

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.22

КНАZZU

doi: 10.17072/1994-9952-2024-2-205-211.



Исследование влияния оксопроизводных азотсодержащих гетероциклических соединений на микробиом кишечника крыс

Галина Андреевна Триандафилова¹, Олег Николаевич Октябрьский²✉

^{1, 2} Институт экологии и генетики микроорганизмов ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

¹ lindick@ya.ru

²✉ oktyabr@iegm.ru

Аннотация. Изучено влияние на микробиом кишечника крыс трех соединений, относящихся к разным классам оксопроизводных азотсодержащих гетероциклов: CBR-384, CBR-376 и CBR-124. Данные вещества обладают высокой биологической активностью в моделях на животных и способны влиять по нескольким физиологическим параметрам на бактерии *Escherichia coli*, которые являются одним из компонентов микробиома человека и животных. Впервые показано существенное влияние CBR-384 на микробиомный состав кишечника крыс: наблюдалось достоверное снижение количества патогенных бактерий родов *Shigella* и *Stenotrophomonas* в 10 и 12 раз соответственно. Кроме того, вещество вызывало увеличение соотношения родов *Akkermansia* / *Lachnospiraceae*, которое, по данным литературных источников, является положительным изменением микробиомного состава. При воздействии CBR-376 наблюдалось уменьшение количества бактерий семейства *Lachnospiraceae* в 12.9 раз и увеличение представителей семейств *Xanthomonadaceae* (в 2 раза), *Enterobacterales* (в 3 раза) и *Pseudomonadaceae* (в 10 раз). CBR-124 не вызывал значимых изменений микробиомного состава кишечника крыс.

Ключевые слова: микробиом, оксопроизводные азотсодержащих гетероциклов, биологическая активность

Для цитирования: Триандафилова Г. А., Октябрьский О. Н. Исследование влияния оксопроизводных азотсодержащих гетероциклических соединений на микробиом кишечника крыс // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 2. С. 205–211. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-2-205-211>.

Благодарности: работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: АААА-А19-119112290009-1, и при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 20-34-90016. Авторы выражают благодарность Красных Ольге Петровне и Ботевой Анастасии Андреевне за предоставленные образцы соединений.

MICROBIOLOGY

Original article

Study of the influence of oxo-derivates of nitrogen-containing heterocycles compounds on the intestinal microbiome composition of rats

Galina A. Triandafilova¹, Oleg N. Oktyabrsky²✉

^{1, 2} Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, RAS, Perm, Russia

¹ lindick@ya.ru

²✉ oktyabr@iegm.ru

Abstract. The effect on the intestinal microbiome of rats of three compounds belonging to different classes of oxo-derivatives of nitrogen-containing heterocycles: CBR-384, CBR-376 and CBR-124 was studied. These substances have high biological activity in animal models and are capable to influence several physiological parameters of *Escherichia coli* bacteria, which are one of the components of the microbiome of humans and animals. For the first time, a important effect of CBR-384 on the intestinal microbiome composition of rats was shown: a significant decrease in the number of pathogenic bacteria of the genera *Shigella* and *Stenotrophomonas* was observed by 10 and 12 times, respectively. In addition, the substance caused an increase in the ratio of the

genera *Akkermansia* / *Lachnospiraceae*, which, according to literature sources, is a positive change in the microbiome composition. When exposed to CBR-376, there was a 12.9-fold decrease in the number of bacteria from the family *Lachnospiraceae* and an increase in representatives of the families *Xanthomonadaceae* (2-fold), *Enterobacterales* (3-fold) and *Pseudomonadaceae* (10-fold). CBR-124 did not cause significant changes in the intestinal microbiome composition of rats.

Keywords: microbiome; oxo derivatives of nitrogen-containing heterocycles, biological activity

For citation: Triandafilova G. A., Oktyabrsky O. N. [Study of the influence of oxo-derivates of nitrogen-containing heterocycles compounds on the intestinal microbiome composition of rats]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 2 (2024): pp. 205-211. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-2-205-211>.

