

*На правах рукописи*

Хисамова Анна Александровна

**ВЛИЯНИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ  
КУРКУМИНА И МЕТИОНИНА НА КАЧЕСТВЕННЫЙ И  
КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА,  
ФАКТОРЫ КОЛОНИЗАЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ**

1.5.11. Микробиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Москва – 2024

Работа выполнена в Федеральном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на кафедре микробиологии имени В. С. Киктенко Медицинского института

**Научный руководитель:**

Профессор кафедры микробиологии  
им. В. С. Киктенко Медицинского института ФГАОУ ВО  
РУДН им. Патриса Лумумбы, доктор биологических наук,  
профессор

Гизингер  
Оксана  
Анатольевна

**Официальные оппоненты:**

Заведующий Отделом санитарно-гигиенической безопасности  
человека в искусственной среде ГНЦ РФ ИМБП РАН, доктор  
медицинских наук, профессор

Ильин  
Вячеслав  
Константинович

Руководитель, главный научный сотрудник лаборатории  
прикладной микробиологии, Уфимский Институт биологии –  
Обособленное структурное подразделение, ФГБУ Уфимский  
федеральный исследовательский центр РАН, доктор  
биологических наук, профессор

Мелентьев  
Александр  
Иванович

Профессор кафедры микробиологии, заведующая лабораторией  
микробиома, регенеративной медицины и клеточных технологий  
Университетского НИИ биомедицины и медицинской  
биотехнологии ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России,  
доктор биологических наук

Николенко  
Марина  
Викторовна

Защита состоится 26 февраля 2025г в 14.00 на заседании  
диссертационного совета ПДС 0300.010 в ФГАОУ ВО  
«Российский университет дружбы народов имени Патриса  
Лумумбы» Министерства образования Российской Федерации  
по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.  
8.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке  
ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени  
Патриса Лумумбы» (117198, г.Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6)

Объявление о защите и автореферат диссертации размещены на  
сайтах

<https://www.rudn.ru/science/dissovet>

<http://vak.minobrnauki.gov.ru>

Автореферат разослан « » января 2025г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета ПДС 0300.010 кандидат медицинских  
наук, доцент Подопригора Ирина Викторовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Влияние неблагоприятных экологических факторов, нерациональное питание и использование антибактериальных препаратов приводят к нарушению качественного и количественного состава, росту резистентности микроорганизмов, дисбиотическим состояниям макроорганизма [1,2,3,4,5]. На этом фоне происходит дисбаланс клеточных факторов антимикробной защиты, который усугубляет патогенетические изменения и формирует оксидативный стресс с нарушением баланса про- и антиоксидантных факторов, дезорганизуя потенциал резидентной флоры ЖКТ [6,7,8,9,10]. Вышеперечисленные причины приводят к дисфункции механизмов колонизационной резистентности организма [11,12,13] и ставят вызов перед исследователями в поиске новых препаратов, содержащих компоненты лекарственных растений, и изучении их эффектов. Частота применения растительных компонентов в качестве терапевтических или профилактических средств, влияющих на состояние антимикробных механизмов, с каждым годом увеличивается [12,14]. Внимание исследователей привлекает полифенол куркумин, который содержится в корневищах растения куркума длинная (*Curcuma longa*). Получение новых данных о влиянии куркумина на количество грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов толстого кишечника, факторы колонизационной резистентности крайне важны для разработки новых лекарственных средств и биологически активных нутриентных комплексов на его основе [15,16,17,18].

В настоящее время представлены разрозненные данные о влиянии куркумина на численность микроорганизмов толстого кишечника и состояние факторов колонизационной резистентности, включающие процессы окислительного повреждения липидов, активность ферментов антиоксидантной защиты [19,20,21]. Исследование Gan Z. и соавт. показало, что пероральное введение куркумина лабораторным животным изменяет соотношение между комменсальными бактериями в пользу грамположительных *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. [22]. Однако данные о том, как нутрицевтические композиции с куркумином влияют на грамположительную и грамотрицательную микрофлору толстого кишечника, не дают однозначного ответа на вопросы о возможных его пребиотических и иммуномодулирующих эффектах [23,12,24,25,26].

Серьёзным препятствием для применения куркумина и реализации его биологической активности является низкий уровень растворимости в ЖКТ и слабая биодоступность [27]. Ряд исследователей полагают, что включение метионина в состав композиций с куркумином позволит увеличить его биодоступность, предотвратить метаболическую деградацию, усилить иммуностропные эффекты последнего [28,29]. Практическое использование композиций на основе куркумина и метионина требует проведения дополнительных микробиологических, молекулярно-генетических,

иммунологических исследований и уточнения патогенетического механизма влияния куркумина на факторы колонизационной резистентности ЖКТ.

### **Цель исследования**

Изучить воздействие разработанной фармацевтической композиции на основе куркумина и метионина на качественный и количественный состав грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов толстого кишечника, факторы колонизационной резистентности.

### **Задачи исследования**

1. Провести фармакотехнологические, биофармацевтические, фармацевтические исследования состава, изучить степень высвобождения действующих веществ, исследовать технологию получения фармацевтической композиции, содержащей куркумин и метионин.

2. С помощью метода MALDI-TOF в условиях *in vivo* изучить влияние куркумина, метионина, их композиции на качественный и количественный состав грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов толстого кишечника экспериментальных животных.

3. С помощью молекулярно-генетических методов ПЦР-РВ, секвенирования 16S рРНК в условиях *in vivo* изучить влияние куркумина, метионина, их композиции на качественный и количественный состав грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов толстого кишечника экспериментальных животных, их микробиом и метагеном.

4. Изучить *in vitro* влияние куркумина, метионина, композиции на их основе на функционально-метаболический статус клеток врожденного иммунитета, индукцию цитокинов, активность факторов про- и антиоксидантной защиты.

5. На основе полученных результатов сформулировать патогенетический механизм влияния композиции на основе куркумина и метионина на факторы колонизационной резистентности и микробный потенциал микроорганизмов толстого кишечника.

### **Научная новизна**

На основе анализа фармакотехнологических, биофармацевтических, фармацевтических исследований исследован состав и технология получения фармацевтической композиции с куркумином и метионином, проанализирована степень высвобождения действующих веществ фармацевтической композиции, установлена максимальная фармацевтическая эффективность состава предложенной композиции, включающего куркумин и метионин (Патент РФ 2684111).

Впервые показано, что комбинация из куркумина и метионина приводит к достоверному увеличению численности грамположительных микроорганизмов состава ЖКТ *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, бутират-продуцирующих бактерий: *Thomasclavelia ramosa*, *Eubacterium spp.*, *Clostridia\_UCG-014*, при этом, снижает представительство *Enterobacteria spp.*, *Allobaculum spp.* по сравнению с индивидуальным воздействием куркумина и метионина.

Впервые показано, что комбинация из куркумина и метионина приводит к достоверному увеличению численности грамотрицательных микроорганизмов состава ЖКТ *Muribaculaceae* spp., *Parabacteroides* spp., *Odoribacter* spp., бутират- продуцирующих бактерий: *Prevotellaceae* spp., снижая представительство *Desulfovibrio* spp., *Alistipes* spp. по сравнению с индивидуальным воздействием куркумина и метионина.

Впервые установлено влияние куркумина, метионина и их комбинации на активность и интенсивность фагоцитоза, кислородзависимый метаболизм нейтрофильных гранулоцитов. Так, в композиции с куркумином и метионином отмечено увеличение активности фагоцитоза на 44,5% и интенсивности на 44,8%, против 9,7% и 11 % для куркумина индивидуально.

Комбинация куркумина и метионина по сравнению только с куркумином и метионином достоверно снижает индукцию фагоцитами цитокинов *in vitro*, достоверно снижает уровень малонового диальдегида, увеличивает активность фермента антиоксидантной защиты.

Впервые проведена оценка влияния разработанной фармацевтической композиции с куркумином и метионином на факторы колонизационной резистентности организма лабораторных животных и сформулирован патогенетический механизм влияния композиции с куркумином и метионином для коррекции факторов колонизационной резистентности и микробного потенциала микроорганизмов кишечника.

### **Теоретическая и практическая значимость исследования**

Включение в исследование комплекса объективных фармакотехнологических, биофармацевтических, фармацевтических методов расширило существующие данные в части анализа разработанной композиции с куркумином и метионином и обосновало ее применение для коррекции качественного и количественного состава грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов толстого кишечника и восстановления факторов колонизационной резистентности ЖКТ.

Обоснована целесообразность применения композиции на основе куркумина и метионина для восстановления грамположительных и грамотрицательных резидентных микроорганизмов кишечника, факторов колонизационной резистентности: восстановления функционально-метаболического статуса фагоцитов и индукции ими цитокинов с нормализацией механизмов прооксидантной и антиоксидантной защиты.

