

УДК 543.544.5.068.7:615.07

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2026.90.96.004>

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ ВЭЖХ-МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РОДСТВЕННЫХ ПРИМЕСЕЙ ДЕКСПАНТЕНОЛА В ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКОМ ГЕЛЕ

Р.А. Фахриев, руководитель Офиса технологического лидерства ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Казань; SPIN: 3123–9414, ORCID: 0009-0009-9053-1545 rustam.fakhriev@kazangmu.ru

Я.С. Новиков, аспирант Института фармации ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Казань; SPIN: 3022–2046, ORCID: 0009-0005-2916-3756 voilt01-12@mail.ru

З.Р. Амерханова, ординатор Института фармации ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Казань; ORCID: 0009-0001-2937-057X Amerkhanova.Zi@mail.ru

С.Н. Егорова, доктор фарм. наук, профессор Института фармации ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Казань; SPIN: 5214–4618, ORCID: 0000-0001-7671-3179

svetlana.egorova@kazangmu.ru

Представлена разработка и валидация методики определения родственных примесей в новой офтальмологической гелевой форме декспантенола на основе гиалуроната натрия для осуществления контроля качества с целью дальнейшей разработки нормативной документации. Подобраны хроматографические условия разделения компонентов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием спектрофотометрического детектора на хроматографической системе LicArt 62. Проведена валидация разработанной методики по показателям: специфичность, линейность, правильность и повторяемость (сходимость). Полученные результаты подтверждают соответствие разработанной методики требованиям, предъявляемым к методикам количественного определения примесей в лекарственных средствах.

Ключевые слова: декспантенол, высокоэффективная жидкостная хроматография, ВЭЖХ, валидация

Декспантенол представляет собой спиртовое производное пантотеновой кислоты (витамина В5), относится к группе провитаминов и характеризуется широким спектром фармакологической активности.

Благодаря способности стимулировать регенерацию тканей, оказывать умеренное противовоспалительное действие и обеспечивать длительное увлажнение, декспантенол нашел применение в различных областях медицины [1]. При топическом нанесении препараты на его основе эффективно ускоряют заживление ран, ожогов и трофических поражений кожи, способствуя восстановлению целостности эпидермального барьера [2].

В офтальмологической практике декспантенол используется в качестве кератопротекторного средства, поскольку доказана его способность стимулировать пролиферацию и миграцию эпителиальных клеток роговицы, что особенно важно при ее повреждениях [3–5]. Особый интерес представляет комбинация декспантенола с гиалуронатом натрия: доказано, что гиалуроновая кислота потенцирует увлажняющий эффект, увеличивает время удержания препарата на глазной поверхности и способствует более быстрой эпителизации, что делает такую комбинацию перспективной для терапии синдрома сухого глаза различной этиологии [6].

В настоящее время на фармацевтическом рынке представлены офтальмологические гели 5% декспантенола на основе карбомера, такие как «Корнерегель» и «Декспантель»¹. Однако раз-

¹ Государственный реестр лекарственных средств URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/> (дата обращения: 01.02.2026).

работка новой лекарственной формы на основе гиалуроната натрия представляет значительный интерес, поскольку позволяет не только использовать преимущества обоих активных компонентов, но и создать более физиологичную для глазной поверхности композицию. Образец такого геля был разработан на базе Института фармации Казанского государственного медицинского университета.

В соответствии с требованиями к качеству лекарственных препаратов, для внедрения разработанного геля в медицинскую практику необходима разработка и валидация методик контроля качества, обеспечивающих его безопасность и эффективность. Особое внимание при этом уделяется контролю родственных примесей, поскольку их содержание может изменяться в процессе хранения и влиять на стабильность препарата.

Целью данной работы являлась разработка и валидация методики количественного определения родственных примесей в геле декспантенола на основе гиалуроната натрия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для приготовления стандартных растворов использовали: стандартный образец декспантенола (EPRS) и примеси С-пантолактона (EPRS). При приготовлении растворов плацебо и модельных растворов использовали фармацевтическую субстанцию декспантенола и следующие вспомогательные вещества: гиалуронат натрия, цетримид, динатрияэдетат, соляную кислоту, воду очищенную.

Для проведения хроматографического анализа использовали: ацетонитрил для градиентной ВЭЖХ (ООО «ТД «Химмед», Россия), ортофосфорную кислоту (Merck, Германия). Сверхчистая вода I типа была получена в системе очистки воды Simplicity UV (Merck, Германия). Фильтрацию образцов проводили с помощью 25 мм шприцевого фильтра из полипропилена с диаметром пор 0,45 мкм (Filter-Bio, Китай).