Acknowledgments: the research was supported by the state assignment AAAA-A19-119112290009-1 and by the grant of Russian Foundation of Basic Research, project № 20-34-90016. The authors are grateful to Krasnykh Olga Petrovna and Boteva Anastasia Andreevna for providing samples of compounds.

Введение

Поиск более безопасных для организма человека лекарственных препаратов, обладающих низким общетоксическим действием и отсутствием побочных эффектов, является актуальной задачей. В этой связи все большее внимание уделяется исследованию химических соединений, перспективных для использования в качестве лекарств, на микробиом человека [Marchesi, Ravel, 2015]. Активность микроорганизмов, входящих в микробиом, играет важную роль в пищеварении, секреции полезных метаболитов, в том числе витаминов К и группы В. Бактерии способны к биотрансформации лекарственных препаратов, изменяя их биологическую активность [Enright et al., 2016]. При пероральном применении лекарственного вещества происходит его взаимодействие с представителями кишечной микрофлоры, которое может привести к изменению микробиомного состава. Изменения в составе микробиома коррелируют с заболеваниями желудочно-кишечного тракта и нервной системы [Kho, Lal, 2018; Rowland et al., 2018].

Целью настоящей работы является изучение влияния трех представителей оксопроизводных азотсодержащих гетероциклов (ОАГ), планируемых к использованию в качестве лекарственных препаратов, на микробиом лабораторных крыс. Представители (ОАГ), содержащие енаминоновый фрагмент ($N-C=C-O$), рассматриваются как универсальные блоки для создания новых биологически активных молекул. Среди представителей этой группы были обнаружены вещества, обладающие противомикробной, анальгетической, противовоспалительной, противосудорожной, противораковой активностью [Boteva et al., 2019; Jiang et al., 2020; Gao et al., 2023].

В настоящее время резко возрастает число работ по исследованию количественных и качественных характеристик микробиома человека и животных. Актуально изучение влияния различных факторов на эти характеристики и поиск оптимального набора методов и подходов для изучения действия перспективных химических соединений на микробиом. Настоящая работа вносит вклад в решение этой проблемы. Полученные данные могут быть использованы для определения корреляции между структурами веществ и их свойствами и прогноза возможных взаимодействий с кишечными бактериями.

Материалы и методы исследования

Забор образцов кала проводили в рамках исследования субхронической токсичности на лабораторных крысах линии Sprague Dawley. Животные были разделены на 4 группы (по 3 самца и 3 самки в группе). Введение исследуемых веществ проводили *per os* ежедневно в течение 14 дней. Исследуемая доза препаратов – 30 мг/кг, соответствует двум терапевтическим дозам. Суспензию веществ готовили ежедневно путем перетирания навески с 1%-ной крахмальной слизью. Расчет объема введения проводили индивидуально для каждого животного, исходя из соотношения 0.1 мл суспензии на 100 г веса крысы. Животным контрольной группы вводили 1%-ную крахмальную слизь. Забор образцов кала проводили до начала введения веществ и после полного курса введения.

Секвенирование образцов кала крыс проводили с использованием оборудования ЦКП «Геном» института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (http://www.eimb.ru/rus/ckp/ccu_genome_c.php) при непосредственном участии соавтора настоящей статьи Г.А. Триандафиловой.

Замороженные образцы помещали в контейнер со льдом для разморозки на 30 мин. Шпателем отбирали навеску образца массой 10 мкг и помещали в пробирку для гомогенизации, содержащие керамические шарики MagNA Lyser Green Bead (Roche, Швейцария). К навеске образца добавляли 500 мкл лизирующего буфера MagNA Pure Bacteria Lysis Buffer (Roche, Германия). Далее образцы гомогенизировали с помощью автоматического гомогенизатора MagNA Lyser (Roche, Швейцария) согласно инструкции производителя, после чего добавляли 20 мкл протеиназы К (Qiagen, Германия) и инкубировали в течение 30 мин. при 65°C, затем еще 10 мин. при 95°C. Затем образцы центрифугировали при 12 000 об/мин в течение 2 мин. Из полученного супернатанта (400 мкл) выделяли тотальную ДНК на приборе для автоматизи-

