

Оценка антимикобактериальной активности вновь синтезированных производных пиримидина в отношении *Mycobacterium tuberculosis*

М. А. САМОТРУЕВА¹, *Н. М. ГАБИТОВА¹, Г. Н. ГЕНАТУЛЛИНА¹, А. А. СТАРИКОВА¹,
О. А. БАШКИНА¹, А. Г. ТЫРКОВ², А. А. ОЗЕРОВ³, И. Н. ТЮРЕНКОВ³

¹ ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Астрахань, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет», Астрахань, Российская Федерация

³ ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет МЗ РФ, Астрахань, Российская Федерация

Assessment of Antimycobacterial Activity of Newly Synthesized Pyrimidine Derivatives Against *Mycobacterium tuberculosis*

MARINA A. SAMOTRUEVA¹, *NARMINA M. GABITOVA¹, GUZEL N. GENATULLINA¹,
ALLA A. STARIKOVA¹, OLGA A. BASHKINA¹, ALEXEY G. TYRKOV²,
ALEXANDR A. OZEROV³, IVAN N. TYURENKOV³

¹ Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation

² Astrakhan State University, Astrakhan, Russian Federation

³ Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation

Резюме

Актуальность. Современная тенденция растущей антибиотикорезистентности среди патогенных микроорганизмов остаётся одной из актуальных и значимых проблем человечества. Постоянное распространение резистентных штаммов микроорганизмов требует разработки инновационных методов и поиска лекарственных соединений с высокоэффективным механизмом действия. Одним из подобных мультирезистентных патогенов, трудно поддающихся лечению, является возбудитель туберкулёза *Mycobacterium tuberculosis*.

Цель. Изучить влияние вновь синтезированных производных пиримидина на рост культуры *Mycobacterium tuberculosis* и на структурные изменения клеток.

Материал и методы. В ходе работы для оценки влияния ряда производных пиримидина на рост культуры *M. tuberculosis* проводили скрининг 6 образцов 5-(арилметилден)-гексагидропиримидин-2,4,6-трионов (ТАГ1 — ТАГ6), 7 образцов 5-гетарилметилден-2,4,6-трионов (ТАГ7 — ТАГ13) и 2 новых образцов 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он и 3-[2-(1-Нафтил)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-он под лабораторными шифрами VMA-13-03 и VMA-13-04. В качестве тест-культуры *M. tuberculosis* использовали штамм H37RV, предоставленный бактериологической лабораторией Областной инфекционной клинической больницы им. А. М. Ничоги. Для приготовления взвеси микобактерий использовали 4-недельную культуру *M. tuberculosis*, синхронизированную холодом (+4°C) в течение 72 ч. Количество микобактерий в суспензии определяли по стандарту мутности McFarland 0,5. В каждую пробирку ряда последовательных разведений изучаемых веществ, включая контроль, вносили по 0,2 мл рабочей взвеси *M. tuberculosis*. Исследование проводили в 4 сериях повторных экспериментов. Определяли минимальную бактерицидную концентрацию соединений, при которой не обнаруживалось роста колоний и минимальную подавляющую концентрацию, при которой наблюдалась задержка роста микобактерий на 50% по сравнению с контролем. Из осадка готовили мазки для окрашивания по методу Циля–Нильсена для определения наличия кислотоустойчивых и некислотоустойчивых форм микобактерий, а также для изучения влияния пиримидинов и препарата сравнения на структурные изменения клеток *M. tuberculosis*.

Результаты. В ходе исследования максимально приближённую антибактериальную активность к препарату сравнения изониазиду по показателю задержки роста микобактерий проявили соединения ТАГ4, ТАГ6 и ТАГ8. Наибольшая бактерицидная активность в отношении *M. tuberculosis* отмечалась у ТАГ4, ТАГ7 и VMA-13-04. Остальные соединения проявили минимальное ингибирующее влияние на рост *M. tuberculosis*. Микроскопические исследования показали, что под влиянием ТАГ3, ТАГ4, ТАГ7, ТАГ12, VMA-13-03 и VMA-13-04 основные структурные компоненты клеток *M. tuberculosis* подвергаются фрагментации и изменению морфологических особенностей по сравнению с клетками микобактерий без воздействия.

Заключение. В результате проведённого исследования установлено, что все изучаемые соединения обладают антимикобактериальной активностью. По характеру ингибирующего воздействия на рост *M. tuberculosis* соединения под лабораторными шифрами ТАГ1, ТАГ4, ТАГ7 и ТАГ13 были сопоставимы с изониазидом, а производное ТАГ3 даже несколько превосходило действие препарата сравнения. Наименее выраженным противотуберкулёзным действием обладали соединения под лабораторными шифрами VMA-13-03 и VMA-13-04, вещества под лабораторными шифрами ТАГ5, ТАГ6, ТАГ11 и ТАГ12 — меньшей степенью фармакологического эффекта.

© Коллектив авторов, 2022

*Адрес для корреспонденции: ул. Бакинская, 121, Астраханский ГМУ, г. Астрахань, Российская Федерация, 414000.
E-mail: narmina85@inbox.ru

© Team of Authors, 2022

*Correspondence to: 121 Bakinskaya st., Astrakhan State Medical University, Astrakhan, 414000 Russian Federation.
E-mail: narmina85@inbox.ru

Ключевые слова: антимикобактериальная активность; штамм; производные пириимидина; кислотоустойчивые микобактерии; *Mycobacterium tuberculosis*

Для цитирования: Самотруева М.А., Габитова Н.М., Генатуллина Г.Н., Старикова А.А., Башкина О.А., Тырков А. Г., Озеров А.А., Тюренков И.Н. Оценка антимикобактериальной активности вновь синтезированных производных пириимидина в отношении *Mycobacterium tuberculosis*. *Антибиотики и химиотер.* 2022; 67: 3–4: 4–15. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-4-15.

Abstract

Background. The current trend of growing antibiotic resistance among pathogenic microorganisms remains one of the urgent and significant problems of mankind. The constant spread of resistant strains of microorganisms requires the development of innovative methods and the search for medicinal compounds with a highly effective mechanism of action. One of these multi-resistant pathogens that are difficult to eradicate is the causative agent of tuberculosis — *Mycobacterium tuberculosis*.

The aim is to study the effect of newly synthesized pyrimidine derivatives on the growth of *Mycobacterium tuberculosis* culture, as well as on the structural changes in cells.

Material and methods. In order to assess the effect of a number of pyrimidine derivatives on the growth of *Mycobacterium tuberculosis* culture, 6 samples of 5-(arylmethylene) hexahydropyrimidine-2,4,6-triones (TAG1 — TAG6), 7 samples of 5-hetarylmethylidene-2,4,6-triones (TAG7 — TAG13), and 2 new samples of 3-(2-Benzoyloxy-2-oxoethyl)quinazoline-4(3H)-one and 3-[2-(1-Naphthyl)-2-oxoethyl]quinazoline-4(3H)-one were screened under the laboratory ciphers VMA-13-03 and VMA-13-04 in the course of the study. *M. tuberculosis* H37RV strain was used as a test culture; it was provided by the bacteriological laboratory of the Regional Infectious Clinical Hospital named after A. M. Nichoga. A 4-week culture of *M. tuberculosis*, synchronized by cold (+4°C) for 72 hours, was used to prepare a suspension of mycobacteria. The number of mycobacteria in the suspension was determined using the McFarland 0.5 turbidity standard. 0.2 ml of *M. tuberculosis* working suspension was added to each tube of a series of successive dilutions of the studied substances, including the control. The study was carried out in 4 series of replicates. The minimum bactericidal concentration of the compounds, at which no colony growth was detected, as well as the minimum inhibitory concentration, at which mycobacterium growth was delayed by 50% compared to the control, were determined. Smears were prepared from the sediment for staining using the Ziehl-Neelsen method to determine the presence of acid-resistant and non-acid-resistant forms of mycobacteria, as well as to study the effect of pyrimidines and a comparison drug on structural changes in *M. tuberculosis* cells.

Results. In the course of the study, the TAG4, TAG6, and TAG8 compounds were found to have the closest antibacterial activity to the comparison drug isoniazid, according to the indicator of mycobacteria growth retardation. The greatest bactericidal activity against *M. tuberculosis* was observed in TAG4, TAG7, and VMA-13-04. The remaining compounds have shown minimal inhibitory effect on the growth of *M. tuberculosis*. Microscopic studies have shown that under the influence of TAG3, TAG4, TAG7, TAG12, VMA-13-03, and VMA-13-04, the main structural components of *M. tuberculosis* cells undergo fragmentation and morphological changes compared to mycobacterium cells without exposure.

Conclusion. As a result, it was found that all the studied compounds possess antimycobacterial activity. Compounds under the laboratory ciphers TAG1, TAG4, TAG7, and TAG13 were comparable to isoniazid by the nature of the inhibitory effect on the growth of *M. tuberculosis*, and the TAG3 compound even slightly exceeded the effect of the comparison drug. Compounds under the laboratory codes VMA-13-03, and VMA-13-04 had the least pronounced anti-tuberculosis effect. Compounds under the laboratory codes TAG5, TAG6, TAG11, and TAG12 showed the least antimycobacterial activity.