Все взвешивания проводили на полумикровесах SHPBG-215i-ION (Bel Engineering Srl, Италия).

За основу были взяты руководства по определению примесей в лекарственных препаратах ICH Q3B (R2) и валидации аналитических методик ICH Q2 (R2), ГФ XV, научные публикации по определению декспантенола.

Определение декспантенола и его примесей проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Хроматографические условия

Анализ проводили на хроматографической системе LicArt 62 (Россия) с градиентным четвертичным насосом низкого давления QP-62d, автосамплером S-42dc, термостатом колонок T-85C, спектрофотометрическим детектором DAD-62 на колонке X Bridge BEHC18, 5 мкм, 150×4,6 мм (Waters, Ирландия). Определение проводили при длине волны 200 нм. Скорость потока – 1,5 мл/мин, температура термостата колонки 30°C, температура автосамплера – 6°C. Время хроматографирования – 23 мин., время удерживания пантолактона ~6,5 мин., декспантенола ~8,8 мин. Хроматографирование проводили в градиентном режиме (табл. 1).

Подвижная фаза А: 1 мл концентрированной ортофосфорной кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяли в небольшом количестве воды, доводили объем раствора водой до метки и перемешивали.

Подвижная фаза В: ацетонитрил для хроматографии Р.

Растворитель: см. «Подвижная фаза А».

Основной стандартный раствор декспантенола

Около 25 мг (точная навеска) стандартного образца декспантенола помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 50 мл, растворяли в 10 мл растворителя и подвергали обработке ультразвуком в течение 15 мин. Полученный раствор количественно переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, колбу ополаскивали дважды по 10 мл растворителем, присоединяя смывы к основному раствору, доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали.

Концентрация декспантенола – приблизительно 0,5 мг/мл.

Таблица 1

ПАРАМЕТРЫ ГРАДИЕНТНОГО ЭЛЮИРОВАНИЯ

Время, мин.	Подвижная фаза А, %	Подвижная фаза В, %	Режим
0,0–12,0	98	2	Изократический
12,0–15,0	98 → 20	2 → 80	Линейный
15,0–18,0	20	80	Изократический
18,0–18,1	20 → 98	80 → 2	Линейный
18,1–23,0	98	2	Изократический

Стандартный раствор декспантенола

1,0 мл стандартного раствора декспантенола помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили объем раствора растворителем до метки и перемешивали.

Концентрация декспантенола – приблизительно 0,005 мг/мл.

Основной стандартный раствор пантолактона

Около 25 мг (точная навеска) пантолактона помещали в мерную колбу на 50 мл, растворяли в 30 мл растворителя, доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали.

Концентрация пантолактона – приблизительно 0,5 мг/мл.

Стандартный раствор пантолактона

5,0 мл основного стандартного раствора пантолактона помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили объем раствора растворителем до метки и перемешивали.

Концентрация пантолактона – приблизительно 0,025 мг/мл.

Раствор для проверки пригодности хроматографической системы (РППХС)

Около 250 мг (точная навеска) фармацевтической субстанции декспантенола помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, растворяли в 20 мл растворителя и подвергали обработке ультразвуком в течение 15 мин. Полученный раствор количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, колбу ополаскивали дважды по 20 мл растворителем, присоединяя смывы к основному раствору, добавляли 5 мл основного стандартного раствора пантолактона и доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали.

Концентрация декспантенола – приблизительно 2,5 мг/мл.

Концентрация пантолактона – приблизительно 0,025 мг/мл.

Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы

5,0 мл стандартного раствора декспантенола помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводили объем раствора растворителем до метки и перемешивали.

Концентрация декспантенола – приблизительно 0,0025 мг/мл.

Раствор плацебо

Около 2,375 г плацебо (табл. 2) помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 50 мл, растворяли в 10 мл растворителя и подвергали обработке ультразвуком в течение 15 мин. Полученный раствор количественно переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, колбу ополаскивали дважды по 10 мл растворителя, присоединяя смывы к основному раствору, доводили объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивали и фильтровали.

Модельный раствор

Около 4,750 г плацебо и 250 мг (точная навеска) фармацевтической субстанции декспантенола помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, растворяли в 20 мл растворителя и подвергали обработке ультразвуком в течение 15 мин. Полученный раствор количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, колбу ополаскивали дважды по 20 мл растворителем, присоединяя смывы к основному раствору, добавляли 5 мл основного стандартного раствора пантолактона и доводили объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивали и фильтровали.

Концентрация декспантенола – приблизительно 2,5 мг/мл.

Концентрация пантолактона – приблизительно 0,025 мг/мл.

