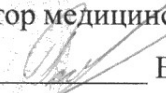


УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного
унитарного предприятия «Научно-
исследовательский институт гигиены,
профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического
агентства

доктор медицинских наук, профессор

 В.Р. Рембовский

« » _____ 2017 г.

Заключение

по результатам исследования образца препарата «Hypercut»

Цель проведения исследований: установление подлинности фармпрепарата «Hypercut».

Образцы предоставлены: Envenom Pharm.

Объект исследования: лекарственная форма – капсулы

Определяемые компоненты: L-карнитин ((3R)-3-гидрокси-4-триметиламмоний-бутаноат), пиперин (биоперин, 1 - пиперилпиперидин), иохимбин (метилловый эфир 17 α -гидрокси-иохимбан-16 α -карбоновой кислоты), синефрин (4-[1-гидрокси-2-(метиламино)этил]фенол), ДМАА (метилгексанамины).

Метод исследований: высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием в режиме высокого разрешения.

Средства измерений: ВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения фирмы «Thermo Scientific» (США), хроматограф модель DionexUltiMate 3000 и масс-спектрометр Q Exactive (электроспрей HESI – II в режиме положительной ионизации)

Краткая характеристика образца, представленного на анализ

Торговое название препарата: «Hypercut». Лекарственная форма – капсулы Внешний вид препарата: порошок в капсуле зеленого цвета.

Активные компоненты:

1) L-карнитин ((3R)-3-гидрокси-4-триметиламмоний-бутаноат), брутто-формула: $C_7H_{15}NO_3$.

2) Пиперин (биоперин, 1 - пиперилпиперидин), брутто-формула $C_{17}H_{19}NO_3$.

3) Иохимбин (метилловый эфир 17 α -гидрокси-иохимбан-16 α - карбоновой кислоты), брутто-формула $C_{21}H_{26}N_2O_3$.

- 4) Синефрин (4-[1-гидрокси-2-(метиламино) этил]фенол), брутто-формула $C_9H_{13}NO_2$.
5) ДМАА (метилгексанамин). брутто-формула $C_7H_{17}N$.

Подготовка образца к ВЭЖХ анализу

Капсулу растворяли в 5 мл метанола (чистый для ВЭЖХ). Приготовленный раствор разбавляли метанолом в 100 раз и анализировали 5 мкл методом ВЭЖХ-МС высокого разрешения.

Оборудование и условия проведения ВЭЖХ-МС анализа

Жидкостный хроматограф UltiMate 3000, с масс-селективным детектором Q Exactive. Режим ионизации: ионизация электрораспылением. Хроматограф оборудован колонкой Zorbax SB-C8 длиной 15 см, внутренним диаметром 4,6 мм, с размером частиц 1,8 мкм. Режим элюирования градиентный: элюент А - 0,1% раствор муравьиной кислоты в воде, элюент Б – ацетонитрил, соотношения компонентов подвижной фазы представлены в таблице 1. Объемная скорость подвижной фазы через колонку – 0.4мл/мин. Температура термостата колонки 35 °С. Объем вводимой пробы для анализа 5 мкл.

Таблица 1 – Соотношения компонентов подвижной фазы

Время	% Б
0	10
5	10
20	90
40	90
40,1	10
45	10

Условия работы масс-селективного детектора: поток газа-осушителя 45 у.е. Поток вспомогательного газа 12 у.е. Давление на распылителе 35 psi. Температура газа-осушителя 350 °С. Температура вспомогательного потока 400°С. Напряжение на капилляре 3500В. Детектирование в режиме сканирования по полному ионному току (SCAN): регистрация ионов в диапазоне m/z от 100 до 1500 в положительной ионизации.

Идентификация компонентов образца препарата методом ВЭЖХ-МС высокого разрешения

Идентификацию компонентов проводили по точной массе соответствующего протонированного молекулярного иона $[M+H]^+$.

Идентификация L-карнитина

На рисунке 1 приведена масс-хроматограмма и масс-спектр, полученные при анализе раствора образца препарата «Нуперкут» методом ВЭЖХ-МС реконструированная по точной массе L-карнитина $[M+H]^+$ – 162,11247.

