyrazinamide (Z) ethambutol (E), moxifloxacin (Mfx), and linezolid (Lzd) at therapeutic doses. The effectiveness of the therapy was evaluated using biometric, bacteriological, and histological methods. Monotherapy of LK1676 mice infected with the HPV strain *M. tuberculosis* H37Rv reduced the bacterial load in the lungs ($p < 0.03$), biometric parameters of the lungs ($p < 0.005$) and spleen ($p < 0.007$), the prevalence of specific lesions in lung tissue, the disappearance of signs of destruction, increased local lung immunity in terms of severity of perivascular and peribronchial infiltration, as well as the cellular composition of the inducible bronchoassociated lymphoid tissue (iBALT). The efficacy of LK1676 was comparable to that of Mfx and Z, but significantly lower than that of E. Monotherapy with LK1676 for MDR TB led to a significant reduction in the clearance of *M. tuberculosis* from the lungs, the lung mass coefficient, and the index of their lesion, which corresponded to the level of effect of Mfx, but less pronounced than that of E and Lzd. The results obtained indicate that the compound 1-[(5-nitrofuranyl)carbonyl]-2'-cyclohexyl-1h,7'h-spiro[azetidin-3,5'-furo[3,4-d]pyrimidine] with the laboratory code LK1676 is promising for further study.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, LK1676 monotherapy, MBT lung colonization, specific inflammation

Введение

Согласно оценке Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2023 г. зарегистрировано 10,8 млн новых случаев туберкулеза (ТБ), остающегося ведущим инфекционным заболеванием, уносящего жизни во всем мире, превосходя COVID-19 [1, 2]. Несмотря на все текущие усилия, появление ЛУ ТБ представляет серьезную проблему для глобальных инициатив по борьбе с ТБ: достижения контрольных показателей стратегии ВОЗ по сокращению смертности и заболеваемости туберкулезом на 90 и 80% соответственно к 2030 г. и ликвидации туберкулеза к 2035 г. [3]. По оценкам ВОЗ, за 2022 г. около четверти населения мира (2 млрд) латентно инфицированы *M. tuberculosis* (МБТ) и предполагаемый риск пожизненной реактивации туберкулеза составляет 5–10% [4].

Химиотерапия туберкулеза является основным методом предотвращения передачи инфекции в большинстве стран мира, поэтому повышение ее эффективности может оказать существенное влияние на снижение заболеваемости и смертности. Для достижения этого потребуются как вновь синтезированные противотуберкулезные препараты, так и эффективные, короткие и безопасные режимы химиотерапии устойчивого туберкулеза с применением новых и непрофилированных антибактериальных препаратов [5]. При разработке новых схем терапии, требующей, как правило, комбинации минимум трех-четырёх антибиотиков, необходимо учитывать, что каждый из них имеет определенную мишень и определенный механизм действия. Эти мишени участвуют либо в биосинтезе клеточной стенки, синтезе ДНК/РНК, либо в метаболических путях МБТ [6].

Одной из основных проблем фтизиатрии в настоящее время считается способность МБТ вырабатывать устойчивость к противотуберкулезным препаратам, что существенно снижает эффективность лечения и ведет к развитию хронических форм инфекции с фиброзным поражением легких и сохранением нереплецирующихся микобактерий, а в дальнейшем — к рецидивам туберкулеза [7, 8]. По некоторым прогнозам, при сохранении темпов роста множественной/широкой лекарственной устойчивости (МЛУ/ШЛУ) туберкулеза существует высокая вероятность развития тотальной ЛУ МБТ к препаратам I, II и резервного ряда, при которой смертность от туберкулеза к 2050 г. сможет преодолеть таковую от онкологических заболеваний.

В 2022 г. ВОЗ выступила с инициативой по разработке новых противотуберкулезных препаратов и ежегодно выделяет средства на эти исследования [4]. Одобрены для лечения ЛУ ТБ недавно появившиеся новые препараты бедаквилин, претоманид и деламаид, однако и в их отношении публикуются сообщения о появлении ЛУ. В настоящее время 17 кандидатов из 14 различных химических классов находятся на разных этапах клинических исследований [9]. Работают также программы ускоренного внедрения лекарственных препаратов для терапии ЛУ ТБ с целью сокращения продолжительности терапии с 24 до 6 мес [10, 11].

В процессе изыскания новых противотуберкулезных агентов нами осуществлен синтез ряда нитрогетероциклических соединений [12–14], среди которых наше внимание привлекло вещество 1-[(5-нитрофуран-2-ил)карбонил]-2'-циклогексил-1h,7'h-спиро[азетидин-3,5'-фуро[3,4-d]пиримидин] с лабораторным шифром LK 1676 [15].

Вещество LK1676 проявляло высокую ингибирующую активность в отношении лекарственно-чувствительного международного вирулентного тест-штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (МИК = 0,0497 мкг/мл) и клинических штаммов с МЛУ генотипа Beijing (МИК 0,0170–0,0152 мкг/мл) и семейства

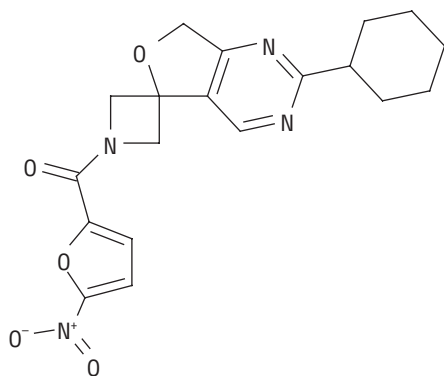


Рис. 1. Структура соединения LK 1676 1-[(5-нитрофуран-2-ил)карбонил]-2'-циклогексил-1h,7'h-спиро[азетидин-3,5'-фуро[3,4-d]пиримидин]

LAM (0,0279–0,0829 мкг/мл), наряду с низкой цитотоксичностью в клетках Vero (CC50 184 мкг/мл). Величина ЛД50 (2250 мг/кг) и хорошая переносимость при внутрибрюшинном введении мышам линии C57black/6 позволяет отнести тестируемое соединение к V классу — практически не токсично [16].