Испытуемый раствор

Около 2,5 г (точная навеска) испытуемого геля помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 50 мл, растворяли в 10 мл растворителя и подвергали обработке ультразвуком в течение 15 мин. Полученный раствор количественно переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, колбу ополаскивали дважды по 10 мл растворителем,

Таблица 2

СОСТАВ ПЛАЦЕБО, НА 100 Г

Наименование вещества	Количество, г
Гиалуронат натрия	2,00
Динатрия эдетат (трилон Б)	0,10
Цетримид	0,10
Соляная кислота	0,101
Вода очищенная	до 100 г

присоединяя смывы к основному раствору, доводили объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивали и фильтровали.

Концентрация декспантенола – приблизительно 2,5 мг/мл.

Критерии пригодности хроматографической системы

Установили следующие критерии пригодности хроматографической системы:

- На хроматограмме РППХС:
 - разрешение между пиком декспантенола и пиком пантолактона с относительным временем удерживания около 0,8 на хроматограмме раствора для определения разделения – не менее 2.
- На хроматограмме стандартного раствора для определения примесей:
 - число теоретических тарелок для пика декспантенола и пантолактона – не менее 3000;
 - фактор асимметрии пика декспантенола и пантолактона – от 0,8 до 2,0;
 - относительное стандартное отклонение площади пика декспантенола и пантолактона на пяти последовательных инъекциях – не более 2,0%;
- На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы:
 - отношение сигнал/шум пика декспантенола и пантолактона – не менее 10.

Измерения и вычисления

На хроматограмме испытуемого раствора для определения примесей не учитывают: пики, присутствующие на хроматограмме растворителя; пики, площадь которых меньше площади пика декспантенола на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,1%).

Содержание пантолактона не должно превышать 1%.

Содержание единичной неидентифицированной примеси не должно превышать 0,2%.

Сумма неидентифицированных примесей не должна превышать 1%.

Валидация методики

Специфичность

Для оценки специфичности методики анализировали следующие растворы: растворитель, плацебо, стандартный раствор декспантенола

и пантолактона, РППХС и модельный раствор геля, содержащий декспантенол и пантолактон на уровне 100% от предела содержания. Регистрировали хроматограммы, анализировали наличие и разрешение пиков, оценивали возможное перекрытие пиков вспомогательных веществ и примесей с пиком декспантенола.

Линейность

Линейность методики изучали на восьми уровнях концентраций в диапазоне от 5% до 120% относительно предела содержания примесей (концентрации, соответствующие 100%: для декспантенола – 0,005 мг/мл, для пантолактона – 0,025 мг/мл). Для декспантенола исследовали концентрации: 0,00025 (5%), 0,0005 (10%), 0,001 (20%), 0,002 (40%), 0,003 (60%), 0,004 (80%), 0,005 (100%) и 0,006 мг/мл (120%). Для пантолактона исследовали концентрации: 0,00125 (5%), 0,0025 (10%), 0,005 (20%), 0,01 (40%), 0,015 (60%), 0,02 (80%), 0,025 (100%) и 0,03 мг/мл (120%). Рабочие стандартные растворы готовили путем последовательного разбавления стандартных растворов декспантенола (0,05 мг/мл) и пантолактона (0,25 мг/мл) до требуемых концентраций.

Площадь пика для каждого уровня концентрации наносили на график в зависимости от соответствующей концентрации. Регрессионный анализ использовали для определения угла наклона, отрезка, отсекаемого на оси ординат, и коэффициента корреляции (r^2). Калибровочную кривую строили в трех повторениях.

Правильность

Правильность методики определяли на трех уровнях концентраций: 20%, 100% и 120%. Для каждого уровня готовили по три модельных образца, содержащих плацебо и декспантенол. Концентрации декспантенола составили 0,001, 0,005 и 0,006 мг/мл. Рассчитывали степень извлечения (%), среднее значение, стандартное отклонение (SD) и относительное стандартное отклонение (RSD, %).

Повторяемость

Повторяемость методики оценивали по результатам 6 определений содержания примесей в испытуемых образцах геля. Анализ выполняли одним химиком в один день на одной хроматографической системе. Рассчитывали содержание примесей, стандартное отклонение (SD) и относительное стандартное отклонение (RSD, %).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Специфичность

В результате проведенных исследований подтверждена специфичность разработанной методики. При анализе хроматограмм растворителя (рис. 1) и плацебо (рис. 2) установлено отсутствие пиков в областях удерживания декспантенола и пантолактона, что свидетель-

ствует об отсутствии мешающего влияния вспомогательных веществ и используемых растворителей.

