

# Utjecaj gama zračenja na stabilnost rosuvastatina u vodenim otopinama

---

**Dončević, Lucija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:084638>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-18**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijски odsjek

Lucija Dončević

**UTJECAJ GAMA ZRAČENJA NA  
STABILNOST ROSUVASTATINA U  
VODENIM OTOPINAMA**

**Diplomski rad**

predložen Kemijском odsjeku

Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

radi stjecanja akademskog zvanja

magistre kemije

Zagreb, 2020. godine.



Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za molekularnu medicinu Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu pod mentorstvom dr. sc. Maria Cindrića i neposrednim voditeljstvom dr. sc. Amele Hozić.



## Zahvale

*Veliku zahvalnost, u prvom redu, dugujem svom mentoru dr. sc. Mariju Cindriću na svim upućenim pohvalama i kritikama te što je nesebično uložio puno vremena i truda educirajući me.*

*Zahvaljujem se neposrednoj voditeljici dr. sc. Ameli Hozić koja je uvijek imala strpljenja i vremena za moje upite te mi pomogla pri izradi diplomskog rada. Zahvalu upućujem i Laboratoriju za radijacijsku kemiju i dozimetriju Instituta Ruđer Bošković na ustupljenim podacima korištenima pri izradi diplomskog rada.*

*Zahvaljujem svojim prijateljima koji su mi dane ispunili veseljem te mi pomagali u svim neprilikama, a svojoj obitelji koja mi je uvijek bila podrška.*

*Posebnu zahvalnost iskazujem svojim roditeljima koji su me uputili na pravi put i koji su mi bili uzor te im ujedno pripisujem zaslugu za sve što sam postigla u svome životu jer bez njih ništa ovo ne bi bilo moguće.*

*I na kraju, zahvaljujem svojoj sestri na razumijevanju, kompromisu, pruženoj pomoći i savjetima.*

*Velika HVALA svima!*



# Sadržaj

<b>SAŽETAK.....</b>	<b>X</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>XII</b>
<b>§ 1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Cilj i svrha rada.....</b>	<b>3</b>
1.1.1. <i>Opseg rada.....</i>	4
<b>§ 2. LITERATURNI PREGLED .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1. Lipoproteini .....</b>	<b>5</b>
2.1.1. <i>Endogeni metabolički put lipoproteina.....</i>	8
2.1.2. <i>Poremećaj metabolizma lipoproteina .....</i>	10
<b>2.2. Rosuvastatin .....</b>	<b>11</b>
2.2.1. <i>Terapijsko liječenje.....</i>	12
<b>2.3. Utjecaj gama zraka na strukturnu stabilnost rosuvastatina.....</b>	<b>13</b>
2.3.1. <i>Otapala u radijacijskoj kemiji.....</i>	14
<b>2.4. Vezani sustav nanoUPLC-ESI-MS.....</b>	<b>15</b>
2.4.1. <i>Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti .....</i>	16
2.4.1.1. <i>Tekućinska kromatografija obrnutih faza.....</i>	16
2.4.2. <i>ESI- qTOF spektrometar masa.....</i>	17
2.4.2.1. <i>Elektrosprej ionizacija.....</i>	18
2.4.2.2. <i>Kvadrupolni analizator masa .....</i>	19
2.4.2.3. <i>Trovalni analizator masa .....</i>	19
2.4.2.4. <i>Analizator vremena leta .....</i>	20
<b>2.5. Elementna analiza .....</b>	<b>20</b>
2.5.1. <i>Elementna analiza spektrometrijom masa .....</i>	21
2.5.2. <i>Određivanje elementnog sastava putem točnosti masa i izotopne raspodjele („MassLynx“ programski alat).....</i>	22
<b>§ 3. MATERIJALI I METODE.....</b>	<b>23</b>
<b>3.1. Kemikalije.....</b>	<b>23</b>
<b>3.2. Materijali .....</b>	<b>23</b>
<b>3.3. Instrumentacija i programski alati.....</b>	<b>23</b>
<b>3.4. Priprava uzorka .....</b>	<b>24</b>
3.4.1. <i>Ozračivanje rosuvastatina .....</i>	24
<b>3.5. Spregnuti sustav nanoUPLC s tandemnim spektrometrom masa.....</b>	<b>25</b>



3.5.1. Kromatografski parametri .....	25
3.5.2. Spektrometrija masa .....	26
<b>§ 4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>28</b>
<b>4.1. Kromatografsko razdvajanje degradacijskih produkata rosuvastatina.....</b>	<b>29</b>
<b>4.2. Spektri masa ekstrahiranih ionskih pikova od interesa .....</b>	<b>30</b>
<b>4.3. Analiza tandemnom spektrometrijom masa.....</b>	<b>34</b>
4.3.1. Obrada podataka .....	34
4.3.2. Elementna analiza.....	42
<b>4.4. Mehanizam reakcije.....</b>	<b>48</b>
4.4.1. Rosuvastatin A.....	48
4.4.2. Rosuvastatin B.....	49
4.4.3. Rosuvastatin C.1 .....	50
4.4.4. Rosuvastatin C .....	51
4.4.5. Rosuvastatin D.....	52
4.4.6. Rosuvastatin D.1 .....	53
<b>§ 5. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>54</b>
<b>§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA.....</b>	<b>56</b>
<b>§ 7. LITERATURNI IZVORI.....</b>	<b>57</b>
<b>§ 8. DODATAK.....</b>	<b>LX</b>
<b>§ 9. ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>XC</b>





Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
**Kemijski odsjek**

Diplomski rad

## SAŽETAK

### UTJECAJ GAMA ZRAČENJA NA STABILNOST ROSUVASTATINA U VODENIM OTOPINAMA

Lucija Dončević

Vodeći uzrok smrtnosti u svijetu su kardiovaskularne bolesti. Uzrokovane su povećanom koncentracijom lipoproteina, čijim gomilanjem na meandrima krvnih žila nastaje aterosklerozni plak te uzrokuje perpetuirano ometanje protoka krvi. Bolesnici koji pate od hiperlipoproteinemije konzumiraju lijekove tzv. statine, koji inhibiraju djelovanje enzima 3-hidroksi-3-metilglutarilkoenzim A-reduktaze potrebnog za sintezu kolesterola. U konačnici, statini uzrokuju uklanjanje viška štetnih lipoproteina u krvi. Rosuvastatin uzrokuje manje nuspojave od ostalih lijekova skupine statina te ima pleiotropno djelovanje neovisno o primarnoj svrsi djelovanja. Svrha ovog rada bila je ispitati razgradne produkte rosuvastatina i njegovu strukturnu stabilnost nakon ozračivanja uzorka gama zrakama pomoću  $^{60}\text{Co}$  izvora zračenja. Identifikacija produkata provedena je *nano*UPLC-ESI-MS/MS sustavom, kojim je određen elementni sastav šest razgradnih produkata rosuvastatina.

(59 + XCI stranica, 43 slika, 4 tablica, 53 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Horvatovac 102a, Zagreb i Repozitoriju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Ključne riječi: kardiovaskularne bolesti, rosuvastatin, inhibitori HMG-CoA-reduktaze, gama zračenje, *nano*UPLC-ESI-MS/MS

Mentor: dr. sc. Mario Cindrić, viši znanstveni suradnik

Neposredni voditelj: dr. sc. Amela Hozić

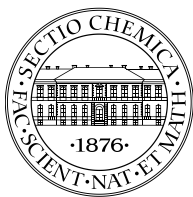
Nastavnik (imenovan od strane Kemijskog odsjeka): doc. dr. sc. Morana Dulić

Ocjenitelji:

1. doc. dr. sc. Morana Dulić, zn. sur.
  2. prof. dr. sc. Nives Galić, zn. savj.
  3. izv. prof. dr. sc. Vesna Petrović Peroković
- Zamjena: doc. dr. dc. Aleksandra Maršavelski

Datum diplomskog ispita: 28.09.2020.





University of Zagreb  
Faculty of Science  
**Department of Chemistry**

Diploma Thesis

## ABSTRACT

### GAMMA RADIATION IMPACT ON STABILITY OF ROSUVASTATIN IN WATER SOLUTIONS

Lucija Dončević

Cardiovascular diseases are one of the leading causes of death globally. They usually arise when high levels of lipoproteins in meanders of blood vessels form an atherosclerotic plaque which then obstructs blood circulation. Patients diagnosed with hyperlipoproteinemia use drugs called statins that inhibit 3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A reductase required for cholesterol synthesis. Ultimately, statins eliminate adverse lipoproteins from blood. Rosuvastatin causes less side effects than other drugs in the statin group and possesses pleiotropic effects independent of its primary use. The purpose of this study was to investigate rosuvasatin degradation products and structural stability when exposed to gamma radiation using  $^{60}\text{Co}$ . Subsequent analysis was performed by *nano*UPLC-ESI-MS/MS which determined elemental composition of six degradation products of rosuvasatin.

(59 + XCI pages, 43 figures, 4 tables, 53 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, Zagreb, Croatia and in Repository of the Faculty of Science, University of Zagreb

Keywords: cardiovascular diseases, rosuvasatin, gamma radiation, HMG-CoA reductase inhibitors, *nano*UPLC-ESI-MS/MS

Mentor: Dr. Mario Cindrić, Research Associate

Assistant mentor: Dr. Amela Hozić

Supervisor (appointed by the Department of Chemistry): Dr. Morana Dulić, Assistant Professor

Reviewers:

1. Dr. Morana Dulić, Assistant Professor
  2. Dr. Nives Galić, Professor
  3. Dr. Vesna Petrović Peroković, Associate Professor
- Substitute: Dr. Aleksandra Maršavelski, Assistant Professor

Date of exam: 28.09.2020.

## § 1. UVOD

Kardiovaskularne bolesti definiraju se kao bolesti srca, vaskularne bolesti mozga i bolesti krvnih žila. U kardiovaskularne bolesti ubrajaju se ishemijske bolesti srca (eng. *Ishemic Heart Disease*, IHD), poput ateroskleroze, koje su najčešće uzrokovane hiperlipoproteinemijom. World Health Organization navodi kako su IHD najveći uzrok smrtnosti u posljednjih 15 godina pri čemu su 2016. bile zaslužne za 15,2 milijuna od ukupno 56,9 milijuna smrti u svijetu.<sup>1</sup> Hiperlipoproteinemija je povećana koncentracija lipida (kolesterola, triglicerida i lipoproteina) u krvi.<sup>2</sup> U ovisnosti o gustoći, lipidi se dijele na lipoproteine vrlo niske gustoće (eng. *Very Low-Density Lipoproteins*, VLDL), lipoproteine niske gustoće (eng. *Low-Density Lipoproteins*, LDL), lipoproteine srednje gustoće (eng. *Intermediate-Density Lipoproteins*, IDL) i lipoproteine visoke gustoće (eng. *High-Density Lipoproteins*, HDL). Visoka koncentracija LDL i slobodnog kolesterola u krvi stvara pjenasti plak. Nakupine plaka u krvnim žilama uzrokuju aterosklerozu, nakupljajući se u unutrašnjim slojevima arterijske stijenke čime se perpetuirano ometa protok krvi i time inducira ishemični udar. Nasuprot toga, HDL ima antiaterogeni učinak tako da uklanja LDL i VLDL s arterijske stijenke, zbog čega je meta liječenja kod osoba oboljelih od ateroskleroze.

Liječenje takvog stanja prije svega uključuje promjenu režima prehrane, uz poželjnu medikamentnu terapiju, obaveznu u slučajevima zabilježene nasljedne hiperlipoproteinemije. Dostupni lijekovi za snižavanje povišene razine lipida su kompetitivni inhibitori 3-hidroksi-3-metilglutarilkoenzim A-reduktaze (HMG-CoA-reduktaza), poznati još i pod imenom statini ili hipolipemici. Skupinu takvih lijekova čine: lovastatin, atorvastatin, fluvastatin, pravastatin, simvastatin i rosuvastatin (RSV).<sup>3</sup> Prvi rezultati kliničkih ispitivanja statina 1994. godine pokazala su smanjeni kardiovaskularni morbiditet i mortalitet te se od tada sve više prepisuju u liječenju raznih kardiovaskularnih bolesti.<sup>4</sup> Prema „Izvešću o potrošnji lijekova u Republici Hrvatskoj za 2018. godinu“,<sup>5</sup> rosuvastatin je dvanaesti najkorišteniji lijek po broju definiranih dnevnih doza na tisuću stanovnika po danu (DDD/1000/dan), a prema financijskoj potrošnji zauzeo je trideset i drugo mjesto, gdje je na kupnju lijekova s aktivnom komponentom rosuvastatina izdvojeno 32 775,461 kn u razdoblju od godinu dana. Mehanizam djelovanja takvog lijeka odvija se većinski u jetri i rezultat je snižena koncentracija LDL, VLDL i triglicerida u krvi, a ujedno blago povećavana razina HDL. Ispitivanja mehanizma statina

ukazala su na značajno smanjenje učestalosti novih koronarnih oboljenja i aterotrombotskih moždanih udara kao i da posjeduju mnoga pleiotropna djelovanja te se vjeruje da statini ujedno ublažavaju manifestaciju Alzheimerove bolesti.<sup>3</sup>

Istraživanja strukturne stabilnosti ključni su aspekt prilikom razvoja lijekova s obzirom na to da na njihovu stabilnost utječu mnogobrojni faktori poput: vlage, temperature, pH, sunčeve svjetlosti i slično.<sup>6</sup> Stabilnost lijeka rosuvastatina može se ispitati metodama koje potiču degradaciju njegove strukture, a jedna od takvih metoda je i tretiranje uzorka gama zračenjem. Za identifikaciju mogućih degradacijskih produkata nastalih ozračivanjem molekule rosuvastatina potrebno je koristiti visoko specifične i osjetljive metode, koje s velikom točnošću određuju strukturu ispitivanih spojeva. Analiza nastalih nusprodukata HMG-CoA-reduktaze u ovom je istraživanju vršena spregnutim sustavom tekućinske kromatografije ultra visoke djelotvornosti s *nano*- protokom (eng. *nano-Ultra Performace Liquid Chromatography, nanoUPLC*) i tandemnom spektrometrijom masa (eng. *Tandem Mass Spectrometry, MS/MS*), gdje je za ionizaciju korišten princip elektrosprej raspršivanjem (eng. *Electro Spray Ionization, ESI*). Spektrometriju masa prvi je puta opisao Sir Joseph John Thomson 1897. godine, a šest godina kasnije svoju je hipotezu potvrdio eksperimentalno razdvojivši dva izotopa ioniziranog plina neona pomoću magnetskog i električnog polja. Nakon 80 godina razvoja ionskih izvora, značajan pomak je načinjen kada je John Fenn izumio ionski izvor, koji djeluje na osnovi elektroraspršenja i time omogućava minimalno destruktivnu tzv. „blagu“ ionizaciju, što je dovelo do dramatičnog pomaka u spektrometriji masa.<sup>7</sup> Kako bi se postigla što veća osjetljivost i rezolucija instrumenta, spektrometri masa povezuju se drugim analitičkim uređajima. Tako se može spregnuti kromatografski uređaj, koji najprije vrši separaciju analita istog uzorka, a zatim se razdvojeni analiti direktno uvode u izvor spektrometra masa. Korišteni spregnuti sustav *nanoUPLC-MS/MS* se temelji najprije na razdvajanju molekula uz *nano*- protok te se analiti uvode u spektrometar masa gdje slijedi: ionizacija, separacija, fragmentacija, ponovna separacija te detekcija u ovisnosti o omjeru njihove mase i naboja.

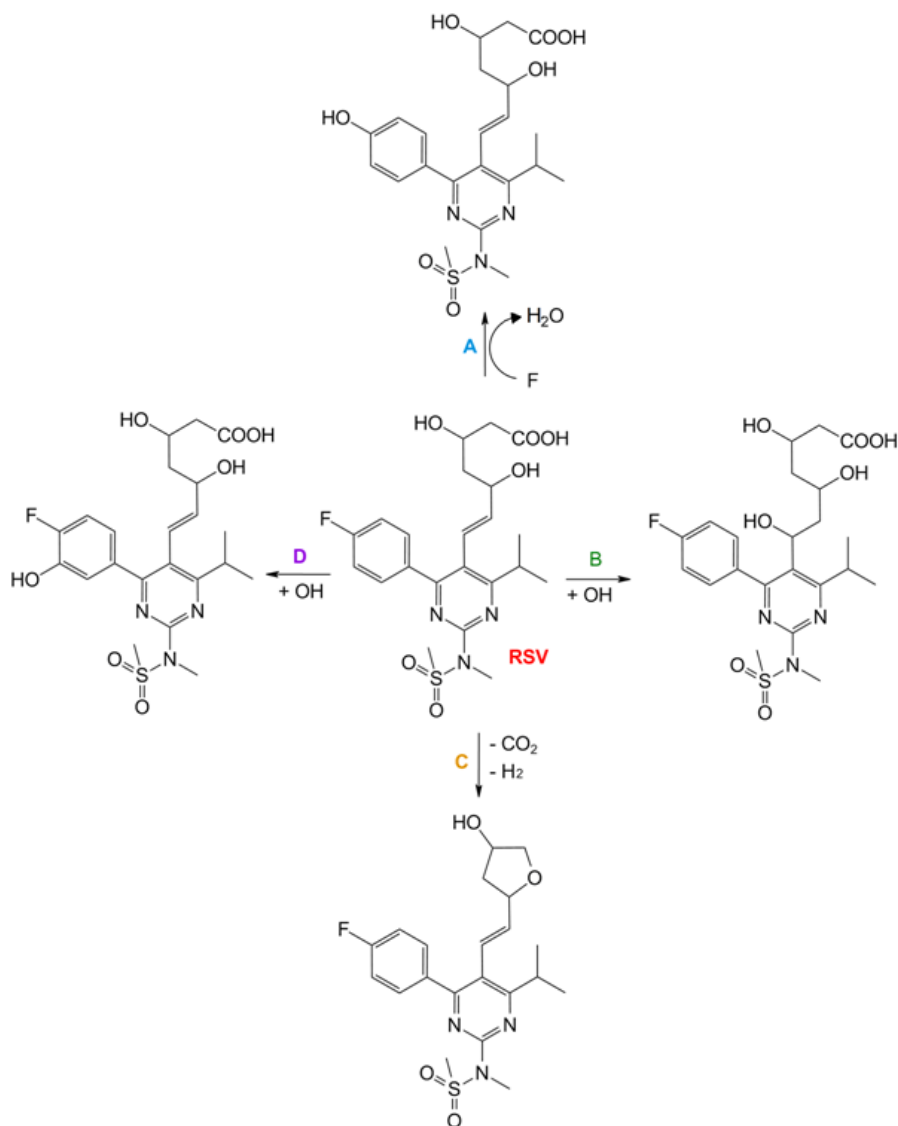
## 1.1. Cilj i svrha rada

S obzirom na velik broj pacijenata koji koriste lijek rosuvastatin, važno je poznavati njegove degradacijske produkte u svrhu prevencije mogućih štetnih utjecaja na ljudski organizam kao i okolišne učinke istih.<sup>5</sup> Ujedno su ispitivanja strukturne stabilnosti neophodna za razvoj i istraživanje farmakološki djelatnih tvari, a provode se poticanjem strukturne degradacije. Kako je u smjesi rosuvastatina prisutan velik broj onečišćenja nastalih njegovom degradacijom,<sup>8</sup> pretpostavlja se da je struktura rosuvastatina podložna raspadu prilikom utjecaja raznih stresora. Prijašnja istraživanja baziraju se na izučavanju onečišćenja rosuvastatina nastalih pod utjecajem oksidacije, hidrolize, fotolize i termičke degradacije.<sup>6,9</sup> U ovome je radu strukturna degradacija potpomognuta gama zrakama, što je brži, jednostavniji i efikasniji način proučavanja onečišćenja rosuvastatina, koji se mogu pojaviti u sadržaju tableta koje konzumiraju bolesnici. Ionizirajućim zračenjem u vodenim će otopinama, tzv. postupkom radiolize, nastati primarno hidroksilni radikali,<sup>10</sup> stoga je pretpostavka da će nastali nusprodukti ozračenog uzorka rosuvastatina u vodi biti rezultat stupanja molekule rosuvastatina u reakciju s hidroksilnim radikalima.

Temeljeno na navedenim činjenicama, postavljena je hipoteza da rosuvastatin degradira prilikom djelovanja gama zračenja u vodenim otopinama na četiri pretpostavljena produkta (slika 1), gdje su pri tome reakcije adicije, dekarboksilacije, supstitucije i ciklizacije pretpostavljene kao najvjerojatnije.

Cilj ovog diplomskog rada je istražiti raspadne produkte nastale gama zračenjem rosuvastatina u vodi, a time ispitati i njegovu strukturnu stabilnost.





**Slika 1.** Pretpostavljene degradacijske reakcije potaknute ozračivanjem gama zrakama molekule rosvastatina (crveno) u vodi i četiri produkata, koji bi najvjerojatnije nastali navedenim reakcijama: **A** (plavo), **B** (zeleno), **C** (narančasto) i **D** (ljubičasto).

### 1.1.1. Opseg rada

U Laboratoriju za radijacijsku kemiju i dozimetriju Instituta Ruđer Bošković 3 mL vodene otopine rosvastatina koncentracije  $0,2 \text{ mmol dm}^{-1}$  ozračeno je dozom 500 Gy pri brzini od  $6,55 \text{ Gy s}^{-1}$ . Uzorci su razrijeđeni te analizirani spregnutim sustavom nanoUPLC-ESI-MS/MS. Na temelju dobivenog spektra masa, koji sadrži omjere mase i naboja pojedinog fragmenata nusprodukata i predloženog elementnog sastava programskog alata „MassLynx“, kreirana je struktura pojedinog raspadnog produkta rosvastatina.

## § 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Lipoproteini

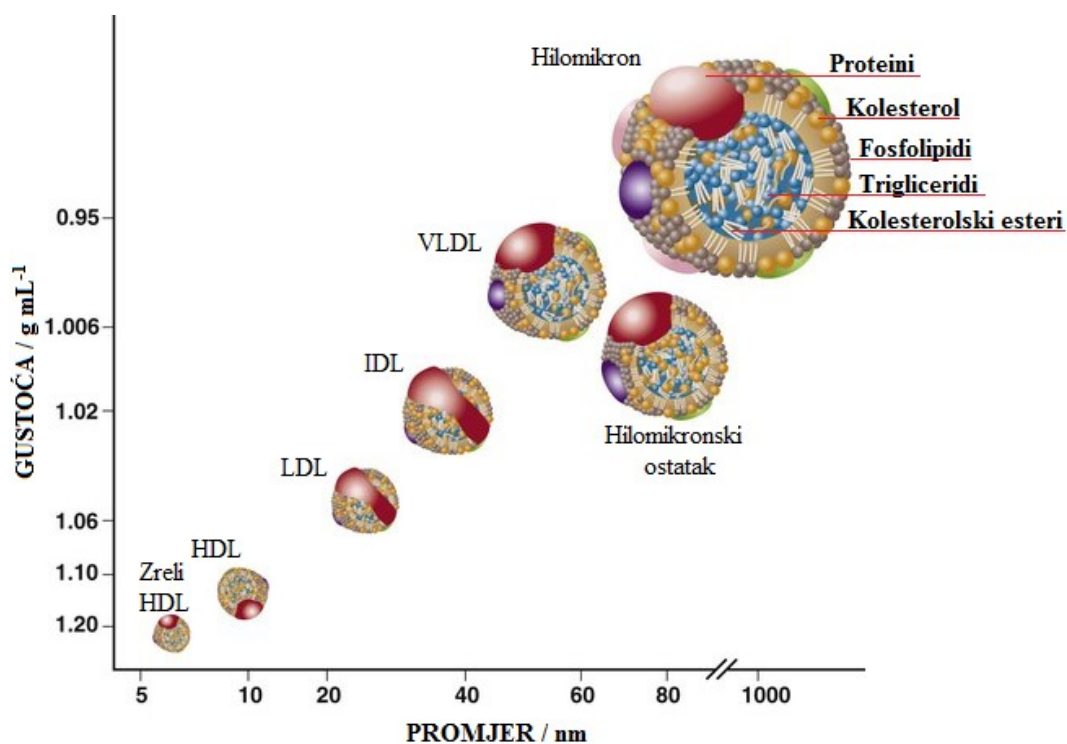
Lipoproteini imaju esencijalnu životnu ulogu u organizmu. Sudjeluju u nekoliko metaboličkih procesa kao što je skladištenje energije, transport vitamina topivih u vodi, formiranje stanične membrane i služe kao kemijski glasnici.<sup>11</sup> Strukturno su građeni od kolesterolskih estera i triglicerida koji čine hidrofobnu jezgru lipoproteina, a okružuju ih neesterificirani kolesterol, proteini i fosfolipidi (slika 2). Proteini koji ulaze u sastav lipoproteina nazivaju se apoproteinima te uz strukturnu ulogu, služe još kao aktivatori, inhibitori, kofaktori i ligandi za vezanje lipoproteina na specifične receptore. Lipoproteini imaju transportnu ulogu egzogenih triglicerida (putem apsorpcije iz gastrointestinalnog trakta) ili endogenih triglicerida (sintetizirani u jetri) do njihovog mjesta skladištenja ili razgradnje koja se odvija pretežito u mišićima i masnom tkivu.

Mogu se klasificirati prema udjelu pojedinih molekula u strukturi, veličini, gustoći, količini i vrsti vezanih apoproteina, čije su pojedinosti navedene u tablici 1. U ovisnosti o masenom doprinosu triglicerida i lipida na ukupnu masu lipoproteina, možemo ih podijeliti u četiri skupine:

1. Lipoproteini vrlo niske gustoće (VLDL) sačinjeni većinskim udjelom od triglicerida. Izlučuje ih jetra i služe za prijenos vezanih triglicerida osiguravajući time potrebne količine slobodnih masnih kiselina za oksidaciju u srčanom i skeletnom mišiću te pohranu u masnome tkivu. Uklanjanjem triglicerida s molekule VLDL, smanjuje se maseni omjer triglicerida u ukupnoj masi molekule i tako nastaje lipoprotein IDL.
2. Lipoproteini srednje gustoće (IDL) nastali iz VLDL djelomično endocitozom ulaze u jetru, a s ostalih se molekula pomoću jetrene lipaze dalje uklanja triglicerid, čime nastaju lipoproteini LDL.
3. Lipoproteini niske gustoće (LDL) katabolizira poglavito jetra i ključni su za stvaranje plaka i razvoj ateroskleroze. Metaboličkim se procesom hidrolize s molekula otpuštaju kolesterolski esteri, koji kasnije ulaze u sastav stanične membrane. 70% od ukupne količine LDL u krvi uklanja se hepatocitima izlučivanjem u žuč ili pretvorbom u žučnu kiselinu.

4. Lipoproteini visoke gustoće (HDL) strukturno su sačinjen od najmanje 15 različitih vrsta molekula i sintetiziraju se u jetri i crijevima. Primarna svrha HDL je regulacija i transport kolesterola iz stanica u jetra, čime smanjuje njihovu količinu u krvi i time štiti organizam od razvitka kardiovaskularnih bolesti.

Lipoproteini mogu sadržavati apoproteine velike molekulske mase, B-proteine koji se nalaze u dvama oblicima: B-48 (ApoB-48) sintetiziran u crijevima i nalazi se u hilomikronima, i B-100 (ApoB-100) sintetiziran u jetri. Hilomikroni nastaju u stanicama tankog crijeva i prenose trigliceride egzogenog porijekla, koji potiču iz hrane. Trigliceridi se oslobađaju s hilomikrona hidrolizom u ekstrahepatičnim tkivima, čime se smanjuje njihov promjer čestica. Površinski lipidi i prisutni apoproteini se prenose do HDL i tako nastavljaju svoj metabolizam. Nastale se male čestice hilomikrona kasnije pomoću receptora unose u hepatocite endocitozom. Uz navedene lipoproteine, važna je uloga i Lp(a) lipoproteina koji nastaje povezivanjem disulfidnih mostova između LDL i apoproteina (a).<sup>3,12</sup>



**Slika 2.** Grafički prikaz promjera u odnosu na gustoću te strukturna građa najvažnijih lipoproteina u krvi.

(Ilustracija preuzeta i prilagođena prema literaturnom izvoru)<sup>13</sup>

**Tablica 1.** Fizikalne i kemijske značajke glavnih lipoproteina prisutnih u ljudskoj plazmi.(Podaci preuzeti i prilagođeni prema literaturnom izvoru)<sup>13,14</sup>

	<b>Hilomikroni</b>	<b>VLDL</b>	<b>IDL</b>	<b>LDL</b>	<b>Lp(a)</b>	<b>HDL</b>
Promjer / nm	> 100	40 – 50	25 – 30	20 – 25	25	6 – 10
Molekularna masa / kDa	0,4 – 30 x 10 <sup>6</sup>	5 – 10 x 10 <sup>3</sup>	3,9 – 4,8 x 10 <sup>3</sup>	2,75 x 10 <sup>3</sup>	2,9 – 3,7 x 10 <sup>3</sup>	1,8 – 3,6 X 10 <sup>2</sup>
Gustoća / g mL <sup>-1</sup>	< 0,950	0,950 – 1,006	1,006 – 1,019	1,019 – 1,063	1,040 – 1,130	1,063 – 1,210
Lipidi : proteini	99 : 1	90 : 10	85 : 15	80 : 20	75 : 25 – 64 : 36	50 : 50
Glavni lipidi	Egzogeni trigliceridi	Endogeni trigliceridi	Endogeni trigliceridi i esteri kolesterola	Esteri kolesterola	Esteri kolesterola i fosfolipidi	Fosfolipidi
Glavni proteini	B-48, AI	B-100	B-100, E	B-100	(a), B-100	AI, AII, CI, CII, CIII, E

### 2.1.1. *Endogeni metabolički put lipoproteina*

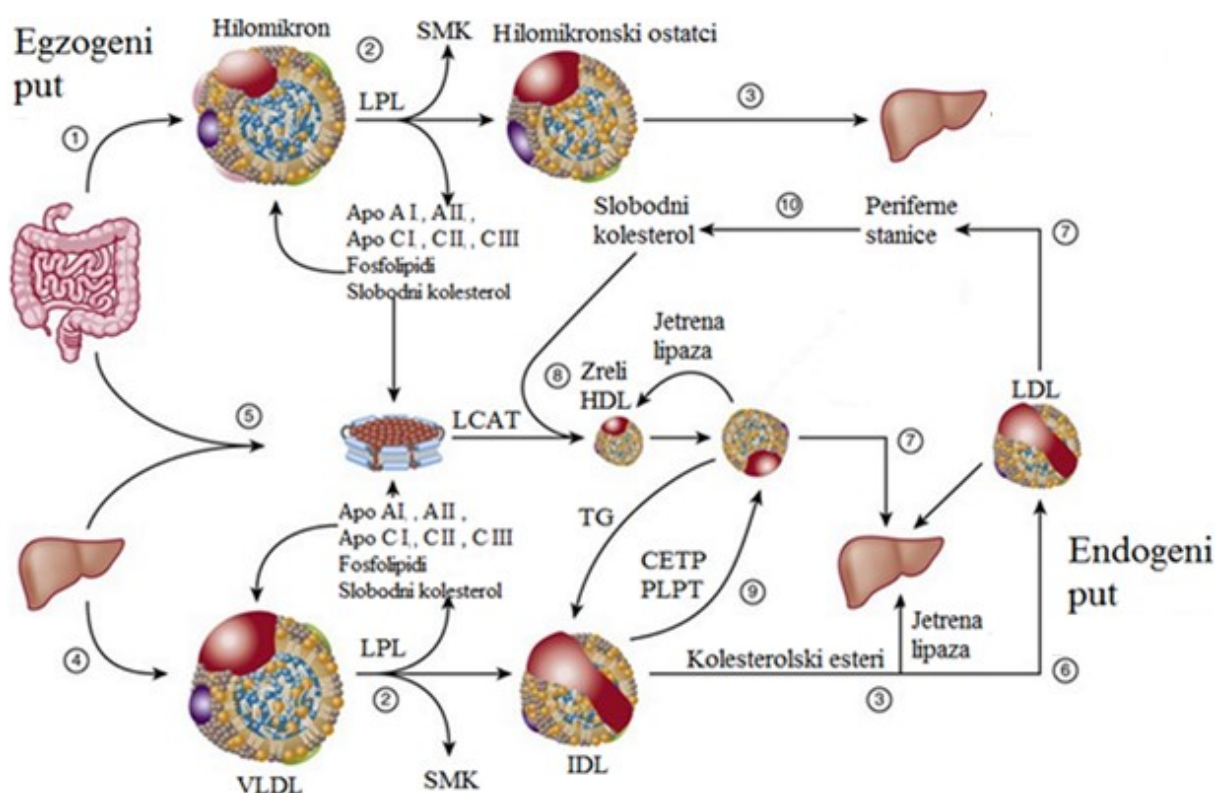
Metabolizam lipoproteina ovisi o njihovom izvoru kojime dopijevaju u ljudski organizam. Egzogeni metabolički put podrazumijeva metabolizam lipida unesenih u organizam putem ishrane dok endogenim metaboličkim putem nastaju lipoproteini sintetizirani u jetri.<sup>7</sup>

Lipoproteinski endogeni metabolički put prikazan je na slici 3, a započinje sintezom VLDL i određen je količinom ugljikohidrata i lipida unesenih hranom. Naziva se još i kaskadom lipoproteina jer prelaze iz jednog oblika u drugi. Nativni VLDL nastaje iz endogenih triglicerida, kolesterola i ApoB-100. Dolaskom u krvotok nakon sinteze, VLDL od HDL prima ApoCII i ApoE te se dio nastalog VLDL pomoću ApoE preko VLDL receptora unosi u mišićne i masne stanice. Preostale se VLDL čestice (4) uz kofaktor ApoCII pregrađuju djelovanjem lipoprotein-lipaze (LPL), tako da hidroliziraju trigliceride u monogliceride i masne kiseline, čime nastaje IDL (2). Polovina nastaloga IDL trenutno prelazi iz plazme u jetra vezanjem preko ApoE na LDL receptor (3). Preostala polovina se djelovanjem jetrene lipaze i HDL čestica pregrađuje u LDL koji je krajnji produkt ovog metaboličkog puta (6). Za vrijeme ove pretvorbe, najveći se dio oslobođenog ApoCII i ApoE disocira s IDL i vraća na HDL.

Oko 80% nastalih LDL čestica veže se preko ApoB-100 s LDL-receptorima na plazmatsku membranu jetrenih stanica, stanica nadbubrežne žlijezde i perifernih tkiva (7). Tako endocitozom ulaze u stanice gdje lizosomske kisele lipaze (LAL) hidroliziraju ApoB-100 u aminokiseline, a estere kolesterola u masne kiseline i slobodni kolesterol. Slobodni kolesterol ulazi u citoplazmu za izgradnju membrana, hormona, žučnih kiselina, vitamina ili novih lipoproteina. Višak kolesterola inhibira aktivnost 3-hidroksi-3-metilglutarilkoenzim A-reduktaze (HMG-CoA-reduktaza) koja katalizira pretvorbu 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzima A u mevalonat potreban za sintezu kolesterola. Porast njegove koncentracije također uzrokuje aktivaciju acilkolesterol-aciltransferaze (ACAT) koji esterificira slobodni kolesterol i pohranjuje ga u obliku masnih kapljica. Ujedno se smanjuje broj LDL-receptora na membrani što onemogućuje ulazak viška kolesterola u stanicu.

Metabolizam HDL djelomično je povezan metabolizmom VLDL i ključan je u endogenom metaboličkom putu svih lipoproteina jer služi kao izvor i spremište apoproteina. Nakon sinteze u jetri i crijevima, luči se u plazmu i prenosi ApoE i ApoCII VLDL na hilomikrone čijom se razgradnjom ApoE i ApoCII ponovo vraćaju na HDL. Višak kolesterola transportira se posredovano metabolizmom HDL česticama i taj se proces naziva reverznim

putem kolesterola. HDL se preko ApoAI veže na transporter ATP veznu kasetu (ABCA1), protein koji je smješten u staničnoj membrani stanica. Njihovo povezivanje dovodi do izbacivanja slobodnog kolesterola iz stanice (10) koji se potom esterificira pomoću ApoAI i ApoAIV djelovanjem lecitin-kolesterol-aciltransferaze (LCAT) i ulazi u središnji dio HDL (8). Ulazak kolesterola mijenja diskoidni oblik HDL u sferični oblik bogat kolesterol-esterima, čime nastaje zreli HDL. Zatim se pomoću proteina prenosioca estera kolesterola (CETP) i prenositelja fosfolipida (PLTP) predaje ester kolesterola i fosfolipida s HDL na VLDL i LDL čestice (9). Tako se dio estera kolesterola transportira s HDL izravno u jetru (3) ili preko VLDL i LDL u periferne stanice (6), gdje se u oba slučaja razgrađuje. HDL obogaćen trigliceridima i fosfolipidima hidrolitički obnavlja jetrena lipaza i slobodan je za daljnje vezanje i esterificiranje slobodnog kolesterola.<sup>14-16</sup>



**Slika 3.** Shematski prikaz endogenog i egzogenog metaboličkog puta lipoproteina te prikaz njihovog prijelaza iz jednog oblika u drugi (iz VLDL u IDL i LDL); SMK – slobodne masne kiseline, TG – trigliceridi.

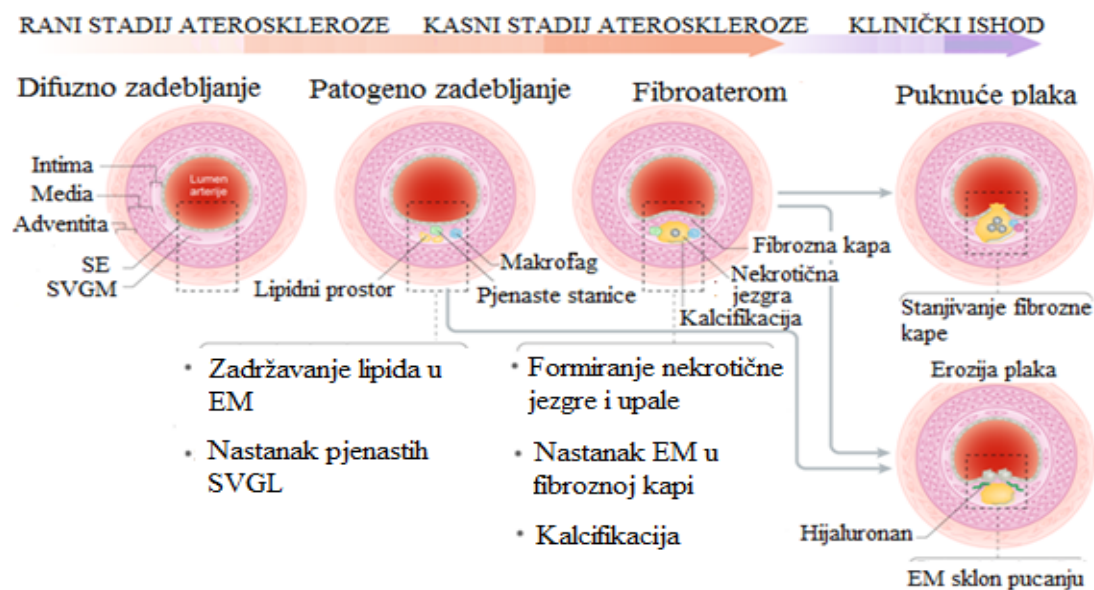
(Ilustracija preuzeta i prilagođena prema literaturnom izvoru)<sup>13</sup>

### 2.1.2. Poremećaj metabolizma lipoproteina

Dislipoproteinemija označava poremećaj koncentracije lipoproteina u krvi i uključuje hipolipoproteinemiju i hiperlipoproteinemiju. Posljedica je pregradnje, razgradnje ili sinteze lipoproteinskih čestica zbog djelovanja mnogobrojnih rizika, npr. pušenje, pretilost, dijabetes, genetički faktori i ostalo. Najčešće je uzrokovana genetički, nedostatkom LDL receptora odgovornog za transport LDL iz krvi, što dovodi do hiperlipoproteinemije, odnosno povećanja količine lipoproteina LDL u krvi.<sup>17</sup>

LDL čestice se osim ulaska u jetrene stanice manjim dijelom mogu razgraditi u makrofagima, kada je povećana njihova koncentracija u krvi. Problem se javlja i kada se LDL oksidativno ili na neki drugi način modificira (procesima acetilacije, agregacije, glikacije i dr.). Uz prisutnost slobodnih radikala, uzrokovanih oksidacijskim stresom, nastaje oksidirani LDL (oxiLDL). Nakupljanjem oxiLDL nastaju pjenaste stanice koje kasnije postaju zreli lipidni makrofagi odgovorni za formiranje ateroskleroznog plaka.<sup>14,18</sup> Uz LDL, i drugi lipoproteini bogati trigliceridima koji nose ApoB-100 mogu potaknuti razvitak bolesti. Nedavna su istraživanja pokazala kako je ujedno i Lp(a), nađen u stanicama ateroskleroznog plaka, važan faktor rizika za razvitak kardiovaskularnih bolesti.<sup>19</sup>

Aterosklerozni proces je kaskadni događaj (slika 4) koji prvo uključuje oštećenje intime krvnih žila, priljev lipoproteina u ekstracelularni matriks i nakupljanje fagocitnih stanica. Slijedi formiranje nekrotične jezgre nakupljenih pjenastih stanica i proliferacija stanica glatkih mišića koje vrše kalcifikaciju. Bubrenje intime stanjuje fibroznu kapu i potiče nakupljanje hijaluronana općenito prisutnog u vezivnom, epitelnom i neuronskom tkivu. Takvo zadebljanje krvnih žila dovodi do potpunog začepjenja i nemogućnosti cirkulacije, a nerijetko dolazi i do erozije ekstracelularnog matriksa, tj. unutarnjeg krvarenja.<sup>20</sup>



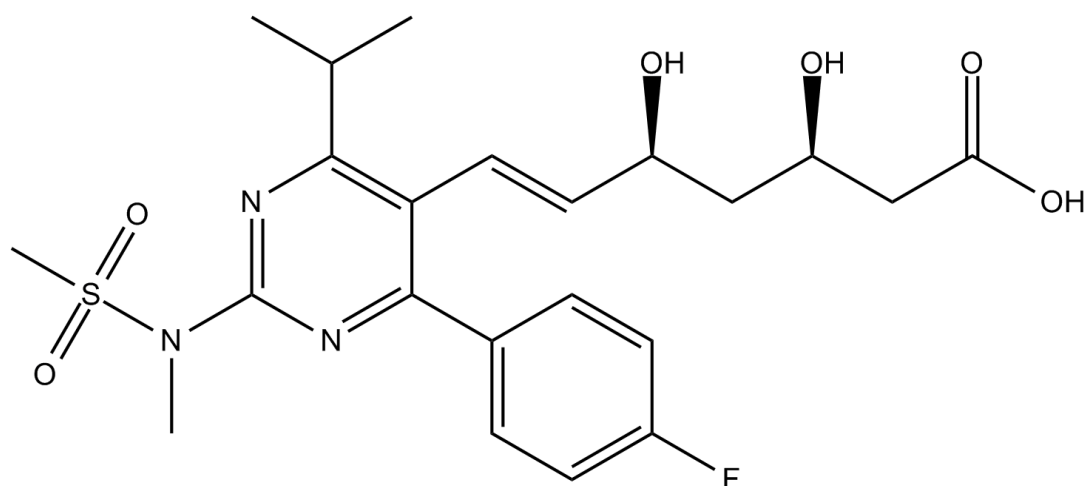
**Slika 4.** Stadiji nastanka ateroskleroznog plaka – difuzno i patogeno zadebljanje, fibroaterom i prikaz puknuća plaka. EM – ekstracelularni matriks, SE – stanice endotela, SVGM – stanice vaskularnih glatkih mišića.

(Ilustracija preuzeta i prilagođena prema literaturnom izvoru)<sup>20</sup>

## 2.2. Rosuvastatin

Rosuvastatin je strukturno dihidroksi monokarbonska kiselina koja se po IUPAC nazivlju označava kao *(E,3R,5S)*-7-[4-(4-fluorofenil)-2-[metil(metilsulfonil)amino]-6-propan-2-ilpirimidin-5-il-3,5-dihidroksihept-6-enoična kiselina (slika 5). Pripada skupini pirimidina, sulfonamida, monofluorobenzena, dihidroksi monokarboksilnih kiselina i statina.<sup>21</sup> Sintetičko je antilipidemičko sredstvo koje se prepisuje bolesnicima dijagnosticiranim hiperlipoproteinemijom. Uzrokuje snižavanje ukupne koncentracije kolesterola, LDL i apoproteina B u plazmi, uz povećanje količine HDL zbog čega je česti izbor u liječenju kardiovaskularnih bolesti. Pripada skupini lijekova statina kojima je meta djelovanja kompetitivna inhibicija enzima HMG-CoA-reduktaze u jetri. HMG-CoA-reduktaza odgovorna je za pretvorbu HMG-CoA u mevalonat čime se smanjuje sinteza kolesterola. Smanjenje koncentracije kolesterola povećava broj LDL receptora odgovornih za jetreni unos lipoproteina niske gustoće, čime se smanjuje njihova koncentracija u krvi i tako otklanja rizik od nastanka ateroskleroznog plaka. Ujedno inhibira sintezu VLDL i smanjuje njegovu koncentraciju u organizmu. Iz skupine statina, rosuvastatin jedini potiče povećanje razine HDL kolesterola.<sup>22</sup>





Slika 5. Struktura rosuvastatina.