Материалы и методы исследования

Лабораторные животные

Исследование проведено на 100 мышах линии C57BL/6 массой 16–18 г, полученных из питомника «Андреевка» — филиала ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА. Животные содержались в условиях сертифицированного вивария на базе ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России в клетках системы NexGenMouse IVC Cage&Rack со встроенной системой вентиляции и кондиционирования воздуха (HVAC) по 10 особей на стандартном сбалансированном рационе при свободном доступе к воде и естественной смене светового режима. Все исследования на животных одобрены Независимым этическим комитетом ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России (протокол № 80 от 23.06.2021 г., выписка № 80.1) и соответствовали постановлению Государственного санитарного врача Российской Федерации № 4 от 28 января 2021 г. «Об утверждении санитарных правил и норм СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Для моделирования экспериментального туберкулеза мыши были распределены на две серии. В первой серии (n=50) для заражения использовали лекарственно-чувствительный международный вирулентный тест-штамм *M. tuberculosis* H37Rv (TBC № 1/47, источник — Институт гигиены и эпидемиологии, Прага, 1976 г., получен 07.08.2013 г. из ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России). Во второй серии (n=50) для заражения использовали клинический штамм № 5582 семейства Beijing (из коллекции ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России), в геноме которого выявлены 4 доказанные (high-confidence) мутации устойчивости к 4 противотуберкулезным препаратам: рифампицину, изониазиду, стрептомицину и пипразинамиду (rrsC517T, rpoBS450L, katGS315T, pncAT135P). Микобактериальные суспензии для инфицирования животных готовили *ex tempore* из трехнедельных штаммов второй генерации, которые вводили в латеральную вену хвоста в дозе 10^6 клеток в 0,2 мл 0,9% раствора натрия хлорида (физиологического раствора).

На третий день после заражения животных в обеих сериях распределили на 5 групп (по 10 особей в каждой). С этого дня мыши в обеих сериях опытов (пятая группа) получали исследуемое вещество LK 1676 в дозе

10 мг/кг. В качестве препаратов сравнения при ЛЧ ТБ использованы противотуберкулезные препараты в терапевтических дозах: 2-я группа — пиразинамид (Z, ООО «РОЗОЛЕКС ФАРМ») — 20 мг/кг; 3-я группа — этамбутол (Е, ОАО «Фармасинтез») — 20 мг/кг, 4-я — монофлуксацин (Mfx ООО «ФармКонцепт») — 10 мг/кг. При лекарственно устойчивом туберкулезе препаратами сравнения служили: 2-я группа — этамбутол (Е, ОАО «Фармасинтез») — 20 мг/кг, 3-я — монофлуксацин (Mfx ООО «ФармКонцепт») — 10 мг/кг и 4-я — линезолид (Lzd, ООО «РОЗОЛЕКС ФАРМ») — 10 мг/кг. Исследуемое вещество и препараты сравнения применяли в виде монотерапии, растворы которых готовили *ex tempore* с использованием твин-80, вводили *per os* с помощью аэрозольного зонда (в объеме 0,2 мл) курсом 30 доз. В каждой серии опытов присутствовала группа зараженных нелеченых мышей (первая группа, контроль культуры МБТ), которые получали *per os* эквивалентный объем 0,9% раствора натрия хлорида (физиологического раствора).

Оценка эффективности терапии

После завершения курса приема препаратов (на 60-й день после инфицирования) мышей обеих серий эвтаназировали путем дислокации шейных позвонков. Эффективность лечения оценивали по макроскопической регистрации пораженности легких и их биометрическим показателям (в условных единицах), по результатам бактериологического и гистологического исследования легких. При бактериологическом исследовании осуществляли дозированный посев гомогенатов легких на плотную яичную среду Левенштейна–Йенсена

методом серийных разведений. Нижняя граница чувствительности метода — 2×10^3 колониеобразующих единиц (КОЕ). Массивность роста МБТ выражали числом КОЕ на массу легких. Для гистологического изучения легкие фиксировали в 10% нейтральном формалине (рН 7,0), заливали в парафин, срезы толщиной 3–4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и оценивали с помощью микроскопа Olympus BX45 (Olympus Corp., Токио, Япония) с камерой и программным пакетом Olympus DP-Soft (Olympus Corp., Токио, Япония) и микроскопа AXIO Imager.A2 (Carl Zeiss). Оценивали: распространенность экссудативного компонента специфического воспаления, наличие признаков деструкции и активности местного иммунитета в легких. Результаты анализа выражали в виде полуколичественных значений основных визуализируемых патологических паттернов в легких.

Статистическая обработка данных проводилась на основе стандартного пакета программ Statistica 7. Значимость различий метрических величин оценивали методом Фишера (Fisher's exact test).

Результаты

У мышей C57BL/6, инфицированных международным вирулентным ЛЧ тест-штаммом *M. tuberculosis* H37Rv и нелеченых, на 47-й день после инокуляции инфекта поражение легких характеризовалось выраженным воспалительным процессом с большим количеством сливных милиарных очагов специфического воспаления, высокими значениями индексов поражения легких и биометрических показателей: коэффициента массы легких и массы селезенки,

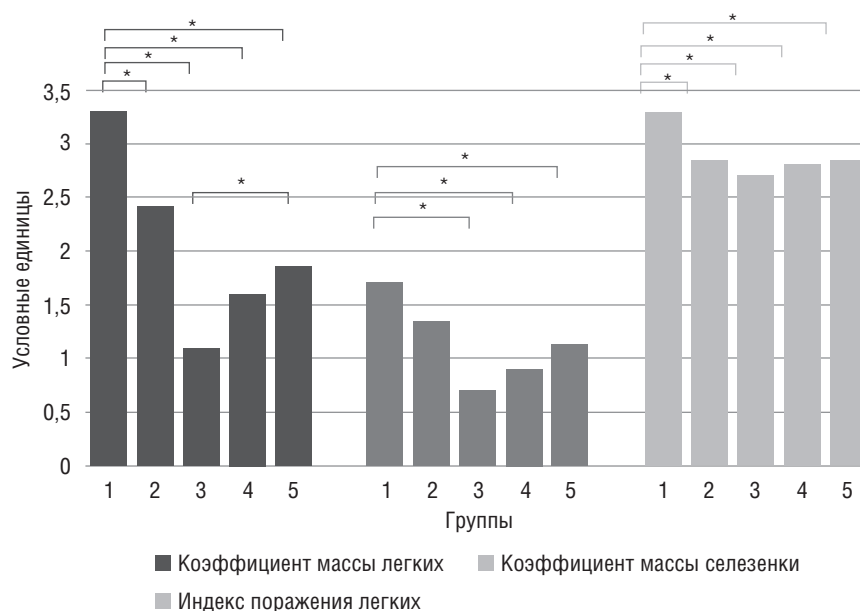


Рис. 2. Показатели тяжести течения туберкулезной инфекции у мышей C57black/6, зараженных международным вирулентным лекарственно-чувствительным тест-штаммом *M. tuberculosis* H37Rv, через 6 нед от начала противотуберкулезной терапии. Группы животных: 1 — нелеченые; 2 — Z; 3 — Е; 4 — Mfx; 5 — LK1676

а также значительной обсемененностью легких МБТ ($83,3 \times 10^4$ КОЕ, 100%; рис. 2, 3).

