

УДК 615.07:577.175.722:543.421:54.062

<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-3-403-410>

Оригинальная статья | Original article



А.А. Ерина 
В.М. Шукин  
Е.А. Хорольская 
Н.Е. Кузьмина 

Модификация методики определения цинка в инсулинах методом атомно-абсорбционной спектроскопии

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

✉ Шукин Виктор Михайлович; Schukin@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Хлороводородная кислота, используемая на стадии пробоподготовки при определении содержания цинка в субстанциях и препаратах инсулина методом атомно-абсорбционной спектроскопии, является прекурсором наркотических веществ и психотропных препаратов. Исключение прекурсоров из лабораторной практики заметно снижает трудозатраты при проведении анализа.

Цель. Модификация фармакопейной методики определения цинка в инсулинах, направленная на исключение прекурсоров наркотических веществ, и оценка применимости модифицированной методики для анализа препаратов инсулина.

Материалы и методы. Фармацевтические субстанции и препараты инсулина различных лекарственных форм и дозировок. Определение содержания цинка проводили на атомно-абсорбционном спектрометре Agilent 240FS при характеристической длине волны 213,86 нм.

Результаты. Подобраны условия проведения элементного анализа (концентрация азотной кислоты, ширина щели монохроматора, время стабилизации пламени), обеспечивающие соответствие фармакопейным требованиям к определению цинка в инсулинах ($RSD \leq 1,4\%$ для стандартного раствора цинка с концентрацией 0,8 мг/дм³, коэффициент корреляции калибровочного графика не менее 0,99). Проведено сравнение результатов измерения содержания цинка в исследуемых образцах при использовании в качестве растворителя хлороводородной или азотной кислоты. Сравнение модифицированной методики с фармакопейной не выявило существенного расхождения в результатах определения цинка при замене хлороводородной кислоты на азотную.

Выводы. Модифицированная методика позволяет проводить анализ содержания цинка в различных лекарственных формах инсулина без использования прекурсоров наркотических веществ.

Ключевые слова: цинк; инсулин; атомно-абсорбционная спектроскопия; азотная кислота; хлороводородная кислота; фармакопейная методика

Для цитирования: Ерина А.А., Шукин В.М., Хорольская Е.А., Кузьмина Н.Е. Модификация методики определения цинка в инсулинах методом атомно-абсорбционной спектроскопии. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2023;13(3):403–410. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-3-403-410>

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.

Alina A. Erina 
Victor M. Shchukin 
Elena A. Khorolskaya 
Natalia E. Kuz'mina 

Modification of the Method for the Determination of Zinc Content in Insulins by Atomic Absorption Spectrometry

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

✉ Victor M. Shchukin; Schukin@expmed.ru

ABSTRACT

Scientific relevance. Zinc quantification in insulin active substances and preparations by atomic absorption spectrometry requires a sample preparation procedure using hydrochloric acid, a narcotic and psychotropic precursor. The exclusion of precursors from laboratory practice significantly reduces labour costs during analysis.

Aim. This study aimed to modify the pharmacopoeial method for quantifying zinc in insulins with a view to eliminating drug precursors and to evaluate the applicability of the modified method across different insulin preparations.

Materials and methods. The study considered insulin active substances and preparations of various types, dosage forms, and strengths. Zinc content determination involved using an Agilent 240FS atomic absorption spectrometer at a characteristic wavelength of 213.86 nm.

Results. The authors selected the conditions for elemental analysis (nitric acid concentration, monochromator slit width, and flame stabilisation time) corresponding to the pharmacopoeial requirements for quantifying zinc in insulins ($RSD \leq 1.4\%$, standard zinc solution with a concentration of 0.8 mg/dm^3 , and calibration curve correlation coefficient ≥ 0.99). The study compared zinc content measurements in the studied insulin samples with hydrochloric acid or nitric acid as a solvent; it did not reveal any significant differences between the results obtained by the pharmacopoeial method and the modified method.

Conclusions. The modified method enables analysts to quantify zinc in insulin preparations in various dosage forms without drug precursors.

