

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-220-12-68-76>

Хеомикробиомное исследование пребиотических и антибиотических свойств биофлавоноидов и полифенолов, перспективных для лечения COVID-19 и других вирусных инфекций*

Громова О.А.¹, Торшин И.Ю.¹, Чучалин А.Г.²

¹ Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» Российской академии наук (ул. Вавилова, д. 42, Москва, 119333, Россия)

² ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, (Москва, Россия)

Для цитирования: Громова О.А., Торшин И.Ю., Чучалин А.Г. Хеомикробиомное исследование пребиотических и антибиотических свойств биофлавоноидов и полифенолов, перспективных для лечения COVID-19 и других вирусных инфекций. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2023;220(12): 68–76. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-220-12-68-76

✉ Для переписки:

Громова

Ольга Алексеевна

unesco.gromova

@gmail.com

Громова Ольга Алексеевна, д.м.н., проф., в.н.с., научный руководитель; в.н.с.

Торшин Иван Юрьевич, к.ф.м.н., к.х.н., с.н.с.

Чучалин Александр Григорьевич, академик РАН, заведующий кафедрой госпитальной терапии педиатрического факультета

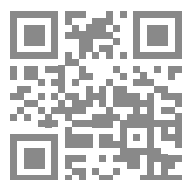
Резюме

* Иллюстрации
2–5 – на цветной
вклейке в журнал
(стр. II–VI).

При исследовании молекул перспективных лекарств для терапии COVID-19 важно оценивать их пребиотические и антибиотические свойства, т.е. воздействие на рост полезной и патогенной микробиоты. В настоящем исследовании получены результаты хеомикробиомного анализа 5 биофлавоноидов (гесперидин, лейкодельфинидин, рутин, кверцетин, байкалин), 2 полифенолов (куркумин, эпигаллокатехина галлат) и синергидных им веществ (сапонина глицирризина и алкалоида пиперина) для 38 бактерий-комменсалов человека и для 152 штаммов патогенных микроорганизмов. Исследованные молекулы существенно поддерживали рост полезной микробиоты: для каждой из молекул значения AUC составили 0.67–0.79 у.е. (в среднем по выборке 38 комменсалов) и отличались хорошими оценками безопасности. Наибольший вклад в поддержку полезной микробиоты вносили рутин и глицирризин (AUC 0.78±0.14 у.е.), наименьший — байкалин (AUC 0.66±0.24 у.е.). Установлено синергидное взаимодействие между исследованными веществами: при совместном применении 9 веществ среднее значение AUC может возрасть до 0.84±0.06 у.е. Нормобиотой наиболее активно перерабатывается глицирризин (19.2±12.1%), наименее активно — пиперин (6.0±5.9%). Наиболее активными метаболиторами исследованных веществ являлись бактерии рода *Bacteroides* (более 30%), наименее активными — бактерии рода *Collinsella* (<1%). Результаты хеомикробиомного анализа исследованных молекул у добровольцев с различными профилями микробиома подтвердили, что исследованные вещества не способствуют росту патогенной флоры. Исследованные вещества могут тормозить рост патогенных *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* (значения MIC порядка 10–25 мкг/мл).

Ключевые слова: биофлавоноиды, полифенолы, коронавирусы, Валеоникс, микробиота человека, площадь под кривой роста, хеоминформатика, интеллектуальный анализ данных

EDN: VUXTNP



Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23–21–00154).

Работа выполнялась с использованием инфраструктуры Центра коллективного пользования, гос. задание № 0063–2019–0003 «Математические методы анализа данных и прогнозирования» «Высокопроизводительные вычисления и большие данные» (ЦКП «Информатика») ФИЦ ИУ РАН (г. Москва).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.



Chemomicrobiome study of prebiotic and antibiotic properties of bioflavonoids and polyphenols, promising for the treatment of COVID-19 and other viral infections*

O. A. Gromova¹, I. Yu. Torshin¹, A. G. Chuchalin²

¹ FRC "Computer Science and Control" RAS, (Moscow, 119333, Russia)

² FGAOU HE Russian National Research Medical University named after N.N. N.I. Pirogov» of the Ministry of Health of Russia, (Moscow, Russia)

For citation: Gromova O. A., Torshin I. Yu., Chuchalin A. G. Chemomicrobiome study of prebiotic and antibiotic properties of bioflavonoids and polyphenols, promising for the treatment of COVID-19 and other viral infections. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2023;220(12): 68–76. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-220-12-68-76

✉ **Corresponding author:**

Olga A. Gromova
unesco.gromova@gmail.com

Olga A. Gromova, Doctor of Medical Sciences, Prof., Leading Researcher; ORCID: 0000-0002-7663-710X

Ivan Yu. Torshin, Ph.D., Senior Researcher; ORCID: 0000-0002-2659-7998

Alexander G. Chuchalin, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Hospital Therapy, Pediatric Faculty; ORCID: 0000-0002-5070-5450

Summary

When studying molecules of promising drugs for COVID-19 therapy, it is important to evaluate their prebiotic and antibiotic properties, i.e. impact on the growth of beneficial and pathogenic microbiota. In the present study, the results of chemomicrobiome analysis of 5 bioflavonoids (hesperidin, leukodelphinidin, rutin, quercetin, baicalin), 2 polyphenols (curcumin, epigallocatechin gallate) and their synergistic substances (glycyrrhizin saponin and piperine alkaloid) were obtained for 38 human commensal bacteria and 152 strains. pathogenic microorganisms. The studied molecules significantly supported the growth of beneficial microbiota: for each of the molecules, the AUC values were 0.67..0.79 c.u. (average for a sample of 38 commensals) and had good safety ratings. The greatest contribution to the support of beneficial microbiota was made by rutin and glycyrrhizin (AUC 0.78±0.14 a.u.), the smallest contribution was made by baicalin (AUC 0.66±0.24 a.u.). A synergistic interaction between the studied substances was established: with the combined use of 9 substances, the average AUC value can increase up to 0.84±0.06 c.u. Normobiota most actively processes glycyrrhizin (19.2±12.1%), the least actively — piperine (6.0±5.9%). The most active metabolizers of the studied substances were bacteria of the genus *Bacteroides* (more than 30%), the least active were bacteria of the genus *Collinsella* (<1%). The results of chemomicrobiome analysis of the studied molecules in volunteers with different microbiome profiles confirmed that the studied substances do not contribute to the growth of pathogenic flora. The studied substances can inhibit the growth of pathogenic *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* (MIC values of about 10–25 µg/ml).

Keywords: bioflavonoids, polyphenols, coronaviruses, Valeonix, human microbiota, area under the growth curve, chemoinformatics, data mining

Funding. This work was supported by a grant from the Russian Science Foundation (project no. 23–21–00154).

The research was conducted using the infrastructure of the Shared Research Facilities "High Performance Computing and Big Data" (CKP "Informatics") of FRC CSC RAS (Moscow) under the government contract No. 0063–2019–0003 "Mathematical methods of data analysis and forecasting".

