








Ю.Н. Швецова 
А.А. Ерина 
Е.А. Хорольская 
Е.С. Жигилей 
Н.Е. Кузьмина 

Определение содержания цинка в инсулинах методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

✉ Хорольская Елена Александровна; blinkovaea@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Одним из показателей качества препаратов инсулина является содержание в них цинка. В фармакопейном анализе цинк в инсулинах определяют методом атомно-абсорбционной спектрометрии с пламенной атомизацией (ПААС). В настоящее время многие производители лекарственных средств отдают предпочтение методу масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС), который признан наиболее перспективным методом элементного анализа в фармацевтике и биомедицине.

Цель. Разработка и валидация методики определения цинка в инсулинах методом ИСП-МС.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования использованы фармацевтические субстанции, суспензии для подкожного введения и растворы для инъекций инсулина человеческого, лизпро, аспарта и гларгина различных производителей. Содержание цинка определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой с использованием прибора Agilent 7900, фиксируя интенсивность сигналов ^{66}Zn .

Результаты. Проведено сравнение результатов определения содержания цинка в исследуемых образцах при использовании в качестве растворителей при пробоподготовке хлороводородной и азотной кислот. Подобраны условия эксперимента, обеспечивающие относительное стандартное отклонение RSD результата измерения не выше 2,5%. В диапазоне 0,4–1,6 мг/л оценены специфичность, линейность, правильность и прецизионность методики определения содержания цинка методом ИСП-МС. Проведено сравнение результатов определения содержания цинка в испытуемых образцах с использованием методик ПААС и ИСП-МС.






Выводы. Валидационные характеристики методики определения содержания цинка в инсулинах методом ИСП-МС соответствуют критериям приемлемости методики. Разработанная и валидированная методика рекомендуется к использованию при проведении экспертизы качества в системе здравоохранения России и в производстве на стадии выходного контроля готовой продукции.

Ключевые слова: цинк; инсулин; валидация методики; масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой; ИСП-МС; атомно-абсорбционная спектрометрия с пламенной атомизацией; ПААС

Для цитирования: Швецова Ю.Н., Ерина А.А., Хорольская Е.А., Жигилей Е.С., Кузьмина Н.Е. Определение содержания цинка в инсулинах методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2023;13(3):394–402. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-3-394-402>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022400083-1).

Конфликт интересов. Н.Е. Кузьмина – член редакционной коллегии журнала «Ведомости НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств» с 2021 года. Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Yulia N. Shvetsova 
 Alina A. Erina 
 Elena A. Khorolskaya 
 Evgeniya S. Zhigilei 
 Natalia E. Kuz'mina 

Determination of Zinc Content in Insulin Products by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
 8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

✉ Elena A. Khorolskaya; blinkovaea@expmed.ru

ABSTRACT

Scientific relevance. Zinc content is a quality attribute of insulin products. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation requires that it should be determined by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). However, many pharmaceutical manufacturers currently prefer inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), which is considered the most promising method for pharmaceutical and biomedical elemental analysis.

Aim. The study aimed to develop and validate an ICP-MS-based analytical procedure for zinc content determination in insulin products.

Materials and methods. The study focused on human insulin, insulin lispro, insulin aspart, and insulin glargine in the form of active substances, suspensions for subcutaneous injection, and solutions for injection from different manufacturers. Zinc content was determined on an Agilent 7900 ICP-MS; the analysis included ⁶⁶Zn signal intensity registration.

Results. The study compared the results of zinc content determination in test samples with either hydrochloric or nitric acid used as the solvent for sample preparation. The authors selected the experimental conditions to achieve relative standard deviations (RSDs) of not more than 2.5% for the measurements. The ICP-MS-based analytical procedure was validated for its specificity, linearity, accuracy, and precision in the range of 0.4–1.6 mg/L. The authors compared the measurements of zinc content made using FAAS and ICP-MS.

Conclusions. The ICP-MS-based analytical procedure for zinc content determination in insulin products meets the validation criteria. This analytical procedure, as developed and validated, may be used in the quality control of medicinal products in the Russian healthcare system and at the batch release stage of pharmaceutical manufacturing.

Key words: zinc; insulin; analytical method validation; inductively coupled plasma mass spectrometry; ICP-MS; flame atomic absorption spectrometry; FAAS

For citation: Shvetsova Yu.N., Erina A.A., Khorolskaya E.A., Zhigilei E.S., Kuz'mina N.E. Determination of zinc content in insulin products by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(3):394–402. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-3-394-402>

Funding. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022400083-1).