Key words: zinc; insulin; atomic absorption spectrometry; nitric acid; hydrochloric acid; method modification

For citation: Erina A.A., Shchukin V.M., Khorolskaya E.A., Kuz'mina N.E. Modification of the method for the determination of zinc content in insulins by atomic absorption spectrometry. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(3):403–410. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-3-403-410>

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

Развитие сахарного диабета (СД) связано с нарушением секреции инсулина, что приводит к повышению уровня глюкозы в крови [1]. Протекание этой болезни связано со многими тяжелыми осложнениями [2–4] вплоть до гипергликемической комы с возможным летальным исходом [5]. Связь между СД и многими другими заболеваниями имеет двунаправленный взаимоотношающий характер [6]. По оценкам Международной диабетической федерации (International Diabetes Federation), в 2021 г.

в мире заболеваемость СД в возрастной группе 20–79 лет составила примерно 537 млн человек, при этом прогнозируется, что к 2045 г. распространенность данного заболевания вырастет до 783 млн человек [7]. Общая численность пациентов с СД в Российской Федерации, состоящих на диспансерном учете¹ на 01.01.2021, составила 4,8 млн человек, или 3,23% населения страны [8].

Подсчитано, что до 40% людей с СД во всем мире (150–200 млн) нуждаются в инсулинотерапии [1]. Применение инсулина остается абсолютным

¹ По данным Федерального регистра сахарного диабета. <https://sd.diaregistry.ru/>

требованием для поддержания жизни пациентов с диабетом 1 типа, а также требуется некоторым пациентам с диабетом 2 типа из-за снижения секреции инсулина [9, 10].

Практически все современные препараты инсулина содержат соединения цинка [9, 11, 12] (обычно в виде хлорида [13–15], ацетата [14, 16] или оксида [17, 18]). Присутствие цинка влияет на время начала и продолжительность действия этих препаратов [12, 13, 15, 19]. Количественное содержание цинка зависит от используемой лекарственной формы и варьируется производителем в зависимости от целей терапии, поэтому контроль содержания данного элемента необходим для обеспечения качества препаратов инсулина.

Согласно фармакопейным требованиям², определение содержания цинка в инсулинах проводят методом атомно-абсорбционной спектрометрии с пламенной атомизацией (ПААС), при этом методикой предусмотрено использование на стадии пробоподготовки хлороводородной кислоты в качестве растворителя. Данная методика хорошо отработана и валидирована [20–22]. Хлороводородная кислота является прекурсором наркотических веществ и психотропных препаратов. Применение прекурсоров налагает ряд ограничений³ на работу лаборатории: определенный порядок допуска лиц к работе; особые требования к помещениям, их охрана; особые требования к хранению и инвентаризации прекурсоров и т.д. Исключение прекурсоров из лабораторной практики заметно снижает трудозатраты при проведении анализа. Представляется актуальным заменить хлороводородную кислоту азотной, которая не является прекурсором. Азотная кислота наиболее часто используется при элементном анализе биологических объектов, так как является хорошим окислителем для их растворения [23]. Кроме того, она легко поддается очистке от элементных примесей [23, 24].

Цель работы – модификация фармакопейной методики определения цинка в инсулинах, направленная на исключение использования прекурсоров наркотических веществ, и оценка применимости модифицированной методики для анализа препаратов инсулина.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования были использованы 23 образца инсулина различных лекарственных форм и дозировок, среди которых 1 субстанция инсулина, 5 суспензий для подкожного введения, 8 растворов для внутривенного и подкожного введения, 3 раствора для инъекций и 3 раствора для подкожного введения производства России, Франции и Дании.

В работе использовали следующие реактивы: хлороводородная кислота концентрированная 35% для элементного анализа (PanReac AppliChem), азотная кислота 67–70% для элементного анализа (Fisher Chemical), одноэлементные стандартные растворы цинка с концентрацией 1000 мг/л (Sigma-Aldrich). Для приготовления стандартных и испытуемых растворов использовали деионизованную воду, полученную на установке Milli-Q Integral 3 (Millipore).