Keywords: antimycobacterial activity; strain, pyrimidine derivatives; acid-resistant mycobacteria; *Mycobacterium tuberculosis*

For citation: Samotruева M. A., Gabitova N. M., Genatullina G. N., Starikova A. A., Bashkina O. A., Tyrkov A. G., Ozerov A. A., Tyurenkov I. N. Assessment of antimycobacterial activity of newly synthesized pyrimidine derivatives against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2022; 67: 3–4: 4–15. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-4-15.

Современная тенденция растущей антибиотикорезистентности среди патогенных микроорганизмов остаётся одной из актуальных и значимых проблем человечества [1, 2]. Постоянное распространение резистентных штаммов микроорганизмов требует разработки инновационных методов и поиска лекарственных соединений с высокоэффективным механизмом действия. Одним из подобных мультирезистентных патогенов, трудно поддающихся лечению, является возбудитель туберкулёза *Mycobacterium tuberculosis* [3].

Несмотря на значительные усилия по выявлению и созданию новых терапевтических агентов, ежегодно регистрируются новые случаи заболевания туберкулёзом, что по-прежнему является одной из основных причин смертности во всем мире [4–8]. Кроме того, одним из тревожных сигналов, существенно ухудшающим эффектив-

ность лечения является увеличение числа случаев туберкулёза с множественной лекарственной устойчивостью [9, 10].

Эволюция *M. tuberculosis* вследствие адаптации патогена к действию антимикробных средств способствовала возникновению медленно растущих, бездействующих и нереплицирующих субпопуляций бактерий [11]. Малая эффективность противотуберкулёзных препаратов первого (изониазид, пиразинамид, рифампицин, этамбутол и др.) и второго поколений (амикацин, циклосерин, этионамид и др.), оказывающих воздействие на рост и репликацию клеток, в отношении нереплицирующихся бактерий требует длительного лечения и, как следствие, приводит к возникновению резистентности к известным лекарственным средствам [12]. Токсичность применяемых веществ служит ещё одной причиной, мотивирующей современных исследователей на разра-

ботку новых безопасных противотуберкулёзных препаратов, активных в отношении реплицирующихся и лекарственно-устойчивых штаммов *M.tuberculosis* [12].

Одним из направлений разработки новых лекарственных средств, активных в отношении *M.tuberculosis*, является поиск соединений, ингибирующих ферменты, ответственные за жизненно важные клеточные функции, метаболические пути, составляющие их основу и, как следствие, обуславливающие выживаемость микобактерий в организме человека. Особое внимание заслуживают ферменты, принимающие участие в биосинтетическом пути «спасения» пиримидинов, в ходе которого нуклеотиды, подвергаясь деградации, синтезируются из промежуточных продуктов [13].

Установлена важная роль дезоксиуридинтрифосфатазы (dUTPase), участвующей в подавлении процесса вовлечения урацила в сборку ДНК за счёт контроля концентрации dUTP, превышение которого приводит к гибели клеток при деградации двухцепочечной нуклеиновой кислоты. Известно, что dUTPase активирует переход dUTP в дезоксиуридин 5'-монофосфат (dUMP). Описано участие дезоксиуридинтрифосфатазы *M.tuberculosis* в образовании dUMP, который является предшественником биосинтеза тимидилата. Обоснованно рассмотрение dUTPase в качестве перспективной мишени при дизайне лекарственных средств, применяемых для лечения инфекции, вызванной *M.tuberculosis* [13]. Показана возможность связывания кетонной, а также первичной и вторичной аминогрупп соединений, содержащих пиримидин-2,4(1H,3H)-дионовый цикл, с остатками аргинина, серина, лизина и глицина активного сайта фермента [14].

Описана роль дезоксицитидинтрифосфат (dCTP) дезаминазы, катализирующей превращение dCTP в дезоксиуридинтрифосфат (dUTP); тимидилатсинтазы, участвующей в присоединении dUMP к дезокситимидинмонофосфату (dTMP) и нуклеозиддифосфаткиназы, сопровождающей образование дезокситимидинтрифосфата (dTTP) из dTDP. Установлено, что перечисленные ферменты являются ключевыми соединениями в биосинтетических процессах, обуславливающих выживаемость *M.tuberculosis* [13].

Показано участие дезокситимидинмонофосфаткиназакиназы (dTMP) при катализе фосфорилирования dTMP с образованием dTDP с использованием АТФ в качестве фосфорильного донора и dUMP в качестве субстрата. Изучено строение белковой молекулы, на основании чего установлено, что характерным для *M.tuberculosis* является присутствие в аминокислотной последовательности остатка аргинина. Доказано, что связывание субстрата с цитидилаткиназой осу-

ществляется на участке, образованном остатками глицина и лизина. Описана роль нуклеозиддифосфаткиназы (NDP) в каталитическом фосфорилировании нуклеозиддифосфата с образованием нуклеозидтрифосфата, имеющего важное значение для синтеза ДНК/РНК, клеточного деления и регуляторных процессов, обуславливающих выживание микобактерий. Показано, что NDP характеризуется способностью к катион-зависимому автофосфорилированию, существенную роль в котором играет остаток гистидина [13]. Пиримидиннуклеозидфосфорилаза (PyNP) катализирует обратимый фосфолиз пиримидиновых нуклеозидов. Описано связывание аминокислотных остатков лизина, глутамин, серина и треонина с фосфатом. Взаимодействие пиримидинового нуклеозида с активным сайтом PyNP осуществляется за счёт образования водородной связи с 2-амино-5-гуанидинпентановой, 2,6-диаминогексановой и 2-амино-3-гидроксипропановой кислотами.

Понимание сущности нитратного метаболического пути, играющего решающую роль в выживании *M.tuberculosis* на стадии пониженной активности, при которой бактериальный рост почти полностью приостановлен, раскрывает ещё одно направление поиска лекарственных веществ, активных в отношении данного патогена. Обосновано значение нитратредуктазы (NarGHJI), нитритредуктазы и глутаминсинтазы, принимающих участие в данном биосинтетическом процессе.

Установлено, что при инфицировании организма *M.tuberculosis* внутри макрофагов хозяина образуется оксид азота (II) (NO) и супероксид (O_2^-), уничтожающие внутриклеточные бактерии с образованием крайне нестабильного пероксинитрита ($ONOO^-$) с последующей перегруппировкой в NO_2^- в присутствии NarGHJI. Описана функциональная роль нитритредуктазы (NirBD) в превращении нитрита в аммиак, и глутаминсинтазы, катализирующей реакцию образования глутамин из него, что лежит в основе формирования клеточной стенки [15]. Известно, что также микобактериальная глутаминсинтаза увеличивает способность бактерий ингибировать фагосомно-лизосомный защитный механизм хозяина [16]. Показано, что снижение способности NO уничтожать болезнетворные штаммы *M.tuberculosis* является следствием устойчивости к противотуберкулёзным препаратам первого поколения, подавляющих активность нитратредуктазы.

Имеются сведения о способности патогена экспрессировать такие антиоксидантные ферменты, как супероксиддисмутаза, каталаза, алкилгидропероксидаза и пероксиредоксины, участвующие в нейтрализации свободных радикалов и обеспечивающие устойчивость патогена в организме человека [17].

Установлено, что повреждение клеточной стенки *M. tuberculosis* также лежит в основе действия противотуберкулёзных препаратов. Отличительной особенностью мембраны *M. tuberculosis* является высокая концентрация липидов и, как следствие, высокая степень гидрофобности [18]. Результатами молекулярного докинга подтверждено присутствие в клеточной оболочке *M. tuberculosis* ковалентно связанных миколовых кислот в составе гликолипидов, D-арабино-D-галактана и пептидогликана. Описана роль миколовых кислот в обеспечении резистентности *M. tuberculosis* ко многим лекарственным веществам [19]. Воздействие лекарственного средства на протеинредуктазу, которая является ферментом, отвечающим за удлинение цепи жирных кислот и катализирует восстановление α , β -ненасыщенных производных, может быть использовано при разработке гетероциклических соединений, проявляющих противотуберкулёзную активность. Отмечается большая значимость тирозина и лизина для связывания субстрата водородной связью. Показано взаимодействие гидроксильной группы рибозной части никотинамида, фенольного гидроксила бензимидазольной и индолизиновыми составляющими с указанными аминокислотными остатками [20].

Показано, что миколовые, а также жирные кислоты с очень длинной и полиметильной разветвлённой цепью (пальмитиновая, гексадеценовая, октадеценовая и туберкулостеариновая) входят в состав липидов клеточной стенки микобактерий [21]. Охарактеризовано участие в биосинтезе жирных кислот двух ферментных систем: синтазы (FAS I), состоящей из одного полипептида и катализирующей образование коротких предшественников для удлинения цепи жирных кислот, и FAS II, участвующей в биосинтезе миколовых кислот. Обнаружен белок FabG1, входящий в состав FAS II, активирующий НАДФН-специфическое восстановление длинноцепочечных β -кетоацилпроизводных. Особая роль отводится переносимой протеинсинтазе II (KAS II). Доказано, что аланин, глицин, гистидин, фенилаланин, аспарагин представляют активные центры KAS II. Установлена наибольшая аффинность связывания с ними церуленина изониазида, а также бициклических нитроимидазолов, направленный на нарушение процесса биосинтеза миколовых кислот клеточной стенки [11, 14].

