

Современное состояние разработки соединений, обладающих противотуберкулезной активностью

Сечко О. Г.

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь

Реферат. В настоящее время туберкулез считается ведущей причиной смерти во всем мире. Стандарт лечения, существующий на сегодняшний день, требует 6-месячного курса химиотерапии и может обеспечить очень высокий уровень излечения только если возбудитель туберкулеза *Mycobacterium Tuberculosis* чувствителен к лекарственным средствам. Лекарственно-устойчивые штаммы *Mycobacterium Tuberculosis* требуют значительно более длительного курса лечения, связанного с более высоким риском неблагоприятного исхода. Таким образом, существует острая необходимость в эффективном лекарственном режиме, который безопаснее, короче и лучше, чем ныне существующий. Недавняя смена парадигмы в понимании фармакокинетики противотуберкулезных лекарственных средств способствовала тому, что на стадию доклинических и клинических испытаний выходят как новые соединения, так и уже известные, которые используются для лечения туберкулеза. В ходе клинических испытаний их внедряют в новые схемы лечения и соединения, которые уже известны и используются для лечения другой патологии.

Ключевые слова: противотуберкулезная активность, туберкулез, резистентность, доклинические испытания, минимальная ингибирующая концентрация.

Введение. Туберкулез — болезнь излечимая, но все еще убивает трех человек в мире каждую минуту. В связи с распространением во всем мире туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) и туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ) стоит острая необходимость разработки новых противотуберкулезных лекарственных средств, действенных мероприятий по борьбе с этим тяжелейшим недугом. В статье рассмотрены соединения, обладающие противотуберкулезной активностью, находящие по состоянию на ноябрь 2020 г. на стадии доклинических испытаний — Sanfetrinem, BVL-GSK098, GSK-286, TBAJ-587 и Spectinamide 1810. Проведен обзор испытаний, которые уже прошли данные соединения показателей безопасности, которые уже установлены.

Цель работы — оценка современного состояния разработки соединений, обладающих противотуберкулезной активностью.

Материалы и методы. Поиск литературных данных осуществлялся с использованием поисковых систем PubMed и Google среди русско- и англоязычных оригинальных статей. Поиск соединений, обладающих противотуберкулезным действием, которые находятся сейчас на этапе доклинических испытаний осуществлялся с использованием официальных данных международной организации Stop TB Partnership (Партнерство «Остановить туберкулез») рабочей группы — Working Group on New TB Drugs (Рабочая группа по новым противотуберкулезным препаратам). При поиске были использованы термины «противотуберкулезная активность», «доклинические испытания», «Sanfetrinem», «BVL-GSK098», «GSK-286», «TBAJ-587», «Spectinamide 1810».

Результаты и их обсуждение. В 2001 г. была основана Международная организация Stop TB Partnership (Партнерство «Остановить туберкулез»). В рамках этой международной организации создано девять рабочих групп, каждая из которых вносит свой вклад по важнейшим стратегическим вопросам борьбы с туберкулезом во всем мире:

1. Global Drug-resistant TB Initiative (Глобальная инициатива по лекарственно-устойчивому туберкулезу).
2. End TB Transmission Initiative (Инициатива по прекращению передачи туберкулеза).
3. TB/HIV Working Group (Рабочая группа по ВИЧ-ассоциированному туберкулезу).
4. Global Laboratory Initiative (Глобальная лабораторная инициатива).
5. Child and Adolescent TB Working Group (Рабочая группа по детскому и подростковому туберкулезу).
6. The Public-Private Mix Working Group (Рабочая группа по связи между государственным и частными секторами).
7. Working Group on New TB Diagnostics (Рабочая группа по новым средствам диагностики туберкулеза).
8. Working Group on New TB Drugs (Рабочая группа по новым противотуберкулезным препаратам).
9. Working Group on New TB Vaccines (Рабочая группа по новым противотуберкулезным вакцинам).

Нами были подробно изучены данные восьмой рабочей группы — Working Group on New TB Drugs по новым противотуберкулезным лекарственным средствам, находящимся на стадии доклинических испытаний [1], которые будут представлены в данной статье.

Процесс создания новых лекарственных средств в настоящее время является рациональным конструированием эффективных лекарств для этиотропной или патогенетической терапии благодаря прорывам в молекулярной биологии, геномике и компьютерных технологиях [2]. В процессе создания новых лекарственных средств выделяют несколько ключевых этапов, каждый из которых имеет свой существенный вклад (рисунок 1).

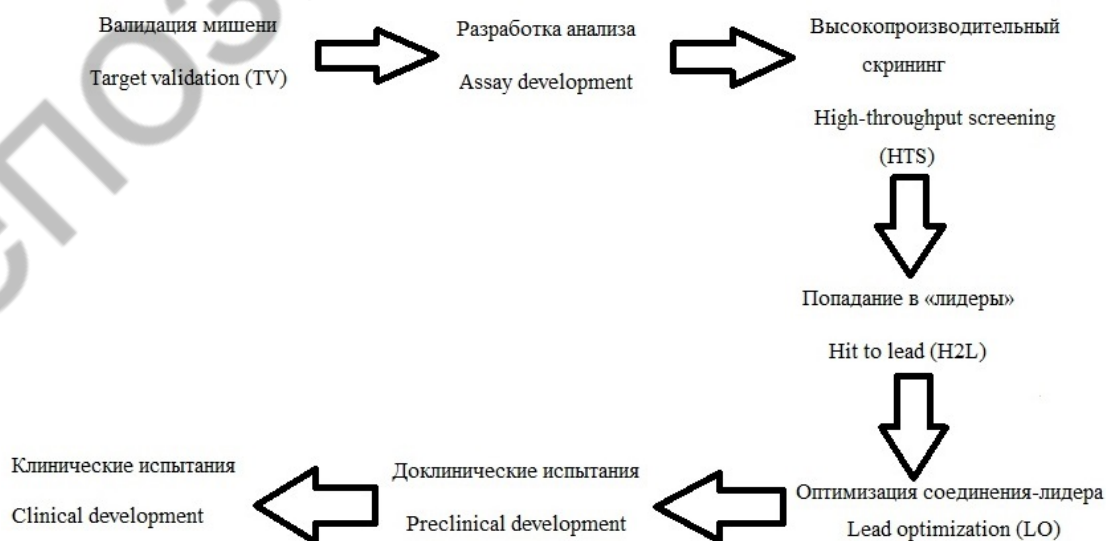


Рисунок 1 — Ключевые этапы процесса создания новых лекарственных средств

Ниже будет представлен обзор соединений, которые обладают противотуберкулезной активностью, которые по состоянию на ноябрь 2020 г. находятся на стадии доклинических испытаний, их испытаний и показателей безопасности.

Соединения, обладающие противотуберкулезной активностью, которые находятся на стадии доклинических испытаний

1. Название разрабатываемого соединения — Sanfetrinem (Sanfetrinem cilexetil, GV-104326) (рисунок 2).

Класс соединения: Тринем β-лактамы.

