

УДК 543.054; 614.272
<https://doi.org/10.35693/AVP619759>

© This work is licensed under CC BY 4.0
 ©Authors, 2024

ПРИМЕНЕНИЕ СОРБЕНТА ДЛЯ ТВЕРДОФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ НА ОСНОВЕ ГИПРОМЕЛЛОЗЫ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОКАИНА В КОМБИНИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ

М.Н. Качалкин, А.В. Воронин

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» (Самара, Россия)

Для цитирования: Качалкин М.Н., Воронин А.В. Применение сорбента для твердофазной экстракции на основе гипромеллозы для количественного определения прокаина в комбинированных лекарственных препаратах. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2024;24(Х):XX-XX. <https://doi.org/10.35693/AVP619759>

■ Сведения об авторах

Качалкин М.Н. – аспирант кафедры химии Института фармации. <https://orcid.org/0000-0003-4356-9435> E-mail: m.n.kachalkin@samsmu.ru
 Воронин А.В. – д-р фарм. наук, доцент, директор Института фармации. <https://orcid.org/0000-0002-8472-3796>
 E-mail: a.v.voronin@samsmu.ru

Получено: 25.10.2023

Одобрено: 01.04.2024

Опубликовано: 18.04.2024

■ Аннотация

Цель – оценка селективности и метрологических характеристик методики спектрофотометрического определения прокаина в некоторых комбинированных лекарственных препаратах с использованием сорбента для твердофазной экстракции на основе гипромеллозы.

Материал и методы. Для получения сорбента для твердофазной экстракции были использованы: гипромеллоза, этилцианакрилат; для формирования активных центров был использован прокаина гидрохлорид, натрия гидроксид. Сорбент получали по известной методике. Сорбционная емкость полученных образцов сорбентов по прокаину составила $10,2 \pm 1,0$ мкг/г. Для исследования были выбраны комбинированные лекарственные препараты, содержащие прокаин и его соли: «Меновазин», «Сульфокамфокаин», «Отолорин». Регистрацию оптической плотности элюатов проводили на спектрофотометре СФ-56 (ООО «ОКБ СПЕКТР») при аналитической длине волны 292 нм в кювете с толщиной оптического слоя 1 см, раствор сравнения – раствор кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л. Для расчета содержания прокаина в элюатах строили градуировочный график (зависимости оптической плотности элюата от концентрации прокаина) в диапазоне концентраций 1–20 мкг/мл. Для оценки селективности (специфичности) пробоподготовки при хроматографическом разделении комбинированных лекарственных препаратов регистрировали спектр поглощения в диапазоне длин волн 200–400 нм для элюатов, полученных с использованием воды очищенной и раствора кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л. Идентификацию прокаина и бензокаина в элюате проводили по наличию максимумов поглощения при длинах волн 222 и 286 нм для бензокаина и 228 и 292 нм для прокаина соответственно. Статистическая обработка результатов эксперимента и определение метрологических характеристик методики анализа проводили в соответствии с ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний».

Результаты. Показана селективность методики спектрофотометрического определения прокаина в некоторых комбинированных лекарственных препаратах с использованием сорбента для твердофазной экстракции на основе гипромеллозы. Селективное связывание анализируемого вещества с активными центрами в сорбенте и ступенчатое элюирование последовательно водой очищенной и раствором кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л в ходе твердофазной экстракции устраняет мешающий эффект компонентов лекарственных препаратов при УФ-спектрофотометрии прокаина. Применение сорбента на основе гипромеллозы приводит к улучшению метрологических характеристик и снижению систематической погрешности методики количественного определения в среднем на 14,4%. Предложенный методический подход с использованием селективного сорбента можно рекомендовать к применению для контроля качества комбинированных лекарственных препаратов, содержащих прокаин и его соли.

■ **Ключевые слова:** прокаин; гипромеллоза; твердофазная экстракция; сорбент.

■ **Конфликт интересов:** не заявлен.

■ Список сокращений

ТФЭ – твердофазная экстракция.