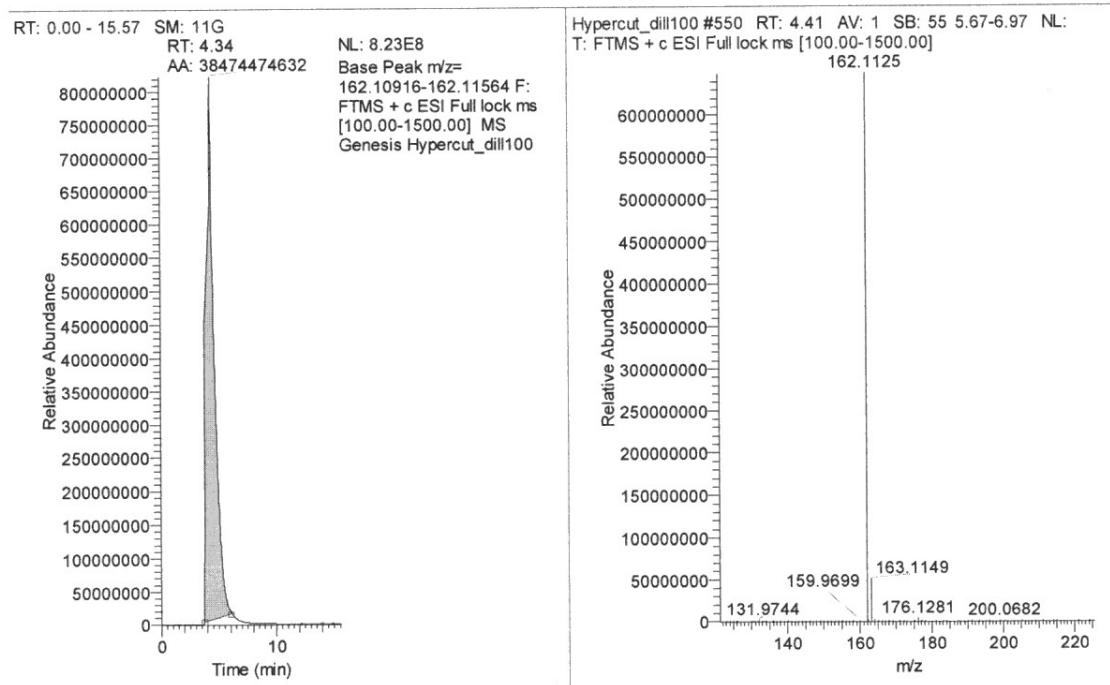


Рисунок 1– Масс-спектр и масс-хроматограмма раствора образца препарата «Hypercut» реконструированная по точной массе L-карнитина $[M+H]^+$ – 162,11247

Хроматографический пик с временем удерживания 4,34 мин соответствует определяемому соединению. Экспериментально зарегистрированная масса 162,1125 отклонение от теоретической составляет менее 0.1 ppm. Ошибка измерения точной массы и элементного состава иона (отличие измеренной массы от расчетной) < 5 ppm, что свидетельствует о достоверной идентификации.

Идентификация пиперина

На рисунке 2 приведена масс-хроматограмма и масс-спектр, полученные при анализе раствора образца препарата методом ВЭЖХ-МС реконструированная по точной массе пиперина $[M+H]^+$ – 286,1437.