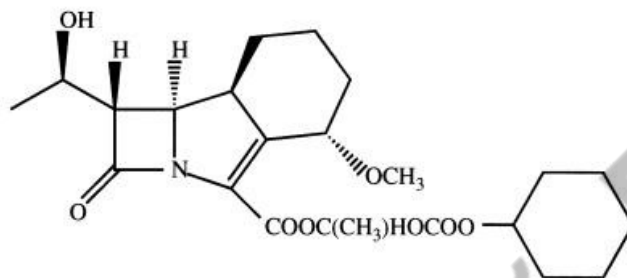


Рисунок 2 — Структурная формула санфетринема

Разработчик: GlaxoSmithKline, Bill&Melinda Gates Foundation.

Научная новизна: санфетринем цилексетил — пероральное пролекарство санфетринема, которое представляет собой новое трициклическое β-лактамыное соединение, разработанное фармацевтической компанией GlaxoSmithKline в 1990-х гг. (рисунок 3).

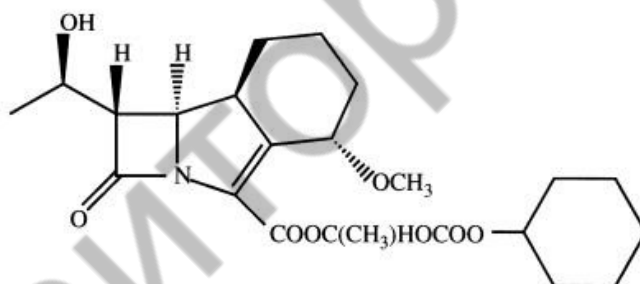


Рисунок 3 — Структурная формула санфетринема цилексетила

Санфетринем цилексетил обладает противотуберкулезной активностью *in vitro* и *in vivo* [3].

В испытаниях *in vitro* на *Mycobacterium Tuberculosis H37Rv* минимальная ингибирующая концентрация (МИК) санфетринема оказалась ниже, чем МИК уже известных β-лактамов, таких как меропенем, тебипенем, фаропенем, эртапенем, причем в эксперименте определяли МИК всех вышеперечисленных соединений как с добавлением 4 мкг/мл ингибитора β-лактамаз клавуланата калия, так и без клавуланата калия (таблица 1) [3].

Таблица 1 — Значения минимальных ингибирующих концентраций санфетринема и уже известных β-лактамов

Соединение	МИК с клавуланатом калия, μМ	МИК без клавуланата калия, μМ
Санфетринем (натриевая соль)	2,9	5
Санфетринемцилексетил	8,6	10,6
Меропенем	6,9	31,7
Тебипенем	1,25	7,5
Фаропенем	8,9	15,7
Эртапенем	16,7	>80

Согласно данным таблицы 1, МИК санфетринема в виде натриевой соли и в виде санфетринема цилексетила значительно ниже, чем МИК уже известных β -лактамов (кроме Тебипенема), причем добавление ингибитора β -лактамаз клавуланата калия значительно снизило значение МИК.

Кроме того, противотуберкулезную активность *in vitro* определяли, используя *Mycobacterium Tuberculosis H37Rv*, растущих внутри человеческих моноцитов ТНР-1. Определяли МИК50 и МИК90 для санфетринема и уже известных β -лактамов, таких как меропенем, тебипенем, фаропенем, эртапенем как с добавлением ингибитора β -лактамаз клавуланата калия, так и без клавуланата калия (таблица 2) [3].

Таблица 2 — Значения минимальных ингибирующих концентраций 50 (МИК50) и минимальных ингибирующих концентраций 90 (МИК90) санфетринема и уже известных β -лактамов

Соединение	МИК50 с клавуланатом калия, μM	МИК50 без клавуланата калия, μM	МИК90 с клавуланатом калия, μM	МИК90 без клавуланата калия, μM
Санфетринем (натриевая соль)	1,64	1,65	7,25	5,57
Санфетринемцилсексетил	0,6	0,85	5	5,2
Меропенем	1,94	6,78	5,55	17,01
Тебипенем	0,49	4,51	3,61	46,48
Фаропенем	1,1	1,85	5,75	12,35
Эртапенем	3,84	29,56	21,02	>50

Согласно данным таблицы 2, МИК50 санфетринема в виде санфетринема цилексетила с клавуланатом калия ниже, чем МИК50 уже известных β -лактамов с клавуланатом калия (кроме тебипенема). МИК50 санфетринема в виде натриевой соли с клавуланатом калия находится в промежутке со значениями МИК50 для уже известных β -лактамов — меропенема и фаропенема с клавуланатом калия. Добавление ингибитора β -лактамаз клавуланата калия значительно снизило значение МИК50 для всех исследуемых соединений, кроме санфетринема в виде натриевой соли (значение снизилось на 0,01 μM).

Согласно данным таблицы 2, МИК90 санфетринема в виде санфетринема цилексетила с клавуланатом калия ниже, чем МИК90 уже известных β -лактамов с клавуланатом калия (кроме тебипенема). МИК90 санфетринема в виде натриевой соли с клавуланатом калия находится в промежутке со значениями МИК90 для уже известных β -лактамов — фаропенема и эртапенема с клавуланатом калия. Добавление ингибитора β -лактамаз клавуланата калия значительно снизило значение МИК90 для всех исследуемых соединений, кроме санфетринема в виде натриевой соли (значение увеличилось на 1,68 μM).

Кроме того, противотуберкулезную активность санфетринема в виде натриевой соли *in vitro* определяли, используя лабораторные штаммы и клинические изолированные штаммы, которые включали как лекарственно-чувствительные штаммы, так и штаммы, устойчивые к одному из лекарственных средств, используемых для лечения туберкулеза (рифампицин, изониазид, стрептомицин, моксифлоксацин, линезолид). Для эксперимента было отобрано 23 штамма. Оценивали четыре концентрации санфетринема в виде натриевой соли — 0,5; 1,25, 5 и 20 μM . МИК, равная 5 μM подавляла рост 15 штаммов из 23. МИК меньше 5 μM подавляла рост 4 штаммов из 23. МИК выше 5 μM подавляла рост 4 штаммов из 23 [3].

Таким образом, было доказано, что как лекарственно-чувствительные штаммы, так и штаммы, устойчивые к одному из лекарственных средств, используемых для лечения туберкулеза (рифампицин, изониазид, стрептомицин, моксифлоксацин, линезолид), были чувствительны к санфетринему в виде натриевой соли в пределах диапазона выбранных концентраций (0,5; 1,25; 5 и 20 μM).

