

DOI: 10.7868/S3034574X26040053

Оригинальная статья

УДК 579.61

ПРИМЕНЕНИЕ РЕЗАЗУРИНА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ АКТИВНОСТИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

К. А. Дементьева¹, Б. А. Мартини¹, К. Б. Майоров², Е. Г. Салина^{1, *}

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Российская Федерация

²Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза Российской академии наук,
Москва, Российская Федерация

*E-mail: elenasalina@yandex.ru

Аннотация. В работе предложено использование кислотно-основного индикатора резазурина для оценки внутриклеточной активности оригинального производного пирано[3,2-*b*]индолонов Руг056 с противотуберкулезной активностью *in vitro*. Оценка числа *M. tuberculosis* в культурах инфицированной макрофагальной линии клеток RAW264.7, обработанных Руг056, путем подсчета КОЕ и путем измерения интенсивности флюоресценции восстановленного резазурина показала высокую степень положительной корреляции ($r=0,982$). Полученный результат, с одной стороны, открывает перспективу дальнейшего изучения противотуберкулезной активности Руг056, в том числе, в экспериментах *in vivo*, а с другой — возможность применения резазурина для быстрой и точной оценки эффективности экспериментальных соединений в отношении различных внутриклеточных патогенов, включая *M. tuberculosis*, особенно в случае ограниченного времени и ресурсов.

Ключевые слова: резазурин, резорурфин, *Mycobacterium tuberculosis*, противотуберкулезный препарат, внутриклеточная активность

Соблюдение этических стандартов. В работе отсутствуют исследования человека или животных.

Конфликт интересов. Авторы работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Благодарность. Авторы выражают благодарность д. фарм. н. В. А. Макарову (Институт биохимии им. А.Н. Баха Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН) за предоставленный образец оригинального соединения Руг056.

Ссылка для цитирования: Дементьева К.А., Мартини Б.А., Майоров К.Б., Салина Е.Г. Применение резазурина для изучения внутриклеточной активности низкомолекулярных противотуберкулезных соединений. *Прикладная биохимия и микробиология / Applied biochemistry and microbiology*. 2026. Т. 62. № 4. С. 567–574. <https://doi.org/10.7868/S3034574X26040053>

© К. А. Дементьева, Б. А. Мартини, К. Б. Майоров, Е. Г. Салина, 2026

Сокращения: ТБ — туберкулез; КОЕ — колониеобразующие единицы; ReMA — метод аналитического микротитрования с резазурином (Rezaurin Microtiter Assay); МИК — минимальная ингибирующая концентрация; ADS — Albumin, Dextrose, Sodium chloride, ростовая добавка; MOI — кратность инфицирования (Multiplicity Of Infection); АЕФ — абсолютные единицы флюоресценции.

USE OF RESAZURIN FOR STUDYING THE INTRACELLULAR ACTIVITY OF LOW MOLECULAR WEIGHT ANTI-TUBERCULOSIS COMPOUNDS

K. A. Dementieva¹, B. A. Martini¹, K. B. Majorov², E. G. Salina^{1,*}

¹*Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

²*Central Research Institute for Tuberculosis of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

* *E-mail: elenasalina@yandex.ru*

Abstract. In this study, we propose the use of the redox indicator resazurin to assess the intracellular activity of the original pyrano[3,2-b]indolone derivative Pyr056 with anti-tuberculosis activity *in vitro*. Evaluation of the number of *M. tuberculosis* in cultures of infected RAW264.7 macrophages treated with Pyr056 by CFU counting and by measuring the fluorescence of resorufin, reduced from resazurin, showed positive correlation with $r=0.982$. These data prospect further studying of the anti-tuberculosis activity of Pyr056, including *in vivo* experiments, as well as the use of resazurin for rapid and accurate assessment of the efficacy of experimental compounds against various intracellular pathogens, including *M. tuberculosis*, especially when time and resources are limited.

Keywords: *resazurin, resorufin, Mycobacterium tuberculosis, anti-tuberculosis drug, intracellular activity*

Ethics declarations. This work does not contain any studies involving human and animal subjects

Conflict of interests. The authors declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgements. The authors are grateful to Dr. V. A. Makarov (The Federal Research Centre “Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences) for providing a sample of the original compound Pyr056.