### 2.2.1. Terapijsko liječenje

U usporedbi s drugim statinima, rosuvastatin ima visok stupanj selektivnosti za djelovanje u jetrenim stanicama kao i dug vijek oslobađanja u ljudskom organizmu.<sup>23-25</sup> Primjenjuje se peroralno jednom u danu, a poluvrijeme eliminacije lijeka iz organizma je oko 19 sati. Nisu zabilježene značajne kontraindikacije, stoga je ujedno pogodan i za pacijente koji uzimaju druge lijekove, osim kod bolesnika s teškom oštećenom bubrežnom funkcijom, u trudnoći i pri dojenju. Najčešća nuspojava je miopatija, koja se može prevenirati postepenim uvođenjem terapije uz praćenje njegova djelovanja na opće stanje bolesnika. Uz rosuvastatin, najčešće prepisivan lijek za hiperlipoproteinemiju je atorvastatin. Njegovim uzimanjem zabilježeno je više nuspojava zbog čega rosuvastatin zauzima prednost poglavito kod starijih bolesnika i dijabetičara. *In vitro* i *in vivo* ispitivanja pokazuju da rosuvastatin ima pleiotropni, tj. vakuloprotektivni učinak neovisno o snižavanju lipida u krvi.<sup>26</sup> Neki od pleiotropnih učinaka su poboljšanje endotelne funkcije, antiinflamatorno djelovanje i stabilizacija ateroskleroznog plaka. Širok raspon masenih doza rosuvastatina, od 5, 10, 15, 20, 30 i 40 mg djelatne tvari u tableti, omogućuje prilagodbu liječenja prema potrebama pacijenata.<sup>27</sup>

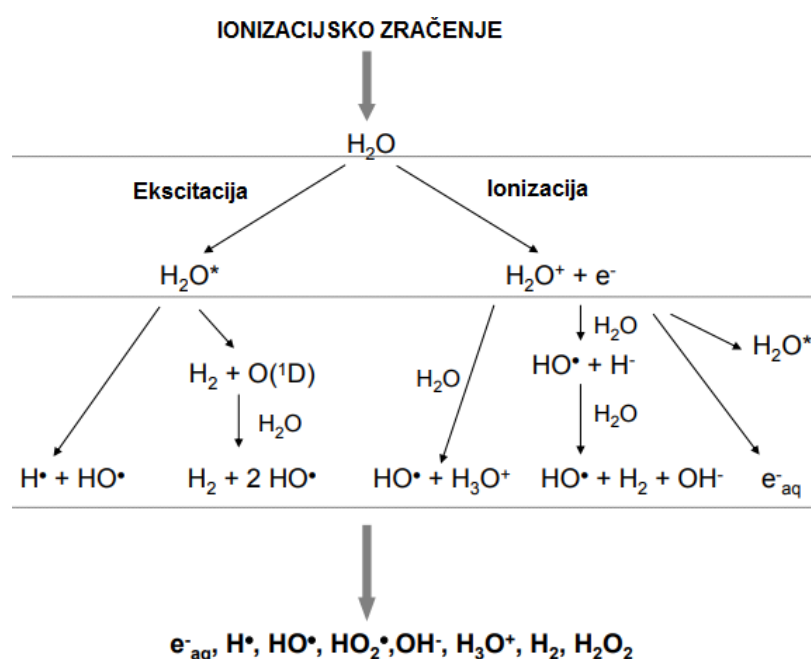
### 2.3. Utjecaj gama zraka na strukturnu stabilnost rosuvastatina

Test stabilnosti (eng. *Stability Test*) farmakoloških pripravaka nužno je provesti za vrijeme razvoja lijeka. Time se, osim strukturne stabilnosti, može ispitati sigurnost i efikasnost proizvoda za ljudsku primjenu. Poticanje molekulske degradacije lijeka omogućuje identifikaciju produkata koji nastaju tijekom razgradnje, poznavanje degradacijskih mehanizama kao i molekulske stabilnosti molekule. FDA (eng. *Food and Drug Administration*) od farmaceutskih industrija također zahtijeva provođenje eksperimenata degradacije lijekova. Prisilna degradacija molekule najčešće se provodi kemijskim tretiranjem uzorka (kiselinama, bazama, oksidansima ili reducensima) te svjetlosnom ili termičkom obradom uz kontrolu vlažnosti zraka.<sup>28</sup> Jedna od metoda koja potiče strukturnu degradaciju stabilnih molekula jest gama zračenje.

Gama zračenje je rigidno elektromagnetsko zračenje, koje potječe iz jezgara atoma. Takvu vrstu zračenja može emitirati atom kada jezgra prijeđe iz osnovnog u ekscitirano stanje, nastalo u nuklearnim reakcijama alfa ili beta raspadom. Nestabilna jezgra vraćanjem u osnovno stanje emitira energiju u obliku gama zračenja. Ono se apsorbira, emitira i prenosi u kvantima elektromagnetskog zračenja te mu je energija uvijek jasno definirana.<sup>29,30</sup> Često korišteni radioaktivni element koji emitira gama zračenje jest kobalt-60. U nuklearnom se reaktoru stabilni atom kobalta bombardira neutronom i tako nastaje  $^{60}\text{Co}$  s nestabilnom jezgrom. Molekula koja se nalazi u blizini izvora ionizirajućeg zračenja može apsorbirati energiju, a izbačeni elektroni u procesu ionizacije stvaraju produkte ionizirajućeg zračenja.<sup>31,32</sup>

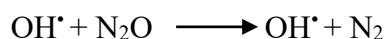
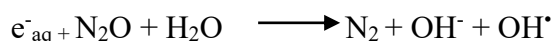
## 2.3.1. Otopala u radijacijskoj kemiji

Važno je naglasiti utjecaj otopala korištenih u procesima radijacije koji uvelike usmjeravaju kemijsko cijepanje i nastanak degradacijskih produkata ozračenog uzorka. Radijacijskom kemijom u vodenim otopinama tzv. radiolizom, ponajprije dolazi do inicijalne ionizacije i ekscitacije. Nastali radikali i elektroni pokreću kaskadnu reakciju izbijanja elektrona iz atoma prisutnih u vodi te reagiraju s prisutnim spojevima i tako ih degradiraju.<sup>33</sup> Rosuvastatin će otopljen u vodi, uz ionizaciju gama zrakama tvoriti produkte u ovisnosti o reakciji s navedenim produktima prikazanim na slici 6.<sup>34</sup>



**Slika 6.** Reakcije prilikom radiolize vode u kojima primarno nastaju hidroksilni radikali.  
(Ilustracija preuzeta i prilagođena prema literaturnom izvoru)<sup>34</sup>

Dodatnim obogaćivanjem otopine rosuvastatina dušikovim oksidom ( $N_2O$ ) te njegovim ozračivanjem, kvantitativno dolazi do izmjene elektrona i vodikovih atoma u hidroksilne radikale ( $OH^\bullet$ ).<sup>35-37</sup>



## 2.4. Vezani sustav *nano*UPLC-ESI-MS

Identifikacija i karakterizacija jedna je od nužnih tehnika prilikom određivanja stabilnosti i elementnog sastava degradacijskih produkata. Takva se analiza provodi pomoću visoko specifičnih i preciznih instrumenata. Tekućinska kromatografija spregnuta spektrometrijom masa omogućuje točnu i ponovljivu identifikaciju metabolita i njegovih degradacijskih produkata pri vrlo niskim koncentracijama.<sup>38</sup> Tehnike tekućinske kromatografije pogodne su za razdvajanje analita u smjesi nakon čega slijedi njihova detekcija na spektrometru masa.



**Slika 7.** Vezani sustav *nano*ACQUITY UPLC (Waters, Milford, MA, SAD) sa sustavom spektrometrije masa visoke rezolucije SYNAPT G2-Si (Waters, Milford, MA, SAD).

### 2.4.1. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

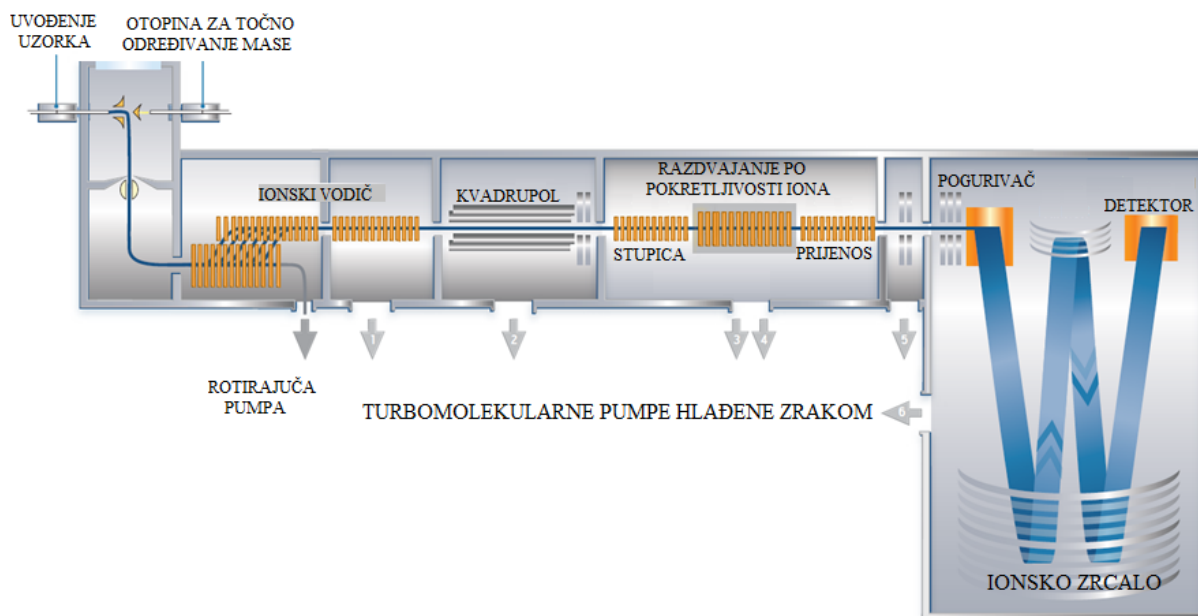
Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (eng. *High Performace Liquid Chromatography*, HPLC) danas je učestala tehnika za separaciju i analizu molekula širokog raspona masa, od 54 Da do 450 000 Da, točnije od malih molekula farmaceutika do makromolekula biopolimera. Temelji se na injektiranju otopljenog uzorka u protok otapala, tzv. pokretnu fazu, koja prolazi kroz kromatografsku kolonu ispunjenu čvrstim materijalom za razdvajanje, tzv. nepokretna faza. Razdvajanje se tako postiže različitim interakcijama nastalih između otopljenih molekula analita i nepokretne faze. Interakcije mogu nastati djelovanjem: adsorpcije, ionske izmjene, razdiobe među fazama ili veličine analita koji se razdvajaju.<sup>39</sup> Prilikom prolaska pokretne faze kroz kolonu s vezanim molekulama analita, afinitet vezanja djelovanjem protoka slabi i analit se otpušta s nepokretne faze u pokretnu fazu. Taj postupak se neprekidno ponavlja kada se molekule analita ponovno vežu za nepokretnu fazu. Rezultat je da će molekula s najvećim afinitetom za nepokretnu fazu biti i duže vezana za istu u neprekidnim postupcima prelazaka iz nepokretne u pokretnu fazu i obrnuto. Posljedično će joj retencijsko vrijeme biti najveće, odnosno bit će zadnja detektirana u kromatografskom postupku. Tako će se molekule s različitim afinitetom vezanja različito separirati i detektirati u vremenu. U procesima kromatografskog razdvajanja *nanoUPLC* se razlikuje od HPLC uređaja u primijenjenom tlaku na koloni, koji je u potonjem uređaju manji i do tri puta od UPLC uređaja. Nano prefiks označava izvedbu instrumenta sa smanjenim volumenom injektiranja uzorka (od nekoliko nanolitara do mikrolitra) i protokom pokretne faze u području jednakim ili manjim od mikrolitra, čime je moguće razdvojiti uzorke vrlo malih volumena i koncentracija.<sup>40</sup>

#### 2.4.1.1. Tekućinska kromatografija obrnutih faza

Čvrsti materijali koji se koriste u kromatografiji obrnutih faza (eng. *Reverse Phase Chromatography*, RP) jesu alkilni lanci kovalentno vezani na nepokretnu fazu. Hidrofobni oktadecilsilicijev dioksid (C<sub>18</sub>), oktilsilicijev dioksid (C<sub>8</sub>) i butilsilicijev dioksid (C<sub>4</sub>) najčešće su korištene nepokretne faze i imaju tim veći afinitet za stupanje u interakciju s hidrofilnim molekulama analita čim im je alifatski lanac kraći. Pokretne faze korištene u kromatografiji obrnutih faza su polarna otapala, većinom smjese vode i polarnih organskih molekula uz kontrolirani pH završne otopine.

### 2.4.2. ESI- qTOF spektrometar masa

Spektrometrija masa analitička je metoda kvantitativnog i kvalitativnog određivanja iona, koja omogućuje točnu i preciznu analizu bioloških i sintetskih uzoraka velikog raspona masa. Osnova spektrometra masa jest prvotna ionizacija uzorka nakon čega se nastali ioni uvode u analizator masa, gdje slijedi njihova separacija u ovisnosti o omjeru mase i naboja te u konačnici detekcija broja iona pri svakoj vrijednosti omjera  $m/z$ . Kako bi se omogućila bolja separacija iona, ali i razdvajanje iona istih masa različitih rezonantnih struktura, koriste se hibridni analizatori masa. Sastoje se od dva ili više analizatora masa spregnutih u seriji, koji mogu na istom ili različitom principu separirati ione. Spektrometre masa dijelimo u ovisnosti o odabranom načinu ionizacije i separacije u analizatoru masa te korištenom detektoru. Zbog blage ionizacije, visoke osjetljivosti, niza analizatora spojenih u seriju i točne interne kalibracije tijekom analize, ESI-qTOF spektrometar masa omogućuje rutinsko mjerenje do točnosti četvrte decimale mase analizirane ionske molekule (uz pogrešku mjerenja manju od 5 ppm).

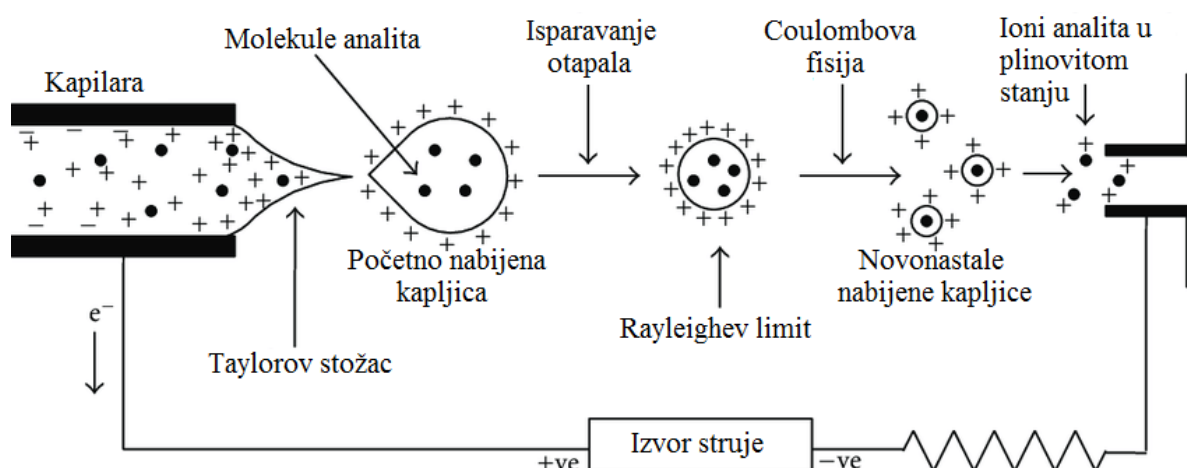


**Slika 8.** Shematski prikaz komponenti spektrometra masa visoke rezolucije SYNAPT G2-Si (Waters, Milford, MA, SAD).

(Ilustracija preuzeta i prilagođena prema literaturnom izvoru)<sup>41</sup>

### 2.4.2.1. Elektrosprej ionizacija

Molekule uzorka se nakon razdvajanja na UPLC, ioniziraju u ESI ionizacijskoj komori. To je nedestruktivan način ionizacije uzorka direktno iz otopine, koji nastaje nekovalentnim interakcijama makromolekula u plinovitom agregatnom stanju. Granica detekcije ESI ionizacijom doseže red veličine atomola ( $10^{-18}$  mol) pri *nano* protocima pokretne faze. Unutar elektrosprej ionizacijske komore, neprekidni protok otopine uzorka u pokretnoj fazi protječe kroz metalnu ili silikatnu kapilaru na koju se primjenjuje jako električno polje električnog potencijala 1-5 kV. Ovisno primjenjuje li se pozitivan ili negativan napon, nastat će pozitivno ili negativno nabijene čestice uzorka koje pri kritičnoj jakosti polja formiraju Taylorov stožac (slika 9). Naboj se razdvaja na površini kapljice pokretne faze. Isparavanjem otapala ono doseže točku pri kojoj su odbojne Coulombove sile naboja na površini jednake napetosti površine tekućine, tj. Rayleighev limit. Unutar približno 100  $\mu$ s radijus će ishodne kapljice doseći Rayleighev limit te Coulombovom fisijom nastaju manje kapljice produkta koje sadrže 2% mase i 15% naboja početno nabijene kapljice. Daljnjim isparavanjem otapala, nastaju molekularni ioni analita u plinovitoj fazi koji se, nošeni inernim plinom dušika, uvode u analizator masa.<sup>38</sup>



**Slika 9.** Shematski prikaz nastajanja iona analita u plinovitom stanju unutar ionizacijske komore potpomognute elektrosprej raspršenjem.

(Ilustracija preuzeta i prilagođena prema literaturnom izvoru)<sup>42</sup>

#### 2.4.2.2. Kvadrupolni analizator masa

Kvadrupolni analizator masa (q) sačinjen je od četiri paralelne elektrode dijagonalno električki povezane gdje su dvije nasuprotne elektrode pozitivnog polariteta, a preostale dvije negativnog polariteta. Dodatno se na dijagonalno suprotne elektrode primjenjuje radiofrekventni potencijal izmjenične struje napona za  $180^\circ$  izvan faze. Time se u analizatoru masa stvara oscilirajuće električno polje koje omogućuje selekciju iona specifičnih vrijednosti  $m/z$ . Manipulacijom amplitude struje i radiofrekvencije, ioni specifičnih  $m/z$  postižu rezonanciju i tako nesmetano odlaze do detektora čime se kao rezultat analize dobije spektar masa (MS). Istovremeno se nerezonantni ioni sudaraju s elektrodama suprotnog polariteta i neutraliziraju.

#### 2.4.2.3. Trovalni analizator masa

Spektrometri masa mogu sadržavati dva ili više analizatora masa. Trovalni analizator masa (eng. *TriWave*) omogućuje akumuliranje, propuštanje, razdvajanje i fragmentaciju iona te ujedno služi kao ionska stupica (eng. *Ion Trap*). Odabirom specifičnih  $m/z$  u kvadrupolu, ioni se prije dolaska do detektora zadržavaju u ionskoj stupici gdje se nakon toga ioni iste mase pomoću pokretljivosti iona visoke djelotvornosti (eng. *High-efficiency Ion Mobility*) razdvajaju na osnovi njihove veličine, strukture i naboja. Unutar trovalnog analizatora također se odvija i fragmentacija iona odabranih  $m/z$  pomoću kolizijske energije. Veličina fragmenata ovisi o energiji i stabilnosti veza, strukturi molekule analita i prisutnim funkcionalnim grupama, a mogu nastati pod utjecajem različitih principa cijepanja molekula. Kolizijom inducirana disocijacija (eng. *Collision Induced Dissociation*, CID) vrsta je fragmentacije pri kojoj se molekule uzorka sudaraju s atomima prirodnog plina, najčešće dušika. Zatim se fragmenti uvode u treći spregnuti analizator gdje se ponovo razdvajaju na osnovi željenog omjera  $m/z$  i uvode u detektor. Rezultat analize fragmenata specifične molekule je tandemni spektar masa (MS/MS).



#### 2.4.2.4. Analizator vremena leta

Analizator vremena leta (eng. *Time Of Flight*, TOF) omogućava razdvajanje iona na temelju brzine putovanja iona, od trenutka ulaska u TOF analizator do njihove detekcije. Nastali se ioni pri ulasku u TOF analizator ubrzavaju stalnim električnim poljem i tako putuju prema detektoru. S obzirom na to da svi ioni prelaze jednaku udaljenost, od trenutka ulaska u analizator do detekcije, njihovo razdvajanje ovisi samo o omjeru  $m/z$ . Povećanje razlučivost postiže se tako da se ioni reflektiraju na ionskom zrcalu unutar analizatora kako bi njihovo vrijeme leta bilo duže, a ioni slične mase i naboja se što bolje razdvojili u vremenu. Ionsko zrcalo sačinjeno je od niza prstenastih elektroda, a ujedno omogućava da ioni istih masa i naboja, ali različitih kinetičkih energija, dođu istovremeno do detektora. Ioni većih kinetičkih energija, tj. veće brzine, prodiru dublje u ionsko zrcalo zbog čega se dulje zadržavaju. Tako će ioni istih masa i naboja, ali različiti kinetičkih energija doći do detektora u isto vrijeme.<sup>38</sup>

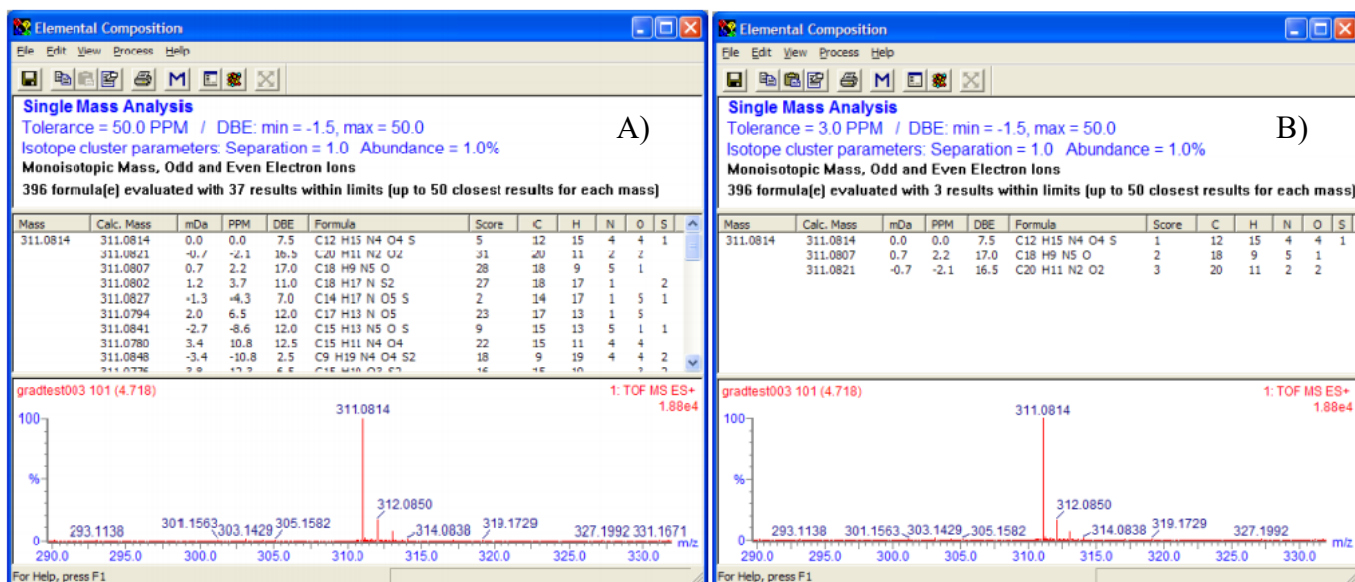
## 2.5. Elementna analiza

Kvalitativna analiza obuhvaća sve metode koje određuju od kojih je kemijskih elemenata sastavljena ispitivana tvar. Klasične kvalitativne kemijske analize provode se kemijskim reakcijama u kojima nastaje specifičan i najčešće golim okom uočljiv produkt. Tako se nakon reakcije stvara ili nestaje talog, mijenja boja otopine ili razvija specifičan plin. Te fizičke promjene pripisuju se nastanku specifičnog produkta, čime se zaključuje i utvrđuje prisustvo reaktanta i produkta. Klasične metode ne mogu se koristiti za identifikaciju širokog spektra analita i najčešće je potrebna velika količina uzorka kako bi eksperimentatoru promjene bile uočljive golim okom. Osim klasičnih metoda elementne analize danas se one najčešće provode instrumentalnim tehnikama koje se zasnivaju na detekciji karakterističnih fizikalno-kemijskih svojstva ispitivanog uzorka. Jedna od metoda je analiza temeljena na određivanju točne mase analita.<sup>43</sup>

Točna masa definira se poželjno na četvrtu decimalu mase spoja, gdje je npr. vodik nominalne mase 1 Da, a točne mase 1,0078 Da. Različiti se spojevi iste nominalne mase, ali različite točne mase (npr. ugljikov monoksid 27,9949 Da; molekula dušika 28,0061 Da; eten 28,0313 Da) mogu odrediti samo ako je mjerni instrument visoke točnosti, osjetljivosti i razlučivosti.

## 2.5.1. Elementna analiza spektrometrijom masa

Elementna analiza SYNAPT G2-Si spektrometrom masa započinje eksternom kalibracijom koja se provodi mjerenjem otopine natrijeva jodida (NaI). Ioni natrijeva jodida u otopini tvore ionske klastere poznatih masa u rasponu od 100-5000  $m/z$ . Tijekom analize uzoraka, provodi se i interna kalibracija zaključanom masom (eng. *Lock Mass*) otopine leucin enkefalina ( $C_{28}H_{37}N_5O_7$ ). Točna masa negativnog iona leucin enkefalina iznosi ( $[M-H]^-$ ) 554,2615 Da, a pozitivnog iona ( $[M+H]^+$ ) 556,2771 Da. Eksternom i internom kalibracijom osigurava se točno mjerenje mase analiziranih analita točnosti na treću ili poželjno četvrtu decimalu, što omogućuje njihovu kvalitativnu analizu. Prema dobivenim rezultatima točne mase i elementa koji pretpostavljeno mogu činiti molekulu, računalni sustav predlaže sve moguće spojeve u okviru mjerene pogreške masa. Rezultati pretrage s relativno velikom pogreškom od 5 ppm naviše ukazuju na izuzetno veliki broj mogućih kombinacija elemenata (slika 10), što eksperimentatoru ne može ukazati na prisustvo specifične molekule u analiziranom uzorku. Pretragom rezultata točnih masa mjerenih s pogreškom od 5 ppm i manje, dobiva se uzak raspon struktura, čija se točnost može provjeriti cijepanjem i analizom specifičnih fragmenata MS/MS analizom.



**Slika 10.** Primjer rezultata elementne analize provedene SYNAPT G2-Si instrumentom (A) pretragom točnosti mase od 50 ppm i (B) pretragom točnosti mase od 3 ppm. (Ilustracija preuzeta i prilagođena prema literaturnom izvoru)<sup>44</sup>

### 2.5.2. Određivanje elementnog sastava putem točnosti masa i izotopne raspodjele („MassLynx“ programski alat)

Programski alat „MassLynx“ koristi se prilikom obrade spektara dobivenih na spektrometrima masa visoke rezolucije u svrhu određivanja elementnog sastava nepoznatih analiziranih molekula. Različiti potprogrami „MassLynx“ programskog alata koriste se za dodatnu manipulaciju dobivenih rezultata analize. Tako se iz kromatograma ili spektra može npr. ukloniti pozadinski šum te prikazati spektar specifičnog pika u kromatogramu.

Potprogram „Elemental Composition“ koristi se za predviđanje elementnog sastava odabranog pika analiziranog spektra. Dobivene vrijednosti mase, izotopne raspodjele i ekvivalenta dvostruke veze (eng. *Double Bond Equivalent*, DBE) uspoređuju se s teorijskim vrijednostima i rangiraju s obzirom na vjerojatnost pojave predloženog spoja u pripadnom spektru. Rangiranje rezultata tako ovisi o:

- razlici dobivene mase pika i teorijske mase predloženog spoja izražena je u relativnim ppm vrijednostima,
- DBE vrijednosti koja je mjera nezasićenosti organske molekule, odnosno određuje broj prisutnih  $\pi$  veza i cikličkih struktura u organskoj molekuli,<sup>45</sup>

$$DBE = (a + 1) - \frac{b - c + f}{2}$$

a predstavlja broj ugljikovih atoma, b vodikovih atoma, c halogenih elemenata i f broj atoma dušika ili fosfora u molekuli.

- algoritmu i-FIT koji se koristi za prikaz predloženog elementnog sastava na temelju podudarnosti izotopne raspodjele predloženog spoja s klasterom pikova izotopa dobivenih u analizi spektrometrom masa. Temelji se na modelu distribucije izotopa koji predviđa broj atoma određenog elementa i opisana je sljedećom formulom:

$$(a_1 + a_2 + a_3 + \dots)^m (b_1 + b_2 + b_3 + \dots)^n (c_1 + c_2 + c_3 + \dots)^o \dots$$

gdje a, b i c predstavljaju pojedinačni izotopni element, a m, n i o broj pojedinog elementa u molekuli.<sup>46</sup> Zaključno, algoritam i-FIT daje podatke o molekularnoj formuli, masi i izotopnoj raspodjeli iz spektralnih pikova, a što je i-FIT vrijednost niža to je podudarnost dobivenih vrijednost veća s teorijskom izotopnom raspodjelom predloženog spoja.

## § 3. MATERIJALI I METODE

### 3.1. Kemikalije

Tijekom provedbe analize degradacijskih produkata nastalih ozračivanjem uzorka rosvastatina, korištene su sljedeće kemikalije: rosvastatin (> 99%, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, SAD), natrijev dihidrogenfosfat ( $\geq 98\%$ , Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, SAD), dušikov oksid visoke čistoće, acetonitril ( $\geq 99,9\%$ , Merck Milipore, Burlington, MA, SAD), Milli-Q voda (18 M $\Omega$  cm, Merck Milipore, Burlington, MA, SAD), mravlja kiselina (> 98%, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, SAD), leucin enkefalin (> 98%, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, SAD).

### 3.2. Materijali

0,5 mL Microcon-10 kDa filter s Ultracel-10 membranom (Merck Milipore, Burlington, MA, SAD), Nano Ease™ 5 $\mu$ m XBridge™ BEH130 C18 promjera 300  $\mu$ m x 50 mm (Waters, Milford, MA, USA), 1,5 mL LCGC 12 x 32 mm vijala (Waters, Milford, MA, USA).

### 3.3. Instrumentacija i programski alati

Instrumentacija prilikom izrade eksperimenta: Vortex mixer MS 3 Basic (IKA, Königswinter, Njemačka), centrifuga 5415 R (Eppendorf, Hamburg, Njemačka), panoramski izvor gama zračenja s  $^{60}\text{Co}$ , nanoAcquity UPLC sustav (Waters, Milford, MA, USA), ESI-qTOF SYNAPT G2-Si spektrometar masa (Waters, Milford, MA, USA) opremljen programskim alatom „MassLynx“ verzije 4.1. SCN902 (Waters, Milford, MA, USA) uz mogućnost pretrage rezultata u „Elemental Composition“ i „MassFragment“ potprogramima.

### 3.4. Priprava uzorka

Otopina rosuvastatina koncentracije  $0,2 \text{ mmol dm}^{-1}$  priređena je otapanjem spoja u puferskoj otopini natrijeva dihidroksifosfata  $0,01 \text{ mg mL}^{-1}$  (pH 6,5). Zatim je 3 mL vodene otopine rosuvastatina propuhano 15 min s  $\text{N}_2\text{O}$  nakon čega je provedeno ozračivanje uzoraka gama zrakama. Nakon ozračivanja, alikvot od 100  $\mu\text{L}$  uzorka je vorteksiran i pročišćen pomoću Microcon-10 kDa filtera od mogućih prisutnih soli i onečišćenja, centrifugiran te prebačen u vijalu za analizu pomoću ESI-qTOF SYNAPT G2-Si.

#### 3.4.1. Ozračivanje rosuvastatina

Zračenje uzoraka provedeno je u Laboratoriju za radijacijsku kemiju i dozimetriju (LRKD) Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu (Hrvatska), na panoramskom  $^{60}\text{Co}$  izvoru gama zračenja. Brzina doze na panoramskom izvoru određena je ionizacijskom komorom tipa 2581 uz pripadajući Farmer dozimetar 2570.<sup>47,48</sup> Za dozimetrijsko mjerenje korišten je kemijski dozimetar na bazi etanol-klorbenzena,<sup>49</sup> otkriven i istražen u Institutu te se koristi u svijetu kao standard ASTM/ISO 51538:2017 za dozimetriju i topografiju polja zračenja potrebnu za primjene radijacijskih tehnologija. Temperatura komore za ozračivanje iznosila je  $18 \text{ }^\circ\text{C}$ . Izvor zračenja sastoji se od vertikalnog cilindričnog sklopa sastavljenog od 24 nosača sa šipkama punjenim kapsulama  $^{60}\text{Co}$ . Izvor se iz svog sigurnog položaja iz podzemnog spremišta dovodi u radni položaj pomoću elektromotornog pogona pri čemu se nosači  $^{60}\text{Co}$  podižu u prostoriju za ozračivanje uzoraka. Uzorak u volumenu od 3 mL zračen je u centru izvora radijacijskom dozom od 500 Gy, gdje je postignuta najveća brzina doze od oko  $6,55 \text{ Gy s}^{-1}$ .

### 3.5. Spregnuti sustav *nano*UPLC s tandemnim spektrometrom masa

Uzorak rosuvastatina ozračenog gama zrakama analiziran je spregnutim sustavom *nano*UPLC s tandemnim spektrometrom masa. Dobiveni degradacijski produkti prvo su kromatografski odijeljeni u vremenu, nakon čega je uslijedila njihova detekcija spektrometrom masa. Dobiveno je retencijsko vrijeme elucije kao i točne mase degradacijskih produkata rosuvastatina.

#### 3.5.1. Kromatografski parametri

Degradacijski produkti međusobno su separirani na Waters *nano*Acquity UPLC sustavu s brzinom protoka  $3 \mu\text{L min}^{-1}$  koristeći Nano Ease™  $5 \mu\text{m}$  XBridge™ BEH130 C18,  $300 \mu\text{m} \times 50 \text{ mm}$  kromatografsku kolonu. Ukupna analiza trajala je 30 min uz gradijntnu eluciju pokretne faze koja se sastoji od 99,9%  $\text{H}_2\text{O}$  i 0,1% mravlja kiselina kao otapalo A te 95% acetonitril i 0,1% mravlja kiselina u  $\text{H}_2\text{O}$  kao otapalo B (tablica 2). Volumen uzorka od  $3 \mu\text{L}$  injektiran je direktno, bez kolone klopke (eng. *Trap Column*, TC). *nano*UPLC sustav bio je spregnut ESI-qTOF SYNAPT G2-Si spektrometrom masa. Postavljeni su parametri instrumenta koristeći se „MassLynx“.

**Tablica 2.** Vremenski gradijent miješanja otapala kanala A i B korišten tijekom *nano*UPLC analize ozračenog uzorka rosuvastatina.

Vrijeme / min	Brzina protoka / $\mu\text{L min}^{-1}$	Otapalo A / %	Otapalo B / %	Nagib
Početno	3,000	80,0	20,0	0
0,10	3,000	80,0	20,0	6
3,00	3,000	80,0	20,0	6
24,00	3,000	45,0	55,0	6
27,00	3,000	1,00	99,0	6
29,00	3,000	80,0	20,0	6
32,00	3,000	80,0	20,0	6

## 3.5.2. Spektrometrija masa

Pri LC-MS analizi korištena je „High Resolution“ akvizicijska metoda. Postavljeni parametri su sljedeći: pozitivni način ionizacije u rasponu masa od 50 Da do 1000 Da, protok plina dušika za desolvataciju od 1,0 bar pri temperaturi od 150 °C, napon kapilare 4,2 kV i napon konusa 40 V. Brzina snimanja spektara iznosila je jednu sekundu. Kalibracija podataka, radi točnog određivanja masa, vršena je pomoću leucin enkefalina (koncentracija 1 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ , protok od 0,4  $\mu\text{L min}^{-1}$ , 556,2771 Da  $[\text{M} + \text{H}]^+$  i 120-0813 Da  $[\text{M} + \text{H}]^+$ ).

Jednaki parametri korišteni su za LC-MS/MS analizu pri fragmentaciji sedam masa od interesa, uočenih nakon prvotne LC-MS analize uzorka. Brzina snimanja spektara iznosila je 0,5 sekundi. Elementna analiza provedena je „MassLynx“ programskim alatom nakon fragmentiranja degradacijskih produkata uz primjenu 20–45 keV kolizijske energije (tablica 3). Dobiveni spektri procesirani su pomoću „MassLynx“ u „MassFragment“ kao „Pattern Based Implementation“ i „Elemental Composition“ potprogramima za identifikaciju nastalih produkata ionskih fragmenata. Elementna analiza u „Elemental Composition“ potprogramu određen je parametrima navedenih u slici 11.

MS i MS/MS analiza ukupnih detektiranih iona, kao i MS i MS/MS analiza elementnog sastava ponovljena je tri puta kao potvrda rezultata i točnosti analize.

The screenshot shows the 'Element Limits' configuration window in MassLynx. The 'Symbol Parameters' tab is selected. The 'Element Limits' section contains a table with columns for 'From' and 'To' mass ranges for various elements. The 'Tolerance' is set to 5 PPM, and the 'Number of Results to Display' is 50. The 'Element Prediction Filters' section is also visible, showing options for 'Use Filters', 'Carbon Range ±', and 'Sulfur'.

Element	From	To	Element	From	To
<input checked="" type="checkbox"/> C	0	500	<input checked="" type="checkbox"/> S	0	6
<input checked="" type="checkbox"/> H	0	1000	<input type="checkbox"/> Si	0	1
<input checked="" type="checkbox"/> N	0	200	<input checked="" type="checkbox"/> F	0	1
<input checked="" type="checkbox"/> O	0	200	<input checked="" type="checkbox"/> Cl	0	8
<input type="checkbox"/> P	0	1	<input checked="" type="checkbox"/> Br	0	8

Slika 11. Parametri korišteni prilikom elementne analize dobivenih  $m/z$  u MS/MS analizi.

**Tablica 3.** Fragmentirane mase u MS/MS i pripadno trajanje analize uz jačinu kolizijske energije korištene za njihovo cijepanje.

Masa / Da	Vremensko razdoblje analize / min	Kolizijska energija / keV
436,1707	12,0 – 23,0	20 – 35
480,1602	12,0 – 23,0	20 – 45
480,1806	12,0 – 15,0	20 – 45
482,1764	17,0 – 18,5	20 – 45
498,1709	12,0 – 13,0	20 – 45
500,1865	12,0 – 13,0	20 – 45
514,1655	12,0 – 15,0	20 – 35

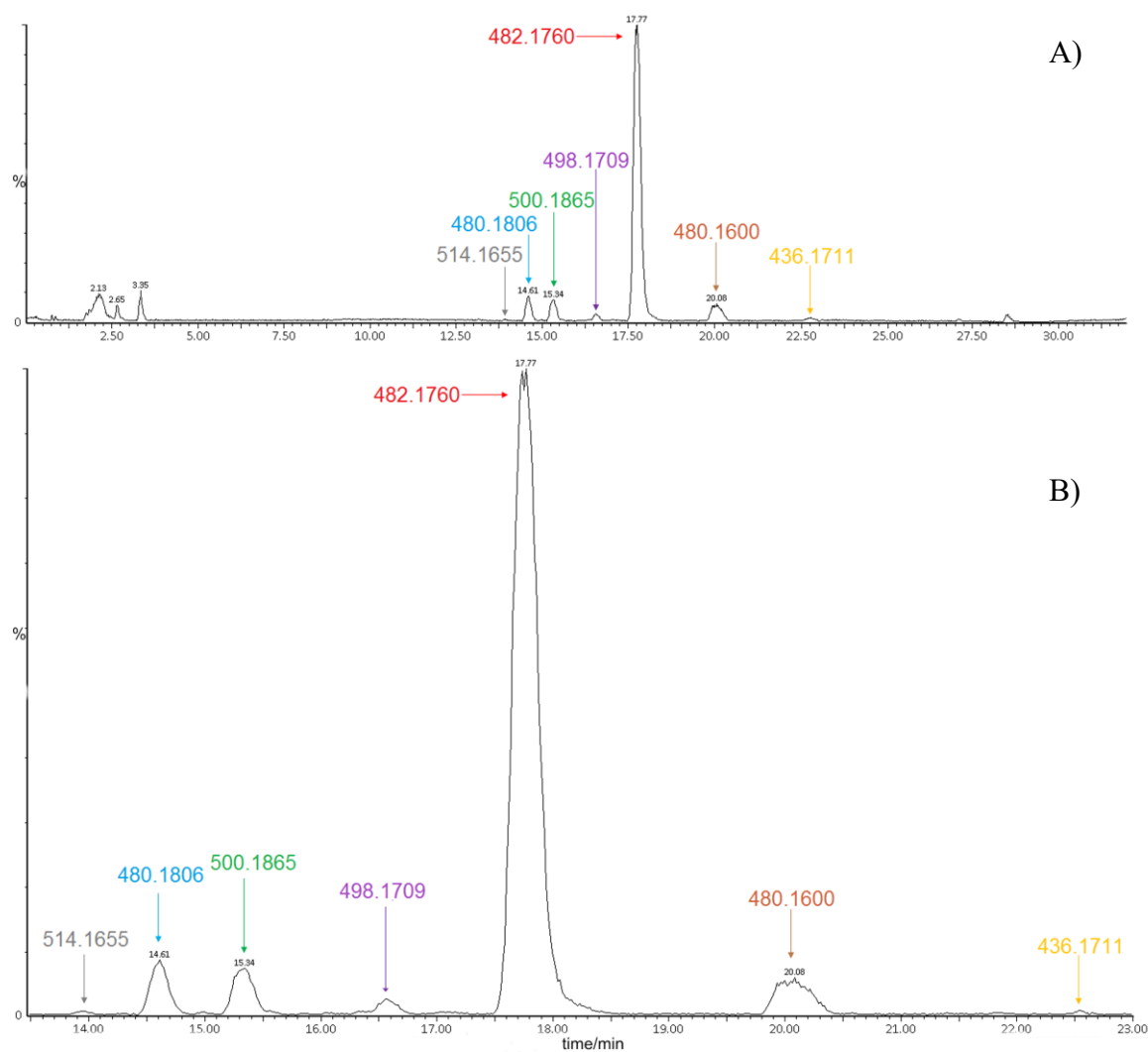


## § 4. REZULTATI I RASPRAVA

U svrhu ispitivanja stabilnosti, prvi je puta proveden eksperiment ozračivanjem molekule rosuvastatina gama zrakama. Zračenje je vršeno pomoću  $^{60}\text{Co}$  izvora, a uzorak RSV u koncentraciji od  $0,2 \text{ mmol dm}^{-1}$  analiziran je *nanoAcquity* UPLC sustavom uz ESI-qTOF SYNAPT G2-Si spektrometrom masa. Kromatografski je identificirano sedam pikova što ukazuje da je, uz pik rosuvastatina, nastalo šest degradacijskih produkata. MS analizom spektrometrije masa analiziran je pojedini ekstrahirani ionski pik, čime je utvrđena točna masa pojedinog produkta rosuvastatina. Tandemnom spektrometrijom masa zasebno su degradacijski produkti fragmentirani kolizijskom energijom. Iz dobivenog MS/MS spektra, identificirane su pripadne mase fragmenata pomoću u „MassLynx“ programskog alata kao „Elemental Composition“ i „MassFragment“. Predložene strukture pridružene su MS/MS spektrima, čime se jasno može dokazati prisutnost specifičnih degradacijskih produkata. Na temelju polaznog spoja rosuvastatina i dobivenih produkata, predloženi su mogući reakcijski mehanizmi koji su djelovali tijekom ozračivanja polazne molekule.

#### 4.1. Kromatografsko razdvajanje degradacijskih produkata rosuvastatina

Primjenom gradijentne kromatografske metode razdvajanja degradacijskih produkata dobiveno je sedam razdvojenih pikova retencijskog vremena u maksimumu visine pika: 13,95, 14,61, 15,34, 16,59, 17,77, 20,08 i 22,55 min. Pretpostavljeno je da dominantni ionski pik retencijskog vremena 17,77 min pripada rosuvastatinu, čija bi koncentracija u uzorku trebala biti najveća. Ekstrahirani ionski kromatogrami, poput kromatograma na slici 12, sadrže i informacije o MS spektrima koji su detektirani svake 0,5 sekunde tijekom cjelokupne analize od 30 minuta.



**Slika 12.** (A) ekstrahirani ionski kromatogram  $0,2 \text{ mmol dm}^{-1}$  RSV nakon ozračivanja s gama zrakama od  $500 \text{ Gy}$  pri brzini radijacijske doze od  $6,55 \text{ Gy s}^{-1}$ . (B) uvećani prikaz ekstrahiranog ionskog kromatograma (A) od 13,5 do 23,0 min. Pikovima retencijskog vremena: 13,95, 14,61, 15,34, 16,59, 17,77, 20,08 i 22,55 min, pridružena je MS analizom utvrđena masa pojedinog degradacijskog produkta.