THE USE OF A HYPROMELLOSE BASED SORBENT FOR A SOLID-PHASE EXTRACTION IN THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF PROCAINE IN COMBINATION DRUGS

Maksim N. Kachalkin, Aleksandr V. Voronin

Samara State Medical University (Samara, Russia)

Citation: Kachalkin MN, Voronin AV. **The use of a hypromellose based sorbent for a solid-phase extraction in the quantitative determination of procaine in combination drugs.** *Aspirantskiy vestnik Povolzhiya*. 2024;24(X):XX-XX. <https://doi.org/10.35693/AVP619759>

■ Information about authors

Maksim N. Kachalkin – a postgraduate student of the Department of Chemistry of the Institute of Pharmacy. ORCID: 0000-0003-4356-9435

E-mail: m.n.kachalkin@samsmu.ru

Aleksandr V. Voronin – PhD, Associate professor, Director of the Institute of Pharmacy. <https://orcid.org/0000-0002-8472-3796> E-mail:

a.v.voronin@samsmu.ru

Received: 25.10.2023

Accepted: 01.04.2024

Published: 18.04.2024

■ Abstract

Aim – to assess the selectivity and metrological characteristics of the spectrophotometric method for procaine determination in combination drugs using a solid-phase extraction sorbent based on hypromellose.

Material and methods. The solid-phase extraction sorbent was obtained with hypromellose and ethyl cyanoacrylate; the procaine hydrochloride and sodium hydroxide formed the active centers. The sorbent was prepared using a standard method. The sorption capacity of the obtained sorbent samples for procaine was $10.2 \pm 1.0 \mu\text{g/g}$. For the study, we selected the combination drugs containing procaine and its salts, such as "Menovazin", "Sulfocamphocaine", and "Otolorin". The eluate optical density was registered using a SF-56 spectrophotometer (OKB SPECTR LLC) at an analytical wavelength of 292 nm in a cuvette with an optical layer thickness of 1 cm. The reference solution was a 0.1 M hydrochloric acid solution. To calculate the procaine content in the eluates, a calibration graph (dependence of eluate optical density on procaine concentration) was plotted in the concentration range of 1–20 mcg/ml. To evaluate the selectivity (specificity) of sample preparation in chromatographic separation of the combination drugs, the absorption spectra were registered in the wavelength range of 200–400 nm for eluates obtained using purified water and a 0.1 M hydrochloric acid solution. The procaine and benzocaine were identified in the eluate by the presence of absorption maxima at wavelengths of 222 and 286 nm for benzocaine, and 228 and 292 nm for procaine. For statistical processing of the experimental results and determination of metrological characteristics of the analysis method, we followed the GPM.1.1.0013 "Statistical processing of results of physical, physicochemical, and chemical tests".

Results. We have demonstrated the selectivity of the spectrophotometric determination of procaine in certain combination drugs using a solid-phase extraction sorbent based on hypromellose. The selective binding of the analyzed substance with active centers in the sorbent and stepwise elution with purified water and a 0.1 M hydrochloric acid solution during solid-phase extraction eliminated the interfering effect of drug components during the UV-spectrophotometry of procaine. The use of a hypromellose based sorbent improved the metrological characteristics and reduced the systematic error of the quantitative determination method by an average of 14.4%. The proposed methodological approach using a selective sorbent might be recommended as the quality control for combination drugs containing procaine and its salts.

■ **Keywords:** procaine; hypromellose; solid-phase extraction; sorbent.

■ **Conflict of interest:** nothing to disclose.

ВВЕДЕНИЕ

В контроле качества комбинированных лекарственных средств существуют методические подходы, основанные на предварительном разделении компонентов пробы, и подходы без предварительного разделения. К первой группе относятся хроматографические методы анализа, капиллярный электрофорез, а ко второй – электрохимические методы анализа, спектрофотометрия многокомпонентных систем с последующим применением математического аппарата для расчета содержания каждого компонента [1]. Применение твердофазной экстракции (ТФЭ) позволяет разделять анализируемые компоненты на этапе пробоподготовки, при этом селективность разделения определяет селективность аналитической методики в целом. В настоящее время интерес представляют сорбенты, обеспечивающие избирательность взаимодействия с анализирующим веществом, в основе которых лежат различные типы взаимодействий «сорбент – сорбат»: гидрофобные, ионные, ван-дер-ваальсовы и др. Для получения селективных сорбентов используются различные производные целлюлозы: этилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза (гипромеллоза), карбоксиметилцеллюлоза и др. [2–4].

На фармацевтическом рынке РФ представлен ряд комбинированных лекарственных препаратов, содержащих в качестве действующего вещества прокаин и его соли [5]. В связи с этим применение селективной ТФЭ

для вышеуказанной группы препаратов является перспективным направлением исследований в фармацевтическом анализе.