### **Методология исследования**

Исследование спланировано в соответствии с требованиями и нормативными актами Российской Федерации и GLP (good laboratory practice). Проведение научной работы одобрено этическим комитетом ФГАУ ВО МИ «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (выписка из протокола № 28 от 16 мая 2024 г.). Анализ полученных значений проведен в

соответствии с целями и задачами на базе кафедры микробиологии им. В.С. Киктенко (зав каф. И.В. Подопригора).

Предмет исследования – оценка влияния разрабатываемой фармацевтической композиции на основе куркумина и метионина на качественный и количественный состав грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов толстого кишечника, факторы колонизационной резистентности.

Объект исследования - экспериментальные исследования выполнены с использованием периферической крови здоровых доноров-добровольцев на основании информированного согласия на участие в исследовании в соответствии с основами законодательства РФ «Об охране здоровья граждан, правил проведения клинической практики в РФ» в соответствии с приказами МЗ РФ: № 266 от 19.07.03; приказ Росздравнадзора № 2325-Пр/06 от 17.10.06. Исследования *in vivo* выполнялись на 48 белых нелинейных мышцах массой  $20,0 \pm 2$  грамма согласно Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS №123 от 18.03.1986 г., Страсбург), Рекомендациями Европейской Комиссии 2007/526/ЕС от 18.06.2007 г., Директивой 2010/62/UE европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях (от 22.09.2010 г.).

Методология исследования базировалась на комплексном подходе и последовательном проведении этапов *in vitro* и *in vivo*. Для решения поставленной цели и задач исследования использовались фармацевтические, микробиологические, иммунологические, биохимические, молекулярно-генетические, статистические методы и экспериментальное моделирование процессов *in vitro* и *in vivo*.

С помощью метода проточной цитофлуориметрии *in vitro* в цельной гепаринизированной венозной крови было определено влияние куркумина и метионина на фагоцитарную активность и внутриклеточный кислородзависимый метаболизм нейтрофильных гранулоцитов.

Забор биологического материала у животных для проведения исследований *in vivo* осуществляли на 14 сутки после завершения эксперимента с гуманной эвтаназией с помощью цервикальной дислокации. Исследование микробиоты желудочно-кишечного тракта лабораторных животных проводилось с помощью культурального метода, MALDI-TOF, ПЦР-РВ, секвенирования 16S рРНК на базе лаборатории клеточных технологий кафедры микробиологии им. В. С. Киктенко Медицинского института РУДН им Патриса Лумумбы, ООО «Лаборатория Гемотест» (Россия), ООО «Кномикс Биота» (Россия).

Примененный в работе комплексный методологический подход с использованием методов анализа статистических расчетов, позволил оценить фармацевтическую композицию, содержащую куркумин и метионин и изучить ее пребиотическую, иммунологическую, антиоксидантную

эффективность условиях *in vitro* и *in vivo* начиная с химико-фармацевтических методов и завершая молекулярно-генетическим уровнем и представить алгоритм патогенетического влияния на факторы колонизационной резистентности при действии куркумина и метионина.

Научная работа на соискание ученой степени кандидата биологических наук по теме: «Влияние фармацевтической композиции на основе куркумина и метионина на качественный и количественный состав микробиоты кишечника, факторы колонизационной резистентности» одобрена этической экспертизой Комитета по Этике Медицинского института РУДН от 16 мая 2024 года, протокол №28.

#### **Личный вклад автора**

Планирование работы проведено совместно с научным руководителем. Самостоятельно выполненные этапы диссертационного исследования: организация, систематизация, сбор первичных данных, анализ и статистическая обработка, написание рукописи диссертационной работы. Личный вклад автора составляет 90% при сборе первичной информации, 95% при анализе результатов исследования и формулирования заключения, выводов, 75% при оформлении и написании научных публикаций по теме диссертации.

#### **Внедрение результатов исследования**

Данные, полученные в ходе исследования, нашли отражение при подготовке учебного пособия «Основы иммунопрофилактики, иммунотерапии, диагностики: учебное пособие» для студентов медицинских вузов, обучающихся по специальностям: 31.05.01 «Лечебное дело», 31.05.03 «Стоматология», 33.05.01 «Фармация», утвержденного РИС Ученого совета Российского университета дружбы народов (О. А. Гизингер, А. А. Хисамова и др., 2023), а также в учебном процессе кафедры микробиологии им. В. С. Киктенко Медицинского института РУДН им. Патриса Лумумбы при изучении дисциплин «Микробиология» и «Микробиология полости рта».

#### **Апробация результатов исследования**

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: V Международной научно-практической конференции «Вопросы науки и практики – 2020» (Москва, 2020); III Международной научно-практической конференции «Гармонизация подходов к фармацевтической разработке» (Москва, 2020); VII Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Современные достижения молодых ученых в медицине – 2020» (Гродно, Республика Беларусь, 2020); XVI Всероссийской конференции с международным участием «Иммунологические чтения в г. Челябинске» (Челябинск, 2021); Всероссийском терапевтическом конгрессе с международным участием «Боткинские чтения» (Санкт-Петербург, 2021); XV Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы»

(Москва, Россия, 2023). Диссертация прошла апробацию на заседании кафедры микробиологии им. В. С. Киктенко Медицинского института РУДН им Патриса Лумумбы ( протокол №5 от «30» марта 2024 г.).

### **Публикации**

По результатам диссертационного исследования опубликовано 10 работ, в том числе: 1 статья, включенная в Перечень рецензируемых научных изданий Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы (Перечень ВАК при Минобрнауки РФ); 3 статьи – в изданиях международных баз цитирования Web of Science и Scopus; 1 патент на изобретение; 4 публикации – в сборниках материалов международных и всероссийских научно-практических конференций.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационное исследование соответствует п. 2 «Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов», п. 6 «Экология микробных сообществ, сапрофитных, патогенных, условно-патогенных микроорганизмов в окружающей среде. Абиотические и биотические факторы».

### **Положения, выносимые на защиту**

1. На основании фармакотехнологических, биофармацевтических, фармацевтических методов, обоснован состав разработанной фармацевтической композиции с куркумином и метионином, технология ее получения, показана максимальная степень высвобождения действующих веществ, которая в условиях *in vivo* оказывает преимущественное стимулирующее влияние на качественный и количественный состав грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов толстого кишечника, факторов липопероксидации, повышая активность ферментов антиоксидантной защиты лабораторных животных перед монокомпонентным составом из куркумина и метионина.

2. Комплекс куркумина и метионина оказывает значимую модулирующую активность на функционально-метаболический статус нейтрофильных гранулоцитов; индукцию ключевых регуляторных цитокинов: IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-4, IFN- $\alpha$ ; факторы перекисного окисления липидов и ферменты антиоксидантной системы в условиях *in vitro*.

3. На основании результатов молекулярно-генетического, иммунологического, биохимического исследований сформулирован патогенетический механизм влияния фармацевтической композиции с куркумином и метионином на факторы колонизационной резистентности и микробный потенциал микроорганизмов кишечника.

### **Структура и объем работы**

Диссертация изложена на 154 страницах машинописного текста, иллюстрирована 2 таблицами, 48 рисунками, 3 схемами. Работа содержит введение, обзор литературы, главы «Материалы и методы исследования», «Результаты исследований», заключение, выводы и



практические рекомендации. Список литературы состоит из 215 наименований, представленных 43 отечественными и 172 зарубежным источниками.

### Содержание работы

Работа выполнена на базе ФГАОУ ВО МИ «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», ООО Лаборатория «Гемотест» (Москва, Россия), ООО «Кномикс» (Москва, Россия). Дизайн диссертационного исследования (схема 1) спланирован в соответствии с целью и задачами. Исследование одобрено этическим комитетом ФГАУ ВО МИ «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (выписка из протокола №28 от 16 мая 2024 г.).

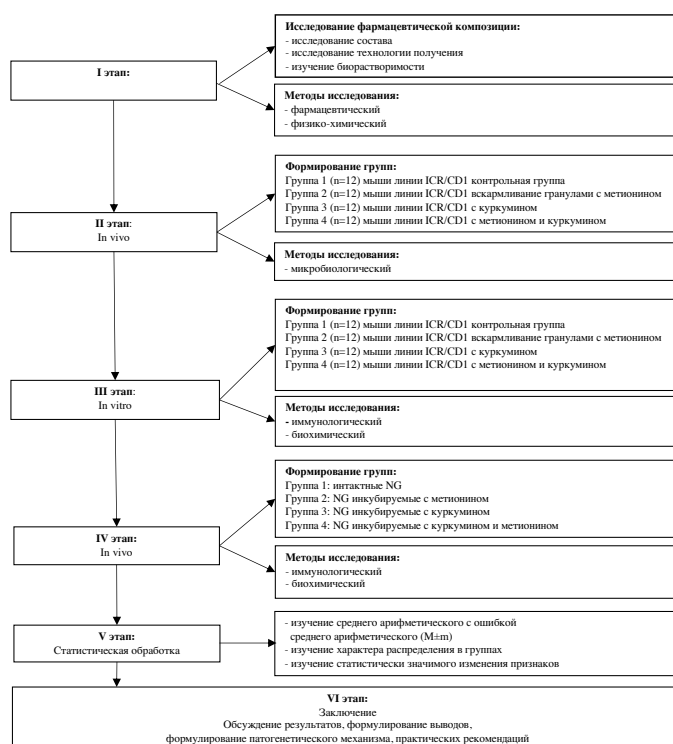


Схема 1. Дизайн исследования

### Методы исследования

На I этапе на базе ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (Челябинск, Россия) исследован состав, технология получения разработанной фармацевтической композиции, состоящей из гранул с куркумином (Supelco, США, CAS-номер: 458-37-7, REACH № отсутствует) и метионином (Sigma, США, CAS-номер 63-68-3, REACH № 01-2120735068-54-XXXX). Для оценки качества композиции проведены фармацевтические методы исследования: ситовой анализ, потеря массы при высушивании, распадаемость, растворение и биофармацевтические исследования: тест «Растворение» в биорелевантных средах в соответствии с ОФС «Гранулы» Государственной Фармакопеи XV издания.