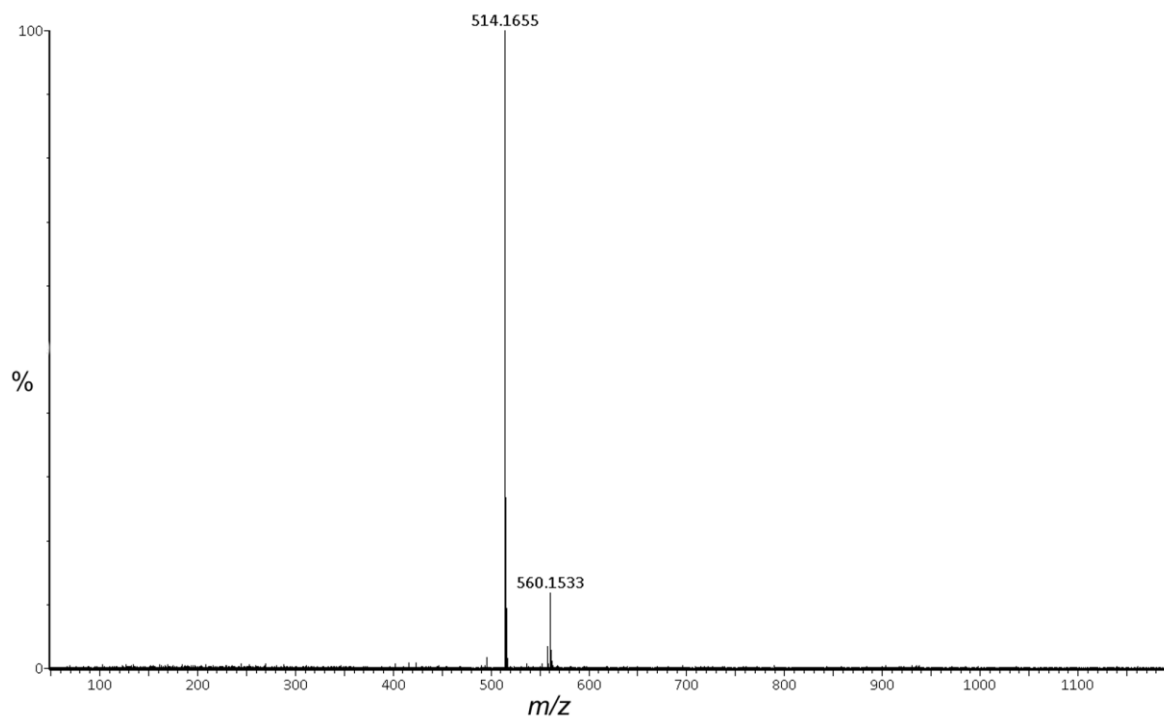
## 4.2. Spektri masa ekstrahiranih ionskih pikova od interesa

MS spektri dobiveni su uklanjanjem spektra bazne linije (vrijeme analize od 11,00 do 11,20 min) od spektra pripadnog ionskog kromatografskog pika, kako bi se uklonio nepoželjan šum i interferencije prisutnih u otapalima. Masa najintenzivnijeg pika iz svakog MS spektra uzeta je kao masa mogućeg degradacijskog produkta rosuvastatina nastalih nakon ozračivanja gama zrakama. Najintenzivnije mase kromatograma ionske struje ekstrahiranih ionskih pikova s retencijskim vremenima pikova prikazani su u tablici 4, a MS spektri ekstrahiranih pikova prikazani su u slikama od 13-19.

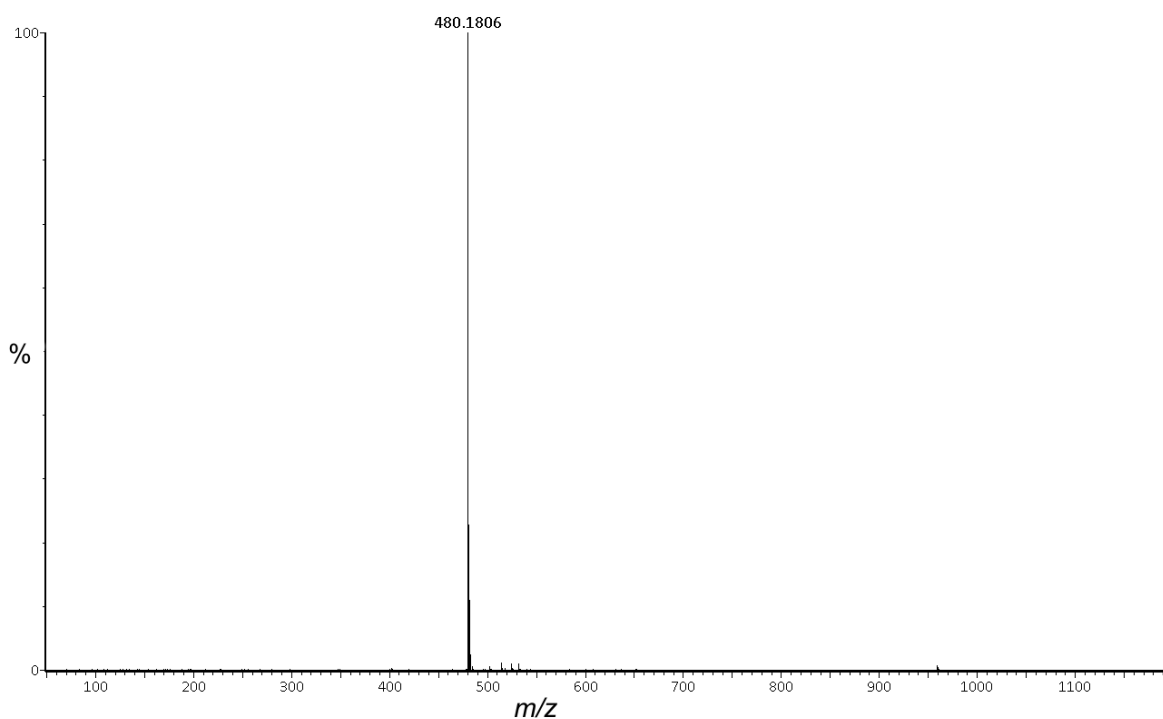
Najintenzivniji pik  $m/z$  498,1706 prisutan je u dva spektra (retencijskog vremena 15,34 i 16,59), stoga je u spektru retencijskog vremena od 15,34 promatran samo  $m/z$  500,1865 (slika 16). Teorijska monoizotopna masa  $[M + H^+]$  rosuvastatina iznosi 482,1761, a ona je uočena u vremenu analize od 17,77.

**Tablica 4.** Uočeni  $m/z$  promatranog spektra u pripadnom retencijskom vremenu, nakon uklanjanja spektra bazne linije od 11,00 do 11,20 min.

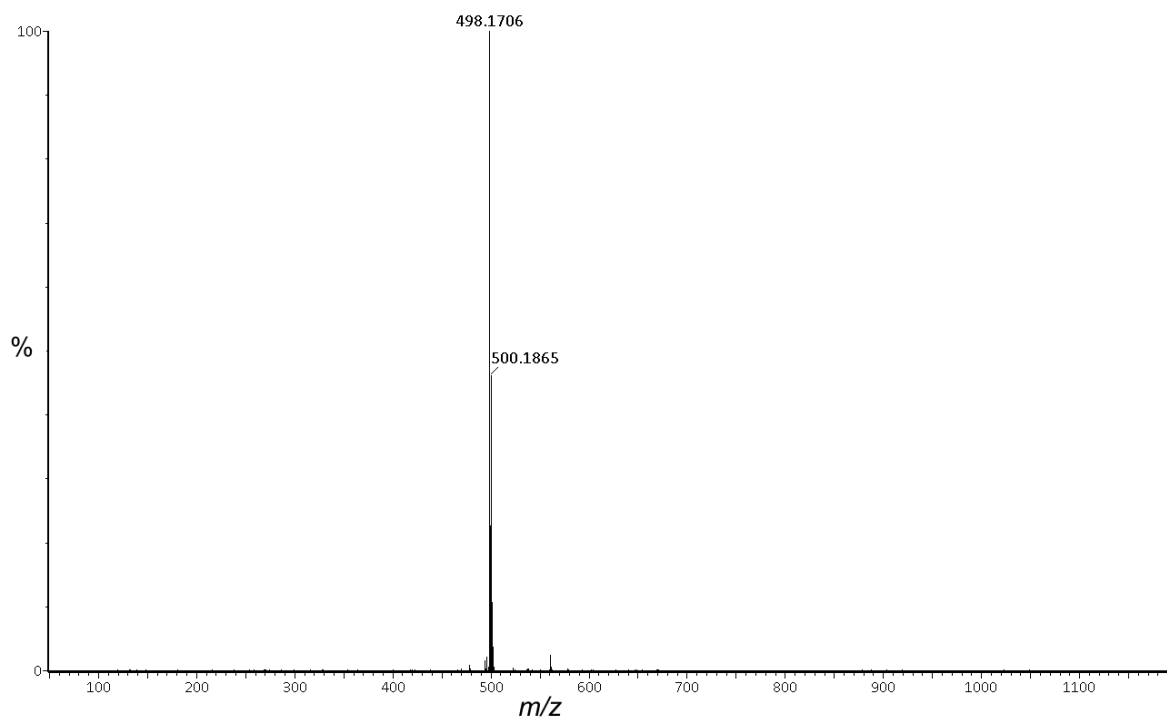
$m/z$	Retencijsko vrijeme / min
514,1655	13,95
480,1806	14,61
500,1865	15,34
498,1709	16,59
482,1764	17,77
480,1602	20,08
436,1707	22,55



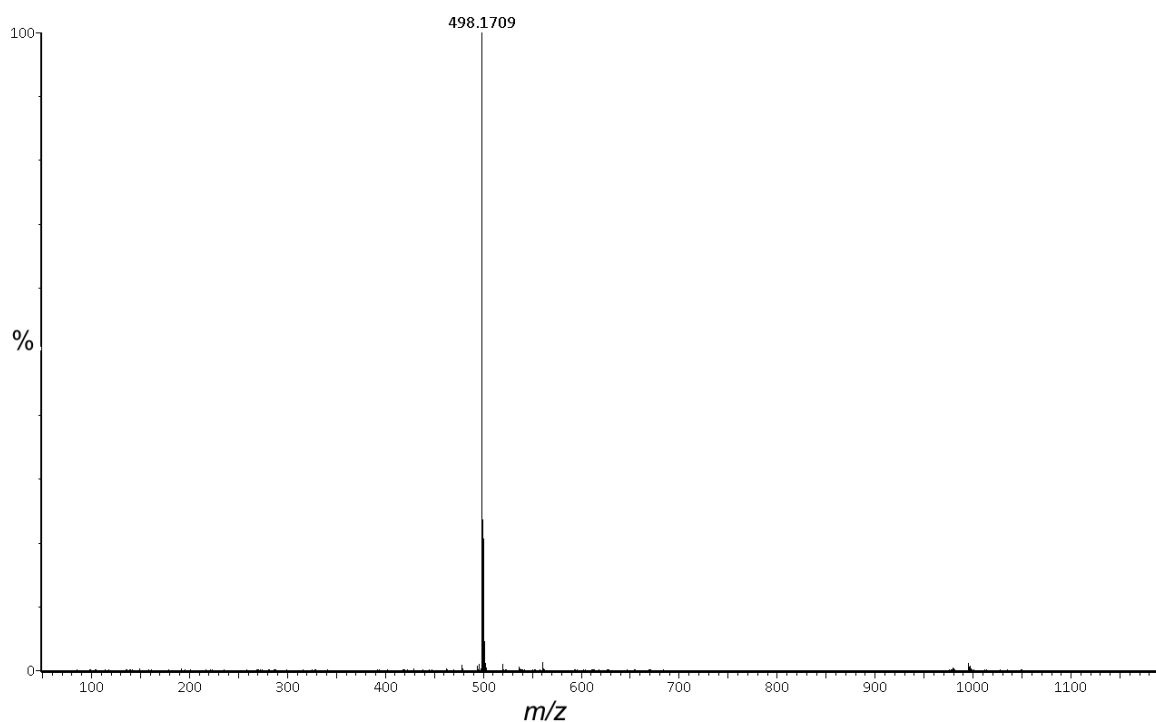
**Slika 13.** MS spektar ekstrahiranog ionskog pika u retencijskom vremenu od 13,95 min, kojemu su oduzeti spektralni pikovi u vremenu od 11,00 do 11,20 min s najintenzivnijim pikom  $m/z$  514,1655.



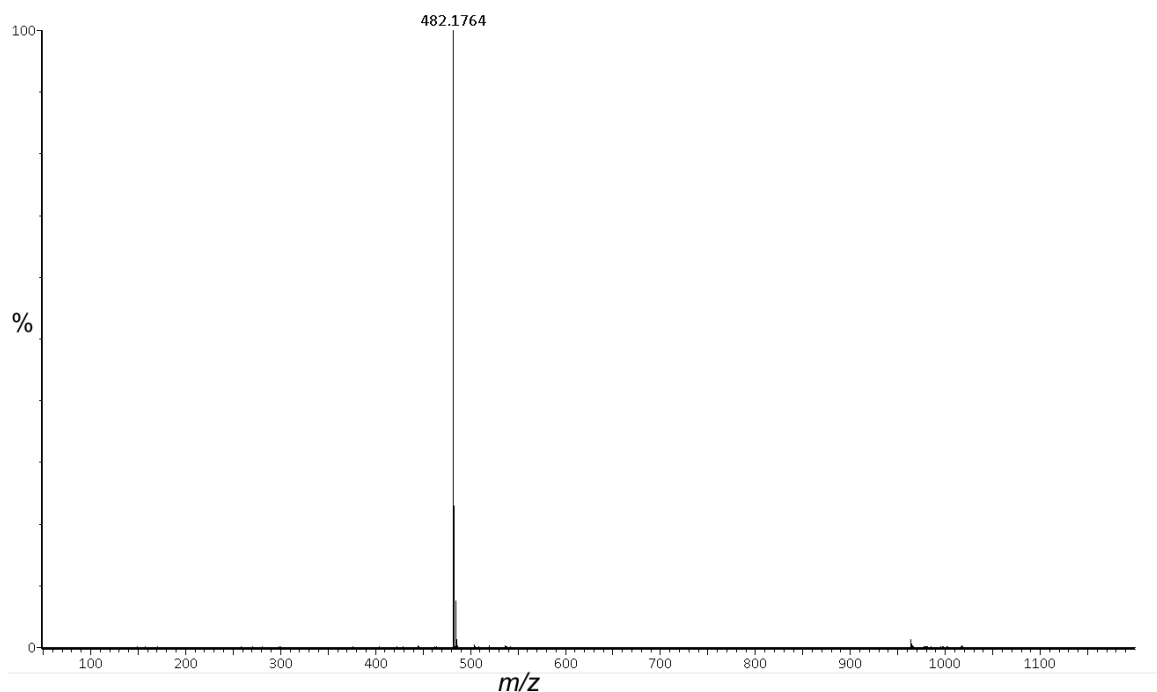
**Slika 14.** MS spektar ekstrahiranog ionskog pika u retencijskom vremenu od 14,61 min, kojemu su oduzeti spektralni pikovi u vremenu od 11,00 do 11,20 min s najintenzivnijim pikom  $m/z$  480,1806.



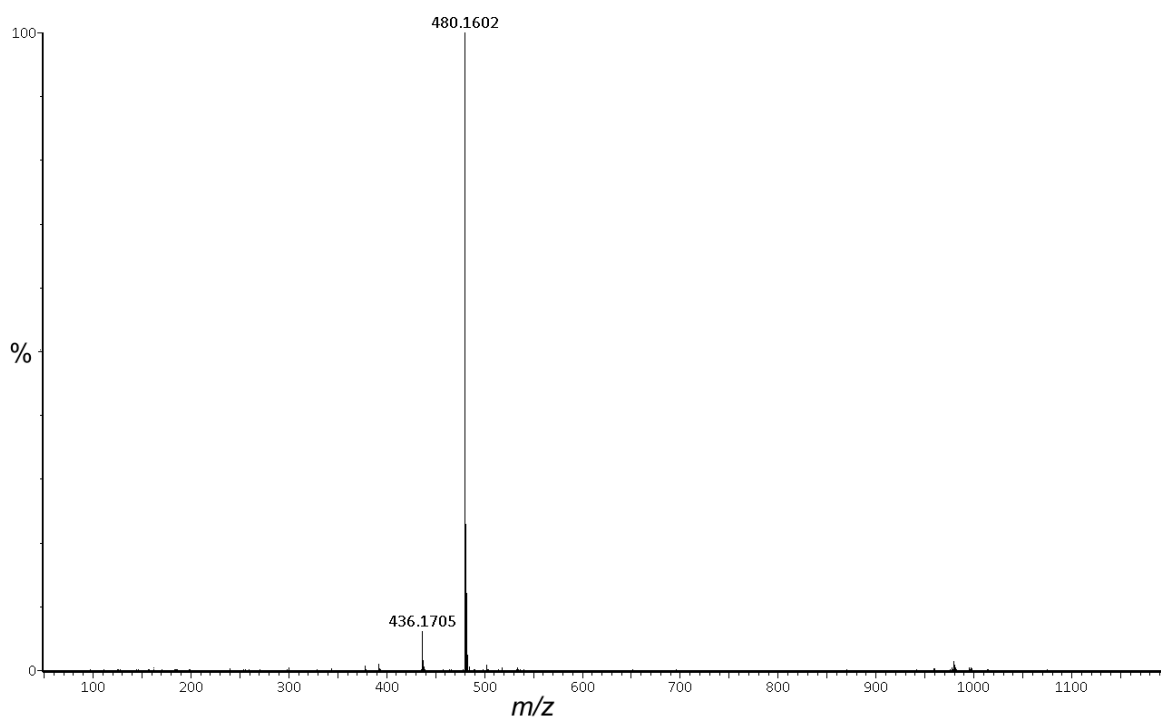
**Slika 15.** MS spektar ekstrahiranog ionskog pika u retencijskom vremenu od 15,34 min, kojemu su oduzeti spektralni pikovi u vremenu od 11,00 do 11,20 min s najintenzivnijim pikom  $m/z$  500,1865.



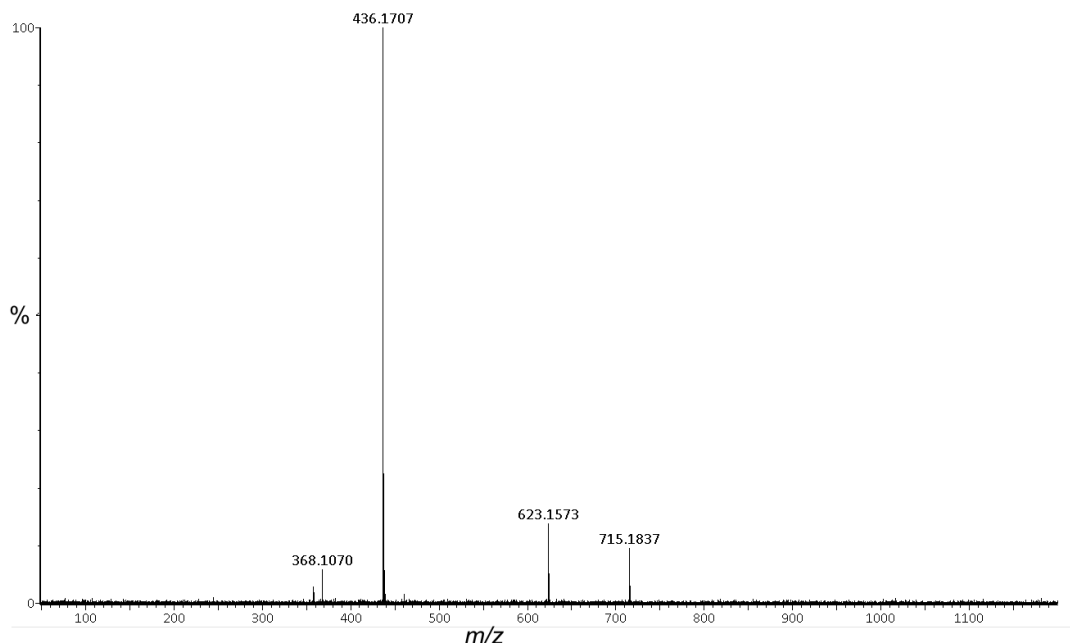
**Slika 16.** MS spektar ekstrahiranog ionskog pika u retencijskom vremenu od 16,59 min, kojemu su oduzeti spektralni pikovi u vremenu od 11,00 do 11,20 min s najintenzivnijim pikom  $m/z$  498,1709.



**Slika 17.** MS spektar ekstrahiranog ionskog pika u retencijskom vremenu od 17,77min, kojemu su oduzeti spektralni pikovi u vremenu od 11,00 do 11,20 min s najintenzivnijim pikom  $m/z$  482,1764.



**Slika 18.** MS spektar ekstrahiranog ionskog pika u retencijskom vremenu od 20,08 min, kojemu su oduzeti spektralni pikovi u vremenu od 11,00 do 11,20 min s najintenzivnijim pikom  $m/z$  480,1602.



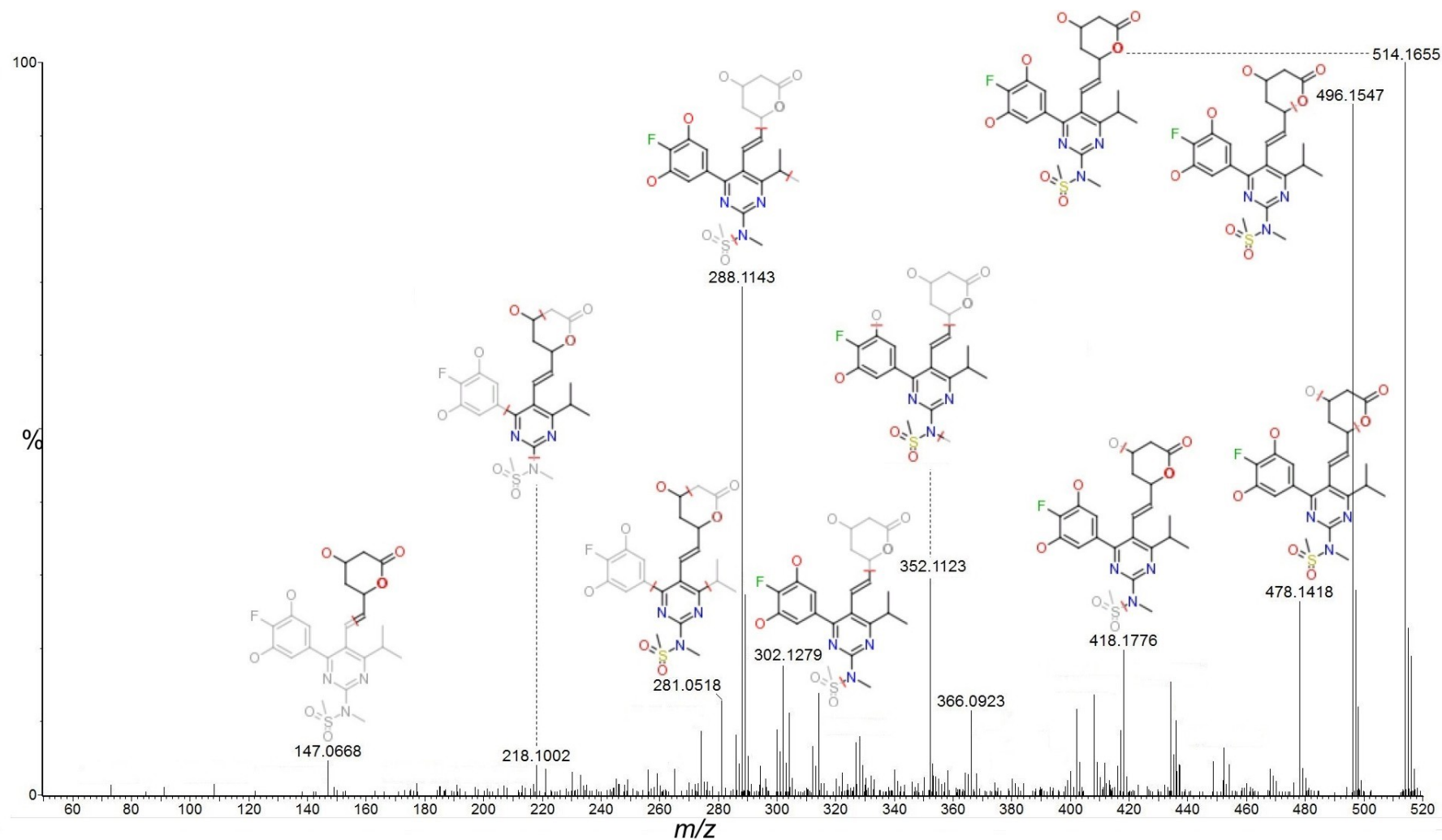
**Slika 19.** MS spektar ekstrahiranog ionskog pika u retencijskom vremenu od 22,55 min, kojemu su oduzeti spektralni pikovi u vremenu od 11,00 do 11,20 min s najintenzivnijim pikom  $m/z$  436,1707.

### 4.3. Analiza tandemnom spektrometrijom masa

MS analizi slijedila je fragmentacija spojeva uočenih najintenzivnijih pikova. Dobiveni su MS/MS spektri koji uz  $m/z$  ciljane molekule, sadrže i  $m/z$  fragmenata nastalih prilikom cijepanja ciljane molekule kolizijskom energijom. Mase fragmentnih pikova su s obzirom na točno mjerenje mase podvrgnute određivanju elementnog sastava pod jednakim uvjetima kao i najintenzivniji pikovi ekstrahirani iz MS kromatograma.

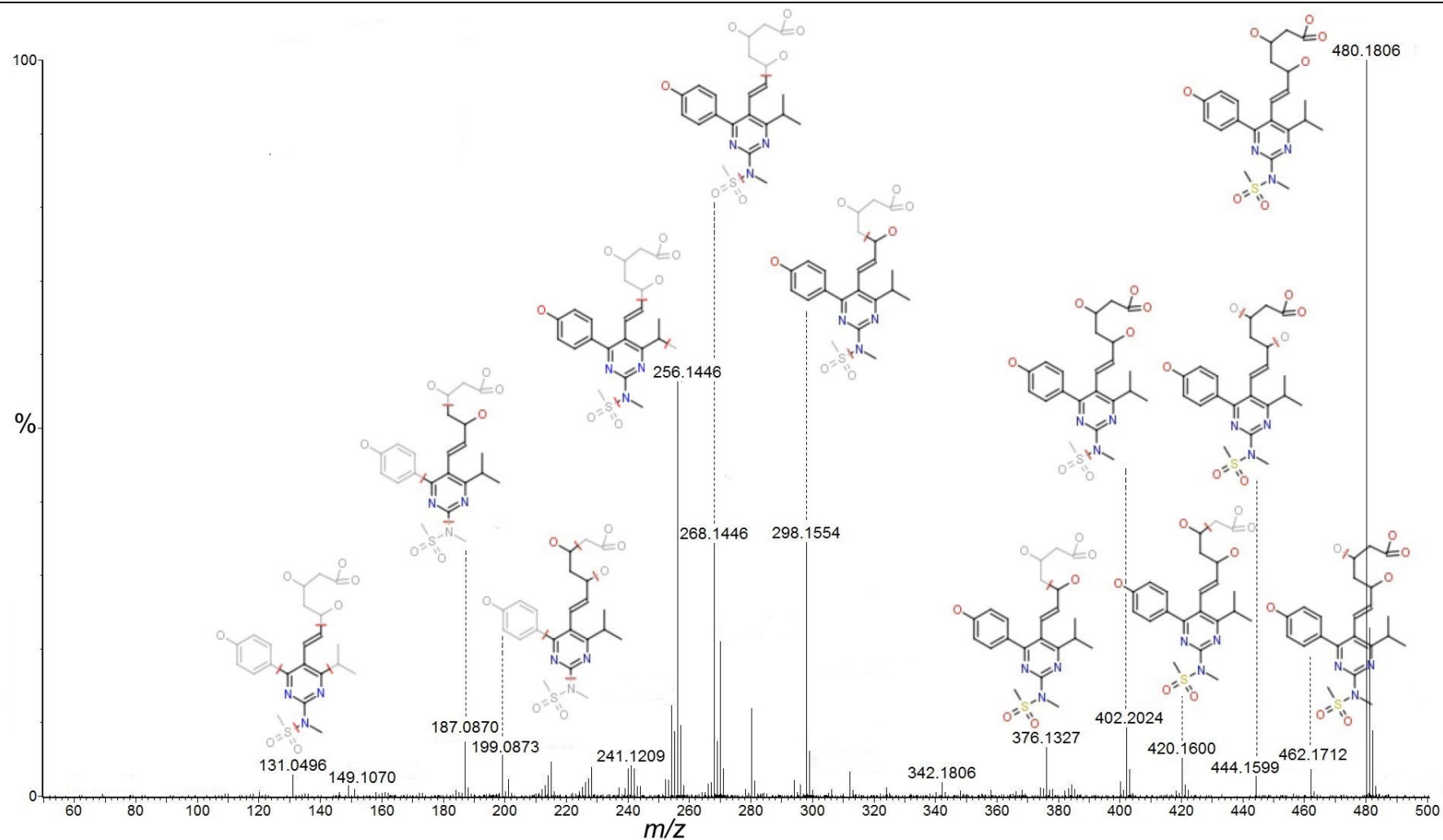
#### 4.3.1. Obrada podataka

MS/MS podaci obrađeni su pomoću „MassFragment“ kao „Pattern Based Implementation“. Dobiveni rezultat pretrage sadrže bodovni indeks, teorijsku masu i podatke o strukturi polazne molekule kao i strukture nastale tijekom fragmentacije MS/MS analizom. Bodovni indeks daje informacije o vjerojatnosti nastanka pojedinog fragmenta, a što mu je vrijednost manja, to je vjerojatnost pojave fragmenta veća. Iz rezultata pretrage, odabrane su strukture najnižeg bodovnog indeksa i one koje teorijskom masom najmanje odstupaju od onih dobivenih u eksperimentu (najmanja pogreška točne mase mjerena u relativnim ppm vrijednostima). Strukture pojedinog fragmenta pridružene su  $m/z$  pikovima u dobivenom MS/MS spektru (slike 20–26).

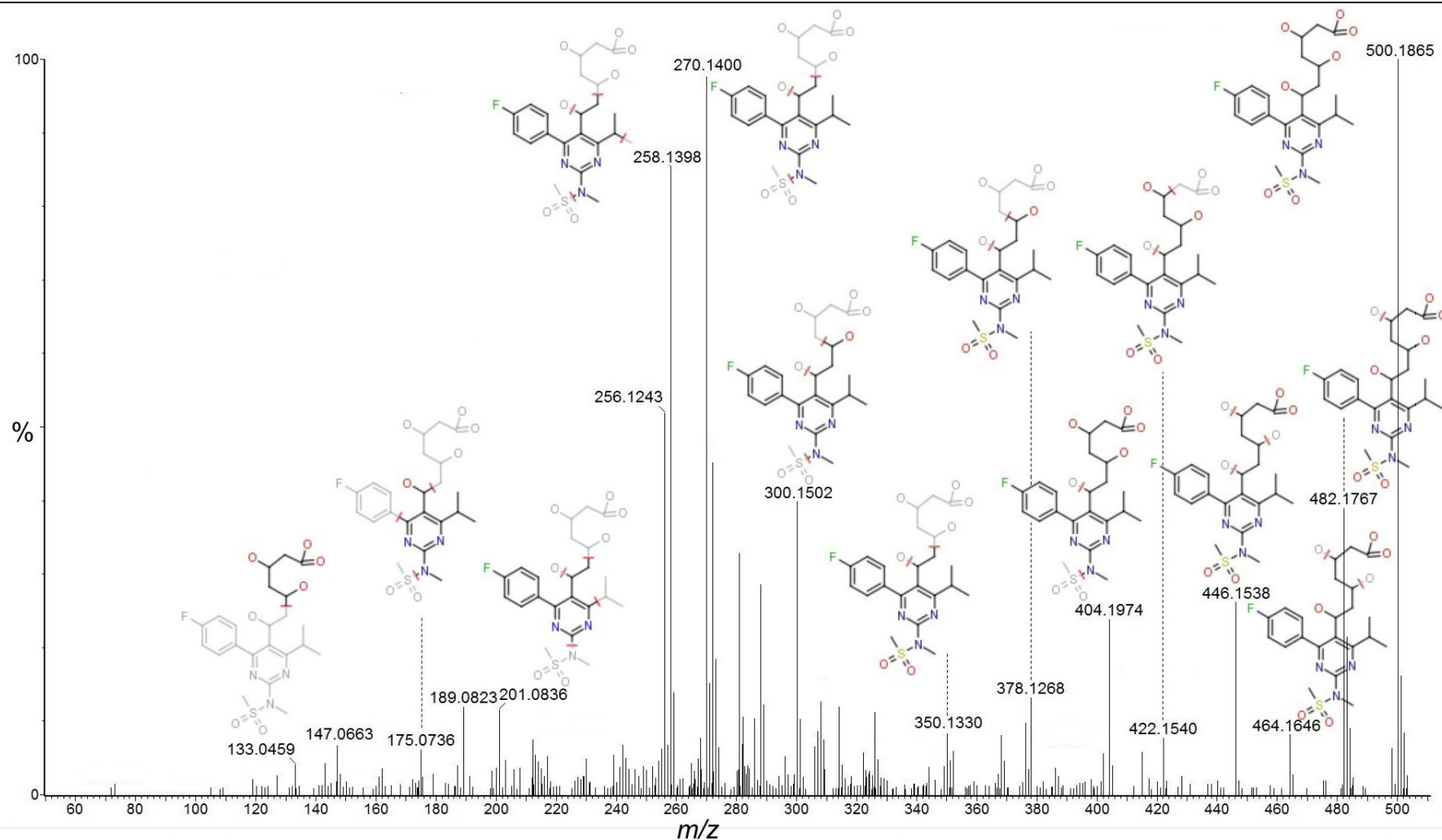


**Slika 20.** MS/MS spektar degradacijskog produkta rosvastatina  $m/z$  514,1655, uočenog MS analizom iz ekstrahiranog ionskog pika retencijskog vremena 13,95 min s pridruženim strukturama fragmenata, koje pokazuju mjesto cijepanja u odnosu na ion prekursor.

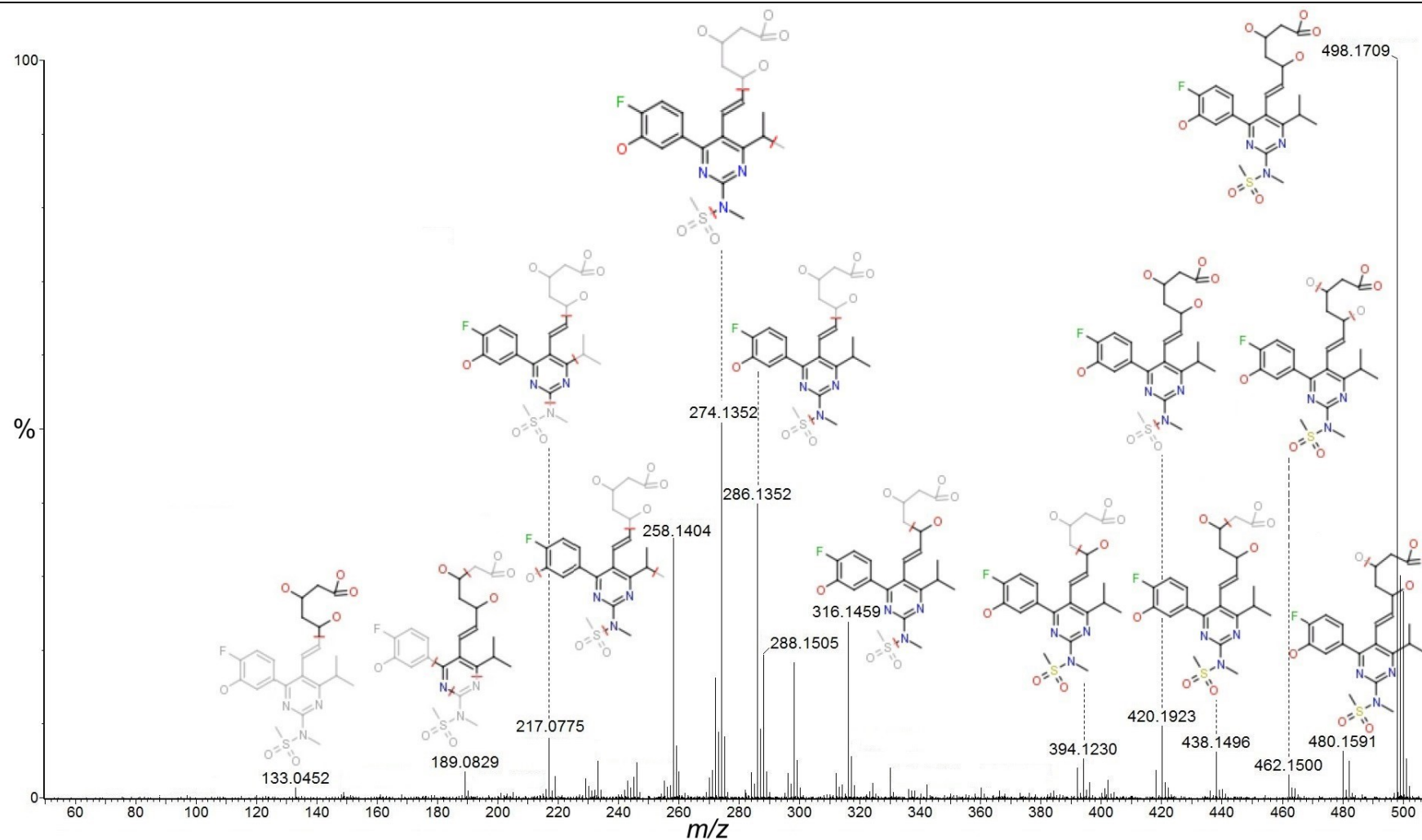




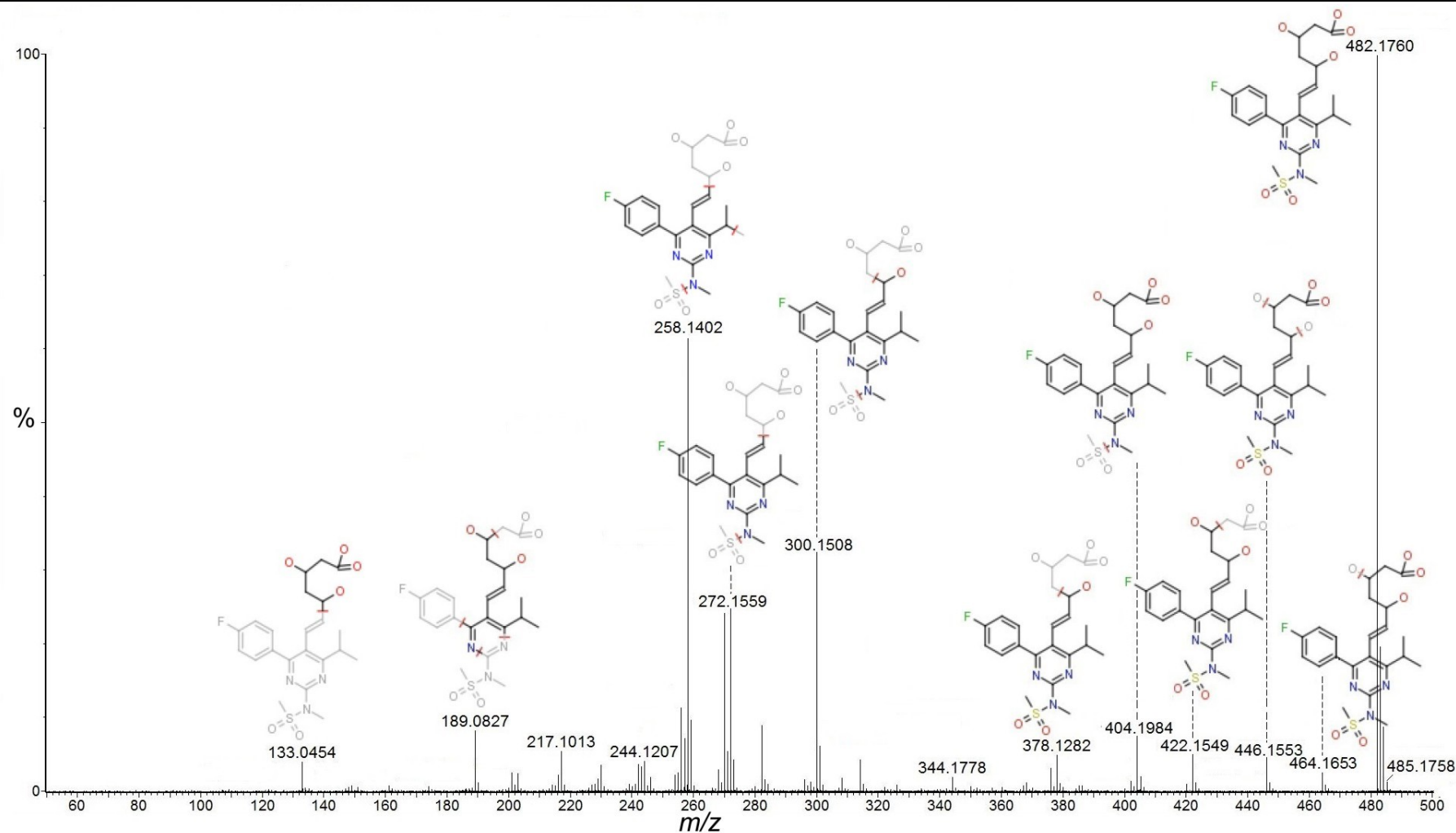
Slika 21. MS/MS spektar degradacijskog produkta rosuvastatina  $m/z$  480,1806, uočenog MS analizom iz ekstrahiranog ionskog pika retencijskog vremena 14,61 min s pridruženim strukturama fragmenata, koje pokazuju mjesto cijepanja u odnosu na ion prekursor.



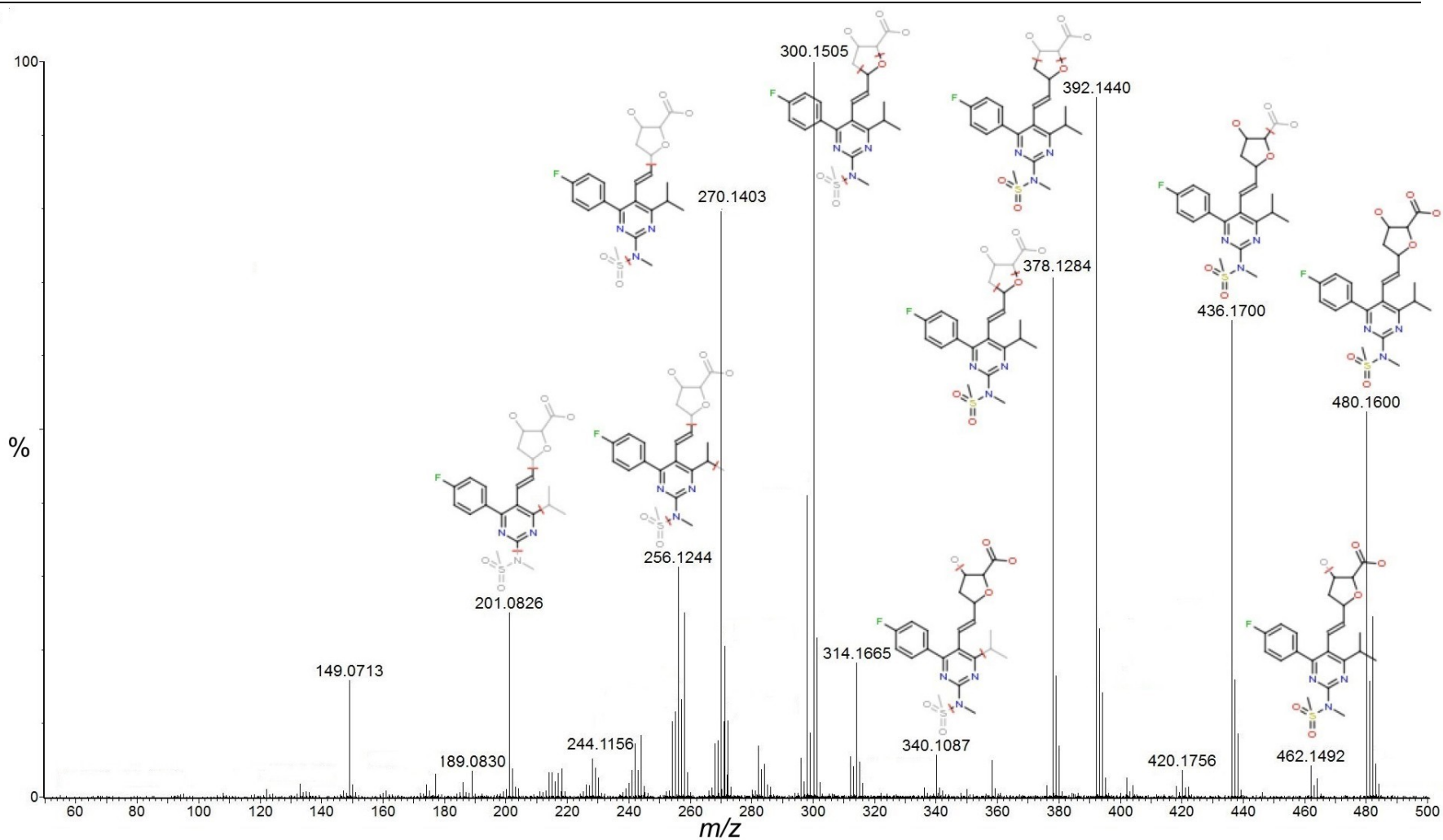
Slika 22. MS/MS spektar degradacijskog produkta rosvastatina  $m/z$  500,1865, uočenog MS analizom iz ekstrahiranog ionskog pika retencijskog vremena 15,34 min s pridruženim strukturama fragmenata koje pokazuju mjesto cijepanja u odnosu na ion prekursor.