ЦЕЛЬ

Оценка селективности и метрологических характеристик методики спектрофотометрического определения прокаина в некоторых комбинированных лекарственных препаратах с использованием сорбента для твердофазной экстракции на основе гипромеллозы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для получения сорбента для ТФЭ были использованы: гипромеллоза (ФС.2.1.0085.18 «Гипромеллоза», тип замещения – 2208, вязкость 2% раствора в воде (20 оС) – 100 мПа·с, средняя молекулярная масса – 26000 Да, НРМС-Methocel K100-LV Premium USP/EP, Германия), этилцианакрилат (99%, Haihang Industry Co., Китай); для формирования активных центров был использован прокаина гидрохлорид (квалификация «чда», АО «Вектон», РФ), натрия гидроксид (квалификация «хч», АО «Вектон», РФ). Сорбент получали по известной методике [6]. Сорбционная емкость полученных образцов сорбентов по прокаину составила $10,2 \pm 1,0 \text{ мкг/г}$.

Для исследования были выбраны комбинированные лекарственные препараты, содержащие прокаин и его соли (таблица 1).

Подготовка проб для спектрофотометрического определения прокаина в комбинированных лекарственных препаратах

Пробоподготовку комбинированных лекарственных препаратов, содержащих прокаин, осуществляли в два этапа: приготовление раствора для нанесения на микроколону; твердофазная экстракция на сорбенте.

Меновазин. 1 мл препарата переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили спиртом этиловым 70% до метки и перемешивали (раствор А).

Сульфокамфокаин. 1 мл препарата переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили водой очищенной до метки и перемешивали (раствор А).

Отолорин. 1 мл препарата переносили в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводили водой очищенной до метки и перемешивали (раствор А).

5 мл полученного раствора А переносили в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводили водой очищенной до метки и перемешивали (раствор Б).

Для оценки эффективности применения методики с этапом ТФЭ для комбинированных лекарственных препаратов, содержащих прокаин, был реализован вариант методики без применения этапа ТФЭ, заключающийся в разделении компонентов посредством предварительного осаждения прокаина в виде периодида.

В колонку высотой 10 см и диаметром 1 см помещали 1 г (точная навеска) сорбента, кондиционировали 5 мл воды очищенной в течение 5 мин, помещали 5 мл раствора Б, полученного для каждого анализируемого препарата, элюировали последовательно 20 мл воды очищенной и 20 мл раствором кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л со скоростью 1 мл/мин (ступенчатое элюирование) или 40 мл раствора кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л со скоростью 1 мл/мин.

Спектрофотометрический анализ. Регистрацию оптической плотности элюатов проводили на спектрофотометре СФ-56 (ООО «ОКБ СПЕКТР») при аналитической длине волны 292 нм в кювете с толщиной оптического слоя 1 см, раствор сравнения – раствор кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л.

Для расчета содержания прокаина в элюатах строили градуировочный график (зависимости оптической плотности элюата от концентрации прокаина) в диапазоне концентраций 1–20 мкг/мл.

Для оценки селективности (специфичности) пробоподготовки при хроматографическом разделении комбинированных лекарственных препаратов регистрировали спектр

Таблица 1 / Table 1

Комбинированные лекарственные препараты, содержащие прокаин и его соли
Combination drugs containing procaine and its salts

Лекарственный препарат	Лекарственная форма	Состав	
		Действующие вещества	Вспомогательные вещества
«Меновазин» (ООО «Гиппократ», РФ)	раствор для наружного применения (100 мл)	левоментол – 2,5 г; прокаина гидрохлорид – 1,0 г; бензокаин – 1,0 г	спирт этиловый 70%
«Сульфокамфокаин» (ОАО «Фармстандарт-УфаВИТА», РФ)	раствор для инъекций (2 мл)	прокаин – 108,2 мг; сульфокамфорная кислота (б/в) – 99,2 мг	вода очищенная, кислота хлористоводородная
«Отолорин» (ООО «Гротекс», РФ)	капли ушные (10 мл)	прокаина гидрохлорид – 0,2 г; борная кислота – 0,3 г	натрия гидроксид, спирт этиловый 70%

Таблица 2 / Table 2

Селективность процедуры твердофазной экстракции комбинированных лекарственных препаратов, содержащих прокаин и его соли
The selectivity of the solid-phase extraction procedure for combination drugs containing procaine and its salts