Противотуберкулезную активность *in vivo* определяли в эксперименте на мышях, зараженных *Mycobacterium Tuberculosis H37Rv*. Санфетринем цилексетил и клавуланат калия вводили перорально, санфетринем в виде натриевой соли и меропенем вводили подкожно. Все субстанции вводили 2 раза в день с 9-го по 14-й день со дня заражения. Сравнивали действие санфетринема в виде натриевой соли, санфетринема цилексетила с комбинацией меропенем + клавуланат калия путем подсчета логарифма количества колониеобразующих единиц в легких мышей. Легкие удаляли на 9-й день со дня заражения и на 15-й день со дня заражения. У мышей, которым не вводили изучаемые субстанции,

значение показателя log CFU (Colony Forming Unit — колониеобразующая единица) оказалось равным 7,4 на 9-й день со дня заражения и 9,0 — на 15-й день со дня заражения. У мышей, которым вводили санфетринем в виде натриевой соли log CFU оказался равным 7,3, у мышей, которым вводили санфетринем цилексетил log CFU оказался равным 7,6, у мышей, которым вводили комбинацию меропенем + клавуланат калия log CFU оказался равным 7,3 [3].

Таким образом, санфетринем в виде натриевой соли и санфетринем цилексетил оказались настолько же эффективными, как и комбинация меропенем + клавуланат калия. Все субстанции, которые изучались в эксперименте, подавляли рост *Mycobacterium Tuberculosis H37Rv* в легких мышей.

Разработчики санфетринема предлагают использовать санфетринем не только в качестве противотуберкулезного лекарственного средства, но и в комбинации с уже известными лекарственными средствами, которые используются в химиотерапии туберкулеза (рифампицин, этамбутол, деламаид, амоксициллин) или с противовирусными лекарственными средствами или с комбинацией амоксициллин + клавулановая кислота. Поэтому был проведен эксперимент *in vitro*, в ходе которого были установлены значения IC90 (inhibitory concentration 90, ингибирующая концентрация 90) — показатель, соответствующий значению концентрации, которая ингибирует 90 % роста *Mycobacterium Tuberculosis*. Для установления IC90 использовали санфетринем в виде натриевой соли с концентрациями от 0,1 до 8 µg/ml и комбинировали санфетринем с амоксициллином с концентрациями 5 и 10 µg/ml и клавуланатом калия с концентрацией 4 µg/ml [3]. В таблице 3 представлены полученные значения IC90 изучаемых комбинаций.

Таблица 3 — Значения ингибирующих концентраций 90 (IC90) для санфетринема и санфетринема в комбинации с амоксициллином и клавуланатом калия

Соединения	IC90, µg/ml
Санфетринем	1,22
Санфетринем + клавуланат калия	0,55
Санфетринем + амоксициллин (5 µg/ml)	0,91
Санфетринем + амоксициллин (5 µg/ml) + клавуланат калия	0,1
Санфетринем + амоксициллин (10 µg/ml)	0,33
Санфетринем + амоксициллин (10 µg/ml) + клавуланат калия	0,1

Согласно данным таблицы 3, самое низкое значение показателя IC90 равное 0,1 µg/ml наблюдалось у двух комбинаций — санфетринем + амоксициллин (5 µg/ml) + клавуланат калия и санфетринем + амоксициллин (10 µg/ml) + клавуланат калия.

Для оценки синергизма комбинаций, использовали показатель FICI (The Fractional Inhibitory Concentration Index, индекс фракционной ингибирующей концентрации) [4], который основан на модели аддитивности Loewe [5]. Для 90 % ингибирования роста (в условиях представленного эксперимента — роста *M. Tuberculosis, in vitro*) показатель обозначается FICI90. Считается, что FICI < 0,5 отражает синергию. Количественная оценка синергии с помощью показателя FICI является исследовательской и не объясняет фактическую синергию или механизм антагонизма.

Формула для расчета FICI:

$$FICI90 = IC90 \text{ (комбинации соединений)} / IC90 \text{ (Санфетринема)}$$

Таблица 4 — Значения индексов фракционной ингибирующей концентрации (FICI90) для санфетринема и санфетринема в комбинации с амоксициллином и клавуланатом калия

Комбинации	FICI90
Санфетринем + клавуланат калия	0,45
Санфетринем + амоксициллин (10 µg/ml)	0,27
Санфетринем + амоксициллин (5 µg/ml) + клавуланат калия	0,1

Согласно данным таблицы 4, значительный синергический эффект у двух комбинаций — санфетринем + амоксициллин (10 µg/ml) и санфетринем + амоксициллин (5 µg/ml) + клавуланат калия.

Кроме того, показатель FICI был установлен для санфетринема в виде натриевой соли в комбинации с рифампицином, этамбутолом, деламанидом и амоксициллином. Показатель FICI рассчитывали по следующей формуле:

$$FICI = [FICA + FICB],$$

где FICA — фракционная ингибирующая концентрация соединения А; FICB — фракционная ингибирующая концентрация соединения В.

Для нахождения показателя FICA использовали следующую формулу:

$$FICA = \text{МИК соединения А в присутствии соединения В} / \text{МИК только соединения А}.$$

Для нахождения показателя FICB использовали следующую формулу:

$$FICB = \text{МИК соединения В в присутствии соединения А} / \text{МИК только соединения В}.$$

Для установления МИК использовали санфетринем в виде натриевой соли с концентрациями от 12,8 до 0,4 μM и комбинировали санфетринем с рифампицином с концентрациями от 0,08 до 0,00015625 μM , с этамбутолом с концентрациями от 32 до 0,06 μM , с деламанидом с концентрациями от 40 нМ до 0,078 нМ и с амоксициллином с концентрациями от 128 до 0,25 μM . Для установления показателей «МИК соединения А в присутствии В» и «МИК соединения В в присутствии А» использовали субминимальные ингибирующие концентрации соединений которые добавлялись, т. е. в присутствии которых производился расчет МИК.

Определяя показатель «МИК в присутствии дополнительного соединения» использовали следующие комбинации:

- санфетринем в присутствии рифампицина (2,5 и 5 μM);
- рифампицин в присутствии санфетринема (0,4 и 0,8 μM);
- санфетринем в присутствии этамбутола (1 и 2 μM);
- этамбутол в присутствии санфетринема (0,4 и 0,8 μM);
- санфетринем в присутствии деламанида (2,5 и 5 μM);
- деламанид в присутствии санфетринема (0,4 и 0,8 μM);
- санфетринем в присутствии амоксициллина (8 μM);
- амоксициллин в присутствии санфетринема (0,5 μM).

В таблицах 5 и 6 представлены полученные значения МИК изучаемых комбинаций [3].

Таблица 5 — Значения минимальных ингибирующих концентраций (МИК) для санфетринема и санфетринема в комбинации с рифампицином, этамбутолом, деламанидом и амоксициллином

Соединение А	Соединение В	МИК А, μM	МИК В, μM	МИК А в присутствии В, μM	МИК В в присутствии А, μM
Санфетринем	Рифампицин	3,2	0,04	0,4	0,005
Санфетринем	Этамбутол	1,6	8	0,4	2
Санфетринем	Деламанид	1,6	0,01	0,4	0,0025
Санфетринем	Амоксициллин	4	128	0,5	8

Таблица 6 — Значения фракционных ингибирующих концентраций (FIC) и индексов фракционной ингибирующей концентрации (FICI) для санфетринема в комбинации с рифампицином, этамбутолом, деламанидом и амоксициллином.