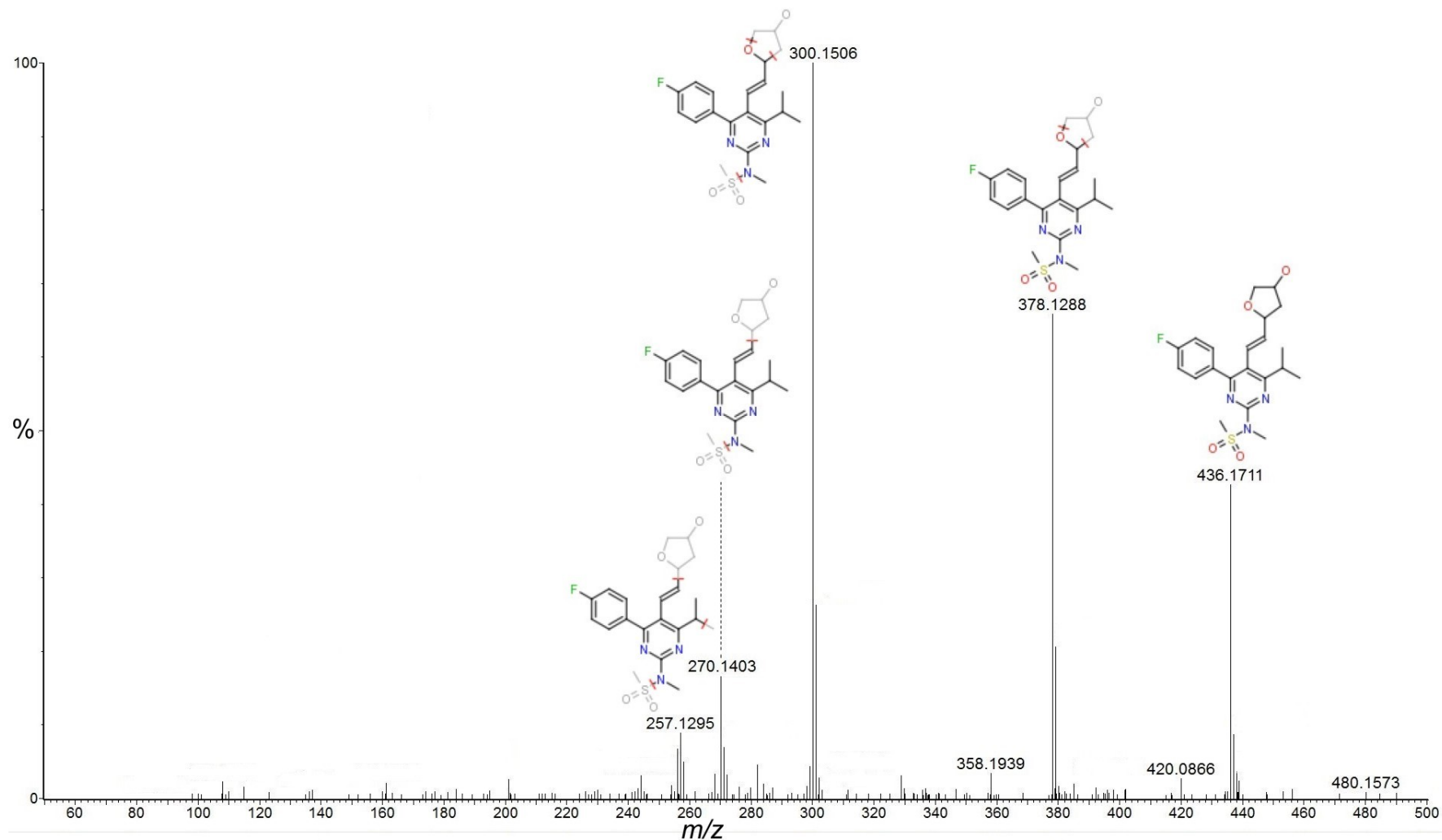
**Slika 23.** MS/MS spektar degradacijskog produkta rosuvastatina  $m/z$  498,1709, uočenog MS analizom iz ekstrahiranog ionskog pika retencijskog vremena 16,59 min s pridruženim strukturama fragmenata koje pokazuju mjesto cijepanja u odnosu na ion prekursor.



**Slika 24.** MS/MS spektar rosuvastatina  $m/z$  482,1764, uočenog MS analizom iz ekstrahiranog ionskog pika retencijskog vremena 17,77 min s pridruženim strukturama fragmenata koje pokazuju mjesto cijepanja u odnosu na ion prekursor.



Slika 25. MS/MS spektar degradacijskog produkta rosuvastatina  $m/z$  480,1602, uočenog MS analizom iz ekstrahiranog ionskog pika retencijskog vremena 20,08 min s pridruženim strukturama fragmenata koje pokazuju mjesto cijepanja u odnosu na ion prekursor.



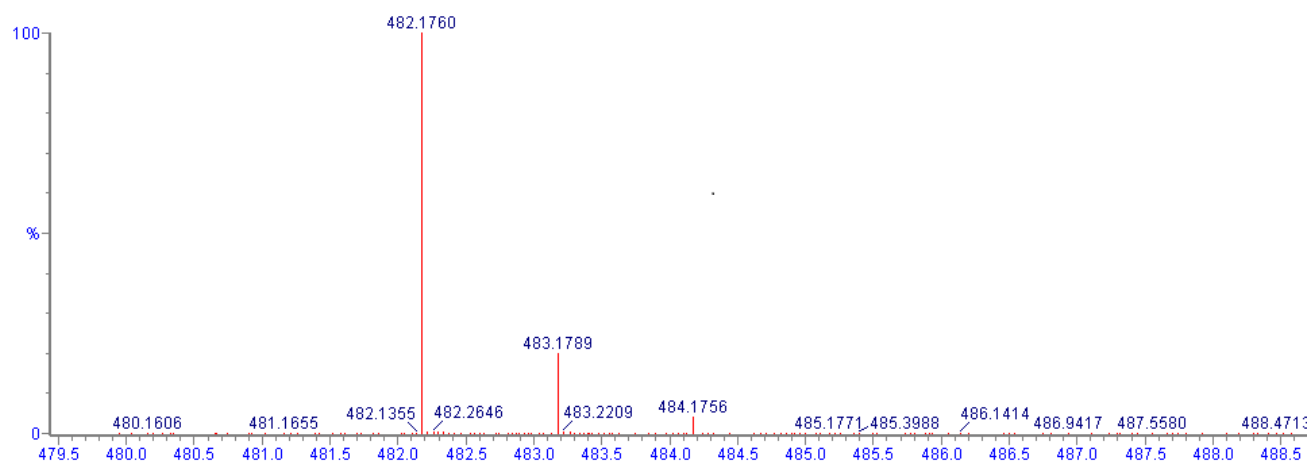
Slika 26. MS/MS spektar degradacijskog produkta rosuvastatina  $m/z$  436,1707, uočenog MS analizom iz ekstrahiranog ionskog pika retencijskog vremena 22,55 min s pridruženim strukturama fragmenata koje pokazuju mjesto cijepanja u odnosu na ion prekursor.

#### 4.3.2. Elementna analiza

Kako bi se potvrdili dobiveni rezultati fragmentalne analize, sve dobivene mase MS/MS analizom obrađene su „Elemental Composition“ potprogramu, programskog alata „MassLynx“. Dobiveni rezultati potvrdili su prijašnje predložene strukture produkata degradirane molekule rosvastatina kao i njihovih fragmenata nastalih cijepanjem kolizijskom energijom. Svaka od masa prisutnih na MS/MS spektrima, podvrgnuta je elementnoj analizi. Rezultati analize pokazuju molekulske formule spojeva koji teorijskom masom odgovaraju stvarnoj vrijednosti dobivenoj MS/MS analizom.

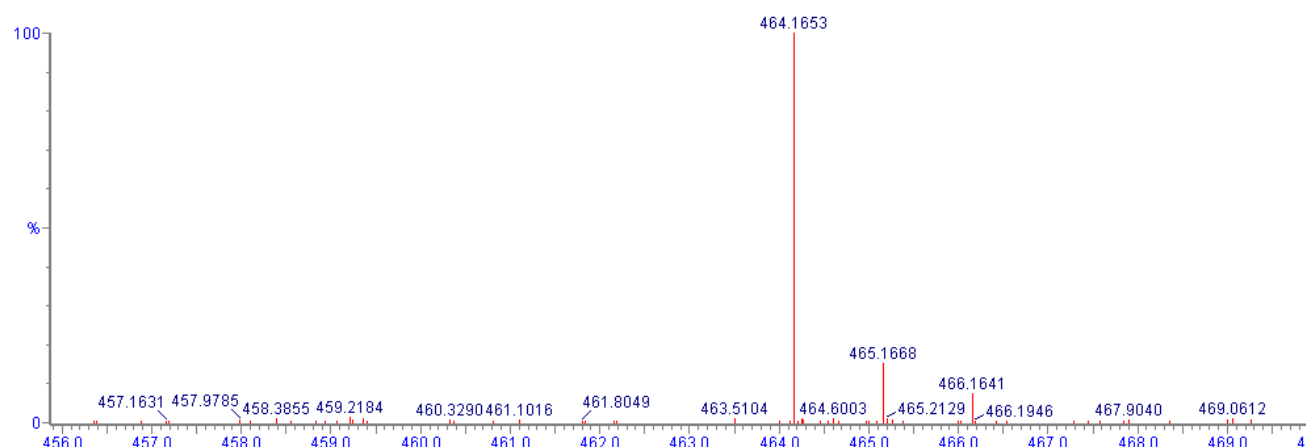
Radi jednostavnosti i preglednosti diplomskoga rada, u slikama od 27 do 36 prikazani su dobiveni rezultati elementne analize molekule rosvastatina ( $m/z$  482,1760), ali ne i ostalih degradacijskih produkata. Tako su, uz  $m/z$  482,1760, prikazani rezultati za  $m/z$ : 464,1653, 446,1553, 422,1649, 404,1984, 378,1282, 300,1508, 272,1559, 258,1402 i 189,0827. Svi rezultati odgovaraju rezultatima dobivenih pretragom „MassFragment“ programskog alata te se većinom nalaze za prvome mjestu pretrage, što dodatno potvrđuje predložene rezultate.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
482.1760	100.00	482.1761	-0.1	-0.2	9.5	C22 H29 N3 O6 F S	558.5	2.178	11.33	22	29	3	6	1	1
		482.1734	2.6	5.4	5.0	C19 H31 N2 O9 F S	558.5	2.179	11.32	19	31	2	9	1	1
		482.1721	3.9	8.1	5.5	C17 H29 N5 O8 F S	558.7	2.386	9.20	17	29	5	8	1	1
		482.1754	0.6	1.2	10.0	C23 H31 N4 O3 S K	558.8	2.455	8.59	23	31	4	3		1
		482.1765	-0.5	-1.0	6.0	C20 H32 N4 O4 F S K	558.8	2.518	8.06	20	32	4	4	1	1
		482.1757	0.3	0.6	4.0	C19 H34 N2 O8 S2	559.1	2.729	6.53	19	34	2	8		2
		482.1767	-0.7	-1.5	9.5	C25 H33 N O4 S K	559.3	2.988	5.04	25	33	1	4		1
		482.1752	0.8	1.7	1.0	C19 H36 O8 F S K	559.4	3.003	4.54	19	36		8	1	1



Slika 27. Rezultat elementne analize MS/MS spektra rosuvastatina za  $m/z$  482,1760, gdje je crvenom bojom označen rezultat dobiven i pretragom pomoću programskog alata „MassFragment“.

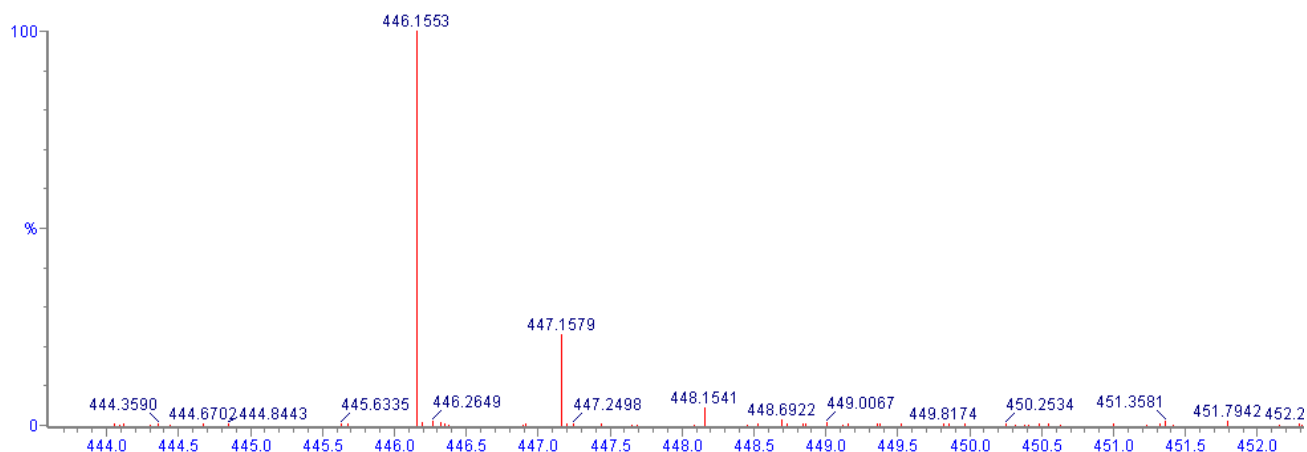
Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
464.1653	100.00	464.1629	1.9	4.1	6.0	C19 H29 N2 O8 F S	154.8	1.515	21.99	19	29	2	8	1	1
		464.1655	-0.7	-1.5	10.5	C22 H27 N3 O5 F S	155.2	1.929	14.54	22	27	3	5	1	1
		464.1649	-0.1	-0.2	1.5	C14 H31 N5 O7 F S2	155.3	2.068	12.65	14	31	5	7	1	2
		464.1651	-0.3	-0.6	5.0	C19 H32 N2 O7 S2	155.5	2.251	10.53	19	32	2	7		2
		464.1638	1.0	2.2	5.5	C17 H30 N5 O6 S2	155.6	2.385	9.21	17	30	5	6		2
		464.1644	0.4	0.9	14.5	C25 H26 N3 O4 S	155.7	2.402	9.05	25	26	3	4		1
		464.1662	-1.4	-3.0	1.0	C16 H33 N2 O8 F S2	156.3	3.077	4.61	16	33	2	8	1	2
		464.1674	2.4	5.2	0.5	C16 H34 N O10 S2	157.0	3.600	2.50	16	34	1	10		2



Slika 28. Rezultat elementne analize MS/MS spektra rosuvastatina za  $m/z$  464,1653, gdje je crvenom bojom označen rezultat dobiven pretragom pomoću programskog alata „MassFragment“.

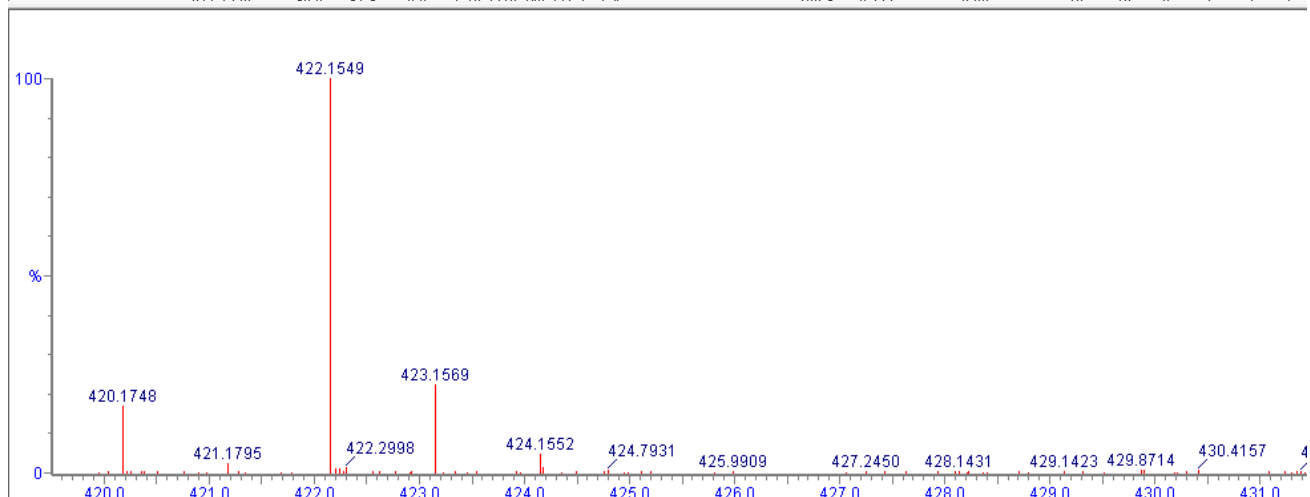


Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
446.1553	100.00	446.1550	-0.3	-0.7	11.5	C22 H25 N3 O4 F S	174.0	0.646	52.40	22	25	3	4	1	1
		446.1545	0.2	0.4	6.0	C19 H30 N2 O6 S2	175.6	2.216	10.91	19	30	2	6		2
		446.1541	0.6	1.3	3.5	C16 H29 N3 O9 K	176.0	2.643	7.11	16	29	3	9		
		446.1538	0.9	2.0	15.5	C25 H24 N3 O3 S	176.1	2.711	6.65	25	24	3	3		1
		446.1552	-0.5	-1.1	-0.5	C13 H30 N3 O10 F K	176.1	2.738	6.47	13	30	3	10	1	
		446.1554	-0.7	-1.6	8.0	C20 H28 N4 O2 F S K	176.3	2.923	5.38	20	28	4	2	1	1
		446.1543	0.4	0.9	12.0	C23 H27 N4 O S K	176.5	3.153	4.27	23	27	4	1		1
		446.1541	0.6	1.3	3.0	C19 H32 O6 F S K	176.6	3.256	3.85	19	32		6	1	1



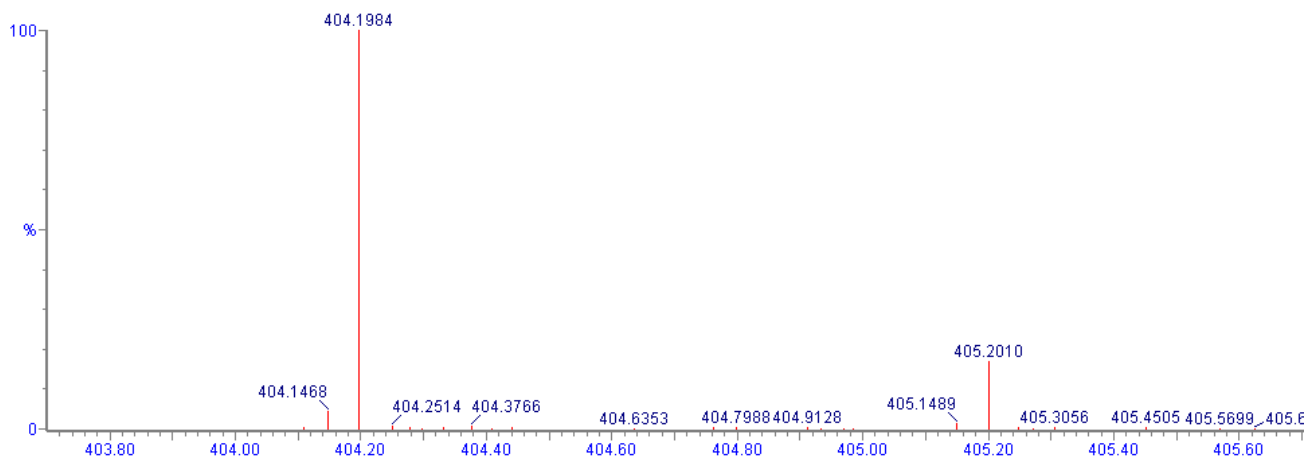
Slika 29. Rezultat elementne analize MS/MS spektra rosuvastatina za  $m/z$  446,1553, gdje je crvenom bojom označen rezultat dobiven pretragom pomoću programskog alata „MassFragment“.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
422.1549	100.00	422.1550	-0.4	-0.9	9.5	C20 H25 N3 O4 F S	184.9	0.745	47.46	20	25	3	4	1	1
		422.1538	0.8	1.9	13.5	C23 H24 N3 O3 S	185.7	1.526	21.73	23	24	3	3		1
		422.1552	-0.6	-1.4	13.0	C25 H26 O4 S	186.3	2.166	11.47	25	26		4		1
		422.1541	0.5	1.2	1.5	C14 H29 N3 O9 K	187.0	2.855	5.76	14	29	3	9		
		422.1554	-0.8	-1.9	1.0	C16 H31 O10 K	187.3	3.200	4.08	16	31		10		
		422.1543	0.3	0.7	0.5	C12 H29 N5 O6 F S2	187.4	3.216	4.01	12	29	5	6	1	2
		422.1545	0.1	0.2	4.0	C17 H30 N2 O6 S2	187.9	3.750	2.35	17	30	2	6		2
		422.1554	-0.8	-1.9	6.0	C18 H28 N4 O7 F S K	188.0	4.777	0.84	18	28	4	7	1	1



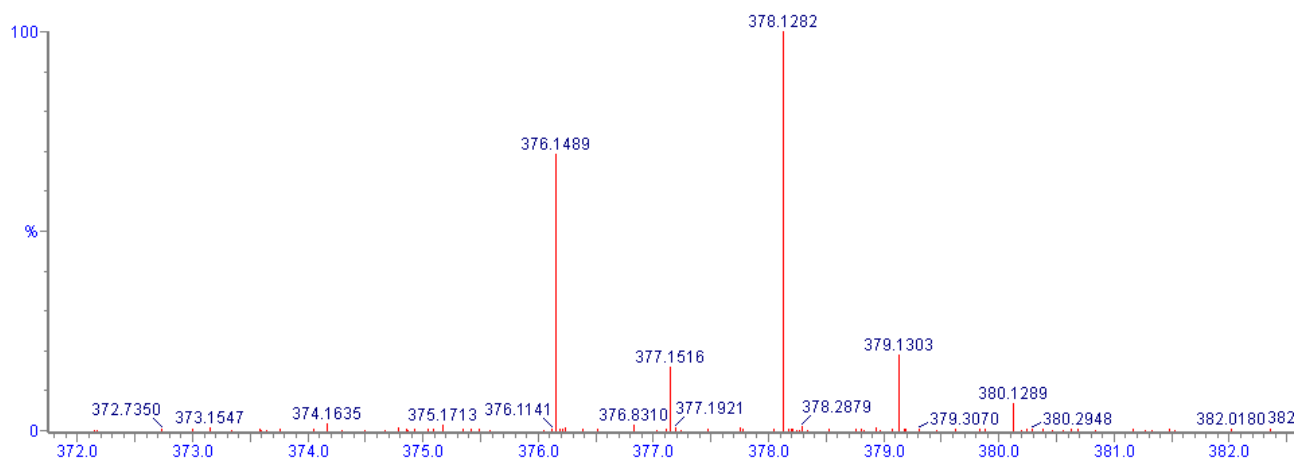
Slika 30. Rezultat elementne analize MS/MS spektra rosuvastatina za  $m/z$  422,1549, gdje je crvenom bojom označen rezultat dobiven pretragom pomoću programskog alata „MassFragment“.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
404.1984	100.00	404.1986	-0.6	-1.5	9.5	C21 H27 N3 O4 F	197.3	0.563	56.93	21	27	3	4	1	
		404.1974	0.6	1.5	13.5	C24 H26 N3 O3	197.6	0.842	43.07	24	26	3	3		
		404.1979	0.1	0.2	0.5	C13 H31 N5 O6 F S	207.9	11.163	0.00	13	31	5	6	1	1
		404.1981	-0.1	-0.2	4.0	C18 H32 N2 O6 S	208.0	11.186	0.00	18	32	2	6		1
		404.1978	0.2	0.5	10.0	C22 H29 N4 O K	208.4	11.591	0.00	22	29	4	1		
		404.1976	0.4	1.0	1.0	C18 H34 O6 F K	208.4	11.652	0.00	18	34		6	1	
		404.1985	-0.5	-1.2	0.5	C16 H35 N3 O4 S K	209.8	13.020	0.00	16	35	3	4		1
		404.1985	-0.5	-1.2	0.0	C19 H38 O F S2 K	210.6	13.865	0.00	19	38		1	1	2



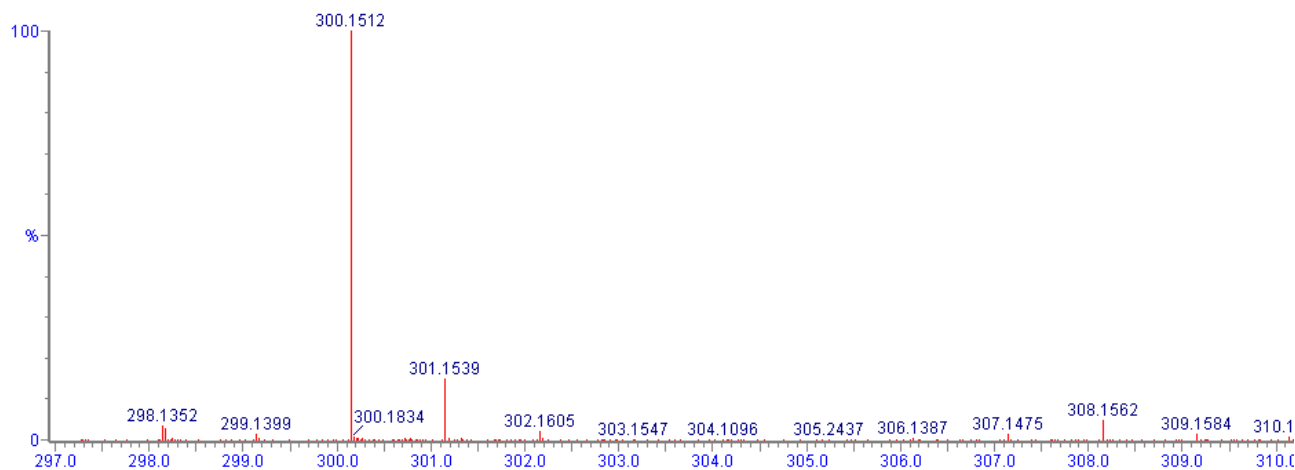
Slika 31. Rezultat elementne analize MS/MS spektra rosuvastatina za  $m/z$  404,1984, gdje je crvenom bojom označen rezultat dobiven pretragom pomoću programskog alata „MassFragment“ .

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
378.1282	100.00	378.1288	-0.5	-1.3	9.5	C18 H21 N3 O3 F S	231.0	1.063	34.54	18	21	3	3	1	1
		378.1281	0.2	0.5	19.0	C24 H15 N4 F	231.1	1.162	31.28	24	15	4		1	
		378.1276	0.7	1.9	13.5	C21 H20 N3 O2 S	232.1	2.192	11.17	21	20	3	2		1
		378.1279	0.4	1.1	1.5	C12 H25 N3 O8 K	232.3	2.326	9.77	12	25	3	8		
		378.1290	-0.7	-1.9	13.0	C23 H22 O3 S	232.6	2.654	7.04	23	22		3		1
		378.1281	0.2	0.5	0.5	C10 H25 N5 O5 F S2	233.3	3.391	3.37	10	25	5	5	1	2
		378.1283	0.0	0.0	4.0	C15 H26 N2 O5 S2	234.1	4.148	1.58	15	26	2	5		2
		378.1270	0.4	1.1	1.0	C15 H28 O5 F S K	235.0	5.071	0.63	15	28		5	1	2



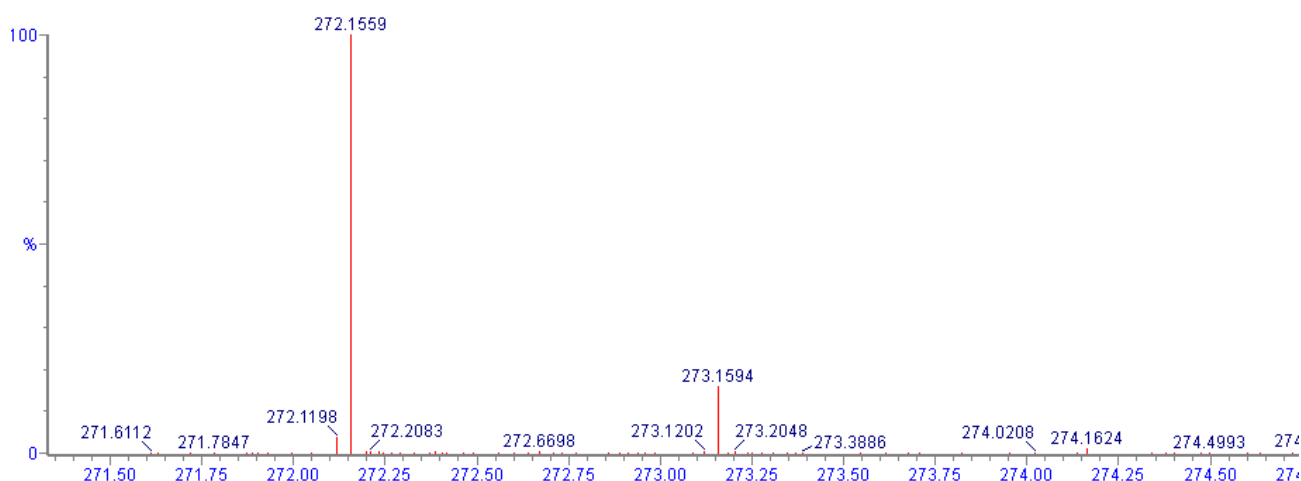
Slika 32. Rezultat elementne analize MS/MS spektra rosuvastatina za  $m/z$  378,1282, gdje je crvenom bojom označen rezultat dobiven pretragom pomoću programskog alata „MassFragment“ .

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
300.1508	100.00	300.1512	-0.4	-1.3	9.5	C17 H19 N3 O F	523.1	0.000	99.99	17	19	3	1	1	
		300.1506	0.2	0.7	0.5	C9 H23 N5 O3 F S	532.6	9.509	0.01	9	23	5	3	1	1
		300.1508	0.0	0.0	4.0	C14 H24 N2 O3 S	533.0	9.891	0.01	14	24	2	3		1
		300.1503	0.5	1.7	1.0	C14 H26 O3 F K	534.6	11.476	0.00	14	26		3	1	
		300.1512	-0.4	-1.3	0.5	C12 H27 N3 O S K	536.7	13.579	0.00	12	27	3	1		1
		300.1504	0.4	1.3	0.0	C13 H26 O4 F Cl	539.6	16.450	0.00	13	26		4	1	
		300.1513	-0.5	-1.7	-0.5	C11 H27 N3 O2 S Cl	539.7	16.538	0.00	11	27	3	2		1



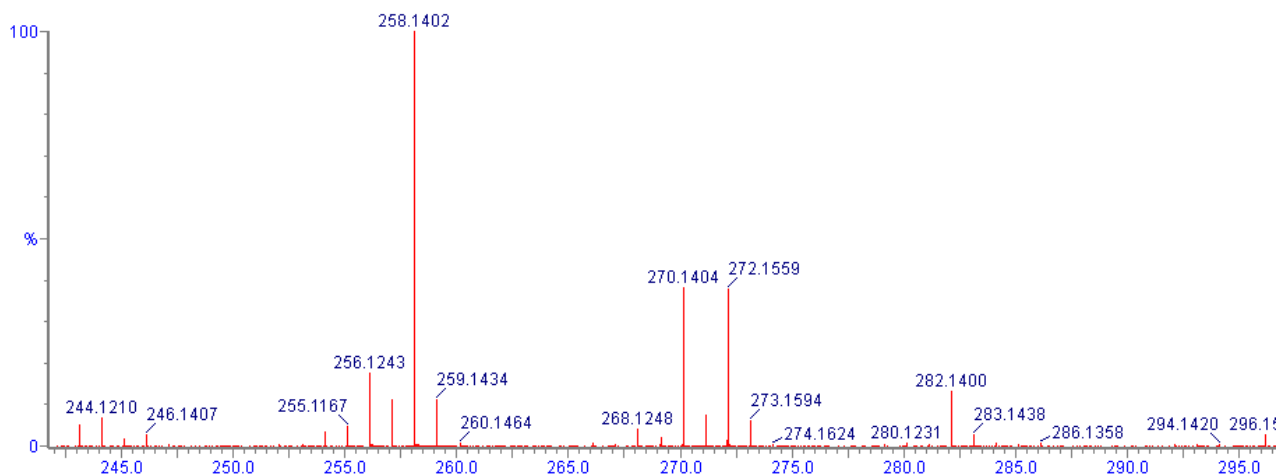
Slika 33. Rezultat elementne analize MS/MS spektra rosuvastatina za  $m/z$  300,1508, gdje je crvenom bojom označen rezultat dobiven i pretragom pomoću programskog alata „MassFragment“.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
272.1559	100.00	272.1563	-0.4	-1.5	8.5	C16 H19 N3 F	484.9	0.000	99.99	16	19	3		1	
		272.1556	0.3	1.1	-0.5	C8 H23 N5 O2 F S	495.5	10.592	0.00	8	23	5	2	1	1
		272.1558	0.1	0.4	3.0	C13 H24 N2 O2 S	495.7	10.754	0.00	13	24	2	2		1
		272.1554	0.5	1.8	0.0	C13 H26 O2 F K	496.9	11.963	0.00	13	26		2	1	
		272.1563	-0.4	-1.5	-0.5	C11 H27 N3 S K	498.4	13.516	0.00	11	27	3			1
		272.1563	-0.4	-1.5	-1.5	C10 H27 N3 O S Cl	500.6	15.635	0.00	10	27	3	1		1
		272.1555	0.4	1.5	-1.0	C12 H26 O3 F Cl	500.6	15.648	0.00	12	26		3	1	



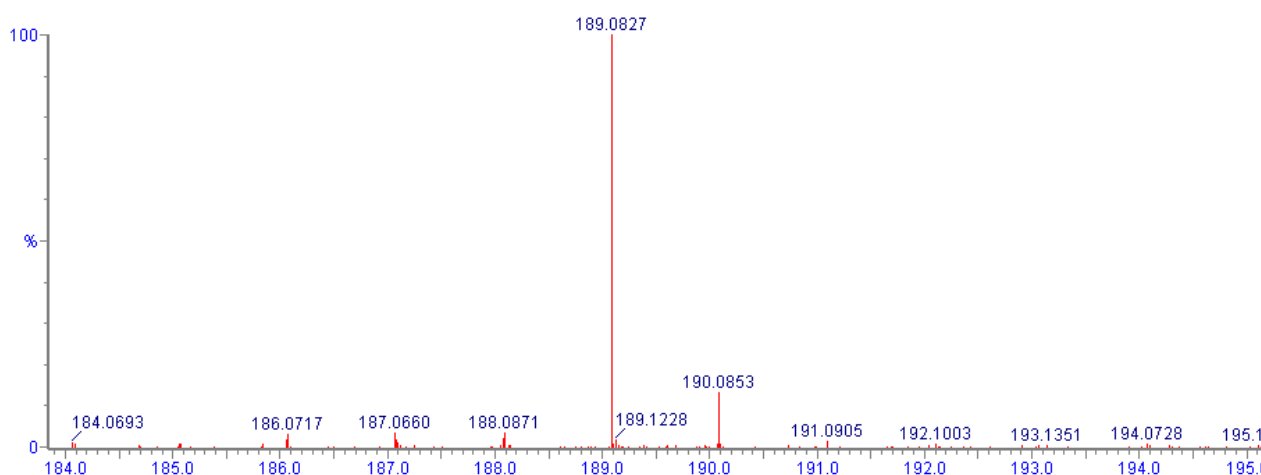
Slika 34. Rezultat elementne analize MS/MS spektra rosuvastatina za  $m/z$  272,1559, gdje je crvenom bojom označen rezultat dobiven pretragom pomoću programskog alata „MassFragment“.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
258.1402	100.00	258.1407	-0.4	-1.5	8.5	C15 H17 N3 F	668.2	0.000	100.00	15	17	3		1	
		258.1400	0.3	1.2	-0.5	C7 H21 N5 O2 F S	678.9	10.706	0.00	7	21	5	2	1	1
		258.1402	0.1	0.4	3.0	C12 H22 N2 O2 S	679.0	10.804	0.00	12	22	2	2		1
		258.1406	-0.3	-1.2	-0.5	C10 H25 N3 S K	681.4	13.275	0.00	10	25	3			1
		258.1407	-0.4	-1.5	-1.5	C9 H25 N3 O S Cl	683.5	15.311	0.00	9	25	3	1		1
258.1398	0.5	1.9	-1.0	C11 H24 O3 F Cl	683.5	15.349	0.00	11	24		3	1			



Slika 35. Rezultat elementne analize MS/MS spektra rosuvastatina za  $m/z$  258,1402, gdje je crvenom bojom označen rezultat dobiven pretragom pomoću programskog alata „MassFragment“.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
189.0827	100.00	189.0823	0.1	0.5	2.0	C8 H15 N O2 S	284.5	0.374	68.82	8	15	1	2		1
		189.0821	0.3	1.6	-1.5	C3 H14 N4 O2 F S	285.3	1.219	29.54	3	14	4	2	1	1
		189.0827	-0.4	-2.1	-1.5	C11 H11 N O2	288.2	4.112	1.64	6	18	1	2		



Slika 36. Rezultat elementne analize MS/MS spektra rosuvastatina za  $m/z$  189,0827, gdje je crvenom bojom označen rezultat dobiven pretragom pomoću programskog alata „MassFragment“.

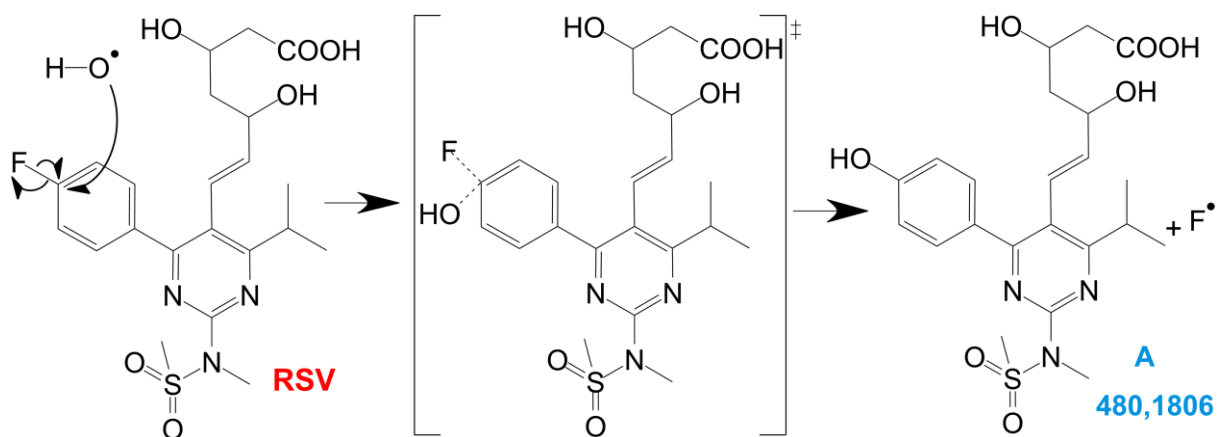
#### 4.4. Mehanizam reakcije

Predloženi mehanizmi nastajanja degradacijskih produkata molekule rosuvastatina temelje se na reakcijama supstitucije, adicije, ciklizacije i dekarboksilacije. Masama su pridružene i kratice degradacijskih produkata korištene u slici 1, odnosno hipotezi, gdje su navedene pretpostavljene strukture koje bi mogle nastati tijekom ovog eksperimenta.

##### 4.4.1. Rosuvastatin A

Prisutan je u ekstrahiranom ionskom kromatogramu retencijskog vremena 14,61 min. Identificiran je u MS spektru iz pika  $m/z$  480,1806, a kasnijom MS/MS analizom dobiven je pik jednakog  $m/z$  480,1806. Naziv po IUPAC pravilima glasi: (*E*)-3,5-dihidroksi-7-(4-(4-hidroksifenil)-6-izopropil-2-(*N*-metilmetilsulfonamido)pirimidin-5-il)hept-6-enoična kiselina.

Njegovi specifični fragmenti dokazani su molekulskim i strukturnim formulama pomoću mjerenja točnih masa iona prekursora, fragmentnih iona i omjera njihovih izotopa u predloženoj strukturi. Pretpostavlja se da nastaje iz molekule rosuvastatina supstitucijom fluora s hidroksilnom skupinom (slika 37).

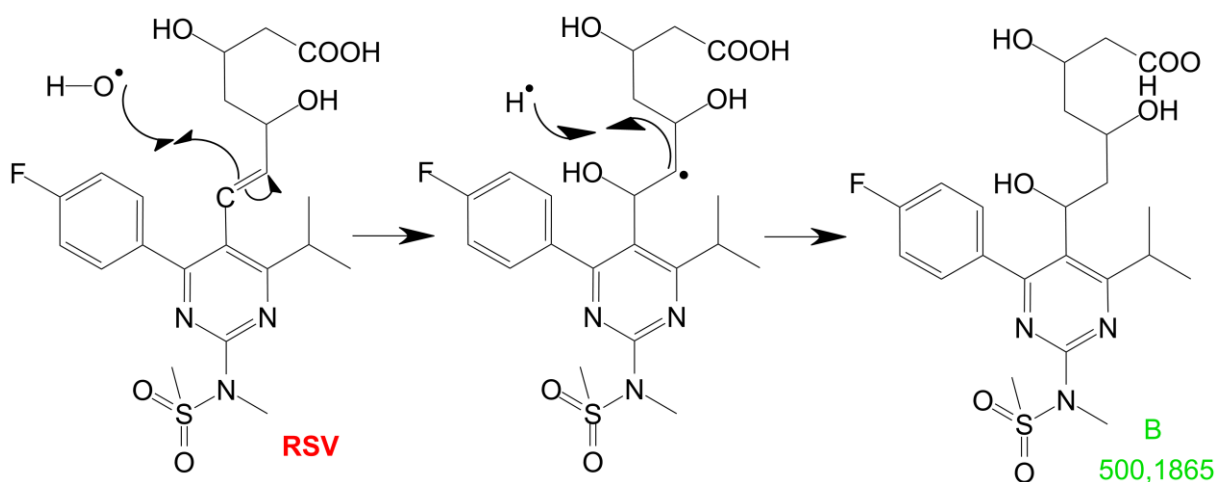


**Slika 37.** Predloženi mehanizam reakcije molekule rosuvastatina (crveno) s hidroksil radikalom čime dolazi do supstitucije fluora s hidroksilnom skupinom i nastaje degradacijski produkt rosuvastatin A (plavo).

## 4.4.2. Rosuvastatin B

Prisutan je u ekstrahiranom ionskom kromatogramu retencijskog vremena 15,34 min. Identificiran je u MS spektru iz pika  $m/z$  500,1865, a kasnijom MS/MS analizom dobiven je pik jednakog  $m/z$  500,1865. Naziv po IUPAC pravilima glasi: 7-(4-(4-fluorofenil)-6-izopropil-2-(*N*-metilmetilsulfonamido)pirimidin-5-il)-3,5,7-trihidroksiheptanoična kiselina.

Njegovi specifični fragmenti dokazani su molekulskim i strukturnim formulama pomoću mjerenja točnih masa iona prekursora, fragmentnih iona i omjera njihovih izotopa u predloženoj strukturi. Pretpostavlja se da nastaje iz molekule rosuvastatina adicijom vodika i hidroksilne skupine na dvostruku vezu (slika 38).