Conflict of interest. Natalia E. Kuz'mina has been a member of the Editorial Board of *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation* since 2021. The other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Введение

Инсулиновая терапия — основной метод лечения сахарного диабета различной этиологии — заболевания высокой социальной значимости, являющегося наряду с сердечно-сосудистыми и онкологическими заболеваниями одной из основных причин смертности [1–5]. В медицинской практике в настоящее время применяют

главным образом генно-инженерные препараты инсулина человека, произведенные с использованием технологии получения рекомбинантной ДНК из генетически стабильных и безопасных микроорганизмов¹ [5–7]. Одним из показателей качества таких препаратов является содержание в них цинка², который добавляют в препараты инсулина для улучшения

¹ ОФС.1.7.1.0017.18 Генно-инженерные препараты инсулина человека. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

² Там же.

профиля действия [6–9]. Содержание цинка в препаратах инсулина нормируется и подлежит контролю как на стадии производства (выходной контроль готовой продукции), так и при проведении экспертизы качества лекарственных средств.

В фармакопейном анализе содержание цинка определяют методом атомно-абсорбционной спектроскопии с пламенной атомизацией (ПААС)³. Несомненное преимущество этого метода – дешевизна аппаратного оснащения и расходных материалов. Его недостатком является низкая чувствительность, которая не позволяет напрямую проводить определение многих тяжелых металлов (в том числе As и Hg, которые относятся к элементам 1-го класса токсичности). Другие недостатки ПААС – времязатратный последовательный одноэлементный анализ, узкий линейный динамический диапазон определения, а также необходимость использования при анализе горючего газа. В настоящее время наблюдается тенденция перехода к риск-ориентированной стратегии контроля содержания элементных примесей в лекарственных средствах (ЛС)⁴, вследствие чего эти недостатки имеют принципиальное значение для производителей, чья продукция не ограничивается препаратами инсулина. В рамках риск-ориентированной стратегии неселективное определение суммарного содержания тяжелых металлов полуколичественным колориметрическим методом заменяется селективным количественным определением их содержания спектральными методами, в том числе методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС), который признан наиболее перспективным методом экспрессного многоэлементного анализа в фармацевтике и биомедицине [10, 11]. ИСП-МС характеризуется максимальной чувствительностью, широтой динамического диапазона и наиболее низкой границей определяемых концентраций по сравнению с другими фармакопейными методами элементного анализа.

Цель работы – разработка и валидация методики определения цинка в инсулинах методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовали фармацевтические субстанции инсулина

лизпро (I) и (II), препараты инсулина человеческого генно-инженерного (инсулина-изофана (III)), инсулина растворимого (IV), инсулина двухфазного (V)), инсулина лизпро двухфазного (VI), инсулина лизпро (VII), инсулина аспарта (VIII), инсулина гларгина (IX) в различных лекарственных формах.

В ходе исследования были использованы следующие реактивы: азотная кислота 69% аналитической степени чистоты (Scharlau), кислота хлороводородная 37% (PanReac AppliChem), стандартный образец цинка с аттестованным значением 1000 мг/дм³ (CO₁₀₀₀) (Inorganic Ventures, кат. № CGZN1), вода деионизованная, очищенная на установке Milli-Q Integral 3 (Millipore, Франция).

Приготовление испытуемых растворов образцов I–IX проводили согласно фармакопейной методике⁵, используя в качестве растворителя 0,01 М HNO₃ или 0,01 М HCl. Навески проб субстанций инсулина I и II отбирали с помощью электронных аналитических весов XPE205DR (Mettler Toledo AG, Швейцария, прибор поверен до 31.10.2023).

Приготовление образцов сравнения проводили следующим образом. Испытуемый раствор II разбавляли в 10 раз 0,01 М HNO₃, используя его в качестве холостой пробы. CO₁₀₀₀ цинка разбавляли 0,01 М HNO₃ до концентрации 10 мг/л (CO₁₀). В мерную колбу на 25 мл вносили 20 мл холостой пробы, добавляли варьируемый объем CO₁₀ цинка (1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мл) и доводили объем до метки 0,01 М HNO₃. Получили образцы сравнения с концентрацией цинка 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2 и 1,6 мг/л.