Соединение А	Соединение В	FICA	FICB	FICI
Санфетринем	Рифампицин	0,125	0,125	0,25
Санфетринем	Этамбутол	0,25	0,25	0,5
Санфетринем	Деламанид	0,25	0,25	0,5
Санфетринем	Амоксициллин	0,125	0,0625	0,1875

Считается, что $FICI < 0,5$ отражает синергию [3]. Согласно данным таблицы 6 значительный синергический эффект у двух комбинаций — санфетринем + рифампицин и санфетринем + амоксициллин.

2. Название разрабатываемого соединения — BVL-GSK098 (рисунок 4).
Класс соединения: амидопиперидин.

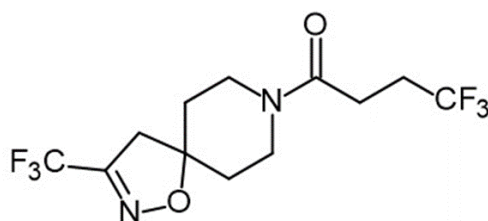


Рисунок 4 — Структурная формула BVL-GSK098

Разработчик: BioVersys AG, GlaxoSmithKline

Научная новизна: Механизм действия BVL-GSK098 основан на технологии TRIC (Transcriptional Regulator Inhibitory Compound, с английского — соединение, ингибирующее регулятор транскрипции), которая разработана BioVersys. Технология TRIC заключается в следующем.

Этионамид является пролекарством. Этионамид неактивен до тех пор, пока фермент, продуцируемый микобактерией, флавиномоноксигеназа (EthA), не начинает катализировать ковалентное присоединение никотинамидадениндинуклеотида к молекуле этионамида, тем самым активируя его. Активированный этионамид связывается и ингибирует редуктазу белка-носителя эноилацильного белка (InhA), которая требуется микобактериям для синтеза миколовых кислот — важнейших составляющих микобактериальной клеточной стенки. Это прерывание биосинтеза клеточной стенки приводит к гибели клеток. Таким образом, увеличение количества EthA приводит к более высокому содержанию активированного этионамида и увеличению гибели бактерий. Транскрипция EthA регулируется репрессором EthR, который кодируется рядом с геном EthA. Таким образом, EthR отвечает за относительно низкую экспрессию EthA и как следствие слабую активацию этионамида с помощью EthA.

Именно поэтому было предложено ингибировать действие EthR, тем самым увеличивая концентрацию EthA. Работа N. Willand с соавт. направлена на разработку ингибиторов EthR, согласно полученным результатам соединения BDM31343 и BDM31381 увеличивали антибактериальную эффективность этионамида в отношении *M. tuberculosis* в 10 раз и 20 соответственно [6].

На сегодняшний день уже установлены новые пути активации этионамида, которые были открыты с помощью полногеномного транскрипционного анализа [7]. Результаты анализа позволили установить вторую пару генов, которые оказались гомологичны с EthA и EthR, их обозначают EthA2 и EthR2. Аналогичным образом EthR2 подавляет транскрипцию EthA2 (но не EthA). Молекула SMART-420 (Small Molecule Aborting Resistance) по химической природе спироизоксазолин, связывается с EthR2 и блокирует его действие на EthA2. Эксперимент, проведенный на мышах C57BL6 / J, инфицированных аэрозолем с 10^5 устойчивых к этионамиду бактерий *M. Tuberculosis* с мутацией по EthA, показал, что через семь дней после заражения мышам, которым ежедневно вводили до 50 мг/кг этионамида в течение 3 недель, этионамид оказался неэффективным в значительном снижении бактериальной нагрузки в легких мышам, что подтверждает устойчивость к этионамиду этого штамма. Мыши, которым вводили комбинацию этионамида и SMART-420 (оба по 50 мг/кг), показали поразительное снижение бактериальной нагрузки в легких. При введении только SMART-420 наблюдалось отсутствие эффекта. Этот эксперимент подтверждает противотуберкулезную активность комбинации этионамида и SMART-420, которая обусловлена запуском молекулой SMART-420 альтернативного пути активации для этионамида. Таким образом, устойчивый к этионамиду штамм восстановил чувствительность к этионамиду, т. е. молекула SMART-420 делает устойчивые к этионамиду штаммы *Mycobacterium tuberculosis* полностью восприимчивыми [8].

BVL-GSK098 создан компанией BioVersys по технологии TRIC — соединение, ингибирующее регулятор транскрипции в сотрудничестве с GSK, Институтом Пастера Лилля и Университетом Лилля. BVL-GSK098 завершил токсикологические исследования GLP и готовится к первым клиническим испытаниям на людях во втором полугодии 2020 г.

BioVersys разрабатывают BVL-GSK098 в комбинации с этионамидом/протионамидом в качестве перорального средства для лечения туберкулеза легких. Этионамид и протионамид используются в терапии туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) в качестве ПТЛС II ряда, однако для достижения клинической эффективности требуются их высокие дозы, которые обычно

связаны с проявлением побочных реакций, связанных с деятельностью желудочно-кишечного тракта и гепатотоксичностью.

Основываясь на экспериментах, проведенных на животных ожидается, что BVL-GSK098 может снизить эффективную дозу этионамида для человека по крайней мере в 3 раза, что потенциально может значительно минимизировать дозозависимые побочные эффекты и улучшить комплаентность пациента, что позволит, наконец, задействовать весь потенциал этого препарата 50-летней давности. Комбинация BVL-GSK098 и низких доз этионамида/протионамида позволила бы получить более безопасную и лучше переносимую дозу этионамида/протионамида, этого быстродействующего противотуберкулезного препарата, без дифференциации активности для резистентных и чувствительных штаммов. Это может привести к тому, что этионамид/протионамид станет ценным средством лечения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью, широкой лекарственной устойчивостью и туберкулеза резистентного к изониазиду. Кроме того, BVL-GSK098 в сочетании с этионамидом/протионамидом может использоваться как лекарственное средство первого ряда против *M. tuberculosis*, заменяющее изониазид [6].

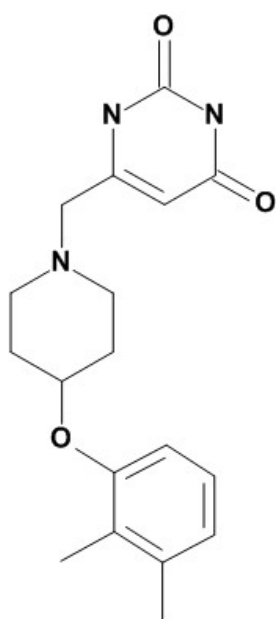


Рисунок 5 — Структурная формула GSK-286

Соединение, ингибирующее регулятор транскрипции в бактериальной клетке — это новое направление в фармацевтической разработке в борьбе с бактериальной инфекцией, которое до сих пор не использовалось в коммерческих целях. BVL-GSK098 будет первым образцом, эффект которого будет оценен в ходе клинических испытаний.

3. Название разрабатываемого соединения — GSK-286 (рисунок 5).

