

УДК 616.72-002-031.13



Противовоспалительные и антирезорбтивные эффекты ацилзамещенных производных хромона в условиях экспериментального ревматоидного артрита

Д.И. Поздняков¹, К.Н. Корянова¹, К.К. Арустамян¹, Ч.М. Маргушев¹,
В.С. Баскаева¹, В.М. Руковицина¹, Х.Н. Насрулаева², Е.А. Олохова³

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования
«Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
357532, Россия, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, д. 11

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Дагестанский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
367000, Россия, г. Махачкала, пл. Ленина, д. 1

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
660005, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1

E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Получена 10.09.2023

После рецензирования 12.11.2023

Принята к печати 23.12.2023

Ревматоидный артрит (РА) – системное воспалительное заболевание, поражающее преимущественно мелкие и крупные суставы. Поиск новых лекарственных средств для лечения РА ведется постоянно, при этом перспективным направлением для создания новых противоревматических средств можно считать целенаправленный синтез политаргетных малых молекул.

Цель. Оценить противовоспалительное и антирезорбтивное действие ацилзамещенных производных хромона в условиях экспериментального ревматоидного артрита у крыс.

Материалы и методы. РА моделировали у крыс путем введения суспензии человеческого коллагена II типа и полного адьюванта Фрейнда (в соотношении 1:1) под подошвенный апоневроз задней конечности животного. Анализируемые вещества с шифрами ХЗА7 и ХЗА9 в дозе 20 мг/кг и препарат сравнения дексаметазон в дозе 3 мг/кг вводили внутривентрально на протяжении 28-ми дней с момента воспроизведения РА. На 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день эксперимента определяли выраженность клинических проявлений РА. По истечении 28-ми дней у крыс в сыворотке крови оценивали изменение содержания цитокинов: фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α), интерлейкинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10 и ИЛ-12). В синовиальных тканях определяли изменение активности миелопероксидазы и концентрации матриксных металлопротеиназ (ММП) 2-го и 9-го типа.

Результаты. В ходе исследования было показано, что применение анализируемых соединений ХЗА7 и ХЗА9, а также препарата сравнения способствовало уменьшению выраженности клинических проявлений РА, начиная с 14-го дня эксперимента. В дальнейшем было продемонстрировано, что у животных, получавших дексаметазон, содержание цитокинов в сыворотке крови уменьшилось по отношению к нелеченым животным: ФНО-α – на 57,8% ($p < 0,05$), ИЛ-1 – 64,1% ($p < 0,05$), ИЛ-6 – 59,1% ($p < 0,05$) и ИЛ-12 – 72,3% ($p < 0,05$), при повышении уровня ИЛ-10 – на 75,4% ($p < 0,05$). Аналогично изменялся цитокиновый профиль сыворотки крови при введении животным исследуемых соединений. Также стоит отметить, что на фоне введения дексаметазона, веществ ХЗА7 и ХЗА9 активность миелопероксидазы снизилась на 41,7% ($p < 0,05$), 61,7% ($p < 0,05$) и 65,0% ($p < 0,05$) соответственно, тогда как концентрация ММП2 уменьшилась на 24,0% ($p < 0,05$), 38,5% ($p < 0,05$) и 34,4% ($p < 0,05$) соответственно, а ММП9 – на 13,5% ($p < 0,05$), 37,9% ($p < 0,05$) и 35,6% ($p < 0,05$).

Для цитирования: Д.И. Поздняков, К.Н. Корянова, К.К. Арустамян, Ч.М. Маргушев, В.С. Баскаева, В.М. Руковицина, Х.Н. Насрулаева, Е.А. Олохова. Противовоспалительные и антирезорбтивные эффекты ацилзамещенных производных хромона в условиях экспериментального ревматоидного артрита. *Фармация и фармакология*. 2023;11(5):422-431. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-422-431

© Д.И. Поздняков, К.Н. Корянова, К.К. Арустамян, Ч.М. Маргушев, В.С. Баскаева,
В.М. Руковицина, Х.Н. Насрулаева, Е.А. Олохова, 2023

For citation: D.I. Pozdnyakov, K.N. Koryanova, K.K. Arustamyan, Ch.M. Margushev, V.S. Baskaeva, V.M. Rukovitsina, H.N. Nasrulaeva, E.A. Olokhova. Anti-inflammatory and antiresorptive effects of acyl substitution chromone derivatives in experimental model of rheumatoid arthritis. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(5):422-431. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-422-431

Заключение. Проведенное исследование показало, что введение анализируемых производных хромона Х3А7 и Х3А9 подавляет реакции воспаления и резорбтивные процессы в синовиальных тканях, что может служить основанием для их дальнейшего изучения в качестве противоревматических средств.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; производные хромона; цитокины; матриксные металлопротеиназы; миелопероксидаза

Список сокращений: РА – ревматоидный артрит; ФПС – фибробластоподобные синовиоциты; МПС – макрофагальноподобные синовиоциты; ФНО – фактор некроза опухоли; ИЛ – интерлейкин; ИЖ – интактные животные; НК – негативный контроль; МПО – миелопероксидаза; ММП – матриксная металлопротеиназа; Nf-kb – ядерный фактор каппа бета; MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа; ANOVA – однофакторный дисперсионный анализ; АФК – активные формы кислорода.

Anti-inflammatory and antiresorptive effects of acyl substitution chromone derivatives in experimental model of rheumatoid arthritis

D.I. Pozdnyakov¹, K.N. Koryanova¹, K.K. Arustamyan¹, Ch.M. Margushev¹,
V.S. Baskaeva¹, V.M. Rukovitsina¹, H.N. Nasrulaeva², E.A. Olokhova³

¹ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

² Dagestan State Medical University, 1, Lenin Sq., Makhachkala, Russia, 367000

³ Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasenetsky, 1, Partizan Zheleznayk Str., Krasnoyarsk, Russia, 660005

E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Received 10 Sep 2023

After peer review 12 Nov 2023

Accepted 23 Dec 2023

Rheumatoid arthritis (RA) is a systemic inflammatory disease affecting mainly small and major joints. The development for new drugs for the treatment of RAs is constantly underway, while the purposeful synthesis of multi-targeted small molecules can be considered a promising direction for the synthesis of new anti-rheumatic drugs.

The aim. To evaluate the anti-inflammatory and antiresorptive effects of acyl substituted chromone derivatives in experimental animal model for rheumatoid arthritis.

