

Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg

Fakultät Life Sciences

Photolytische Behandlung von Levetiracetam und Pregabalin: Abbaubarkeit und Kinetik der Muttersubstanzen und deren Phototransformationsprodukte

Bachelor Arbeit

im Studiengang Umwelttechnik

vorgelegt von

Jens Robertson

Matrikelnummer 2052608

Hamburg

am 26. Januar 2015

Gutachter: Prof. Dr. Carolin, Floeter (HAW Hamburg)

Gutachter: Apoth. Manuel Herrmann (Leuphana Universität Lüneburg)
(Institut für nachhaltige Chemie und Umweltchemie)

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinem Dank an die Kollegen und Kolleginnen der Professur für Nachhaltige Chemie und Stoffliche Ressourcen der Leuphana Universität Lüneburg aussprechen. Mein besonderer Dank gilt meinen Betreuern, Frau Prof. Dr. Carolin Floeter und Herrn Manuel Herrmann für ihre Geduld und Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit. Weiterhin möchte ich Janin Westphal für die technische Unterstützung bei der Optimierung der Messmethoden danken.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VI
Zusammenfassung.....	VII
Abstract.....	VIII
1 Einleitung.....	9
1.1 Ziele der Arbeit.....	12
1.2 Bedeutung und Umweltrelevanz der Wirkstoffe Levetiracetam und Pregabalin.....	13
1.3 Stand der Forschung.....	19
2 Material und Methoden	21
2.1 Geräte und Chemikalien	21
2.2 Photolyse	23
2.2.1 Theoretische Grundlagen.....	23
2.2.2 Photolytische Behandlung von Levetiracetam	24
2.2.3 Photolytische Behandlung von Pregabalin.....	25
2.3 Mineralisierung mittels NPOC und DOC	25
2.3.1 Theoretische Grundlagen.....	25
2.3.2 Bestimmung der Mineralisierung von Levetiracetam mittels NPOC.....	26
2.3.3 Bestimmung der Mineralisierung von Pregabalin mittels DOC.....	26
2.4 Primärelimination	26
2.4.1 Theoretischer Hintergrund zur HPLC-MS	26
2.4.2 Bestimmung der Primärelimination von Levetiracetam mittels HPLC	28
2.4.3 Bestimmung der Primärelimination von Pregabalin mittels HPLC-MS ...	29
2.5 Abbau-Kinetik der TP	30
2.5.1 Bestimmung der Abbau-Kinetik von Levetiracetam mittels HPLC-MS ...	30
2.5.2 Bestimmung der Abbau-Kinetik von Pregabalin mittels HPLC-MS.....	30
2.5.3 Auswertungsmethoden	31

3	Ergebnisse	32
3.1	Levetiracetam	32
3.1.1	Bestimmung der Mineralisierung mittels NPOC-Messung	33
3.1.2	Bestimmung der Primärelimination mittels HPLC-Messung.....	33
3.1.3	Bestimmung der Abbau-Kinetik.....	34
3.2	Pregabalin.....	39
3.2.1	Bestimmung der Mineralisierung mittels DOC-Messung.....	39
3.2.2	Bestimmung der Primärelimination mittels HPLC-MS.....	40
3.2.3	Bestimmung der Abbau-Kinetik.....	40
4	Diskussion	44
4.1	Levetiracetam	44
4.1.1	Auswirkung der photolytischen Behandlung auf die Konzentration.....	44
4.1.2	Einfluss der UV-Lichtemission auf die strukturelle Veränderung.....	46
4.2	Pregabalin.....	49
4.2.1	Auswirkung der photolytischen Behandlung auf die Konzentration.....	49
4.2.2	Einfluss der UV-Lichtemission auf die strukturelle Veränderung.....	50
4.3	Fehleranalyse	52
4.4	Fazit und Ausblick.....	53
5	Literaturverzeichnis	54
A	Anhang	I
A.1	Berechnung des theoretischen Kohlenstoffgehaltes	I
A.1.1	Bestimmung des NPOCs von Levetiracetam	I
A.1.2	Bestimmung des DOCs von Pregabalin.....	I
A.1.3	Bestimmung des DOCs von Lactose-Monohydrat	I
A.2	Kalibrierungen /Kalibriergeraden der Primärelimination	II
A.3	Rohdaten	VI
A.3.1	Bestimmung der Mineralisierung von Levetiracetam.....	VI
A.3.2	Bestimmung der Mineralisierung von Pregabalin	VII
A.3.3	Bestimmung der Mineralisierung von Lactose-Monohydrat	IX
A.3.4	Bestimmung der Primärelimination von Levetiracetam mittels HPLC	X
A.3.5	Bestimmung der Primärelimination von Pregabalin mittels HPLC-MS ...	XII
	Eidesstattliche Erklärung	XV

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.	Grafische Darstellung der Änderung der verordneten Mengen im Zeitraum von 2004 bis 2014 von LEV, PB und CBZ in Deutschland ...	14
Abb. 2.	Apparativer Aufbau des Photoreaktor: Vor- und Inbetriebnahme	24
Abb. 3.	Grafische Darstellung der Bestimmung des pH-Wertes von LEV und PB.....	32
Abb. 4.	Grafische Darstellung der Abhängigkeit zwischen der Konzentration und der Mineralisierung, sowie der Bestrahlungszeit von LEV	33
Abb. 5.	Grafische Darstellung der TP von LEV in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit I	34
Abb. 6.	Grafische Darstellung der TP von LEV in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit II	35
Abb. 7.	Grafische Darstellung der TP von LEV in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit III	36
Abb. 8.	Grafische Darstellung der TP von LEV in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit IV	37
Abb. 9.	Grafische Darstellung der TP von LEV in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit V	38
Abb. 10.	Grafische Darstellung der Abhängigkeit zwischen der Konzentration und der Mineralisierung, sowie der Bestrahlungszeit von PB	39
Abb. 11.	Grafische Darstellung der TP von PB in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit I	41
Abb. 12.	Grafische Darstellung der TP von PB in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit II	42
Abb. 13.	Grafische Darstellung der TP von PB in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit III	43
Abb. 14.	Grafische Darstellung der Beziehung zwischen der Primärelimination und der TP-Bildung von LEV mit den Grenzen > 2 % und > 5 %	45
Abb. 15.	Einteilung der entstanden TP (> 2 %) von LEV in Zeitcluster von 0,0 min bis 17,9 min	47
Abb. 16.	Strukturvorschlag der Massenspuren 103,1 m/z (links Literatur u. rechts EAWAG)	48
Abb. 17.	Grafische Darstellung der Beziehung zwischen der Primärelimination und der TP-Bildung von PB in den Grenzen 2 % und 5 %	49
Abb. 18.	Einteilung der entstanden TP (> 2 %) von PB in Zeitcluster von 0,0 min bis 18 min	51

Abb. 19.	Darstellung der Kalibriergeraden für die Primärelimination von LEV mittels HPLC bei der Wellenlänge einer 200 nm und einem Injektionsvolumen von 10 µL	II
Abb. 20.	Darstellung der Kalibriergeraden für die Primärelimination von LEV mittels HPLC bei einer Wellenlänge von 205 nm und einem Injektionsvolumen von 10 µL	III
Abb. 21.	Kalibriergerade für die Auswertung der Primärelimination von PB bei einem Injektionsvolumen von 5 µL (oben für die erste Messreihe und unten für die zweite sowie dritte Messreihe).....	IV
Abb. 22.	Darstellung eines typischen Emissionsspektrums einer UV-Strahlungsquelle (Heraeus Noblelight 2002)	XIV

Abkürzungsverzeichnis

ACN.....	<i>Acetonitril</i>
CBZ	<i>Carbamazepin</i>
CEC.....	<i>predicted Critical Effect Concentration</i>
CI.....	<i>Chemische Ionisation</i>
DAD.....	<i>Dioden Array Detektor</i>
DDD	<i>mittlere Tagesdosis</i>
DOC	<i>Dissolved Organic Carbon</i>
EI.....	<i>Elektronenstoßionisation</i>
EIC	<i>Extracted Ion Chromatogram</i>
ESI	<i>Elektrospray-Ionisation</i>
GAK.....	<i>Granulierte Aktivkohle</i>
HPLC.....	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IKSR.....	<i>Internationale Kommission zum Schutz des Rheins</i>
LEV	<i>Levetiracetam</i>
MALDI	<i>Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation</i>
MeOH.....	<i>Methanol</i>
MS.....	<i>Massenspektrometrie</i>
NPOC.....	<i>Non Purgeable Organic Carbon</i>
PB	<i>Pregabalin</i>
PEC.....	<i>Predicted Environmental Concentration</i>
TIC	<i>Total Ion Chromatogram</i>
TP.....	<i>Transformationsprodukt</i>
UBA.....	<i>Umweltbundesamt</i>
UCB L057.....	<i>(S)-2-Pyrrolidinon-n-buttersäure</i>

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Zusammenstellung der allgemeinen, physikalischen, chemischen und toxikologischen Kenndaten von LEV	16
Tabelle 2. Zusammenstellung der allgemeinen, physikalischen, chemischen und toxikologischen Kenndaten von PB	17
Tabelle 3. Zusammenstellung der verwendeten Geräte und eingesetzten Materialien	21
Tabelle 4. Zusammenstellung der eingesetzten Chemikalien	22
Tabelle 5. Übersicht der eingesetzten Arzneiwirkstoffe	22
Tabelle 6. Darstellung der verwendeten MS-Parameter bei der Primärelimination von PB.....	29
Tabelle 7. Darstellung der verwendeten Lösungsmittelgradienten von PB	31
Tabelle 8. Darstellung der Ergebnisse der Kalibrierung der Primärelimination von LEV mittels HPLC bei einer Wellenlänge von 200 nm und einem Injektionsvolumen von 10 µL.....	II
Tabelle 9. Darstellung der Ergebnisse der Kalibrierung der Primärelimination von LEV mittels HPLC bei einer Wellenlänge von 205 nm und einem Injektionsvolumen von 10 µL.....	III
Tabelle 10. Darstellung der Ergebnisse der Kalibrierung der Primärelimination von PB.....	V
Tabelle 11. Darstellung der NPOC-Messwerte vom UV-Abbau von LEV	VI
Tabelle 12. Darstellung der DOC-Messwerte vom UV-Abbau von PB (ohne PB_III)	VII
Tabelle 13. Darstellung der DOC-Messwerte vom UV-Abbau von PB	VIII
Tabelle 14. Darstellung der NPOC-Messwerte vom UV-Abbau von Lactose-Monohydrat.....	IX
Tabelle 15. Darstellung der Primärelimination von LEV mittels HPLC bei der Wellenlänge einer 200 nm.....	X
Tabelle 16. Darstellung der Primärelimination von LEV bei der Wellenlänge einer 205 nm	XI
Tabelle 17. Darstellung der Primärelimination von PB mittels HPLC-MS (ohne PB_III)	XII
Tabelle 18. Darstellung der Primärelimination von PB mittels HPLC-MS.....	XIII
Tabelle 19. Berechnung der theoretischen Einwaage von PB aus einer 150 mg/L Lyrica®-Kapsel.....	XIV

Zusammenfassung

Arzneimittelrückstände gelangen über verschiedene Pfade in das Ökosystem und nicht alle davon sind biologisch abbaubar. Diese reichern sich in der Umwelt an und können in geringen Konzentrationen einen Einfluss auf Lebewesen haben. Ziel dieser Arbeit ist die Anwendbarkeit des Verfahrens zur photolytischen Behandlung von Antiepileptika Levetiracetam (LEV) und Pregabalin (PB) durch den Einsatz von UV-Strahlung zu testen. Für die Abbauexperimente werden die Arzneimittel-Präparate Keppra[®] (LEV) und Lyrica[®] (PB) eingesetzt. Hierfür werden 100 mg/L des Wirkstoffes in Millipore-Wasser gelöst und zwei Stunden mit UV-Licht behandelt. Die Bestimmung der Primärelimination erfolgt mit der HPLC und der HPLC-MS.

