

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-77-82>

Экспериментальное исследование липофильности аналога соматостатина цифетрилина

З.С. Шпрах, Е.В. Игнатьева, М.Н. Краева, И.В. Ярцева, Д.В. Гусев, М.В. Дмитриева

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Зоя Сергеевна Шпрах z.shprakh@ronc.ru

Введение. Липофильность – фундаментальное физико-химическое свойство, определяющее растворимость и транспорт лекарственного средства (ЛС) через биологические мембраны, а также его поведение в организме. Липофильность влияет на способность ЛС связываться с белками плазмы крови и достигать соответствующих рецепторов. Стандартом экспериментального определения липофильности ЛС является измерение распределения между двумя несмешивающимися фазами – водной (водой и буферными растворами) и гидрофобной (чаще всего октанолом).

Цель исследования – экспериментальное изучение липофильности аналога соматостатина цифетрилина в тесте распределения в системе октанол/вода.

Материалы и методы. Липофильность цифетрилина, синтезированного в лаборатории химического синтеза НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, изучали в системе октанол/вода; для изучения спектральных характеристик цифетрилина и его количественного определения использовали этанол; методы – встряхивание колбы, спектрометрия в ультрафиолетовой (УФ) области спектра.

Результаты. Экспериментальную оценку липофильности цифетрилина проводили методом встряхивания колбы в системе взаимонасыщенных воды и октанола 1:1. Поскольку цифетрилин практически нерастворим в воде, определяли концентрацию ЛС в октанольной фазе методом УФ-спектрометрии и рассчитывали концентрацию в воде по балансу масс. Липофильность выражали как десятичный логарифм отношения концентрации цифетрилина в октанольной фазе к его концентрации в водной фазе ($\log P_{o/w}$). Определенное экспериментально значение $\log P_{o/w}$ составило 1,14.

Заключение. Липофильность цифетрилина определена экспериментально методом встряхивания колбы как параметр, определяющий вероятность достижения молекулой биологической мишени. Значение $\log P_{o/w}$ составило 1,14 в десятичной логарифмической форме, что указывает на умеренную липофильность цифетрилина, проявляющего противоопухолевую активность при взаимодействии с рецепторами к соматостатину.

Ключевые слова: липофильность, цифетрилин, коэффициент распределения, система 1-октанол/вода

Для цитирования: Шпрах З.С., Игнатьева Е.В., Краева М.Н. и др. Экспериментальное исследование липофильности аналога соматостатина цифетрилина. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(4):77–82.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-77-82>

Experimental study of somatostatin analogue cyphetrylin lipophilicity

Zoya S. Shprakh, Elena V. Ignateva, Marina N. Kraeva, Irina V. Yartseva, Dmitriy V. Gusev, Maria V. Dmitrieva

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia

Contacts: Zoya Sergeevna Shprakh z.shprakh@ronc.ru

Background. Lipophilicity is a fundamental physicochemical property that determines the solubility and transport of a drug through biological membranes, as well as its behavior in the body. Lipophilicity also affects the ability of a drug to bind to plasma proteins and reach the corresponding receptors. The standard for drug lipophilicity experimental study is measuring the distribution between two immiscible phases – aqueous (water and buffer solutions) and hydrophobic (most often octanol).

Aim. The experimental study of somatostatin analogue cyphetrylin lipophilicity in octanol/water system distribution test.

Materials and methods. The lipophilicity of cyphetrylin, synthesized in the Laboratory of Chemical Synthesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center for Oncology of the Russian Ministry of Health, was studied in the octanol/water system; ethanol was used to study cyphetrylin spectral characteristics and its quantitative determination; shake flask method, UV-spectrometry.

Results. The experimental assessment of cyphetrylin lipophilicity was carried out by shake flask method in a system of mutually saturated water and octanol 1:1. Since cyphetrylin is practically insoluble in water, the concentration of the drug in the octanol phase was determined by UV-spectrometry and the concentration in water was calculated by mass balance. Lipophilicity was expressed as the decimal logarithm of the concentration of cyphetrylin in the octanol phase to its concentration in the aqueous phase ($\log P_{o/w}$) ratio. The experimentally determined value of $\log P_{o/w}$ was 1.14.

