ИНСТИТУТ ХИМИИ ИМЕНИ В.И. НИКИТИНА НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК ТАДЖИКИСТАНА
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ НАСЕЛЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН

УДК 615.454:547.458.88:579.67

На правах рукописи

БОБОКАЛОНОВ ДЖАМШЕД ТОЛЕХМУРОДОВИЧ

РАЗРАБОТКА СИСТЕМ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ПЕКТИНА И ЕГО РОЛЬ В МОДУЛЯЦИИ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальностям 3.4.1. Технология получения лекарств и 3.4.5. Фармакология, клиническая фармакология

Душанбе – 2026 г.

Диссертация выполнена в Институте химии имени В.И. Никитина Национальной Академии наук Таджикистана и в Научно-исследовательском фармацевтическом центре Министерства здравоохранения и социальной защиты населения Республики Таджикистан

Научные консультанты:	**Юсуфи Саломудин Джабор –** д.фарм.н., профессор, академик НАНТ, научный консультант научно-исследовательского фармацевтического центра при Министерстве здравоохранения и социальной защиты населения Республики Таджикистан **Мухиддин Зайниддин Камар** – д.х.н., профессор, заведующей лаборатории «Химии высокомолекулярных и биологически активных соединений» Института химии им. В.И. Никитина НАНТ
Официальные оппоненты:	**Бобизода Гуломкодир Муккамал -** доктор фармацевтических наук, профессор кафедры органической и биологической химии ГОУ «Таджикский государственный педагогический университет имени Садриддина Айни»; **Саторов Саидбег -** доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии НОУ «Медико-социальный институт Таджикистана»; **Авезов Сайфулло Абдуллоевич** - доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, ГУ «Институт гастроэнтерологии» Министерство здравоохранения и социальной защиты населения Республики Таджикистан.
Ведущее учреждение:	НАО «Карагандинский медицинский университет имени Петра Поспелова», г. Караганда, Казахстан.

Защита диссертации состоится «____» _____ 2027 года в «____» часов на заседании диссертационного совета 6DKOA-031 при ГОУ «ТГМУ им. Абуали ибни Сино». Адрес: 734026, Республика Таджикистан, г. Душанбе, район Сомони, пр. Рудаки,139., www.tajmedun.tj тел: +992 979784747

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ «Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино»

Автореферат разослан «____» _____ 2026 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент **Юлдашева У.П.**

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. «Одним из направлений развития современной фармацевтической технологии является создание систем направленной доставки лекарственных средств, которые обеспечивают высвобождение действующих веществ в назначенных отделах желудочно-кишечного тракта (ЖКТ)» [1–3]. «При разработке таких систем особое значение имеет взаимодействие лекарственных средств с микробиотой кишечника, которая может влиять на их метаболизм и фармакологическое параметры» [4,5]. «Инфекционные заболевания ЖКТ (включая амебиаз), воспалительные патологии кишечника и общие дисбиозы обуславливают высокую потребность в препаратах, которые действуют локально и минимально влияют на нормальную микрофлору [2]».

«В связи с этим особый интерес представляют биополимерные носители природного происхождения, в частности пектин и зеин, обеспечивающие пролонгированное высвобождение лекарств. Пектины обладают способностью к избирательной деградации в толстом кишечнике и оказывают пребиотическое воздействие [6,7], а зеин (кукурузный проламиновый белок) формирует гидрофобную матрицу [8,9], защищающую пектин от набухания и от преждевременного высвобождения активного вещества. Совместное применение пектина и зеина в составе гидрогелевых микросфер актуально для разработки лекарственных форм, которые обеспечивают пролонгированное высвобождение действующего вещества. Такие системы могут быть использованы при разработке препаратов для борьбы с патогенными микроорганизмами, восстановления нормальной микрофлоры кишечника, удобства в применении и для пролонгирования терапевтического эффекта» [8].

«В связи с этим разработка систем доставки лекарственных средств на основе пектина и зеина остаётся актуальным направлением фармацевтической технологии, многие аспекты которого ещё недостаточно изучены. Важную роль при этом играет разработка способа очистки пектина» [10,11]. «Традиционный метод очистки, основана на спиртовом осаждении, не позволяет полностью удалить сопутствующие низкомолекулярные примеси. Их содержание и состав зависят от используемого сырья, а также от условий получения пектина» [12]. Наличие таких примесей затрудняет стандартизацию пектина, поэтому разработка методов получения фармакопейного пектина со стабильными и воспроизводимыми характеристиками имеет практическое значение.

«Наряду с этим поведение пектин-зеиновых систем доставки лекарственных средств в условиях, приближённых к физиологической среде желудочно-кишечного тракта остаётся недостаточно изученным. К примеру, необходимы провести исследования с использованием моделей *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo* [13,14]. Также, отсутствует комплексный подход к оценке фармакокинетики высвобождения лекарственных веществ из данных систем (*in vitro* - *in vivo* и *ex vivo* - *in vivo* – корреляции), их эффективность при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта инфекционной природы» [15].

«Важным направлением исследований является изучение взаимодействия растительных полисахаридов и пробиотиков с кишечной микробиотой. Кроме

того, открытым остаётся вопросы как растворимые и нерастворимые пищевые волокна (полисахариды) изменяют таксономический состав микробных сообществ и образование короткоцепочечных жирных кислот, причём все пре- и пробиотики одинокого модулируют кишечную микробиоту, от каких факторов завысять эти изменение. Не менее важным является изучение способен ли пробиотический штамм *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG сохраняться в кишечной среде, оказыват влияние на состав и метаболическую активность микробных сообществ. Поэтому изучение этих процессов позволяет разграничить влияние пребиотических субстратов и пробиотических микроорганизмов на структуру и функциональные свойства кишечной микробиоты и могут служит основой для оценки пребиотических свойств других полисахаридов для их применения в системах доставки лекарственных средств» [17,18].

«Дополнительный интерес представляет изучение влияния пектина на структуру и метаболическую активность кишечной микробиоты» [16]. «Недостаточно исследованы вопросы применения пребиотических полимеров и пробиотических микроорганизмов, а также особенности функционирования данной платформы в условиях кишечной среды» [17,18].

Таким образом, необходимость разработки, комплексного исследования и обоснования пектин-зеиновых систем доставки лекарственных средств с учётом технологических, фармакокинетических и микробиологических аспектов определяет актуальность настоящего исследования.

Степень научной разработанности изучаемой проблемы. В научной литературе достаточно подробно освещены физико-химические свойства пектина и зеина, методы их получения и применения в пищевой, биотехнологической и фармацевтической отраслях [6,8–10]. Показано, что пектин способен образовывать гидрогелевые структуры, подвергаться ферментативной деградации в толстом кишечнике и влиять на кишечную микробиоту [7,19,20]. Зеин, благодаря гидрофобным свойствам, рассматривается как перспективный компонент для стабилизации полимерных матриц и замедления высвобождения лекарственных веществ [8,9].

Наряду с этим недостаточно изучено совместное применение пектина и зеина в составе гидрогелевых микросфер. В литературе, данные о влиянии способа очистки пектина, его молекулярной массы и степени этерификации на формирование пектин-зеиновых систем, инкапсуляцию лекарственного вещества и кинетику его высвобождения представлены ограниченно [10–13]. Также недостаточно разработаны подходы к оценке таких систем в условиях *in vitro, ex vivo* и *in vivo*, включая установление корреляционной зависимости IVIVC и EVIVC.

Изучение влияния структурно различных пектинов, пребиотических и пробиотических компонентов на состав и метаболическую активность микробиоты кишечника требует отдельного внимания [16–18]. Кроме того, ограниченно освещены клинические аспекты применения комбинации «пектин–антибиотик» при кишечных инфекциях [15]. Поэтому комплексное исследование пектин-зеиновых систем доставки с учётом технологических,

фармакокинетических, микробиологических и клинических аспектов остаётся актуальной научной задачей.

Связь исследования с программами (проектами) и научной тематикой. Работа соответствует приоритетам Стратегии Республики Таджикистан в области науки и техники на 2011 - 2020 годы и Государственной программы развития фармацевтической промышленности Республики Таджикистан на 2021 - 2025 годы, направленных на развитие научно-технологического потенциала и создание отечественных лекарственных средств. Исследование выполнено в соответствии с планом НИР Института химии им. В.И. Никитина Национальной академии наук Таджикистана по теме “Создание носителей лекарственных веществ и пищевых ингредиентов на основе биополимеров” (№ ГР 0116TJ00543), а также в рамках реализации международных проектов Международного научно-технического центра (МНТЦ Т-1419, Т-1420).

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель исследования. Целью настоящего исследования является теоретико-экспериментальное обоснование принципов создания систем доставки лекарственных средств на основе пектина и зеина, оценка их эффективности, изучение модулирующего влияния биополимеров на кишечную микробиоту и обоснование возможности оптимизации направленной терапии заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Задачи исследования. Для достижения этой цели необходимо решить следующие задачи:

1. Разработать способ очистки пектина для получения стандартизированного (фармакопейного) продукта и определить его физико-химические характеристики.
2. Разработать технологию получения кукурузного белка зеина и определить его физико-химические характеристики.
3. Разработать технологию получения гидрогелевых микросфер на основе композита пектин–зеин и установить их способность к инкапсулированию лекарственного средства и обеспечению пролонгированного высвобождения.
4. Установить влияние состава пектин-зеиновой системы и условий её формирования на структурно-функциональные характеристики микросфер, степень инкапсуляции и кинетику высвобождения лекарственного вещества.
5. Провести фармакокинетические исследования разработанных пектин-зеиновых микросфер в системах *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*.
6. Выявить корреляционные зависимости между результатами *in vitro*-, *ex vivo*- и *in vivo*- исследований (IVIVC, EVIVC) и оценить возможность прогнозирования *in vivo* поведения лекарственного средства.
7. Сравнить одно- и трёхкамерные модели толстого кишечника по воспроизведению структуры и функциональной активности кишечной микробиоты. Оценить влияние уровня pH среды на структуру микробного сообщества и продукцию короткоцепочечных жирных кислот.

8. Изучить воздействие пектина различной структуры на состав и метаболическую активность кишечной микробиоты.
9. Установить влияние пребиотических и пробиотических компонентов на структуру и функциональную активность кишечной микробиоты.
10. Исследовать эффективность комбинации “пектин–антибиотик” на клиническое течение заболевания и показатели выздоровления больных с инфекциями желудочно-кишечного тракта.

Объект исследования. Объектами исследования являются биополимеры (пектин, зеин), системы доставки лекарственных средств на их основе, а также пребиотические компоненты и пробиотические штаммы, влияющие на кишечную микробиоту.

Предмет исследования. Предметом исследования являются структурно-функциональные характеристики пектина, полученного различными способами технологической очистки, и закономерности получения зеина из кукурузы; механизмы формирования и стабилизации гидрогелевых микросфер “пектин–зеин”; влияние биополимеров, пребиотических и пробиотических компонентов на структуру и метаболическую активность кишечной микробиоты; фармакокинетические параметры и модели, основанные на данных *in vitro* -, *ex vivo* - и *in vivo* - исследований; клиническая эффективность пектинсодержащих композиций в комплексной терапии инфекционных заболеваний кишечника.

Научная новизна исследования

- Выявлены закономерности влияния методов технологической очистки пектина на его молекулярно-массовое распределение, структура, степень этерификации, определяющие способность биополимера формировать матричные системы контролируемого высвобождения лекарственных веществ.
- Научно обоснованы принципы формирования композиционных гидрогелевых систем на основе пектина и зеина; раскрыты механизмы их межмолекулярного взаимодействия при варьировании состава и природы сшивающих агентов, а также определены рациональные условия получения микросфер с регулируемой кинетикой высвобождения лекарственного вещества.
- Выявлены молекулярно-структурные характеристики пектина (молекулярная масса, степень этерификации), определяющие его влияние на метаболическую активность кишечной микробиоты; установлено влияние pH среды, пре- и пробиотических компонентов на структуру микробных сообществ и уровню короткоцепочечных жирных кислот.
- Разработан подход к фармакокинетической оценке биополимерных систем доставки лекарственных средств, объединяющий результаты *in vitro* -, *ex vivo* - и *in vivo* - исследований, что позволило установить взаимосвязь между структурными параметрами матрицы и фармакокинетическими параметрами лекарственного средства.
- Установлена взаимосвязь между молекулярной массой, степенью этерификации и функциональной активностью пектина, что позволяет

прогнозировать его влияние на процессы формирования систем доставки лекарственных средств.

- Осуществлена клинико-экспериментальная оценка комбинации «пектин–антибиотик» и показано, что включение пектина терапию способствует улучшению клинического течения заболевания и изменяет фармакокинетический профиль антибиотика.

Теоретическая и научно-практическая значимость исследования. Теоретическая значимость работы состоит в научном обосновании применения пектина при создании систем доставки лекарственных средств с учётом его структуры и взаимодействия с кишечной микробиотой. В ходе исследования получены новые сведения о формировании пектин-зеиновых гидрогелевых матриц и особенностях высвобождения и абсорбции лекарственного вещества, также показана роль молекулярной массы и степени этерификации пектина в изменении состава и метаболической активности кишечной микробиоты. Установленные корреляции *in vitro–in vivo* и *ex vivo–in vivo* могут быть использованы для прогнозирование поведение разработанных систем в организме и при разработке пектин-зеиновых матриц с другими лекарственными веществами.

Научно-практическая значимость исследования связана с разработкой способа очистки пектина и технологии получения пектин-зеиновых гидрогелевых микросфер, возможности регулировать высвобождение лекарственного вещества путём изменения состава и условий формирования микросфер. Разработанные системы доставки лекарственных средств представляет интерес для создания лекарственных форм пролонгированного действия, в том числе предназначенных для доставки лекарственных средств в толстый кишечник. Полученные данные могут использоваться при выборе состава полимерной матрицы и оценке их фармакокинетических характеристик, а результаты клинического исследования комбинации яблочного пектина с метронидазолом дают основание для дальнейшего изучения её применения в комплексной терапии кишечных инфекций.

Положения, выносимые на защиту

1. Влияние технологических способов очистки пектина на его химический состав, молекулярно-структурные характеристики и применимость в фармации для получения гидрогелевых систем доставки лекарственных средств.
2. Оптимальные технологические условия получения зеина из растительного сырья и особенности технологического процесса получения гидрогелевых микросфер, связанные с межмолекулярными взаимодействиями пектинов с зеином.
3. Зависимость свойств пектин-зеиновых микросфер, степени инкапсуляции и скорости высвобождения лекарственного вещества от соотношения и характеристик исходных биополимеров, а также от природы сшивающего двухвалентного катиона.
4. Пролонгированное, контролируемое высвобождение пироксикама из пектин-зеиновых микросфер и корреляционные зависимости между результатами

исследований *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*, разработка на их основе моделей IVIVC и EVIVC позволяющих прогнозировать *in vivo* фармакокинетические параметры инкапсулированного лекарственного вещества.

5. Влияние молекулярной массы и степени этерификации пектина, условий культивирования, растворимых и нерастворимых фракций полисахаридов и пробиотического штамма *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG на структуру и функцию микробного сообщества кишечника. Особенности воспроизведения региональных различий кишечной микробиоты в однокамерной и трёхкамерной моделях толстой кишки.
6. Влияние совместного применения пектина и метронидазола на течение кишечных инфекций, сроки клинического выздоровления пациентов и фармакокинетические показатели лекарственного средства.

Степень достоверности результатов. Достоверность и обоснованность полученных результатов обеспечены применением комплекса современных взаимодополняющих физико-химических, микробиологических и биоинформационных методов, адекватных поставленным задачам исследования, а также воспроизводимостью экспериментальных данных и их статистической обработкой.

В работе использованы методы ИК- и УФ-спектроскопии, реометрии, ВЭЖХ, ГХ-МС, двумерной ЯМР-спектроскопии и секвенирования следующего поколения (Illumina/Solexa), совокупное применение которых позволило достоверно подтвердить структурные характеристики биополимеров и особенности их взаимодействия.

Достоверность технологических и фармакокинетических результатов подтверждена воспроизводимостью экспериментов, контролем технологических параметров и согласованностью данных, полученных в системах *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*. Установленные корреляционные зависимости (IVIVC, EVIVC) подтверждают надёжность и сопоставимость полученных результатов.

Обработка данных микробиоты выполнена с использованием современных биоинформационных методов, обеспечивающих корректность таксономической и функциональной интерпретации. Статистическая значимость результатов подтверждена применением методов PERMANOVA, ANOVA и линейных моделей с коррекцией множественных сравнений.

Клиническая часть исследования проведена с использованием сопоставимых групп пациентов и стандартизированных критериев оценки эффективности терапии, что обеспечивает достоверность клинических результатов и их согласованность с экспериментальными данными.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа посвящена разработке биополимерных систем доставки лекарственных средств на основе пектина и зеина, а также исследованию их физико-химических, фармакокинетических и микробиологических свойств. Исследования затрагивают вопросы технологии получения лекарственных форм, биофармацевтических аспектов и фармакологической оценки эффективности

лекарственных систем и соответствуют паспорту специальности ВАК при Президенте Республики Таджикистан по следующим научным специальностям.

По специальности 3.4.1. «Технология получения лекарств» работа соответствует разделу II, подпунктам: п. 3 – разработка технологий получения субстанций и готовых лекарственных форм, так как разработаны технологии получения биополимерных систем доставки на основе пектина и зеина и формирования гидрогелевых микросфер с пролонгированным высвобождением; п. 4 – исследование особенностей технологии получения лекарственных форм, поскольку изучены физико-химические и структурные характеристики пектина, полученного различными методами очистки, и установлены особенности формирования композиционных систем пектин–зеин; п. 6 – исследование биофармацевтических аспектов, так как изучены процессы инкапсуляции, влияние сшивающих агентов и кинетика высвобождения лекарственного вещества; п. 8 – совершенствование технологии получения лекарственных средств, в рамках которого предложены технологические подходы получения микросфер с определенными характеристиками.

По специальности 3.4.5 «Фармакология, клиническая фармакология» работа соответствует разделу II, подпунктам: п. 3 – исследование механизмов действия фармакологических веществ, так как изучено влияние пектина на кишечную микробиоту и продукцию короткоцепочечных жирных кислот; п. 4 – исследование фармакокинетики и взаимодействия лекарственных средств с организмом, поскольку установлено влияние структуры биополимерных систем на фармакокинетические параметры лекарственного вещества; п. 11 – изучение клинической эффективности, так как проведена клиническая оценка применения пектина при кишечных инфекциях; п. 13 – разработка методов математического моделирования, в рамках которого применены подходы IVIVC и EVIVC для сопоставления результатов *in vitro* -, *ex vivo* - и *in vivo* - исследований и прогнозирования поведения лекарственных систем.

Содержание диссертации, полученные научные результаты, а также сформулированные выводы и практические рекомендации соответствуют указанным научным специальностям и их разделам.

Личный вклад соискателя учёной степени в исследования. Основная часть экспериментальных и аналитических исследований, представленных в диссертации, выполнена соискателем самостоятельно. При его непосредственном участии усовершенствованы способы получения и очистки пектина, а также технология выделения зеина, которые в дальнейшем использовались при разработке композиционных систем доставки лекарственных средств.

Соискателем разработана технология получения гидрогелевых микросфер на основе пектина и зеина, подобраны условия их формирования, позволяющие получать устойчивые системы с регулируемым высвобождением лекарственного вещества. Проведены исследования *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*, в том числе изучение фармакокинетики лекарственного вещества и установление корреляционных зависимостей между полученными результатами (IVIVC, EVIVC).

Значительная часть работы посвящена изучению кишечной микробиоты. Соискателем проведены микробиологические исследования влияния биополимеров и пробиотического компонента на состав микробных сообществ и их метаболическую активность. Для характеристики исследуемых образцов и оценки полученных результатов использованы физико-химические и инструментальные методы анализа, в частности ЯМР-спектроскопия, ВЭЖХ, ГХ-МС, секвенирование нового поколения и биоинформатическая обработка данных.

В рамках клинической части исследования соискатель участвовал в сборе и анализе данных, полученных при изучении комбинированного применения пектина и антибиотика у пациентов с кишечными инфекциями.

Обработка и обобщение экспериментальных результатов, их интерпретация, а также формулирование основных выводов и рекомендаций по практическому использованию выполнены соискателем самостоятельно.

Апробация и реализация результатов диссертации. Основные результаты диссертационного исследования были доложены и обсуждены на международных научных конференциях: «Фармация: современное состояние, достижения и перспективы», посвящённой 80-летию КазНМУ имени С.Д. Асфендиярова (Алматы, 2011); «Наука о полимерах» (Ташкент, 2011); The 3rd International Congress on Biohydrogels (Florence, Italy, 2011); International Conference and Exhibition on Pharmaceuticals, Nutraceutical and Cosmeceutical Technology, PharmaTech–2012 (Kuala Lumpur, Malaysia, 2012); Book of Abstracts “Smithy of Idea”, International Conference (Rusne, Lithuania, 2013); Baltic Polymer Symposium (Trakai, Lithuania, 2013); 3rd EPNOE International Polysaccharide Conference (Nice, France, 2013); международной научно-практической конференции «Биофармацевтические аспекты разработки лекарственных препаратов» (Душанбе, 2024); ACS Fall 2021: Resilience of Chemistry (Atlanta, GA, USA; Virtual, 2021); ACS Fall 2022: Sustainability in a Changing World (Chicago, IL, USA; Virtual, 2022); 31st International Conference of FFC (Yerevan, Armenia, 2023); ACS Fall 2025 (Washington, DC, USA, 2025); научно-практической конференции учёных Таджикистана и Узбекистана (Ташкент, Узбекистан, 2026).

Публикации по теме диссертации. По теме диссертационного исследования опубликовано 27 научных работ, в том числе 11 статей в изданиях, индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science, 2 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК при Президенте Республики Таджикистан, 12 работ в материалах международных научных конференций, 1 патент на изобретение, 1 монография и фармакопейная статья.

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 279 страницах и включает введение, обзор литературы, главу «Материалы и методы исследования», шесть глав собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации и список литературы, включающий 349 источников. Работа иллюстрирована 19 таблицами и 68 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», шести глав собственных исследований, обзора результатов исследования, выводов, практических рекомендаций и списка литературы.

В первой главе представлен анализ традиционных лекарственных форм и их ограничения, современного состояния и перспективы разработки биополимерных систем доставки лекарственных средств, современные подходы к созданию систем с контролируемым и направленным высвобождением, физико-химические свойства пектина и зеина, роль кишечной микробиоты в фармакокинетике лекарственных средств, а также современные модели *in vitro*-культивирования кишечной микробиоты.

Во второй главе приведены материалы и методы исследования, включающие технология очистки пектина, выделения и характеристики зеина, технологию получения пектин-зеиновых гидрогелевых микросфер, методы анализа микробиоты кишечника и их метаболитов, метаболомный анализ, а также *in vitro, ex vivo u in vivo* фармакокинетические исследования и построение моделей IVIVC и EVIVC.

В последующих главах представлены результаты собственных исследований, посвящённые разработке пектин-зеиновых систем доставки лекарственных средств, изучению влияния различных факторов на структуру и метаболическую активность микробиоты кишечника, исследованию фармакокинетики высвобождения пироксикама, а также оценке эффективности комбинации «пектин–антибиотик» при инфекционных заболеваниях желудочно-кишечного тракта.

Получения пектинов различными методами и их структурная характеристика.

«Традиционная технология получения пектина из яблочных выжимок и корзинок подсолнечника предусматривает кислотную экстракцию при 80–90 °C, pH 1,2–1,8 в течение 1–2 ч с последующим концентрированием раствора и осаждением полисахарида этанолом. Продолжительная термическая обработка в кислой среде может сопровождаться частичной деградации молекулы пектина.

В лаборатории «Химия высокомолекулярных и биологически активных соединений» Института химии им. В.И. Никитина НАНТ разработан способ быстрой экстракции пектина или флеш-гидролиз (рисунок 1). Процесс был проведен при температуре 100–130 °C, pH 2,0, продолжительность 3–15 мин. При обработке яблочных выжимок выход пектина после последующего спиртового осаждения составлял 19% при 100 °C за 7 мин, 26% при 120 °C за 7 мин и 27% при 130 °C за 5 мин.

После флеш-экстракции яблочного пектина при 120 °C в течение 7 мин его очистка методом тангенциальной диаультрафильтрации (DUF) повысил содержание ангидрогалактуроновой кислоты с 53 до 70%, степень этерификации с 67 до 76%, а доля балластных веществ снизилась с 11 до 4 %. При этом выход

очищенного пектина уменьшался с 26 до 14%, что связано с удалением сопутствующих компонентов» [10,11].

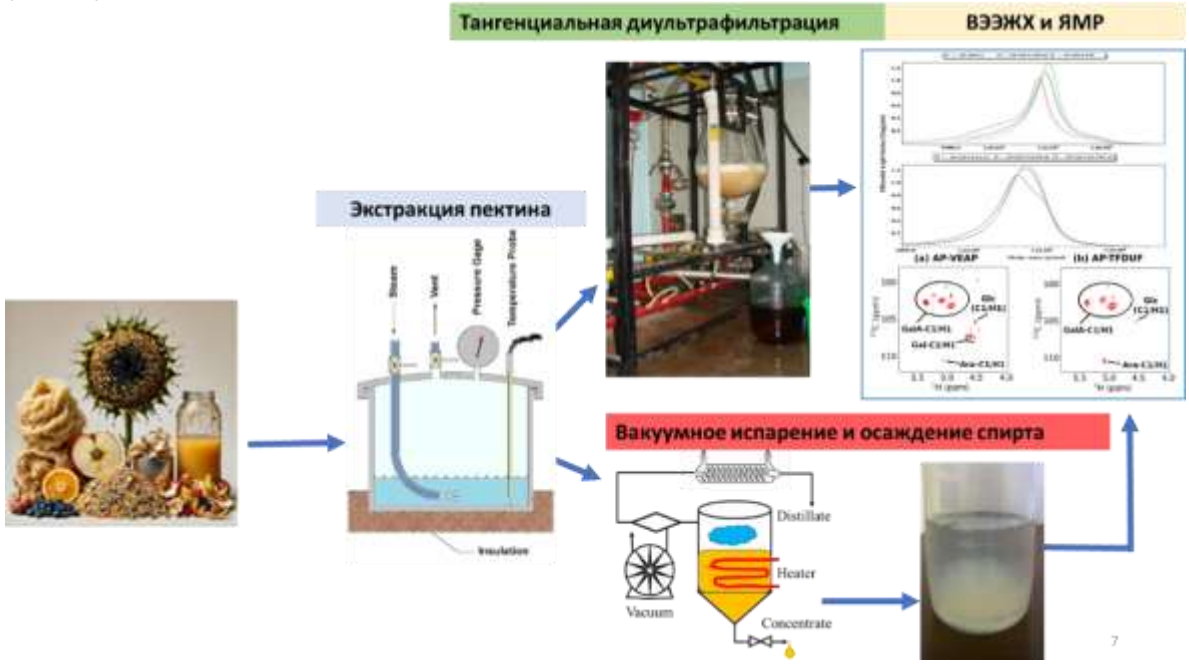


Рисунок 1. – Технологическая схема получения и очистки пектина методом тангенциальной диафильтрации и традиционного метода со спиртового осаждения.

По данным эксклюзионной хроматографии с многоугловым лазерным светорассеянием ВЭЖХ-SEC-MALS, средневесовая молекулярная масса яблочного пектина после спиртового осаждения составляла 483 кДа, а после диаультрафильтрации 492 кДа, индекс полидисперсности (Mw/Mn) находился в пределах 3,03–3,10, без статистически значимых различий между способами очистки ($p > 0,05$). Данные двумерной ЯМР-спектроскопии $^{1}H–^{13}C$ HSQC подтвердили сохранение основных структурных фрагментов пектина и уменьшение содержания сопутствующих компонентов после очистки (рисунок 2).

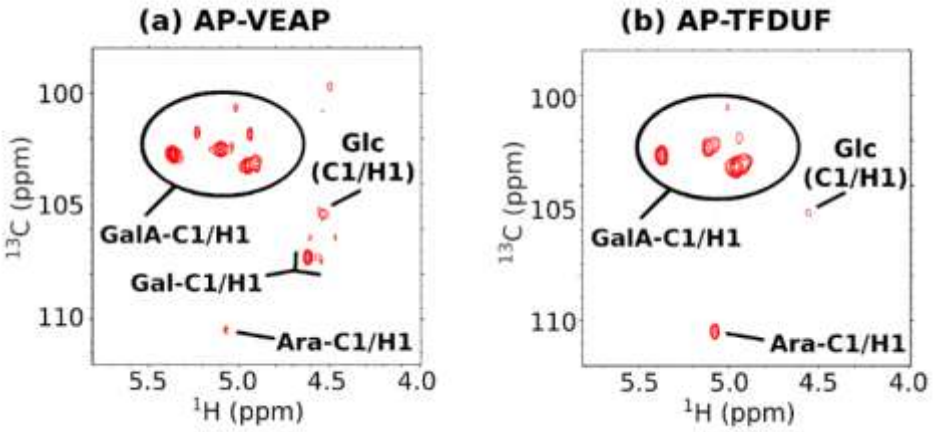


Рисунок 2. - Аномерные области спектров ЯМР 2D-HSQC для образцов (a) AP-VEAP и (b) AP-DUF

Применение DUF по сравнению с VEAP позволил сократить расход этанола до минимума, уменьшить энергопотребление в 4 раза за счёт исключения стадии вакуумного выпаривания. Снижение расхода этанола и энергии имеет практическое значение при масштабировании технологии очистки пектина.

Относительно высокое содержание галактуроновой кислоты, степень этерификации и узкое молекулярно-массовое распределение подтверждают преимущества очистки пектина методом DUF и позволяют рассматривать метод DUF для получения стандартизированного пектина, предназначенного для разработки лекарственных форм в фармацевтической промышленности.

Технология получения и характеристика зеинов кукурузы, произрастающей в Таджикистане.

«Зеин относится к спирторастворимым запасным белкам и характеризуется высоким содержанием пролина, глутамина, гидрофобных аминокислот, низкое содержание лизина, аргинина определяет электростатический заряд зеиновых молекул, а гидрофобные взаимодействия и водородные связи способствуют их агрегации» [8,9]. Зеин получили из обезжиренной кукурузной муки 75% водно-спиртовой экстракции с последующим отделением нерастворимых компонентов, концентрированием белковой фракции, очисткой и высушиванием (рисунок 3).



Рисунок 3. – Технологическая схема получения и очистки зеина из кукурузного сырья с последующим фракционированием и электрофоретическим контролем состава белков

Чистоту и молекулярный состав выделенного зеина оценивали методом электрофореза (рисунок 4). Для оптимизации условий выделения зеина были изучены три подхода: экстракция водным этанолом различной концентрации (60–85%), экстракция 6 М мочевиной и последовательная экстракция по методу Т.Б. Осборна с выделением альбуминов, глобулинов, зеинов и глютелинов.

Установлено, что выход зеина зависит от концентрации этанола и условий экстракции. Оптимальной оказалась трёхкратная экстракция 75% этанолом: первые две стадии проводили при комнатной температуре, третью - при 60 °С. При этих условиях выход зеина составил более 3%, что соответствует примерно 50% общего содержания белков. Метод Т.Б. Осборна позволил оценить фракционный состав запасных белков кукурузы. Содержание альбуминов составило 0,1%, глобулинов - 0,27%, зеинов - 3,0%, глютелинов - 2,8% от общего содержания белка в зерне. Однако зеины, выделенные 6 М мочевиной, содержали

сопутствующие примеси и не полностью растворялись в этаноле, что подтверждено электрофоретическим анализом.



Рисунок 4. - Электрофорез в 7.5% ПААГ зеинов при pH 3.1, выделенных раствором этанола с различной концентрацией: полосы 1 и 7 - 70%; 2 и 8 – 75%; 3 и 9 – 80%; 4 и 10 - 85%; 5 и 11 - 75% этанолом по методу Т.Б. Осборна; 6 и 12 – 75% этанолом из необезжиренной муки семян кукурузы

Биополимерные системы доставки лекарств для пролонгированного высвобождения лекарственного вещества

Гидрогелевые микросферы получали методом сложной коацервации с последующей ионной стабилизацией пектина ионами Ca^{2+} или Zn^{2+} (рисунок 5)



Рисунок 5. – Технологический процесс получения пектин зеиновых микросфер

Соотношение пектина и зеина (З/П) определяет свойства микросфер и кинетику высвобождения лекарственного вещества. Увеличение доли зеина снижает набухание матрицы в верхних отделах ЖКТ и замедляет диффузию лекарственного вещества, тогда как пектин обеспечивает чувствительность микросфер к действию ферментов кишечной микробиоты.

Установили, что массовое соотношение зеина и пектина, а также содержание $CaCl_2$ влияют на выход микросфер, степень их набухания и

содержание пироксикама. Выход микросфер составлял от 15,6 до 64,7%. Максимальное содержание пироксикама (93,8%) получили при соотношении зеин:пектин 5:1, при котором выход микросфер достигал 64,7%, а степень набухания составляла 7,5 (таблица 1). Увеличение доли зеина сопровождалось формированием более гидрофобной матрицы, повышением содержания инкапсулированного пироксикама и уменьшением набухания.

Таблица 1. - Исходные соотношения компонентов для получения зеин-пектиновых микросфер и их характеристика

З/П	Зеин (мг)	Пектин (мг)	$CaCl_2$ (мг)	Рх (мг)	Выход (мас. %)	Степень набухания	Рх в комплексе (%)
1:1	250	250	20,6	20	37,0	49,0	37,0
1:3	100	300	24,8	20	15,6	56,1	9,8
1:6	50	300	24,8	20	16,5	68,0	12,4
1,4:1	500	350	20,6	20	45,0	33,25	57,0
1,4:1	500	350	20,6	200	55,6	13,91	51,7
2:1	500	250	20,6	20	55,6	19,45	72,6
5:1	1000	200	16,6	20	64,7	7,5	93,8

Сравнение различных типов пектина и ионов-сшивателей

В таблице 2 приведены результаты исследования влияния состава пектин-зеиновых микросфер и двухвалентных катионов Ca^{2+} и Zn^{2+} на их свойства. Установили, что выход микросфер, степень набухания и содержание пироксикама зависели от соотношения полимеров, природы сшивающего катиона и количества лекарственного вещества. Максимальное содержание пироксикама (95,20%) получили при массовом соотношении зеин:пектин 1,5:1. При этом выход микросфер составлял 46,60%, а степень набухания - 21,00%

.

Таблица 2. - З/П гидрогелевые микросферы и их характеристики

З/П (массовое соотношение)	M^{2+}, %		Рх, мг	Выход микросфер, %	Степень набухания	Содержание Рх, %
	Ca^{2+}	Zn^{2+}				
2:1	3,70		50	66,70	13,69	75,80
1:3	3,56		50	64,20	29,10	81,80
1,5:1	2,02		50	46,60	21,00	95,20
1:1	1,26		50	34,50	11,50	66,00
1:1	2,44		50	76,30	10,33	66,00
1:1	2,57		20	35,70	11,00	53,30
1:3		1,85	50	61,20	31,10	86,00
1:2		1,08	50	28,60	19,50	52,80
1,5:1		1,27	50	45,00	16,00	80,60
2:1		1,08	50	34,50	5,80	80,60

При соотношении пектин:зеин 1:2 степень набухания микросфер на основе НМ-пектина составляла 5,25, на основе ВМ-пектина 26,14, а содержание пироксикама в микросферах было 66,00% и 58,75% соответственно (таблица 2). Эти различия связаны с относительно большим количеством свободных карбоксильных групп НМ-пектина, участвующих в ионном сшивании полимера двухвалентными катионами и формировании плотной полимерной сети.

Использование Zn^{2+} вместо Ca^{2+} уменьшил степень набухания микросфер до 5,80 при соотношении зеина и пектина 2:1, а содержание инкапсулированного пироксикама в отдельных составах достигало 71,50%. Увеличение доли зеина до соотношения 5:1 уменьшил степень набухания до 7,5 при содержании пироксикама 93,8%. Степень этерификации пектина также существенно влияла на свойства матрицы: при соотношении пектина и зеина 1:2 степень набухания составляла 5,25 для низкоэтерифицированного и 26,14 для высокоэтерифицированного пектина (таблица 3). Полученные результаты подтверждают возможность регулирования набухания, удерживания и высвобождения пироксикама путём изменения состава полимерной матрицы и природы сшивающего катиона.

Таблица 3. - З/П гидрогелевые микросферы на основе НМ и ВМ яблочных пектинов и их характеристика

З/П (массовое соотношение)	Тип пектина	M^{2+}, %		Рх, мг	Выход микросфер, %	Степень набухания	Содержание Рх, %
		Ca^{2+}	Zn^{2+}				
1:2	ВМ яблочный	1,78		20	26,50	26,14	58,75
1:1	–	2,57		20	36,30	27,74	32,50
6:1	–	3,52		20	43,90	30,16	39,00
1:2	НМ яблочный	1,78		20	30,90	5,25	66,00
1:1	–	2,57		20	33,90	8,94	61,10
1:1	–		1,62	20	25,00	16,71	71,50
6:1	–	3,52		20	29,30	22,70	70,20

Исследование метаболизма микробиоты кишечника. Сравнение альфа-разнообразия между однокамерными и трёхкамерными системами

«Несмотря на близкие показатели альфа-разнообразия (рисунок 6), микробные сообщества SC- и 3C-моделей существенно различались по филогенетической структуре согласно анализу главных координат (PCoA) на основе расстояний UniFrac, который выявил разделение сообществ, первая координата объясняла 72% вариации при невзвешенном и 37% при взвешенном анализе (рисунок 7). Статистически значимые различия между моделями подтверждены методом PERMANOVA ($p = 0,002$). Сообщества 3C-модели были ближе к исходному фекальному инокуляту, тогда как расстояния UniFrac для просветных и слизистых сообществ SC были значительно выше ($p < 0,001$). При этом в SC-модели поддерживался pH 6,9–7,1 и время транзита составляло 40 часов, а в 3C-модели pH изменялся по отделам кишечника при общем времени

транзита 72 часа. Полученные данные показывают, что сходные показатели альфа-разнообразия не означают одинакового таксономического состава микробиоты» [6,7].

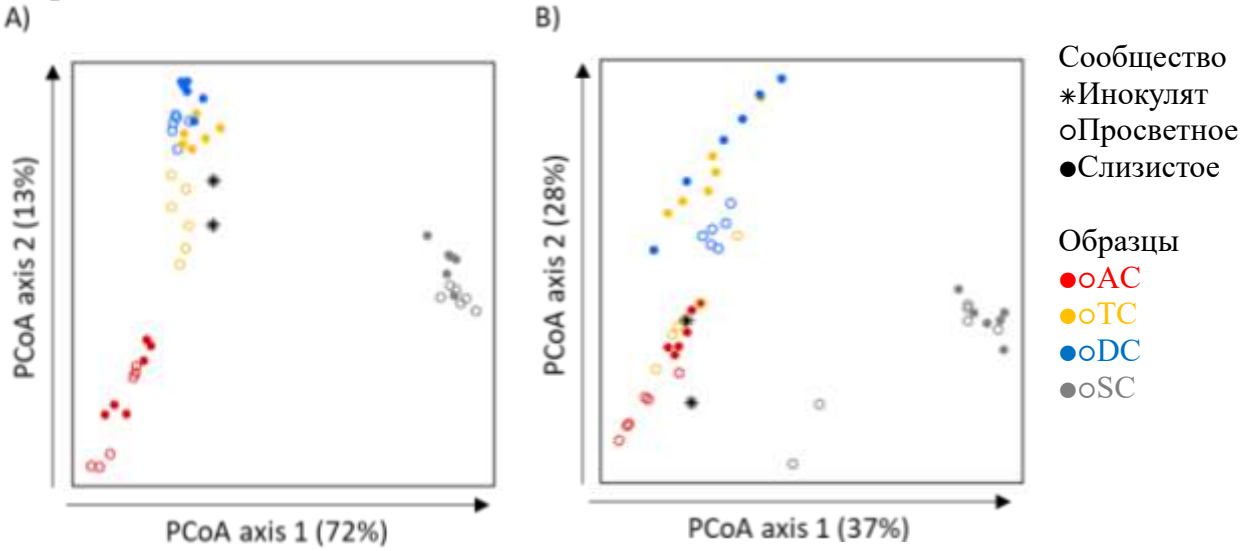
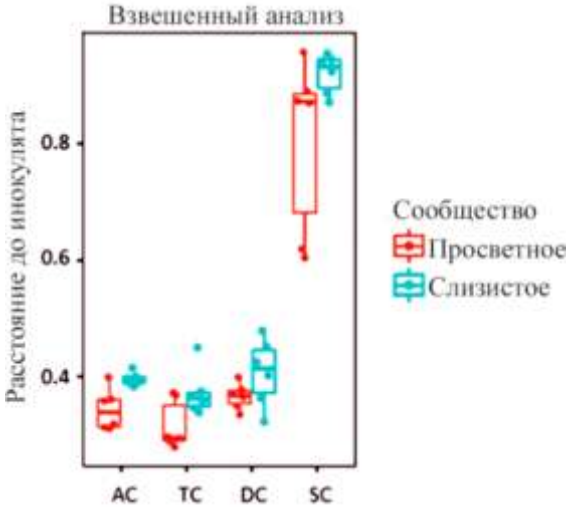


Рисунок 6. - Графики анализа главных координат, показывающие структуру сообществ на основе расстояний UniFrac. a. Невзвешенный анализ. b. Взвешенный анализ

Таксономический анализ на основе секвенирования гена 16S рРНК показал, что в трёхкамерной модели (3C) сохранялось преобладание *Bacteroidetes* (51,8–65,1%) и *Firmicutes* (16,7–28,7%), характерное для исходного фекального инокулята. В однокамерной модели (SC) их относительная численность снижалась до 37,6 и 17,8% соответственно, тогда как доля *Proteobacteria* возрастала до 26,1%, преимущественно за счёт γ-Proteobacteria (23,8%), а *Fusobacteria* до 16,6%. В слизистых сообществах обеих моделей увеличивалась доля *Firmicutes* (класс *Clostridia*) и уменьшалась доля *Bacteroidetes* (класс *Bacteroidia*).



Тип образца	Сравнение	P-значение
Просветные	SC:AC	4,4e-09
	SC:TC	1,7e-09
	SC:DC	1,0e-08
Слизистые	SC:AC	7,3e-16
	SC:TC	3,1e-16
	SC:DC	1,1e-15

Рисунок 7. - Сравнение расстояний UniFrac между просветными и слизистыми сообществами для SC и 3C- системы относительно инокулята на основе взвешенного анализа. Значения p, полученные в результате анализа PERMANOVA, указаны в таблице справа от рисунка

Значимые различия в структуре сообществ между двумя методами культивирования

В просветных сообществах различия между SC и всеми тремя отделами 3C установили для *Fusobacteriaceae*, *Alcaligenaceae* и *Xanthomonadaceae*, хотья сравнительный анализ семейств с относительной численностью более 0,1% выявил статистически значимые различия между SC- и 3C-сообществами. При этом *Fusobacteriaceae* и *Xanthomonadaceae* преобладали в SC, тогда как *Lachnospiraceae* в AC, *Synergistaceae* и *Ruminococcaceae* в TC и DC, а *Erysipelotrichaceae* и *Mogibacteriaceae* в DC. В исходном инокуляте и 3C-системе среди Proteobacteria преобладали β-Proteobacteria, преимущественно семейство *Alcaligenaceae*, тогда как в SC доминировали γ-Proteobacteria, представленные главным образом *Enterobacteriaceae*. В слизистых сообществах значимые различия между SC и всеми отделами 3C выявили для *Enterobacteriaceae*, *Bacteroidaceae*, *Fusobacteriaceae*, *Rikenellaceae* и *Alcaligenaceae*. В SC более высокой относительной численностью характеризовались *Enterobacteriaceae*, *Veillonellaceae*, *Fusobacteriaceae* и *Rikenellaceae*.

Сравнительный анализ метаболитов сообщества однокамерной и трёхкамерной модели

Функциональную активность микробных сообществ оценивали по содержанию короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в SC- и 3C-моделях. Содержание КЦЖК в инокуляте не учитывали, поскольку фекальные образцы не всегда отражают их уровень в толстой кишке из-за поглощения этих метаболитов клетками организма и микроорганизмами. Установили, что в 3C-системе общее содержание КЦЖК последовательно увеличивалось от восходящего (AC) к нисходящему (DC) отделу толстой кишки (рисунок 8).

В SC-системе общее содержание КЦЖК было значительно ниже, чем в 3C-системе: 58,23 ммоль/л против 82,35–110,39 ммоль/л. Концентрации уксусной, пропионовой и масляной кислот в SC также были ниже, однако их относительное содержание различалось. Доля уксусной кислоты была сходной во всех сообществах (63–65%), пропионовой - выше в SC (24% против 20–21% в 3C), а масляной - в AC-отделе 3C-системы (16% против 12% в SC).

Таким образом, в 3C-системе уксусная, пропионовая и масляная кислоты составляли 95,75% общего содержания КЦЖК, разветвлённые КЦЖК (РКЦЖК) - 3,85%, пентановая кислота - 0,40%, в SC-системе соответствующие показатели составляли 91,51%, 4,10% и 4,31%, а основное отличие заключалось в относительном составе КЦЖК, что связано с более высокой долей пентановой кислоты в SC, тогда как доля РКЦЖК оставалась сопоставимой.

Влияние изменения уровня pH среды на структуру сообщества микробиоты кишечника и производство короткоцепочечных жирных кислот

Влияние pH на структуру кишечной микробиоты оценивали методом PCoA на основе взвешенных и невзвешенных расстояний UniFrac с определением статистической значимости методом PERMANOVA (рисунок 9). При изменении

pH от нейтрального уровня 6,9–7,0 до 5,9–6,1 или 7,9–8,1 выявлены различия в составе просветных и слизистых сообществ, а при понижении pH уменьшались индекс Шеннона в просветной среде (q = 0,0002), а также индекс Шеннона (q = 0,00001) и видовое богатство (q = 0,0002) слизистых сообществ. По невзвешенному UniFrac различия в просветных сообществах исчезали после восстановления нейтрального pH, тогда как в слизистых сохранялись до конца эксперимента; по взвешенному UniFrac изменения в просветных сообществах сохранялись и в период восстановления.

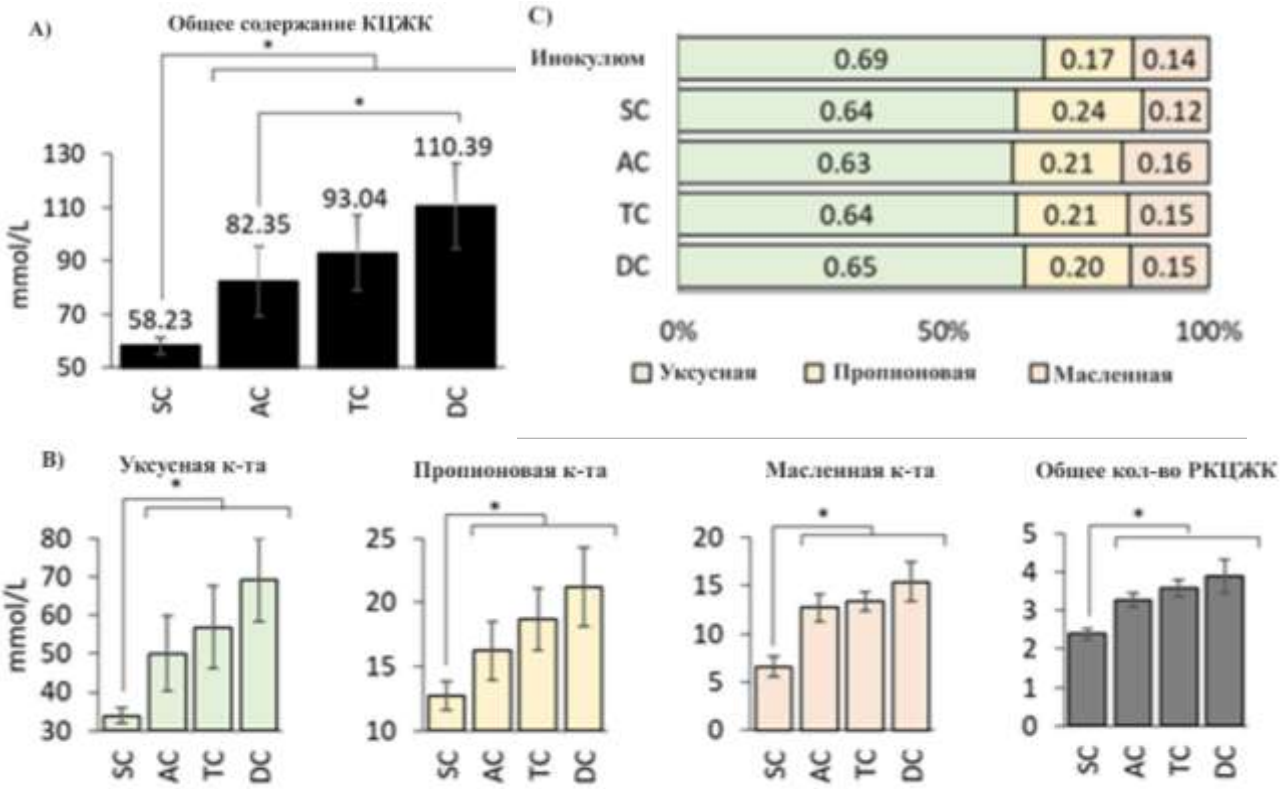


Рисунок 8. - Количественное содержание короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в каждом микробном сообществе. Статистические различия между группами определяли с использованием дисперсионного анализа (ANOVA) и t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали различия, сохранявшиеся после коррекции FDR по методу Бонферрони; они обозначены символом (*). а – Суммарное содержание КЦЖК; б – содержание уксусной, пропионовой и масляной кислот; в – соотношение уксусной, пропионовой и масляной кислот.

На основании секвенирования гена 16S рРНК выявлены 27 таксонов, изменявших относительную численность независимо от донора. При повышении pH увеличилась относительная численность *Enterocloster*, *Oscillospira* и *Erysipelatoclostridium*, а во второй фазе эксперимента *Blautia*, *Ruminococcus* и *Clostridium*. Напротив, снижение pH, сопровождалось уменьшением численности Butyricimonas, *Alistipes* и *Parabacteroides* при одновременном увеличении численности *Enterocloster* и *Megasphaera*.

