

УДК [615.322:547.918]:618

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2021.3.19

РАЗРАБОТКА КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА РАСТИТЕЛЬНОЙ КОМПОЗИЦИИ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ© Привалова Е.Г.¹, Цыренжапов А.В.^{1,2}, Минович В.М.¹¹Иркутский государственный медицинский университет, Россия, 664003, Иркутск, ул. Красного восстания, 1²В Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН, Россия, 664003, Иркутск, ул. Борцов Революции, 1*Резюме*

Цель. Установить оптимальное соотношение компонентов растительной композиции гинекологической, обладающей противовоспалительной активностью.

Методика. Оптимальное соотношение фитоконпонентов сбора определяли по результатам содержания основных действующих веществ. Количество флавоноидов и арбутина устанавливали спектрофотометрическим методом, суммы полифенолов – титриметрическим методом, экстрактивных веществ – гравиметрией. Противовоспалительная активность фитоконпозиции гинекологической исследовалась в опытах *in vivo* и сводилась к оценке влияния на процесс альтерации, на экссудативную фазу воспаления и фазу пролиферации. Фармакологические исследования проводились в соответствии с требованиями Директивы Европейского Парламента и Совета №2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей.

Результаты. Изучены 5 вариантов растительной композиции гинекологической. В состав биологически активных соединений композиций входят флавоноиды, дубильные вещества и простые фенольные соединения. Установлено содержание кверцетина, лютеолина, нарингенина, цинарозида, гиперозида, рутина, арбутина. Максимальное содержание действующих веществ установлено в растительной композиции гинекологической варианта 5 (*Pentaphylloides fruticosae cormus* 80 г, *Orthiliae secundae herba* 10 г, *Pyrolae rotundifoliae folia*, *Pyrolae asarifolia folia* (1:1) 10 г. Противовоспалительная активность данной композиции оказалась дозозависимая и была оценена как выраженная.

Заключение. Теоретически и экспериментально обоснован состав и соотношение компонентов растительной композиции гинекологической, содержащей полифенольные соединения, флавоноиды, арбутин. Разработанная фитоконпозиция проявляет выраженную дозозависимую противовоспалительную активность.

Ключевые слова: растительная композиция противовоспалительная, полифенолы, флавоноиды, арбутин

DEVELOPMENT OF THE COMPONENT COMPOSITION OF THE PLANT COLLECTION WITH GYNECOLOGICAL ANTI-INFLAMMATORY ACTIONPrivalova E.G.¹, Tsyrenzhapov A.V.^{1,2}, Mirovich V.M.¹¹Irkutsk State Medical University, 1, Krasny Vosstaniya St., Irkutsk, 664003, Russia²Scientific center of reconstructive and recovery surgery from the Russian Academy of Medical Science, 1, Borcov Revoljucii St., 664003, Irkutsk, Russia*Abstract*

Objective. To establish the optimal ratio of components of the gynecological plant composition which has an anti-inflammatory activity.

Methods. The optimal ratio of phytocomponents of the collection was determined by the results of the content analysis of the main active substances. The amount of flavonoids and arbutin was determined by the spectrophotometric method, the amount of polyphenols – by the titrimetric method, extractive substances - by the gravimetry. The anti-inflammatory activity of the gynecological phytocomposition was studied in *in vivo* experiments and was reduced to assessing the effect on the alteration process, on the exudative phase of inflammation and the proliferation phase. Pharmacological studies were carried

out in accordance with the requirements of Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22.09.2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

Results. Five variants of the gynecological plant composition were studied. The composition of biologically active compounds of the collection includes flavonoids, tannins and simple phenolic compounds. The content of quercetin, luteolin, naringenin, cinaroside, hyperoside, rutin, and arbutin was determined. The maximum content of active substances was established in the plant composition of the gynecological version 5 (*Pentaphylloides fruticosae cormus* 80 g, *Orthiliae secundae herba* grass 10 g, *Pyrolae rotundifoliae folia*, *Pyrolae asarifolia folia* (1:1) 10 g. The anti-inflammatory activity of this composition was dose-dependent and was evaluated as pronounced.

