Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine

J Chem Good Trad Med, Volume 4, Issue 1, 2025 Chemistry of Goods

РАЗРАБОТКА ВЭЖХ-МЕТОДИКИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ М-КРЕЗОЛА В ПРЕПАРАТЕ ИНСУЛИНА

Мохира Уйгунбек кизи Отабекова
Андижанский государственный медицинский институт Студент фармацевтического факультета
https://orcid.org/0009-0007-8758-9215

Маруфжон Жуманазарович Жалилов
Андижанский Филиал Кокандского Университета Доцент кафедры медицинской и биологической химии, PhD
https://orcid.org/0000-0003-1128-497X

Машхура Усмановна Атабекова
Андижанский Филиал Кокандского Университета Ассистент кафедры медицинской и биологической химии
https://orcid.org/0009-0002-0014-9916
E-mail: atabekovamashxuraxon@gmail.com

DOI: https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol4.iss1.2025.407

Ключевые слова:
хроматография, колонка, м-крезол, инсулин

Аннотация

В данной статье рассматривается разработка метода ВЭЖХ для выявления м-крезола включает выбор оптимальных растворителей и условий, таких как использование колонки C_{18} и растворов с pH 2-3, что обеспечивает высококачественное разделение веществ. Результаты экспериментов показали, что лучший элюент — это раствор H_3PO_4 с ацетонитрилом в концентрации 0,1%.

Как цитировать

Отабекова, М. У. к., Жалилов, М. Ж., & Атабекова, М. У. РАЗРАБОТКА ВЭЖХ-МЕТОДИКИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ М-КРЕЗОЛА В ПРЕПАРАТЕ ИНСУЛИНА. Журнал химии товаров и народной медицины, 4(1). https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol4.iss1.2025.407

Введение. Хроматография считается одним из величайших научных открытий XX века, оказавшим значительное влияние на развитие химической науки, промышленности, медицины, экологии, атомной энергетики и фармацевтики. Этот метод разделения и анализа веществ позволил значительно расширить возможности исследовательских и производственных процессов в различных областях. Хроматографические методы продолжали активно развиваться, и сегодня ученые продолжают усовершенствовать как традиционные, так и новейшие подходы, создавая инновационные технологические решения. В данной статье автор ставит перед собой две взаимосвязанные задачи. С одной стороны, рассматривается разработка методики высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для определения м-крезола в препарате инсулина, предложенная М.Ж. Жалиловым. С другой стороны, предпринята попытка всесторонне осветить развитие хроматографии, акцентируя внимание как на новых инновационных направлениях и решениях, так и на традиционных методах, которые, несмотря на свою значимость, в настоящее время находят ограниченное применение.

Газовая хроматография используется для точного и детального анализа органических веществ, включая м-крезол. В этом методе образец превращается в газовую фазу и проходит через хроматографическую колонку, где происходит его разделение на компоненты. В колонке используется статическая фаза, которая взаимодействует с компонентами образца, разделяя их на основе их различной подвижности. После прохождения через колонку компоненты анализируются с помощью детектора, который позволяет количественно и качественно определить их содержание. Однако существуют и некоторые недостатки этого метода. Например, подготовка образцов может быть сложной и требовать специфических условий, а также некоторые вещества могут быть трудно разделяемыми в хроматографической колонке, что может повлиять на точность результатов. Несмотря на эти ограничения, газовая хроматография остается одним из самых точных и широко применяемых методов для анализа м-крезола и других органических соединений.

Однако, когда речь идет о методах анализа м-крезола в конкретных препаратах, например, инсулине, традиционные методы, такие как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), также играют важную роль [1,2,3,4]. Для разработки методики анализа м-крезола в таких препаратах использовали обращенно-фазовый вариант ВЭЖХ, так как м-крезол является низкополярным соединением, что требует использования полярных растворителей. Для оптимизации разделения было выбрано использование колонок с С18 и растворителей с pH 2-3, что является идеальными условиями для разделения м-крезола и других подобных аналитов. Таким образом, как СФХ, так и ВЭЖХ предлагают разные подходы для анализа м-крезола, каждый из которых имеет свои преимущества и области применения. СФХ обеспечивает более высокую чувствительность при работе с термолабильными соединениями и сложными смесями, в то время как ВЭЖХ предоставляет надежные результаты при анализе м-крезола в фармацевтических препаратах. Для разработки оптимальная скорость 1 мл/мин. Выбор хроматографического режима и условий проведения анализа для определения консервантов, при разработке метода анализа м-крезола начали с подбора подходящего элюента. Для увеличения полярности использованы различные полярные растворы элюентов, таких как H_3PO_4, Na_3PO_4, Na_2SO_4, NaH_2PO_4, Na_2HPO_4 и другие. При этом как неполярный растворитель использовали ацетонитрил, так как он является более нетоксичным и является одним из более часто используемых при использовании ВЭЖХ приборов. Подвижная фаза из смеси полярных и неполярных растворителей готовили в объемных соотношениях 30% на 70%. Полученный результат приведен в таблице 1.