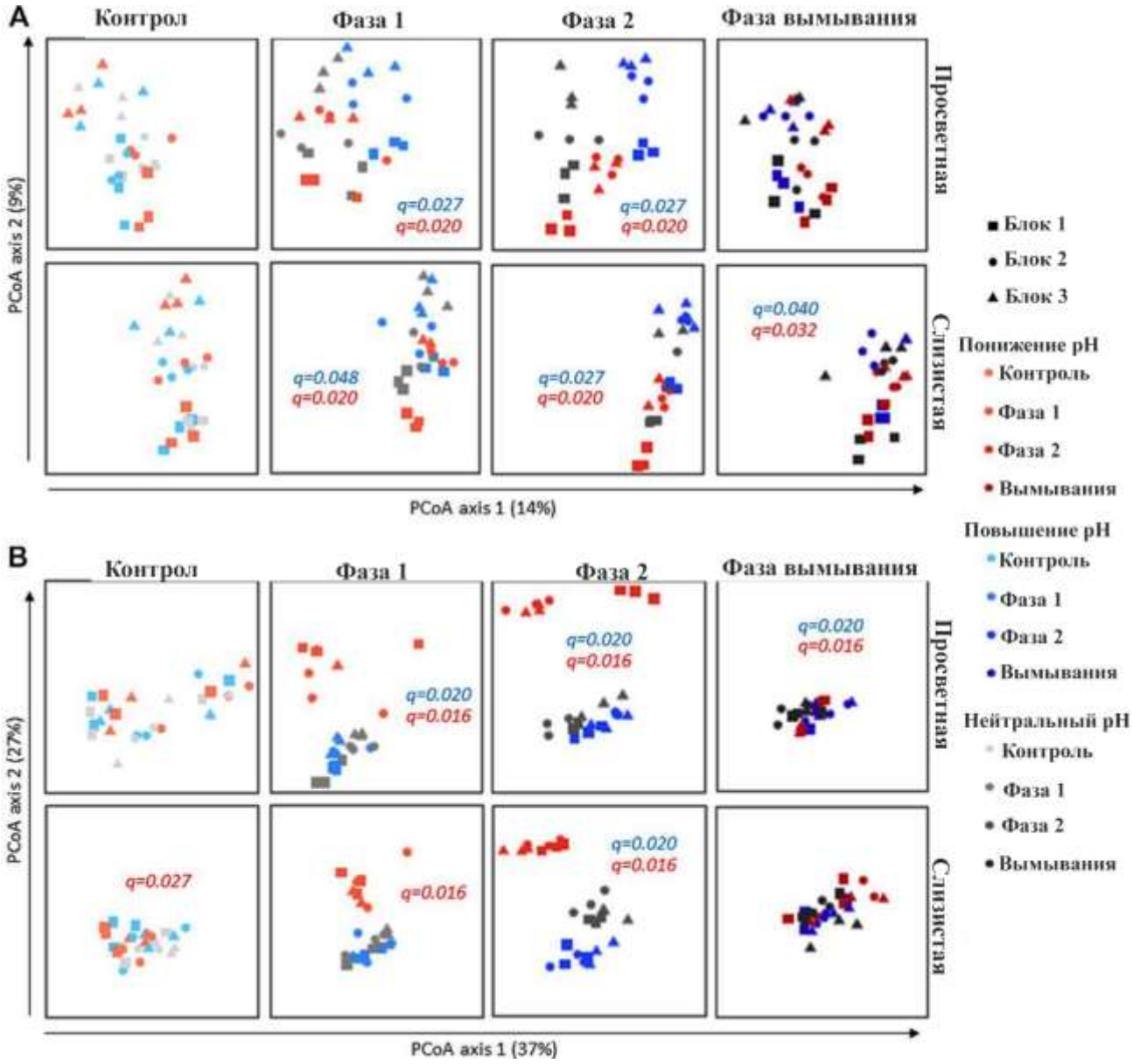


Рисунок 9. - PCoA, показывающий (A) невзвешенные и (B) взвешенные расстояния UniFrac для просветных и слизистых сообществ. Статистически значимые изменения определялись с использованием метода PERMANOVA и обозначены следующим образом: q-значения синего цвета соответствуют значимым изменениям между группами с понижением pH и нейтральным pH, а q-значения красного цвета – значимым изменениям между группами с повышением pH и нейтральным pH

Влияние pH среды на тип и уровни короткоцепочечных жирных кислот в системе

Влияние pH на метаболическую активность кишечной микробиоты трёх доноров изучали по содержанию КЦЖК, которое приведено на рисунке 10. Во второй фазе эксперимента при нейтральном pH суммарная концентрация КЦЖК было 62,0 ммоль/л, при повышении pH увеличилась до 67,8 ммоль/л, а при снижении уменьшилась до 52,0 ммоль/л. Наиболее выраженные изменения наблюдали для уксусной кислоты, содержание которой составило 37,3; 46,3 и 24,2 ммоль/л соответственно, концентрация пропионовой кислоты уменьшалась с 13,14 до 10,67 и 7,79 ммоль/л, тогда как содержание валериановой кислоты при

повышенном pH уменьшалась с 2,08 до 0,63 ммоль/л, а при пониженном возрастало до 4,52 ммоль/л.

Полученные результаты показывают, что изменения продукции КЦЖК сопровождались перестройкой микробных сообществ, так как при повышении pH увеличивалась относительная численность *Enterocloster*, *Oscillospira*, *Blautia* и *Ruminococcus*, тогда как при снижении pH уменьшалась представленность *Butyricimonas*, *Alistipes*, *Parabacteroides* и *Fusobacterium*. В заключение можно отметить, что изменение кислотности среды влияет как на таксономический состав кишечной микробиоты, так и на образование отдельных продуктов микробной ферментации.

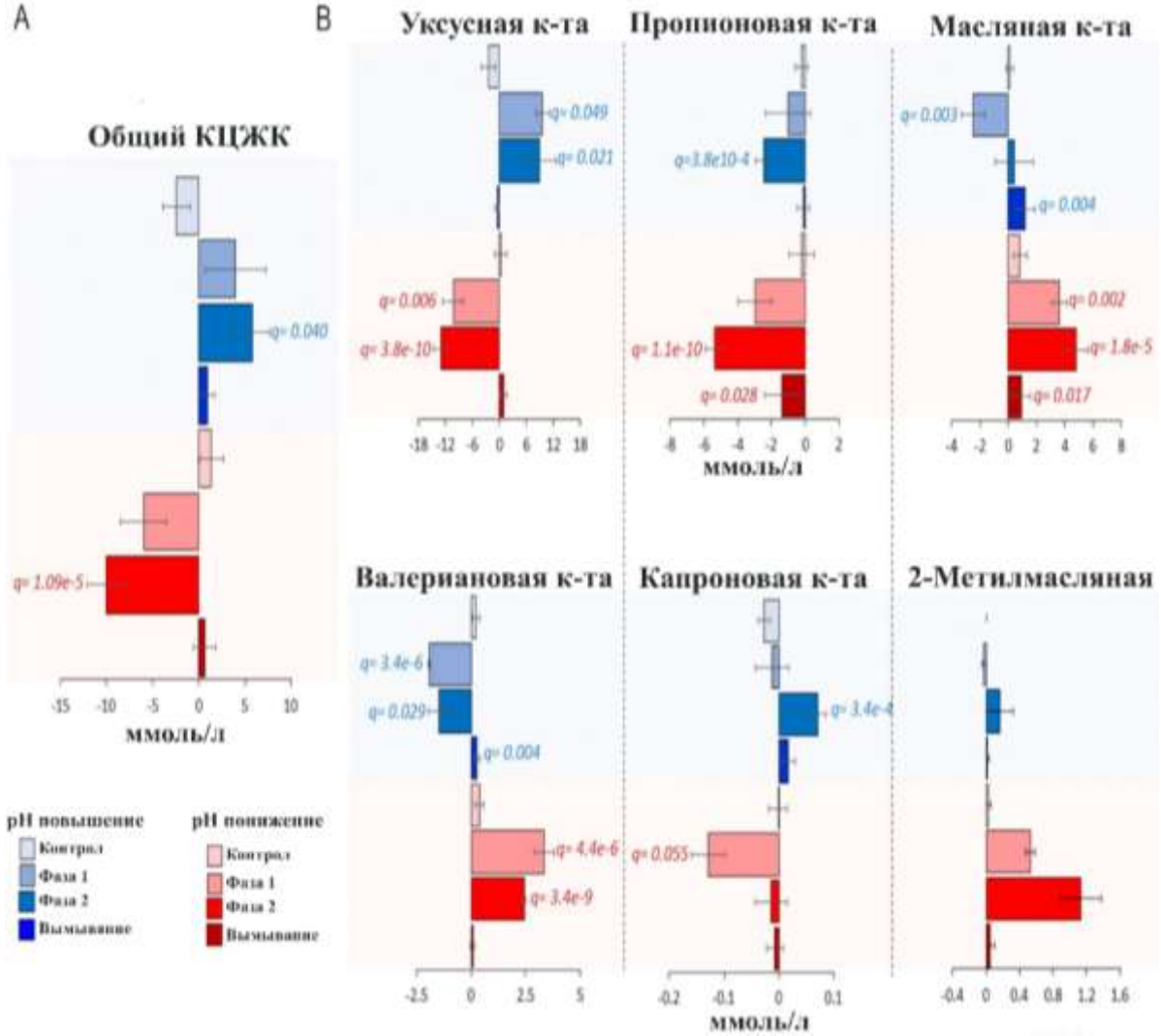


Рисунок 10. - Различия в содержании короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) между контрольной и экспериментальными группами. Синим цветом показаны изменения при повышении pH, красным при понижении pH относительно контрольных условий. а) Изменение суммарного содержания КЦЖК. Статистическую значимость различий между контрольной группой (нейтральный pH) и экспериментальными группами определяли с помощью двустороннего t-критерия Стьюдента. б) Изменение содержания уксусной, пропионовой, масляной, валериановой, гексановой и 2-метилбутановой кислот. Статистическую значимость различий для каждой кислоты определяли с помощью двустороннего t-критерия Стьюдента с последующей коррекцией FDR.

Модуляция структуры и функции микробиоты кишечника двумя структурно различными пектинами

Влияние пектинов с низкой молекулярной массой и высокой степенью этерификации, и высокой молекулярной массой и низкой степенью этерификации на альфа-разнообразие

На рисунке 11 представлено влияние пектинов НМ-ВСЭ и ВМ-НСЭ на состав кишечной микробиоты, изученное методом секвенирования гена 16S рРНК. Альфа-разнообразие оценивали в контрольный период, во время обработки пектином и после её прекращения по показателям таксономического богатства, индекса Шеннона и филогенетического разнообразия Фейта (Faith's PD).

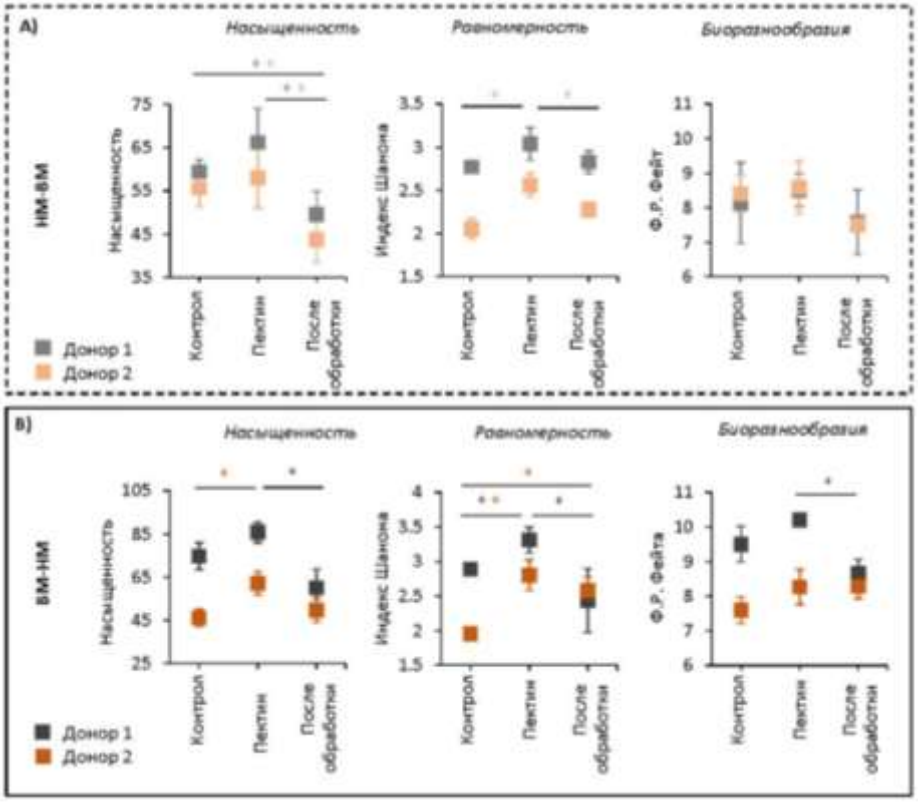


Рисунок 11. - Альфа-разнообразие, измеренное по насыщенности, индексу разнообразия Шеннона и филогенетическому индексу Фейта (Faith's PD). Статистически значимые изменения обозначены символом звёздочки (*). (А) Пектин НМ-ВСЭ; (В) Пектин ВМ-НСЭ

Использованный в этом эксперименте изкомолекулярный высокоэтерифицированный пектин имел молекулярную массу 122 кДа и степень этерификации 66%, а высокомолекулярный низкоэтерифицированный 308 кДа и 31% соответственно. При добавлении 1% пектина в состав питательной среды в течение трёх суток оба образца увеличивали таксономическое богатство, однако для НМ-ВСЭ изменения не достигали статистической значимости, а для ВМ-НСЭ значимое увеличение отмечалось только у 2-го донора. После прекращения воздействия таксономическое богатство снижалось, в том числе ниже контрольного уровня. При использовании НМ-ВСЭ индекс Шеннона изменялся только у 2-го донора, а индекс Фейта оставался неизменным у обоих доноров, а ВМ-НСЭ вызывал статистически значимое повышение индекса Шеннона у обоих доноров. Полученные данные показывают различия в реакции кишечной микробиоты на пектины с разными физико-химическими характеристиками.

Оценка структуры сообщества с помощью анализа главных координат

На рисунке 12 приводится бета-разнообразие кишечной микробиоты при воздействии пектинов НМ-ВСЭ и ВМ-НСЭ, которого оценивали методом PCoA на основе взвешенных и невзвешенных расстояний UniFrac (рисунок 12). При добавлении 1% пектина в течение трёх суток образцы группировались преимущественно по принадлежности к донорам, а не по периодам обработки. Наиболее выраженное разделение наблюдалось по невзвешенному UniFrac: первая координата объясняла 73,1% вариации для НМ-ВСЭ и 70,7% для ВМ-НСЭ. Несмотря на отсутствие чёткого разделения образцов по периодам обработки, секвенирование гена 16S рРНК выявило изменения отдельных таксонов. При воздействии НМ-ВСЭ статистически значимые изменения обнаружены у шести бактериальных родов, тогда как ВМ-НСЭ сопровождался увеличением относительной численности представителей семейства *Lachnospiraceae* у обоих доноров. Таким образом, воздействие пектинов проявлялось преимущественно на уровне отдельных таксонов и зависело от исходного состава микробиоты.

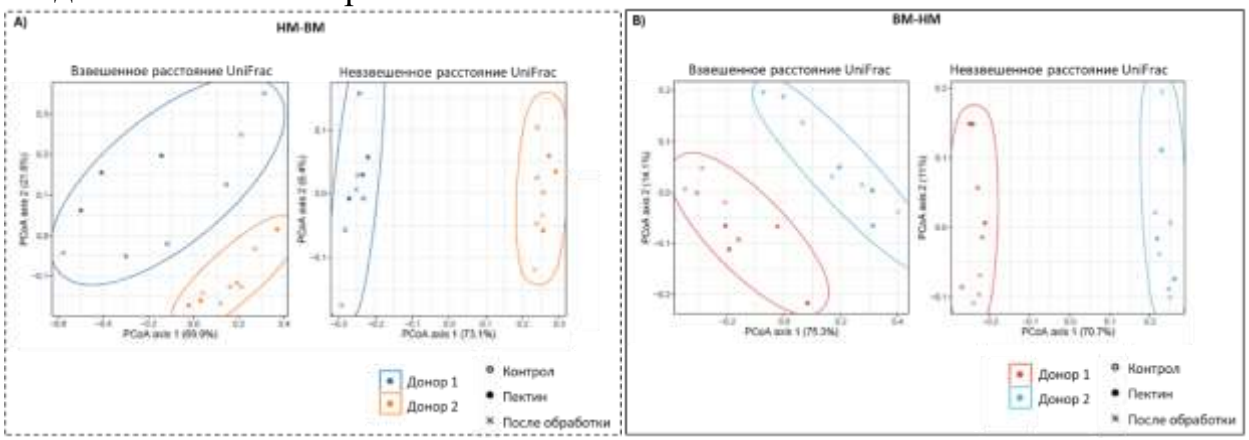


Рисунок 12. - Анализ PCoA на основе взвешенных и невзвешенных расстояний UniFrac для обоих доноров в период контроля, обработки пектином и после обработки. (A) Пектин НМ-ВСЭ; (B) Пектин ВМ-НСЭ

Изучение структурного влияния пектина с использованием секвенирования гена 16S рРНК

Несмотря на отсутствие выраженных изменений общей структуры сообщества по данным PCoA, добавление пектинов изменил отдельные таксономические группы. У 1-го донора значимых изменений в период обработки не обнаружили, однако после отмены НМ-ВСЭ-пектина отмечено снижение *Clostridia* и увеличение *Bacteroidia*.

У 2-го донора микробное сообщество реагировало на оба типа пектина. НМ-ВСЭ-пектин увеличивал относительную численность *Fusobacteriia*, тогда как ВМ-НСЭ-пектин сопровождался снижением *Bacteroidia* и увеличением *γ-Proteobacteria, Clostridia, Fusobacteriia* и *β-Proteobacteria*. Эти данные подтверждают донор-зависимый характер ответа микробиоты на пектины различной структуры. (рисунок 13). Полученные результаты показывают, что характер изменений таксономического состава зависит от исходного микробного сообщества донора.

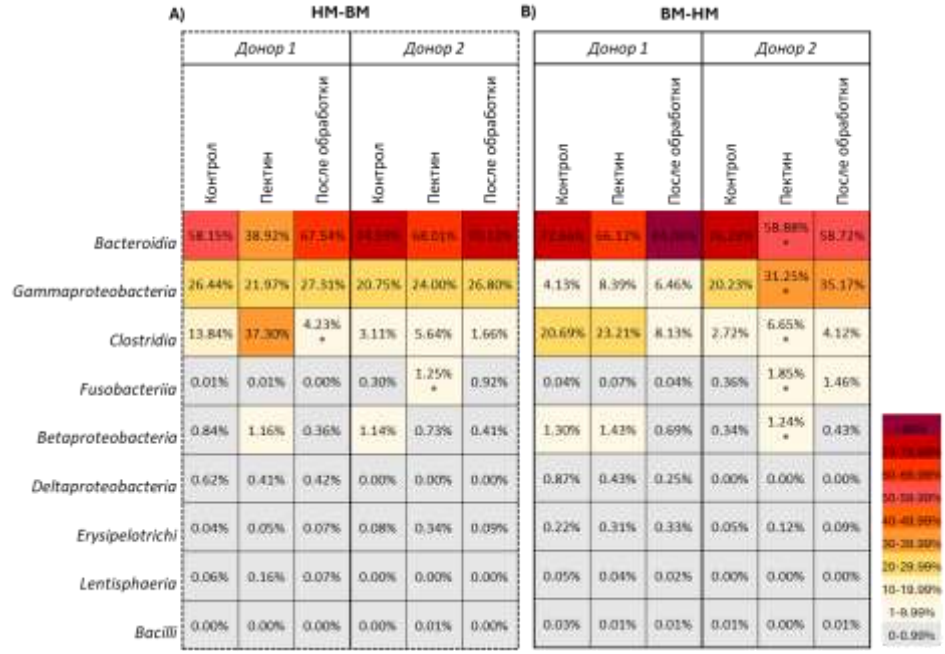


Рисунок 13. - Тепловая карта, отображающая относительное обилие таксонов на уровне классов для таксонов с обилием более 0,01% хотя бы в одном образце. Значимые изменения обозначены на рисунке символом звёздочки (*). (А) Пектин НМ-ВСЭ. (В) Пектин ВМ-НСЭ

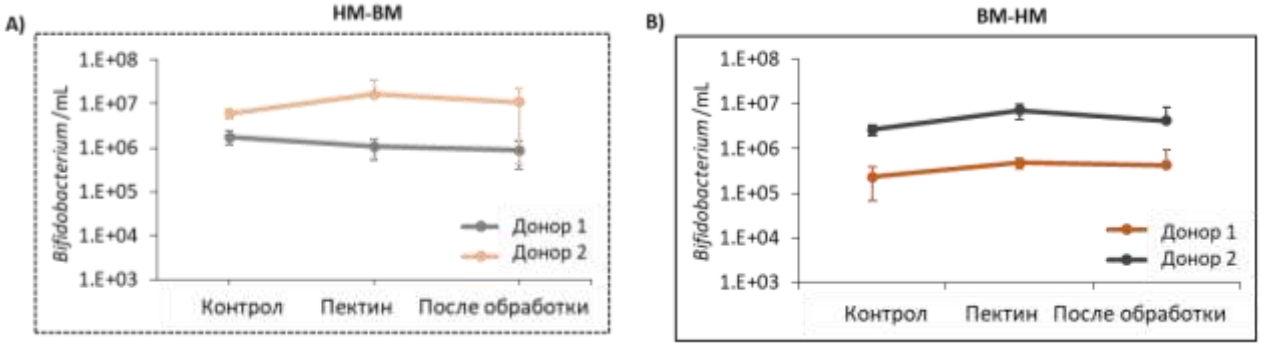


Рисунок 14. - Уровни *Bifidobacterium*, определённые с помощью анализа qPCR. (А) пектин НМ-ВСЭ; (В) пектин ВМ-НСЭ

Влияния пектинов на метаболиты микробиоты

Метаболическую активность кишечной микробиоты изучили по анализу содержание КЦЖК в системе, образующихся при ферментации растительных полисахаридов, олигосахаридов и РКЦЖК, которые преимущественно образуются при ферментации аминокислот, белков и пептидов. Основными представителями КЦЖК являются уксусная, пропионовая и масляная кислоты. Содержание КЦЖК и РКЦЖК определяли методом ГХ-МС в контрольный период, во время добавления пектина и после прекращения обработки (рисунок 15).

Добавление пектинов НМ-ВСЭ и ВМ-НСЭ привело к статистически значимому увеличению суммарного содержания КЦЖК у обоих доноров в среднем на 1,49 и 1,46 раза соответственно. Основной вклад в это увеличение вносила уксусная кислота, концентрация которой возрастала в среднем на 1,64 раза при использовании обоих пектинов. При добавлении НМ-ВСЭ-пектина содержание масляной кислоты дополнительно увеличивалось в среднем на 1,41 раза. При этом ни один из исследованных пектинов не вызывал статистически значимых изменений содержания РКЦЖК.

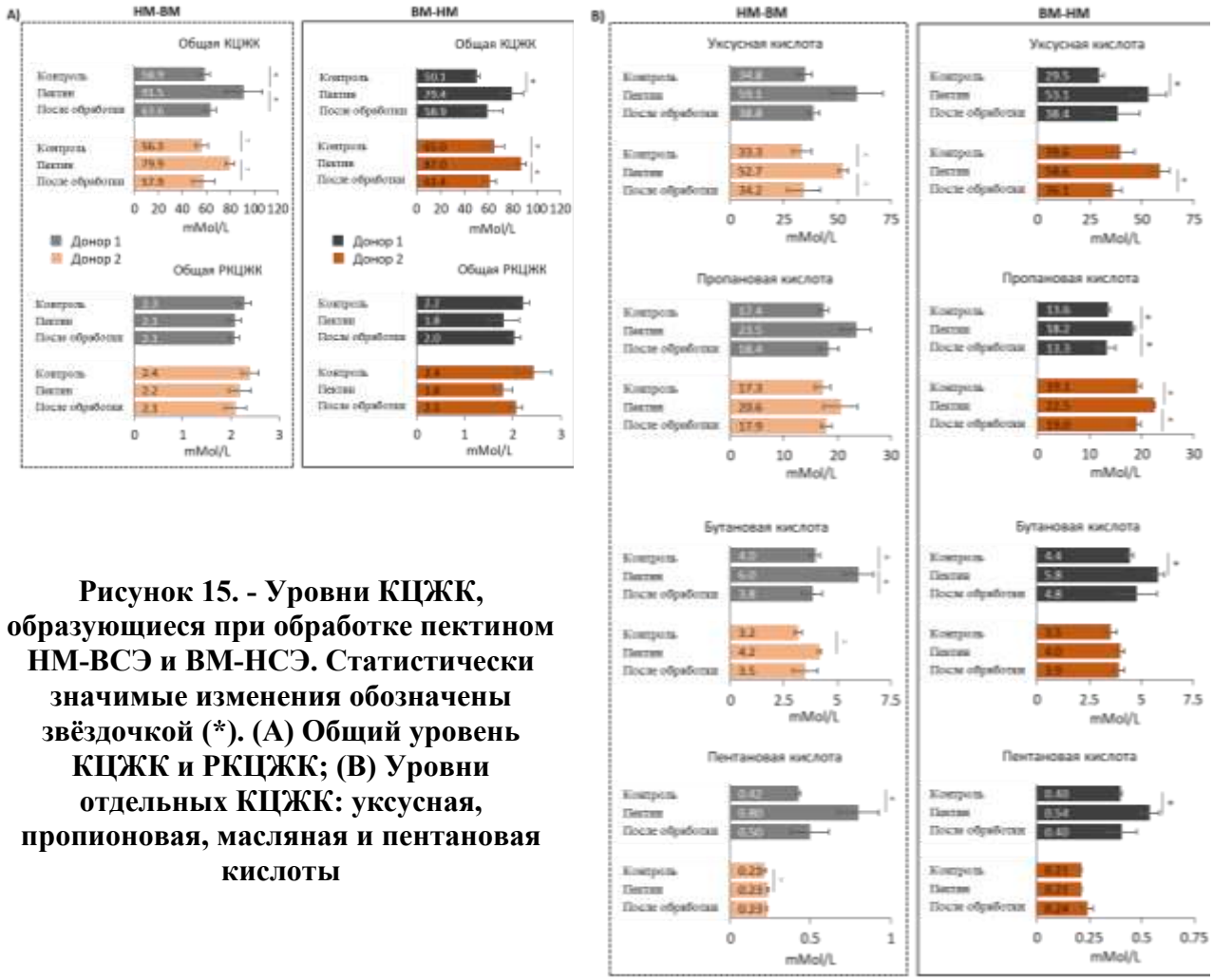


Рисунок 15. - Уровни КЦЖК, образующиеся при обработке пектином НМ-ВСЭ и ВМ-НСЭ. Статистически значимые изменения обозначены звёздочкой (*). (А) Общий уровень КЦЖК и РКЦЖК; (В) Уровни отдельных КЦЖК: уксусная, пропионовая, масляная и пентановая кислоты

Метаболическую активность кишечной микробиоты изучили методом ГХ-МС по содержанию КЦЖК и РКЦЖК в контрольный период, при добавлении пектинов и после прекращения обработки (рисунок 15). При добавлении НМ-ВСЭ и ВМ-НСЭ суммарная концентрация КЦЖК у обоих доноров увеличилась в среднем в 1,49 и 1,46 раза соответственно, но основной вклад вносила уксусная кислота, содержание которой увеличилась в 1,64 раза независимо от типа пектина. При использовании НМ-ВСЭ дополнительно увеличивалась концентрация масляной кислоты в среднем в 1,41 раза у обоих доноров. У донора 1 оба пектина также повышали содержание пропионовой кислоты, а НМ-ВСЭ пентановой, существенных изменений РКЦЖК не обнаружено.

Различия между пектинами проявлялись и в таксономическом составе микробиоты. Например, при добавлении НМ-ВСЭ изменения относительной численности 6-ти бактериальных родов зависели от донора: у первого снижалась численность *Acidaminococcus u Paraprevotella* при увеличении *Pseudoramibacter*, у второго снижалась численность *Alistipes*, но уваличилась доля *Oscillospira* и *Fusobacterium*. Добавление ВМ-НСЭ увеличил численность представителей семейства *Lachnospiraceae* у обоих доноров включая *Blautia*, состав которых различался между сообществами, но при этом количественная ПЦР не выявила статистически значимых изменений численности Bifidobacterium ни при одном из исследованных пектинов.

Исследованные пектины различались по характеру изменений метаболической активности несмотря на влияние на суммарное образование КЦЖК и таксономического состава микробиоты. НМ-ВСЭ увеличил образования уксусной и масляной кислот, тогда как действие ВМ-НСЭ сопровождалось преимущественно повышением содержания уксусной кислоты и изменением численности представлей бактерий семейства Lachnospiraceae. Это указывает на зависимость ферментации пектина от его молекулярной массы и степени этерификации.

Влияние добавления растворимых и нерастворимых полисахаридов на количество бактерий, продуцирующих короткоцепочечные жирные кислоты в микробиоте кишечника.

Изучение влияние растворимой и нерастворимой фракций полисахаридов на кишечную микробиоту проводили в системе SHIME с применением инокулятов от трёх доноров. Изменения таксономического состава микробных сообществ в системе изучали по данным полученных от секвенирования гена 16S рРНК после двухнедельной стабилизации микробных сообществ.

Обнаружено, что добавление ISF повышает таксономическое богатство, индекс Шеннона и филогенетическое разнообразие Фейта у 1-го и 3-го доноров в PC отделе, у 2-го донора значимых изменений не найдено. При добавлении фракций в DC отделе их действие было следующим: SF снижала альфа-разнообразие просветной микробиоты по сравнению с контролем, тогда как в слизистых сообществах его уменьшение наблюдали при добавлении обеих фракций. Анализ бета-разнообразия показал преобладающее влияние донора. При этом группы SF и ISF статистически значимо отличались от контроля (PERMANOVA, $p < 0,05$), но не между собой. На уровне отдельных бактериальных групп реакция была неодинаковой. Например, у 1-го донора добавление ISF статистически значимо увеличило относительную численность *Bifidobacterium* в просветных и слизистых сообществах PC-отдела ($q<0,0005$), тогда как у 2-го донора содержание этого рода снижалось при использовании ISF ($q<0,05$) и SF ($q<0,0005$), у 3-го донора нерастворимая фракция повышала относительную численность представителей семейств *Lactobacillaceae* и *Lachnospiraceae* в обеих фазах PC-отдела ($q<0,0005$). Различия была отмечено на уровне родов: *Faecalibacterium* увеличился при добавлении ISF у 1-го и 3-го доноров, а *Fusobacterium* при воздействии SF в дистальном отделе 1-го донора, при этом статистически значимого изменения численности *Bacteroides* при использовании обеих фракций не выявлено (рисунок 16).

Таким образом, добавление растворимых и нерастворимых полисахаридов менял таксономический состав кишечной микробиоты, но ответа сообщество прежде всего зависело от исходного материала доноров и условиях отдела толстой кишки. Этого наблюдали в противоположных изменениях численности *Bifidobacterium* у 1-го и 2-го доноров и повышении представленности *Lactobacillaceae* и *Lachnospiraceae* у 3-донора. Добавление SF и ISF изменил относительную численность *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Fusobacterium*,

Blautia, *Clostridium* и *Roseburia*, но направленность и выраженность изменений зависят от донора, типа фракции, отдела кишечника и локализации микробных сообществ в просветной или слизистой фазе.

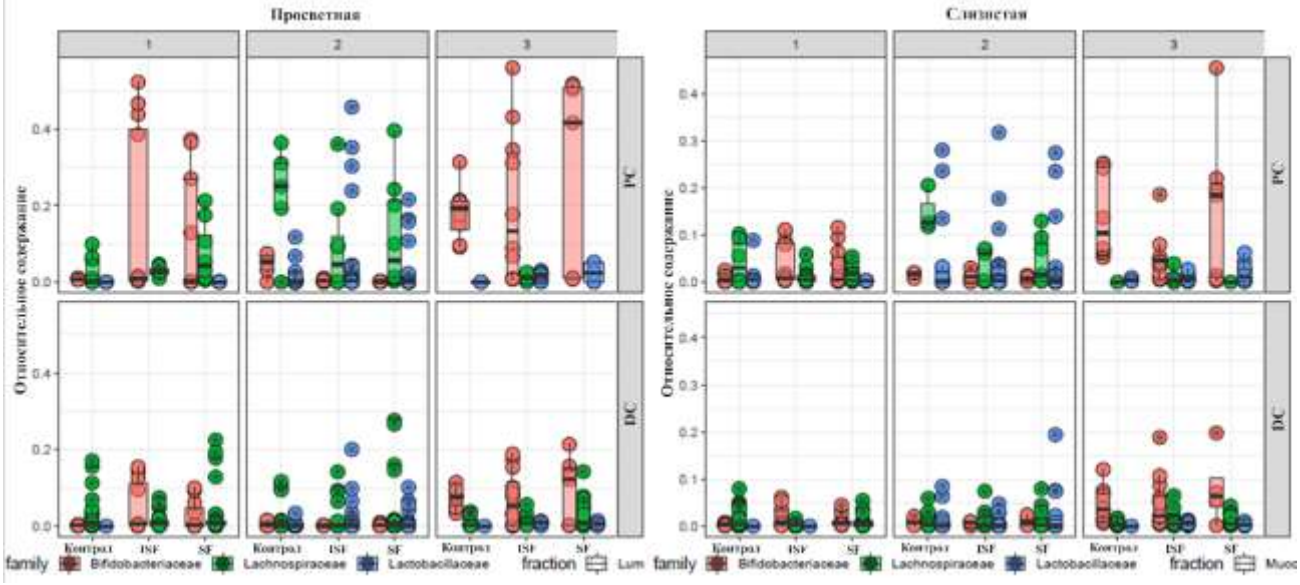


Рисунок 16. - Относительная численность ключевых бактериальных семейств при воздействии SF и ISF

Межиндивидуальные изменения в анализе короткоцепочечных жирных кислот

Метаболическую активность кишечной микробиоты оценили методом ГХ-МС по содержанию КЦЖК в проксимальном и дистальном отделах толстой кишки, результаты которой приводится в таблице 4.

Как видно из таблицы 4, у 1-го донора обе фракции увеличили концентрацию уксусной кислоты ($q>0,0005$), у 2-го и 3-го доноров наблюдалось её снижение ($q>0,0005$). Для пропионовой кислоты: добавление ISF снижал её содержание в PC-отделе 1-го донора ($q>0,0005$) и DC-отделе 3-го донора ($q>0,05$), но увеличил у 2-го донора в обоих отделах ($q>0,0005$). Концентрация масляной кислоты при добавлении обеих фракций повышалось у 2-го и 3-го доноров в PC-отделе, однако статистически значимое повышение отмечено только при SF у 3-го донора ($q>0,0005$), а у 1-го донора та же фракция, напротив, снижала её содержание ($q>0,0005$). Различалась и образования пентановой кислоты: у 3-го донора её концентрация снизилась при добавлении SF и ISF ($q>0,05$), у 2-го донора при добавлении ISF повышение не достигало статистической значимости.

Микробное сообщество по-разному реагировали на образование РКЦЖК. У 1-го донора, обнаружили 2-метилпропановую, 2-метилбутановую и 3-метилбутановую кислот в DC-отделе, где добавление обе фракции полисахарида привел к повышению их концентраций ($q<0,0005$), у 2-го донора растворимая фракция снижала содержание этих кислот в PC и DC отделах, наконец у 3-го донора нерастворимая фракция, наоборот, повышала. Таким образом, характер микробной ферментации фракции полисахаридов зависит от растворимости субстрата, исходного состава микробиоты и отделов кишечника.

Таблица 4. - Корреляция концентрации жирных кислот между образцами. Статистическая значимость определяли с помощью метода множественных сравнений Тьюки с 95 %-ным доверительным интервалом и скорректированного значения *p* (* q < 0,05, ** q < 0,005, * q < 0,0005)**

		Просветная фаза					
		Донор 1		Донор 2		Донор 3	
		PC	DC	PC	DC	PC	DC
Общее кол-во КЦЖК	ISF против контроля	***	***	***	***	***	***
	SF против контроля	***	***	***	***	***	***
	ISF против SF		***		***		***
Общее кол-во РКЦЖК	ISF против контроля	***	***	***	***	***	***
	SF против контроля	***	***	***	***	***	***
	ISF против SF				***		***
Уксусная кислота	ISF против контроля	***	*			**	***
	SF против контроля	***			***	***	**
	ISF против SF						**
Пропановая кислота	ISF против контроля	***		***			*
	SF против контроля	***	***	***	*	*	***
	ISF против SF	***	***			**	***
2-метилпропановая кислота	ISF против контроля		***			***	*
	SF против контроля		***		*		
	ISF против SF		*	*	*	***	
Бутановая кислота	ISF против контроля		**			***	
	SF против контроля	***					
	ISF против SF	**					
3-метилбутановая кислота,	ISF против контроля		***			*	
	SF против контроля		***	*			
	ISF против SF			***	**	**	
2-метилбутановая кислота,	ISF против контроля		***			**	
	SF против контроля		***				
	ISF против SF			*		*	
Пентановая кислота	ISF против контроля						*
	SF против контроля						***
	ISF против SF				*		***

Стойкость пробиотического штамма *Lacticaseibacillus rhamnosus GG* (LGG) в *in vitro*- модели микробиома кишечника

Выживаемость и рост пробиотического штамма *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG изучали в многокамерной модели SHIME, имитирующей восходящий, поперечный и нисходящий отделы толстой кишки с применением фекальных инокулятов трёх независимых доноров. После введения экзогенного LGG во всех трёх моделях наблюдали резкое снижение его численности в просветных сообществах в течение первых 7–10 циклов кормления, после чего снижение продолжалось, но медленными темпом. Тем не менее к завершению эксперимента содержание LGG в отделах AC, TC и DC оставалось в 7–540 раз

выше исходного уровня. Характер изменения численности LGG зависел от донора и отдела толстой кишки.

Введение LGG оказывало минимальное и кратковременное влияние на альфа-разнообразие исходной микробиоты. В большинстве отделов статистически значимых изменений индекса Шеннона, таксономического богатства и филогенетического разнообразия Фейта (Faith's PD) не выявили. При этом во всех трёх моделях показатели разнообразия в TC- и DC-отделах были выше, чем в AC, что свидетельствует о сохранении региональных различий микробных сообществ (рисунок 17).

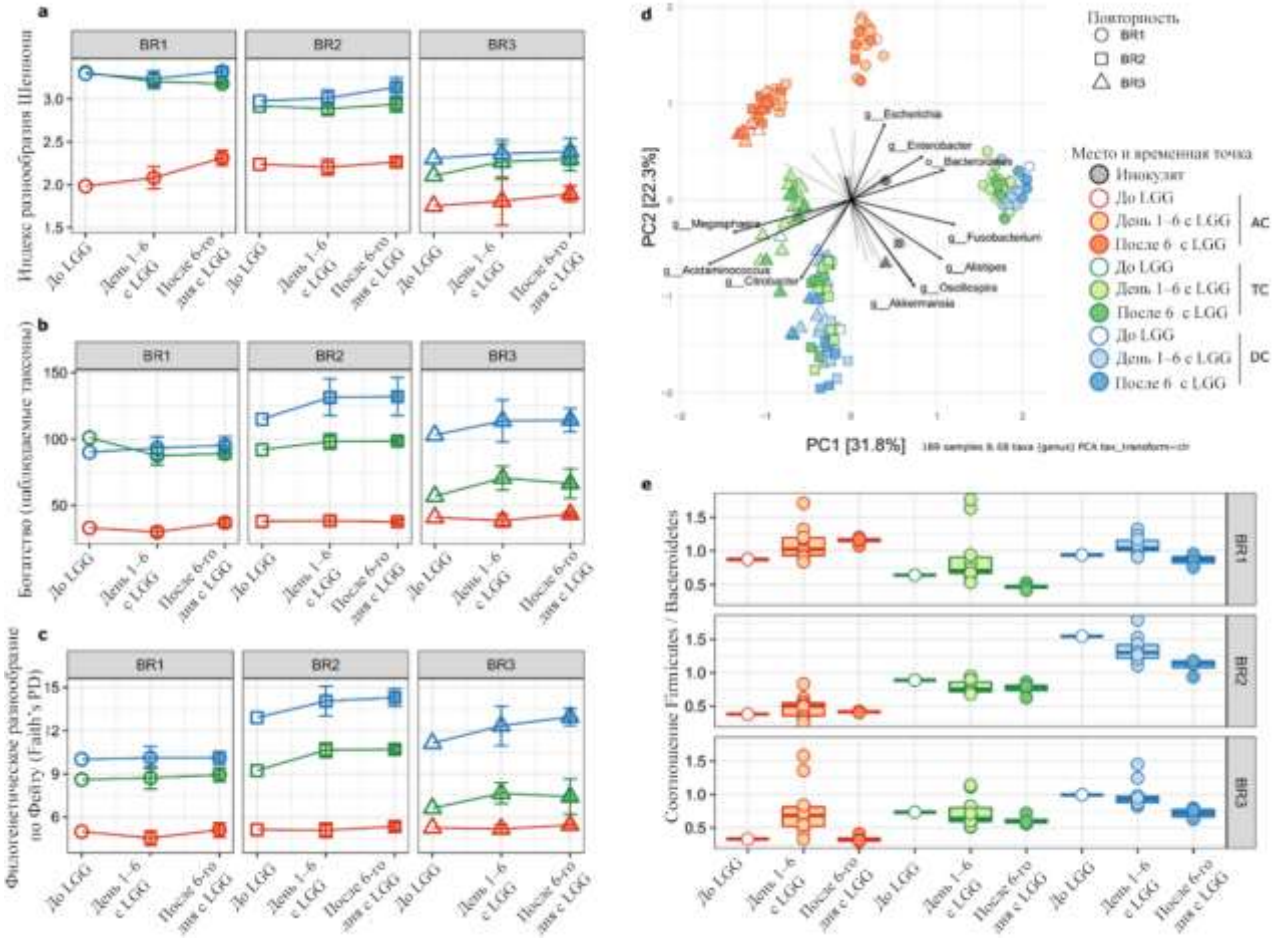


Рисунок 17. – Разнообразие микробных сообществ и соотношение Firmicutes/Bacteroidetes до и после введения LGG. а) Индекс разнообразия Шеннона; б) видовое богатство (число наблюдаемых ASV); в) филогенетическое разнообразие Фейта. Цветами обозначены отделы толстой кишки: красный - восходящий (AC), зелёный - поперечный (TC), синий - нисходящий (DC). г) Биплот анализа главных компонент (PCA) на основе данных об ASV. Точками представлены образцы, стрелками - таксоны. Цвет точек отражает отдел толстой кишки и время относительно введения LGG, а форма маркеров - биологические повторности (BR1–BR3). Стрелками показаны десять таксонов с наибольшим вкладом в распределение образцов; их длина отражает величину нагрузки на главные компоненты. Микробные сообщества TC и DC более сходны между собой, чем с сообществами AC. Образцы BR2 и BR3 также более сходны между собой по сравнению с BR1. д) Диаграммы размаха (боксплоты), отражающие соотношение Firmicutes/Bacteroidetes. Границы прямоугольников соответствуют первому и третьему квартилям, линия внутри - медиане. Отдельные точки обозначают индивидуальные значения для образцов.

Выживаемость и рост пробиотического штамма *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG (LGG) изучали в многокамерной модели SHIME, имитирующей восходящий (AC), поперечный (TC) и нисходящий (DC) отделы толстой кишки. Эксперимент проводили с фекальными инокулятами трёх независимых доноров. После введения экзогенного LGG во всех трёх моделях наблюдали резкое снижение его численности в просветных сообществах в течение первых 7–10 циклов кормления, после чего снижение продолжалось более медленно. Тем не менее к завершению эксперимента содержание LGG в отделах AC, TC и DC оставалось в 7–540 раз выше исходного уровня. Характер изменения численности LGG зависел от донора и отдела толстой кишки.

Введение LGG оказывало минимальное и кратковременное влияние на альфа-разнообразие исходной микробиоты. В большинстве отделов статистически значимых изменений индекса Шеннона, таксономического богатства и филогенетического разнообразия Фейта (Faith's PD) не выявили. При этом во всех трёх моделях показатели разнообразия в TC- и DC-отделах были выше, чем в AC, что свидетельствует о сохранении региональных различий микробных сообществ (рисунок 17).

Анализ главных компонент по данным секвенирования гена 16S рРНК показал, что распределение микробных сообществ трёх доноров (BR1, BR2, и BR3), определялось преимущественно их происхождением и отделом толстой кишки, так как из десяти таксонов, вносивших наибольший вклад в разделение образцов, различия между BR1 и остальными донорами были связаны, в частности, с представителями *Bacteroidales*, *Escherichia* и *Citrobacter*. Сообщества восходящего отдела у BR2 и BR3 образовали общий кластер, как и образцы нисходящего отдела, тогда как BR1 заметно отличался от них. Разделения образцов по времени после введения LGG не обнаружено, несмотря на то что к концу эксперимента численность штамма превышала исходную в 7–540 раз.

Во всех трёх биологических проворностях преобладали *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, а *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Actinobacteria* и *Verrucomicrobia* составляли меньшую долю микробных сообществ (рисунок 18). У BR1 содержание *Fusobacteria* было выше, чем у BR2 и BR3, тогда как *Proteobacteria* чаще встречались у BR1 и BR2, напротив по направлению от AC к DC доля *Bacteroidetes* уменьшалась, сопровождаясь ростом соотношения *Firmicutes/Bacteroidetes*. При этом статистически значимые изменения этого соотношения после введения LGG выявлены только у BR3, причём максимальные значения наблюдались непосредственно после добавления штамма. Таким образом, при изменении численности отдельных бактериальных групп общая структура микробных сообществ в исследованный период оставалась относительно стабильной.

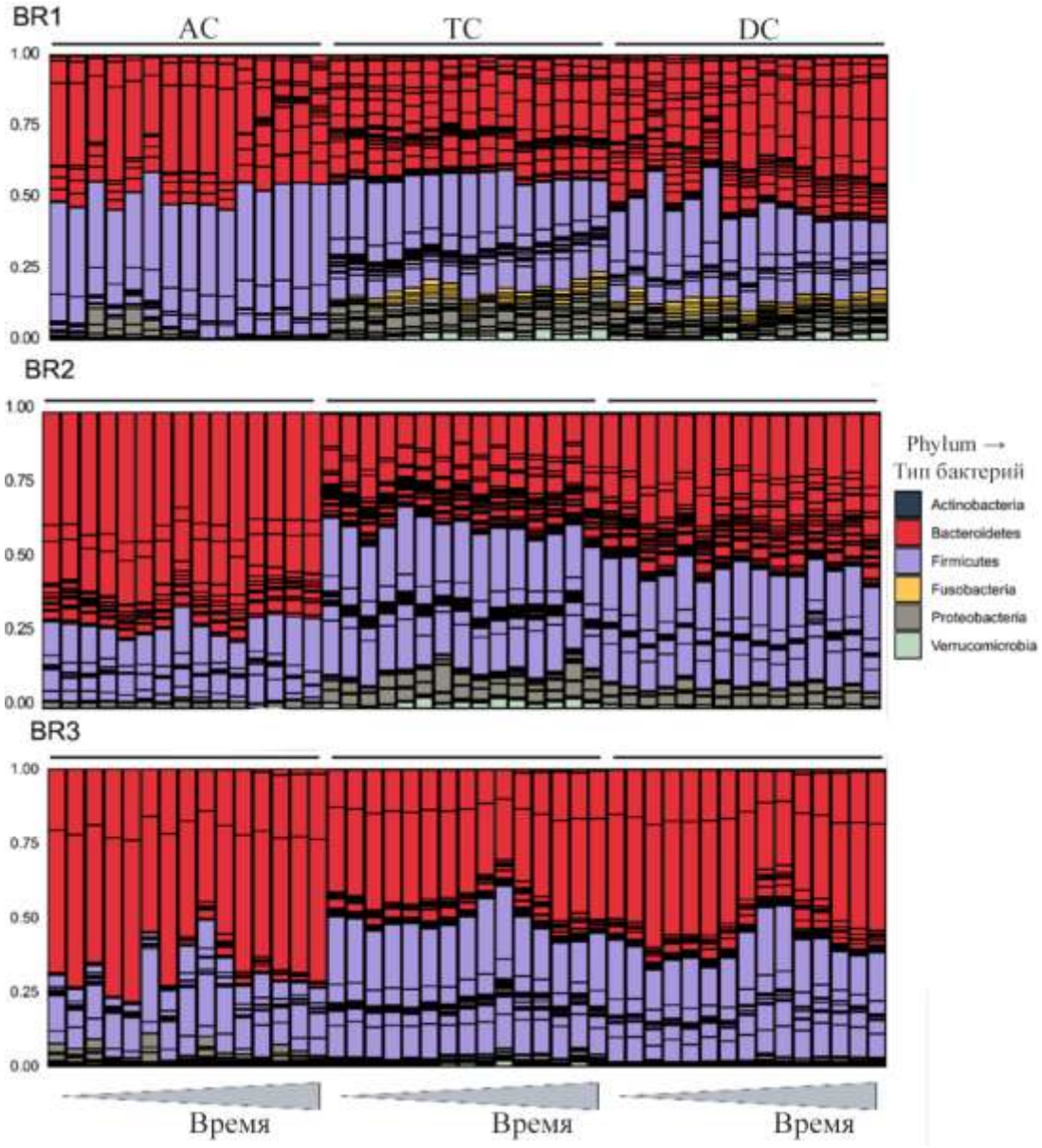


Рисунок 18. - Барграф относительной численности типов. Показано относительная численность шести основных типов в образцах системы SHIME. Типы представлены разными цветами, а столбики внутри каждого цвета обозначают отдельные таксоны внутри этого типа. Ось X указывает время с момента инокуляции штамма LGG

Влияние добавления штамма LGG на синтез короткоцепочечных жирных кислот

В этой части работы систему SHIME инокулировали фекальными образцами трёх независимых доноров (BR1, BR2 и BR3) 2 недели для стабилизации микробных сообществ. Исходную концентрацию КЦЖК в моделируемых отделах толстой кишки определяли до и после введения LGG. До введения LGG содержание КЦЖК последовательно увеличивалось от AC к TC и DC отделам, причём у доноров BR2 и BR3 концентрации КЦЖК были выше, чем у BR1 (рисунок 19а, б). После добавления LGG эта закономерность в целом сохранялась и до 6-го дня в отдельных образцах отмечались кратковременные колебания содержания кислот, включая небольшое увеличение отдельных РКЦЖК в TC-отделе, однако устойчивого изменения их общего уровня не

обнаружено. Для сравнения, из исходных показателей с результатами на 8-й и 10-й дни статистически значимые различия обнаружили 14 из 324 случаев (4,3%). При этом установлена положительная корреляция между концентрацией масляной кислоты и относительной численностью *Acidaminococcus*, *Sutterella*, *Bacteroides* и *Ruminococcus*. Однако изменения численности этих бактерий заметно не увеличивали общего содержания КЦЖК.