For citation: Dementieva K.A., Martini B.A., Majorov K.B., Salina E.G. Use of Resazurin to Studying the Intracellular Activity of Low molecular weight Anti-tuberculosis Compounds. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya / Applied biochemistry and microbiology*. 2026;62(4): 567–574. (In Russ.)
<https://doi.org/10.7868/S3034574X26040053>

МЕТОДИКА

Объект исследования и условия культивирования.

Клетки бактерии *M. tuberculosis* H37Rv, полученные из коллекции ЦНИИ Туберкулеза (Москва, Россия), хранившиеся при -70°C , выращивали в синтетической среде Миддлбрука (7H9) “Himedia” (Индия) с добавлением 10% об./об. ростовой добавки ADS (Albumin, Dextrose, Sodium chloride г/л; БСА – 50, глюкоза – хлорид натрия – 8,5) и 0,05% об./об. Твин-80 – “Neofroxx GmbH” (Германия) при 37°C с перемешиванием (200 об./мин). После 7 дней культивирования стартовую культуру инокулировали в свежую среду аналогичного состава и выращивали до логарифмической фазы роста $\text{ОП}_{600}=0,8-1,2$ (доза инокулята 0,01–0,1% об./об.).

Клетки макрофагов мыши линии RAW 264.7, полученные из коллекции ИБХ РАН (Москва, Россия) и хранившиеся при -70°C , культивировали в среде RPMI-1640 (“ПанЭко”, Россия) с добавлением 5% эмбриональной сыворотки бычьей крови (“Gibco”, США) при температуре 37°C в инкубаторе с 5% CO_2 во флаконах с площадью поверхности 25 см^2 с вентилируемой крышкой (“SPL”, Корея) до конфлюентности 70%.

Приготовление фильтрата культуры *M. tuberculosis*, содержащего единичные клетки. Культуру в логарифмической фазе роста объемом 100 мл осаждали центрифугированием (4000 об./мин, 10 мин, 4°C) и отмывали от среды раствором Версена (0,1 М фосфатно-буферный солевой раствор без Ca^{2+} и Mg^{2+} (“ПанЭко”, Россия) с 0,2 мМ натриевой соли ЭДТА (“Merck”, Германия)), содержащим 0,025 % об./об. Tween-80, в тех же условиях. Полученный осадок ресуспендировали в 5 мл раствора Версена с Tween-80 и пропускали через стерильный нитроцеллюлозный фильтр с размером пор 5 мкм (“Filtersolution”, Россия) для удаления агрегатов микобактерий. Полученный фильтрат использовали для инфекции макрофагов RAW 264.7, кратность инфицирования (Multiplicity Of Infection, MOI) составляла 0,33–3,0.

Подсчет числа клеток *M. tuberculosis*. Из суспензии клеток микобактерий готовили серию последовательных десятикратных разведений в свежей среде культивирования с 0,05% об./об. Твин-80, аликвоту каждого разведения (100 мкл) высевали на агаризованную (1,5% агара) синтетическую питательную среду 7H10 с добавлением 10% ростовой добавки ADS. Инокулированные чашки инкубировали при 37°C , число КОЕ подсчитывали через 18–20 сут после посева, рассчитывая среднее из 3 повторностей.

Инфекция линии макрофагов RAW 264.7. Среда культивирования макрофагов тщательно отбирали из флаконов и добавляли 1 мл 0,25% раствора трипсина, после чего инкубировали во флаконе при 37°C в течение 15 мин для открепления от поверхности. Далее во флакон добавляли 2 мл сре-

Туберкулез (ТБ) продолжает оставаться серьезной проблемой здравоохранения во всем мире: по данным Всемирной организации здравоохранения, число новых случаев ТБ в мире в 2024 году составило 10,7 миллиона, что соответствует 131 заболевшему на 100 000 населения. Сокращение заболеваемости ТБ в период с 2015 по 2024 год составило всего 12%, хотя в соответствии со «Стратегией по искоренению ТБ» (“End TB Strategy”) было запланировано добиться снижения этого показателя на 50% к 2025 году [5]. Широкое распространение лекарственно-устойчивых штаммов *M. tuberculosis*, несомненно, требует дальнейшей разработки новых антибактериальных препаратов с новыми механизмами действия [4,10]. Поскольку *M. tuberculosis* известен своей способностью к выживанию в клетках иммунной системы, тестирование бактерицидной активности новых соединений, проявивших активность *in vitro*, против микобактерий, локализованных внутриклеточно, имеет решающее значение для создания новых противотуберкулезных препаратов [2, 19].