II этап проводился с использованием 48 белых нелинейных половозрелых самок мышей массой  $35,0 \pm 6,0$  г. Содержание и уход животных осуществлялись на основании Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных

целях (Страсбург, 1986). Животные были разделены на четыре группы: группа 1 (n=12) – интактные животные; группа 2 (n=12) – получали гранулы с метионином – 0,1 мг; группа 3 (n=12) – гранулы с куркумином – 0,7 мг; группа 4 (n=12) – гранулы с метионином – 0,1 мг и куркумином – 0,7 мг через желудочный зонд 1 раз в сутки 14 суток. Интактные животные получали стандартизированный корм для грызунов и воду (ГОСТ Р 55453-2013). Материал для исследования: кал животных. Для культивирования микроорганизмов из фекалий лабораторных животных и идентификации методом MALDI-TOF использовали среды Эндо (Himedia; Индия), Сабуро (Oxoid; Великобритания), MRS (Himedia; Индия), питательный агар с кровью (Helicon, Россия), стафилококковый агар (Himedia; Индия). Идентификация микроорганизмов была проведена на базе микробиологической лаборатории ООО «Гемотест» (Москва, Россия). Выделение ДНК и идентификацию микроорганизмов ПЦР-РВ, выделение ампликонов и секвенирование 16S рРНК участков V3-V4 из образцов кала проводили на базе ООО «Кномикс» (Москва, Россия).

На III этапе изучено *in vitro* влияние раствора куркумина (50 мкл), водного раствора метионина (3 мкл), и смеси раствора куркумина и метионина (50:3 мкл) на функционально-метаболический статус нейтрофильных гранулоцитов периферической крови: фагоцитарную активность и кислородзависимый метаболизм в НСТ-тесте с культурой *S. aureus* (штамм ATCC 25923) методом проточной цитометрии (Cytomics FC500, Beckam Coulter, США), индукцию цитокинов фагоцитами в супернатантах методом ИФА (Stat Fax 2100, США, тест-системы АО «Вектор», Россия). Методом спектрофотометрии исследовано содержание MDA (M. Uchiyama, M. Mihara, 1978) и активность САТ в реакции с аммония молибдатом (Корольок М.А., 1988) (Jenway-67 Series, Великобритания). Количество проанализированных проб=200.

IV этап проводился с использованием 48 белых нелинейных половозрелых самок мышей массой  $35,0 \pm 6,0$  г ранее сформированных групп. Материал для исследования: кровь из хвостовой вены на 14 сутки эксперимента (консервант гепарин натрия Guangzhou Improve Medical Instruments Co., Ltd, Китай). Для анализа факторов колонизационной резистентности проведено исследование концентрации цитокинов в их сыворотке крови методом ИФА (Stat Fax 2100, США, тест-системы АО «Вектор», Новосибирск, Россия: «альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-1бета-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-4-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-8-ИФА-БЕСТ», «альфа-ИНТЕРФЕРОН-ИФА-БЕСТ», «гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ», Россия). Содержание MDA, как фактора ROS исследовали методом спектрофотометрии (M. Uchiyama, M. Mihara, 1978), активность ферментов антиоксидантной системы - SOD в тесте восстановления синего нитротетразолия (Сирота Т.В., 1999), GPx по скорости окисления восстановленного глутатиона в присутствии гидроперекиси трет-бутила (Моин М.В., 1986); САТ в эритроцитах периферической крови лабораторных животных в тестах утилизации пероксида водорода (Корольок М.А., 1988).

## Статистические методы исследования

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием Stattech 3.1.6 (Россия) и SPSS Statistics 17.0 (США). Оценка различий между сравниваемыми группами проводилась с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни,  $p < 0,01$ . Оценка на нормальное распределение количественных показателей оценивалась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Сравнение трех и более групп по количественному показателю, с распределением, отличавшимся от нормального, оценивалось с использованием критерия Краскела-Уоллиса. Анализ необработанных данных секвенирования 16S рРНК проводился с помощью программного обеспечения Deblur (США), обработка проводилась с помощью QШМЕ (США). Для оценки разнообразия и достоверности полученных данных все просчитывалось с помощью индексов Shannon и Chao-1.

## Результаты собственных исследований и обсуждение

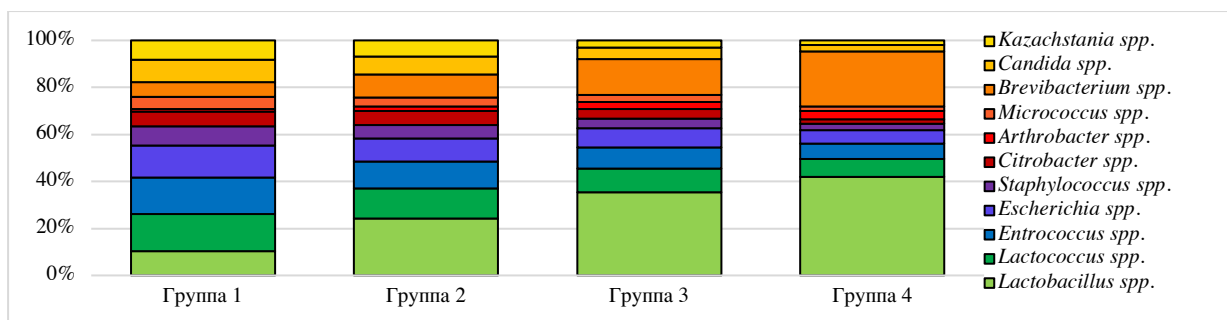
Анализ фракционного состава, насыпной плотности, сыпучести, распадаемости, прочности на истирание, растворение и высвобождение куркумина (Supelco, США), метионина (Sigma, США), куркумина и метионина из гранул показал полное соответствие требованиям Государственной Фармакопеи XV издания ОФС «Грануль». На основании полученных экспериментальных данных теста «Растворение» в биорелевантных средах установлено, что через 45 минут в среде FaSSIF высвобождение куркумина из гранул составляет 67%, метионина 96%, куркумина из композиции 93%, что свидетельствует о влиянии метионина на увеличение растворимости куркумина.

На II этапе проведен анализ влияния куркумина, метионина и гранул с куркумином и метионином на качественный и количественный состав грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов толстого кишечника.

Методом MALDI-TOF установлены различия родовой принадлежности в исследуемых группах (рис.1). В гр. 2 увеличилось содержание *Lactobacillus spp.* на 15% ( $p < 0,05$ ), *Brevibacterium spp.* на 15% ( $p < 0,05$ ). Снизилось *Lactococcus spp.* на 40% ( $p < 0,05$ ), *Enterococcus spp.* на 10% ( $p < 0,05$ ), *Escherichia spp.* на 17% ( $p < 0,05$ ), *Staphylococcus spp.* на 3% ( $p < 0,05$ ) относительно гр. 1.

В гр. 3 зарегистрировано увеличение *Lactobacillus spp.* на 20% ( $p < 0,05$ ), *Brevibacterium spp.* на 20% ( $p < 0,05$ ), *Arthrobacter spp.* на 50% ( $p < 0,05$ ). Снижение *Lactococcus spp.* на 60% ( $p < 0,05$ ), *Enterococcus spp.* на 45% ( $p < 0,05$ ), грибов рода *Candida spp.* и *Kazachstania spp.* на 70% ( $p < 0,05$ ) относительно гр. 1.

В гр. 4 установлено увеличение *Lactobacillus spp.* на 30% ( $p < 0,05$ ), *Arthrobacter spp.* на 2 раза ( $p < 0,05$ ), *Brevibacterium spp.* на 25% ( $p < 0,05$ ). Зарегистрировано снижение *Lactococcus spp.* на 80% ( $p < 0,05$ ), *Enterococcus spp.* на 67% ( $p < 0,01$ ), *Escherichia spp.* на 45% ( $p < 0,05$ ), *Staphylococcus spp.* на 7% ( $p < 0,05$ ), грибов рода *Candida spp.* и *Kazachstania spp.* на 90% ( $p < 0,01$ ) относительно гр. 1.



