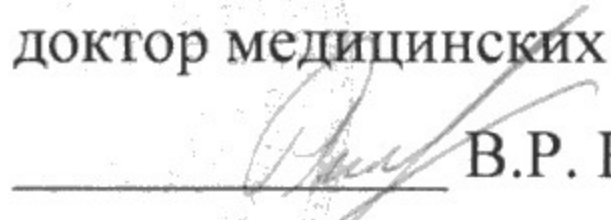


УТВЕРЖДАЮ

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 «Tren»

Цель проведения исследований: установление подлинности фармпрепарата «Tren»

Образцы предоставлены: Envenom Pharm

Объект исследования: лекарственная форма – капсулы

Определяемые компоненты: аримистан (андрост-3,5-диен-7,17-дион), эпистан (2 α ,3 α -эпителио-17 α -метил-17 β -гидрокси-5 α -андростан).

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: «Tren». Лекарственная форма – капсулы. Внешний вид препарата: порошок в капсуле белого цвета.

Активные компоненты:

- 1) Аримистан (андрост-3,5-диен-7,17-дион), брутто-формула $C_{19}H_{24}O_2$.
- 2) Эпистан (2 α ,3 α -эпителио-17 α -метил-17 β -гидрокси-5 α -андростан), брутто-формула $C_{19}H_{24}O_2$.

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, условия режима элюирования 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 – Условия режима элюирования

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 аримистана

На рисунке 1 приведена масс-хроматограмма и масс-спектр, полученные при анализе раствора образца препарата методом ВЭЖХ-МС реконструированная по точной массе аримистана $[M+H]^+ - 285,1849$.

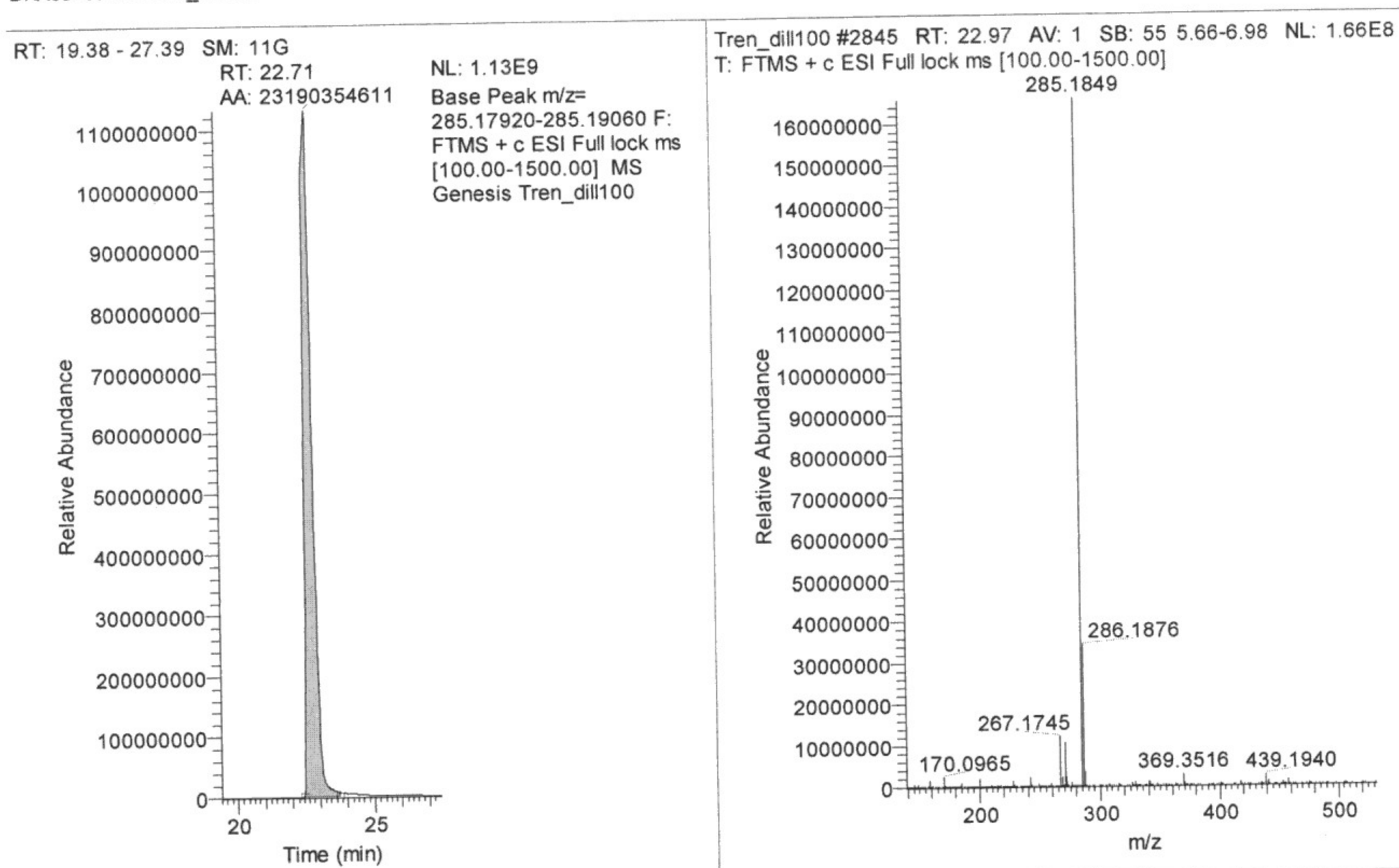


Рисунок 1 – Масс-спектр и масс-хроматограмма раствора образца препарата «Tren» реконструированная по точной массе аримистана $[M+H]^+ - 285,1849$

Хроматографический пик с временем удерживания 22,71 мин соответствует определяемому соединению. Экспериментально зарегистрированная масса 285.1849, отклонение от теоретической составляет менее 0.1 ppm. Ошибка измерения точной массы и элементного состава иона (отличие измеренной массы от расчетной) < 5 ppm, таким образом идентификация является достоверной.