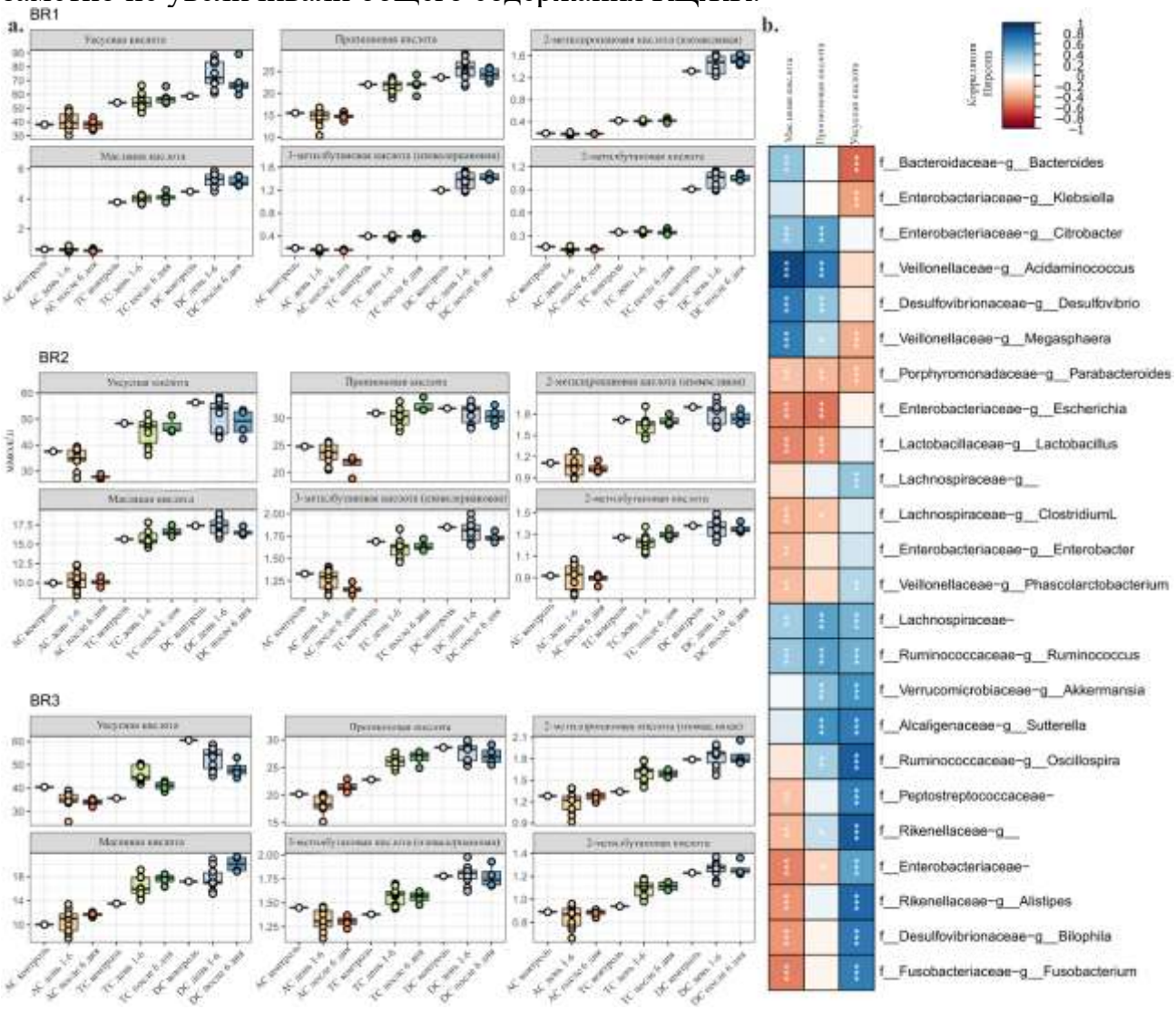


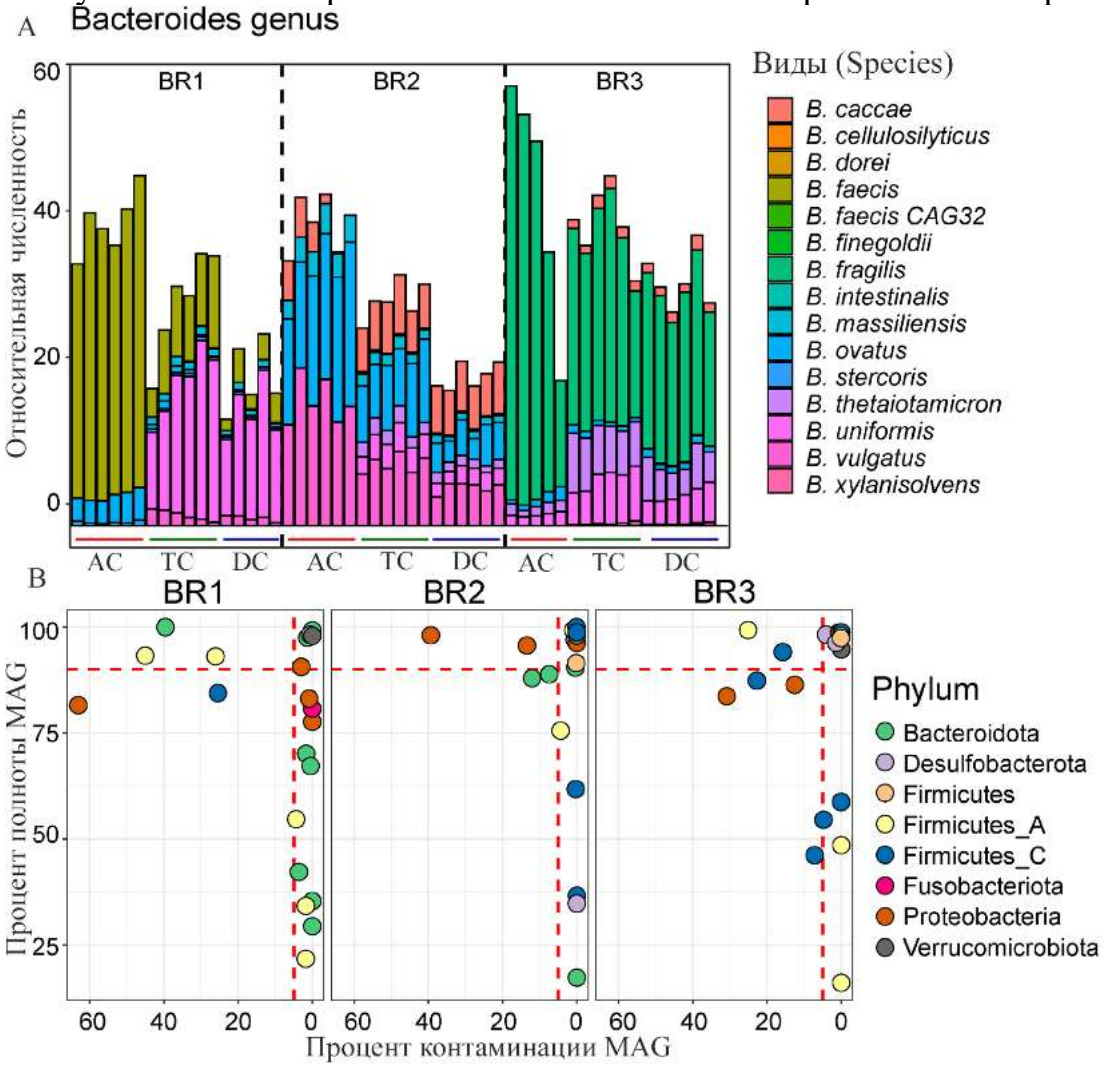
Рисунок 19. - Анализ короткоцепочечных жирных кислот. (a) Концентрации КЦЖК вдоль направления системы реакторов. Диаграммы с ящиком и усами показывают межквартильный размах (IQR) и медиану, отдельные образцы представлены точками. (b) Корреляция Пирсона между относительной численностью таксонов (ASV, суммированные на уровне рода) и тремя ключевыми КЖК. Значимые корреляции отмечены звёздочками. * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001

Несмотря на ограниченные изменения метаболического профиля, LGG сохранялся во всех трёх экспериментальных системах не менее 10 дней. В течение первых 7–10 циклов кормления численность введённого штамма быстро уменьшалась, затем снижение происходило медленнее и к завершению опыта его содержание оставалось в 7–540 раз выше исходного уровня, причём у BR2 и BR3 распределение LGG по отделам соответствовало последовательности AC > TC > DC. Таким образом, длительное сохранение пробиотического штамма в

моделируемой кишечной среде не сопровождалось выраженным увеличением продукции основных КЦЖК.

Метагеномное секвенирование методом дробовика

Для изучения таксономического состава и функционального потенциала кишечной микробиоты после введения LGG использовали метагеномное секвенирование методом дробовика (рисунка 20). Для этого за 9 дней эксперимента в системе SHIME отобрали 180 образцов из просветной и слизистой фаз трёх отделов AC, TC, DC и для метагеномного анализа использовали 54 просветных образца по 18 от каждого из трёх доноров со средней глубиной секвенирования 2 305 546 ± 537 620 прочтений на образец .



.

Рисунок 20. - Видовое разнообразие в пределах рода *Bacteroides*. (A) Подмножество метагеномных данных об относительной численности. (B) MAG, полученные из ко-сборок метагеномных данных. Круги представляют отдельные геномные блоки, показывая предполагаемую полноту и загрязнение, пределы для высококачественных MAG обозначены красными пунктирными линиями

Таксономическая классификация с помощью MetaPhlAn3 позволила сравнить относительную численность бактерий на видовом уровне и в каждом из трёх биологических повторов сообщества TC и DC отделов были ближе друг к другу по составу, чем к сообществу отдела AC. Эта особенность сохранялась и

после введения LGG, хотя между донорами наблюдались различия в таксономическом составе микробиоты. Так, *Klebsiella* sp. обнаружили у BR1 в двух отделах TC и DC кроме AC, но у BR2 и BR3 наблюдали обратную картину: бактерии данного рода обнаружили в AC, тогда как в TC и DC отсутствовали. Таким образом, при одинаковых условиях культивирования распределение отдельных таксонов различалось между тремя донорскими сообществами.

Метагеномный анализ показал, что в видовом составе кишечная микробиота различается между донорами и между отделами AC, TC и DC. Во всех трёх биологических проворностях род *Bacteroides* преобладал в AC, где его относительная численность было 41–45%, TC и DC отделах 17–41%.

Как видно из рисунка 20A, при относительной численности бактерий на уровне рода их видовой состав различается между отделами AC, TC и DC, особенно у донора BR1. Для анализа свойств микробных сообществ, метагеномные последовательности каждого биорепликата подвергали совместной сборке с последующим бинингом. Всего получили 27 метагеномно-собранных геномов, из которых 21 (77,8%) соответствует критериям высокого качества с полнотой более 90% при уровне загрязнения менее 5% и остальные 6 геномов этим критериям не соответствовали (рисунок 20Б).

Взаимосвязь между микробиомом и метаболомом

Нетаргетный метаболомный анализ 148 образцов позволил получить профили 654 метаболитов, из которых 559 были идентифицированы по химической структуре. С учётом биологической повторности и отделов системы статистически значимые различия между условиями обработки выявлены для 132 метаболитов (23,6% идентифицированных соединений) и 20 метаболических путей, для остальных 427 идентифицированных соединений, составлявших 76,4%, значимых изменений в зависимости от обработки не установлено.

Среди них особое внимание уделяли продуктам микробного превращения ароматических аминокислот триптофана (Trp), тирозина (Tyr) и фенилаланина (Phe), так как они имели разные распределение между тремя отделами системы. Интенсивный сигнал триптофана наблюдали в AC, где также выявляли относительно низкий сигнал тирозина и фенилаланина. В TC и DC отделах содержание триптофана и тирозина снижалось практически до неопределяемого уровня, тогда как фенилаланин обнаруживался в небольших количествах. Такая картина согласуется с последовательным высвобождением аминокислот из белков питательной среды и их дальнейшим использованием кишечной микробиотой.

Корреляционный анализ Пирсона показал положительные и отрицательные связи между интенсивностью сигнала триптофана, относительной численностью отдельных вариантов последовательностей ампликонов, относящихся к родам *Bacteroides*, *Klebsiella*, *Veillonella*, *Clostridium*, *Paraprevotella* и *Escherichia* (рисунок 21A, Б). Присутствие протеолитических представителей *Bacteroides*, а также бактерий *Klebsiella* и *Escherichia*, способных превращать триптофан в индол, согласуется с участием нескольких бактериальных групп в метаболизме этой аминокислоты.

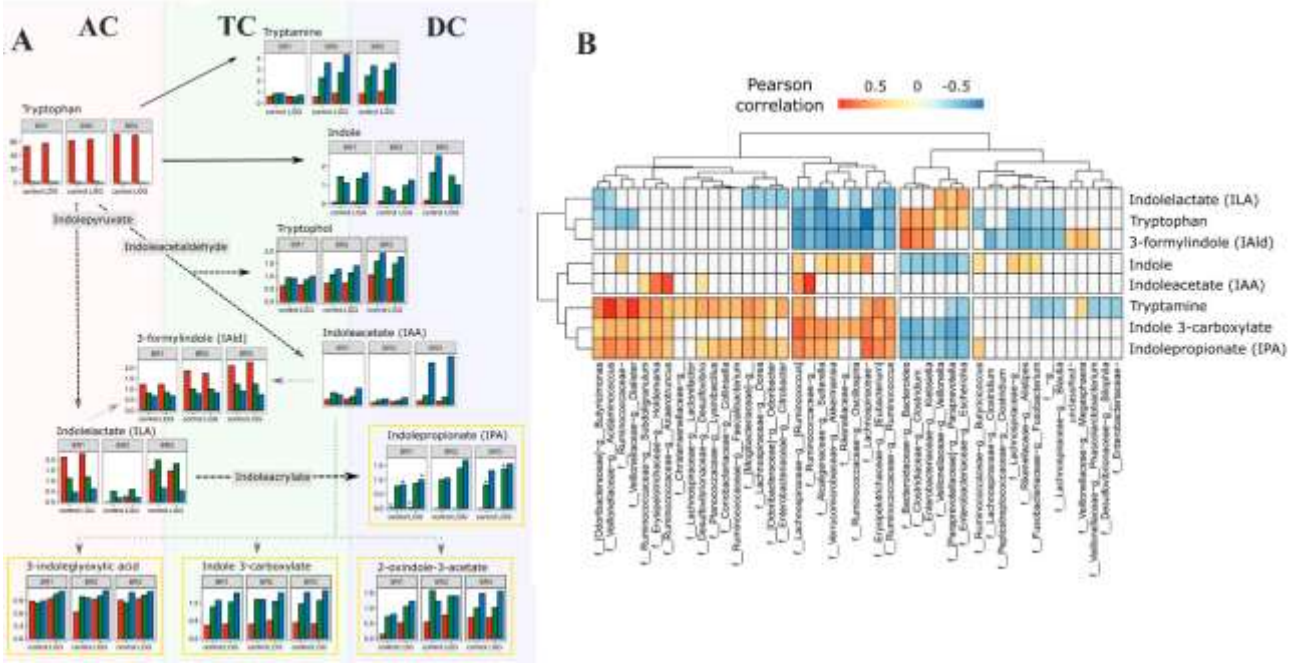


Рисунок 21. - Катаболизм триптофана в различных отделах толстой кишки. (А) Региональные профили метаболитов и предполагаемые пути превращения триптофана. Сплошные стрелки обозначают прямые реакции, пунктирные - многостадийные и альтернативные пути, серые прямоугольники - предполагаемые промежуточные соединения. Жёлтым выделены метаболиты со значимыми изменениями после введения LGG, звёздочками - значимые изменения индолпропионата в отдельных отделах и биоповторностях. Стрелки показывают реакции, а не перенос веществ между реакторами. (Б) Корреляции Пирсона между бактериальными родами (16S рРНК) и метаболитами триптофана. Цвет отражает направление и величину значимых корреляций, незакрашенные ячейки - их отсутствие. Критерий значимости: $p < 0,05$ после коррекции Бенджамини–Хохберга.

Методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (УВЭЖХ-МС/МС) установлено, что триптофан, индоллактат и индолальдегид обнаруживались уже в АС отделе толстой кишки, тогда как индол и индол-3-пропионовая кислота накапливались преимущественно в ТС и DC отделах. После введения LGG содержание IPA в ТС и DC статистически значимо увеличивалось (рисунок 21).

При секвенировании гена 16S рРНК и метагеномном анализе *Clostridium sporogenes*, известный продуцент IPA не обнаружен. Относительная численность других представителей *Clostridium* составляла преимущественно около 0,5% и лишь в одном образце достигала 1,5%, а доля *Peptostreptococcaceae* не превышала 1,3%, при этом обнаружены последовательности, похожие с генами *fldBC* у представителей *Enterocloster*, *Fusobacterium*, *Acidaminococcus* и *Megasphaera* и их аминокислотная идентичность с соответствующими белками *C. sporogenes* составляла менее 60%, что не позволяет подтвердить их участие в синтезе IPA.

Положительная корреляция содержания IPA с относительной численностью неклассифицированных представителей *Lachnospiraceae* и отрицательная с *Clostridium* (Clostridiaceae) указывают на возможное участие других микроорганизмов в образовании этого метаболита.

Подготовка гидрогелевых микросфер, инкапсулированных лекарственным средством

Характеристики разработанных гидрогелевых микросфер на основе зеина, пектинов HM-APSh и BM-APF представлены в таблице 5. Как видно из таблицы 5 выход микросфер при использовании HM-пектина составлял 86,15%, тогда как для HM-пектина 45,43% и содержание пироксикама в гидрогеле было выше в системе на основе BM-пектина (57,0 ± 2,5%) по сравнению с HM-пектином (48,5 ± 2,1%).

Относительно высокий выход микросфер на основе HM-пектина, связан с его молекулярной массой (119 кДа) и низкой степенью этерификации, что обеспечивает большую доступность карбоксильных групп для взаимодействия с ионами Zn^{2+}, что в свою очередь способствует формированию плотной гидрогелевой матрицы, несмотря на содержание инкапсулированного пироксикама 48,5%.

Таблица 5. - Характеристики образцов пектина и П/З микросфер (1.30)

	Характеристики пектина			Выход гидрогеля, %	Рх в гидрогеле, %	Степень набухания
	AGA, %	СЭ, %	Mw, KD			
HM-APSh	58,6	40,3	119,0	86,15	48,5±2,1	6,25
BM-APF	64,4	71,6	208,0	45,43	57,0±2,5	8,81

Фармакокинетическое исследование высвобождения лекарственного средства *in vitro*

Для предотвращения потери пектин-зеиновых гидрогелевых микросфер при отборе проб в ходе исследования высвобождения лекарственного средства в аппарате тест на растворимость, микросферы помещали в диализные мешки. Контрольный опыт без диализной мембраны показал, что профили высвобождения пироксикама из микросфер с использованием диализного мешка и без него были близкими (рисунок 22), а коэффициент распределения пироксикама между внешней средой и внутренним объёмом диализного мешка (Kp = Cout/Cin) составлял 0,95 ± 0,02, что свидетельствует об отсутствии существенного влияния мембраны на общий характер высвобождения лекарственного средства.

Для пироксикама в традиционной форме (Рх ТФ) была характерна быстрая начальная фаза растворения, около 90% лекарственного средства переходило в раствор в первые 24 ч, напротив, П/З BM обеспечивали пролонгированное её высвобождение в течение 6 суток. Математический анализ показал, что константа высвобождения по модели Хигучи для традиционной формы была в 2,8 раза выше, чем для микросфер в диализном мешке, поэтому полученные результаты подтверждают пролонгированную кинетику высвобождения пироксикама из пектин-зеиновых микросфер по сравнению с традиционной формой (таблица 6).

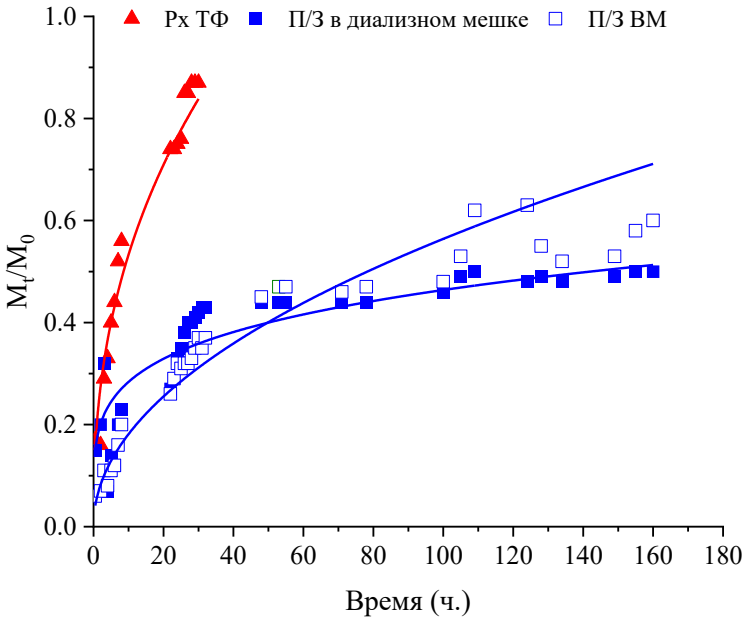


Рисунок 22. - Профили кумулятивной скорости высвобождения Рх из Рх ТФ, П/З ВМ и П/З ВМ внутри диализного мешка *in vitro* (фосфатный буфер pH 6.4, содержащий 0.1 мл пектиназы)

Таблица 6. - Уравнения высвобождения препарата, полученные из кинетических кривых на рисунке 1, *in vitro*

Формы лекарственного средства	Уравнение	R^2	$k_H 10^2$, $ч^{1/2}$	n (экспонента высвобождения)
Рх ТФ	Mt/Mo = 0,1652√t	0,95	16,52	0,186
П/З ВМ в диализном мешке	Mt/Mo = 0,0595√t	0,96	5,95	0,335
П/З ВМ	Mt/Mo = 0,0836Ln(t) + 0,0875	0,82	8,36	0,563

Профили высвобождения пироксикама из традиционной формы (Рх ТФ) и пектин-зеиновых микросфер (П/З ВМ) в диализном мешке хорошо описывались моделью Хигучи с коэффициентами детерминации $R^2 = 0,95$ и 0,96 соответственно. Константа высвобождения для Рх ТФ составляла $16,52 \times 10^{-2}$ $ч^{-1/2}$, а для П/З ВМ - $5,95 \times 10^{-2}$ $ч^{-1/2}$, то есть была в 2,8 раза ниже при использовании микросфер. Это подтверждает замедление высвобождения пироксикама из пектин-зеиновой матрицы.

По модели Корсмейера–Пеппаса значения показателя n для Рх ТФ и П/З ВМ в диализном мешке составляли 0,186 и 0,335 соответственно, что указывает на преобладание диффузионного механизма высвобождения при принятой геометрии системы. Для П/З ВМ без диализного мешка значение n = 0,563 допускает участие не только диффузии, но и процессов набухания и релаксации полимерной матрицы.

Фармакокинетическое исследование *in vivo* на крысах

Для оценки поведения пектин-зеиновых гидрогелевых микросфер (П/З ВМ) in vivo исследовали высвобождение пироксикама в желудочно-кишечном тракте крыс. Животным экспериментальной группы однократно перорально вводили оптимизированные П/З ВМ, а контрольной группе неинкапсулированный пироксикам в традиционной форме (Рх ТФ). Доза препарата в обеих группах была одинаковой и составляла 3,6 мг/кг массы тела.

Полученные данные использовали для сравнения профилей высвобождения пироксикама в тонком и толстом кишечнике (рисунок 23).

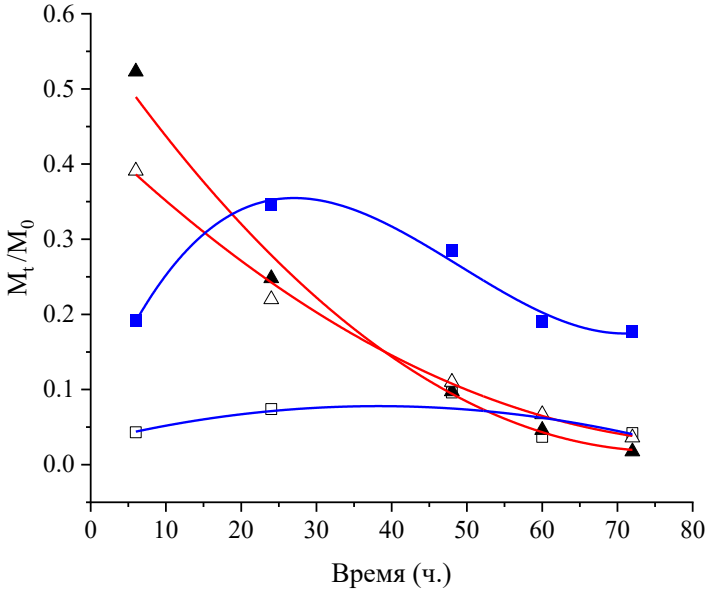


Рисунок 23. - Фракция высвобождения Рх в тонком и толстом кишечнике группы крыс, кормленных оптимизированным П/З ВМ, и контрольной группы, получавшей Рх ТФ. Количество высвобожденного Рх из 1) П/З ВМ в ■ - толстой кишке и □ - тонкой кишке; 2) Рх ТФ в ▲ - толстой кишке и △ - тонкой кишке

Исследования *in vivo* выявили различия в характере высвобождения пироксикама из Рх ТФ и П/З ВМ. У животных перорально получавших Рх ТФ, максимальное содержание высвобожденного пироксикама в условиях тонкого и толстого кишечника наблюдали через 6 ч, после чего его количество постепенно снизился, а при пероральном введении П/З ВМ высвобождение пироксикама происходило медленнее и более равномерно, без выраженных колебаний в течение 24 ч наблюдения (рисунок 23).

После однократного перорального введения П/З ВМ концентрация пироксикама в плазме крови через 6 ч составляла 1,26 мкг/мл, достигала максимума 3,85 мкг/мл через 24 ч и сохранялась на уровне 2,876 мкг/мл через 72 ч. В контрольной группе, получавшей Рх ТФ, максимальная концентрация также наблюдалась через 24 ч и составляла 4,23 мкг/мл, однако к 72-му часу снижалась до 1,23 мкг/мл. Таким образом, через 72 ч концентрация пироксикама при использовании микросфер была примерно в 2,34 раза выше, чем в контрольной группе (рисунок 24).

В таблице 7 приведено основные фармакокинетические параметры после однократного перорального введения обеих лекарственных форм. Полученные результаты свидетельствуют о продолжительном сохранении концентрации пироксикама в системном кровотоке при использовании П/З ВМ относительно традиционной формы.

Относительную биодоступность пироксикама оценили по соотношению площадей под фармакокинетическими кривыми (AUC) для исследуемой и контрольной лекарственных форм. При использовании П/З ВМ значения $AUC_{0–t}$ и $AUC_{0–\infty}$ составляли 211,18 и 461,80 мкг·ч/мл соответственно, тогда как для Рх ТФ 191,77 и 239,60 мкг·ч/мл, а среднее время пребывания пироксикама в организме (MRT) увеличивалось с 46,84 до 108,21 ч. Рассчитанная относительная биодоступность П/З ВМ по отношению к традиционной форме составляла 192,7% (таблица 7).

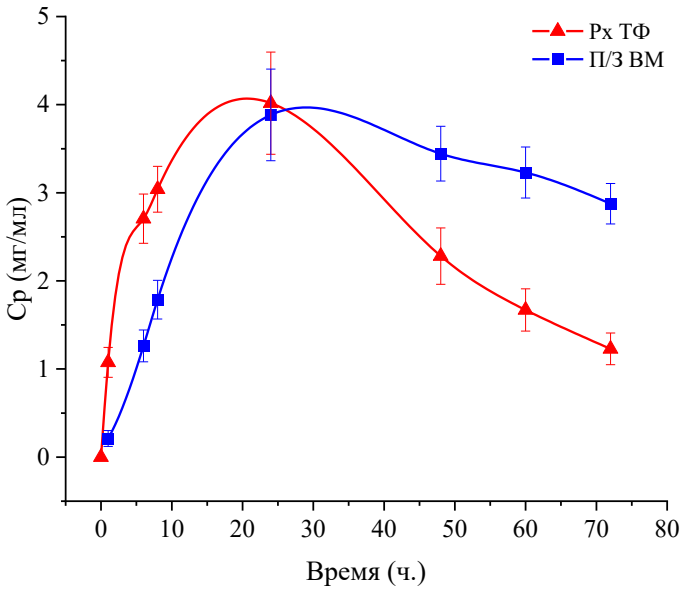


Рисунок 24. - Кривые концентрации Рх в плазме у групп крыс, получавших Рх ТФ и П/З ВМ

Таблица 7. - Основные фармакокинетические параметры форм препарата Рх, независимые от модели

Параметр	Единица	Рх ТФ	П/З ВМ
Tmax	ч	24	24
Cmax	мкг/мл	4,23	3,82
AUC 0-t	мкг/мл*ч	191,77	211,18
AUC 0-inf	мкг/мл*ч	239,60	461,80
AUMC	мкг/мл*ч²	11223,84	49971,77
MRT	ч	46,84	108,21
Frel	%	51,9	192,7

Несмотря на одинаковое время достижения максимальной концентрации (Tmax = 24 ч), при использовании П/З ВМ концентрация пироксикама в плазме после достижения максимума снижалась медленнее, чем при введении Рх ТФ. Увеличение MRT и AUC согласуется с пролонгированным характером высвобождения пироксикама из пектин-зеиновой матрицы и продолжительным поддержанием концентрации его в системном кровотоке.

Корреляционный анализ *in vitro – in vivo* и *ex vivo – in vivo*

Для оценки взаимосвязи между высвобождением пироксикама в условиях *in vitro* и *ex vivo* и его абсорбцией *in vivo* использовали корреляционные модели IVIVC и EVIVC. Долю абсорбированного пироксикама во времени рассчитали методом Лоо–Ригельмана и обработку данных проводили с использованием двухкамерной фармакокинетической модели, учитывающей распределение пироксикама между центральным и периферическим компартментами.

Корреляцию IVIVC уровня А оценивали путём сопоставления доли пироксикама, абсорбированного *in vivo*, с долей препарата, высвободившегося *in vitro*. Для традиционной формы пироксикама (Рх ТФ) установлена взаимосвязь между растворением *in vitro* и абсорбцией *in vivo* (рисунок 25). Это согласуется с низкой растворимостью пироксикама в воде и предполагает, что растворение является одним из основных факторов, ограничивающих скорость его абсорбции.

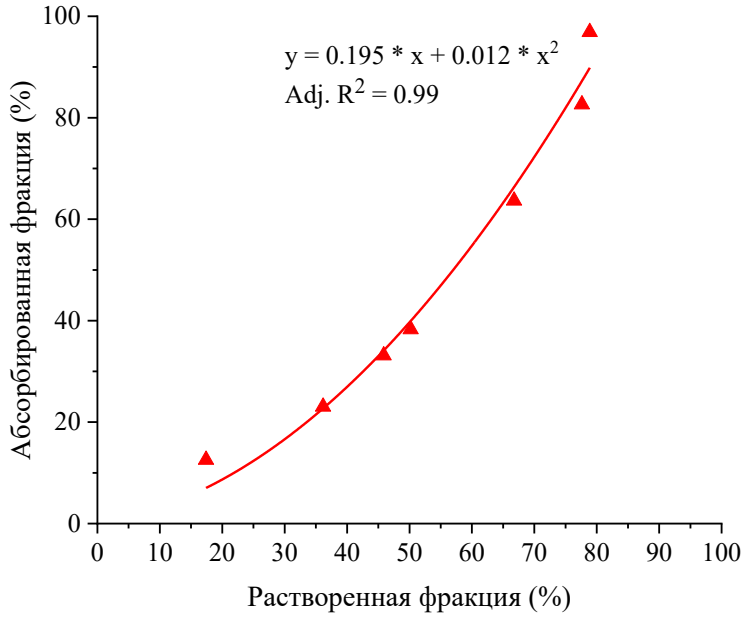


Рисунок 25. - Корреляция данных о растворении *in vitro* и абсорбции *in vivo* для Рх ТФ, полученных методом Лоо-Ригельмана

Для пектин-зеиновых микросфер (П/З ВМ) доля пироксикама, абсорбированного *in vivo*, увеличивалась быстрее, чем доля препарата, высвобождавшегося *in vitro* (рисунок 26а). При этом профиль высвобождения *ex vivo* был близок к профилю абсорбции *in vivo*, что указывает на более полное воспроизведение условий кишечной среды по сравнению со стандартным испытанием *in vitro*.

Для сопоставления результатов *in vitro* и *in vivo* применяли временное масштабирование, позволяющее учитывать различия в скорости высвобождения и абсорбции пироксикама. Полученная зависимость на графике Леви была линейной (рисунок 26б), что свидетельствует о наличии взаимосвязи между этими процессами и возможности применения IVIVC для оценки пектин-зеиновых микросфер.

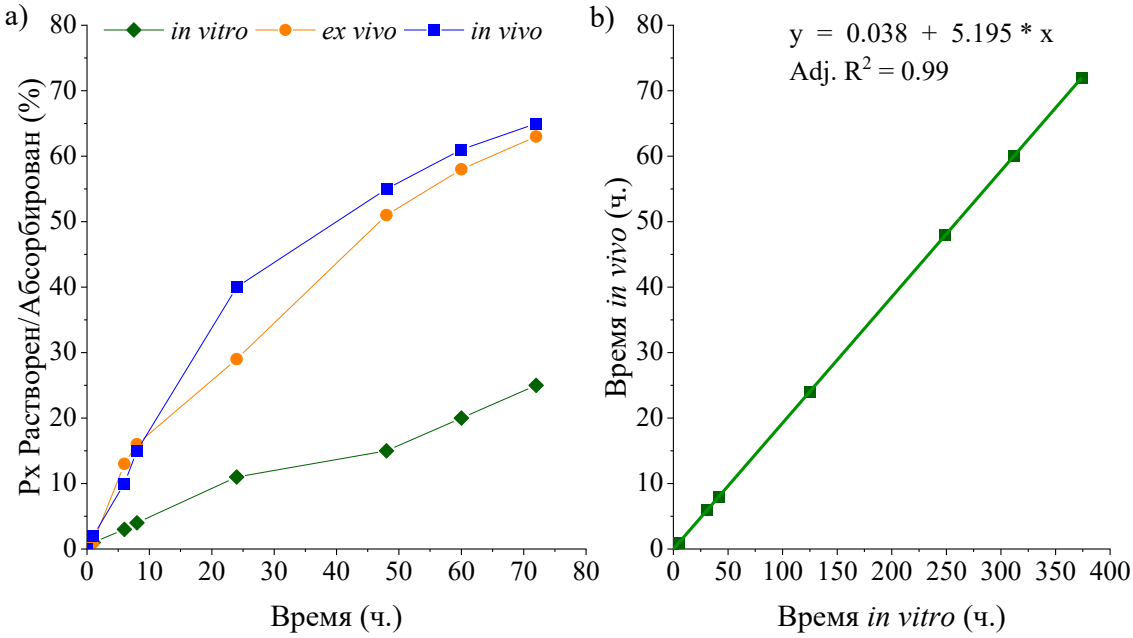


Рисунок 26. - Высвобождение Рх из П/З ВМ *in vitro, ex vivo* и *in vivo* (а) и график Леви (b)

Профиль высвобождения пироксикама в условиях *ex vivo* был близок к профилю его абсорбции *in vivo*. При сопоставлении долей высвобожденного и абсорбированного препарата установлена выраженная линейная зависимость. Коэффициенты детерминации для моделей IVIVC и EVIVC составляли 0,976 и 0,99 соответственно (рисунок 27).

Угловые коэффициенты регрессионных прямых для *in vitro* и *ex vivo* составляли 0,33 и 0,93 соответственно. Более близкое к единице значение для EVIVC указывает на лучшее соответствие доли пироксикама, высвобожденного *ex vivo*, доле препарата, абсорбированного *in vivo*. Полученные результаты показывают возможность применения обоих подходов для оценки поведения П/З ВМ, при этом метод *ex vivo* точнее воспроизводил наблюдаемую кинетику абсорбции.

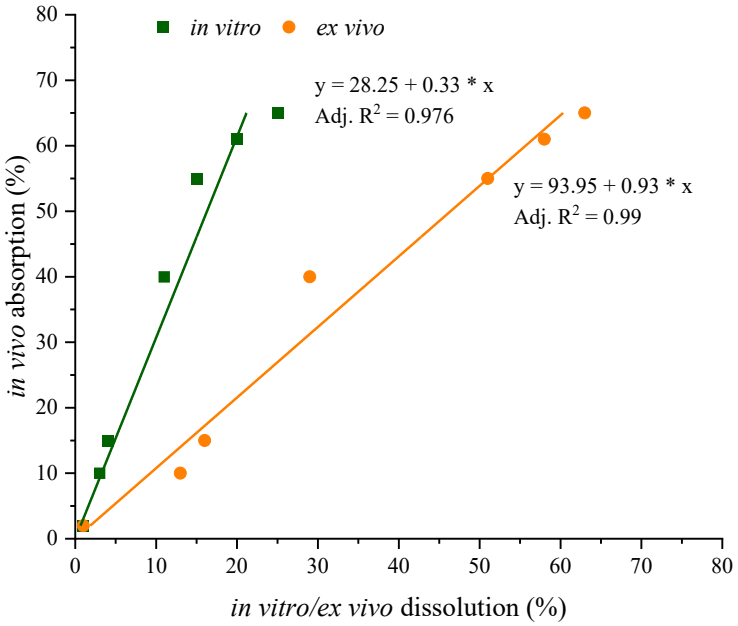


Рисунок 27. - Корреляция между данными о растворении *in vitro*/*ex vivo* и абсорбцией *in vivo*, деконволюированными методом Лоо–Ригельмана

Точность прогнозирования фармакокинетических параметров AUC и Cmax с помощью моделей IVIVC и EVIVC оценили по процентной ошибки прогнозирования (PE%), рассчитанной при сопоставлении предсказанных и экспериментальных значений. После временного масштабирования ошибка прогнозирования модели IVIVC составлял 0,37% для AUC и 6,47% для Cmax соответственно. Ошибка прогнозирования модели EVIVC было 7,86 для AUC и 13,44% для Cmax. Во всех случаях абсолютные значения ошибок не превышали допустимых <15%, при этом модель IVIVC обеспечивала более точное прогнозирование обоих параметров после временного масштабирования (таблица 8). Полученные результаты подтверждают возможность использования разработанных корреляционных моделей для оценки фармакокинетических характеристик П/З ВМ *in vitro* и *ex vivo*

Таблица 8. - Ошибки предсказания (PE) значений Cmax и AUC из разработанных моделей

Модель	Параметр	Предсказанное	Наблюдаемое	%PE
IVIVC	AUC	210,40	211,18	-0,37
IVIVC	C_{max}	3,57	3,82	-6,47
EVIVC	AUC	194,57	211,18	-7,86
EVIVC	C_{max}	3,31	3,82	-13,44

Способность моделей IVIVC и EVIVC прогнозировать фармакокинетические характеристики оценивали по процентным ошибкам прогнозирования (PE%) фармакокинетических параметров AUC и Cmax. После масштабирования по времени модель IVIVC характеризовалась коэффициентом детерминации $R^2 = 0,976$, тогда как для EVIVC этот показатель составлял 0,99. Однако более высокая линейная корреляция EVIVC не сопровождалась лучшей точностью прогнозирования. Для IVIVC ошибки AUC и Cmax составляли 0,37 и 6,47% соответственно, а для EVIVC 7,86 и 13,44% (рисунок 28). Поэтому, модель IVIVC обеспечила близкое соответствие расчётных и экспериментальных фармакокинетических параметров

Более быстрое высвобождение пироксикама в условиях *ex vivo* по сравнению с *in vitro* могло быть обусловлено действием пектолитических ферментов кишечной микробиоты, способных разрушать пектиновую матрицу микросфер. На процесс высвобождения также могли влиять особенности состава среды *ex vivo*. Полученные корреляционные зависимости позволяют оценивать абсорбцию пироксикама на основании данных о его высвобождении из пектин-зеиновых микросфер, причём после временного масштабирования модель IVIVC показала меньшие ошибки прогнозирования обоих исследованных параметров.

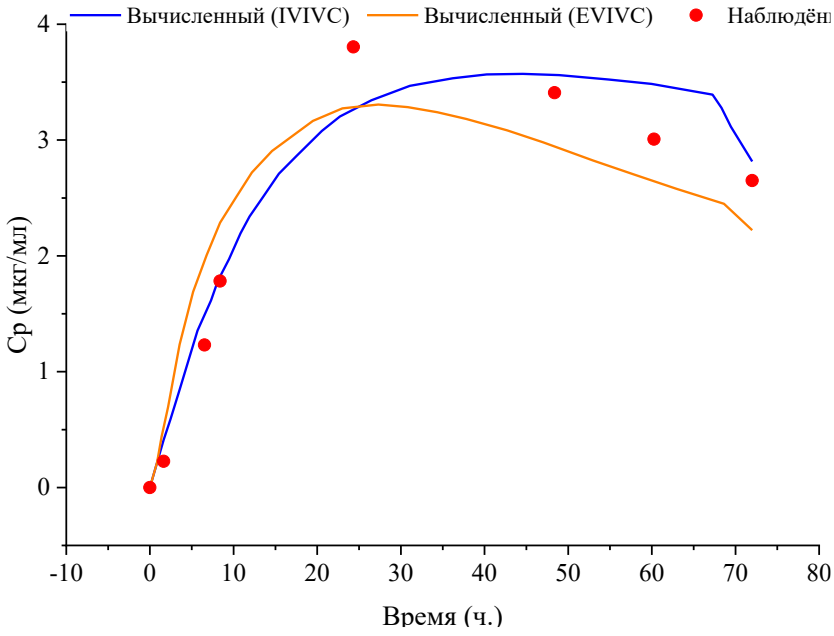


Рисунок 28. - Экспериментальные и предсказанные профили концентрации Рх в плазме для П/З ВМ

Полученные результаты расширяют представления о взаимосвязи между высвобождением пироксикама из пектин-зеиновых микросфер и его абсорбцией *in vivo*. Разработанные корреляционные модели IVIVC уровня А и EVIVC могут служить основой для дальнейших фармакокинетических исследований и совершенствования технологии получения данной лекарственной формы.

Применение комбинации пектин–антибиотик при кишечных инфекциях

Дизайн исследования представлен в таблице 9. Далее подробно описаны процедуры клинических испытаний, соответствующие этому дизайну.

В клинических исследованиях изучали эффективность применения яблочных пектинов, различающихся молекулярной массой и степенью этерификации, в сочетании с метронидазолом при лечении кишечного амёбиаза. Два рандомизированных открытых сравнительных исследования с

параллельными группами проводили на базе инфекционных больниц г. Душанбе. В них участвовали 65 пациентов с кишечным амёбиазом.

Таблица 9. - Дизайн исследований

Исследование	Группа пациентов	Схема терапии
Исследование 1	A (n=16)	Метронидазол+ SWS
	B (n=16)	Метронидазол + LMAP
Исследование 2	C (n=15)	Метронидазол + SWS
	D (n=18)	Метронидазол + HMAP

В первом исследовании 16 пациентов контрольной группы получали метронидазол в сочетании с водным раствором сахарозы (SWS), а 16 пациентов основной группы метронидазол с низкомолекулярным яблочным пектином (LMAP). Во втором исследовании контрольная группа включала 15 пациентов, а основная группа, получавшая метронидазол в сочетании с высокомолекулярным яблочным пектином (HMAP), 18 пациентов. Продолжительность лечения и наблюдения составляла 8 суток.

Эффективность терапии оценивали по срокам нормализации температуры тела и частоты стула, исчезновению патологических примесей (слизи и крови), уменьшению выраженности клинических симптомов и срокам выздоровления. Исследование проводили с целью установить, способствует ли включение яблочного пектина в схему лечения более быстрому уменьшению симптомов кишечного амёбиаза по сравнению с применением метронидазола без пектина.

Оценка эффективности комбинации метронидазола с LMAP при кишечном амебиазе

В клинических исследованиях применение яблочных пектинов в сочетании с метронидазолом сопровождалось более быстрым уменьшением основных симптомов кишечного амёбиаза по сравнению с контрольными схемами лечения. При использовании комбинации «метронидазол + LMAP» нормализация частоты стула и исчезновение патологических примесей наблюдались раньше, чем при применении метронидазола с раствором сахарозы. У шести пациентов основной группы рвота прекратилась уже в первые сутки лечения, а к третьим суткам этот симптом отсутствовал у всех пациентов группы. Также отмечалась более ранняя нормализация температуры тела (рисунок 29).

Комбинация «метронидазол + HMAP» хорошо переносилась пациентами; побочных эффектов в ходе исследования не зарегистрировано. При применении метронидазола с раствором сахарозы его концентрация в плазме крови составляла 17,93 мг/л через 2 ч и снижалась до 8,26 мг/л через 8 ч. В группе, получавшей метронидазол совместно с HMAP, соответствующие значения составляли 18,67 и 13,38 мг/л (рисунок 30). Таким образом, через 8 ч после приёма препарата его концентрация при использовании HMAP была выше, чем в контрольной группе.

Применение комбинации «метронидазол + HMAP» сопровождалось более быстрым исчезновением клинических симптомов кишечного амёбиаза и сокращением продолжительности госпитализации на 3,0 ± 1,0 дня. Полученные

результаты указывают на возможность использования яблочных пектинов в качестве дополнительных компонентов комплексной терапии кишечных инфекций.

Наблюдаемые эффекты могут быть связаны с особенностями взаимодействия пектина с кишечной средой, в том числе с его барьерными и сорбционными свойствами. Вместе с тем вклад отдельных механизмов в улучшение клинических показателей требует дальнейшего изучения.

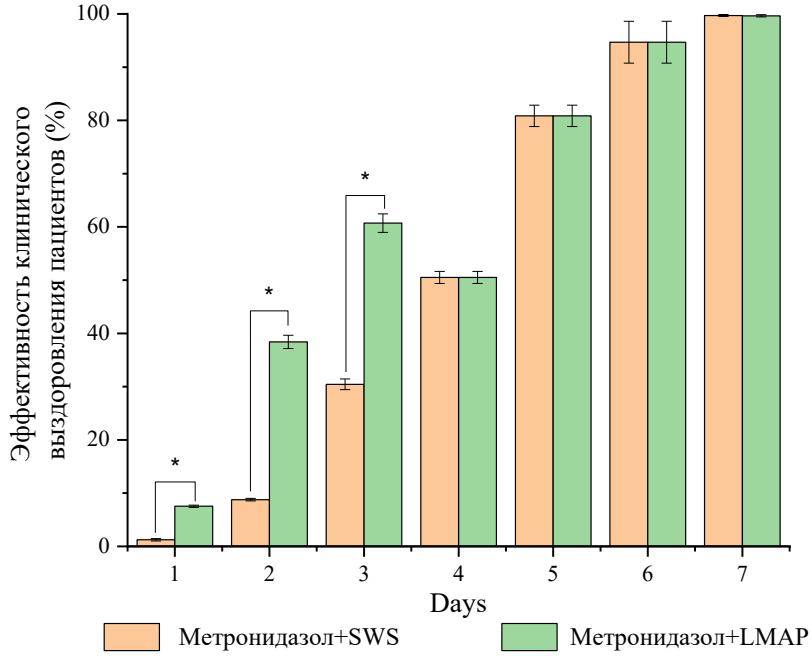


Рисунок 29. - Сравнительная эффективность комбинации антибиотик + SWS и антибиотик + LMAP в терапии кишечного амебиаза (среднее значение ± SD, p < 0,05)

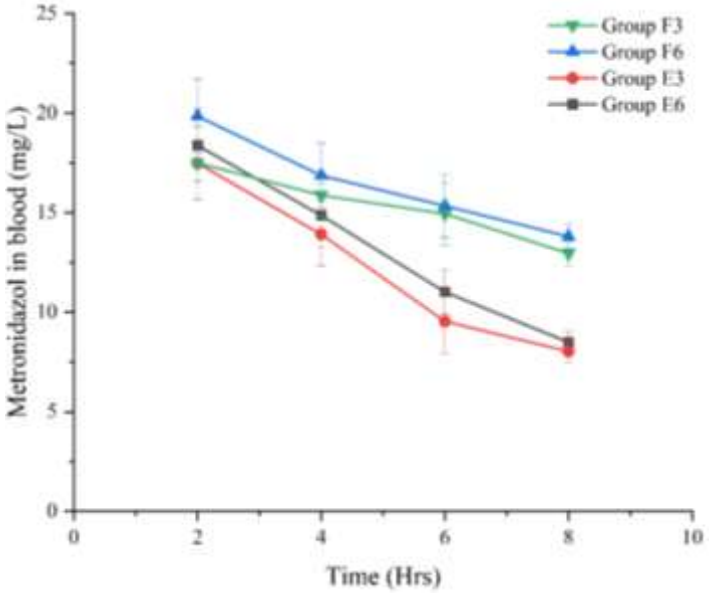


Рисунок 30. - Динамика распределения метронидазола в плазме крови пациентов с кишечным амёбиазом на 4-й и 6-й день лечения: (▼) – метронидазол в плазме крови пациентов группы C на 4-й день лечения, (▲) – метронидазол в плазме крови у пациентов группы C на 6-й день лечения, (●) – метронидазол в плазме крови у пациентов группы D на 4-й день лечения, (□) – метронидазол в плазме крови у пациентов группы D на 6-й день лечения. Примечание: различия значимы (p<0,05)

Исследованные яблочные пектины содержали ассоциированные полифенольные соединения, которые могут вносить дополнительный вклад в действие комплекса «пектин–полифенол–антибиотик». Полученные клинические результаты свидетельствуют о перспективности применения пектинсодержащих композиций в качестве дополнительных компонентов комплексной терапии кишечных инфекций. Вместе с тем механизмы их действия и влияние отдельных компонентов на эффективность лечения требуют дальнейшего изучения.