Примечание: \* – статистически значимые различия в показателях между группами 2,3,4 с группой 1, \*\* – статистически значимые различия в показателях между группой 2 с 1,3 и 4 группами, \*\*\*- статистически значимые различия в показателях между группой 3 с 1,2 и 4 группами \*\*\*\*- статистически значимые различия в показателях между группой 4 с 1,2,3 группами.

Рисунок 1 - Качественный состав микроорганизмов на уровне рода, идентифицированных методом MALDI-TOF MS, %

Оценка таксономического состава микробиоты кишечника исследуемых групп лабораторных животных, полученного методом секвенирования 16S рНК, осуществлялась при помощи интерактивной тепловой карты, которая представляет собой относительное обилие основных бактериальных таксонов в исследуемых образцах (рис. 3).

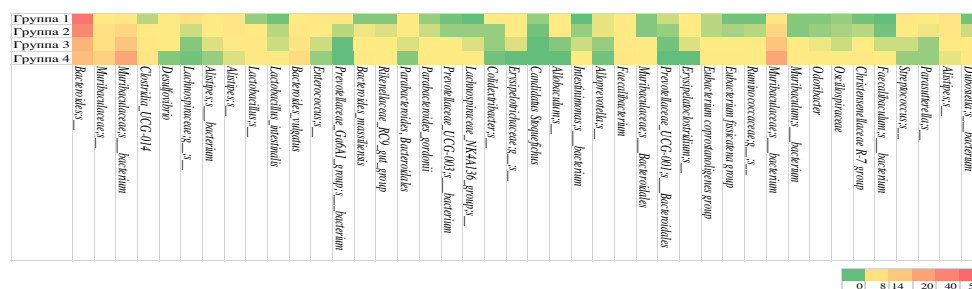
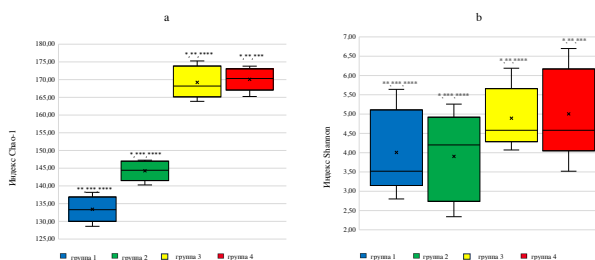


Рисунок 3 – Тепловая карта наиболее распространённых таксонов микроорганизмов на уровне вида в зависимости от исследуемой группы лабораторных животных

Для анализа влияния фармацевтической композиции с метионином и куркумином сравнивали показатели изобилия (индекс Chao1, рис. 4а) и разнообразия (индекс Shannon, рис.4б) гр. 1,2,3,4.



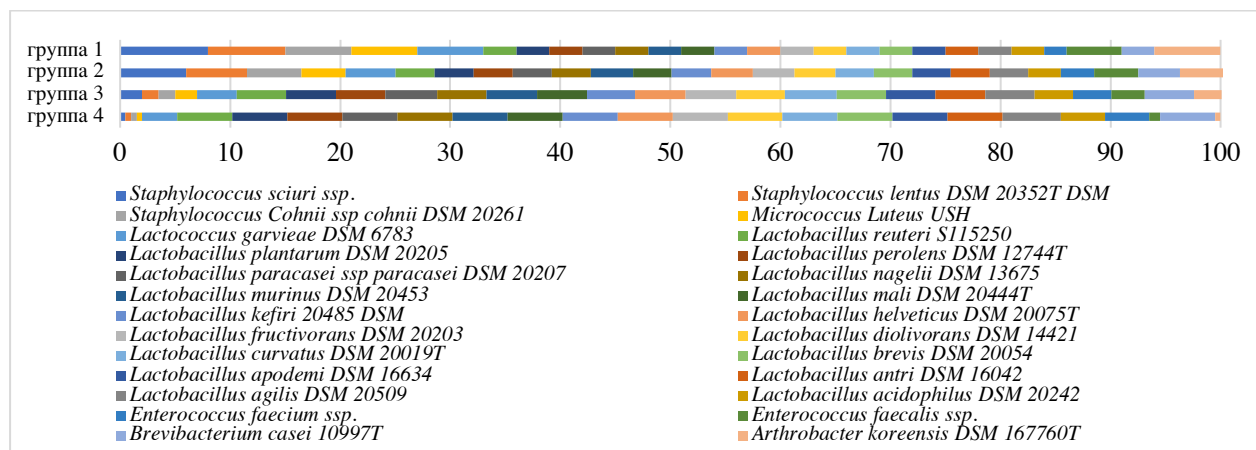
Примечание: \* – статистически значимые различия в показателях между гр. 2,3,4 с гр. 1, \*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 2 с 1,3 и 4 гр., \*\*\*- статистически значимые различия в показателях между гр. 3 с 1,2 и 4 гр., \*\*\*\*- статистически значимые различия в показателях между гр. 4 с 1,2,3 гр.

Рисунок 4 – индекс микробного разнообразия Chao-1 (а) и Shannon (б) исследуемых групп лабораторных животных

Согласно полученным данным установлено, что введение куркумина и фармацевтической композиции повышает количество и разнообразие, в то время как введение метионина не оказывало существенных изменений ( $p > 0,05$  для индексов). Наблюдаемое бактериальное разнообразие образцов, представленных в виде средних значений индексов Shannon и Chao1, показывает достоверные различия между исследуемыми группами, что свидетельствует об эффективности разрабатываемой фармацевтической композиции (L.Shen, 2017; M.Ji, 2023).

При дальнейшем изучении изменений состава микробиоты идентифицированные микроорганизмы на уровне вида были разделены по строению клеточной стенки на грамположительные и грамотрицательные, основываясь на современной таксономической базе микроорганизмов NCBI.

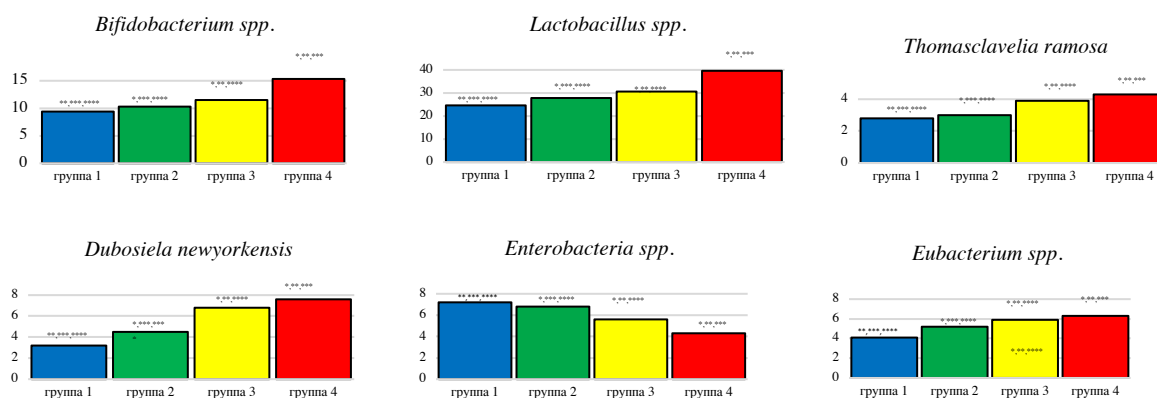
Методом MALDI-TOF на уровне вида грамположительных микроорганизмов происходит увеличение *Lactobacillus spp.*, *Brevibacterium casei* 109977, снижение *Staphylococcus spp.*, *Micrococcus luteus* USH, *Arthrobacter koreensis* 167760T, *Enterococcus faecium* 11037 в зависимости от исследуемой гр., рис.5.



Примечание: \* – статистически значимые различия в показателях между гр. 2,3,4 с гр. 1, \*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 2 с 1,3 и 4 гр., \*\*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 3 с 1,2 и 4 гр. \*\*\*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 4 с 1,2,3 гр..

Рисунок 5 - Качественный состав грамположительных микроорганизмов на уровне вида, идентифицированных методом MALDI-TOF

Методом ПЦР-РВ в гр. 2 установлено увеличение грамположительных микроорганизмов *Bifidobacterium spp.* на 9,57%, *Lactobacillus spp.* на 13%, *Thomasclavelia ramosa* на 7,1%, *Dubosiella newyorkensis* на 12,5%, *Eubacterium* на 26,8% относительно группы 1,  $p < 0,05$ . В гр. 3 выявлено увеличение *Bifidobacterium spp.* на 22,3%, *Lactobacillus spp.* на 24,4%, *Thomasclavelia ramosa* на 39,2%, *Dubosiella newyorkensis* на 12,5%, *Eubacterium* на 43,9% относительно гр. 1,  $p < 0,01$ . В гр. 4 зарегистрировано увеличение *Bifidobacterium spp.* на 62,5%, *Lactobacillus spp.* на 61%, *Thomasclavelia ramosa* на 53,5%, *Dubosiella newyorkensis* на 51,7%, *Eubacterium* на 53,6% относительно гр. 1,  $p < 0,01$ , рис.6.