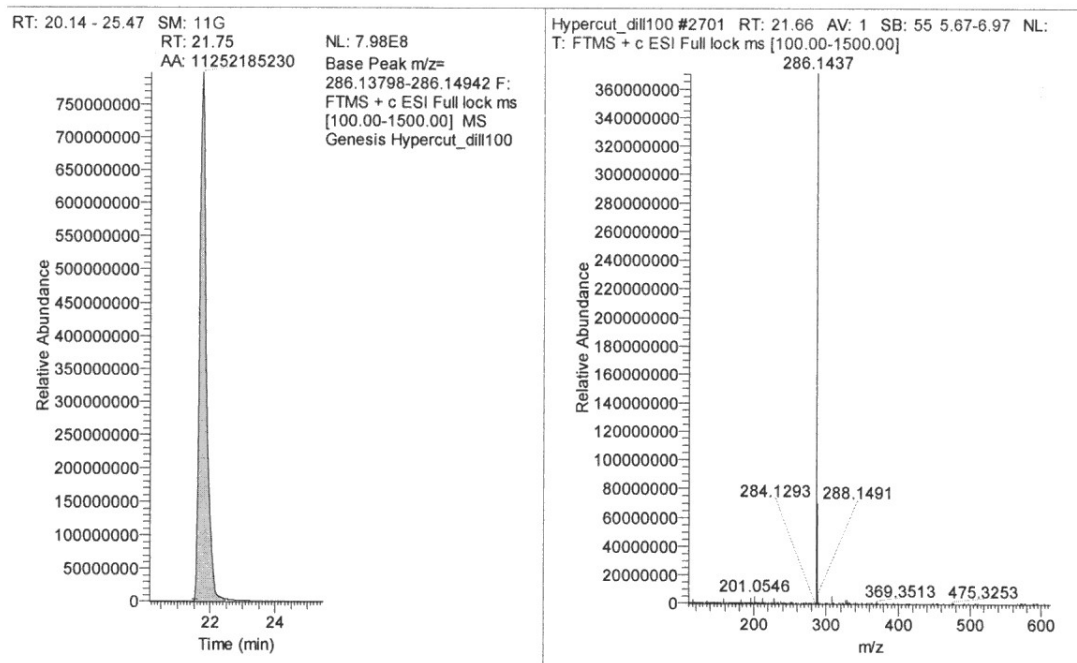


Рисунок 2 – Масс-спектр и масс-хроматограмма раствора образца препарата «Hypercut» реконструированная по точной массе пиперина $[M+H]^+$ – 286,1437

Хроматографический пик с временем удерживания 21,75 мин соответствует определяемому соединению. Экспериментально зарегистрированная масса - 286,1437, отклонение от теоретической составляет менее 0.1 ppm. Ошибка измерения точной массы и элементного состава иона (отличие измеренной массы от расчетной) < 5 ppm, что свидетельствует о достоверной идентификации.

Идентификация иохимбина

На рисунке 3 приведена масс-хроматограмма и масс-спектр, полученные при анализе раствора образца препарата «Hypercut» методом ВЭЖХ-МС реконструированная по точной массе иохимбина $[M+H]^+$ – 355,201.

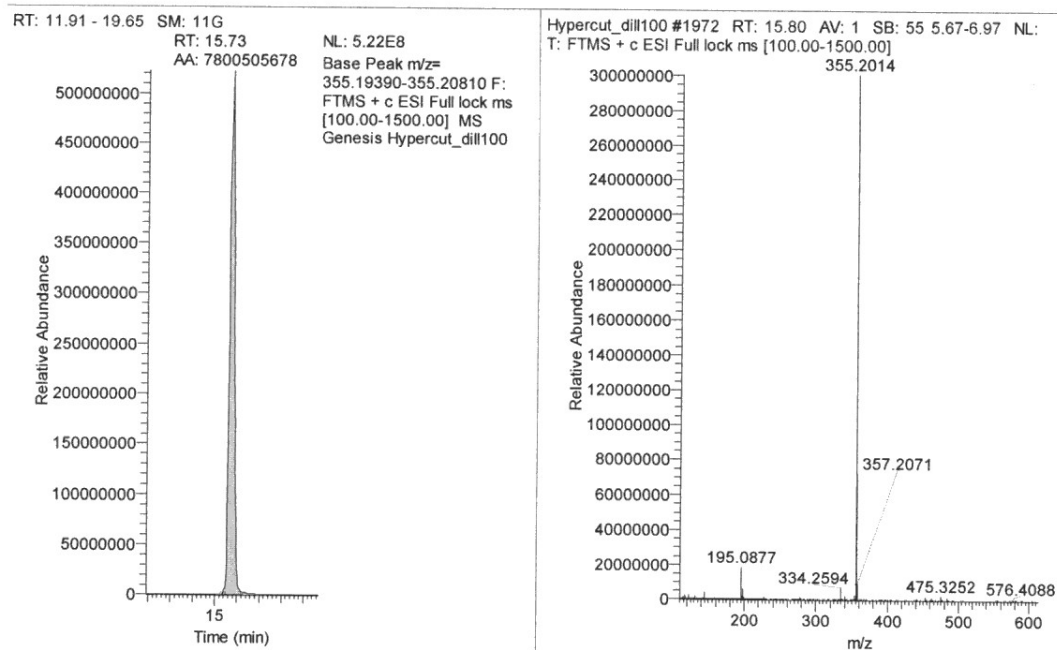


Рисунок 3 – Масс-спектр и масс-хроматограмма раствора образца препарата «Hypercut» реконструированная по точной массе иохимбина $[M+H]^+$ – 355,201