Следует отметить, что существующие подходы к оценке антибактериальной внутриклеточной активности соединений требуют либо наличия специфических материалов и реагентов, не всегда доступных и/или достаточно дорогостоящих (например, использование радиоактивной метки [7, 8], систем с репортерными генами [6, 9] и т. д.), либо существенных затрат времени и усилий, сопровождающих высева бактерий из инфицированных макрофагов и последующий подсчет числа колониеобразующих единиц (КОЕ). Резазурин – окислительно-восстановительный индикатор, легко проникающий в клетки и широко используемый для количественной оценки их жизнеспособности. Этот нефлюоресцирующий синий краситель, известный также как аламаровый синий, в присутствии метаболически активных клеток необратимо восстанавливается в розовый флюоресцирующий резорфин [1, 13, 17]. Метод аналитического микротитрования с резазурином (Resazurin Microtiter Assay, ReMA) хорошо зарекомендовал себя при высокопроизводительном *in vitro* скрининге соединений с противотуберкулезной активностью [3, 12, 15, 18], поскольку он, очевидно, имеет ряд дополнительных преимуществ, включая быстроту, надежность, безопасность, высокую чувствительность и низкую стоимость.

Ранее было обнаружено, что оригинальные производные пирано[3,2-*b*]индолонов проявляли активность *in vitro* в отношении *M. tuberculosis* [14]. Соединение-лидер Pyr056 (10a) показало значение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) 0,3 мг/л и отсутствие токсичности для эукариотических клеток [11]. Цель работы – изучение активности Pyr056 в отношении *M. tuberculosis*, локализованных внутриклеточно, путем подсчета числа КОЕ и с применением резазурина.

ды RPMI-1640 с 5% сыворотки для инактивации трипсина и подсчитывали количество макрофагов в полученной суспензии в камере Горяева. После подсчета суспензию макрофагов разводили в среде RPMI-1640 с 5% сыворотки до концентрации 10^6 в мл, после чего добавляли фильтрованную суспензию *M. tuberculosis* для получения требуемых значений MOI и инкубировали в течение 3 часов при 37 °C и перемешивании 100 об/мин. Инфицированные макрофаги осаждали центрифугированием при $t=25$ °C (1100 об/мин, 5 мин) и дважды осторожно отмывали от непоглощенных бактерий теплым 0,1 М фосфатно-буферном солевым раствором без Ca^{2+} и Mg^{2+} в тех же условиях. Для удаления остаточных непоглощенных бактерий инфицированные макрофаги дополнительно инкубировали в среде RPMI-1640 с 5% сыворотки и 20 мкМ амикацином в течение часа при 37 °C и перемешивании 100 об/мин, после чего заменяли на свежую среду RPMI-1640 с 5% сыворотки без антибиотика.

Определение ингибирующего действия соединений на поглощенные макрофагами клетки *M. tuberculosis*. Аликвоты суспензии инфицированных *M. tuberculosis* макрофагов в среде RPMI-1640 с сывороткой (100 мкл) помещали в лунки 96-луночного планшета ("NEST", Китай), содержащие тестируемые соединения в диапазоне концентраций 0,01–8 мг/л, разведенные в 100 мкл среды RPMI-1640 с 5% сыворотки. Каждая лунка содержала примерно 50000–70000 инфицированных макрофагов. Планшеты инкубировали 4 сут при температуре 37 °C и с 5% CO_2 в статическом режиме, после чего отбирали среду из каждой лунки и лизировали макрофаги 100 мкл холодной стерильной бидистиллированной H_2O в течение 10 мин. Из части лунок производили высевы на плотную питательную среду с последующим подсчетом числа КОЕ *M. tuberculosis*, полученных из лизированных макрофагов. В другую часть лунок, также содержащих клетки *M. tuberculosis* после лизиса макрофагов, ресуспендированные в 100 мкл воды, вносили такой же объем двукратной среды Миддлбука 7Н9 с ADS. Поскольку полученные суспензии содержали не более 10^2 – 10^3 клеток *M. tuberculosis* в мл, что находится ниже предела достоверного обнаружения их резазурином, планшеты дополнительно инкубировали при 37 °C в статическом режиме, чтобы стимулировать деление и рост микобактерий. После 7-суточной инкубации свободных микобактерий в 200 мкл среды Миддлбука с ADS в каждую лунку добавляли раствор резазурина ("Alfa Aesar", США) до конечной концентрации 0,0025% и инкубировали еще 20–24 ч для восстановления его во флюоресцирующий резорурфин. Интенсивность флюоресценции регистрировали на планшетном спектрофлуориметре Fluostar Omega ("BMG-Labtech", Германия) при длине волны возбуждения $\lambda_{\text{ex}} = 544$ нм и испуска-