Примечание: \* – статистически значимые различия в показателях между гр. 2,3,4 с гр. 1, \*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 2 с 1,3 и 4 гр., \*\*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 3 с 1,2 и 4 гр. \*\*\*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 4 с 1,2,3 гр.

Рисунок 6 - Основные представители грамположительных микроорганизмов, идентифицированные методом ПЦР-РВ в исследуемых группах животных

Методом секвенирования 16S рНК на уровне вида грамположительных бактерий, установлены различия между исследуемыми гр., рис.7. Зарегистрировано количественное изменение в сторону увеличения численности: *Eubacterium coprostanoligenes group* в 2 раза в гр. 2, в 4 раза в гр. 4 относительно гр. 1; *Eubacterium fissicatena group* в 4 раза в гр. 2, в 10 раз в гр. 3 и в 20 раз в гр. 4 относительно гр. 1; *Eubacterium fissicatena group* в 4 раза в гр. 2, в 10 раз в гр. 3 и в 20 раз в гр. 4 относительно гр. 1; *Lactobacillus\_intestinalis* в 5 раз в гр. 2, в 6 раз в гр. 3, в 20 раз в гр. 4 относительно гр. 1; *Faecalibacterium* в гр. 2 на 50%, в гр. 3 на 80%, в гр. 4 в 2 раза относительно гр. 1; *Oscillospiraceae* в гр. 4 в 3 раза относительно гр. 1; *Clostridia\_UCG-014* в гр. 2 в 4 раза, в гр. 3 в 5 раз, в гр. 4 в 7 раз относительно гр. 1; *Ruminococcaceae\_UCG-014* в 5 раз в гр. 2, в 10 раз в гр. 3, в 15 раз в гр. 4 относительно гр. 1; *Faecalibaculum\_s\_bacterium* в гр. 4 в 10 раз относительно гр. 1; *Lactobacillus\_s\_* в 5 раз в гр. 2, в 8 раз в гр. 3 и 4; *Lachnospiraceae\_NK4A136\_group\_s\_* в 1,3 раза, в гр. 4 относительно гр. 1; *Dubosiella\_s\_bacterium* в гр. 2 в 6 раз, в гр. 3 в 12 раз, в гр. 4 в 18 раз ( $p < 0,01$ ).

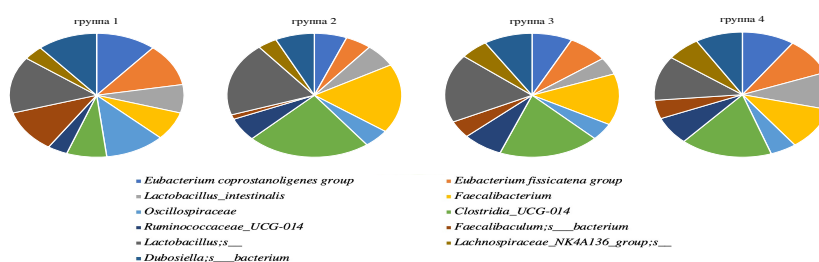
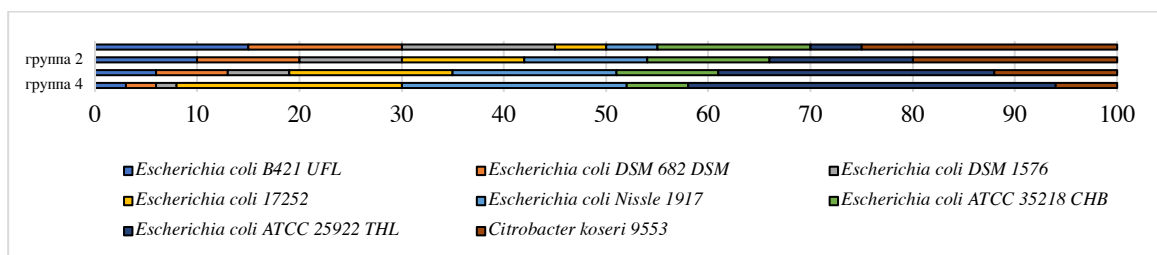


Рисунок 7 – Таксономический состав грамположительных микроорганизмов методом секвенирования 16S рНК

Методом MALDI-TOF установлены внутривидовые изменения грамотрицательных бактерий, рис.8. Отмечено снижение видов *Escherichia coli* B421 UFL, *Escherichia coli* DSM 682, *Escherichia coli* DSM 1576, *Escherichia coli* ATCC 35218 и увеличение *Escherichia coli* 17252,

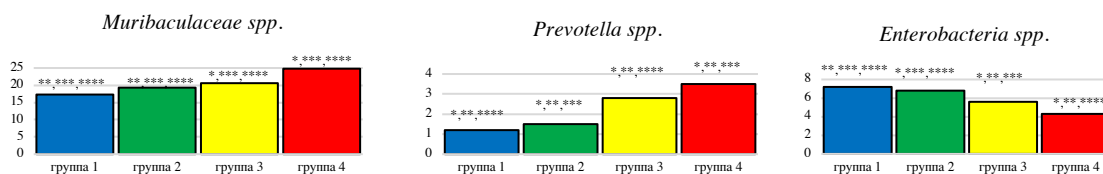
*Escherichia coli* Nissle 1917, *Escherichia coli* ATCC 25922, которые оказывают протективное влияние на слизистую оболочку кишечника, образуя бактериоцин колицин (Р. Enck, 2008).



Примечание: \* – статистически значимые различия в показателях между гр.2,3,4 с гр.1, \*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 2 с 1,3 и 4 гр., \*\*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 3 с 1,2 и 4 гр. \*\*\*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 4 с 1,2,3 гр.

Рисунок 8 - Качественный состав грамотрицательных микроорганизмов на уровне вида, идентифицированных методом MALDI TOF MS, %

Методом ПЦР-РВ установлены различия грамотрицательных микроорганизмов. В гр. 2 установлено увеличение *Muribaculaceae* на 11,6%, *Prevotella spp.* на 25%; снижение *Enterobacteria* на 5,5% относительно гр. 1,  $p < 0,05$ . В гр. 3 выявлено увеличение *Muribaculaceae* на 19%, *Prevotella spp.* в 1,3 раза; снижение *Enterobacteria* на 28,6% относительно гр. 1,  $p < 0,01$ . В гр. 4 зарегистрировано увеличение *Muribaculaceae* на 43,3%, *Prevotella spp.* в 2 раза; снижение *Enterobacteria* на 67,4% относительно гр. 1,  $p < 0,01$ , рис.9.



Примечание: \* – статистически значимые различия в показателях между группами 2,3,4 с гр.1, \*\* – статистически значимые различия в показателях между гр.2 с 1,3 и 4 гр., \*\*\* – статистически значимые различия в показателях между гр.3 с 1,2 и 4 гр. \*\*\*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 4 с 1,2,3 гр.

Рисунок 9-Основные представители грамотрицательных микроорганизмов, идентифицированные методом ПЦР-РВ в исследуемых группах животных

Методом секвенирования 16S рРНК на уровне вида грамотрицательных микроорганизмов установлено увеличение *Parabacteroides gordonii* в гр. 2 в 2 раза, в гр. 3 в 3 раза, в гр. 4 в 5 раз; *Odoribacter* в гр. 3 в 4 раза, в гр. 4 в 7 раз; *Christensenellaceae R-7 group* в гр. 3 в 10 раз, в гр. 4 в 20 раз; *Muribaculum s\_bacterium* в гр. 3 в 5 раз, в гр. 4 в 8 раз; *Muribaculaceae s\_bacterium* в гр. 2 в 3 раза, в гр. 3 в 6 раз, в гр. 4 в 11 раз; *Bacteroides vulgatus* в гр. 2 в 2,5 раза, в гр. 3 в 3,5 раза, в гр. 4 в 7 раз; *Bacteroides massiliensis* в гр. 2 в 4 раза, в гр. 3 в 6 раз, в гр. 4 в 9 раз; *Muribaculaceae s\_* в гр. 2 и 3 в 3 раза, в гр. 4 в 6 раз; *Intestinimonas s\_bacterium* в гр. 4 на 100%; *Prevotellaceae UCG-003 s\_bacterium* в гр. 3 на 100%, в гр. 4 в 15 раз. Установлено, что метионин, куркумин и фармацевтическая композиция обладают

регулирующим эффектом в отношении *Colidextribacter*;s\_ снижая его присутствие в исследуемых гр. практически на 100%; в том числе *Bacteroides*;s\_ в 2,5раза ( $p<0,01$ ), рис.10.