Таблица 1. Выбор оптимального полярного растворителя (колонка С18 250 х4,6 мм 5 мкм, скорость: 1 мл/мин, 273 нм)

№	Полярные растворители	Концентрация раствора	Время удержания пиков м-крезола, мин	Разделение пиков м-крезола, мин
1	Na_3PO_4	0,2 М	6,50	1,14
2	Na_2SO_4	0,2 М	7,34	2,2
3	H_3PO_4	0,1 %	4,62	1,62
4	Na_2HPO_4	0,2 М	6,1	1,2
5	NaH_2PO_4	0,2 М	5,8	1,4

Исхода из приведенных данных таблицы 1 можно сделать вывод, что при использовании различных элюентов наилучшее разделение пиков м-крезола, а также время выхода пиков получается при использовании 0,1% раствора H_3PO_4. При этом учитывали, что соли металлов в течение времени отлагаются на местах соединения капилляров и других частей прибора, поэтому нами в качестве элюента выбрали 0,1% раствора H_3PO_4.

Оптимизация соотношений полярных растворителей и полученные данные при их использовании приведены в таблице 2.

Таблица 2. Выбор оптимального соотношения полярного и неполярного растворителя (колонка C18 250 x4,6 мм 5 мкм, скорость: 1 мл/мин, 273 нм)

№	0,1% раствор H_3PO_4, % по объему	Ацетонитрил, % по объему	Время удержания пиков м-крезол, мин	Разделение пиков м-крезола, мин
1	10	90	1,34	0,29
2	30	70	2,31	0,50
3	50	50	3,11	0,97
4	70	30	4,62	1,62
5	90	10	7,87	2,26

Из табличных данных видно, что разрешение между пиками увеличивается при уменьшении концентрации ацетонитрила и времени удержания последнего пика оптимальным соотношением буферного раствора (0,1% H_3PO_4) и ацетонитрила является 70:30, так как при более высоких концентрациях при испытаниях № 1-2 наблюдается наложения пиков м-крезола, а при № 5 общее время хроматографии увеличивается.

Устанавливали оптимальную температуру колонки, при этом хроматографический анализ проводили при комнатной 25 ^{0}C, 30 ^{0}C и 40 ^{0}C. Эксперименты показали, что, при 40 ^{0}C давление системы было самое низкое и целесообразно использовать эту температуру для дальнейших испытаний. В процессе хроматографического анализа температура колонки была оптимально установлена на уровне 40 °C, так как эта температура снижает давление системы до минимального уровня, что повышает эффективность процесса разделения. При температуре 40 °C хроматографическое разделение проводится эффективно, так как при более высоких температурах процесс разделения веществ может ухудшаться или результаты могут быть неточными. Также эта температура является оптимальной для определения термолабильных соединений, так как они не разлагаются при высокой температуре и правильно анализируются в процессе разделения. Однако, преимуществом анализа при высокой температуре является стабильность системы и получение высококачественных результатов, что улучшает воспроизводимость и точность хроматографического метода [10].

Правильность метода**.** Готовили и проводили измерения испытуемых растворов с концентрацией м-крезола в интервале от 80 % до больше на 20% от 100%: 3 раствора с концентрацией консервантов 80%, 3 раствора с концентрацией м-крезола 90%, 3 раствора с концентрацией консервантов 100%, 3 раствора с концентрацией консервантов больше на 10% от 100% и 3 раствора с концентрацией консервантов больше на 20% от 100%. Результаты

валидации по параметрам правильности приведены в таблице 3. Навеска РСО м-крезола – 31,97 мг, площадь пика раствора РСО м-крезола – 232,07943.