Лекарственный препарат	Максимумы поглощения в элюате, нм		
	Ступенчатое элюирование		Элюирование раствором кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л
	Вода очищенная	Раствор кислоты хлористоводородной 0,1 моль/л	
Меновазин	222, 286 (бензокаин)	228, 292 (прокаин)	226, 290
Сульфокамфокаин	-	228, 292 (прокаин)	228, 292
Отолорин	-	228, 292 (прокаин)	228, 292

поглощения в диапазоне длин волн 200–400 нм для элюатов, полученных с использованием воды очищенной и раствора кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л. Идентификацию прокаина и бензокаина в элюате проводили по наличию максимумов поглощения при длинах волн 222 и 286 нм для бензокаина и 228 и 292 нм для прокаина соответственно [7].

Статистическая обработка результатов эксперимента и определение метрологических характеристик методики анализа проводили в соответствии с ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний» [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка селективности полученного сорбента для целей анализа выбранных комбинированных лекарственных препаратов, содержащих прокаин и его соли, является одним из ключевых этапов исследования.

Основным фактором выбора элюента были физико-химические свойства сорбента и стабильность сорбента в его присутствии: применение органических растворителей недопустимо по причине частичной растворимости полиэтилцианаакрилатной матрицы в алифатических спиртах, ацетоне, эфире, хлороформе. Прокаин является двухкислотным слабым основанием, в щелочной среде (pH>8) присутствует в молекулярной форме, в кислой среде (pH<3) третичная алифатическая аминогруппа и первичная ароматическая аминогруппа способны к ионизации. Это является определяющим условием удерживания прокаина на поверхности сорбента в щелочной и нейтральных

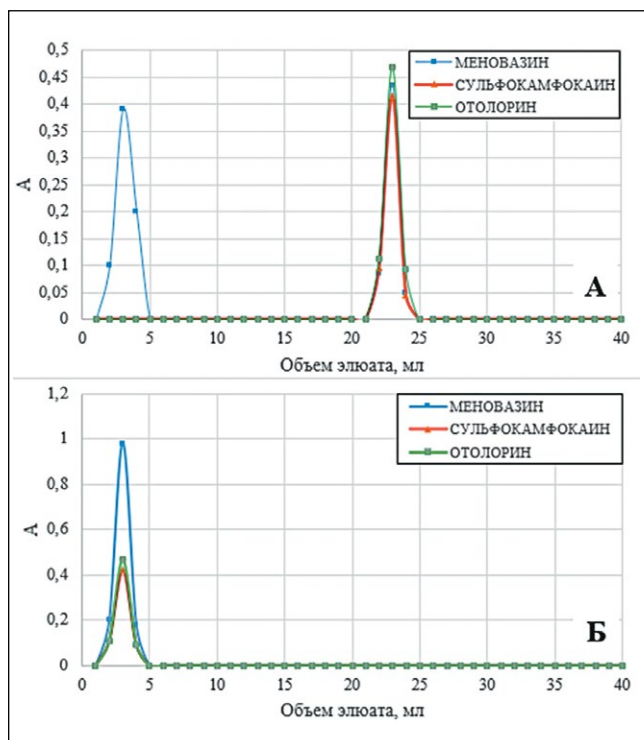


Рисунок 1. Хроматограммы лекарственных препаратов «Меновазин», «Сульфокамфокаин», «Отоларин» (ТФЭ с применением сорбента на основе гипромеллозы): ступенчатое элюирование последовательно водой очищенной и раствором кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л (А); элюирование только раствором кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л (Б).

Figure 1. Chromatograms of the pharmaceuticals "Menovasin", "Sulfocamphocaine", "Otolorin" (SPE using a hypromellose based sorbent): stepwise elution with purified water and a 0.1 M hydrochloric acid solution (A); elution with a 0.1 M hydrochloric acid solution alone (B).

