

Karaktärisering av läkemedelsrester i vatten

Uppdrag

Screeningsanalyser (GCMS och LCMS analyser) av ett vattenprov (100 liter) från Indien samt extraktion/indunstning av vatten till en rest i syfte att användas i framställning av en tablett eller kapsel.

Arbetet är indelat i tre arbetspaket:

1. Indunstning av vatten i syfte att få fram en rest som kan användas till tablett/kapsel.
2. Screening av läkemedel och organiska intermediärer med GCMS.
3. Screening av antibiotika och andra läkemedel med LCMS.

Prov

Prov: ca. 100 liter vatten från Indien
Ankom RISE 2019-07-30
Analysdatum 2019-08-01 to 2019-08-30

RISE Research Institutes of Sweden AB

Postadress
Box 857
501 15 BORÅS

Besöksadress
Brinellgatan 4
504 62 BORÅS

Tfn / Fax / E-post
010-516 50 00
033-13 55 02
info@ri.se

Detta dokument får endast återges i sin helhet, om inte RISE i förväg skriftligen godkänt annat.

Metoder

Frystorkning gjordes för att indunsta ett större vattenprov med syftet att få en tillräcklig mängd material att använda för att göra en tablett/kapsel

Extraktion med organiskt lösningsmedel av en större mängd vatten. För att extrahera ut så stor del av organiska föreningar i vatten provet gjordes en sur respektive en basisk extraktion av vattnet. De organiska faserna koncentrerades och indunstades (Rota vapor, T=50 °C). Det organiska extraktet analyserades med vätskekromatografi-masspektrometri (LCMS) och gaskromatografi-masspektrometri (GCMS). Som blank användes vanligt kranvatten och som internstandard användes DEHP-d4 (CAS: 93951-87-2), i syfte att bestämma extraktionsutbytet.



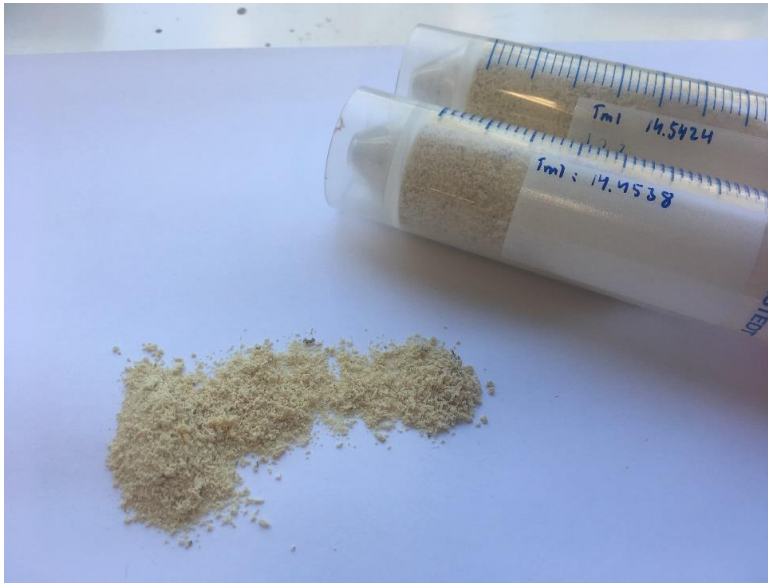
Figur 1: till vänster vattenprov från Indien, till höger blankprov (kranvatten)

LCMS screening: Extrakten av proverna analyserades med LCMS, Acquity UPLC i-class och en Waters Xevo G2-S Qtof. Jonisering sker genom ESI (electrospray ionisation) i positiv (ESI+) och negativ mode (ESI-). En korrekt och relevant rapportgräns har inte kunnat fastställas eftersom detta är en förutsättningslös screening har inga specifika externa standarder använts utan fokus har varit att hitta relevanta toppar och rapportera dessa.

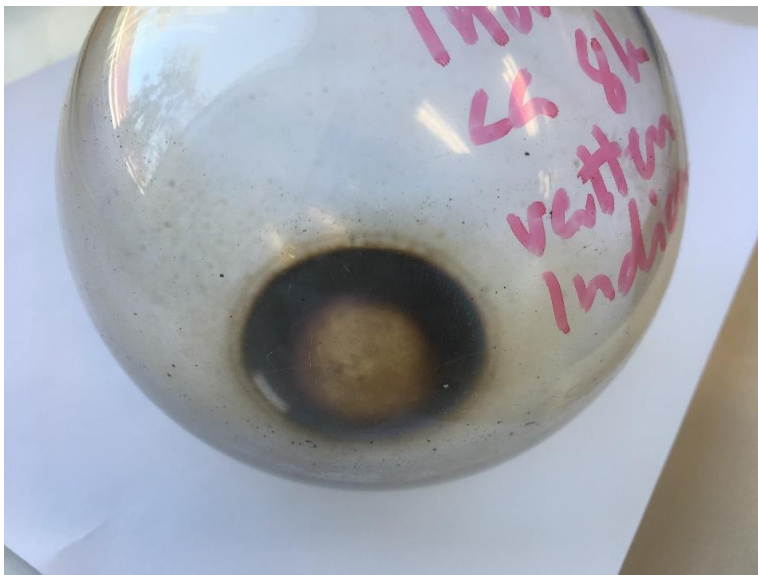
GCMS screening: Extrakten analyserades med GCMS generell metod (DB-5 MS, 30 m * 0,25 mm* 250 µm). Organiska föreningar eluerande i temperaturintervallet ca 60 °C till ca 350 °C. Organiska föreningarna identifierades genom jämförande mot ett referensbibliotek (NIST, version 2.2, 2014).