Класс соединения: пиперидинилпиримидин.

Разработчик: GlaxoSmithKline, TB Drug Accelerator, Bill & Melinda Gates Foundation.

Научная новизна: GSK 2556286 (GSK-286) — это новое химическое соединение с новым механизмом действия, связанным с катаболизмом микобактериального холестерина. GSK-286 селективно поражает внутриклеточных *Mycobacterium Tuberculosis H37Rv*: MIC > 10 μM , внутримакрофагальная активность < 0,1 μM . GSK-286 проникает в некротические очаги и поражает внутриклеточных *M. Tuberculosis H37Rv*, уменьшает воспаление (ПЭТ/КТ инфицированных обезьян). Было доказано, что GSK-286 активен *in vivo* у разных видов (мыши, кролики, обезьяны) и снижает частоту рецидивов у мышей [1], [9].

4. Название разрабатываемого соединения — TBAJ-587, Diarylquinoline (рисунок 6).

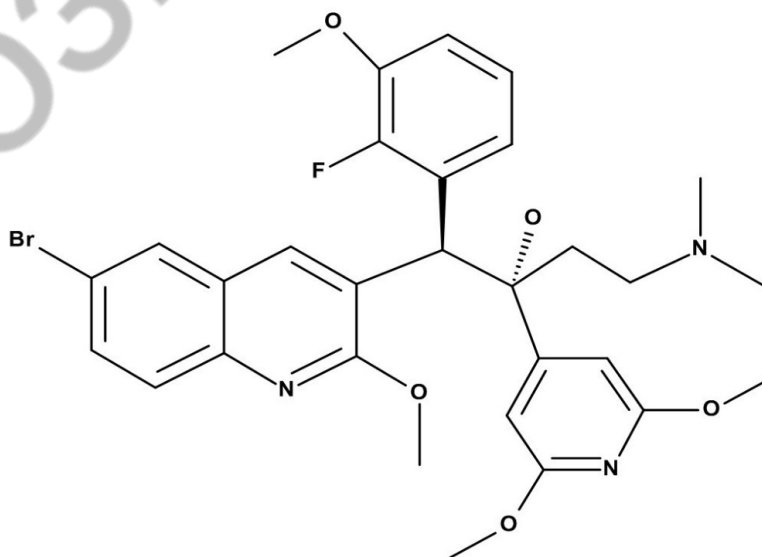


Рисунок 6 — Структурная формула TBAJ-587

Класс соединения: диарилхинолин

Разработчик: TB Alliance, University of Auckland, Merck & Co., Inc.

Научная новизна: бедаквилин является представителем нового химического класса — диарилхинолины (DARQs), и обладает новым механизмом избирательного действия на *M. Tuberculosis* — прямое ингибирование АТФ-синтазы микобактерии. Так, ТВАJ-587 был идентифицирован в результате проекта оптимизации нового поколения диарилхинолинов, целью которого было установить новые соединения этого химического ряда, которые сохраняют противотуберкулезную активность бедаквилина и обладают улучшенными свойствами. Таким образом, ТВАJ-587 обладает более высокой активностью против *M. tuberculosis* и более эффективен против туберкулеза на животных. Предварительные исследования показывают, что его безопасность и фармакокинетический профиль лучше, чем у бедаквилина. Доклиническая разработка ТВАJ-587 продолжается.

Бедаквилин (торговое название Сиртуро®, Janssen and Janssen) относится к группе диарилхинолинов — новому классу противотуберкулезных соединений. Бактерицидное действие препарата обусловлено ингибированием протонной помпы АТФ-синтазы (аденозин 5'-трифосфат-синтазы) — фермента, играющего основную роль в процессе клеточного дыхания *M. tuberculosis*. Угнетение синтеза АТФ приводит к нарушению выработки энергии и, как результат, к гибели микробной клетки. [10]. Лекарственное средство Сиртуро доказало высокую эффективность при лечении больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью микобактерий туберкулеза в клинических исследованиях [11].

Недостатком бедаквилина является длительный период полувыведения *in vivo* из-за его очень высокой липофильности ($\log P = 7,52$), что увеличивает риск приобретенной резистентности [12]. Кроме того, бедаквилин (ингибирующая концентрация 50 (IC₅₀) = 1,6 мкМ) оказывает влияние на интервал QT сердечного цикла, что связывают преимущественно с ингибированием гена HERG (human ethera-go-go-related gene), который регулирует ток ионов по калиевым каналам IK_r, что может способствовать риску удлинения интервала QT сердечного цикла [11]. Удлинение интервала QT является предиктором фатальных нарушений сердечного ритма и внезапной смерти. Увеличение интервала QT, превышающего норму, проявляется эпизодами потери сознания и нередко заканчивается фибрилляцией желудочков, являющихся непосредственной причиной внезапной смерти, в том числе внезапной сердечной смерти, вследствие развития фатальных желудочковых аритмий, в частности, полиморфной желудочковой тахикардии — желудочковой тахикардии типа *пируэт* — torsadepointes, (TdP). Наиболее частой причиной удлинения интервала QT является влияние лекарственных средств. Перечень лекарственных средств, которые приводят к риску удлинения интервала QT и сердечным аритмиям, постоянно обновляется на интернет-ресурсе (Режим доступа: <http://crediblemeds.org>), информация публикуется на веб-сайтах CredibleMeds® и QTdrugs[13].

Хотя действие бедаквилина может быть уменьшено одновременным назначением верапамила [14], он по-прежнему является фактором риска, который необходимо учитывать при разработке комбинированных лекарственных средств и при назначении схем лечения, включающих нескольких лекарственных средств, включая бедаквилин.

Соединение ТВАJ-587 — это 3,5-диалкоксипиридиновый аналог бедаквилина, который разрабатывается с целью улучшить свойства бедаквилина. Так, Н. S. Sutherland с соавт. установили, что соединение ТВАJ-587 обладает более низкой липофильностью по сравнению с бедаквилином, лучшей противотуберкулезной активностью *in vitro* и *in vivo*, более высоким клиренсом и уменьшает риск удлинения интервала QT (ингибирующая концентрация IC₅₀ = 13μМ) [15].

Липофильность определяли, используя величину коэффициента распределения (P), который определяется как отношение концентраций растворенного вещества между двумя растворителями (двухфазная система), в частности, для неионизирующихся веществ логарифм отношения обозначается как $\log P$. Так, Н. S. Sutherland с соавт. установили: у соединения ТВАJ-587 $\log P = 5,80$, что ниже, чем у бедаквилина — $\log P = 7,25$, и характеризует более низкую липофильность соединения ТВАJ-587.

Кроме того, Н. S. Sutherland с соавт. оценивали способность исследуемого соединения ТВАJ-587 ингибировать рост *M. Tuberculosis H37Rv* как при репликации (анализ MABA10), так и при отсутствии репликации (анализ LORA assay 11).

Результаты оценивали по показателю МИК90. Данные, полученные в ходе исследования, представлены в таблице 7.