Выводы

1. Разработан способ очистки пектина методом тангенциальной диаультрафильтрации, позволяющий получать полисахарид с улучшенными физико-химическими характеристиками. По сравнению с вакуумным выпариванием и спиртовым осаждением содержание галактуроновой кислоты увеличивалось с 50,4 до 64,8%, а степень этерификации с 68,6 до 71,4%. Одновременно снижались полидисперсность получаемого пектина, расход этанола и энергозатраты. Предложенный способ может использоваться при получении стандартизированного пектина для фармацевтических целей [4-А, 12-А].
2. Разработана технология выделения кукурузного белка зеина из обезжиренной муки. Рациональным способом оказалась трёхкратная экстракция 75%-м этанолом, обеспечивавшая выход зеина 3,3%. Установлено, что выделенный белок состоит из нескольких фракций и благодаря своим гидрофобным свойствам пригоден для формирования белковой фазы композиционных систем доставки лекарственных средств [1-А, 14-А, 15-А].
3. Разработана технология получения гидрогелевых микросфер на основе композиции пектин–зеин. В исследованных условиях содержание инкапсулированного лекарственного средства достигало 93,8%, а высвобождение пироксикама продолжалось более шести суток. Для сравнения, из традиционной формы около 90% лекарственного средства переходило в раствор в течение первых 24 часов. Полученные результаты подтверждают возможность использования пектин-зеиновой матрицы для пролонгированного высвобождения лекарственных веществ [1-А, 14-А, 15-А, 16-А, 26-А].
4. Установлено влияние соотношения пектина и зеина, степени этерификации полисахарида и природы сшивающего катиона на свойства микросфер и кинетику высвобождения пироксикама. Увеличение содержания зеина сопровождалось уменьшением степени набухания, а замена ионов Ca^{2+} на Zn^{2+} позволяла получать микросферы с плотной полимерной матрицей. При использовании ионов цинка содержание пироксикама в микросферах достигало 71,50%. Эти результаты показывают возможность регулирования характеристик системы путём изменения её состава и условий формирования [1-А, 2-А].
5. Исследования in vitro, ex vivo и in vivo показали, что пектин-зеиновые микросферы обеспечивают продолжительное высвобождение пироксикама по сравнению с традиционной формой и создают условия для его доставки в толстый кишечник. После перорального введения пектин-зеиновых микросфер концентрация пироксикама в плазме крови крыс составляла 1,26 мкг/мл через 6 ч, 3,85 мкг/мл через 24 ч и сохранялась на уровне 2,876 мкг/мл через 72 ч. При этом относительная биодоступность пироксикама в составе микросфер была 192,7% по сравнению с традиционной лекарственной формой [5-А, 21-А, 25-А].
6. Установлена выраженная корреляция между результатами высвобождения пироксикама *in vitro*, *ex vivo* и его абсорбцией *in vivo*. Коэффициенты

детерминации для IVIVC и EVIVC были 0,97 и 0,99. Полученные зависимости позволяют прогнозировать отдельные фармакокинетические параметры лекарственного средства и подтверждают возможность применения методов IVIVC и EVIVC при оценке новых пектин-зеиновых систем доставки [5-А, 21-А, 25-А].

7. Установлено, что трёхкамерная модель толстой кишки, в отличие от однокамерной, позволяет воспроизводить региональные различия таксономического состава и метаболической активности кишечной микробиоты. Суммарная концентрация короткоцепочечных жирных кислот последовательно увеличивалась от восходящего к нисходящему отделу и составляла 82,35–110,39 ммоль/л против 58,23 ммоль/л в однокамерной модели. Таким образом, трёхкамерная система предпочтительна для изучения региональных особенностей микробиоты и процессов ферментации, а однокамерная модель может использоваться для исследований, не требующих воспроизведения различий между отделами толстой кишки. [6-А, 18-А].
8. Установлено, что пектины по-разному влияют на состав и метаболическую активность кишечной микробиоты. Низкомолекулярный высокоэтерифицированный пектин повышал содержание масляной кислоты в 1,41 раза, а высокомолекулярный низкоэтерифицированный пектин относительную численность бактерий семейства *Lachnospiraceae* у обоих доноров. Оба образца повышали суммарное содержание КЦЖК в 1,49 и 1,46 раза соответственно. Полученные результаты указывают на необходимость учитывать молекулярную массу и степень этерификации пектина при разработке пребиотических композиций. [7-А, 17-А, 23-А, 24-А].
9. Установлено, что растворимые и нерастворимые фракции полисахаридов изменяют состав кишечной микробиоты и выработку КЦЖК в зависимости от исходного состава микробных сообществ. При введении LGG в систему его численность превышала исходный уровень в 7–540 раз, значимые изменения содержания КЦЖК выявлены в 14 из 324 сравнений (4,3%). Полученные результаты показывают, что влияние пре- и пробиотиков на кишечную микробиоту зависит от исходного состояния микробного сообщества и не всегда сопровождается одновременными изменениями его состава и метаболической активности [8-А, 9-А, 11-А, 19-А].
10. Клинические исследования показали, что включение пектина в терапию кишечных инфекций ускоряет уменьшение основных симптомов заболевания. У пациентов с амёбиазом стул нормализовался к 5-му дню против 7-го дня в контрольной группе. При совместном применении пектина и метронидазола концентрация последнего в плазме крови через 8 ч составляла 13,38 мг/л против 8,26 мг/л в контроле. Продолжительность госпитализации сокращалась на 3,0 ± 1,0 дня. Полученные результаты указывают на возможность повышения эффективности комплексной терапии кишечных инфекций с использованием пектина [10-А, 13-А, 20-А, 22-А].

Рекомендации по практическому применению результатов исследования

1. Разработанная методика очистки пектина с использованием тангенциальной диаультрафильтрации может быть использована в области фармации для получения стандартизированного пектина, предназначенного для применения в разработке систем доставки лекарственных средств, в качестве основного и вспомогательного вещества при создании лекарственных форм.
2. Полученные пектин-зеиновые гидрогелевые микросферы могут быть использованы фармацевтическими предприятиями Республики Таджикистан при разработке лекарственных форм с пролонгированным высвобождением и целенаправленной доставкой лекарственных веществ преимущественно в толстый кишечник. Установленные закономерности влияния состава пектин-зеиновой системы и условий её формирования на свойства микросфер могут быть использованы при разработке и совершенствовании технологий получения биополимерных систем доставки лекарственных средств с регулируемой скоростью высвобождения. Применённые в работе физико-химические и инструментальные методы анализа пектина и зеина могут быть использованы в научно-исследовательских, производственных и контрольно-аналитических лабораториях для оценки качества и структурно-функциональных характеристик биополимеров.
3. Результаты фармакокинетических исследований и установленные корреляции между данными *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo* могут быть использованы при доклинической оценке и прогнозировании поведения биополимерных систем доставки лекарственных средств в организме.
4. Полученные данные о влиянии пектинов различной структуры, а также пребиотических и пробиотических компонентов на кишечную микробиоту могут быть использованы при разработке функциональных и лекарственных композиций, предназначенных для коррекции микробиоты кишечника.
5. Результаты клинико-экспериментального исследования комбинации “антибиотик–пектин” могут быть использованы в медицинской практике при разработке подходов к комплексной терапии кишечных инфекций.

Список литературы

1. Sung Y. K., Kim S. W. Recent advances in polymeric drug delivery systems // Biomaterials Research 2020 24:1. BioMed Central, 2020. Т. 24, № 1. С. 1–12.
2. Alqahtani M. S. и др. Advances in Oral Drug Delivery // Front Pharmacol. 2021. Т. 12. С. 618411.
3. Torchilin V. P. Passive and Active Drug Targeting: Drug Delivery to Tumors as an Example // Drug Delivery / под ред. Schäfer-Korting M. Berlin, Heidelberg: Springer, 2010. С. 3–53.
4. Ezike T. C. и др. Advances in drug delivery systems, challenges and future directions // Heliyon. 2023. Т. 9, № 6. С. e17488.
5. Weersma R. K., Zhernakova A., Fu J. Interaction between drugs and the gut microbiome // Gut. 2020. Т. 69, № 8. С. 1510–1519.

6. Elshahed M. S. и др. Pectin in diet: Interactions with the human microbiome, role in gut homeostasis, and nutrient-drug interactions // Carbohydr Polym. 20201109-e изд. 2021. Т. 255. С. 117388–117388.
7. Wiese M. The potential of pectin to impact pig nutrition and health: feeding the animal and its microbiome. // FEMS microbiology letters. 2019. Т. 366, № 4.
8. Berardi A. и др. Zein as a Pharmaceutical Excipient in Oral Solid Dosage Forms: State of the Art and Future Perspectives // AAPS PharmSciTech. AAPS PharmSciTech, 2018. Т. 19, № 5. С. 2009–2022.
9. Labib G. Overview on zein protein: a promising pharmaceutical excipient in drug delivery systems and tissue engineering // Expert Opinion on Drug Delivery. 2018. Т. 15, № 1. С. 65–75.
10. Muhidinov Z. K. и др. Diaultrafiltration Concentration and Purification of Pectin Polysaccharides [in Russian] // Journals of Higher Educational Institutions. Series: Chemistry and Chemical Technology. 2011. Т. 54, № 2. С. 121–125.
11. Джонмуродов А. С. и др. Концентрирование и очистка пектиновых полисахаридов на полупромышленной диа-ультрафильтрационной установке // Известия АНРТ Отделение физико-математических, химических, геологических и технических наук. 2011. № 142. С. 67–73.
12. Muñoz-Almagro N. и др. Obtainment and characterisation of pectin from sunflower heads purified by membrane separation techniques // Food Chemistry. 2020. Т. 318. С. 126476.
13. Liu L. S. и др. Pectin/zein beads for potential colon-specific drug delivery: synthesis and in vitro evaluation. // Drug delivery. 2006. Т. 13, № 6. С. 417–423.
14. Muhidinov Z. K. и др. Pectin-zein Hydrogels for the Delivery of Drugs and Nutrients // Gums and Stabilisers for the Food Industry 16 / под ред. Williams P. A. and P. Glyn O. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 2012. С. 401–406.
15. Britton R. A., Versalovic J. Probiotics and Gastrointestinal Infections // Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases. 2008. Т. 2008. С. 1–10.
16. Larsen N. и др. Potential of Pectins to Beneficially Modulate the Gut Microbiota Depends on Their Structural Properties // Front Microbiol. 2019. Т. 10. С. 223–223.
17. Rastall R. A. и др. Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: an overview of enabling science and potential applications. // FEMS microb. eco. 2005. Т. 52, № 2. С. 145–152.
18. Gibson G. R., Roberfroid M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics // J Nutr. 1995. Т.125. С.1401–1412.
19. Firrman J. и др. The impact of environmental pH on the gut microbiota community structure and short chain fatty acid production // FEMS Microb Ecol. 2022. Т.98, № 5.
20. Liu L. S. и др. Establishing a mucosal gut microbial community in vitro using an artificial simulator // PLoS ONE. 2018. Т. 13, № 7. С. 1–20.
21. Mahalak K. K. и др. Persistence of the Probiotic Lacticaseibacillus rhamnosus Strain GG (LGG) in an In Vitro Model of the Gut Microbiome: 21 // International Journal of Molecular Sciences. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2022. Т. 23, № 21. С. 12973.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, индексируемых в международных базах данных (Web of Science и Scopus и иностранные издания)

[1-A] Бобокалонов, Дж. Т. Пектин-зеиновые гели для инкапсуляции лекарственных средств и пищевых ингредиентов / Х. И. Тешаев, Дж. Т. Бобокалонов, А. С. Джонмуродов, З. К. Мухидинов, Г. Ф. Касымова, L. S. Liu // Известия вузов. Химия и химическая технология. –2011. –Т. 54, №11. – С. 97–100.

[2-A] Бобокалонов, Дж. Т. Кинетика выхода пироксикама из зеин-пектиновых носителей в опытах ex vivo / Дж. Т. Бобокалонов, З. К. Мухидинов, Ф. М. Ходжаева, Г. Ф. Касымова, L. S. Liu // Химико-фармацевтический журнал. – 2012. – Т. 46, № 6. – С. 98–101.

[3-A] Bobokalonov, J. T. Comparative analysis of the gut microbiota cultured in vitro using a single colon versus a 3-stage colon experimental design / J. Firrman, L. S. Liu, K. Mahalak, C. Tanes, K. Bittinger, J. T. Bobokalonov // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2021. – Vol. 105, No. 8. – P. 3353–3367.

[4-A] Bobokalonov, J. T. Structural characterization of pectin obtained by different purification methods / Z. Muhidinov, J. T. Bobokalonov, K. I. Ikromi, A. S. Jonmurodov, A. S. Nasriddinova, S. R. Usmanova, G. D. Strahan, LinShu Liu // International Journal of Biological Macromolecules. – 2021. – Vol.183. –P. 2227–2337.

[5-A] Bobokalonov, J. T. Evaluation of extended-release of piroxicam loaded pectin–zein hydrogel microspheres: in vitro, ex vivo, and in vivo studies / Z. Muhidinov, J. T. Bobokalonov, S. Jonmurodov, A. S. Nasriddinova, F. Khojaeva, G. Komilova, L. S. Liu // Current Drug Delivery. – 2022. – Vol. 19, No. 10. – P. 1093–1101.

[6-A] Bobokalonov, J. T. The impact of environmental pH on the gut microbiota community structure and short chain fatty acid production / J. Firrman, L. S. Liu, K. Mahalak, C. Tanes, K. Bittinger, V. Tu, J. T. Bobokalonov [et al.] // FEMS Microbiology Ecology. – 2022. – Vol. 98. – P. 1–9.

[7-A] Bobokalonov, J. T. Modulation of the gut microbiota structure and function by two structurally different lemon pectins / J. Firrman, K. Mahalak, L. S. Liu, J. J. Lee, K. Bittinger, J. T. Bobokalonov [et al.] // Foods. – 2022. –Vol.11, No.23. – Article 3877.

[8-A] Bobokalonov, J. T. Persistence of the probiotic *Lacticaseibacillus rhamnosus* strain GG (LGG) in an in vitro model of the gut microbiome / K. K. Mahalak, J. Firrman, J. Bobokalonov, A. B. Narrowe, K. Bittinger, S. Daniel, C. Tanes, L. M. Mattei, W.-B. Zeng, J. W. Soares, M. Kobori, J. M. S. Lemons, P. M. Tomasula, L. Liu [et al.] // Intern. Journal of Molecular Sciences. –2022.–Vol.23, №21.–Article 12973.

[9-A] Bobokalonov, J. T. Lacticaseibacillus rhamnosus GG regulates gut microbial metabolites: an in vitro study using SHIME / L. Liu, J. T. Bobokalonov, A. B. Narrowe, J. A. Firrman, K. K. Mahalak, J. M. S. Lemons, K. Bittinger, S. Daniel, C. Tanes, L. Mattei [et al.] // Foods. – 2023. – Vol. 12. – Article 2105.

[10-A] Bobokalonov, J. T. A new approach to the treatment of acute infection diseases with antibiotic–pectin formulae / Z. K. Muhidinov, J. T. Bobokalonov, R. S. Kimatov, E. R. Rahmonov, G. I. Komilova, Z. U. Sherova, L. Liu // Journal of Infection and Developing Countries. – 2024. – Vol. 18. – P. 407–419.

[11-A] Bobokalonov, J. T. Supplementation with rice-bran fibers increases SCFA-producing bacteria in gut microbiota in vitro / K. K. Mahalak, L. Liu, J. T.

Bobokalonov, A. B. Narrowe, J. Firrman, K. Bittinger, W. Hu, S. M. Jones, A. M. Moustafa // Frontiers in Nutrition. – 2024. – Vol. 11. – Article 1304045.

Статьи, опубликованные в других изданиях, рекомендованных ВАК при Президенте Республики Таджикистан

[12-А] Бобокалонов, Дж. Т. Применение пектинов в медицине и фармации / Дж. Т. Бобокалонов, З. К. Мухидинов, С. Д. Исупов, Г. И. Комилова // Вестник Академии медицинских наук Таджикистана. – 2013. – № 4. – С. 39–52.

[13-А] Бобокалонов, Дж. Т. Лечение острых инфекционных заболеваний в комплексной терапии антибиотика с пектином / Р. С. Киматов, Э. Р. Рахманов, З. К. Мухидинов, Г. И. Комилова, Дж. Т. Бобокалонов // Наука и инновация. – 2021. – № 4. – С. 191–197.

Список работ в материалах международных конференций

[14-A] Bobokalonov J.T. Pectin–zein microspheres for colon-specific drug delivery [Text] / J.T. Bobokalonov, Z.K. Muhidinov, J. Liesiene, G.F. Kasimova, A.S. Nasriddinov // Book of Abstracts “Smithy of Idea”, International Conference, July 4–7, 2013. – Rusne, Lithuania, 2013.

[15-A] Bobokalonov J.T. Formation and characterization of pectin–zein microspheres [Text] / J.T. Bobokalonov, Z.K. Muhidinov, J. Liesiene, G.F. Kasimova, A.S. Nasriddinov // Baltic Polymer Symposium, September 18–21, 2013. – Trakai, Lithuania, 2013. – P. 123.

[16-A] Bobokalonov J.T. Application of pectin–zein microspheres for controlled drug release [Text] / J.T. Bobokalonov, Z.K. Muhidinov, J. Liesiene, A. Nasriddinov, G. Komilova // 3rd EPNOE International Polysaccharide Conference, October 21–24, 2013. – Nice, France, 2013. – P. 384.

[17-A] Bobokalonov J.T. Citrus pectins modulate the gut microbiota and increase short-chain fatty acid production in vitro [Text] / J. Firrman, J. Bobokalonov, L. Liu, J.-J. Lee, K. Bittinger, L. Mattei, R. Gadaingan, K. Mahalak // ACS Fall 2021: Resilience of Chemistry, August 22–26, 2021. – Atlanta, GA, USA; Virtual, 2021.

[18-A] Bobokalonov J.T. Environmental pH is a determinant of the gut microbiota community composition and production of short-chain fatty acids [Text] / J. Firrman, L. Liu, K. Mahalak, C. Tanes, K. Bittinger, V. Tu, J. Bobokalonov, L. Mattei, H. Zhang, P. Van den Abbeele // ACS Fall 2021: Resilience of Chemistry, August 22–26, 2021. – Atlanta, GA, USA; Virtual, 2021.

[19-A] Bobokalonov J.T. The differential effect of soluble and insoluble rice fiber on the human gut microbiota in vitro [Text] / K. Mahalak, J. Firrman, J. Bobokalonov, L. Liu // ACS Fall 2022: Sustainability in a Changing World, August 21–25, 2022. – Chicago, IL, USA; Virtual, 2022.

[20-A] Bobokalonov J.T. A new approach on the treatment of acute infection diseases by antibiotic-pectin formulae [Text] / Z.K. Muhidinov, J.T. Bobokalonov, E. Rahmonov, R. Kimatov, G. Komilova, O. Shomirzoeva, A. Jonmurodov, D.Kh. Khalikov, L. Liu // ACS Fall 2022: Sustainability in a Changing World, August 21–25, 2022. – Chicago, IL, USA; Virtual, 2022. – Presentation, August 23, 2022.

[21-A] Bobokalonov J.T. Pectin–zein hydrogel microspheres: in vitro, ex vivo, and in vivo studies [Text] / J.T. Bobokalonov, Kh. Ikromi, Z.K. Muhidinov, F. Khojaeva, G.

Komilova, S. Yusufi, L. Liu // ACS Fall 2022: Sustainability in a Changing World, August 21–25, 2022. – Chicago, USA; Virtual, 2022. – Presentation, August 24, 2022.
[22-A] Bobokalonov J.T. Pectin–antibiotics: a new nutritional formula in the treatment of acute infection diseases [Text] / J.T. Bobokalonov, R. Kimatov, E.R. Rahmonov, G.I. Komilova, Z.K. Muhidinov // 31st International Conference of FFC, September 29 – October 1, 2023. – Yerevan, Armenia, 2023. – P. 355–357.
[23-A] Бобокалонов Дж.Т. Влияние молекулярной массы и степени этерификации пектина на кишечную микробиоту и производство короткоцепочечных жирных кислот [Текст] / Дж.Т. Бобокалонов, С.Дж. Юсуфи, Г.А. Кодирова, С.Р. Усманова, З.К. Мухидинов // Материалы международной научно-практической конференции “Биофармацевтические аспекты разработки лекарственных препаратов”, 15 октября 2024 г. – Душанбе, 2024. – С. 20–27.
[24-A] Bobokalonov J.T. Prebiotic potential of sunflower pectin: an ex vivo analysis across multiple age groups [Text] / J. Firrman, L. Liu, K. Mahalak, J. Lemons, A. Narrowe, P. Van den Abbeele, A. Baudot, S. Deyaert, J.T. Bobokalonov, Z.K. Muhidinov, A. Moustafa, S. Higgins // ACS Fall 2025, August 17–21, 2025. – Washington, DC, USA, 2025. – Presentation, August 20, 2025.
[25-A] Bobokalonov J.T. Computational modeling of colon-targeted polymeric drug delivery systems based on in vitro–in vivo correlation [Text] / J.T. Bobokalonov, G.A. Kodirova, G.I. Komilova, S.J. Yusufi, Z.K. Muhidinov // Сборник тезисов докладов научно-практической конференции учёных Таджикистана и Узбекистана, 25 марта 2026 г. – Ташкент, Узбекистан, 2026. – С. 10.

Монография

[1-А] Бобокалонов Дж. Т. Пектин – основа для создания функциональной пищи : монография / З. К. Мухидинов, С. Р. Усманова, Дж. Т. Бобокалонов. – Душанбе : Сифат-Офсет, 2019. – 192 с.

Патенты на изобретения

[1-А] Способ формирования гидрогелевых микросфер для создания систем доставки лекарственных веществ : пат. TJ 971 Респ. Таджикистан / Ч. Т. Бобокалонов, А. С. Насриддинов, Ли Шу Лю. – Опубл. 05.10.2018, Бюл. № 143. – Душанбе : НПЦ Респ. Таджикистан, 2018.

Перечень сокращений, условных обозначений

3С - трёхкамерная модель толстого кишечника.
АС - восходящий отдел толстой кишки (ascending colon).
ASV - варианты последовательностей ампликонов (amplicon sequence variants).
AUC - площадь под кривой «концентрация–время».
DC - нисходящий отдел толстой кишки (descending colon).
DUF - тангенциальная диаультрафильтрация.
EVIVC - корреляционная зависимость между результатами ex vivo и in vivo.
НМАР - высокомолекулярный яблочный пектин.
IPA - индол-3-пропионовая кислота.
ISF - нерастворимая фракция пищевых волокон.
IVIVC - корреляционная зависимость между результатами in vitro и in vivo.
LGG - пробиотический штамм Lacticaseibacillus rhamnosus GG.

LMAP - низкомолекулярный яблочный пектин.
MAG - геном, собранный из метагеномных данных.
PC - проксимальный отдел толстой кишки (proximal colon).
PD - филогенетическое разнообразие (phylogenetic diversity).
PE - ошибка прогнозирования (prediction error).
PERMANOVA - перестановочный многомерный дисперсионный анализ.
PCA - анализ главных компонент.
SC - однокамерная модель толстого кишечника.
SF - растворимая фракция пищевых волокон.
SHIME - симулятор микробной экосистемы кишечника человека (Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem).
TC - поперечный отдел толстой кишки (transverse colon).
ВМ - высокометилированный (пектин или система на его основе).
ВМ-НСЭ - высокомолекулярный низкоэтерифицированный пектин.
З/П - зеин–пектин (массовое соотношение зеина и пектина).
НМ - низкомолекулярный (пектин).
КЦЖК - короткоцепочечные жирные кислоты.
НМ-ВСЭ - низкомолекулярный высокоэтерифицированный пектин.
ТФ - традиционная лекарственная форма.

**ИНСТИТУТИ КИМИЁИ БА НОМИ В.И. НИКИТИНИ
АКАДЕМИЯИ МИЛЛИ ИЛМҲОИ ТОҶИКИСТОН
МАРКАЗИ ИЛМИЮ ТАДҚИҚОТИИ ФАРМАСЕВТИИ НАЗДИ
ВАЗОРАТИ ТАНДУРУСТӢ ВА ҲИФЗИ ИҶТИМОИИ АҲОЛИИ
ҶУМҲУРИИ ТОҶИКИСТОН**

ВБД 615.454:547.458.88:579.67

Бо ҳуқуқи дастнавис

БОБОКАЛОНОВ ҶАМШЕД ТОЛЕҲМУРОДОВИЧ

ТАҲИЯИ СИСТЕМАҲОИ БАРАНДАГОНИ МАВОДИ ДОРУЙӢ ДАР АСОСИ ПЕКТИН ВА НАҚШИ ОН ДАР МОДУЛЯТСИЯИ МИКРОБИОТАИ РУДА

Автореферати диссертатсия
барои дарёфти дараҷаи илмии
доктори илмҳои фарматсевтӣ аз рӯйи
ихтисосҳои 3.4.1. Технологияи тавлиди доруворӣ ва
3.4.5. Фармакология, фармакологияи клиникӣ

Душанбе – 2026

Диссертатсия дар Институти кимиёи би номи В.И. Никитини Академияи милли илмҳои Тоҷикистон ва Маркази илмию тадқиқотии фармасевтии назди Вазорати тандурустӣ ва ҳифзи иҷтимоии аҳолии Ҷумҳурии Тоҷикистон иҷро карда шудааст.

Мушовирони илмӣ: **Юсуфи Саломудин Ҷаббор –** д.и.ф., профессор, академики АМИТ, мушовири илмии Маркази илмию тадқиқотии фармасевтии назди Вазорати тандурустӣ ва ҳифзи иҷтимоии аҳолии Ҷумҳурии Тоҷикистон

Муҳиддин Зайниддин Қамар – д.и.к., профессор, мудири озмоишгоҳи «Химияи пайвастагиҳои фаромолекулӣ ва фаъоли биологӣ»-и Институти кимиёи ба номи В.И. Никитини АМИТ

Муқарризони расмӣ: **Бобизода Ғуломқодир Муккамал** – доктори илмҳои фарматсевтӣ, профессори кафедраи химияи органикӣ ва биологии МДТ «Донишгоҳи давлатии омӯзгории Тоҷикистон ба номи Садриддин Айнӣ»;
Саторов Саидбег – доктори илмҳои тиб, профессори кафедраи микробиология, вирусология ва иммунологияи МТҒ «Донишкадаи тиббӣ-иҷтимоии Тоҷикистон»;
Авезов Сайфулло Абдуллоевич – доктори илмҳои тиб, ходими калони илмии МД «Пажӯҳишгоҳи гастроэнтерология»-и Вазорати тандурустӣ ва ҳифзи иҷтимоии аҳолии Ҷумҳурии Тоҷикистон.

Муассисаи пешбар: ҶСҒ «Донишгоҳи тиббии Қарағанда ба номи Пётр Поспелов», шаҳри Қарағанда, Ҷумҳурии Қазоқистон.

Ҳимояи диссертатсия санаи «____» _____ соли 2027 соати «___» дар ҷаласаи шурои диссертатсионии 6D.KOA-031 назди МДТ «Донишгоҳи давлатии тиббии Тоҷикистон ба номи Абуалӣ ибни Сино» баргузор мегардад. Суроға: 734026, Ҷумҳурии Тоҷикистон ш. Душанбе, ноҳияи Сомонӣ, х. Рӯдакӣ, 139., www.tajmedun.tj тел: +992 979784747

Бо диссертатсия дар китобхонаи МДТ «Донишгоҳи давлатии тиббии Тоҷикистон ба номи Абуалӣ ибни Сино» шинос шудан мумкин аст.

Автореферат «_____» _____ соли 2026 фиристода шудааст.

Котиби илмии шурои диссертатсионӣ
доктори илмҳои тиб, дотсент **У.П. Юлдашева**

МУҚАДДИМА

Мубрамии мавзуи таҳқиқот. Яке аз самтҳои рушди технологияи муосири фарматсевтӣ таҳияи системаҳои расонидани ҳадафноки воситаҳои доруӣ мебошад, ки озодшавии моддаҳои фаъоли доруиро дар қисматҳои муайяни роҳҳои меъдаю рӯда таъмин менамоянд [1–3]. Ҳангоми таҳияи чунин системаҳо таъсири мутақобилаи воситаҳои доруӣ бо микробиотаи рӯда аҳамияти махсус дорад, зеро микробиота метавонад ба метаболизм ва параметрҳои фармакологии онҳо таъсир расонад [4,5]. Бемориҳои сироятии роҳҳои меъдаю рӯда (аз ҷумла амебиоз), патологияҳои илтиҳобии рӯда ва дисбиозҳои умумӣ зарурияти зиёдро ба доруҳое ба вуҷуд меоранд, ки таъсири маҳаллӣ дошта, ба микрофлораи муқаррарӣ таъсири кам мерасонанд [2].

Дар ин робита, таваҷҷуҳи махсусро барандаҳои биополимерии аз манбаъҳои табиӣ ҳосилшуда, аз ҷумла пектин ва зеин, ҷалб менамоянд, ки озодшавии дарозмуддати доруҳоро таъмин мекунанд. Пектинҳо дорои қобилияти таҷзияи интихобӣ дар рӯдаи ғафс ва таъсири пребиотикӣ ба микробиота мебошанд [6,7], дар ҳоле ки зеин (сафедаи проламинии ҷуворимакка) матритсаи гидрофобӣ ҳосил менамояд [8,9], ки пектинро аз варамкунӣ ва озодшавии бармаҳали моддаи фаъол муҳофизат мекунад. Истифодаи якҷояи ин ду ҷузъ дар микросфераҳои ҳидроҷелӣ барои таҳияи шаклҳои доруие аҳамият дорад, ки озодшавии дарозмуддати моддаи фаъолро таъмин мекунанд. Чунин системаҳо метавонанд барои таҳияи доруҳо ҷиҳати мубориза бар зидди микроорганизмҳои патогенӣ, барқарорсозии микрофлораи муқаррарии рӯда, осон намудани истифодаи доруҳо ва дароз кардани таъсири табобатӣ истифода шаванд [8].

Бо назардошти гуфтаҳои боло, таҳияи системаҳои расонидани воситаҳои доруӣ дар асоси пектин ва зеин самти мубрам ва то ҳол нокифоя омӯхташудаи технологияҳои муосири фарматсевтӣ ба ҳисоб меравад. Дар ин раванд, усули тозакунии пектин аҳамияти махсус дорад [10,11], зеро усулҳои анъанавии ба таҳшинкунии спиртӣ асосёфта пурра хориҷ намудани омехтаҳои моддаҳои пастмолекуларо таъмин намекунанд, ки таркиб ва миқдори онҳо вобаста ба ашёи хом ва шароити ҳосилкунӣ метавонад тағйир ёбад [12]. Ин ҳолат стандартизатсияи пектинро душвор гардонида, зарурияти таҳияи роҳҳои ба даст овардани пектини фармакопеявиро бо хусусиятҳои устувор ва такроршаванда асоснок менамояд.

Ҳамзамон, рафтори системаҳои пектин-зеинии расонидани воситаҳои доруӣ дар шароити ба муҳити физиологии роҳҳои меъдаю рӯда наздик то ҳол нокифоя омӯхта шудааст. Аз ҷумла, гузаронидани таҳқиқот бо истифодаи моделҳои *in vitro, ex vivo* ва *in vivo* зарур мебошад [13,14]. Инчунин, равиши комплексӣ барои арзёбии фармакокинетикаи озодшавии моддаҳои доруӣ аз чунин системаҳо, аз ҷумла муайян намудани коррелятсияҳои *in vitro–in vivo* ва *ex vivo–in vivo*, ва арзёбии самаранокии онҳо ҳангоми табобати бемориҳои сироятии роҳҳои меъдаю рӯда то ҳол ба таври кофӣ таҳия нашудааст [15].

Яке аз самтҳои муҳими таҳқиқот омӯзиши таъсири мутақобилаи полисахаридҳои растанӣ ва пробиотикҳо бо микробиотаи рӯда мебошад. Аз ҷумла, масъалаи он ки нахҳои ғизоии ҳалшаванда ва ҳалнашаванда (полисахаридҳо) таркиби таксономии анҷумани микробӣ ва ҳосилшавии

кислотаҳои равғании кӯтоҳзанҷирро чӣ гуна тағйир медиҳанд, то ҳол пурра омӯхта нашудааст. Ҳамчунин, муайян намудани хусусиятҳои таъсири пре- ва пробиотикҳои гуногун ба микробиотаи рӯда ва омилҳое, ки ин тағйиротро муайян мекунанд, аҳамияти илмӣ дорад.

Масъалаи дигари муҳим, омӯзиши қобилияти штамми пробиотикии *Lacticaseibacillus rhamnosus GG* барои нигоҳ доштани мавҷудияти худ дар муҳити рӯда ва таъсир расонидан ба таркиб ва фаъолияти метаболикии анҷумани микробӣ мебошад. Омӯзиши ин равандҳо имкон медиҳад, ки таъсири субстратҳои пребиотикӣ ва микроорганизмҳои пробиотикӣ ба сохтор ва хусусиятҳои функсионалии микробиотаи рӯда аз ҳам ҷудо карда шавад. Натиҷаҳои чунин таҳқиқот метавонанд барои арзёбии хосиятҳои пребиотикии дигар полисахаридҳо ва истифодаи онҳо дар системаҳои расонидани воситаҳои доруӣ асос гарданд [17,18].

Таҳқиқи таъсири пектин ба сохтор ва фаъолияти метаболикии микробиотаи рӯда низ таваҷҷуҳи иловагӣ ба вуҷуд меорад [16]. Масъалаҳои истифодаи полимерҳои пребиотикӣ ва микроорганизмҳои пробиотикӣ, инчунин хусусиятҳои фаъолияти ин платформа дар муҳити рӯда то ҳол ба таври кофӣ омӯхта нашудаанд [17,18].

Ҳамин тариқ, зарурияти таҳия, омӯзиши комплексӣ ва асосноккунии системаҳои пектин-зеинии расонидани воситаҳои доруӣ бо дарназардошти ҷанбаҳои технологӣ, фармакокинетикӣ ва микробиологӣ мубрамияти таҳқиқоти мазкурро муайян менамояд.

Дараҷаи коркарди таҳқиқоти мавзуи илмӣ. Дар адабиёти илмӣ хусусиятҳои физикӣ-химиявии пектин ва зеин, усулҳои ҳосил намудани онҳо ва самтҳои истифодаашон дар амалияи озуқаворӣ, биотехнологӣ ва фармасевтӣ ба таври кофӣ инъикос шудаанд [6,8–10]. Нишон дода шудааст, ки пектин қобилияти ташаккули сохторҳои ҳидроҷелӣ дошта, дар рӯдаи ғафс ба деградатсияи ферментативӣ дучор мешавад ва ба микробиотаи рӯда таъсир мерасонад [7,19,20]. Зеин бо сабаби хусусиятҳои гидрофобии худ ҳамчун ҷузъи перспективӣ барои устуворгардонии матритсаҳои полимерӣ ва суст намудани озодшавии маводи доруӣ баррасӣ мегардад [8,9].

Ҳамзамон, истифодаи якҷояи пектин ва зеин дар таркиби микросфераҳои ҳидроҷелӣ ҳанӯз ба таври кофӣ омӯхта нашудааст. Маълумот оид ба таъсири усули тозакунии пектин, массаи молекулавӣ ва дараҷаи этерификатсияи он ба ташаккули системаҳои пектин-зеинӣ, инкапсулятсияи маводи доруӣ ва кинетикаи озодшавии он маҳдуд мебошанд [10–13]. Инчунин, равишҳои арзёбии чунин системаҳо дар шароити *in vitro, ex vivo* ва *in vivo*, аз ҷумла сохтани моделҳои *IVIVC* ва *EVIVC,* ба таври кофӣ таҳия нашудаанд.

Омӯзиши таъсири пектинҳои дорои сохтори гуногун, инчунин ҷузъҳои пребиотикӣ ва пробиотикӣ ба таркиб ва фаъолияти метаболитикии микробиотаи рӯда низ аҳамияти махсус дорад [16–18]. Ғайр аз ин, ҷанбаҳои клиникии истифодаи комбинатсияи «пектин–антибиотик» ҳангоми сироятҳои рӯда ба таври маҳдуд инъикос шудаанд [15]. Аз ин рӯ, таҳқиқоти комплексии системаҳои пектин-зеинии барандагони маводи доруӣ бодарназардошти ҷанбаҳои технологӣ,

фармакокинетикӣ, микробиологӣ ва клиникӣ ҳамоно масъалаи муҳими илмӣ ба ҳисоб меравад.

Робитаи таҳқиқот бо барномаҳо (лоиҳаҳо) ва мавзуъҳои илмӣ. Таҳқиқоти мазкур ба афзалиятҳои Стратегияи Ҷумҳурии Тоҷикистон дар соҳаи илм ва техника барои солҳои 2011–2020 ва Барномаи давлатии рушди саноати фармасевтии Ҷумҳурии Тоҷикистон барои солҳои 2021–2025, ки ба рушду иқтидори илмию технологӣ ва таъсиси воситаҳои доругии ватанӣ равона шудаанд, мувофиқат мекунад.

Таҳқиқот мутобиқи нақшаи корҳои илмию таҳқиқотии Институти химияи ба номи В.И. Никитини Академияи миллии илмҳои Тоҷикистон дар мавзуи «Таҳияи барандагони маводи доругӣ ва ингредиентҳои хӯрокворӣ дар асоси биополимерҳо» (№ ҚД 0116TJ00543), инчунин дар доираи татбиқи лоиҳаҳои байналмилалии МБИТ (Т-1419, Т-1420) иҷро шудааст.

ТАВСИФИ УМУМИИ ТАҲҚИҚОТ

Мақсади таҳқиқот. Мақсади таҳқиқоти мазкур асосноккунии назариявӣ-таҷрибавии принсипҳои таҳияи системаҳои барандагони маводи доругӣ дар асоси пектин ва зеин, арзёбии самаранокии онҳо, омӯзиши таъсири модулятсионии биополимерҳо ба микробиотаи рӯда ва асоснок намудани имконияти беҳтарсозии терапияи ҳадафноки бемориҳои роҳҳои меъдаю рӯда мебошад.

Вазифаҳои таҳқиқот. Барои ноил шудан ба ҳадафи гузошташуда ҳал намудани вазифаҳои зерин зарур буд:

1. Таҳияи усули тозакунии пектин барои ба даст овардани маҳсулоти стандартизатсияшудаи фармакопеявӣ ва муайян намудани хусусиятҳои физикӣ-химиявии он.
2. Таҳияи технологияи ҳосил намудани сафедаи ҷуворимакка – зеин ва муайян намудани хусусиятҳои физикӣ-химиявии он.
3. Таҳияи технологияи ҳосил намудани микросфераҳои ҳидроҷелӣ дар асоси композити пектин–зеин ва муайян намудани қобилияти онҳо ба инкапсулатсияи маводи доругӣ ва таъмини озодшавии дарозмуддати он.
4. Муайян намудани таъсири таркиби системаи пектин-зеинӣ ва шароити ташаккули он ба хусусиятҳои сохторӣ-функсионалии микросфераҳо, дараҷаи инкапсулатсия ва кинетикаи озодшавии маводи доруӣ.
5. Гузаронидани таҳқиқоти фармакокинетикии микросфераҳои таҳияшудаи пектин-зеинӣ дар шароити *in vitro, ex vivo ва in vivo*.
6. Муайян намудани вобастагиҳои коррелятсионӣ байни натиҷаҳои таҳқиқоти *in vitro, ex vivo* ва *in vivo* (*IVIVC, EVIVC*) ва арзёбии имконияти пешгӯии рафтори *in vivo*-и маводи доруӣ.
7. Муқоисаи моделҳои яккамерагӣ ва секамерагии рӯдаи ғафс аз рӯйи бозсозии сохтор ва фаъолияти функсионалии микробиотаи рӯда. Муайян намудани таъсири pH-и муҳит ба сохтори анҷумани микробӣ ва ҳосилшавии кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ.
8. Муайян намудани таъсири пектини дорои сохтори гуногун ба таркиб ва фаъолияти метаболитикии микробиотаи рӯда.

9. Муайян намудани таъсири ҷузъҳои пребиотикӣ ва пробиотикӣ ба сохтор ва фаъолияти функсионалии микробиотаи рӯда.
10. Муайян намудани таъсири комбинатсияи «пектин–антибиотик» ба ҷараёни клиникии беморӣ ва нишондиҳандаҳои шифоёбии беморони гирифтори сироятҳои роҳҳои меъдаю рӯда.

Объекти таҳқиқот. Объектҳои таҳқиқот биополимерҳо (пектин, зеин), системаҳои барандагони маводи доруӣ дар асоси онҳо, инчунин ҷузъҳои пребиотикӣ ва штамми пробиотикӣ мебошанд, ки ба микробиотаи рӯда таъсир мерасонанд.

Мавзуи таҳқиқот. Мавзуи таҳқиқот хусусиятҳои сохторӣ-функсионалии пектин, ки бо усулҳои гуногуни тозакунии технологӣ ҳосил шудааст, қонуниятҳои ҳосил намудани зеин аз ҷуворимакка; механизмҳои ташаккул ва устуворсозии микросфераҳои ҳидроҷелии «пектин–зеин»; таъсири биополимерҳо, ҷузъҳои пребиотикӣ ва пробиотикӣ ба сохтор ва фаъолияти метаболитикии микробиотаи рӯда; параметрҳои фармакокинетикӣ ва моделҳое, ки ба маълумоти таҳқиқоти *in vitro, ex vivo* ва *in vivo* асос ёфтаанд; инчунин самаранокии клиникии композитсияҳои пектинӣ дар терапияи комплексии бемориҳои сироятии рӯда мебошад.

Навгонии илмии таҳқиқот:

- Қонуниятҳои таъсири усулҳои тозакунии технологии пектин ба тақсимоти массаи молекулавӣ, сохтор ва дараҷаи этерификатсияи он муайян карда шуданд, ки қобилияти биополимерро барои ташаккул додани системаҳои матритсавӣ бо озодшавии идорашавандаи моддаҳои доруӣ муайян менамоянд.
- Принсипҳои ташаккули системаҳои ҳидроҷелии композитсионӣ дар асоси пектин ва зеин аз ҷиҳати илмӣ асоснок карда шуданд; механизмҳои таъсири мутақобилаи байнимолекулавии онҳо ҳангоми тағйир додани таркиб ва табиати агентҳои пайвандсоз ошкор гардида, инчунин шароити мувофиқи ҳосил намудани микросфераҳо бо кинетикаи танзимшавандаи озодшавии моддаи доруӣ муайян карда шуданд.
- Хусусиятҳои молекулавӣ-сохтории пектин (массаи молекулавӣ, дараҷаи этерификатсия), ки таъсири онро ба фаъолияти метаболикии микробиотаи рӯда муайян менамоянд, ошкор карда шуданд; таъсири pH-и муҳит, ҷузъҳои пре- ва пробиотикӣ ба сохтори анҷумани микробӣ ва сатҳи кислотаҳои равғании кӯтоҳзанҷир муайян карда шуд.
- Равиш ба арзёбии фармакокинетикии системаҳои биополимерии барандагони маводи доруӣ таҳия карда шуд, ки натиҷаҳои таҳқиқоти *in vitro*, *ex vivo* ва *in vivo*-ро муттаҳид менамояд ва имкон дод робитаи байни параметрҳои сохтории матритса ва параметрҳои фармакокинетикии моддаи доруӣ муайян карда шавад.
- Робитаи байни массаи молекулавӣ, дараҷаи этерификатсия ва фаъолияти функсионалии пектин муайян карда шуд, ки имкон медиҳад таъсири он ба равандҳои ташаккули системаҳои барандагони мавод доруӣ пешгӯӣ карда шавад.

- Арзёбии клиникӣ-таҷрибавии комбинатсияи «пектин–антибиотик» гузаронида шуд ва нишон дода шуд, ки дохил намудани пектин ба табобат ба беҳтар шудани ҷараёни клиникии беморӣ мусоидат намуда, профили фармакокинетикии антибиотикро тағйир медиҳад.

Аҳамияти назариявӣ ва амалии таҳқиқот. Натиҷаҳои таҳқиқот қонуниятҳои робитаи байни хусусиятҳои сохтории биополимерҳо, параметрҳои фармакокинетикии онҳо ва хусусиятҳои таъсири мутақобила бо микробиотаи рӯдаро ҳангоми истифода дар системаҳои барандагони маводи дорӯӣ ба рӯдаи ғафс равшан менамоянд. Таъсири параметрҳои молекулавии пектин ба фаъолияти метаболитикии анҷумани микробӣ ва профили кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ нишон дода шудааст.

Аз нуқтаи назари фармасевтӣ-технологӣ, кори мазкур тасаввуроти илмиро оид ба бунёд кардани системаҳои пектин-зеинии барандагони маводи дорӯӣ, аз ҷумла марҳилаҳои ҳосилкунӣ, тозакунӣ, пайвандсозии ионӣ ва бунёд кардани микросфераҳо, инкишоф медиҳад. Вобастагии байни таркиб ва шароити бунёд кардани системаҳо бо кинетикаи озодшавии маводи дорӯӣ муайян карда шудааст, ки барои тарҳрезии ҳадафноки системаҳои барандагони маводи дорӯӣ бо хусусиятҳои фармакокинетикии пешакӣ муайяншуда замина фароҳам меорад.

Аҳамияти амалии кор дар имконияти истифодаи микросфераҳои таҳияшудаи пектин-зеинӣ барои расонидани дарозмуддат ва ҳадафноки маводи дорӯӣ ҳангоми бемориҳои роҳҳои меъдаю рӯда ифода меёбад. Натиҷаҳои бадастомада метавонанд ҳангоми таҳияи шаклҳои дорӯӣ, инчунин барои асоснок намудани терапияи комбинатсионӣ бо дохил намудани пектин дар беморони гирифтори сироятҳои рӯда истифода шаванд.

Ҳамин тариқ, маълумоти бадастомада дурнамои истифодаи системаҳои биополимерии барандагони маводи дорӯӣ бо дарназардошти хусусиятҳои физикӣ-химиявӣ ва биологии онҳо асоснок менамояд.

Нуқтаҳои ба ҳимоя пешниҳодшаванда:

1. Таъсири усулҳои технологии тозакунии пектин ба таркиби химиявӣ, хусусиятҳои молекулавӣ-сохтории он ва имконияти истифодааш дар фарматсия барои ҳосил намудани системаҳои гидрогелии барандагони маводи доруворӣ.
2. Шароити оптималии технологии ҳосил намудани зеин аз ашёи хоми растанӣ ва хусусиятҳои раванди технологии ҳосил намудани микросфераҳои гидрогелӣ, ки бо таъсири мутақобилаи байнимолекулавии пектинҳо бо зеин алоқаманд мебошанд.
3. Вобастагии хосиятҳои микросфераҳои пектин-зеинӣ, дараҷаи инкапсулатсия ва суръати озодшавии моддаи доруворӣ аз таносуб ва хусусиятҳои биополимерҳои ибтидоӣ, инчунин аз табиати катиони дувалентаи пайвандкунандаи арзӣ.
4. Озодшавии тӯлонӣ ва назоратшавандаи пироксикам аз микросфераҳои пектин-зеинӣ ва вобастагиҳои коррелятсионӣ байни натиҷаҳои таҳқиқоти *in vitro*, *ex vivo* ва *in vivo*, таҳияи моделҳои IVIVC ва EVIVC дар асоси онҳо, ки имкон медиҳанд параметрҳои фармакокинетикии моддаи доруворӣ инкапсулатсияшударо дар шароити *in vivo* пешгӯӣ намоянд.

5. Таъсири массаи молекулавӣ ва дараҷаи этерификатсияи пектин, шароити парвариш, фраксияҳои ҳалшаванда ва ҳалнашавандаи полисахаридҳо ва штамми пробиотикии *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG ба сохтор ва фаъолияти ҷамъияти микробии рӯда. Хусусиятҳои бозтаҷдиди фарқиятҳои минтақавии микробиотаи рӯда дар моделҳои яккамерагӣ ва секамерагии рӯдаи ғафс.
6. Таъсири истифодаи якҷояи пектин ва метронидазол ба ҷараёни сироятҳои рӯда, муҳлатҳои шифоёбии клиникии беморон ва нишондиҳандаҳои фармакокинетикии моддаи доруворӣ.

Дараҷаи эътимоднокии натиҷаҳои диссертатсия. Эътимоднокӣ ва асоснокии натиҷаҳои бадастомада тавассути истифодаи маҷмуи усулҳои муосири ҳамдигарро пурракунандаи физикӣ-химиявӣ, микробиологӣ ва биоинформатикӣ, ки ба вазифаҳои гузошташудаи таҳқиқот мувофиқанд, инчунин такроршавандагии маълумоти таҷрибавӣ ва коркарди омории онҳо таъмин карда шудааст.

Дар кор усулҳои спектроскопияи ИС ва УБ, реометрия, ХМСБ (ВЭЖХ), ХГ-МС (ГХ-МС), спектроскопияи дученакаи РМҲ (ЯМР) ва секвенирониии насли навбатӣ (Illumina/Solexa) истифода шудаанд, ки истифодаи маҷмуии онҳо имкон дод хусусиятҳои сохтории биополимерҳо ва хусусиятҳои таъсири мутақобилаи онҳо боэътимод тасдиқ карда шаванд.

Эътимоднокии натиҷаҳои технологӣ ва фармакокинетикӣ бо такроршавандагии таҷрибаҳо, назорати параметрҳои технологӣ ва мувофиқати маълумоте, ки дар системаҳои *in vitro, ex vivo* ва *in vivo* ба даст омадаанд, тасдиқ карда шудааст. Вобастагиҳои коррелятсионии муайяншуда (*IVIVC, EVIVC*) боэътимодӣ ва қобили муқоиса будани натиҷаҳои бадастомадаро тасдиқ менамоянд.