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Коронавирусная инфекция COVID-19, формировавшая повестку мировых масс-медиа (МММ) с января 2020 по февраль 2022 года, позволила выявить существенные проблемы в профилактике и терапии ранее неизвестных вирусных инфекций. Были выявлены и доказательно обоснованы перспективные направления профилактики и терапии (компенсация микронутриентных дефицитов, использование фармаконутрицевтиков и другие меры для поддержки врождённого

и приобретённого иммунитета). Стали особо чётко видны и ранее известные, но игнорируемые проблемы пропагандируемых в МММ «стандартных» подходов к фармакотерапии вирусных патологий (быстрое формирование резистентности к препаратам, высокая гепато- и нефротоксичность, насущная необходимость длительной реабилитации вследствие полиорганной патологии при COVID-19, агрессивной фармакотерапии и др.) [1].

Таблица 1.
Молекулы
биофлавоноидов
и полифенолов,
перспективные
для разработки
новых лекарств,
для фармакону-
трицевитического
сопровождения
терапии респираторных инфекций

Молекула	Тип соединения	Фармакологические свойства
Байкалин	биофлаваноид	противовоспалительным, противовирусным, регенеративным и антистрессорным действием (модуляция ГАМК рецепторов), также нормализующий обмен сахаров
Гесперидин	биофлаваноид	проявляет антиоксидантные, ангиопротекторные, вазодилаторные, иммуномодулирующие (прежде всего, противовоспалительные) эффекты
Рутин	биофлаваноид	антигипоксант, способствующий ангиопротекции, вазодилатации и улучшению клеточного дыхания, проявляет противовирусное и противовоспалительное действие
Кверцетин	биофлаваноид	антиоксидант, проявляющий противовирусные, противовоспалительные, гепатопротекторные, кардиопротекторные эффекты при острых инфекционных процессах
Лейкодельфинидин	биофлаваноид	антоциан из скорлупы арахиса обыкновенного – антиоксидант, также проявляющий противовирусное, бактерицидное, противоотечное, ангиопротекторное действие, способствуя поддержке структуры соединительной ткани. популяции макрофагов и снижает уровни провоспалительных хемокинов
Эпигаллокатехин-3-галлат	полифенол	антиоксидантные, противовоспалительные, нейропротекторные, кардиопротекторные, регенеративные и антидиабетические свойства
Куркумин	полифенол	противовоспалительным, противовирусным, регенераторным и антиоксидантным действием
Глицирризин	сапонин	способствует всасыванию биофлавоноидов и полифенолов, дополнительно проявляет противовоспалительное и противовирусное действие, препятствуя проникновению вирусов в клетку и сборке вирионов
Пиперин	алкалоид	стимулирует слизистую кишечника и активирует всасывание биофлавоноидов и полифенолов (повышая, в частности, всасывание куркумина в 20 раз)

Биофлавоноиды и полифенолы являются одним из наиболее перспективных направлений для разработки эффективной и безопасной фармакотерапии COVID-19 и других респираторно-вирусных инфекций. Систематический компьютерный анализ 152145 публикаций по фармакологии биофлавоноидов позволил сформулировать молекулярные механизмы действия биофлавоноидов байкалина, гесперидина, рутина, кверцетина, лейкодельфинидина и полифенолов эпигаллокатехин-3-галлата (ЭГКГ) и куркумина, их противовоспалительные, антиоксидантные, противовирусные, бактерицидные, ангиопротекторные, регенеративные эффекты (таблица 1) [2].

В работе [2] были сформулированы требования к наиболее перспективным молекулам-кандидатам, направленных на лечение респираторных вирусных инфекций: (1) противовирусные эффекты, (2) противовоспалительное действие (ингибирование цитокинового шторма), (3) гепатопротекция, (4) поддержку систем врожденного и приобретенного противовирусного иммунитета. Биофлавоноиды и синергидные им полифенольные соединения природного происхождения удовлетворяют всем этим требованиям, характеризуясь не только действием на РНК-вирусы

(включая вирусы гриппа, коронавирусы и др.), но и выраженным противовоспалительным, антиоксидантным, ангиопротекторным, гепатопротекторным действием.

При исследовании молекул перспективных лекарств важно оценивать их пребиотические/антибиотические свойства, т.е. воздействие на рост полезной микробиоты кишечника. В настоящем исследовании получены результаты хеомикробиомного анализа 5 биофлавоноидов (гесперидин, лейкодельфинидин, рутин, кверцетин, байкалин), 2 полифенолов (куркумин, эпигаллокатехин-3-галлат) и синергидных им веществ (сапонин глицирризина и алкалоид пиперина) для 38 бактерий-комменсалов человека и для 152 патогенных штаммов. Хеомикробиомные скрининги препаратов, проводимые на основе современных информационных технологий анализа больших данных, позволяют оценивать эффекты веществ на различные типы бактерий-комменсалов в ЖКТ человека и на различные штаммы болезнетворных бактерий [3–5]. Учет воздействия на микробиоту желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) важен для оценки баланса «эффективность-безопасность» лекарственных препаратов, принимаемых *per os*, особенно длительными курсами (месяцы).

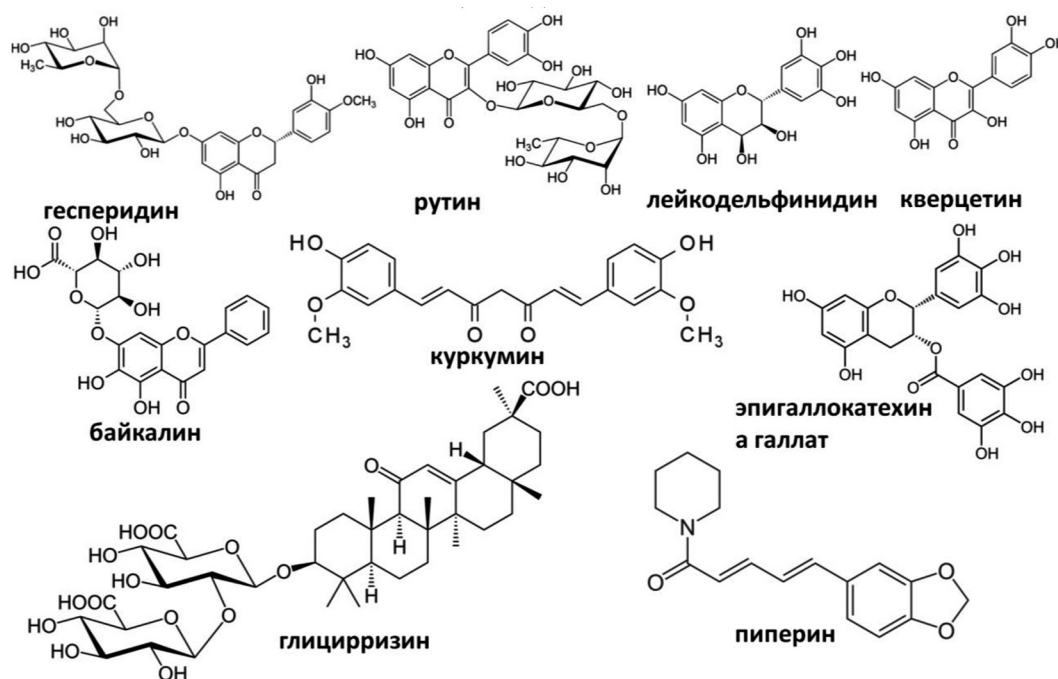
Материалы и методы

Химические структуры исследованных молекул приведены на рис. 1. Хеомикробиомный анализ основан на хеоминформационном подходе, теории анализа размеченных графов, теории метрического анализа данных [6, 7], комбинаторной теории разрешимости [8], топологической теории анализа

плохо-формализованных задач [9] и новейших методов прогнозирования значений числовых переменных [10].