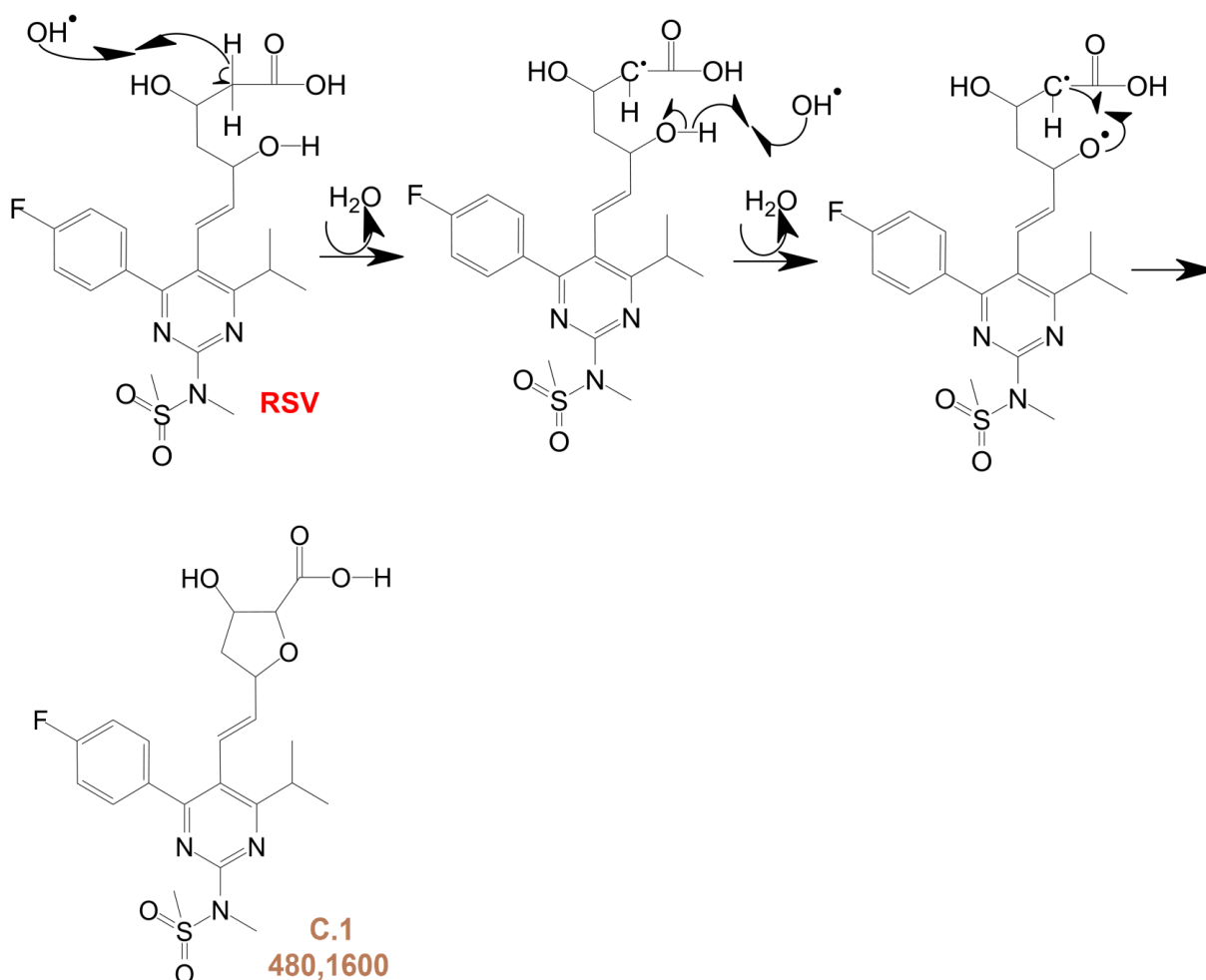


**Slika 38.** Predloženi mehanizam reakcije molekule rosuvastatina (crveno) s molekulom vode čime dolazi do adicije vodika i hidroksilne skupine na dvostruku vezu i nastaje degradacijski produkt rosuvastatin B (zeleno).

## 4.4.3. Rosuvastatin C.1

Prisutan je u ekstrahiranom ionskom kromatogramu retencijskog vremena 20,08 min. Identificiran je u MS spektru iz pika  $m/z$  480,1602, a kasnijom MS/MS analizom dobiven je pik  $m/z$  480,1600. Naziv po IUPAC pravilima glasi: (*E*)-5-(2-(4-(4-fluorofenil)-6-izopropil-2-(*N*-metilmetilsulfonamido)pirimidin-5-il)vinil)-3-hidroksitetrahidrofuran-2-karboksilna kiselina.

Njegovi specifični fragmenti dokazani su molekulskim i strukturnim formulama pomoću mjerenja točnih masa iona prekursora, fragmentnih iona i omjera njihovih izotopa u predloženoj strukturi. Pretpostavlja se da nastaje iz molekule rosuvastatina zatvaranjem peteročlanog prstena u radikalnim reakcijama s hidroksilnim radikalom (slika 39).

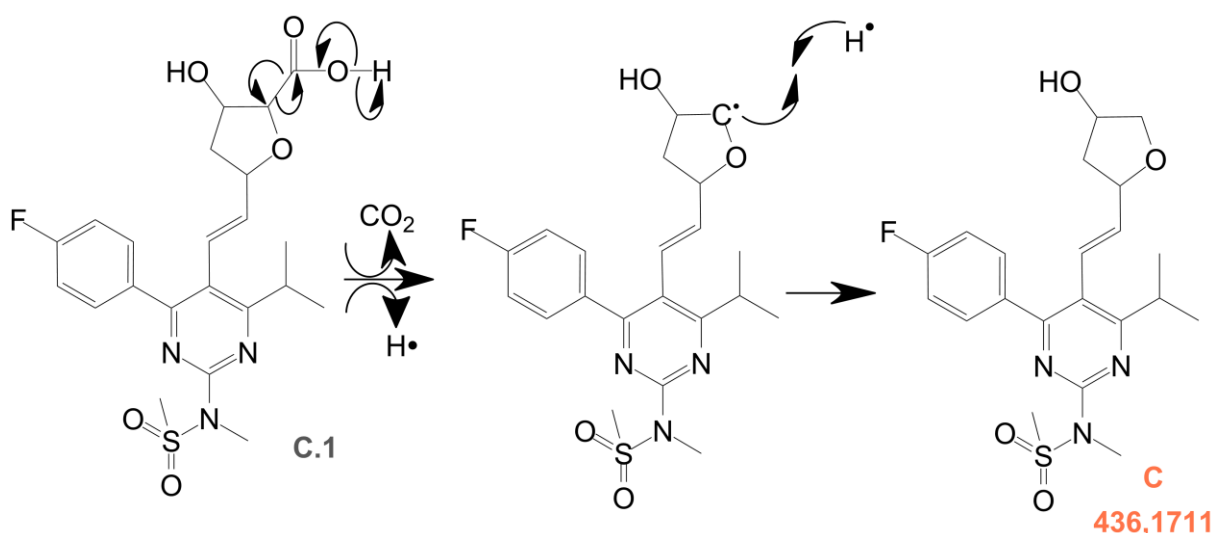


**Slika 39.** Predloženi mehanizam reakcije molekule rosuvastatina (crveno) s hidroksil radikalom čime dolazi do zatvaranja peteročlanog prstena i nastaje degradacijski produkt rosuvastatin C.1 (smeđe).

## 4.4.4. Rosuvastatin C

Prisutan je u ekstrahiranom ionskom kromatogramu retencijskog vremena 22,55 min. Identificiran je u MS spektru iz pika  $m/z$  436,1707, a kasnijom MS/MS analizom dobiven je pik  $m/z$  436,1711. Naziv po IUPAC pravilima glasi: (*E*)-*N*-(4-(4-fluorofenil)-5-(2-(4-hidroksitetrahydrofuran-2-il)vinil)-6-izopropilpirimidin-2-il)-*N*-metilmetansulfonamid.

Njegovi specifični fragmenti dokazani su molekulskim i strukturnim formulama pomoću mjerenja točnih masa iona prekursora, fragmentnih iona i omjera njihovih izotopa u predloženoj strukturi. Pretpostavlja se da nastaje iz molekule rosuvastatin C.1 supstitucijom karboksilne skupine s vodikom (slika 40).



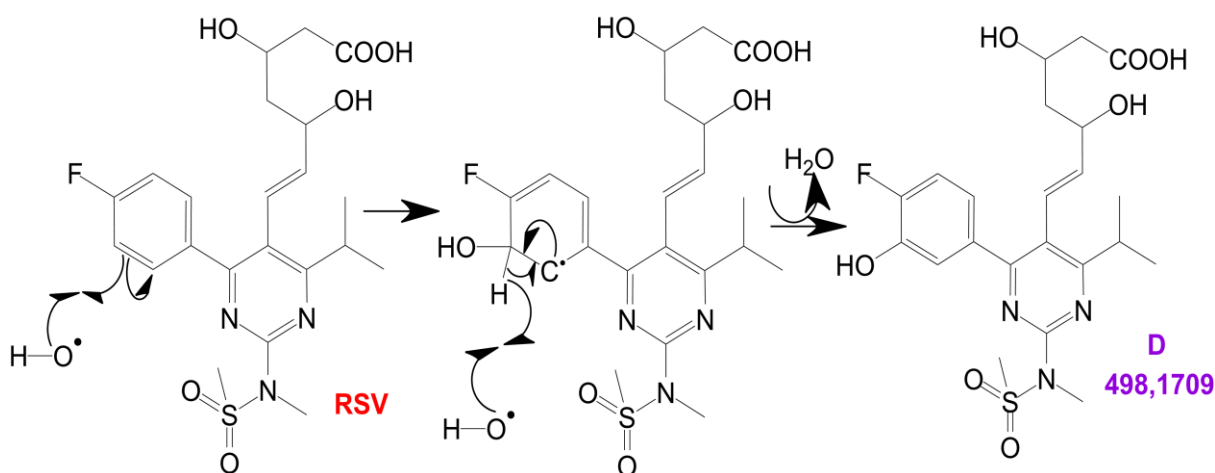
**Slika 40.** Predloženi mehanizam reakcije molekule rosuvastatina C.1 (smeđe) s hidroksil radikalom čime dolazi do dekarboksilacije i nastaje degradacijski produkt rosuvastatin C (narančasto).



## 4.4.5. Rosuvastatin D

Prisutan je u ekstrahiranom ionskom kromatogramu retencijskog vremena 16,59 min. Identificiran je u MS spektru iz pika  $m/z$  498,1709, a kasnijom MS/MS analizom dobiven je pik jednakog  $m/z$  498,1709. Naziv po IUPAC pravilima glasi: (*E*)-7-(4-(4-fluoro-3-hidroksifenil)-6-izopropil-2-(*N*-metilmetilsulfonamido)pirimidin-5-il)-3,5-dihidroksihept-6-enoična kiselina.

Njegovi specifični fragmenti dokazani su molekulskim i strukturnim formulama pomoću mjerenja točnih masa iona prekursora, fragmentnih iona i omjera njihovih izotopa u predloženoj strukturi. Pretpostavlja se da nastaje iz molekule rosuvastatina supstitucijom vodika s hidroksilnom skupinom (slika 41).

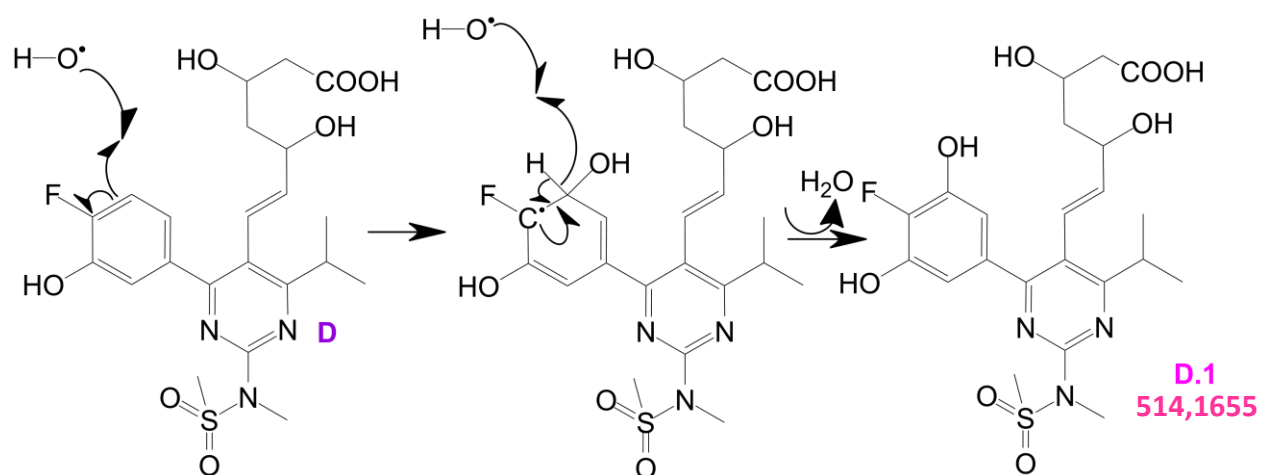


**Slika 41.** Predloženi mehanizam reakcije molekule rosuvastatina (crveno) s hidroksil radikalom čime se supstituira vodikov atom s hidroksilnom skupinom i nastaje degradacijski produkt rosuvastatin D (ljubičasto).

## 4.4.6. Rosuvastatin D.1

Prisutan je u ekstrahiranom ionskom kromatogramu retencijskog vremena 13,95 min. Identificiran je u MS spektru iz pika  $m/z$  514,1655, a kasnijom MS/MS analizom dobiven je pik jednakog  $m/z$  514,1655. Naziv po IUPAC pravilima glasi: (*E*)-7-(4-(4-fluoro-3,5-dihidroksifenil)-6-izopropil-2-(*N*-metilmetilsulfonamido)pirimidin-5-il)-3,5-dihidroksihept-6-enoična kiselina.

Njegovi specifični fragmenti dokazani su molekulskim i strukturnim formulama pomoću mjerenja točnih masa iona prekursora, fragmentnih iona i omjera njihovih izotopa u predloženoj strukturi. Pretpostavlja se da nastaje iz molekule rosuvastatina D ponovnom supstitucijom vodika s hidroksilnom skupinom (slika 42).



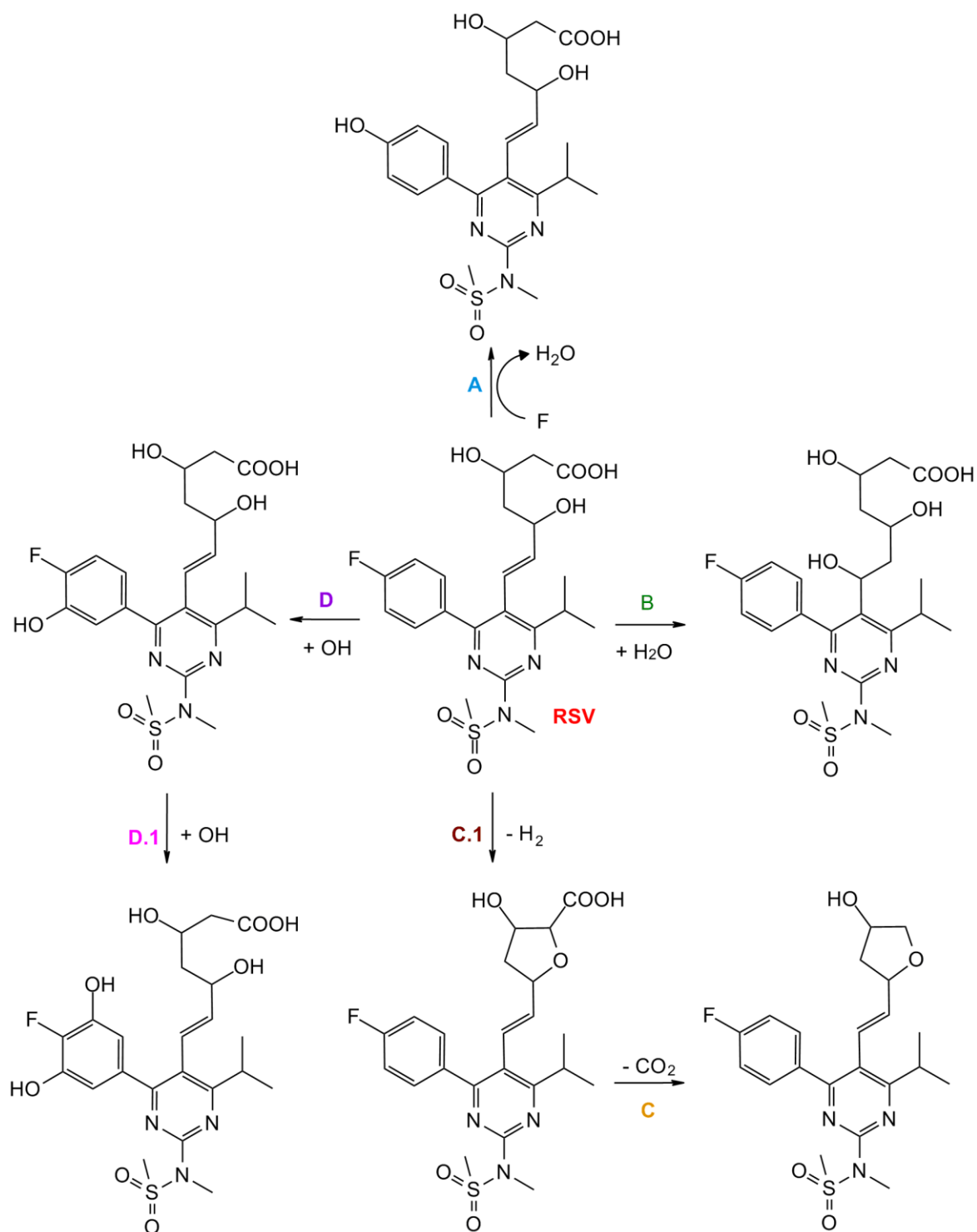
**Slika 42.** Predloženi mehanizam reakcije molekule rosuvastatina (crveno) s hidroksil radikalom čime se supstituira vodikov atom s hidroksilnom skupinom i nastaje degradacijski produkt rosuvastatin D.1 (rozo).

## § 5. ZAKLJUČAK

Aktivna supstanca iz porodice statina, inhibitor 3-hidroksi-3-metilglutarilkoenzim A-reduktaze ili skraćeno rosuvastatin, pokazuje visoku stabilnost u vodenim otopinama.<sup>50</sup> Na njegovu stabilnost utječe vrijeme provedeno u vodenim otopinama, kao i mnogobrojni drugi faktori poput: vlage, temperature, pH, sunčeve svjetlosti itd.<sup>6</sup> Ozračivanjem vodenih otopina rosuvastatina gama zračenjem, uz produkciju hidroksilnih radikala dobiveni su razgradni produkti, koji mogu ukazivati na najvjerojatnije puteve dekompozicije rosuvastatina u doticaju s vodom. Ovim eksperimentom potvrđeno je ukupno šest pripadnih razgradnih produkata: A, B, C, C.1, D i D.1 molekule rosuvastatina (slika 43).

Tekućinska kromatografija obrnutih faza uz upotrebu visoko selektivne i osjetljive instrumentacije korištene u izradi ovoga rada (*nano*-UPLC-ESI-MS/MS), koja uz sve navedeno posjeduje i tri uzastopna analizatora masa predstavlja optimalnu analitičku tehniku za strukturnu analizu malenih količina razgradnih produkata. Pri tome tehnika određivanja točnih masa polaznih spojeva i njihovih fragmenata predstavlja ključni alat u strukturnoj analizi nepoznatih razgradnih produkata.

Retrosinteza otkrivenih produkata teorijski razrađena u hipotezi ovoga rada temeljena na reakcijama s hidroksilnim radikalima, koji su dobiveni obogaćivanjem vodene otopine analiziranog spoja dušikovim oksidom, uz primjenu gama zračenja, pokazuje dobro poklapanje s dobivenim rezultatima. Gama zračenje moguće je primijeniti prilikom ispitivanja stabilnosti gotovo svih spojeva topivih u vodenim otopinama, čak i onih koji pokazuju visoku strukturnu stabilnost te se zato učestalo koristi kao predikcijska tehnika izbora degradacije biološki aktivnih spojeva.<sup>51-53</sup>



**Slika 43.** Strukturni prikaz degradacijskih produkata dobivenih ozračivanjem gama zrakama molekule rosvastatina (crveno) u vodi i pripadne reakcije. Šest degradacijskih produkata označeni su: **A** (plavo), **B** (zeleno), **C** (narančasto), **C.1** (smeđe), **D** (ljubičasto) i **D.1** (rozo).

## § 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

ACAT – acilkolesterol-aciltransferaza

CETP – protein prenosilac estera kolesterola

CID – kolizijom inducirana disocijacija

$e^-_{aq}$  – elektron

EM – ekstracelularni matriks

ESI – ionizacija elektrosprej raspršivanjem

G – radiation-chemical yields

HDL – lipoproteini visoke gustoće

HMG-CoA-reduktaza – 3-hidroksi-3-metilglutarilkoenzim A-reduktaza

HPLC – tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

IDL – lipoproteini srednje gustoće

IHD – ishemične bolesti srca

LAL – lizosomska kisela lipaza

LDL – lipoproteini niske gustoće

Lp(a) – lipoprotein (a)

LPL – lipoprotein-lipaza

MS/MS – tandemna spektrometrija masa

*nano*LC-ESI-MS/MS – tekućinska kromatografija s *nano*- protokom spregnuta tandemnom spektrometrijom masa

oxiLDL – oksidirani LDL

PLTP – prenositelj fosfolipida

q – kvadrupol

RSV – rosuvastatin

SE – stanice endotela

SMK – slobodne masne kiseline

SVGM – stanice vaskularnih glatkih mišića

TC – kolonske klopke (eng. *Trap Column*)

TG – triglicerid

VLDL – lipoproteini vrlo niske gustoće

## § 7. LITERATURNI IZVORI

1. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (datum pristupa 15. svibnja 2020.)
2. <https://www.plivazdravlje.hr/bolest-clanak/bolest/33/Hiperlipidemija.html> (datum pristupa 15. svibnja 2020.)
3. B. G. Katzung, S. B. Masters, A. J. Trevor, *Temeljna i klinička farmakologija*, Medicinska naklada, Zagreb, 2011, str. 611–614.
4. *Potrošnja lijekova u Hrvatskoj 2014.–2018.*, Agencija za lijekove i medicinske proizvode – HALMED, Zagreb, 2019.
5. *Izvešće o potrošnji lijekova u Republici Hrvatskoj u 2018. godini*, Agencija za lijekove i medicinske proizvode – HALMED, Zagreb, 2019.
6. R. P. Shah, A. Sahu, S. Singh, *Anal Bioanal Chem* **405** (2013) 3215–3231
7. S. KG. Grebe, R. J. Singh, *Clin. Biochem. Rev.* **32** (2011) 5–31
8. <https://synthinkchemicals.com/rosuvastatin-ep-impurities-usp-related-compounds/> (datum pristupa 18. svibnja 2020.)
9. H. O. Kaila, M. A. Ambasana, R. S. Thakkar, H. T. Saravaia, A. K. Shah, *Indian J. Pharm. Sci.* **5** (2010) 592–598.
10. K. Nash, G. Lumetta, *Advanced Aeparation Techniques for Nuclear Fuel Reprocessing and Radioactive Waste Treatment*, Woodhead Publishing, Cambridge, 2011, str. 23–57.
11. *Biochemistry, Lipoprotein Metabolism*, 18. svibnja 2020, NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553193/> (datum pristupa 19. svibnja 2020.)
12. S. Eisenberg, R. I. Levy, *Advances in Lipid Research* (1975) 1–89
13. *Lipoprotein Disorders and Cardiovascular Disease*, 4. lipnja 2016, *Thoracic Key*, <https://thoracickey.com/lipoprotein-disorders-and-cardiovascular-disease/> (datum pristupa 20. svibnja 2020.)
14. E. Topić, D. Primorac, S. Janković, M. Štefanović i sur., *Medicinska biokemija i laboratorijska medicina u kliničkoj praksi*, Medicinska naklada, Zagreb, 2018, str. 72–78.
15. D. Čvorišćec, I. Čepelak, *Štrausova medicinska biokemija*, Medicinska naklada, Zagreb, 2000, str. 145–147

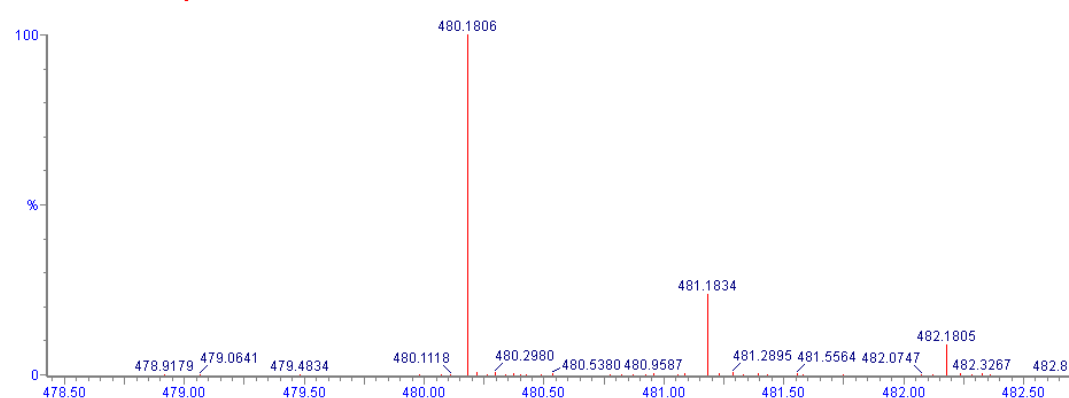
16. B. Vergès, *Diabetologia* **58** (2015) 886–899
17. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biokemija*, Školska knjiga, Zagreb, 2013, str. 317–325
18. P. Libby, P. M. Ridker, G. K. Hansson, *Nature* **473** (2011) 317–325
19. J. D. Morrisett, *Current Atherosclerosis Reports* **2** (2000) 243–250
20. G. L. Basatemur, H. F. Jørgensen, M. C. H. Clarke, M. R. Bennett, Z. Mallat, *Nature Reviews Cardiology* **16** (2019) 727–744
21. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Rosuvastatin> (datum pristupa 25. svibnja 2020.)
22. *Rosuvastatin*, 13. lipnja 2005., *Drug Bank*, <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01098> (datum pristupa 25. ožujka 2020.)
23. F. McTaggart, *Atherosclerosis Supplements* **4** (2003) 9–14
24. E. Istvan, *Atherosclerosis Supplements* **4** (2003) 3–5
25. E. S. Istvan, J. Deisenhofer, *Science* **292** (2001) 1160–1164
26. J. K. Liao, U. Laufs, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **45** (2005) 89–118
27. D. Rudan, *Cardiologia Croatica* **12** (2017) 396–399
28. U. A. Deokate, A. M. Georde, *PharmaTutor* **2** (2014) 61–74
29. M. F. L'Annunziata, *Radioactivity* (2007) 187–215
30. C. D. Jonah, *Radiation Research* **144** (1995) 141–147
31. D. Ražem, *Radijacijska kemija*, Tehnička enciklopedija, Jugoslavenski leksikografski zavod "Miroslav Krleža", Zagreb, 1988, 374–386
32. J. A. LaVerne, *Radiation Research* **153** (2000) 487–496
33. B. Razavi, W. Song, H. Santoke, W. J. Cooper, *Water Research* **45** (2011) 625–631
34. S. Le Caer, *Water* **1** (2011) 235–253
35. G. V. Buxton, *Radiation Chemistry, from basics to applications in material and life sciences*, EDP Sciences, Francuska, 2008, str. 3–17
36. <https://www.britannica.com/science/radiation/Radiation-chemistry> (datum pristupa 05. lipnja 2020.)
37. R. Bandu, H. S. Ahn, J. W. Lee, Y. W. Kim, S. H. Choi, H. J. Kim, K. P. Kim, *PLOS ONE* **10** (2015) 1–27

38. M. Radić, *Ionizacija negativnih iona nano-elektroaspršenjem uzrokovana umiješavanjem estera, aldehida i ketona u tok pokretne faze*, Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb, 2016, str. 1–22
39. M. C. McMaster, *HPLC A Practical User's Guide*, Wiley-Interscience, 2007, str. 3–15
40. C. F. Poole, *Encyclopedia of Separation Science* (2000) 40–64
41. <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720002156en.pdf> (datum pristupa 10. lipnja 2020.)
42. S. Banerjee, S. Mazumdar, *International J. of Analytical Chem.* **8** (2012) 1–40
43. <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=31151> (datum pristupa 13. lipnja 2020.)
44. <https://rusling.research.uconn.edu/wp-content/uploads/sites/609/2015/09/UCONN-MetID.pdf> (datum pristupa 13. lipnja 2020.)
45. <https://www.crawfordscientific.com/technical/chromatography-blog/other-chromatography-tips/rdb-rule-rings-and-double-bond-equivalents> (datum pristupa 28. kolovoza 2020.)
46. J. A. Yergey, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* **52** (1983) 337–349
47. ASTM ISO/ASTM51538-09, Standard Practice for Use of the Ethanol-Chlorobenzene Dosimetry System, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2006
48. ICRU Report 80, Dosimetry Systems for Use in Radiation Processing, *J.ICRU* **8** (2008) 29–70.
49. D. Ražem, L. J. Anđelić, I. Dvornik, *Proceedings of IAEA Symposium on High-Dose Dosimetry* (1984) 143–156.
50. M. K. Thimmaraju, V. Ramagiri, K. Bheemanapally, S. Bojja, *Lat. Am. J. Pharm.* **10** (2013) 1–7
51. D. W. Lee, W. S. Choi, M. W. Byun, H. J. Park, Y.-M. Yu, C. M. Lee, *J. Agric. Food Chem.* **16** (2003) 4819–4823
52. F. Djouani, Y. Zahra, B. Fayolle, M. Kuntz, J. Verdu, *Radiat. Phys. Chem.* **82** (2013) 54–62
53. Z. Guo, F. Zhou, Y. Zhao, C. Zhang, F. Liu, C. Bao, M. Lin, *Chem. Eng. J.* **191** (2012) 256–262



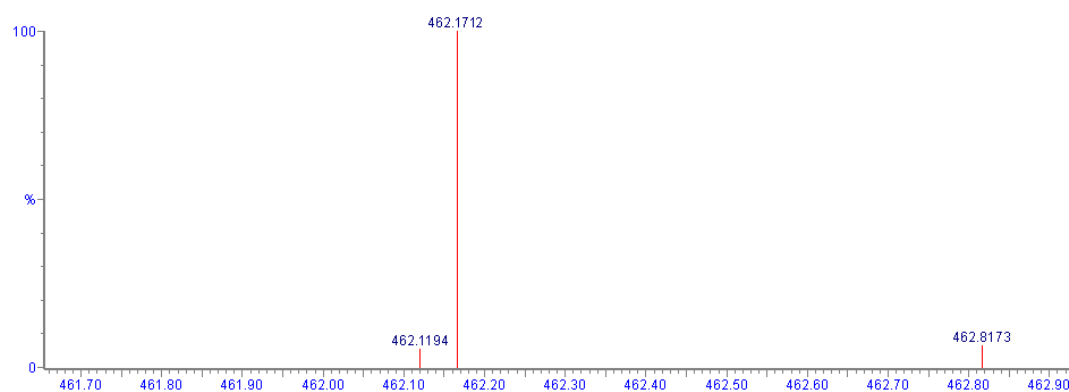
## § 8. DODATAK

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
480.1806	100.00	480.1804	0.4	0.8	9.5	C22 H30 N3 O7 S	263.9	0.002	99.83	22	30	3	7	1	1
		480.1811	-0.3	-0.6	0.0	C16 H36 N2 O10 S2	270.6	6.721	0.12	16	36	2	10	2	2
		480.1804	0.4	0.8	9.0	C25 H33 O4 F S2	271.7	7.850	0.04	25	33		4	1	2
		480.1809	-0.1	-0.2	15.0	C25 H25 N4 O5 F	273.5	9.606	0.01	25	25	4	5	1	1



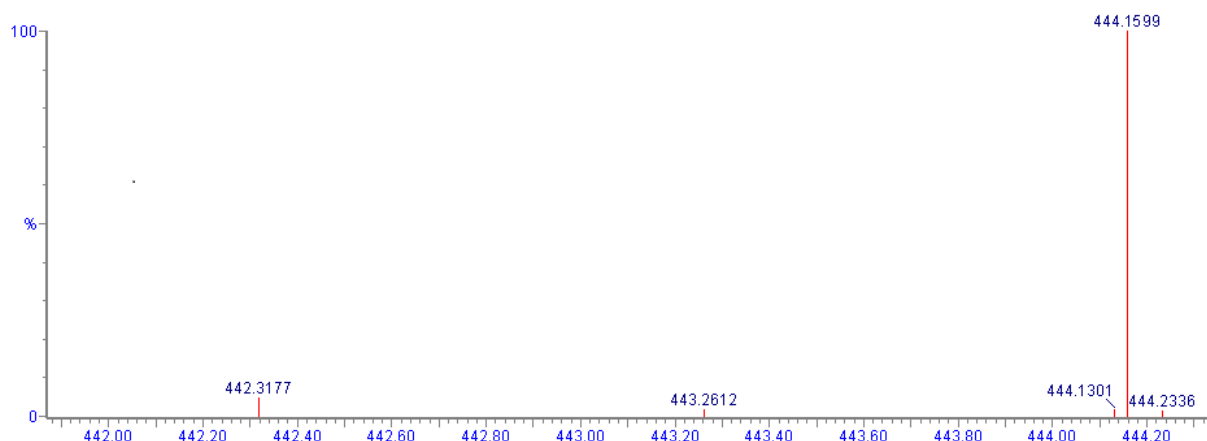
Slika D1. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina A za  $m/z$  480,1806. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
462.1712	100.00	462.1650	1.7	3.7	7.0	C19 H27 N2 O10 F	32.5	1.538	21.49	19	27	2	10	1	1
		462.1698	-1.0	-2.2	11.5	C22 H28 N3 O6 S	32.9	1.925	14.59	22	28	3	6	1	1
		462.1690	-2.3	-5.0	11.0	C24 H27 O8 F	33.1	2.179	11.32	24	27		8	1	1
		462.1665	0.2	0.4	15.5	C25 H24 N3 O6	33.2	2.276	10.27	25	24	3	6		
		462.1670	-0.3	-0.6	2.5	C14 H29 N5 O9 F S	33.6	2.635	7.17	14	29	5	9	1	1
		462.1659	0.8	1.7	6.5	C17 H28 N5 O8 S	33.7	2.778	6.22	17	28	5	8	1	1
		462.1683	-1.6	-3.5	2.0	C16 H31 N2 O10 F S	33.7	2.811	6.01	16	31	2	10	1	1
		462.1672	-0.5	-1.1	6.0	C19 H30 N3 O6 S	33.0	2.020	5.70	19	30	3	6		



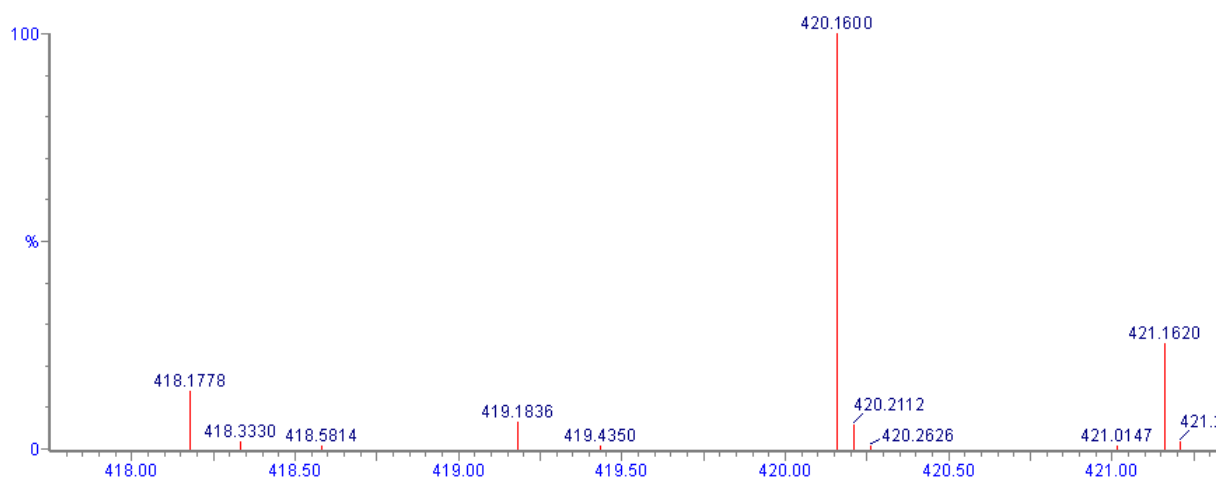
Slika D2. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina A za  $m/z$  462,1712. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	S
444.1599	100.00	444.1600	0.0	0.0	2.0	C16 H32 N2 O8 S2	40.8	1.244	28.83	16	32	2	8	2
		444.1607	-0.7	-1.6	11.0	C24 H28 O6 S	40.9	1.297	27.35	24	28		6	1
		444.1593	0.7	1.6	11.5	C22 H26 N3 O5 S	41.0	1.438	23.75	22	26	3	5	1
		444.1602	-0.2	-0.5	10.5	C23 H30 N3 S3	41.2	1.606	20.08	23	30	3		3



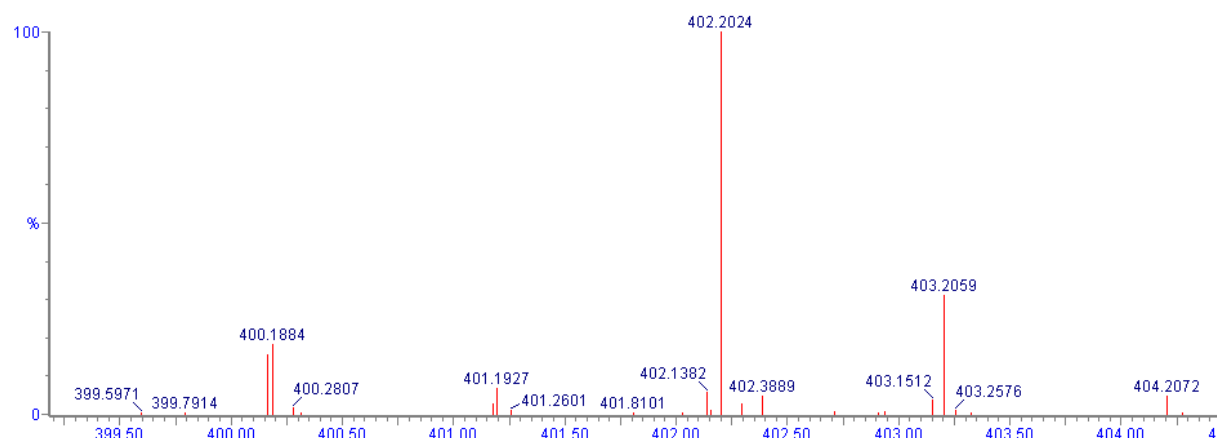
Slika D3. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina A za  $m/z$  444,1599. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	S
420.1600	100.00	420.1593	0.6	1.4	9.5	C20 H26 N3 O5 S	49.9	0.743	47.55	20	26	3	5	1
		420.1607	-0.8	-1.9	9.0	C22 H28 O6 S	50.3	1.122	32.56	22	28		6	1
		420.1600	-0.1	-0.2	0.0	C14 H32 N2 O8 S2	50.9	1.783	16.82	14	32	2	8	2
		420.1602	-0.3	-0.7	8.5	C21 H30 N3 S3	52.6	3.482	3.07	21	30	3		3



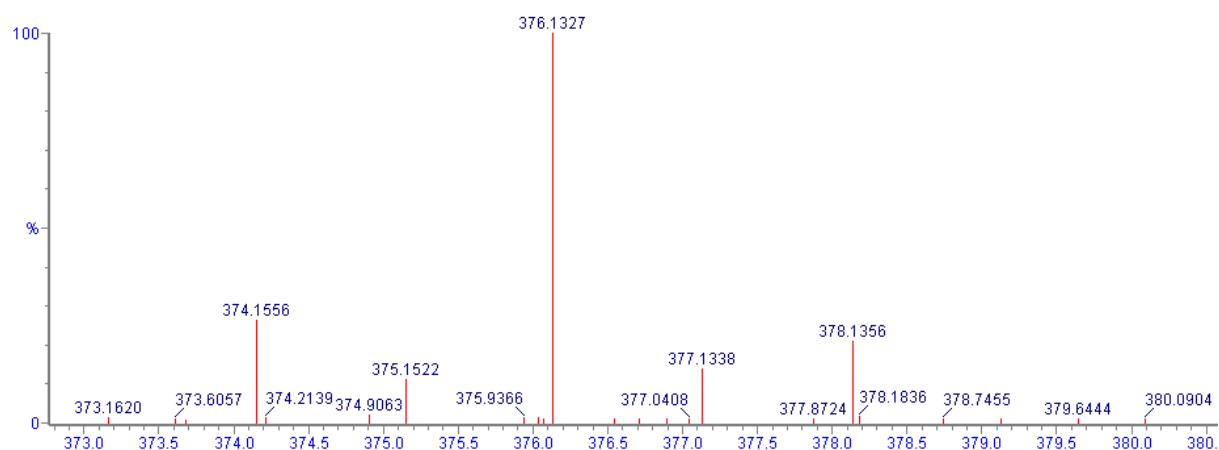
Slika D4. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina A za  $m/z$  420,1600. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
402.2024	100.00	402.2029	-0.3	-0.7	9.5	C21 H28 N3 O5	77.2	0.240	78.64	21	28	3	5		
		402.2042	-1.6	-4.0	9.0	C23 H30 O6	78.7	1.797	16.58	23	30		6		
		402.2040	-1.4	-3.5	5.5	C18 H29 N3 O6 F	80.5	3.576	2.80	18	29	3	6	1	
		402.2014	1.2	3.0	1.0	C15 H31 N2 O9 F	80.9	3.942	1.94	15	31	2	9	1	
		402.2029	-0.3	-0.7	9.0	C24 H31 O2 F S	85.2	8.229	0.03	24	31		2	1	1
		402.2015	1.1	2.7	9.5	C22 H29 N3 O F S	85.7	8.770	0.02	22	29	3	1	1	1
		402.2036	-1.0	-2.5	0.0	C15 H34 N2 O8 S	87.3	10.381	0.00	15	34	2	8		1
		402.2022	0.4	1.0	0.5	C13 H32 N5 O7 S	88.0	11.047	0.00	13	32	5	7		1



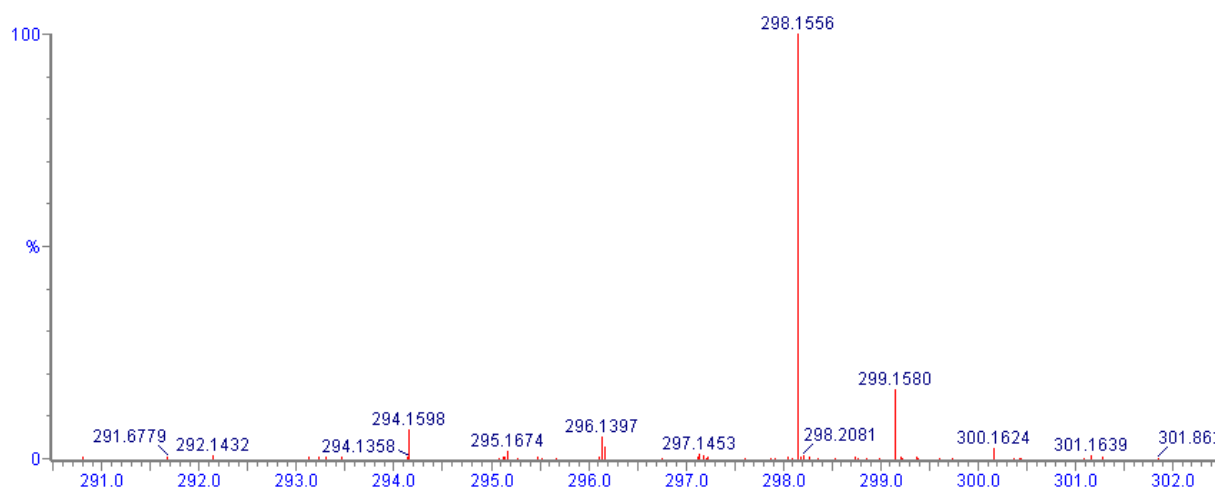
Slika D5. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina A za  $m/z$  402,2024. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
376.1327	100.00	376.1325	0.0	0.0	0.5	C10 H26 N5 O6 S2	58.7	0.955	38.49	10	26	5	6		2
		376.1324	0.1	0.3	0.0	C13 H29 N2 O3 F S3	59.1	1.374	25.31	13	29	2	3	1	3
		376.1331	-0.6	-1.6	9.5	C18 H22 N3 O4 S	59.4	1.654	19.13	18	22	3	4		1
		376.1331	-0.6	-1.6	9.0	C21 H25 O F S2	60.5	2.751	6.39	21	25		1	1	2
		376.1322	0.3	0.8	10.0	C20 H21 O6 F	60.8	3.041	4.78	20	21		6	1	
		376.1319	0.6	1.6	13.0	C24 H24 S2	61.0	3.308	3.66	24	24				2
		376.1324	0.1	0.3	19.0	C24 H16 N4 O	61.5	3.799	2.24	24	16	4	1		



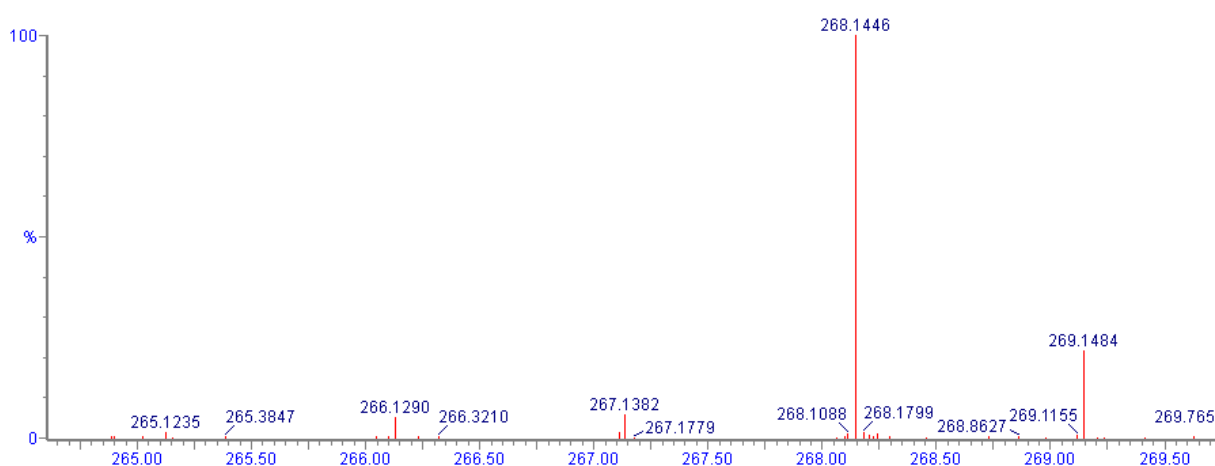
Slika D6. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina A za  $m/z$  376,1327. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
298.1554	100.00	298.1556	-0.1	-0.3	9.5	C17 H20 N3 O2	139.9	n/a	n/a	17	20	3	2		