ния $\lambda_{\text{em}} = 590$ нм, флюоресценцию в лунках без добавления антибиотиков принимали за 100%.

Статистический анализ. Эксперименты проводили как минимум в трех биологических повторах. Статистический анализ выполнялся с использованием Microsoft® Office® Excel 2016 MSO (16.0.4639.1000). Данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение. Анализ данных проводился с использованием непарного t-критерия Стьюдента; $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Определение эффективности Руг056 в отношении *M. tuberculosis*, поглощенных макрофагами RAW264.7, путем подсчета числа КОЕ. Для оценки внутриклеточной активности соединения Руг056, которое проявляло активность в отношении *M. tuberculosis in vitro* [11], мы использовали подход, основанный на инфицировании макрофагов в объеме, описанный ранее [9]. Кратко, макрофаги, предварительно инфицированные *M. tuberculosis* в среде культивирования RPMI с сывороткой, переносили в лунки 96-луночного планшета, которые содержали двукратные серийные разведения соединения Руг056 в среде культивирования эукариотических клеток в диапазоне 0,01–8 мг/л.

После 4 сут инкубации макрофаги лизировали холодной стерильной бидистиллированной водой и проводили оценку числа содержащихся в макрофагах микобактерий путем посева серийных десятикратных разведений на плотную питательную среду с последующим подсчетом числа КОЕ. Было обнаружено, что Руг056 в концентрации 0,125 мг/л вызывал уменьшение числа клеток *M. tuberculosis*, пребывающих в макрофагах, на 50%, а в концентрации 0,5 мг/л – на 80% по сравнению с контрольным образцом без воздействия (рис. 1А). Изониазид, взятый в качестве положительного контроля, уничтожал 50% *M. tuberculosis*, локализованных внутриклеточно, в концентрации 0,031 мг/л и 80% – в концентрации 0,063 мг/л (рис. 1Б). Таким образом, Руг056 проявлял дозозависимую бактерицидную активность в отношении *M. tuberculosis*, пребывающих в макрофагах.

Оценка эффективности Руг056 в отношении *M. tuberculosis*, поглощенных макрофагами RAW264.7, при помощи титрования с резазурином. Параллельно была проведена оценка количества жизнеспособных клеток микобактерий в лизатах макрофагов RAW 264.7, идентично инфицированных *M. tuberculosis*, после их инкубации с Руг056 при помощи ReMA. В лунки планшета, содержавшие *M. tuberculosis* из лизированных макрофагов, после 7-суточной инкубации свободных микобактерий добавляли резазурин до конечной концентрации в среде 7Н9 с ADS 0,0025% и инкубировали еще 20–24 ч при 37 °C для восстановления индикатора до резорурфина.