Resultat

Frystorkning. 2392 g vatten-prov frystorkades för att indunsta vattnet, efter frystorkningen erhöles 14.16 g fast material (gråaktigt, icke homogent), se figur. Det frystorkade materialet analyserades med LCMS och GCMS (Figur 2).



Figur 2. Fast material efter frystorkning av vatten.



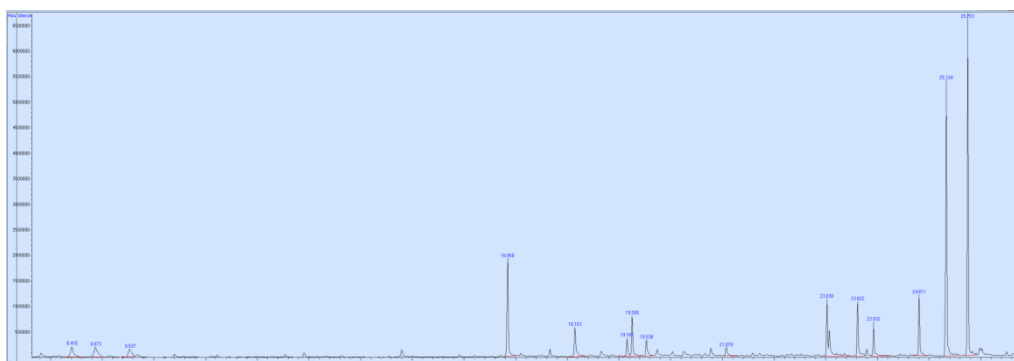
Figur 3. Indunstningsrest från extraktion 1.

Extraktion 1: 8162,5 g vatten prov extraherades i omgångar (å ca 1.5 kg) med etylacetat (EtOAc, 2x 100 ml). De kombinerade organiska faserna koncentrades (rota vapor) och gav en indunstningsrest på 0,4371 g. Denna rest analyserades med GCMS och LCMS för att identifiera organiska föreningar (Figur 3).

Extraktion 2: 100 ml vattenprov surgjordes (1M HCl, aq) och extraherades med 2x50 ml DCM. Vattenfasen basgjordes (1M NaOH, aq) och extraherades med 2x50 ml DCM. De kombinerade extrakten indunstades till 1 ml och analyserades med GCMS och LCMS.

Resultat GCMS

GCMS analysen av de olika organiska extrakten samt rester från det frystorkade vattnet ger upphov till liknande kromatogram vilket visar på att oberoende på metod identifieras samma organiska substanser.



Figur 4. Bild över GCMS-kromatogram.

Tabell 1. Lista över de största topparna i GCMS-kromatogram, koncentrerat organiskt extrakt efter extraktion.

RT (min)	µg/l	Substans	CAS	Kommentar
8,4	100	Triethylsilanol	597-52-4	
8,9	110	Unidentified	-	
9,5	79	Finns i blank	-	
16,9	410	Pyridine, 3-amino-2-chloro-5-methyl-	34552-13-1	
18,2	160	1,3-Benzenediamine, 4-chloro-	5131-60-2	
19,2	71	1,4-Benzenediamine, 2,6-dichloro-	609-20-1	
19,3	160	1-(2-Chloro-4-pyridinyl)-2-methyl-1-propanone	no cas	
19,5	81	Phthalazin-1-one	119-39-1	
21,1	52	Nicotinamide, 2,4-dichloro-6-methyl-	no cas	
23,0	320	O-Desmethyl-cis-tramadol	144830-14-8	Demetylerad Tramadol, opioid. (CAS 27203-92-5)
23,6	410	Fluconazole	86386-73-4	Läkemedel mot svampinfektioner
23,9	130	Levetiracetam	102767-28-2	Antiepilektikum
24,8	210	2-Chloronicotiny chloride	49609-84-9	
25,3	1900	Nevirapine	129618-40-2	Nevirapine, antiretroviral HIV läkemedel

25,8	-	DEHP-d ₄	93951-87-2	Intern standard
------	---	---------------------	------------	-----------------

Alla koncentrationer ($\mu\text{g/l}$) är i DEHP-d₄ ekvivalenter utom för Fluconazole och Nevirapine där referenser inhandlades och koncentrationerna bestämdes utifrån extern kalibrering av de två föreningarna.

Resultat LCMS

Fyra läkemedelssubstanser identifierade i restmaterialet från det frystorkade vattnet. Substanserna är kvantifierade mot externa referenser.

Tabell 2. Koncentration av fyra läkemedelssubstanser.

$\mu\text{g/l}$	Substans	CAS	Kommentar
200	Losartan	124750-99-8	Angiotensin II-receptorantagonist
17	Anastrozole	120511-73-1	Aromatashämmare
Se tabell 1	Fluconazole	86386-73-4	Läkemedel mot svampinfektioner
Se tabell 1	Nevirapine	129618-40-2	antiretroviral HIV läkemedel

RISE Research Institutes of Sweden AB Kemi och material - Kemi

Utfört av

Granskat av

Richard Sott

Tove Mali'n