Conclusion. The lipophilicity of cyphetrylin was studied experimentally by shake flask method as a parameter that determines the molecule probability to reach the biological target. The $\log P_{o/w}$ value 1.14 in decimal logarithmic form indicates moderate lipophilicity of cyphetrylin, which exhibits antitumor activity when interacting with somatostatin receptors.

Keywords: lipophilicity, cyphetrylin, partition coefficient, 1-octanol/water system

For citation: Shprakh Z.S., Ignateva E.V., Kraeva M.N. et al. Experimental study of somatostatin analogue cyphetrylin lipophilicity. *Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2024;23(4):77–82. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-77-82>

Введение

Липофильность — фундаментальное физическое свойство, которое существенно влияет на растворимость и транспорт лекарственного средства (ЛС) через биологические мембраны, а также на его поведение в организме человека и животных, включая абсорбцию, распределение, метаболизм, выведение и токсичность (absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity — ADME) [1]. Липофильность также влияет на способность ЛС связываться с белками плазмы крови и рецепторами [2]. Высокая липофильность связана с повышенным риском токсических явлений, в то время как низкая — может ограничивать абсорбцию и метаболизм лекарственного препарата [3, 4].

Самым распространенным способом определения липофильности ЛС является измерение распределения между 2 несмешивающимися фазами — водной и гидрофобной [5]. В качестве водной фазы используют воду и буферные растворы с pH 2,0 и 7,4, моделирующие среду голодного желудка и плазмы крови соответственно [6]. Гидрофобной фазой чаще всего служит 1-октанол (октанол), который благодаря своей амфифильной природе (наличие полярных «голова» и гибких неполярных «хвостов») и способности образовывать водородные связи достаточно хорошо имитирует свойства фосфолипидов биологических мембран [7, 8].

«Золотой стандарт» экспериментального определения коэффициента распределения — метод встряхивания колбы, который представляет собой прямое измерение концентраций вещества в октанольной и водных фазах, обеспечивая корректное определение значений липофильности до 4,5 [9, 10]. Метод харак-

теризуется простотой исполнения и четкой связью коэффициента с распределением между фазами; основным недостатком метода является невозможность его использования для соединений с чрезвычайно низкими или высокими значениями ($-3 < \log P_{o/w} < 4$) [11]. Кроме того, метод достаточно трудоемкий, требует использования большого количества растворителя, а образование эмульсии во время встряхивания и микрокапель после центрифугирования может повлиять на результаты измерения [9].

Количественно липофильность обычно выражают как коэффициент распределения, который рассчитывают как десятичный логарифм ($\log P_{o/w}$) отношения концентрации растворенного вещества в конкретной форме в насыщенной водой октанольной фазе (C_o) к его концентрации в той же форме в насыщенной октанолом водной фазе (C_w) в состоянии равновесия (1):

$$\log P_{o/w} = \log \left[\frac{C_o}{C_w} \right]. \quad (1)$$

Очевидно, что более *липофильные* и менее полярные в воде соединения имеют положительные значения $\log P_{o/w}$, а более *гидрофильные*, менее полярные, обладающие меньшей проницаемостью через липидный бислой, — отрицательные значения $\log P_{o/w}$. Когда вещество равномерно распределяется между органической и водной фазами, $\log P_{o/w}$ близок к нулю [8].

Цифетрилин — аналог соматостатина — метиловый эфир N^α-трет-бутилоксикарбонил-S-тетрагидропиранил-L-цистеинил-L-фенилаланил-D-триптофил-N^ε-карбобензоксид-L-лизил-L-треонина, синтезирован в лаборатории химического синтеза НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина [12]. Несмотря

на проведенные исследования физико-химических [13] и биофармацевтических свойств цифетрилина [14–16], механизм реализации его противоопухолевой активности и биодоступности нуждается в дополнительном изучении. Одним из подходов, который позволяет определить «судьбу» ЛС в организме, является определение значения $\log P_{o/w}$, поскольку оно описывает способность соединения достигать намеченной цели.