Conclusion. Theoretically and experimentally, the composition and ratio of the components of the gynecological plant collection containing polyphenolic compounds, flavonoids, and arbutin is justified. The developed phytocomposition shows a pronounced dose-dependent anti-inflammatory activity.

Keywords: anti-inflammatory plant collection, polyphenols, flavonoids, arbutin

Введение

Удельный вес фитопрепаратов постоянно растет и достигает 60% в общем ассортименте лекарственных средств на фармацевтическом рынке. В настоящее время большую популярность приобрели многокомпонентные растительные препараты, которые обеспечивают комплексное воздействие на организм и обладают широким спектром фармакологических эффектов. Значительную долю в общей структуре заболеваний занимают воспалительные заболевания мочеполовой системы. Более половины женщин молодого и старшего возрастов в той или иной степени сталкиваются с функциональными нарушениями этой системы. Число таких заболеваний постоянно растет и требует длительного лечения [5]. Таким образом, разработка препаратов на основе растительного сырья, используемых для лечения воспалительных заболеваний гинекологического характера является актуальной задачей.

Предлагается растительная композиция противовоспалительного действия, которая включает сырье растений пятилистника кустарникового, ортилии однобокой и грушанки. Биологически активные соединений (БАС) побегов пятилистника кустарникового представлены флавоноидами (кверцетин, рутин, гиперозид, кемпферол, апигенин и их производные), катехины, галловая кислота [9].

Данный состав обеспечивает капилляроукрепляющее, антиоксидантное, противовоспалительное и болеутоляющее действие [7]. Химический состав ортилии однобокой представлен флавоноидами (кверцетин, нарингенин, гесперидин, гиперозид), дубильные вещества, фенолы (арбутин) [3]. Благодаря такому комплексу БАС ортилия однобокая обладает противовоспалительным, болеутоляющим, а также диуретическим и антисептическим действием. Кроме того, нормализует проницаемость капилляров [7]. Сырье грушанки, заготавливаемое от видов г. мясокрасной и г. круглолистной, содержит флавоноиды (рутин, цинарозид, гесперидин, гиперозид, нарингенин, кверцетин), катехин, фенолы (арбутин) [2, 4]. За счет указанных соединений листья грушанки оказывают противовоспалительное, антимикробное, болеутоляющее, антиоксидантное действие, а также проявляют Р-витаминную активность [6, 7].

Целью работы явилось установление оптимального соотношения компонентов в растительной композиции гинекологической и оценка ее противовоспалительной активности.

Методика

Объектом исследования явились варианты растительной композиции гинекологической (РКГ) с различным соотношением компонентов – побегов курильского чая (*Pentaphylloides fruticosae cormus*), травы ортилии однобокой (*Orthiliae secundae herba*), листьев грушанки круглолистной и мясокрасной (1:1) (*Pyrolae rotundifoliae folia*, *Pyrolae asarifolia folia*) (табл. 1). Сырье для составления растительных композиций было приобретено через аптечную сеть (биологически активные добавки к пище), оно соответствовало критериям сертификатов качества.

Таблица 1. Состав вариантов растительной композиции гинекологической противовоспалительного действия

Компоненты РКГ	Количество компонента в граммах				
	Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3	Вариант 4	Вариант 5
побеги курильского чая - <i>Pentaphylloides fruticosae cormus</i>	10	30	40	60	80
трава ортилии однобокой – <i>Orthiliae secundae herba</i>	40	30	30	20	10
листья грушанки круглолистной и мясокрасной (1:1) – <i>Pyrolae rotundifoliae folia, Pyrolae asarifolia folia</i>	50	40	30	20	10
Итого	100	100	100	100	100

Установление рационального соотношения компонентов в РКГ осуществляли на основании изучения в 5 вариантах компонентного состава и количественного содержания биологически активных соединений (полифенолов, флавоноидов, арбутина) и экстрактивных веществ. Компонентный состав биологически активных соединений РКГ изучали методом тонкослойной хроматографии на пластинках Sorbfil ПТСХ П-А-УФ-254. Исследование флавоноидов проводили в системе н-бутанол – ледяная уксусная кислота - вода (4:1:2) (система I), проявитель $AlCl_3$ раствор спиртовой 1%; при анализе арбутина использовали систему I и систему растворителей муравьиная кислота-вода-этилацетат (6:6:88) (система II), проявитель натрия фосфорномолибдата раствор 10%.