Коркарди маълумоти микробиота бо истифода аз усулҳои муосири биоинформатикӣ анҷом дода шудааст, ки дурустии тафсири таксономӣ ва функсионалиро таъмин менамоянд. Аҳамияти омории натиҷаҳо бо истифодаи усулҳои *PERMANOVA, ANOVA* ва моделҳои хаттӣ бо ислоҳи муқоисаҳои сершумор тасдиқ карда шудааст.

Қисмати клиникии таҳқиқот бо истифодаи гурӯҳҳои муқоисашавандаи беморон ва меъёрҳои стандартизатсияшудаи арзёбии самаранокии терапия гузаронида шудааст, ки эътимоднокии натиҷаҳои клиникӣ ва мувофиқати онҳоро бо маълумоти таҷрибавӣ таъмин менамояд.

Мутобиқати диссертатсия ба шиносномаи ихтисоси илмӣ. Диссертатсия ба таҳияи системаҳои биополимерии барандагони маводи дорӯӣ дар асоси пектин ва зеин, инчунин омӯзиши хусусиятҳои физикӣ-химиявӣ, фармакокинетикӣ ва микробиологии онҳо бахшида шудааст. Таҳқиқот масъалаҳои технологияи ҳосил намудани шаклҳои доругӣ, ҷанбаҳои биофарматсевтӣ ва арзёбии фармакологии самаранокии системаҳои доругиро фаро гирифта, ба шиносномаи КОА назди Президенти Ҷумҳурии Тоҷикистон аз рӯйи ихтисосҳои илмии зерин мувофиқат мекунад.

Аз рӯйи ихтисоси 3.4.1. Технологияи тавлиди дору кори диссертатсионӣ ба зербандҳои зерини бахши 2 мувофиқат менамояд: б. 3 – таҳияи технологияҳои ҳосил намудани субстансияҳо ва шаклҳои тайёри доругӣ, зеро технологияҳои

ҳосил намудани системаҳои биополимерии барандагони маводи доруӣ дар асоси пектин ва зеин ва бунёд кардани микросфераҳои ҳидроҷелӣ бо озодшавии дарозмуддат таҳия шудаанд; б. 4 – таҳқиқи хусусиятҳои технологияи ҳосил намудани шаклҳои доруӣ, зеро хусусиятҳои физикӣ-химиявӣ ва сохтории пектине, ки бо усулҳои гуногуни тозакунӣ ҳосил шудааст, омӯхта шуда, хусусиятҳои ташаккули системаҳои композитсионии пектин–зеин муайян гардидаанд; б. 6 – таҳқиқи ҷанбаҳои биофарматсевтӣ, зеро равандҳои инкапсулятсия, таъсири агентҳои пайвандсоз ва кинетикаи озодшавии маводи доруӣ омӯхта шудаанд; б. 8 – такмили технологияи ҳосил намудани маводи доруӣ, ки дар доираи он равишҳои технологии бунёд намудани микросфераҳо бо хусусиятҳои муайян пешниҳод шудаанд.

Аз рӯйи ихтисоси 3.4.5. Фармакология, фармакологияи клиникӣ кори диссертатсионӣ ба зербандҳои зерини бахши 2 мувофиқат менамояд: б. 3 – таҳқиқи механизмҳои таъсири моддаҳои фармакологӣ, зеро таъсири пектин ба микробиотаи рӯда ва ҳосилшавии кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ омӯхта шудааст; б. 4 – таҳқиқи фармакокинетика ва таъсири мутақобилаи маводи доруӣ бо организм, зеро таъсири сохтори системаҳои биополимерӣ ба параметрҳои фармакокинетикии маводи доруӣ муайян гардидааст; б. 11 – омӯзиши самаранокии клиникӣ, зеро арзёбии клиникии истифодаи пектин ҳангоми сироятҳои рӯда гузаронида шудааст; б. 13 – таҳияи усулҳои моделсозии математикӣ, ки дар доираи он равишҳои *IVIVC* ва *EVIVC* барои муқоисаи натиҷаҳои таҳқиқоти *in vitro, ex vivo* ва *in vivo* ва пешгӯии рафтори системаҳои барандагони маводи доруӣ истифода шудаанд.

Мазмуни диссертатсия, натиҷаҳои илмии бадастомада, инчунин хулосаҳо ва тавсияҳои амалии пешниҳодшуда ба ихтисосҳои илмии зикршуда ва бахшҳои онҳо мувофиқат мекунанд.

Саҳми шахсии довталаби дараҷаи илмӣ дар таҳқиқот. Қисми асосии таҳқиқоти таҷрибавӣ ва таҳлилии дар диссертатсия пешниҳодшуда аз ҷониби довталаб мустақилона иҷро гардидааст. Усулҳои ҳосил намудан ва тозакунии пектин, инчунин технологияи ҷудо намудани зеин, ки ҳангоми эҷоди системаҳои композитсионии барандагони маводи доруӣ истифода шудаанд, такмил дода шуданд.

Аз ҷониби довталаб технологияи ҳосил намудани микросфераҳои ҳидроҷелӣ дар асоси пектин ва зеин таҳия гардида, шароити ташаккули онҳо, ки устувории системаҳо ва озодшавии назоратшавандаи маводи доруиро таъмин менамояд, муайян карда шуд. Маҷмуи таҳқиқоти *in vitro, ex vivo* ва *in vivo*, аз ҷумла озмоишҳои фармакокинетикӣ ва таҳлили вобастагиҳои корелятсионӣ (*IVIVC, EVIVC*) гузаронида шуд.

Таҳқиқоти микробиологӣ, ки ба омӯзиши таъсири биополимерҳо ва ҷузъи пробиотикӣ ба таркиб ва фаъолияти метаболитикии микробиотаи рӯда равона шудаанд, мустақилона иҷро карда шуданд. Дар кор усулҳои муосири физикӣ-химиявӣ ва инструменталии таҳлил, аз ҷумла спектроскопияи РМҲ, ХМСБ, ХГ-МС ва усулҳои секвенирониии насли нав бо коркарди минбаъдаи биоинформатикии маълумот истифода шудаанд.

Довталаб дар ҷамъоварӣ ва таҳлили маълумоти клиникӣ, ки ба арзёбии самаранокии истифодаи комбинатсионии антибиотик ва пектин ҳангоми табобати сироятҳои рӯда марбутанд, иштирок намудааст.

Тафсири натиҷаҳо, коркарди омории маълумот, таҳияи хулосаҳо ва тавсияҳои амалӣ аз ҷониби довталаб мустақилона анҷом дода шудаанд, ки саҳми шахсии ӯро дар рушди технологияҳои бунёди системаҳои биополимерии барандагони маводи дорӯӣ ва асосноккунии фармакологии онҳоро инъикос менамояд.

Тасвиб ва амалисозӣ. Маълумоти бадастомада дар конференсияҳои байналмилалии илмии зерин пешниҳод ва муҳокима гардидаанд: «Фарматсия: ҳолати муосир, дастовардҳо ва дурнамо», бахшида ба 80-солагии ҚазМДТУ ба номи С.Д. Асфандиёров, Алмаато, 9–11 декабри соли 2011; «Илми полимерҳо: саҳм дар рушди инноватсионии иқтисодиёт», Тошканд, 8–10 ноябри соли 2011; 3rd International Congress on Biohydrogels, Gould Institute, Florence, Italy, 08–12 November 2011; International Conference and Exhibition on Pharmaceuticals, Nutraceutical and Cosmeceutical Technology, PharmaTech 2012, Kuala Lumpur, Malaysia, 20–21 November 2012; 3rd EPNOE International Polysaccharide Conference, Nice, France, 21–24 October 2013; Vilnius University, Kaunas University of Technology, Baltic Polymer Symposium, Trakai, Lithuania, 18–21 September 2013; Book of Abstracts “Smith of Idea”, Intern. Conf., Rusne, Lithuania, 4–7 July 2013; International Conference Chemistry and Chemical Technology, Kaunas, Lithuania, 25 April 2014; Conference Abstract Book BIT’s 5th Annual Symposium of Drug Delivery Systems-2015, Beijing, China, 20–22 October 2015; The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu, HI, USA, December 16–21, 2021; Microbiome Symposium, Philadelphia; 264th American Chemical Society National Meeting, Chicago, USA, August 21–25, 2022; 31st International Conference of FFC, Yerevan, Armenia, September 29 – October 1, 2023.

Интишорот аз рӯйи мавзуи диссертатсия. Аз рӯйи мавзуи таҳқиқоти диссертатсионӣ 27 кори илмӣ, аз ҷумла 11 мақола дар нашрияҳои илмии индексатсияшаванда дар пойгоҳҳои байналмилалии маълумотии Scopus ва Web of Science, 2 мақола дар маҷаллаҳои илмии тақризшаванда, ки аз ҷониби Комиссияи олии аттестатсионии назди Президенти Ҷумҳурии Тоҷикистон тавсия шудаанд, 12 кори илмӣ дар маводи конференсияҳои байналмилалии илмӣ, 1 патент барои ихтироъ, 1 монография ва мақолаи фармакопеявӣ ба нашр расонида шудаанд.

Сохтор ва ҳаҷми диссертатсия. Диссертатсия дар 279 саҳифа таҳия гардида, аз муқаддима, шарҳи адабиёт, боби мавод ва усулҳои таҳқиқот, шаш боби таҳқиқоти худӣ, хулоса, баррасии натиҷаҳо, тавсияҳои амалӣ ва рӯйхати адабиёт иборат мебошад, ки 349 сарчашмаро дар бар мегирад. Кор бо 19 ҷадвал ва 68 расм тасвир шудааст.

ТАВСИФИ УМУМИИ ТАҲҚИҚОТ

Диссертатсия аз муқаддима, шарҳи адабиёт, боби «Мавод ва усулҳои таҳқиқот», шаш боби таҳқиқоти худӣ, баррасии натиҷаҳои таҳқиқот, хулосаҳо, тавсияҳои амалӣ ва рӯйхати адабиёт иборат мебошад.

Дар боби якум таҳлили ҳолати муосир ва дурнамои таҳияи системаҳои биополимерии барандагони маводи доруӣ пешниҳод шудааст. Шаклҳои анъанавии доругӣ ва маҳдудиятҳои онҳо, равишҳои муосир ба эҷоди системаҳои озодшавии назоратшаванда ва ҳадафнок, хусусиятҳои физикӣ-химиявии пектин ва зеин, нақши микробиотаи рӯда дар фармакокинетикаи маводи доруӣ, инчунин моделҳои муосири *in vitro*-кишти микробиотаи рӯда баррасӣ гардидаанд.

Дар боби дуюм мавод ва усулҳои таҳқиқот оварда шудаанд, ки усулҳои ҳосилкунӣ ва тозакунии пектин, ҷудо намудан ва тавсифи зеин, технологияи ҳосил намудани микросфераҳои ҳидроҷелии пектин-зеинӣ, усулҳои таҳлили микробиотаи рӯда, таҳқиқи кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ, таҳлили метаболомӣ, инчунин таҳқиқоти фармакокинетикии *in vitro, ex vivo* ва *in vivo* ва сохтани моделҳои *IVIVC* ва *EVIVC*-ро дар бар мегиранд.

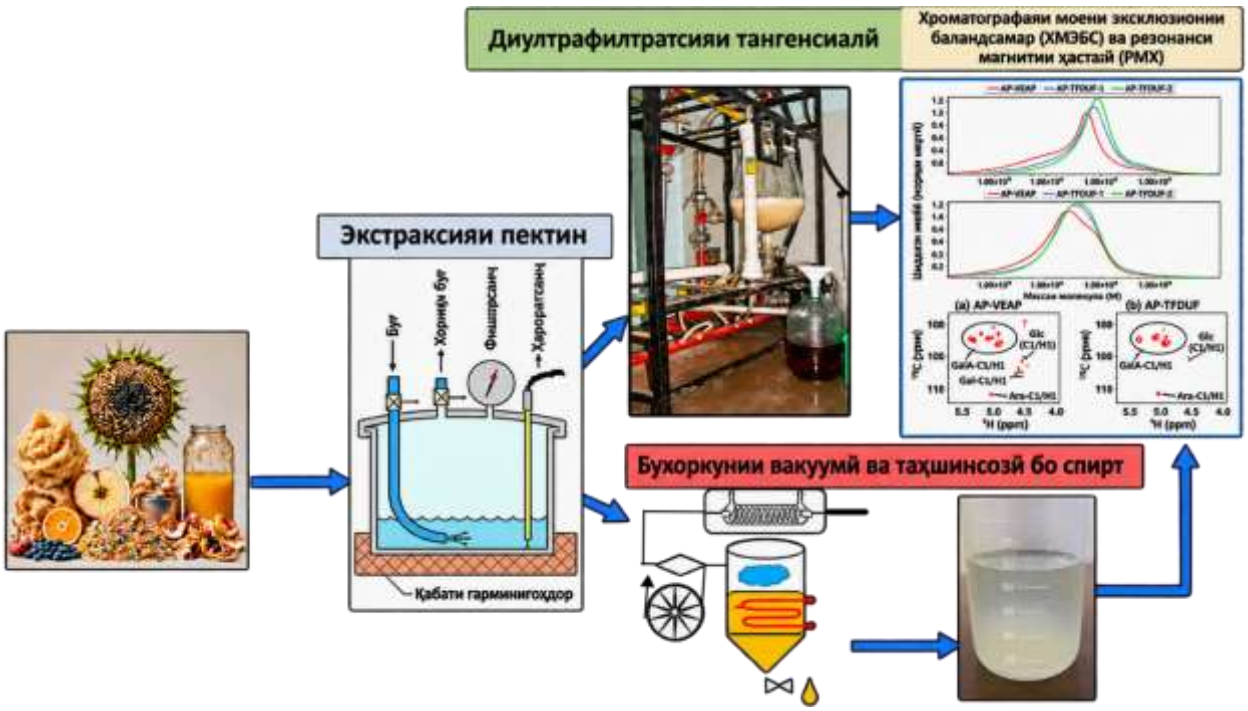
Дар бобҳои минбаъда натиҷаҳои таҳқиқоти худӣ пешниҳод шудаанд, ки ба таҳияи системаҳои пектин-зеинии барандагони маводи доруӣ, омӯзиши таъсири омилҳои гуногун ба сохтор ва фаъолияти метаболитикии микробиотаи рӯда, таҳқиқи фармакокинетикаи озодшавии пироксикам, инчунин арзёбии самаранокии комбинатсияи «пектин–антибиотик» ҳангоми бемориҳои сироятии роҳҳои меъдаю рӯда бахшида шудаанд.

Ҳосил намудани пектин бо усулҳои гуногун ва тавсифи сохтории онҳо

Дар корҳои З.К Муҳидинов ва ҳаммуаллифон усулҳои ҳосил намудани пектин аз ашёи хоми растанӣ, аз ҷумла фишурдаҳои себ ва сабадчаҳои офтобпараст, тавсиф шудаанд. Гидролиз-экстраксияи анъанавии кислотагӣ бо истифодаи HCl дар ҳарорати 80–90 °C ва pH 1,2–1,8 дар давоми 1–2 соат имконият медиҳад фраксияҳои пектинӣ ҳосил карда шаванд, аммо бо давомнокии зиёд, масрафи баланди энергия тавсиф гардида, метавонад ба деградатсияи қисмии молекулаҳои пектин оварда расонад.

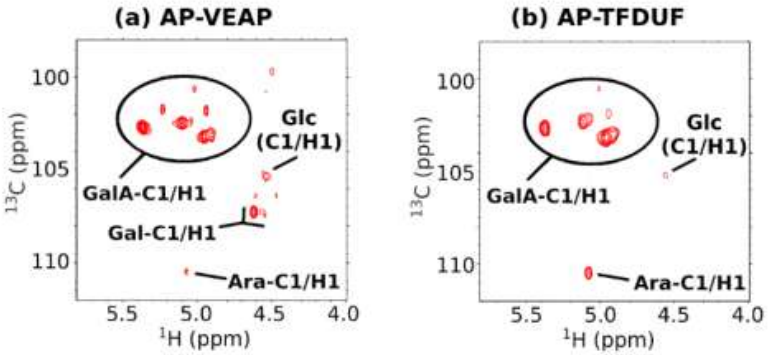
Ҳамчун алтернатива, муаллифон экстраксияи зуд (флеш экстраксия) дар ҳарорати 120 °C, фишори то 2 атм ва pH 2,0 дар давоми 3–10 дақиқа пешниҳод намудаанд (расми 1). Дар таҳқиқоти мазкур имконияти истифодаи диаултрафилтратсияи тангенсиалӣ (DUF) ҳамчун усули нисбатан самаранок ва аз ҷиҳати экологӣ қобили қабул барои тозакунии пектин арзёбӣ карда шуд. DUF имконият медиҳад омехтаҳои пастмолекулавӣ, намакҳо ва ҷузъҳои ҳамроҳи ашёи хом хориҷ карда шуда, пектин аз рӯйи массаи молекулавӣ қисман фраксионӣ гардонида шавад ва хавфи вайроншавии сохтори полисахаридии он коҳиш дода шавад.

Истифодаи DUF имкон дод пектин бо дараҷаи баландтари тозагӣ ба даст оварда шавад. Миқдори кислотаи галактуронӣ дар пектини себ баъд аз DUF 64,8% ва дараҷаи этерификатсия 71,4%-ро ташкил дод, дар ҳоле ки пас аз усули буғронии вакуумӣ ва таҳшинкунонии спиртӣ (VEAP) ин нишондиҳандаҳо мутаносибан 50,4% ва 68,6% буданд. Ин ба хориҷшавии пурратари омехтаҳои ғайрипектинӣ ишора менамояд.



Расми 1. – Схемаи технологии ҳосил ва тозакунии пектин бо усули диафилтратсияи тангенсиалӣ ва бухоркунии вакуумӣ–таҳшинкунонии спиртӣ.

Намунаҳое, ки бо усули DUF ҳосил шудаанд, бо массаи миёнавазни молярии (Mw) баландтар ва полидисперснокии (Mw/Mn) пасттар тавсиф мешуданд, ки ин аз тақсимоти якхелатари молекулавӣ-массавӣ ва эҳтимолан хосиятҳои беҳтари гелҳосилкунӣ шаҳодат медиҳад. Маълумоти спектроскопияи РМҲ нигоҳдории хусусиятҳои сохтории пектин ва хориҷшавии омехтаҳои пастмолекулавиро бе вайроншавии назарраси занҷирҳои асосии полисахаридӣ тасдиқ намуд (расми 2).



Расми 2. - Минтақаҳои аномерии спектрҳои ЯМР 2D-HSQC барои намунаҳои AP-VEAP (a) ва AP-DUF (b) коҳиши назарраси миқдори моносахаридҳои ғайрипектинӣ ва пайвастагиҳои пастмолекулавиро нишон медиҳанд

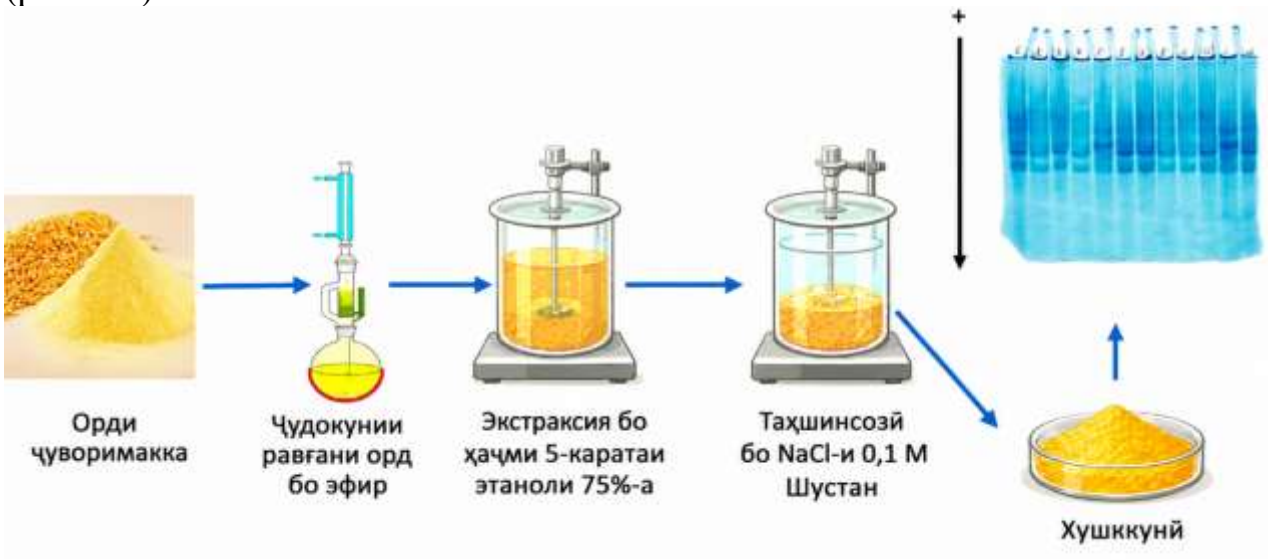
Раванди DUF дар муқоиса бо VEAP тақрибан ду маротиба камтар этанол ва чор маротиба камтар энергия сарф намуд. Истисно намудани марҳилаи бухоркунии вакуумӣ ва коҳиш додани истифодаи ҳалкунандаҳои зудоташгиранда бехатарии технологиро баланд бардошта, хароҷоти истифодабарӣ ва хавфҳои экологиро кам менамояд.

Миқдори баландтари AGA, дараҷаи этерификатсия ва тақсимоти якхелатари молекулавӣ-массавӣ аз хусусиятҳои беҳтари функсионалии пектине, ки бо усули DUF тоза шудааст, шаҳодат медиҳанд. Ин усулро ҳамчун алтернативаи дурнамо ба усулҳои анъанавии тозакунии пектин муаррифӣ

намуда, зарурияти арзёбии минбаъдаи миқёспазирии онро барои истифодаи саноатӣ асоснок менамояд.

Технологияи ҷудокунӣ ва тавсифи зеини ҷуворимаккаи дар Тоҷикистон рӯянда.

Зеин ба сафедаҳои захиравии дар спирт ҳалшаванда мансуб буда, бо миқдори зиёди пролин, глутамин ва аминокислотаҳои гидрофобӣ тавсиф мешавад, ки ин заряди пасти электростатикии он, қобилияти агрегатсия ва дурнамои истифодаашро дар системаҳои биополимерии барандагони маводи дорӯӣ муайян менамояд. Зеин аз орди беравғанкардашудаи ҷуворимакка бо усули экстраксияи спиртӣ ҳосил карда шуда, баъдан ҷудокунии ҷузъҳои ҳалнашаванда, консентратсияи фраксияи сафедаӣ, тозакунӣ ва хушккунии он гузаронида шуд (расми 3).



Расми 3. – Схемаи технологии ҷудокунӣ ва тозакунии зеин аз ашёи хоми ҷуворимакка бо фраксиябандии минбаъда ва назорати электрофоретикии таркиби сафедаҳо

Тозагӣ ва таркиби молекулавии зеини ҷудошударо бо усули электрофорез арзёбӣ намуданд (расми 4). Барои беҳтарсозии шароити ҷудо намудани зеин се равиш омӯхта шуд: экстраксия бо этаноли обии консентратсияи гуногун (60–85%), экстраксия бо мочевинаи 6 М ва экстраксияи пайдарпай тибқи усули Т.Б. Осборн бо ҷудо намудани албуминҳо, глобулинҳо, зеинҳо ва глютелинҳо.



Расми 4. - Электрофорези зеинҳо дар ГПАА-и 7,5% ҳангоми pH 3,1, ки бо маҳлули этаноли консентратсияи гуногун ҷудо карда шудаанд: раҳҳои 1 ва 7 – 70%; 2 ва 8 – 75%; 3 ва 9 – 80%; 4 ва 10 – 85%; 5 ва 11 – бо этаноли 75% тибқи усули Т.Б. Осборн; 6 ва 12 – бо этаноли 75% аз орди тухми ҷуворимаккаи беравғаннашуда ҷудо карда шудаанд

Системаҳои биополимерии барандагони маводи доруӣ барои озодшавии дарозмуддати онҳо

Муайян карда шуд, ки ҳосили зеин аз консентратсияи этанол ва шароити экстраксия вобаста мебошад. Экстраксияи секарата бо этаноли 75% беҳтарин дониста шуд: ду марҳилаи аввал дар ҳарорати хона ва марҳилаи сеюм дар 60 °C гузаронида шуд. Дар чунин шароит ҳосили зеин зиёда аз 3%-ро ташкил дод, ки тақрибан ба 50%-и миқдори умумии сафедаҳо мувофиқат мекунад. Усули Т.Б. Осборн имконият дод таркиби фраксионии сафедаҳои захиравии чуворимакка арзёбӣ карда шавад. Миқдори албуминҳо 0,1%, глобулинҳо 0,27%, зеинҳо 3,0% ва глютелинҳо 2,8%-и миқдори умумии сафеда дар донаро ташкил дод. Аммо зеинҳое, ки бо мочевинаи 6 М ҷудо карда шуданд, омехтаҳои ҳамроҳ доштанд ва дар этанол пурра ҳал намешуданд, ки ин бо таҳлили электрофоретикӣ тасдиқ гардид. Микросфераҳои ҳидроҷелӣ бо усули коасерватсияи мураккаб ва бо устуворсозии минбаъдаи ионии пектин тавассути ионҳои Ca^{2+} ё Zn^{2+} ҳосил карда шуданд (расми 5)



Расми 5. – Раванди технологии ҳосил намудани микросфераҳои пектин-зеинӣ

Таносуби пектин ва зеин (З/П) сохтори микросфераҳо ва кинетикаи озодшавии маводи доруиро муайян менамояд. Афзоиши ҳиссаи зеин варамкунии матритсаро дар қисмҳои болоии роҳҳои меъдаю рӯда коҳиш дода, диффузияи маводи доруиро суст менамояд, дар ҳоле ки миқдори кофии пектин барои деградатсияи ферментативии микросфераҳо дар рӯдаи ғафс зарур мебошад.

Муайян карда шуд, ки таносуби массавии зеин ва пектин, инчунин консентратсияи $CaCl_2$ ба ҳосили микросфераҳо, дараҷаи варамкунии онҳо ва миқдори пироксикам таъсир мерасонанд. Ҳосили микросфераҳо аз 15,6 то 64,7% тағйир ёфта, миқдори максималии пироксикам дар комплекс ҳангоми таносуби зеин:пектин 5:1 ба 93,8% мерасид (ыадвали 1).

Афзоиши ҳиссаи зеин ба бунёди қабати нисбатан зичи гидрофобӣ, зиёд шудани пайвастшавии маводи доруӣ ва коҳиш ёфтани варамкунии микросфераҳо мусоидат намуд. Муайян карда шуд, ки афзоиши ҳиссаи зеин дар системаи зеин:пектин ҳосили микросфераҳоро зиёд намуда, дараҷаи варамкунии онҳоро коҳиш медиҳад. Ин ба зиёдшавии гидрофобият ва зичии матритсаи полимерӣ вобаста буда, устувории зарраҳоро дар муҳити обӣ баланд мебардорад ва воридшавии ҳалкунандаро ба дохили ҳидроҷел маҳдуд менамояд.

Ҷадвали 1. - Таносубҳои ибтидоии ҷузъҳо барои ҳосил намудани микросфераҳои зеин-пектинӣ ва тавсифи онҳо

З/П	Зеин (мг)	Пектин (мг)	$CaCl_2$ (мг)	Рх (мг)	Ҳосилшавӣ (% масса)	Дараҷаи варамкунӣ	Рх дар комплекс (%)
1:1	250	250	20,6	20	37,0	49,0	37,0
1:3	100	300	24,8	20	15,6	56,1	9,8
1:6	50	300	24,8	20	16,5	68,0	12,4
1,4:1	500	350	20,6	20	45,0	33,25	57,0
1,4:1	500	350	20,6	200	55,6	13,91	51,7
2:1	500	250	20,6	20	55,6	19,45	72,6
5:1	1000	200	16,6	20	64,7	7,5	93,8

Муқоисаи намудҳои гуногуни пектин ва ионҳои пайвандсоз

Дар ҷадвали маълумот оид ба микросфераҳои ҳидроҷелӣ дар асоси намудҳои гуногуни пектин, инчунин таъсири металлҳои дувалентӣ (Ca^{2+}, Zn^{2+}) оварда шудааст. Хусусиятҳои микросфераҳои пектин-зеинӣ аз таносуби полимерҳо, табиати катиони дувалентии пайвандсоз ва вояи пироксикам муайян шудаанд. Самаранокии максималии инкапсулятсияи пироксикам ҳангоми таносуби пектин:зеин 1,0:1–1,5:1 ба 95,20% мерасид, ки онро метавон ҳамчун доираи оптималии ташаккули матритсаи устувори полимерӣ арзёбӣ намуд.

Ҳангоми кам будани миқдори зеин ковокии баланди шабакаи пектинӣ ба талафи пироксикам мусоидат мекард, дар ҳоле ки зиёд будани зеин метавонист ба агрегатсияи заррaҳо ва коҳиш ёфтани ҳосили маҳсулот оварда расонад. Истифодаи Zn^{2+} дар муқоиса бо Ca^{2+} дараҷаи варамкунии микросфераҳоро коҳиш дода, миқдори пироксикамро устувор менамуд, ки ин бо ташаккули сохтори нисбатан зичи координатсионӣ вобаста аст (ҷадвали 2).

Ҷадвали 2. - Микросфераҳои ҳидроҷелии З/П ва тавсифи онҳо

З/П (таносуби массавӣ)	**M^{2+}, %**		**Рх, мг**	**Ҳосилшавии микросфераҳо, %**	**Дараҷаи варамкунӣ**	**Миқдори Рх, %**
	Ca^{2+}	**Zn^{2+}**				
2:1	3,70		50	66,70	13,69	75,80
1:3	3,56		50	64,20	29,10	81,80
1,5:1	2,02		50	46,60	21,00	95,20
1:1	1,26		50	34,50	11,50	66,00
1:1	2,44		50	76,30	10,33	66,00
1:1	2,57		20	35,70	11,00	53,30
1:3		1,85	50	61,20	31,10	86,00
1:2		1,08	50	28,60	19,50	52,80
1,5:1		1,27	50	45,00	16,00	80,60
2:1		1,08	50	34,50	5,80	80,60

Ҳангоми таносуби пектин:зеин 1:2 дараҷаи варамкунии микросфераҳо дар асоси пектини КМ 5,25%-ро ташкил дод, дар ҳоле ки барои пектини БМ ин нишондиҳанда 26,14% буд (ҷадвали 3). Ҳамзамон, миқдори пироксикам дар

микросфераҳои асосёфта ба пектини КМ баландтар буд: 66,00% нисбат ба 58,75%. Ин ҳолат бо миқдори зиёди гурӯҳҳои озоди карбоксилии пектини КМ вобаста мебошад, ки қобилияти пайвандсозии ионӣ бо катионҳои дувалентӣ ва ташаккули шабакаи нисбатан зичи полимериро доранд.

Ҷадвали 3. - Микросфераҳои ҳидроҷелии З/П дар асоси пектинҳои себии КМ ва БМ ва тавсифи онҳо

З/П (таносуби массавӣ))	Намуди пектина	M^{2+}, %		Рх, мг	Ҳосилшавии микросфераҳо, %	Дараҷаи варамкунӣ	Миқдори Рх, %
		Ca^{2+}	Zn^{2+}				
1:2	БМ себӣ	1,78		20	26,50	26,14	58,75
1:1		2,57		20	36,30	27,74	32,50
6:1		3,52		20	43,90	30,16	39,00
1:2	КМ себӣ	1,78		20	30,90	5,25	66,00
1:1		2,57		20	33,90	8,94	61,10
1:1			1,62	20	25,00	16,71	71,50
6:1		3,52		20	29,30	22,70	70,20

Иваз намудани Ca^{2+} ба Zn^{2+} низ миқдори пироксикамро дар микросфераҳо зиёд намуд, ки ин ба таъсири координатсионии нисбатан устувори Zn^{2+} бо пектин ва гурӯҳҳои функсионалии зеин ишора мекунад. Таҳлили якҷоя нишон дод, ки хусусиятҳои микросфераҳои пектин-зеинӣ тавассути таносуби полимерҳо, дараҷаи этерификатсияи пектин, табиати катиони пайвандсоз ва вояи маводи доруӣ танзим мешаванд. Истифодаи пектини КМ ва Zn^{2+} имкон медиҳад, ки варамкунии микросфераҳо коҳиш ёфта, самаранокии инкапсулатсияи пироксикам баланд гардад, ки дурнамои истифодаи ин системаҳоро барои расонидани дарозмуддат ва ҳадафноки маводи доруӣ ба рудаи ғафсро асоснок менамояд.

Дараҷаи варамкунии микросфераҳо ба кинетикаи озодшавии пироксикам таъсири назаррас мерасонд. Коҳиш ёфтани варамкунӣ ҳангоми зиёд шудани ҳиссаи зеин ба ташаккули матритсаи нисбатан зич ва гидрофобӣ ишора мекард, ки қобилияти суст намудани диффузияи маводи доруӣ ва баланд бардоштани устуворii микросфераҳоро дар шароити қисмҳои болоии роҳҳои меъдаю рӯда дорад. Ҳангоми зиёд будани миқдори пектин варамкунӣ пурзӯр мешуд, ки метавонист озодшавиро тезонад, вале ҳамзамон хавфи хориҷшавии бармаҳали доруро зиёд мекард.

Ҳамин тариқ, тағйир додани таносуби зеин ва пектин, консентратсияи пироксикам ва табиати ионҳои пайвандсоз имкон медиҳад хусусиятҳои микросфераҳои пектин-зеинӣ ба таври ҳадафнок танзим карда шаванд. Натиҷаҳои бадастомада дурнамои системаҳои таҳияшударо барои расонидани дарозмуддат ва ҳадафноки маводи доруӣ тасдиқ менамоянд.

Таҳқиқи метаболизми микробиотаи рӯда

Микробиотаи рӯдаи ғафс яке аз экосистемаҳои микробии зичтарини организм буда, дар нигоҳдории гомеостази метаболитикӣ ва иммунӣ нақши муҳим мебозад. Он дар ферментатсияи субстратҳои ҳазмнашаванда, синтези витаминҳо, кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ, аминокислотаҳо, липидҳо,

инчунин дар биотрансформатсияи кислотаҳои талха ва ҳосилшавии метаболитҳои сигналӣ иштирок менамояд.

Барои омӯзиши таъсири биополимерҳо ба микробиотаи рӯда ҳангоми кор моделҳои *in vitro*, аз ҷумла системаи Prodigest *TWINSHIME* ва биореакторҳои *Eppendorf* истифода шуданд. Чунин моделҳо имкон медиҳанд таъсири маводи доруӣ, ҷузъҳои ғизоӣ, токсинҳо ва микроорганизмҳои зинда ба анҷумани микробӣ бе маҳдудиятҳои этикӣ ва бо мураккабии камтари тафсир нисбат ба таҳқиқоти *in vivo* арзёбӣ карда шавад.

Муқоисаи алфа-гуногунӣ байни системаҳои яккамерагӣ ва секамерагӣ

Алфа-гуногунии анҷумани микробӣ дар фраксияҳои люминалӣ ва луобии модели яккамерагӣ (SC), модели секамерагии рӯдаи ғафс (3C) ва инокуляти ибтидоӣ арзёбӣ карда шуд. Барои таҳлил индекси Шеннон, нишондиҳандаи ғановати таксономӣ ва гуногунии филогенетикии Faith’s PD истифода гардиданд. Дар модели секамерагӣ (3C) фарқиятҳои алфа-гуногунӣ байни қисмҳои болораванда (AC), кӯндаланг (TC) ва поёнравандаи (DC) рӯдаи ғафс ҳам дар анҷумани люминалӣ ва ҳам дар анҷумани луобӣ ошкор карда шуданд. Нишондиҳандаҳои пасттарини гуногунӣ дар минтақаи AC ва нишондиҳандаҳои баландтарин асосан дар минтақаи DC ба қайд гирифта шуданд.

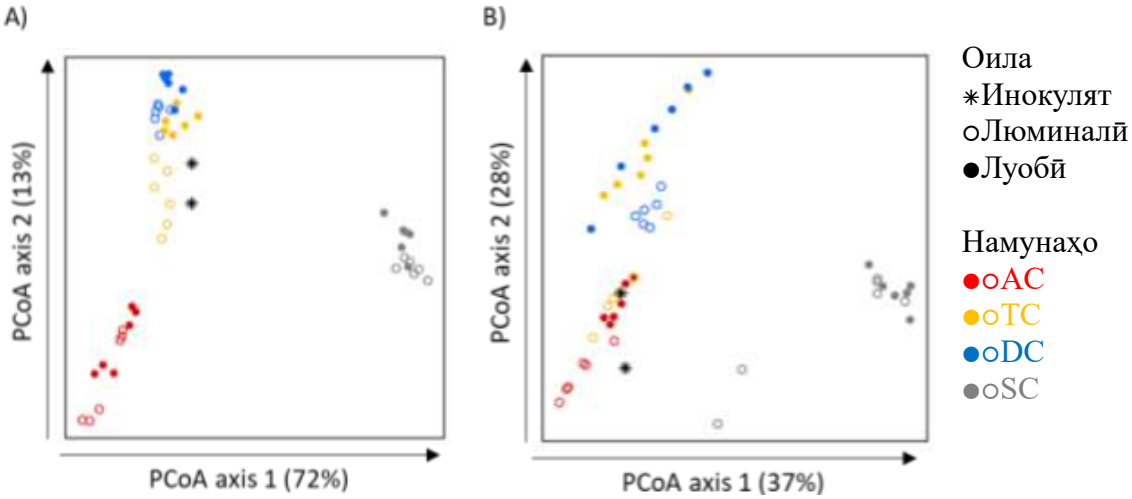
Анҷумани микробии модели яккамерагӣ (SC) аз рӯйи сатҳи алфа-гуногунӣ бештар ба анҷумани минтақаи TC-и системаи 3C наздик буданд. Ин нишон медиҳад, ки модели SC профили миёнаи анҷумани микробиро инъикос мекунад, дар ҳоле ки системаи 3C фарқиятҳои минтақавии рӯдаи ғафсро беҳтар бозсозӣ менамояд.

Фарқияти анҷумани инокуляти фекалӣ дар дохили моделҳои яккамерагӣ ва секамерагии рӯдаи ғафс

Бо вуҷуди нишондиҳандаҳои монанди алфа-гуногунӣ (расми 6), анҷумани микробии моделҳои SC ва 3C аз рӯйи сохтори филогенетикӣ фарқ мекарданд. Таҳлили PCoA дар асоси масофаҳои вазннашуда ва вазншудаи UniFrac нишон дод, ки анҷумани модели 3C аз ҷиҳати сохторӣ ба инокуляти ибтидоии фекалӣ наздиктар буданд, дар ҳоле ки анҷумани модели SC кластери алоҳида ташкил медоданд.

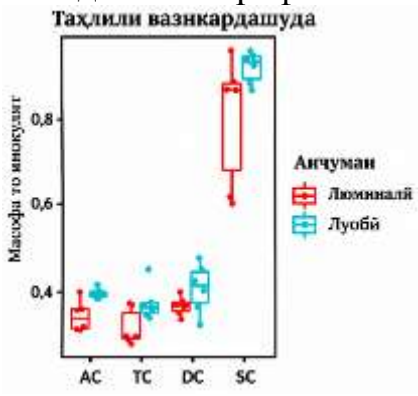
Таҳлили PCoA фарқиятҳои возеҳро байни анҷумани микробии моделҳои SC ва 3C, инчунин инокуляти ибтидоӣ ошкор намуд. Аз рӯйи координатаи асосии якум фарқиятҳо барои UniFrac-и вазннашуда 72% ва барои UniFrac-и вазнкардашуда 37%-ро ташкил доданд. Таҳлили PERMANOVA фарқиятҳои аз ҷиҳати оморӣ муҳимро байни анҷумани SC ва 3C аз рӯйи масофаҳои вазнкардашудаи UniFrac тасдиқ намуд ($p = 0,002$).

Ҳамзамон, анҷумани модели 3C нисбат ба анҷумани SC ба инокуляти ибтидоӣ наздиктар буданд, ки ин бо таҳлили масофаҳои вазнкардашудаи UniFrac нисбат ба инокулят тасдиқ гардид ($p<0,001$). Ин ба қобилияти баландтари системаи 3C барои нигоҳ доштани сохтори анҷумани ибтидоии микробӣ ишора мекунад (расми 7).



Расми 6. - Графикҳои таҳлили координатаҳои асосӣ, ки сохтори анҷуманро дар асоси масофаҳои UniFrac нишон медиҳанд. a. Таҳлили вазннашуда. b. Таҳлили вазнкардашуда.

Таҳлили таксономӣ нишон дод, ки системаи 3C инокуляти ибтидоии фекалиро, махсусан аз рӯйи миқдори *Bacteroidetes* ва *Firmicutes*, беҳтар бозсозӣ менамояд. Баръакс, дар модели SC коҳиш ёфтани ин гурӯҳҳо ва зиёдшавии *Proteobacteria,* асосан *γ-Proteobacteria*, инчунин *Fusobacteria* мушоҳида гардид. Анҷумани луобии ҳар ду модел бо зиёдшавии *Firmicutes/Clostridia* ва коҳиш ёфтани *Bacteroidetes/Bacteroidia* тавсиф мешуданд. Умуман, системаи 3C хусусиятҳои минтақавии микробиотаи рӯдаи ғафсро беҳтар нигоҳ дошт, дар ҳоле ки модели SC профили нисбатан тағйирёфтаи анҷуманро бунёд намуд.



Намуна	Муқоиса	P-қиммат
Люминалӣ	SC:AC	4,4e-09
	SC:TC	1,7e-09
	SC:DC	1,0e-08
Луобӣ	SC:AC	7,3e-16
	SC:TC	3,1e-16
	SC:DC	1,1e-15

Расми 7. - Муқоисаи масофаҳои UniFrac байни анҷумани люминалӣ ва луобӣ барои системаҳои SC ва 3C нисбат ба инокулят дар асоси таҳлили вазнкардашуда. Қиматҳои p, ки дар натиҷаи таҳлили PERMANOVA ба даст оварда шудаанд, дар ҷадвали поёни расм нишон дода шудаанд.

Фарқиятҳои аҳамиятнок дар сохтори анҷуман байни ду усули кишт

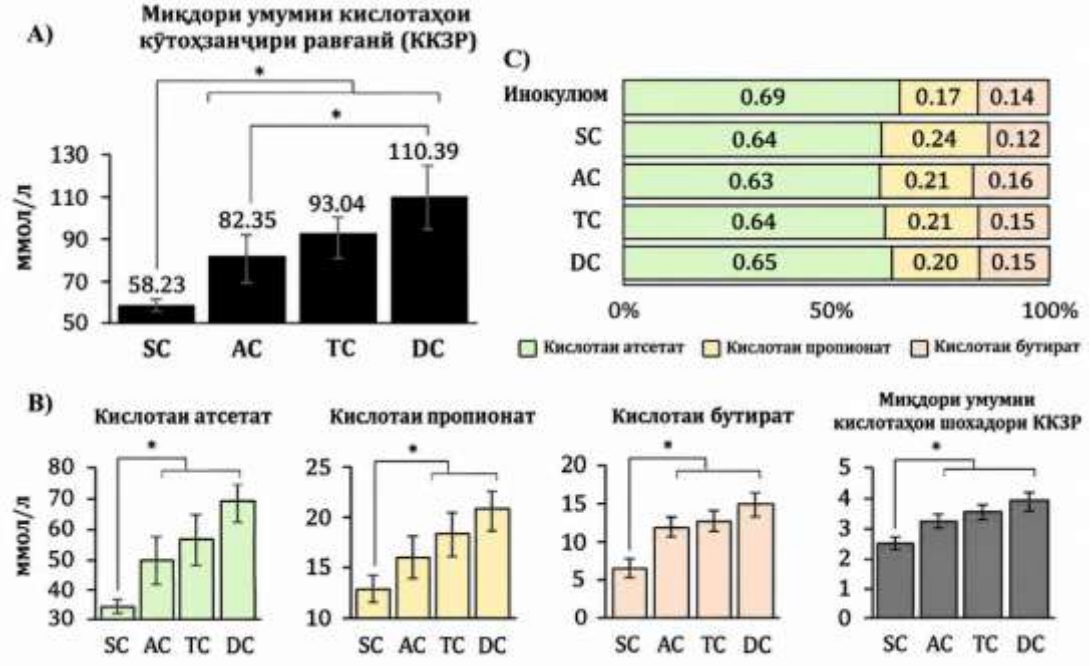
Таҳлили муқоисавии оилаҳо бо шумораи нисбии зиёда аз 0,1% фарқиятҳои аз ҷиҳати оморӣ муҳимро байни анҷумани SC ва 3C ошкор намуд. Дар анҷумани люминалӣ фарқиятҳои бештар барои *Fusobacteriaceae, Alcaligenaceae* ва *Xanthomonadaceae* хос буданд. Ҳамзамон, *Fusobacteriaceae* ва *Xanthomonadaceae* дар модели SC бартарӣ доштанд, дар ҳоле ки аксари дигар оилаҳо, аз ҷумла *Lachnospiraceae, Synergistaceae, Ruminococcaceae, Erysipelotrichaceae* ва *Mogibacteriaceae*, дар бахшҳои алоҳидаи системаи 3C бештар намояндагӣ мекарданд. Дар инокулят ва системаи 3C дар байни Proteobacteria асосан β-*Proteobacteria* бартарӣ доштанд, дар ҳоле ки дар модели SC γ-*Proteobacteria*, пеш

аз ҳама оилаи *Enterobacteriaceae*, бартарӣ дошта буданд. Дар системаи 3С оилаи асосии β-*Proteobacteria – Alcaligenaceae* буд.

Дар анҷумани луобӣ низ фарқиятҳо байни моделҳои SC ва 3C муайян гардиданд. *Enterobacteriaceae, Bacteroidaceae, Fusobacteriaceae, Rikenellaceae* ва *Alcaligenaceae* байни модели SC ва ҳар се бахши системаи 3C фарқияти назаррас доштанд. Ҳамзамон, дар модели SC шумораи бештари *Enterobacteriaceae, Veillonellaceae, Fusobacteriaceae* ва *Rikenellaceae* мушоҳида гардид.

Таҳлили муқоисавии метаболитҳои анҷумани моделҳои яккамерагӣ ва секамерагӣ

Фаъолияти функсионалии анҷумани микробӣ аз рӯйи миқдори кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ (КРЗК) дар моделҳои SC ва 3C арзёбӣ карда шуд. Миқдори КРЗК дар инокулят ба ҳисоб гирифта нашуд, зеро намунаҳои фекалӣ на ҳамеша сатҳи онҳоро дар рӯдаи ғафс инъикос мекунанд, ки ин ба ҷаббиши метаболитҳо аз ҷониби ҳуҷайраҳои мизбон ва микроорганизмҳо вобаста мебошад. Муайян карда шуд, ки дар системаи 3C миқдори умумии КРЗК пайдарпай аз рӯйи бахшҳои рӯдаи ғафс зиёд мешавад (расми 8).



Расми 8. - Миқдорҳои КРЗК барои ҳар як анҷуман. Фарқиятҳои оморӣ байни гурӯҳҳо бо истифода аз ANOVA ва меъёри t-и Стьюдент муайян карда шуданд. Танҳо он фарқиятҳое аҳамиятнок ҳисобида шуданд, ки аз ислоҳи FDR тибқи усули Бонферрони гузашта, бо рамзи * ишора шудаанд. a. Миқдори умумии КРЗК. b. Сатҳи кислотаҳои сирко, пропионӣ ва равғанӣ. c. Таносуби кислотаҳои сирко, пропионӣ, бутирӣ

Дар системаи SC миқдори умумии КРЗК нисбат ба системаи 3C ба таври назаррас паст буд: 58,23 ммол/л нисбат ба 82,35–110,39 ммол/л. Ба ҳамин монанд, консентратсияи кислотаҳои сирко, пропионӣ ва равғанӣ дар SC нисбат ба минтақаҳои алоҳидаи модели 3C пасттар буданд. Ҳиссаи кислотаи сирко дар ҳамаи анҷуман монанд буд, дар ҳоле ки миқдори нисбии кислотаи пропионӣ дар системаи SC баландтар буд. Дар модели 3C миқдори бештари кислотаи равғанӣ дар минтақаи AC мушоҳида гардид. Илова бар ин, дар системаи SC миқдори

зиёди кислотаи пентанӣ муайян карда шуд, ки метавонист ба профили умумии КРЗК таъсир расонад.

Дар системаи 3С кислотаҳои сирко, пропионӣ ва равғанӣ ҳиссаи асосии КРЗК-ро ташкил дода, тақрибан 95,75%-ро дар бар мегирифтанд, дар ҳоле ки ба КРЗК-и шохадор ва кислотаи пентанӣ мутаносибан 3,85% ва 0,40% рост меомад. Дар системаи SC ҳиссаи КРЗК-и асосӣ пасттар буда 91,51%-ро ташкил медод ва миқдори кислотаи пентанӣ то 4,31% зиёд мешавад. Ҳамзамон, миқдори нисбии КРЗК-и шохадор дар ҳар ду модел қобили муқоиса буд, сарфи назар аз он ки арзишҳои мутлақ дар системаи SC пасттар буданд.

Таъсири тағйирёбии сатҳи pH-и муҳит ба сохтори анҷумани микробиотаи рӯда ва истеҳсоли кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ

Таҳлили алфа-гуногунӣ нишон дод, ки сохтор ва гуногунии микробиотаи рӯда аз сатҳи pH-и муҳити атроф вобаста мебошанд. Барои арзёбии тағйироти сохтори анҷуман таҳлили муқоисавии таркиби таксономӣ ҳангоми қиматҳои гуногуни pH бо истифода аз таҳлили PCoA дар асоси масофаҳои вазннашуда ва вазнкардашудаи UniFrac гузаронида шуд. Аҳамияти омории фарқиятҳо байни гурӯҳҳо бо усули PERMANOVA муайян карда шуд (расми 9).