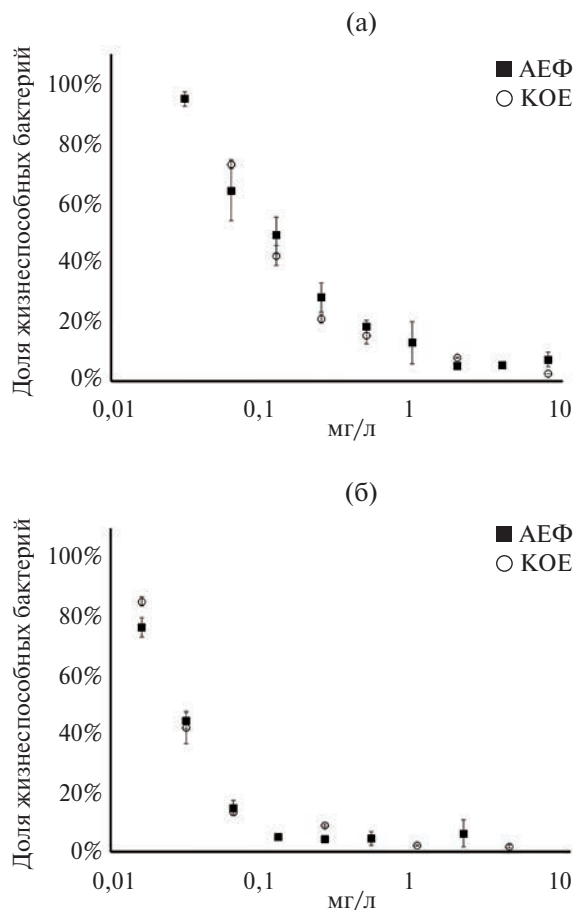


Рис. 1. Кривая изменения доли жизнеспособных клеток *M. tuberculosis* (%) в инфицированных макрофагах линии RAW264.7 при обработке различными концентрациями антибиотиков по сравнению с контрольным образцом без воздействия: (а) — Pyr056; (б) — изониазид. Оценку жизнеспособных микобактерий проводили после лизиса макрофагов путем подсчета КОЕ и измерения флуоресценции резорурфина, восстановленного клетками из резазурина (абсолютные единицы флуоресценции, АЕФ, при $\lambda_{ex} = 544$ нм и $\lambda_{em} = 590$ нм). Кратность инфицирования = 1

Fig. 1. The change in the proportion of viable *M. tuberculosis* cells (%) in infected RAW264.7 macrophages treated with different concentrations of antibiotics compared to the control sample without treatment: (a) — Pyr056; (b) — isoniazid. Viable mycobacteria were assessed after macrophage lysis by counting CFU and measuring the fluorescence of resorufin reduced by cells from resazurin (absolute fluorescence units, AFU, at $\lambda_{ex} = 544$ nm and $\lambda_{em} = 590$ nm). Multiplicity of infection = 1

Флуоресценцию измеряли в каждой лунке планшета при длине волны возбуждения $\lambda_{ex} = 544$ нм и испускания $\lambda_{em} = 590$ нм. Сравнение значений абсолютных единиц флуоресценции (АЕФ) и КОЕ контрольного образца без воздействия показало, что инкубация *M. tuberculosis*, локализованных внутриклеточно, с 0,125 мг/л Pyr056 приводила к

снижению числа жизнеспособных микобактериальных клеток на 50%, с 0,5 мг/л Pyr056 — на 80% (рис. 1А). Для изониазида, взятого в качестве положительного контроля, уменьшение числа клеток *M. tuberculosis*, локализованных внутриклеточно, на 50% наблюдалось при концентрации 0,031 мг/л, на 80% — при концентрации 0,063 мг/л, исходя из соответствующих значений АЕФ (рис. 1Б). Результаты, полученные при помощи ReMA, показали высокую степень положительной корреляции с результатами, полученными при прямом подсчете числа КОЕ *M. tuberculosis* в макрофагах (коэффициент корреляции $r=0,982$ (рис. 2). Более того, эти данные подтвердили результаты определения активности изониазида в отношении внутриклеточных *M. tuberculosis*, полученные ранее [9].

Хотя резазурин достаточно широко применяется в течение последних нескольких десятилетий для мониторинга антимикробной активности *in vitro* и цитотоксичности, а также для оценки жизнеспособности микробных биопленок и эффективности инактивации бактерий фагами [3, 13, 16, 17, 20], о его использовании для изучения внутриклеточной активности антимикробных соединений до сих пор ничего не сообщалось. Параллельная оценка числа КОЕ и флуоресценции *M. tuberculosis* в идентичных условиях инфицирования RAW 264.7 при обработке их изониазидом и Pyr056 (рис. 2), подтвердила целесообразность использования более безопасного и при этом менее дорогостоящего и трудоемкого метода ReMA в экспериментах по изучению внутриклеточной активности антимикробных агентов.