Materials and methods. RA was modeled in rats by injection of a suspension of human type II collagen and a complete Freund's adjuvant (in a ratio of 1:1) under plantar aponeurosis of the hind limb of the animal. The analyzed substances under ciphers X3A7 and X3A9 at a dose of 20 mg/kg and the reference drug dexamethasone at a dose of 3 mg/kg were administered intraperitoneally for 28 days from the moment of RA modeling. On the 7th, 14th, 21st and 28th days of the experiment, the severity of the clinical manifestations of RA was determined. After 28 days, changes in the content of cytokines in the rats blood serum were assessed: tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukins (IL-1, IL-6, IL-10 and IL-12). Changes of myeloperoxidase activity and concentrations of matrix metalloproteinases (MMPs) of type 2 and 9 were determined in synovial tissues.

Results. During the study, it was shown that the use of the tested compounds X3A7 and X3A9, as well as the reference, contributed to a decrease in the severity of clinical manifestations of RA, starting from the 14th day of the experiment. Subsequently, it was demonstrated that in animals treated with dexamethasone, the cytokine content in blood serum decreased in relation to untreated animals: TNF- α – by 57.8% ($p < 0.05$), IL-1 – 64.1% ($p < 0.05$), IL-6 – 59.1% ($p < 0.05$) and IL-12 – 72.3% ($p < 0.05$), with an increase in the level of IL-10 – by 75.4% ($p < 0.05$). The cytokine profile of the blood serum changed similarly when the studied compounds were administered to animals. It worth be noting that against the background of the administration of dexamethasone, X3A7 and X3A9 substances, the activity of myeloperoxidase decreased by 41.7% ($p < 0.05$), 61.7% ($p < 0.05$) and 65.0% ($p < 0.05$), respectively, while the concentration of MMP2 decreased by 24.0% ($p < 0.05$), 38.5% ($p < 0.05$) and 34.4% ($p < 0.05$), respectively, and MMP9 – by 13.5% ($p < 0.05$), 37.9% ($p < 0.05$) and 35.6% ($p < 0.05$).

Conclusion. The study showed that the administration of the analyzed chromone derivatives X3A7 and X3A9 suppresses inflammatory reactions and resorptive processes in synovial tissues, which can serve as a basis for their further study as antirheumatic agents.

Keywords: rheumatoid arthritis; chromone derivatives; cytokines; matrix metalloproteinases; myeloperoxidase

Abbreviations: RA – rheumatoid arthritis; FLSs – fibroblast-like synoviocytes; MLSs – macrophage-like synoviocytes; TNF – tumor necrosis factor; IL – interleukin; INs – intact animals; NC – negative control; MP – myeloperoxidase; MMP – matrix metalloproteinase; Nfkb – nuclear factor kappa beta; MAPK – mitogen-activated protein kinase; ANOVA – analysis of variance; ROS – reactive oxygen species.

ВВЕДЕНИЕ

Ревматоидный артрит (РА) – хроническое аутоиммунное заболевание суставов с высоким риском системных осложнений, а также со значительным ухудшением качества жизни и ранней инвалидизации. Эпидемиологические исследования показывают, что распространенность РА в общей популяции составляет 0,5–1%, причем отмечается наличие четко оформленных гендерных и генетических коррелятов [1]. Так Ngo S.T. и соавт. в своей работе продемонстрировали, что риск развития РА в течение жизни у женщин выше, чем у мужчин (3,6 против 1,7%) [2]. Генетические детерминанты отмечаются в более чем 60% случаев РА, на что указывает исследование Wen Y.P. и Yu Z.G. [3]. В Российской Федерации заболеваемость РА достигает 610 случаев на 100 000 человек, что является вторым по значимости эпидемиологическим показателем среди ревматических заболеваний, уступая только остеоартриту (13 000 на 100 000 человек) [4]. Стоит отметить, что заболеваемость РА с каждым годом только увеличивается, что, вероятно, опосредуется влиянием эколого-социальных факторов, таких как курение, запыленность и задымленность городских агломераций, стрессы и заболевания пародонта [5].

Клинически РА протекает в виде симметричного полиартрита, поражающего мелкие и крупные суставы с развитием околосуставных, суставных и системных осложнений. Патогенетически РА опосредуется дисфункцией синовиальной ткани. Известно, что при РА отмечается активация макрофагально- (МПС) и фибробластоподобных (ФПС) синовиоцитов, являющихся первичными источниками цитокинов и иммуноглобулинов. Помимо цитокин-синтетических функций МПС и ФПС активируют протеазы и другие ферменты резорбции. При этом, наблюдается выраженная патогенетическая дихотомия синовиоцитов: ФПС – продуцируют различные провоспалительные цитокины, например, интерлейкин (ИЛ)-1 β , ИЛ-6, фактор некроза опухоли альфа (ФНО)- α , тогда как МПС помимо синтеза цитокинов обеспечивают активацию матриксных металлопротеиназ (ММП), преимущественно 2-го и 9-го типов [6]. Вышеперечисленные изменения приводят к образованию характерного «ревматоидного паннуса», который опосредует образование эрозий на поздних стадиях РА.

Учитывая особенности патогенеза РА, а именно аутоагрессию иммунной системы по отношению к синовиальной ткани, в терапии данного состояния используются лекарственные препараты с преимущественным противовоспалительным и иммуносупрессорным действием: кортикостероиды, лефлуномид, метотрексат, препараты моноклональных антител (сарилумаб, канакинумаб, адалимумаб, цертолизумаб, инфликсимаб, тоцилизумаб и секукинумаб) [7].

Однако в большинстве случаев клинический ответ на стандартную терапию является недостаточным, что определяет необходимость комбинированного применения противоревматических средств.

По данным Smolen J.S. и соавт. для достижения оптимального эффекта необходимо применение 3-х противоревматических средств, при этом наиболее рациональные комбинации включают: кортикостероид+метотрексат+тоцилизумаб; кортикостероид+метотрексат+ритуксимаб; кортикостероид+метотрексат+тофацитиниб. Но даже при использовании данного подхода у ряда пациентов не удается достигнуть необходимой клинической эффективности [8].

