

Н. В. Горлачук
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

РОЗРОБКА УМОВ ІЗОЛЮВАННЯ ПРЕГАБАЛІНУ ІЗ БІОЛОГІЧНИХ РІДИН

Вступ. Лікарський препарат Прегабалін (торговельні назви: «Габана», «Лірика», «Прегабалін», «Альгерика», «Репліка») знайшов широке застосування в медицині, як протисудомний та анальгетичний засіб. Починаючи з 2008 р. реєструються випадки немедичного застосування препарату, частіше наркозалежними особами, у завищених дозуваннях для отримання схожої з наркотичною дією, «посилення» ефекту наркотичних та інших психоактивних засобів.

Мета дослідження – розробка методики ізолювання та визначення прегабаліну з біологічних рідин методом рідинно-рідинної екстракції, у тому числі для цілей хіміко-токсикологічного аналізу (ХТА).

Методи дослідження. Дослідження виконували з модельними пробами плазми крові та сечі, які містили прегабалін. Під час дослідження крові осаджували попередньо формені елементи з додаванням 10%-го розчину кислоти трихлорацетатної. Екстракційне очищення виконували діетиловим ефіром та екстрагували препарат із біологічних рідин хлороформом за рН середовища 11. Отримані екстракти додатково піддавали ТШХ-очищенню. Прегабалін в елюатах із хроматограм визначали УФ-спектрофотометричним методом.

Результати та їх обговорення. Значення R_f прегабаліну в рухомій фазі – толуол – ацетон – етанол – 25%-й аміак (45 : 45 : 7 : 3) становило $0,64 \pm 0,02$. Найбільш чутливим для виявлення прегабаліну виявився розчин нінгідрину. Межа кількісного визначення (LOD) за використання цього реактиву становить 0,1 мкг препарату в пробі. УФ-спектри елюатів із хроматограм мали максимум світлопоглинання за довжини хвилі 203 ± 2 , а за характером світлопоглинання збігалися з УФ-спектром стандартного розчину прегабаліну в метанольному розчині. Кількісне визначення виконували за $\lambda_{\max}$ 203 нм за рівнянням калібрувального графіка $y = 0,0991x - 0,0696$. Розроблені методики дали змогу виділити із сечі $51,32 \pm 0,85$ % прегабаліну, з плазми крові – $31,27 \pm 0,81$ %.

Висновки. Визначено ефективні умови робопідготовки біологічних рідин методом рідинно-рідинної екстракції прегабаліну. Ці результати мають практичне значення для створення алгоритму токсикологічного дослідження біологічних об'єктів на наявність зазначеного лікарського засобу за летальних інтоксикацій.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хіміко-токсикологічний аналіз; прегабалін; метод рідинно-рідинної екстракції; біологічні рідини.

ВСТУП. Актуальною проблемою сучасного суспільства є вживання наркотичних і психоактивних речовин. За останні роки в Україні та в інших європейських країнах відмічається підвищений попит на так звані аптечні наркотики, зокрема на лікарські засоби – похідні γ -аміномасляної кислоти (ГАМК). Найпопулярніший із них прегабалін.

Перший випадок зловживання препаратом зафіксовано у Швеції у 2008 р., було відзначено зростання застосування прегабаліну з немедициними цілями [1]. У 2010–2022 рр. випадки отруєння описані також у США, Франції, Німеччині та Туреччині [2–4].

Виходячи з клінічного досвіду, лікарі наголошують на можливості формування залежності від прегабаліну, спочатку психічної, а потім і фізичної. Нерідко це пацієнти із хімічною залежністю та депресивними розладами. У разі тривалого вживання препарату у високих

дозах виникає стійка та виражена ейфорія. І це обов'язково призводить до бажання повторного приймання прегабаліну [5].

Цей препарат використовується переважно в неврологічній практиці: у разі невропатичного болю, як додатковий засіб, що призначається хворим із парціальними судомними нападами, за наявності фіброміалгії [6; 7; 8].