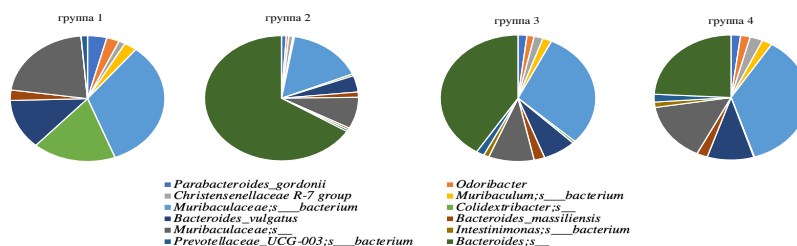


Рисунок 10 - Таксономический состав грамположительных микроорганизмов с протективным влиянием на макроорганизм

С помощью методов MALDI-TOF, ПЦР-РВ, секвенирования 16S рРНК установлено, что композиция с куркумином и метионином обладает пребиотическим влиянием на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы толстого кишечника и оказывает модулирующее действие в отношении условно-патогенных микроорганизмов и грибов.

В условиях *in vitro* определено влияние куркумина, метионина, композиции из куркумина и метионина на функционально-метаболический статус нейтрофильных гранулоцитов, индукцию цитокинов, активности факторов антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов. В гр. 3 выявлено увеличение активности фагоцитоза на 9,7% и интенсивности на 11%; в гр. 4 зарегистрировано увеличение активности фагоцитоза на 44,5% и интенсивности на 44,8% относительно гр. 1,2,3. Показано, что композиция из куркумина и метионина достоверно увеличивает активность и интенсивность фагоцитоза нейтрофильных гранулоцитов по сравнению только с куркумином и метионином ( $p<0,01$ ). В гр. 2 статистических различий не установлено, табл.1.

Таблица -1 Фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов, выделенных из периферической крови доноров в тесте с *S.aureus in vitro*

	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Активность фагоцитоза	72,5[68,4-85,3] **, ***, ****	73,1[72,6-77,4]	79,6[73,5-84,7] *, **, ****	104,8[95,6-110,3] *, **, ***
Интенсивность фагоцитоза	67,8[56,3-82,4] **, ***, ****	68,5[66,4-69,8]	75,3[78,4-92,8] *, **, ****	98,2[89,7-103,6] *, **, ***

Примечание: <sup>1</sup>\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 2,3,4 с группой 1 ( $p<0,01$ ); \*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 2 с 1,3 и 4 гр. ( $p<0,01$ ); \*\*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 3 с 1,2 и 4 гр. ( $p<0,01$ ); \*\*\*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 4 с 1,2,3 гр. ( $p<0,01$ ). <sup>2</sup> гр. 1 – интактные NG, гр. 2 – NG, инкубируемые с метионином, гр. 3 – NG, инкубируемые с куркумином, гр. 4 – NG, инкубируемые с куркумином и метионином

Спонтанный НСТ-тест выявил в гр. 3: увеличение активности NG (%) на 21,9% и интенсивности фагоцитоза (у.е.) на 11,7%; в индуцированном НСТ-тесте установлено увеличение активности на 8,7% и интенсивности фагоцитоза (у.е.) на 10,1%; зарегистрировано увеличение функционального резерва NG (у.е.) на 51,2%.



В гр. 4 при спонтанной НСТ-реакции зарегистрировано: увеличение активности на 45,6% и интенсивности фагоцитоза (у.е.) на 19,4%; в индуцированной НСТ-реакции установлено увеличение активности на 17,8% и интенсивности фагоцитоза на 19,4%; выявлено увеличение функционального резерва NG на 78,4% относительно гр.1.

Показано, что композиция из куркумина и метионина достоверно увеличивает активность и интенсивность фагоцитоза NG в спонтанном НСТ-тесте и увеличивает функциональный резерв NG по сравнению с куркумином и метионином ( $p < 0,01$ ), табл.2.

Таблица 2 - НСТ-тест нейтрофильных гранулоцитов, выделенных из периферической крови здоровых доноров *in vitro*

группа	НСТ спонтанная реакция		НСТ индуцированная реакция		Функциональный резерв у.е.
	Активность, %	Интенсивность, у.е.	Активность, %	Интенсивность, у.е.	
Группа 1	28,6 [25,12-32,34] ***,****	24,83 [23,76-25,76] ***,****	78,46 [74,68-81,34] ***,****	43,82 [39,64-48,21] ***,****	4,68 [4,07-5,13] ***,****
Группа 2	30,82 [29,65-32,67] ***,****	25,92 [25,23-26,87] ***,****	80,78 [79,45-81,23] ***,****	44,65 [43,56-45,34] ***,****	5,13 [4,68-5,96] ***,****
Группа 3	34,87 [31,56-37,67] ***,****	27,74 [24,48-30,45] ***,****	85,32 [79,63-88,36] ***,****	48,26 [47,12-49,32] ***,****	7,08 [6,82-7,58] ***,****
Группа 4	41,67 [38,76-44,25] ***,****	29,65 [27,66-31,25] ***,****	92,46 [89,78-95,48] ***,****	52,34 [50,32-54,46] ***,****	8,35 [8,04-8,89] ***,****

Примечание: <sup>1</sup>\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 2,3,4 с гр. 1 ( $p < 0,01$ ); \*\*\* - статистически значимые различия в показателях между гр.3 с 1, 2 и 4 гр. ( $p < 0,01$ ); \*\*\*\* - статистически значимые различия в показателях между гр. 4 с 1,2,3 гр. ( $p < 0,01$ ). <sup>2</sup> гр. 1 – интактные NG, гр. 2 - NG, инкубируемые с метионином, гр. 3 – NG, инкубируемые с куркумином, гр.4 NG, инкубируемые с куркумином и метионином

При исследовании выработки цитокинов NG в гр. 3 отмечено снижение: TNF- $\alpha$  на 13,7% (пг/мл), IFN- $\gamma$  на 11,6% (пг/мл), IL-1 $\beta$  на 12% (пг/мл), IL-6 на 19,5% (пг/мл) и увеличение: IL-4 на 7,8% (пг/мл), IFN- $\alpha$  на 18,3% (пг/мл). В гр. 4 выявлено существенное снижение: TNF- $\alpha$  на 49,5% (пг/мл), IFN- $\gamma$  на 19,2% (пг/мл), IL-1 $\beta$  на 41,2% (пг/мл), IL-6 на 48,4% (пг/мл), и увеличение: IL-4 на 36,6% (пг/мл), IFN- $\alpha$  на 28,4% (пг/мл).

Установлено, что при совместной инкубации куркумина с метионином (гр. 4) и NG происходит достоверное снижение провоспалительных цитокинов и увеличение противовоспалительных относительно инкубации только с куркумином и метионином ( $p < 0,01$ ), табл.3.

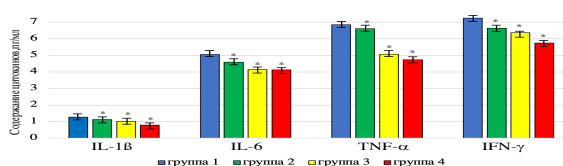
Таблица 3 - Содержание цитокинов в супернатантах нейтрофильных гранулоцитов при совместной инкубации с куркумином, метионином, куркумином и метионином

Исследуемые группы	TNF- $\alpha$ (пг/мл)	IFN- $\gamma$ (пг/мл)	IL-1 $\beta$ (пг/мл)	IL-6 (пг/мл)	IFN- $\alpha$ (пг/мл)	IL-4 (пг/мл)
Группа 1	3,23 [2,67-4,08] **,***,****	11,65 [10,99-12,43] **,***,****	2,33 [1,78-2,67] **,***,****	1,28 [0,78-1,47] **,***,****	10,35 [9,67-11,48] **,***,****	2,82 [2,34-3,48] **,***,****
Группа 2	3,07 [2,90-3,27]**,***,****	10,96 [10,24-11,75]**,***,****	2,23 [1,96-2,45]**,***,****	1,18 [0,97-1,26]**,***,****	10,86 [10,04-11,66]**,***,****	2,95 [2,87-3,09]**,***,****
Группа 3	2,84 [2,38-3,01]**,***,****	10,44 [10,57-11,31]**,***,****	2,05 [1,88-2,26]**,***,****	1,03 [0,93-1,14]**,***,****	12,67 [11,89-12,82]**,***,****	3,06 [2,93-3,16]**,***,****
Группа 4	2,16 [1,84-2,32]**,***,****	9,77 [9,68-10,12]**,***,****	1,37 [0,95-1,54]**,***,****	0,66 [0,34-1,23]**,***,****	14,45 [13,77-15,34]**,***,****	4,45 [4,12-4,87]**,***,****

Примечание: <sup>1</sup>\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 2,3,4 с гр. 1 (p<0,01); \*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 2 с 1,3 и 4 гр. (p<0,01); \*\*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 3 с 1,2 и 4 гр. (p<0,01); \*\*\*\* – статистически значимые различия в показателях между гр. 4 с 1,2,3 гр. (p<0,01). <sup>2</sup> гр. 1 – интактные NG, гр. 2 – NG, инкубируемые с метионином, гр. 3 – NG, инкубируемые с куркумином, гр. 4 – NG, инкубируемые с куркумином и метионином

Анализ продуктов липопероксидации клеток крови по содержанию MDA показал его снижение в гр. 2 на 11,2%, в гр. 3 на 33,7%, в гр. 4 на 42,5%; увеличение уровня САТ в гр. 2 на 4,7%, в гр. 3 на 6,4% и в гр. 4 на 32,6% (p<0,01). Результаты исследования показывают модулирующие эффекты смеси куркумина и метионина в отношении нормализации факторов POL и AOS.