ческого выделения нуклеиновых кислот Magna Pure (Roche, Швейцария) с использованием реагентов MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I (Roche) согласно инструкции производителя. Выделенную ДНК хранили при -20°C . Для качественной и количественной оценки ДНК использовали NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, США). Подготовка 16S метагеномных библиотек осуществлялась в соответствии с протоколом 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (Illumina, США). Первый раунд амплификации переменных участков V3-V4 гена 16S рНК проводили с использованием прямого (TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG) и обратного (США). Очищенные ампликоны смешивали эквимолярно, качество приготовленного пула библиотек проводили на приборе Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, США) с использованием набора Agilent DNA 1000 Kit Bioanalyzer (Agilent Technologies, США). Секвенирование проводили на приборе MiSeq (Illumina, США) в режиме парно-концевых прочтений. Данные секвенирования анализировали с использованием MiSeq Reporter (Illumina, США) (GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC) праймеров по программе амплификации (амплификатор Biorad T100, США): $95^{\circ}\text{C} - 3$ мин.; 30 циклов: $95^{\circ}\text{C} - 30$ с., $55^{\circ}\text{C} - 30$ с., $72^{\circ}\text{C} - 30$ с.; $72^{\circ}\text{C} - 5$ мин.; 4°C . Очистку ПЦР-продуктов осуществляли с использованием шариков Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, США) в соответствии с протоколом производителя.

Второй раунд амплификации для двойного индексирования образцов осуществляли с использованием комбинации специфических индексов Nextera XT Index kit (Illumina, США). Программа амплификации (амплификатор Biorad T100): $95^{\circ}\text{C} - 3$ мин.; 8 циклов: $95^{\circ}\text{C} - 30$ с., $55^{\circ}\text{C} - 30$ с., $72^{\circ}\text{C} - 30$ с.; $72^{\circ}\text{C} - 5$ мин.; 4°C .

Очистку ПЦР-продуктов осуществляли с использованием шариков Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, США) в соответствии с протоколом производителя. Концентрацию полученных библиотек определяли с помощью флуориметра Qubit® 2.0 (Invitrogen, США) с использованием набора dsDNA High-Sensitivity Assay Kit (Invitrogen, США). Очищенные ампликоны смешивали эквимолярно, качество приготовленного пула библиотек проводили на приборе Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, США) с использованием набора Agilent DNA 1000 Kit Bioanalyzer (Agilent Technologies, США). Секвенирование проводили на приборе MiSeq (Illumina, США) в режиме парно-концевых прочтений. Данные секвенирования анализировали с использованием MiSeq Reporter (Illumina, США).

Для биоинформатической обработки данных последовательности прямых и обратных прочтений были объединены в единый ампликон при помощи MeFiT. Далее для анализа ампликонов использовали программное обеспечение DADA2. После удаления последовательностей праймеров и фильтрации прочтений по их качеству были выделены последовательности RSV (ribosomal sequence variant). Химерные RSV были исключены из анализа. Аннотация окончательного списка RSV проводилась также при помощи DADA2 и базы данных Silva 138.1. Далее был проведен подсчет индексов альфа-разнообразия, оценено бета-разнообразие по различным метрикам (пакеты vegan, fossil) и проведено сравнение относительной представленности таксонов между группами с учетом композиционности данных по микробиому (пакет ALDEx2). Достаточность глубины секвенирования (количества прочтений) проверяли с помощью анализа кривых разрежения (на уровне RSV, родов и семейств).

Результаты и их обсуждение

Изучалось влияние на микробиом кишечника крыс трех соединений, относящихся к разным классам оксопроизводных азотсодержащих гетероциклов: CBR-384, CBR-376 и CBR-124. Предварительные эксперименты показали высокую биологическую активность этих соединений по нескольким физиологическим параметрам на бактерии *Escherichia coli*, являющиеся одним из компонентов микробиома человека и животных [Triandafilova et al., 2023].