Відомі випадки гострих і смертельних отруєнь препаратом, а також комбіновані отруєння препаратами групи антидепресантів, протиепілептичними засобами, похідними бензодіазепіну й іншими засобами. У літературі є повідомлення про отруєння та зловживання суто прегабаліном [9–12]. У зв'язку із цим є потреба у його визначенні в спрямованому хіміко-токсикологічному дослідженні (ХТД).

МЕТА НАШОГО ДОСЛІДЖЕННЯ – розробка методики ізолювання та визначення прегабаліну з біологічних рідин методом

рідинно-рідинної екстракції, для цілей хіміко-токсикологічного аналізу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Під час дослідження використовували прегабалін, виділений із капсул «Габана», що містили 150 мг прегабаліну в капсулі. Для побудови калібрувального графіка готували стандартний розчин (СР) і робочі стандартні розчини (РСР) прегабаліну. 0,02550 г препарату розчиняли в метанолі в мірній колбі місткістю 50,00 мл (отримано СР із концентрацією 500,0 мкг/мл прегабаліну). Для приготування РСР у мірні колби місткістю 10,00 мл вносили по 0,50; 1,00; 2,00; 3,00; 4,00; 5,00; 6,00; 8,00 та 9,00 мл СР і доводили об'єми розчинів до мітки метанолом із такими концентраціями: 25,0; 50,0; 100,0; 150,0; 200,0; 250,0; 300,0; 400,0 та 450,0 мкг/мл відповідно). Вимірювали світлопоглинання отриманих СР і РСР на спектрофотометрі Shimadzu UV-1800 за $\lambda_{\text{max}} = 203$ нм, використовуючи кювету із шаром рідини завтовшки 10 мм. Як розчин порівняння застосовували розчин, отриманий у «сліпому» досліді.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Ідентифікацію прегабаліну в біологічних екстрактах виконували методом ТШХ за величиною R_f , яка в рухомій фазі толуол – ацетон – етанол – 25%-й аміак (45 : 45 : 7 : 3) становила $0,64 \pm 0,02$. Також досліджували УФ-спектри елюатів із хроматограм, які за характером світлопоглинання збігалися з УФ-спектром стандартного розчину прегабаліну в метанолі та мали максимуми світлопоглинання за довжини хвилі 203 ± 2 нм.

Значення світлопоглинання для СР і 9 РСР ($m = 10$; $n = 2$) було оброблено методом лінійної регресії та отримано рівняння калібрувального графіка: $y = 0,0991x - 0,0696$ ($r = 0,9998$; $S_2 = 1,2 \cdot 10^{-4}$).

Ізолювання прегабаліну з плазми крові. До донорської плазми крові з об'ємом 10 мл додавали 2 мл водного розчину прегабаліну, еквівалентного 1000 мкг. Утворену суміш залишили на добу.

До зразків плазми крові, що містив прегабалін, додавали 10 мл розчину трихлороцтової кислоти 10 %, перемішували і 20 хв центрифугували зі швидкістю 3000 об/хв. Надосадову рідину зливали, а органічні домішки екстрагували двічі діетиловим ефіром по 10 мл кожного разу. Органічний шар зливали, водну фазу підлужнювали 30%-м розчином гідроксидом натрію до рН середовища 11, додавали сульфат амонію та екстрагували прегабалін два рази хлороформом кожного разу по 5 мл. Одержані екстракти об'єднували й фільтрували крізь паперовий фільтр з 0,5 г натрію сульфату безводного [13].

Кількісне визначення прегабаліну в екстракті з плазми крові УФ-спектрофотометричним методом. Екстракт, отриманий унаслідок ізолювання прегабаліну з плазми крові, випарювали у фарфоровій чашці на водяній бані за температури, що не перевищувала 40 °С до видалення органічного розчинника, залишок розчиняли в метанолі та знімали спектр поглинання в УФ-області.

УФ-спектр світлопоглинання прегабаліну в метанолі, виділеного з плазми крові, представлено на рис. 1.