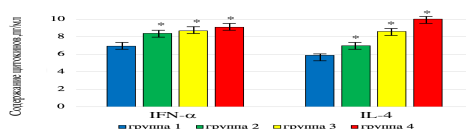
При исследовании *in vivo* выработки цитокинов NG периферической крови экспериментальных животных установлено снижение провоспалительных цитокинов: в гр. 2: IL-1 $\beta$  на 14%, IL-6 на 9%, TNF- $\alpha$  на 4 %, IFN- $\gamma$  на 9 %; в гр. 3: IL-1 $\beta$  на 20%, IL-6 на 18%, TNF- $\alpha$  на 35%, IFN- $\gamma$  на 14 %; в гр. 4: IL-1 $\beta$  на 37%, IL-6 на 19 %, TNF- $\alpha$  на 45 %, IFN- $\gamma$  на 26 % относительно гр. 1, рис.11.



Примечание: \* – статистически значимые различия в показателях между гр. 2,3,4 с гр. 1

Рисунок 11 – Цитокиновый профиль IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$

В гр. 2 установлено увеличение выработки противовоспалительных цитокинов NG в периферической крови экспериментальных животных: IFN- $\alpha$  на 17%, IL-4 на 16%; в гр. 3 увеличение: IFN- $\alpha$  на 20%, IL-4 на 31%; в гр. 4 увеличение: IFN- $\alpha$  на 31%, IL-4 на 41% относительно гр. 1, рис.12.



Примечание: \* – статистически значимые различия между показателями гр. 2,3,4 с гр. 1, p<0,01

Рисунок 12 – Содержание IFN- $\alpha$  и IL-4 в сыворотке крови лабораторных животных

При изучении содержания продуктов ЛР выявлено снижение  $C_{MDA}$  в гр. 2 на 0,92%, в гр. 3 на 0,86%, в гр. 4 на 0,78% относительно гр. 1, рис.13.

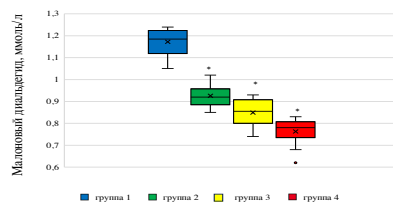
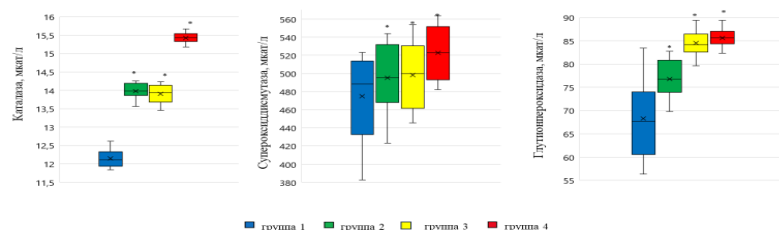


Рисунок 13 – Содержание MDA в крови лабораторных животных

В результате исследования уровня антиоксидантных ферментов установлено: уровень CAT в гр. 2 увеличился на 14%, в гр. 3 на 14%, в гр. 4 на 22% относительно гр.1. Уровень SOD в гр. 2 увеличился на 7%, в гр. 3 на 8%, в гр. 4 на 13% относительно гр. 1. Уровень GPx выше в гр. 2 на 16%, в гр. 3 на 23%, в гр. 4 на 24% относительно гр.1, рис.14.



Примечание: \* – статистически значимые различия между показателями гр. 2,3,4 с гр. 1 ( $p < 0.01$ )

Рисунок 14 – Анализ изменения уровней концентрации антиоксидантных ферментов: каталазы (мкат/л), супероксиддисмутаза (мкат/л), глутатионпероксидаза (ед/л)

Результаты исследования показывают, что композиция с куркумином и метионином оказывает восстанавливающее действие на факторы колонизационной резистентности, увеличивая уровни антиоксидантных ферментов и снижая повреждение клеточных мембран продуктами ПОЛ, модулируя разнообразие грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов толстого кишечника. Это обусловлено несколькими факторами, входящих в состав активных компонентов и их метаболизмом. В результате биотрансформации куркумина микрофлорой ЖКТ образуются короткоцепочечные жирные кислоты, которые стимулируют рост кислотообразующих бактерий: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Thomasclavelia ramosa*, *Prevotella spp.*, *Ruminococcus spp.*, *Eubacterium spp.* (Scazzocchio B. et al., 2020; Wu X. et al., 2022). Пребиотический потенциал метионина обусловлен его использованием в качестве питательного субстрата, который участвует в биохимических процессах организмов.

Куркумин ингибирует активность гистоновой ацетилазы и деацетилазы, что приводит к уменьшению экспрессии генов, вследствие чего наблюдается снижение транскрипционной активности и модификация эпигенетических механизмов регуляции. Данный процесс играет ключевую роль в противовоспалительном и антипролиферативном действии куркумина. Кроме того, ингибирование этих ферментов способствует подавлению экспрессии провоспалительных цитокинов и факторов

роста способствует подавлению экспрессии провоспалительных цитокинов и факторов роста. (Gorabi A., 2021; Zhang S., 2018). Метионин оказывает противовоспалительное действие за счет влияния на макрофаги и регуляцией цитокинового профиля (Fu W., 2023).

Антиоксидантное действие композиции обусловлено химическим строением куркумина (Prasad S., 2021; Singh N., 2022) и наличием серы в метионине (Bin P., 2017; Drazic A., 2014), связывающих реактивные формы кислорода и азота гидроксильными группами и ароматическими кольцами (рис.15).

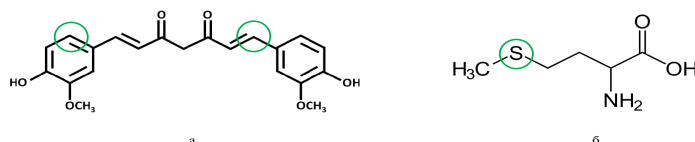


Рисунок 15. Активные центры связывания активных форм кислорода и азота куркумина (а) (Singh N., 2022) и метионина (б) (Caylak E., 2008)

Установленные свойства фармацевтической композиции позволяют использовать ее в качестве средства для восстановления факторов колонизационной резистентности слизистых оболочек кишечника. Кроме того, включение в состав композиции метионина предотвращает метаболическую деградацию куркумина и увеличивает его растворимость в биологических средах. Полученные данные, позволили установить патогенетический механизм, рис.16.

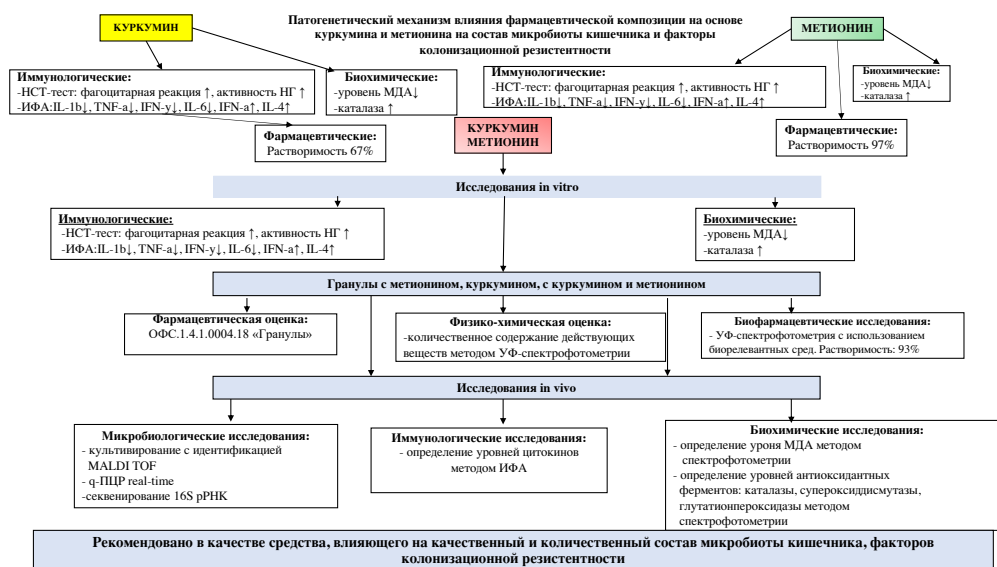


Рисунок 16 – Патогенетический механизм влияния фармацевтической композиции на основе куркумина и метионина на состав микробиоты кишечника и факторы колонизационной резистентности

## Выводы

1. Методами фармацевтической стандартизации обоснован состав, исследована степень высвобождения куркумина из фармацевтической композиции с куркумином и метионином, которая составляет 93%; обосновано использование метионина, увеличивающего растворимость куркумина в биологических средах.

