

液质联用分析美伐他汀的有关物质

金美春, 郑朝阳

(浙江海正药业股份有限公司, 浙江 台州 318000)

美伐他汀 (mevastatin, 结构见图 1) 是肝脏合成胆固醇的限速酶——羟甲基戊二酸单酰辅酶 A (HMG - CoA) 还原酶抑制剂, 对体内降低胆固醇有积极作用, 它的一种衍生物——普伐他汀在降低胆固醇方面有更强的药性, 因而美伐他汀被作为生产普伐他汀的原料。由于美伐他汀是发酵产物分离的化合物, 可能含有多种组分, 因此对美伐他汀各组分的鉴定十分重要, 而相关研究未见公开报道。本文建立了美伐他汀有关物质液质联用分析方法, 分离得到 9 个组分, 采用 ESIMS/MS 技术对色谱峰作了鉴定, 推测得到美伐他汀有关物质的结构式及裂解途径。

1 实验部分

1.1 HPLC 分析

Agilent 1100 液相色谱仪, 包括 G1322A 在线脱气机、G1312A 二元泵、G1314A 可变波长检测器、G1313A 自动进样器; Agilent C18 反相柱, 250 × 4.6 mm; 流动相: 乙腈与 0.05% 甲酸体积比 70:30; 流速: 1.0 mL/min; 波长: 238 nm; 分流比: 5:1。

1.2 ESIMS/MS 分析

Finnigan LCQ Advantage 离子阱质谱仪; 离子源 ESI, 正离子扫描, 电离电压 4.5 kV, 毛细管温度 250 °C, 喷雾干燥气流量 60 arb, 辅助气流量为 10 arb, 二级质谱碰撞能量为 20%。

2 结果与讨论

2.1 HPLC 分离

美伐他汀的 HPLC 色谱图见图 2, 图中得到 9 个色谱峰, 它们的保留时间分别为 4.73、5.08、8.68、10.30、11.47、13.42、14.90、16.67、24.13 min, 其中 13.42 min 的色谱峰为美伐他汀主成分。

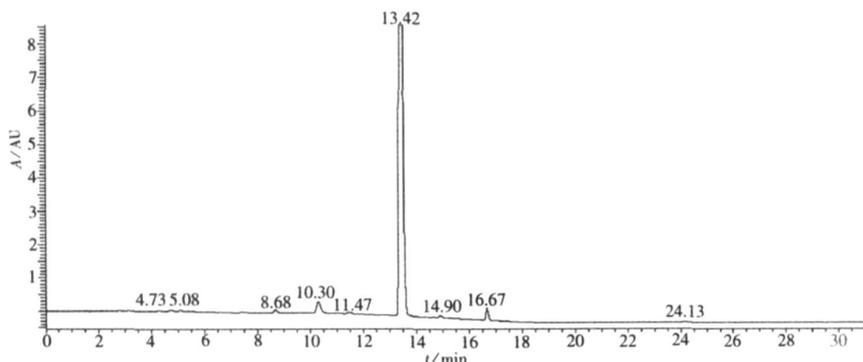


图 2 美伐他汀 HPLC 图

2.2 ESIMS/MS 确认组分

采用系统提供的 ESIMS 与 MS/MS 功能进行质谱检测, 美伐他汀及各有关物质一级质谱除 $[M + H]^+$ 分子离子峰外, 还有 $[M + NH_4]^+$ 、 $[M + Na]^+$ 等加合离子峰; 有关物质 A、C、D、E、F、G 与

作者简介: 金美春 (1971 -), 浙江温岭人, 硕士, Tel: 13515769800, E-mail: mcjin@hisunpham.com

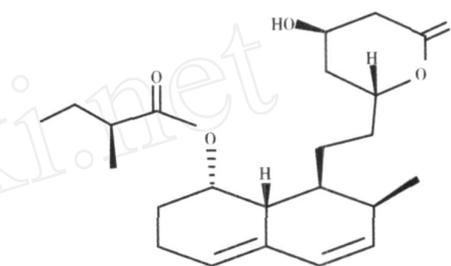


图 1 美伐他汀的结构式

主成分相比相对分子质量不同, 但对应的二级特征离子有相同的质量数; 而有关物质 B 对应的二级特征离子却比主成分的少 2; 通过对其相应质谱的解析并与美伐他汀质谱图比较, 将鉴定结果汇总于表 1 (所有鉴定的成分均经 NMR 确认)。美伐他汀的 MS/MS 谱图见图 3, 各有关物质结构式见图 4。