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы (рис. 3) наблюдалось разделение пиков декспантенола и пантолактона, при этом разрешение между пиками составило 4,7, что соответствует установленным критериям пригодности.

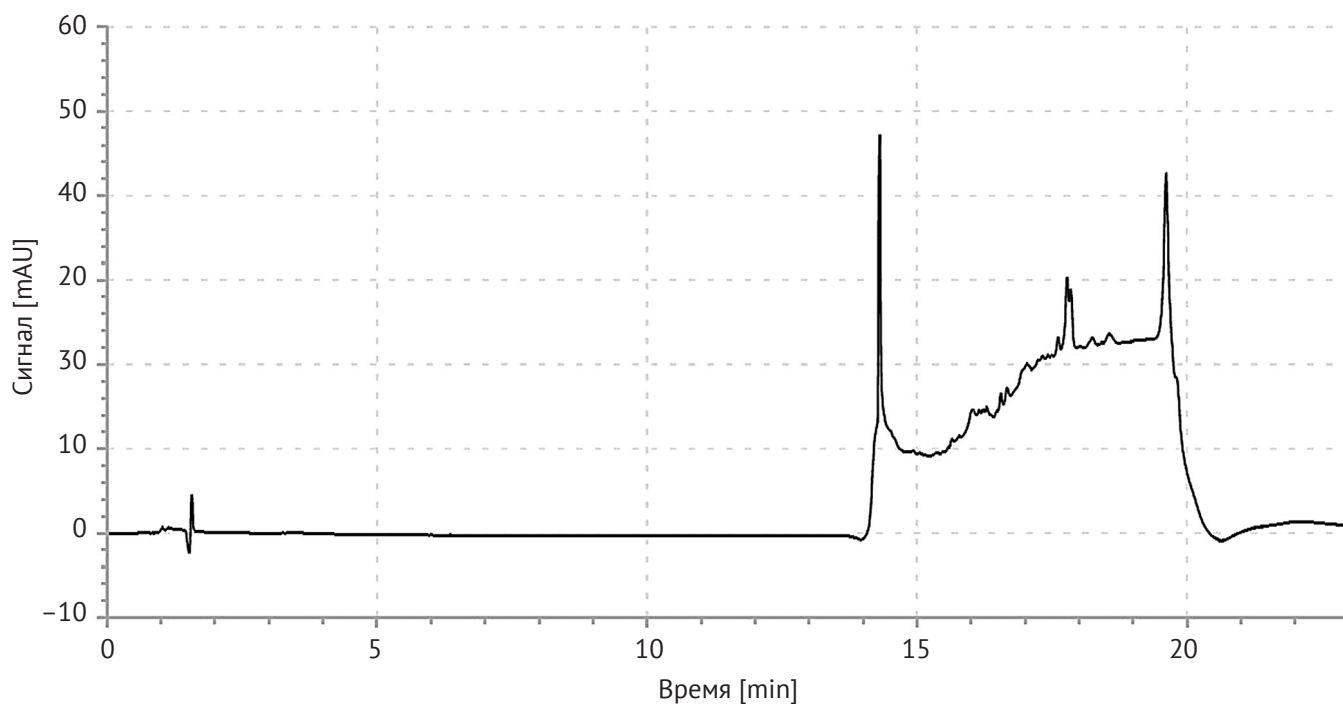


РИС. 1. Хроматограмма бланка

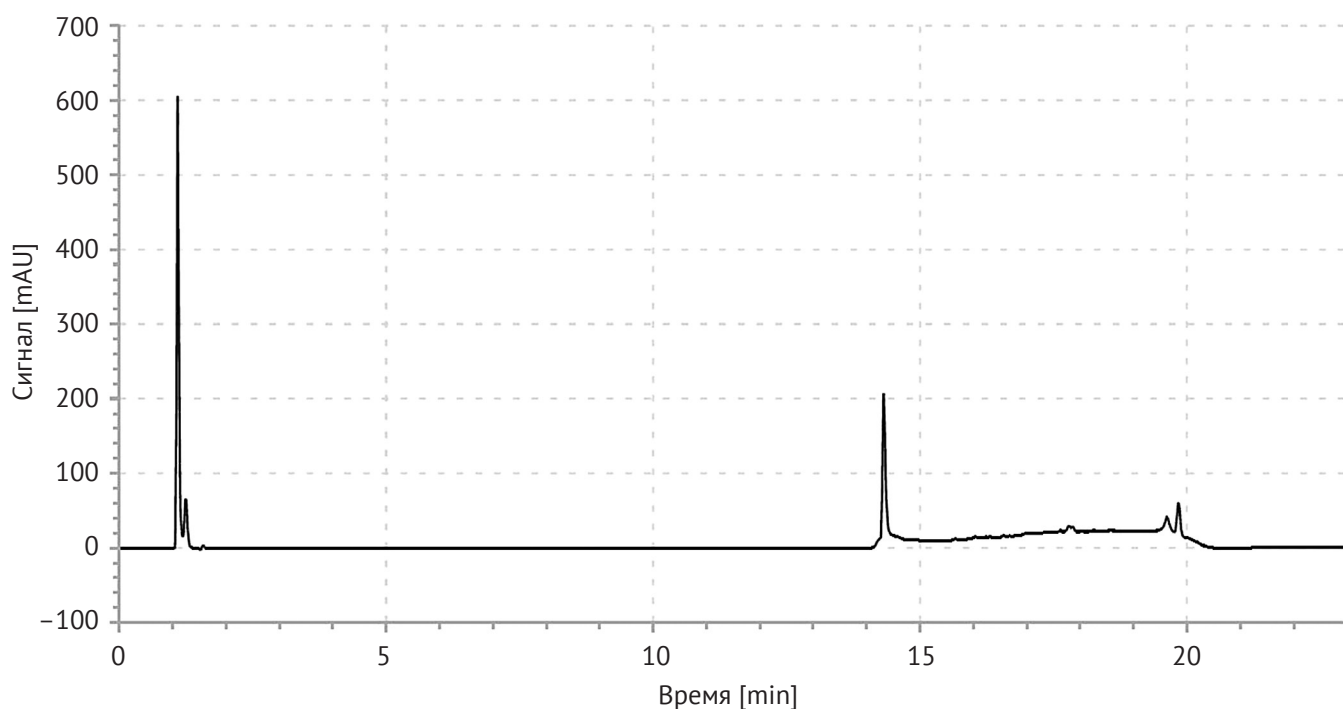


РИС. 2. Хроматограмма плацебо

Пики стандартных растворов декспантенола (рис. 4) и пантолактона характеризовались удовлетворительной симметрией пиков (фактор асимметрии обоих веществ 1,0) и достаточной эффективностью хроматографической колонки (число теоретических тарелок более 10 000).

Линейность

Линейность методики характеризуется наличием линейной зависимости аналитического сигнала от концентрации определяемого вещества в образце в пределах диапазона применения методики. В результате проведенных исследо-