В связи с этим, научным и практическим медицинским сообществом ведется изучение новых биомшеней и фармакологически активных молекул, дальнейшее внедрение которых позволит расширить спектр лекарственных препаратов для лечения РА. В контексте мишень-ориентированного подхода к созданию противоревматических средств выделяют несколько перспективных таргетов, включающих макромолекулярные и низкомолекулярные комплексы. Макромолекулярные компартменты представлены как правило, белковыми ферментативными мишенями (ММП, янус-киназы, цитокины), тогда как низкомолекулярные комплексы подразумевают под собой простагландины, липоксины, оксид азота и активные формы кислорода (АФК) [9].

В ранее проведенных исследованиях было показано, что некоторые производные хромона обладают комплексным характером фармакологического действия, включающего антицитокиновые и антиоксидантные свойства, что делает данную группу соединений перспективной для изучения в качестве возможных средств коррекции РА. При этом, наиболее высоким уровнем активности обладали ацилзамещенные соединения, которые и были выбраны в качестве анализируемых объектов в данной работе [10].

ЦЕЛЬ. Оценить противовоспалительное и антирезорбтивное действие ацилзамещенных производных хромона в условиях ревматоидного артрита у крыс в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Исследование выполнено на 50 половозрелых крысах-самцах Wistar массой тела 220–240 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Россия). Во время эксперимента животные содержались в стандартных условиях вивария Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Волгоградского государственного медицинского университета (ПМФИ) в полипропиленовых боксах по 5 особей. Доступ крыс к полнорационному экструдируемому корму и воде не ограничивали.

Подстил (гранулированную фракцию твердых пород древесины) меняли не реже чем 1 раз в 3 дня. Условия содержания исключали стрессирование животных: температура окружающего воздуха – $22 \pm 2^\circ\text{C}$, относительной влажности – 55–65% и 12-часовой суточной цикл. Оперативные манипуляции выполнены под хлоралгидратной анестезией (внутрибрюшинное введение хлоралгидрата (PanReas Applichem, Испания) в дозе 350 мг/кг). Эвтаназию животных осуществляли после анестезии и забора биоматериала путем цервикальной дислокации. Концепция работы была одобрена Локальным этическим комитетом ПМФИ (протокол № 7 от 01.06.2023). Работа соответствовала положениям Директивы ЕС 2010/63¹ и принципам ARRIVE 2.0 [11].

Экспериментальная модель РА

РА моделировали у крыс путем введения человеческого коллагена II типа 2 мг/мл (Sigma-Aldrich, Германия) и неполного адъюванта Фрейнда (Sigma-Aldrich, Германия) в соотношении 1:1. Компоненты смешивали в фосфатно-солевом буферном растворе с pH=7,4 до образования стабильной суспензии и вводили субплантарно в объеме 0,2 мл. Через 7 дней инъекцию повторяли, при этом вводимый объем был сокращен до 0,1 мл [12].

Анализируемые соединения

Исследуемые соединения 3-формил-4-оксо-4Н-1-бензопиран-7-ил ацетат (шифр – ХЗА7) и 3-формил-4-оксо-4Н-1-бензопиран-6-ил ацетат (шифр – ХЗА9) были получены на кафедре органической химии ПМФИ. Идентификация структуры анализируемых веществ проводили методом ИК, УФ и ЯМР-спектроскопии [13]. Исследуемые соединения вводили внутрибрюшинно в дозе 20 мг/кг в виде тонкодисперсной суспензии, приготовленной *ex tempore* на основе фосфатно-солевого буферного раствора с pH=7,4 [14]. В качестве препарата сравнения использовали дексаметазон (KRKA, Словения) в дозе 3 мг/кг, интраперитонеально [15]. Продолжительность введения изучаемых веществ и референта была аналогичной и составила 28 дней с момента моделирования РА.

Экспериментальные группы

Все животные были рандомизированы по массе тела (не более 10% отклонения в группе и между группами) на 5 равных групп по 10 особей в каждой: интактные животные (ИЖ); негативный контроль (НК); группа животных, получавшая референтный препарат

(дексаметазон); группа животных, получавшая анализируемое соединение под шифром ХЗА7; группа животных, получавшая анализируемое соединение под шифром ХЗА9. Крысам всех групп, за исключением ИЖ, моделировали РА по описанной выше методике. Группе ИЖ вместо индуктора РА вводили эквивалентный объем фосфатного буферного раствора.

Оценка клинических признаков РА

Изучение клинических проявлений РА у животных производили согласно балльной шкале, представленной E. Moases Ghaffary и S.M. Abtahi Froushani [16]. Согласно данной процедуре о выраженности клинических признаков РА судят по сумме баллов, где каждый балл соответствует одному из симптомов РА: 0 баллов – лапа без отека и покраснения; 1 балл – лапа с гиперемией и слабым отеком; 2 балла – лапа с умеренным отеком; 3 балла – лапа с выраженным отеком, подвижность сустава ограничена; 4 балла – лапа с сильным отеком и полным отсутствием подвижности сустава. Оценку клинической выраженности РА у крыс осуществляли на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день исследования [16].

Подготовка биоматериала

На 28-й день эксперимента у крыс под хлоралгидратной анестезией в пробирки с этилендиаминтетраацетатом натрия производили забор крови из брюшной части аорты. Далее цельную кровь центрифугировали (центрифуга Armed LC-04A, Россия, 1000 g в течение 10 мин), получали сыворотку, в которой оценивали изменение уровня цитокинов: ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10 и ИЛ-12. После забора крови у крыс выделяли сустав задней конечности, который рассекали и производили взятие синовиальных тканей. Синовиальные ткани гомогенизировали в фосфатно-солевом буфере с pH=7,4. Гомогенат центрифугировали в режиме 10 000 g, 20 мин. и в полученном супернатанте оценивали изменение концентрации ММП2, ММП9 и миелопероксидазы (МПО).

Оценка активности МПО

Активность МПО оценивали спектрофотометрически при 450 нм с применением микропланшетного ридера Infinite F50 (Tecan, Австрия). Ход анализа: к 10 мкл анализируемого образца добавляли 80 мкл раствора пероксида водорода (0,75 мМ), 40 мкл 2,9 мМ раствора тетраметилбензидина, 10 мкл 14,5% раствора диметилсульфоксида, 60 мкл фосфатного буферного раствора с pH=7,4. Пробу инкубировали при 37°C в течении 15 мин, затем добавляли 50 мкл раствора серной кислоты (2мМ). Активность МПО оценивали по стандартной кривой зависимости «оптическая плотность–активность фермента» и выражали в $\text{ME} \times 10^{-3}/\text{мл}$ [17].