Для каждой из исследованных молекул были получены оценки значений площади под кривой роста для репрезентативной выборки микробиоты

Рисунок 1.
Химические
формулы молекул,
вошедших в хемо-
микробиомный
анализ



человека, включившей 38 бактерий-комменсалов (в т.ч. различные виды бифидо- и лактобактерий) и более 152 болезнетворных бактерий, которые более подробно описаны в работах [3, 4, 11]. Выборка микробиома включает 21 род бактерий и представляет 78% микробиома ЖКТ. Большинство исследованных штаммов были комменсалами, обнаруженных при относительной численности 1% или более и распространенности не менее 50% в пробах фекалий от здоровых добровольцев с трех континентов. На этой выборке штаммов микробиома

для всех молекул на Рис. 1 были оценены значения площади под кривой роста (AUC), значения стандартных отклонений значений AUC и значения Р статистической достоверности отличий AUC от контроля (стандартная среда выращивания бактерий). На основании информации в базах данных Human Microbiome Project [12], iHMP [13], PubChem [14] оценивались значения минимальных ингибирующих концентраций (MIC) для 152 штаммов болезнетворных бактерий, как описано в работе [15].

Результаты и обсуждение

Хеомикробиомный анализ включил оценки (1) накопления исследуемых молекул в различных клетках/тканях, (2) влияния на площадь под кривой роста бактерий комменсалов (AUC), (3) воздействий на различные метаболические пути нормофизиологической микробиоты, (4) степени переработки исследуемых веществ бактериями микробиома (на бактериях в культуре и у добровольцев с различными профилями микробиома), и (5) минимальные ингибирующие концентрации (MIC) веществ для различных штаммов бактериальных и грибковых патогенов.

Анализ показал, что исследованные молекулы отличались по накоплению в различных тканях/органах человека. В целом, при поступлении в организм слабо накапливаются в селезенке (оценки вероятности накопления 0.2–0.4 у.е.) и наиболее активно в нейронах (0.6–1.0 у.е.). По отношению к другим типам клеток исследованные молекулы показали дифференцированное накопление. Например, в миелине наиболее интенсивно могут накапливаться гесперидин, рутин, кверцетин, байкалин (0.9–1.0 у.е.), наименее интенсивно – куркумин и ЭГКГ (менее 0.05 у.е.). В эритроцитах наиболее интенсивно могут накапливаться гесперидин,

лейкодельфинидин, рутин, байкалин, наименее интенсивно – опять же куркумин и ЭГКГ. За исключением байкалина, *все исследованные вещества могут интенсивно накапливаться в альвеоцитах* (рис. 2).

Анализ биологических эффектов 9 молекул при накоплении их в различных тканях был проведен с использованием категорий международной номенклатуры Gene Ontology (GO), используемой для аннотации биологических процессов и белков. Биологические эффекты молекул были распределены в 4 рубрики: противовирусное действие, противовоспалительное действие, цитопротекция и нутриенты (таблица 2). Наиболее активными молекулам являлись биофлавоноиды гесперидин, лейкодельфинидин, рутин и сапонин глицирризин.

В результате проведенного нами хеомикробиомного анализа были получены оценки значений **площади под кривой роста бактерий комменсалов** (AUC, рис. 3А). Для дальнейшего анализа были отобраны только те данные, которые соответствовали значениям AUC, статистически достоверно отличающимся от контрольных экспериментов ($P < 0.05$ при сравнении со стандартной средой выращивания бактерий, рис. 3А) и со значениями

Таблица 2.
Биологические
эффекты 9 молекул
при накоплении
их в различных
тканях

Категория GO	Биологическая роль	Молекулы с наибольшим рейтингом по данной активности
Противовирусное действие		
GO:0051607	защитная реакция против вируса	байкалин гесперидин кверцетин
GO:0045087	врожденный иммунный ответ	гесперидин глицирризин байкалин
GO:0050776	регуляция иммунного ответа	рутин глицирризин гесперидин
GO:0016032	вирусный процесс	гесперидин рутин глицирризин
GO:0001666	реакция на гипоксию	лейкодельфинидин пиперин
Противовоспалительное действие		
GO:0071356	клеточный ответ на фактор некроза опухоли	гесперидин рутин кверцетин
GO:0006693	метаболизм простагландинов	лейкодельфинидин эпигаллокатехина галлат
GO:0071420	клеточный ответ на гистамин	лейкодельфинидин эпигаллокатехина галлат куркумин
GO:0006954	воспалительная реакция	лейкодельфинидин эпигаллокатехина галлат пиперин
GO:0043312	дегрануляция нейтрофилов	рутин глицирризин гесперидин
GO:0007596	коагуляция крови	лейкодельфинидин эпигаллокатехина галлат пиперин
Цитопротекция		
GO:0006099	цикл трикарбоновых кислот	рутин гесперидин байкалин
GO:0043209	миелиновая оболочка нейронов	гесперидин рутин
GO:0006749	метаболизм глутатона	лейкодельфинидин эпигаллокатехина галлат
GO:0032868	реакция на инсулин	рутин глицирризин байкалин
GO:0035240	связывание дофамина	лейкодельфинидин эпигаллокатехина галлат пиперин
Нутриенты		
GO:0006768	метаболизм биотина	глицирризин пиперин байкалин
GO:0015937	биосинтез кофермента A	гесперидин
GO:0051287	связывание НАД	гесперидин рутин
Другие	гем	глицирризин пиперин лейкодельфинидин
	цинк	гесперидин рутин
	магний	гесперидин рутин глицирризин
	пиридоксаль	лейкодельфинидин эпигаллокатехина галлат пиперин
	тиамин	глицирризин байкалин рутин
	ФАД	глицирризин гесперидин рутин

стандартных отклонений значений AUC, не превышающими погрешность метода (порядка 0.1 у.е. площади под кривой). Исследованные молекулы отличались превосходным уровнем безопасности и существенно поддерживали рост полезной микробиоты: для каждой из молекул значения AUC составили 0.67..0.79 у.е. (в среднем по выборке 38 комменсалов). Наибольший вклад в поддержку полезной микробиоты вносили рутин и глицирризин (AUC 0.78±0.14 у.е.), наименьший – байкалин (AUC 0.66±0.24 у.е.).