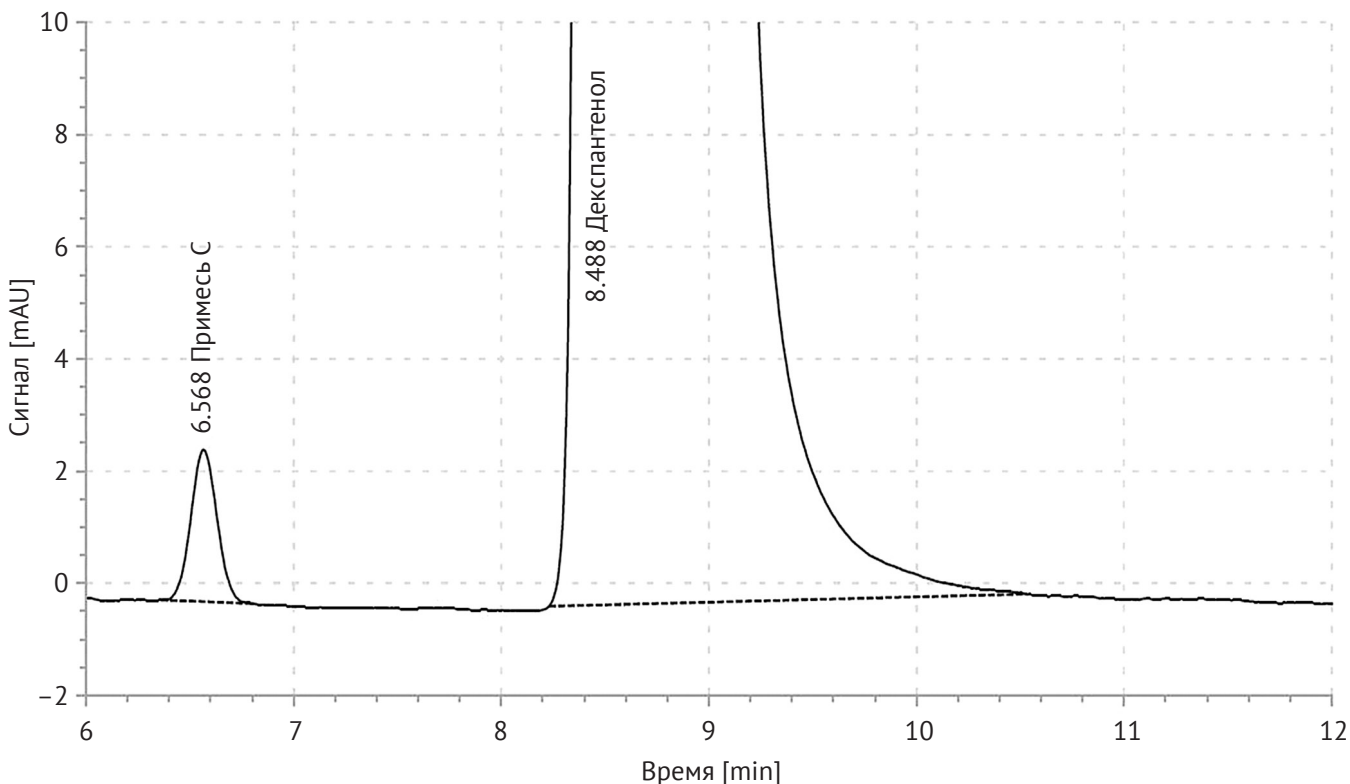


Рис. 3. РППХС

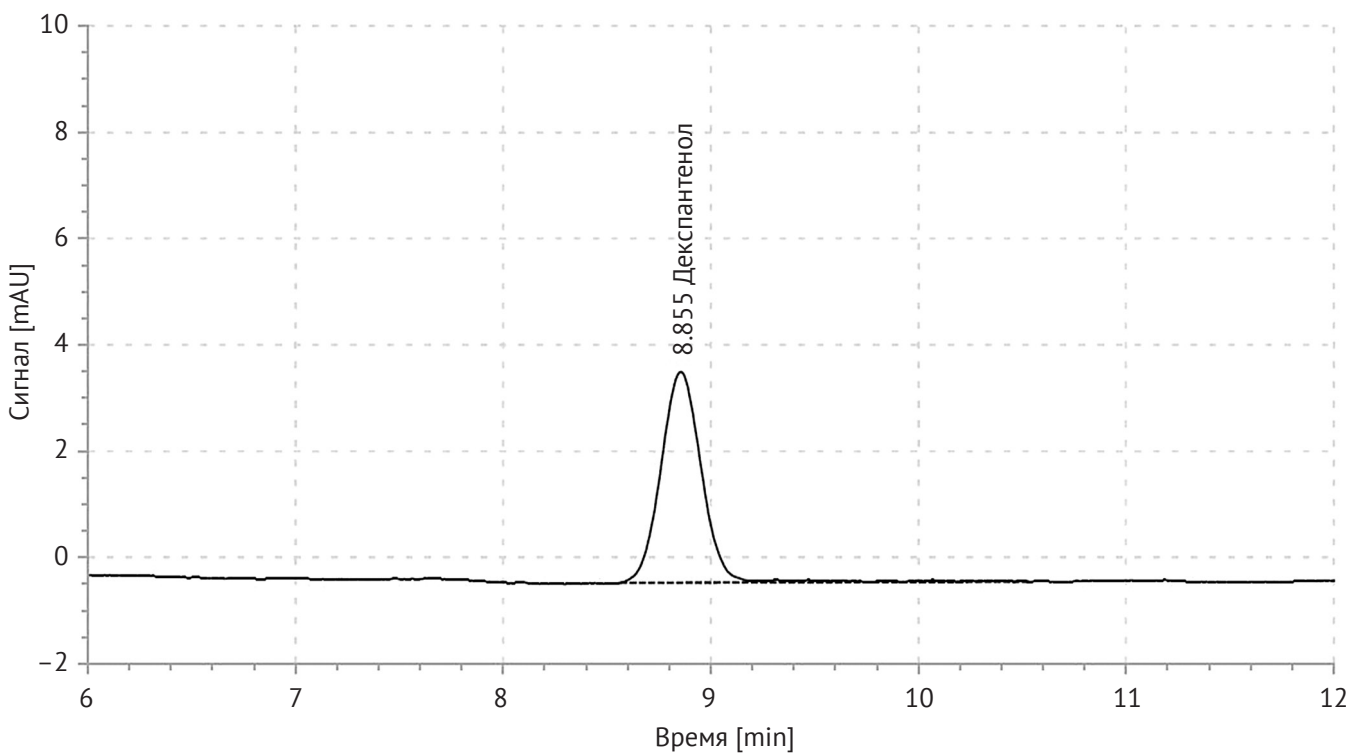


Рис. 4. Стандарт декспантенола

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕКСПАНТЕНОЛА В МОДЕЛЬНЫХ РАСТВОРАХ