Содержание цинка в испытуемых образцах и образцах сравнения определяли методом ИСП-МС на приборе Agilent 7900 (Agilent, США, прибор поверен до 05.12.2023), фиксируя интенсивность сигналов изотопа ⁶⁶Zn. Параметры эксперимента: мощность плазмы – 1500 Вт; поток плазменного газа (аргон) – 15,0 л/мин, поток газа-носителя (аргон) – 1,0 л/мин, поток вспомогательного газа (аргон) – 0,9 л/мин, температура распылительной камеры Скотта – 2 °С, скорость подачи образца – 0,1 об./с. Для расчета концентраций цинка применяли метод калибровочной кривой. Готовили по три параллельных испытуемых раствора для каждого образца; каждый испытуемый раствор исследовали в 6 повторностях. Итоговые

³ ОФС.1.2.3.0018.15 Определение цинка в инсулине. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

⁴ ОФС 2.3.10.0. Примеси элементов. Фармакопея Евразийского экономического союза. Т. 1. Ч. 2. 2023.

Q3D(R2) Guideline for Elemental Impurities. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; 2022.

⁵ ОФС.1.2.3.0018.15 Определение цинка в инсулине. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

величины концентраций определяли как среднее арифметическое определенных значений. Стабильность работы прибора подтверждали, оценивая относительное стандартное отклонение (*RSD*) результата измерения содержания цинка в образце сравнения с концентрацией 0,8 мг/л для 6 реплик (значение *RSD* при такой концентрации не должно превышать 1,4%, аналогично определению методом ПААС⁶).

Статистическая обработка результатов была произведена в программе Microsoft Office Excel 2007 с установленным пакетом «Анализ данных».

Обсуждение результатов

В фармакопейной методике определения цинка в инсулине методом ПААС в качестве растворителя используют хлороводородную кислоту, которая является прекурсором наркотических средств и психотропных веществ⁷. Применение прекурсоров накладывает ряд ограничений на работу с ними (определенный порядок допуска лиц к работе с прекурсорами; соответствие особым требованиям и охрана помещений, в которых осуществляется работа с прекурсорами; особые требования к хранению прекурсоров, ежемесячная инвентаризация прекурсоров и т.д.)⁸. Поэтому на первом этапе мы изучали возможность замены хлороводородной кислоты

азотной. Азотная кислота чаще всего используется при анализе методом ИСП-МС, так как она, в отличие от хлороводородной кислоты, не образует соединений, вызывающих полиатомные наложения сигналов⁹. Кроме того, ее легко очистить от неорганических примесей путем перегонки в лабораторных условиях.

В таблице 1 представлены результаты измерения содержания цинка методом ИСП-МС в испытуемых образцах I и II с использованием на стадии пробоподготовки 0,01 М растворов хлороводородной и азотной кислот. Измерения проводили по изотопу ⁶⁶Zn с природным содержанием 27,9%, так как определение наиболее распространенного изотопа ⁶⁴Zn (48,6%) затруднено полиатомными наложениями, содержащими ионы серы¹⁰ (³²S¹⁶O¹⁶O⁺ и ³²S³²S⁺), которая входит в состав инсулина. Результаты измерения содержания цинка, полученные с использованием этих кислот, совпадают с учетом доверительных интервалов. Все последующие измерения проводили с использованием HNO₃.

Варьируя время стабилизации плазмы (от 30 до 240 с), число реплик (от 3 до 6) и время экспозиции (от 0,1 до 1 с), были подобраны оптимальные условия эксперимента. Опытным путем установлено, что значение *RSD* результата измерения не превышает 2,5% при времени

Таблица 1. Результаты определения содержания цинка в образцах фармацевтических субстанций инсулина лизпро методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой с использованием HCl и HNO₃ в качестве растворителей

Table 1. Zinc content measured by inductively coupled plasma mass spectrometry in samples of insulin lispro active substances prepared using HCl or HNO₃ as solvents

Образец	Содержание Zn, % (<i>RSD</i> , %)		
	№ измерения	HCl	HNO ₃
I (Zn 0,50%*)	1	0,50	0,49
	2	0,48	0,47
	3	0,45	0,48
	Среднее	0,48±0,06 (4,8)	0,48±0,02 (1,7)
II (Zn 0,62%)	1	0,68	0,67
	2	0,71	0,67
	3	0,71	0,65
	Среднее	0,70±0,04 (2,5)	0,66±0,01 (0,9)

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

* Опорное значение, представленное в сертификате качества.