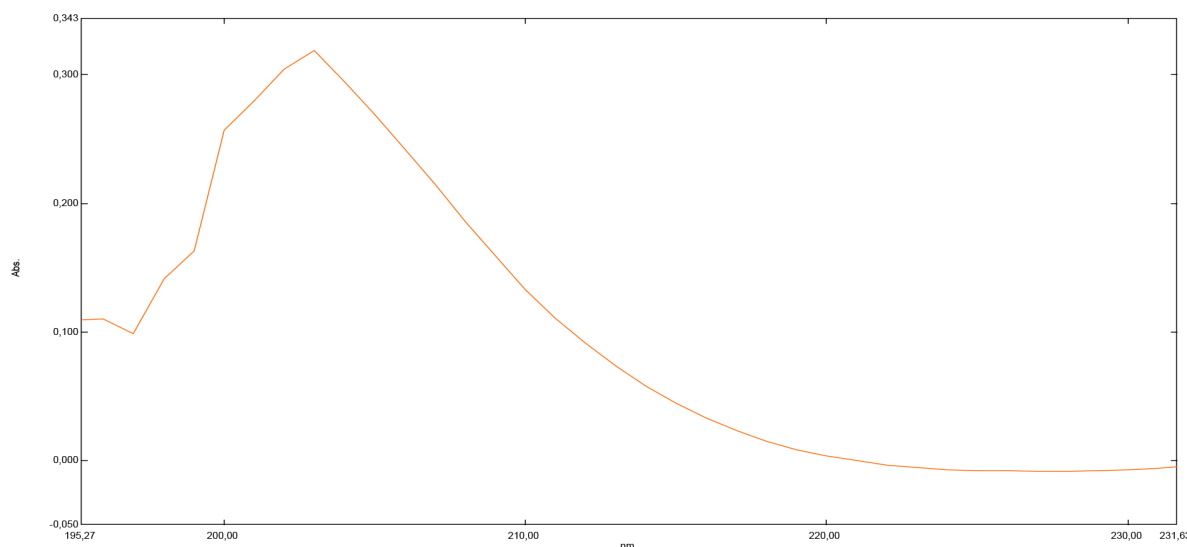


Рис. 1. УФ-спектр світлопоглинання прегабаліну (в метанолі), виділеного із плазми крові

Таблиця 1 – Результати УФ-спектрофотометричного визначення прегабаліну, виділеного з крові

Додано прегабаліну до 10 мл крові, мкг	А	Виділено прегабаліну		Метрологічні характеристики ($n = 5$; $P = 0,95$)
		мкг	%	
1000	0,316	316,2	31,6	$X = 31,27 \%$ $S = 0,655$ $RSD = 2,09 \%$ $S_x = 0,293$ $\Delta X = 0,8132$ $\varepsilon = 2,6 \%$
	0,321	322	32,2	
	0,308	305,4	30,5	
	0,308	309,3	30,9	
	0,312	311,6	31,16	

Ступінь ізолювання прегабаліну з плазми крові, визначений із застосуванням УФ-спектрофотометричного методу, наведено в таблиці 1.

Ізолювання прегабаліну із сечі. Визначення проводили з модельними зразками сечі. До 10 мл сечі людини додавали 2 мл прегабаліну, еквівалентного 1000 мкг. Отриману суміш залишали на добу.

Модельні зразки сечі підкислювали 0,1 М розчином хлоридної кислоти до рН середовища 1–2 та екстрагували органічні домішки діетиловим ефіром по 10 мл двічі. Органічний шар розчинника відкидали, а водну фазу підлужнювали 30%-м розчином гідроксиду натрію до рН 11, додавали розчин сульфату

амонію та екстрагували прегабалін хлороформом по 10 мл два рази [13].

Ідентифікацію і кількісне визначення прегабаліну в отриманому екстракті із сечі проводили методом УФ-спектрофотометрії.

Кількісне визначення прегабаліну в екстракті із сечі УФ-спектрофотометричним методом. Екстракт, отриманий унаслідок ізолювання прегабаліну із сечі, досліджували УФ-спектрофотометричним методом. УФ-спектр прегабаліну в метанолі, виділеного із сечі, представлено на рис. 2.

Як бачимо, за допомогою розроблених методик із сечі можна виділити $51,32 \pm 0,85 \%$ прегабаліну, із плазми крові – $31,27 \pm 0,81 \%$.

