**Прегабалин ФС**

**Прегабалин**

**Pregabalinum Вводится впервые**

(3*S*)-3-(Аминометил)-5-метилгексановая кислота



|  |  |
| --- | --- |
| C8H17NO2 | М.м. 159,23 |

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % прегабалина C8H17NO2 в пересчёте на сухое вещество.

**Описание**. Белый или почти белый кристаллический порошок.

**Растворимость**. Умеренно растворим в воде, мало растворим или очень мало растворим в метаноле, практически не растворим в ацетонитриле.

**Подлинность**

*1.**ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в инфракрасной области»). Инфракрасный спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом, в области от 4000 до 400 см-1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца прегабалина.

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика прегабалина на хроматограмме раствора стандартного образца прегабалина (раздел «Количественное определение»).

**Родственные примеси**.

***Примесь В (энантиомерная чистота).***

Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Раствор триэтиламина.* В химический стакан вместимостью 1 л помещают 10,0 мл триэтиламина, растворяют в 950 мл воды и доводят рН раствора фосфорной кислотой концентрированной до 3,00±0,05. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор Nα-(2,4-Динитро-5-фторфенил)-L-аланиламида.* В мерную колбу вместимостью 2 мл помещают 10 мг Nα-(2,4-Динитро-5-фторфенил)-L-аланиламида, растворяют в ацетонитриле и доводят объем раствора ацетонитрилом до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Ацетонитрил—раствор триэтиламина 38:62.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 20,0 мг субстанции, растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. Далее проводят дериватизацию.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимость 20 мл помещают 2 мг стандартного образца прегабалина примеси В, растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объем раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 20 мг стандартного образца прегабалина, прибавляют 1,0 мл полученного раствора, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки. Далее проводят дериватизацию.

*Дериватизация*. В виалу для хроматографии помещают 0,5 мл полученного раствора, прибавляют 0,5 мл раствора Nα-(2,4-Динитро-5-фторфенил)-L-аланиламида и 50 мкл натрия гидрокарбоната раствора 8,4 %. Виалу закрывают и термостатируют при 40 °С в течение 1 ч при постоянном перемешивании. К полученному раствору прибавляют 50 мкл хлористоводородной кислоты раствора 1 М и перемешивают. К 0,2 мл полученного раствора прибавляют 0,8 мл ПФ.

Примечание.

Примесь В: (3*R*)-3-(Аминометил)-5-метилгексановая кислота, CAS 148553-51-9.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 2,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 340 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |
| Время хроматографирования | 2,5-кратное от времени удерживания пика прегабалина |

Хроматографируют стандартный и испытуемый растворы после дериватизации.

*Относительное время удерживания соединений.* Прегабалин ˗ 1 (около 10 мин), примесь В ˗ около 1,3.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме стандартного раствора:

– *разрешение (RS)* между пиками прегабалина и примеси В должно быть не менее 4,4;

– *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика примеси В должно быть не менее 10;

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) примеси В должен быть не менее 0,8 и не более 1,5.

Содержание примеси В вычисляют согласно методу нормирования.

*Допустимое содержание примесей:*

˗ примесь В – не более 0,15 %.

***Другие примеси.***

***Метод 1. Примеси, элюирующиеся до прегабалина.***

Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Буферный раствор.* В химический стакан вместимостью 1 л помещают 3,4 г калия дигидрофосфата, растворяют в 900 мл воды и доводят рН раствора аммиака раствором концентрированным 25 % до 6,30±0,05. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Метанол—буферный раствор 15:85.

*Испытуемый раствор.* Около 0,1 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в ПФ и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца прегабалина (А).* Около 0,1 г (точная навеска) стандартного образца прегабалина помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в ПФ и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца прегабалина (Б).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца прегабалина и доводят объем раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объем раствора ПФ до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* Около 5 мг DL-миндальной кислоты (примесь С) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в ПФ и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 0,5 мл полученного раствора и доводят объем раствора испытуемым раствором до метки.

Примечание.

Примесь С: (*RS*)-Гидрокси(фенил)уксусная кислота (DL–миндальная кислота), CAS: 90-64-2.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, совместимый с водной подвижной фазой, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 210 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |
| Время хроматографирования | 13 мин |

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор стандартного образца прегабалина (Б) и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Прегабалин ˗ 1 (около 10 мин), примесь С ˗ около 0,6.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

– *разрешение (RS)* между пиками прегабалина и примеси С должно быть не менее 5,0;

– *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика примеси C должно быть не менее 10;

- *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) прегабалина должен быть не менее 0,8 и не более 1,5.