¹ Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях / пер. с англ. / под ред. М.С. Красильщиковой, И.В. Белозерцевой. – Санкт-Петербург, 2012. – 48 с.

Определение уровня цитокинов в крови и ММП в синовиальных тканях

Содержание цитокинов в сыворотке крови и ММП в синовиальных тканях определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием видоспецифичных наборов реактивов. Наборы для анализа были предоставлены Cloud Clone Corp. (США). Ход анализа соответствовал рекомендациям производителя. Аналитический сигнал считывали с применением микропланшетного ридера Infinite F50 (Tecan, Австрия).

Статистический анализ

Результаты обрабатывали методами вариационной статистики с применением возможностей программного комплекса «StatPlus 7.0» (AnalystSoft Inc., США, лицензия 16887385). Полученные данные были проверены на нормальность распределения согласно критерию Шапиро–Уилка. Для сравнения групп средних применяли параметрические методы ANOVA с пост-тестом Ньюмена–Кейлса и непараметрические методы статического анализа – тест Крускала–Уоллиса. Отличия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ**Влияние анализируемых соединений и референта на изменение клинической выраженности РА у крыс**

В ходе исследования было показано, что у НК группы крыс отмечено прогрессирующее ухудшение течения РА, что отражалось в повышении показателей балльной шкалы оценки выраженности РА (Рис. 1) в сравнении с ИЖ на 7-й день исследования в 13,0 раз ($p < 0,05$); на 14-й день – в 12,0 раза ($p < 0,05$); на 21-й день – в 21,3 раза ($p < 0,05$) и на 28 день – в 14,3 раза ($p < 0,05$). На фоне применения дексаметазона, начиная с 14-го дня эксперимента, наблюдалось уменьшение выраженности клинических симптомов РА у животных, при этом суммарный балл шкалы, используемой в данной работе, был меньше, чем у НК группы на 14-й, 21-й и 28-й день исследования на 33,3, 46,9, и 36,4% соответственно (для всех показателей $p < 0,05$). Аналогичная тенденция отмечена и при введении крысам анализируемых соединений. Так у животных, получавших соединения ХЗА7, клиническая выраженность РА снизилась по отношению к НК группы крыс на 14-й день – на 25,0% ($p < 0,05$); на 21-й день – 34,4% ($p < 0,05$) и на 28-й день – на 33,3% ($p < 0,05$). При применении соединения ХЗА9 на 14-й, 21-й и 28-й день эксперимента сумма баллов шкалы оценки клинических симптомов РА была ниже, чем у НК группы на 27,1 ($p < 0,05$), 35,3 ($p < 0,05$) и 32,1% ($p < 0,05$) соответственно. Стоит отметить, что достоверных отличий между группами животных, которым вводили дексаметазон и исследуемые соединения, установлено не было.

Влияние анализируемых соединений и референта на изменение концентрации цитокинов в сыворотке крови крыс с РА

Анализ изменения концентрации цитокинов в крови у крыс с РА (табл. 1) позволил установить, что у НК группы животных содержание ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-12 увеличилось относительно ИЖ в 2,3 ($p < 0,05$), 3,1 ($p < 0,05$), 3,0 ($p < 0,05$) и 2,6 ($p < 0,05$) раза соответственно, тогда как уровень ИЛ-10, напротив, снизился на 35,4% ($p < 0,05$). При применении дексаметазона наблюдалось уменьшение концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови крыс: ФНО- α – на 57,8% ($p < 0,05$), ИЛ-1 – 64,1% ($p < 0,05$), ИЛ-6 – 59,1% ($p < 0,05$) и ИЛ-12 – 72,3% ($p < 0,05$), при повышении уровня ИЛ-10 – на 75,4% ($p < 0,05$). У крыс, получавших соединения ХЗА7 и ХЗА9, по отношению к НК группе животных отмечено снижение содержания ФНО- α – на 20,8 ($p < 0,05$) и 19,6% ($p < 0,05$); ИЛ-1 на 45,2 ($p < 0,05$) и 38,4% ($p < 0,05$); ИЛ-6 – на 28,3 ($p < 0,05$) и 22,0% ($p < 0,05$); ИЛ-12 – на 27,9 ($p < 0,05$) и 31,3% ($p < 0,05$) соответственно. В тоже время, на фоне введения веществ ХЗА7 и ХЗА9 концентрация ИЛ-10 увеличилась в сравнении с нелечеными крысами на 51,5 ($p < 0,05$) и 56,2% ($p < 0,05$) соответственно.

Влияние анализируемых соединений и референта на изменение концентрации матричных металлопротеиназ в синовиальных тканях крыс с РА

В ходе данного исследовательского блока было установлено, что у НК группы крыс в синовиальных тканях концентрация ММП2 и ММП9 (Рис. 2) превосходила аналогичные показатели ИЖ группы крыс в 6,8 ($p < 0,05$) и 6,9 ($p < 0,05$) раза соответственно. На фоне применения дексаметазона наблюдалось уменьшение (относительно НК группы крыс) концентрации ММП2 на 24,0% ($p < 0,05$) и ММП9 – на 13,5% ($p < 0,05$). В тоже время у животных, которым вводили соединения ХЗА7, содержание ММП2 и ММП9 было ниже аналогичного у НК группы крыс на 38,5 ($p < 0,05$) и 37,9% ($p < 0,05$) соответственно, тогда как при введении вещества ХЗА9 снижение составило 34,4 ($p < 0,05$) и 35,6% ($p < 0,05$) соответственно. Стоит отметить, что концентрация ММП9 у крыс, получавших ХЗА7 и ХЗА9, была на 28,3 ($p < 0,05$) и 25,5% ($p < 0,05$) ниже, чем у группы животных, которым вводили дексаметазон (Рис. 2).

Влияние анализируемых соединений и референта на изменение концентрации миелопероксидаз в синовиальных тканях крыс с РА

В ходе исследования было показано, что концентрация МПО (Рис. 3) у НК группы крыс превосходила таковую у ИЖ в 6,0 раз ($p < 0,05$), тогда как при применении дексаметазона, соединения ХЗА7 и ХЗА9, активность МПО уменьшилась относительно НК группы животных на 41,7 ($p < 0,05$), 61,7 ($p < 0,05$) и 65,0% ($p < 0,05$) соответственно.