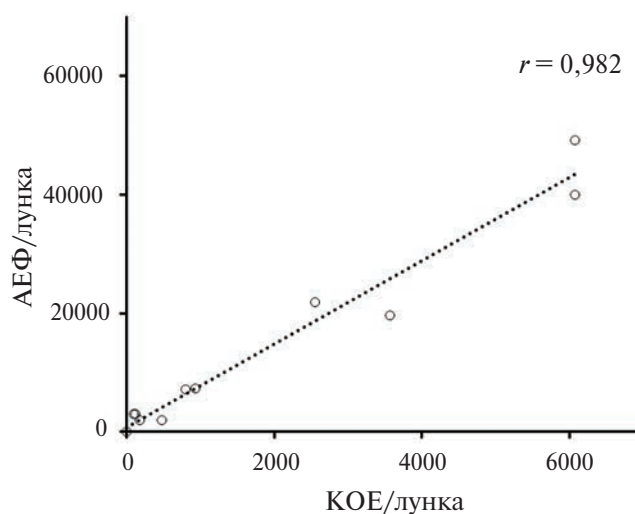


Рис. 2. Оценка корреляции числа КОЕ *M. tuberculosis* и значений флуоресценции резорурфина в идентичных условиях инфицирования макрофагов линии RAW 264.7

Fig. 2. The correlation between CFU numbers of *M. tuberculosis* and resorufin fluorescence in the identical conditions of RAW 264.7 infection

Применение метода ReMA для оценки внутриклеточной активности соединений при различной кратности инфицирования макрофагов клетками *M. tuberculosis*. Поскольку *M. tuberculosis* — патоген с высокой вирулентностью, в экспериментах по инфицированию клеточных линий и первичных макрофагов этой бактерией в большинстве случаев используется MOI, равная 1, то есть число клеток макрофагов равно числу клеток микобактерий [9], хотя в отдельных случаях MOI может варьировать [7]. В экспериментах, представленных на рис. 1, мы использовали MOI, равную 1, но на следующем этапе была поставлена задача изучить применимость метода ReMA для оценки внутриклеточной активности соединений при изменении соотношения числа бактериальных и эукариотических клеток. Для этого макрофаги RAW 264.7 были инфицированы клетками *M. tuberculosis* при MOI 0,33, 1 и 3 и подвергнуты действию Pyr056 и изониазида, после чего проанализированы полученные значения флуоресценции.

Было обнаружено, что 50%-ное ингибирование *M. tuberculosis*, локализованных внутриклеточно, соединением Pyr056 не зависело от величины MOI и достигалось в присутствии 0,5 мг/л. 80%-ное ингибирование слабо зависело от MOI и наблюдалось в присутствии 0,5 мг/л Pyr056 в случае MOI 0,33 и в присутствии 1 мг/л Pyr056 в случае MOI 3 (рис. 3). Ингибирование внутриклеточных *M. tuberculosis* изониазидом на 50% также почти не зависело от кратности инфицирования и достигалось в при-

сутствии 0,063 мг/л; а 80%-ное ингибирование — в присутствии 0,125–0,25 мг/л (рис. 3).

Таким образом, применение ReMA для оценки числа жизнеспособных клеток *M. tuberculosis*, пребывающих в макрофагах, позволяет получить воспроизводимые результаты внутриклеточной активности соединений при MOI в диапазоне как минимум от 0,33 до 3.

На примере патогенной бактерии *M. tuberculosis*, способной к длительному выживанию в клетках иммунной системы, нами было установлено, что применение метода ReMA, не требующего специфических материалов и реагентов, для оценки внутриклеточной активности оригинальных соединений-кандидатов в лекарственное средство дает надежные и воспроизводимые результаты. Полученные результаты по тестированию внутриклеточной активности с применением ReMA показали высокую степень положительной корреляции с результатами подсчета числа КОЕ, являющегося более трудоемким подходом, требующим значительных затрат времени. Титрование с резазурином *ex vivo* может быть применено при изучении эффективности соединений, направленных на борьбу с различными внутриклеточными патогенами, включая, например, *Mycoplasma pneumoniae* — возбудителя тяжелых респираторных инфекций, *Staphylococcus aureus* — одного из основных возбудителей внутрибольничных инфекций, относящегося к группе ESKAPE, и др.