⁶ ОФС.1.2.3.0018.15 Определение цинка в инсулине. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

⁷ Постановление Правительства Российской Федерации от 30.06.1998 № 681 «Об утверждении перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации».

⁸ Федеральный закон Российской Федерации от 08.01.1998 № 3-ФЗ «О наркотических средствах и психотропных веществах».

⁹ Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Методические указания. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России; 2003.

¹⁰ Там же.

стабилизации плазмы 1 мин, времени экспозиции 1 с и 6 репликах.

На следующем этапе проводили валидацию методики определения содержания цинка в различных лекарственных формах инсулина методом ИСП-МС. Специфичность данной методики обусловлена отсутствием спектральных наложений изотопа ^{66}Zn с полиатомными ионами других элементов, присутствующими в биологических средах¹¹. Линейность, правильность, сходимость и внутрилабораторную прецизионность определяли в диапазоне концентраций 0,4–1,6 мг/л (диапазон применения фармакопейной методики определения цинка методом ПААС) в соответствии с нормативной документацией Евразийского экономического союза¹².

При оценке линейности изучали зависимость интенсивности сигнала $m/z=66$ от концентрации

цинка, внесенного в образец сравнения (табл. 2, рис. 1). В соответствии с фармакопейными требованиями¹³ критериями приемлемости линейной зависимости является коэффициент корреляции $r \geq 0,99$ и отношение относительных стандартных отклонений для наименьшего и наибольшего калибровочного уровня 0,5–2,0 (в нашем случае 0,6). Из приведенных в таблице 2 и на рисунке 1 данных следует, что валидируемая методика характеризуется приемлемой линейностью.

Правильность при отсутствии сертифицированных стандартных образцов верифицируют, проверяя открываемость на образцах сравнения. В случае методик количественного определения методом ИСП-МС она должна составлять 90–110%¹⁴. Открываемость валидируемой методики оценивали, используя данные, полученные в ходе установления линейности (табл. 3).

Таблица 2. Результаты оценки линейности валидируемой методики определения содержания цинка

Table 2. Results of zinc quantification method validation for linearity

Раствор сравнения	Концентрация Zn, мг/л	Интенсивность сигнала, имп/с	Среднее значение, имп/с (RSD)
1	0,4	5985756	5988316 (0,494)
		6019109	
		5960084	
2	0,6	8879646	8887376
		8832306	
		8950175	
3	0,8	11777286	11885712
		11919669	
		11960180	
4	1,0	14718226	14799564
		14819979	
		14860486	
5	1,2	17863753	17883277
		17887739	
		17898340	
6	1,6	23506130	23546232 (0,817)
		23755460	
		23377105	

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. RSD – относительное стандартное отклонение.

¹¹ Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Методические указания. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России; 2003.

¹² Руководство по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств. Утверждено решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17.07.2018 № 113.

¹³ ОФС.2.1.2.55. Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой. Фармакопея Евразийского экономического союза. Т. 1. Ч. 2. 2023.

¹⁴ Там же.

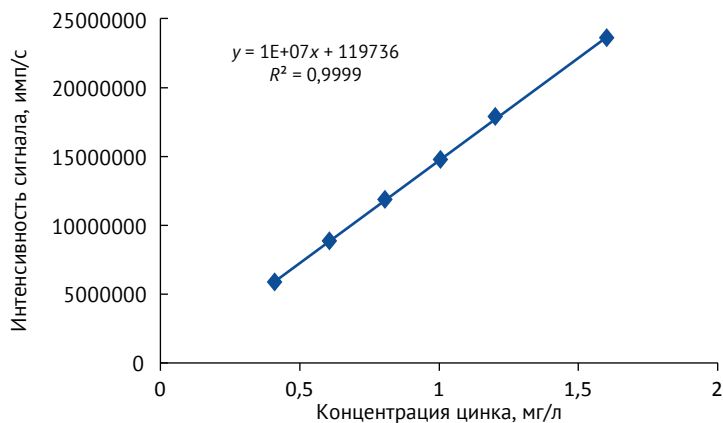


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Линейная зависимость интенсивности сигнала $m/z=66$ от концентрации цинка в валидационном образце. R^2 – коэффициент достоверности аппроксимации