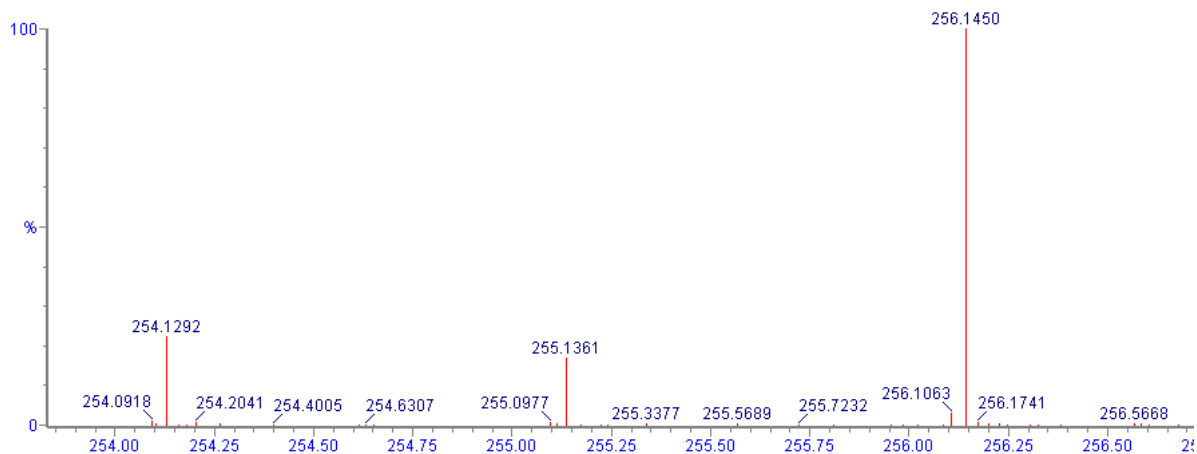
Slika D7. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina A za  $m/z$  298,1554. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
268.1446	100.00	268.1450	-0.2	-0.7	9.5	C16 H18 N3 O	283.0	0.111	89.52	16	18	3	1		
		268.1443	0.5	1.9	0.0	C11 H25 N2 F S2	285.7	2.817	5.98	11	25	2		1	2
		268.1443	0.5	1.9	0.5	C8 H22 N5 O3 S	286.0	3.101	4.50	8	22	5	3		1



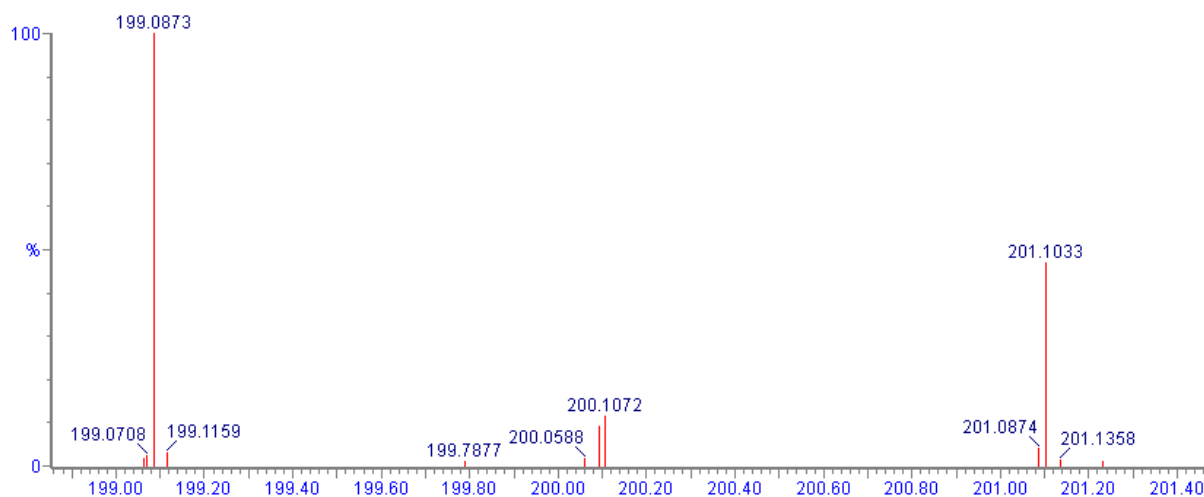
Slika D8. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina A za  $m/z$  268,1446. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
256.1446	100.00	256.1450	-0.3	-1.2	8.5	C15 H18 N3 O	188.6	0.000	99.98	15	18	3	1		
		256.1443	0.4	1.6	-0.5	C7 H22 N5 O3 S	197.2	8.595	0.02	7	22	5	3		1
		256.1443	0.4	1.6	-1.0	C10 H25 N2 F S2	200.1	11.474	0.00	10	25	2		1	2



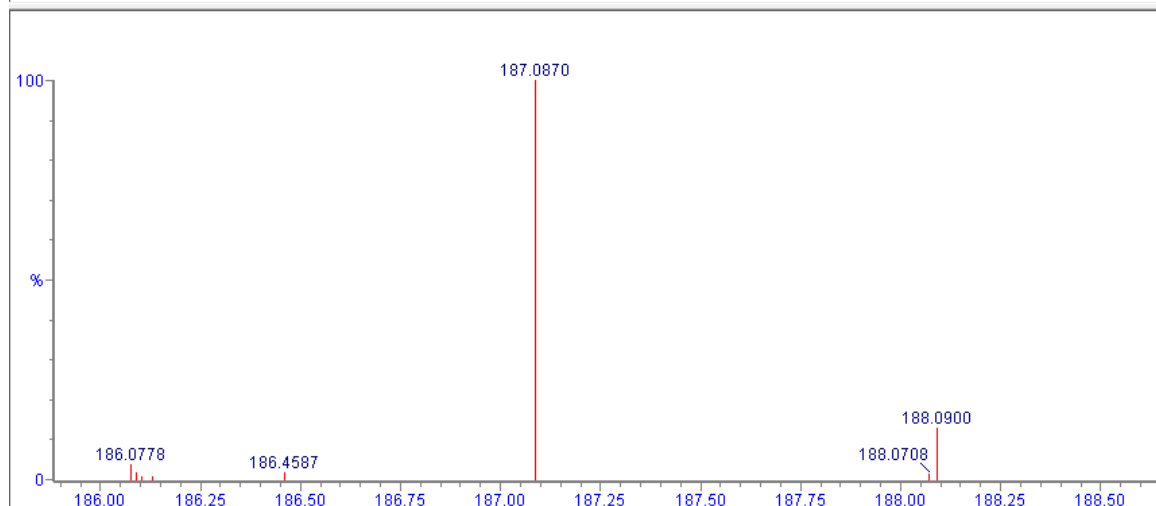
Slika D9. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina A za  $m/z$  256,1446. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
199.0873	100.00	199.0871	0.3	1.5	8.5	C12 H11 N2 O	99.1	n/a	n/a	12	11	2	1		



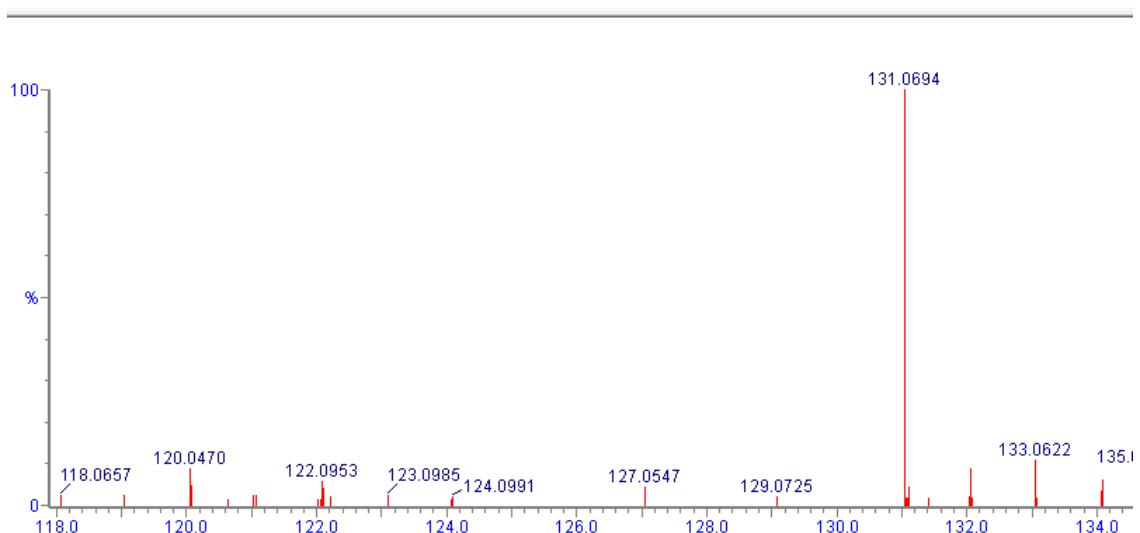
Slika D10. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina A za  $m/z$  199,0873. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
187.0870	100.00	187.0871	0.1	0.5	7.5	C11 H11 N2 O	48.1	0.216	80.61	11	11	2	1		
		187.0869	0.3	1.6	4.0	C6 H10 N5 O F	49.5	1.640	19.39	6	10	5	1	1	



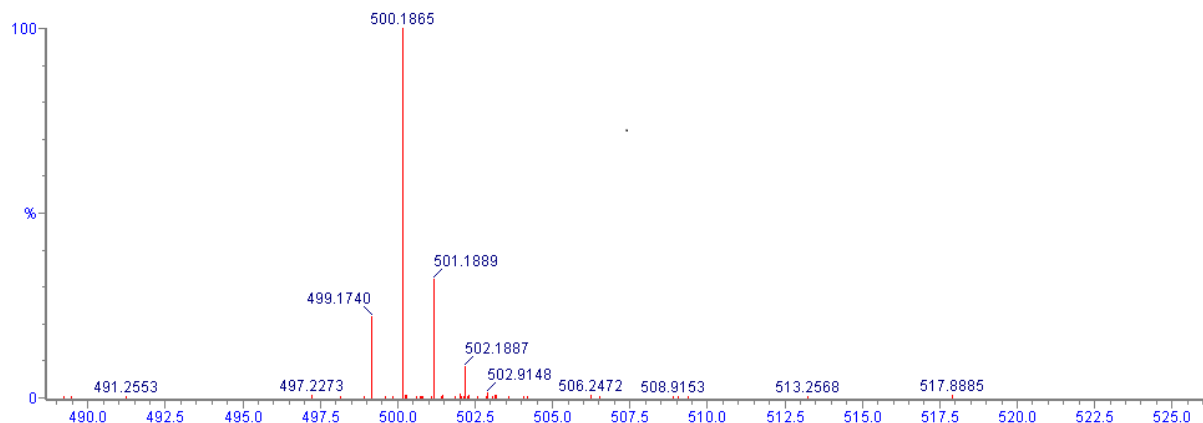
Slika D11. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina A za  $m/z$  187,0870. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O
131.0496	100.00	131.0497	-0.3	-2.3	6.5	C9 H7 O	85.8	0.364	69.50	9	7		1
		131.0483	1.1	8.4	7.0	C7 H5 N3	86.6	1.188	30.50	7	5	3	



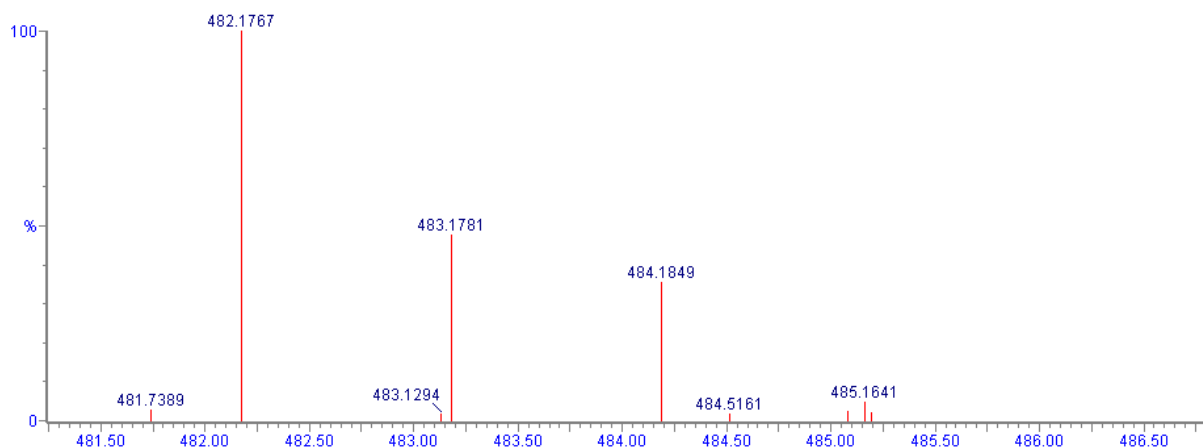
Slika D12. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina A za  $m/z$  131,0496. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
500.1865	100.00	500.1867	-0.2	-0.4	8.5	C22 H31 N3 O7 F S	157.6	0.652	52.11	22	31	3	7	1	1
		500.1855	1.0	2.0	12.5	C25 H30 N3 O6 S	157.8	0.768	46.40	25	30	3	6		1
		500.1862	0.3	0.6	3.0	C19 H36 N2 O9 S2	162.1	5.153	0.58	19	36	2	9		2
		500.1874	-0.9	-1.8	-1.0	C16 H37 N2 O10 F S2	162.3	5.331	0.48	16	37	2	10	1	2
		500.1860	0.5	1.0	-0.5	C14 H35 N5 O9 F S2	162.5	5.496	0.41	14	35	5	9	1	2
		500.1865	0.0	0.0	13.5	C25 H28 N5 O3 F Cl	167.7	10.757	0.00	25	28	5	3		1
		500.1872	-0.7	-1.4	4.0	C19 H34 N4 O6 F S Cl	168.1	11.149	0.00	19	34	4	6	1	1
		500.1874	-0.9	-1.8	7.5	C24 H35 N4 O6 S Cl	168.3	11.335	0.00	24	35	1	6		1



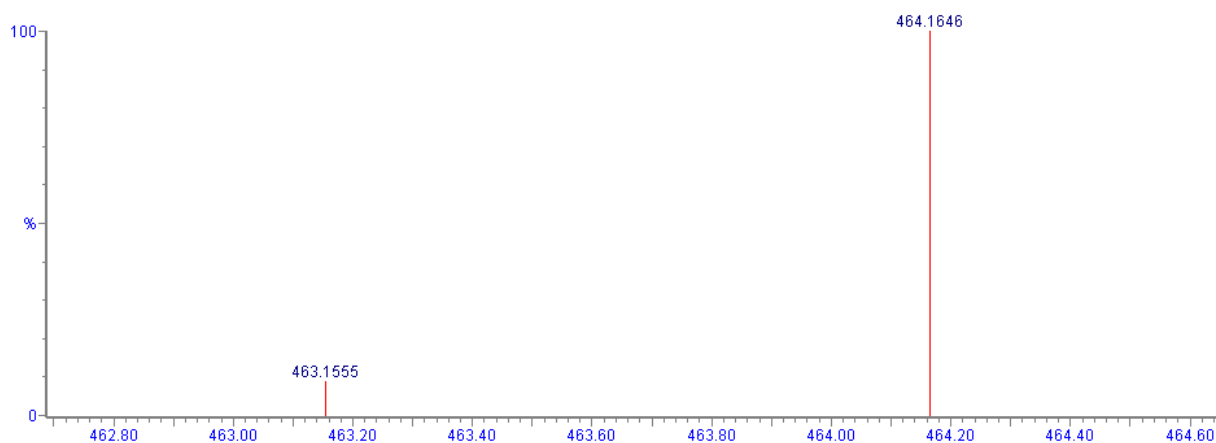
Slika D13. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina B za  $m/z$  500,1865. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
482.1767	100.00	482.1770	-0.9	-1.9	8.5	C23 H33 N3 O F S3	45.2	0.569	56.59	23	33	3	1	1	3
		482.1761	0.0	0.0	9.5	C22 H29 N3 O6 F S	46.5	1.915	14.74	22	29	3	6	1	1
		482.1757	0.4	0.8	4.0	C19 H34 N2 O8 S2	46.6	1.986	13.72	19	34	2	8		2
		482.1768	-0.7	-1.5	0.0	C16 H35 N2 O9 F S2	47.0	2.430	8.80	16	35	2	9	1	2
		482.1755	0.6	1.2	0.5	C14 H33 N5 O8 F S2	47.4	2.789	6.15	14	33	5	8	1	2



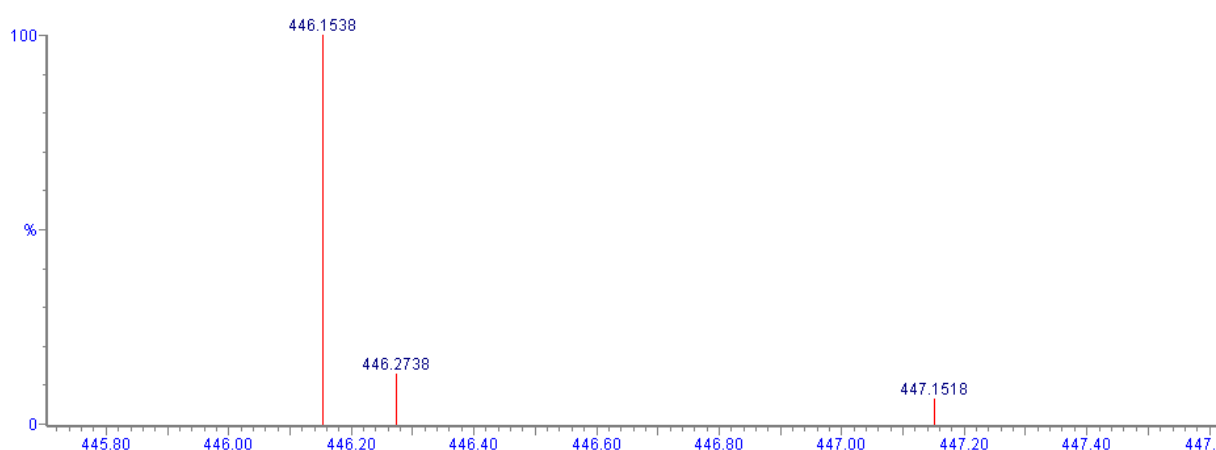
Slika D14. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina B za  $m/z$  482,1767. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
464.1646	100.00	464.1655	-0.6	-1.3	10.5	C22 H27 N3 O5 F S	18.3	0.619	53.87	22	27	3	5	1	1
		464.1644	0.5	1.1	14.5	C25 H26 N3 O4 S	19.1	1.422	24.12	25	26	3	4		1
		464.1651	-0.2	-0.4	5.0	C19 H32 N2 O7 S2	19.7	2.014	13.35	19	32	2	7		2
		464.1649	0.0	0.0	1.5	C14 H31 N5 O7 F S2	20.1	2.446	8.66	14	31	5	7	1	2



Slika D15. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina B za  $m/z$  464,1646. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

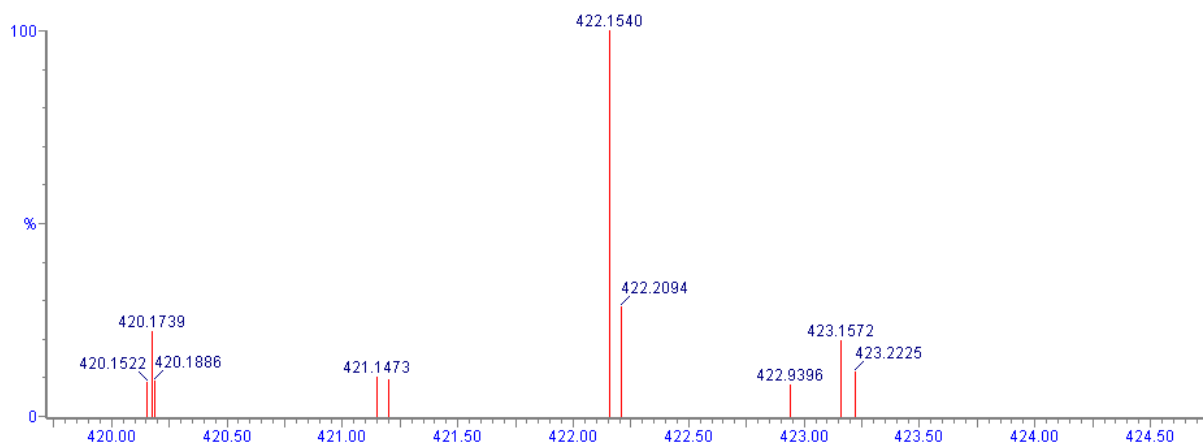
Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
446.1538	100.00	446.1550	-0.8	-1.8	11.5	C22 H25 N3 O4 F S	28.9	1.138	32.03	22	25	3	4	1	1
		446.1543	-0.1	-0.2	2.5	C14 H29 N5 O6 F S2	29.1	1.309	27.01	14	29	5	6	1	2
		446.1538	0.4	0.9	15.5	C25 H24 N3 O3 S	29.2	1.364	25.57	25	24	3	3		1
		446.1545	-0.3	-0.7	6.0	C19 H30 N2 O6 S2	29.7	1.872	15.38	19	30	2	6		2



Slika D16. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina B za  $m/z$  446,1538. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

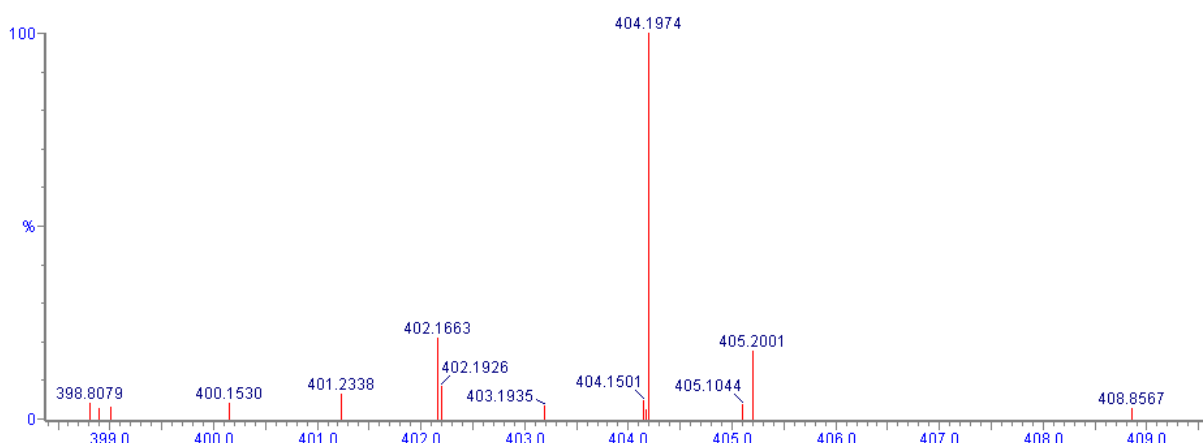


Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
422.1540	100.00	422.1557	-0.2	-0.5	0.5	C11 H28 N5 O10 S	35.6	1.017	36.17	11	28	5	10		1
		422.1550	0.5	1.2	9.5	C20 H25 N3 O4 F S	35.7	1.093	33.54	20	25	3	4	1	1
		422.1552	0.3	0.7	13.0	C25 H26 O4 S	36.1	1.532	21.61	25	26		4		1
		422.1557	-0.2	-0.5	0.0	C14 H31 N2 O7 F S2	37.0	2.445	8.68	14	31	2	7	1	2



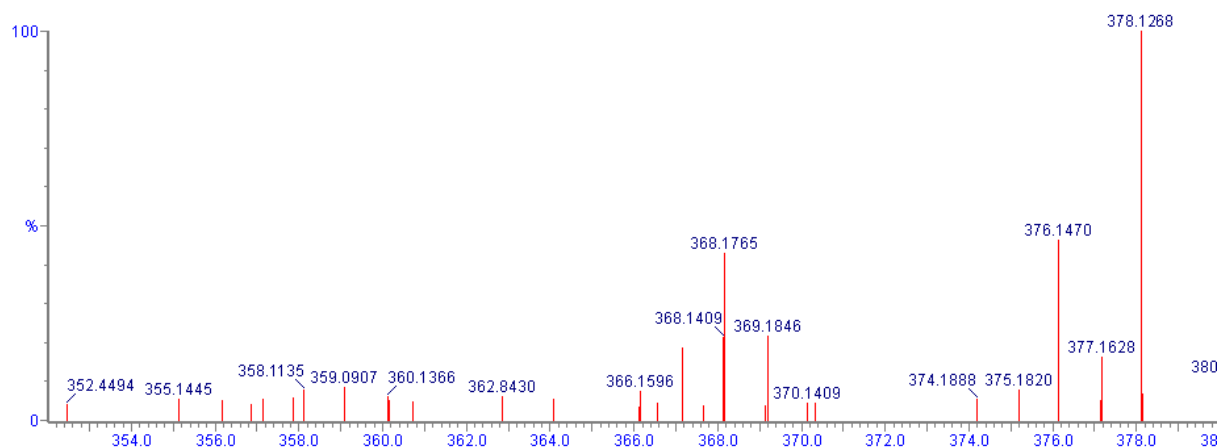
Slika D17. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina B za  $m/z$  422,1540. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
404.1974	100.00	404.1974	0.0	0.0	13.5	C24 H26 N3 O3	23.9	1.100	33.29	24	26	3	3		
		404.1986	-1.2	-3.0	9.5	C21 H27 N3 O4 F	24.4	1.626	19.66	21	27	3	4	1	
		404.1959	1.5	3.7	5.0	C18 H29 N2 O7 F	24.6	1.749	17.39	18	29	2	7	1	
		404.1993	-1.9	-4.7	0.5	C12 H30 N5 O10	25.1	2.236	10.69	12	30	5	10		
		404.1979	-0.5	-1.2	0.5	C13 H31 N5 O6 F S	25.8	2.965	5.15	13	31	5	6	1	1
		404.1968	0.6	1.5	4.5	C16 H30 N5 O5 S	26.0	3.135	4.35	16	30	5	5		1
		404.1981	-0.7	-1.7	4.0	C18 H32 N2 O6 S	26.3	3.499	3.02	18	32	2	6		1
		404.1967	0.7	1.7	4.0	C10 H33 N2 O2 F S2	26.9	4.036	1.77	10	33	2	2	1	2



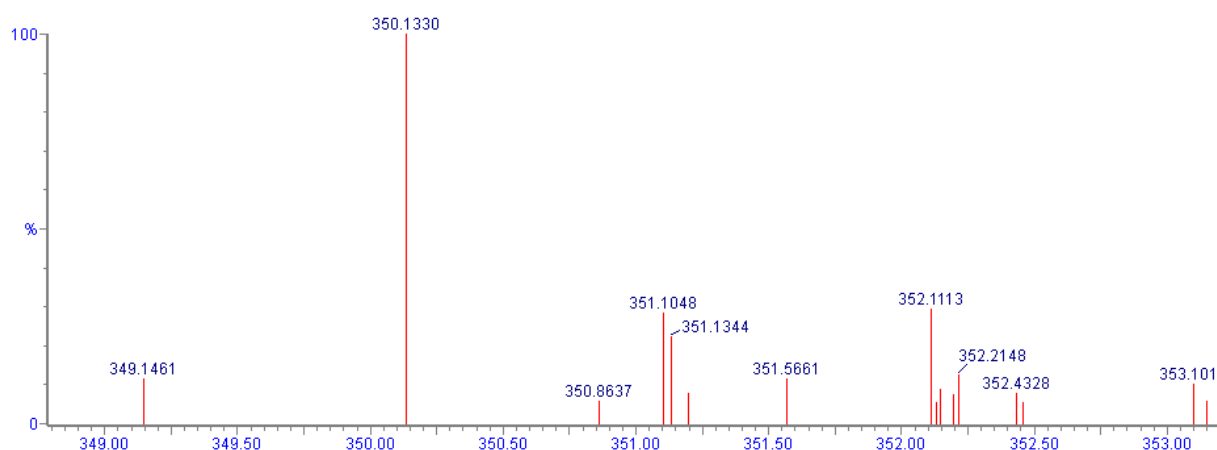
Slika D18. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina B za  $m/z$  404,1974. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
378.1268	100.00	378.1288	0.1	0.3	9.5	C18 H21 N3 O3 F S	34.5	0.342	71.04	18	21	3	3	1	1
		378.1290	-0.1	-0.3	13.0	C23 H22 O3 S	35.4	1.239	28.96	23	22		3		1



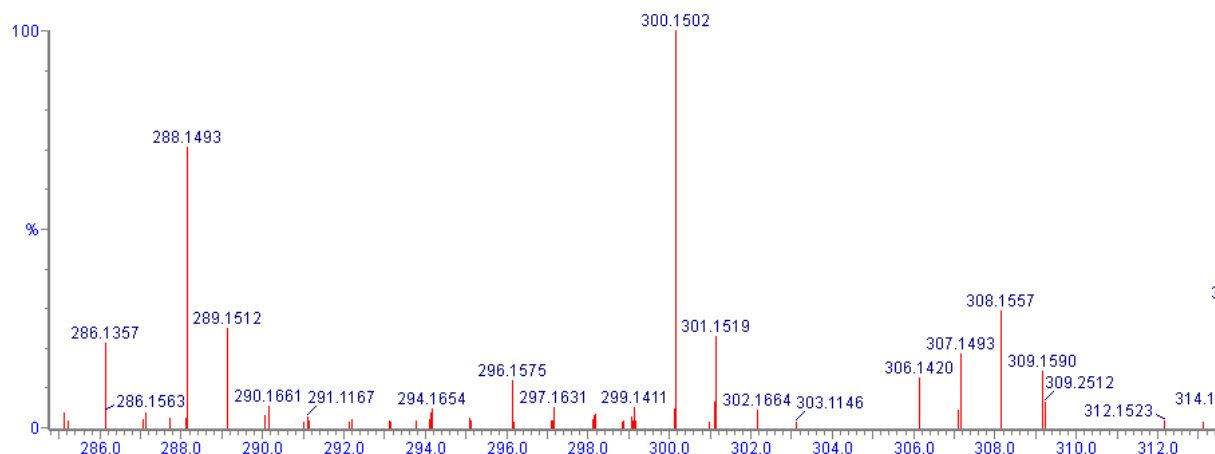
Slika D19. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina B za  $m/z$  378,1268. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
350.1330	100.00	350.1345	0.0	0.0	17.5	C25 H17 N F	83.4	0.523	59.30	25	17	1		1	
		350.1341	0.4	1.1	12.0	C22 H22 O2 S	84.5	1.640	19.39	22	22		2		1
		350.1339	0.6	1.7	8.5	C17 H21 N3 O2 F S	84.7	1.874	15.35	17	21	3	2	1	1
		350.1345	0.0	0.0	-1.0	C11 H27 N2 O5 F S2	86.3	3.457	3.15	11	27	2	5	1	2
		350.1346	-0.1	-0.3	-0.5	C8 H24 N5 O8 S	86.4	3.572	2.81	8	24	5	8		1



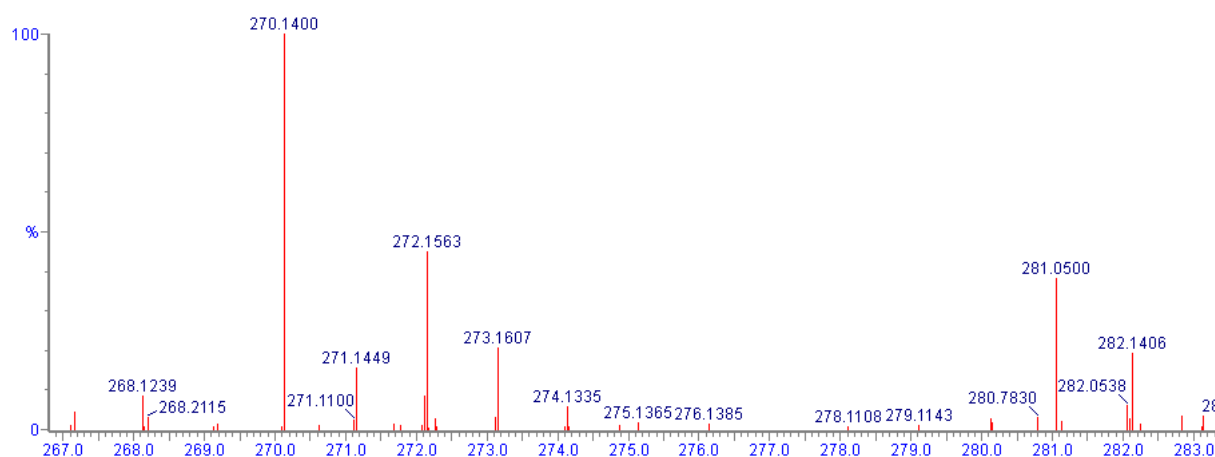
Slika D20. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina B za  $m/z$  350,1330. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
300.1502	100.00	300.1508	0.0	0.0	4.0	C14 H24 N2 O3 S	32.5	0.637	52.86	14	24	2	3		1
		300.1512	-0.4	-1.3	9.5	C17 H19 N3 O F	32.9	0.949	38.70	17	19	3	1	1	
		300.1506	0.2	0.7	0.5	C9 H23 N5 O3 F S	34.4	2.473	8.44	9	23	5	3	1	1



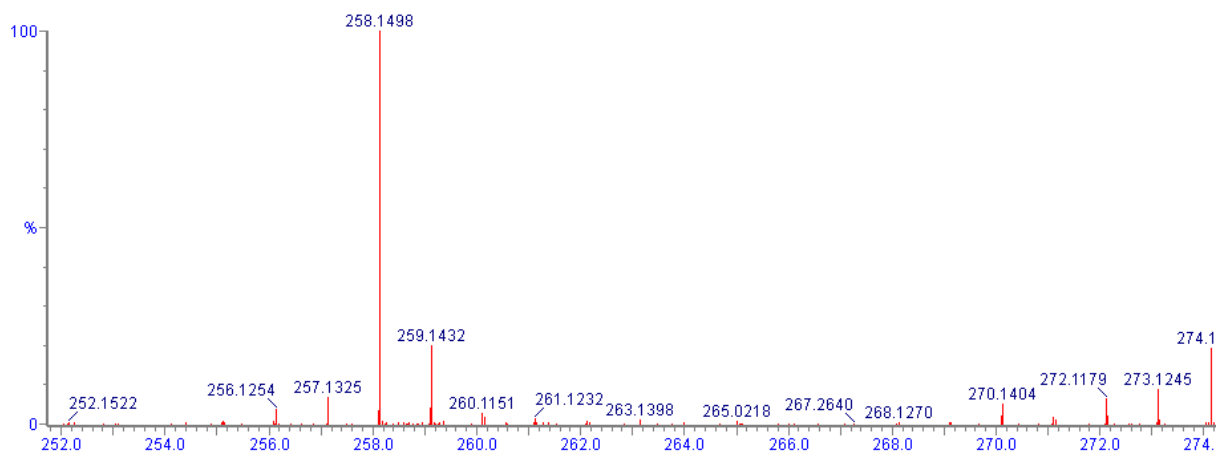
Slika D21. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina B za  $m/z$  300,1502. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
270.1400	100.00	270.1402	0.1	0.4	4.0	C13 H22 N2 O2 S	96.5	0.420	65.73	13	22	2	2		1
		270.1400	0.3	1.1	0.5	C8 H21 N5 O2 F S	97.7	1.551	21.20	8	21	5	2	1	1
		270.1407	-0.4	-1.5	9.5	C16 H17 N3 F	98.2	2.035	13.07	16	17	3		1	



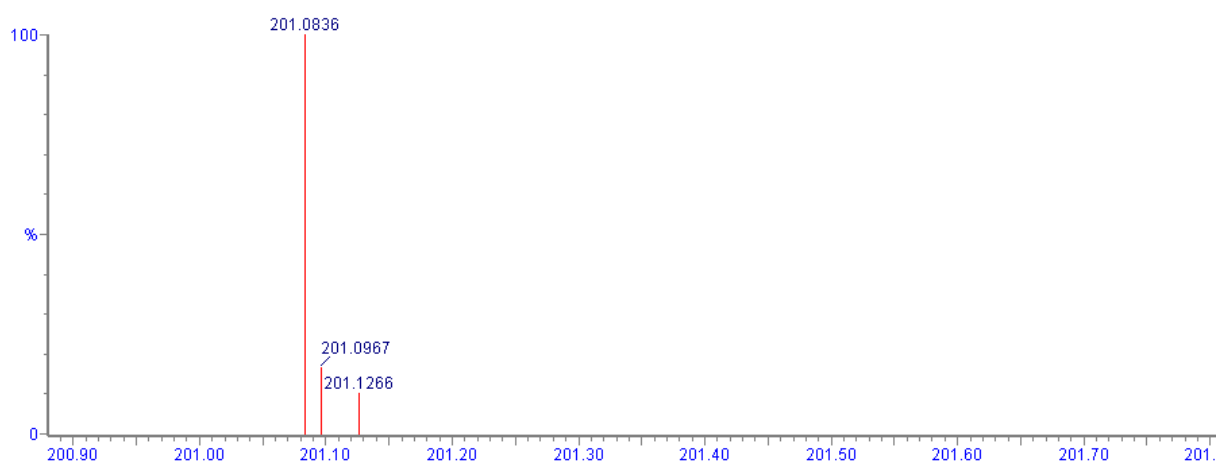
Slika D22. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina B za  $m/z$  270,1400. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
258.1498	100.00	258.1409	-0.8	-3.1	12.0	C20 H18	241.3	0.496	60.89	20	18				
		258.1407	-0.6	-2.3	8.5	C15 H17 N3 F	241.7	0.939	39.11	15	17	3		1	
		258.1402	-0.1	-0.4	3.0	C12 H22 N2 O2 S	253.1	12.278	0.00	12	22	2	2		1
		258.1400	0.1	0.4	-0.5	C7 H21 N5 O2 F S	253.7	12.916	0.00	7	21	5	2	1	1



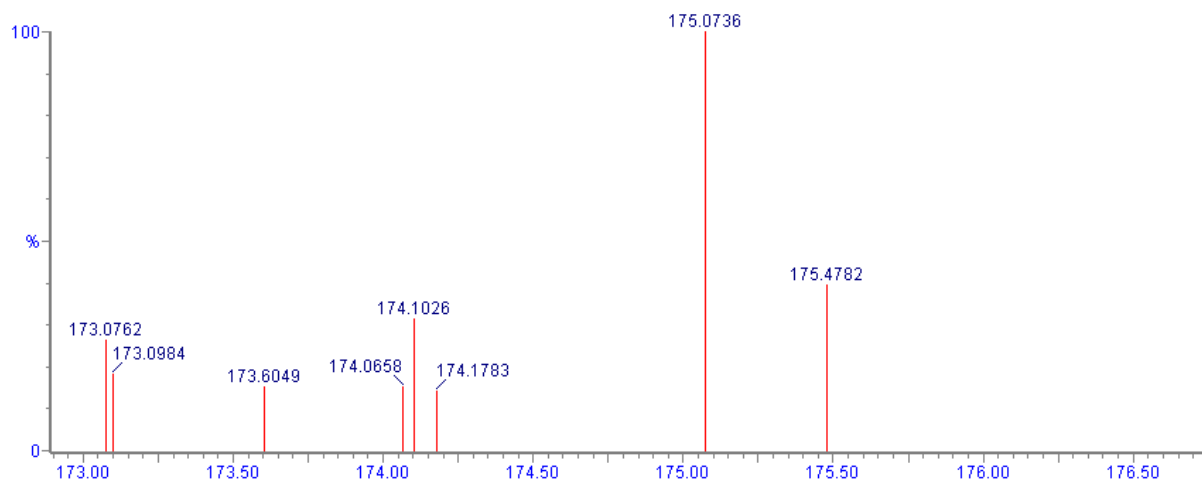
Slika D23. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina B za  $m/z$  258,1398. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
201.0836	100.00	201.0835	0.1	0.5	-0.5	C3 H13 N4 O6	36.6	0.253	77.64	3	13	4	6		
		201.0828	0.8	4.0	8.5	C12 H10 N2 F	37.8	1.508	22.14	12	10	2		1	
		201.0835	0.1	0.5	-1.0	C6 H16 N O3 F S	42.7	6.330	0.18	6	16	1	3	1	1
		201.0844	-0.8	-4.0	-1.5	C4 H17 N4 O S2	44.3	7.973	0.03	4	17	4	1		2



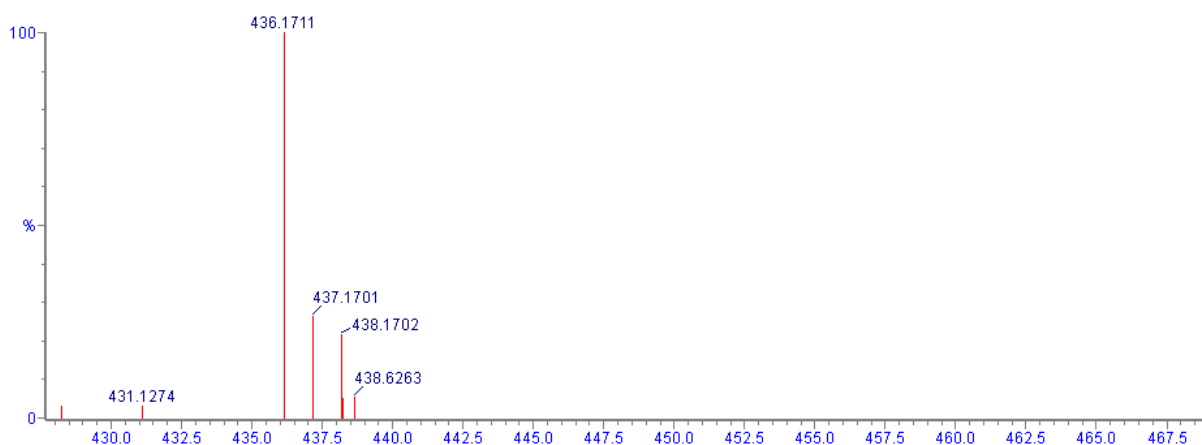
Slika D24. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina B za  $m/z$  201,0836. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
175.0736	100.00	175.0730	0.6	3.4	-1.5	C3 H12 N2 O5 F	23.7	0.041	96.00	3	12	2	5	1	
		175.0746	-1.0	-5.7	7.0	C9 H9 N3 O	26.9	3.219	4.00	9	9	3	1		



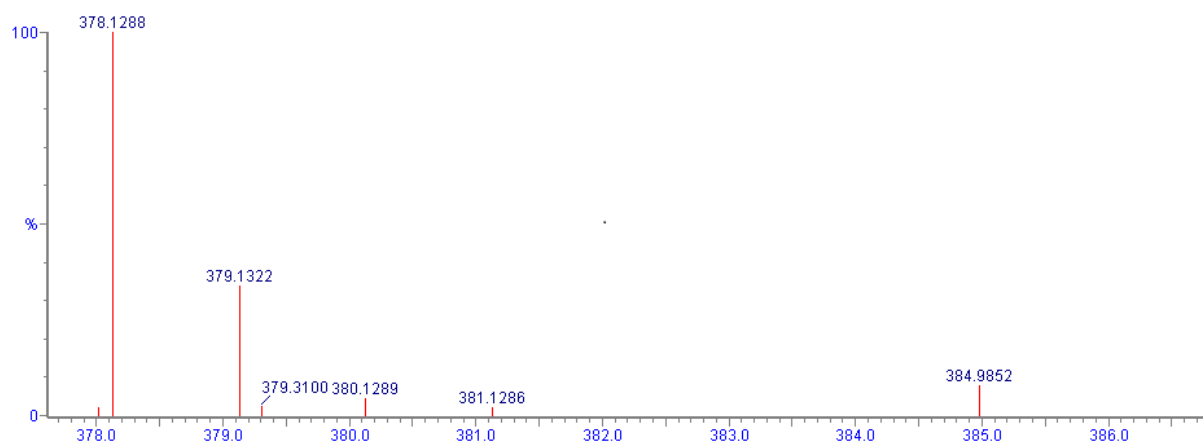
Slika D25. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina B za  $m/z$  175,0736. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
436.1711	100.00	436.1713	0.1	0.2	0.5	C12 H30 N5 O10 S	29.7	1.049	35.03	12	30	5	10		1
		436.1706	0.8	1.8	9.5	C21 H27 N3 O4 F S	29.9	1.236	29.06	21	27	3	4	1	1
		436.1713	0.1	0.2	0.0	C15 H33 N2 O7 F S2	30.7	2.124	11.95	15	33	2	7	1	2
		436.1702	1.2	2.8	4.0	C18 H32 N2 O6 S2	31.0	2.367	9.38	18	32	2	6		2
		436.1720	-0.6	-1.4	9.0	C23 H29 O5 F S	31.1	2.496	8.24	23	29		5	1	1
		436.1722	-0.8	-1.8	-0.5	C13 H34 N5 O5 S3	31.9	3.254	3.86	13	34	5	5		3
		436.1720	-0.6	-1.4	9.5	C20 H26 N3 O8	32.3	3.701	2.47	20	26	3	8		