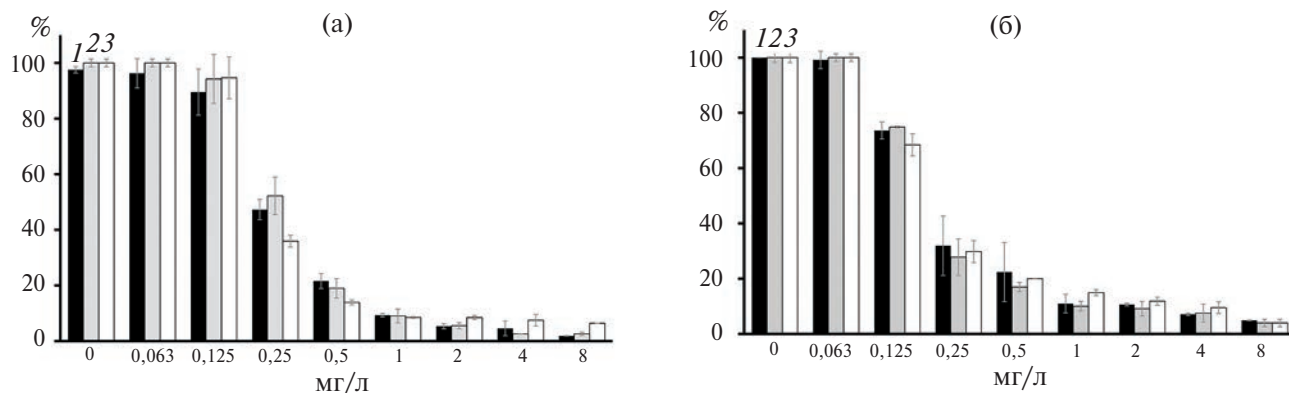


Рис. 3. Дозозависимое ингибирование *M. tuberculosis* в инфицированных макрофагах RAW264.7 после обработки антибиотиками при различной кратности инфицирования (MOI): 1 — MOI = 0,33, 2 — MOI = 1, 3 — MOI = 3. (a) — Pyr056; (б) — изониазид

Fig. 3. Dose-dependent inhibition of *M. tuberculosis* in the infected RAW264.7 macrophages after antibiotic treatment at different multiplicities of infection (MOI): 1 — MOI = 0,33, 2 — MOI = 1, 3 — MOI = 3. (a) — Pyr056; (b) — isoniazid

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES

1. Braissant O., Astasov-Frauenhoffer M., Waltimo T., Bonkat G. A Review of Methods to Determine Viability, Vitality, and Metabolic Rates in Microbiology. *Front. Microbiol.* 2020. vol. 11, P. 547458. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2020.547458>