Количественное содержание суммы полифенольных соединений определяли титриметрическим методом в извлечении, полученном спиртом этиловым 60%, экстрактивных веществ, извлекаемых водой очищенной – гравиметрическим методом [10]. Количество флавоноидов устанавливали методом дифференциальной спектрофотометрии с использованием алюминия хлорида. Экстракцию флавоноидов проводили 60% спиртом этиловым (1:100), содержащим 1% хлористоводородной кислоты. При этом происходил гидролиз флавоноидов с образованием агликонов. Максимум поглощения суммы агликонов ($\lambda=430$ нм) РКГ совпадал с СО кверцетина, который использовали в качестве стандартного образца (ТУ 9369-139-04868244-07). Для оценки РКГ на содержание арбутина использовали спектрофотометрический анализ [10].

Исследования противовоспалительной активности РКГ сводились к оценке влияния на процесс альтерации, на экссудативную фазу воспаления и фазу пролиферации [8]. Эксперименты проводились на лабораторных белых крысах линии Winstar обоего пола весом 180-230 г. Содержание животных соответствовало требованиям «Правил лабораторной практики (GPL)» [11]. Животные были распределены на 3 группы: 1 – контрольная, 2 – сравнения, 3 – экспериментальная. Для данной серии экспериментов получали исследуемый препарат, используя спирт этиловый 60%, при соотношении РКГ-экстрагент 2:50, с последующим высушиванием и получением сухого остатка. Действие РКГ изучали в дозах 25 мг/кг, 50 мг/кг и 90 мг/кг из расчета на сухой остаток. Для этого, соответствующее количество полученного сухого остатка растворяли в воде очищенной и вводили животным с помощью катетера в объеме 2 мл внутривенно. Крысы контрольной группы получали воду очищенную в эквивалентном количестве. Препарат сравнения – бутадон в дозе 50 мг/кг.

Результаты полученных исследований подвергали статистической обработке в соответствии с ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента» с использованием параметрического критерия Стьюдента (t) при доверительной вероятности $p < 0,05$ [10].

Результаты исследования

Предварительно было установлено, что сырье – грушанки листья, заготовленное от видов грушанки круглолистной и г. мясокрасной, не имеет различий по основным группам БАС (флавоноиды, арбутин) в качественном и количественном отношении. В нашем эксперименте использовано сырье, включающее листья двух видов грушанок по 50%.

Фитохимический анализ 5 вариантов РКГ показал присутствие флавоноидов (кверцетина, лютеолина, нарингенина, цинарозида, гиперозида, рутина), простых фенольных соединений – арбутина. Качественными реакциями установлено содержание во всех вариантах РКГ танидов с

преимущественным содержанием пирокатехиновой группы. Количественное содержание биологически активных соединений и экстрактивных веществ в зависимости от варианта растительной композиции гинекологической представлены в табл. 2.

Таблица 2. Содержание полифенолов, флавоноидов, арбутина и экстрактивных веществ в вариантах растительной композиции гинекологической ($M \pm m$, $n=6$)*

Вариант РКГ	Содержание, %			
	ПФ	ФЛ	АР	ЭВ
1	12,54±0,26	0,21±0,01	1,10±0,50	28,90±1,90
2	18,21±0,76	0,21±0,01	1,15±0,03	29,33±0,47
3	18,54±0,41	0,42±0,02	1,15±0,03	28,73±1,03
4	20,15±0,55	0,95±0,05	1,18±0,06	28,15±1,45
5	25,60±1,36	1,17±0,05	1,18±0,06	29,20±0,78

Примечание: ПФ – полифенолы, ФЛ – флавоноиды, АР – арбутин, ЭВ- экстрактивные вещества

Учитывая, что вариант 5 растительной композиции гинекологической содержал максимальное количество полифенолов, флавоноидов, арбутина и экстрактивных веществ, а также принимая во внимание важную роль именно фенольных соединений как противовоспалительных агентов, нами проведено изучение его фармакологической активности (табл. 3).