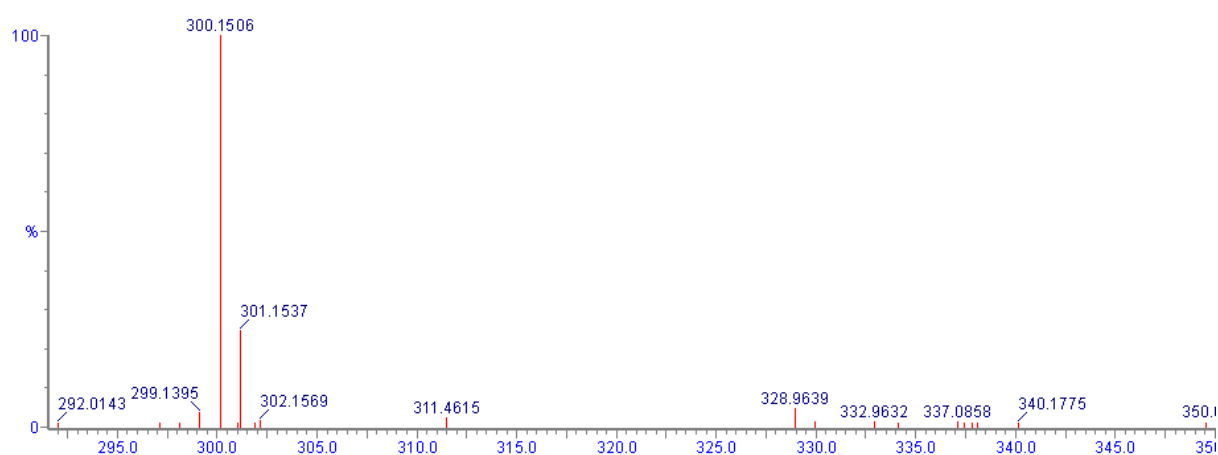
Slika D26. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C za  $m/z$  436,1711. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
378.1288	100.00	378.1290	-0.6	-1.6	13.0	C23 H22 O3 S	13.2	0.669	51.21	23	22	3			1
		378.1288	-0.4	-1.1	9.5	C18 H21 N3 O3 F S	13.6	1.012	36.36	18	21	3	3	1	1
		378.1276	0.8	2.1	13.5	C21 H20 N3 O2 S	14.8	2.274	10.29	21	20	3	2		1
		378.1281	0.3	0.8	19.0	C24 H15 N4 F	17.5	4.914	0.73	24	15	4		1	
		378.1283	0.1	0.3	4.0	C15 H26 N2 O5 S2	17.8	5.241	0.53	15	26	2	5		2
		378.1295	-1.1	-2.9	0.5	C9 H24 N5 O9 S	17.8	5.269	0.51	9	24	5	9		1
		378.1295	-1.1	-2.9	0.0	C12 H27 N2 O6 F S2	18.5	5.941	0.26	12	27	2	6	1	2
		378.1281	0.3	0.8	0.5	C10 H25 N5 O5 F S2	20.2	7.503	0.05	10	25	5	5	1	2



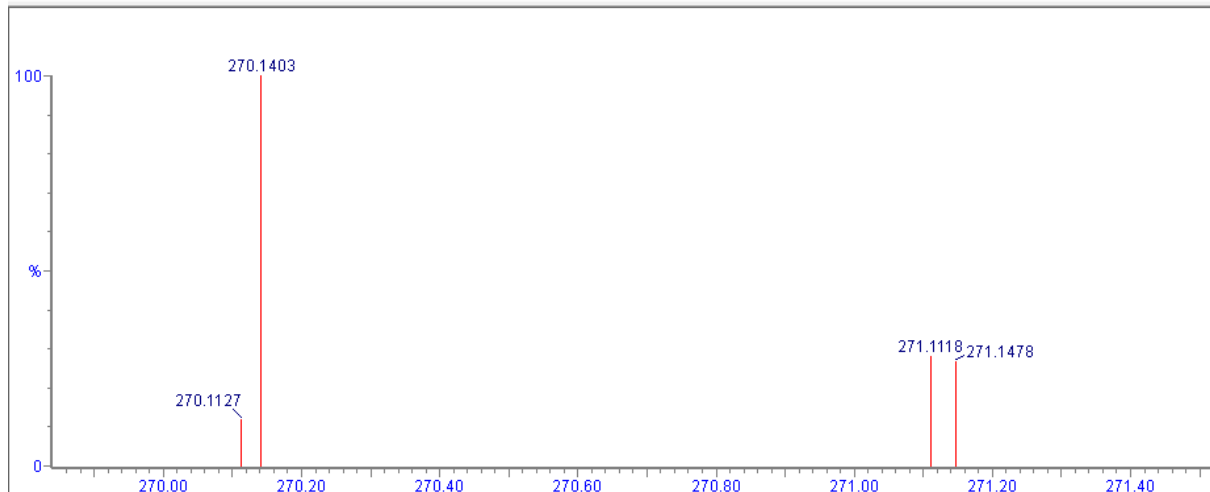
Slika D27. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C za  $m/z$  378,1288. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
300.1506	100.00	300.1501	-0.5	-1.7	13.5	C20 H18 N3	18.7	0.348	70.61	20	18	3			
		300.1514	-1.8	-6.0	13.0	C22 H20 O	20.4	2.053	12.84	22	20		1		
		300.1512	-1.6	-5.3	9.5	C17 H19 N3 O F	20.6	2.272	10.31	17	19	3	1	1	
		300.1526	-3.0	-10.0	9.0	C19 H21 O2 F	21.5	3.147	4.30	19	21		2	1	
		300.1474	2.2	7.3	9.0	C17 H20 N2 O3	22.7	4.359	1.28	17	20	2	3		
		300.1485	1.1	3.7	5.0	C14 H21 N2 O4 F	23.4	5.114	0.60	14	21	2	4	1	
		300.1472	2.4	8.0	5.5	C12 H19 N5 O3 F	25.8	7.508	0.05	12	19	5	3	1	
		300.1510	-2.3	-7.7	0.5	C8 H22 N5 O7	27.6	0.782	0.01	8	22	5	7		



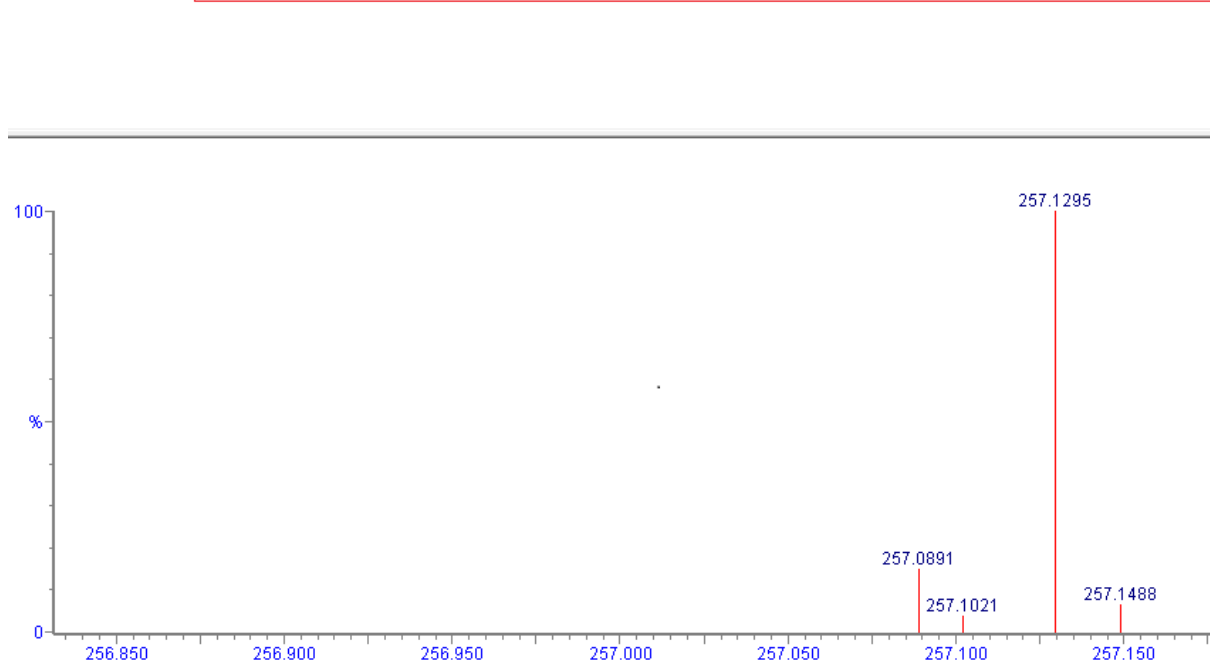
Slika D28. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C za  $m/z$  300,1506. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
270.1403	100.00	270.1409	0.2	0.7	13.0	C21 H18	29.2	0.205	81.47	21	18				
		270.1407	0.4	1.5	9.5	C16 H17 N3 F	30.9	1.918	14.68	16	17	3		1	
		270.1414	-0.3	-1.1	0.5	C7 H20 N5 O6	32.9	3.947	1.93	7	20	5	6		
		270.1413	-0.2	-0.7	0.0	C10 H23 N2 O3 F S	32.9	3.956	1.91	10	23	2	3	1	1



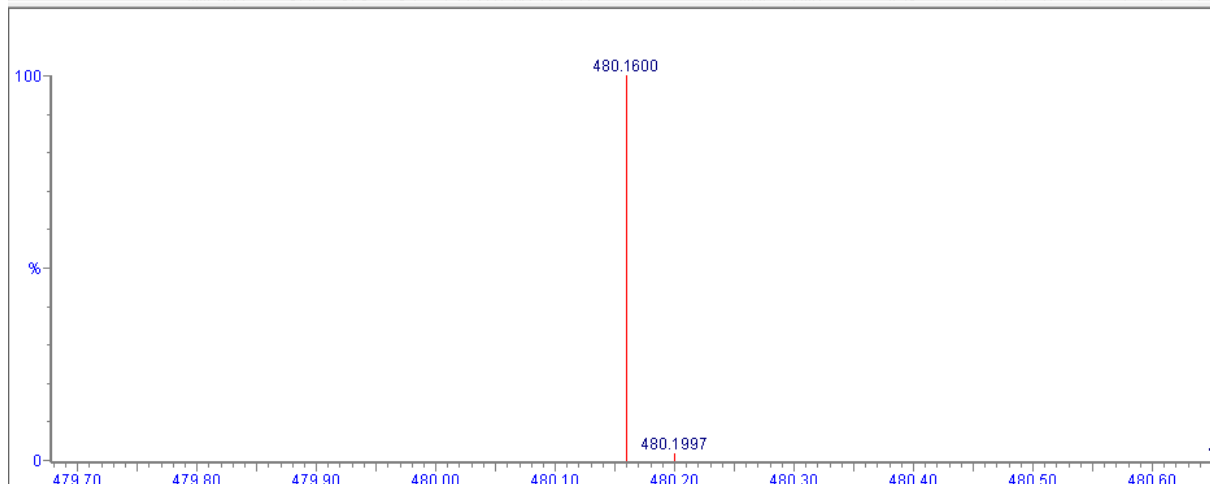
Slika D29. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C za  $m/z$  270,1403. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
257.1295	100.00	257.1297	-0.2	-0.8	-1.0	C9 H23 N O5 S	27.9	0.322	72.48	9	23	1	5		1
		257.1290	0.5	1.9	8.5	C15 H17 N2 O2	28.9	1.290	27.52	15	17	2	2		



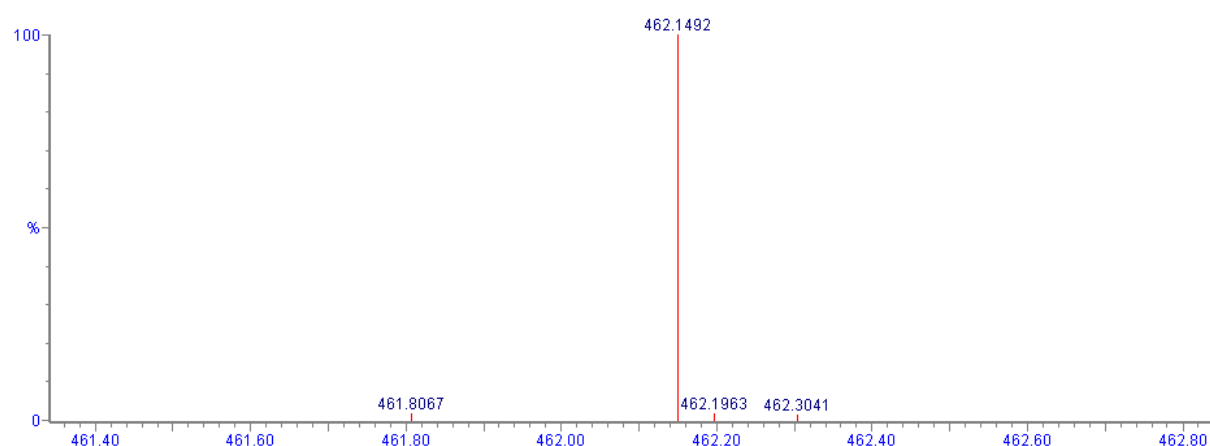
Slika D30. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C za  $m/z$  257.1295. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
480.1600	100.00	480.1598	0.1	0.2	1.5	C14 H31 N5 O8 F S2	43.1	1.400	24.67	14	31	5	8	1	2
480.1600		480.1600	-0.1	-0.2	5.0	C19 H32 N2 O8 S2	43.2	1.533	21.59	19	32	2	8		2
480.1605		480.1605	-0.6	-1.2	10.5	C22 H27 N3 O6 F S	43.6	1.858	15.60	22	27	3	6	1	1
480.1593		480.1593	0.6	1.2	14.5	C25 H26 N3 O5 S	43.7	2.006	13.46	25	26	3	5		1
480.1612		480.1612	-1.3	-2.7	1.0	C16 H33 N2 O9 F S2	44.3	2.628	7.22	16	33	2	9	1	2
480.1587		480.1587	1.2	2.5	5.5	C17 H30 N5 O7 S2	44.4	2.686	6.81	17	30	5	7		2
480.1586		480.1586	1.3	2.7	5.0	C20 H33 N2 O4 F S3	44.5	2.805	6.05	20	33	2	4	1	3
480.1613		480.1613	-1.4	-2.8	8.5	C23 H31 N3 O6 F S3	44.8	3.081	4.50	23	31	3	1	1	3



Slika D31. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C.1 za  $m/z$  480,1600. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

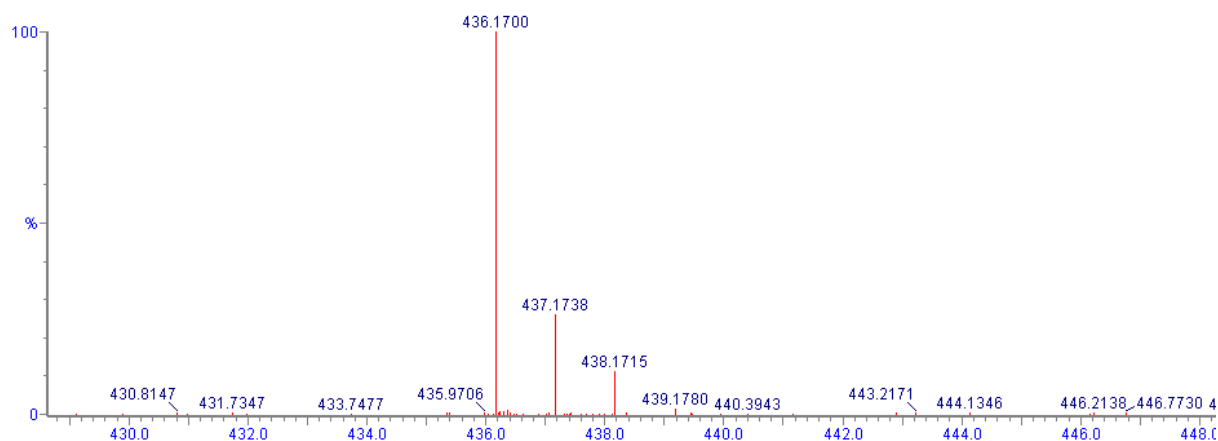
Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
462.1492	100.00	462.1499	0.0	0.0	11.5	C22 H25 N3 O5 F S	48.5	1.075	34.12	22	25	3	5	1	1
462.1494		462.1494	0.5	1.1	6.0	C19 H30 N2 O7 S2	49.2	1.770	17.03	19	30	2	7		2
462.1513		462.1513	-1.4	-3.0	11.5	C21 H24 N3 O9	49.6	2.167	11.45	21	24	3	9		
462.1492		462.1492	0.7	1.5	2.5	C14 H29 N5 O7 F S2	49.7	2.260	10.44	14	29	5	7	1	2
462.1506		462.1506	-0.7	-1.5	2.0	C16 H31 N2 O8 F S2	49.7	2.320	9.83	16	31	2	8	1	2
462.1488		462.1488	1.1	2.4	15.5	C25 H24 N3 O4 S	49.8	2.421	8.89	25	24	3	4		1
462.1508		462.1508	-0.9	-1.9	10.5	C23 H29 N3 F S3	50.3	2.908	5.46	23	29	3		1	3
462.1512		462.1512	-1.3	-2.8	11.0	C24 H27 O6 F S	51.0	3.580	2.70	24	27		6	1	1



Slika D32. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C.1 za  $m/z$  462,1492. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

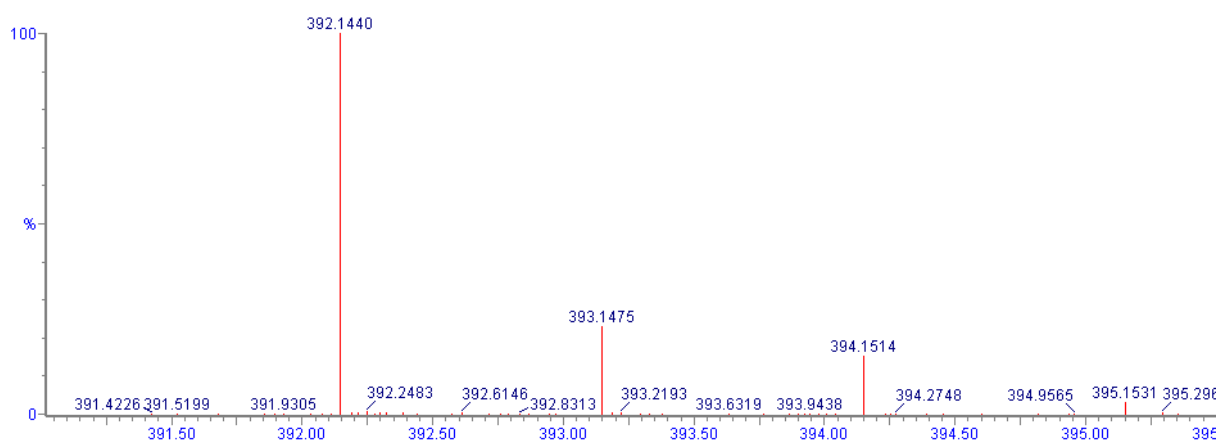


Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
436.1700	100.00	436.1706	-0.6	-1.4	9.5	C21 H27 N3 O4 F S	186.5	0.625	53.53	21	27	3	4	1	1
		436.1695	0.5	1.1	13.5	C24 H26 N3 O3 S	186.7	0.859	42.34	24	26	3	3		1
		436.1702	-0.2	-0.5	4.0	C18 H32 N2 O6 S2	189.5	3.636	2.64	18	32	2	6		2
		436.1688	1.2	2.8	4.5	C16 H30 N5 O5 S2	190.4	4.529	1.08	16	30	5	5		2
		436.1700	0.0	0.0	0.5	C13 H31 N5 O6 F S2	191.4	5.577	0.38	13	31	5	6	1	2
		436.1688	1.2	2.8	4.0	C19 H33 N2 O2 F S3	193.9	7.980	0.03	19	33	2	2	1	3



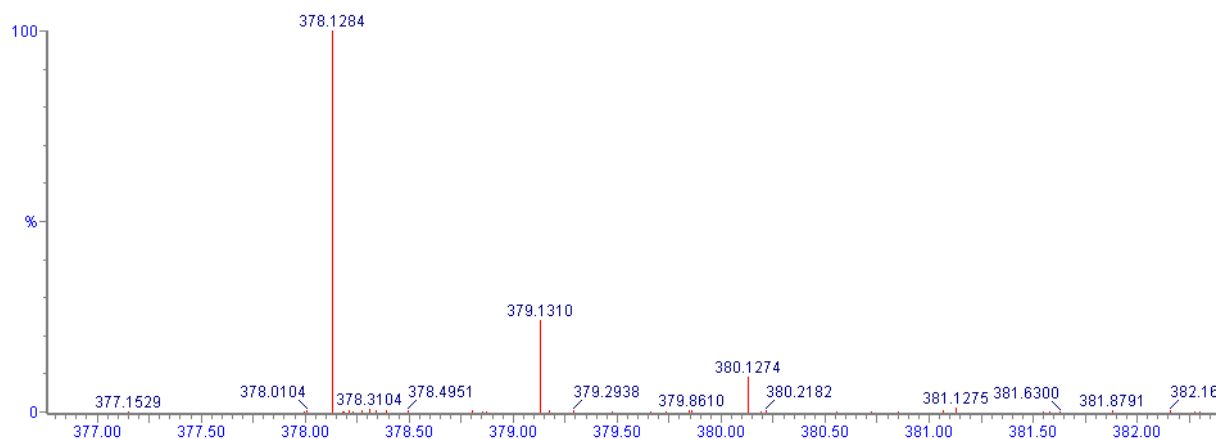
Slika D33. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C.1 za  $m/z$  436,1700. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
392.1440	100.00	392.1438	0.0	0.0	0.5	C11 H27 N5 O5 F S2	330.9	7.224	0.07	11	27	5	5	1	2
		392.1437	0.1	0.3	19.0	C25 H17 N4 F	323.7	0.066	93.61	25	17	4		1	
		392.1440	-0.2	-0.5	4.0	C16 H28 N2 O5 S2	327.9	4.214	1.48	16	28	2	5		2
		392.1433	0.5	1.3	13.5	C22 H22 N3 O2 S	330.3	6.662	0.13	22	22	3	2		1
		392.1444	-0.6	-1.5	9.5	C19 H23 N3 O3 F S	330.4	6.776	0.11	19	23	3	3	1	1
		392.1431	0.7	1.8	5.0	C15 H24 N2 O10	326.9	3.267	3.81	15	24	2	10		
		392.1446	-0.8	-2.0	13.0	C24 H24 O3 S	329.6	5.895	0.28	24	24		3		1
		392.1439	0.0	2.2	1.5	C10 H22 N5 O10 F	329.9	5.779	0.51	10	22	5	10		1



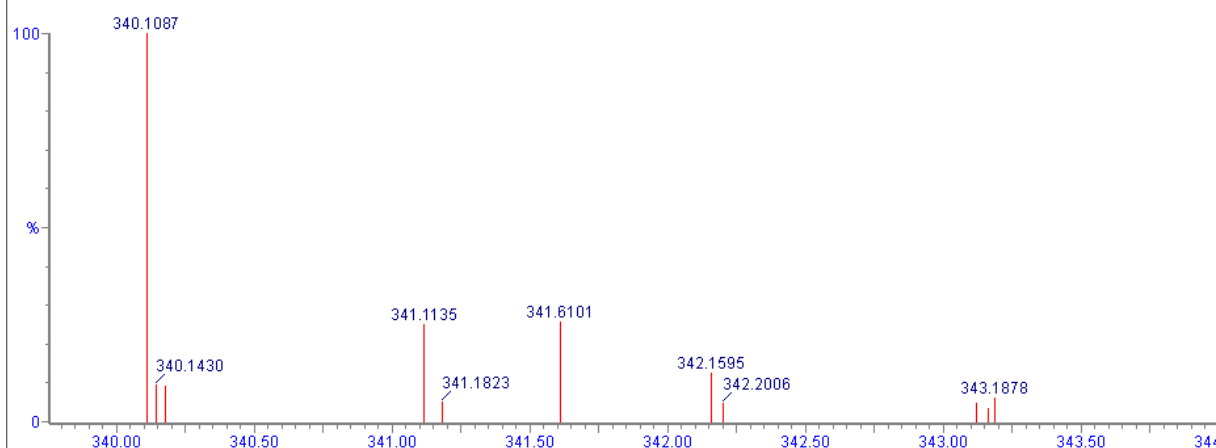
Slika D34. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C.1 za  $m/z$  392,1440. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
378.1284	100.00	378.1276	0.8	2.1	13.5	C21 H20 N3 O2 S	205.8	0.393	67.51	21	20	3	2		1
		378.1288	-0.4	-1.1	9.5	C18 H21 N3 O3 F S	206.6	1.205	29.98	18	21	3	3	1	1
		378.1290	-0.6	-1.6	13.0	C23 H22 O3 S	209.4	3.965	1.90	23	22		3		1
		378.1283	0.1	0.3	4.0	C15 H26 N2 O5 S2	210.8	5.346	0.48	15	26	2	5		2
		378.1295	-1.1	-2.9	0.0	C12 H27 N2 O6 F S2	212.9	7.446	0.06	12	27	2	6	1	2
		378.1281	0.3	0.8	0.5	C10 H25 N5 O5 F S2	213.1	7.662	0.05	10	25	5	5	1	2
		378.1295	-1.1	-2.9	0.5	C9 H24 N5 O9 S	213.5	8.093	0.03	9	24	5	9		1
		378.1274	1.0	2.6	5.0	C14 H22 N2 O10	221.0	15.508	0.00	14	22	2	10		



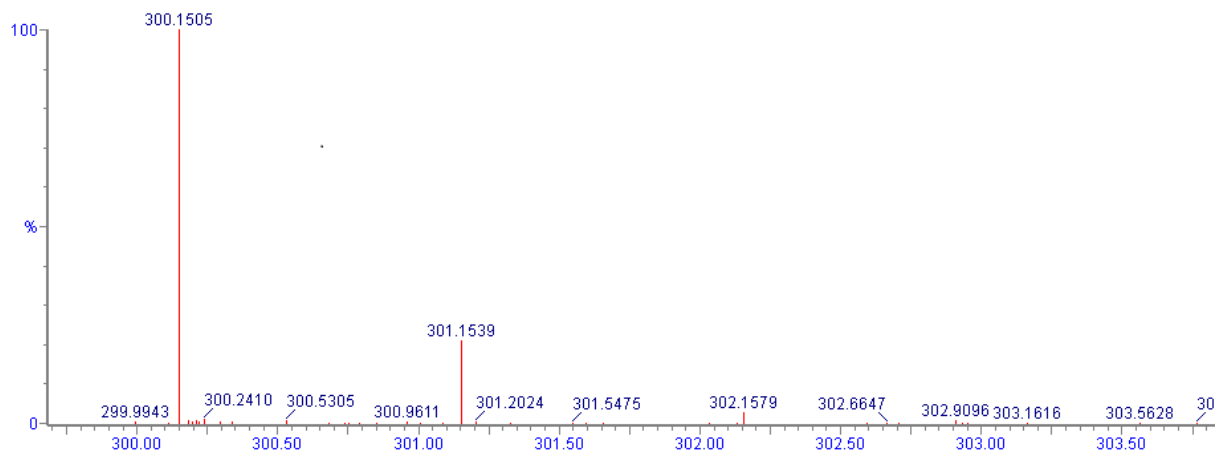
Slika D35. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C.1 za  $m/z$  378,1284. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
340.1087	100.00	340.1079	1.0	2.9	7.0	C16 H21 N2 O F S2	66.0	0.428	65.18	16	21	2	1	1	2
		340.1097	-0.8	-2.4	12.5	C18 H15 N3 O3 F	67.7	2.097	12.28	18	15	3	3	1	
		340.1093	-0.4	-1.2	7.0	C15 H20 N2 O5 S	68.0	2.360	9.44	15	20	2	5		1
		340.1079	1.0	2.9	7.5	C13 H18 N5 O4 S	68.5	2.902	5.49	13	18	5	4		1
		340.1086	0.3	0.9	16.5	C21 H14 N3 O2	68.6	2.984	5.06	21	14	3	2		
		340.1091	-0.2	-0.6	3.5	C10 H19 N5 O5 F S	69.3	3.672	2.54	10	19	5	5	1	1



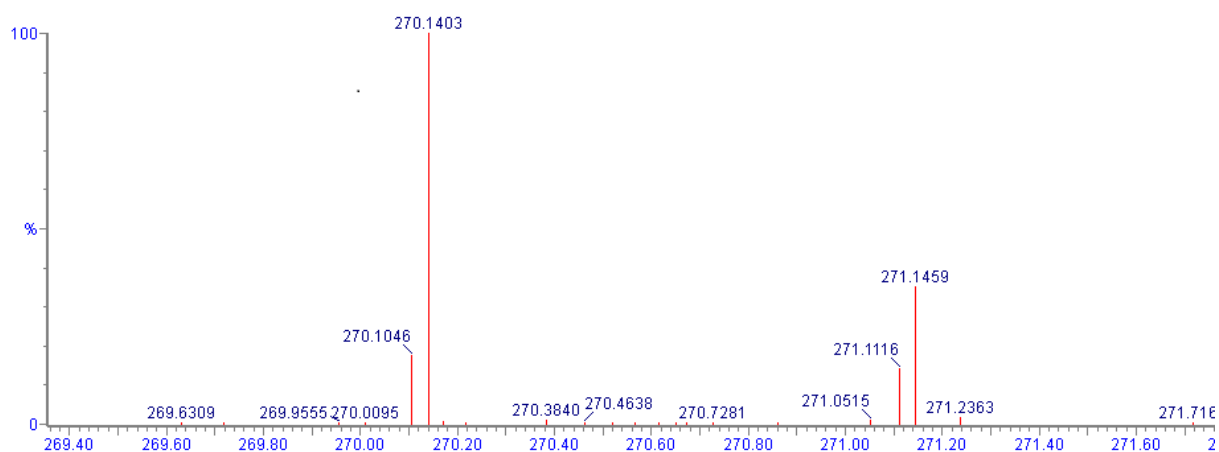
Slika D36. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C.1 za  $m/z$  340,1087. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
300.1505	100.00	300.1501	0.3	1.0	13.5	C20 H18 N3	222.7	0.304	73.78	20	18	3			
		300.1512	-0.8	-2.7	9.5	C17 H19 N3 O F	223.7	1.339	26.22	17	19	3	1	1	
		300.1508	-0.4	-1.3	4.0	C14 H24 N2 O3 S	241.4	19.047	0.00	14	24	2	3		1
		300.1506	-0.2	-0.7	0.5	C9 H23 N5 O3 F S	241.8	19.398	0.00	9	23	5	3	1	1



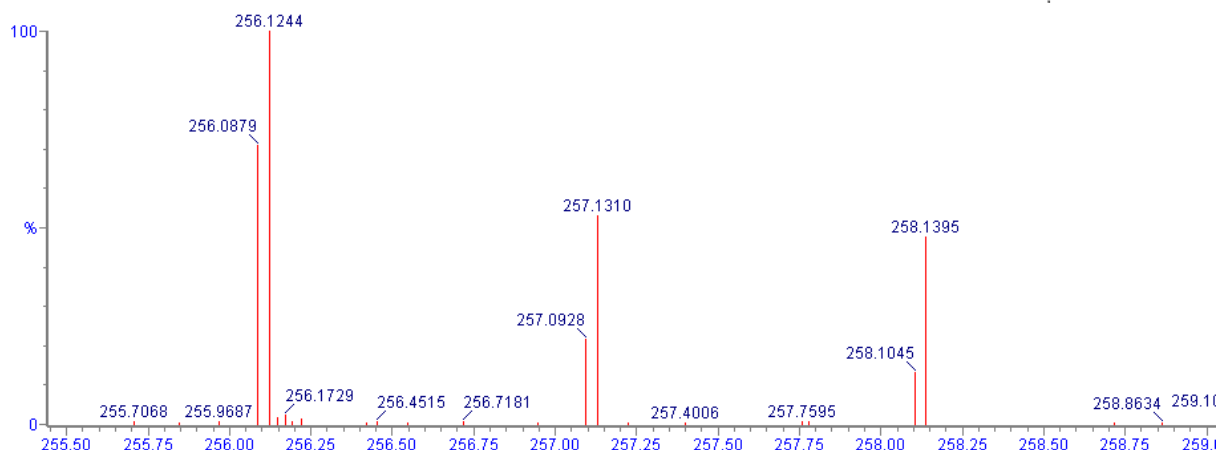
Slika D37. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C.1 za  $m/z$  300,1505. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
270.1403	100.00	270.1409	-0.8	-3.0	13.0	C21 H18	180.9	0.349	70.56	21	18				
		270.1407	-0.6	-2.2	9.5	C16 H17 N3 F	181.8	1.234	29.11	16	17	3		1	
		270.1400	0.1	0.4	0.5	C8 H21 N5 O2 F S	186.7	6.207	0.20	8	21	5	2	1	1
		270.1402	-0.1	-0.4	4.0	C13 H22 N2 O2 S	187.2	6.644	0.13	13	22	2	2		1



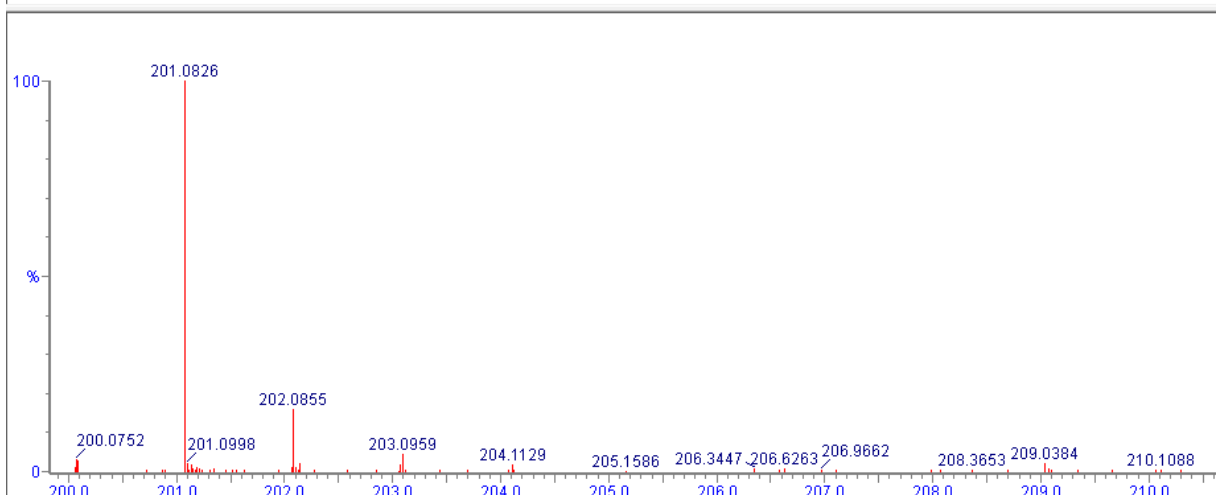
Slika D38. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C.1 za  $m/z$  270,1403. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
256.1244	100.00	256.1252	-0.5	-2.0	13.0	C20 H16	178.3	0.349	70.57	20	16				
		256.1250	-0.3	-1.2	9.5	C15 H15 N3 F	179.2	1.280	27.81	15	15	3		1	
		256.1245	0.2	0.8	4.0	C12 H20 N2 O2 S	182.5	4.558	1.05	12	20	2	2		1
		256.1243	0.4	1.6	0.5	C7 H19 N5 O2 F S	183.1	5.164	0.57	7	19	5	2	1	1



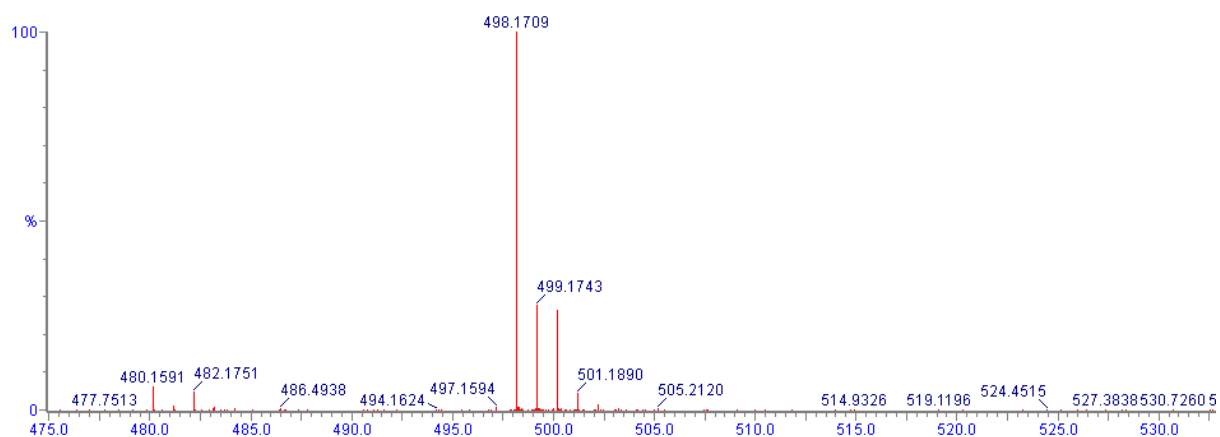
Slika D39. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C.1 za  $m/z$  256,1244. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
201.0826	100.00	201.0828	-0.1	-0.5	8.5	C12 H10 N2 F	222.6	0.281	75.50	12	10	2		1	
		201.0823	0.4	2.0	3.0	C9 H15 N O2 S	224.1	1.822	16.17	9	15	1	2		1
		201.0821	0.6	3.0	-0.5	C4 H14 N4 O2 F S	224.8	2.484	8.34	4	14	4	2	1	1



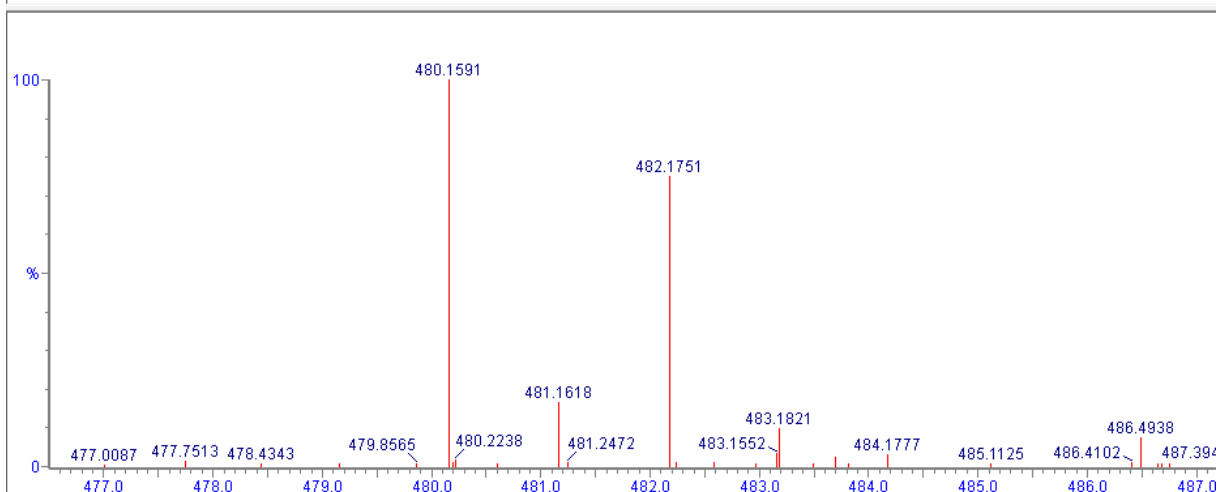
Slika D40. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina C.1 za  $m/z$  201,0826. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
498.1709	100.00	498.1710	-0.1	-0.2	9.5	C22 H29 N3 O7 F S	343.7	3.351	3.51	22	29	3	7	1	1
		498.1706	0.3	0.6	4.0	C19 H34 N2 O9 S2	342.8	2.377	9.28	19	34	2	9		2
		498.1704	0.5	1.0	0.5	C14 H33 N5 O9 F S2	343.8	3.441	3.20	14	33	5	9	1	2
		498.1717	-0.8	-1.6	0.0	C16 H35 N2 O10 F S2	343.3	2.868	5.68	16	35	2	10	1	2
		498.1719	-1.0	-2.0	8.5	C23 H33 N3 O2 F S3	340.6	0.244	78.32	23	33	3	2	1	3



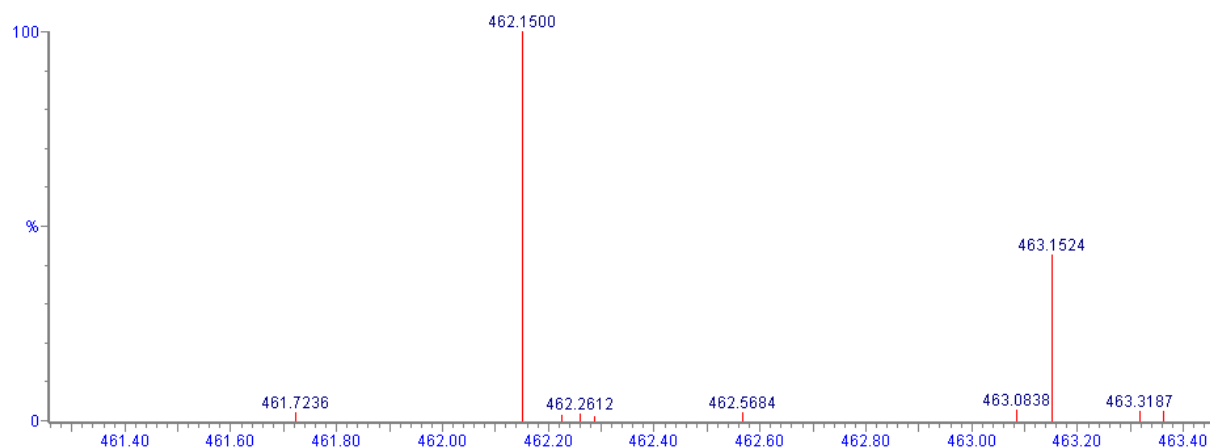
Slika D41. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D za  $m/z$  498,1709. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
480.1591	100.00	480.1593	-0.2	-0.4	14.5	C25 H26 N3 O5 S	93.4	1.941	14.36	25	26	3	5		1
		480.1587	0.4	0.8	5.5	C17 H30 N5 O7 S2	93.5	2.074	12.57	17	30	5	7		2
		480.1586	0.5	1.0	5.0	C20 H33 N2 O4 F S3	93.4	1.914	14.74	20	33	2	4	1	3
		480.1598	-0.7	-1.5	1.5	C14 H31 N5 O8 F S2	93.4	1.980	13.81	14	31	5	8	1	2
		480.1600	-0.9	-1.9	5.0	C19 H32 N2 O8 S2	93.3	1.854	15.66	19	32	2	8		2
		480.1578	1.3	2.7	6.0	C19 H29 N2 O9 F S	93.5	2.031	13.12	19	29	2	9	1	1
		480.1605	-1.4	-2.9	10.5	C22 H27 N3 O6 F S	93.3	1.849	15.73	22	27	3	6	1	1



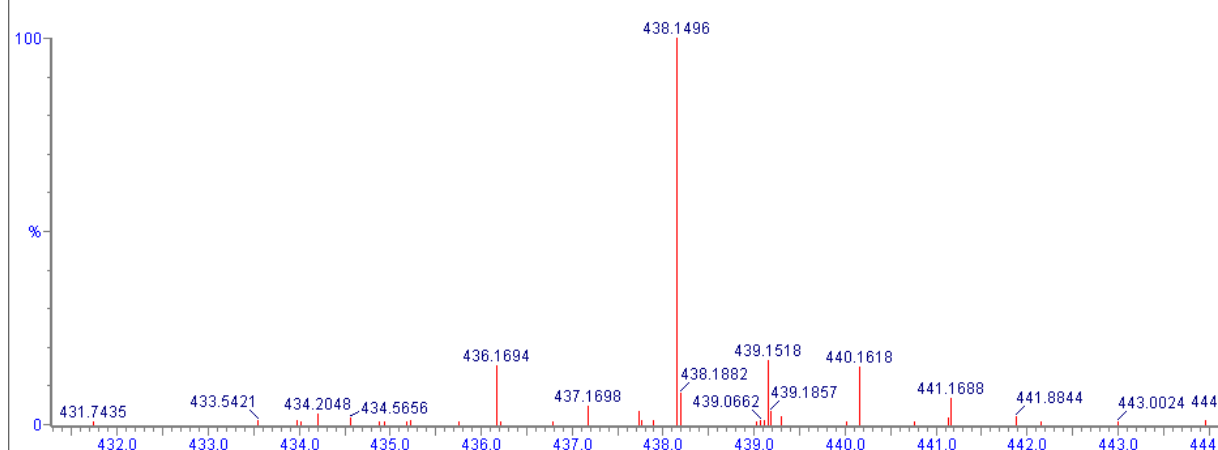
Slika D42. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D za  $m/z$  480,1591. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
462.1500	100.00	462.1499	0.1	0.2	11.5	C22 H25 N3 O5 F S	85.3	4.325	1.32	22	25	3	5	1	1
		462.1494	0.6	1.3	6.0	C19 H30 N2 O7 S2	87.1	6.111	0.22	19	30	2	7		2
		462.1506	-0.6	-1.3	2.0	C16 H31 N2 O8 F S2	86.8	5.804	0.30	16	31	2	8	1	2
		462.1492	0.8	1.7	2.5	C14 H29 N5 O7 F S2	86.9	5.927	0.27	14	29	5	7	1	2
		462.1508	-0.8	-1.7	10.5	C23 H29 N3 F S3	88.1	7.157	0.08	23	29	3		1	3
		462.1512	-1.2	-2.6	11.0	C24 H27 O6 F S	85.1	4.131	1.61	24	27		6	1	1
		462.1488	1.2	2.6	15.5	C25 H24 N3 O4 S	85.5	4.510	1.10	25	24	3	4		1
		462.1513	-1.3	-2.8	11.5	C21 H24 N3 O6	81.0	0.050	05.10	21	24	3	0		