№	Заложено, мг/мл	Найдено, мкг/мл	Степень извлечения, %	Статистическая обработка	
1	0,001	0,001016	101,56	X _{ср} = 101,87% s = 1,88 RSD = 1,85	X _{ср} = 101,19% s = 1,24 RSD = 1,22
2	0,001	0,001002	100,16		
3	0,001	0,001039	103,88		
4	0,005	0,005040	100,81	X _{ср} = 100,83% s = 0,52 RSD = 0,52	
5	0,005	0,005015	100,31		
6	0,005	0,005068	101,36		
7	0,006	0,006075	101,25	X _{ср} = 100,87% s = 1,13 RSD = 1,12	
8	0,006	0,006106	101,77		
9	0,006	0,005976	99,60		

ваний получена линейная зависимость площади пика от концентрации для декспантенола и пантолактона.

Для декспантенола линейность наблюдалась в диапазоне концентраций 0,00025–0,006 мг/мл, что соответствуют уровню от 5 до 120%. Уравнение линейной регрессии: $y = 12,634670x - 0,566980$. Коэффициент корреляции (r) составил 0,9998, коэффициент детерминации (r²) – 0,9997.

Для пантолактона линейность наблюдалась в диапазоне концентраций 0,00125–0,03 мг/мл, что соответствует уровню от 5 до 120%. Уравнение линейной регрессии: $y = 0,377600x + 0,065460$. Коэффициент корреляции (r) составил 0,9995, коэффициент детерминации (r²) – 0,9991.

Полученные результаты подтверждают линейность методики в указанных диапазонах концентраций.