Было проведено сравнение хеомикробиомных профилей (рис. 3А) методом метрического анализа. Каждая точка диаграммы на рис. 3А соответствует веществу, а расстояние между точками отражает степень различия в хеомикробиомных профилях (рис. 3Б) [8]. Очевидно, что наиболее близкими эффектами воздействия на микробиом человека отличались биофлаваноиды байкалин, гесперидин, рутин, кверцетин и полифенол куркумин, расположенные в центре диаграммы. Существенные отличия наблюдались для лейкодельфинидина и эпигаллокатехин-3-галлата, расположенных в левой части диаграммы. Особняком стояли глицирризин и пиперин, расположенные вблизи координатных осей диаграммы, что указывает на существенные различия в хеомикробиомных свойствах этих двух молекул по сравнению с остальными.

Из данных на рис. 3А видно, что все исследованные молекулы оказывали положительное действие на полезную микробиоту человека: среднее значение площади под кривой по выборке из 38 представителей микробиома человека составило AUC=0.73±0.11. В наибольшей степени (AUC=0.75 и более) исследуемые молекулы поддерживали рост почти половины представителей микробиома, включая лакто- и бифидобактерии (*Bifidobacterium adolescentis* – составляет до 85% микробиома, поддерживает всасывание и гидролиз жиров, вырабатывают уксусную, молочную, янтарную кислоты, витамины группы B, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus paracasei*).

Все исследованные молекулы в разной степени поддерживали рост и других бактерий-продуцентов короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК): *Dorea formicigenerans*, *Eubacterium rectale* (микробиота толстой кишки, основной продуцент масляной кислоты), *Bacteroides xylanisolvans* (расщепление ксилана и простых сахаров, продуцируют ацетат и пропионат) и другие бактериоиды в составе нормобиоты (*Bacteroides caccae*, *Bacteroides uniformis*). Исследованные молекулы также способствуют росту бактерий, способствующих расщеплению сложных полисахаридов (целлюлоза, гемицеллюлоза, мукополисахариды) для употребления другими представителями микробиоты

ЖКТ (*Clostridium saccharolyticum*, *Parabacteroides merdae*).

Важно отметить, что биофлавоноиды и полифенолы способствуют росту бактерий с иммуномодулирующими эффектами: *Akkermansia muciniphila* (муцин-разлагающая бактерия, тормозит развитие диабета, воспаления, нейродегенерации, синтезирует никотинамид), руминококков *Ruminococcus gnavus* и *Ruminococcus torques* (компоненты нормобиоты, продуцируют антибактериальный руминококцин А, действующий против патогенных клостридий), *Streptococcus parasanguinis* и *Streptococcus salivarius* (регулируют воспалительный ответ, продуцируют бактериоцины против бактерий зубного налёта, оздоравливая микробиом полости рта).

В наименьшей степени (среднее значение $AUC < 0.5$) 9 изученных молекул поддерживали рост *Bacteroides thetaiotaomicron* (гидролизует амилозу, амилопектин, мальтоолигосахариды, поддерживает барьерную функцию слизистой кишечника) и *Collinsella aerofaciens* (ферментируют глюкозу, маннозу, галактозу, фруктозу, мальтозу и лактозу, продуцируют этанол, муравьиную и молочную кислоты).

Хемомикробиомный анализ указал на возможные синергидные взаимодействия между исследованными веществами. В целом, исследованные молекулы существенно поддерживали рост полезной микробиоты: для каждой из молекул значения AUC составили $0.67 \dots 0.79$ у.е. (в среднем по выборке 38 комменсалов). Наибольший вклад в поддержку полезной микробиоты вносили рутин и глицирризин ($AUC \ 0.78 \pm 0.14$ у.е.), наименьший – байкалин ($AUC \ 0.66 \pm 0.24$ у.е.). При совместном применении всех 9 молекул среднее значение AUC возрастает до 0.84 ± 0.06 .

Отдельные примеры подтверждают эту общую тенденцию. В частности, синергидный эффект всех 9 исследованных веществ проявлялся в поддержке бактерий-продуцентов КЦЖК и иммуномодулирующих бактерий. Например, лейкодельфинидин и байкалин практически не поддерживали рост бактерий *Odoribacter splanchnicus* ($AUC \ 0.06 \dots 0.11$ у.е.), модулирующих концентрацию глюкозы и вырабатывающих масляную кислоту, а гесперидин, рутин, кверцетин, ЭГКГ, глицирризин – в существенной мере поддерживают ($AUC \ 0.77 \dots 0.88$ у.е.). Практически идентичная ситуация отмечена и в случае бактерий *Eubacterium eligens* (типичная нормофлора ЖКТ, метаболизируют углеводы с накоплением КЦЖК).

Гесперидин, лейкодельфинидин, рутин, байкалин и глицирризин очень слабо поддерживали рост иммуномодулирующих бактерий *Bacteroides thetaiotaomicron* ($AUC \ 0.03 \dots 0.34$ у.е.), гидролизующих амилозу и поддерживающих барьерную функцию слизистой кишечника. В соответствии с результатами хемомикробиомного анализа, кверцетин ($AUC \ 0.48$ у.е.) и ЭГКГ ($AUC \ 0.77$ у.е.), наоборот, в большей степени поддерживали рост этой разновидности бактерий.

В случае комменсалов *Roseburia hominis* (регулируют иммунитет, производя антимикробные пептиды, поддерживая барьерную функцию

и регулируя Т-лимфоциты) лейкодельфинидин, кверцетин, глицирризин достаточно слабо поддерживали рост бактерий ($AUC \ 0.22 \dots 0.47$), а гесперидин, рутин, байкалин и ЭГКГ – поддерживали ($AUC \ 0.62 \dots 0.73$).

Хемомикробиомные оценки воздействий на различные метаболические пути нормофизиологической микробиоты показали, что все исследованные вещества способствовали усилению биосинтеза убихинона (поддержка митохондрий) и биосинтеза ГАМК (рис. 3В). Гесперидин, кверцетин, байкалин, куркумин способствовали усилению денитрификации. С точки зрения воздействия на метаболизм человека через микробиом, исследованные вещества способствовали повышению уровня аминокислот с разветвлёнными боковыми цепями (изолейцин, лейцин), глутамина и метионина (рис. 3Г).

Анализ с использованием т.н. «уровней биобезопасности» (УББ) бактериальных штаммов показал, что исследованные вещества отличались превосходным уровнем безопасности и способствовали росту более безопасных бактерий (УББ-1). Напомним, что УББ-1 соответствует микроорганизмам, которые не вызывают заболевания у здоровых людей и полностью соответствует стандартным правилам работы в лаборатории, а УББ-2 – микроорганизмам с умеренной потенциальной опасностью, работа с которыми требует использования защитной маски, халата, перчаток [16]. Всем веществам (за исключением ЭГКГ) соответствовали более высокие значения AUC для УББ-1, чем для УББ-2 (отрицательный наклон корреляционной прямой на рис. 3Д), что соответствует преимущественной поддержке исследуемыми веществами более безопасных бактерий. Для ЭГКГ наблюдался положительный наклон корреляционной прямой.