Таблица 7 — Значения минимальных ингибирующих концентраций 90 (МИК90) для бедаквилина и соединения ТВАЖ-587, установленные для реплицирующихся *M. Tuberculosis H37Rv* и при отсутствии репликации

Соединение	МИК90, мкг/мл	
	MAVA	LORA
Бедаквилин	0,04	0,08
ТВАЖ-587	0,006	<0,02

Согласно данным таблицы 7, соединение ТВАЖ-587 имеет более низкие значения МИК90, чем бедаквилин в испытании как для реплицирующихся *M. Tuberculosis H37Rv*, так и при отсутствии репликации.

Н. S. Sutherland с соавт. оценивали способность соединения ТВАЖ-587 ингибировать ген HERG, который регулирует ток ионов по калиевым каналам IKr, ингибирование которого может способствовать риску удлинения интервала QT сердечного цикла. Измеряли ингибирующую концентрацию 50 (IC50) в μM , причем чем больше значение показателя IC50, тем лучше, так как это свидетельствует о том, что для ингибирования гена HERG нужно большее количество изучаемого соединения. А в данном исследовании, наоборот, нужно устранить ингибирование на ген HERG, т. е. повысить значение показателя IC50. В таблице 8 представлены полученные значения IC50 для бедаквилина и ТВАЖ-587 [15].

Таблица 8 — Значения ингибирующих концентраций 50 (IC50) для бедаквилина и соединения ТВАЖ-587, характеризующие ингибирование гена HERG

Соединение	IC50, μM
Бедаквилин	1,6
ТВАЖ-587	13

Согласно данным таблицы 8, соединение ТВАЖ-587 имеет значение IC50 в 8 раз больше, чем бедаквилин, что свидетельствует о том, что соединение ТВАЖ-587 значительно меньше ингибирует ген HERG по сравнению с бедаквилином.

Кроме того, Н. S. Sutherland с соавт. измеряли клиренс бедаквилина и ТВАЖ-587 *in vitro*, используя микросомы из печени человека и мышей. Данные, полученные в ходе исследования, представлены в таблице 9.

Таблица 9 — Значения клиренса (Cl) *in vitro* для бедаквилина и соединения ТВАЖ-587 в эксперименте на микросомах из печени человека и мышей

Соединение	Микросомы печени	
	человека	мышей
	Cl, мкл/мин/мг	
Бедаквилин	3	7
ТВАЖ-587	2	18

Согласно данным таблицы 9, соединение ТВАЖ-587 имеет значение клиренса, измеренное *in vitro* на микросомах из печени человека меньше, чем бедаквилин, а значение клиренса, измеренное *in vitro* на микросомах из печени мышей в 2,5 раза больше. Полученные результаты значения клиренса (Cl) *in vitro* не коррелируют, что может быть связано с различным вкладом в метаболизм бедаквилина и соединения ТВАЖ-587 изоформ CYP в микросомах человека и микросомах мышей. Клиренс, измеренный в ходе исследования на микросомах из печени человека может лучше предсказать клиренс, измеренный в теле человека только, если микросомальный метаболизм является репрезентативным для метаболизма изучаемых соединений.

Так, Н. S. Sutherland с соавт. измерили клиренс (Cl), биодоступность (F), средний кажущийся объем распределения после внутривенного (в/в) введения (V_z) и площадь под фармакокинетической кривой (AUC (0 $\rightarrow\infty$)), где AUC — area under the curve бедаквилина и ТВАЖ-587 в *in vivo* эксперименте путем введения однократной пероральной дозы мышам и после однократного внутривенного введения изучаемого соединения мышам. Данные, полученные в ходе исследования, представлены в таблице 10.

Таблица 10 — Значения клиренса, биодоступности, среднего кажущегося объема распределения после внутривенного введения, площади под фармакокинетической кривой для бедаквилина и соединения ТВАJ-587 в эксперименте на мышах

Соединение	Cl, мкл/мин/мг	F, %	V _z , л/кг	AUC (0→∞), мкг·ч/мл
Бедаквилин	7	56	22	20,9
ТВАJ-587	48	48	95	1,72

Согласно данным таблицы 10, соединение ТВАJ-587 имеет значение клиренса, измеренное *in vivo* в эксперименте на мышах почти в 7 раз больше, чем у бедаквилина. Биодоступность соединения ТВАJ-587, измеренное *in vivo*, в эксперименте на мышах ниже на 8 % в сравнении с биодоступностью бедаквилина. Следует отметить, что более высокий уровень *clogP* (*clogP* (бедаквилина) = 7,25, *clogP* (ТВАJ-587) = 5,80) был одним из факторов, связанных с более высокой биодоступностью. Средний кажущийся объем распределения после внутривенного введения у соединения ТВАJ-587 высокий, примерно в 4 раза больше, чем у бедаквилина. Площадь под фармакокинетической кривой у соединения ТВАJ-587 в 12 раз меньше, чем у бедаквилина. Значения AUC коррелируют со значениями клиренса, поэтому можно предположить, что воздействие плазмы варьировалось в зависимости от относительного клиренса.

Так, Н. S. Sutherland с соавт. измерили связывание с белками плазмы крови человека бедаквилина и соединения ТВАJ-587 (для обоих соединений результат >99,9 %) и оценивали эффективность бедаквилина и соединения ТВАJ-587 *in vivo* на мышах-самках линии BALB/c, зараженных вирулентным штаммом *M. Tuberculosis H37Rv* путем введения дозировки 20 мг/кг внутрижелудочно ежедневно в течение 12 дней, начиная с 10-го дня со дня заражения. Относительную активность изучаемых соединений *in vivo* оценивали по логарифму (log) числа сокращения колониеобразующих единиц (КОЕ) в гомогенате легких мышей-самок [16, 17, 18]. Данные, полученные в ходе исследования, представлены в таблице 11.

Таблица 11 — Значения логарифмов числа сокращения колониеобразующих единиц (КОЕ) в гомогенате легких мышей-самок для бедаквилина и соединения ТВАJ-587

Соединение	log числа сокращения КОЕ в гомогенате легких мышей-самок
Бедаквилин	6,1
ТВАJ-587	5,2

В условиях эксперимента у мышей-самок, зараженных вирулентным штаммом *M. Tuberculosis H37Rv*, которые были контрольной группой и им вводили растворитель без изучаемого соединения, log числа КОЕ был равен 5–6. Поэтому log числа сокращения КОЕ >5 свидетельствует о том, что *M. Tuberculosis H37Rv* не были обнаружены в гомогенате легких мышей-самок. Если у обоих соединений log числа сокращения КОЕ > 5 (таблица 11), то можно сделать вывод что оба соединения являются эффективными в отношении *M. Tuberculosis H37Rv* в рамках данного эксперимента.