Таблица 3 / Table 3

Метрологические характеристики методики спектрофотометрического определения прокаина в комбинированных лекарственных препаратах
Metrological characteristics of the spectrophotometric determination of procaine in the combination drugs

Лекарственный препарат	f	$\bar{X}$, %	S2	S	P, %	t(P,f)	$\Delta\bar{X}$, %	$\bar{\varepsilon}$, %
с применением ТФЭ (сорбент на основе гипромеллозы)								
Меновазин	10	99,3	15,6	3,95	95	2,23	4,69	4,68
Сульфокамфокаин	10	98,8	13,6	3,68	95	2,23	4,51	4,51
Отоларин	10	99,0	19,8	4,45	95	2,23	4,62	4,62
без этапа ТФЭ (с предварительным осаждением прокаина в виде периодида)								
Меновазин	10	105,1	41,1	5,58	95	2,23	5,65	5,67
Сульфокамфокаин	10	101,1	24,4	4,94	95	2,23	4,29	4,29
Отоларин	10	100,2	26,4	5,13	95	2,23	4,45	4,45

Примечания: f – число степеней свободы; $\bar{X}$ – среднее относительное содержание прокаина в препарате (от регламентируемого содержания), %; S2 – дисперсия; S – стандартное отклонение; P – доверительная вероятность, %; t(P,f) – критерий Стьюдента; $\Delta\bar{X}$ – полуширина доверительного интервала среднего результата, %; $\bar{\varepsilon}$ – относительная ошибка среднего результата, %.

средах; в сильнокислой среде происходит дезактивация активных центров в порах сорбента.

В таблице 2 представлены результаты исследования селективности процедуры ТФЭ анализируемых препаратов. На рисунке 1 приведены хроматограммы разделения на гипромеллозном сорбенте лекарственных препаратов «Меновазин», «Сульфокамфокаин» и «Отоларин». При анализе препарата «Меновазин» без предварительного разделения бензокаин оказывает мешающий эффект при количественном спектрофотометрическом определении прокаина за счет наложения максимумов поглощения.

Наличие активных центров связывания в сорбенте и ступенчатое элюирование последовательно водой очищенной и раствором кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л в ходе ТФЭ позволяет устранить мешающий эффект большинства компонентов лекарственных препаратов при УФ-спектрофотометрии прокаина. На примере разделения препарата «Меновазин» при использовании в качестве элюента только раствора кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л, прокаин не удерживается на сорбенте (рисунок 1Б), однако процедура ступенчатого элюирования последовательно водой очищенной и раствором кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л (рисунок 1А) позволяет добиться разделения компонентов (бензокаин и прокаин).

Результаты оценки метрологических характеристик методики анализа с применением сорбента для ТФЭ на основе гипромеллозы при анализе 11 проб каждого лекарственного препарата свидетельствуют об удовлетворительной воспроизводимости результатов анализа (таблица 3). При использовании этапа ТФЭ с гипромеллозным сорбентом относительная ошибка определения среднего содержания прокаина в препаратах с доверительной вероятностью 95% находится в диапазоне значений от $\pm 4,51\%$ до $\pm 4,68\%$. Для варианта методики без этапа ТФЭ в случае препарата «Меновазин» наблюдается завышение содержания прокаина (за счет неконтролируемого вклада в оптическую плотность других компонентов лекарственных препаратов, главным образом бензокаина) и увеличение относительной ошибки определения с $\pm 4,68\%$ до $\pm 5,67\%$.

Правильность методики спектрофотометрического определения прокаина в лекарственных препаратах определялась методом «введено – найдено», стандартный образец прокаина в виде гидрохлорида в анализируемые препараты добавляли в количестве 20,0% от регламентируемого содержания в пересчете на основание прокаина. В варианте спектрофотометрии с предварительным осаждением прокаина в виде периодида систематическая погрешность для исследуемого ряда препаратов была на 14,4% больше по сравнению с аналогичными характеристиками методики с использованием гипромеллозного сорбента (таблица 4).

Показана селективность методики спектрофотометрического определения прокаина в некоторых комбинированных лекарственных препаратах с использованием

сорбента для ТФЭ на основе гипромеллозы. Селективное связывание анализируемого вещества с активными центрами в сорбенте и ступенчатое элюирование последовательно водой очищенной и раствором кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л в ходе ТФЭ устраняет мешающий эффект компонентов лекарственных препаратов при УФ-спектрофотометрии прокаина. Применение сорбента на основе гипромеллозы приводит к улучшению метрологических характеристик и снижению систематической погрешности методики количественного определения в среднем на 14,4%.

Таким образом, предложенный методический подход с использованием селективного сорбента можно рекомендовать к применению для контроля качества комбинированных лекарственных препаратов, содержащих прокаин и его соли.