Лечение мышей LK1676 (10 мг/кг os) привело по сравнению с нелечеными животными к значимому ($p < 0,004$) снижению интегрального показателя эффективности терапии — высеваемости МБТ из гомогенатов легких ($p < 0,03$), а также других показателей тяжести течения инфекции: коэффициента массы легких ($p < 0,005$)

и индекса их поражения ($p < 0,002$), коэффициента массы селезенки ($p < 0,007$, рис. 2, 3). Гистологическая оценка ткани легких показала, что монотерапия препаратом LK1676 отчетливо отразилась на распространенности специфического поражения легких по сравнению с нелеченым контролем (рис. 4, а). У мышей, получавших препарат LK1676, очаги инфильтрации не имели сливного характера и в большинстве случаев соответствовали

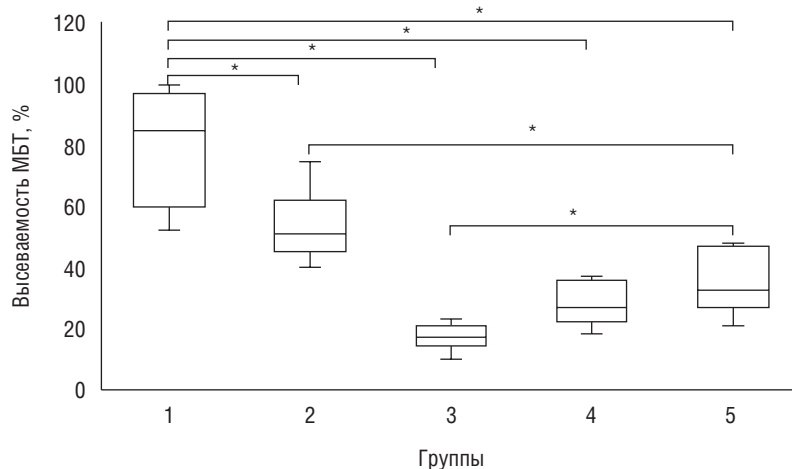


Рис. 3. Высеваемость микобактерий туберкулеза из гомогенатов легких мышей C57black/6, зараженных лекарственно-чувствительным международным вирулентным тест-штаммом *M. tuberculosis* H37Rv, через 6 нед от начала противотуберкулезной терапии (% от КОЕ контроля заражения). Группы животных: 1 — нелеченые; 2 — Z; 3 — E; 4 — Mfx; 5 — LK1676

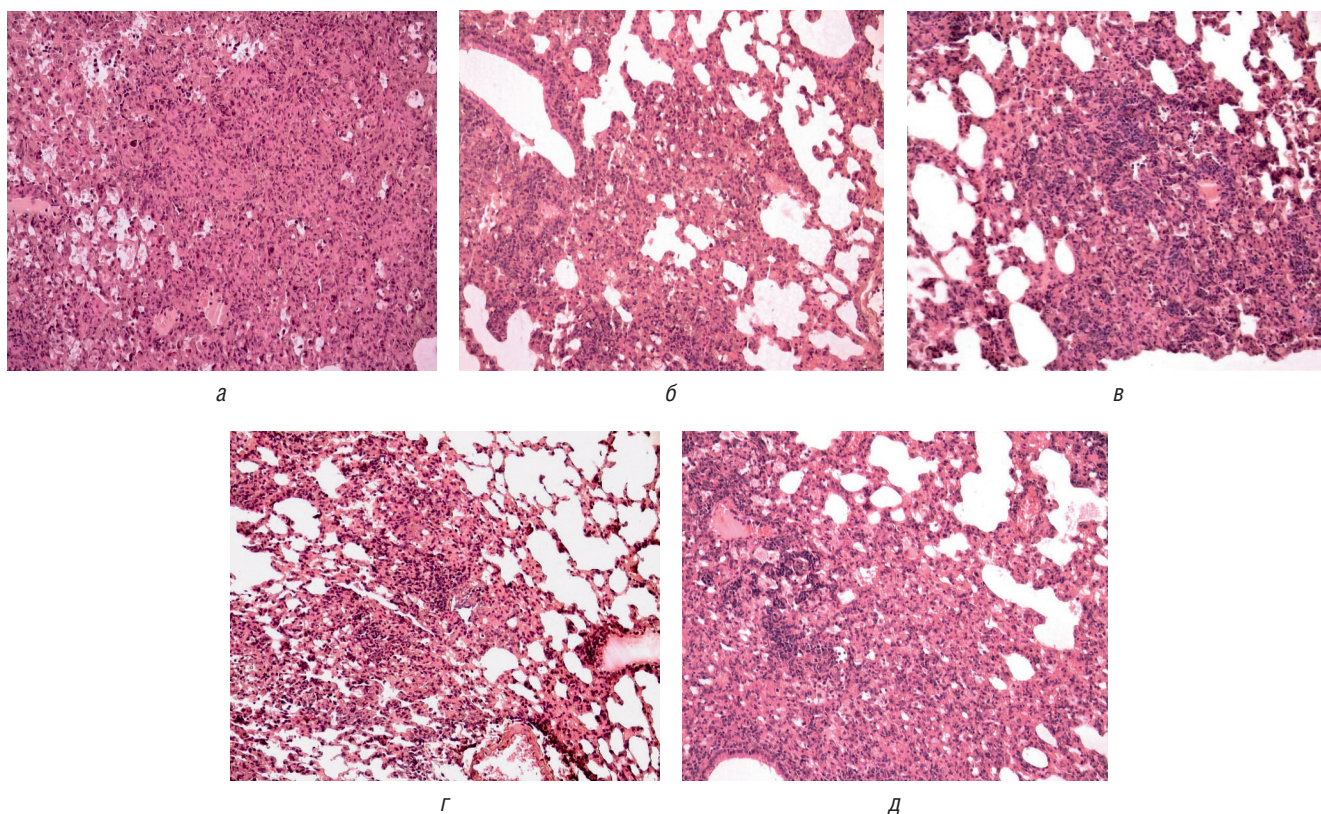


Рис. 4. Репрезентативные микрофотографии гистологических срезов легких мышей C57black/6, зараженных лекарственно-чувствительным международным вирулентным тест-штаммом *M. tuberculosis* H37Rv, через 6 нед от начала терапии. Очаги специфической инфильтрации: а — нелеченые; б — LK1676; в — Z; г — E; д — Mfx. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 300$