Жизненно важным для *M. tuberculosis* является фермент арабинозилтрансфераза С, относящаяся к классу ферментов трансфераз, который участвует в биосинтезе клеточной стенки микобактерий. Вероятно, подавление его активности может составлять основу действия веществ

с противотуберкулёзным фармакологическим эффектом. Веществом, блокирующим активность арабинозилтрансферазы С, принимающей участие в основных этапах гликозилирования липоарабиноманнана и биосинтеза арабиногалактанов из арабинозы, составляющих клеточную стенку бактерий, является этамбутол, который может применяться в комбинации с изониазидом, пиразинамидом и рифампином [23]. Показано, что молекула арабинозилтрансферазы С состоит из 284 аминокислотных остатков, активными из которых являются аспарагин, аланин, лейцин, лизин и аргинин. Доказано, что связывание этамбутала с активным сайтом фермента происходит за счёт образования водородных связей с аланином, аспарагином, серином и глицином. Ингибирующее действие изониазида опосредовано его взаимодействием с Ala767, Arg879, Gly767 и Ile965 [23].

Решающим фактором вирулентности для выживания внутриклеточных микобактерий туберкулёза является фермент протеинкиназа G (PknG), представляющий мультидоменный белок из рубредоксина, определяющего энзимную активность, киназы и тетрагикопептидного повторяющегося домена [18]. Отличительной особенностью PknG является наличие уникального набора аминокислотных остатков в кармане связывания ингибитора, который не обнаружен ни в одной из киназ человека. Показано, что блокирование активности PknG под действием лекарственного вещества способствует быстрому переносу микобактерий в лизосомы и их уничтожение [24]. Отмечается, что связывание ингибитора и основной ферментативной цепи происходит, как правило, через остатки глутамина и валина [18]. Кроме того, протеинкиназа A (PknA) играет значительную роль в регуляции формы клеток микобактерий. Активация фермента происходит во время роста микобактерий и инфицирования ими организма человека [25]. Показана способность PknA оказывать воздействие на процесс фосфорилирования ряда белков, участвующих в синтезе миколовой кислоты, делении клеток и синтезе пептидогликана [25]. Блокирование процесса фосфорилирования остатков треонина (Thr172, Thr174 и Thr180) в активном сайте PknA, вероятно, может служить одним из возможных вариантов механизма действия веществ, проявляющих противотуберкулёзную активность [25].

Способность *M. tuberculosis* выживать в неблагоприятных для патогена условиях в организме человека связана с ещё одним ферментом — шикиматкиназой, выполняющим ключевую роль в шикиматном пути биосинтеза ароматических аминокислот. Согласно результатам молекулярного докинга, взаимодействие шикиматкиназы с лекарственным веществом осуществляется посредством водородного связывания с Gly80,

Arg136 и Arg58. Образующееся переходное состояние стабилизируется за счёт дополнительных межмолекулярных Ван дер Ваальсовых взаимодействий с аминокислотами: Ile45, Asp34, Pro11, Pro118, Gly79, Phe57, Leu119 и Gly81 [26].

Ингибирование дыхательных цитохромов за счёт воздействия на первичную терминальную оксидазу цитохрома bcc-aa3 (Cyt-bcc-aa3) даёт возможность подавлять жизнедеятельность переплюлирующих *M.tuberculosis* [27]. Блокирование процесса окислительного фосфорилирования является следствием воздействия на ключевой элемент дыхательной цепи. Описана роль фермента сукцинатдегидрогеназы, катализирующего окисление сукцината в фумарат и играющего решающую роль в бактериальном углеродном обмене и дыхании. Охарактеризованы две ферментативные формы, одна из которых необходима для оптимального роста в аэробных условиях, а другая играет значительную роль в остановке роста при переходе *M.tuberculosis* от аэробного к гипоксическому режиму существования [27]. Изучение причин возникновения устойчивости к действию антимикробных препаратов позволило оценить роль эффлюксных систем оттока в качестве мишени для новых противотуберкулёзных препаратов, способных их ингибировать [19].

Результаты исследований, направленных на установление связи «структура–активность», доказали наличие выраженной активности в отношении *M.tuberculosis* у соединений, структура которых содержит пиримидиновый цикл.

История пиримидинов берёт начало со дня их открытия в составе нуклеиновых кислот и использования в качестве химиотерапевтических агентов в настоящий момент [28]. Химиотерапевтическая эффективность производных пиримидина обусловлена способностью к ингибированию жизненно важных ферментов, ответственных за биосинтез ДНК [29]. Отмечен антиканцерогенный (блеомицин), противовирусный (ацикловир, ламивудин), и противопаразитарный (пирантел) эффекты производных пиримидина, а также их выраженные бактерицидные (триметоприм, изопан) и фунгицидные (флуцитозин) свойства [29–32].

Цель исследования — провести сравнительную оценку антимикобактериальной активности вновь синтезированных производных пиримидина в отношении *Mycobacterium tuberculosis*.

Материал и методы

В ходе работы для оценки влияния ряда производных пиримидина на рост культуры *M.tuberculosis* проводили скрининг 6 образцов 5-(арилметил)гексагидропиримидин-2,4,6-трионов (ТАГ1 — ТАГ6), 7 образцов 5-гетарилметилден-2,4,6-трионов (ТАГ7 — ТАГ13), синтезированных на кафедре органической, неорганической и фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет» и 2 новых образцов 3-(2-бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он и 3-[2-

(1-Нафтил)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-он под лабораторными шифрами VMA-13-03 и VMA-13-04, синтезированных на кафедре фармацевтической и токсикологической химии ВолгГМУ Минздрава России.

В качестве тест-культуры *M.tuberculosis* использовали штамм H37RV, предоставленный бактериологической лабораторией Областной инфекционной клинической больницы им. А. М. Ничоги. Штамм поддерживали на среде Левенштейна–Йенсена. Антимикобактериальную активность изучаемых соединений исследовали методом серийных разведений [33] на среде Школьниковой. Концентрация соединений в ряду серийных разведений убывала в геометрической прогрессии с коэффициентом 2, от 128 мкг/мл до 0,25 мкг/мл. Контролем служили посевы с растворителем (димексид в эквивалентах), посевы без добавления в среду веществ (положительный контроль), контроль на стерильность среды (среда Школьниковой без посевов и соединений), а также ряды серийных разведений препарата сравнения — изониазида.

Навеску изучаемого соединения в 4 мг растворяли в 0,5 мл димексида, после чего добавляли 4,5 мл физиологического раствора и получали рабочий раствор. К 1,6 мл полученного разведения добавляли 8,4 мл среды Школьниковой. В полученном растворе содержание препарата составляло 128 мкг/мл.

Для приготовления взвеси микобактерий использовали 4-недельную культуру *M.tuberculosis*, синхронизированную холодом (+4°C) в течение 72 ч. Количество микобактерий в суспензии определяли по стандарту мутности McFarland 0,5. Рабочая смесь содержала 108 микобактериальных клеток в 1 мл. В каждую пробирку ряда последовательных разведений изучаемых веществ, включая контроль, вносили по 0,2 мл рабочей взвеси *M.tuberculosis*, т. е., 2×10^7 микобактерий. Исследование проводили в 4 сериях повторных экспериментов. Все посевы инкубировали в течение 10–12 дней при температуре +37°C. По истечении этого срока визуально оценивали наличие и характер роста культуры *M.tuberculosis* в каждой пробирке. Затем содержимое пробирок центрифугировали (1500 оборотов в мин в течение 10 мин) и удаляли супернатант. Далее из каждой пробирки на среду Левенштейна–Йенсена высеивали 0,05 мл суспензии и после десятидневной инкубации при температуре +37°C определяли жизнеспособность *M.tuberculosis*. Определяли минимальную бактерицидную концентрацию соединений (МБК), при которой не обнаруживалось роста колоний и минимальную подавляющую концентрацию (МПК), при которой наблюдалась задержка роста микобактерий на 50% по сравнению с контролем.

Из осадка готовили мазки для окрашивания по методу Циля–Нильсена [34] для определения наличия кислотоустойчивых (КУМ) и некислотоустойчивых форм (НКУМ) микобактерий, а также для изучения влияния пиримидинов и препарата сравнения на структурные изменения клеток *M.tuberculosis*.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета Excel и программного обеспечения BIOSTAT, с учётом критерия Манна–Уитни. Статистически значимыми различия считали при $p \leq 0,05$.

Результаты исследований

Показатели визуальной оценки антимикобактериальной активности исследуемых соединений приведены на рис. 1–8. Визуальная оценка посевов микобактерий на среде Школьниковой показала, что под действием противотуберкулёзного препарата изониазида при концентрациях 32–128 мкг/мл роста *M.tuberculosis* не наблюдается. При концентрации 16 мкг/мл отмечается появление слабого роста, который усиливается по мере снижения концентрации препарата (рис. 1).