Таблица 3. Результаты исследования противовоспалительной активности варианта 5 растительной композиции гинекологической ($M \pm m$, $n=10$)

Условия опыта	Контроль	Препарат сравнения	Вариант 5 РКГ		
			25 мг/кг	50 мг/кг	90 мг/кг
Влияние на степень повреждения кожных покровов					
9 сутки					
Площадь некротизированной ткани, см ²	6,0±0,19	5,1±0,34	4,9±0,40	4,6±0,20	3,9±0,30
25 сутки					
Площадь некротизированной ткани, см ²	5,2±1,10	2,9±1,70	2,7±1,20	1,5±0,10	0,8±0,90
Влияние на экссудативную фазу воспаления					
Объём лапки, мл	2,3±0,18	1,4±0,04	1,6±0,70	1,1±0,40	1,0±0,04
Влияние на образование грануляционно-фиброзной ткани					
Масса грануляционно-фиброзной ткани, мг	92±6,00	121±10,30	106±8,50	122±9,10	139±11,90

В результате изучения антиальтеративного действия установили, что исследуемый препарат из варианта 5 РКГ значительно уменьшал степень повреждения ткани. При этом, отмечался дозозависимый эффект. В частности, на 9 сутки у крыс, получавших исследуемый препарат в дозе 25 мг/кг площадь некротизированной ткани была на 23%, в дозе 50 мг/кг – на 24%, а у животных, получавших исследуемый препарат в дозе 90 мг/кг - на 35% меньше, чем у контрольной группы.

Отмечено, что исследуемый препарат эффективно стимулировал регенераторные процессы, следствием чего явилось уменьшение площади альтерации на 25 сутки опыта на 49% (доза 25 мг/кг), на 71% (доза 50мг/кг), тогда как у крыс, получавших исследуемый препарат в дозе 90 мг/кг, площадь повреждения уменьшалась на 85%. Препарат сравнения бутадион проявил умеренную антиальтеративную активность. Так, на 9 сутки площадь некроза уменьшилась на 15%, а на 25 сутки – на 45% по сравнению с контролем.

Антиэкссудативное действие – у животных, получавших препарат из варианта 5 РКГ в дозе 25 мг/кг, отмечалось уменьшение степени экссудации в лапке на 31%, в дозе 50 мг/кг – на 52%, а при дозе 90 мг/кг – на 57% по сравнению с контролем. Препарат сравнения бутадиион снижал экссудативную реакцию у крыс на 40% по сравнению с контролем.

В результате проведенной серии опытов по изучению пролиферативной активности установлено, что у животных, принимавших исследуемый препарат из варианта 5 РКГ, эта активность превышала контроль на 15% при дозе 25 мг/кг, на 32% при дозе 50 мг/кг и на 51% при дозе 90 мг/кг, по сравнению с контролем. При этом, препарат сравнения бутадиион повышал образование грануляционно-фиброзной ткани у животных на 31% по сравнению с контролем.

Обсуждение результатов исследования

Противовоспалительными свойствами обладают фенольные соединений – полифенолы и простые фенолы. Флавоноиды влияют на отдельные группы медиаторов воспаления. В частности, они эффективно ингибируют индукцию хемокинов, тормозят выделение МСР-1, ЛТВ4, IL-8, а также выступают в роли ингибиторов липооксигеназы [1]. Вместе с тем, флавоноиды снижают эффективность адгезии и дегрануляции нейтрофилов и лимфоцитов за счет модуляции рецепторов кальциевых каналов плазматической мембраны. Кроме того, флавоноиды снижают проницаемость стенок капилляров, повышают их эластичность и прочность (*P*-витаминная активность). Арбутин – фенологликозид с одной свободной гидроксильной группой – обладает незначительной противовоспалительно активностью, но является мощным прямым неферментным антиоксидантом [3]. На основании проведенных нами исследований следует, что вариант 5 растительной композиции гинекологической содержит максимальное количество биологически активных веществ, отвечающих за противовоспалительный эффект.