表 1 美伐他汀及各有关物质的质谱数据

峰标记	保留时间 t/min	$[M+H]^+$	相对分子质量	MS/MS	成分鉴定
A	4.73	307.2	306	289、271、253、229、211、185	*
B	5.08	407.1	406	389、287、269、251、227、209、183	普伐内酯
C	8.68	405.2	404	289、271、253、229、211、185	**
D	10.3	409.0	408	391、289、271、253、229、211、185	美伐他汀酸
E	11.47	407.0	406	389、289、271、253、229、211、185	***
主峰	13.42	391.1	390	289、271、253、229、211、185	主成分
F	14.90	405.2	404	289、271、253、229、211、185	****
G	16.67	373.2	372	271、253、229、211、185	脱水美伐
H	24.13	781.4	781		二聚美伐

为 1 羟基-(1S, 7S, 8S, 8aR)-1, 2, 3, 7, 8, 8a 六氢-7 甲基-8-[2-[(2R, 4R)-4 羟基-6 氧代-2H 四氢吡喃基]乙基]-1 萘酯;

为 (S)-2 甲基-3 羧基丁酸-(1S, 7S, 8S, 8aR)-1, 2, 3, 7, 8, 8a 六氢-7 甲基-8-[2-[(2R, 4R)-4 羟基-6 氧代-2H 四氢吡喃基]乙基]-1 萘酯; **为 (S)-2 甲基-3 羟基丁酸-(1S, 7S, 8S, 8aR)-1, 2, 3, 7, 8, 8a 六氢-7 甲基-8-[2-[(2R, 4R)-4 羟基-6 氧代-2H 四氢吡喃基]乙基]-1 萘酯; **(S)-2 甲基戊酸-(1S, 7S, 8S, 8aR)-1, 2, 3, 7, 8, 8a 六氢-7 甲基-8-[2-[(2R, 4R)-4 羟基-6 氧代-2H 四氢吡喃基]乙基]-1 萘酯