Нужно отметить, что соединение ТВАJ-587 имеет высокую эффективность против *M. Tuberculosis H37Rv in vivo* (таблица 11), при AUC в 12 раз меньше, чем у бедаквилина (таблица 10), что свидетельствует о том, что соединение ТВАJ-587 имеет потенциал продемонстрировать эффективность против *M. Tuberculosis H37Rv* у пациентов, страдающих туберкулезом, при более низких концентрациях в плазме крови, чем бедаквилин. К тому же ТВАJ-587 имеет значение IC₅₀ в 8 раз больше, чем бедаквилин (таблица 8), что свидетельствует о том, что соединение ТВАJ-587 значительно меньше ингибирует ген HERG по сравнению с бедаквилином. Это означает, что ТВАJ-587 не удлиняет интервал QT сердечного цикла. Недостатком бедаквилина является длительный период полувыведения *in vivo* из-за его очень высокой липофильности (*clogP* = 7,25), что увеличивает риск приобретенной резистентности, а у соединения ТВАJ-587 более низкая липофильность (*clogP* = 5,80). Установив вышеперечисленные преимущества соединения ТВАJ-587, Н. S. Sutherland с соавт. выбрали это соединение для дальнейших доклинических испытаний и продолжили его изучать: оценивали фармакокинетические параметры у грызунов и негрызунов, МИК против клинических изолятов *M. Tuberculosis*, эффективность против хронического мышинного туберкулеза и токсичность на крысах. Основываясь на результатах всех перечисленных выше исследований, было установлено, что у соединения ТВАJ-587

МИК против клинических изолятов *M. Tuberculosis* ниже, чем у бедаквилина, соединение ТВАJ-587 не удлиняет интервал QT сердечного цикла (приемлемая безопасность, основанная на безопасном воздействии на крыс доз, эффективных для мышей доз).

5. Название разрабатываемого соединения — Spectinamide 1810 (рисунок 7).

Класс соединения: спектинамид.

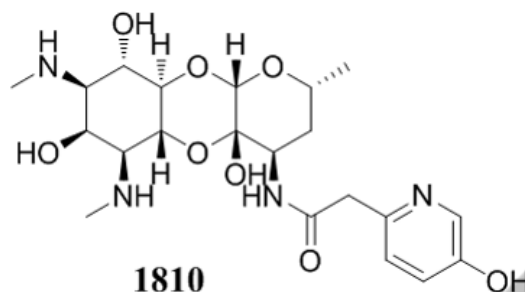


Рисунок 7 — Структурная формула Spectinamide 1810

Разработчик: Microbiotix, Inc.

Научная новизна: спектинамиды — новые полусинтетические противотуберкулезные агенты, производные спектиномицина, с селективным рибосомным ингибированием и узкоспектральной противотуберкулезной активностью, которые были созданы с помощью структурного дизайна.

Спектиномицин — это аминоклитол, производимый *Streptomyces spectabilis*. Спектиномицин ингибирует рибосомы бактерий путем избирательного связывания с уникальным сайтом связывания РНК в 34 спирали головного домена бактериальной 30S рибосомной субъединицы, которая блокирует транслокацию, и, следовательно, блокирует синтез белка. К сожалению, спектиномицин не обладает антибактериальной активностью в отношении ряда бактериальных патогенов, в первую очередь из-за эффлюкса — одного из механизмов лекарственной устойчивости бактерий, при котором доступ препарата к мишени предотвращается или снижается путем уменьшения его переноса в клетку или путем увеличения выведения лекарственного средства из клетки в окружающую среду [19]. Однако спектиномицин является перспективным каркасом для разработки производных спектиномицина, поскольку является мощным ингибитором бактериальных рибосом, причем рибосомы млекопитающих он не ингибирует, кроме того спектиномицин — безопасное соединение и в отличие от других аминогликозидов не ототоксичное и нефротоксичное соединение. Структура спектиномицина является уникальной среди аминогликозидных антибиотиков. Слабая активность спектиномицина в отношении *M. tuberculosis* является результатом устойчивости микобактерий, механизм которой — повышенная экспрессия гена Rv1258c, кодирующего эффлюксный насос [20].

Например, J. Liu с соавт. синтезировали 50 производных спектиномицина — спектинамиды и изучили взаимосвязь между структурой и активностью производных спектинамида, проанализировали влияние структуры производных спектинамида на ингибирование рибосом микобактерий и на ген Rv1258c микобактерий, кодирующего эффлюксный насос. Выводы, сделанные J. Liu с соавт., представлены на рисунке 8.

Установлено что ряд производных спектиномицина (спектинамид 1599, спектинамид 1810 и др.) обладают селективным ингибированием рибосом микобактерий и узкоспектральной противотуберкулезной активностью. В моделях множественной инфекции у мышей эти производные хорошо переносились, значительно снижали микобактериальную нагрузку в легких мышей и увеличивали их выживаемость. Исследования *in vitro* продемонстрировали отсутствие перекрестной устойчивости с существующими противотуберкулезными препаратами, активность против туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью и широкой лекарственной устойчивости, а также отличный фармакологический профиль. Преимуществом спектинамида 1599, спектинамида 1810 и других является противотуберкулезная активность против устойчивых штаммов, устойчивость которых сформирована эффлюксом. Противотуберкулезная эффективность спектинамидов демонстрирует, что синтетические модификации классических антибиотиков могут преодолеть проблему внутренней резистентности микобактерий, опосредованной повышенной экспрессией гена Rv1258c, кодирующего эффлюксный насос, что расширяет возможности открытия целевых препаратов для лечения туберкулеза.

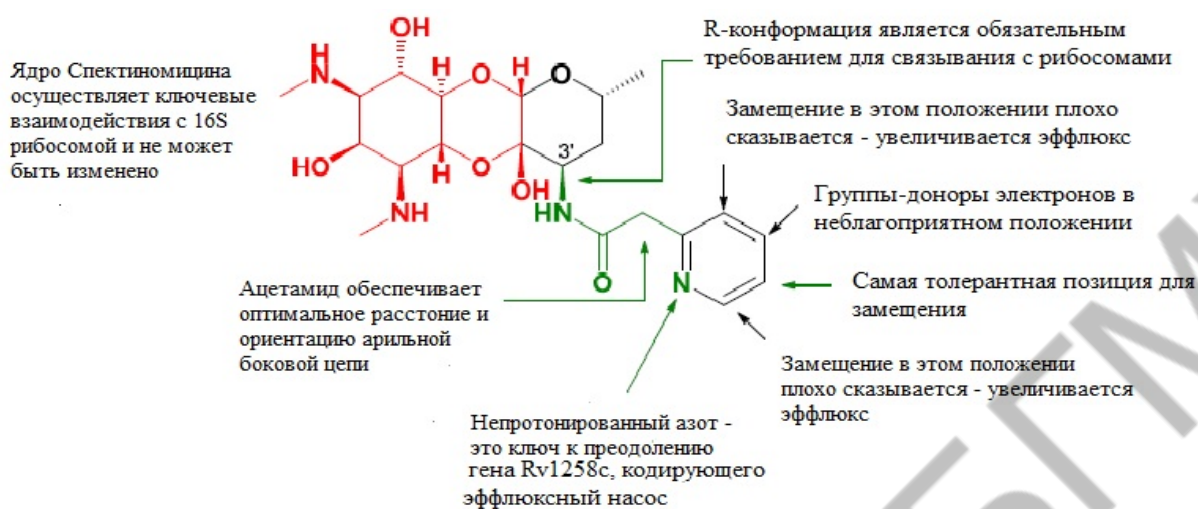


Рисунок 8 — Взаимосвязь между структурой и активностью производных спектинамида

Спектинамид 1810 был выбран в качестве кандидата для доклинических исследований из-за его положительного профиля безопасности (максимально переносимая доза 500 мг/кг при внутривенной инфузии) и из-за его эффективности на мышах, инфицированных туберкулезом. Кроме того, он активен в отношении штаммов с множественной и широкой лекарственной устойчивостью, стабильный, слабо связывается с белками, обладает синергическим действием с комбинацией рифампицин-пиразинамид, которая была доказана в эксперименте на мышах, инфицированных туберкулезом. Механизм действия спектинамида 1810 — связывается с рибосомами микобактерий и подавляет синтез белка [21].