Хемомикробиомные оценки процента переработки исследуемых веществ микробиомом человека были получены для бактерий в культуре и для добровольцев с различными профилями микробиома. Оценки для бактерий в культуре (рис. 4А, Б) показали, что нормобиотой наиболее активно перерабатывается глицирризин ($19.2 \pm 12.1\%$), наименее активно – пиперин ($6.0 \pm 5.9\%$). Наиболее активными бактериями метаболиторами исследованных веществ являлись различные бактерии рода *Bacteroides* (более 30%), наименее активными – бактерии рода *Collinsella* (<1%).

Результаты хемомикробиомного анализа исследованных молекул у добровольцев с различными профилями микробиома подтвердили, что исследованные вещества достоверно не способствуют росту патогенной флоры. В среднем для пациентов с выраженным патогенным характером микробиоты (преобладание *Clostridium perfringens* и патогенных бактериоидов) не было найдено достоверных отличий в значениях долей остающегося вещества (0.70 у.е., рис. 4Б) по сравнению с пациентами со здоровой микробиотой (0.65 у.е. $P > 0.1$). Наибольшие отличия между этими подгруппами пациентов наблюдались для лейкодельфинидина (патогенный микробиом – 0.69 ± 0.05 , нормобиом – 0.75 ± 0.17), но и они не достигали уровня статистической значимости ($P = 0.109$).

Воздействие исследованных веществ на рост патогенных микроорганизмов

Хемомикробиомный анализ величин МИС исследованных молекул при воздействии на 152 штамма болезнетворных бактерий показал, что исследованные вещества могут тормозить рост патогенов *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* (значения МИС порядка 10–25 мкг/мл). Оценки были получены в виде минимальных ингибирующих концентраций (латинская аббревиатура МИС, таблица 3, рис. 5). Напомним, что более низкие значения МИС для того или иного вещества соответствуют более эффективному ингибированию бактериального роста этим веществом.

В соответствии с результатами хемомикробиомного анализа, наиболее сильное антибактериальное действие исследованных веществ можно ожидать по отношению к бактериям *Cryptococcus neoformans*, вызывающим криптококкоз, дыхательную недостаточность, поражения головного и спинного мозга. Значения МИС для *Cryptococcus neoformans* в среднем по молекулам составили 9±2 мкг/мл. Напомним, что эффективным считается антибиотик со значениям МИС порядка 4,5 мкг/мл. Наиболее эффективным было антибактериальное действие гесперидина (МИС=6±4 мкг/мл).

Исследованные молекулы могут ингибировать рост грибов *Candida glabrata* (ср. знач. МИС=12±4 мкг/мл) – третьей по частоте встречаемости причине кандидоза при иммунодефиците человека (поражает урогенитальный тракт, может вызывать системную инфекцию). Наиболее эффективное антигрибковое действие могут проявлять глицирризин (МИС=5±3 мкг/мл) и гесперидин (МИС=7±5

мкг/мл). Антигрибковое действие исследованных веществ существенно слабее по отношению к грибам *Candida albicans* (МИС=17±4 мкг/мл), которые присутствуют у 80% обследованных и при иммунодефиците могут вызывать кандидозы (молочница, больничные инфекции).

Несколько более слабые антибактериальные эффекты 9 молекул наблюдались на возбудителях внутрибольничных инфекций *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* (МИС=14...17 мкг/мл). *Staphylococcus epidermidis* формирует биопленки на катетерах, эндокардит; наиболее активной молекулой являлся рутин (МИС=10±5 мкг/мл). *Streptococcus pneumoniae* – возбудитель внебольничной пневмонии, менингита, среднего отита, синусита, эндокардита, септического артрита, перитонита; наиболее активными были лейкодельфинидин, кверцетин, байкалин, глицирризин, пиперин (МИС=14±12 мкг/мл). Бактериальная инфекция *Klebsiella pneumoniae* – причина внутрибольничных инфекций (включая пневмонию, сепсис, инфекции мочевыводящих путей, бактериемию, менингит, абсцессы в печени); наиболее активны были кверцетин, байкалин и ЭГКГ (МИС=11±11 мкг/мл).

Самое слабое антибактериальное действие 9 исследованных веществ можно ожидать по отношению к другой группе возбудителей внутрибольничных инфекций – *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes* (средние значения МИС в диапазоне 24...38 мкг/мл). По отношению к этим инфекциям все исследованные молекулы проявляли достаточно слабые антибактериальные эффекты (значения МИС не менее 20 мкг/мл).

Таблица 3. Средние значения МИС (в мкг/мл) для различных бактериальных и грибковых патогенов. «n» число штаммов патогена, изученных в ходе хемомикробиомного анализа

Патоген	n	Гесперидин	Лейкодельфинидин	Рутин	Кверцетин	Байкалин	Куркумин	ЭГКГ	Глицирризин	Пиперин
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6	26±25	24±22	31±36	27±21	31±36	35±34	18±18	19±19	27±25
<i>Candida albicans</i>	15	14±13	17±16	15±11	15±13	16±14	14±10	15±15	24±23	24±24
<i>Candida glabrata</i>	5	17±15	7±5	13±15	12±11	12±11	18±18	13±12	5±3	15±15
<i>Cryptococcus neoformans</i>	6	12±7	6±4	10±5	7±6	7±5	10±5	8±7	8±5	9±5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10	20±18	12±11	16±15	11±11	11±10	17±17	11±11	19±18	35±35
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21	31±26	33±32	34±30	37±37	35±36	33±33	33±33	30±30	31±31
<i>Staphylococcus aureus</i>	41	31±18	32±22	30±19	30±22	25±17	33±24	33±24	32±23	29±23
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7	13±6	16±15	10±5	15±13	15±13	13±6	16±15	12±5	13±10
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	17	18±16	14±12	17±13	15±13	14±10	14±12	16±12	15±10	14±13
<i>Streptococcus pyogenes</i>	8	35±30	32±42	26±24	26±24	30±29	30±25	34±43	35±43	38±38

Очевидно, что в случае подавляющего большинства исследованных штаммов матогено говорить о выраженном антибактериальном действии молекул не приходится: значения MIC достаточно велики – гораздо выше более 20..30 мкг/мл

(эффективными считают антибактериальные препараты со значениями MIC менее 5 мкг/мл). Однако, эти эффекты 9 молекул могут способствовать элиминации антибиотик-резистентных штаммов указанных патогенных микроорганизмов.