Die Ergebnisse der Primärelimination zeigen eine kontinuierliche Abnahme der Konzentration der beiden Wirkstoffe ab 8 min mittels UV-Behandlung. Dabei werden Primärelimination von $59,8 \pm 7,9$ % (LEV) und von $60,3 \pm 15,3$ % (PB) erreicht. Beide Wirkstoffe werden kaum mineralisiert. Dies zeigt die Non Purgeable Organic Carbon (NPOC)-Bestimmung von $4,6 \pm 1,9$ % (LEV) und die Dissolved Organic Carbon (DOC)-Bestimmung von $5,4 \pm 2,1$ % (PB). Die anschließende kinetische Untersuchung der Abbauexperimente mit der HPLC-MS beweist die Bildung von Transformationsprodukten (TP). In beiden Experimenten entstehen instabile TP, die sich im Verlauf der Photolyse abbauen. Bei LEV entstehen 35 TP, von diesen sind 51,4 % polarer als die Muttersubstanz. Mit der HPLC-MS können Addukte mit Natrium nachgewiesen werden. Bei der Behandlung von LEV mit UV-Licht entstehen 12 TP, die für die toxikologische Untersuchung relevant sind.

Bei PB entstehen 16 potenzielle TP, von denen 43,8 % polarer als die Muttersubstanz sind. Bei PB kann im Vergleich zu LEV eine deutliche Zunahme des Molekulargewichtes nachgewiesen werden. Bei den kinetischen Untersuchungen können TP der Begleitsubstanz Lactose-Monohydrat zugeordnet werden. Für die Bewertung der Mineralisierung von PB wird ein unabhängiges Abbauexperiment mit Lactose-Monohydrat durchgeführt.

Die voneinander unabhängig durchgeführten Abbauversuche belegen ein stabiles Eliminationsverfahren des Wirkstoffes LEV und PB. Für eine abschließende Beurteilung werden toxikologische Untersuchungen der TP gefordert sowie weitere Studien unter realen Umweltbedingungen empfohlen. Darüber hinaus muss eine Strukturaufklärung der TP erfolgen.

Abstract

Residues of pharmaceuticals are transported via different ways into the ecosystem and not every drug is biodegradable. Those non-biodegradable drugs can be accumulated in the environment and may have an influence on living beings in low concentrations. The aim of this thesis is to test the applicability of the procedure of photolytic degradation to the anti-epileptic drugs Levetiracetam (LEV) and Pregabalin (PB) by UV radiation. For these degradation experiments the medicinal product Keppra® (LEV) and Lyrica® (PB) are used. For this purpose 100 mg/L of the active substance are solved in Millipore water. The solution will be treated two hours with UV light. The primary elimination is determined by means of the HPLC and the HPLC MS.

The results of the primary elimination show a continuous decrease of the concentration of both active substances starting after 8 min UV radiation. A primary elimination of $59.8 \pm 7.9\%$ (LEV) and from $60.3 \pm 15.3\%$ (PB) could be measured. Both active substances hardly mineralize. This is demonstrated by the Non Purgeable Organic Carbon (NPOC) determination of $4.6 \pm 1.9\%$ (LEV) and the Dissolved Organic Carbon (DOC) determination of $5.4 \pm 2.1\%$ (PB). The following kinetic examination of the experiments with the HPLC MS shows the formation of transformation products (TP). In both experiments unstable TP occurred which are decreased by photolysis. In case of LEV 35 TP are arising, thereof 51.4% are more polar than the mother substance. Using HPLC MS sodium adduct can be proven. Furthermore 12 TP are forming due to UV degradation of LEV which are relevant for the toxicological investigation.

In case of PB 16 potential TP are developing, thereof 43.8% are more polar than the mother substance. A comparison of PB to LEV shows a considerably increase of the molecule weight of PB. The kinetic examinations of the experiments show the formation of TP relating to the substance Lactose-mono hydrate. For the assessment of the mineralization of PB is carried out with an independent degradation experiment with lactose-mono hydrate.

The independently performed reduction experiments show a stable elimination process of the active substances LEV and PB. For a final assessment toxicological studies of the TP and testing under real environmental conditions are recommended. Additionally a structural clarification of the TP has to be done.

1 Einleitung

Eines der wichtigsten Güter der Welt ist das Wasser. In der UN-Resolution aus dem Jahr 2010 heißt es: "[...] Recognizes the right to safe and clean drinking water and sanitation as a human right that is essential for the full enjoyment of life and all human rights" (Wißler, 2012, S. 2).

Die Gewährleistung von sauberem Trinkwasser ist gerade in Ballungsgebieten mit industriellen Anteilen und einer hohen Besiedlungsdichte schwierig: Haushalts-, Industriechemikalien, Kosmetika und Schwermetalle aus Rohrleitungen werden über den Abwasserpfad in Kläranlagen geleitet. Durch den medizinischen Fortschritt nimmt die Belastung an Medikamentenrückständen in Abwässern zu (Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz, 2012, Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz, 2013, Sunderer, Götz und Storch, 2014).

Laut Wanke (2012) gehe die allgemeine Schadstoffbelastung durch Pflanzenschutzmittel und toxische Schwermetalle zurück. Die Medizinprodukte sind als neuer Risikostoff anerkannt. Die Einstufung wird durch ein in Auftrag gegebenes Forschungsprojekt des Umweltbundesamt (UBA) gestützt. In einem Zwischenbericht heißt es: „[...] *mehr als 630 verschiedene Arzneimittelwirkstoffe sowie deren Abbauprodukte [...] sind in Gewässern, Böden, Klärschlamm und Lebewesen [...]*“ in verschiedenen Gebieten auf der Erde nachgewiesen worden (Umweltbundesamt, 2014a). Bis heute sind über 200 verschiedene Arzneimittelwirkstoffe in Oberflächengewässern mit einer Konzentration von bis zu 6,5 mg/L nachgewiesen worden (Petrie, Barden und Kasprzyk-Hordern, 2014).

Die Problematik liegt in der hohen biologischen Aktivität der Arzneiwirkstoffe (Umweltbundesamt, 2014b, Internationale Kommission zum Schutz des Rheins, 2010). Sie rufen im Organismus eine Veränderung der Signalübertragung hervor, beeinflussen den Stoffwechselprozess und den Hormonhaushalt. Aufgrund der biologisch vielfältigen Wirkungsweisen der Wirkstoffe werden auch andere Lebewesen beeinträchtigt (Umweltbundesamt, 2014b).

Obwohl in den 90er Jahren der Schwerpunkt auf die Erforschung endokriner Stoffe (speziell hormonelle Medikamente) gelegt wurde (Umweltbundesamt, 2012), sind zum heutigen Zeitpunkt die Auswirkungen vieler Arzneistoffe auf die Umwelt weiterhin unbekannt. Grund hierfür sind fehlende Langzeitstudien. Eine schädliche Wirkung bei Lebewesen in der Umwelt gilt jedoch als bewiesen

(Umweltbundesamt, 2014b). Zum Beispiel der Einfluss auf die Geierpopulation in Indien (Rückgang von 95 %) durch den Verzehr Diclofenac behandelter Rinder sowie Ziegen (Sachverständigenrat für Umweltfragen). Bei Regenbogenfischen konnte durch die Akkumulation von Diclofenac histopathologische Veränderungen nachgewiesen werden. Neben Diclofenac wurde beim Hormon 17α -Ethinylöstradiol ein Einfluss auf die Fischpopulation bestimmt. Eine Abnahme der Fruchtbarkeit durch den genannten Wirkstoff kann bei der Vorderkiemerschnecke (Exposition 1 ng/L) nachgewiesen und führt zur Veränderung der Fortpflanzungsorgane (Exposition 250 ng/L). Zurzeit wird der hormonelle Einfluss auf die Amphibienpopulation erforscht (Fraunhofer Institut, 2014). Bei Oxazepam wird eine Reduktion des Sozialverhaltens bei einigen Fischarten festgestellt. Folglich steigt die Mortalität durch fehlendes Schwarmverhalten (Brodin et al., 2013, Klaminder et al., 2014).