Содержание каждой из примесей в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙10∙1∙1∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙10∙10∙100}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙1000}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика прегабалина на хроматограмме раствора стандартного образца прегабалина (Б); |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца прегабалина, мг; |
|  | *P* | – | содержание прегабалина в стандартном образце прегабалина, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

˗ любой примеси ˗ не более 0,1 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

***Метод 2. Примеси, элюирующиеся после прегабалина.***

Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Буферный раствор.* В химический стакан вместимостью 1 л помещают 3,4 г калия дигидрофосфата, растворяют в 900 мл воды и доводят рН раствора аммиака раствором концентрированным 25 % до 6,30±0,05. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Буферный раствор—метанол 45:55.

*Испытуемый раствор.* Около 0,1 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в ПФ и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца прегабалина.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца прегабалина (А) (метод 1) и доводят объем раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объем раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца прегабалина примеси D.* Около 2,5 мг (точная навеска) стандартного образца прегабалина примеси D помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в ПФ и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* Содержимое флакона стандартного образца прегабалина примеси А, содержащий около 0,25 мг примеси А, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в ПФ, прибавляют 1,0 мл раствора стандартного образца прегабалина примеси D и доводят объем раствора ПФ до метки.

Примечание.

Примесь А: (4*S*)-4-(2-Метилпропил)пирролидин-2-он, CAS 181289-23-6;

примесь D: (Пропан-2-ил)[(*RS*)-гидрокси(фенил)ацетат], CAS 4118-51-8.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, совместимый с водной подвижной фазой, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 210 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 4-кратное от времени удерживания пика прегабалина. |

Хроматографируют стандартный раствор, раствор стандартного образца прегабалина и испытуемый раствор.

*Идентификация примесей.* Хроматограмма стандартного раствора используется для идентификации пиков примесей А и D.

*Относительное время удерживания соединений.* Прегабалин ˗ 1 (около 4 мин), примесь А – около 2,4, примесь D – около 3,0.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме стандартного раствора:

– *разрешение (RS)* между пиками примеси А и примеси D должно быть не менее 3,5;

– *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика примеси A должно быть не менее 10;

– *фактор асимметрии* *пика* (*AS*) примеси A должен быть не менее 0,8 и не более 1,5.

Содержание примеси А в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙m∙10∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙50}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙20}{S\_{0}∙a\_{1}}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика примеси А на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика примеси А на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *m* | – | масса примеси А в стандартном образце примеси А, мг. |

Содержание примеси D в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙10∙1∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙10∙50}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙2}{S\_{0}∙a\_{1}}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика примеси D на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика примеси D на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца примеси D, мг. |

Содержание любой другой примеси в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙10∙1∙1∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙10∙10∙100}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙1000}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика прегабалина на хроматограмме раствора стандартного образца прегабалина; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца прегабалина, мг; |
|  | *Р* | – | содержание прегабалина в стандартном образце прегабалина, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

˗ примесь А – не более 0,15 %;

˗ примесь D – не более 0,10 %;

˗ любая другая примесь – не более 0,10 %.

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора стандартного образца прегабалина (менее 0,05 %).

Суммарное содержание примесей (по методу 1 и методу 2) – не более 0,5 %.

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 0,5 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Для определения используют около 1 г (точная навеска) субстанции.

**Сульфатная зола.** Не более 0,1 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют около 1,0 г (точная навеска) субстанции.

**Тяжелые металлы.** Не более 0,001%. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

**Остаточные органические растворители.** В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

**Микробиологическая чистота.** В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси. Другие примеси. Метод 1».

Хроматографируют раствор стандартного образца прегабалина (А) и испытуемый раствор.

Содержание прегабалина C8H17NO2 в субстанции в процентах ($X$) в пересчёте на сухое вещество вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙10∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙10∙(100-W)}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙(100-W)}$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика прегабалина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика прегабалина на хроматограмме раствора стандартного образца прегабалина (А); |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска стандартного образца прегабалина, мг; |
|  | *W* | – | потеря в массе при высушивании, %; |
|  | *P* | – | содержание прегабалина в стандартном образце прегабалина, %. |

**Хранение**. В защищенном от света месте.