Секвенирование фрагментов гена 16S рНК, полученных из фекалий крыс до начала введения исследуемых веществ, показало гетерогенность микробиомных сообществ разных особей. Большинство бактерий микробиомных сообществ ЖКТ принадлежали к филумам *Firmicutes* (57%), *Verrucomicrobiota* (23%) и *Actinobacteriota* (9%). Среди бактерий филума *Firmicutes* большинство бактерий относились к классам *Clostridia* (80%) и *Bacilli* (18%). Филум *Verrucomicrobiota* был представлен классом *Verrucomicrobiae*, филум *Actinobacteriota* – классом *Coriobacteriia*.

После двухнедельного введения крахмальной слизи наблюдалось значимое изменение состава микробиомов даже на уровне филумов во всех группах. Так, в контрольной группе, получавшей крахмальную слизь, достоверно уменьшилось количество представителей филума *Patescibacteria* в 4.7 раза за счет бактерий рода *Candidatus saccharimonas*. Представители данного филума являются в основном обитателями грунтовых вод и озер [Tian et al., 2020]. Однако бактерии порядка *Saccharimonadales* были обнаружены в ротовой полости человека, кишечнике и на кожных покровах, а их присутствие коррелировало с воспалительными заболеваниями слизистых покровов [Gámez-Valdez et al., 2021]. Кроме того, у 5 из 6 животных наблюдалось уменьшение количества бактерий вида *Akkermansia muciniphila*, как минимум в 2 раза,

относящихся к филуму *Verrucomicrobia*. *Akkermansia muciniphila* играет ключевую роль в формировании микробного сообщества на границе слизистой оболочки и клеток кишечника человека, т.к. способна метаболизировать муцин [Derrien et al., 2017]. По последним данным, снижение количества этих бактерий в кишечнике коррелирует с развитием воспалительных процессов и нарушением обмена веществ в организме человека [Chen et al., 2023]. В то же время значительно увеличилось количество бактерий, относящихся к классу *Clostridia*, за счет представителей отрядов *Clostridia UCG-014*, *Oscillospirales* и *Monoglobales*. Примечательно, что бактерии отрядов *Clostridia UCG-014* и *Monoglobales* не обнаружены в образцах, взятых до введения крахмальной слизи. Эти бактерии принадлежат к очень широкому и гетерогенному классу, среди которых есть патогенные виды, а также бактерии, продуцирующие полезные короткоцепочечные жирные кислоты. Роль отряда *Clostridia UCG-014* пока недостаточно изучена, однако результаты секвенирования показывают, что данные бактерии часто встречаются в микробиомном сообществе кишечника человека. *Oscillospirales*, судя по всему, также являются представителями нормальной микрофлоры кишечника, а их количество напрямую коррелирует с отсутствием у человека проблем с избыточным весом и нормальным уровнем холестерина в крови. Сами бактерии являются продуцентами короткоцепочечных жирных кислот, например, бутирата, и рассматриваются в качестве пробиотиков [Yang et al., 2021].