Заключение

Ряд специфических биофлавоноидов и полифенолов проявляют комплекс противовирусных, противовоспалительных и иммуномодулирующих свойств, важных для терапии COVID-19 и других вирусных заболеваний дыхательных путей. При исследовании молекул перспективных лекарственных важно оценивать их пребиотические/антибиотические свойства, т.е. воздействие на рост полезной микробиоты кишечника. В настоящем исследовании получены результаты хеомикробиомного анализа 5 биофлавоноидов (гесперидин, лейкодельфинидин, рутин, кверцетин, байкалин), 2 полифенолов (куркумин, эпигаллокатехин галлат) и синергидных им веществ (сапонина глицирризина и алкалоида пиперина) для 38 бактерий-комменсалов человека и для 152 патогенных штаммов. Хеомикробиомный анализ включил оценки (1) накопления исследуемых молекул в различных клетках/тканях, (2) влияния на площадь под кривой роста бактерий комменсалов (AUC), (3) воздействий на различные метаболические пути нормофизиологической микробиоты, (4) степени переработки исследуемых веществ бактериями микробиома (на бактериях в культуре и у добровольцев с различными профилями микробиома), и (5) минимальные ингибирующие концентрации (MIC) веществ для различных штаммов бактериальных и грибковых патогенов. Показано, исследованные молекулы отличались превосходным уровнем безопасности и существенно поддерживали рост полезной микробиоты: для каждой из молекул значения AUC составили 0.67..0.79 у.е. (в среднем по выборке 38 комменсалов). Наибольший вклад в поддержку полезной микробиоты вносили рутин и глицирризин (AUC 0.78 ± 0.14 у.е.), наименьший – байкалин (AUC 0.66 ± 0.24 у.е.). При этом, установлено синергидное взаимодействие между

исследованными веществами: при их совместном применении среднее значение AUC может возрасти до 0.84 ± 0.06 . Нормобиотой наиболее активно перерабатывается глицирризин ($19.2 \pm 12.1\%$), наименее активно – пиперин ($6.0 \pm 5.9\%$). Наиболее активными бактериями метаболиторами исследованных веществ являлись различные бактерии рода *Bacteroides* (более 30%), наименее активными – бактерии рода *Collinsella* (<1%). Результаты хеомикробиомного анализа исследованных молекул у добровольцев с различными профилями микробиома подтвердили, что исследованные вещества достоверно не способствуют росту патогенной флоры. Исследованные вещества могут несколько тормозить рост патогенных *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* (значения MIC порядка 10–25 мкг/мл).

В арсенале средств реабилитации пациентов после COVID-19 и других вирусных заболеваний дыхательных путей, появилась фитоформула «Валеоникс» (пр-во Uniland Swiss Holding, Швейцария). Фитоформула представляет собой комплекс полностью натуральных растительных экстрактов, содержащих биофлавоноиды, полифенолы и другие биологически активные компоненты, обладающие взаимно активирующим действием и улучшающих фармакокинетику как отдельных составляющих, так и формулы в целом. Учитывая установленное позитивное влияние ряда биофлавоноидов и полифенолов на микробиоту кишечника, применение фитоформулы Валеоникс может оказаться полезным при восстановлении пациентов после тяжёлых заболеваний дыхательных путей, сопровождающихся дисбиозом кишечника.

Литература | References

1. Torshin I. Yu., Gromova O. A. Micronutrients against coronaviruses. (edd. A. G. Chuchalin) Yesterday Today Tomorrow. Moscow. GEOTAR-Media. 2023. 448 p. (in Russ.) ISBN 978–5–9704–7786–1.
Торшин И. Ю., Громова О. А. (ред. Чучалин А. Г.). Микронутриенты против коронавирусов. Вчера, сегодня, завтра. ГЕОТАР-Медиа, 2023, 448 с., ISBN 978–5–9704–7786–1.
2. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Chuchalin A. G. Systematic computer analysis of the pharmacology of bioflavonoids in the context of increasing the body's antiviral defenses. *FARMAKOЭКОНОМИКА. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2023; 16 (1): 90–109. (in Russ.) doi: 10.17749/2070–4909/farmakoekonomika.2023.162.90.109
3. Torshin I. Yu., Gromova O. A., Zakcharova I. N., Maximov V. A. Hemomikrobiomny lactitol analysis. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2019;(4):111–121. (In Russ.) doi: 10.31146/1682–8658-ecg-164–4–111–121.
Торшин И. Ю., Громова О. А., Захарова И. Н., Максимов В. А. Хеомикробиомный анализ Лактитола. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.

- 2019;164(4):111–121. doi: 10.31146/1682–8658-ecg-164–4–111–121.
4. Torshin I. Yu., Galustyan A. N., Ivanova M. I., Khadzhdidis A. K., Gromova O. A. Chemomicrobiome Analysis of Synergism of D-mannose and D-fructose in Comparison with Other Metabiotics. *Effective pharmacotherapy*. 2020;16(4):8–18. (in Russ.) doi: 10.33978/2307–3586–2020–16–8–18.
Торшин И. Ю., Галустян А. Н., Иванова М. И., Хаджидис А. К., Громова О. А. Хеомикробиомный анализ синергизма D-маннозы и D-фруктозы в сравнении с другими метабитами. Эффективная фармакотерапия. 2020;16(4):8–18. doi: 10.33978/2307–3586–2020–16–8–18.
 5. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Naumov A. V., Maksimov V. A. Chemomicrobiomic analysis of glucosamine sulfate, prebiotics and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2020;13(3):270–282. (In Russ.) doi: 10.17749/2070–4909/farmakoeconomika.2020.049.
Громова О. А., Торшин И. Ю., Наумов А. В., Максимов В. А. Хеомикробиомный анализ глюкозамина сульфата, пребиотиков и нестероидных противовоспалительных препаратов. ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. 2020;13(3):270–282. doi: 10.17749/2070–4909/farmakoeconomika.2020.049.
 6. Torshin I. Yu., Rudakov K. V. On metric spaces arising during formalization of problems of recognition and classification. Part 2: Density properties. *Pattern Recognit. Image Anal.* 2016;26(3):483–496.
 7. Torshin I. Y. Optimal dictionaries of the final information on the basis of the solvability criterion and their applications in bioinformatics. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2013;23(2):319–327.
 8. Torshin I. Yu., Rudakov K. V. On the theoretical basis of metric analysis of poorly formalized problems of recognition and classification. *Pattern Recognition and Image Analysis*. 2015;25(4):577–587.
 9. Torshin I. Y. The study of the solvability of the genome annotation problem on sets of elementary motifs. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2011;21(4):652–662.
 10. Torshin I. Yu., Rudakov K. V. On the procedures of generation of numerical features over the splits of a set of objects and the problem of prediction of numeric target variables. *Pattern Recognition and Image Analysis*. 2019;29(2):65–75.
 11. Maier L., Pruteanu M., Kuhn M. et al. Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. *Nature*. 2018 Mar 29;555(7698):623–628. doi: 10.1038/nature25979.
 12. A framework for human microbiome research. *Nature*. 2012 Jun 13;486(7402):215–21. doi: 10.1038/nature11209.
 13. The Integrative Human Microbiome Project: dynamic analysis of microbiome-host omics profiles during periods of human health and disease. *Cell Host Microbe*. 2014 Sep 10;16(3):276–89. doi: 10.1016/j.chom.2014.08.014.
 14. Kim S., Chen J., Cheng T. et al. PubChem 2019 update: improved access to chemical data. *Nucleic Acids Res*. 2019 Jan 8;47(D1): D1102–D1109. doi: 10.1093/nar/gky1033.
 15. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Maksimov V. A. Chemomicrobiome analysis of the ornithine molecule. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2021;194(10):131–136. (In Russ.) doi: 10.31146/1682–8658-ecg-194–10–131–136.
Громова О. А., Торшин И. Ю., Максимов В. А. Хеомикробиомный анализ молекулы орнитина. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021;194(10): 131–136. doi: 10.31146/1682–8658-ecg-194–10–131–136.
 16. Barkham TM. Laboratory safety aspects of SARS at Biosafety Level 2. *Ann Acad Med Singapore*. 2004 Mar;33(2):252–6. PMID: 15098644