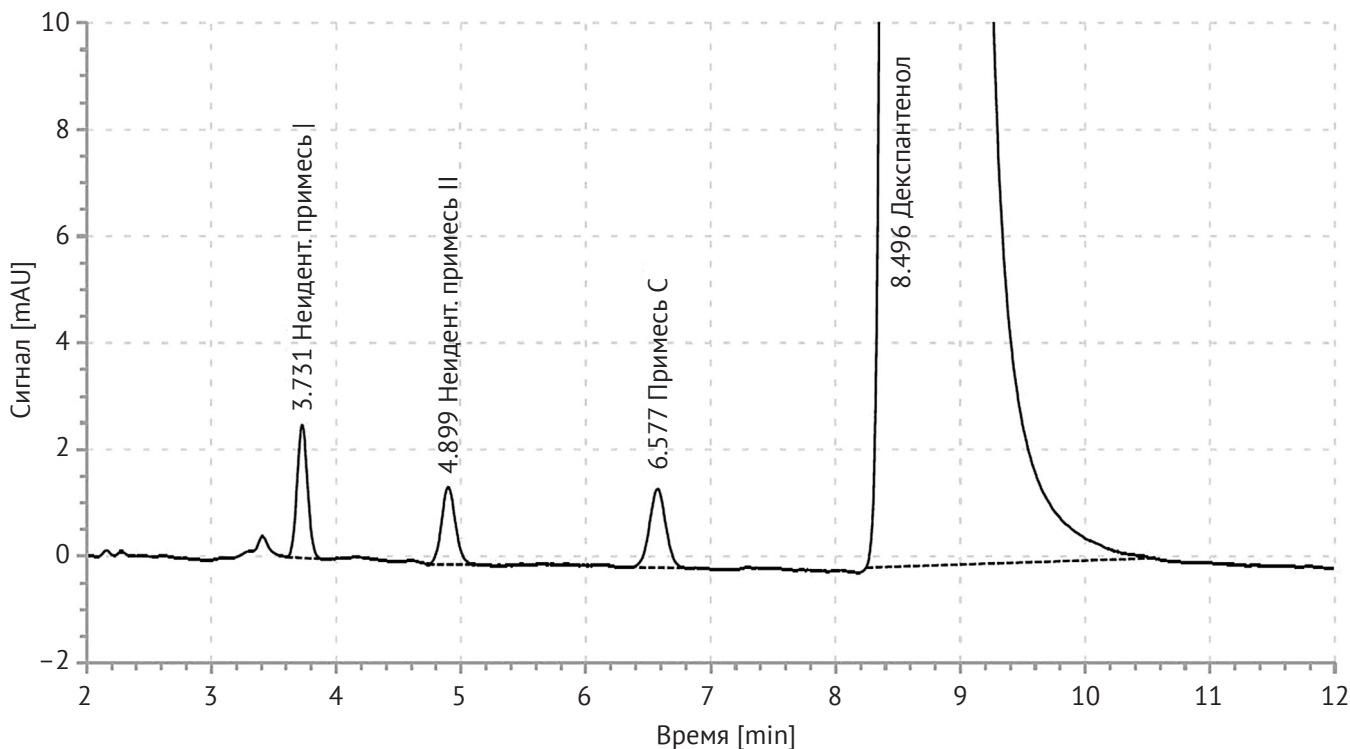


Рис. 5. Испытуемый образец

РЕЗУЛЬТАТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРИМЕСЕЙ В ИСПЫТУЕМЫХ РАСТВОРАХ

№	Содержание примеси пантолактона, %	Содержание единичной неидентифицированной примеси I	Содержание единичной неидентифицированной примеси II
1	0,650	Менее 0,1%	Менее 0,1%
2	0,661	Менее 0,1%	Менее 0,1%
3	0,674	Менее 0,1%	Менее 0,1%
4	0,661	Менее 0,1%	Менее 0,1%
5	0,671	Менее 0,1%	Менее 0,1%
6	0,655	Менее 0,1%	Менее 0,1%
Среднее значение	0,662		
Стандартное отклонение, %	0,009		
RSD, %	1,408		

Правильность

Правильность аналитической методики определяется как близость полученных результатов к истинному значению. Результаты оценки правильности представлены в **табл. 3**. Исследования степени извлечения показали, что доверительный интервал среднего значения степени извлечения находится в пределах 98,0–102,0%. Относительное стандартное отклонение (RSD, %) степени извлечения составило от 0,52 до 1,86%.

Повторяемость

Повторяемость методики характеризует степень близости результатов последовательных измерений одного образца. Хроматограмма испытуемого образца представлена на **рис. 5**. Значения содержания пантолактона представлены в **табл. 4**. Содержание единичных неидентифицированных примесей не превышало предела содержания (0,1%) и в расчет не принималось.

ВЫВОДЫ

В ходе выполнения работы разработана и валидирована методика определения родственных примесей в геле декспантенола на основе гиалуроната натрия методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Валидация методики проведена по следующим показателям: специфичность, линейность, правильность, повторяемость.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кнорринг Г.Ю. Применение декспантенола при повреждении роговицы // *Вестник офтальмологии*, 2023; 139(6):122–128.
2. Gorski J., Proksch E., Baron J.M., Schmid D., Zhang L. Dexpanthenol in Wound Healing after Medical and Cosmetic Interventions (Postprocedure Wound Healing) // *Pharmaceuticals*, vol. 13, № 7, p. 138, Jun. 2020. DOI: 10.3390/ph13070138.