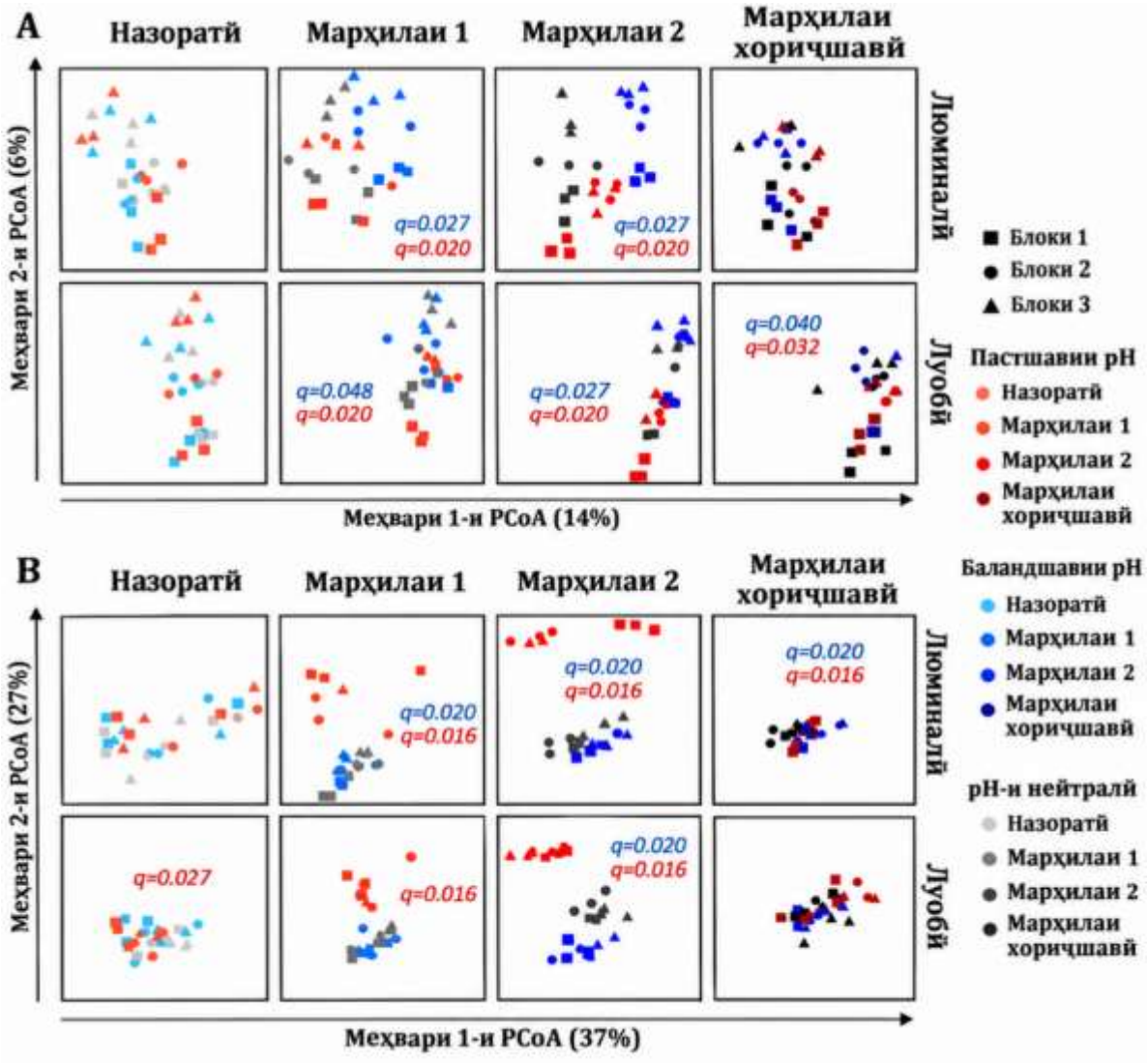
Таҳлили PCoA дар асоси масофаҳои UniFrac-и вазннашуда ва вазнкардашуда нишон дод, ки баландшавӣ ва пастшавии pH боиси тағйироти назаррас дар сохтори анҷумани люминалӣ ва анҷумани луобпарда мегардад. UniFrac-и вазннашуда тағйироти таркиби таксонҳои муайяншударо инъикос мекард, дар ҳоле ки UniFrac-и вазнкардашуда тағйиротро дар шумораи нисбии гурӯҳҳои бартаридорро нишон медод.

Дар анҷумани люминалӣ қисми тағйирот баъд аз марҳилаи шустан барқароршаванда буд, дар ҳоле ки анҷумани луобпарда фарқиятҳоро то анҷоми таҷриба нигоҳ доштанд. Ин ҳолат аз устувории гуногуни микробиотаи люминалӣ ва микробиотаи луобпарда нисбат ба тағйирёбии pH шаҳодат медиҳад.

Дар ҷавоб ба тағйирёбии pH тағйироти новобаста аз донор дар 27 таксон муайян карда шуд. Баландшавии pH асосан бо зиёдшавии намояндагони *Firmicutes*, аз ҷумла *Lachnospiraceae, Ruminococcaceae* ва *Erysipelotrichaceae* ҳамроҳ буд. Пастшавии pH бозсозии нисбатан равшантарро ба вуҷуд овард: шумораи як қатор намояндагони *Bacteroidetes* ва *Proteobacteria* кам шуда, дар ҳоле ки баъзе намояндагони *Firmicutes,* аз ҷумла *Lachnospiraceae* ва *Veillonellaceae*, зиёд гардиданд.

Таъсири pH-и муҳит ба намуд ва сатҳи кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ дар система

Таъсири pH ба фаъолияти метаболитикии микробиотаи рӯда аз рӯйи тағйирёбии миқдори КРЗК арзёбӣ карда шуд. Барои ин сатҳи КРЗК дар шароити назоратӣ ва тақрибавӣ ҳангоми баланд ё паст шудани pH муқоиса карда шуда, баъдан маълумоти ҳамаи донорҳо барои муайян намудани тағйироти новобаста аз донор муттаҳид карда шуданд (расми 10).



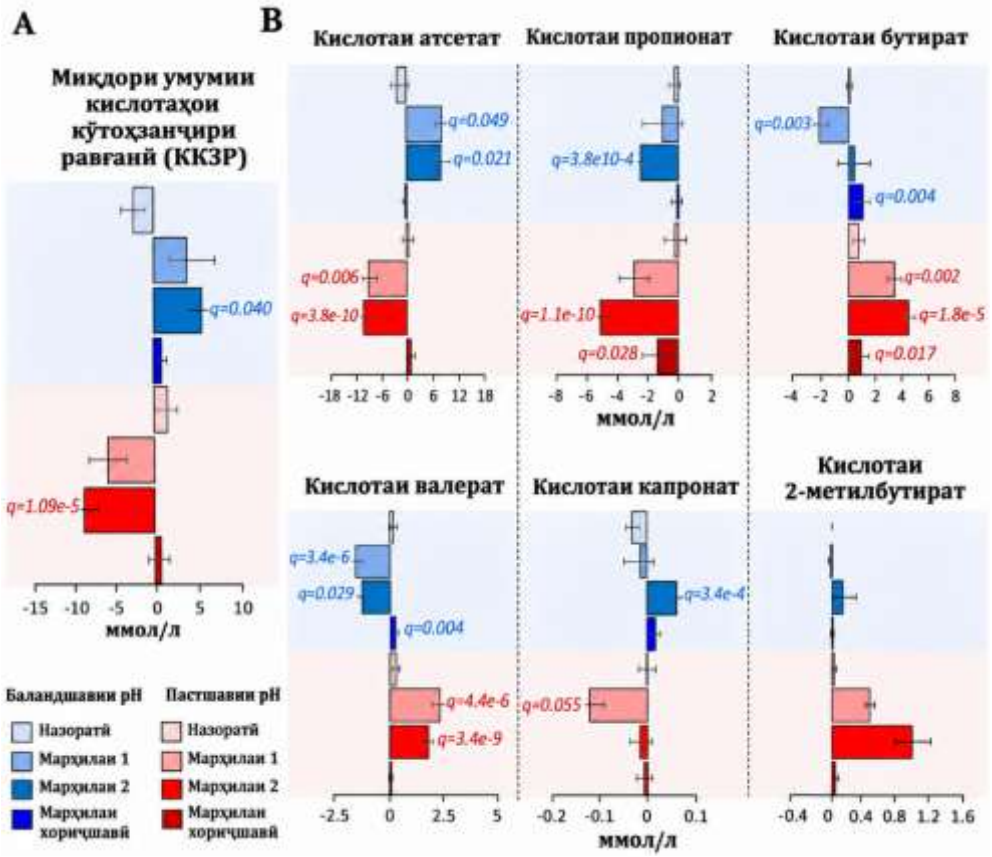
Расми 9. - PCoA, ки масофаҳои UniFrac-и (A) вазннашуда ва (B) вазнкардашударо барои анҷумани люминалӣ ва луобӣ нишон медиҳад. Тағйироти аз ҷиҳати оморӣ муҳим бо истифода аз усули PERMANOVA муайян карда шуда, чунин ишора шудаанд: қиматҳои q бо ранги кабуд ба тағйироти аҳамиятнок байни гурӯҳҳои дорои pH-и пастшуда ва pH-и нейтралӣ мувофиқат мекунанд, дар ҳоле ки қиматҳои q бо ранги сурх тағйироти аҳамиятнокро байни гурӯҳҳои дорои pH-и баландшуда ва pH-и нейтралӣ нишон медиҳанд.

Баландшавӣ ва пастшавии pH ба истеҳсоли КРЗК таъсири муқобил расонданд. Дар марҳилаи дуюми таҷриба баландшавии pH миқдори умумии онҳоро аз 62,0 то 67,8 ммол/л зиёд намуд, дар ҳоле ки пастшавии pH онро то 52,0 ммол/л коҳиш дод. Самти монанди тағйирот барои кислотаҳои сирко, валерианӣ, равғанӣ ва 2-метилбутанӣ низ мушоҳида гардид. Тағйирёбии pH ба профили КРЗК ва таркиби таксономии микробиотаи рӯда таъсири назаррас расонд. Баландшавии pH бо зиёдшавии миқдори умумии КРЗК ва кислотаи сирко ҳамроҳ буд, дар ҳоле ки пастшавии pH сатҳи кислотаҳои сирко ва пропионирро коҳиш дода, миқдори кислотаи равғаниро зиёд намуд. Тағйироти профили КРЗК ба бозсозии анҷумани микробӣ мувофиқат намуд.

Ҳангоми баландшавии pH шумораи намояндагони *Firmicutes*, аз ҷумла *Lachnospiraceae* ва *Ruminococcaceae*, ки бо қобилияти истеҳсоли КРЗК маълуманд, зиёд гардид. Пастшавии pH бо коҳиш ёфтани як қатор намояндагони

Bacteroidetes ва *Proteobacteria*, инчунин кам шудани *Fusobacteriaceae/ Fusobacterium*, ки бо ҳолатҳои патологии рӯда алоқаманданд, ҳамроҳ буд.

Натиҷаҳои бадастомада нишон медиҳанд, ки pH омили муҳими экологӣ мебошад, ки сохтор ва фаъолияти функсионалии микробиотаи рӯдаро муайян мекунад. Тағйироте, ки новобаста аз донор мушоҳида шуданд, метавонанд ҳамчун ҳадафҳои эҳтимолии терапевтӣ аҳамият дошта бошанд.



Расми 10. - Таҳлил, ки фарқиятро дар сатҳи КРЗК байни гурӯҳҳои назоратӣ ва таҷрибавӣ нишон медиҳад. Сутунҳои кабуд тағиротеро нишон медиҳанд, ки ҳангоми баландшавии pH ба амал омадаанд, дар ҳоле ки сутунҳои сурх тағиротеро инъикос менамоянд, ки ҳангоми пастшавии pH мушоҳида шудаанд. (A) Тағйирёбии сатҳи умумии КРЗК-и муайяншуда. Аҳамияти оморӣ барои сатҳи умумии КРЗК байни гурӯҳи дорои pH-и нейтралӣ ва гурӯҳҳои дорои баландшавӣ ё пастшавии pH бо истифода аз t-меъёри дутарафаи Стюдент муайян карда шуд. (B) Тағйирёбии сатҳи кислотаҳои сирко, пропионӣ, равғанӣ, валерианӣ, гексанӣ ва 2-метилбутанӣ. Аҳамияти оморӣ барои ҳар як КРЗК байни гурӯҳи дорои pH-и нейтралӣ ва гурӯҳҳои дорои баландшавӣ ё пастшавии pH бо истифода аз t-меъёри дутарафаи Стюдент ва ислоҳи минбаъдаи FDR муайян карда шуд.

Модулятсияи сохтор ва функсияи микробиотаи рӯда тавассути ду пектини аз ҷиҳати сохтор гуногун

Таъсири пектинҳои дорои массаи молекулавии паст ва дараҷаи баланди этерификатсия ва массаи молекулавии баланд ва дараҷаи пасти этерификатсия ба алфа-гуногунӣ

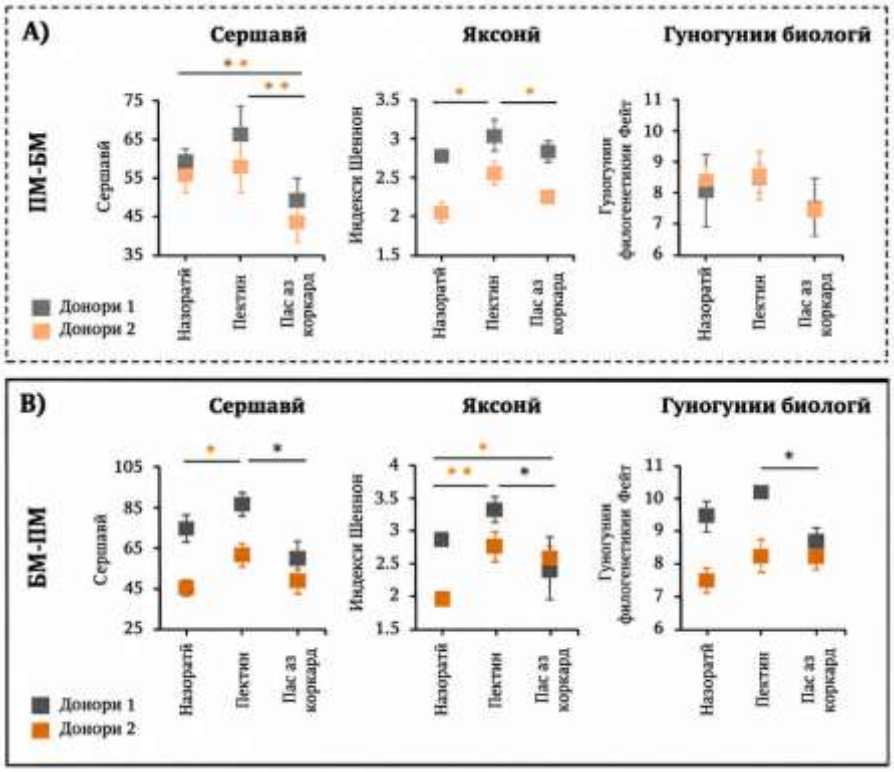
Таъсири пектинҳои ПМ-ДЭБ ва БМ-ДЭП ба сохтори микробиотаи рӯда бо усули секвенирониии гени 16S рКРН арзёбӣ карда шуд. Алфа-гуногунӣ дар давраи назоратӣ, ҳангоми коркард бо пектин ва баъд аз қатъ гардидани он аз рӯйи

нишондиҳандаҳои ғановати таксономӣ, индекси Шеннон ва *Faith's* PD таҳлил карда шуд (Рисунок 11).

Ҳар ду намуди пектин ба нишондиҳандаҳои алфа-гуногунӣ таъсир расониданд, аммо дараҷаи ин тағйирот аз донор вобаста буд. Пектини ПМ-ДЭБ тамоюли зиёдшавии ғановати таксономиро дар давраи коркард ба вуҷуд овард, вале баъд аз қатъ гардидани он коҳишёбии ин нишондиҳанда мушоҳида шуд. Пектини БМ-ДЭП низ ғановати таксономиро зиёд намуда, дар ҳар ду донор индекси Шеннонро баланд бардошт. Маълумоти бадастомада нишон медиҳанд, ки хусусиятҳои сохтории пектин ба гуногунии микробиотаи рӯда таъсир мерасонанд ва ҷавоби анҷумани микробӣ аз таркиби ибтидоии микробиотаи донор вобаста мебошад.

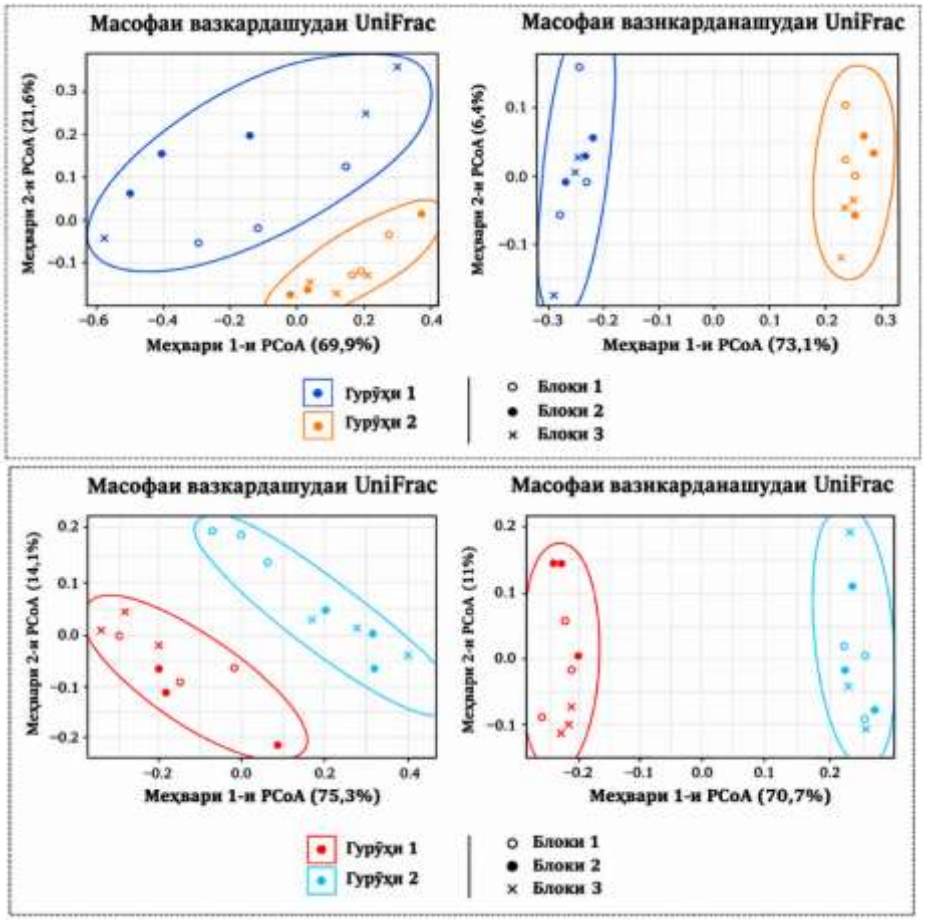
Арзёбии сохтори анҷуман бо истифода аз таҳлили координатаҳои асосӣ

Таъсири пектинҳои ПМ-ДЭБ ва БМ-ДЭП ба бета-гуногунии микробиота бо усули PCoA дар асоси масофаҳои UniFrac-и вазнкардашуда ва вазннашуда арзёбӣ карда шуд. UniFrac-и вазнкардашуда ҳузур ва шумораи нисбии таксонҳоро ба назар гирифт, дар ҳоле ки UniFrac-и вазннашуда танҳо ҳузур ё набудани онҳоро ҳисоб кард, ки ин имконият дод тағйироти сохтори филогенетикии анҷумани микробӣ арзёбӣ карда шавад (расми 12).



Расми 111. - Алфа-гуногунӣ, ки аз рӯйи ғановат, индекси гуногунии Шеннон ва индекси филогенетикии Фейт (Faith's PD) чен карда шудааст. Тағйироти аз ҷиҳати оморӣ муҳим бо рамзи ситорача (*) ишора шудаанд. (А) Пектини ПМ-ДЭБ; (В) Пектини БМ-ДЭП

Таҳлили PCoA нишон дод, ки вариатсияи асосии анҷумани микробӣ ба пайдоиши донории намунаҳо вобаста буд. Дар UniFrac-и вазннашуда ҳиссаи вариатсия аз рӯйи координатаи якум барои пектини ПМ-ДЭБ 73,1% ва барои пектини БМ-ДЭП 70,7%-ро ташкил дод, ки ба таъсири назарраси таркиби инфиродии микробиотаи донор ба сохтори анҷуман ишора мекунад.



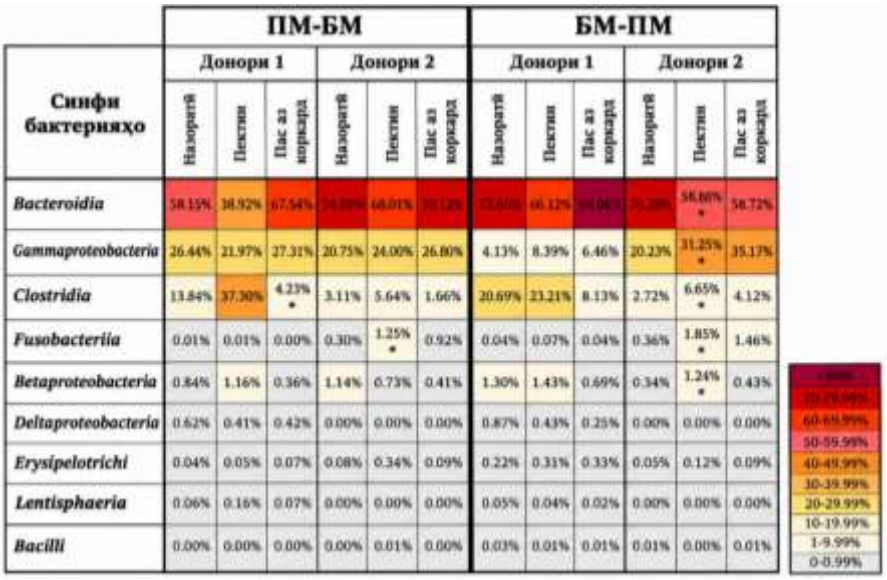
Расми 12. - Таҳлили координатаҳои асосӣ (PCoA) дар асоси масофаҳои UniFrac-и вазнкардашуда ва вазннашуда барои ҳар ду донор дар давраи назоратӣ, коркард бо пектин ва баъд аз коркард. (А) Пектини ПМ-ДЭБ; (В) Пектини БМ-ДЭП

Омӯзиши таъсири сохтории пектин бо истифода аз секвенирониигени 16S рКРН

Сарфи назар аз набудани тағйироти возеҳ дар сохтори умумии анҷуман тибқи маълумоти PCoA, илова намудани пектинҳо ба гурӯҳҳои алоҳидаи таксономӣ таъсир расонд. Дар донори 1 дар давраи коркард тағйироти назаррас муайян карда нашуданд, аммо баъд аз қатъ намудани пектини ПМ-ДЭБ коҳишёбии *Clostridia* ва зиёдшавии *Bacteroidia* мушоҳида гардид.

Дар донори 2 анҷумани микробӣ ба ҳар ду намуди пектин вокуниш нишон дод. Пектини ПМ-ДЭБ шумораи нисбии *Fusobacteriia*-ро зиёд намуд, дар ҳоле ки пектини БМ-ДЭП бо коҳишёбии *Bacteroidia* ва зиёдшавии *γ-Proteobacteria, Clostridia, Fusobacteriia* ва *β-Proteobacteria* ҳамроҳ буд. Ин маълумот хусусияти вобаста ба донор ҷавоби микробиота ба пектинҳои дорои сохтори гуногунро тасдиқ менамоянд (расми 13).

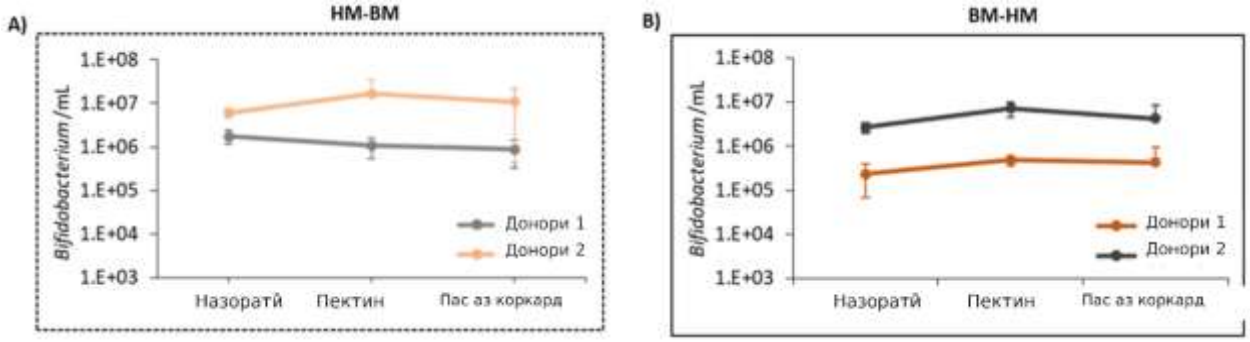
Барои арзёбии муфассалтари ҷавоби микробиота таҳлили тағйирот дар сатҳи ҷинс гузаронида шуд. Зери таъсири пектини ПМ-ДЭБ шаш таксон ба таври оморӣ назаррас тағйир ёфтанд ва хусусияти ҷавоб аз донор вобаста буд. Дар донори 1 шумораи нисбии *Acidaminococcus ва Paraprevotella* коҳиш ёфта, шумораи *Pseudoramibacter* зиёд гардид. Дар донори 2 шумораи *Alistipes* кам шуда, вале *Oscillospira ва Fusobacterium* зиёд шуданд. Ин нишон медиҳад, ки пектини ПМ-ДЭБ асосан ба ҷинсҳои алоҳидаи микробиота таъсир мерасонад, на ба сохтори умумии анҷуман.



Расми 13. - Харитаи гармӣ, ки фаровонии нисбии таксонҳоро дар сатҳи синфҳо барои таксонҳое, ки ҳадди ақал дар як намуна зиёда аз 0,01% фаровонӣ доранд, инъикос менамояд. Тағйироти назаррас дар расм бо рамзи ситорача (*) ишора шудаанд. (А) Пектини ПМ-ДЭБ. (В) Пектини БМ-ДЭП

Илова намудани пектини БМ-ДЭП нисбат ба пектини ПМ-ДЭБ дар сатҳи ҷинс тағйироти равшантарро ба вуҷуд овард. Дар ҳар ду донор зиёдшавии намояндагони оилаи *Lachnospiraceae* мушоҳида гардид, аммо ҷинсҳои мушаххас фарқ мекарданд. Дар донори 1 тағйирот асосан бо *Blautia, Clostridium* ва ҷинси номуайяни *Lachnospiraceae* вобаста буданд, дар ҳоле ки дар донори 2 бо *Blautia, Coprococcus ва Ruminococcus*.

Қисме аз тағйирот хусусияти вобаста ба донор доштанд. Дар донори 2 иловатан шумораи нисбии *Alistipes, Sutterella* ва *Fusobacterium* зиёд шуда, дар айни замон *Bacteroides* коҳиш ёфт. Азбаски ҷинси *Bifidobacterium* ҳангоми секвенирониии 16S рКРН бо праймерҳои V1–V2 суст муайян мешуд, сатҳи он ба таври иловагӣ бо усули qPCR арзёбӣ гардид. Тағироти аз ҷиҳати оморӣ назарраси *Bifidobacterium* ҳангоми таъсири ҳар ду намуди пектин муайян карда нашуданд (расми 14).



Расми 14. - Сатҳҳои *Bifidobacterium*, ки бо истифода аз таҳлили qPCR муайян карда шудаанд. (А) пектини ПМ-ДЭБ; (В) пектини БМ-ДЭП

Таъсири пектинҳо ба метаболитҳои микробиота

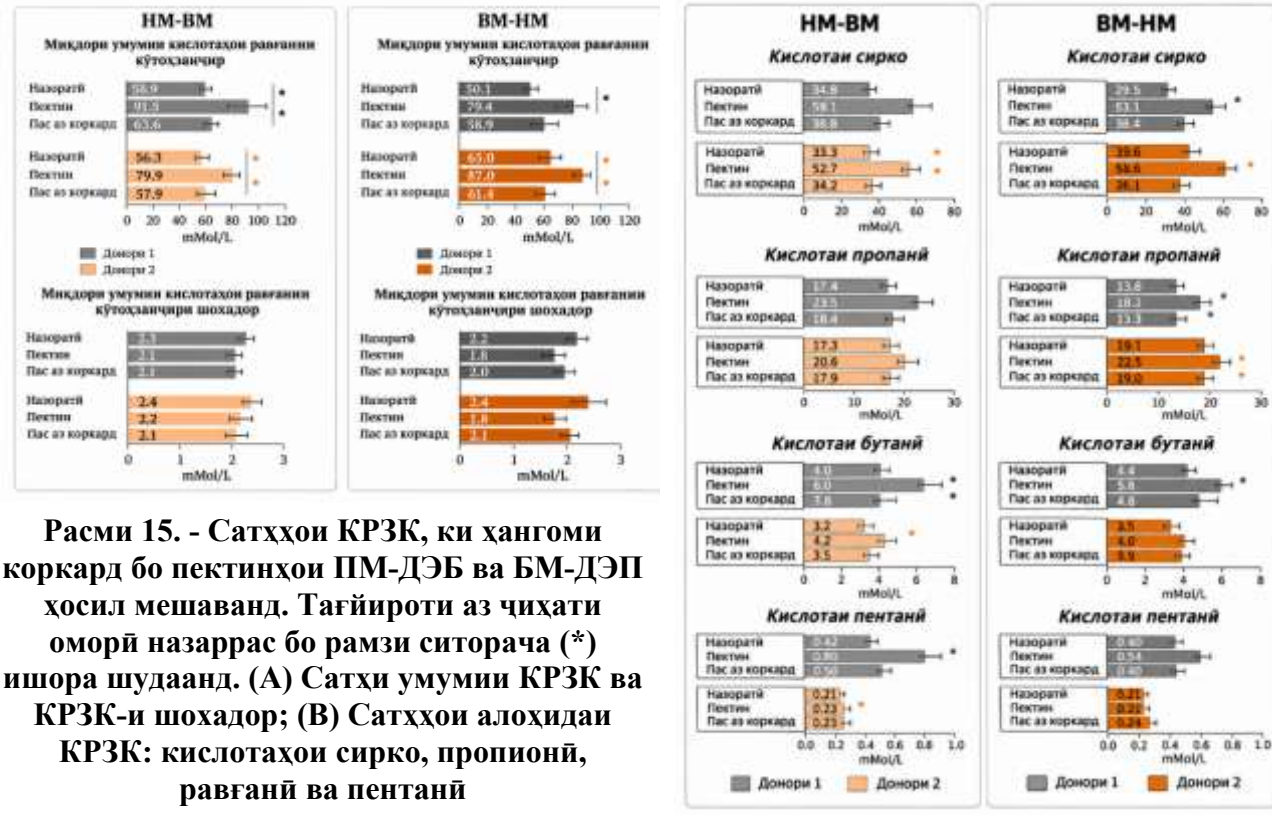
Фаъолияти метаболитикии микробиотаи рӯда аз рӯйи миқдори кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ (КРЗК), ки ҳангоми ферментатсияи полисахаридҳои растанӣ, олигосахаридҳо ва крахмали резистентӣ ҳосил мешаванд, арзёбӣ карда шуд. Кислотаҳои асосии КРЗК кислотаҳои сирко, пропионӣ ва равғанӣ буданд, дар ҳоле ки КРЗК-и шохадор асосан ферментатсияи аминокислотаҳо, сафедаҳо ва пептидҳоро инъикос менамуданд. Таъсири пектинҳо ба профили КРЗК бо

усули ХГ-МС дар давраи назоратӣ, ҳангоми илова намудани пектин ва баъд аз қатъ гардидани он муайян карда шуд (расми 15).

Коркарди микробиотаи рӯда бо пектинҳои ПМ-ДЭБ ва БМ-ДЭП бо зиёдшавии истеҳсоли умумии КРЗК дар ҳар ду донор ҳамроҳ буд. Барои ПМ-ДЭБ ва БМ-ДЭП баландшавии миёнаи сатҳи КРЗК мутаносибан 1,49 ва 1,46 маротибаро ташкил дод. Саҳми асосӣ дар ин зиёдшавӣ ба кислотаи сирко тааллуқ дошт, ки консентратсияи он ба ҳисоби миёна 1,64 маротиба меафзуд. Ҳангоми таъсири пектини ПМ-ДЭБ инчунин баландшавии сатҳи кислотаи равғанӣ мушоҳида гардид.

Тағйироти сохтори анҷумани микробӣ ҳам аз хусусиятҳои пектин ва ҳам аз таркиби ибтидоии микробиотаи донор вобаста буданд. Пектини ПМ-ДЭБ асосан тағйироти вобаста ба донорро дар ҷинсҳои алоҳида ба вуҷуд меовард, дар ҳоле ки пектини БМ-ДЭП бо зиёдшавии назарраси намояндагони оилаи *Lachnospiraceae* ҳамроҳ буд. Таъсири аз ҷиҳати оморӣ назарраси ҳар ду намуди пектин ба сатҳи *Bifidobacterium* бо усули qPCR муайян карда нашуд. Натиҷаҳои бадастомада нишон медиҳанд, ки массаи молекулавӣ ва дараҷаи этерификатсияи пектин хусусиятҳои таъсири мутақобилаи онро бо микробиотаи рӯда муайян намуда, ба профили КРЗК-и ҳосилшаванда таъсир расонидаанд.

Нишон дода шуд, ки пектини ПМ-ДЭБ истеҳсоли ҳам кислотаи сирко ва ҳам кислотаи равғаниро барангехт, дар ҳоле ки пектини БМ-ДЭП асосан сатҳи кислотаи сиркоро зиёд намуд. Ин дурнамои истифодаи пектинҳои дорои сохтори гуногунро ҳамчун ҷузъҳои пребиотикӣ ва танзимкунандагони фаъолияти метаболитикии микробиотаи рӯда тасдиқ мекунад.



Расми 15. - Сатҳҳои КРЗК, ки ҳангоми коркард бо пектинҳои ПМ-ДЭБ ва БМ-ДЭП ҳосил мешаванд. Тағйироти аз ҷиҳати оморӣ назаррас бо рамзи ситорача (*) ишора шудаанд. (А) Сатҳи умумии КРЗК ва КРЗК-и шохадор; (В) Сатҳҳои алоҳидаи КРЗК: кислотаҳои сирко, пропионӣ, равғанӣ ва пентанӣ

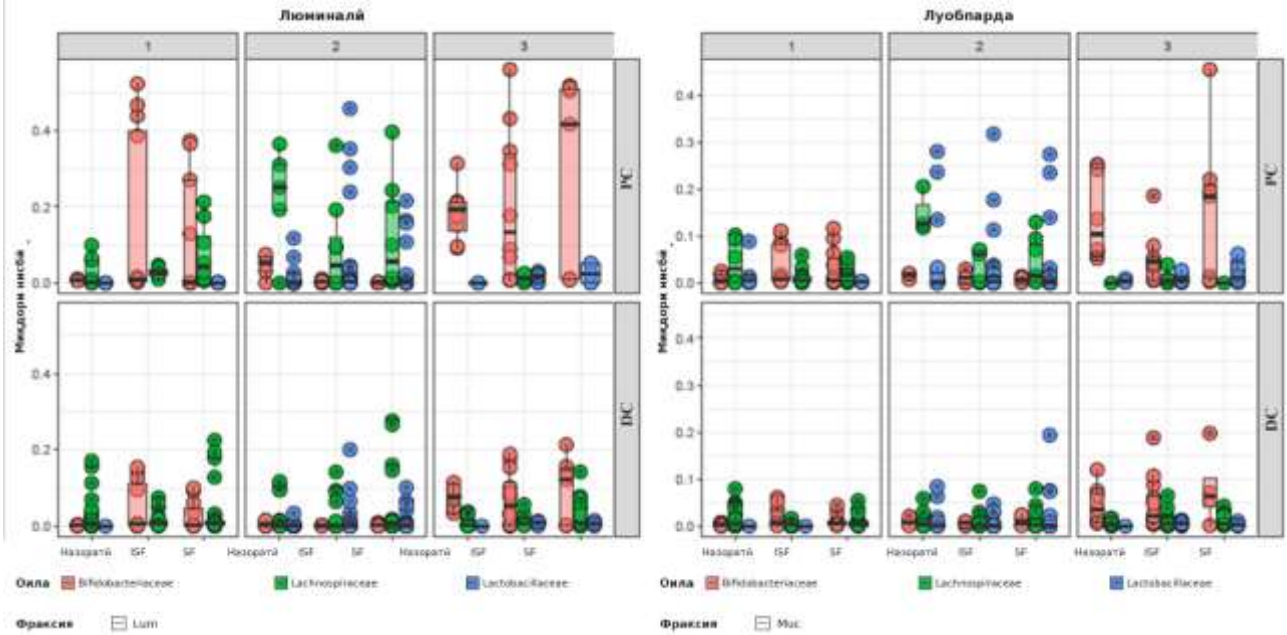
Таъсири илова намудани биополимерҳои ҳалшаванда ва ҳалнашаванда ба миқдори бактерияҳои истеҳсолкунандаи кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ дар микробиотаи рӯда

Таъсири фраксияҳои ҳалшаванда (SF) ва ҳалнашавандаи (ISF) биополимерҳо ба микробиотаи рӯда дар модели SHIME бо истифода аз намунаҳои се донор омӯхта шуд. Тағйирот дар бахшҳои проксималӣ (PC) ва дисталии (DC) рӯдаи ғафс, инчунин дар анҷумани люминалӣ ва анҷумани луобпарда арзёбӣ гардиданд.

Таҳлили алфа-гуногунӣ нишон дод, ки ҷавоби микробиота аз донор, бахши рӯда ва навъи анҷуман вобаста мебошад. Дар донорҳои 1 ва 3 илова намудани ISF асосан гуногуниро зиёд мекард, махсусан дар бахши PC, дар ҳоле ки дар донори 2 тағйироти назаррас муайян карда нашуданд. Дар бахши DC илова намудани SF бо коҳиш ёфтани гуногунӣ ҳамроҳ буд.

Бета-гуногунӣ аз рӯйи UniFrac-и вазнкардашуда нишон дод, ки саҳми асосиро ба фарқиятҳои анҷумани микробӣ омили донорӣ, на навъи илова, мегузорад. Таҳлили PERMANOVA тасдиқ намуд, ки SF ва ISF нисбат ба назорат тағироти назаррас ба вуҷуд меоварданд, аммо байни худ ин иловаҳо фарқияти ҷиддӣ надоштанд.

Таҳлили таксономӣ ҷавоби вобаста ба донорро ба SF ва ISF муайян намуд. Дар сатҳи оилаҳо тағйироти бештар ба *Bifidobacteriaceae, Lachnospiraceae* ва *Lactobacillaceae* дахл доштанд, ки дар ферментатсияи наҳҳо ва ҳосилшавии КРЗК иштирок мекунанд. Дар донори 1 SF ва ISF намояндагии *Bifidobacteriaceae*-ро зиёд намуданд, дар донори 2 он дар заминаи сатҳи ибтидоии паст коҳиш ёфт, ва дар донори 3 ISF шумораи *Lactobacillaceae* ва *Lachnospiraceae*-ро дар бахши PC зиёд кард (Расми 16).



Расми 16. - Шумораи нисбии оилаҳои асосии бактериявӣ ҳангоми таъсири SF ва ISF

Дар сатҳи ҷинсҳо тағйироти бештар ба *Bifidobacterium, Faecalibacterium, Fusobacterium, Blautia, Clostridium* ва *Roseburia* дахл доштанд. Умуман, ҷавоби микробиота ба SF ва ISF аз таркиби ибтидоии анҷумани микробӣ, таксони мушаххас ва бахши рӯда муайян мешавад.

Тағйироти байниинфиродӣ дар таҳлили кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ

Тағйироти функсионалии микробиота бо усули ХГ–МС аз рӯйи миқдори КРЗК арзёбӣ карда шуданд. Миқдори умумии КРЗК дар бахши дисталии рӯдаи ғафс нисбат ба бахши проксималӣ новобаста аз навъи илова зиёд шудаанд. Вокуниши донорҳои 2 ва 3 монанд буд, дар ҳоле ки дар донори 1 профили нисбатан инфиродии ҷавоб мушоҳида гардид (ҷадвали 4).

Тағйироти профили КРЗК зери таъсири SF ва ISF хусусияти возеҳи вобаста ба донорро доштанд. Дар донори 1 ҳар ду илова сатҳи кислотаи сиркоро зиёд карданд, дар ҳоле ки дар донорҳои 2 ва 3 он коҳиш ёфт. Консентратсияи кислотаи пропионӣ ҳангоми илова намудани ISF дар донорҳои 1 ва 3 кам шуда, вале дар донори 2 зиёд гардид.

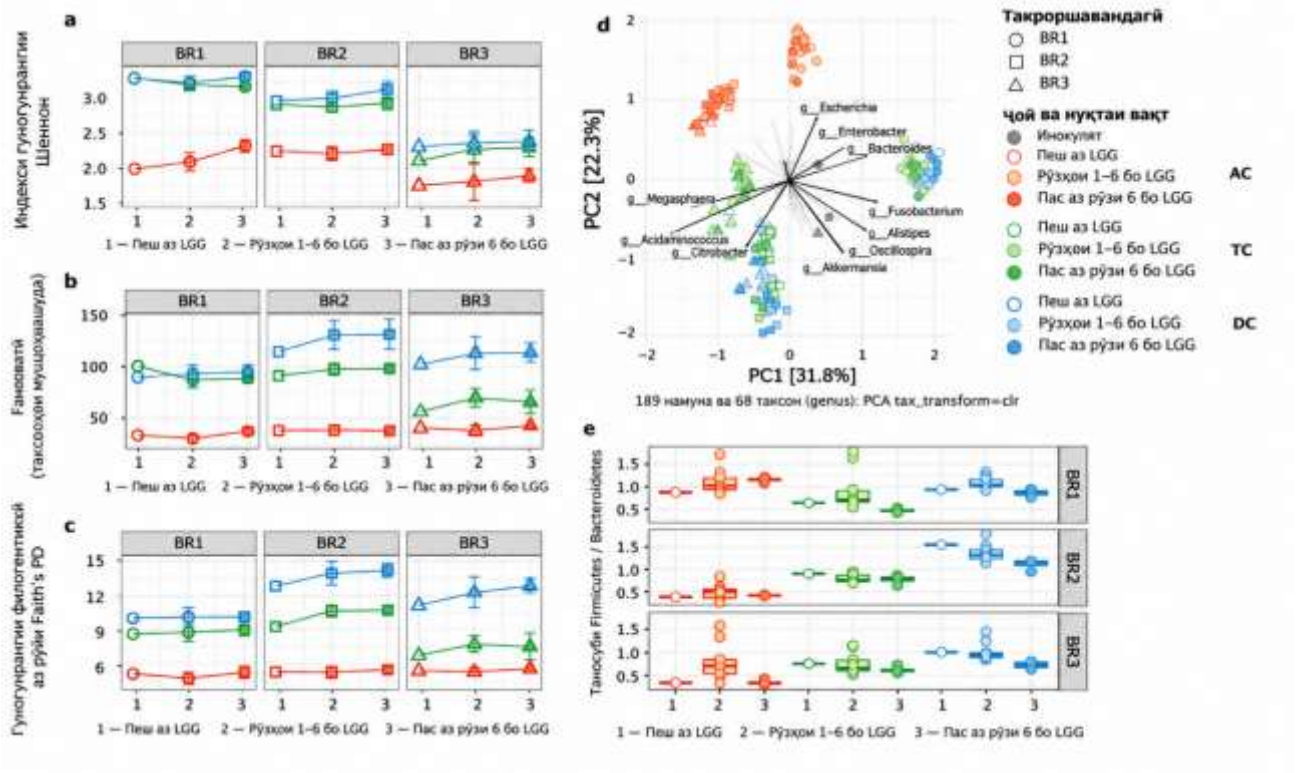
Ҷадвали 4. - Коррелятсияи консентратсияи кислотаҳои равғанӣ байни намунаҳо. Аҳамияти оморӣ бо истифода аз усули муқоисаҳои сершумори Тюки бо ҳисоб намудани фосилаи эътимодии 95 % ва қимати ислоҳшудаи p муайян карда шуд (* q < 0,05, ** q < 0,005, * q < 0,0005).**

		Фазаи люминалӣ					
		Донор 1		Донор 2		Донор 3	
		PC	DC	PC	DC	PC	DC
Миқдори умумии КРЗМ	ISF нисбат ба назоратӣ	***	***	***	***	***	***
	SF нисбат ба назоратӣ	***	***	***	***	***	***
	ISF нисбат ба SF		***		***		***
Миқдори умумии КРЗМШ	ISF нисбат ба назоратӣ	***	***	***	***	***	***
	SF нисбат ба назоратӣ	***	***	***	***	***	***
	ISF нисбат ба SF				***		***
Кислотаи сирко	ISF нисбат ба назоратӣ	***	*			**	***
	SF нисбат ба назоратӣ	***			***	***	**
	ISF нисбат ба SF						**
Кислотаи пропанӣ	ISF нисбат ба назоратӣ	***		***			*
	SF нисбат ба назоратӣ	***	***	***	*	*	***
	ISF нисбат ба SF	***	***			**	***
Кислотаи 2-метилпропанӣ	ISF нисбат ба назоратӣ		***			***	*
	SF нисбат ба назоратӣ		***		*		
	ISF нисбат ба SF		*	*	*	***	
Кислотаи бутанӣ	ISF нисбат ба назоратӣ		**			***	
	SF нисбат ба назоратӣ	***					
	ISF нисбат ба SF	**					
Кислотаи 3-метилбутанӣ	ISF нисбат ба назоратӣ		***			*	
	SF нисбат ба назоратӣ		***	*			
	ISF нисбат ба SF			***	**	**	
Кислотаи 2-метилбутанӣ	ISF нисбат ба назоратӣ		***			**	
	SF нисбат ба назоратӣ		***				
	ISF нисбат ба SF			*		*	
Кислотаи пентанӣ	ISF нисбат ба назоратӣ						*
	SF нисбат ба назоратӣ						***
	ISF нисбат ба SF				*		***

Ҳар ду фраксия миқдори кислотаи равғаниро дар донорҳои 2 ва 3 дар бахши PC зиёд намуданд, дар ҳоле ки дар донори 1 SF сатҳи онро коҳиш дод. Тағйироти кислотаи пентанӣ ва КРЗК-и шохадор низ аз донор, бахши рӯда ва навъи илова вобаста буданд. Умуман, маълумоти КРЗК тасдиқ менамоянд, ки ҷавоби метаболитикии микробиота ба SF ва ISF аз таркиби ибтидоии анҷумани микробӣ муайян мегардад.

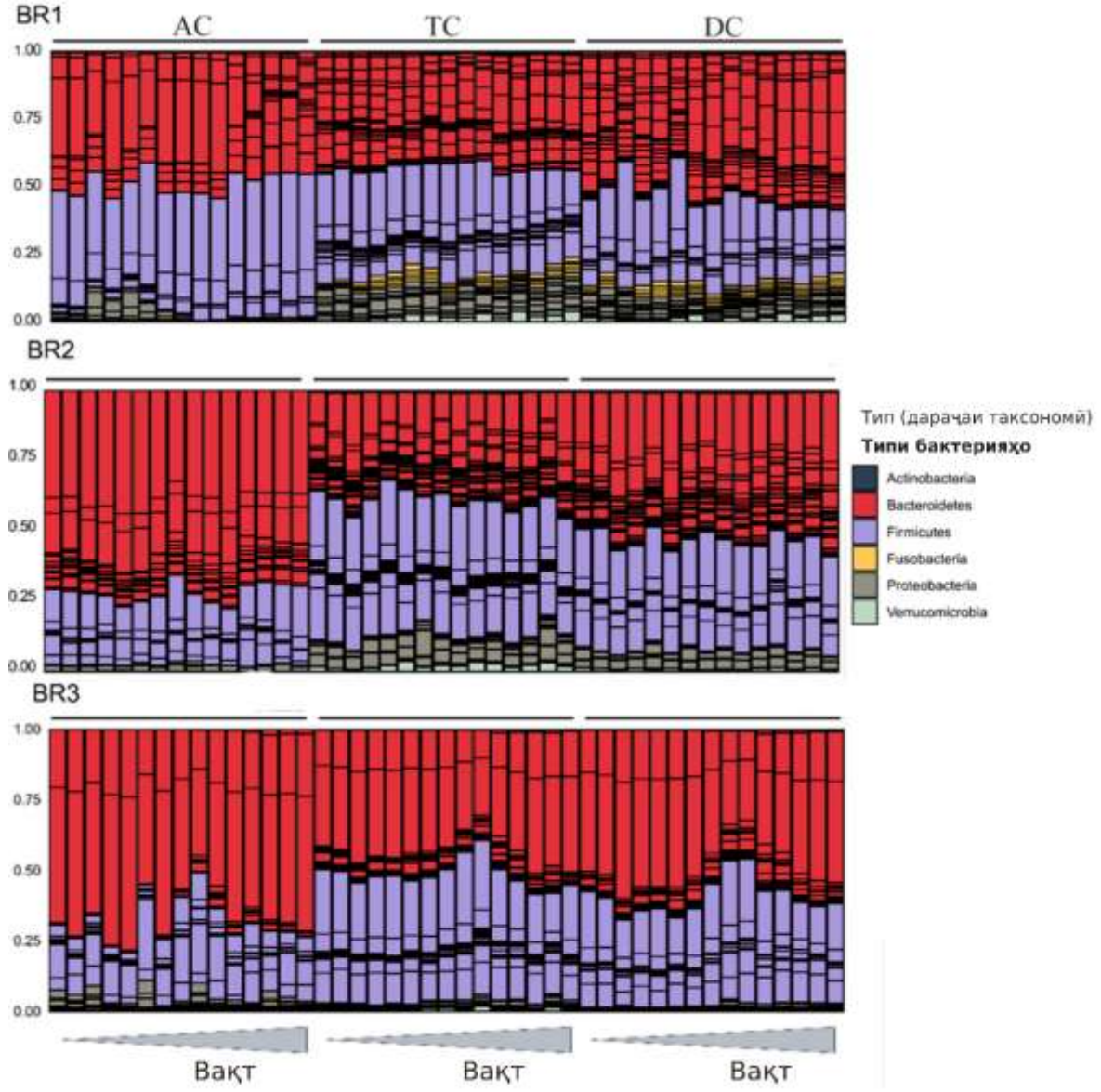
Устувории штамми пробиотикии *Lacticaseibacillus rhamnosus GG (LGG)* дар модели *in vitro*-и микробиоми рӯда

Зиндамонӣ ва афзоиши LGG дар модели бисёркамерагии SHIME, ки қисмҳои болораванда, кӯндаланг ва поёнравандаи рӯдаи ғафсро моделсозӣ менамояд, омӯхта шуданд. Таҷриба бо истифода аз инокулятҳои фекалӣ аз се донори мустақил гузаронида шуд.Пас аз ворид намудани LGG-и экзогенӣ дар ҳамаи моделҳо коҳиши шадиди шумораи он дар давоми 7–10 давраи ғизодиҳӣ мушоҳида гардид, сипас коҳишёбии сусттар то анҷоми таҷриба идома ёфт. Бо вуҷуди ин, дар анҷоми таҷриба миқдори LGG дар бахшҳои AC, TC ва DC нисбат ба сатҳи ибтидоӣ 7–540 маротиба баландтар боқӣ монд (расми 17). Зиндамонии LGG аз донор ва бахши рӯдаи ғафс вобаста буд.