Пробоподготовку образцов осуществляли согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ)⁴, используя в качестве растворителя хлороводородную или азотную кислоты. Определение цинка проводили на атомно-абсорбционном спектрометре Agilent 240FS (Agilent Technologies), регистрируя атомное поглощение при характеристической длине волны 213,86 нм. Использовали однощелевую горелку шириной 100 мм и пламя воздух–ацетилен (13,5 и 2,0 л/мин соответственно). Измерение абсорбции проводили в следующих условиях: сила тока лампы 5,0 мА, ширина щели монохроматора 1,0 нм, задержка перед анализом 10 с, ручной режим ввода пробы. Измерения для стандартных и рабочих растворов проводили в шести повторностях, результаты измерения трех параллельных проб рабочих растворов усредняли, диапазон калибровки составлял 0,2–1,6 мг/л. Методом наименьших квадратов был проведен регрессионный анализ и рассчитаны коэффициенты наклона прямой калибровочного графика.

Изучение кратковременной и долговременной стабильности работы прибора (стабильность интегрального сигнала абсорбции и базовой линии) проводили на стандартном растворе цинка с концентрацией 0,8 мг/л (ppm).

² ОФС 2.1.5.18. Цинк в инсулине. Фармакопея Евразийского экономического союза. Т. 1. Ч. 2. 2023.

ОФС.1.2.3.0018.15 Определение цинка в инсулине. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018. Insulin injection. United States Pharmacopeia. USP-NF. Rockville, MD; 2023.

Monograph 04/2021:0854. Insulin preparations, injectable. European Pharmacopoeia. 11th ed. Strasbourg; 2023.

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

⁴ ОФС.1.4.1.0019.15 Настойки. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

Кратковременную стабильность оценивали, определяя среднеквадратичное отклонение (*RSD*) для результатов пяти параллельных измерений интенсивности сигнала иона цинка, каждое в шести повторностях (всего 30 определений). Долговременную стабильность оценивали как отношение результата определения концентрации цинка в растворе после 20 мин эксплуатации прибора (контрольное измерение) к результату определения его концентрации в том же растворе непосредственно после построения калибровочного графика.

В качестве номинального значения содержания цинка в образцах инсулина использовали результат, полученный при анализе этого элемента по фармакопейной методике. Статистическая обработка результатов была проведена при помощи программы Microsoft Office Excel 2007 с установленным пакетом «Анализ данных».

Результаты и обсуждение

Поскольку целью модификации фармакопейной методики определения цинка в инсулинах методом ПААС была замена хлороводородной кислоты на азотную на стадии подготовки проб к анализу, на первом этапе исследования было проведено сравнение кратковременной и долговременной стабильности работы оборудования с изменением концентрации азотной кислоты в диапазоне 0,01–0,25 ммоль/л. Оборудование калибровали в диапазоне содержания ионов цинка 0,2–1,6 мг/л, согласно условиям, приведенным в ГФ РФ⁵. Коэффициент корреляции во всех случаях составлял более 0,99. Результаты определения стабильности работы оборудования представлены в *таблице 1*.

Было установлено, что увеличение концентрации азотной кислоты приводит к незначительному повышению долговременной стабильности, при этом заметно снижается кратковременная стабильность. Согласно требованиям ГФ РФ⁶, прибор считается пригодным к работе, если *RSD*, рассчитанное для 6 последовательных измерений стандартного раствора с концентрацией 0,8 ppm, составляет не более 1,4% (кратковременная стабильность). По данным *таблицы 1* такое значение *RSD* было получено при использовании для пробоподготовки азотной кислоты в концентрации 0,01 ммоль/л. Результат соответствующего контрольного измерения концентрации цинка в стандартном растворе (97,6%) соответствует требованиям Фармакопеи Евразийского экономического союза (ЕАЭС) для правильности методики (90–110%)⁷ при использовании атомно-абсорбционного метода анализа (долговременная стабильность). Таким образом, полное соответствие фармакопейным требованиям к стабильности работы прибора наблюдается при использовании азотной кислоты 0,01 ммоль/л.