Экспериментальные данные показали, что вариант 5 изучаемой фитокомпозиции обладает выраженной противовоспалительной активностью. Исследуемый препарат в максимальной дозе, вводимый животным, превосходил эффект препарата сравнения на 72,4% на стадии альтерации, на 21,6% на стадии экссудации и на 14,9% на стадии пролиферации. Выраженная противовоспалительная активность объясняется наличием в варианте 5 растительной композиции гинекологической полифенольных соединений, в том числе флавоноидов, а также арбутина.

Заключение

В результате проведенных фитохимических и фармакологических исследований установили, что вариант 5 растительной композиции гинекологической содержит максимальное количество полифенолов, флавоноидов, арбутина, экстрактивных веществ и проявляет выраженный противовоспалительный эффект.

Литература (references)

1. Азарова О.В., Галактионова Л.П. Флавоноиды: механизм противовоспалительного действия // Химия растительного сырья. – 2012. – №4. – С. 61-68. [Azarova O.V., Galaktionova L.P. Flavonoidy: mekhanizm protivovospalitel'nogo dejstviya // Himiya rastitel'nogo syr'ya. Chemistry of vegetable raw materials. – 2012. – N4. – P.61-68. (in Russian)]
2. Баясгалан Б., Одонтуяа Г., Цэцэгмаа С. и др. Фармакогностическое и фитохимическое исследование грушанки красной (*Pyrola incarnata* (DC.) Freyn), произрастающей в Монголии // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2002. – Т. 34. – №5. – С.76-78. [Bayasgalan B. Odontuyaa G., Csecegmaa S. i dr. Farmakognosticheskoe i fitohimicheskoe issledovanie grushanki krasnoj (*Pyrola incarnata* (DC.) Freyn), proizrastayushchej v Mongolii // Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk). Siberian Medical Journal (Irkutsk). – 2002. – V.34. – N5. – P.76-78. (in Russian)]
3. Волобой Н.Л., Зверев Я.Ф., Брюханов В.М. и др. Антиоксидантный и прооксидантный эффекты арбутина и гидрохинона в эксперименте *in vitro* // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Т.10. – №5. – С. 41-43. [Voloboj N.L. Zverev, YA.F., Bryuhanov, V.M. i dr. Antioksidantnyj i prooksidantnyj efekty arbutina i gidrohinona v eksperimente *in vitro* // Byulleten' sibirskoj mediciny. Bulletin of Siberian Medicine – 2011. – V.10. – N5. – P.41-43. (in Russian)]