Beim Abbauverhalten eines Arzneiwirkstoffes wird zwischen Mechanismen innerhalb des Organismus (Metabolismus) und den Abbaumechanismen außerhalb des Organismus (Transformation) unterschieden (Kümmerer, 2010). Beispiele für eine Transformation sind Hydrolyse, Photolyse Reduktions- und Oxidationsprozesse sowie andere Prozesse. Die Wirksamkeit eines Verfahrens hängt von der Struktur des Arzneiwirkstoffes (funktionelle Gruppen, Art der Substituten, Konfigurationsform) sowie von den physikalischen und chemischen Abbaubedingungen (pH-Wert, Temperatur, etc.) ab (Bredereck, Müller und Schönberg, 1958, Calisto et al., 2011, Challis et al., 2014, Chen et al., 2014, Fatta-Kassinou, Vasquez und Kümmerer, 2011, Kümmerer, 2010). Folglich ist die Wirksamkeit eines Verfahrens vom Wirkstoff abhängig. Daraus folgt eine hohe Bandbreite für die Elimination in Kläranlagen und bei der Metabolisierung. Somit sind die Konzentrationen der Transformationsprodukte (TP) im Ablauf einer Kläranlage unterschiedlich und können im Vergleich zur Muttersubstanz höher sein (Internationale Kommission zum Schutz des Rheins, 2010, S. 3, Kümmerer, 2010)

Die ausgehende Gefahr liegt bei Arzneimittelwirkstoffen mit einer geringen Metabolisierungsrate im Organismus. Wenn die ausgeschiedenen Wirkstoffe ausreichend persistent sind und über eine hohe Mobilität verfügen, können sie direkt in Oberflächengewässer gelangen. Weisen die Wirkstoffe dagegen eine hohe Adsorptionsfähigkeit an Klärschlamm auf, können sie mit diesem bei der Verwendung als Phosphatdünger über den Pfad der landwirtschaftlichen Nutzung ins Oberflächengewässer gelangen (Radka, 2003).

Weitere Faktoren, die das Gefährdungspotential von Arzneimitteln für das aquatische Ökosystem beeinflussen, werden von der internationalen Kommission zum Schutz des Rheins (IKSR) genannt: Verbrauchsmengen, Eliminierung in der Kläranlage, Abbau und Verdünnung im Oberflächengewässer (Internationale Kommission zum Schutz des Rheins, 2010, S. 3)

Um den Eintrag in die Umwelt zu mindern, müssen somit Arzneimittelrückstände in der Kläranlage entfernt werden. Zurzeit werden dazu drei verschiedene Verfahren getestet: Die „*Oxidation mit Ozon*“, die „*Granulierte Aktivkohle (GAK)*“ und die „*Pulveraktivkohle*“ (Knollmann und Hübner, 2013). Bei dem Verfahren mit Pulveraktivkohle wird zusätzlich zwischen vor- und nachgeschalteten Verfahren unterschieden. Zudem wird der Einsatz von UV-Quellen für die Schadstoffreduktion getestet (Mohapatra et al., 2014).

In den 50er Jahren wurde die Wechselwirkung mit der Sonneneinstrahlung und der UV-Strahlung mit organischen Materialien erkannt. Damals wurde das Verständnis für die radikalische und radikalinduzierte Reaktion in verschiedenen photochemischen Reaktionen vertieft, welches schließlich bei der Herstellung von Pharmazeutika durch Lichtreaktion Anwendung fand (Bredereck, Müller und Schönberg, 1958). Heute dagegen wird an dem Abbau von Pharmazeutika durch photochemische Reaktion (Challis et al., 2014) mittels leistungsfähigen UV-Lampen und Xenon-Lampen geforscht. Die Abbauprodukte wiederum können im Oberflächen-, Trink- und Grundwasser nachgewiesen werden. Infolgedessen muss jedes Verfahren unabhängig voneinander in seiner Wirkung für jeden einzelnen Mikroschadstoff getestet werden. Zurzeit wird das Abbauverhalten an den folgenden Verfahren getestet: UV-Behandlung, Ozonbehandlung; GAK, Pulveraktivkohle. Mit der Thematik der UV-Behandlung von Antiepileptika und deren Abbau beschäftigt sich diese Arbeit.

1.1 Ziele der Arbeit

Aufgrund der thematisierten Umweltrelevanz (siehe 1.2), der schlechten Metabolisierung, geringen Datenmenge sowie vermehrter Anwendung von Levetiracetam (LEV) und Pregabalin (PB), soll in dieser Arbeit die Anwendbarkeit des photolytischen Verfahrens zur UV-Behandlung der genannten Antiepileptika geprüft werden. Für die Bewertung der Wirksamkeit dieses photochemischen Verfahrens sollen Daten zur Mineralisierung, Primärelimination mittels Non Purgeable Organic Carbon (NPOC) / Dissolved Organic Carbon (DOC) Bestimmung sowie durch Messung mit der High Performance Liquid Chromatography (HPLC) und mit der HPLC-MS erhoben werden.

Problematisch bei der UV-Behandlung ist die Bildung von unbekanntem TP (siehe 1.3). Die daraus resultierenden Abbaupfade sind komplex und müssen über die Strukturaufklärung der TP rekonstruiert werden. Hierfür werden leistungsfähige Messgeräte mit einer niedrigen Bestimmungsgrenze benötigt. Damit eine Detektion von TP möglich ist, sollten die Konzentrationen der TP hoch sein. Dies wird durch eine hohe Startkonzentration der Muttersubstanz im Vergleich zur messbaren Umweltkonzentration erreicht. In diesem Zusammenhang soll in dieser Arbeit eine kinetische Untersuchung der entstehenden TP, welche voraussichtlich bei diesem Verfahren entstehen, erfolgen.

Die gewonnenen Erkenntnisse aus den Ergebnissen der Untersuchungen können für die weitere Entwicklung der „vierten Reinigungsstufe“ in der Kläranlage sowie für die Bewertung der Umweltrelevanz der Muttersubstanzen und deren gebildeten TP herangezogen werden. Laut Klöpffer (2013) kann bei der Risikoabschätzung der Muttersubstanz ohne die gebildeten Abbauprodukte (Metaboliten und TP) zu berücksichtigen, ein falsches Gefährdungspotential angenommen werden. Hintergrund ist die Bildung hochpersistenter TP zum Beispiel DDT zu DDE (Klöpffer, 2013, S. 17f). Darüber hinaus können die Ergebnisse und Daten aus der kinetischen Untersuchung für die anschließende Strukturaufklärung genutzt werden.

Für die Zielsetzung sollen die Wirkstoffe LEV und PB aus den Arzneimittel-Präparaten Keppra® und Lyrica® gewonnen und in Millipore-Wasser vollständig gelöst werden, das genaue Vorgehen wird im Kapitel „*Material und Methoden*“ erläutert.

1.2 Bedeutung und Umweltrelevanz der Wirkstoffe Levetiracetam und Pregabalin

In diesem Abschnitt wird der Fokus auf die Bedeutung und Umweltrelevanz auf das aquatische Ökosystem der Antiepileptika LEV und PB im Vergleich zu anderen Antiepileptika gelegt. Speziell wird der Vergleich mit Carbamazepin (CBZ) herangezogen, da diese als Indikatorsubstanz in verschiedenen Veröffentlichungen zum Thema „vierte Reinigungsstufe (UV)“ herangezogen wird (Mohapatra et al., 2014).

LEV gehört zu den „*Neuen Antiepileptika*“ und wurde im Jahr 2000 für die „*partiellen Anfälle*“ in Deutschland zugelassen. Seit 2006 kann der genannte Wirkstoff für Mono- und Zusatztherapie beider Epilepsieformen eingesetzt werden (Schwabe, 2012). Darüber hinaus ist der Wirkstoff für die genannten Therapieformen in 50 weiteren Ländern zugelassen (Itziar, Olaizola San José, 2006).

PB gehört zu den meist eingesetzten „*Neuen Antiepileptika*“ in Deutschland (Schwabe, 2012). Der Wirkstoff kann seit 2004 für die Zusatztherapie beider Epilepsieformen und für die neuropathischen Schmerzen eingesetzt werden (Schwabe, 2012). Neben Deutschland ist PB für verschiedene Behandlungstherapieformen in 120 Ländern zugelassen (Pfizer, 2014).

Im Vergleich zu CBZ wird LEV nicht in der Leber metabolisiert, sondern durch enzymatische Hydrolyse im Gewebe bis zu 24 % abgebaut. Hierbei entsteht „*(S)-2-Pyrrolidinon-n-butter-säure*“ - kurz UCB L057 - als Hauptmetabolit. Die Muttersubstanz wird zu 66 % unverändert ausgeschieden (G. Seitz und Neubeck, 2012). Darüber hinaus sind zwei weitere Metaboliten bekannt und über die verbliebenen 7 % ist nichts in der Literatur vermerkt. Das toxikologische Risiko der Muttersubstanz und des Metaboliten wird als gering eingestuft (Itziar, Olaizola San José, 2006). Dagegen wird PB nahezu unverändert über den Urin ausgeschieden (Otto, 2011).

Bei der Betrachtung der unveränderten ausgeschiedenen Arzneistoffe, spielt die Bioverfügbarkeit und die Metabolisierungsrate eine Rolle. Die Bioverfügbarkeit von CBZ ist gegenüber LEV und PB schlechter (G. Seitz und Neubeck, 2012, Otto, 2014, Maydell, 1997).

In Abb. 1 wird ein Vergleich zwischen den in Deutschland verordneten „*neuen Antiepileptika*“, LEV, PB, und CBZ dargestellt. Dieser basiert auf den jährlichen Angaben der gesetzlichen Krankenkassen (Schwabe und Paffrath, 2012). Die

dazugehörigen Daten wurden aus dem jährlichen erscheinenden Arzneiverordnungs-Report von U. Schwabe und D. Paffrath aus den Jahren 2004 bis 2014 entnommen. Für eine bessere Vergleichbarkeit der Antiepileptika untereinander und im Hinblick auf den jährlichen Eintrag in die Umwelt fand eine Umrechnung der mittleren Tagesdosis (DDD) in Tonnen pro Jahr statt. Hierfür wurden die Umrechnungsfaktoren aus einer Veröffentlichung des WHO's entnommen. Laut WHO liegt die DDD von PB bei 0,3 g (WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, 2013b), LEV bei 1,5 g (WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, 2013b) und von CBZ bei 1,0 g (WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, 2013a).