Расми 17. – Гуногунии анҷумани микробӣ ва таносуби *Firmicutes/Bacteroidetes*. (a) Индекси гуногунии Шеннон, (b) ғановати намудӣ (ASV-ҳои мушоҳидашуда), (c) масофаи филогенетикии Фейт. Қисмҳои рӯдаи ғафс бо рангҳо нишон дода шудаанд: сурх – AC, сабз – TC, кабуд – DC. (d) PCA-биплоти миқдори умумии ASV, ки намунаҳо (нуқтаҳо) ва таксонҳо (тирҳо)-ро нишон медиҳад. Нуқтаҳо аз рӯйи бахш ва вақт нисбат ба илова намудани LGG рангбандӣ шудаанд, дар ҳоле ки шаклҳо биорепликатҳоро ифода мекунанд. Даҳ таксоне, ки бештар ба тақсимшавии намунаҳо таъсир мерасонанд, бо тирҳо нишон дода шудаанд, ки дарозии онҳо ба сарбории PCA (дараҷаи алоқамандӣ) мувофиқат мекунад. Намунаҳои TC ва DC нисбат ба намунаи AC бештар ба ҳамдигар монанд буданд. Намунаҳои BR2 ва BR3 нисбат ба намунаҳои BR1 ба

ҳамдигар монандии бештар доштанд. (е) Боксплотҳо, ки таносуби *Firmicutes/Bacteroidetes*-ро барои намунаҳо нишон медиҳанд. Қуттиҳо квартилҳои якум ва сеюм ва инчунин медианаро инъикос менамоянд. Қиматҳои инфиродии таносуб барои намунаҳо бо нуқтаҳо нишон дода шудаанд.



Расми 18. - Барграфи шумораи нисбии типҳо. Дар он шумораи нисбии шаш типи асосӣ дар намунаҳои системаи SHIME нишон дода шудааст. Типҳо бо рангҳои гуногун ифода ёфтаанд ва сутунҳо дар дохили ҳар як ранг таксонҳои алоҳидаро дар доираи ҳамин тип нишон медиҳанд. Меҳвари X вақтро аз лаҳзаи инокулятсияи штамми LGG нишон медиҳад.

Муайян карда шуд, ки ворид намудани LGG ба алфа-гуногунии микробиотаи ибтидоӣ таъсири минималӣ ва кӯтоҳмуддат мерасонад. Дар аксари бахшҳо тағйироти назаррас дар индекси Шеннон, ғановати намудӣ ва Faith’s PD муайян карда нашуданд. Ҳамзамон, гуногунӣ дар сегментҳои TC ва DC нисбат ба бахши AC баландтар буд, ки ба нигоҳдории фарқиятҳои минтақавии анҷумани микробиро дар модели SHIME ишора мекунад (расми 17).

Таҳлили бета-гуногунӣ нишон дод, ки сохтори умумии анҷумани микробӣ асосан аз ҷониби биорепликат ва бахши рӯдаи ғафс муайян мешавад, на аз вақти ворид намудани LGG (расми 17). Анҷумани бахши AC бештар ба ҳамдигар

монанд буданд, дар ҳоле ки сегментҳои TC ва DC фарқиятҳои бештар ифодаёфтаи байниинфиродӣ нишон медоданд. Ҳамзамон, кластеризатсияи намунаҳо вобаста ба вақт нисбат ба илова намудани LGG муайян карда нашуд, ки ин аз нигоҳдории устувории умумии анҷумани микробӣ дар давоми таҷриба шаҳодат медиҳад.

Дар сатҳи типҳои бактериявӣ дар ҳамаи анҷуман *Firmicutes* ва *Bacteroidetes* бартарӣ доштанд, дар ҳоле ки *Proteobacteria, Fusobacteria, Actinobacteria* ва *Verrucomicrobia* ба миқдори камтар намояндагӣ мекарданд (расми 18). Дар самти дисталӣ коҳишёбии ҳиссаи *Bacteroidetes* ва зиёдшавии мувофиқи таносуби *Firmicutes/Bacteroidetes* мушоҳида гардид. Тағйироти назарраси вақтӣ дар ин таносуб баъд аз ворид намудани LGG танҳо дар BR3 муайян карда шуданд, ки метавонанд ба бозсозии кӯтоҳмуддати таксономии хоси микробиота ишора намоянд.

Таъсири илова намудани штамми LGG ба синтези кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ

Таъсири LGG ба истеҳсоли КРЗК дар се биорепликат арзёбӣ карда шуд (расми 19 a ва b). Пеш аз ворид намудани LGG консентратсияи КРЗК дар самти аз сегментҳои AC ба TC ва DC зиёд буд. Пас аз илова намудани LGG тағйироти назарраси устувор дар сатҳи КРЗК муайян карда нашуданд, гарчанде ки дар баъзе намунаҳо ларзишҳои кӯтоҳмуддат мушоҳида гардиданд.

Аз 324 муқоисаи ҷуфтӣ танҳо 14-то фарқиятҳои аз ҷиҳати оморӣ назаррасро нишон доданд, ки ин ба таъсири суст ва муваққатии LGG ба профили КРЗК ишора мекунад. Таҳлили коррелятсионӣ робитаи мусбатро байни кислотаи равғанӣ ва баъзе таксонҳо, аз ҷумла *Acidaminococcus, Sutterella, Bacteroides* ва *Ruminococcus* нишон дод. Умуман, илова намудани LGG устуворii метаболитикии анҷумани бунёдёфтаи микробиро вайрон накард.

Маълумоти бадастомада нишон медиҳад, ки таъсири LGG ба микробиота хусусияти мӯътадил ва вобаста ба анҷуман дорад, ки эҳтимолан бо ғизогирии метаболитикии байниҳамдигарӣ алоқаманд мебошад. Ворид намудани LGG тағйироти назаррасро дар сохтори умумии анҷумани микробӣ ба вуҷуд наовард ва танҳо ба таносуби *Firmicutes/Bacteroidetes* таъсири ночиз расонд.

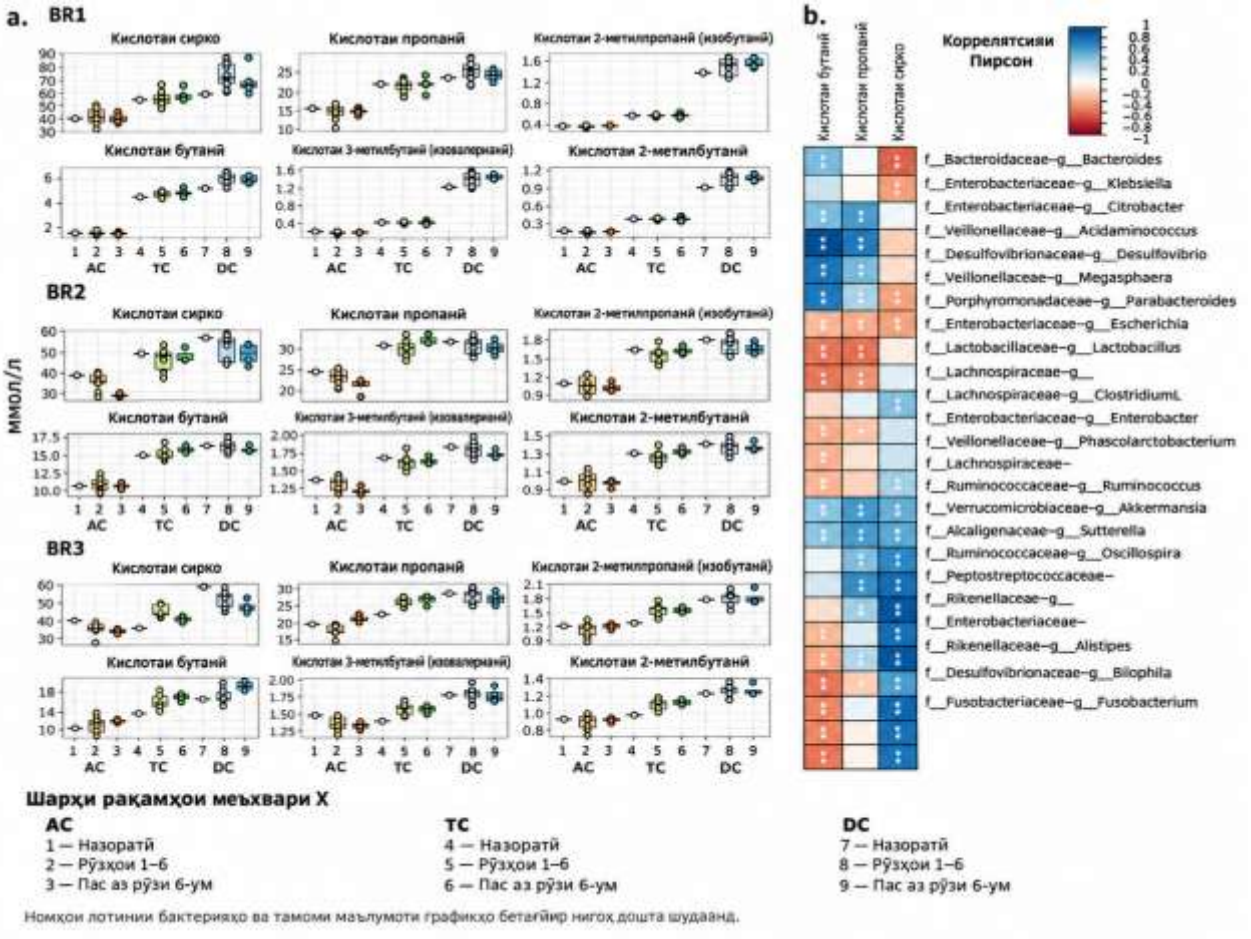
Нишон дода шуд, ки модели SHIME метавонад барои арзёбии устуворӣ ва рафтори штаммҳои пробиотикӣ дар шароити *in vitro* истифода шавад. Зиндамонӣ ва нигоҳдории LGG аз микробиотаи донорӣ вобаста буд, аммо штамм дар ҳамаи ҳолатҳои таҳқиқшуда дар система на камтар аз 10 рӯз нигоҳ дошта шуд.

Секвенирониии метагеномӣ бо усули шотган

Платформаи SHIME барои арзёбии таъсири LGG ба таркиб ва потенсиали функсионалии анҷумани микробии рӯда истифода гардид (расми 20). Дар давоми 9 рӯз пас аз ворид намудани LGG аз фазаҳои люминалӣ ва луобпардавии бахшҳои AC, TC ва DC дар се биорепликат намунаҳо гирифта шуданд.

Барои 18 намунаи люминалии ҳар як биорепликат секвенирониии шотган-метагеномӣ гузаронида шуд, ки имконият дод таркиби таксономӣ ва потенсиали функсионалии микробиота арзёбӣ карда шавад. Таҳлили таксономӣ бо истифода аз MetaPhlAn3 нишон дод, ки анҷумани сегментҳои TC ва DC байни худ бештар

монанд буда, аз бахши AC фарқ мекарданд. Ворид намудани LGG ин қонунияти минтақавиро тағйир надод. Ҳамзамон, таркиби микробиота хусусияти хоси донориро нигоҳ дошт, ки бо фарқиятҳо дар намояндагии таксонҳои алоҳида, аз ҷумла *Klebsiella spp*., тасдиқ гардид.

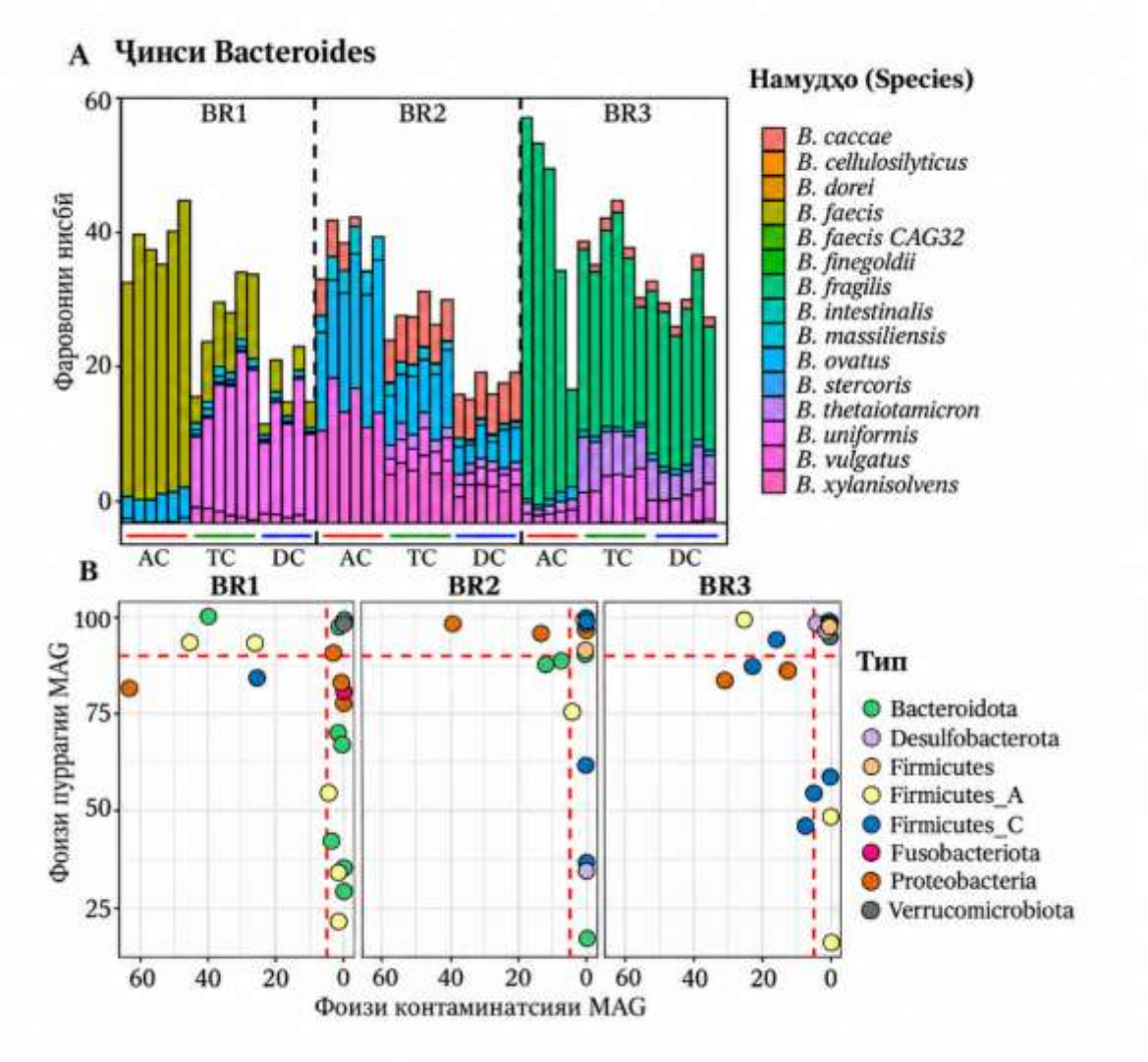


Расми 19. - Таҳлили кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ. Консентратсияҳои КРЗК-и асосӣ бо таксонҳои муайян коррелятсия мекунанд. (a) Консентратсияҳои КРЗК умуман дар самти системаи реакторҳо зиёд мешаванд, аммо баъд аз илова намудани штамми LGG дар реакторҳои алоҳида на ҳамеша зиёд мегарданд. Диаграммаҳои қуттӣ ва «мӯйлабдор» фосилаи байни квартилӣ (IQR) ва медианаро нишон медиҳанд, намунаҳои алоҳида бо нуқтаҳо ифода шудаанд. (b) Коррелятсияи Пирсон байни шумораи нисбии таксонҳо (ASVs, ҷамъбастшуда дар сатҳи ҷинс) ва се КРЗК-и асосӣ. Коррелятсияҳои назаррас бо рамзи ситорача ишора шудаанд
***p < 0,05;** p < 0,01; *** p < 0,001**

Дар сатҳи намудҳо низ фарқиятҳои вобаста ба донор муайян карда шуданд. Ҷинси *Bacteroides* дар бахши AC нисбат ба сегментҳои TC ва DC бештар намояндагӣ дошт, аммо таркиби намудии он байни биорепликатҳо ба таври назаррас фарқ кард. Дар BR1 таркиби *Bacteroides* дар самти аз AC ба сегментҳои TC ва DC ба таври намоён тағйир ёфт (расми 20).

Дар асоси маълумоти метагеномӣ барои ҳар як биорепликат ко-ҷамъоварӣ ва биннинги намунаҳо гузаронида шуд. Дар натиҷа 27 геноми аз метагеном ҷамъоваришуда (MAG) бо пуррагии миёна ва баланд ба даст оварда шуданд, ки аз онҳо 21-то ба меъёрҳои сифати баланд ҷавобгӯ буданд: пуррагӣ зиёда аз 90% ва олудашавӣ камтар аз 5% (расми 20б). MAG-ҳои ҳосилшуда таксонҳои

сершумореро намояндагӣ мекарданд, ки тибқи маълумоти секвенирониии 16S рКРН ва шотган-метагеномӣ муайян гардида буданд.

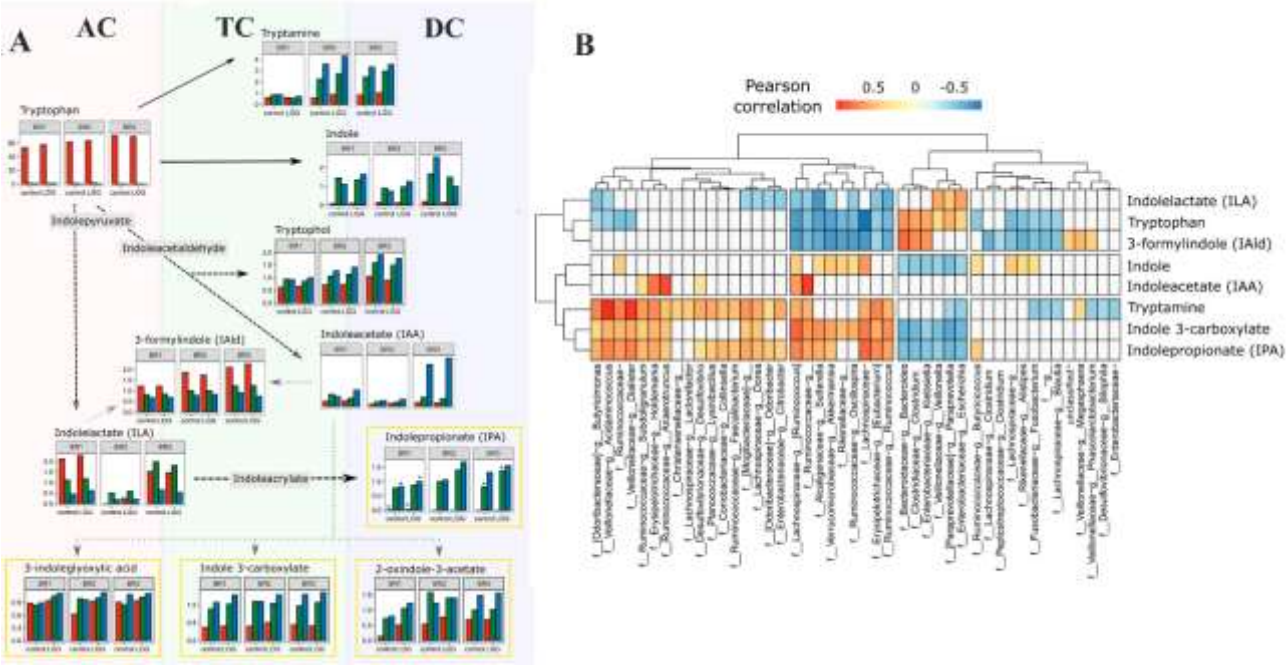


Расми 20. - Гуногунии намудӣ дар доираи ҷинси *Bacteroides*. (А) Зермаҷмӯи маълумоти метагеномӣ оид ба шумораи нисбӣ. (В) Геномҳои аз метагеном ҷамъоваришуда (MAGs), ки аз ко-ҷамъоварии маълумоти метагеномӣ ба даст оварда шудаанд. Доираҳо блокҳои алоҳидаи геномиро ифода мекунанд ва пуррагии эҳтимолӣ ва дараҷаи олудашавиро нишон медиҳанд; ҳудудҳои MAG-ҳои баландсифат бо хатҳои нуқтадори сурх ишора шудаанд.

Муносибати байни микробиом ва метаболом

Аз маъруфтарин метаболитҳои микробиотаи рӯда кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ мебошанд. Таъсири штамми LGG ба КРЗК ва нақши онҳо дар табдилоти энергетикӣ ва интиқоли сигналҳо қаблан баррасӣ шуда буданд. Илова бар КРЗК, дар ин таҳқиқот 132 метаболит ва 20 роҳи метаболитикӣ муайян карда шуданд, ки вобаста ба коркард, бо дарназардошти биорепликатҳо ва минтақаи рӯдаи ғафс, ба таври назаррас фарқ карданд. Гарчанде, ки ин миқдор (132 метаболит) 24%-и ҳамаи метаболитҳои аннотатсияшударо ташкил медиҳад, фарқиятҳои умумии ночиз байни намунаҳо, ки тавассути профилҳои ҷамъбастшудаи метаболитҳо тавсиф шудаанд, таъсири 76%-и боқимондаи метаболитҳои аннотатсияшударо низ дар бар мегиранд, ки вобаста ба коркард ба таври назаррас фарқ намекарданд.

Дар байни ин метаболитҳо якчанд ҳосилаҳои индол муайян карда шуданд, ки қисми роҳи метаболизми триптофан (Trp) мебошанд, инчунин кислотаи 4-гидроксифенилатсетат аз роҳи метаболизми тирозин (Tyr). Монанди кислотаҳои талха, ин аминокислотаҳои ароматикӣ ва ҳосилаҳои онҳо қонуниятҳои махсуси вобаста ба минтақаи рӯдаи ғафсро нишон доданд, ки асосан бо роҳҳои катаболикӣ мувофиқат карданд.



Расми 21. - Катаболизми триптофан дар тӯли градиенти рӯдаи ғафс. (А) Профили шиддатнокии метаболитҳо барои катаболизми триптофан метаболитҳои хоси минтақаҳоро нишон дода, локализатсияи эҳтимолии табдилотро пешниҳод менамоянд. Тирҳои пайваста табдилоти мустақимро нишон медиҳанд, тирҳои нуқтадор бошад табдилоти бисёрмарҳилагиро, ки дар онҳо метаболитҳои мобайнӣ дар маълумоти метаболитӣ сабт нашудаанд. Номҳои чунин метаболитҳои мобайнӣ дар росткунҷаҳои хокистарӣ оварда шудаанд. Тирҳои нуқтадор якчанд роҳҳои эҳтимолиро нишон медиҳанд. Росткунҷаҳои зард метаболитҳоеро иҳота мекунанд, ки вобаста ба коркарди LGG ба таври назаррас фарқ мекунанд (BH p-и ислоҳшуда <0,05). Ситорачаҳо минтақаҳо/биорепликатҳоро нишон медиҳанд, ки барои индолпропионат дар онҳо фарқиятҳои назаррас мушоҳида шудаанд. Тирҳо роҳҳои метаболитикиро нишон медиҳанд, на ҳаракат дар байни реакторҳо. (В) Коррелятсияҳо байни таксонҳо дар сатҳи ҷинс (профилҳои 16S рКРН) ва метаболитҳо дар роҳи метаболизми триптофан. Росткунҷаҳои ранга коррелятсияи назарраси Пирсонро нишон медиҳанд (BH p-и ислоҳшуда < 0,05), ки дар он ранг самт ва дараҷаи коррелятсияро ифода мекунад. Росткунҷаҳои беранг набудани коррелятсияро нишон медиҳанд.

Аминокислотаҳои Trp ва то дараҷаи камтар фенилаланин (Phe) ва Tyr танҳо дар минтақаи АС ҳузур доштанд (расми 21А). Ин паҳншавии маҳдуд нишон медиҳад, ки ин аминокислотаҳо дар натиҷаи фаъолияти протеолитикии анҷумани микробӣ дар ин реакторҳо, ки ба сафедаҳои муҳити ғизоӣ таъсир мерасонанд, ҳосил шудаанд. Қариб пурра набудани ин аминокислотаҳо дар минтақаҳои дисталии рӯдаи ғафс аз он шаҳодат медиҳад, ки онҳо баъд аз озодшавӣ ва пеш аз расидан ба минтақаи ТС зуд метаболизм мешаванд.

Шиддатнокии Trp бо шумораи нисбии ASV-и як қатор таксонҳо, аз ҷумла *Bacteroides, Klebsiella, Veillonella, Clostridium, Paraprevotella* ва *Escherichia sp*.,

коррелятсияи назаррас нишон дод (расми 21В). Намояндагони ҷинси *Bacteroides* фаъолияти протеолитикӣ доранд, дар ҳоле ки намудҳои ҷинсҳои *Klebsiella* ва *Escherichia* ҳамчун истеҳсолкунандагони индол аз Trp маълуманд. Дар ҳамоҳангӣ амал намуда, ин таксонҳо метавонанд Trp-ро якҷоя истеҳсол ва истеъмол намоянд.

Таҳлили метаболизми аминокислотаҳои ароматикӣ нишон дод, ки метаболитҳои мобайнии триптофан, тирозин ва фенилаланин дар бахши АС пайдо шуда, дар сегментҳои ТС ва DC ҷамъ гардиданд, дар ҳоле ки маҳсулоти ниҳоӣ, аз ҷумла индол ва кислотаи индол-3-пропионӣ (IPA), асосан дар бахшҳои дисталии рӯдаи ғафс муайян шуданд (расми 21). Пас аз ворид намудани LGG сатҳи IPA ва дигар ҳосилаҳои пропионатии аминокислотаҳои ароматикӣ дар сегментҳои ТС ва DC зиёд гардид.

Таҳлили метагеномӣ ҳузури назарраси истеҳсолкунандагони маълуми IPA (*Clostridium sporogenes ва Peptostreptococcus anaerobius*)-ро муайян накард, аммо генҳои эҳтимолии fldABC/fldBC дар намояндагони *Enterocloster, Megasphaera* ва *Acidaminococcus* ошкор шуданд. Таҳлили коррелятсионӣ алоқаи истеҳсоли IPA-ро бо намояндагони оилаи *Lachnospiraceae* нишон дод, ки ба иштироки эҳтимолии таксонҳои қаблан тавсифнашуда дар синтези IPA ишора мекунад.

Натиҷаҳои бадастомада нишон медиҳанд, ки ворид намудани LGG метавонад ба ташаккули профили метаболитикӣ, ки бо истеҳсоли метаболитҳои аз ҷиҳати биологӣ фаъоли триптофан, аз ҷумла IPA бо хусусиятҳои зиддиилтиҳобӣ ва антиоксидантӣ алоқаманд аст, мусоидат намояд.

Тайёр намудани микросфераҳои ҳидроҷелии инкапсулатсияшуда бо маводи доруворӣ

Хусусиятҳои микросфераҳои ҳидроҷелии П/З дар асоси LM-APSh ва HM-APF дар ҷадвали 5 нишон дода шудаанд. Ҳосили микросфераҳо ҳангоми истифодаи пектини КМ баландтар буд - 86,15% нисбат ба 45,43% барои пектини БМ. Аммо дараҷаи боркунии пироксикам дар системаҳои асосёфта ба пектини БМ баландтар буд.

Ташаккули самараноктари ҳидроҷел бо пектини КМ ба дараҷаи пасти метоксилизатсия, массаи молекулавии хурдтар ва дастрасии бештари гурӯҳҳои карбоксилӣ вобаста мебошад, ки ба сшивкаи мустаҳками ионӣ бо Zn^{2+} мусоидат мекунад. Ин боиси ташаккули каркаси устувортари ҳидроҷелӣ мегардид, сарфи назар аз дараҷаи пасттари инкапсулатсияи пироксикам.

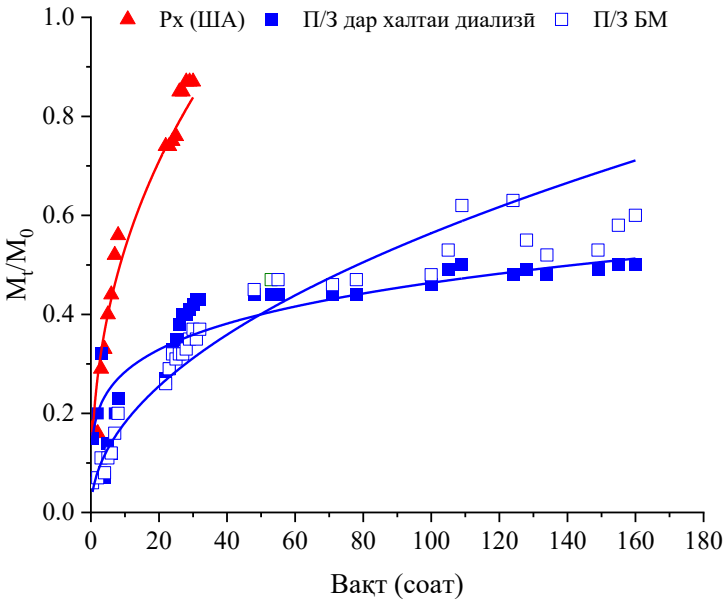
Ҷадвали 5. - Хусусиятҳои намунаҳои пектин ва П/З микросфераҳо (1,30)

Намуна	Тавсифи пектин			Ҳосилшавии ҳидроҷел, %	Рх дар ҳидроҷел, %	Дараҷаи варамкунӣ, %
	AGA, %	СЭ, %	Mw, KD			
HM-APSh	58,6	40,3	119,0	86,15	48,5±2,1	6,25
BM-APF	64,4	71,6	208,0	45,43	57,0±2,5	8,81

Омӯзиши фармакокинетикии озодшавии маводи доруворӣ бо усули *in vitro*

Барои пешгирӣ намудани талафи микросфераҳои ҳидроҷелии П/З ҳангоми гирифтани намунаҳо халтаҳои диализӣ истифода шуданд. Таҷрибаи назоратӣ бе монеаи диализӣ нишон дод, ки мембрана ба озодшавии пироксикам таъсири назаррас намерасонад.

Профилҳои озодшавии Рх аз микросфераҳои варамидаи П/З ва микросфераҳо дар халтаи диализӣ амалан мувофиқат мекарданд (расми 22), ки ин тасдиқ менамояд: кинетикаи озодшавӣ асосан аз хусусиятҳои худи микросфераҳо ва рафтори ҳидроҷел дар муҳити ҳалшавӣ вобаста мебошад. Коэффитсиенти тақсимшавии пироксикам байни муҳити беруна ва ҳаҷми дохилии халтаи диализӣ 0,95 ± 0,02-ро ташкил дод, ки набудани муқовимати назарраси мембрана ба интиқоли маводи доруиро тасдиқ намуд.



Расми 22. - Профилҳои суръати кумулятивии озодшавии Рх аз Рх ША, П/З ВМ ва П/З ВМ дар дохили халтаи диализӣ дар шароити *in vitro* (буфери фосфатӣ pH 6,4, ки дорои 0,1 мл пектиназа мебошад)

Барои шакли инкапсулатсиянашудаи пироксикам дар шакли анъанавӣ (Рх ША) марҳилаи тези ҳалшавӣ хос буд: тақрибан 90%-и дору дар давоми 24 соати аввал ба маҳлул мегузашт. Баръакси он, микросфераҳои ҳидроҷелии П/З озодшавии дарозмуддати пироксикамро дар давоми зиёда аз шаш шабонарӯз таъмин намуданд. Фарқиятҳои параметрҳои кинетикӣ ба таъсири сохтори ҳидроҷел, дараҷаи варамкунӣ ва таъсири мутақобилаи пектин-зеинӣ ба озодшавии маводи доруӣ ишора мекунанд (ҷадвали 6).

Ҷадвали 6. - Муодилаҳои озодшавии дору, ки аз қаҷхатҳои кинетикии расми дар шароити *in vitro* ба даст оварда шудаанд

Намуна	Муодила	R^2	$k_H\ 10^2$, $ч^{1/2}$	n (экспонентаи хориҷшавӣ)
Рх ША	Mt/Mo = 0,1652√t	0,95	16,52	0,186
П/З БМ дар халтачаи диализӣ	Mt/Mo = 0,0595√t	0,96	5,95	0,335
П/З БМ	Mt/Mo = 0,0836Ln(t) + 0,0875	0,82	8,36	0,563

Профилҳои озодшавии Рх ША ва П/З ВМ дар халтаи диализӣ бо модели Хигучи хуб тавсиф шуданд: мутаносибан $R^2 = 0,95$ ва $R^2 = 0,96$. Аммо константаи суръати озодшавӣ барои Рх ША қариб се маротиба баландтар буд, нисбат ба П/З БМ: 16,52 × 10^{-2} нисбат ба 5,95 × 10^{-2} $соат^{-1/2}$. Ин сустшавии озодшавии пироксикамро аз матритсаи пектин-зеинӣ тасдиқ менамояд.

Мувофиқи модели Корсмейер–Пеппас озодшавии Рх ТФ ва П/З БМ дар халтаи диализӣ ба диффузияи Фик мувофиқат мекард, дар ҳоле ки барои П/З БМ

бе халтаи диализӣ қимати n = 0,563 ба интиқоли аномалӣ ишора менамуд. Ин нишон медиҳад, ки дар набудани монеаи диализӣ озодшавӣ на танҳо бо диффузия, балки инчунин бо варамкунӣ, релаксатсия ва бозсозии сохтории матритсаи ҳидроҷелӣ муайян мегардад.

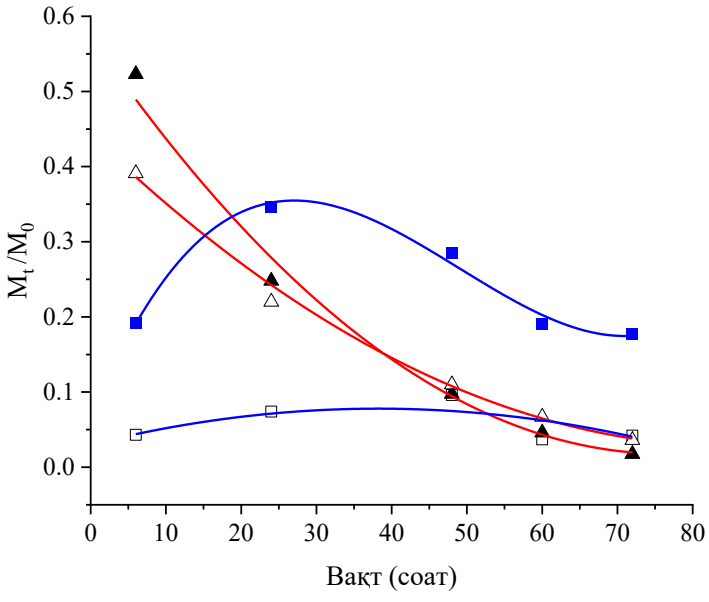
Таҳқиқоти фармакокинетикии *in vivo* дар калламушҳо

Яке аз вазифаҳои таҳияи системаҳои барандагони маводи дорӯӣ кам намудани басомади қабули дору ва баланд бардоштани мувофиқии терапия мебошад. Бо ин мақсад рафтори П/З БМ-и оптимизатсияшуда дар шароити *in vivo* дар муқоиса бо шакли анъанавии пироксикам омӯхта шуд.

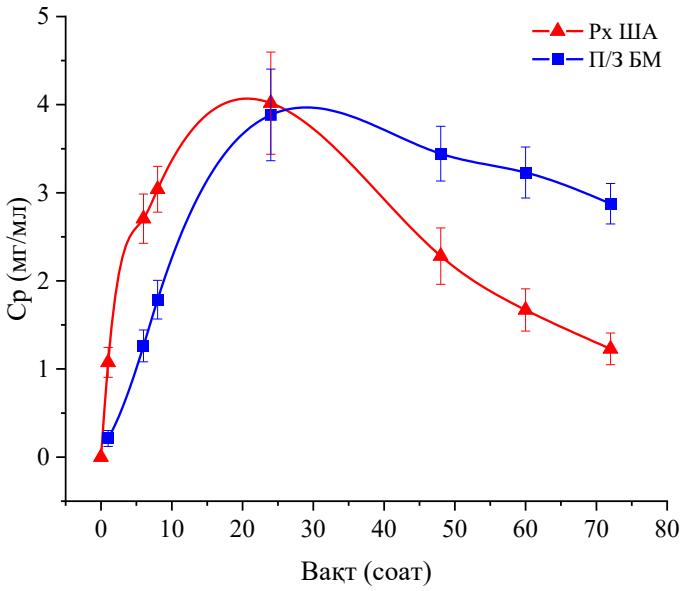
П/З БМ ва Рх ША ба калламушҳо ба таври перорали якмаротиба дар вояи якхелаи 3,6 мг/кг ворид карда шуданд. Ин имкон дод, ки профилҳои озодшавӣ муқоиса шуда, бартариҳои шакли пролонгатсияи пектин-зеинӣ нисбат ба суспензияи анъанавӣ арзёбӣ гарданд (расми 23).

Таҳлили *in vivo* фарқиятҳоро дар профилҳои озодшавии пироксикам аз шакли анъанавӣ ва П/З БМ нишон дод. Дар ҳайвонҳое, ки Рх ША гирифтанд, озодшавии максималӣ дар рӯдаи борик ва рӯдаи ғафс тақрибан баъд аз 6 соат мушоҳида гардида, баъдан консентратсияи дору коҳиш ёфт. Ҳангоми ворид намудани П/З БМ озодшавии Рх суст ва якмаром ба амал омада, қуллаҳои равшан мушоҳида мешуданд, ки аз таъсири пролонгатсионии микросфераҳо шаҳодат медиҳад (расми 23).

Консентратсияи Рх дар плазма баъд аз ворид намудани П/З БМ, баъд аз 6 соат 1,26 мкг/мл-ро ташкил дода, баъд аз 24 соат ба ҳадди максималӣ - 3,85 мкг/мл расид ва баъд аз 72 соат дар сатҳи 2,876 мкг/мл нигоҳ дошта шуд. Дар гурӯҳи назоратии Рх ША консентратсия дар марҳилаи аввал баландтар буд, аммо баъдан тезтар коҳиш ёфт: аз ҳадди максималии 4,23 мкг/мл то 1,23 мкг/мл баъд аз 72 соат. Ин маълумот нигоҳдории дарозмуддати сатҳи терапевтии пироксикамро ҳангоми истифодаи П/З БМ тасдиқ менамояд (расми 24).



Расми 23. - Фраксияи хориҷшавии Рх дар рӯдаи борик ва рӯдаи ғафси гурӯҳи калламушҳое, ки П/З БМ-и дода шуданд, ва гурӯҳи назоратие, ки Рх ША гирифта буданд. Миқдори Рх-и хориҷшуда аз 1) П/З БМ:■ - рӯдаи ғафс □ - рӯдаи борик; 2) Рх ША ▲ - рӯдаи ғафс ва △ - рӯдаи борик



Расми 24. - Каҷхатҳои консентратсияи Рх дар плазмаи гурӯҳҳои калламушҳое, ки Рх ША ва П/З БМ гирифтаанд.

Маълумоти бадастомада фарқиятҳоро дар рафтори ду шакли доруворӣ дар шароити *in vivo* нишон медиҳанд. Рх ША зудтар ба гардиши системавии хун ворид мегардид, ки бо расидани барвақттар ба консентратсияи максималӣ ва коҳиши минбаъдаи босуръати сатҳи дору ҳамроҳ буд. Баръакси ин, П/З БМ озодшавии сусттар ва якмароми пироксикамро таъмин намуда, консентратсияи онро дар плазма дар давоми вақти дарозтар нигоҳ доштанд.

Параметрҳои фармакокинетикӣ баъд аз ворид намудани яккаратаи пероралӣ барои ҳар ду шакл дар ҷадвали 7 оварда шудаанд ва бартариҳои П/З БМ-ро ҳамчун системаи пролонгатсионии барандагони маводи доруӣ тасдиқ менамоянд.

Ҷадвали 7. - Параметрҳои асосии фармакокинетикии шаклҳои доруворii Рх, ки аз модел вобаста нестанд

Параметр	Воҳид	Рх ША	П/З БМ
Tmax	ч	24	24
Cmax	мкг/мл	4,23	3,82
AUC 0-t	мкг/мл*ч	191,77	211,18
AUC 0-inf	мкг/мл*ч	239,60	461,80
AUMC	мкг/мл*ч^2	11223,84	49971,77
MRT	ч	46,84	108,21
Frel	%	51,9	192,7

Биодастрасии нисбии Рх аз рӯйи таносуби AUC барои шаклҳои доруворii таҳқиқшаванда ва назоратӣ ҳисоб карда шуд. Муайян гардид, ки П/З БМ нисбат ба Рх ША бо арзишҳои баландтари AUC_{0-72}, AUMC ва MRT тавсиф мешавад, ки ин ба нигоҳдории дарозмуддаттари пироксикам дар организм ишора менамояд.

Сарфи назар аз якхела будани арзиши Tmax - 24 соат, П/З БМ профили нисбатан якмаром ва пролонгатсионии консентратсияи Рх-ро дар плазма таъмин намуд, дар ҳоле ки барои Рх ША пас аз расидан ба ҳадди максималӣ коҳишёбии тезтари консентратсия хос буд. Маълумоти бадастомада тасдиқ менамоянд, ки П/З БМ озодшавии бештар назоратшаванда ва нигоҳдории дарозмуддати консентратсияи моддаи доругиро таъмин мекунанд.

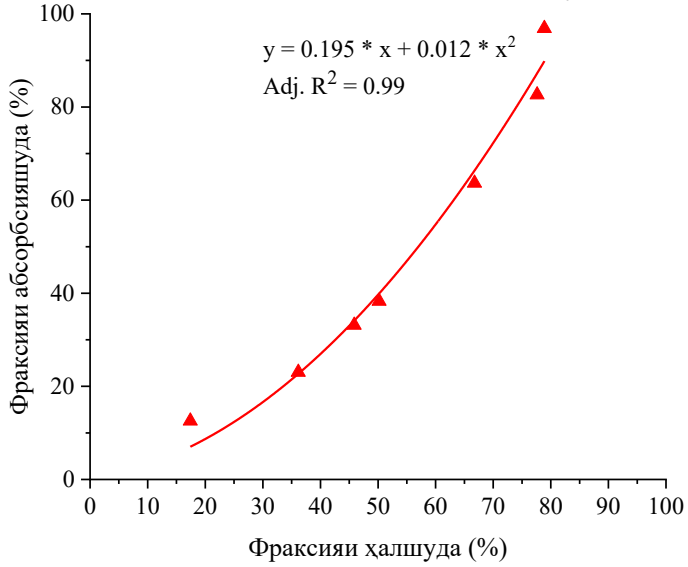
Таҳлили коррелятсионии *in vitro – in vivo* ва *ex vivo – in vivo*

Барои арзёбии робита байни профилҳои озодшавии Рх дар шароити *in vitro, ex vivo* ва ҷаббиши он дар шароити *in vivo* равишҳои IVIVC ва EVIVC истифода шуданд. Маълумоти *in vivo* бо усули Лоо–Ригелман бо истифодаи модели дукомпартментӣ коркард гардид, ки имкон дод ҳиссаи доруи ҷаббидашуда дар вақт муайян карда шавад. IVIVC-и сатҳи А тавассути муқоисаи ҳиссаи Рх-и ҷаббидашуда дар шароити *in vivo* бо ҳиссаи доруи озодшуда дар шароити *in vitro* арзёбӣ карда шуд. Барои шакли анъанавии Рх ША коррелятсия байни ҳалшавӣ дар шароити *in vitro* ва ҷаббиш дар шароити *in vivo* муайян гардид, ки ин бо ҳалшавии пасти пироксикам ва нақши маҳдудкунандаи марҳилаи ҳалшавӣ вобаста мебошад (расми 25).

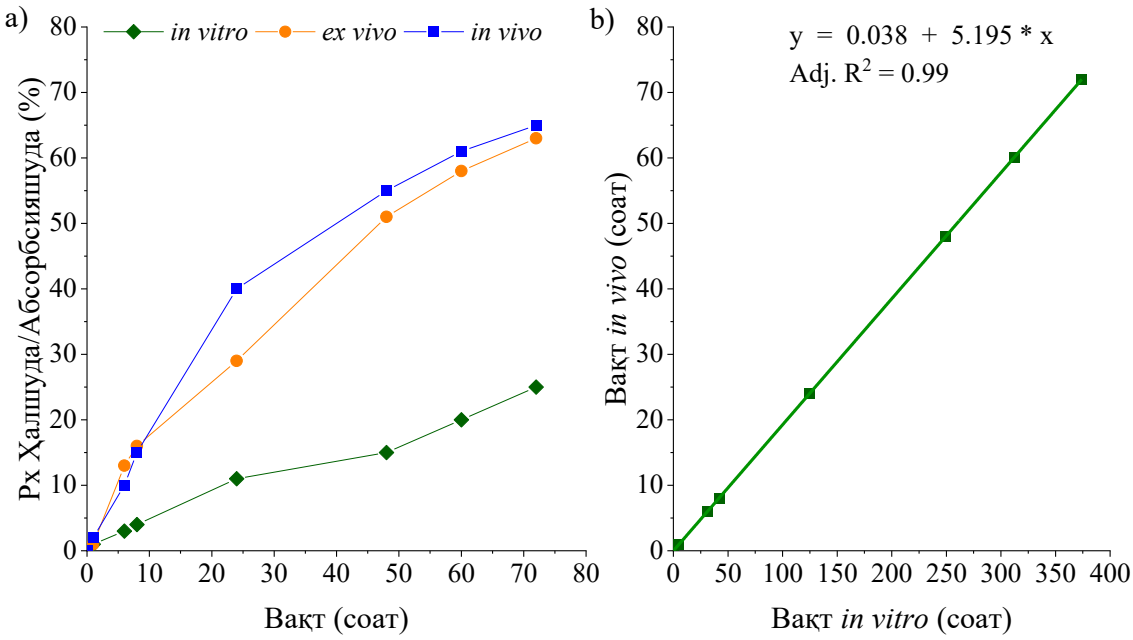
Барои П/З БМ фраксияи пироксикаме, ки дар шароити *in vivo* ҷаббида мешавад, нисбат ба фраксияи дар шароити *in vitro* озодшаванда зудтар зиёд гардид (расми 26а). Ҳамзамон, профили озодшавӣ дар шароити *ex vivo* ба маълумоти *in vivo* наздик буд, ки ин ба беҳтар таҳдид гардидани шароити физиологӣ нисбат ба санҷиши анъанавии *in vitro* ишора мекунад.

Барои муқоисаи маълумоти *in vitro* ва *in vivo* миқёспазирии вақтӣ истифода шуда, графики Леви сохта шуд (расми 26b). Вобастагии хаттии бадастомада мувофиқати равандҳои озодшавӣ ва ҷаббиши пироксикамро нишон дода, имконияти истифодаи равишҳои IVIVC/EVIVC-ро барои арзёбии П/З БМ тасдиқ намуд.

Профили озодшавии Рх дар шароити *ex vivo* бо кинетикаи ҷаббиши он дар шароити *in vivo* муқоисашаванда буд. Коррелятсияи *ex vivo–in vivo* нисбат ба IVIVC бе ислоҳи вақтӣ ба таври назаррас баландтар баромад: байни фраксияи озодшаванда дар шароити *ex vivo* ва фраксияи ҷаббидашаванда дар шароити *in vivo* вобастагии хаттӣ бо $R^2 = 0,99$ муайян карда шуд (Рисунок 27).



Расми 25 . - Коррелятсияи маълумот оид ба ҳалшавӣ дар шароити *in vitro* ва ҷаббиш дар шароити *in vivo* барои Рх ША, ки бо усули Лоо–Ригелман ба даст оварда шудаанд.

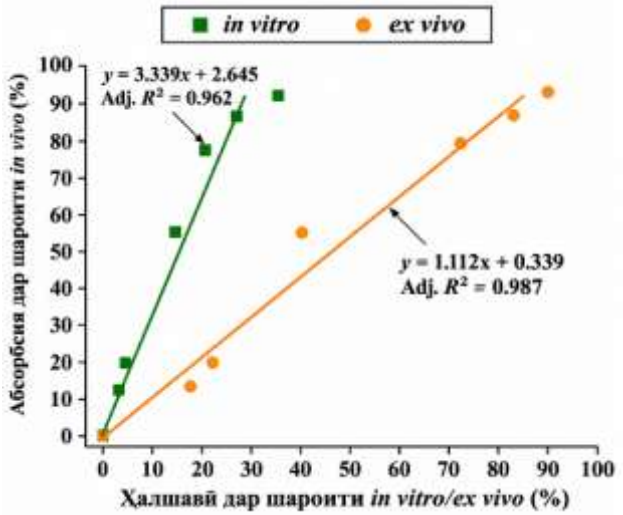


Расми 26. - Хоричшавии Рх аз П/З ВМ дар шароити *in vitro, ex vivo* ва *in vivo* (а) ва графики Леви (b)

Кунҷҳои майли профилҳои *in vitro* ва *ex vivo* мутаносибан 0,33 ва 0,93-ро ташкил доданд, ки ба мувофиқати бештари модели *ex vivo* ба шароити *in vivo* ишора менамояд. Ин маълумот арзиши баланди пешгӯии усули *ex vivo*-ро барои арзёбии рафтори П/З БМ дар организм тасдиқ мекунанд.