2. Установлено, что куркумин обладает более выраженным влиянием относительно метионина, увеличивая количество грамположительных микроорганизмов *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. и бутират-продуцирующих бактерий: *Thomasclavelia ramosa*, *Eubacterium* spp. Установлено, что композиция куркумина и метионина оказывает наибольшее влияние на качественный и количественный состав грамположительных микроорганизмов толстого кишечника, увеличивая *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Thomasclavelia ramosa*, *Eubacterium* spp. относительно куркумина и метионина.

3. Установлено, что куркумин обладает более выраженным влиянием относительно метионина, увеличивая количество грамотрицательных микроорганизмов *Muribaculaceae* spp., и бутират-продуцирующих бактерий *Prevotellaceae* spp., снижая *Enterobacteria* spp. Установлено, что композиция куркумина и метионина оказывает наибольшее влияние на качественный и количественный состав грамотрицательных микроорганизмов толстого кишечника, увеличивая *Muribaculaceae* spp., *Prevotellaceae* spp., снижая *Enterobacteria* spp. относительно куркумина и метионина.

4. *In vitro* установлено, что существенное влияние на функционально-метаболический статус NG оказывает композиция из куркумина и метионина, повышая активность фагоцитоза на 44,5% и интенсивность на 44,8%; снижая спонтанную продукцию цитокинов в супернатантах: IL-1 $\beta$  на 41,2%, TNF- $\alpha$  на 49,5%, IFN- $\gamma$  на 19,2%, IL-6 на 48,4% и повышая IL-4 на 36,6%, IFN- $\alpha$  на 28,4%; снижая MDA на 42,5%, увеличивая активность CAT на 32,6%.

5. Композиция, содержащая куркумин и метионин, оказывает нормализующее влияние на факторы колонизационной резистентности лабораторных животных: снижая содержание в сыворотке крови IL-1 $\beta$  на 37%, IL-6 на 19%, TNF- $\alpha$  на 45%, IFN- $\gamma$  на 26%; увеличивая IFN- $\alpha$  на 31%, IL-4 на 41%; снижая уровень MDA на 0,78%, повышая выработку CAT на 22%, SOD на 13%, GPx на 24% периферической крови экспериментальных животных.

6. На основании полученных данных о влиянии композиции, содержащей куркумин и метионин, на факторы колонизационной резистентности, на качественный и количественный состав предложен патогенетический алгоритм и практические рекомендации.

## Практические рекомендации

1. Для анализа биорастворимости композиции на основе куркумина рекомендовано проводить фармакотехнологические, биофармацевтические, фармацевтические исследования состава, исследовать технологию получения композиций.
2. Исследовать влияние комплексов с куркумином *in vivo* на качественный и количественный состав грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов толстого кишечника методами MALDI-TOF, ПЦР-РВ, секвенирования 16S рРНК.
3. Для изучения влияния композиции на основе куркумина на факторы колонизационной резистентности *in vitro* целесообразно проводить исследования функционально-метаболического статуса клеток врожденного иммунитета и индукцию ими цитокинов, активности факторов антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов.
4. Для оценки влияния композиций на основе куркумина на факторы колонизационной резистентности *in vivo* исследовать содержание факторов липопероксидации, активность ферментов антиоксидантной защиты, уровни цитокинов периферической крови экспериментальных животных.

## Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Патент. Способ получения лекарственного средства с метионином и экстрактом куркумы в виде гранул с кишечнорастворимым покрытием системного действия, Гизингер О. А., Симонян Е. В., Хисамова А. А., Патент RU 2684111 С1, дата регистрации: 04.04.2019, опубликовано: 04.04.2019 Бюл. №10
2. Исследование иммунофармакологических свойств лекарственного средства с метионином и экстрактом куркумы *in vitro* / О. А. Гизингер, Е. В. Симонян, А. А. Хисамова // Российский иммунологический журнал – 2018. – Т. 12. – №. 3. – С. 238–241.
3. Иммуностропные и антиоксидантные эффекты фармацевтической композиции на основе экстракта куркумы длинной (*Curcuma longa*) / О. А. Гизингер, А. А. Хисамова // Разработка и регистрация лекарственных средств – 2020. Т. 9. №.4. - С. 119–120
4. Подходы к изучению растворимости лекарственного средства, содержащего экстракт куркумы длинной (*Curcuma longa*) и метионин / О.А. Гизингер, А.А.Хисамова // Разработка и регистрация лекарственных средств – 2020. Т. 9. №.4. - С. 121-122
5. Антиоксидантные, иммуностропные эффекты композиции на основе экстракта куркумы длинной (*curcuma longa*) и метионина: обоснование использования в практическом здравоохранении / О. А. Гизингер, А. А. Хисамова // Всероссийский терапевтический конгресс с международным участием «БОТКИНСКИЕ ЧТЕНИЯ» Сборник тезисов: / Под редакцией: академика РАН Мазурова В. И., доцента Трофимова Е. А. СПб.: Изд-во «Человек и его здоровье», 2021. – 372 С. - С. 299-300

6. Анализ антиоксидантных эффектов куркумина из корневищ растения куркумы длинной (*curcuma longa*) с целью создания фармацевтической композиции для коррекции оксидативных нарушений / О. А. Гизингер, А. А. Хисамова // Современные достижения молодых ученых в медицине – 2020. Сборник материалов VII научно-практической конференции с международным участием 27 ноября 2020 г. – 228 С. – С. 194-196

7. Исследование иммунологической и микробиологической эффективности терапии куркумином и метионином, входящих в состав разрабатываемых капсул / А. А. Хисамова, О. А. Гизингер [и соавт.] // Российский иммунологический журнал - 2021. - Т. 24. - №.2. - С. 305-310

8. Исследования по изучению улучшения растворимости при разработке лекарственной формы с метионином и экстрактом куркумы длинной (*Curcuma Longa*) / А. А. Хисамова, О. А. Гизингер // Вестник уральской медицинской академической науки – 2021. – Т. 18. - №.1. - С. 43–51.

9. Biopharmaceutical trials of a dosage form, which contain methionine and turmeric extract (*Curcuma longa* l.) / А. А. Хисамова, О. А. Гизингер // Разработка и регистрация лекарственных средств – 2021. – Т. 10. - №.2. - С. 42-48.

10. Curcumin in the correction of oxidative and immune disorders during exercises / А. А. Хисамова, О. А. Гизингер // Вопросы питания - 2021. – Т. 90. - №.1. - С. 65-73.

#### Список сокращений

<b>AOS</b>	Антиоксидантная защита
<b>CAT</b>	Каталаза
<b>MDA</b>	Малоновый диальдегид
<b>FaSSIF</b>	Fasted State Simulated Intestinal Fluid (имитация кишечного сока натощак)
<b>FeSSIF</b>	Fed State Simulated Intestinal Fluid (имитация кишечного сока после еды)
<b>GPx</b>	Глутатионпероксидаза
<b>IFN</b>	Интерферон
<b>IL</b>	Интерлейкин
<b>MALDI TOF</b>	Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация времяпролетная спектрометрия
<b>NG</b>	Нейтрофильные гранулоциты
<b>PL</b>	Перекисное окисление липидов
<b>ROS</b>	Реактивные формы кислорода
<b>SOD</b>	Супероксиддисмутаза
<b>Th</b>	T-хелпер
<b>TNF</b>	Фактор некроза опухоли
<b>ЖКТ</b>	Желудочно-кишечный тракт
<b>ИФА</b>	Иммуноферментный анализ
<b>НСТ</b>	Нитросиний тетразол
<b>ПЦР-РВ</b>	Количественная ПЦР в реальном времени
<b>С</b>	Концентрация

**Хисамова Анна Александровна**

(Российская Федерация)

**ВЛИЯНИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ КУРКУМИНА И  
МЕТИОНИНА НА КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ  
МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА, ФАКТОРЫ КОЛОНИЗАЦИОННОЙ  
РЕЗИСТЕНТНОСТИ**

Диссертационная работа посвящена изучению влияния фармацевтической композиции на основе куркумина и метионина на качественный и количественный состав грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов толстого кишечника, факторы колонизационной резистентности: выработку цитокинов нейтрофильных гранулоцитов, снижение продуктов перекисного окисления липидов, выработку антиоксидантных ферментов. Исследован состав фармацевтической композиции с использованием методом фармацевтической стандартизации.

**Khisamova Anna Aleksandrovna**

(Russian Federation)

**INFLUENCE OF A PHARMACEUTICAL COMPOSITION BASED ON CURCUMIN AND  
METHIONINE ON THE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE COMPOSITION OF THE  
INTESTINAL MICROBIOTA, FACTORS OF COLONIZATION RESISTANCE**

The dissertation work is devoted to studying the influence of a pharmaceutical composition based on curcumin and methionine on the qualitative and quantitative composition of the gram-positive and gram-negative gut microorganisms in the gut, factors of colonization resistance: the production of neutrophiles, cytokines, the reduction of products lipid peroxidation, the production of antioxidant enzymes. The composition of the pharmaceutical composition was studied using the pharmaceutical standardization method.