

Е.Н. Люст, О.С. Ендальцева, Н.Н. Петухова

## РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРЕГАБАЛИНА МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

*Пермская государственная фармацевтическая академия, 614999, ул. Крупской, 46, тел. 8-(342)-28-25-886, г. Пермь*

### Резюме

Статья посвящена разработке методики определения прегабалина методом газожидкостной хроматографии. В ходе эксперимента были подобраны оптимальные условия хроматографирования, предложен способ количественного определения прегабалина. Также была проведена статистическая обработка результатов эксперимента и дана валидационная оценка методики количественного определения прегабалина по параметрам: специфичность, линейность, прецизионность (в условиях повторяемости).

*Ключевые слова:* прегабалин, газожидкостная хроматография, специфичность, линейность, правильность, прецизионность.

E.N. Lust, O.S. Endaltieva, N.N. Petuhova

## DEVELOPMENT OF THE METHOD OF DETERMINING PREGABALIN BY THE METHOD GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY

*Perm State pharmaceutical Academy Ministry of health of Russian Federation, Russia, Perm*

### Summary

The article is sanctified to development of methodology of determination by the pregabalin method of gasliquid chromatography. During an experiment the optimal terms of chromatography analysis were neat, the method of quantitative determination of pregabalin is offered. Statistical treatment of results of experiment and дана was also conducted validation estimation of methodology of quantitative determination of pregabalin on parameters: specificity, linearness, precision (of measurement).

*Key words:* pregabalin, gasliquid chromatography, specificity, linearness, rightness, precision (of measurement).

В последние годы во многих странах, в том числе в Российской Федерации, стала отчетливо проявляться тенденция к злоупотреблению аптечными препаратами, обладающими влиянием на центральную нервную систему [3, 7]. Место среди них занял и противосудорожный препарат – прегабалин. Прегабалин входит в список жизненно важных лекарственных препаратов и включен в стандарты РФ по оказанию медицинской помощи. Эффективно применяется в неврологической практике: при лечении невропатической боли, в качестве дополнительной терапии с парциальными судорожными припадками, при фибромиалгии [6, 8].

Наряду с медицинским применением отмечено использование прегабалина с целью получения удовольствия [4]. Данный препарат усиливает действие опиатов, этанола. Для состояния опьянения характерны:

сонливость, атаксия, нарушение координации и концентрации внимания, спутанность сознания, приподнятое настроение [5].

Исходя из вышесказанного, детектирование лекарственных средств, обладающих способностью изменять сознание человека, является серьезной и актуальной проблемой, как для медицинского сообщества, так и для правоохранительных органов. В связи с этим, возникает необходимость разработки методик определения прегабалина в биологических жидкостях с помощью универсальных, экспрессных, чувствительных и точных методов анализа.

*Целью настоящего исследования* является разработка методики определения прегабалина методом газожидкостной хроматографии.

### Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали прегабалина раствор 1,5 мг/мл, путём разведения готовили растворы с концентрацией 0,25-1,0 мг/мл и 10-100 мкг/мл, с учетом токсических и терапевтических дозировок. Также готовили модельные смеси мочи с содержанием прегабалина в концентрациях 15-120 мкг в пробе, в том числе и с добавлением внутреннего стандарта – дифениламина (1 мг/мл, добавляли в пробу 50 мкл).

После выделения прегабалина из модельных смесей пробы анализировали на газожидкостном хрома-

тографе Хроматэк-Кристалл 5 000 (г. Йошкар-Ола, ЗАО ОКБ «Хроматэк»). В ходе эксперимента с прегабалина раствором 1,5 мг/мл были предложены следующие условия хроматографирования: колонка НР-5 длиной 30 м; скорость потока газоносителя (азот) – 17,7 мл/мин.; температура термостата колонки начальная – 170 °С; скорость нагрева до температуры 220 °С – 20 °С/мин.; температура детектора – 250 °С; температура испарителя – 230 °С; ввод пробы с делением потока 1/30; объем вводимой пробы – 1 мкл.

В данных условиях время анализа составило 15 минут. Время удерживания в среднем для анализируемого

вещества (прегабалина) составило 5,50 мин., время удерживания дифениламина – 10,15 мин.

### Результаты и обсуждение

При определении прегабалина существует необходимость в количественной оценке анализируемого вещества в пробах для установления факта его медицинского применения.

Основным параметром хроматограммы, характеризующим количество анализируемого вещества, является площадь хроматографического пика [2]. Для количественного определения использовали два метода: метод абсолютной калибровки и метод внутреннего стандарта.

Полученные градуировочные графики характеризовались линейностью и имели вид для концентраций 0,25-1,5 мг/мл: метод внутреннего стандарта –  $S_{\text{прег}}/S_{\text{дфа}} = 0,8485 \times C$  ( $R^2=0,9966$ ), метод абсолютной гра-

дуировки –  $S_{\text{прег}}=964,02 \times C$  ( $R^2=0,9911$ ); для концентраций 10-100 мкг/мл: метод внутреннего стандарта –  $S_{\text{прег}}/S_{\text{дфа}}=0,0005 \times C$  ( $R^2=0,9958$ ), метод абсолютной градуировки –  $S_{\text{прег}}=0,5707 \times C$  ( $R^2=0,9941$ ).