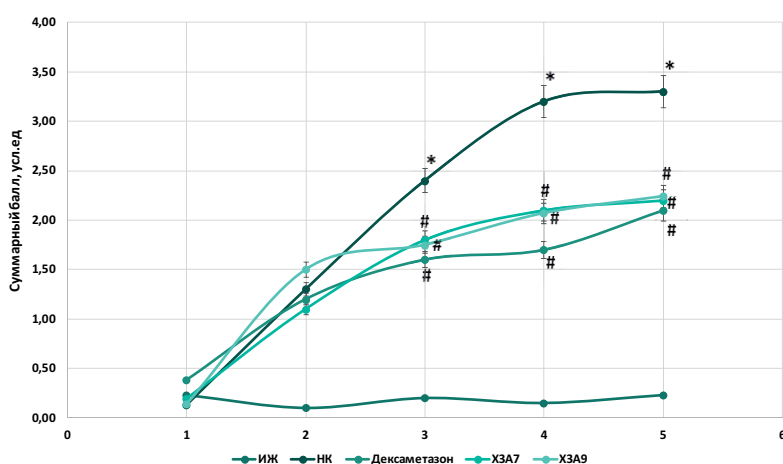


Рисунок 1 – Влияние анализируемых соединений и референта на изменение клинической выраженности РА у крыс

Примечание: ИЖ – intactные животные; НК – негативный контроль; * – достоверно относительно ИЖ (критерий Ньюмена–Кейлса, $p < 0,05$); # – достоверно относительно НК (критерий Ньюмена–Кейлса, $p < 0,05$).

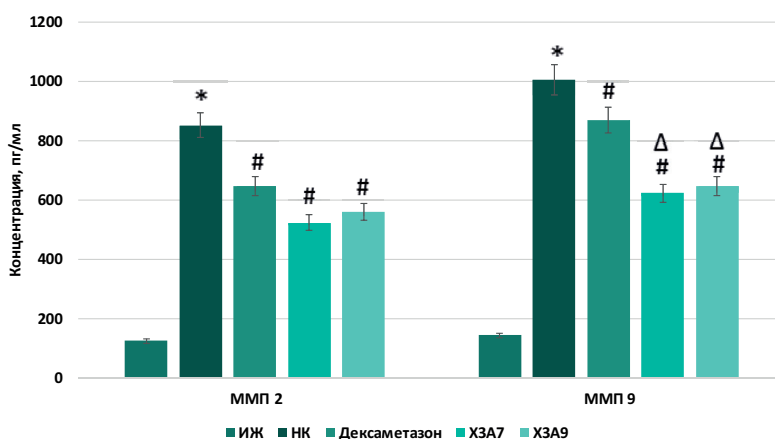


Рисунок 2 – Влияние анализируемых соединений и референта на изменение концентрации матричных металлопротеиназ в синовиальных тканях крыс с РА

Примечание: ИЖ – intactные животные; НК – негативный контроль; MMP-2, MMP-9 – матричная металлопротеиназа 2 и 9; * – достоверно относительно группы intactных животных (критерий Ньюмена–Кейлса, $p < 0,05$); # – достоверно относительно группы негативного контроля (критерий Ньюмена–Кейлса, $p < 0,05$); Δ – достоверно относительно группы животных, получавших дексаметазон (критерий Ньюмена–Кейлса, $p < 0,05$).

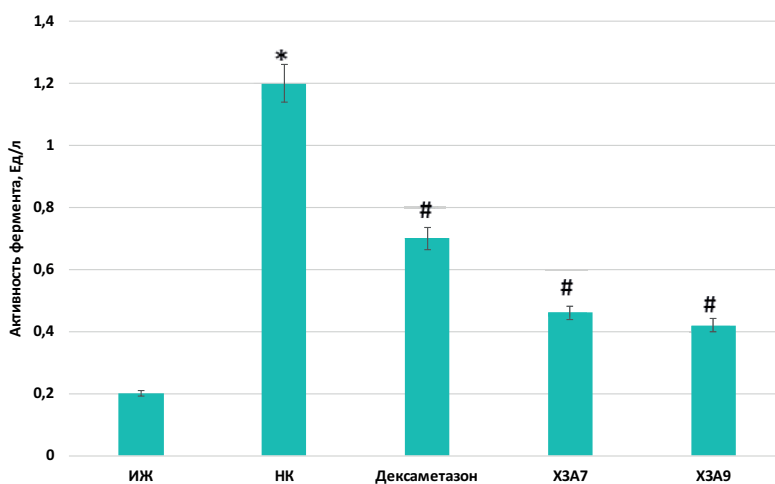


Рисунок 3 – Влияние анализируемых соединений и референта на изменение концентрации МПО в синовиальных тканях крыс с РА

Примечание: ИЖ – intactные животные; НК – негативный контроль; * – достоверно относительно ИЖ (критерий Ньюмена–Кейлса, $p < 0,05$); # – достоверно относительно НК (критерий Ньюмена–Кейлса, $p < 0,05$).

Таблица 1 – Влияние анализируемых соединений и дексаметазона на изменение концентрации цитокинов в сыворотке крови крыс с РА

Группа	ФНО-α, нг/мл	ИЛ-1, нг/мл	ИЛ-6, нг/мл	ИЛ-12, нг/мл	ИЛ-10, нг/мл
ИЖ	2,47±0,29	2,4±0,31	2,47±0,24	3,38±0,25	3,67±0,34
НК	5,62±0,18*	7,3±0,53*	7,5±0,6*	8,83±0,69*	1,3±0,14*
Дексаметазон	2,37±1,15#	2,62±0,45#	3,07±0,76#	2,45±0,67#	2,28±0,15#
ХЗА7	4,45±0,36#	4±0,49#	5,38±0,53#	6,37±0,56#	1,97±0,19#
ХЗА9	4,52±0,32#	4,5±0,62#	5,85±0,60#	6,07±0,72#	2,03±0,15#

Примечание: ИЖ – интактные животные; НК – негативный контроль; ФНО-α – фактор некроза опухоли альфа; ИЛ – интерлейкин; * – достоверно относительно ИЖ (критерий Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$); # – достоверно относительно НК (критерий Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Лечение аутоиммунных заболеваний, таких как РА, представляет собой сложную клиническую задачу, поскольку в ряде случаев необходимо учитывать полиэтиологический характер заболевания и его комплексный патогенез. Несмотря на наличие достаточно обширного спектра лекарственных препаратов для терапии РА поиск новых средств ведется постоянно [18].