Цель настоящего исследования — экспериментальное изучение липофильности аналога соматостатина цифетрилина в тесте распределения в системе октанол/вода.

Материалы и методы

Исследование липофильности цифетрилина, синтезированного в лаборатории химического синтеза НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина, проводили в системе октанол (>99 % для синтеза (CHEMSOLUTE®, Th. Geyer, Германия))/вода очищенная. Для изучения спектральных характеристик цифетрилина и его количественного определения использовали 95 % этиловый спирт (АО «РФК», Россия).

В работе применяли аналитические весы Sartorius 2405 (Sartorius AG, Германия), шейкер OS-20 BioSan Ltd. (Латвия), спектрофотометр Agilent Cary-100 (Agilent Technologies, США).

Исследование проводили методом встряхивания колбы, для количественного определения цифетрилина в октанольной фазе применяли метод УФ-спектрометрии.

Результаты и обсуждение

Экспериментальная оценка липофильности ЛС методом встряхивания колбы включала несколько этапов: приготовление исходных фаз, введение тестируемого ЛС, разделение фаз, определение концентрации ЛС в октанольной и водной фазах, расчеты и анализ результатов [17].

Для подготовки исходных фаз водную и октанольную фазы взаимно насыщали, смешивая достаточно большие равные объемы октанола и воды. Смесь растворителей встряхивали в течение нескольких минут, оставляли для разделения и осторожно собирали фазы — октанол, насыщенный водой (верхний слой), и воду, насыщенную октанолом (нижний слой).

Количество цифетрилина, необходимое для достижения концентрации 1 мг/мл в октанольной фазе, помещали в смесь взаимонасыщенных воды и октанола 1:1, интенсивно встряхивали для достижения равновесия системы, переносили в делительную воронку и оставляли для разделения фаз. Затем водную и октанольную фазы аккуратно собирали в отдельные конические колбы и проводили количественное определение цифетрилина.

В соответствии с требованиями руководства [17] концентрацию исследуемого вещества необходимо определять как в водной, так и в октанольной фазе. Однако в литературе описан целый ряд исследований, основанных на количественном определении в одной фазе (либо в октанол, либо в воде) с последующим расчетом концентрации тестируемого соединения в другой фазе по балансу масс [9, 15, 16]. Для измерения концентрации тестируемых соединений используют различные аналитические методы — кислотно-основное титрование, УФ-/видимую спектрометрию, высокоэффективную жидкостную хроматографию и ядерно-магнитную резонансную спектроскопию [8, 17–20].

Ранее нами показано, что электронные спектры поглощения (ЭСП) растворов цифетрилина в этаноле пригодны для его количественного определения методом УФ-спектрофотометрии [21]. Для оценки возможности использования спектрометрии для определения липофильности мы проанализировали ЭСП растворов цифетрилина в этаноле, октанол, раствора октанольной фазы, содержащей цифетрилин, в этиловом спирте (рис. 1, а–в) и смеси октанола — этанола 1:4 (рис. 1, г) в области длин волн от 250 до 300 нм.

На рис. 1 (а–в) видно, что положение максимумов полос ЭСП 282 ± 2 и 290 ± 4 нм для исследованных растворов цифетрилина совпадает. Как и в работе [21], длина волны 282 ± 2 нм выбрана в качестве аналитической. Отсутствие в данной области ЭСП максимумов для смеси растворителей октанола — этанола 1:4 (рис. 1, г) свидетельствует о том, что октанол не будет мешать определению цифетрилина в органической фазе, и при анализе октанольной фазы можно использовать доступный и недорогой этиловый спирт.

