

УТВЕРЖДАЮ

Начальник лаборатории химико-аналитического контроля и биотестирования  
ФГУП «Научно-исследовательский институт  
гигиены, профпатологии и экологии человека»  
Федерального медико-биологического  
агентства, доктор химических наук



*Е.И. Савельева*

Е.И. Савельева

«22» мая 2015 г.

### Заключение

по результатам исследования образца препарата «ИБУТАМОРЕН»

*Образцы предоставлены:* Envenom Pharm

*Цель проведения исследований:* идентификация и определение действующего начала в образце препарата «Ибутаморен».

*Объект исследования:* лекарственная форма – капсулы

*Определяемый компонент:* R-1'-(2-метилаланил-O-бензил-D-серил)-1-метилсульфонил-1,2-дигидроспироиндол-3,4'-пиперидин

*Дата поступления образца на исследование:* 12.05.2015

*Метод исследований:* высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым детектированием (ВЭЖХ-УФ) и высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемным масс-селективным детектированием в режиме высокого разрешения (ВЭЖХ-МС/МС).

*Средства измерений:*

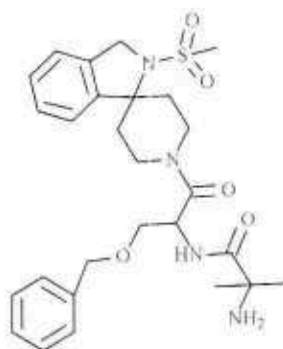
- жидкостной хроматограф LC-20 Prominence фирмы «Шимадзу» (Япония) с ультрафиолетовым детектором Prominence SPD-M20A.
- жидкостной хроматограф Ultimate 3000, с масс-селективным детектором Q-Exactive с орбитальной ионной ловушкой (Orbitrap).

*Метод измерений:* идентификацию R-1'-(2-метилаланил-O-бензил-D-серил)-1-метилсульфонил-1,2-дигидроспироиндол-3,4'-пиперидина проводили методом ВЭЖХ-МС; определение содержания R-1'-(2-метилаланил-O-бензил-D-серил)-1-метилсульфонил-1,2-дигидроспироиндол-3,4'-пиперидина в образце препарата «Ибутаморен» методом ВЭЖХ-УФ.

## Краткая характеристика образца, представленного на анализ

Торговое название препарата: «Ибутаморен». Синонимы: «Ibutamoren», МК-677, L-163,191. Лекарственная форма – капсулы, содержащие 25 мг активного компонента. Активным компонентом является вещество с химическим названием *R*-1'-(2-метилаланил-*O*-бензил-*D*-серил)-1-метилсульфонил-1,2-дигидроспироиндол-3,4'-пиперидин. Брутто-формула:  $C_{27}H_{36}N_4O_5S$ . Внешний вид препарата: порошок в двухцветной, желто-белой капсуле.

Структурная формула активного компонента:



### Подготовка образца к ВЭЖХ анализу

Навеску образца массой 10 мг растворяли в 1 мл ацетонитрила (чистый для ВЭЖХ). 10 мкл полученного раствора анализировали методом ВЭЖХ-УФ.

Для ВЭЖХ-МС/МС анализа приготовленный раствор разбавляли в 100 раз. 5 мкл полученного раствора анализировали методом ВЭЖХ-УФ.

*Оборудование и условия проведения ВЭЖХ-УФ анализа:* жидкостный хроматограф LC-20 Prominence фирмы «Шимадзу» (Япония) с ультрафиолетовым детектором Prominence SPD-M20A. Хроматограф оборудован колонкой Zorbax SB-C8 длиной 15 см, внутренним диаметром 4,6 мм, с размером частиц 1,8 мкм. Режим элюирования изократический (20% элюента Б): элюент А - 0,1% раствор муравьиной кислоты в воде, элюент Б – ацетонитрил. Объемная скорость подвижной фазы через колонку - 0,4 см<sup>3</sup>/мин. Температура термостата колонки - 35 °С. Длина волны 254 нм. Ширина щели - 4 нм. Объем пробы для анализа 10 мкл.

*Оборудование и условия проведения ВЭЖХ-МС анализа:* жидкостного хроматографа Ultimate 3000, с масс-селективным детектором Q-Exactive с орбитальной ионной ловушкой (Orbitrap). Режим ионизации: ионизация электрораспылением при атмосферном давлении. 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. 5% Б от 0 до 1 мин, затем от 1 до 9 мин 90% Б, затем от 9 до 11 мин 90 % Б, затем от 11 до 14 мин 5 % Б. Объемная скорость подвижной фазы через колонку – 0,4 см<sup>3</sup>/мин. Температура термостата колонки – 5 °С. Объем пробы для анализа 5 мкл.

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 70 до 1000 на протяжении всего анализа. Детектирование основного компонента осуществляли по  $m/z$  529.2479  $[M+H]^+$ .

*Определение действующего начала в образце препарата методом ВЭЖХ-УФ*

На рисунке 1 и в таблице 1 представлены результаты исследования раствора образца препарата методом ВЭЖХ-УФ.