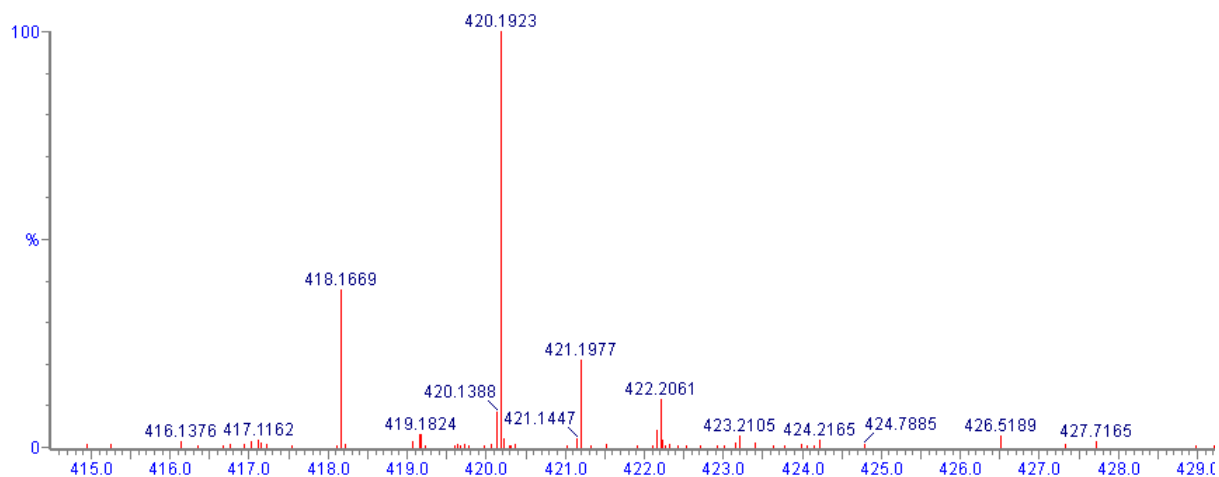
Slika D43. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D za  $m/z$  462,1500. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
438.1496	100.00	438.1494	0.1	0.2	4.0	C17 H30 N2 O7 S2	88.0	3.179	4.16	17	30	2	7		2
		438.1492	0.3	0.7	0.5	C12 H29 N5 O7 F S2	85.6	0.714	48.96	12	29	5	7	1	2
		438.1499	-0.4	-0.9	9.5	C20 H25 N3 O5 F S	90.4	5.512	0.40	20	25	3	5	1	1
		438.1501	-0.6	-1.4	13.0	C25 H26 O5 S	90.7	5.820	0.30	25	26		5		1
		438.1488	0.7	1.6	13.5	C23 H24 N3 O4 S	90.9	6.052	0.24	23	24	3	4		1
		438.1506	-1.1	-2.5	0.0	C14 H31 N2 O8 F S2	85.6	0.794	45.19	14	31	2	8	1	2
		438.1508	-1.3	-3.0	8.5	C21 H29 N3 F S3	89.7	4.892	0.75	21	29	3		1	3



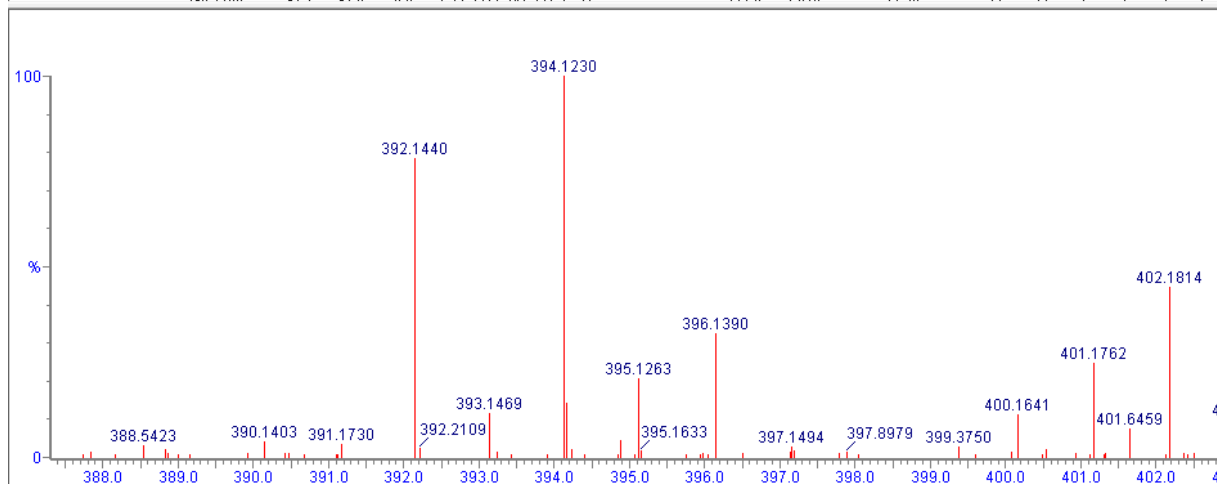
Slika D44. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D za  $m/z$  438,1496. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F
420.1923	100.00	420.1923	-0.1	-0.2	13.5	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	163.0	1.077	34.05	24	26	3	4	
420.1935		420.1935	-1.3	-3.1	9.5	C <sub>21</sub> H <sub>27</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> F	162.9	0.973	37.81	21	27	3	5	1
420.1908		420.1908	1.4	3.3	5.0	C <sub>18</sub> H <sub>29</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> F	163.2	1.268	28.14	18	29	2	8	1



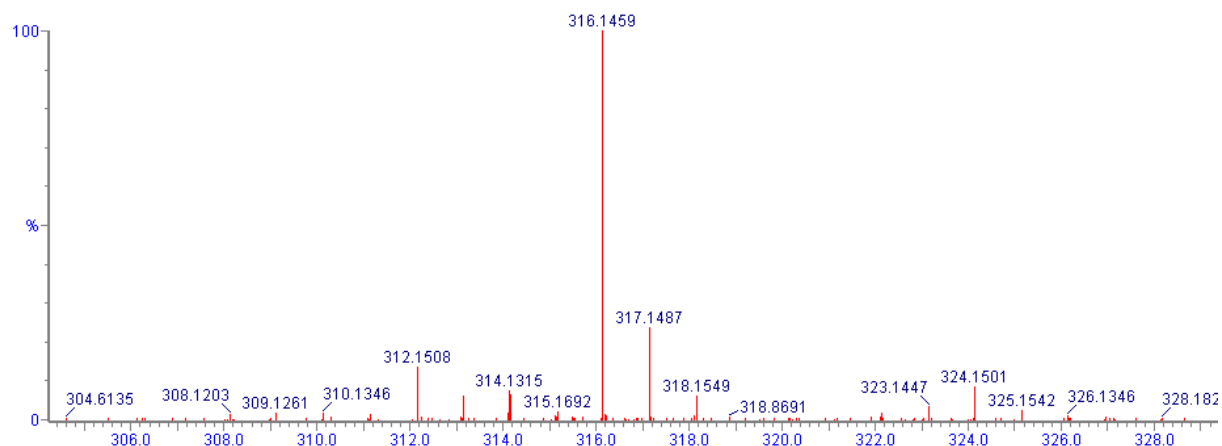
Slika D45. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D za  $m/z$  420,1923. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
394.1230	100.00	394.1232	0.1	0.3	4.0	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S <sub>2</sub>	122.2	1.890	15.11	15	26	2	6		2
394.1230		394.1230	0.3	0.8	19.0	C <sub>24</sub> H <sub>15</sub> N <sub>4</sub> O F	121.8	1.481	22.74	24	15	4	1	1	
394.1230		394.1230	0.3	0.8	0.5	C <sub>10</sub> H <sub>25</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> F S <sub>2</sub>	122.8	2.465	8.50	10	25	5	6	1	2
394.1237		394.1237	-0.4	-1.0	9.5	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> F S	122.9	2.607	7.37	18	21	3	4	1	1
394.1239		394.1239	-0.6	-1.5	13.0	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> S	122.6	2.302	10.00	23	22		4		1
394.1225		394.1225	0.8	2.0	13.0	C <sub>24</sub> H <sub>23</sub> F S <sub>2</sub>	122.5	2.179	11.32	24	23			1	2
394.1225		394.1225	0.8	2.0	13.5	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	122.9	2.617	7.30	21	20	3	3		1
394.1244		394.1244	-1.1	-2.8	0.0	C <sub>12</sub> H <sub>27</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub> F S <sub>2</sub>	122.4	2.076	12.54	12	27	2	7	1	2



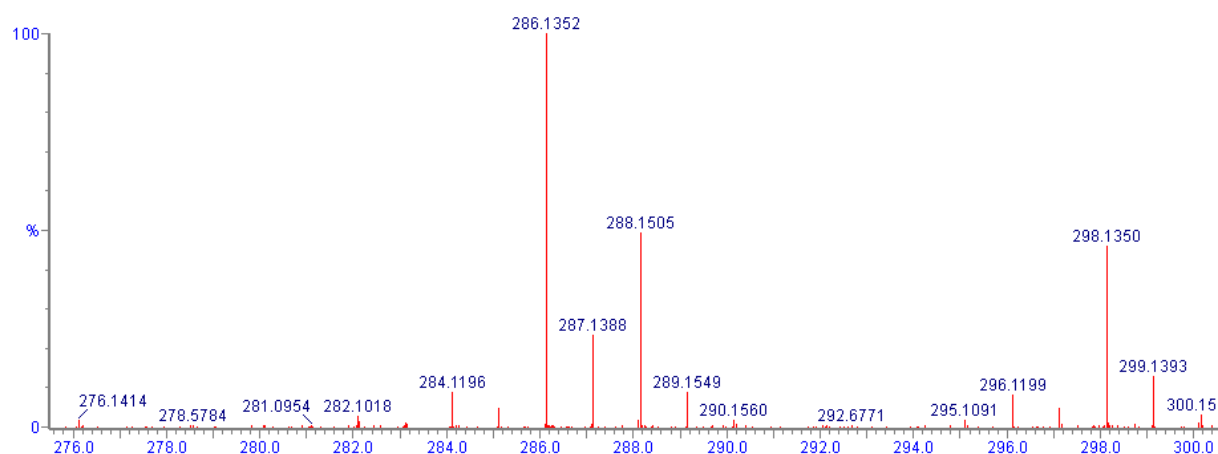
Slika D46. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D za  $m/z$  394,1230. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
316.1459	100.00	316.1461	-0.2	-0.6	9.5	C17 H19 N3 O2 F	186.0	2.396	9.11	17	19	3	2	1	
		316.1457	0.2	0.6	4.0	C14 H24 N2 O4 S	187.5	3.912	2.00	14	24	2	4		1
		316.1463	-0.4	-1.3	13.0	C22 H20 O2	184.1	0.507	60.25	22	20		2		
		316.1455	0.4	1.3	0.5	C9 H23 N5 O4 F S	188.8	5.203	0.55	9	23	5	4	1	1
		316.1468	-0.9	-2.8	0.5	C8 H22 N5 O8	188.9	5.335	0.48	8	22	5	8		
		316.1468	-0.9	-2.8	0.0	C11 H25 N2 O5 F S	188.3	4.746	0.87	11	25	2	5	1	1
		316.1450	0.9	2.8	13.5	C20 H18 N3 O	184.9	1.319	26.74	20	18	3	1		



Slika D47. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D za  $m/z$  316,1459. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

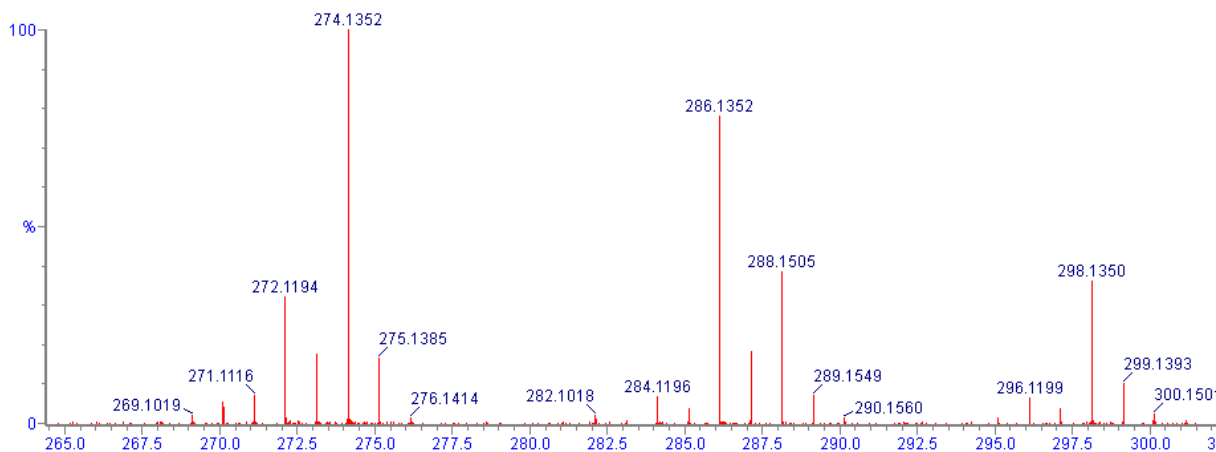
Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
286.1352	100.00	286.1351	0.1	0.3	4.0	C13 H22 N2 O3 S	251.4	3.773	2.30	13	22	2	3		1
		286.1349	0.3	1.0	0.5	C8 H21 N5 O3 F S	251.9	4.273	1.39	8	21	5	3	1	1
		286.1356	-0.4	-1.4	9.5	C16 H17 N3 O F	249.0	1.405	24.53	16	17	3	1	1	
		286.1358	-0.6	-2.1	13.0	C21 H18 O	248.4	0.823	43.90	21	18				1
		286.1344	0.8	2.8	13.5	C19 H16 N3	248.9	1.277	27.88	19	16	3			



Slika D48. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D za  $m/z$  286,1352. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

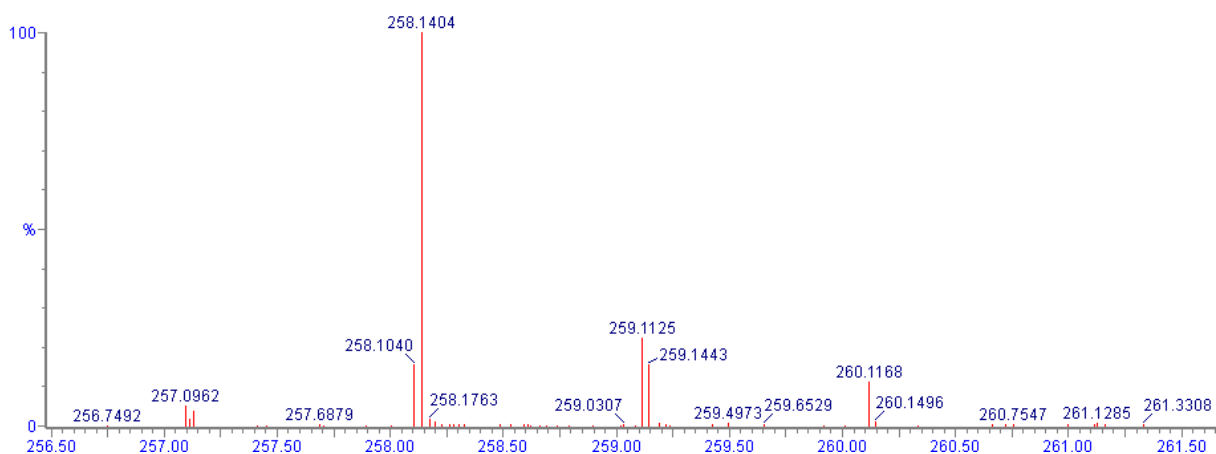


Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
274.1352	100.00	274.1351	0.1	0.4	3.0	C12 H22 N2 O3 S	285.5	24.026	0.00	12	22	2	3		1
274.1349		274.1349	0.3	1.1	-0.5	C7 H21 N5 O3 F S	285.6	24.101	0.00	7	21	5	3	1	1
274.1356		274.1356	-0.4	-1.5	8.5	C15 H17 N3 O F	261.5	0.001	99.92	15	17	3	1	1	
274.1358		274.1358	-0.6	-2.2	12.0	C20 H18 O	269.7	8.175	0.03	20	18		1		
274.1344		274.1344	0.8	2.9	12.5	C18 H16 N3	269.1	7.589	0.05	18	16	3			



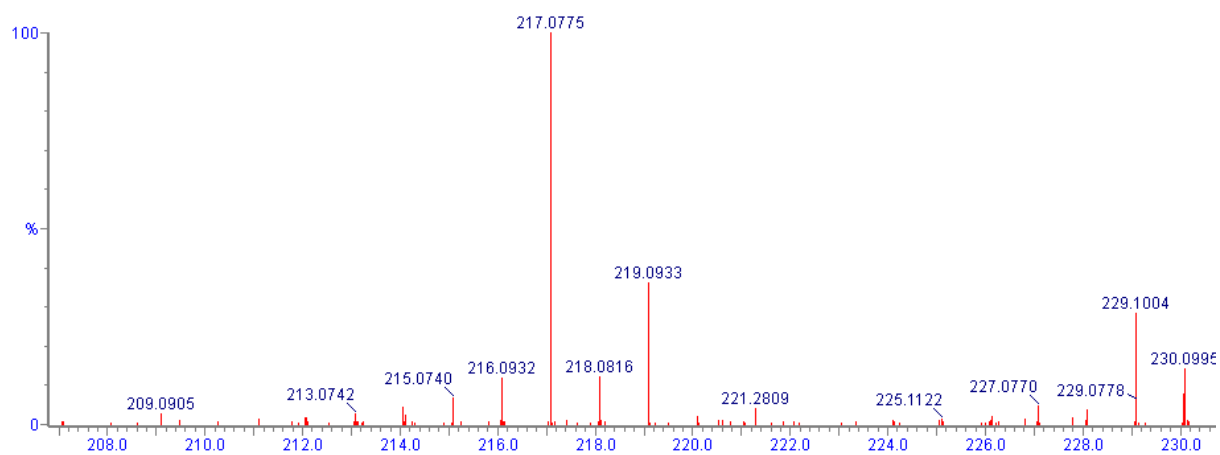
Slika D49. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosvastatina D za  $m/z$  274,1352. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
258.1404	100.00	258.1402	0.1	0.4	3.0	C12 H22 N2 O2 S	299.7	6.223	0.20	12	22	2	2		1
258.1400		258.1400	0.3	1.2	-0.5	C7 H21 N5 O2 F S	301.1	7.622	0.05	7	21	5	2	1	1
258.1407		258.1407	-0.4	-1.5	8.5	C15 H17 N3 F	293.5	0.030	97.02	15	17	3		1	
258.1409		258.1409	-0.6	-2.3	12.0	C20 H18	297.0	3.600	2.73	20	18				



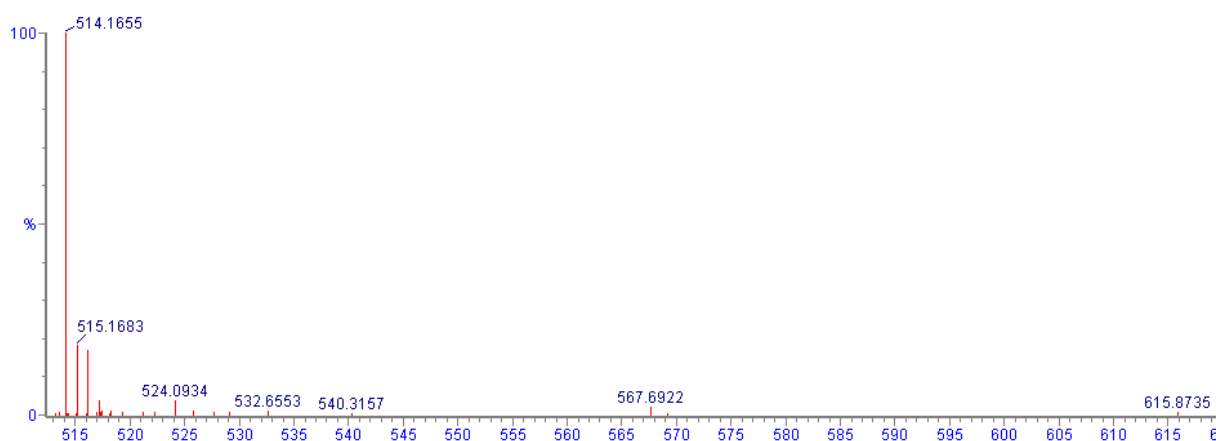
Slika D50. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosvastatina D za  $m/z$  258,1404. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
217.0775	100.00	217.0773	0.2	0.9	3.0	C9 H15 N O3 S	135.9	2.400	9.07	9	15	1	3		1
		217.0777	-0.2	-0.9	8.5	C12 H10 N2 O F	133.7	0.161	85.13	12	10	2	1	1	
		217.0771	0.4	1.8	-0.5	C4 H14 N4 O3 F S	136.3	2.848	5.80	4	14	4	3	1	1



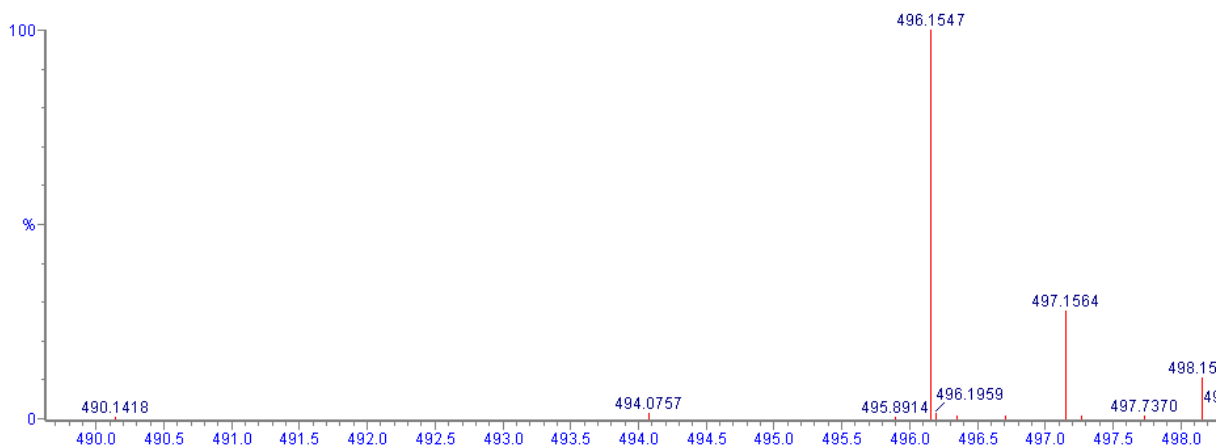
Slika D51. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D za  $m/z$  217,0775. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
514.1655	100.00	514.1653	0.2	0.4	0.5	C14 H33 N5 O10 F S2	61.6	0.844	43.01	14	33	5	10	1	2
		514.1655	0.0	0.0	4.0	C19 H34 N2 O10 S2	61.8	1.085	33.78	19	34	2	10		2
		514.1659	-0.4	-0.8	9.5	C22 H29 N3 O8 F S	62.7	1.965	14.02	22	29	3	8	1	1
		514.1648	0.7	1.4	13.5	C25 H28 N3 O7 S	63.1	2.387	9.19	25	28	3	7		1



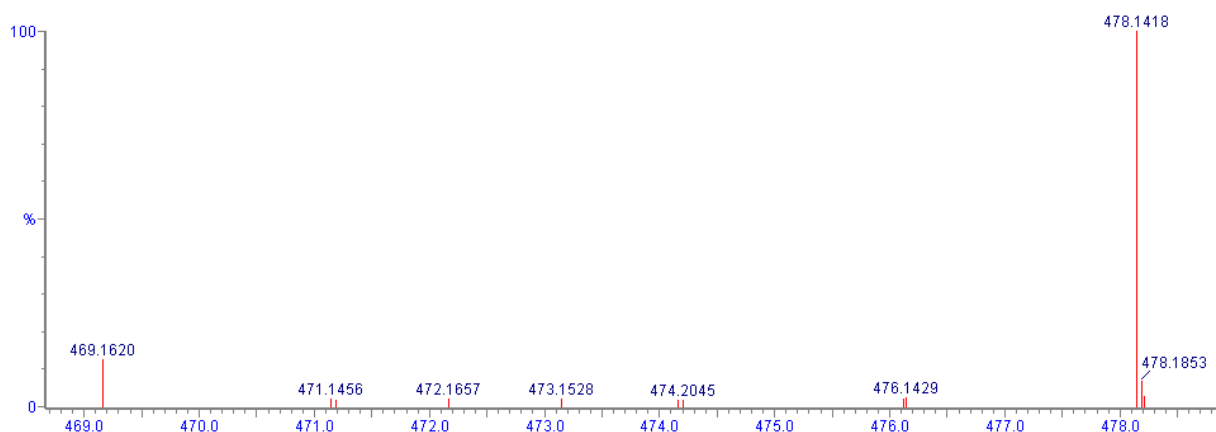
Slika D52. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D.1 za  $m/z$  514,1655. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
496.1547	100.00	496.1554	-0.6	-1.2	10.5	C22 H27 N3 O7 F S	48.6	0.648	52.31	22	27	3	7	1	1
		496.1542	0.6	1.2	14.5	C25 H26 N3 O6 S	48.7	0.784	45.65	25	26	3	6		1
		496.1549	-0.1	-0.2	5.0	C19 H32 N2 O9 S2	52.4	4.464	1.15	19	32	2	9		2
		496.1547	0.1	0.2	1.5	C14 H31 N5 O9 F S2	52.7	4.719	0.89	14	31	5	9	1	2



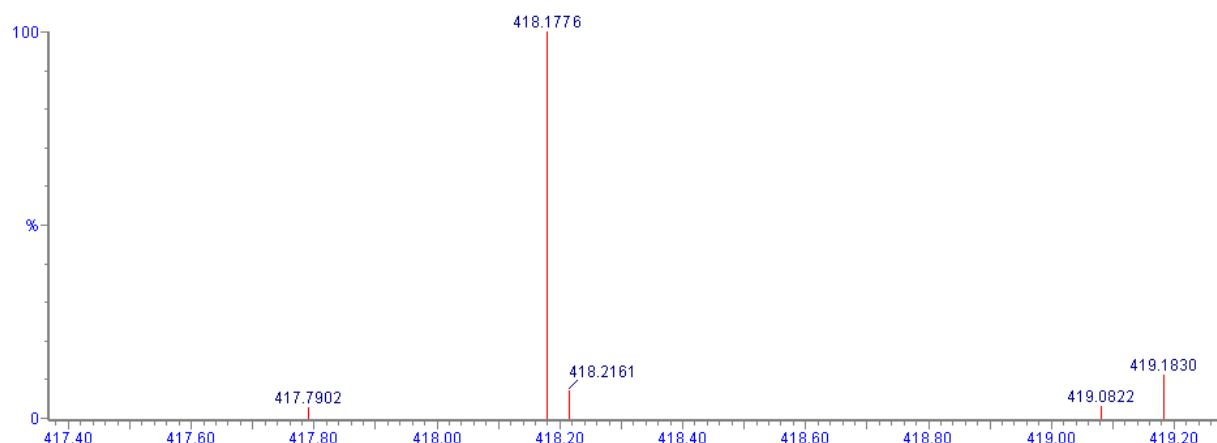
Slika D53. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D.1 za  $m/z$  496,1547. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf%	C	H	N	O	F	S
478.1418	100.00	478.1421	0.1	0.2	7.0	C19 H27 N2 O9 F S	35.8	1.243	28.86	19	27	2	9	1	1
		478.1408	1.4	2.9	7.5	C17 H25 N5 O8 F S	36.0	1.433	23.86	17	25	5	8	1	1
		478.1410	1.2	2.5	11.0	C22 H26 N2 O8 S	36.7	2.196	11.12	22	26	2	8		1
		478.1448	0.8	1.7	16.5	C22 H25 N3 O6 F S	36.8	2.283	10.20	22	25	3	6	1	1
		478.1437	-1.5	-3.1	15.5	C25 H24 N3 O5 S	36.9	2.354	9.50	25	24	3	5		1
		478.1442	-2.0	-4.2	2.5	C14 H29 N5 O8 F S2	37.7	3.127	4.38	14	29	5	8	1	2
		478.1444	-2.2	-4.6	6.0	C19 H30 N2 O8 S2	37.8	3.295	3.71	19	30	2	8		2
		478.1430	-0.8	-1.7	6.5	C17 H28 N5 O7 S2	37.0	2.320	2.58	17	28	5	7		2



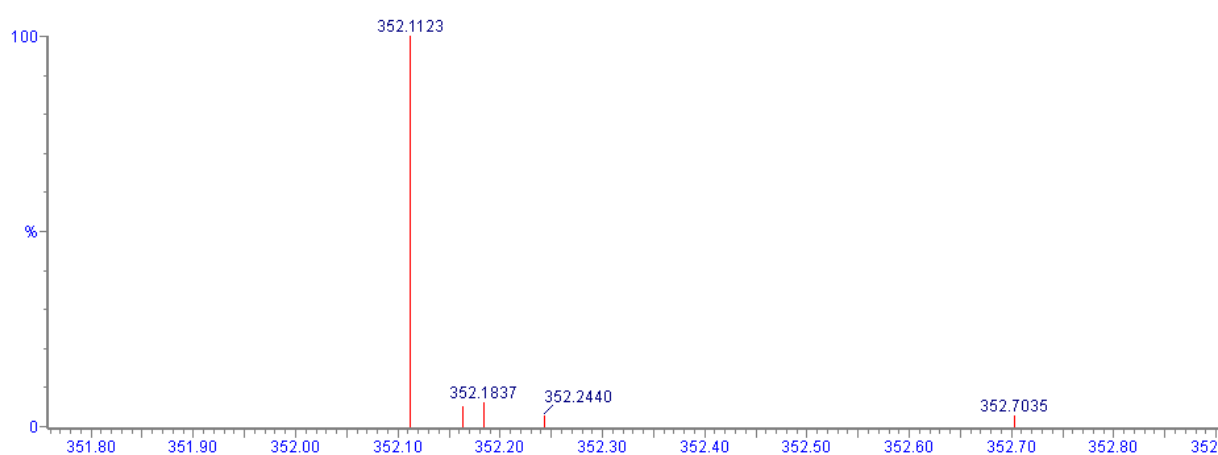
Slika D54. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D.1 za  $m/z$  478,1418. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
418.1776	100.00	418.1792	-0.8	-1.9	10.0	C23 H27 O6 F	37.6	0.990	37.16	23	27		6	1	
		418.1778	0.6	1.4	10.5	C21 H25 N3 O5 F	37.7	1.070	34.31	21	25	3	5	1	
		418.1785	-0.1	-0.2	1.0	C15 H31 N2 O8 F S	39.4	2.705	6.69	15	31	2	8	1	1
		418.1767	1.7	4.1	14.5	C24 H24 N3 O4	39.5	2.868	5.68	24	24	3	4		
		418.1787	-0.3	-0.7	9.5	C22 H29 N3 F S2	40.2	3.565	2.83	22	29	3		1	2
		418.1774	1.0	2.4	5.0	C18 H30 N2 O7 S	40.3	3.622	2.67	18	30	2	7		1
		418.1801	-1.7	-4.1	9.5	C21 H28 N3 O4 S	40.4	3.760	2.33	21	28	3	4		1
		418.1772	1.2	2.0	1.5	C13 H28 N5 O7 F S	40.7	4.053	1.74	13	28	5	7	1	1



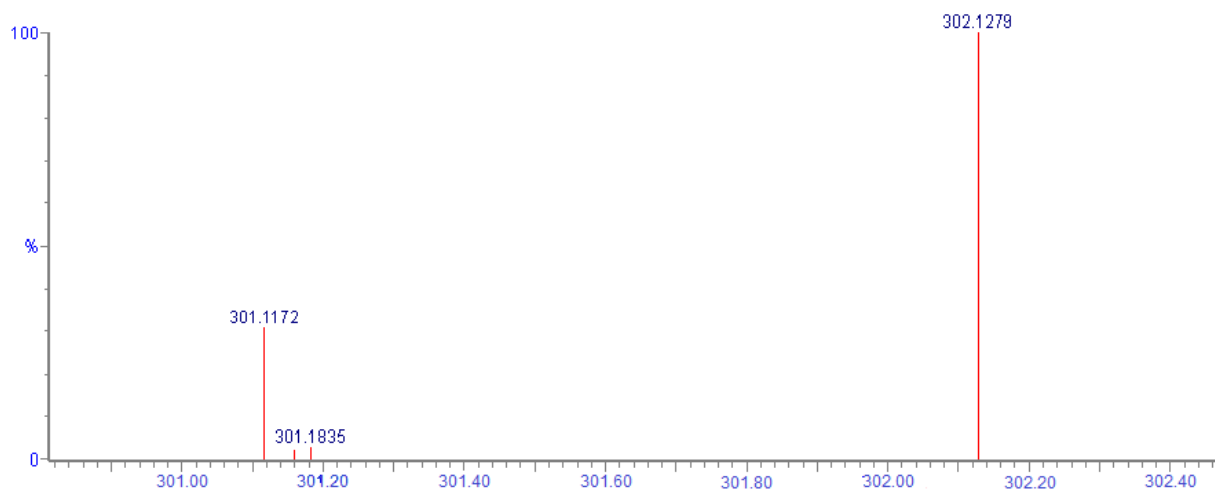
Slika D55. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D.1 za  $m/z$  418,1776. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
352.1123	100.00	352.1124	0.1	0.3	18.0	C22 H13 N4 F	54.0	0.454	63.54	22	13	4		1	
		352.1125	0.0	0.0	-0.5	C8 H23 N5 O5 F S2	55.5	2.027	13.17	8	23	5	5	1	2
		352.1120	0.5	1.4	12.5	C19 H18 N3 O2 S	55.6	2.151	11.64	19	18	3	2		1
		352.1131	-0.6	-1.7	8.5	C16 H19 N3 O3 F S	56.2	2.687	6.81	16	19	3	3	1	1
		352.1127	-0.2	-0.6	3.0	C13 H24 N2 O5 S2	56.5	3.028	4.84	13	24	2	5		2



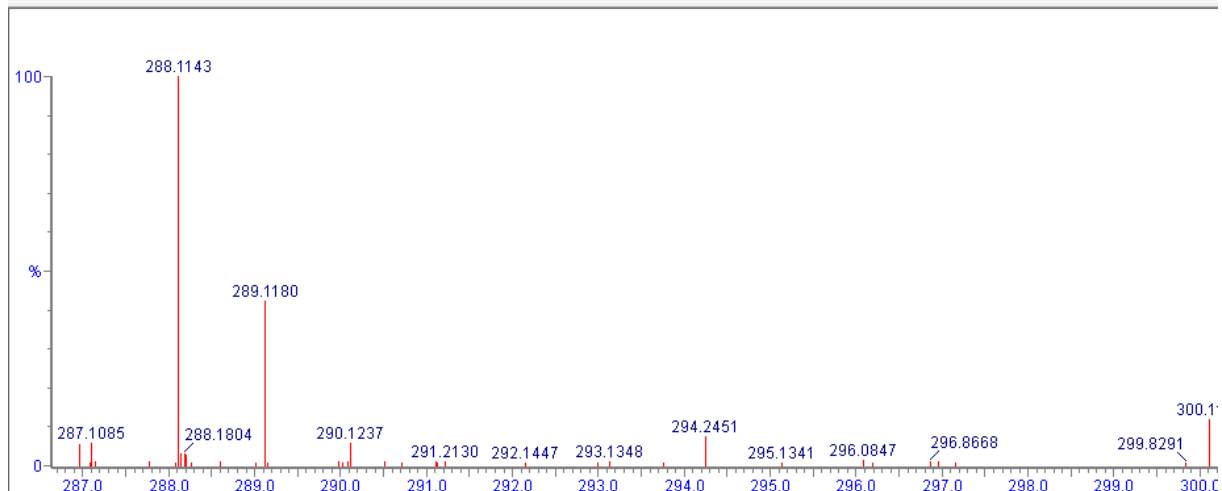
Slika D56. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D.1 za  $m/z$  352,1123. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
302.1279	100.00	302.1278	0.0	0.0	5.0	C13 H19 N2 O5 F	30.2	0.628	53.35	13	19	2	5	1	
		302.1265	1.3	4.3	5.5	C11 H17 N5 O4 F	30.8	1.270	28.07	11	17	5	4	1	
		302.1305	1.1	3.6	9.0	C16 H17 N3 O2	31.4	1.790	16.69	16	17	3	2		
		302.1273	0.5	1.7	-0.5	C10 H24 N O7 S	34.6	5.002	0.67	10	24	1	7		1
		302.1287	-0.9	-3.0	4.5	C11 H20 N5 O3 S	34.6	5.061	0.63	11	20	5	3		1
		302.1287	-0.9	-3.0	4.0	C14 H23 N2 F S2	35.2	5.670	0.34	14	23	2		1	2
		302.1282	-0.4	-1.3	-1.5	C11 H28 N O2 S3	35.9	6.360	0.17	11	28	1	2		3
		302.1260	0.0	3.0	-1.0	C9 H26 N4 O S2	37.0	7.475	0.06	9	26	4	1		2



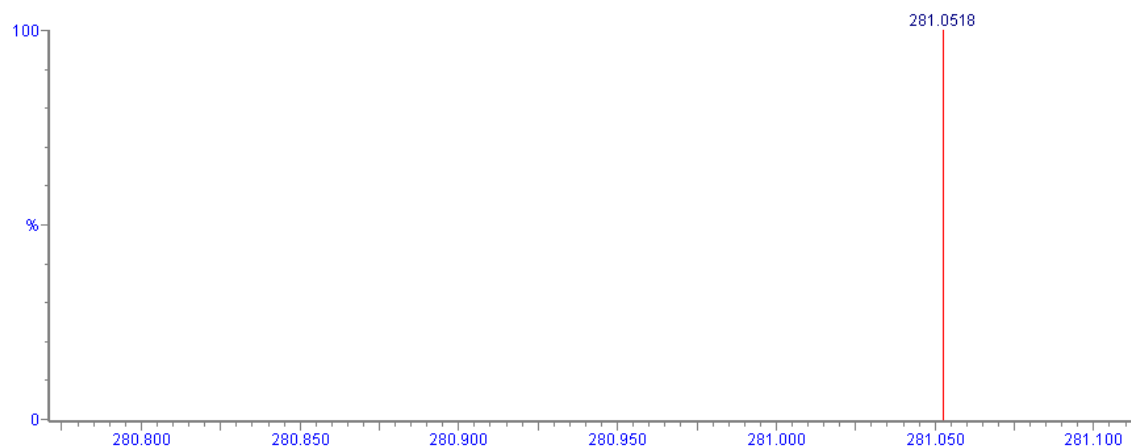
Slika D57. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D.1 za  $m/z$  302,1279. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
288.1143	100.00	288.1150	-0.7	-2.4	13.0	C20 H16 O2	103.9	0.347	70.68	20	16		2		
		288.1137	0.6	2.1	13.5	C18 H14 N3 O	105.2	1.620	19.78	18	14	3	1		
		288.1148	-0.5	-1.7	9.5	C15 H15 N3 O2 F	106.0	2.449	8.64	15	15	3	2	1	
		288.1155	-1.2	-4.2	0.5	C6 H18 N5 O8	108.8	5.235	0.53	6	18	5	8		
		288.1144	-0.1	-0.3	4.0	C12 H20 N2 O4 S	110.2	6.618	0.13	12	20	2	4		1
		288.1130	1.3	4.5	4.5	C10 H18 N5 O3 S	110.8	7.200	0.07	10	18	5	3		1
		288.1155	-1.2	-4.2	0.0	C9 H21 N2 O5 F S	110.8	7.281	0.07	9	21	2	5	1	1
		288.1130	1.3	4.5	4.0	C12 H21 N2 F S2	111.2	7.685	0.05	12	21	2		1	2



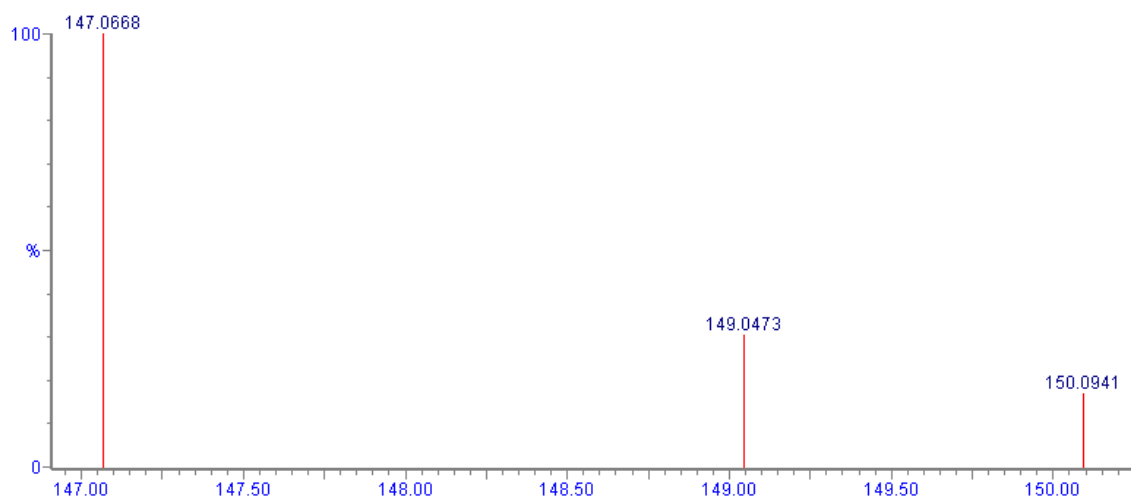
Slika D58. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D.1 za  $m/z$  288,1143. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
281.0518	281.0529	-0.3	-1.1	-1.0	C4 H15 N3 O9 S	21.9	0.833	43.45	4	15	3	9		1
	281.0529	-0.3	-1.1	-1.5	C7 H18 O6 F S2	22.8	1.711	18.07	7	18		6	1	2
	281.0522	0.4	1.4	8.5	C10 H9 N4 O6	22.8	1.746	17.45	10	9	4	6		
	281.0522	0.4	1.4	8.0	C13 H12 N O3 F S	23.2	2.182	11.28	13	12	1	3	1	1
	281.0470	-0.5	-1.8	7.5	C11 H11 N3 O4 S	23.4	2.328	9.75	11	11	4	1		2



Slika D59. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D.1 za  $m/z$  281,0518. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	F	S
147.0668	100.00	147.0657	0.9	6.1	1.5	C6 H11 O4	24.7	0.419	65.76	6	11		4		
		147.0671	-0.5	-3.4	6.5	C7 H7 N4	25.3	1.072	34.24	7	7		4		



Slika D60. Spektar masa MS/MS i bodovna tablica elementne analize rosuvastatina D.1 za  $m/z$  147,0668. U bodovnoj tablici crvenom bojom je označen odabrani najvjerojatniji rezultat dobiven pretragom pomoću izračuna točne mase i usporedbe specifičnih izotopa.

## § 9. ŽIVOTOPIS

### Osobni podatci

Ime i prezime: Lucija Dončević

Datum rođenja: 21. rujna 1994.

Mjesto rođenja: Zagreb

### Obrazovanje

- 2001.–2005. Osnovna škola Gradec – Područna škola Haganj, Haganj
- 2005.–2009. Osnovna škola Grigora Viteza, Sveti Ivan Žabno
- 2009.–2013. Medicinska škola Bjelovar, Bjelovar
- 2013.–2017. Preddiplomski sveučilišni studij kemije, Odjel za kemiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek
- 2013.–2017. Diplomski studij kemije, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

### Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2018. 14<sup>th</sup> Greta Pifat Mrzljak International School of Biophysics, Split, Hrvatska; postersko izlaganje „Protein self-association“
2018. XVIII. International Chromatography School
2019. 17<sup>th</sup> Austrian Proteomics and Metabolomics Research Symposium, Salzburg, Austrija; predavanje „Peptide separation using strong anion exchange stationary phase on Liquid Handling Platform“
2019. XIX. International Chromatography School, Zagreb, Hrvatska; predavanje „Multidimensional Chromatography using Liquid Handling Platform“
2019. XIV. Christmas Biophysics Workshop, Gradisca Italija; predavanje „Protein self-association“

## Publikacije

1. L. Dončević, A. Hozić, M. Cindrić, Alpha Solutions. **1** (2018) 28–34.