Соединение CBR-384 наибольшее влияние оказало на бактерии вида *Akkermansia muciniphila*, относящегося к филуму *Verrucomicrobia*, – их количество увеличилось в 3.6 раза. При этом в контрольной группе наблюдалась противоположная тенденция. Как и при введении крахмальной слизи, более чем в 100 раз увеличилось количество бактерий отряда *Clostridia UCG-014*. Также в 1.8 раза увеличилось количество бактерий семейства *Lactobacillaceae*, относящегося к классу *Bacilli* филума *Firmicutes*. Данные бактерии являются важными представителями сообщества молочнокислых бактерий кишечника и отвечают за превращение лактозы и других углеводов в молочную кислоту [Heeney et al., 2018]. CBR-384 вызвал достоверное снижение количества представителей классов *Alphaproteobacteria* и *Gammaproteobacteria* филума *Proteobacteria* в 16 и 10 раз соответственно. Класс *Alphaproteobacteria* в основном был представлен семействами *Rhizobiaceae* и *Caulobacterales*. Большинство представителей *Rhizobiaceae* относятся к симбионтам растений, способным связывать азот. Однако они встречаются и в кишечнике крыс [Liu et al., 2018]. Члены семейства *Caulobacterales* были выделены из пресной воды, почвы, морской воды, растений, животных и человека. Некоторые виды данного семейства являются патогенными [Abraham et al., 2014]. Снижение количества представителей класса *Gammaproteobacteria* произошло за счет семейств *Xanthomonadaceae* (в 12 раз), *Enterobacteriales* (в 7 раз) и *Pseudomonadaceae* (в 11 раз). Бактерия *Stenotrophomonas maltophilia*, относящаяся к классу *Xanthomonadaceae*, встречается во многих местах обитания. Она представляет серьезную опасность для людей с иммунодефицитом, т.к. обладает множественной устойчивостью к антибиотикам и все чаще колонизирует катетеры и протезы [An & Berg, 2018]. В результате воздействия CBR-384 наблюдалось снижение количества *S. maltophilia* в 12 раз. Также данное вещество способствовало уменьшению в 10 раз количества другого патогена – представителя рода *Shigella*, относящегося к классу *Enterobacteriales*. Кроме патогенов, CBR-384 вызвал уменьшение количества некоторых бактерий – представителей нормальной микрофлоры кишечника. Так, в 4 раза снизилось количество бактерий, относящихся к семейству *Eggerthellaceae* класса *Coriobacteriia*. Бактерии данного семейства более характерны для микрофлоры кишечника грызунов [Hoyles, 2019]. Известно, что некоторые представители *Eggerthellaceae* способны метаболизировать изофлавоны [Soukup et al., 2021]. Другие бактерии, представители нормальной микрофлоры кишечника, количество которых уменьшилось в 2.3 раза, относятся к семейству *Lachnospirales* класса *Clostridia*. Представители данного семейства являются облигатными анаэробами и способны метаболизировать различные растительные полисахариды до короткоцепочечных жирных кислот и спиртов. Несмотря на способность бактерий продуцировать полезные для человека метаболиты, накапливаются данные о взаимосвязи этих бактерий с ожирением, болезнями печени и диабетом [Vacca et al., 2020].

При действии CBR-376 на микробиом кишечника крыс, в отличие от контрольной группы, наблюдалось сохранение количества бактерий *Akkermansia muciniphila* филума *Patescibacteria*. При этом в 12.9 раз уменьшилось количество представителей рода *Lachnospiraceae* UCG-006. Как отмечалось ранее, увеличение соотношения *Akkermansia* / *Lachnospiraceae* рассматривается как положительное изменение микробиомного состава [Chen et al., 2023]. Как и в контрольной группе, сохранилось увеличение количества бактерий класса *Clostridia* за счет представителей отрядов *Clostridia UCG-014*, *Oscillospirales*, *Monoglobales*. Также под действием данного вещества произошло увеличение количества бактерий рода *Lactobacillus* в 10 раз и бактерий класса *Vampirivibrionia* в 5 раз. Представители филума *Cyanobacteria*, а конкретно класса *Vampirivibrionia*, являются единственными нефотосинтезирующими цианобактериями, обнаруженными в ЖКТ человека. Несмотря на большое количество исследований взаимосвязи количества этих бактерий с различными заболеваниями человека, достоверных сведений о положительной либо отрицательной их роли нет [Hoyles, 2019]. В группе CBR-376 наблюдалось увеличение количества представителей класса *Gammaproteobacteria*, которое произошло за счет семейств *Xanthomonadaceae* (в 2 ра-

за), *Enterobacterales* (в 3 раза) и *Pseudomonadaceae* (в 10 раз). Поскольку среди представителей данного класса достаточно часто встречаются патогенные и условно-патогенные бактерии, увеличение количества таких бактерий, вероятно, стоит рассматривать как негативное событие.

В группе животных, получавших соединение CBR-124, наблюдались изменения микробиомного состава, близкие к тем, которые наблюдались в контрольной группе. Снизилось количество бактерий филумов *Patescibacteria* и *Verrucomicrobia*, в основном, за счет бактерий рода *Candidatus Saccharimonas* в первом случае и бактерий вида *Akkermansia muciniphila* во втором случае. Одновременно увеличивалось количество бактерий класса *Clostridia* и семейства *Lactobacillaceae* класса *Bacilli*.