3. Doba S., Anna B., Kuznetsov A. Pharmacological Effects of Dexpanthenol // *Research Journal of Pharmacy and Technology*, vol. 17, pp. 3499–3504, Jul. 2024, DOI: 10.52711/0974-360X.2024.00547.
4. Hamdi I.M. Effect of D-Panthenol on Corneal Epithelial Healing after Surface Laser Ablation // *J. Ophthalmol.*, vol. 2018, p. 6537413, Nov. 2018. DOI: 10.1155/2018/6537413.
5. Weimann and Hermann, *Studies on Wound Healing: Effects of Calcium D-Pantothenate on the Migration, Proliferation and Protein Synthesis of Human Dermal Fibroblasts in Culture* // *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, vol. 69, № 2, pp. 113–119, Mar. 1999. DOI: 10.1024/0300-9831.69.2.113.
6. Köppe M.K., Hallak M.K., Stengele A.L., Khoramnia R., Auffarth G.U. Evaluation of Dry Eye Treatment with Sodium Hyaluronate- and Dexpanthenol-Containing Eye Drops on Ocular Surface Improvement after Cataract Surgery // *Diagnostics*, vol. 14, №11, p. 1097, Jan. 2024. DOI: 10.3390/diagnostics14111097.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF HPLC METHOD FOR DETERMINATION OF DEXPANTHENOL IMPURITIES IN AN OPHTHALMIC GEL

R.A. Fakhriev, Ya.S. Novikov, Z.R. Amerkhanova, S.N. Egorova

Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, Russia

The development and validation of a method for the determination of dexpanthenol-related impurities in a new ophthalmic gel formulation based on sodium hyaluronate are presented. The study was conducted for quality control purposes with the aim of subsequent regulatory documentation development. Chromatographic conditions for component separation were optimized using high-performance liquid chromatography with a spectrophotometric detector on a LicArt 62 chromatographic system. The developed method was validated according to the following parameters: specificity, linearity, accuracy, and repeatability. The obtained results confirm that the developed method meets the requirements for analytical procedures intended for the quantitative determination of impurities in pharmaceutical products.

Keywords: dexpanthenol, high-performance liquid chromatography, HPLC, validation