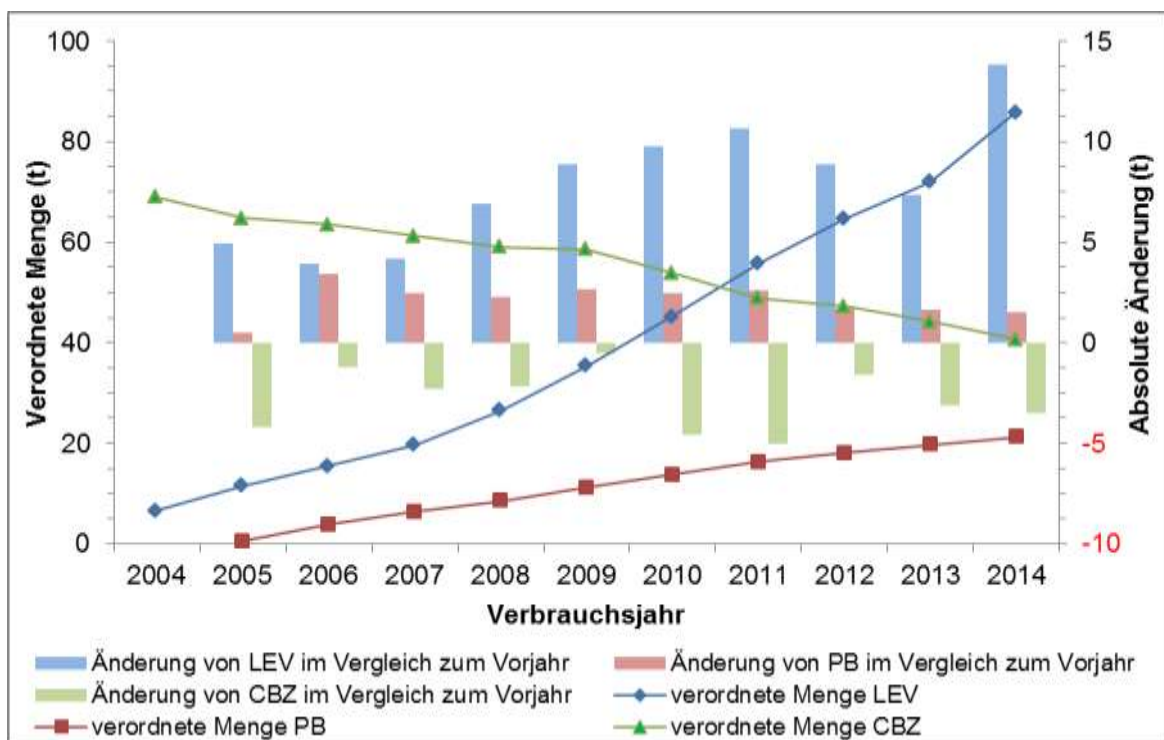


Abb. 1. Grafische Darstellung der Änderung der verordneten Mengen im Zeitraum von 2004 bis 2014 von LEV, PB und CBZ in Deutschland

Der Vergleich (siehe Abb. 1) zeigt eine kontinuierliche Abnahme von CBZ seit dem Jahr 2004. Dagegen nimmt die Menge des Antiepileptikums LEV stetig zu. Im Jahr 2011 übersteigt die verordnete Jahresmenge von LEV erstmals die des CBZ. Heute gehört LEV zu den drei meist verordneten Antiepileptika in Deutschland. Anhand von PB kann die bessere Vergleichbarkeit gezeigt werden. Die Verschreibungshäufigkeit von PB ist im Gegensatz zu den anderen Antiepileptika höher. Allerdings ist die verordnete Tagesdosis bei PB geringer. Aufgrund dessen ist die jährliche Jahresmenge niedriger als die des LEV. Jedoch zeichnet sich ein zukünftiger Anstieg der verordneten Menge von PB ab. (Schwabe, 2004, 2006, 2007, 2008a, 2008b, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014).

Im Vergleich zu Deutschland ist die verordnete Menge pro Kopf von PB in den Ländern Dänemark, Norwegen und im spanischen Katalonien ungefähr um das Doppelte bis Dreifache höher (Ferrer et al., 2014). Bei LEV ist die verordnete Menge pro Kopf ungefähr ein Drittel bis halb so hoch. Folglich ist der Eintrag der Wirkstoffe LEV und PB ins aquatische Ökosystem aufgrund der niedrigeren Bevölkerungszahl in diesen Ländern geringer. Dagegen ist der Unterschied in der verordneten Menge zwischen den Wirkstoffen halb so groß (Ferrer et al., 2014).

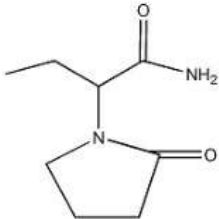

Aufgrund des steigenden Konsums von LEV und PB und der geringen Metabolisierungsrate nimmt die Umweltrelevanz der Wirkstoffe zu (Ebert et al., 2014). Roos et al. (2012) leitet die Umweltrelevanz der genannten Wirkstoffe über die jährlichen Verkaufsmengen ab. So belegt in Schweden LEV den Rang 21 von 394 und PB den Rang 24. Neben der Verbrauchsmenge ist für das Vorkommen der Antiepileptika in der Umwelt und der Abbau von diesen in den Kläranlagen von Bedeutung. Für PB wird eine Elimination von unter 2 % in Kläranlagen bestimmt (Ortiz de García, Sheyla et al., 2013). Im Vergleich dazu liegt die Reinigungsleistung bei LEV bei 87 % (Lee et al., 2014). Für das aquatische Ökosystem in Spanien wird die „*Predicted Environmental Concentration (PEC)*“ von PB mit 89,4 ng/L nach der Abwassereinleitung berechnet. In der Studie von Fick et al. (2010) wird eine „*predicted Critical Effect Concentration*“ (CEC) von 170 g/L für LEV berechnet. Im Vergleich dazu liegt die Löslichkeit von LEV in Wasser bei 298 g/L (The Human Metabolome Database, 2014a), somit ist die CEC als unbedenklich anzusehen.

Die Stoffgruppe der „Antiepileptika“ rückte in den letzten Jahren in den medialen Fokus und gewinnt weiter an Bedeutung. Dies belegt zum einen eine Studie, die sich mit den häufigsten „*Thematisierte(n) Medikamente(n)*“ (Sunderer, Götz und Storch, 2014) beschäftigt. Zum anderen wird dies durch aktuelle Umweltfunde von „Neuen Antiepileptika“ in Gewässern und in Trinkwässern gezeigt. Im Artikel der Welt heißt es: „*Zu den am häufigsten nachgewiesenen und schlecht entfernbaren Stoffen gehören [...] die Antiepileptika [...] (CBZ) und Gabapentin [...]*“ (Garms, 14. Nov. 2013). Neben den Umweltbefunden sind derzeit keine Arzneimittel als „prioritäre Stoffe“ in der Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) aufgenommen worden (Europäische Union, 2013). Dies erschwert das gezielte Monitoring und die Datenlage zu den neuen Antiepileptika bleibt lückenhaft. Aufgrund der Stabilität der Substanzen und dem kontinuierlichen Eintrag in die Umwelt werden diese auf längere Sicht im Oberflächengewässer, Grundwasser und Trinkwasser nachzuweisen sein (Internationale Kommission zum Schutz des Rheins, 2010). In der Studie von Wode et al. (2014) wird ein umfangreiches Untersuchungsprogramm von Mikroschadstoffen durchgeführt. Hierbei konnte PB

erstmals im Grundwasser und in Oberflächengewässern nachgewiesen werden (Wode et al., 2014).

Weitere allgemeine, physikalische, chemische und toxikologische Kenndaten von LEV und PB sind tabellarisch in der Tabelle 1 und Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 1. Zusammenstellung der allgemeinen, physikalischen, chemischen und toxikologischen Kenndaten von LEV

Kenndaten zum Wirkstoff		
Strukturformel ^{1) u. 2)}		
Piktogramm ³⁾		
Stoffbezeichnung ²⁾	Achtung Levetiracetam	
IUPAC Bezeichnung ²⁾	(2S)-2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)butanamide	
Synonyme ³⁾	(αS)-α-Ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide	
Markenbezeichnung ²⁾	Keppra®	
CAS Nr. ³⁾	102767-28-2	
H-Sätze ³⁾	H302, H319	
P-Sätze ³⁾	P305+P351+P338	
Summenformel ^{1) u. 3)}	C ₈ H ₁₄ N ₂ O ₂	
Physikalische Eigenschaften		
Molmasse ³⁾	170,21 g/mol	
Wasserlöslichkeit ^{4) u. 7)}	4) 298 g/L	7) 104 g/100 mL
Log K _{ow} / LogP (Oktanol/Wasser) ^{4) u. 7)}	4) -0,64	7) -0,670 ± 0,477 (25 °C)
Henry-Konstante ⁵⁾	5.) 2,7 · 10 ⁻¹⁰ atm-cu m/mol (25°)	2,74 · 10 ⁻⁵ (Pa m ³)/mol (25 °C)
pKs ^{4) u. 7)}	4) 16,09	7) 15,75 ± 0,5
pH-Wert ¹¹⁾	11) 5,5	
Schmelzpunkt ⁸⁾	8) 117 °C	
UV- Absorptionsmaximum	7) u. 9) 205 nm	
Toxikologische Kenndaten		
PEC _{Agricultural Soil}	10) 0,02 (60 t/ha)	

 Kenndaten zur Infusionslösung Keppra®

Levetiracetam ¹¹⁾	¹¹⁾ 500 mg/5 mL
Natriumchlorid ¹¹⁾	¹¹⁾ 45 mg/5 mL
Natriumacetat Trihydrat ¹¹⁾	¹¹⁾ 8,2 mg/5 mL
Essigsäure ¹¹⁾	¹¹⁾ pH 5,5



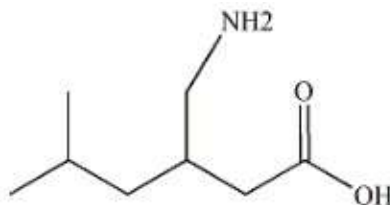
 Metabolit

Bezeichnung/ Mechanismus	Metabolisierungsrate
⁷⁾ (S)-2-Pyrrolidinon-n-buttersäure (UCB L057)	⁷⁾ 24 %
¹¹⁾ u. ¹²⁾ Hydroxylierung des 2-oxo-Pyrrolidin-Rings	¹¹⁾ u. ¹²⁾ 2 %
¹¹⁾ u. ¹²⁾ Öffnung des 2-oxo-Pyrrolidin-Ring in Position 5	¹¹⁾ u. ¹²⁾ 1 %

¹⁾ (Saravanan et al., 2008) ²⁾ (ChemAxon, 2014a) ³⁾ (Sigma-Aldrich, 2013a) ⁴⁾ (The Human Metabolome Database, 2014a) ⁵⁾ (Pubchem, 2014a) ⁷⁾ (G. Seitz und Neubeck, 2012) ⁸⁾ (Otto, 2014) ⁹⁾ (Martens-Lobenhoffer und Bode-Böger, 2005) ¹⁰⁾ (Clarke und Smith, 2011) ¹¹⁾ (U.S. National Library of Medicine, 2014) ¹²⁾ (Itziar, Olaizola San José, 2006)