Заключение

Изучено влияние на микробиом кишечника крыс трех соединений, относящихся к разным классам оксипроизводных азотсодержащих гетероциклов (CBR-384, CBR-376 и CBR-124) и обладающих высокой биологической активностью по нескольким физиологическим параметрам на бактерии *Escherichia coli*, одного из компонентов микробиома человека и животных. Установлено, что из трех соединений наибольшее влияние на микробиомный состав кишечника крыс оказывает соединение CBR-384. Вызванные им уменьшение количества патогенных бактерий и увеличение бактерий полезной микрофлоры позволяют рассматривать данное вещество в качестве потенциального модулятора микрофлоры кишечника человека. Соединение CBR-376 вызывало увеличение количества как полезных бактерий, так и представителей классов, содержащих патогены. При дальнейшей разработке на базе данной молекулы лекарственного средства необходимо учитывать возможность негативного влияния данного вещества на микрофлору. Третье соединение (CBR-124) не оказывало значительного влияния на микробный состав кишечника крыс. Стоит отметить, что широко используемая в фармакологических экспериментах матрица для введения исследуемых химических веществ – крахмальная слизь – сама способна вызывать изменения микробиомного состава. Данный факт необходимо учитывать при планировании дизайна эксперимента и обработке полученных данных.

Список источников

1. Abraham W.R., Rohde M., Bennisar A. The family *Caulobacteraceae* // *The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria*. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2014. P. 179–205.
2. An S.-Q., Berg G. *Stenotrophomonas maltophilia* // *Trends in Microbiology*. 2018. V. 26(7). P. 637–638. DOI: 10.1016/j.tim.2018.04.006.
3. Boteva A.A. et al., Synthesis and analgesic activity of [b]-annelated 4-quinolones // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2019. Vol. 53. P. 616–619. DOI: 10.1007/s11094-019-02048-2.
4. Chen P.C. et al. The Alteration of *Akkermansiaceae/Lachnospiraceae* ratio is a microbial feature of antibiotic-induced microbiota remodeling // *Bioinformatics and Biology Insights*. 2023. Vol. 17. DOI: 10.1177/11779322231166229.
5. Derrien M. et al. *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions // *Microbial Pathogenesis*. 2017. Vol. 106. P. 171–181. DOI: 10.1016/j.micpath.2016.02.005.
6. Enright E.F. et al. The impact of the gut microbiota on drug metabolism and clinical outcome. // *Yale Journal of Biology and Medicine*. 2016. Vol. 89. P. 375–382.
7. Gámez-Valdez J.S et al. Differential analysis of the bacterial community in colostrum samples from women with gestational diabetes mellitus and obesity // *Scientific Reports*. 2021. Vol. 11(1). Art. 24373. DOI: 10.1038/s41598-021-03779-7.
8. Gao J., Hou H., Gao F. Current scenario of quinolone hybrids with potential antibacterial activity against ESKAPE pathogens // *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2023. Vol. 247. № 115026. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.115026.
9. Heeney, D.D., Gareau M.G., Marco M.L. Intestinal *Lactobacillus* in health and disease, a driver or just along for the ride? // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2018. Vol. 49. P. 140–147.
10. Hoyles L. Diversity of the class *Coriobacteriia* within different ecosystems // *Access Microbiology*. 2019. Vol. 1(7). P. 1. DOI: 10.1099/acmi.afm2019.po0004.
11. Jiang S., Awadasseid A., Narva S. Anti-cancer activity of benzoxazinone derivatives via targeting c-Myc G-quadruplex structure // *Life Sciences*. 2020. Vol. 258, № 118252. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118252.
12. Kho Z.Y., Lal S.K. The human gut microbiome – a potential controller of wellness and disease. // *Frontiers in Microbiology*. 2018. Vol. 9. P. 1–23. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01835.
13. Liu Y. et al. Disorder of gut amino acids metabolism during CKD progression is related with gut microbiota dysbiosis and metagenome change // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2018. Vol. 149. P. 425–435. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.11.040.
14. Marchesi J.R., Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal // *Microbiome*. 2015. Vol. 3. P. 1–3. DOI: 10.1186/s40168-015-0094-5.