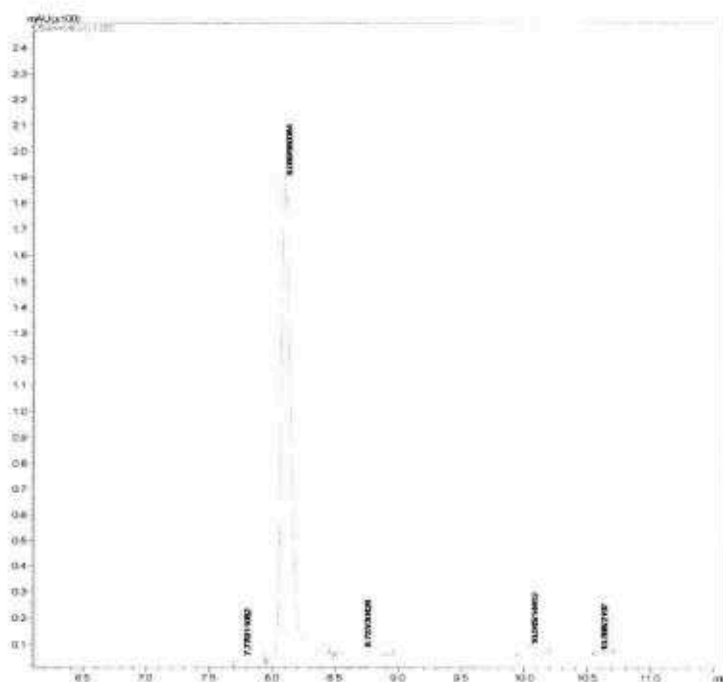


Рисунок 1 – ВЭЖХ-УФ – хроматограмма раствора образца препарата «Ибутаморен»

Таблица 1 – Характеристика пиков, представленных на ВЭЖХ-УФ - хроматограмме образца препарата «Ибутаморен»

Время удерживания, мин	Площадь, усл.ед.	Содержание компонента (%)
7.770	11082	1.1
8.096 («Ибутаморен»)	960084	94.3
8.723	30429	3.0
10.045	14412	1.4
10.598	2197	0.2

Хроматографический пик с временем удерживания 8,096 мин соответствует R-1'-(2-метилаланил-O-бензил-D-серил)-1-(метилсульфонил)-1,2-дигидроспиро[индол-3,4'-пиперидину]. Хроматографические пики с временами удерживания 7,770, 8,723, 10,045, 10,598 соответствуют примесным компонентам.

Количественную оценку основного вещества проводили методом внутренней нормализации. Содержание активного компонента в образце препарата Ибутаморен составило 94.3 %.

*Идентификация основного компонента в образце препарата  
методом ВЭЖХ-МС высокого разрешения*

На рисунке 2 приведена масс-хроматограмма и масс-спектр, полученные при анализе раствора образца препарата методом ВЭЖХ-МС.

Идентификацию проводили по точной массе  $m/z$  529.2479, соответствующей  $[M+H]^+$ .

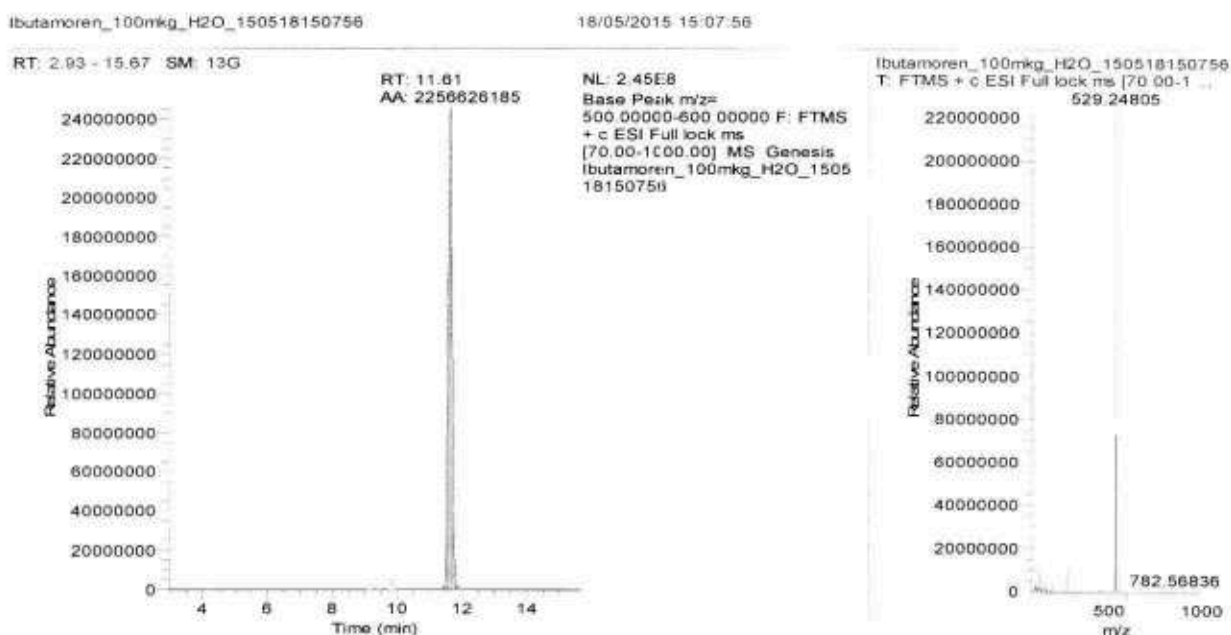


Рисунок 2– ВЭЖХ-МС - хроматограмма раствора образца препарата «Ибутаморен»

Хроматографический пик с временем удерживания 11.61 мин соответствует определяемому соединению. Экспериментально зарегистрированная масса 529.24805, отклоне-

ние от теоретической составляет 0.3 ppm. Ошибка измерения точной массы и элементного состава иона (отличие измеренной массы от расчетной) < 5 ppm, идентификация является достоверной.

### **Заключение**

В результате проведенных исследований установлено, что в представленном на исследование образце основным веществом является *R*-1'-(2-метилаланил-*O*-бензил-*D*-серил)-1-метилсульфонил-1,2-дигидроспироиндол-3,4'-пиперидин (Ибутаморен). Ориентировочное содержание Ибутаморена в препарате составляет 94.3 %.

Руководитель работ  
ведущий научный сотрудник,  
кандидат биологических наук



/Каракашев Г.В./