Tabelle 2. Zusammenstellung der allgemeinen, physikalischen, chemischen und toxikologischen Kenndaten von PB

 Kenndaten zum Wirkstoff

Strukturformel¹⁾Piktogramm²⁾

Gefahr

Stoffbezeichnung ¹⁾	Pregabalin
IUPAC Bezeichnung ¹⁾	(3S)-3-(aminomethyl)-5-methylhexanoic acid
Synonyme ²⁾	PD-144723
Markenbezeichnung ²⁾	Lyrica®
CAS Nr. ²⁾	148553-50-8
H-Sätze ²⁾	H318, H361
P-Sätze ²⁾	P280, P305+P351+P338
Summenformel ¹⁾	C ₈ H ₁₇ NO ₂

 Physikalische Eigenschaften

Molmasse ²⁾	²⁾ 159,23 g/mol	
Wasserlöslichkeit ⁴⁾	11,3 g/L	
Log K _{ow} / LogP (Oktanol/Wasser) ¹⁾ u. 4)	¹⁾ -1,35	
Henry-Konstante ⁵⁾	⁵⁾ 6,89·10 ⁻¹¹ atm-cu m/mol (25 °C)	6,98·10 ⁻⁶ (Pa m ³)/mol (25 °C)
pKs ^{4), 5.) u. 6)}	⁴⁾ 4,8	^{5) u. 6)} 4,2
pH-Wert ²⁾	²⁾ 6,22 bis 6,88	
Schmelzpunkt ²⁾	²⁾ 190 °C	^{3) u. 5)} 186-188 °C

 toxikologische Kenndaten

LC50 _{Fisch} ²⁾	²⁾ > 1000 mg/L 96 h
EC50 _{Daphnien} ²⁾	²⁾ > 1000 mg/L 48 h
ErC50 _{Algen} ²⁾	²⁾ > 300 mg/L 72 h

 Kenndaten zur Kapsel Lyrica®

Pregabalin ⁷⁾	⁷⁾ 150 mg
Lactose-1-Wasser ⁷⁾	⁷⁾ 16,5 mg
Maisstärke ⁷⁾	
Talkum ⁷⁾	



¹⁾ (ChemAxon, 2014b) ²⁾ (Sigma-Aldrich, 2013b, Sigma-Aldrich, 2013b) ³⁾ (Otto, 2011) ⁴⁾ (The Human Metabolome Database, 2014b) ⁵⁾ (Pubchem, 2014b) ⁶⁾ (U.S. National Library of Medicine, 2007) ⁷⁾ (aponet.de, 2014)

1.3 Stand der Forschung

Bei dem Verfahren mit UV-Licht können TP entstehen, die gegenüber der Muttersubstanz eine höhere Polarität und damit verbunden eine höhere Wasserlöslichkeit aufweisen (Wols und Hofman-Caris, C H M, 2012). Hierbei besteht die Gefahr der Bildung von TP mit toxischen Eigenschaften. Zudem kann eine Mutagenität durch UV-Behandlung hervorgerufen werden. Eine weitere Gefahr besteht beim Eintrag der TP in das aquatische Ökosystem. Hier können die TP mit Chloridionen reagieren und toxische Verbindung bilden. Desweiteren können mit Bromidionen zytotoxische und genotoxische Verbindung entstehen (Wols und Hofman-Caris, C H M, 2012).

De la Cruz, N et al. (2013) behandelt in seiner Studie 22 Mikroschadstoffe mit UV-Licht. In seiner Untersuchung konnte eine allgemeine Mineralisierung von 9,6 % erreicht werden und bei zwei Mikroschadstoffen (Diclofenac und Ketoprofen) konnte eine Elimination über 80 % bestimmt werden (De la Cruz, N et al., 2013). Neben den genannten Mikroschadstoffen wurde eine Beständigkeit von Antiepileptika (CBZ kleiner 5 %) gegenüber einer UV-Behandlung gezeigt. Diese Beständigkeit unter 5 % wird durch Kovalova et al. (2013) unterstützt. In einer Schweizer Pilotanlage wird das Abbauverhalten von LEV durch UV-Behandlung eines Klinikabwassers untersucht. Hierbei wird eine 40 W UV-Lampe (180 min) mit einer Wellenlänge von 254 nm verwendet und eine Elimination von 0 % bis 17 % erzielt. Im Vergleich zu LEV wird bei Gabapentin 5 % bis 6 % erreicht.

Zurzeit wird die Eliminierung von Pharmazeutika durch UV-Behandlung mit Oxidationsprozessen (H_2O_2 , Fe_2O_3 , TiO_2) unterstützt. Durch die Oxidationsprozesse kann die Eliminierungsgeschwindigkeit erhöht und die Eliminierung der Muttersubstanz verbessert werden. Laut Kümmerer (2010) entstehen bei oxidativen Prozessen TP, die oft mutagen sind oder andere toxische Eigenschaften aufweisen. Folglich steigt der toxikologische Einfluss auf das aquatische Ökosystem.

Bei der photolytischen Behandlung von Oxcarbazepin mit UV-Licht wird eine Elimination der Muttersubstanz von 10 % erreicht (Li et al., 2011). Bei einer Bestrahlungszeit von 180 min in destilliertem Wasser konnten keine TP bei einer direkten Photolyse detektiert werden. Folglich ist das Ergebnis der akuten toxikologischen Untersuchung negativ. In einem weiteren Experiment wird die indirekte Photolyse (siehe 2.2.1) genutzt. Hierbei werden reaktive Hydroxylradikale mit zusätzlichem organischem Material und Nitrationen hinzugeben. Es konnten 13 TP in der Studie nachgewiesen und die Abbaupfade dargelegt werden. Die

Konzentration der Muttersubstanz konnte bei gleicher Bestrahlungszeit auf 56 % gesenkt werden. Im Gegensatz zur direkten Photolyse wird bei der indirekten Photolyse eine Steigerung der akuten toxikologischen Eigenschaften nachgewiesen (Li et al., 2011).

Eine Studie zum dem Thema „vierte Reinigungsstufe“ mit dem Fokus der Ozonbehandlung weist eine schlechte Eliminierung des Wirkstoffes LEV nach (Das Wasserforschungs-Institut des ETH-Bereichs, 2009). Es wird davon ausgegangen, dass die zwei enthaltenen Amid-Gruppen für eine höhere Persistenz gegenüber Oxidationsprozessen verantwortlich sind (Hollender et al., 2009). In der Studie zum dem Thema Krankenhausabwässer werden durch Ozonbehandlung 18 % Elimination erreicht (Margot et al., 2013). In neueren Studien dagegen werden bis zu 60 % für LEV durch höhere Ozonzugabe und in Kombination mit H_2O_2 erreicht (Lee et al., 2014). Im Gegensatz zur Ozonbehandlung werden bei Verfahren in denen Pulveraktivkohle mit anschließender Ultrafiltration genutzt wird, eine Eliminierung der Muttersubstanz von bis zu 97 % erzielt (Margot et al., 2013). Dies kann durch eine höhere Affinität zur Pulveraktivkohle erklärt werden (Kovalova et al., 2013). Bisher wird TP (172,1 m/z) von LEV durch Biotransformation im Klärschlamm bestimmt. Bei diesem Prozess findet eine Hydrolyse des primären Amids zur Carboxylgruppe statt (Helbling et al., 2010).

Zudem hat sich die Massenspektrometrie (MS) als analytische Methode zur Quantifizierung von der Primärelimination und deren TP in zahlreichen Studien etabliert (Challis et al., 2014). Folglich ist die Quantifizierung von Spurenstoffen weniger problematisch als die richtige Auswahl der Methoden-Parameter für die zu untersuchenden Substanzen und deren TP. Aus diesem Zusammenhang können Mikroschadstoffe, Metaboliten und TP in der Umwelt erst nachgewiesen werden, wenn gezielt nach diesen gesucht wird. Neben Quantifizierung mittels MS haben sich die Aufzeichnung der Bedingungen der Experimente, wie pH-Wert und Temperatur, bewährt. Die anschließende toxikologische Untersuchung nach der Behandlung gehört nicht zum Stand der Technik (Challis et al., 2014).

2 Material und Methoden

Die Experimente im Abschnitt 2.2.2 und 2.2.3 werden jeweils in vier voneinander unabhängigen Versuchen wiederholt. Hierbei müssen die eingesetzten Wirkstoffe vor unerwünschten Lichtemission (zum Beispiel Sonnenlicht, Laborlicht und andere Lichtemissionsquellen) geschützt werden, besonders vor und während der Photolyse, damit für jedes Experiment dieselben Ausgangsbedingungen herrschen und eine Vergleichbarkeit untereinander möglich ist. Der dazugehörige Hintergrund wird im Abschnitt 2.2 erläutert.

2.1 Geräte und Chemikalien

In diesem Abschnitt sind die verwendeten Geräte (siehe Tabelle 3) und eingesetzten Chemikalien (siehe Tabelle 4 und Tabelle 5) tabellarisch aufgelistet.