Поскольку цифетрилин практически нерастворим в воде [13], его количественное определение проводили только в октанольной фазе, используя в качестве раствора сравнения этанол, параллельно измеряя оптическую плотность раствора стандартного образца (раствора цифетрилина в этаноле).

Количество цифетрилина, перешедшего в октанольную фазу, выражали в процентах от навески цифетрилина, а концентрацию цифетрилина в водной фазе рассчитывали по балансу масс.

Липофильность цифетрилина в виде десятичного логарифма рассчитывали по формуле (1).

Определенное экспериментально значение $\log P_{o/w}$ для цифетрилина составило 1,14 (табл. 1).

Мы также рассчитали параметры липофильности с использованием одного из популярных компьютерных модулей, доступных на сервере VCCLAB (ALOGPS2.1) [22], и по упрощенному алгоритму, который опирается на вклад элемента и получен просто

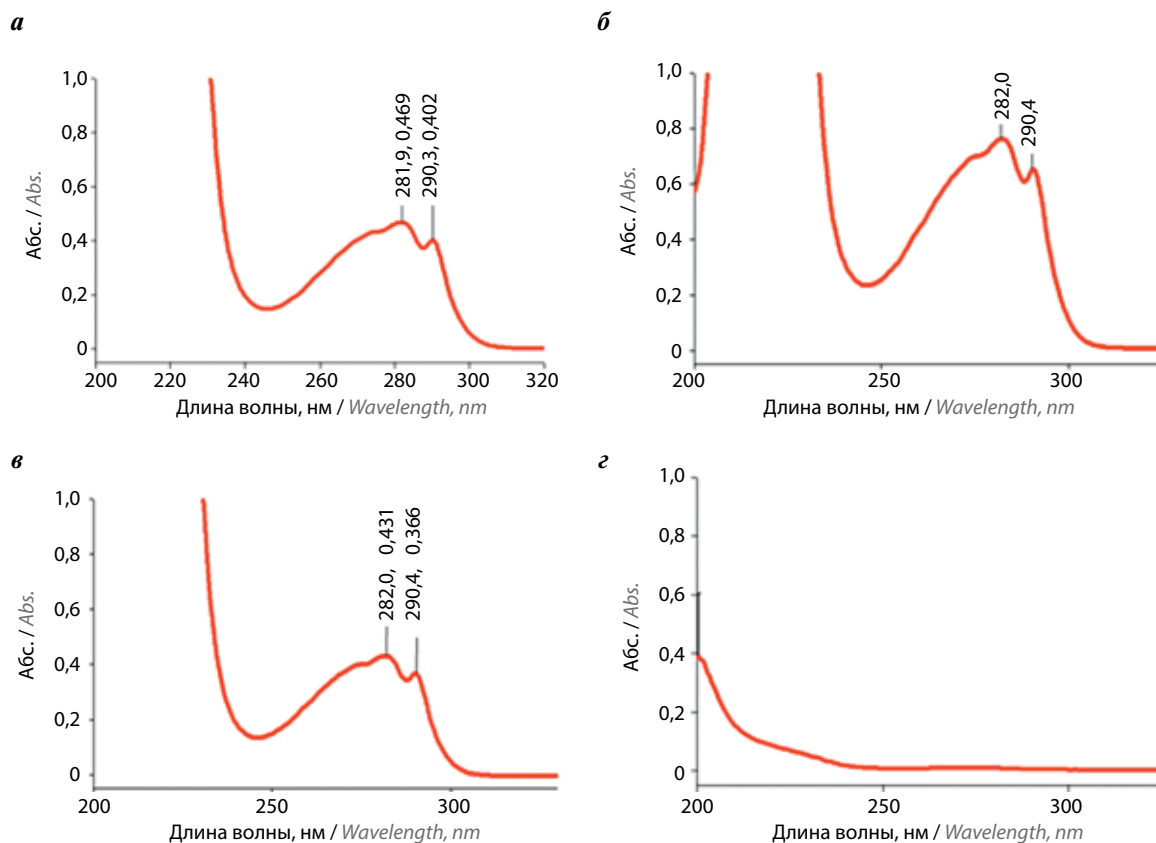


Рис. 1. Электронные спектры поглощения: а – цифетрилина в этаноле; б – цифетрилина в октаноле; в – раствора октанольной фазы, содержащей цифетрилин, в этаноле; г – смеси октанол – спирт этиловый 1:4