15. Rowland I. et al. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components // *European Journal of Nutrition*. 2018. Vol. 57. P. 1–24. DOI: 10.1007/s00394-017-1445-8.
16. Soukup S.T. et al. Metabolism of daidzein and genistein by gut bacteria of the class *Coriobacteriia* // *Foods*. 2021. Vol. 10(11). 2741. DOI: 10.3390/foods10112741.
17. Tian R. et al. Small and mighty: adaptation of superphylum *Patescibacteria* to groundwater environment drives their genome simplicity // *Microbiome*. 2020. 8(1). Art. 51. DOI: 10.1186/s40168-020-00825-w.
18. Triandafilova G. et al. Antimicrobial and antioxidant activity of some nitrogen-containing heterocycles and their acyclic analogues // *Indian Journal of Microbiology*. 2023. DOI: 10.1007/s12088-023-01158-6.
19. Vacca M. et al. The controversial role of human gut *Lachnospiraceae* // *Microorganisms*. 2020. Vol. 8(4). 573. DOI: 10.3390/microorganisms8040573.
20. Yang J. et al. *Oscillospira* - a candidate for the next-generation probiotics // *Gut Microbes*. 2021. Vol. 13(1). Art. 1987783. DOI: 10.1080/19490976.2021.1987783.

References

1. Abraham W.R., Rohde M., Bennasar A. The family *Caulobacteraceae*. The Prokaryotes: *Alphaproteobacteria* and *Betaproteobacteria*. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag, 2014, pp. 179-205. DOI: 10.1007/978-3-642-30197-1.
2. An S.-Q., Berg G. *Stenotrophomonas maltophilia*. *Trends in Microbiology*. V. 26, No. 7 (2018): pp. 637-638. DOI: 10.1016/j.tim.2018.04.006.
3. Boteva A.A., Fefilova I.V., Triandafilova G.A., Maslova V.V., Solodnikov S.Yu., Krasnykh O.P. Synthesis and analgesic activity of [b]-annulated 4-quinolones. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. V. 53 (2019): pp. 616-619. DOI: 10.1007/s11094-019-02048-2.
4. Chen P., Lin M., Lin T., Kang T., Ruan J. The Alteration of *Akkermansiaceae/Lachnospiraceae* ratio is a microbial feature of antibiotic-induced microbiota remodeling. *Bioinformatics and Biology Insights*. V. 17 (2023): pp. 1-12. DOI: 10.1177/11779322231166229.
5. Derrien M., Belzer C., de Vos W. *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions. *Microbial Pathogenesis*. V.106 (2017): pp. 171-181. DOI: 10.1016/j.micpath.2016.02.005.
6. Enright E., Gahan C., Joyce S., Griffin B. The impact of the gut microbiota on drug metabolism and clinical outcome. *Yale Journal of Biology and Medicine*. V. 89 (2016): pp. 375-382.
7. Gámez-Valdez J.S., García-Mazcorro J., Montoya-Rincón A., Rodríguez-Reyes D., Jiménez-Blanco G., Alanís Rodríguez M., Pérez-Cabeza de Vaca R., Alcorta-García M., Brunck M., Lara-Díaz V., Licona-Cassani C. Differential analysis of the bacterial community in colostrum samples from women with gestational diabetes mellitus and obesity. *Scientific Reports*. V. 11, No 1 (2021); p. 24373. DOI: 10.1038/s41598-021-03779-7.
8. Gao J., Hou H., Gao F. Current scenario of quinolone hybrids with potential antibacterial activity against ESKAPE pathogens. *European Journal of Medicinal Chemistry*. V. 247 (2023): p. 115026. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.115026.
9. Heeney, D.D., Gareau M.G., Marco M.L. Intestinal *Lactobacillus* in health and disease, a driver or just along for the ride? *Curr. Opin. Biotechnol.* V. 49 (2018): pp. 140-147.
10. Hoyles L. Diversity of the class *Coriobacteriia* within different ecosystems. *Access Microbiology*. Vol. 1, No. 7 (2019): p. 1. DOI: 10.1099/acmi.afm2019.po0004.
11. Jiang S., Awadasseid A., Narva S. Anti-cancer activity of benzoxazinone derivatives via targeting c-Myc G-quadruplex structure. *Life Sciences*. V. 258 (2020): 118252. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118252.
12. Kho Z.Y., Lal S.K. The human gut microbiome - a potential controller of wellness and disease. *Frontiers in Microbiology*. V. 9 (2018): pp. 1-23. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01835.
13. Liu Y., Li J., Yu J., Wang Y., Lu J., Shang E., Zhu Z., Guo J., Duan J. Disorder of gut amino acids metabolism during CKD progression is related with gut microbiota dysbiosis and metagenome change. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. V. 149 (2018): pp. 425-435. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.11.040.
14. Marchesi J.R., Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome*. V. 3 (2015): pp. 1-3. DOI: 10.1186/s40168-015-0094-5.
15. Rowland I., Gibson G., Heinken A., Scott K., Swann J., Thiele I., Tuohy K. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *European Journal of Nutrition*. V. 57 (2018): pp. 1-24. DOI: 10.1007/s00394-017-1445-8.
16. Soukup S.T., Stoll D., Danylec N., Schoepf A., Kulling S., Huch M. Metabolism of daidzein and genistein by gut bacteria of the class *Coriobacteriia*. *Foods*. V. 10, No. 11 (2021): p. 2741. DOI: 10.3390/foods10112741.
17. Tian R., Ning D., He Z., Zhang P., Spencer S., Gao S., Shi W., Wu L., Zhang Y., Yang Y., Adams B., Rocha A., Detienne B., Lowe K., Joyner D., Klingeman D., Arkin A., Fields M., Hazen T., Stahl D., Alm E., Zhou J. Small and mighty: adaptation of superphylum *Patescibacteria* to groundwater environment drives their genome simplicity. *Microbiome*. V. 8, No. 1 (2020): p. 51. DOI: 10.1186/s40168-020-00825-w.