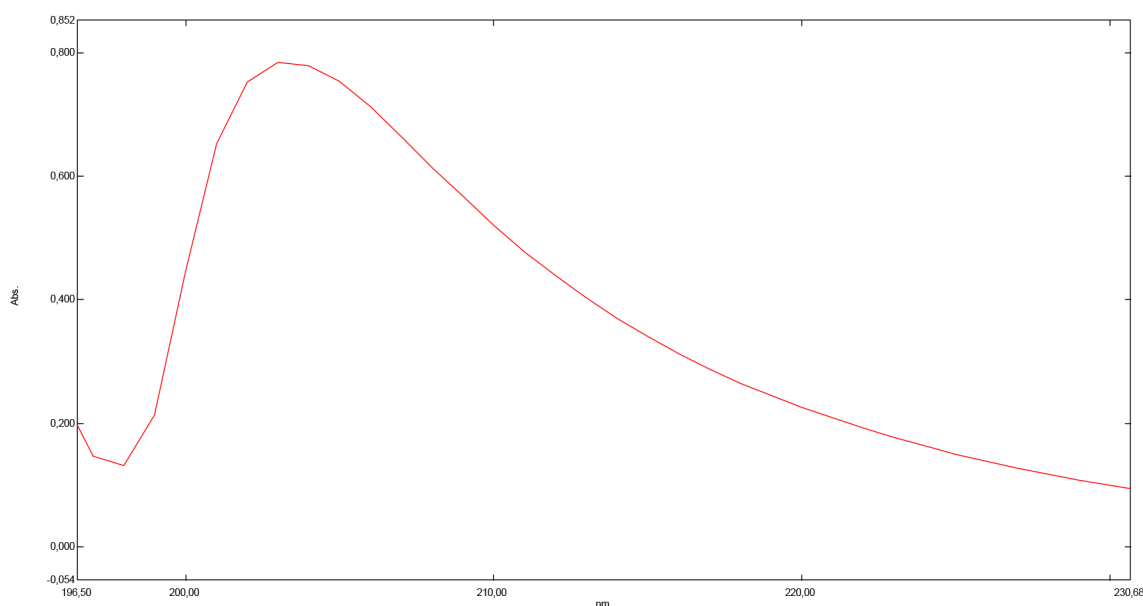


Рис. 2. УФ-спектр світлопоглинання прегабаліну (в метанолі), виділеного із сечі

Таблиця 2 – Результати УФ-спектрофотометричного визначення прегабаліну, виділеного із сечі

Додано прегабаліну до 10 мл сечі, мкг	А	Виділено прегабаліну		Метрологічні характеристики ($n = 5$; $P = 0,95$)
		мкг	%	
1000	0,501	503,2	50,3	$X = 51,32 \%$ $S = 0,6870$ $RSD = 1,34 \%$ $S_x = 0,30725$ $\Delta X = 0,85305$ $\varepsilon = 1,662 \%$
	0,51	518,6	51,9	
	0,504	511,4	51,1	
	0,512	520,3	52	
	0,506	513,1	51,3	

ВИСНОВКИ. Визначено ефективні умови пробопідготовки біологічних рідин методом рідинно-рідинної екстракції прегабаліну. Отримані результати мають практичне