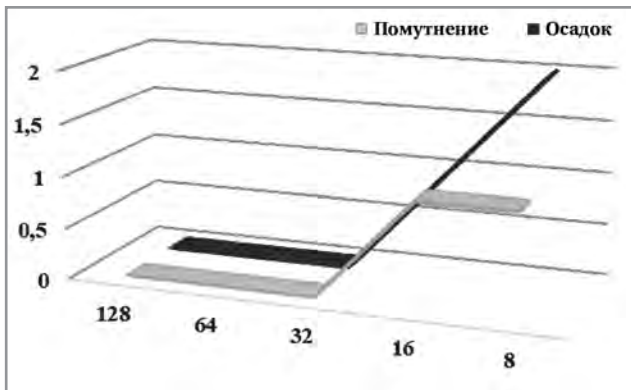


Рис 1. Визуальная оценка антимикобактериальной активности изониазида в концентрациях 8–128 мкг/мл.
Fig. 1. Visual assessment of the antimycobacterial activity of isoniazid at concentrations of 8–128 µg/ml.

Под действием соединения ТАГ1 среда остаётся прозрачной в диапазоне концентраций 32–128 мкг/мл, что предполагает практическое отсутствие роста микобактерий. По мере увеличения разведения наблюдается помутнение среды до полной потери прозрачности содержимого пробирок (рис. 2, *a*). В пробирках с соединениями

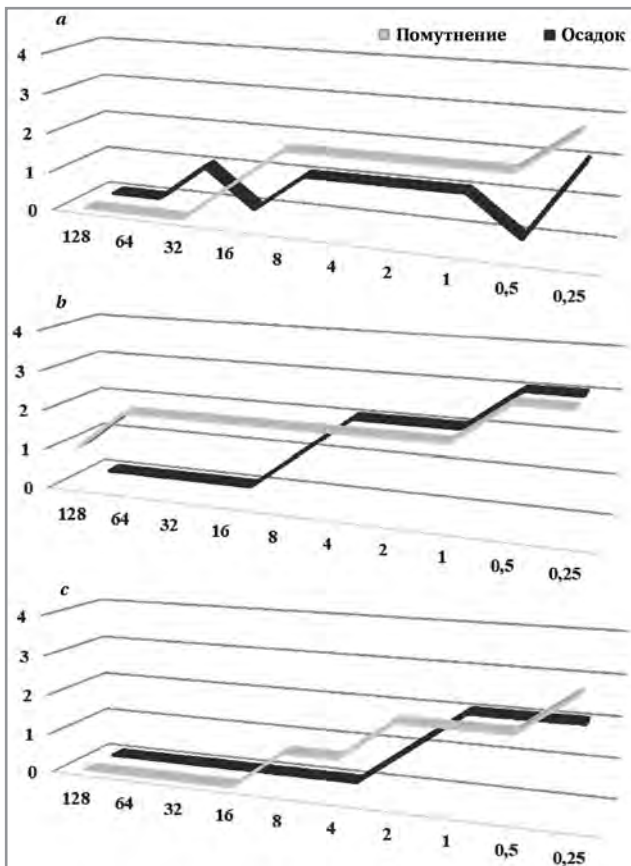


Рис. 2. Визуальная оценка антимикобактериальной активности соединений в концентрациях 0,25–128 мкг/мл. *a* — ТАГ1; *b* — ТАГ2; *c* — ТАГ3
Fig. 2. Visual assessment of the antimycobacterial activity of the compounds at concentrations of 0.25–128 µg/ml. *a* — TAG1; *b* — TAG2; *c* — TAG3.

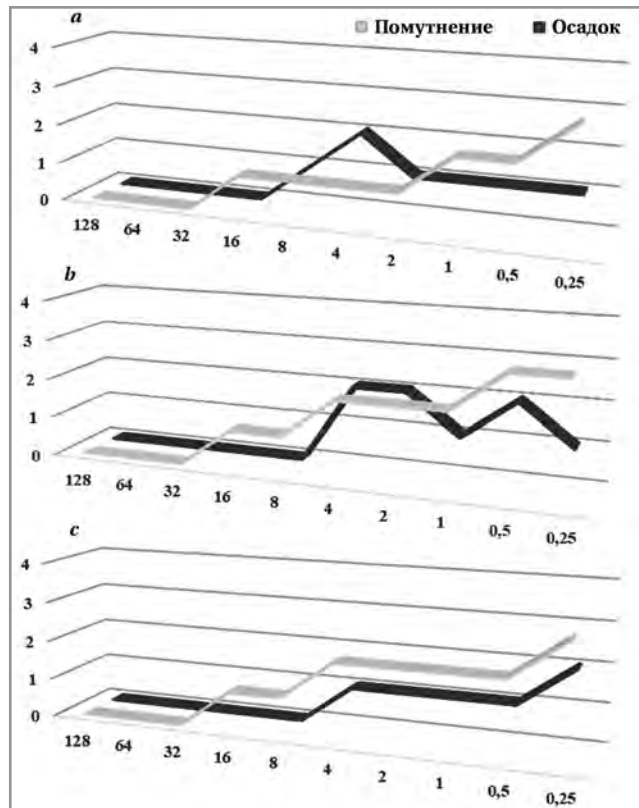


Рис. 3. Визуальная оценка антимикобактериальной активности соединений в концентрациях 0,25–128 мкг/мл. *a* — ТАГ4; *b* — ТАГ7; *c* — ТАГ13.
Fig. 3. Visual assessment of the antimycobacterial activity of the compounds at concentrations of 0.25–128 µg/ml. *a* — TAG4; *b* — TAG7; *c* — TAG13.

ТАГ2 даже при самой высокой исследуемой концентрации полной прозрачности среды не отмечалось. При концентрациях 1–64 мкг/мл отмечался умеренный рост микобактерий под действием соединений ТАГ2 (рис. 2, *b*). Соединение ТАГ3 полностью подавляло рост микобактерий при концентрациях 16–128 мкг/мл (рис. 2, *c*). При концентрации 4–8 мкг/мл отмечено начало слабого роста, который увеличивался до умеренного при концентрациях 0,5–2 мкг/мл, а при концентрации вещества 0,25 мкг/мл среда полностью теряла прозрачность (рис. 2, *c*).

При воздействии соединения ТАГ4 рост микобактерий отсутствовал при разведениях 32–128 мкг/мл. При концентрациях 2–16 мкг/мл отмечался слабый рост. При концентрациях 0,5–1 мкг/мл выявлен умеренный рост, который при концентрации 0,25 мкг/мл переходил в интенсивный (рис. 3, *a*). Под действием соединений ТАГ7 и ТАГ13 среда остаётся прозрачной при концентрациях 32–128 мкг/мл (рис. 3, *b*, *c*). По мере увеличения разведения наблюдается слабое помутнение среды при концентрации 16 мкг/мл, до полной потери прозрачности содержимого пробирок — при концентрации 0,25 мкг/мл (рис. 3, *b*, *c*).

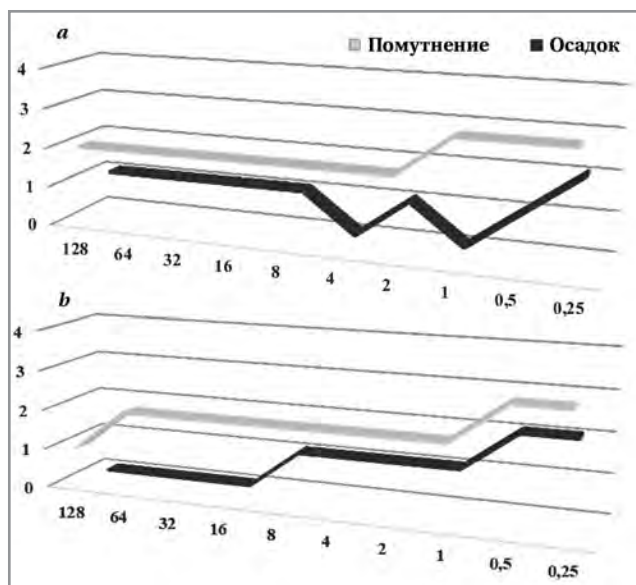


Рис. 4. Визуальная оценка антимикобактериальной активности соединений в концентрациях 0,25–128 мкг/мл. а — TAG5; б — TAG6.

Fig. 4. Visual assessment of the antimycobacterial activity of the compounds at concentrations of 0.25–128 µg/ml. а — TAG5; б — TAG6.