площади 20–40 альвеол — в 4 из 6 против 0 из 6 в контроле заражения, $p=0,005$ (рис. 4, б), а также не содержали маркеров деструкции — нейтрофильных гранулоцитов, которые регистрировались в контроле заражения в 100% случаев ($p<0,0005$). Состояние местного иммунитета у животных оценивали по выраженности периваскулярной и перибронхиальной инфильтрации, а также по клеточному составу индуцибельной бронхоассоциированной лимфоидной ткани (iBALT), образующейся в легких при длительной воспалительной реакции, развивающейся при инфекции, в том числе и при туберкулезе [17, 18]. Монотерапия препаратом 1676 привела к снижению числа конгломератов iBALT с крупными скоплениями эпителиоидных клеток, к появлению конгломератов iBALT с единичными эпителиоидными клетками — 100% против 0 у нелеченых мышей, $p<0,0005$ (рис. 5, б) и крупных периваскулярных и перибронхиальных лимфогистиоцитарных инфильтратов — 100% против 2 случаев ($p<0,006$).

У мышей, получавших LK1676, перестройка клеточного состава конгломератов iBALT на единичные эпителиоидные клетки, а также появление крупных лимфогистиоцитарных инфильтратов по сравнению с крупными скоплениями в контроле заражения свидетельствуют о более высокой активности лимфоидной составляющей местного иммунитета ткани легких.

При сопоставлении эффектов LK1676 с пипразинамидом (Z), этамбутолом (E) и моксифлоксацином (Mfx) установлено, что влияние препарата LK1676 на тяжесть течения инфекции было значимо ниже, чем у E, но приближалось к показателям монотерапии Mfx и Z. Данные оценки гистопатологии легких показали, что распространенность воспалительной инфильтрации у мышей, леченных препаратом LK 1676, была меньше, чем при терапии Mfx и близка к результатам лечения E и Z. В двух последних группах, как и под влиянием LK1676, у большинства мышей определялись ограниченные инфильтративные изменения площадью 20–40 альвеол (рис. 4, в, г). При лечении же Mfx в 5 из 6 срезах выявлялась меньшая воздушность легочной ткани на фоне крупных сливных очагов инфильтрации (рис. 4, д). Эффект LK1676 совпадал с действием монотерапии Z, E и Mfx по его способности обеспечить исчезновение в очагах специфической инфильтрации таких показателей деструкции, как наличие нейтрофильных гранулоцитов, изменение клеточного состава конгломератов iBALT (уменьшение зоны эпителиоидных клеток, рис. 5, б–д) и появление крупных периваскулярных и перибронхиальных лимфогистиоцитарных инфильтратов в 100% случаев (рис. 4, б–д).

У мышей C57BL/6, инфицированных лекарственно устойчивым высоковирулентным клиническим МЛУ