На втором этапе исследования, варьируя ширину щели монохроматора (0,2–1,0 нм) и время предварительной стабилизации пламени (от 5 до 20 с), выбрали оптимальные условия эксперимента. Известно, что ширина щели влияет на соотношение сигнал/шум и дрейф установленной длины волны [25]. Экспериментально нами было установлено, что оптимальная интенсивность сигнала и более высокое соотношение сигнал/шум достигаются при значении ширины щели в 1,0 нм.

Таблица 1. Влияние концентрации азотной кислоты на стабильность работы спектрометра

Table 1. Effect of nitric acid concentration on the operational stability of the spectrometer

Концентрация азотной кислоты, ммоль/л	Кратковременная стабильность	Долговременная стабильность		
	Относительное стандартное отклонение (<i>RSD</i>), %	Концентрация цинка в растворе в начале испытания, ppm	Концентрация цинка в растворе в конце испытания, ppm	Соотношение концентраций цинка в начале и в конце испытания, %
0,01	1,40	0,80±0,01	0,78±0,01	97,6
0,05	1,93	0,81±0,004	0,79±0,01	98,4
0,1	2,88	0,80±0,01	0,79±0,01	98,8
0,15	2,92	0,81±0,01	0,80±0,02	99,0
0,25	3,38	0,81±0,01	0,80±0,01	99,3

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

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

⁶ Там же.

⁷ ОФС 2.1.2.22. Атомно-абсорбционная спектрометрия. Фармакопея Евразийского экономического союза. Т. I. Ч. 1. 2023.

Стабилизация пламени обеспечивает равномерность образования атомного пара и является решающим фактором, определяющим правильность, сходимость и повторяемость результатов атомно-абсорбционного анализа [26]. Этот параметр не установлен фармакопейными требованиями, поэтому выбор времени стабилизации пламени был одним из важных этапов данного исследования. На рисунке 1 представлен график зависимости *RSD* результата измерения концентрации цинка в трех стандартных растворах (0,2, 0,8 и 1,6 ppm) от времени стабилизации пламени.

Показано, что время стабилизации пламени больше 10 с не приводит к существенному снижению значений *RSD* результатов определения концентрации цинка в растворах, при этом время эксперимента увеличивается.

Модифицированную методику использовали для определения содержания цинка в испытуемых образцах инсулина. Правильность результатов измерения оценивали относительно референсных значений, за которые в соответствии с требованиями ЕАЭС⁸ принимали результаты измерения, полученные по фармакопейной методике⁹ с использованием соляной кислоты (табл. 2).

Значение *RSD* результатов измерений цинка во всех испытуемых образцах (табл. 2) составляет не более 2,5%. Правильность модифицированной методики удовлетворяет требованиям

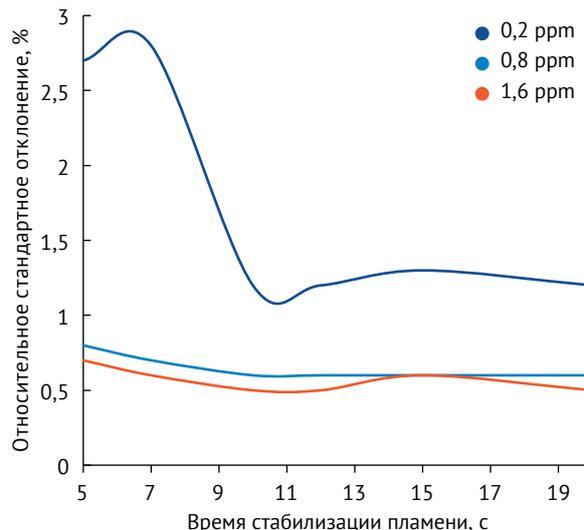


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / Figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Зависимость относительного стандартного отклонения результата измерения содержания цинка в стандартных растворах с концентрацией 0,2, 0,8 и 1,6 ppm от времени стабилизации пламени

Fig. 1. Relative standard deviation between the results of zinc quantification in standard solutions with a concentration of 0.2, 0.8, and 1.6 ppm as a function of flame stabilisation time

Фармакопеи ЕАЭС к методикам количественного определения с использованием атомно-абсорбционной спектроскопии (90–110%)¹⁰. Следовательно, замена хлороводородной

Таблица 2. Результаты определения цинка в различных типах инсулина с использованием фармакопейной и модифицированной методик