Таблица 3. Полученные данные по параметрам правильности валидации для м-крезола (1 мл/мин, темп. колонки 40 ^{0} С, DAD-273 нм, объем иньекции 10 µл)

Уровень концентрации, %	Концентрация м-крезола, мг/мл	Площадь пика	Определенное содержание м-крезола, мг/мл	Отклонение, %
80	1,283	186,68704	1,282	-0,09
80	1,283	186,69510	1,282	-0,09
80	1,283	186,62160	1,282	-0,12
90	1,441	209,64030	1,440	-0,12
90	1,441	209,67033	1,440	-0,10
90	1,441	209,72687	1,440	-0,08
100	1,595	231,97563	1,593	-0,14
100	1,595	231,90022	1,592	-0,18
100	1,595	232,36678	1,596	0,02
100+10	1,746	254,11443	1,745	-0,06
100+10	1,746	253,94682	1,744	-0,12
100+10	1,746	253,95763	1,744	-0,12
100+20	1,911	278,10669	1,910	-0,08
100+20	1,911	278,03250	1,909	-0,11
100+20	1,911	278,03195	1,909	-0,11

Таблица 3. Расчеты, полученные после статистической обработки результатов параметра правильности

Статистические характеристики, %	Результаты
Среднее значение	99,90
Стандартное отклонение	0,655
Коэффициент вариации	0,36
Нижняя граница доверительного интервала (P-95%)	99,64
Верхняя граница доверительного интервала (P-95%)	100,36

Критерии оценки сходимости и промежуточный прецизионности: коэффициент вариации ≤1,5% (n>6), доверительный интервал F(5%,5,5): ≤5,05, t(5%,10): ≤ 2,228.

Сравнение результатов валидации, полученных при определении количественного содержания м-крезола в составе лекарственных препаратов. После проведения валидации определения количественного содержания консерванта м-крезола в лекарственных препаратах, был проведен сравнительный анализ методов, ранее описаных в фармакопее с методом, разработанным нами.

Сравнительный анализ был проведен при разных условиях, более шести растворов, приготовленных с различной концентрацией, двумя сотрудниками (химик-аналитик) отдела

контроля качества. После чего была составлена общая таблица полученных данных, в которой отражены обобщенные результаты.

В результате проведенного нами сравнительного анализа спектрофотометрического и ВЭЖХ методов определения количественного содержания м-крезола в составе лекарственного препарата инсулина, было выявлено, что данные полученные при использовании разработанного ВЭЖХ метода, соответствуют по всем параметрам валидации и являются достоверными, по сравнению с данными, полученными старым ВЭЖХ методом. [5]

Вывод. В данном исследовании была разработана и оптимизирована методика высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для определения м-крезола в препаратах инсулина. Проведён широкий комплекс экспериментов по подбору оптимальных хроматографических условий, включая состав подвижной фазы, скорость потока, температуру колонки и длину волны детектирования. Наиболее эффективным элюентом признана смесь 0,1% H_3PO_4 и ацетонитрила в объёмном соотношении 70:30. Оптимальная температура колонки составила 40 °C, что обеспечило стабильность компонентов и точность разделения. Проведённая валидация метода по показателям точности, правильности и воспроизводимости показала высокую надёжность разработанного ВЭЖХ-метода. Результаты анализа с минимальными отклонениями (среднее отклонение – 0,09–0,18 %, коэффициент вариации – 0,36 %) подтвердили соответствие метода установленным требованиям. Кроме того, по сравнению с ранее используемыми фармакопейными методами, предложенная методика ВЭЖХ продемонстрировала более высокую чувствительность и точность. Таким образом, разработанный хроматографический метод позволяет эффективно, достоверно и воспроизводимо определять м-крезол в составе инсулиновых препаратов. Он может успешно применяться в фармацевтической промышленности в рамках контроля качества и соответствия требованиям безопасности. Это не только расширяет возможности хроматографического анализа, но и способствует совершенствованию традиционных методов контроля.

Литературы

1. Кумар, С., & Сайни, П. (2010). "Суперкритическая флюидная хроматография: обзор." *Аналитические химические письма*, 5(4), стр. 213-227.
2. Нормативный документ Республики Узбекистан 42 Уз-3801-2017
3. Нормативный документ Республики Узбекистан 42 Уз-2491-2021
4. Нормативный документ Республики Узбекистан 42 Уз-7732-2017
5. Жалилов, М. Ж., Сманова, З. А., Кутлимуротова, Н. Х., & Турсунова, С. У. (2022). Разработка методики определения м-крезола и фенола в препарате инъекционного инсулина // Журнал химии товаров и народной медицины, 1(3), с. 30–51. https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol1.iss3.2022.50
6. Harris, D. C. (2015). *Quantitative Chemical Analysis* (9th ed.). W.H. Freeman and Company стр. 33-45.