2. Cole S.T. Inhibiting *Mycobacterium tuberculosis* within and without. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2016. vol. 371, no. 1707, P. 20150506. <http://doi.org/10.1098/rstb.2015.0506>
3. Costa P., Gomes A.T.P.C., Braz M., Pereira C., Almeida A. Application of the Resazurin Cell Viability Assay to Monitor *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium* Inactivation Mediated by Phages. *Antibiotics (Basel)*. 2021. vol. 10, no. 8, P. 974. <http://doi.org/10.3390/antibiotics10080974>
4. Cross G.B. New drugs for the management of tuberculosis. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2025. vol. 38, no. 6, P. 512–521. <http://doi.org/10.1097/QCO.0000000000001156>
5. Global tuberculosis report 2025. WHO. URL: <https://www.who.int/> (06.03.2026).
6. Habjan E., Lepioshkin A., Charitou V. et al. Modulating mycobacterial envelope integrity for antibiotic synergy with benzothiazoles. *Life Sci. Alliance*. 2024. vol. 7, no. 7, P. 202302509. <http://doi.org/10.26508/lisa.202302509>
7. Majorov K.B., Lyadova I.V., Kondratieva T.K. et al. Different innate ability of I/St and A/Sn mice to combat virulent *Mycobacterium tuberculosis*: phenotypes expressed in lung and extrapulmonary macrophages. *Infect. Immun.* 2003. Vol. 7, no. 2, P. 697–707. <http://doi.org/10.1128/IAI.71.2.697-707.2003>
8. Majorov K.B., Nikonenko B.V., Ivanov P.Y. et al. Structural Modifications of 3-Triazeneindoles and Their Increased Activity Against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antibiotics (Basel)*. 2020, vol. 9, no. 6, P. 356. <http://doi.org/10.3390/antibiotics9060356>
9. Makarov V., Manina G., Mikusova K. et al. Benzothiazinones kill *Mycobacterium tuberculosis* by blocking arabinan synthesis. *Science*. 2009. vol. 324, no. 5928, P. 801–804. <http://doi.org/10.1126/science.1171583>
10. Makarov V., Salina E., Reynolds R.C., Kyaw Zin P.P., Ekins S. Molecule Property Analyses of Active Compounds for *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Med. Chem.* 2020, vol. 63, no. 17. P. 8917–8955. <http://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b02075>
11. Monakhova N., Korduláková J., Vocat A. et al. Design and Synthesis of Pyrano[3,2-b]indolones Showing Antimycobacterial Activity. *ACS Infect. Dis.* 2021, vol. 7, no. 1, P. 88–100. <http://doi.org/10.1021/acsinfectdis.0c00622>
12. Mori G., Chiarelli L.R., Esposito M. et al. Thiophenecarboxamide Derivatives Activated by EthA Kill *Mycobacterium tuberculosis* by Inhibiting the CTP Synthetase PyrG. *Chem. Biol.* 2015, vol. 22, no. 7, P. 917–927. <http://doi.org/10.1016/j.chembiol.2015.05.016>
13. Palomino J.C., Martin A., Camacho M. et al. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002, vol. 46, no. 8, P. 2720–2722. <http://doi.org/10.1128/AAC.46.8.2720-2722.2002>
14. Patent Russian Federation. 2018. RU2675240C1.
15. Pérez-Herrán E., Mendoza A. Antimicrobial Susceptibility Testing for *Mycobacterium* sps in High-Throughput Format. *Methods Mol. Biol.* 2021, vol. 2314, P. 637–648. http://doi.org/10.1007/978-1-0716-1460-0_28
16. Rampersad S.N. Multiple Applications of Alamar Blue as an Indicator of Metabolic Function and Cellular Health in Cell Viability Bioassays. *Sensors (Basel)*. 2012, vol. 12, no. 9, P.12347–12360. <http://doi.org/10.3390/s120912347>
17. Toté K., Vanden Berghe D., Levecque S. et al. Evaluation of hydrogen peroxide-based disinfectants in a new resazurin microplate method for rapid efficacy testing of biocides. *J. Appl. Microbiol.* 2009, vol. 107, no. 2, P. 606–615. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04228.x>
18. van Wijk R.C., Lucía A., Sudhakar P.K. et al. Implementing best practices on data generation and reporting of *Mycobacterium tuberculosis* *in vitro* assays within the ERA4TB consortium. *iScience*. 2023, vol. 26, no. 4. <http://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106411>
19. Vande Voorde R., Dzalamidze E., Nelson D., Danelishvili L. Identification of Small Molecule Inhibitors against *Mycobacteria* in Activated Macrophages. *Molecules*. 2022, vol. 27, no. 18, P. 5824. <http://doi.org/10.3390/molecules27185824>
20. Zhang G., Zhao Y., Paramasivan S. et al. Bacteriophage effectively kills multidrug resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates from chronic rhinosinusitis patients. *Int. Forum Allergy Rhinol.* 2018, vol. 8, no. 3, P. 406–414. <http://doi.org/10.1002/alr.22046>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Дементьева Ксения Алексеевна — Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, Российская Федерация
E-mail: tukzar674@mail.ru

Мартини Билли Александровна — канд. биол. наук, Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, Российская Федерация
E-mail: albina.ostrik@gmail.com

Майоров Константин Борисович — канд. биол. наук, Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза Российской академии наук, Москва, Российская Федерация
E-mail: majorov@list.ru

Салина Елена Геннадьевна — доктор биол. наук, Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, Российская Федерация
E-mail: elenasalina@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9616-6598>

Поступила в редакцию 07.03.2026

После доработки 28.03.2026

Принята к публикации 02.04.2026

ABOUT THE AUTHORS

Dementieva, Ksenia A. — Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
E-mail: tukzar674@mail.ru

Martini, Billy A. — Cand. Sc. (Biology), Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
E-mail: albina.ostrik@gmail.com

Majorov, Konstantin B. — Cand. Sc. (Biology), Central Research Institute for Tuberculosis of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
E-mail: majorov@list.ru

Salina, Elena G. — Ph.D. (Biology), Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
E-mail: elenasalina@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9616-6598>

Received March 07, 2026

Revised March 28, 2026

Accepted April 02, 2026