К статье

Хеомикробиомное исследование пребиотических и антибиотических свойств биофлавоноидов и полифенолов, перспективных для лечения COVID-19 и других вирусных инфекций (стр. 68–76)

To article

Chemomicrobiome study of prebiotic and antibiotic properties of bioflavonoids and polyphenols, promising for the treatment of COVID-19 and other viral infections (p. 68–76)

Рисунок 2.
Оценки вероятностей накопления исследованных молекул в различных клетках, тканях и биосубстратах человека

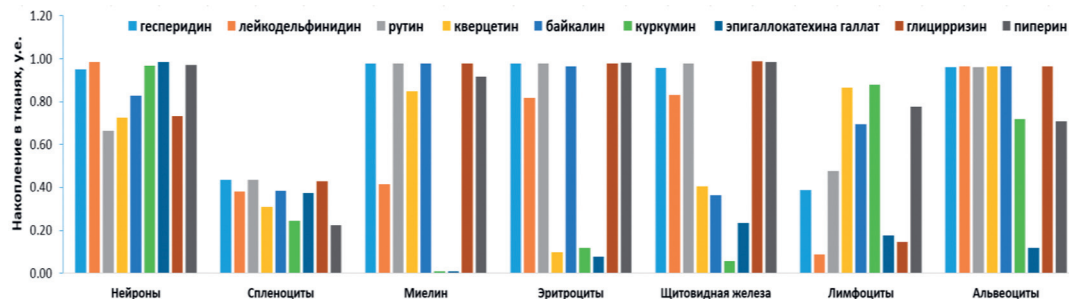


Рисунок 3.

Профили воздействия исследованных молекул на микробиом человека.

А) Воздействие на площадь под кривой роста соответствующего комменсала (AUC). Ширина каждого прямоугольника пропорциональна соответствующему значению AUC.

Б) Сравнение хе-момикробиомных профилей методом метрического анализа. Каждая точка соответствует веществу, расстояние между точками – оценке различий в эффектах на микробиом (по метрике Колмогорова) между профилями на слайде (А).

В) Метаболомные эффекты исследованных веществ: бактерии.

Г) Метаболомные эффекты: организм человека.

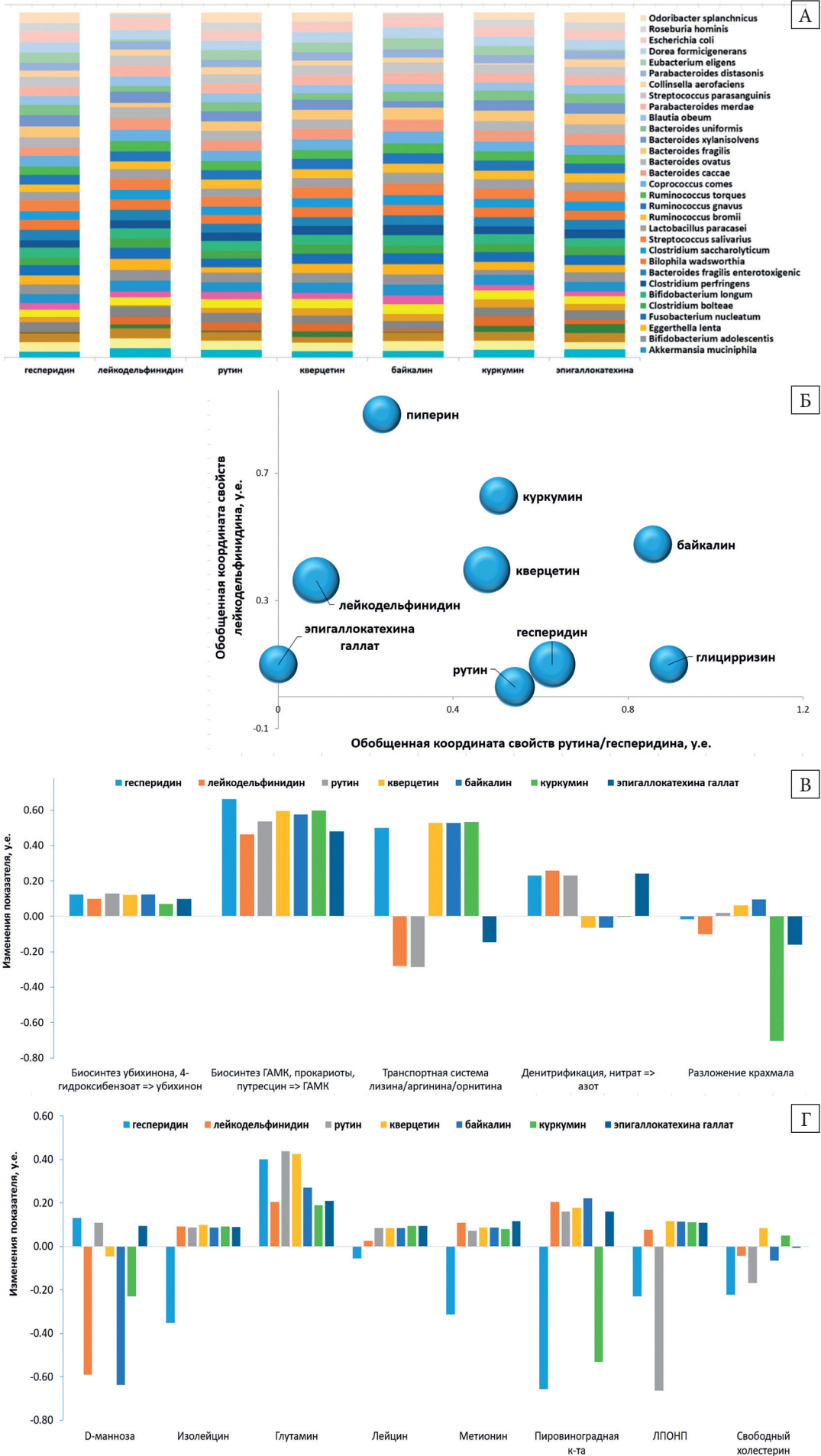


Рисунок 3. Профили воздействия исследованных молекул на микробиом человека.