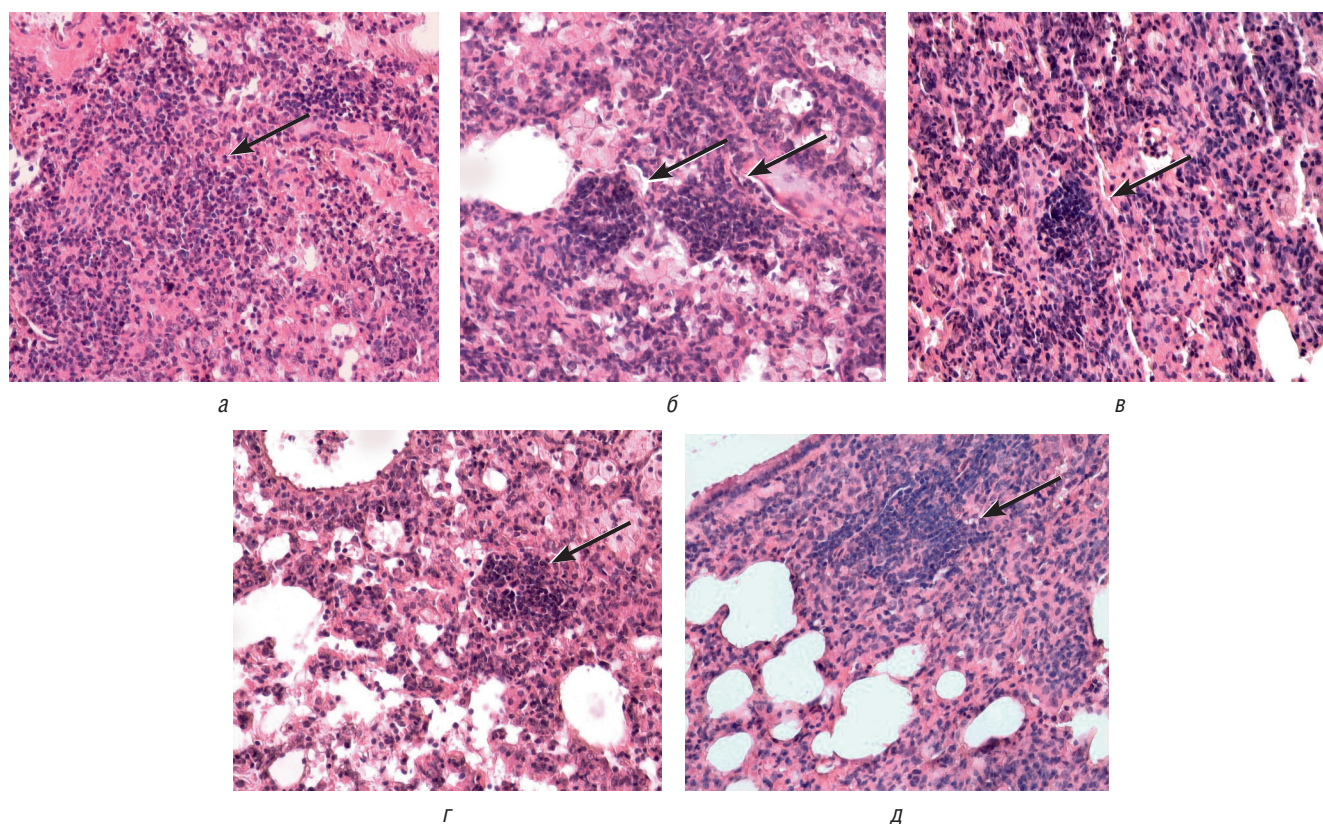


Рис. 5. Репрезентативные микрофотографии гистологических срезов легких мышей C57black/6, зараженных лекарственно-чувствительным международным вирулентным тест-штаммом *M. tuberculosis* H37Rv, через 6 нед от начала терапии. Конгломераты iBALT: а — нелеченые; б — LK1676; в — Z; г — E; д — Mfx. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 600$

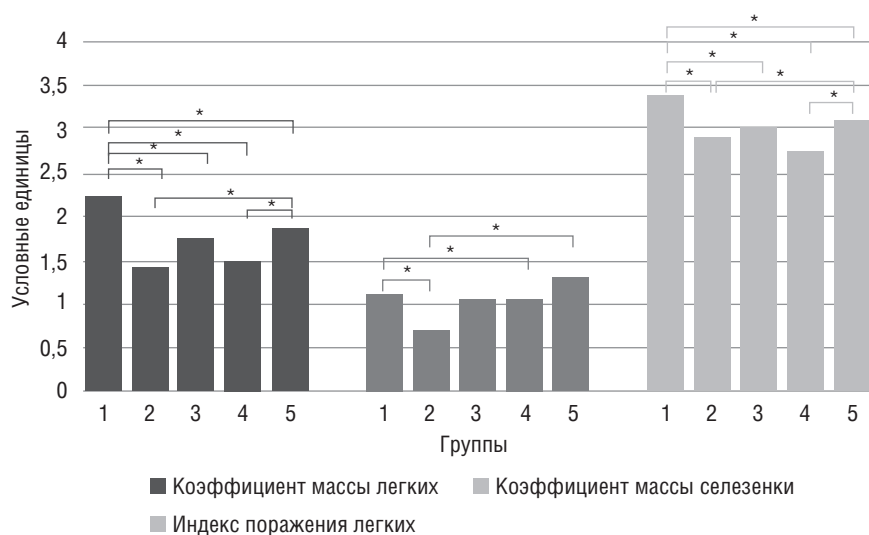


Рис. 6. Показатели тяжести течения туберкулезной инфекции у мышей C57black/6, зараженных клиническим МЛУ штаммом 5582 *M. tuberculosis* генотипа *Beijing*, через 6 нед от начала противотуберкулезной терапии. Группы животных: 1 — нелеченные; 2 — E; 3 — Mfx; 4 — Lzd; 5 — LK1676

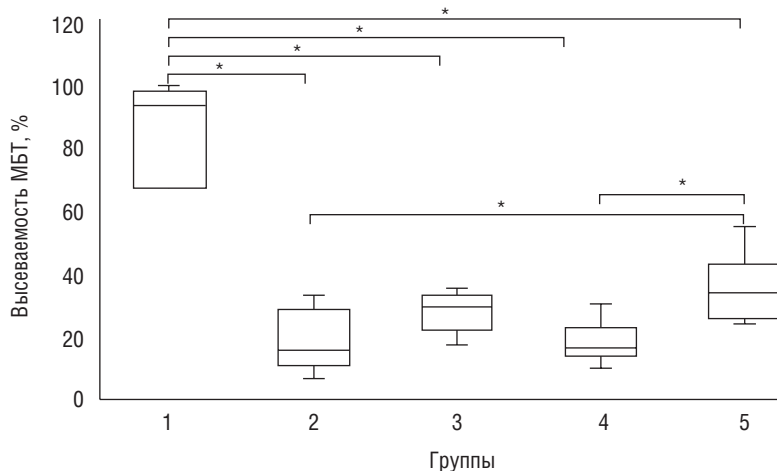


Рис. 7. Высеваемость микобактерий туберкулеза из гомогенатов легких мышей C57black/6, зараженных клиническим МЛУ штаммом 5582 *M. tuberculosis* генотипа *Beijing*, через 6 нед от начала противотуберкулезной терапии (% от КОЕ контроля заражения). Группы животных: 1 — нелеченные; 2 — E; 3 — Mfx; 4 — Lzd; 5 — LK1676

штаммом *M. tuberculosis* генотипа *Beijing*, монотерапия LK1676, как и при ЛЧ туберкулезе легких, привела к значимому снижению трех из четырех показателей пораженности легких: высеваемости МБТ ($p < 0,004$), коэффициенту массы ($p < 0,02$) и индексу поражения ($p < 0,001$; рис. 6, 7). Следует отметить, что по сравнению с контролем заражения при монотерапии LK1676 наблюдалась некоторая стимуляция пролиферации системы iBALT (рис. 8, а, б).

При сравнении влияния LK1676 на течение ЛУ туберкулеза легких у мышей с действием противотуберкулезных препаратов обнаружено, что монотерапия LK1676 существенно не отличалась от эффекта Mfx и была значимо менее эффективной, чем у E и Lzd по клиренсу легких от МБТ ($p < 0,03$) и по коэффициенту массы легких ($p < 0,05$; см. рис. 6, 7). При гистоло-

гическом исследовании характеристика поражения легких была однотипной у всех использованных препаратов: специфическое воспаление, имевшее признаки высокой активности, было распространенным, регистрировались мелкие зоны деструкции в виде очагов распадающихся макрофагов и нейтрофилов с формированием ядерного детрита (см. рис. 8).