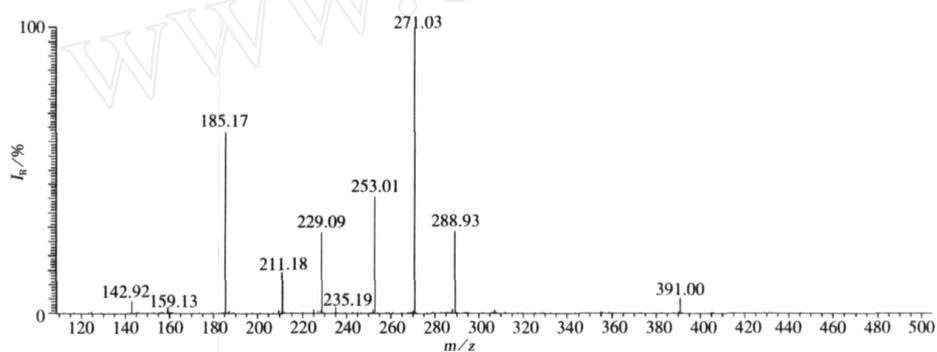


图 3 美伐他汀的 MS/MS 谱图

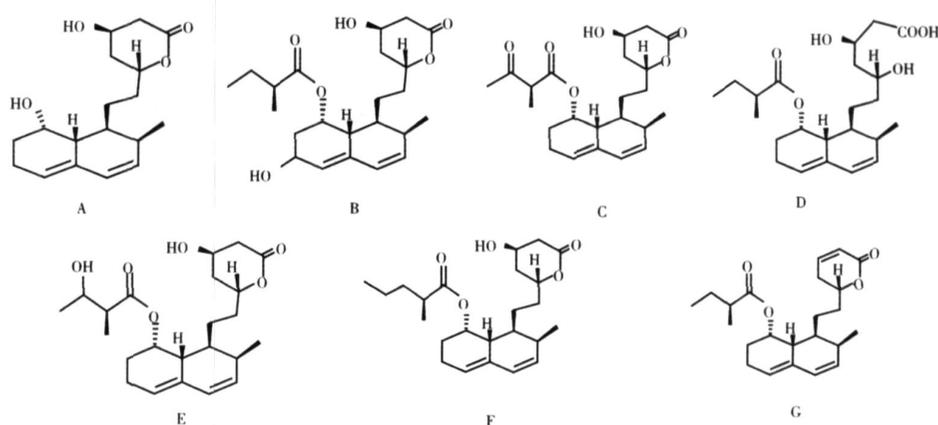


图 4 有关物质 A、B、C、D、E、F、G 的结构式

美伐他汀及各有关物质具有相似的裂解途径, 对类似物的 ESIMS/MS 谱的解释有参考价值, 美伐他汀 ESIMS/MS 裂解方式推测见图 5。

2.3 讨论

各相应组分均由制备液相分离纯化后, 通过核磁进一步确定了结构。美伐他汀及有关物质在 ESI

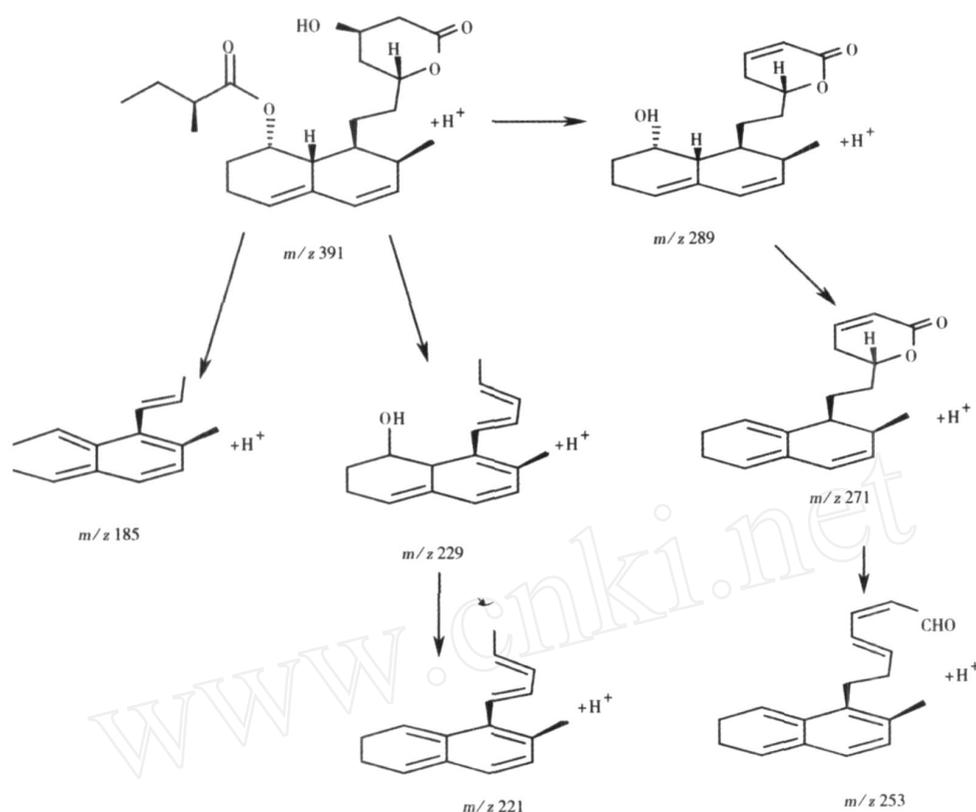


图 5 美伐他汀 ESIMS/MS 裂解方式推测

条件下，正离子扫描信号均十分明显，一级 MS 会由于流动相及仪器状态的不同，相应的加合离子会有所变化，而 MS/MS 特征离子信号则没有明显变化。

参考文献：

- [1] KOCIJAN A, GRAHEL R, ZUPANČIČ L - KRALJ L L [J]. Acta Chim Slov, 2006, 53: 464 - 468
 [2] BP2004 monograph 1192 - 1193.

Study on Relative Substances of Mevastatin by HPLC - MS

JIN Mei-chun, ZHENG Zhao-yang

(Zhejiang Hisun Pharmaceutical Co Ltd, Taizhou 318000, China)

Abstract: HPLC - ESIMS/MS method for relative substances of Mevastatin was established. An Agilent C18 column 250 × 4.6 mm; Mobile phase: acetonitrile - 0.05% formic acid (70:30), flow rate 1.0 mL/min, and 238 nm; MS and MS/MS spectra of sample and relative substances were obtained, approximately speculated the structure of relative substances, providing useful information for study and quality control of Mevastatin.

Key words: Mevastatin; LC - MS/MS; Relative substances