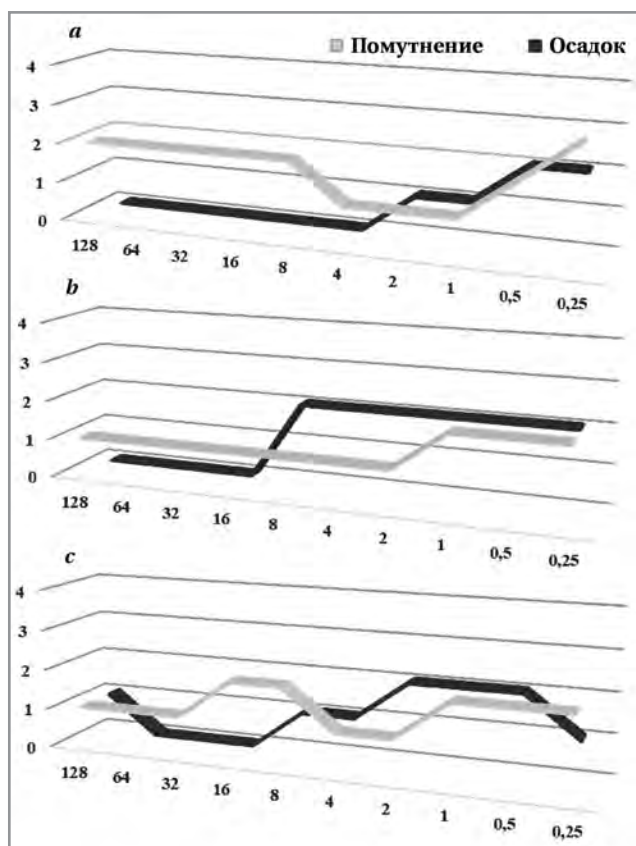


Рис. 5. Визуальная оценка антимикобактериальной активности соединений в концентрациях 0,25–128 мкг/мл. а — TAG8; б — TAG9; в — TAG10.

Fig. 5. Visual assessment of the antimycobacterial activity of the compounds at concentrations of 0.25–128 µg/ml. а — TAG8; б — TAG9; в — TAG10.

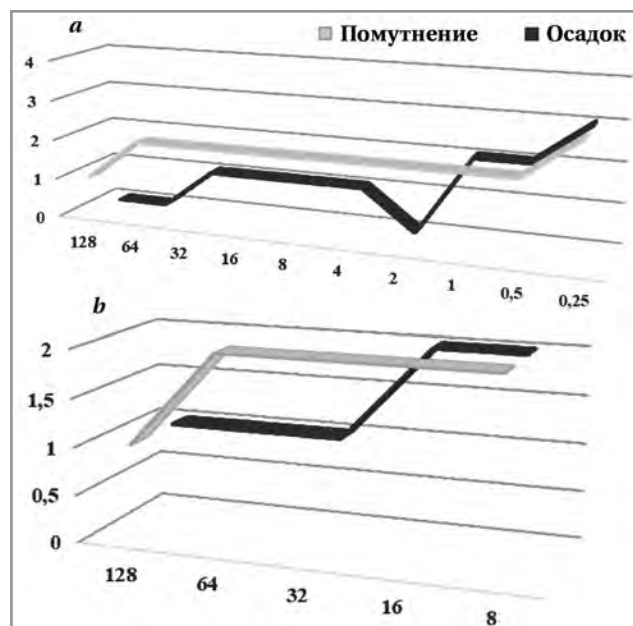


Рис. 6. Визуальная оценка антимикобактериальной активности соединений. а — TAG11 в концентрациях 0,25–128 мкг/мл; б — TAG12 в концентрациях 8–128 мкг/мл.

а — TAG11 в концентрациях 0,25–128 мкг/мл; б — TAG12 в концентрациях 8–128 мкг/мл.

Fig. 6. Visual assessment of the antimycobacterial activity of the compounds.

а — TAG11 at concentrations of 0.25–128 µg/ml; б — TAG12 at concentrations of 8–128 µg/ml.

Даже при самых высоких используемых концентрациях соединения TAG5 и TAG6 не способны полностью подавить рост тест-культуры. При концентрациях 2–128 мкг/мл вещества TAG5 (рис. 4, а) и при концентрациях 1–64 мкг/мл соединения TAG6 (рис. 4, б) отмечался умеренный рост, а при снижении концентрации среда полностью теряла прозрачность.

Соединения TAG8, TAG9 и TAG10 при всех используемых концентрациях полностью не подавляли роста микобактерий. При воздействии соединения TAG8 отмечался слабый рост в диапазоне концентраций 1–128 мкг/мл (рис. 5, а) и при воздействии соединения TAG9 в пределах концентраций 2–128 мкг/мл (рис. 5, б). Установлено, что в пробирках с соединением TAG9 до самой минимальной концентрации 0,25 мкг/мл отмечался умеренный рост (рис. 5, б). При воздействии соединения TAG10 только в интервале от 32 до 128 мкг/мл наблюдали слабый рост *M. tuberculosis* (рис. 5, в). Со снижением концентрации веществ TAG8 и TAG10 интенсивность роста возрастала до полного помутнения среды (рис. 5, а, в).

В пробирках с *M. tuberculosis* под воздействием соединений TAG11 и TAG12 не отмечалось полной прозрачности среды даже при самых высоких исследуемых концентрациях. При концентрациях 1–64 мкг/мл отмечался умеренный рост микобактерий под действием соединений TAG11 (рис. 6, а, б). Под действием соединения TAG12 уме-

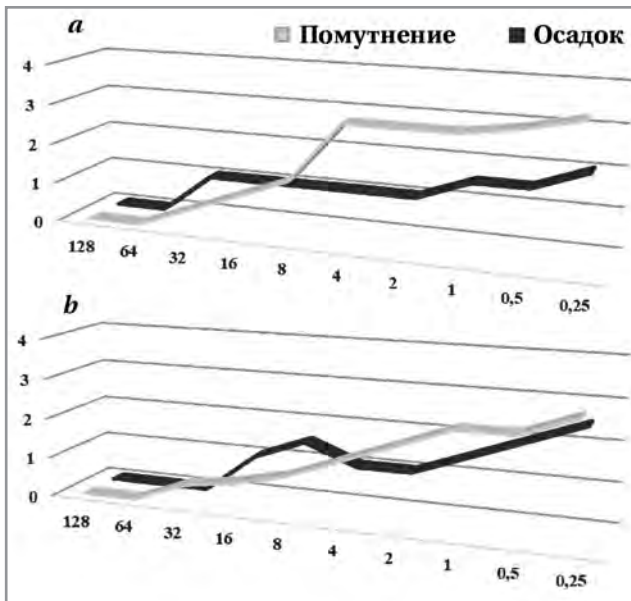


Рис. 7. Визуальная оценка антимикобактериальной активности соединений в концентрациях 0,25–128 мкг/мл.
a — VMA-13-03; b — VMA-13-04
Fig. 7. Visual assessment of the antimycobacterial activity of the compounds at concentrations of 0.25–128 µg/ml.
a — VMA-13-03; b — VMA-13-04

ренный рост *M. tuberculosis* отмечался только при концентрациях 8–64 мкг/мл, а при дальнейшем снижении концентрации вещества интенсивность роста микобактерий возрастала (рис. 6, b).

Визуальная оценка антимикобактериальной активности соединений VMA-13-03 и VMA-13-04 показала, что при исследуемых концентрациях от 64 до 128 мкг/мл роста *M. tuberculosis* в пробирках не наблюдалось (рис. 7, a, b). При концентрациях 0,5–32 мкг/мл отмечался умеренный рост микобактерий под действием соединений VMA-13-03 (рис. 7, a). Под действием соединения VMA-13-04 умеренный рост отмечался при концентрациях 0,5–16 мкг/мл (рис. 7, b), а при дальнейшем снижении концентрации веществ интенсивность роста возрастала (рис. 7, b).

Результаты определения жизнеспособности *M. tuberculosis* под воздействием изучаемых соединений приведены на рис. 8.

Анализ полученных результатов показал, что наибольшая бактерицидная активность в отношении *M. tuberculosis* отмечалась у ТАГ4, ТАГ7 и VMA-13-04 (рис. 8, b), при этом МПК данных препаратов оказалась достоверно ниже, чем у препарата сравнения. Максимально приближенной антибактериальной активностью к препарату сравнения изониазиду, по показателю задержки роста микобактерий, оказались соединения ТАГ4, ТАГ6 и ТАГ8 (рис. 8, a), однако соединения ТАГ6 и ТАГ8 даже при самых высоких используемых концентрациях не подавляли рост колоний на твердой питательной среде (рис. 8, b). У соединений

под лабораторными шифрами ТАГ3, ТАГ9, ТАГ10, ТАГ12 наблюдалось высокая антимикобактериальная активность в отношении *M. tuberculosis*, но МПК данных препаратов была на 57% ниже, чем у препарата сравнения (рис. 8, a). Остальные соединения также проявили свое ингибирующее влияние на рост *M. tuberculosis*, однако их МПК и МБК значительно превышали аналогичные характеристики препарата сравнения (рис. 8, a, b).

Микроскопическое исследование клеток *M. tuberculosis* из пробирок с положительным контролем (без добавления в среду веществ) показало наличие красных палочковидных форм клеток, размерами от 1 до 8 мкм в длину от 0,5 до 1 мкм в диаметре.

Изучение влияния пиримидинов на структурные изменения клеток *M. tuberculosis*, а также определение наличия кислотоустойчивых и не-кислотоустойчивых форм микобактерий показало, что под влиянием ТАГ3, ТАГ12 и VMA-13-04 клетки *M. tuberculosis* теряют свою характерную структуру. Указанное обстоятельство свидетельствует, что соединения этих пиримидинов могут нарушать нормальную функцию синтеза кислотоустойчивых липидов, проницаемость клеточной стенки [35].