Заключение. Согласно данным международной организации Stop TB Partnership (Партнерство «Остановить туберкулез») рабочей группы — Working Group on New TB Drugs (Рабочая группа по новым противотуберкулезным препаратам) по состоянию на ноябрь 2020 г. на стадии доклинических испытаний находится 5 соединений — Sanfetrinem, BVL-GSK098, GSK-286, TBAJ-587 и Spectinamide 1810, причем все 5 соединений оригинальные и с новым механизмом действия. Однако только успешные результаты доклинических испытаний позволят приступить к клиническим испытаниям этих соединений.

Литература

1. Clinical Pipeline of working group on new TB drugs. — Mode of access: <http://www.newtbdrugs.org/pipeline/clinical/> — Date of access: 05.09.2020.
2. Головкин, Ю. С. Современные методы поиска новых лекарственных средств / Ю. С. Головкин, О. А. Ивашкевич, А. С. Головкин // Вестник БГУ. Сер. Химия. Биология. География. — 2012. — № 1. — С. 7–15.
3. Sanfetrinem or a salt or ester thereof for use in treating mycobacterial infection: заявл. пат. 16611908 (США) / D. B. Aguirre [et al.]. — 2020.
4. Odds, F. C. Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them / F. C. Odds // J. of Antimicrobial Chemotherapy. — 2003. — Т. 52, № 1. — С. 1.
5. Tang, J. What is synergy? The Saarisekд agreement revisited / J. Tang, K. Wennerberg, T. Aittokallio // J. Frontiers in pharmacology. — 2015. — Т. 6. — С. 181.
6. Synthetic EthR inhibitors boost antituberculous activity of ethionamide / N. Willand [et al.] // J. Nature medicine. — 2009. — Т. 15, № 5. — С. 537–544.
7. Rubin, E. J. Reviving a Drug for Tuberculosis? / E. J. Rubin // New England J. of Medicine. — 2017. — Т. 376, № 23. — С. 2292–2294.
8. Reversion of antibiotic resistance in Mycobacterium tuberculosis by spiroisoxazoline SMART-420 / N. Blondiaux [et al.] // Science. — 2017. — Т. 355, № 6330. — С. 1206–1211.
9. Discovery of a Potent and Specific M. tuberculosis Leucyl-tRNASynthetase Inhibitor: (S)-3-(Aminomethyl)-4-chloro-7-(2-hydroxyethoxy) benzo [c] [1, 2] oxaborol-1 (3 H)-ol (GSK656) / X. Li [et al.] // J. of medicinal chemistry. — 2017. — Т. 60, № 19. — С. 8011–8026.

10. Инструкция по медицинскому применению препарата Сиртуро [Электронный ресурс]. — Режим доступа: https://rceth.by/NDfiles/instr/10672_18_i.pdf. — Дата доступа: 15.09.2020.
11. Bedaquiline in the treatment of multidrug-and extensively drug-resistant tuberculosis / A. S. Pym [et al.] // *European Respiratory J.* — 2016. — Т. 47, № 2. — С. 564–574.
12. Leibert, E. New drugs to treat multidrug-resistant tuberculosis: the case for bedaquiline / E. Leibert, M. Danckers, W. N. Rom // *Therapeutics and clinical risk management.* — 2014. — Т. 10. — С. 597.
13. Современные аспекты безопасности применения лекарственных средств, удлиняющих интервал QT / Е. В. Ших [и др.] // *Анестезиология и реаниматология.* — 2016. — Т. 61, № 5.
14. Can the addition of verapamil to bedaquiline-containing regimens improve tuberculosis treatment outcomes? A novel approach to optimizing TB treatment / G. Srikrishna [et al.] // *Future microbiology.* — 2015. — Т. 10, № 8. — С. 1257–1260.
15. Variations in the C-unit of bedaquiline provides analogues with improved biology and pharmacology / H. S. Sutherland [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* — 2020. — Т. 28, № 1. — С. 115213.
16. 3, 5-Dialkoxypyridine analogues of bedaquiline are potent antituberculosis agents with minimal inhibition of the hERG channel / H. S. Sutherland [et al.] // *Bioorganic & Medicinal chemistry.* — 2019. — Т. 27, № 7. — С. 1292–1307.
17. Synthesis and evaluation of analogues of the tuberculosis drug bedaquiline containing heterocyclic B-ring units / P. J. Choi [et al.] // *Bioorganic & Medicinal chemistry letters.* — 2017. — Т. 27, № 23. — С. 5190–5196.
18. Structure-activity relationships for analogs of the tuberculosis drug bedaquiline with the naphthalene unit replaced by bicyclic heterocycles / H. S. Sutherland [et al.] // *Bioorganic & Medicinal chemistry.* — 2018. — Т. 26, № 8. — С. 1797–1809.
19. Молекулярные основы возникновения лекарственной устойчивости у *Mycobacterium tuberculosis* / М. А. Дымова [и др.]. — 2012.
20. Rossi, E. D. Role of mycobacterial efflux transporters in drug resistance: an unresolved question / E. D. Rossi, J. A. Аннса, G. Riccardi // *FEMS microbiology reviews.* — 2006. — Т. 30, № 1. — С. 36–52.
21. Structure-activity relationships of spectinamide antituberculosis agents: a dissection of ribosomal inhibition and native efflux avoidance contributions / J. Liu [et al.] // *ACS infectious diseases.* — 2017. — Т. 3, № 1. — С. 72–88.

The present state of development of compounds with anti-tuberculosis activity

Sechko O. G.

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

The article presents compounds with anti-tuberculosis activity such as Sanfetrinem, BVL-GSK098, GSK-286, TBAJ-587 и Spectinamide 1810, which are at the stage of preclinical development at the time of November 2020 according to the international organization Stop TB Partnership of the Working Group on New TB Drugs. The current state of the development of compounds, preclinical development, studying of safety have been assessed.

Keywords: anti-tuberculosis activity, tuberculosis, resistance, preclinical development, minimum inhibitory concentration.

Поступила 10.11.2020