При проведении валидационных исследований были установлены такие характеристики методики как специфичность, линейность, правильность и прецизионность (в условиях повторяемости).

Для оценки специфичности сравнивали результаты определения раствора прегабалина 1,5 мг/мл, модельной смеси мочи с прегабалином и холостой пробы мочи. Анализ хроматограмм показал, что посторонние пики не мешают достоверному определению прегабалина (рис. 1).

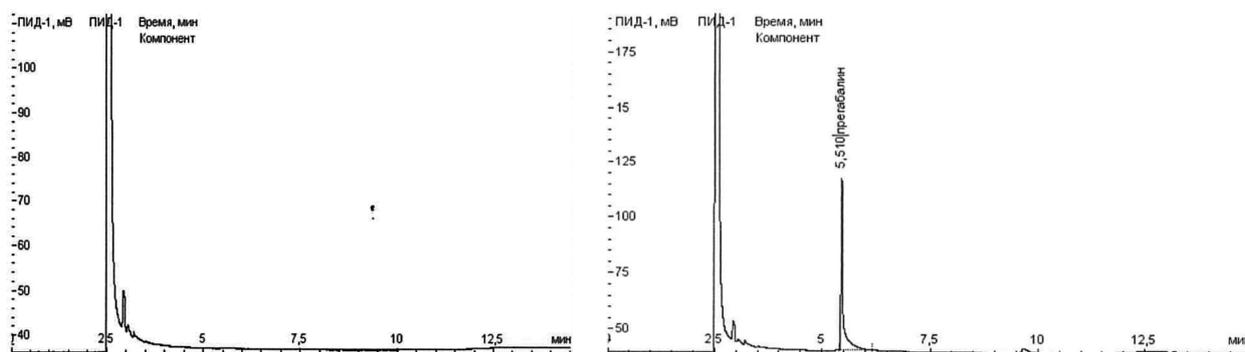


Рис. 1. Хроматограммы экстракта холостой пробы мочи (справа) и экстракта из модельной смеси мочи (слева)

Линейность методики оценивали с помощью модельных смесей мочи с прегабалином 15-120 мкг в пробе и модельных смесей мочи с прегабалином и внутренним стандартом (дифениламином) в тех же концентрациях. Хроматографировали экстракты, полученные после изолирования прегабалина из проб модельных смесей. Определили площади пиков прегабалина и дифениламина, находили соотношение площадей и строили графики зависимости (рис. 2).

Для оценки правильности и прецизионности методики проводили анализ модельных смесей мочи с прегабалином с концентрациями 30, 60 и 90 мкг в пробе в 6 повторностях. Повторяемость (сходимость) оценивали по результатам, полученным в одних условиях в

одной лаборатории (один исполнитель, одно оборудование) в короткий промежуток времени. Для каждого из трёх уровней рассчитывали дисперсию, стандартное отклонение, относительную ошибку. В ходе статистической обработки были получены приемлемые результаты (таблица).

Таблица

Результаты статистической обработки правильности и прецизионности методики определения прегабалина методом ГЖХ (n=6)

Уровни определения, мкг/мл	S <sup>2</sup>	S	S <sub>0</sub> , %	ε, %
30	9,526	3,086	0,043	9,10
60	6,458	2,541	0,017	4,39
90	9,301	4,930	0,022	5,68

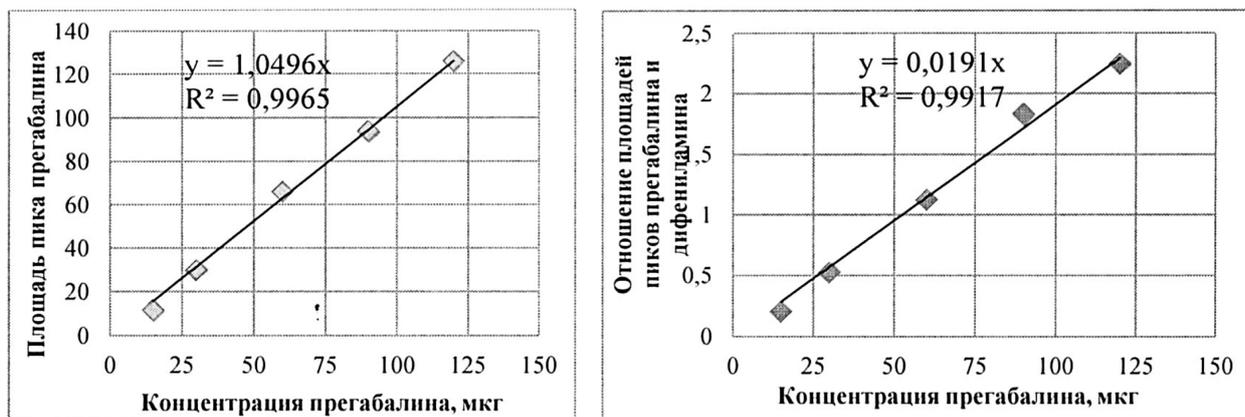


Рис. 2. Градуировочные графики определения прегабалина методом абсолютной градуировки (справа), методом внутреннего стандарта (слева)

Относительные ошибки результатов не превышают 15 %, что свидетельствует о возможности использова-

ния разработанной методики для анализа биологических жидкостей на содержание прегабалина [1].