Table 2. Results of zinc quantification in various insulins using pharmacopoeial and modified methods

Международное непатентованное наименование, дозировка препарата	Наименование образца	Фармакопейная методика (пробоподготовка с HCl)	Модифицированная методика (пробоподготовка с HNO ₃)	
		Концентрация цинка, мг/л (<i>RSD</i> , %)	Концентрация цинка, мг/л (<i>RSD</i> , %)	Правильность, %
Суспензии для подкожного введения				
Инсулин двухфазный человеческий генно-инженерный, 100 МЕ/мл	Образец 1	19,6±0,7 (0,38)	19,8±0,2 (0,12)	101,17
	Образец 2	20,7±0,3 (0,16)	20,6±3,2 (1,70)	99,52
	Образец 3	20,6±0,3 (0,64)	20,4±0,4 (0,83)	98,98
	Образец 4	19,4±6,7 (3,84)	18,6±0,8 (0,48)	95,86
Инсулин-изофан человеческий генно-инженерный, 100 МЕ/мл	Образец 5	23,9±0,7 (0,32)	24,5±1,4 (0,61)	102,56
	Образец 6	24,7±0,7 (0,31)	25,0±1,2 (0,55)	100,93
	Образец 7	14,5±1,9 (1,45)	14,3±2,1 (1,66)	98,76
Инсулин лизпро двухфазный, 100 МЕ/мл	Образец 8	25,1±0,6 (0,97)	25,4±0,8 (1,31)	100,55

⁸ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17.07.2018 № 113 «Об утверждении Руководства по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств».

⁹ ОФС.1.2.3.0018.15 Определение цинка в инсулине. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

¹⁰ ОФС 2.1.2.22. Атомно-абсорбционная спектроскопия. Фармакопея Евразийского экономического союза. Т. I. Ч. 1. 2023.

Продолжение таблицы 2

Table 2 (continued)

Международное непатентованное наименование, дозировка препарата	Наименование образца	Фармакопейная методика (пробоподготовка с HCl)	Модифицированная методика (пробоподготовка с HNO ₃)	
		Концентрация цинка, мг/л (RSD, %)	Концентрация цинка, мг/л (RSD, %)	Правильность, %
Растворы для внутривенного и подкожного введения				
Инсулин лизпро, 200 МЕ/мл	Образец 9	22,9±0,7 (0,36)	22,7±1,6 (0,79)	99,30
Инсулин лизпро, 100 МЕ/мл	Образец 10	19,4±0,5 (1,07)	19,8±0,2 (0,37)	102,33
	Образец 11	24,0±1,6 (0,73)	23,9±0,4 (0,18)	99,63
Инсулин гларгин, 100 МЕ/мл	Образец 12	29,0±0,1 (0,17)	29,3±0,3 (0,42)	101,21
Инсулин аспарт, 100 МЕ/мл	Образец 13	17,3±0,9 (0,6)	17,6±2,8 (1,74)	101,44
	Образец 14	14,3±0,1 (0,1)	15,0±1,2 (0,66)	104,95
	Образец 15	20,4±0,4 (0,23)	20,6±0,1 (0,05)	101,23
	Образец 16	19,3±0,1 (0,04)	19,3±1,8 (1,04)	100,21
Растворы для инъекций				
Инсулин растворимый человеческий генно-инженерный, 100 МЕ/мл	Образец 17	12,2±0,9 (0,84)	12,3±0,2 (0,16%)	100,99
	Образец 18	12,4±0,2 (0,2)	12,9±1,1 (0,9%)	104,37
	Образец 19	13,7±1,9 (1,57)	14,0±1,0 (0,78%)	102,33
Растворы для подкожного введения				
Инсулин гларгин, 100 МЕ/мл	Образец 20	28,2±1,1 (0,42%)	27,5±1,9 (0,76%)	97,62
	Образец 21	28,3±1,3 (0,54%)	26,9±2,6 (1,08%)	95,02
Инсулин деглюдек + инсулин аспарт 100 ЕД/мл	Образец 22	25,9± 2,2 (0,93%)	26,4±0,03 (0,01%)	101,74
Субстанции				
Инсулин лизпро	Образец 23	0,70±0,04 (2,5%)	0,69±0,02 (1,45%)	98,57

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

кислоты на азотную не оказывает существенно-го влияния на результат измерения.