Заключение

Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза — один из существенных факторов, ограничивающих эффективность химиотерапии. К 2023 г. показатель эффективного лечения МЛУ туберкулеза легких в мире составил 64% в то время, как в России оставался на уровне 51%. Рост и распространение штаммов

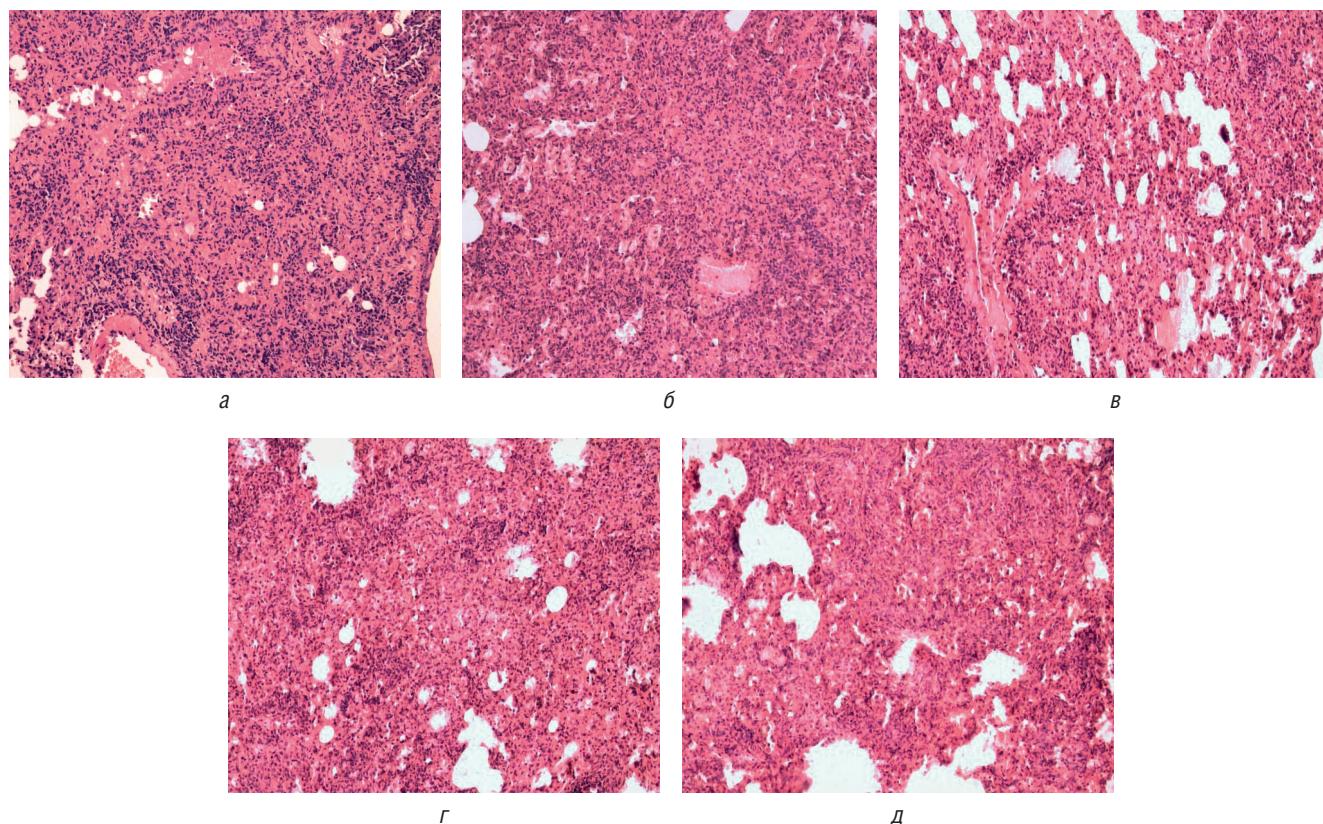


Рис. 8. Репрезентативные микрофотографии гистологических срезов легких мышей C57black/6, зараженных клиническим МЛУ штаммом 5582 *M. tuberculosis* генотипа *Beijing*, через 6 нед от начала терапии. Очаги специфической инфильтрации: *а* — нелеченые; *б* — LK1676; *в* — E; *г* — Mfx; *д* — Lzd. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 300$

микобактерий, устойчивых к противотуберкулезным препаратам нового поколения, их высокая токсичность и дороговизна подчеркивают острую необходимость в разработке новых препаратов и инновационных методах терапии. Это и явилось целью представить возможности нового вещества LK1676 из ряда нитрогетероциклических соединений с высоким ингибирующим потенциалом *in vitro* в отношении ЛЧ и ЛУ штаммов МБТ, с хорошей переносимостью *in vivo* [15], в терапии экспериментальной туберкулезной инфекции.

Анализ данных по монотерапии LK1676 при ЛЧ туберкулезе выявил значимое снижение всех показателей тяжести течения инфекции: обсемененности легких МБТ, распространенности специфического поражения в ткани легких, исчезновении признаков деструкции и повышении активности лимфоидного компонента местного иммунитета легких при сравнении с контролем заражения. Эффективность монотерапии LK1676 по вышеперечисленным показателям тяжести течения экспериментального туберкулеза была сопоставима с действием Mfx и Z, но существенно ниже, чем у E.

В нашем исследовании параллельно выявлению крупных периваскулярных и перибронхиальных лимфогистиоцитарных инфильтратов у мышей, получавших LK1676, обнаружены конгломераты iBALT

с единичными эпителиоидными клетками. Поскольку индукторами конгломератов iBALT являются Т-хелперные клетки и их цитокины, в том числе IL-17, их относят к структурам, обеспечивающим адаптивный иммунный ответ на *M. tuberculosis* и благоприятный исход инфекции [18–26]. У нелеченых животных в нашем эксперименте определялись только крупные скопления эпителиоидных клеток. Полной перестройки клеточного состава конгломератов iBALT (до полностью лимфоидных) под влиянием монотерапии препаратом LK 1676 не произошло, что возможно обусловлено недостаточной эффективностью местной иммунной реакции. При этом эпителиоидные клетки, остающиеся в составе конгломератов iBALT, обеспечивают сохранность внутриклеточного резервуара *M. tuberculosis* [22]. Наши данные об изменении соотношения эпителиоидных клеток и лимфоцитов в конгломератах iBALT в пользу последних, отражающие эффективность терапии экспериментального туберкулеза, в дальнейшем могут использоваться в качестве критериев результативности новых противотуберкулезных препаратов.

При МЛУ туберкулезе действие LK1676 характеризовалось значимым снижением бактериальной нагрузки легких МБТ, коэффициента массы легких и индекса их поражения по сравнению с контролем заражения.