Fig. 1. Electronic absorption spectra: а – cyfetrylin in ethanol; б – cyfetrylin in octanol; в – solution of octanol phase containing cyfetryline in ethanol; г – octanol – ethyl alcohol mixture 1:4

Таблица 1. Результаты определения коэффициента распределения цифетрилина в системе октанол/вода ($\log P_{o/w}$)

Table 1. Results of determination of cyfetrylin n-octanol/water partition coefficient ($\log P_{o/w}$)

Опыт Experiment	Найдено цифетрилина, % Found cyphetrylin, %		C_o/C_w	$logP$
	в фазе in phase			
	ОКТАНОЛЬНОЙ octanol	ВОДНОЙ aqueous		
1	90,3	9,7	9,3	0,97
2	94,5	5,5	17,2	1,24
3	92,3	7,7	12,0	1,08
4	96,8	3,2	30,3	1,48
5	91,5	8,5	10,8	1,03
6	91,7	8,3	11,1	1,04
$logP = 1,14$				

из молекулярной формулы препарата без учета его химической структуры [23]. Полученные расчетные значения составили 0,77 и 0,65 соответственно и не коррелируют с измеренными данными, что характерно для веществ с низкой растворимостью и большим количеством ароматических колец [23].

Тем не менее анализ данных литературы, основанных на оценке сведений о липофильности и механизмах действия большого числа фармацевтических субстанций, свидетельствует о том, что соединения с $\log P_{o/w}$ в диапазоне между 1 и 3 (по мнению других авторов, примерно 2) демонстрируют оптимальные физико-химические свойства для достижения молекулярных мишеней [24, 25]. Иными словами, определенная экспериментально умеренная липофильность цифетрилина подтверждает возможность его взаимодействия с рецепторами к соматостатину для проявления противоопухолевой активности.

Закключение

Липофильность цифетрилина определена экспериментально методом встряхивания колбы как параметр, определяющий вероятность достижения

молекулой биологической мишени. Значение $\log P_{o/w}$ составило 1,14 в десятичной логарифмической форме, что указывает на умеренную липофильность ци-