### Выводы

1. Подобраны оптимальные условия хроматографирования прегабалина методом ГЖХ, установлены его хроматографические параметры (время удерживания), получены графики зависимости площадей пиков от концентраций прегабалина.

2. Предложенные хроматографические условия апробированы на модельных смесях мочи.

3. Проведена валидационная оценка методики определения прегабалина методом ГЖХ по параметрам: специфичность, линейность, правильность, прецизионность (в условиях повторяемости).

### Литература

1. Барсегян С.С. и др. Методические рекомендации по валидации аналитических методик, используемых в судебно-химическом и химикотоксикологическом анализе биологического материала. – М: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2014. – 73 с.

2. Краснов Е.А. Современные хроматографические методы (ГЖХ, ВЭЖХ) в фармацевтическом анализе [Электронный ресурс]: уч. пособие / Е.А. Краснов, А.А. Блиникова. – Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 2006. – 152 с. – Режим доступа: <http://www.studfiles.ru/preview/2245353>.

3. Мохначев С.О. и др. Злоупотребление аптечными препаратами // Человек и лекарство: сборник материалов конгресса. – М: РИЦ «Человек и лекарство», 2011. – 618 с.

4. Пискунов М.В. Случаи зависимости от лекарственного препарата прегабалин («лирика») / М.В. Пискунов, А.Н. Кривенков, Н.Ю. Сорокина // Наркология. – 2012. – № 6. – С. 64-69.

5. Правдюк М.Ф. и др. Разработка методики анализа производных ГАМК в биологических средах человека // Актуальные проблемы фармацевтической науки и практики: сб. науч. тр. / Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова. – Владикавказ, 2014. – С. 301-307.

6. Регистр лекарственных средств России [Электронный ресурс]. Режим доступа: [https://www.iisnet.ru/tn\\_index\\_id\\_55789.htm](https://www.iisnet.ru/tn_index_id_55789.htm).

7. Рохлина М.Л. и др. Злоупотребление прегабалином (лирикой) // Вопросы наркологии. – 2015. – № 3. – С. 9-15.

8. Строков И.А. Лечение невропатической боли при диабетической полиневропатии // Рус. мед. журн. – 2008. – Т. 16, № 28. – С. 1892-1896.

### Literature

1. Barsegyan S.S., et al. Methodical recommendations about validation of the analytical techniques used in the judicial and chemical and chemical and toxicological analysis of biological material. – M: Federal state budgetary institution «Russian Center of Forensic Medical Examination» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2014. – 73 p.

2. Krasnov E.A., et al. Modern chromatographic methods (GZhH, VEZhH) in the pharmaceutical analysis. – Tomsk: Siberian state medical university, 2006. – 152 p. Access Mode: <http://www.studfiles.ru/preview/2245353>.

3. Mokhnachev S.O., et al. Abuse of pharmaceutical drugs // Person and Medicine: collection of materials of the congress / S.O. Mokhnachev, N.N. Usmanova, M.L. Rokhlina. – M: Person and Medicine, 2011. – 618 p.

4. Piskunov M.V., et al. Cases of dependence on medicine pregabalin (lyrics) // Narcology. – 2012. – № 6. – P. 64-69.

5. Pravdyuk M.F., et al. Development of a technique of the analysis of derivative GAMK in biological circles of the person / M.F. Pravdyuk, S.V. Skupnevsky, M.I. Melshin // Current problems of pharmaceutical science and practice // North Ossetian state university of K.L. Khetagurov. – Vladikavkaz, 2014. – P. 301-307.

6. Register of medicines of Russia [Electronic resource]. Access mode: [https://www.rlsnet.ru/tn\\_index\\_id\\_55789.htm](https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_55789.htm).

7. Rokhlina M.L., et al. Abuse pregabalin (lyrics) // Narcology Questions. – 2015. – № 3. – P. 9-15.

8. Stokov I. A. Treatment of neuropathic pain at a diabetic polyneuropathy (polyneuropathies) // Russian medical magazine. – 2008. – Vol. 16, № 28. – P. 1892-1896.

**Координаты для связи с авторами:** Люст Елена Николаевна – канд. фарм. наук, доцент кафедры токсикологической химии Пермской государственной фармацевтической академии; *Ендальцева Ольга Сергеевна* – канд. фарм. наук, старший преподаватель кафедры фармацевтической химии Пермской государственной фармацевтической академии, e-mail: [260578@mail.ru](mailto:260578@mail.ru); *Петухова Наталья Николаевна* – канд. фарм. наук, ассистент кафедры токсикологической химии Пермской государственной фармацевтической академии.