Во многом это связано с высоким риском осложнений, возникающих в ходе лечения РА и низкой эффективностью препаратов. Например, по данным Wang S.S. и соавт. частота терапевтических неудач, как в случае применения классических противоревматических средств, так и современных таргетных препаратов, остается достаточно высокой [19].

В последнее время все большее внимание сосредоточено на разработке перорально активных низкомолекулярных соединений, которые сопоставимы по эффективности с биологическими препаратами. В силу своей низкой молекулярной массы они легко проникают в клетку, связываются с внутриклеточными сигнальными молекулами и ингибируют ключевые молекулы-мишени, ответственные за развитие РА. Примером таких лекарственных препаратов, внедренных в клиническую практику, являются ингибиторы янус-киназ: тофацитиниб, пефитиниб и упадацитиниб [20]. В тоже время препараты на основе малых молекул могут воздействовать на иные биомолекулы, например ММП [21].

ММП представляют собой семейство кальций-зависимых эндопептидаз. Активный центр ферментов представлен цинк-связывающим доменом. В настоящее время идентифицировано более 20 различных ММП, классифицированных в зависимости от конкретных субстратов: коллагеназы, стромелизины, желатиназы, матрилизины, ММП мембранного типа и др. Помимо ферментативной активности ММП способствуют высвобождению факторы роста, цитокинов и хемокинов, инактивируют ингибиторы протеиназ. В организме человека ММП синтезируются в виде проферментов в лейкоцитах, макрофагах, эндотелиальных клетках, хондроцитах и синовиоцитах [22].

ММП играют одну из ключевых ролей в

патогенезе РА. ФПС, имеющие опухолеподобный вид, секретируют различные протеазы, в том числе ММП, которые разрушают компоненты внеклеточного матрикса, главным образом протеогликаны и коллаген суставного хряща. В хрящевой ткани при РА повышается активность ММП13, ММП6, ММП9 и ММП13. ММП3. Также ММП1 и ММП2 способны активировать резорбцию хряща, путем коллагенолиза и деградации синовиальных протеогликанов [23]. В тоже время как потенциальные противоревматические таргеты выделяют ММП2 и ММП9, что отражено в работе Li N. и соавт. [24].

Проведенное исследование показало, что применение анализируемых производных хромона способствует снижению концентрации ММП2 и ММП9 в синовиальных тканях у крыс. Данный факт может быть связан как с прямым фермент-блокирующим действием, так и опосредованным уменьшением активности за счет наличия антицитокиновой активности. При этом, непосредственная блокада МПП производными хромона, вероятно, связана с особенностями структуры веществ. Например, ММП-блокирующие свойства были установлены для нарингенина, который имеет схожий с исследуемыми соединениями скаффолд [25]. Аналогичная активность была исследована Lim H. и соавт. для апигенина и вогонина. В данном исследовании было показано, что апигенин и вогонин уменьшали активность ММП, блокируя c-Fos / активатор белка-1 (AP-1) и янус-киназу 2 [26]. Необходимо подчеркнуть, что влияние анализируемых веществ на активность ММП9 статистически достоверно превосходило эффект дексаметазона. Данный факт особенно важен в контексте антирезорбтивного действия производных хромона, поскольку именно ММП9 носит отчетливо патологический характер при РА. Так Itoh T. и соавт. продемонстрировали, что у нокаутных по ММП9 мышей, симптомы РА могут спонтанно уменьшаться, тогда как при полном дефиците ММП2 симптоматика может только усиливаться, свидетельствуя о более высокой патогенетической значимости ММП9 [27].

Также стоит отметить и антицитокиновые эффекты анализируемых производных хромона. Так в проведенном исследовании было показано, что применение соединения ХЗА7 и ХЗА9

способствовало уменьшению концентрации провоспалительных (ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-12) и повышению содержания противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10), что предполагает наличие у данных веществ противовоспалительной и вероятной иммуносупрессивной активности. В контексте данного исследования детальный механизм реализации данных эффектов остается открытым, но учитывая влияние производных хромона на МПО можно предполагать, что снижение уровня провоспалительных цитокинов происходит за счет блокады данного фермента. Известно, что МПО — гемсодержащая пероксидаза, экспрессируемая преимущественно в нейтрофилах и в меньшей степени в моноцитах. В присутствии перекиси водорода и галогенидов МПО катализирует образование АФК, в том числе хлорноватистой кислоты (HOCl), играя ведущую роль в иммунном ответе, опосредованном нейтрофилами. Кроме того, в условиях РА повышенная активность МПО способствует гиперпродукции цитокинов, выступая в качестве эндогенного провоспалительного медиатора, уменьшение активности которого может препятствовать воспалительному повреждению суставов [28]. В тоже время нельзя отрицать наличие других потенциальных механизмов антицитокинового действия изучаемых ацилзамещенных производных хромона. Анализ противовоспалительной и иммуносупрессивной активности родственных изучаемым соединениям структур позволил установить, что снижение продукции цитокинов может быть связано с влиянием на ряд внутриклеточных сигнальных механизмов, включая Nf-kb, янус-киназы, индуцибельную синтазу оксида азота и p38-MAPK [29]. Например, Liu H. и соавт. было показано, что дифенольное производное хромона подавляет

реакции воспаления в культуре клеток RAW264.7 за счет блокады *toll*-подобных рецепторов и снижения внутриклеточного провоспалительного ответа, опосредованного Nf-kb и p38-MAPK [30]. Аналогичные результаты были получены Xing T. и соавт., продемонстрировавших, что амидзамещенные производные хромона снижают интенсивность липополисахарид-индуцированного воспаления в сопоставимой степени с ибупрофеном [31]. Однако стоит отметить, что влияние исследуемых в данной работе производных хромона на внутриклеточные сигнальные провоспалительные пути требует отдельного изучения.