фетрилина, проявляющего противоопухолевую активность при взаимодействии с рецепторами к соматостатину.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wardecki D., Dołowy M., Bober-Majnsz K. Evaluation of the usefulness of topological indices for predicting selected physicochemical properties of bioactive substances with anti-androgenic and hypouricemic activity. *Molecules* 2023;28(15):5822. DOI: 10.3390/molecules28155822
2. Kempńska D., Chmiel T., Kot-Wasik A. et al. State of the art and prospects of methods for determination of lipophilicity of chemical compounds. *Trends Anal Chem* 2019;113:54–73. DOI: 10.1016/j.trac.2019.01.011
3. Arnott J.A., Planey S.L. The influence of lipophilicity in drug discovery and design. *Expert Opin Drug Discov* 2012;7(10): 863–75. DOI: 10.1517/17460441.2012.714363
4. Broccatelli F., Aliagas I., Zheng H. Why decreasing lipophilicity alone is often not a reliable strategy for extending IV half-life. *ACS Med Chem Lett* 2018;9(6):522–7. DOI: 10.1021/acsmchemlett.8b00047
5. Amezueta S., Subirats X., Fuguet E. et al. Chapter 6 – Octanol–Water Partition Constant. Editor C.F. Poole. In: *Handbooks in Separation Science Liquid-Phase Extraction*. Elsevier, 2020. P. 183–208. DOI: 10.1016/B978-0-12-816911-7.00006-2
6. Sharapova A., Ol'khovich M., Blokhina S., Perlovich G.L. Experimental Examination of Solubility and Lipophilicity as Pharmaceutically Relevant Points of Novel Bioactive Hybrid Compounds. *Molecules* 2022;27(19):6504. DOI: 10.3390/molecules27196504
7. Bahmani A., Saaidpour S., Rostami A. A simple, robust and efficient computational method for n-octanol/water partition coefficients of substituted aromatic drugs. *Sci Rep* 2017;7:5760. DOI:10.1038/s41598-017-05964-z
8. Roy D., Patel C. Revisiting the use of quantum chemical calculations in LogP octanol-water prediction. *Molecules* 2023;28(2):801. DOI: 10.3390/molecules28020801
9. Ramli N.A.S., Rania H., Roslan N.A. et al. Evaluation of distribution and partition coefficients of levulinic acid in octanol-water system at 298.15 K. *J Solution Chem* 2024;53: 471–85. DOI: 10.1007/s10953-023-01345-5
10. Santos A., Soares J.X., Cravo S. et al. Lipophilicity assesment in drug discovery: experimental and theoretical methods applied to xanthone derivatives. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci* 2018;1072:182–92. DOI: 10.1016/j.jchromb.2017.10.018
11. Katz D., Fike K., Longenberger J. et al. AlphaLogD determination: an optimized reversed-phase liquid chromatography method to measure lipophilicity on neutral and basic small and beyond-rule-of-five compounds. *J Chromatogr A* 2022;1674:463146. DOI: 10.1016/j.chroma.2022.463146
12. Смирнова Л.И., Устинкина С.В., Орлова О.Л. и др. Средство, обладающее противоопухолевым действием. Патент РФ № 2254139С1. 20.06.2005. Smirnova L.I., Ustinkina S.V., Orlova O.L. et al. Drug with antitumor effect. RU2254139C1. (In Russ.).
13. Шпрах З.С., Ярцева И.В., Смирнова Л.И. и др. Синтез и химико-фармацевтические характеристики аналога соматостатина, обладающего противоопухолевой активностью. *Химико-фармацевтический журнал* 2012;48(3):19–22. DOI:10.30906/0023-1134-2014-48-3-19-22
14. Shprakh Z.S., Yartseva I.V., Smirnova L.I. et al. Synthesis and chemico-pharmaceutical characteristics of a somatostatin analog with antitumor activity. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal = Chemical and Pharmaceutical Journal* 2012;48(3):19–22. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2014-48-3-19-22
15. Шпрах З.С., Борисова Л.М., Киселева М.П., Смирнова З.С. Доклиническое изучение противоопухолевой активности цифетрилина на экспериментальных опухолях животных. *Экспериментальная и клиническая фармакология* 2019;82(8):27–31. DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-8-27-31 Shprakh Z.S., Borisova L.M., Kiseleva M.P., Smirnova Z.S. Preclinical study of cyphetrylin antitumor efficiency on experimental animal tumors. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya = Experimental and clinical pharmacology* 2019;48(3):19–22. (In Russ.). DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-8-27-31
16. Шпрах З.С. Аналог гипоталамического гормона цифетрилин: доклиническое изучение и первый опыт клинического применения. *Материалы IV Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи»: тез. докл. СПб., 2018. С. 169.* Shprakh Z.S. Analogue of the hypothalamic hormone cyphetrylin: preclinical study and the first experience of clinical use. *Materials of the IVth St. Petersburg International Oncological Forum "White Nights": report abstract. Saint Petersburg, 2018. P. 169.* (In Russ.).
17. Борисова Л.М., Киселева М.П., Осипов В.Н. и др. Цитотоксические аналоги цифетрилина (сообщение II). *Российский биотерапевтический журнал* 2017;16(2):23–9. DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-2-23-29 Borisova L.M., Kiseleva M.P., Osipov V.N. Cyphetrylin cytotoxic analogues (report II). *Rossiyskij bioterapevticheskij zhurnal = Russian Journal of Biotherapy*. 2017;16(2):23–9. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-2-23-29
18. OECD, Test No. 107: Partition coefficient (n-octanol/water): Shake flask method. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Sect. 1. URL: <https://www.oecd-ilibrary.org>. DOI: 10.1787/9789264069626-en
19. Teerasong S., Wattanasin P., Wilairat P., Nacapricha D. A simple method based on one phase measurement for determination of the octanol-water partition coefficient of drugs. *Chiang Mai J Sci* 2015;42(3):691–8.
20. Mohsen-Nia M., Ebrahimabadi A.H., Niknahad B. Partition coefficient n-octanol/water of propranolol and atenolol at different temperatures: Experimental and theoretical studies. *J Chem Thermodyn* 2012;54:393–7. DOI: 10.1016/j.jct.2012.05.021
21. Port A., Bordas M., Enrech R. et al. Critical comparison of shake-flask, potentiometric and chromatographic methods for lipophilicity evaluation ($\log P_{o/w}$) of neutral, acidic, basic, amphoteric, and zwitterionic drugs. *Eur J Pharm Sci* 2018;122:331–40. DOI:10.1016/j.ejps.2018.07.010
22. Shprakh Z. Formulation of somatostatin analog tablets using quality by design approach. *J Appl Pharm Sci* 2021;11(4):96–105. DOI: 10.7324/JAPS.2021.110412
23. Virtual Computational Chemistry Laboratory. URL: <https://vccclab.org>