4. Горячкина Е.Г., Кахерская Ю.С., Федосеева Г.М. Состав фенольного комплекса представителей семейства *Pyrolaceae* // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2014. – Т.127. – №.4. – С.105-107. [Goryachkina E.G., Kaherskaya YU.S., Fedoseeva G.M. Sostav fenol'nogo kompleksa predstavitelej semejstva Pyrolaceae // *Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk)*. Siberian Medical Journal (Irkutsk). – 2014. – V.127. – N4. – P. 105-107. (in Russian)]
5. Государственная фармакопея Российской Федерации: в 4 томах / ред. С.В. Емшанова, О.Г. Потанина, Е.В. Буданова, В.В. Чистяков. – XIV изд. – Москва, 2018. 12.03.2021. URL: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php> [Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii: v 4 tomah / red. S.V. Emshanova, O.G. Potanina, E.V. Budanova, V.V. Chistyakov. – XIV izd. – M., 2018. 12.03.2021. URL: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>. (in Russian)]
6. Каприн А.Д., Аполихин О.И., Сивков А.В. и др. Анализ уронефрологической заболеваемости и смертности в Российской Федерации за 2003-2013 гг // Экспериментальная и клиническая урология. – 2015. – Т.2. – С.4-12. [Kaprin A.D. Apolihin O.I. Sivkov A.V. i dr. Analiz uronefrolgicheskoy zabolevaemosti i smertnosti v rossijskoj federacii za 2003-2013 gg // *Ehksperimentalnaya i klinicheskaya urologiya*. Experimental and clinical urology. – 2015. – V.2. – P. 4-12. (in Russian)]
7. Кутаев Е.М., Ломбоева С.С., Кушеев Ч.Б. Оценка противовоспалительной активности водно-спиртовых экстрактов из некоторых растений семейства грушанковых // Ветеринария. – 2015. – Т.1 – С. 54-57. [Kutaev E.M., Lomboeva S.S., Kusheev C.B. Ocenka protivovospalitel'noj aktivnosti vodno-spirovoyh ekstraktov iz nekotoryh rastenij semejstva grushankovyh // *Veterinariya*. Veterinary Medicine. – 2015. – V.1 – P. 54-57. (in Russian)]
8. Федосеева Г.М., Пилипчук Я.Г., Кахерская Ю.С. и др. Лекарственные растения Восточной Сибири, перспективные для создания препаратов, обладающих противовоспалительным, противовоспалительным, противоопухолевым иммуностимулирующим действием // Фитотерапия и народная медицина эпохи Авиценны: Материалы 1-го Международного конгресса. – Душанбе, 2004. – С. 37-44. [Fedoseeva G.M., Pilipchuk YA.G., Kaherskaya YU.S. i dr. Lekarstvennyye rasteniya Vostochnoj Sibiri, perspektivnyye dlya sozdaniya preparatov, obladayushchih protivovospalitel'nym, protivovospalitel'nym, protivopuholevym immunostimuliruyushchim dejstviem // *Fitoterapiya i narodnaya medicina epohi Avicenny: Materialy 1-go Mezhdunarodnogo kongressa*. Herbal medicine and traditional medicine of the Avicenna era. – Dushanbe, 2004. – P.37-44. (in Russian)]
9. Цыренжапов А.В., Привалова Е.Г. Изучение противовоспалительного действия экстракта сухого из наземной части растения рода *Geranium* // Инновационные технологии в фармации – Иркутск, 2019. – С.415-419. [Cyrenzhapov A.V., Privalova E.G. Izuchenie protivovospalitel'nogo dejstviya ekstrakta suhogo iz nadzemnoj chasti rasteniya roda *Geranium* // *Innovacionnyye tekhnologii v farmacii*. Innovative technologies in pharmacy. – Irkutsk, 2019. – P.415-419. (in Russian)]
10. Федеральный закон от 31.01.2016 г. № 5-ФЗ «О ратификации Соглашения о единых принципах и правилах обращения лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза» // Официальный интернет-портал правовой информации. 12.03.2021. URL: <http://www.pravo.gov.ru> [Federal'nyj zakon ot 31.01.2016 g. № 5-FZ «O ratifikacii Soglasheniya o edinyh principah i pravilah obrashcheniya lekarstvennyh sredstv v ramkah Evrazijskogo ekonomicheskogo soyuza» // *Oficial'nyj internetportal pravovoj informacii*. Official Internet portal of legal information. 12.03.2021. URL: <http://www.pravo.gov.ru>. (in Russian)]
11. Andysheva E.V., Khramova E.P. Phenolic compounds of *Dasiphora fruticosa* plants from natural populations in the south of the Russian Far East // International Conferences «Plant Diversity: Status, Trends, Conservation Concept». – Novosibirsk, 2020. – V.24. – P.00002.

Информация об авторах

Привалова Елена Геннадьевна – кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры фармакогнозии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: eleprivalova@yandex.ru

Цыренжапов Арсен Владимирович – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России и научный сотрудник Научного центра реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН. E-mail: a.tsyrenzhapov@ismu.baikal.ru

Мирович Вера Михайловна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармакогнозии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: mirko02@yandex.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.