Ограничения исследования

В исследовании не представлены данные о механизмах противовоспалительного действия производных 3-формилхромона. В дальнейшем необходимо сравнить эффективность анализируемых производных хромона с противоревматическими препаратами биологического происхождения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение анализируемых производных хромона в условиях экспериментального РА сопровождается комплексным влиянием на синовиальные ткани крыс, что выражается в снижении интенсивности реакций воспаления и концентрации ферментов резорбции хрящевого матрикса — ММП2 и ММП9, что свидетельствует о наличии антирезорбтивного действия. Полученные результаты предполагают актуальность дальнейшего изучения ацилзамещенных производных хромона в качестве средств комплексной патогенетической терапии РА с преобладающим антирезорбтивным эффектом.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы сделали эквивалентный и равнозначный вклад в подготовку публикации. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Д.И. Поздняков — разработка концепции исследования, проведение эксперимента, подготовка рукописи; К.Н. Корянова — систематизация материала, подготовка рукописи; К.К. Арустамян — проведение эксперимента, подготовка рукописи; Ч.М. Маргушев — проведение эксперимента, подготовка рукописи; В.С. Баскаева — проведение эксперимента, анализ данных; В.М. Руковицина — разработка концепции исследования, статистический анализ данных; Х.Н. Насрулаева — статистический анализ данных, подготовка рукописи; Е.А. Олохова — статистический анализ данных, подготовка рукописи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Cush J.J. Rheumatoid Arthritis: Early Diagnosis and Treatment // *Rheum Dis Clin North Am.* — 2022. — Vol. 48, No. 2. — P. 537–547. DOI: 10.1016/j.rdc.2022.02.010
2. Ngo S.T., Steyn F.J., McCombe P.A. Gender differences in autoimmune disease // *Front Neuroendocrinol.* — 2014. — Vol. 35, No. 3. — P. 347–369. DOI: 10.1016/j.yfrne.2014.04.004
3. Wen Y.P., Yu Z.G. Identifying shared genetic loci and common risk genes of rheumatoid arthritis associated with three autoimmune diseases based on large-scale cross-trait genome-wide association studies //

- Front Immunol. – 2023. – Vol. 14. – Art. ID: 1160397. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1160397
4. Галушко Е.А., Насонов Е.Л. Распространенность ревматических заболеваний в России // Альманах клинической медицины. – 2018. – Т. 46, № 1. – С. 32–39. DOI: 10.18786/2072-0505-2018-46-1-32-39
 5. Jang S., Kwon E.J., Lee J.J. Rheumatoid arthritis: pathogenic roles of diverse immune cells // Int J Mol Sci. – 2022. – Vol. 23, No. 2. – Art. ID: 905. DOI: 10.3390/ijms23020905.
 6. Yoshitomi H. Regulation of immune responses and chronic inflammation by fibroblast-like synoviocytes // Front Immunol. – 2019. – Vol. 10. – Art. ID: 1395. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01395
 7. Cush JJ. Rheumatoid Arthritis: Early Diagnosis and Treatment. Med Clin North Am. – 2021. – Vol. 105, No. 2. – P. 355–365. DOI: 10.1016/j.mcna.2020.10.006
 8. Smolen J.S., Landewé R.B.M., Bijlsma J.W.J., Burmester G.R., Dougados M., Kerschbaumer A., McInnes I.B., Sepriano A., van Vollenhoven R.F., de Wit M., Aletaha D., Aringer M., Askling J., Balsa A., Boers M., den Broeder A.A., Buch M.H., Buttgeit F., Caporali R., Cardiel M.H., De Cock D., Codreanu C., Cutolo M., Edwards C.J., van Eijk-Hustings Y., Emery P., Finckh A., Gossec L., Gottenberg J.E., Hetland M.L., Huizinga T.W.J., Koloumas M., Li Z., Mariette X., Müller-Ladner U., Mysler E.F., da Silva J.A.P., Poór G., Pope J.E., Rubbert-Roth A., Ruysen-Witrand A., Saag K.G., Strangfeld A., Takeuchi T., Voshaar M., Westhovens R., van der Heijde D. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update // Ann Rheum Dis. – 2020. – Vol. 79, No. 6. – P. 685–699. DOI: 10.1136/annrheumdis-2019-216655
 9. Huang J., Fu X., Chen X., Li Z., Huang Y., Liang C. Promising therapeutic targets for treatment of rheumatoid arthritis // Front Immunol. – 2021. – Vol. 12. – Art. ID: 686155. DOI: 10.3389/fimmu.2021.686155
 10. Pozdnyakov D.I., Zolotych D.S., Rukovitsyna V.M., Oganessian E.T. Chromone derivatives suppress neuroinflammation and improve mitochondrial function in the sporadic form of Alzheimer's disease under experimental conditions // Iran J Basic Med Sci. – 2022. – Vol. 25, No. 7. – P. 871–881. DOI: 10.22038/IJBMS.2022.65377.14387
 11. Percie du Sert N., Hurst V., Ahluwalia A., Alam S., Avey M.T., Baker M., Browne W.J., Clark A., Cuthill I.C., Dirnagl U., Emerson M., Garner P., Holgate S.T., Howells D.W., Karp N.A., Lazic S.E., Lidster K., MacCallum C.J., Macleod M., Pearl E.J., Petersen O.H., Rawle F., Reynolds P., Rooney K., Sena E.S., Silberberg S.D., Steckler T., Würbel H. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research // PLoS Biol. – 2020. – Vol. 18, No. 7. – Art. ID: e3000410. DOI: 10.1371/journal.pbio.3000410
 12. Jin H., Ma N., Li X., Kang M., Guo M., Song L. Application of GC/MS-based metabonomic profiling in studying the therapeutic effects of *Aconitum carmichaeli* with ampelopsis japonica extract on collagen-induced arthritis in rats // Molecules. – 2019. – Vol. 24, No. 10. – Art. ID: 1934. DOI: 10.3390/molecules24101934
 13. Rukovitsina V., Oganessian E., Pozdnyakov D. Synthesis and study of the effect of 3-substituted chromone derivatives on changes in the activity of mitochondrial complex III under experimental cerebral ischemia // J Res Pharm. – 2022. – Vol. 26, No. 2. – P. 408–420. DOI: 10.29228/jrp.138
 14. Черников М.В., Поздняков Д.И., Руковицина В.М., Оганесян Э.Т. Антицитокиновые эффекты аналогов халкона при экспериментальном «цитокиновом шторме» у крыс // Медицинский академический журнал. – 2021. – Т. 21, № 1. – С. 31–38. DOI: 10.17816/MAJ60081
 15. Xiao J., Lin F., Pan L., Dai H., Jing R., Lin J., Liang F. [Dexamethasone on alleviating lung ischemia/reperfusion injury in rats by regulating PI3K/AKT pathway] // Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue. – 2020. – Vol. 32, No. 2. – P. 188–193. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20190723-00035. Chinese
 16. Moases Ghaffary E., Abtahi Froushani S.M. Immunomodulatory benefits of mesenchymal stem cells treated with Caffeine in adjuvant-induced arthritis // Life Sci. – 2020. – Vol. 246. – Art. ID: 117420. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117420
 17. Abtahi Froushani S.M., Mashhour S. The effect of mesenchymal stem cells pulsed with 17 beta-estradiol in an ameliorating rat model of ulcerative colitis // Zahedan J Res Med Sci. – 2019. – Vol. 21, No. 4. – Art. ID: e83762. DOI: 10.5812/zjrms.83762
 18. Blüml S. Biologika und “small molecules” bei der rheumatoiden Arthritis [Biologicals and small molecules for rheumatoid arthritis] // Z Rheumatol. – 2020. – Vol. 79, No. 3. – P. 223–231. DOI: 10.1007/s00393-020-00766-7
 19. Wang S.S., Lewis M.J., Pitzalis C. DNA methylation signatures of response to conventional synthetic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) in rheumatoid arthritis // Biomedicines. – 2023. – Vol. 11, No. 7. – Art. ID: 1987. DOI: 10.3390/biomedicines11071987
 20. Tanaka Y. Recent progress in treatments of rheumatoid arthritis: an overview of developments in biologics and small molecules, and remaining unmet needs // Rheumatology (Oxford). – 2021. – Vol. 60 (Suppl 6). – P. vi12–vi20. DOI: 10.1093/rheumatology/keab609
 21. Stojanovic S.K., Stamenkovic B.N., Cvetkovic J.M., Zivkovic V.G., Apostolovic M.R.A. Matrix metalloproteinase-9 level in synovial fluid-association with joint destruction in early rheumatoid arthritis // Medicina (Kaunas). – 2023. – Vol. 59, No. 1. – Art. ID: 167. DOI: 10.3390/medicina59010167
 22. de Almeida L.G.N., Thode H., Eslambolchi Y., Chopra S., Young D., Gill S., Devel L., Dufour A. Matrix metalloproteinases: from molecular mechanisms to physiology, pathophysiology, and pharmacology // Pharmacol Rev. – 2022. – Vol. 74, No. 3. – P. 712–768. DOI: 10.1124/pharmrev.121.000349
 23. Malemud C.J. Matrix metalloproteinases and synovial joint pathology // Prog Mol Biol Transl Sci. – 2017. – Vol. 148. – P. 305–325. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2017.03.003
 24. Li N., Qiao Y., Xue L., Xu S., Zhang N. Targeted and MMP-2/9 responsive peptides for the treatment of rheumatoid arthritis // Int J Pharm. – 2019. – Vol. 569. – Art. ID: 118625. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.118625
 25. Pulik Ł., Łęgosz P., Motyl G. Matrix metalloproteinases in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: a state of the art review // Reumatologia. – 2023. – Vol. 61, No. 3. – P. 191–201. DOI: 10.5114/reum/168503
 26. Lim H., Park H., Kim H.P. Effects of flavonoids on matrix metalloproteinase-13 expression of interleukin-1β-treated