Tabelle 3. Zusammenstellung der verwendeten Geräte und eingesetzten Materialien

Geräte	Hersteller	Beschreibung
Analysenwaage	Mettler Toledo	NewClassic MF, ML204/01 Max = 220 g, d= 0,1 mg
Ultraschallbad	Bandelin	Sonorex Digitec
Magnetrührer	Heidolph	Typ MR 1000 2200 1/min
UV-Photoreaktor ^{*)}	Heraeus	Reaktorgefäß, Kühl- und Tauchrohr aus Quarz, Thermometer (-10 °C...60 °C)
UV-Strahlungsquelle ^{*)}	Heraeus	TQ 150 -Quecksilber-Mitteldruckstrahler 150 W
Kühlsystem	Lauda	WKL 230
Messkolben	Brandt	div. 1 L und 100 mL
Vial	Macherey-Nagel	Gewindeflaschen N9, Nutzvolumen 1,5 mL
Säule	Macherey-Nagel	Phenyl-Hexyl-Säule (125 mm x 3 mm, 3 µm Partikelgröße ⁷) Lot.38722025 & Lot.38722055
LC-MS-Messsystem	Bruker Daltonic	Bruker Daltonic Esquire 6000 ^{plus} mit Ionenfalle-Massenspektrometer, Elektrospray-Ionisation und Bruker Datenanalysesystem
HPLC	Agilent Technologies	Agilent Technologies 1100 mit Autosampler, Säulenofen und Entgaser
TOC	Shimadzu	Shimadzu TOC-V _{CPN} Autosampler ASI-V
2,0 mL Reaktionsgefäße	Eppendorf	2,0 mL Safe-Lock-Reaktionsgefäße

HPLC-Messsystem	Shimadzu	zwei Pumpen (LC-10A1), ein Controlling Modul (CBM-20A), ein Autoinjektor (SIL-10AD VP), Säulenofen (CTO-10AC) und ein UV-Vis-Detektor (SPD-10A)
pH-Elektrode	WTW	pH-Electrode SenTix 41 pH 0...14/0...80 °C Lot.8141801084
pH-Meter	WTW	WTW Serie inoLab® pH/ION 735
Eppendorf-Pipette	Eppendorf	Eppendorf Research 100 - 1000 µL Lot.4548473
Eppendorf-Pipette	Eppendorf	Eppendorf Research 10 - 100 µL Lot.4656459
0,45 µm Membranfilter	Macherey-Nagel	CHROMAFIL® Xtra PES-45/25 0,45 µm
10 mL Spritze	B/Braun	Injekt® 10 mL /Luer Solo Lot.4C24048
5 mL Spritze	B/Braun	Injekt® 5 mL /Luer Solo Lot.3D22048
Injektionskanüle	B/Braun	0,80 x 40 mm Steril
15 mL-Tube	Sarstedt	Tube 15 mL, 120 x 17 mm PP
50 mL-Tube	Sarstedt	Tube 50 mL, 114 x 28 mm PP

*) (Heraeus Noblelight, 2002)

Tabelle 4. Zusammenstellung der eingesetzten Chemikalien

Substanz	CAS	Reinheit	Hersteller
Methanol	67-56-1	≥ 99,8 %	VWR
Ammoniumacetat	631-61-8	≥ 96 % reinst	Roth
Kaliumhydrogenphthalat	877-24-7	≥ 99,5 % p.a.	Roth
Lactose-Monohydrat	10039-26-6	Ph.Eur.	Roth

Tabelle 5. Übersicht der eingesetzten Arzneiwirkstoffe

Wirkstoff	Markenbezeichnung	Darreichungsform	Hersteller
Pregabalin	Lyrica®	150 mg Kapsel	Pfizer
Levetiracetam	Keppra®	500 mg/5 mL Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung	UCB Pharma

2.2 Photolyse

Dieses Kapitel behandelt die Anwendung von UV-Strahlung für die primäre Elimination von LEV und PB. Als UV-Strahlungsquelle dient eine Quecksilberlampe, welche vorwiegend in Abwasserbehandlungen eingesetzt wird.

2.2.1 Theoretische Grundlagen

Die Grundvoraussetzung einer photochemischen Reaktion ist eine chemische Veränderung der Substanz, ausgelöst durch die Absorption von Licht (Bredereck, Müller und Schönberg, 1958, OECD, 2008). Hierbei absorbiert das Molekül Photonen. Diese Absorption ermöglicht den Übergang vom Grundzustand in einen angeregten Zustand. Die Energie, die für den Übergang erforderlich ist, liefert das absorbierte Photon. Dabei spielt die Wellenlänge des absorbierten Lichtes eine entscheidende Rolle. Die Energie eines Photons ist umgekehrt proportional zur Wellenlänge. Eine anschließende chemische Veränderung des Moleküls findet in der Regel durch Bindungsbrüche, Oxidations- oder Reduktionsprozesse statt. Dabei sind strukturelle Veränderungen des Moleküls und Radikalbildung möglich. Die bei dem beschriebenen Vorgang entstehenden Moleküle werden als TP bezeichnet (Bredereck, Müller und Schönberg, 1958, OECD, 2008).

Eine photochemische Reaktion kann in eine „*Direkte und in eine Indirekte photochemische Reaktion*“ untergliedert werden. Folglich kann der beschriebene Prozess durch Reaktionen mit anderen im System vorliegenden Substanzen erfolgen. Dadurch können Moleküle durch die indirekte photochemische Reaktion umgesetzt werden, die nicht im Emissionsspektrum der Strahlungsquelle absorbieren. Hierbei absorbiert die Begleitsubstanz die elektromagnetische Strahlung und führt über eine Reaktion mit der Substanz zur Transformation. Entscheidend bei beiden Prozessen ist, dass die chemische Veränderung nicht durch eine thermische Reaktion hervorgerufen wird. Jedoch können thermische Veränderungen der Substanz durch nicht abgeführte Abwärme der Strahlungsquelle entstehen (Bredereck, Müller und Schönberg, 1958, OECD, 2008).

Aufgrund der Verwendung der UV-Strahlung für die Behandlung muss die verwendete Apparatur (siehe Abb. 2) aus Quarzglas bestehen. Eine aus Glas oder aus Pyrex (Challis et al., 2014) würde den UV-Spektralbereich unterhalb von 350 nm sowie 290 nm absorbieren. Folglich stehen der UV-B- und der UV-C Bereich (siehe Abb. 22 im Anhang) (Ulrike Koller, 2009) im Abbauexperimente nicht zur Verfügung (Bredereck, Müller und Schönberg, 1958).

2.2.2 Photolytische Behandlung von Levetiracetam

Für die UV-Abbauversuche von LEV wurde eine 100 mg/L Stammlösung aus dem Konzentrat einer Infusionslösung Keppra® in Millipore-Wasser hergestellt. Diese Stammlösung wurde 10 min im Ultraschallbad gelöst, anschließend mit dem TOC- V_{CPN} analysiert. Der gemessene organische Kohlenstoffgehalt wurde mit dem theoretischen Gehalt (siehe die Berechnung im Anhang 5A.1.1) verglichen.

Für den Abbautest wurden 800 mL der Stammlösung in das auf 18 °C bis 20 °C (Lauda WKL230) temperierte Photoreaktor-System (siehe Aufbau Abb. 3) der Firma Heraeus überführt, welche mit einer Quecksilberlampe TQ 150 (Heraeus) betrieben wurde. Der Emissionsbereich der UV-Strahlung deckt den Wellenbereich zwischen 200 nm bis 600 nm ab. Die erforderlichen Intensitätsmaxima können aus der Abb. 22 (Anhang) entnommen werden.

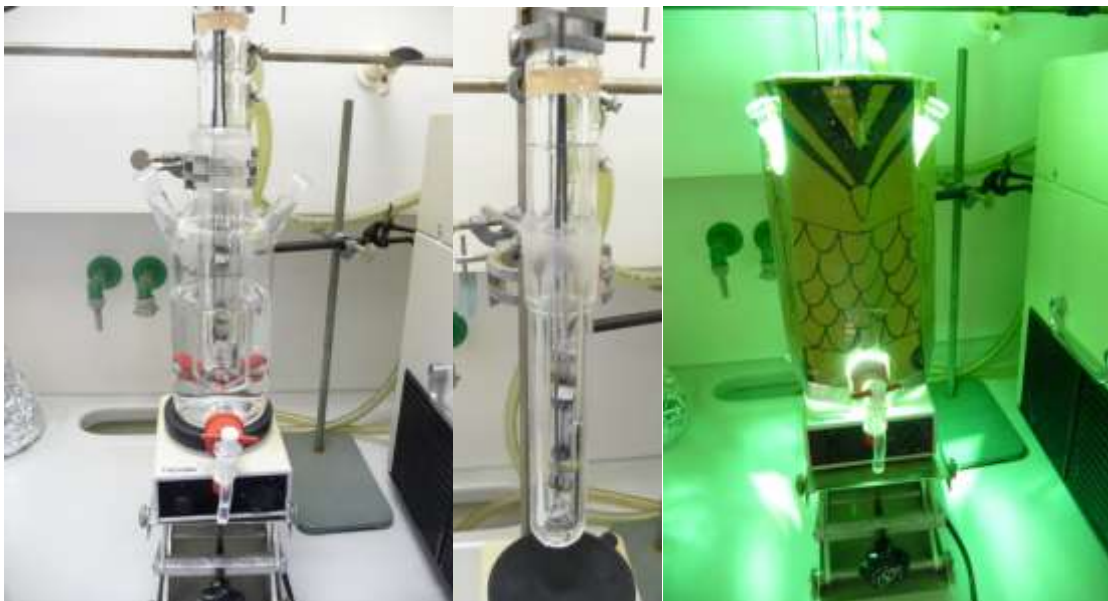


Abb. 2. Apparativer Aufbau des Photoreaktor: Vor- und Inbetriebnahme

Vor der photolytischen Behandlung wurde eine Referenzprobe zum Zeitpunkt 0 min entnommen. Für die späteren Untersuchungen wurden 14 mL bis 15 mL der Reaktionslösung zu den Zeitpunkten 0 min, 2 min, 4 min, 8 min, 16 min, 32 min, 64 min und 128 min unter Rühren entnommen. Aus den jeweiligen Zeitproben wurde 1 mL für die Analytik in ein Autosampler-Vial (Macherey-Nagel) überführt und bei -80 °C eingefroren. Anschließend wurden für die Bestimmung der Mineralisierung ca. 7 mL in ein NPOC-Vial abgefüllt. Aus dem verbleibenden Volumen erfolgte die pH-Wert Bestimmung mit dem pH-Meter (inoLab® pH/ON 735).

2.2.3 Photolytische Behandlung von Pregabalin

Für die UV-Abbauversuche von PB wurde eine 100 mg/L Stammlösung aus einer 150 mg Lyrica[®]-Kapsel der Firma Pfizer eingesetzt. Hierfür wurde die entsprechende exakte Einwaage (siehe die Berechnung in der Tabelle 19 im Anhang) eingewogen und in 1 L Millipore-Wasser gelöst. Zum vollständigen Lösen der Substanz wurde die PB Stammlösung für 30 min in das Ultraschallbad gestellt und über Nacht gerührt. Im Unterschied zu LEV (siehe 2.2.2) müssen die enthaltenen feinen unlöslichen Talkum-Partikel vor der Versuchsdurchführung abgetrennt werden. Für diesen Vorgang wurde die Stammlösung über einen 0,45 µm Membranfilter in einen lichtgeschützten Erlenmeyerkolben filtriert. Die weitere Vorgehensweise entspricht der beschriebenen Methodik in Abschnitt 2.2.2.

2.3 Mineralisierung mittels NPOC und DOC

In diesem Abschnitt wird auf die Grundlagen der NPOC-Messung eingegangen und der Unterschied zur DOC-Messung verdeutlicht. Beide genannten Parameter sollen einen Rückschluss auf die Mineralisierung der Wirkstoffe liefern. Unter dem Begriff Mineralisierung wird die Umsetzung zu einfachen anorganischen Verbindung verstanden (Klöpffer, 2013). Beispiele hierfür sind unter anderem Wasser, Kohlenstoffdioxid, Chlorwasserstoff.