Эффективность монотерапии LK1676 при МЛУ экспериментальном туберкулезе была сопоставима с Mfx, но значимо менее выраженной, чем у E и Lzd. При этом на других характеристиках воспалительного процесса монотерапия как препаратом LK1676, так препаратами сравнения — E, Mfx и Lzd практически не отразилась, что вероятно связано с высокой вирулентностью использованного клинического штамма, вызвавшего тотальную макрофагально-гистиоцитарную инфильтрацию с эпителиоидно-клеточной трансформацией и формированием мелких зон деструкции, а также с недостаточной длительностью курса терапии.

Таким образом, на основании проведенного исследования можно заключить, что вещество 1-[(5-нитрофуран-2-ил)карбонил]-2'-циклогексил-1h,7'h-спиро[азетидин-3,5'-фуоро[3,4-d]пиримидин] с лаборатор-

ным шифром LK 1676 проявляет терапевтическую активность на различных моделях туберкулеза с ЛЧ и с МЛУ возбудителями, сопоставимую по выраженности лечебного эффекта с действием моксифлоксацина и пиразинамида.

Полученные результаты свидетельствуют, что соединение 1-[(5-нитрофуран-2-ил)карбонил]-2'-циклогексил-1h,7'h-спиро[азетидин-3,5'-фуоро[3,4-d]пиримидин] является перспективным для дальнейшего углубленного доклинического исследования.

Работа выполнена в рамках Государственного задания МЗ РФ «Разработка и доклиническая оценка антимикобактериальных агентов с использованием методов машинного обучения для лечения туберкулеза, вызванного возбудителем с множественной/широкой лекарственной устойчивостью» (2024–2026).

Список литературы

1. WHO. Global Tuberculosis Report 2024.
2. Галкин В.Б., Стерликов С.А., Яблонский П.К. и др. Тенденции развития эпидемической ситуации по туберкулезу во время и после пандемии COVID-19: Россия и СЗФО, 2020–2023 гг. Медицинский альянс 2024; 12 (3): 6–15. [Galkin V.B., Sterlikov S.A., Jablonskiy P.K. et al. Tuberculosis Epidemiological Trends During and After the Covid-19 Pandemic: Russia and the Northwestern Federal District, 2020–2023. Medicinskij al'jans 2024; 12 (3): 6–15 (In Russ.)]. doi: 10.36422/23076348-2024-12-3-6-15.
3. World Health Organisation. Global tuberculosis report 2018. Geneva: 2018
4. Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health Organization; 2022.
5. Dartois V.A., Rubin E.J. Anti-tuberculosis treatment strategies and drug development: challenges and priorities. Nat. Rev. Microbiol. 2022; (11): 685–701. doi: 10.1038/s41579-022-00731-y.
6. Bahuguna A., Rawat D.S. An overview of new antitubercular drugs, drug candidates, and their targets. Med. Res. Rev. 2020; (1): 263–292. doi: 10.1002/med.21602.
7. Rudgard W.E., Evans C.A., Sweeney S. et al. Comparison of Two Cash Transfer Strategies to Prevent Catastrophic Costs for Poor Tuberculosis-Affected Households in Low- And Middle-Income Countries: An Economic Modelling Study. PLoS Med. 2017; 14 (11): e1002418. doi: 10.1371/journal.pmed.1002418.
8. Wang J., Zhou M., Chen Z. et al. Survival of patients with multi-drug-resistant tuberculosis in Central China: a retrospective cohort study. Epidemiol Infect. 2020; 148: e50. doi: 10.1017/S0950268820000485.
9. Samanta S., Kumar S., Aratikatla E.K. et al. Recent developments of imidazo[1,2-a]pyridine analogues as antituberculosis agents. RSC Med. Chem. 2023; 14 (4): 644–657. doi: 10.1039/d3md00019b.
10. Conradie F., Diacon A., Ngubane N. et al. Treatment of highly drug-resistant pulmonary tuberculosis. N. Engl. J. Med. 2020; 382 (10): 893–902. doi: 10.1056/NEJMoa1901814.
11. Aldridge B.B., Barros-Aguirre D., Barry C.E. 3rd et al. The Tuberculosis Drug Accelerator at year 10: what have we learned? Nat. Med. 2021; 27 (8): 1333–1337. doi: 10.1038/s41591-021-01442-2.
12. Lukin A., Vinogradova L., Komarova K., Krasavin M. Spirocyclic azetidines for drug discovery: novel Boc-protected 7'H-spiro[azetidine-3,5'-fuoro[3,4-d] pyrimidines]. Mendeleev Commun. 2023; 33: 323–324. doi: 10.1016/j.mencom.2023.04.008.
13. Komarova K., Vinogradova L., Lukin A., Zhuravlev M., Chudinov M., Gureev M., Dogonadze M., Vinogradova T., Lavrova A., Yablonskiy P. The Nitrofuranyl-Warhead- Equipped Spirocyclic Azetidines Show Excellent Activity Against M. tuberculosis. Molecules. 2024; 29: 3071. doi: 10.3390/molecules29133071
14. Lukin A., Komarova K., Vinogradova L., Dogonadze M., Vinogradova T., Yablonskiy P., Kazantsev A., Krasavin M. Periphery exploration around 2,6-diazaspiro[3.4]octane core identifies a potent nitrofuranyl antitubercular lead. Molecules. 2023; 28 (6): 2529.
15. 1-[(5-нитрофуран-2-ил)карбонил]-2'-циклогексил-1h,7'h-спиро[азетидин-3,5'-фуоро[3,4-d]пиримидин], обладающий противотуберкулезной активностью в отношении возбудителя туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью, и способ его получения / А.Ю. Лукин, Т.И. Виноградова, М.З. Догонадзе, Л.В. Виноградова, К.Ю. Комарова, Д.В. Дарьин, А.И. Лаврова, Е.Б. Постников, А.В. Сычев, П.К. Яблонский // Патент на изобретение ru 2825647 c1, 28.08.2024. заявка от 11.09.2023. [1-[(5-нитрофуран-2-yl)carbonyl]-2'-cyclohexyl-1h,7'h-spiro[azetidine-3,5'-fuoro[3,4-d]pyrimidine], which has anti-tuberculosis activity against the causative agent of tuberculosis with multiple drug resistance, and a method for its production / A.Yu. Lukin, T.I. Vinogradova, M.Z. Dogonadze, L.V. Vinogradova, K.Yu. Komarova, D.V. Dar'in, A.I. Lavrova, E.B. Postnikov, A.V. Sychev, P.K. Jablonskiy // Patent na izobretenie ru 2825647 c1, 28.08.2024. заявка от 11.09.2023 (In Russ.)].
16. Hodge H.C., Sterner J.H. Tabulation of toxicity classes. Am. Ind. Hyg. Assoc. Q. 1949; (4): 93–96. doi: 10.1080/00968204909344159.
17. Rangel-Moreno J., Carragher D.M., de la Luz Garcia-Hernandez M. et al. The development of inducible bronchus-associated lymphoid tissue depends on IL-17. Nat. Immunol. 2011; 12 (7): 639–646. doi: 10.1038/ni.2053.
18. Marin N.D., Dunlap M.D., Kaushal D. et al. Friend or foe: the protective and pathological roles of inducible bronchus-associated lymphoid tissue in pulmonary diseases. J. Immunol. 2019; 202 (9): 2519–2526. doi: 10.4049/jimmunol.1801135.
19. Jones G.W., Hill D.G., Jones S.A. Understanding immune cells in tertiary lymphoid organ development: it is all starting to come together. Front. Immunol. 2016; 7: 401. doi: 10.3389/fimmu.2016.00401.
20. Zeng B., Xing R., Dong C. et al. Commentary: Group 3 innate lymphoid cells mediate early protective immunity