значення для токсикологічного дослідження біологічних об'єктів на наявність зазначеного лікарського засобу в разі летальних інтоксикацій.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Becerra-Bolacos B., Armas-Domínguez L., Valencia L. Pain Prevalence and Satisfaction with Pain Management in Inpatients: A Cross-Sectional Study. *Healthcare (Basel)*. 2023. Vol. 11, No. 24. P. 311–316. DOI: 10.3390/healthcare11243191.
2. Manjushree N., Chakraborty A., Shashidhar K., Narayanaswamy S. A review of the drug pregabalin. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*. 2017. Vol. 4, No. 4. P. 601–605. DOI: 10.18203/2319-2003.ijbcp20150359
3. Nahar L., Murphy K., Paterson S. Toxicological Relevance of Pregabalin in Heroin Users: A Two-Year Postmortem Population Study. *Journal of Analytical Toxicology*. 2022. Vol. 46, No. 5. P. 471–478. DOI: 10.1093/jat/bkab070
4. Shintani-Ishida K., Kawamoto M., Kondo H. Fatal pregabalin poisoning in Japan: A case report. *Legal Medicine (Tokyo)*. 2024. Vol. 71. P. 102–112. DOI: 10.1016/j.legalmed.2024.102522
5. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5486971, Pregabalin. PubChem. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5486971>
6. Дельва М. Ю., Хаустова Є. А., Зайченко А. В. Теорія і практика застосування прегабаліну: погляд невролога, психіатра та клінічного фармаколога. *Неврологія і нейрохірургія. Східна Європа*. 2020. Т. 10, № 4. С. 69–74. DOI: 10.1126/science.288.5472.1769.
7. Henderson J., Piquette-Miller M. Blood-brain barrier: An impediment to neuropharmaceuticals. *Clinical*

- Pharmacology & Therapeutics*. 2015. Vol. 97, No. 4. P. 308–313. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2009.05.059
8. Morrison E. A., Sandilands D. J., Webb D. P. Gabapentin and pregabalin: do the benefits outweigh the harms. *Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*. 2017. Vol. 47, No. 4. P. 310–313. DOI: 10.4997/jrcpe.2017.402
9. Zhang Z. et al. Pregabalin mitigates microglial activation and neuronal injury by inhibiting HMGB1 signaling pathway in radiation-induced brain injury. *Journal of Neuroinflammation*. 2022. Vol. 19, No. 1. P. 61–65. DOI: 10.1186/s12974-022-02596-7
10. Rietjens S. J., Sikma M. A., Hunault C. C. Pregabalin poisoning: Evaluation of dose-toxicity relationship. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2022. Vol. 88, No. 3. P. 1288–1297.
11. Almontashiri N., AL Farga A. Determining the Toxicological Significance of Pregabalin in Fatalities. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*. 2020. Vol. 30, No. 3. P. 284–290. DOI: 10.26717/BJSTR.2020.30.004962
12. Sastre C., Baillif-Couniou V., Fabresse N. Pregabalin misuse: About seven cases of death in the region of Marseille. *Journal of Analytical and Clinical Toxicology*. 2021. Vol. 30, No. 3. P. 234–239. DOI: 10.1016/toxac.2021.12.006.
13. Карпушина С. А., Баярка С. В., Галькевич І. Й., Іглицька С. І., Алтухов О. О., Билов І. Є. Розробка умов ізолювання антидепресанту пароксетину з біологічних рідин. *Вісник фармації*. 2024. Т. 107, № 1. С. 119–124.

REFERENCES

1. Becerra-Bolacos B., Armas-Domínguez A., Valencia, L. (2023). Pain Prevalence and Satisfaction with Pain Management in Inpatients: Cross-Sectional Study *Healthcare (Basel)*, 11 (24), 311–316.
2. Manjushree, N., Chakraborty, A., Shashidhar, K., Narayanaswamy, S. (2017). Review of the drug pregabalin. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 4 (4), 601–605.
3. Nahar, L., Murphy, K., Paterson, S. (2022). Toxicological Relevance of Pregabalin in Heroin Users: A Two-Year Postmortem Population Study. *Journal of Analytical Toxicology*, 46 (5), 471–478.
4. Shintani-Ishida, K., Kawamoto, M., Kondo, H. (2024). Fatal pregabalin poisoning in Japan: A case report *Legal Medicine (Tokyo)*, 1 (71), 102–112. DOI: 10.1016/j.legalmed.2024.102522
5. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5486971,

Pregabalin. PubChem.: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5486971>

6. Delva, M. Yu., Khaustova, Ye. A., Zaichenko, A. V. (2020). Teoriia i praktyka zastosuvannia prehabalinu: pohliad nevroloha, psykhiatra ta klinichnoho farmakoloha. *Nevrolohiia i neirokhirurhiia. Skhidna Yevropa*, 10 (4), 69–74 [in Ukrainian].
7. Henderson, J., Piquette-Miller, M. (2015). Blood-brain barrier: An impediment to neuropharmaceuticals. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 97 (4), 308–313.
8. Morrison, E. A., Sandilands, D. J., Webb, D. O. (2017). Gabapentin and pregabalin: do the benefits outweigh the harms. *Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*, 47 (4), 310–313.
9. Zhang, Z. (2022). Pregabalin mitigates microglial activation and neuronal injury by inhibiting HMGB1 signaling pathway in radiation-induced brain injury. *Journal of Neuroinflammation*, 19 (1), 124–130.