2.3.1 Theoretische Grundlagen

Der NPOC gilt als einer der wichtigsten Summenparameter, welcher in vielen Gewässerbestimmungen, wie zum Beispiel in der ISO 8245 und EN 1484, gefordert und als ein Bewertungsmerkmal in der Abwasserbehandlung herangezogen wird (Analytik Jena, 2007). Dieser umfasst den gesamten im Wasser enthaltenen löslichen und unlöslichen organisch gebundenen Kohlenstoff, der nicht austreibbar ist. Folglich müssen die leichtflüchtigen organischen Verbindungen aus der Probe entfernt werden. Dies wird durch Ansäuern mit Salzsäure und anschließender Ausgasungszeit erreicht (Analytik Jena, 2007).

Der Unterschied zwischen NPOC und DOC liegt in der Filtration des DOC mit einem 0,45 µm Membranfilter, welche bei der Bestimmung von PB angewendet wird.

2.3.2 Bestimmung der Mineralisierung von Levetiracetam mittels NPOC

Für die Bestimmung der Mineralisierung werden ca. 7 mL der jeweiligen Reaktionslösung aus dem Abbauersuch in ein NPOC-Vial abgefüllt und mittels TOC- V_{CPN} Analyser der Firma Shimadzu analysiert. Die Messung erfolgt im Kalibrationsbereich zwischen 10 mg/L bis 100 mg/L. Hierfür werden Standards in der Konzentration 25 mg/L, 50 mg/L und 100 mg/L aus einer 1000 mg/L NPOC-Stammlösung hergestellt. Für die Stammlösung werden 212,5 mg getrocknetes wasserfreies Kaliumhydrogenphthalat eingewogen und anschließend in 100 mL Millipore-Wasser gelöst. Zur Qualitätssicherung wird ein 50 mg/L oder ein 100 mg/L NPOC-Kontrollstandard verwendet.

2.3.3 Bestimmung der Mineralisierung von Pregabalin mittels DOC

Die Methodik ist entsprechend der Methode in Abschnitt 2.3.2. Aufgrund der Filtration mit einer Porenweite von 0,45 μm in Abschnitt 2.2.3 handelt es sich hierbei um eine DOC-Bestimmung.

2.4 Primärelimination

In diesem Kapitel wird auf die Methodik zur Bestimmung der Primärelimination eingegangen. Aufgrund der schlechten UV-Absorption von PB kann die Quantifizierung der Primärelimination von PB gegenüber LEV nicht über einen Dioden Array Detektor (DAD) erfolgen. Daher wird in diesem Kapitel auf die Grundlagen der HPLC-MS eingegangen und auf die Unterschiede der Ionisationstechniken hingewiesen mit dem Schwerpunkt der Zerstäubungsmethode Elektrospray-Ionisation (ESI).

2.4.1 Theoretischer Hintergrund zur HPLC-MS

Die HPLC ist ein chromatographisches Trennsystem (Kromidas, 2006). Dabei erfolgt die Auftrennung der Substanzen über die unterschiedliche Wechselwirkung zwischen der stationären und mobilen Phase. Hierbei wird die unterschiedliche Polarität der Analyten ausgenutzt. Folglich muss die Auswahl der beiden genannten Phasen dem jeweiligen Trennproblem angepasst werden, damit ein optimales Trennergebnis erreicht wird. Die anschließende Quantifizierung in dieser Arbeit wird mittels DAD- oder MS Detektion erreicht (Kromidas, 2006).

In den verschiedenen Literaturquellen, wie zum Beispiel Hesse et al. (2012), Budzikiewicz und Schäfer (2012), wird der Aufbau eines Massenspektrometers aus den folgenden vier Hauptbestandteilen beschrieben: Einem Probeneinlasssystem, einer Ionisierungseinheit, einem Analysator / Detektor und einer Datenverarbeitungseinheit. Infolge der schlechten UV-Absorption von PB wird das chromatographische System mit einem MS gekoppelt. Die in der Literatur oft zitierte Methode der Derivatisierung durch Zugabe von Detergenzien kann aufgrund der anschließenden Bestimmung der TP nicht angewendet werden (Dousa, Gibala und Lemr, 2010).

Die Zerstäubungsmethode ESI bietet für das angestrebte Trennproblem in dieser Arbeit gegenüber Elektronenstoßionisation (EI), Chemische Ionisation (CI), Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation (MALDI) und den anderen Ionisationsmethoden Vorteile (Budzikiewicz und Schäfer, 2012, Hesse et al., 2012, Schürenkamp, 2009). Diese Ionisationsart eignet sich für polare Verbindungen und kleine Moleküle mit einer Atommasse kleiner 1000 u (vgl. die Molmasse in Tabelle 1 und Tabelle 2). Des Weiteren ist die Fragmentierung beim ESI schwächer und bildet infolgedessen weniger Verbindungsbrüche. Damit wird die angestrebte Non Target Analytik für die Bestimmung der TP erleichtert. Die ESI ist mit einem HPLC-Trennsystem kombinierbar.

Bei dieser Methode wird eine Flüssigkeit oder die mobile Phase mit einer hohen Fließgeschwindigkeit im Verhältnis zum dünnen Innendurchmesser der Kapillare verwendet (Budzikiewicz und Schäfer, 2012, Hesse et al., 2012). Die Flüssigkeit wird am Ausgang der Kapillare in die Ionisationskammer gesprüht. Das vorherrschende Vakuum und der enthaltene Stickstoff in der Ionisationskammer sind für die Erhöhung der Ladungsdichte in den Tröpfchen verantwortlich. Grund hierfür ist die Verdampfung des Lösungsmittels. Dies führt zur Verstärkung der elektrostatischen Abstoßungsreaktion innerhalb der Tröpfchen bis hin zu ihrer Teilung und der Bildung von geladenen Ionen. Hierbei sollte ein polares Lösungsmittel wie zum Beispiel Methanol (MeOH), Acetonitril (ACN) oder Wasser gewählt werden und die Pufferkomponenten sollten rückstandsfrei verdampfbar sein. Letztere Voraussetzung würde die Abnahme des Tröpfchenradius behindern (Budzikiewicz und Schäfer, 2012, S. 26). Bei der Fragmentierung entstehen neutrale Fragmente und geladene Molekülionen ($[M+H]^+$, $[M+Na]^+$, oder $[M+nH]^{n+}$). Die Bildung von mehrfach geladenen Molekülionen ist in dieser Arbeit aufgrund der geringen Atommasse unwahrscheinlich. Der Vollständigkeit halber ist eine Bestimmung im negativen Modus möglich, welche folgende Molekülionen bilden ($[M-H]^-$ oder $[M+nH]^{n-}$). Bei der anschließenden MS-Detektion werden geladene

Molekülonen erfasst und neutrale Fragmente können nicht bestimmt werden (Budzikiewicz und Schäfer, 2012, S. 28, Hesse et al., 2012).

Im Analysator findet die Massen-Ladungstrennung statt (Budzikiewicz und Schäfer, 2012, Hesse et al., 2012, Schürenkamp, 2009). Die angelegte Wechsellspannung am Analysator ermöglicht eine Separation der Ionenmassen. Bei der Bestimmung der Ionenmassen spielt der Ablenkungsradius eine entscheidende Rolle. Dieser kann durch die Veränderung der angelegten Wechsellspannung beeinflusst werden. Darüber hinaus wird am Ausgang des Analysators ein Kollektorspalt mit einer bestimmten Breite angebracht. Dieser sorgt dafür, dass nur ausgewählte geladene Massen den Spalt passieren können und somit in den Detektor gelangen. Alle anderen geladenen Ionen werden stärker oder schwächer abgelegt. Folglich können diese den Spalt nicht passieren. Im Detektor werden die Ionen entladen und führen zur Stromverstärkung. *“Die Stromstärke ist proportional zur Zahl der auftreffenden Ionen“* (Budzikiewicz und Schäfer, 2012, S. 44).

Für die Bestimmung der Primärelimination von PB (2.4.3) wird der „Produkt-Ionen-Scan-Modus“ verwendet. In diesem Modus wird im ersten Quadrupol das zu bestimmende Ion, welches als Precursor-Ion bezeichnet wird, ermittelt. Im nächsten Schritt (MS2) wird das Ion in die Kollisionszelle geleitet. In dieser Zelle erfolgt die Fragmentierung des Precursor-Ions durch das Anlegen einer Spannung und die Einleitung eines Kollisionsgases (Helium). Die gebildeten Fragmente werden in den zweiten Quadrupol geleitet. Dieser vermisst im eingestellten Massenbereich die gebildeten Fragmente. Anhand der Fragmentierungsmuster und der Retentionszeit kann auf die Muttersubstanz rückgeschlossen werden (Schürenkamp, 2009).

2.4.2 Bestimmung der Primärelimination von Levetiracetam mittels HPLC

Die Quantifizierung der Primärelimination von LEV wurde mit einem HPLC-Messsystem der Firma Shimadzu durchgeführt. Hierfür wurde aus einer 100 mg/L Stammlösung eine Verdünnungsreihe (0,0977 mg/L bis 100 mg/L) hergestellt. Für die Bestimmung der Konzentration wurde eine bestehende Methode verwendet und für den genannten Wirkstoff optimiert. Es wurde eine zehn minütige Methode entwickelt. Dabei erfolgte eine Auftrennung bei 30 °C mit einer NUCLEODUR-Phenyl-Hexyl-Säule (125 mm x 3 mm, 3 µm Partikelgröße) und einem isokratischen Gemisch aus Millipore-Wasser / MeOH im Verhältnis 70:30. Hierfür wurden jeweils 10 µL injiziert und ein Fluss von 0,4 mL/min

gewählt. Der UV Detektor wurde auf die Wellenlängen 200 nm und 205 nm eingestellt.