- articular chondrocytes and their cellular mechanisms: inhibition of c-Fos/AP-1 and JAK/STAT signaling pathways // *J Pharmacol Sci.* – 2011. – Vol. 116, No. 2. – P. 221–231. DOI: 10.1254/jphs.11014fp
27. Itoh T., Matsuda H., Tanioka M., Kuwabara K., Itoharu S., Suzuki R. The role of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in antibody-induced arthritis // *J Immunol.* – 2002. – Vol. 169, No. 5. – P. 643–647. DOI: 10.4049/jimmunol.169.5.2643
 28. Aratani Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function // *Arch Biochem Biophys.* – 2018. – Vol. 640. – P. 47–52. DOI: 10.1016/j.abb.2018.01.004
 29. Silva C.F., Pinto D.C., Silva A.M. Chromones: a promising ring system for new anti-inflammatory drugs // *Chem Med Chem.* – 2016. – Vol. 11, No. 20. – P. 2252–2260. DOI: 10.1002/cmdc.201600359
 30. Liu H., Xu R., Feng L., Guo W., Cao N., Qian C., Teng P., Wang L., Wu X., Sun Y., Li J., Shen Y., Xu Q. A novel chromone derivative with anti-inflammatory property via inhibition of ROS-dependent activation of TRAF6-ASK1-p38 pathway // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, No. 8. – Art. ID: e37168. DOI: 10.1371/journal.pone.0037168
 31. Xing T., Yu S., Qin M., Zhang M., Ma Y., Xiao Z. Synthesis, anti-inflammatory activity, and conformational relationship studies of chromone derivatives incorporating amide groups // *Bioorg Med Chem Lett.* – 2023. – Vol. 96. – Art. ID: 129539. DOI: 10.1016/j.bmcl.2023.129539

АВТОРЫ

Поздняков Дмитрий Игоревич – кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5595-8182. E-mail pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Корянова Ксения Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1571-9301. E-mail: kskor-16@mail.ru

Арустамян Каринэ Камоевна – студентка 5-го курса лечебного факультета ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0009-0009-9892-0326. E-mail: karaaruskara@yandex.ru

Маргушев Черим Минщурович – студент 5-го курса лечебного факультета ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID:

0009-0007-5838-3154. E-mail: Funny.day.15@mail.ru

Баскаева Валерия Сергеевна – студентка 6-го курса лечебного факультета ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0009-0003-8909-7389. E-mail: baskaevavaleria@yandex.ru

Руковицина Виктория Михайловна – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры органической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4104-9217. E-mail: rucovitinavika@mail.ru

Насрулаева Хаписат Насрулаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО ДМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-6011-370X. E-mail lisst32@mail.ru

Олохова Елена Александровна – ассистент кафедры фармакологии и фармацевтического консультирования с курсом ПО, ФГБОУ ВО КМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-6605-6814. E-mail: tabletka@yandex.ru