Заключение

В ходе проведенного исследования была модифицирована методика определения цинка в инсулине, позволяющая проводить определение этого элемента в различных лекарственных формах инсулина без использования прекурсоров наркотических веществ. Показано, что расхождение результатов, полученных с помощью фармакопейной и модифицированной

методик, не превышает 1,5% для субстанций, 4,5% для суспензий, 5,0% для растворов для внутривенного и подкожного введения. Средняя погрешность результата определения цинка с помощью модифицированной методики при сравнении с референсным значением составляет 0,4%. Рекомендуется включить модифицированную методику в качестве альтернативной в ОФС.1.2.3.0018.15 «Определение цинка в препаратах инсулина» ГФ РФ после проведения полного цикла валидационных испытаний.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Bolli GB, Cheng AYY, Owens DR. Insulin: evolution of insulin formulations and their application in clinical practice over 100 years. *Acta Diabetol.* 2022;59(9):1129–44. <https://doi.org/10.1007/s00592-022-01938-4>
- Хамидуллина ЗЗ, Нагаев ИР, Бобрик АГ, Авзалетди-

нова ДШ, Моругова ТВ, Загидуллин НШ, Гареева ДФ. Предикторы летального исхода при тяжелом течении коронавирусной инфекции у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. *Эндокринология: Новости. Мнения. Обучение.* 2022;11(3):15–26. Hamidullina ZZ, Nagaev IR, Bobrik AG, Avzalet-