Д) Корреляции между уровнем биобезопасности и эффектам различных пребиотиков на рост бактерий-комменсалов микробиома ЖКТ человека. R^2 , значения квадрата коэффициента корреляции

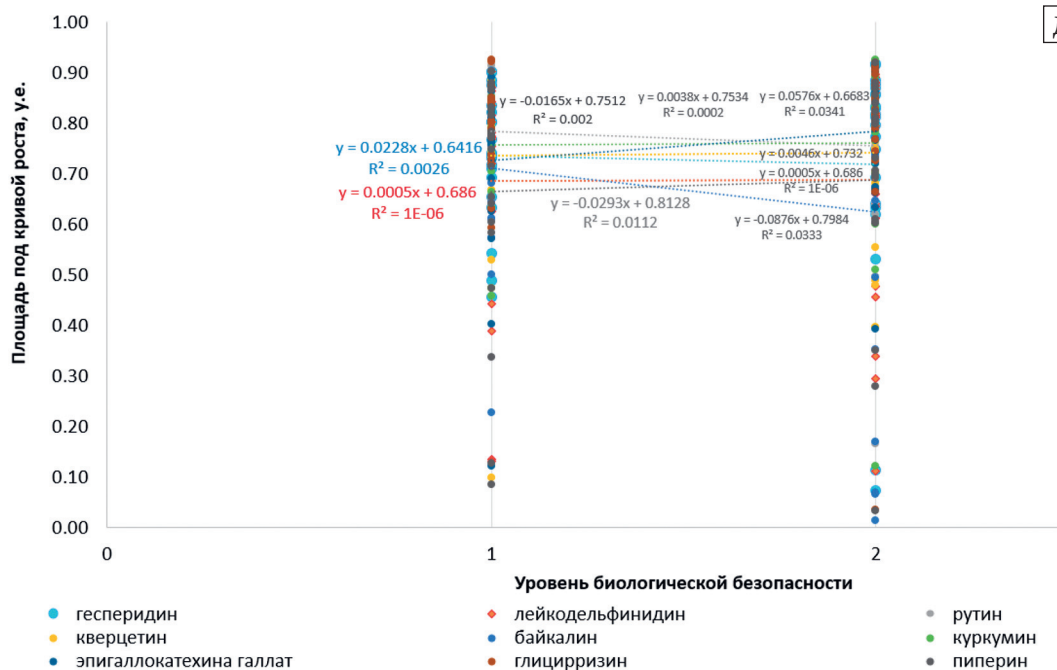


Рисунок 4. Хемомикробиомные оценки процента переработки исследуемых веществ.

А) для бактерий в культуре;
Б) для добровольцев с различными профилями микробиома. Хемомикробиомное моделирование эффектов исследованных молекул у различных пациентов (n=20). Красным обведены пациенты с преобладанием патогенной флоры ЖКТ (клостридии, бактериоды)

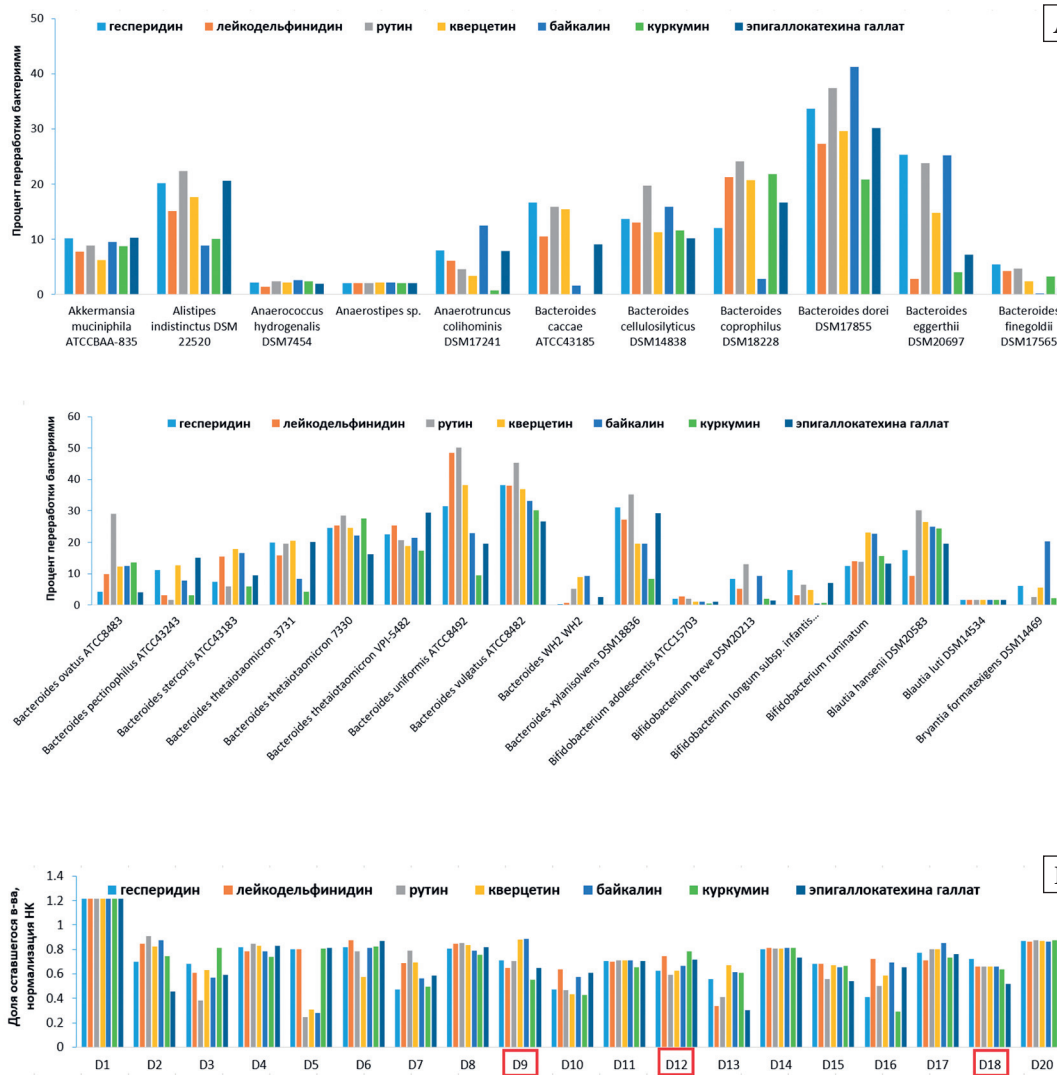


Рисунок 5.
Хеомикробный анализ значений МИС (мкг/мл) для штаммов различных патогенных микроорганизмов