10. Rietjens, S. J., Sikma, M. A., Hunault, C. C. (2022). Pregabalin poisoning: Evaluation of dose-toxicity relationship. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 88 (3), 1288–1297.

11. Almontashiri, N. (2020). Determining the Toxicological Significance of Pregabalin in Fatalities. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 30 (3), 23449–23452.

12. Sastre, C., Baillif-Couniou, V., Fabresse, N. (2021). Pregabalin misuse: About seven cases of death in the region of Marseille. *Journal of Analytical and Clinical Toxicology*, 30 (3), 234–239.

13. Karpushyna, S. A., Baiurka, S. V., Halkevych, I. Y., Ihlitska, S. I., Altukhov, O. O., Bylov, I. Ye. (2024). Rozrobka umov izoliuvannia antydepresantu paroksetynu z biolohichnykh. *Visnyk farmatsii*, 107 (1), 119–124.

Адреса для листування: horlachuk@tdmu.edu.ua

N. V. Horlachuk

I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY
OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

DEVELOPMENT OF CONDITIONS FOR ISOLATION OF PREGABALIN FROM BIOLOGICAL FLUIDS

Summary

Introduction. The drug Pregabalin (trade names: “Lyrica®”, “Pregabalin”, “Algerica”, “Replica”) has found wide application in Medicine as an anticonvulsant and analgesic. Since 2008, cases of non-medical use of the drug have been registered, most often by drug addicts, in high dosages to obtain a drug-like effect, to “enhance” the effect of narcotic and other psychoactive drugs, as well as to eliminate withdrawal syndrome after stopping taking drugs.

The aim of the study was to develop a method for isolating and determining pregabalin from biological fluids by liquid-liquid extraction, including for the purposes of chemical-toxicological analysis (CTA).

Research methods. The study was performed with model blood and urine samples containing pregabalin. During the blood study, the formed elements were pre-precipitated by adding 10 % trichloroacetic acid solution. Extractive purification was performed with hexane at pH 1 and the drug was extracted from biological fluids with chloroform at pH 8. The obtained extracts were additionally subjected to TLC purification. Pregabalin in eluates from chromatograms was determined by UV spectrophotometric method.

Results and their discussion. The R_f value of pregabalin in the mobile phase – toluene – acetone – ethanol – 25 % ammonia (45 : 45 : 7 : 3) was 0.64 ± 0.02 . Ninhydrin was the most sensitive for the detection of pregabalin. The limit of quantification (LOD) when using this reagent is $0.1 \mu\text{g}$ of the drug in the sample. The UV spectra of the eluates from the chromatograms had maximum light absorption at a wavelength of 203 ± 2 , and the nature of the light absorption coincided with the UV spectrum of the standard solution of pregabalin in methanol solution. Quantitative determination was performed at λ_{max} 203 nm according to the equation of the calibration graph $y = 0.0991x - 0.0696$. The developed methods allowed to isolate 51.32 ± 0.85 % of pregabalin from urine, from blood plasma – 31.27 ± 0.81 %.

Conclusions. Effective conditions for sample preparation of biological fluids by the method of liquid-liquid extraction for pregabalin have been determined. The results obtained are of practical importance for creating an algorithm for toxicological examination of biological objects for the presence of the specified drug in case of lethal intoxications.

KEY WORDS: chemical-toxicological analysis; pregabalin; liquid-liquid extraction method; biological materials.

Стаття надійшла до редакції 15.09.2025

Стаття прийнята 30.09.2025

Статтю опубліковано 24.10.2025