- dinova DSh, Morugova TV, Zagidullin NSh, et al. Predictors of mortality in severe cases of coronavirus infection in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocrinology: News, Opinions, Training*. 2022;11(3):15–26 (In Russ.).
<https://doi.org/10.33029/2304-9529-2022-11-3-15-26>
3. Миронова СВ, Козиолова НА, Улыбина ЕВ. Риск развития хронической сердечной недостаточности у больных сахарным диабетом 2 типа, получающих терапию инсулином: метаанализ наблюдательных исследований. *Российский кардиологический журнал*. 2023;28(3):56–62.
Mironova SV, Koziolova NA, Ulybina EV. Risk of heart failure in patients with type 2 diabetes receiving insulin therapy: a meta-analysis of observational studies. *Russian Journal of Cardiology*. 2023;28(3):56–62 (In Russ.).
<https://doi.org/10.15829/1560-4071-2023-5375>
 4. Гражданкина ДВ, Бондарь ИА, Демин АА. Оценка значения факторов, ассоциированных с развитием отдаленных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий при сахарном диабете второго типа. *Лечащий врач*. 2022;(7–8):27–35.
Grazhdankina DV, Bondar IA, Demin AA. Assessment of the significance of factors associated with the development of long-term adverse cardiovascular events in type 2 diabetes mellitus. *Lechaschi Vrach Journal*. 2022;(7–8):27–35 (In Russ.).
<https://doi.org/10.51793/OS.2022.25.8.004>
 5. Акимов ПА. Прекомагиозное состояние как фактор насильственной смерти больных сахарным диабетом: случаи из экспертной практики. *Судебная медицина*. 2022;8(2):59–64.
Akimov PA. Precomatosis condition as a factor of violent death in patients with diabetes mellitus: a rare case report. *Russian Journal of Forensic Medicine*. 2022;8(2):59–64 (In Russ.).
<https://doi.org/10.17816/fm689>
 6. Остроумова ОД, Суркова ЕВ, Голобородова ИВ, Стародубова АВ, Кочетков АИ, Кикнадзе ТД и др. Гипогликемии и риск когнитивных нарушений и деменции у больных пожилого и старческого возраста с сахарным диабетом 2 типа. *Сахарный диабет*. 2020;23(1):72–87.
Ostroumova OD, Surkova EV, Goloborodova IV, Starodubova AV, Kochetkov AI, Kiknadze TD, et al. Hypoglycemia and the risk of cognitive impairment and dementia in elderly and senile patients with type 2 diabetes. *Diabetes Mellitus*. 2020;23(1):72–87 (In Russ.).
<https://doi.org/10.14341/DM10202>
 7. Sun H, Saeedi P, Karuranga S, Pinkepank M, Ogurtsova K, Duncan BB, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*. 2022;183:109119.
<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>
 8. Дедов ИИ, Шестакова МВ, Викулова ОК, Железнякова АВ, Исаков МА. Эпидемиологические характеристики сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным регистра сахарного диабета на 01.01.2021. *Сахарный диабет*. 2021;24(3):204–21.
Dedov II, Shestakova MV, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, Isakov MA. Epidemiological characteristics of diabetes mellitus in the Russian Federation: clinical and statistical analysis according to the Federal diabetes register data of 01.01.2021. *Diabetes Mellitus*. 2021;24(3):204–21 (In Russ.).
<https://doi.org/10.14341/DM12759>
 9. Пашкова ЕЮ, Гезалян МА. Время менять стереотипы: новый взгляд на фиксированные комбинации инсулинов. *Эндокринология: Новости. Мнения. Обучение*. 2021;36(3):59–65.
Pashkova EYu, Gezalyan MA. It's time to change stereotypes: a new look at fixed-mixtures insulins. *Endocrinology: News, Opinions, Training*. 2021;36(3):59–65 (In Russ.).
<https://doi.org/10.33029/2304-9529-2021-10-3-59-65>
 10. Swain J, Jena S, Manglunia A, Singh J. The journey of insulin over 100 years. *J Diabetol*. 2022;13(1):8–15.
https://doi.org/10.4103/jod.jod_100_21
 11. Manoharan C, Singh J. Addition of zinc improves the physical stability of insulin in the primary emulsification step of the poly (lactide-co-glycolide) microsphere preparation process. *Polymers*. 2015;7(5):836–50.
<https://doi.org/10.3390/polym7050836>
 12. Jarosinski MA, Dhayalan B, Chen YS, 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>
 13. Dunn MF. Zinc-ligand interactions modulate assembly and stability of the insulin hexamer – a review. *Biomaterials*. 2005;18(4):295–303.
<https://doi.org/10.1007/s10534-005-3685-y>
 14. Brange J. *Galenics of insulin: the physico-chemical and pharmaceutical aspects of insulin and insulin preparations*. Springer; 2012.
<https://doi.org/10.1007/978-3-662-02526-0>
 15. Das A, Shah M, Saraogi I. Molecular aspects of insulin aggregation and various therapeutic interventions. *ACS Bio Med Chem Au*. 2022;2(3):205–21.
<https://doi.org/10.1021%2Facsbiochemau.1c00054>
 16. Link FJ, Heng JYY. Unraveling the impact of pH on the crystallization of pharmaceutical proteins: a case study of human insulin. *Cryst Growth Des*. 2022;22(5):3024–33.
<https://doi.org/10.1021/acs.cgd.1c01463>
 17. El-Gharbawy RM, Emara AM, Abu-Risha SES. Zinc oxide nanoparticles and a standard antidiabetic drug restore the function and structure of beta cells in Type-2 diabetes. *Biomed Pharmacother*. 2016;84:810–20.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.09.068>
 18. Jiang J, Pi J, Cai J. The advancing of zinc oxide nanoparticles for biomedical applications. *Bioinorg Chem Appl*. 2018;2018:1062562.
<https://doi.org/10.1155/2018/1062562>
 19. Майоров АЮ, Драй РВ, Каронова ТЛ, Авдеева ОИ, Макаренко ИЕ, Кокшарова ЕО и др. Оценка биоподобия препаратов РинГлар® (ООО «Герофарм», Россия) и Лантус® («Санофи-Авентис Дойчланд ГмбХ», Германия) с использованием метода зугликемического гиперинсулинемического клэмп