Таблица 4 / Table 4

Систематическая погрешность методики спектрофотометрического определения прокаина в комбинированных лекарственных препаратах (в пересчете на основание прокаина)

Systematic error of the spectrophotometric determination of procaine in the combination drugs (in terms of procaine)

Лекарственные препараты	Регламентируемое содержание, г	Добавлено прокаина, г	Содержание прокаина, г		δ, %
			расчетное	найденное	
с применением ТФЭ (сорбент на основе гипромеллозы)					
Меновазин	0,8663	0,1730	1,039	1,010	2,79
Сульфо-камфокаин	0,1080	0,0220	0,1300	0,1260	3,08
Отолорин	0,1733	0,0347	0,2080	0,2010	3,37
без этапа ТФЭ (с предварительным осаждением прокаина в виде периодида)					
Меновазин	0,8663	0,1730	1,039	0,9960	4,13
Сульфо-камфокаин	0,1080	0,0220	0,1300	0,1260	3,08
Отолорин	0,1733	0,0347	0,2080	0,2008	3,46

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Moffat AC, Osselton MD, Widdop B, Watts J. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. 4th ed. London, 2011.
- Wu JH, He CY. Advances in Cellulose-Based Sorbents for Extraction of Pollutants in Environmental Samples. *Chromatographia*. 2019;82:1151-1169. <https://doi.org/10.1007/s10337-019-03708-x>
- Kachalkin MN, Voronin AV. Preparation of sorbents for solid-phase extraction of benzoic acid from aqueous solutions. *Aspirantskiy vestnik Povolzhiya*. 2023;23(1):36-40. (In Russ.). [Качалкин М.Н., Воронин А.В. Получение сорбентов для твердофазной экстракции бензойной кислоты из водных растворов. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2023;23(1):36-40]. <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2023.23.1.36-40>
- Kachalkin MN, Voronin AV. Preparation of sorbents for solid-phase extraction of salicylic acid from aqueous solutions. *Aspirantskiy vestnik Povolzhiya*. 2021;5-6:16-22. (In Russ.). [Качалкин М.Н., Воронин А.В. Получение сорбентов для твердофазной экстракции салициловой кислоты из водных растворов. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2021;5-6:16-22]. <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.16-22>
- RMR – Register of Medicines of Russia. (In Russ.). [РЛС® – Регистр лекарственных средств России®]. Available et: <https://www.rlsnet.ru> (September 20, 2023)
- Kachalkin MN, Voronin AV. *Synthesis and studying the spectral characteristics of the procaine periodide*. In: Pharmaceutical Education of SamGMU. History, Present, Perspectives. Samara, 2021:301-305. [Качалкин М.Н., Воронин А.В. Получение и исследование спектральных характеристик периодида прокаина. В сб.: Фармацевтическое образование СамГМУ. История, современность, перспективы. Самара, 2021:301-305]. Available et: https://elibrary.ru/download/elibrary_47649155_72698647.pdf EDN: ZKWWFI.
- General Pharmacopeial Article ОФС.1.1.1.0013 "Statistical processing of results of physical, physicochemical, and chemical tests". State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XV ed. Vol. 1. M., 2023. (In Russ.). [ОФС.1.1.1.0013 Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний. Государственная фармакопея РФ. XV изд. Т. 1. М., 2023].

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	ADDITIONAL INFORMATION
Источник финансирования. Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.	Study funding. The study was the authors' initiative without external funding.
Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.	Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.
Участие авторов. М.Н. Качалкин – проведение основных этапов исследования, подготовка оборудования, приборов, написание статьи по результатам исследования. А.В. Воронин – идея исследования, редактирование статьи. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.	Contribution of individual authors. M.N. Kachalkin – was engaged in the study, prepared the equipment and instruments, wrote the first draft of the manuscript. A.V. Voronin – generated the research idea, provided detailed editing of the manuscript. All authors gave their final approval of the manuscript for submission, and agreed to be accountable for all aspects of the work, implying proper study and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.
Автор для переписки Воронин Александр Владимирович Адрес: Самарский государственный университет, ул. Чапаевская, 89, г. Самара, Россия, 443099. E-mail: a.v.voronin@samsmu.ru	Corresponding Author Aleksandr V. Voronin Address: Samara State Medical University, 89 Chapaevskaya st., Samara, Russia, 443099. E-mail: a.v.voronin@samsmu.ru