Более 30% микобактерий становились более короткими и увеличивались в диаметре. Надо полагать, что происходит торможение нормальных функций клеточного деления [36]. У 15% наблюдались только фрагменты с неровными краями, что может свидетельствовать об изменении проницаемости клеточной мембраны [36]. Более 50% клеток *M. tuberculosis* под влиянием ТАГ4 и ТАГ7 изменяли свою структуру, встречались клетки с удлинёнными не свойственными морфологическим формами клеток, что указывает на нарушение процесса деления клеток, как правило, такие формы являются нежизнеспособными [35].

При исследовании *M. tuberculosis* под воздействием VMA-13-04 в 20% случаев встречались клетки с деформированной и уплотненной цитоплазмой. Под влиянием VMA-13-03 наблюдалось 15% неокрашенных клеток и 50% гранулированных форм, указывающих на пластичность микробных клеток [37].

Под действием ТАГ7 и ТАГ12 обнаружено более 30% слабо окрашенных или не окрашенных клеток *M. tuberculosis*. Кроме того, 15% клеток микобактерий образовывали скопление гранулярного вещества внутри. Выявлено до 60% кокковых фрагментов, расположенных одиночно или в виде цепочки. Можно предположить, что в присутствии пиримидинов нарушается образование клеточных стенок микобактерий и синтез миколовых кислот [38].

Полученные результаты позволяют проводить аналогию с присутствием в их молекулах пи-

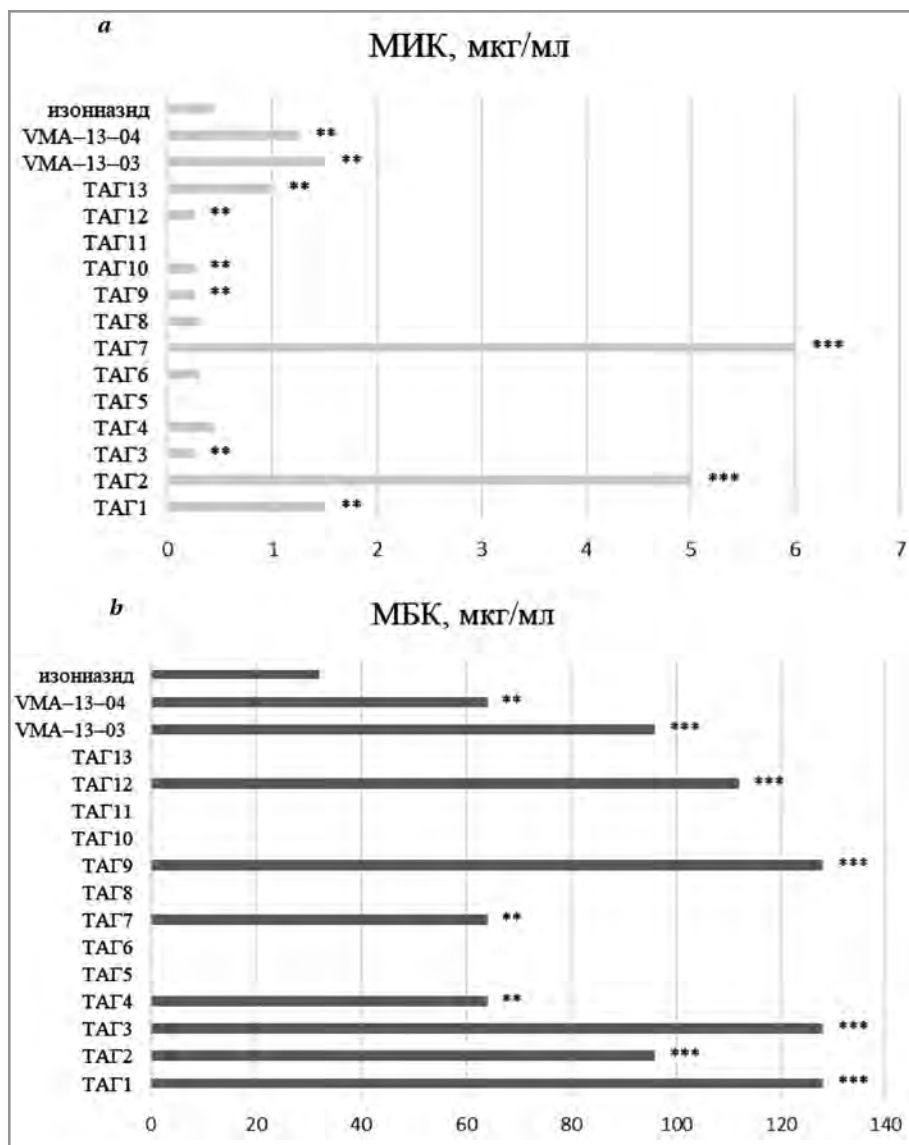


Рис. 8. Определение жизнеспособности *M.tuberculosis* при исследовании пиримидинов и изониазида (а — МИК соединений; б — МБК соединений)

Примечания. ** — различия статистически достоверны ($p \leq 0,01$) по отношению к изониазиду; *** — различия статистически достоверны ($p \leq 0,001$) по отношению к изониазиду.

Fig. 8. Determination of the viability of *M.tuberculosis* in the pyrimidines and isoniazid study (A — MIC of the compounds, B — microbiologically induced corrosion of the compounds)

Notes. ** — the differences are statistically significant ($P \leq 0.01$) in relation to isoniazid; *** — the differences are statistically significant ($P \leq 0.001$) in relation to isoniazid.

пиримидинового цикла, сочленённого в положении 5 с гетарильными фрагментами. Воздействие изучаемых соединений на рост микобактериальных штаммов, с одной стороны, может быть связано с прекращением образования микроорганизмами фолевой и дигидрофолевой кислот, а с другой — с иммуностимулирующим влиянием в отношении всех звеньев иммунной системы. Это даёт основание предположить, что данный механизм может привести к нарушению синтеза нуклеиновых кислот [39] и оказывать бактериостатическое дей-

ствие на микобактериальные штаммы [40].

Располагая знаниями о ферментах, участвующих в процессе поддержания жизнедеятельности клетки *M.tuberculosis*, обеспечения выживаемости патогена в неблагоприятных для него условиях, становится возможным обоснование использования новых производных пиримидина для лечения инфекции, вызванной данным микроорганизмом, а также сравнение степени фармакологического эффекта веществ, молекулы которых различаются по химическому строению.

Присутствие в исследуемых соединениях пиримидин-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-трионного цикла обуславливает возможность донорно-акцепторного связывания молекул веществ с аминокислотными остатками активных центров ферментов, катализирующих жизненно важные метаболические процессы в клетке *M.tuberculosis*. Однако присутствие в структуре пиримидиновых производных радикалов, различающихся по строению, позволяет обосновывать различие степени их фармакологического действия. Замещение фенильного радикала в ТАГ3 третичной аминогруппой, являющейся дополнительным центром для донорно-акцепторного связывания с активным сайтом фермента с образованием стабилизи-

рованного водородными связями комплекса, позволяет подтвердить превосходство этого соединения по степени противомикробной активности. Молекула ТАГ4 содержит в качестве заместителя бензойного кольца ковалентно-связанный атом хлора, присутствие которого, вероятно, также способствует повышению аффинности связывания за счёт сил Ван-дер-Ваальсового взаимодействия с молекулой-мишенью. Однако, с учётом общей тенденции, являясь галогеном, он способен обуславливать токсичность производного, что

непрерывно необходимо учитывать при дальнейшем исследовании фармакологических свойств вещества. Отсутствие заместителей фенильного радикала в ТАГ1 предопределяет более высокую степень липофильности этого вещества по сравнению с ТАГ3 и ТАГ4, что обеспечивает облегчение при прохождении клеточной мембраны *M. tuberculosis*, характеризующейся повышенной гидрофобностью. Наличие карбонильного центра в ТАГ13 может способствовать участию соединения в реакциях окислительного фосфорилирования, сопровождающихся переносом электронов и, как следствие, оказывать подавляющее действие на патоген угнетением его дыхательной функции. Замещение ТАГ7 фурановым циклом, с одной стороны, обеспечивает дополнительную возможность образования связи по донорно-акцепторному механизму с помощью неподеленной электронной пары кислорода. Однако учитывая её частичную делокализацию в ароматической системе, появляется основание полагать, что фурановый заместитель вносит меньший вклад в связывание с ферментативной системой в отличие от радикала в ТАГ3.

Наименее выраженное противотуберкулёзное действие ТАГ6 может быть объяснено вследствие разных причин. Можно было бы предположить, что при наличии фенольного гидроксильного заместителя бензойного кольца соединение способно проявлять слабо выраженные кислотные свойства. Учитывая устойчивость *M. tuberculosis* в слабокислой среде, подавление активности патогена производным ТАГ6 ставится под сомнение. Знаниями о работе эффлюксных оттоковых систем, позволяют сформировать представление о возможности отталкивания клеткой *M. tuberculosis* ТАГ5, ТАГ6 и ТАГ12, плохо вступающими, вследствие присутствия неполярных заместителей в молекуле, в водородное связывание с белковой молекулой эффлюксного канала.