18. Triandafilova G., Smirnova G., Krasnykh O., Boteva A., Oktyabrsky O. Antimicrobial and antioxidant activity of some nitrogen-containing heterocycles and their acyclic analogues. *Indian Journal of Microbiology*. (2023). DOI: 10.1007/s12088-023-01158-6.

19. Vacca M., Celano G., Calabrese F., Portincasa P., Gobetti M., Angelis M. The controversial role of human gut *Lachnospiraceae*. *Microorganisms*. V. 8, No. 4 (2020): p. 573. DOI: 10.3390/microorganisms8040573.

20. Yang J., Li Y., Wen Z., Liu W., Meng L., Huang H. *Oscillospira* - a candidate for the next-generation probiotics. *Gut Microbes*. V. 13, No. 1 (2021): 1987783. DOI: 10.1080/19490976.2021.1987783.

Статья поступила в редакцию 24.04.2024; одобрена после рецензирования 21.05.2024; принята к публикации 10.06.2024.

The article was submitted 24.04.2024; approved after reviewing 21.05.2024; accepted for publication 10.06.2024.

Информация об авторах

Г. А. Триандафилова – инженер лаборатории физиологии и генетики микроорганизмов;

О. Н. Октябрьский – д-р биол. наук, профессор, зав. лабораторией физиологии и генетики микроорганизмов.

Information about the authors

G. A. Triandafilova – engineer in the Laboratory of physiology and genetics of microorganisms;

O. N. Oktyabrsky – doctor of biology, professor, director of Laboratory of physiology and genetics of microorganisms.

Вклад авторов:

Триандафилова Г. А. – проведение эксперимента по изучению субхронической токсичности веществ, забор кала, подготовка образцов для секвенирования.

Октябрьский О. Н. – общее руководство, написание текста.

Contribution of the authors:

Triandafilova G.A. – Conducting an experiment to study the subchronic toxicity of substances, collecting stool, preparing samples for sequencing.

Oktyabrsky O.N. – general guidance, text writing.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.