Хроматографический пик с временем удерживания 15,73 мин соответствует определяемому соединению. Экспериментально зарегистрированная масса 355,2014 отклонение от теоретической составляет менее 0.1 ppm. Ошибка измерения точной массы и элементного состава иона (отличие измеренной массы от расчетной) < 5 ppm, что свидетельствует о достоверной идентификации.

Идентификация синефрина

На рисунке 4 приведена масс-хроматограмма и масс-спектр, полученные при анализе раствора образца препарата «Hypercut» методом ВЭЖХ-МС реконструированная по точной массе синефрина $[M+H]^+$ – 168,1019.

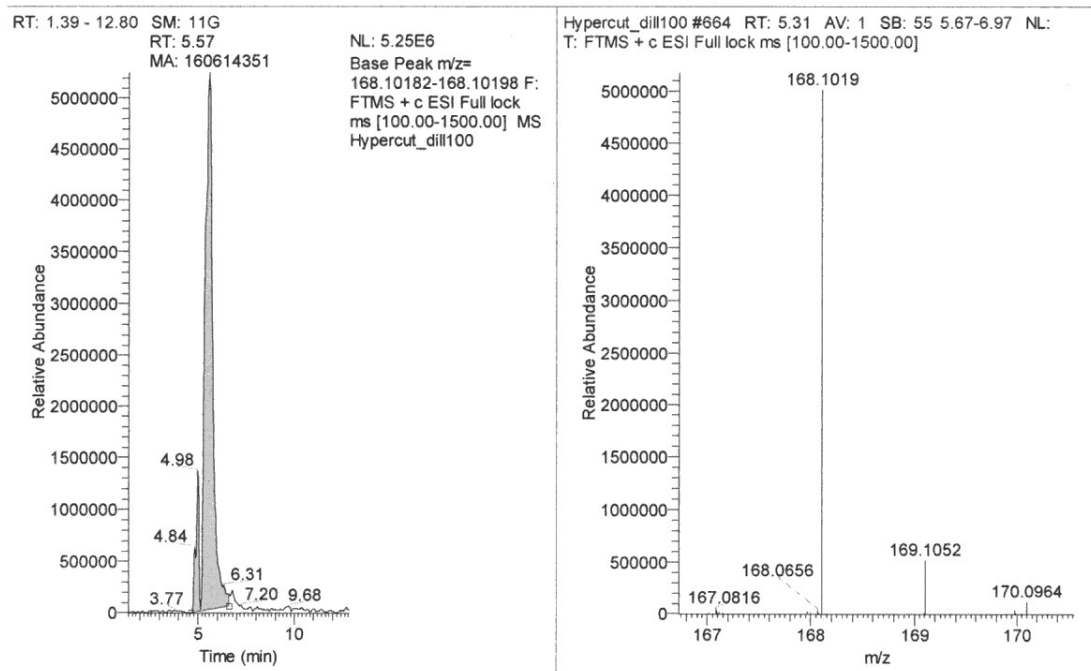


Рисунок 4 – Масс-спектр и масс-хроматограмма раствора образца препарата «Hypercut» реконструированная по точной массе синефрина $[M+H]^+ - 168,1019$

Хроматографический пик с временем удерживания 5,57 мин соответствует определяемому соединению. Экспериментально зарегистрированная масса 168,1019 отклонение от теоретической составляет менее 0.1 ppm. Ошибка измерения точной массы и элементного состава иона (отличие измеренной массы от расчетной) < 5 ppm, что свидетельствует о достоверной идентификации.

Идентификация ДМАА

На рисунке 5 приведена масс-хроматограмма и масс-спектр, полученные при анализе раствора образца препарата «Hypercut» методом ВЭЖХ-МС реконструированная по точной массе ДМАА $[M+H]^+ - 116,1433$.