- у пациентов с сахарным диабетом 1 типа: двойное слепое рандомизированное клиническое исследование. *Сахарный диабет*. 2020;23(4):304–15. Mayorov AYu, Drai RV, Karonova TL, Avdeeva OI, Makarenko IE, Koksharova EO, et al. Evaluation of biosimilarity of RinGlar® (GEROPHARM LLC, Russia) and Lantus® (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Germany) using the euglycemic hyperinsulinemic clamp technique in patients with type 1 diabetes: double-blind randomized clinical trial. *Diabetes Mellitus*. 2020;23(4):304–15 (In Russ.). <https://doi.org/10.14341/DM10095>
20. Ata S, Wattoo FH, Ahmed M, Wattoo MHS, Tirmizi SA, Wadood A. A method optimization study for atomic absorption spectrophotometric determination of total zinc in insulin using direct aspiration technique. *Alexandria J Med*. 2015;51(1):19–23. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2014.03.004>
21. Shkunnikova S, Širac T, Lalić K, Kulišić A, Jablan J. Comparison of Zn content in rapid-acting insulin and biphasic suspension by FAAS. *Croat Chem Acta*. 2021;94(2):P1–P8. <https://doi.org/10.5562/cca3830>
22. Qadir MA, Ahmed M, Ahmed S. Improved limit of detection and quantitation development and validation procedure for quantification of zinc in Insulin by atomic absorption spectrometry. *Pak J Pharm Sci*. 2015;28(3):875–9. PMID: 26004720
23. Wu S, Feng X, Wittmeier A. Microwave digestion of plant and grain reference materials in nitric acid or a mixture of nitric acid and hydrogen peroxide for the determination of multi-elements by inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Anal At Spectrom*. 1997;12(8):797–806. <https://doi.org/10.1039/A607217H>
24. Castro JT, Santos EC, Santos WP, Costa LM, Korn M, Nóbrega JA, et al. A critical evaluation of digestion procedures for coffee samples using diluted nitric acid in closed vessels for inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Talanta*. 2009;78(4–5):1378–82. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.02.030>
25. Альмашев РО, Романько НА, Лапинская ТН, Таразова ЭН, Сергеев ДС, Гатина РФ, Михайлов ЮМ. Применение атомно-абсорбционной спектроскопии при определении неорганических компонентов в порохах и промышленных отходах пороховых производств. *Бутлеровские сообщения*. 2012;30(5):132–8. Almashev RO, Romanko NA, Lapinskaya TN, Tarazova EN, Sergeev DS, Gatina RF, Mikhailov YuM. Application of atomic absorption spectroscopy in determining inorganic components of gunpowders and industrial waste of gunpowder production. *Butlerov Communications*. 2012;30(5):132–8 (In Russ.). EDN: [PCFIUT](https://doi.org/10.26907/2542-0397.2012.30.5.132-138)
26. Пупышев АА. *Атомно-абсорбционный спектральный анализ*. М.: Техносфера; 2009. Pupyshov AA. *Atomic absorption spectral analysis*. Moscow: Technosfera; 2009 (In Russ.). EDN: [QKCKEH](https://doi.org/10.26907/2542-0397.2009.30.132-138)

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: А.А. Ерина – идея, концепция и дизайн исследования, проведение исследований и сбор экспериментальных данных; В.М. Щукин – анализ экспериментальных данных, написание текста рукописи, анализ данных литературы; Е.А. Хорольская – пробоподготовка и проведение экспериментальных исследований; 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. Alina A. Erina elaborated the idea, concept, and design of the study, conducted experiments, and collected experimental data. Victor M. Shchukin analysed experimental data, drafted the manuscript, and analysed literature data. Elena A. Khorolskaya carried out sample preparation and experiments. Natalia E. Kuz'mina interpreted the study results and drafted the manuscript.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Ерина Алина Андреевна

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

Щукин Виктор Михайлович

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9440-0950>
Schukin@expmed.ru

Хорольская Елена Александровна

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

Кузьмина Наталия Евгеньевна, д-р хим. наук

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

Alina A. Erina

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

Victor M. Shchukin

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9440-0950>
Schukin@expmed.ru

Elena A. Khorolskaya

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

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

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

Поступила 05.07.2023

После доработки 14.08.2023

Принята к публикации 06.09.2023

Received 5 July 2023

Revised 14 August 2023

Accepted 6 September 2023