Барои IVIVC қиматҳои PE% аз рӯйи AUC ва Cmax ҳангоми истифодаи миқёспазирии вақтӣ аз 10% паст буданд. Барои EVIVC хатогиҳои пешгӯӣ низ дар ҳудуди иҷозатдодашуда қарор доштанд: камтар аз 10% барои AUC ва камтар аз 15% барои Cmax. Ин эътимоднокии моделҳои сохташудаи коррелятсиониро барои пешгӯии рафтори П/З БМ дар шароити *in vivo* тасдиқ менамояд (ҷадвали 8).

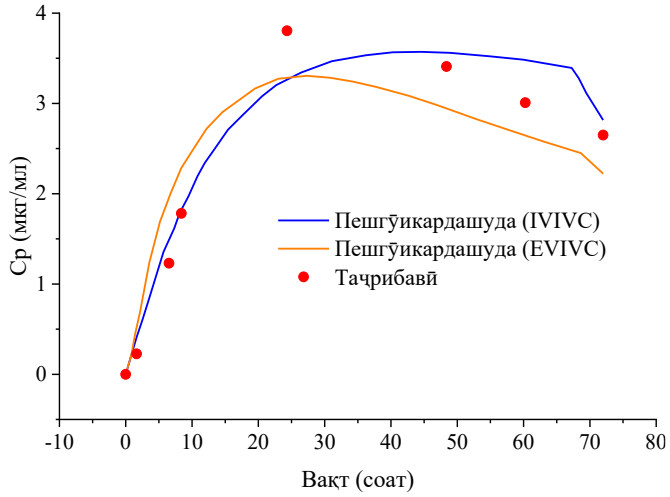
Дақиқии моделҳои IVIVC ва EVIVC аз рӯйи фоизи хатогии пешгӯӣ (PE%) барои Cmax ва AUC арзёбӣ карда шуд. Муқоисаи профилҳои таҷрибавӣ ва пешгӯишудаи консентратсияи Рх дар плазма мувофиқати хуби моделҳоро ба маълумоти воқеӣ нишон дод (расми 28).



Расми 27. - Коррелятсия байни маълумот оид ба ҳалшавӣ дар шароити *in vitro/ex vivo* ва ҷаббиш дар шароити *in vivo*, ки бо усули деконволютсияи Лоо–Ригелман ба даст оварда шудаанд.

Ҷадвали 8. - Хатогиҳои пешгӯй (PE) барои қиматҳои Cmax ва AUC аз моделҳои таҳияшуда

Модел	Параметр	Пешгӯишуда	Мушоҳидашуда	%PE
IVIVC	AUC	210,40	211,18	-0,37
IVIVC	C_{max}	3,57	3,82	-6,47
EVIVC	AUC	194,57	211,18	-7,86
EVIVC	C_{max}	3,31	3,82	-13,44



Расми 28. - Профилҳои таҷрибавӣ ва пешгӯишудаи консентратсияи Рх дар плазма барои П/З БМ.

Натиҷаҳои бадастомада нишон доданд, ки профили озодшавии Рх дар шароити *ex vivo* амалан ба профили ҷаббиши он дар шароити *in vivo* мувофиқат мекунад. Коррелятсияи *ex vivo–in vivo* нисбат ба IVIVC баъд аз миқёспазирии вақтӣ бештар ифодаёфта буд (R^2 = 0,99 нисбат ба R^2 = 0,92), ки арзиши баланди пешгӯии модели *ex vivo*-ро барои арзёбии рафтори П/З БМ тасдиқ менамояд.

Озодшавии зудтари Рх дар шароити *ex vivo* эҳтимолан бо таъсири ферментҳои пектолитикии микробиотаи рӯда вобаста мебошад, ки қобилияти вайрон намудани матритсаи пектинии микросфераҳоро доранд, инчунин бо хусусиятҳои диффузияи дору дар муҳити бештар ба шароити физиологӣ наздик алоқаманд аст.

Умуман, П/З БМ озодшавии пролонгатсионӣ ва назоратшавандаи Рх-ро таъмин намуданд. Маълумоти бадастомада дурнамодории микросфераҳои пектин-зеиниро ҳамчун системаи барандагони пролонгатсионӣ ва ҳадафнок ба рудаи ғафс расонидани маводи доруӣ, инчунин мақсаднок будани истифодаи равиши *ex vivo*-ро дар марҳилаҳои аввали таҳияи шаклҳои полимерии доруворӣ тасдиқ мекунанд.

Мо чунин мешуморем, ки натиҷаҳои пешниҳодшуда аввалин гузориши муфассал оид ба ташаккули IVIVC-и сатҳи А ва коррелятсияи *ex vivo – in vivo* барои ин шакли доруворӣ мебошанд ва умед дорем, ки онҳо барои таҳқиқоти минбаъдаи фармакокинетикӣ ва технологӣ дар ин самт асос хоҳанд шуд.

Истифодаи комбинатсияи пектин–антибиотик ҳангоми бемориии сироятии рӯда

Тарҳи таҳқиқот дар ҷадвали 9 пешниҳод шудааст. Минбаъд расмиёти озмоишҳои клиникӣ, ки ба ин тарҳ мувофиқанд, муфассал тавсиф карда мешаванд.Дар таҳқиқот таъсири пектинҳои себ бо массаи молекулавӣ ва дараҷаи метоксилизатсияи гуногун дар якҷоягӣ бо метронидазол ҳангоми табобати сироятҳои шадиди рӯда арзёбӣ карда шуд.

Ҷадвали 9. – Тарҳи тадқиқот

Таҳқиқот	Гурӯҳи беморон	Нақшаи терапия
Таҳқиқоти 1	A (n=16)	Метронидазол + SWS
	B (n=16)	Метронидазол + LMAP
Таҳқиқоти 2	C (n=15)	Метронидазол + SWS
	D (n=18)	Метронидазол + HMAP

Таҳқиқоти рандомизатсияшудаи кушодаи муқоисавӣ дар заминаи беморхонаҳои сироятии шаҳри Душанбе дар байни беморони гирифтори амебиози рӯда гузаронида шуданд. Гурӯҳҳои назоратӣ метронидазол ва маҳлули сахароза, гурӯҳҳои асосӣ бошад метронидазолро дар якҷоягӣ бо LMAP ё HMAP қабул карданд. Самаранокии терапия аз рӯйи динамикаи ҳарорат, басомади наҷосат, мавҷудияти омехтаҳои патологӣ ва муҳлати шифоёбии клиникӣ арзёбӣ карда шуд.

Мубрамияти таҳқиқот ба паҳншавии баланди сироятҳои рӯда ва таъсири манфии антибиотикҳо ба микробиотаи рӯда вобаста мебошад. Пектин ҳамчун ҷузъи пребиотикии перспективӣ баррасӣ мешавад, зеро қобилияти нигоҳ доштани тавозуни микробӣ, барангехтани ҳосилшавии КРЗК ва коҳиш додани равандҳои илтиҳобиро дар роҳҳои меъдаю рӯда дорад.

Дар асоси маълумоти адабиёт ва натиҷаҳои корҳои худӣ тахмин карда шуд, ки комбинатсияи пектини себ бо антибиотикотерапия метавонад таъсири номатлуби доруҳои зиддибактериявиро ба рӯда коҳиш дода, ба барқароршавии тезтари беморони гирифтори сироятҳои шадиди рӯда мусоидат намояд.

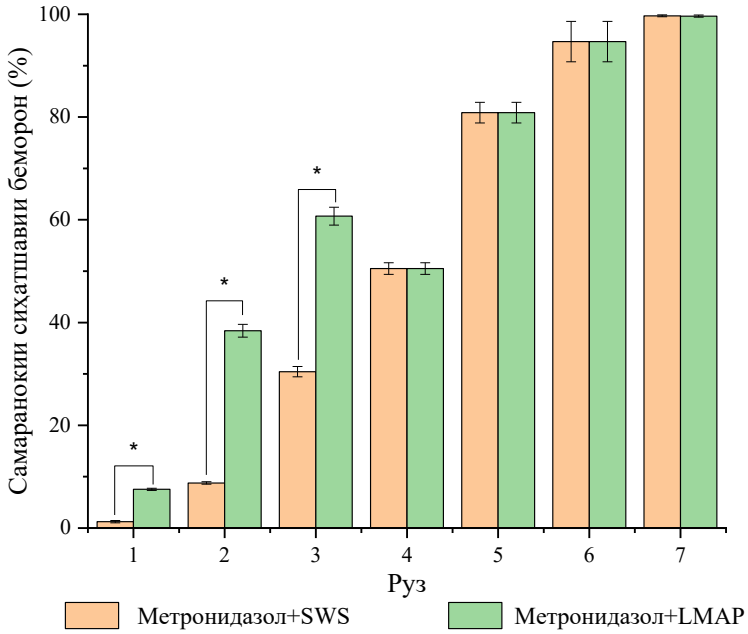
Арзёбии самаранокии комбинатсияи метронидазол бо LMAP ҳангоми амебиози рӯда

Дар ҳар ду силсилаи таҳқиқот гурӯҳҳои беморон аз рӯйи синну сол ва давомнокии бистаришавӣ қобили муқоиса буданд ($p>0,05$). Дар бемороне, ки комбинатсияи метронидазол бо пектинро қабул карданд, беҳбудии клиникӣ нисбат ба гурӯҳҳои назоратӣ зудтар ба амал омад. Ҳангоми истифодаи нақшаи «метронидазол + LMAP» муътадилшавии наҷосат ва аз байн рафтани омехтаҳои патологӣ нисбат ба терапияи метронидазол бо маҳлули сахароза барвақттар мушоҳида гардид. Дар қисми беморон қатъ шудани қайкунӣ ва муътадилшавии ҳарорат аллакай дар 1–3 шабонарӯзи аввали терапия ба қайд гирифта шуд (расми 29).

Комбинатсияи «метронидазол + HMAP» аз ҷониби беморон хуб таҳаммул карда шуда, бо таъсирҳои номатлуб ҳамроҳ набуд. Ҳангоми истифодаи якҷояи метронидазол бо HMAP консентратсияи дору дар плазма баъд аз 8 соат нисбат ба нақшаи назоратӣ баландтар буд, ки аз беҳтар шудани нишондиҳандаҳои фармакокинетикии антибиотик шаҳодат медиҳад. Умуман, нақшаи комбинатсионии «пектин + антибиотик» ба коҳишёбии зудтари шиддатнокии нишонаҳои сироятҳои шадиди рӯда ва кӯтоҳ шудани муҳлати шифоёбии клиникӣ нисбат ба терапияи стандартӣ мусоидат намуд.

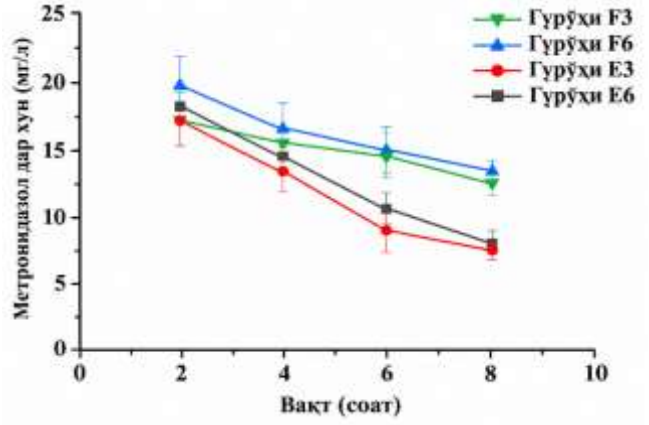
Истифодаи комплекси «метронидазол + HMAP» ҳангоми амебиози рӯда ба нигоҳдории дарозмуддаттари консентратсияи метронидазол дар плазма нисбат ба нақшаи назоратӣ мусоидат кард. Дар беморони гурӯҳи назоратӣ консентратсияи

дору баъд аз 2 соат ба ҳадди максималӣ расид, вале баъд аз 8 соат то 8,26 мг/л коҳиш ёфт, дар ҳоле ки ҳангоми истифодаи НМАР он баландтар боқӣ монд.



Расми 29. - Самаранокии муқоисавии комбинатсияи антибиотик + SWS ва антибиотик + LMAP дар терапияи амебиози рӯда (қимати миёна ± SD, p < 0,05)

Аз ҷиҳати клиникӣ ин бо аз байн рафтани зудтари нишонаҳои асосии раванди сироятӣ ва кӯтоҳ гардидани мӯҳлати будубоши беморон дар беморхона ба ҳисоби 3,0±1,0 рӯз ҳамроҳ буд (расми 30).



Расми 30. - Динамикаи тақсимшавии метронидазол дар плазмаи хуни беморони гирифтори амебиози рӯда дар рӯзҳои 4-ум ва 6-уми табобат: (▼) – беморони гурӯҳи С дар рӯзи 4-уми табобат, (▲) – беморони гурӯҳи С дар рӯзи 6-уми табобат, (●) – беморони гурӯҳи D дар рӯзи 4-уми табобат, (■) – беморони гурӯҳи D дар рӯзи 6-уми табобат. Эзоҳ: фарқиятҳо аз ҷиҳати оморӣ аҳамиятнок мебошанд (p<0,05).

Таҳқиқотҳои гузаронидашуда дурнамодории истифодаи комплексҳои «пектин–антибиотик»-ро ҳангоми табобати сироятҳои шадиди рӯда тасдиқ менамоянд. Терапияи комбинатсионӣ ба бартарафшавии зудтари қайкунӣ, дарунравӣ ва муътадилшавии ҳарорати бадан, инчунин кӯтоҳ гардидани муҳлати шифоёбии беморон мусоидат намуд.

Таъсирҳои бадастомада метавонанд бо хусусиятҳои пребиотикӣ, монеавӣ ва сорбсионии пектин, инчунин бо мавҷудияти пайвастагиҳои полифенолии алоқаманд вобаста бошанд, ки қобилияти пурзӯр намудани таъсири зиддимикробии антибиотикҳоро доранд. Нишон дода шуд, ки пектинҳои дараҷаи паст ва баланди метоксилибуда бо қабати луобии рӯда ба таври гуногун таъсири мутақобила намуда, ба хусусиятҳои муҳофизатии он таъсир мерасонанд.

Пектинҳои себии таҳқиқшуда бо миқдори зиёди полифенолҳо тавсиф мешуданд, ки эҳтимолан метавонанд ба синергизми комплекси «пектин–

полифенол–антибиотик» ва баланд гардидани самаранокии терапияи зиддибактериявӣ мусоидат намоянд.

Умуман, натиҷаҳои кор дурнамодории истифодаи композитсияҳои дорои пектинро ҳамчун ҷузъҳои ёрирасони терапияи комплексии сироятҳои рӯда тасдиқ намуда, зарурияти таҳқиқоти минбаъдаи механизмҳои таъсир ва истифодаи клиникии онҳоро асоснок менамоянд.

ХУЛОСАҲО

1. Усули тозакунии пектин бо истифода аз диаултрафилтратсияи тангенсиалӣ таҳия гардид, ки имкон медиҳад полисахариди дорои хусусиятҳои беҳтаршудаи физикӣ-химиявӣ ҳосил карда шавад. Нисбат ба усули бухоркунии вакуумӣ бо таҳшинкунии спиртӣ миқдори кислотаи галактуронӣ аз 50,4 то 64,8% ва дараҷаи этерификатсия аз 68,6 то 71,4% зиёд гардид. Ҳамзамон полидисперснокӣ, сарфи этанол ва хароҷоти энергия коҳиш ёфтанд. Усули пешниҳодшуда метавонад пектини стандартизатсияшуда барои истифода дар соҳаи фарматсия мусоидат намояд [4-М, 12-М].
2. Технологияи ҳосил намудани сафедаи ҷуворимакка зеин аз орди беравғанкардашуда таҳия гардид. Экстраксияи секарата бо этаноли 75% нисбатан оптималӣ дониста шуд, ки ҳосили зеин 3,3%-ро ташкил дод. Муайян гардид, ки зеини ҳосилшуда аз якчанд фраксия иборат буда, ба туфайли хусусиятҳои гидрофобии худ барои бунёди фазаи сафедагии системаҳои композитсионии барандагони маводи доруӣ мувофиқ мебошад [1-М, 14-М, 15-М].
3. Технологияи ҳосил намудани микросфераҳои ҳидроҷелӣ дар асоси композити пектин–зеин таҳия гардид, ки дар шароити таҳқиқшуда миқдори маводи доруии инкапсулатсияшуда то 93,8% расида, озодшавии пироксикам зиёда аз шаш шабонарӯз идома ёфт. Барои шакли анъанавӣ тақрибан 90%-и маводи доруӣ аллакай дар 24 соати аввал ба маҳлул гузашт. Натиҷаҳои бадастомада имконияти истифодаи матритсаи пектин-зеиниро барои озодшавии дарозмуддати моддаҳои доруӣ тасдиқ менамоянд [1-М, 14-М, 15-М, 16-М, 26-М].
4. Муайян гардид, ки таносуби пектин ва зеин, дараҷаи этерификатсияи полисахарид ва табиати катиони пайвандсоз ба хусусиятҳои микросфераҳо ва кинетикаи озодшавии пироксикам таъсир мерасонанд. Баланд шудани миқдори зеин бо коҳиш ёфтани дараҷаи варамкунӣ ҳамроҳ буд, дар ҳоле ки истифодаи ионҳои руҳ ба ҷойи ионҳои калсий имконият дод, ки микросфераҳои дорои матритсаи полимерии зич ҳосил карда шаванд. Ҳангоми истифодаи ионҳои руҳ миқдори пироксикам дар микросфераҳо то 71,50% расид. Ин натиҷаҳо имконияти танзими хусусиятҳои системаро бо роҳи тағйир додани таркиб ва шароити бунёди он нишон медиҳанд [1-М, 2-М].
5. Таҳқиқоти *in vitro, ex vivo* ва *in vivo* нишон доданд, ки микросфераҳои пектин-зеинӣ нисбат ба шакли анъанавӣ озодшавии дарозмуддати пироксикамро таъмин намуда, барои расонидани он ба рӯдаи ғафс шароит фароҳам меоранд. Пас аз воридкунии даҳонии микросфераҳои пектин-зеинӣ консентратсияи пироксикам дар плазмаи хуни каламушҳо баъд аз 6 соат 1,26 мкг/мл, баъд аз 24 соат 3,85 мкг/мл-ро ташкил дода, баъд аз 72 соат дар сатҳи 2,876 мкг/мл нигоҳ

дошта шуд. Биодастрасии нисбии пироксикам дар таркиби микросфераҳо нисбат ба шакли анъанавии доруӣ 192,7%-ро ташкил дод [5-М, 21-М, 25-М].

6. Вобастагиҳои равшани коррелятсионӣ байни натиҷаҳои озодшавии пироксикам дар шароити *in vitro*, *ex vivo* ва абсорбсияи он дар шароити *in vivo* муайян карда шуданд. Коэффитсиентҳои детерминатсия барои IVIVC ва EVIVC мутаносибан 0,97 ва 0,99-ро ташкил доданд. Вобастагиҳои бадастомада имкон медиҳанд, ки параметрҳои алоҳидаи фармакокинетикии маводи доруӣ пешгӯӣ карда шаванд ва имконияти истифодаи усулҳои IVIVC ва EVIVC-ро ҳангоми арзёбии системаҳои нави пектин-зеинии расонидани дору тасдиқ менамоянд [5-М, 21-М, 25-М].

7. Муайян гардид, ки модели секамерагии рӯдаи ғафс, бар хилофи модели яккамерагӣ, имкон медиҳад фарқиятҳои минтақавии таркиби таксономӣ ва фаъолияти метаболитикии микробиотаи рӯда бозтавлид карда шаванд. Консентратсияи умумии кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ аз қисми болораванда то қисми поёнравандаи рӯдаи ғафс пайдарпай зиёд шуда, 82,35–110,39 ммол/л-ро нисбат ба 58,23 ммол/л дар модели яккамерагӣ ташкил дод. Ҳамин тариқ, системаи секамерагӣ барои омӯзиши хусусиятҳои минтақавии микробиота ва равандҳои ферментатсия афзалият дорад, дар ҳоле ки модели яккамерагӣ метавонад барои таҳқиқоте истифода шавад, ки бозтавлид намудани фарқиятҳои байни қисматҳои рӯдаи ғафсро талаб намекунанд [6-М, 18-М].

8. Муайян гардид, ки пектинҳои дорои сохтори гуногун ба таркиб ва фаъолияти метаболитикии микробиотаи рӯда ба таври гуногун таъсир мерасонанд. Пектини пастмолекулавии баландэтерификатсияшуда миқдори кислотаи равғании масларо 1,41 маротиба зиёд намуд, дар ҳоле ки пектини баландмолекулавии пастэтерификатсияшуда шумораи нисбии бактерияҳои оилаи *Lachnospiraceae*-ро дар ҳар ду донор зиёд кард. Ҳар ду навъи пектин сатҳи умумии кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳро мутаносибан 1,49 ва 1,46 маротиба зиёд намуданд. Натиҷаҳои бадастомада зарурати ба назар гирифтани массаи молекулавӣ ва дараҷаи этерификатсияи пектинро ҳангоми таҳияи композитсияҳои пребиотикӣ нишон медиҳанд [7-М, 17-М, 23-М, 24-М].

9. Муайян гардид, ки фраксияҳои ҳалшаванда ва ҳалнашавандаи полисахаридҳо вобаста ба таркиби ибтидоии ҷомеаҳои микробӣ таркиби микробиотаи рӯда ва ҳосилшавии кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳро тағйир медиҳанд. Ҳангоми ворид намудани LGG ба система шумораи он аз сатҳи ибтидоӣ 7–540 маротиба зиёд буд, аммо тағйироти аз ҷиҳати оморӣ аҳамиятноки миқдори кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ танҳо дар 14 ҳолат аз 324 муқоиса (4,3%) муайян гардид. Натиҷаҳои бадастомада нишон медиҳанд, ки таъсири пре- ва пробиотикҳо ба микробиотаи рӯда аз ҳолати ибтидоии ҷомеаи микробӣ вобаста буда, на ҳамеша бо тағйироти ҳамзамони таркиб ва фаъолияти метаболитикии он ҳамроҳ мешавад [8-М, 9-М, 11-М, 19-М].

10. Таҳқиқоти клиникӣ нишон доданд, ки дохил намудани пектин ба табобати сироятҳои рӯда ба коҳишёбии зудтари нишонаҳои асосии беморӣ мусоидат менамояд. Ҳангоми амебиоз мӯътадилшавии наҷосат то рӯзи 5-ум ба амал омад, дар ҳоле ки дар гурӯҳи назоратӣ то рӯзи 7-ум ба амал омад. Ҳангоми истифодаи якҷояи пектин ва метронидазол консентратсияи метронидазол дар плазмаи хун

баъд аз 8 соат 13,38 мг/л нисбат ба 8,26 мг/л дар назоратро ташкил дод ва давомнокии бистаришавӣ ба 3,0 ± 1,0 рӯз кӯтоҳ гардид. Натиҷаҳои бадастомада имконияти баланд бардоштани самаранокии табобати комплексии сироятҳои рӯдаро бо истифодаи пектин нишон медиҳанд [10-М, 13-М, 20-М, 22-М].

Тавсияҳо оид ба истифодаи амалии натиҷаҳои таҳқиқот

1. Методикаи таҳияшудаи тозакунии пектин бо истифода аз диаултрафилтратсияи тангенсиалӣ метавонад дар соҳаи фарматсия барои ҳосил намудани пектини стандартизатсияшуда истифода шавад, ки барои татбиқ дар бунёди системаҳои барандагони маводи доруӣ, инчунин ҳамчун моддаи асосӣ ва ёрирасон ҳангоми таҳияи шаклҳои доруӣ пешбинӣ карда шудааст.
2. Микросфераҳои ҳидроҷелии пектин-зеинии бадастомада метавонанд аз ҷониби корхонаҳои фармасевтии Ҷумҳурии Тоҷикистон ҳангоми таҳияи шаклҳои доруӣ бо озодшавии пролонгатсионӣ ва расонидани ҳадафноки маводи доруӣ, асосан ба рӯдаи ғафс, истифода шаванд. Қонуниятҳои муайяншудаи таъсири таркиби системаи пектин-зеинӣ ва шароити ташаккули он ба хусусиятҳои микросфераҳо метавонанд ҳангоми таҳия ва такмили технологияҳои ҳосил намудани системаҳои биополимерии барандагони маводи доруӣ бо суръати танзимшавандаи озодшавӣ истифода гарданд. Усулҳои физикӣ-химиявӣ ва инструменталии таҳлили пектин ва зеин, ки дар кор истифода шудаанд, метавонанд дар озмоишгоҳҳои илмию таҳқиқотӣ, истеҳсолӣ ва назоратию таҳлилӣ барои арзёбии сифат ва хусусиятҳои сохторӣ-функсионалии биополимерҳо истифода шаванд.
3. Натиҷаҳои таҳқиқоти фармакокинетикӣ ва коррелятсияҳои муайяншуда байни маълумоти *in vitro, ex vivo* ва *in vivo* метавонанд ҳангоми арзёбии пеш аз клиникӣ ва пешгӯии рафтори системаҳои биополимерии барандагони маводи доруӣ дар организм истифода шаванд.
4. Маълумоти бадастомада оид ба таъсири пектинҳои дорои сохтори гуногун, инчунин ҷузъҳои пребиотикӣ ва пробиотикӣ ба микробиотаи рӯда метавонанд, ҳангоми таҳияи композитсияҳои функсионалӣ ва доруӣ, ки барои ислоҳи микробиотаи рӯда пешбинӣ шудаанд, истифода гарданд.
5. Натиҷаҳои таҳқиқоти клиникӣ-таҷрибавии комбинатсияи «антибиотик–пектин» метавонанд дар тибби амалӣ ҳангоми таҳияи равишҳо ба терапияи комплексии сироятҳои рӯда истифода шаванд.

АДАБИЁТ

1. Sung Y. K., Kim S. W. Recent advances in polymeric drug delivery systems // Biomaterials Research 2020 24:1. BioMed Central, 2020. Т. 24, № 1. С. 1–12.
2. Alqahtani M. S. и др. Advances in Oral Drug Delivery // Front Pharmacol. 2021. Т. 12. С. 618411.
3. Torchilin V. P. Passive and Active Drug Targeting: Drug Delivery to Tumors as an Example // Drug Delivery / под ред. Schäfer-Korting M. Berlin, Heidelberg: Springer, 2010. С. 3–53.

4. Ezike T. C. и др. Advances in drug delivery systems, challenges and future directions // Heliyon. 2023. Т. 9, № 6. С. e17488.
5. Weersma R. K., Zhernakova A., Fu J. Interaction between drugs and the gut microbiome // Gut. 2020. Т. 69, № 8. С. 1510–1519.
6. Elshahed M. S. и др. Pectin in diet: Interactions with the human microbiome, role in gut homeostasis, and nutrient-drug interactions // Carbohydr Polym. 20201109-е изд. 2021. Т. 255. С. 117388–117388.
7. Wiese M. The potential of pectin to impact pig nutrition and health: feeding the animal and its microbiome. // FEMS microbiology letters. 2019. Т. 366, № 4.
8. Berardi A. и др. Zein as a Pharmaceutical Excipient in Oral Solid Dosage Forms: State of the Art and Future Perspectives // AAPS PharmSciTech. AAPS PharmSciTech, 2018. Т. 19, № 5. С. 2009–2022.
9. Labib G. Overview on zein protein: a promising pharmaceutical excipient in drug delivery systems and tissue engineering // Expert Opinion on Drug Delivery. 2018. Т. 15, № 1. С. 65–75.
10. Muhidinov Z. K. и др. Diaultrafiltration Concentration and Purification of Pectin Polysaccharides [in Russian] // Journals of Higher Educational Institutions. Series: Chemistry and Chemical Technology. 2011. Т. 54, № 2. С. 121–125.
11. Джонмуродов А. С. и др. Концентрирование и очистка пектиновых полисахаридов на полупромышленной диа-ультрафильтрационной установке // Известия Академии Наук Республики Таджикистан Отделение физико-математических, химических, геологических и технических наук. 2011. № 142. С. 67–73.
12. Muñoz-Almagro N. и др. Obtainment and characterisation of pectin from sunflower heads purified by membrane separation techniques // Food Chemistry. 2020. Т. 318. С. 126476.
13. Liu L. S. и др. Pectin/zein beads for potential colon-specific drug delivery: synthesis and in vitro evaluation. // Drug delivery. 2006. Т. 13, № 6. С. 417–423.
14. Muhidinov Z. K. и др. Pectin-zein Hydrogels for the Delivery of Drugs and Nutrients // Gums and Stabilisers for the Food Industry 16 / под ред. Williams P. A. and P. Glyn O. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 2012. С. 401–406.
15. Britton R. A., Versalovic J. Probiotics and Gastrointestinal Infections // Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases. 2008. Т. 2008. С. 1–10.
16. Larsen N. и др. Potential of Pectins to Beneficially Modulate the Gut Microbiota Depends on Their Structural Properties // Front Microbiol. 20190215-е изд. 2019. Т. 10. С. 223–223.
17. Rastall R. A. и др. Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: an overview of enabling science and potential applications. // FEMS microbiology ecology. 2005. Т. 52, № 2. С. 145–152.
18. Gibson G. R., Roberfroid M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics // J Nutr. 1995. Т. 125, № 6. С. 1401–1412.

19. Firrman J. и др. The impact of environmental pH on the gut microbiota community structure and short chain fatty acid production // FEMS Microbiol Ecol. 2022. Т. 98, № 5.
20. Liu L. S. и др. Establishing a mucosal gut microbial community in vitro using an artificial simulator // PLoS ONE. 2018. Т. 13, № 7. С. 1–20.
21. Mahalak K. K. и др. Persistence of the Probiotic Lacticaseibacillus rhamnosus Strain GG (LGG) in an In Vitro Model of the Gut Microbiome: 21 // International Journal of Molecular Sciences. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2022. Т. 23, № 21. С. 12973.

Рӯйхати интишорот аз рӯйи мавзуи диссертатсия
Мақолаҳо дар маҷаллаҳое, ки дар пойгоҳи байналмилалӣ индексатсия шудаанд (Web of Science, Scopus ва нашрияҳои хориҷӣ)

[1-М] Бобокалонов, Дж. Т. Пектин-зеиновые гели для инкапсуляции лекарственных средств и пищевых ингредиентов / Х. И. Тешаев, Дж. Т. Бобокалонов, А. С. Джонмуродов, З. К. Мухидинов, Г. Ф. Касымова, L. S. Liu // Известия вузов. Химия и химическая технология. – 2011. – Т.54, №11. –С. 97–100.
[2-М] Бобокалонов, Дж. Т. Кинетика выхода пироксикама из зеин-пектиновых носителей в опытах ex vivo / Дж. Т. Бобокалонов, З. К. Мухидинов, Ф. М. Ходжаева, Г. Ф. Касымова, L. S. Liu // Химико-фармацевтический журнал. – 2012. – Т. 46, № 6. – С. 98–101.
[3-М] Bobokalonov, J. T. Comparative analysis of the gut microbiota cultured in vitro using a single colon versus a 3-stage colon experimental design / J. Firrman, L. S. Liu, K. Mahalak, C. Tanes, K. Bittinger, J. T. Bobokalonov // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2021. – Vol. 105, No. 8. – P. 3353–3367.
[4-М] Bobokalonov, J. T. Structural characterization of pectin obtained by different purification methods / Z. Muhidinov, J. T. Bobokalonov, K. I. Ikromi, A. S. Jonmurodov, A. S. Nasriddinova, S. R. Usmanova, G. D. Strahan, LinShu Liu // International Journal of Biological Macromolecules. – 2021.–Vol. 183. – P. 2227–2337.
[5-М] Bobokalonov, J. T. Evaluation of extended-release of piroxicam loaded pectin–zein hydrogel microspheres: in vitro, ex vivo, and in vivo studies / Z. Muhidinov, J. T. Bobokalonov, S. Jonmurodov, A. S. Nasriddinova, F. Khojaeva, G. Komilova, L. S. Liu // Current Drug Delivery. – 2022. – Vol. 19, No. 10. – P. 1093–1101.
[6-М] Bobokalonov, J. T. The impact of environmental pH on the gut microbiota community structure and short chain fatty acid production / J. Firrman, L. S. Liu, K. Mahalak, C. Tanes, K. Bittinger, V. Tu, J. T. Bobokalonov [et al.] // FEMS Microbiology Ecology. – 2022. – Vol. 98. – P. 1–9.
[7-М] Bobokalonov, J. T. Modulation of the gut microbiota structure and function by two structurally different lemon pectins / J. Firrman, K. Mahalak, L. S. Liu, J. J. Lee, K. Bittinger, J. T. Bobokalonov [et al.] // Foods. –2022. –Vol.11, No.23. –Article 3877.
[8-М] Bobokalonov, J. T. Persistence of the probiotic *Lacticaseibacillus rhamnosus* strain GG (LGG) in an in vitro model of the gut microbiome / K. K. Mahalak, J. Firrman, J. Bobokalonov, A. B. Narrowe, K. Bittinger, S. Daniel, C. Tanes, L. M. Mattei, W.-B. Zeng, J. W. Soares, M. Kobori, J. M. S. Lemons, P. M. Tomasula, L. Liu [et al.] // Intern. Journal of Molecular Sciences. –2022. –Vol.23, № 21. –Article 12973.

[9-M] Bobokalonov, J. T. Lacticaseibacillus rhamnosus GG regulates gut microbial metabolites: an in vitro study using SHIME / L. Liu, J. T. Bobokalonov, A. B. Narrowe, J. A. Firrman, K. K. Mahalak, J. M. S. Lemons, K. Bittinger, S. Daniel, C. Tanes, L. Mattei [et al.] // Foods. – 2023. – Vol. 12. – Article 2105.
[10-M] Bobokalonov, J. T. A new approach to the treatment of acute infection diseases with antibiotic–pectin formulae / Z. K. Muhidinov, J. T. Bobokalonov, R. S. Kimatov, E. R. Rahmonov, G. I. Komilova, Z. U. Sherova, L. Liu // Journal of Infection and Developing Countries. – 2024. – Vol. 18. – P. 407–419.
[11-M] Bobokalonov, J. T. Supplementation with rice-bran fibers increases SCFA-producing bacteria in gut microbiota in vitro / K. K. Mahalak, L. Liu, J. T. Bobokalonov, A. B. Narrowe, J. Firrman, K. Bittinger, W. Hu, S. M. Jones, A. M. Moustafa // Frontiers in Nutrition. – 2024. – Vol. 11. – Article 1304045.

Мақолаҳо дар нашрияҳои дигаре, ки аз ҷониби КОА назди Президенти Ҷумҳурии Тоҷикистон тавсия шудаанд

[12-M] Бобокалонов, Дж. Т. Применение пектинов в медицине и фармации / Дж. Т. Бобокалонов, З. К. Мухидинов, С. Д. Исупов, Г. И. Комилова // Вестник Академии медицинских наук Таджикистана. – 2013. – № 4. – С. 39–52.
[13-M] Бобокалонов, Дж. Т. Лечение острых инфекционных заболеваний в комплексной терапии антибиотика с пектином / Р. С. Киматов, Э. Р. Рахманов, З. К. Мухидинов, Г. И. Комилова, Дж. Т. Бобокалонов // Наука и инновация. – 2021. – № 4. – С. 191–197.

Рӯйхати корҳо дар маҷаллаҳои конфронси байналмилалӣ

[14-M] Bobokalonov J.T. Pectin–zein microspheres for colon-specific drug delivery [Text] / J.T. Bobokalonov, Z.K. Muhidinov, J. Liesiene, G.F. Kasimova, A.S. Nasriddinov // Book of Abstracts “Smithy of Idea”, International Conference, July 4–7, 2013. – Rusne, Lithuania, 2013.
[15-M] Bobokalonov J.T. Formation and characterization of pectin–zein microspheres [Text] / J.T. Bobokalonov, Z.K. Muhidinov, J. Liesiene, G.F. Kasimova, A.S. Nasriddinov // Baltic Polymer Symposium, September 18–21, 2013. – Trakai, Lithuania, 2013. – P. 123.
[16-M] Bobokalonov J.T. Application of pectin–zein microspheres for controlled drug release [Text] / J.T. Bobokalonov, Z.K. Muhidinov, J. Liesiene, A. Nasriddinov, G. Komilova // 3rd EPNOE International Polysaccharide Conference, October 21–24, 2013. – Nice, France, 2013. – P. 384.
[17-M] Bobokalonov J.T. Citrus pectins modulate the gut microbiota and increase short-chain fatty acid production in vitro [Text] / J. Firrman, J. Bobokalonov, L. Liu, J.-J. Lee, K. Bittinger, L. Mattei, R. Gadaingan, K. Mahalak // ACS Fall 2021: Resilience of Chemistry, August 22–26, 2021. – Atlanta, GA, USA; Virtual, 2021.
[18-M] Bobokalonov J.T. Environmental pH is a determinant of the gut microbiota community composition and production of short-chain fatty acids [Text] / J. Firrman, L. Liu, K. Mahalak, C. Tanes, K. Bittinger, V. Tu, J. Bobokalonov, L. Mattei, H. Zhang, P. Van den Abbeele // ACS Fall 2021: Resilience of Chemistry, August 22–26, 2021. – Atlanta, GA, USA; Virtual, 2021.
[19-M] Bobokalonov J.T. The differential effect of soluble and insoluble rice fiber on the human gut microbiota in vitro [Text] / K. Mahalak, J. Firrman, J. Bobokalonov, L.

Liu // ACS Fall 2022: Sustainability in a Changing World, August 21–25, 2022. – Chicago, IL, USA; Virtual, 2022.
[20-M] Bobokalonov J.T. A new approach on the treatment of acute infection diseases by antibiotic-pectin formulae [Text] / Z.K. Muhidinov, J.T. Bobokalonov, E. Rahmonov, R. Kimatov, G. Komilova, O. Shomirzoeva, A. Jonmurodov, D.Kh. Khalikov, L. Liu // ACS Fall 2022: Sustainability in a Changing World, August 21–25, 2022. – Chicago, IL, USA; Virtual, 2022. – Presentation, August 23, 2022.
[21-M] Bobokalonov J.T. Pectin–zein hydrogel microspheres: in vitro, ex vivo, and in vivo studies [Text] / J.T. Bobokalonov, Kh. Ikromi, Z.K. Muhidinov, F. Khojaeva, G. Komilova, S. Yusufi, L. Liu // ACS Fall 2022: Sustainability in a Changing World, August 21–25, 2022. – Chicago, IL, USA; Virtual, 2022. – Presentation, August 24, 2022.
[22-M] Bobokalonov J.T. Pectin–antibiotics: a new nutritional formula in the treatment of acute infection diseases [Text] / J.T. Bobokalonov, R. Kimatov, E.R. Rahmonov, G.I. Komilova, Z.K. Muhidinov // 31st International Conference of FFC, September 29 – October 1, 2023. – Yerevan, Armenia, 2023. – P. 355–357.
[23-M] Бобокалонов Дж.Т. Влияние молекулярной массы и степени этерификации пектина на кишечную микробиоту и производство короткоцепочечных жирных кислот [Текст] / Дж.Т. Бобокалонов, С.Дж. Юсуфи, Г.А. Кодирова, С.Р. Усманова, З.К. Мухидинов // Материалы международной научно-практической конференции “Биофармацевтические аспекты разработки лекарственных препаратов”, 15 октября 2024 г. – Душанбе, 2024. – С. 20–27.
[24-M] Bobokalonov J.T. Prebiotic potential of sunflower pectin: an ex vivo analysis across multiple age groups [Text] / J. Firrman, L. Liu, K. Mahalak, J. Lemons, A. Narrowe, P. Van den Abbeele, A. Baudot, S. Deyaert, J.T. Bobokalonov, Z.K. Muhidinov, A. Moustafa, S. Higgins // ACS Fall 2025, August 17–21, 2025. – Washington, DC, USA, 2025. – Presentation, August 20, 2025.
[25-M] Bobokalonov J.T. Computational modeling of colon-targeted polymeric drug delivery systems based on in vitro–in vivo correlation [Text] / J.T. Bobokalonov, G.A. Kodirova, G.I. Komilova, S.J. Yusufi, Z.K. Muhidinov // Сборник тезисов докладов научно-практической конференции учёных Таджикистана и Узбекистана, 25 марта 2026 г. – Ташкент, Узбекистан, 2026. – С. 10.

Монография

[1-М] Бобокалонов Дж. Т. Пектин – основа для создания функциональной пищи : монография / З. К. Мухидинов, С. Р. Усманова, Дж. Т. Бобокалонов. – Душанбе : Сифат-Офсет, 2019. – 192 с.

Патентҳо оид ба ихтироот

[1-М] Способ формирования гидрогелевых микросфер для создания систем доставки лекарственных веществ : пат. TJ 971 Респ. Таджикистан / Ч. Т. Бобокалонов, А. С. Насриддинов, Ли Шу Лю. – Опубл. 05.10.2018, Бюл. № 143. – Душанбе : НПЦ Респ. Таджикистан, 2018.

РӮЙХАТИ ИХТИСОРАҲО ВА АЛОМАТҲОИ ШАРТӢ

3С - модели секамерагии рӯдаи ғафс
АС - қисми болоравандаи рӯдаи ғафс (ascending colon)
ASV - вариантҳои пайдарпаии ампликонҳо (amplicon sequence variants)
AUC - масоҳати зери каҷхатта «консентратсия–вақт»
DC - қисми поёнравандаи рӯдаи ғафс (descending colon)
DUF - диаултрафилтратсияи тангенсиалӣ
EVIVC - вобастагии коррелятсионии натиҷаҳои ex vivo ва in vivo
НМАР - пектини себии баландмолекулавӣ
IPA - кислотаи индол-3-пропионӣ
ISF - фраксияи ҳалнашавандаи наҳҳои ғизоӣ
IVIVC - вобастагии коррелятсионии натиҷаҳои in vitro ва in vivo
LGG - штамми пробиотикии Lacticaseibacillus rhamnosus GG
LMAP - пектини себии пастмолекулавӣ
MAG - геноми аз маълумоти метагеномӣ ҷамъоваришуда
РС - қисми проксималии рӯдаи ғафс (proximal colon)
PD - гуногунии филогенетикӣ (phylogenetic diversity)
PE - хатои пешгӯӣ (prediction error)
PERMANOVA - таҳлили дисперсионии бисёрченакаи пермутатсионӣ
РСА - таҳлили компонентҳои асосӣ
SC - модели якакамерагии рӯдаи ғафс
SF - фраксияи ҳалшавандаи наҳҳои ғизоӣ
SHIME - модели экосистемаи микробии рӯдаи инсон (Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem)
ТС - қисми кӯндаланги рӯдаи ғафс (transverse colon)
БМ - баландметилӣ (пектин ё системаи он)
БМ-ДЭП - пектини баландмолекулавии дараҷаи этерификатсияаш паст
З/П - зеин–пектин
КМ - каммолекулавӣ (пектин)
КРЗК - кислотаҳои равғании занҷирашон кӯтоҳ
ПМ-ДЭБ - пектини пастмолекулавии дараҷаи этерификатсияаш баланд
ША - шакли анъанавии доруворӣ

АННОТАЦИЯ

Бобокалонов Джамшед Толехмуродович

«Разработка систем доставки лекарственных средств на основе пектина и его роль в модуляции кишечной микробиоты»

Ключевые слова: пектин, зеин, гидрогелевые микросферы, доставка лекарственных средств, пироксикам, фармакокинетика, кишечная микробиота, короткоцепочечные жирные кислоты, пребиотики, пробиотики, метронидазол, амёбиаз.

Цель исследования. Разработка систем доставки лекарственных средств на основе пектина и зеина, изучение их фармакокинетических характеристик и влияния пектина на состав и метаболическую активность кишечной микробиоты.

Методы исследования. Использованы методы мембранной очистки биополимеров, ИК- и УФ-спектроскопии, ЯМР, ВЭЖХ, ГХ-МС, реометрии, исследования высвобождения лекарственных веществ *in vitro, ex vivo* и *in vivo*, моделирования кишечной микробиоты, секвенирования и статистического анализа.

Результаты и научная новизна. Разработан способ очистки пектина методом тангенциальной диаультрафильтрации, позволивший повысить содержание галактуроновой кислоты до 64,8%. Получены пектин-зеиновые гидрогелевые микросферы со степенью инкапсуляции лекарственного вещества до 93,8% и продолжительностью высвобождения более шести суток. Установлены зависимости свойств микросфер от состава полимерной матрицы и природы сшивающих ионов. Выявлены корреляции между результатами исследований *in vitro, ex vivo* и *in vivo* с коэффициентами детерминации 0,97 и 0,99. Показано, что молекулярные характеристики пектина влияют на состав кишечной микробиоты и образование короткоцепочечных жирных кислот. При комбинированном применении пектина и метронидазола у больных амёбиазом отмечено сокращение продолжительности госпитализации на 3,0 ± 1,0 дня по сравнению с контрольной группой.

Рекомендации по использованию. Полученные результаты могут применяться при разработке лекарственных форм с контролируемым высвобождением, стандартизации пектина, доклинической оценке систем доставки и изучении способов коррекции кишечной микробиоты.

Область применения: фармацевтическая технология, биотехнология, фармакология, микробиология, разработка лекарственных средств и пищевая промышленность.

АННОТАТСИЯ

Бобокалонов Ҷамшед Толеҳмуродович

«Таҳияи системаҳои барандагони маводи доруӣ дар асоси пектин ва нақши он дар модулятсияи микробиотаи руда»

Калимаҳои калидӣ: пектин, зеин, микросфераҳои гидрогелӣ, интиқоли воситаҳои доруворӣ, пироксикам, фармакокинетика, микробиотаи рӯда, кислотаҳои равғании кӯтоҳзанҷир, пребиотикҳо, пробиотикҳо, метронидазол, амёбиаз.

Мақсади таҳқиқот. Таҳияи системаҳои интиқоли воситаҳои доруворӣ дар асоси пектин ва зеин, омӯзиши хусусиятҳои фармакокинетикии онҳо ва муайян намудани таъсири пектин ба таркиб ва фаъолияти метаболикии микробиотаи рӯда мебошад.

Усулҳои таҳқиқот. Дар таҳқиқот усулҳои тозакунии мембранавии биополимерҳо, спектроскопияи инфрасурх ва ултрабунафш, резонанси магнитии ядроӣ, хроматографияи моеъи баландсамар, хромато-масс-спектрометрияи газӣ, реометрия, омӯзиши озодшавии моддаҳои доруворӣ дар шароити *in vitro, ex vivo* ва *in vivo*, моделсозии микробиотаи рӯда, секвенирониӣ ва таҳлили оморӣ истифода шуданд.

Натиҷаҳо ва навгонии илмӣ. Усули тозакунии пектин бо истифода аз диаултрафилтратсияи тангенсиалӣ таҳия гардид, ки миқдори кислотаи галактурониро то 64,8% зиёд намуд. Микросфераҳои гидрогелӣ дар асоси пектин ва зеин ҳосил карда шуданд, ки дараҷаи инкапсулатсияи моддаи доруворӣ дар онҳо то 93,8% ва давомнокии озодшавӣ зиёда аз шаш шабонарӯзро ташкил дод. Вобастагии хусусиятҳои микросфераҳо аз таркиби матритсаи полимерӣ ва табиати ионҳои дӯхтакунанда муайян карда шуд. Байни натиҷаҳои таҳқиқоти *in vitro, ex vivo* ва *in vivo* вобастагиҳои коррелятсионӣ бо коэффитсиентҳои детерминатсияи 0,97 ва 0,99 муқаррар гардиданд. Нишон дода шуд, ки хусусиятҳои молекулавии пектин ба таркиби микробиотаи рӯда ва ҳосилшавии кислотаҳои равғании кӯтоҳзанҷир таъсир мерасонанд. Ҳангоми истифодаи якҷояи пектин ва метронидазол дар беморони гирифтори амёбиаз давомнокии бистарӣ будан нисбат ба гурӯҳи назоратӣ 3,0 ± 1,0 рӯз кам гардид.

Тавсияҳо оид ба истифода. Натиҷаҳои таҳқиқотро барои таҳияи шаклҳои доруворӣ дорои озодшавии идорашаванда, стандартизатсияи пектин, арзёбии пешазклиникии системаҳои интиқоли дору ва омӯзиши роҳҳои танзими микробиотаи рӯда истифода бурдан мумкин аст.

Соҳаи истифода: технологияи фарматсевтӣ, биотехнология, фармакология, микробиология, таҳияи воситаҳои доруворӣ ва истеҳсоли хурока.

ABSTRACT

Bobokalonov Jamshed Tolehmurodovich

“Development of Drug Delivery Systems Based on Pectin and Its Role in Modulating the Gut Microbiota”

Keywords: pectin, zein, hydrogel microspheres, drug delivery, piroxicam, pharmacokinetics, gut microbiota, short-chain fatty acids, prebiotics, probiotics, metronidazole, amoebiasis.

Objective. To develop pectin- and zein-based drug delivery systems, investigate their pharmacokinetic properties, and evaluate the effects of pectin on the composition and metabolic activity of the gut microbiota.

Methods. The study employed membrane purification, infrared and ultraviolet spectroscopy, nuclear magnetic resonance spectroscopy, high-performance liquid chromatography, gas chromatography–mass spectrometry, rheometry, in vitro, ex vivo and in vivo drug release studies, experimental gut microbiota models, sequencing, and statistical analysis.

Results and scientific novelty. A pectin purification method based on tangential diaultrafiltration was developed, increasing the galacturonic acid content to 64.8%. Pectin–zein hydrogel microspheres were prepared with drug encapsulation efficiency reaching 93.8% and sustained release lasting more than six days. The influence of polymer composition and crosslinking ions on microsphere properties and drug release was established. Correlations between in vitro, ex vivo and in vivo results were identified, with coefficients of determination of 0.97 and 0.99. The molecular characteristics of pectin were found to affect gut microbial composition and short-chain fatty acid production. In patients with amoebiasis, combined administration of pectin and metronidazole reduced hospitalization by 3.0 ± 1.0 days compared with the control group.

Recommendations. The findings may be used in the development of controlled-release dosage forms, pectin standardization, preclinical evaluation of drug delivery systems, and research into gut microbiota modulation.

Field of application: pharmaceutical technology, biotechnology, pharmacology, microbiology, drug development, and food industry.