Идентификация эпистана

На рисунке 2 приведена масс-хроматограмма и масс-спектр, полученные при анализе раствора образца препарата методом ВЭЖХ-МС реконструированная по точной массе эпистана $[M+H]^+ - 321,2246$.

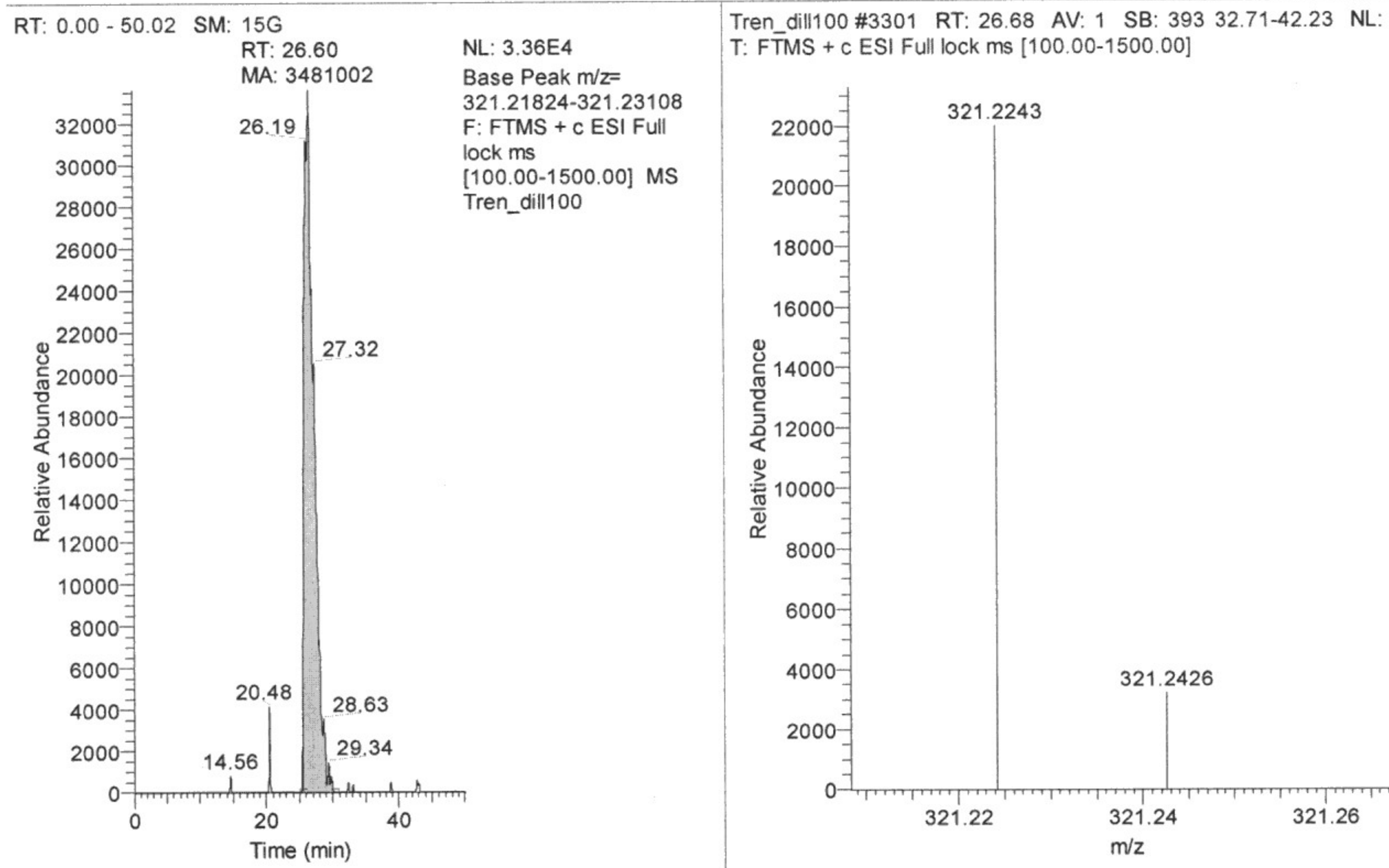


Рисунок 2 – Масс-спектр и масс-хроматограмма раствора образца препарата «Трен» реконструированная по точной массе эпистана $[M+H]^+$ –321,2246

Хроматографический пик с временем удерживания 26,6 мин соответствует определяемому соединению. Экспериментально зарегистрированная масса 321,2243 отклонение от теоретической составляет менее 0.1 ppm. Ошибка измерения точной массы и элементного состава иона (отличие измеренной массы от расчетной) < 5 ppm, идентификация является достоверной.

Заключение

В результате проведенных исследований было подтверждено, что в представленном на исследование образце препарата «Трен» содержатся следующие действующие вещества: аримистан (андрост-3,5-диен-7,17-дион), эпистан (2 α ,3 α -эпитио-17 α -метил-17 β -гидрокси-5 α -андростан).

Руководитель работ
ведущий научный сотрудник,
кандидат биологических наук

/Каракашев Г.В./