Fig. 1. Linear function of signal intensity at $m/z=66$ vs zinc concentration in the validation sample. R^2 – approximation confidence factor

Таблица 3. Результаты оценки правильности валидируемой методики определения содержания цинка

Table 3. Results of zinc quantification method validation for accuracy

Образец сравнения	Введено, мг/л	Найдено, мг/л	Открываемость, %
1	0,4	0,401	100,2
		0,403	100,8
		0,399	99,8
2	0,6	0,596	99,3
		0,593	98,8
		0,601	100,2
3	0,8	0,792	99,0
		0,801	100,1
		0,804	100,5
4	1,0	0,990	99,0
		0,997	99,7
		1,000	100,0
5	1,2	1,202	100,2
		1,204	100,3
		1,205	100,4
6	1,6	1,583	98,9
		1,600	100,0
		1,575	98,4

Статистические характеристики	
Среднее значение открываемости, %	99,8
Систематическая погрешность, %	0,2
Стандартное отклонение, %	0,67
Коэффициент вариации, %	0,67
Доверительный интервал ($P=0,95\%$), %	0,33

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Валидируемая методика соответствует фармакопейным требованиям, предъявляемым к открываемости (табл. 3). Следует отметить, что она соответствует и более жестким критериям правильности аналитических методик, приведенным в соответствующей методической литературе:

- 1) доверительный интервал включает 100% значение открываемости¹⁵;
- 2) систематическая погрешность не превышает свой доверительный интервал¹⁶.

Прецизионность оценивали на уровнях повторяемости и внутрилабораторной прецизионности (табл. 4). Фактические значения статистических

критериев Фишера и Стьюдента оценивали на уровне значимости 95%. Степень свободы (df) определяли по формуле (1).

$$df = n_1 + n_2 - 2, \quad (1)$$

где степени свободы двух выборок $n_1=n_2=9$.

Из данных таблицы 4 следует, что фармакопейное требование к повторяемости аналитической методики измерения методом ИСП-МС (коэффициент вариации не более 5% для количественного определения содержания примесей¹⁷) выполняется.

Поскольку фармакопейные требования к приемлемости показателей внутрилабораторной прецизионности отсутствуют, мы руководствовались

Таблица 4. Результаты оценки повторяемости и внутрилабораторной прецизионности валидируемой методики определения содержания цинка

Table 4. Results of zinc quantification method validation for repeatability and intermediate precision

Образец сравнения	Введено, мг/л	Оператор 1		Оператор 2	
		Найдено, мг/л	Открываемость, %	Найдено, мг/л	Открываемость, %
1	0,4	0,401	100,2	0,399	99,7
		0,403	100,8	0,403	100,6
		0,399	99,8	0,405	101,1
3	0,8	0,792	99,0	0,801	100,1
		0,801	100,1	0,791	98,9
		0,804	100,5	0,810	101,3
6	1,6	1,583	98,9	1,588	99,3
		1,600	100,0	1,595	99,7
		1,575	98,4	1,608	100,5
Статистические характеристики		Оператор 1	Оператор 2		
Среднее значение открываемости, %		99,7	100,1		
Стандартное отклонение, %		0,78	0,77		
Коэффициент вариации, %		0,78	0,77		
Доверительный интервал (P=0,95%), %		0,60	0,59		
Объединенное среднее значение открываемости, %		99,9			
Объединенное стандартное отклонение, %		0,80			
Объединенный коэффициент вариации, %		0,80			
Объединенный доверительный интервал, %		0,40			
F-критерий Фишера ($F_{табл}=3,44$)		1,08			
t-критерий Стьюдента ($t_{табл}=2,12$)		1,03			

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

¹⁵ Береговых ВВ, ред. Валидация аналитических методик для производителей лекарств. Типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств. М.: Литтерра, 2008.

¹⁶ Юргель НВ, ред. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств (методические рекомендации). М.: Спорт и культура-2000; 2007.

¹⁷ ОФС.2.1.2.55. Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой. Фармакопея Евразийского экономического союза. Т. 1. Ч. 2. 2023.