Объёмный нафтильный радикал в молекуле VMA-13-04 обуславливает большую степень липофильности вещества, однако создаёт стерические препятствия для его проникновения в клетку, хиначинолиновый цикл при этом определяет способность соединения образовывать водородные связи с аминокислотами активных сайтов ферментов, а также эффлюксным белковым каналом. Приведённые факты дают основание предполагать наличие у соединения средневывраженной антимикобактериальной активности и находить сходство по степени фармакологического действия с VMA-13-03.

Литература/References

1. Bhusnure O.G., Shinde M.C., Vijayendra S.S., Gholve S.B., Giram P.S., Birajdar M.J. Phytopharmaceuticals: An emerging platform for innovation and development of new drugs from botanicals. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2019; 9 (3-s): 1046–1057. doi: 10.22270/jddt.v9i3-s.2940.

Заключение

В результате проведённого исследования установлено, что все изучаемые соединения обладают антимикобактериальной активностью. По характеру ингибирующего воздействия на рост *M. tuberculosis* соединения под лабораторными шифрами ТАГ1, ТАГ4, ТАГ7 и ТАГ13 были сопоставимы с изониазидом, а соединение ТАГ3 даже несколько превосходило действие препарата сравнения. Наименее выраженным противотуберкулёзным действием обладали соединения под лабораторными шифрами VMA-13-03 и VMA-13-04. Вещества под лабораторными шифрами ТАГ5, ТАГ6, ТАГ11 и ТАГ12 проявляли наименьшую антимикобактериальную активность. Анализ результатов определения жизнеспособности *M. tuberculosis* показал, что максимально приближенной антибактериальной активностью к препарату сравнения изониазиду, по показателю задержки роста микобактерий, оказались соединения ТАГ4, ТАГ6 и ТАГ8. Наибольшая бактерицидная активность в отношении *M. tuberculosis* отмечалась у ТАГ4, ТАГ7 и VMA-13-04. Остальные соединения проявили минимальное ингибирующее влияние на рост *M. tuberculosis*. Микроскопические исследования показали, что под влиянием ТАГ3, ТАГ4, ТАГ7, ТАГ12, VMA-13-03 и VMA-13-04 основные структурные компоненты клеток *M. tuberculosis* подвергаются фрагментации и изменению морфологических особенностей по сравнению с клетками микобактерий без воздействия.

Таким образом, производные пиримидина могут рассматриваться как перспективные для дальнейших исследований по поиску антимикобактериальных препаратов.

Дополнительная информация

Финансовая поддержка. Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства здравоохранения РФ в части проведения НИР по теме «Поиск и разработка перспективных соединений с антибактериальной активностью среди производных пиримидина для создания лекарственных препаратов» 48.2-2021.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Все иллюстрации, рисунки и фотографии выполнены авторским коллективом и носят оригинальный характер, а также не нарушают ничьих авторских прав.

2. Jean S.S., Gould I.M., Lee W.S., Hsueh P.R. New drugs for multidrug-resistant Gram-negative organisms: time for stewardship. *Drugs*. 2019; 79 (7): 705–714. doi: 10.1007/s40265-019-01112-1.
3. Kaplancikli A.Z., Yurttas L., Turan-Zitouni G., A-zdemir A., Goger G., Demirci E., Abu Mohsen U. Synthesis and antimicrobial activity of new pyrimidine-hydrazones. *Letters in Drug Design & Discovery*. 2014; 11 (1): 76–81. doi: 10.2174/15701808113109990037