- against tuberculosis. *Front Immunol.* 2020; 11: 1925. doi: 10.3389/fimmu.2020.01925.
21. Moyron-Quiroz J.E., Rangel-Moreno J., Kusser K. et al. Role of inducible bronchus associated lymphoid tissue (iBALT) in respiratory immunity. *Nat. Med.* 2004; 10: 927–934.
 22. Carow B., Hauling T., Qian X. et al. Spatial and Temporal Localization of Immune Transcripts Defines Hallmarks and Diversity in the Tuberculosis Granuloma. *Nat. Commun.* 2019; 10 (1): 1823. doi: 10.1038/s41467-019-09816-4.
 23. Basile J.I., Liu R., Mou W. et al. Mycobacteria-Specific T Cells Are Generated in the Lung During Mucosal BCG Immunization or Infection With Mycobacterium tuberculosis. *Front Immunol.* 2020; 11: 566319. doi: 10.3389/fimmu.2020.566319.
 24. Griffiths K.L., Ahmed M., Das S. et al. Targeting dendritic cells to accelerate T-cell activation overcomes a bottleneck in tuberculosis vaccine efficacy. *Nat. Commun.* 2016; 7: 13894. doi: 10.1038/ncomms13894.
 25. Dunlap M.D., Prince O.A., Rangel-Moreno J. et al. Formation of Lung Inducible Bronchus Associated Lymphoid Tissue Is Regulated by Mycobacterium tuberculosis Expressed Determinants. *Front Immunol.* 2020; 11: 1325. doi: 10.3389/fimmu.2020.01325.
 26. Shurygina A.S., Zabolotnykh N.V., Vinogradova T.I. et al. TB/FLU-06E Influenza Vector-Based Vaccine in the Complex Therapy of Drug-Susceptible and Drug-Resistant Experimental Tuberculosis. *Pharmaceutics* 2024; 16 (7): 857. doi: 10.3390/pharmaceutics16070857.

Поступила в редакцию: 27.09.2025 г.

Сведения об авторах:

Виноградова Татьяна Ивановна — доктор медицинских наук, профессор, руководитель научно-исследовательской лаборатории экспериментальной медицины ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: vinogradova@spbnii.ru; ORCID 0000-0002-5234-349X;
Заболотных Наталья Вячеславовна — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории экспериментальной медицины ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: zabol-natal@yandex.ru; ORCID 0000-0002-2946-2415;
Догондзе Марине Зауриевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории микробиологии, биохимии и иммуногенетики ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: marine-md@mail.ru; ORCID 0000-0002-9161-466X;

Витовская Мария Львовна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории экспериментальной медицины ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: mariavit72@mail.ru. ORCID 0000-0003-4057-5741;

Эсмедяева Дилара Салиевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории микробиологии, биохимии и иммуногенетики ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: diljara-e@yandex.ru; ORCID 0000-0002-9841-0061;

Дьякова Марина Евгеньевна — доктор биологических наук, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории микробиологии, биохимии и иммуногенетики ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: marinadyakova@yandex.ru; ORCID 0000-0002-7810-880X;

Ариэль Борис Михайлович — доктор медицинских наук, профессор, советник директора ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: arielboris@rambler.ru; ORCID 0000-0002-7243-8621;

Лукин Алексей Юрьевич — кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры биотехнологии и промышленной фармации ФГБОУ ВО «МИРЭА — Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова»; 119571, Москва, пр. Вернадского, д. 86; ведущий научный сотрудник лаборатории ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: alex-look@yandex.ru; ORCID 0000-0001-6162-4851;

Комарова Кристина Юрьевна — кандидат химических наук, научный сотрудник кафедры биотехнологии и промышленной фармации ФГБОУ ВО «МИРЭА — Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова»; 119571, Москва, пр. Вернадского, д. 86; e-mail: kristinka-komarova.1999@mail.ru; ORCID 0000-0002-6827-4441;

Худякова Любовь Владимировна — кандидат химических наук, научный сотрудник кафедры биотехнологии и промышленной фармации ФГБОУ ВО «МИРЭА — Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова»; 119571, Москва, пр. Вернадского, д. 86; e-mail: vlv010599@yandex.ru; ORCID 0000-0001-5410-9333;

Дарьин Дмитрий Викторович — доктор химических наук, профессор кафедры медицинской химии, заведующий лабораторией синтеза биоактивных малых молекул Института химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»; 198504, Санкт-Петербург, Университетский пр., 26; e-mail: d.dariin@spbu.ru; ORCID 0000-0002-0413-7413;

Журавлев Максим Евгеньевич — инженер кафедры биотехнологии и промышленной фармации ФГБОУ ВО «МИРЭА — Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова»; 119571, Москва, пр. Вернадского, д. 86; e-mail: max.2903@mail.ru; ORCID 0009-0004-1416-0336;

Яблонский Петр Казимирович — доктор медицинских наук, профессор; директор ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: info@spbnii.ru; ORCID 0000-0003-4385-9643.