Таблица 5. Сравнение результатов измерения содержания цинка методами атомно-абсорбционной спектрометрии с пламенной атомизацией (ПААС) и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС)**Table 5.** Comparison of zinc content measurements by flame atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry

Образец	Лекарственная форма	Международное непатентованное наименование	Содержание Zn (RSD, %)	
			ПААС	ИСП-МС
I	Субстанция	Инсулин лизпро	0,48±0,060% (4,8)	0,48±0,020% (1,7)
II	Субстанция	Инсулин лизпро	0,70±0,040% (2,50)	0,66±0,010% (0,90)
III	Суспензия для подкожного введения	Инсулин человеческий генно-инженерный (инсулин-изофан)	14,49±1,9 мг/л (1,45)	14,53±2,0 мг/л (1,52)
IV	Раствор для инъекций	Инсулин человеческий генно-инженерный (инсулин растворимый)	13,72±1,9 мг/л (1,57)	14,39±1,3 мг/л (0,99)
V	Суспензия для подкожного введения	Инсулин человеческий генно-инженерный (инсулин двухфазный)	20,56±0,33 мг/л (0,64)	21,32±2,1 мг/л (1,11)
VI	Суспензия для подкожного введения	Инсулин лизпро двухфазный	25,09±0,61 мг/л (0,97)	25,82±0,82 мг/л (1,02)
VII	Раствор для подкожного и внутривенного введения	Инсулин лизпро	22,85±0,74 мг/л (0,36)	23,69±0,77 мг/л (0,37)
VIII	Раствор для подкожного введения	Инсулин аспарт	19,30±0,060 мг/л (0,04)	20,42±1,8 мг/л (0,97)
IX	Раствор для подкожного введения	Инсулин гларгин	28,34±1,3 мг/л (0,54)	29,98±3,9 мг/л (1,46)

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание: RSD – относительное стандартное отклонение.

рекомендациями, представленными в методической литературе¹⁸, и сравнили фактические значения статистических критериев Фишера и Стьюдента с их табличными значениями (максимальными значениями критериев под влиянием случайных факторов при текущих степенях свободы и уровне значимости 95%). Фактические значения критериев Фишера и Стьюдента существенно ниже табличных значений (табл. 4), следовательно, различия результатов измерения двух операторов статистически незначимы и валидируемая методика характеризуется приемлемой внутрилабораторной прецизионностью.

Следует отметить, что результаты измерения содержания цинка в испытуемых образцах, полученные по фармакопейной методике с использованием ПААС и разработанной методике ИСП-МС, совпадают с учетом доверительных интервалов (табл. 5).

Заключение

В результате проведенного исследования разработана методика определения содержания цинка в инсулине методом ИСП-МС. Специфичность методики основана на отсутствии спектральных наложений сигнала изотопа ⁶⁶Zn и сигналов полиатомных ионов других элементов биологической матрицы. Показано, что в диапазоне применения (0,4–1,6 мг/л) данная методика характеризуется приемлемыми линейностью, правильностью, повторяемостью и внутрилабораторной прецизионностью. Рекомендуется использовать разработанную и валидированную методику в качестве альтернативной при проведении экспертизы качества лекарственных средств и в производстве на стадии выходного контроля готовой продукции.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Дедов ИИ, Шестакова МВ, Викулова ОК, Железнякова АВ, Исаков МА, Сазонова ДВ и др. Сахарный диабет в Российской Федерации: динамика эпидемиологических показателей по данным Федерального регистра сахарного диабета за период 2010–2022 гг. *Сахарный диабет*. 2023;26(2):104–23. Dedov II, Shestakova MV, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, Isakov MA, Sazonova DV, et al. Diabetes mellitus in the Russian Federation: dynamics of epidemiological indicators according to the Federal Register of Diabetes Mellitus for the period 2010–2022. *Diabetes Mellitus*. 2023;26(2):104–23 (In Russ.). <https://doi.org/10.14341/DM13035>
2. Liu C, De Roza J, Ooi CW, Mathew BM, Tang WE. Impact of patients' beliefs about insulin on acceptance and adherence to insulin therapy: a qualitative study in primary care. *BMC Prim Care*. 2022;23:15. <https://doi.org/10.1186/s12875-022-01627-9>
3. Асфандиярова НС. Смертность при сахарном диабете 2 типа. *Сахарный диабет*. 2015;18(4):12–21.

¹⁸ Береговых ВВ, ред. Валидация аналитических методик для производителей лекарств. Типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств. М.: Литтерра; 2008.