4. Старшинова А.А., Павлова М.В., Яблонский П.К., Сапожникова Н.В., Виноградова Т.И., Чернохаева И.В., Беляева Е.Н. Эволюция фтизиатрии — это поиск новых методов и препаратов, эффективных при лечении туберкулеза. Практическая медицина. 2014; 83 (7): 1–189. [Starshinova A.A., Pavlova M.V., Yablonskiy P.K., Sapozhnikova N.V., Vиноградова Т.И., Чернохаева И.В., Belyaeva E.N. Evolyutsiya ftiziatrii — eto poisk novykh metodov i preparatov, effektivnykh pri lechenii tuberkuleza. Prakticheskaya Meditsina. 2014; 83 (7): 1–189. (in Russian)]
5. Bloom B.R., Atun R., Cohen T. et al. Tuberculosis. In: Major Infectious Diseases. 2017. doi: 10.1596/978-1-4648-0524-0_ch11.
6. Усов К.И., Юшков Г.Г., Маианов А.В. Острая токсичность противотуберкулёзных препаратов, содержащих и не содержащих пиридоксина гидрохлорид (экспериментальное исследование). Туберкулёз и болезни лёгких. 2014; 12: 3–86. [Usov K.I., Jyushkov G.G., Mashanov A.V. Ostraya toksichnost' protivotuberkuleznykh preparatov, sodержashchikh i ne sodержashchikh piridoksina gidrokhlорid (eksperimental'noe issledovanie). Tuberkulez i Bolezni Legkikh. 2014; 12: 3–86. (in Russian)]
7. Шишкова Ю.В., Ивакина С.Н., Кадыров А.Р., Елова Е.В., Зайцева О.Е., Лиходёв Т.А. Анализ ассортимента лекарственных препаратов для выявления и разработки нового комбинированного противотуберкулёзного препарата. Медицинский вестник Башкортостана. 2016; 11 (5): 56–60. [Shikova Yu. V., Ivakina S.N., Kadyrov A.R., Elova E.V., Zajtseva O.E., Likhodet T.A. Analiz assortimenta lekarstvennykh preparatov dlya vyvayleniya i razrabotki novogo kombinirovannogo protivotuberkuleznogo preparata. Meditsinskij Vestnik Bashkortostana. 2016; 11 (5): 56–60. (in Russian)]
8. Rybniker J., Vocat A., Sala, Busso P., Pojer F., Benjak A., Cole S.T. Lansoprazole is an antituberculous prodrug targeting cytochrome bc 1. Nat Commun. 2015; 6: 7659. doi: 10.1038/ncomms8659.
9. Гельберг И.С., Вольф С.Б., Алекс Е.Н., Авласенко В.С., Коломиец В.М., Коноркина Е.А. Факторы риска развития туберкулёза с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2015; 1: 1–129. [Gel'berg I.S., Vol'f S.B., Alekso E.N., Avlasenko V.S., Kolomiets V.M., Konorkina E.A. Faktory riska razvitiya tuberkuleza s mnozhestvennoj lekarstvennoj ustojchivost'yu vozбудitelya. Kurskij Nauchno-Prakticheskij Vestnik «Chelovek i ego Zdorov'e». 2015; 1: 1–129. (in Russian)]
10. Desai N.C., Kotadiya G.M., Trivedi A.R. Studies on molecular properties prediction, antitubercular and antimicrobial activities of novel quinoline based pyrimidine motifs. Bioorg Med Chem Lett. 2014; 24 (14): 3126–3130. doi: 10.1016/j.bmcl.2014.05.002.
11. Barry C.E., Blanchard J.S. The chemical biology of new drugs in development for tuberculosis. Curr Opin Chem Biol. 2010; 14 (4): 456–466. doi: 10.1016/j.cbpa.2010.04.008.
12. Darby C.M., Nathan C.F. Killing of non-replicating *Mycobacterium tuberculosis* by 8-hydroxyquinoline. J Antimicrob Chemother. 2010; 65 (7): 1424–1427. doi:10.1093/jac/dkq145.
13. Villela A.D., Sánchez-Quitian Z.A., Ducati R.G., Santos D.S., Basso L.A. Pyrimidine salvage pathway in *Mycobacterium tuberculosis*. Curr Med Chem. 2011; 18: 1286–1298. doi: 10.2174/092986711795029555.
14. Ramalho T.C., Caetano M.S., Josa D., Luz G.P., Freitas E.A., Cunha E.F.F. Molecular modeling of *Mycobacterium tuberculosis* dutpase: docking and catalytic mechanism studies. J Biomol Struct Dyn. 2011; 28: 907–918. doi: 10.1080/07391102.2011.10508617
15. Нитритредуктаза в качестве потенциальной мишени против туберкулёза и способ обнаружения степени тяжести туберкулёза. Патент России №2671688 (2013). Заявка: 27.02.2013, опубликовано 06.11.2018. Nitritreduktaza v kachestve potentsial'noj misheni protiv tuberkuleza i sposоb obnaruzheniya stepeni tyazhesti tuberkuleza. Patent Rossii №2671688 (2013). Zayavka: 27.02.2013, opublikovano 06.11.2018. (in Russian)]
16. Kumar M., Singh S.K., Singh P.P., Singh V.K., Rai A.C., Srivastava A.K., Shukla L., Kesawat M.S., Jaiswal A.K., Chung S.M., Kumar A. Potential anti-mycobacterium tuberculosis activity of plant secondary metabolites: insight with molecular docking interactions. Antioxidants. 2021; 10: 1–25. doi: 10.3390/antiox10121990.
17. Jamaati H., Mortaz E., Pajouhi Z., Folkerts G., Movassaghi M., Moloudizargari M., Adcock I.M., Garssen J. Nitric oxide in the pathogenesis and treatment of tuberculosis. Front Microbiol. 2017; 8: 1–11. doi: 10.3389/fmicb.2017.02008. eCollection 2017.
18. Santhi N., Aishwarya S. Insights from the molecular docking of withanolide derivatives to the target protein PknG from *Mycobacterium tuberculosis*. Bioinformatics. 2011; 7 (1): 1–4. doi: 10.6026/97320630007001. Epub 2011 Aug 20.
19. Lambert N., Abdalla A.E., Duan X., Xie J. Emerging drugs and drug targets against tuberculosis. J Drug Target. 2017; 25 (4): 296–306. doi: 10.1080/1061186X.2016.1258705.
20. Khedr M.A., Pillay M., Chandrashekarappa S., Chopra D., Aldhubiab B.E., Attimarad M., Alwassil O.I., Mlisana K., Odhav B., Venugopala K.N. Molecular modeling studies and anti-TB activity of trisubstituted indolizine analogues; Molecular docking and dynamic inputs. J Biomol Struct Dyn. 2018. 36 (8): 2163–2178. doi: 10.1080/07391102.2017.1345325.
21. Ginsberg A.M. Drugs in Development for Tuberculosis. Drugs. 2010; 70 (17): 2201–2214. doi: 10.2165/11538170-000000000-00000.
22. Singh V., Somvanshi P. Homology modelling of 3-oxoacyl-acyl carrier protein synthase II from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv and molecular docking for exploration of drugs. J Mol Model. 2009; 15: 453–460. doi: 10.1007/s00894-008-0426-5.
23. Das N., Jena, P.K., Pradhan S.K. Arabinosyltransferase C enzyme of *Mycobacterium tuberculosis*, a potential drug target: An insight from molecular docking study. Heliyon. 2019; 5: 1–6. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02693.
24. Гариб Ф.Ю., Ризопулу А.П. Взаимодействия патогенных бактерий с врождёнными иммунными реакциями хозяина. Инфекция и иммунитет. 2012; 2 (3): 581–596. [Garib F.Jyu., Rizopulu A.P. Vzaimodejstviya patogennykh bakterij s vrozhdennymi immunnymi reaktsiyami khozaina. Infektsiya i immunitet. 2012; 2 (3): 581–596. (in Russian)]
25. Sundar S., Thangamani L., Manivel G., Kumar P., Pramanayagam S. Molecular docking, molecular dynamics and MM/PBSA studies of FDA approved drugs for protein kinase a of *Mycobacterium tuberculosis*; Application insights of drug repurposing. Informatics in Medicine Unlocked. 2019; 16: 1–5. doi:10.1016/j.imu.2019.100210.
26. Vianna C.P., Jr W.F. Identification of new potential *Mycobacterium tuberculosis* shikimate kinase inhibitors through molecular docking simulations. J Mol Model. 2012; 18: 755–764. doi: 10.1007/s00894-011-1113-5.
27. Foo C.S., Pethe K., Lupien A. Oxidative phosphorylation — an update on a new, essential target space for drug discovery in *Mycobacterium tuberculosis*. App Sci. 2020; 10: 1–33. doi:10.3390/app10072339.
28. Rani J., Kumar S., Saini M., Mundlia J., Verma, P. K. Biological potential of pyrimidine derivatives in a new era. Research on Chemical Intermediates. 2016; 42 (9): 6777–6804. doi:10.1007/s11164-016-2525-8
29. Al-Abdullah E. S., Al-Turkistani A. A., Al-Deeb O. A., El-Brollosy N. R., Habib E. E., El-Emam A.A. Pyrimidine-5-carbonitriles II: synthesis and antimicrobial activity of novel 6-alkyl-2, 4-disubstituted pyrimidine-5-carbonitriles. Drug Res. 2014; 64 (01): 31–39. doi: 10.1055/s-0033-1351315. Epub 2013 Aug 15.
30. Самотруева М.А., Цибизова А.А., Ясенявская А.Л., Озеров А.А., Тюренков И.Н. Фармакологическая активность производных пиридина. Астраханский медицинский журнал. 2015; 10 (1): 1–108. [Samotrueva M.A., Tsibizova A.A., Yasyayvskaya A.L., Ozerov A.A., Tyurenkov I.N. Farmakologicheskaya aktivnost' proizvodnykh pirimidinov. Astrakhanskij meditsinskij zhurnal. 2015; 10 (1): 1–108. (in Russian)]
31. Coen N., Duraffour S., Topalis D., Snoeck R., Andrei G. Spectrum of activity and mechanisms of resistance of various nucleoside derivatives against γ-herpesviruses. Antimicrob Agents Chemother. 2014; 58 (12): 7312–7323. doi: 10.1128/AAC.03957-14.
32. McBryde E.S., Meehan M.T., Doan T.N., Ragonnet R., Marais B.J., Guernier V., Trauer J.M. The risk of global epidemic replacement with drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains. Intern J Infect Dis. 2017; 56: 14–20. doi: 10.1016/j.ijid.2017.01.031. Epub 2017 Feb 2.
33. Навашин С.М., Фомина И.П. Справочник по антибиотикам. М.: Медицина, 1974; 54. [Navashin S.M., Fomina I.P. Spravochnik po antibiotikam. Moscow: Meditsina, 1974; 54. (in Russian)]
34. Малая медицинская энциклопедия. М.: Медицина, 1991–1996 гг. [Malaya meditsinskaya entsiklopediya. Moscow: Meditsina, 1991–1996 gg. (in Russian)]
35. Бреннан П.Дж., Дрепер Ф. Ультраструктура микобактерий туберкулёза. Туберкулёз, патогенез, защита, контроль. Под ред. Б. Р. Блума; М.: Медицина, 2002; 294–306. [Brennan P.Dzh., Dreper F U]l'trastruktura mikobakterij tuberkuleza. Tuberkulez, patogenez, zashchita, kontrol'. Pod. red. B. R. Bluma; Moscow: Meditsina, 2002; 294–306.
36. Овчинников Н.М., Делекторский Н.М. Электронная микроскопия некоторых представителей рода трепонем, рода нейссерия и трихомонад. М.: Медицина, 1974; 129. [Ovchinnikov N.M., Delektorskiy N.M. Elektronnaya mikroskopiya nekotorykh predstavitelej roda treponem, roda nejsseriya i trikhomonad. Moscow: Meditsina, 1974; 129. (in Russian)]
37. Дюбо Р. Бактериальная клетка. М.: Медгиз, 1948; 525. [Djyubo R. Bakterial'naya kletkajyu Moscow: Medgiz, 1948; 525.
38. Модель Л.М. Биология туберкулёзных микобактерий и иммунология туберкулёза. М.: 1958; 315. [Model' L.M. Biologiya tuberkuleznykh mikobakterij i immunologiya tuberkuleza. Moscow: 1958; 315.
39. Пашиная А. Г. Терапия инфекций мочевыводящих. Медицинский совет. 2011; 3–4: 46–47. [Pashinyan A. G. Terapiya infektsiy mochevyvodyashchikh. Meditsinskij Sovet. 2011; 3–4: 46–47. (in Russian)]
40. Cohen A.T., Dye C., Fraser H., Gomez G. B., Knight G., Murray M., Nardell E., Rubin E., Salomon J., Vassall A., Volchenkov G., White R., Wilson D., Yada P. The International Bank for reconstruction and development. The World Bank, 2017.

Информация об авторах

Самотруева Марина Александровна — д. м. н., профессор, проректор по научной и инновационной работе, заведующая кафедрой фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-5336-4455

Габитова Нармина Муталлимага-кызы — ассистент кафедры микробиологии и вирусологии, ассистент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-3867-8330

Генатуллина Гузель Наилевна — к. б. н., заместитель руководителя научно-исследовательского центра; доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-5417-4477

Старикова Алла Андреевна — ассистент кафедры химии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-5210-5248

Башкина Ольга Александровна — д. м. н., профессор, ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-4168-4851

Тырков Алексей Георгиевич — д. х. н., профессор, декан химического факультета; профессор кафедры органической, неорганической и фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет», Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-3229-5248

Озеров Александр Александрович — д. х. н., профессор, заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-4721-0959

Тюренков Иван Николаевич — д. х. н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой фармакологии и биофармации ИНМФО ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-7574-3923

About the authors

Marina A. Samotruueva — D. Sc. in medicine, Professor, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-5336-4455

Narmina M. Gabitova — Assistant at the Department of Microbiology and Virology, Assistant at the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-3867-8330

Guzel N. Genatullina — Ph. D. in biology, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-5417-4477

Alla A. Starikova — Assistant at the Department of Chemistry, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-5210-5248

Bashkina Olga A. — D. Sc. in medicine, Professor, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-4168-4851

Alexey G. Tyrkov — D. Sc. in chemistry, Professor, Astrakhan State University, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-3229-5248

Alexandr A. Ozerov — D. Sc. in chemistry, Professor, Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-4721-0959

Ivan N. Tyurenkov — D. Sc. in chemistry, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-7574-3923