23. Wolk O., Agbaria R., Dahan A. Provisional in-silico biopharmaceutics classification (BCS) to guide oral drug product development. *Drug Des Devel Ther* 2014;24(8):1563–75. DOI: 10.2147/DDDT.S68909
24. Morak-Młodawska B., Jeleń M., Martula E., Korlacki R. Study of lipophilicity and adme properties of 1,9-diazaphenothiazines with anticancer action. *Int J Mol Sci* 2023;24(8):6970. DOI: 10.3390/ijms24086970
25. Alqahtani M.S., Kazi M., Alsenaidy M.A., Ahmad M.Z. Advances in oral drug delivery. *Front Pharm* 2021;12:618411. DOI: 10.3389/fphar.2021.618411

Вклад авторов

З.С. Шпрах: идея исследования, разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание и редактирование текста статьи;
Е.В. Игнатьева, М.Н. Краева: получение и анализ экспериментальных данных;
И.В. Ярцева: написание текста рукописи;
Д.В. Гусев: синтез цифетрилина;
М.В. Дмитриева: обзор публикаций по теме статьи, разработка дизайна исследования.

Author's contributions

Z.S. Shprakh: research concept, research design development, review of publications on the topic of the article, analysis of the data obtained, writing and editing of the manuscript text;
E.V. Ignateva, M.N. Kraeva: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;
I.V. Yartseva: writing the text of the manuscript;
D.V. Gusev: cyphetrulin synthesis;
M.V. Dmitrieva: review of publications on the topic of the article, research design development.

ORCID авторов/ ORCID of authors

З.С. Шпрах / Z.S. Shprakh: <https://orcid.org/0000-0003-3034-750X>
Е.В. Игнатьева / E.V. Ignateva: <https://orcid.org/0000-0002-9200-4492>
М.Н. Краева / M.N. Kraeva: <https://orcid.org/0000-0001-7845-1651>
И.В. Ярцева / I.V. Yartseva: <https://orcid.org/0000-0002-8818-7812>
Д.В. Гусев / D.V. Gusev: <https://orcid.org/0000-0003-0218-8265>
М.В. Дмитриева / M.V. Dmitrieva: <https://orcid.org/0000-0001-6740-5692>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Funding. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 21.08.2024. Принята в печать: 21.10.2024. Опубликована онлайн: **.*.2024.
Article received: 21.08.2024. Accepted for publication: 21.10.2024. Published online: **.*.2024.