- Asfandiyyarova NS. A review of mortality in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Mellitus*. 2015;18(4):12–21 (In Russ.). <https://doi.org/10.14341/DM6846>
4. Кыртиков СИ, Бекбаева ИВ, Ахматова АН, Кузьмина ЕА, Муковникова ЕВ, Оразмурадова АА, Апресян АА. Современный взгляд на лечение и профилактику гестационного сахарного диабета. *Акушерство и гинекология. Новости, Мнения, Обучение*. 2023;11(Спецвыпуск):115–21. Kyrtikov SI, Bekbaeva IV, Akhmatova AN, Kuz'mina EA, Mukovnikova EV, Orazmuradova AA, Apre-syan AA. Modern view on the treatment and prevention of gestational diabetes mellitus. *Obstetrics and Gynecology. News, Opinions, Training*. 2023;11(Supplement):115–21 (In Russ.). <https://doi.org/10.33029/2303-9698-2023-11-suppl-115-121>
 5. Мохорт ТВ. Препараты инсулина – 100 лет открытий и успеха. *Медицинские новости*. 2021;(6):5–12. Mokhort TV. Insulin preparations – 100 years of discovery and success. *Medical News*. 2021;(6):5–12 (In Russ.). EDN: UXIKOX
 6. Alyas J, Rafiq A, Amir H, Khan SU, Sultana T, Ali A, et al. Human insulin: history, recent advances, and expression systems for mass production. *Biomed Res Ther*. 2021;8(9):4540–61. <https://doi.org/10.15419/bmrat.v8i9.692>
 7. Bolli GB, Cheng AY, Owens DR. Insulin: evolution of insulin formulations and their application in clinical practice over 100 years. *Acta Diabetologica*. 2022;59(9):1129–44. <https://doi.org/10.1007/s00592-022-01938-4>
 8. Кононенко ИВ, Смирнова ОМ. Новый препарат в эволюции инсулинов длительного действия. *Медицинский совет*. 2017;(20):160–5. Kononenko IV, Smirnova OM. New drug in the evolution of long-acting insulins. *Medical Council*. 2017;(20):160–5 (In Russ.). <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2017-20-160-165>
 9. Jarosinski MA, Dhayalan B, Chen Y-S, Chatterjee D, Varas N, Weiss MA. Structural principles of insulin formulation and analog design: A century of innovation. *Mol Metab*. 2021;52:101325 <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101325>
 10. Balaram V. Recent advances in the determination of elemental impurities in pharmaceuticals – Status, challenges and moving frontiers. *TRAC – Trends Anal Chem*. 2016;80:83–95. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.02.001>
 11. Nageswara Rao R, Kumar Talluri MVN. An overview of recent applications of inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in determination of inorganic impurities in drugs and pharmaceuticals. *J Pharm Biomed Anal*. 2007;43(1):1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.07.004>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Ю.Н. Швецова – идея, концепция и дизайн исследования, анализ экспериментальных данных; А.А. Ерина и Е.С. Жигилей – пробоподготовка образцов, проведение экспериментальных исследований; Е.А. Хорольская – проведение экспериментальных исследований, анализ данных литературы; Н.Е. Кузьмина – интерпретация результатов исследования, написание текста рукописи.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Yulia N. Shvetsova elaborated the idea, concept, and design of the study and analysed experimental data. Alina A. Erina and Evgeniya S. Zhigilei prepared samples and conducted experiments. Elena A. Khorolskaya conducted experiments and analysed literature data. Natalia E. Kuz'mina interpreted the study results and drafted the manuscript.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Швецова Юлия Николаевна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2125-6174>
shvetsovajn@expmed.ru

Ерина Алина Андреевна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7488-7204>
erina@expmed.ru

Хорольская Елена Александровна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4813-4740>
blinkovaea@expmed.ru

Жигилей Евгения Сергеевна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1637-9081>
lismanes@expmed.ru

Кузьмина Наталия Евгеньевна, д-р хим. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>
KuzminaN@expmed.ru

Поступила 21.06.2023

После доработки 17.07.2023

Принята к публикации 06.09.2023

Yulia N. Shvetsova

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2125-6174>
shvetsovajn@expmed.ru

Alina A. Erina

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7488-7204>
erina@expmed.ru

Elena A. Khorolskaya

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4813-4740>
blinkovaea@expmed.ru

Evgeniya S. Zhigilei

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1637-9081>
lismanes@expmed.ru

Natalia E. Kuz'mina, Dr. Sci. (Chem.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>
KuzminaN@expmed.ru

Received 21 June 2023

Revised 17 July 2023

Accepted 6 September 2023