2.4.3 Bestimmung der Primärelimination von Pregabalin mittels HPLC-MS

Bei der Bestimmung der Primärelimination von PB wurde eine Kalibrierreihe (0,0977 mg/L bis 100 mg/L) aus einer 100 mg/L Stammlösung hergestellt. Anschließend erfolgte eine Bestimmung des linearen Messbereiches mit einem HPLC-MS-Messsystem (Agilent Technologies Serie 1100, Bruker Daltonic Esquire 6000^{plus} mit Ionenfalle). Die Einstellungsparameter sind in Tabelle 6 zusammengefasst. Für PB wurde ein linearer Messbereich von 0,0195 mg/L bis 2,50 mg/L ermittelt. Infolgedessen müssen die Photoabbauproben für die Bestimmung der Primärelimination von PB und die Kalibrierreihe verdünnt werden (25 µL auf 1000 µL H₂O). Für die acht minütige Methode wird jeweils 5 µL der Verdünnung injiziert. Die Auftrennung erfolgt mit einer NUCLEODUR-Phenyl-Hexyl-Säule (125 mm x 3 mm, 3 µm Partikelgröße). Für die chromatographische Trennung wird ein isokratischer Eluent aus 10 mM/L Ammoniumacetat / MeOH im Verhältnis 70:30 und einem Fluss von 0,4 mL/min gewählt.

Tabelle 6. Darstellung der verwendeten MS-Parameter bei der Primärelimination von PB

MS-Parameter-Einstellung	
Injektionstechnik	EIS
Ionen-Detektion-Modus	positiv
Kapillarspannung	3,6 KV
Skimmerspannung	40 V
Nebulizer	30 psi
Fließgeschwindigkeit des Trockungsgases	600 L/h
Gastemperatur	350 °C
Massenbereich	90 m/z bis 350 m/z
Abtastrate (Scangeschwindigkeit)	200 ms
Kollisionsgas	Helium

2.5 Abbau-Kinetik der TP

Bei einer photochemischen Reaktion findet eine strukturelle Veränderung der Substanz statt (siehe 2.2.1). Aufgrund der strukturellen Veränderung unterscheiden sich die physikalisch-chemischen Eigenschaften der TP im Vergleich zur Muttersubstanz. Diese wiederum können mit einem chromatographischen Trennsystem bestimmt werden (siehe 2.4.1). Folglich entstehen im Chromatogramm neue Peaks. Die Auftrennung der TP ist von der Stärke der Wechselwirkung zwischen der stationären und der mobilen Phase abhängig. Somit ist eine Bestimmung der Retentionszeit möglich, welche eine Unterscheidung der verschiedenen TP zulässt. Damit eine bessere Auftrennung der TP erreicht wird, wird ein HPLC-MS System verwendet. Da die gebildeten TP unbekannt sind, wird auch von einer Non-Target-Analytik gesprochen. Die Methodik und die verwendeten MS-Parameter werden in den folgenden Kapiteln beschrieben.

2.5.1 Bestimmung der Abbau-Kinetik von Levetiracetam mittels HPLC-MS

Bei der Bestimmung der Kinetik der TP von LEV wird das HPLC-MS-Messsystem der Firma Agilent-Bruker verwendet. Im Unterschied zur beschriebenen Methode in Abschnitt 2.4.3 werden die Proben unverdünnt in das MS-System injiziert und die Auftrennung der TP erfolgt mithilfe eines Gradienten, welcher in der Tabelle 7 aufgeführt ist. Der angewandte Gradient der LEV Methode ist adaptiert und um 2 min in der Haltephase bei 90 % MeOH eingekürzt. Der Massenbereich wird von 90 m/z bis 1000 m/z festgelegt.

2.5.2 Bestimmung der Abbau-Kinetik von Pregabalin mittels HPLC-MS

Bei der Bestimmung der Kinetik der TP von PB wird das HPLC-MS-Messsystem der Firma Agilent-Bruker verwendet und ist mit der Methodik in Abschnitt 2.5.1 vergleichbar sowie adaptiert. Diese unterscheidet sich im eingestellten Massenbereich von 90 m/z bis 500 m/z und im verwendeten Lösungsmittelgradienten (siehe Tabelle 7).

Tabelle 7. Darstellung der verwendeten Lösungsmittelgradienten von PB

Zeit	Anteil A 10 mmol/L Ammoniumacetat	Anteil B MeOH
0,0 min	90 %	10 %
4,0 min	90 %	10 %
15,0 min	10 %	90 %
21,0 min	10 %	90 %
25,0 min	90 %	10 %
28,0 min	90 %	10 %

2.5.3 Auswertungsmethoden

In diesem Abschnitt wird das Vorgehen bei der Bestimmung der TP beschrieben und die Auswahlkriterien werden erläutert.

Im ersten Schritt findet ein Screening nach potentiellen Massenspuren statt. Dieses erfolgt mit der Software (DataAnalysis 4.0 SP 5). Hierbei wird das „*Total Ion Chromatogram*“ (TIC) eines Experiments zu den Zeitpunkten 0 min, 8 min, 16min, 32 min, 64 min und 128 min betrachtet. Bei einer visuellen Überschreitung des Grundrauschens wird das „*Extracted Ion Chromatogram*“ (EIC) gebildet. Anschließend erfolgt mit Hilfe des EIC ein Vergleich zwischen den unterschiedlichen Zeitpunkten des Experiments. Ist eine visuelle Veränderung der Peakfläche mit steigender Bestrahlungszeit erkennbar, gilt dieses m/z vorerst als TP.

Zur Plausibilitätsprüfung werden die ausgewählten m/z in verschiedenen Blindwerten untersucht. Ist das m/z im Blindwert bestimmbar oder eine visuelle Veränderung der Peakfläche zwischen den Blindwerten erkennbar, gilt das m/z als eine Verunreinigung im LC-MS-MS-System.

Im zweiten Schritt wird mit der Software (QuantAnalysis 2.0 SP 5) eine Auswertungsmethode geschrieben. In dieser Methode werden die m/z und die dazu gehörigen Retentionszeiten angegeben. Anschließend werden die Peakflächen mit der QuantAnalysis integriert. Im letzten Schritt wird ein Verhältnis zwischen dem TP und der Muttersubstanz gebildet. Als Auswertungskriterium wird ein Verhältnis von 2 % festgelegt. Für die toxikologische Betrachtung wird das empfohlene Verhältnis von größer oder gleich 10 % (Escher und Fenner, 2011) gewählt und mit einem Sicherheitsfaktor von zwei ausgewertet.

3 Ergebnisse

Es wurden unterschiedliche TP bei LEV und PB bestimmt. Dies bildet neben der Primärelimination einen Schwerpunkt im folgenden Ergebnisteil.

3.1 Levetiracetam

In diesem Abschnitt werden die jeweiligen Messwerte der NPOC-Bestimmung, Primärelimination sowie die Kinetik von LEV in den jeweiligen Unterkapiteln 3.1.1, 3.1.2 und 3.1.3 dargestellt. Die Photoabbauproben von LEV zeigen keine sichtbare farbliche Veränderung der Reaktionslösung nach der Behandlung mit UV-Licht. Es wird keine signifikante Änderung des pH-Wertes bei LEV festgestellt. In der Abb. 3 wird die Änderung des pH-Wertes in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit dargestellt. Die eingezeichneten Fehlerbalken zeigen die Unterschiede zwischen den unabhängig voneinander durchgeführten Abbauexperimenten.

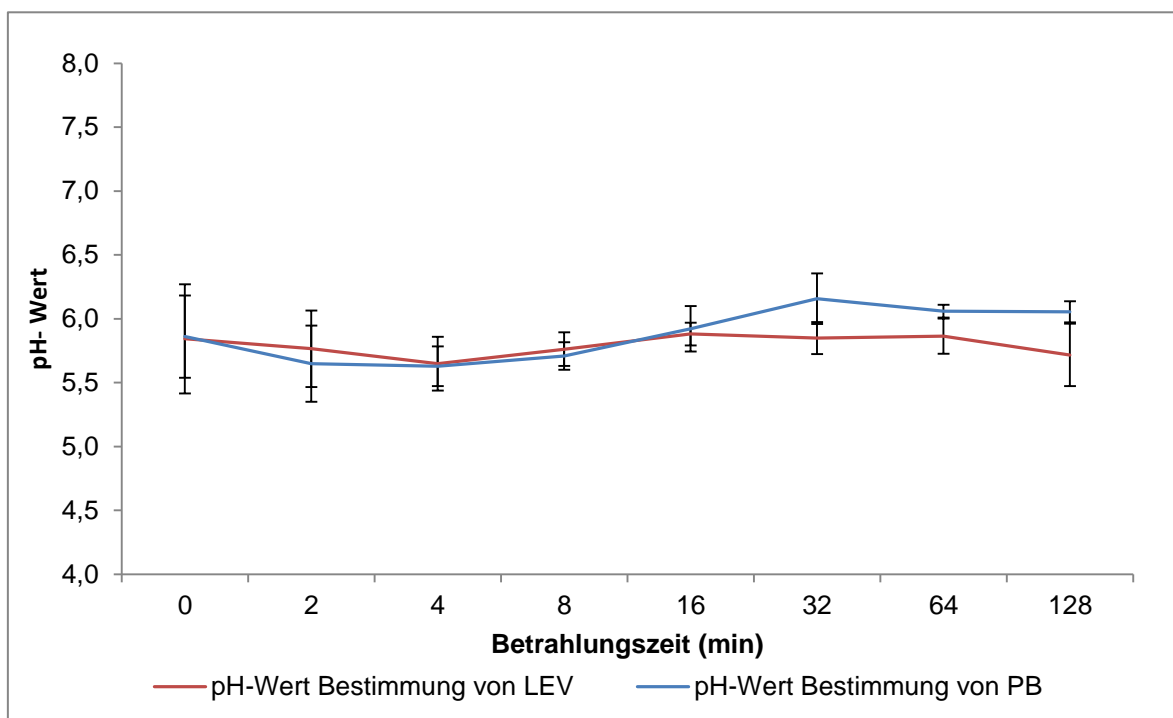


Abb. 3. Grafische Darstellung der Bestimmung des pH-Wertes von LEV und PB

3.1.1 Bestimmung der Mineralisierung mittels NPOC-Messung

In diesem Kapitel werden die Messwerte der NPOC-Bestimmung von LEV in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit in Abb. 4 dargestellt. Die Messwerte unterliegen einer anfänglichen Schwankung um die Startkonzentration (siehe Zeitpunkt 0 min). Bis zur 4. min findet ein Anstieg des NPOC-Gehaltes statt und erreicht ab der 32. min in allen Abbauxperimenten die Startkonzentration. Ab dem Zeitpunkt 64 min nimmt der NPOC-Gehalt mit zunehmender Bestrahlungszeit kontinuierlich ab. Die Rohdaten sind in der Tabelle 11 im Anhang zusammengestellt.

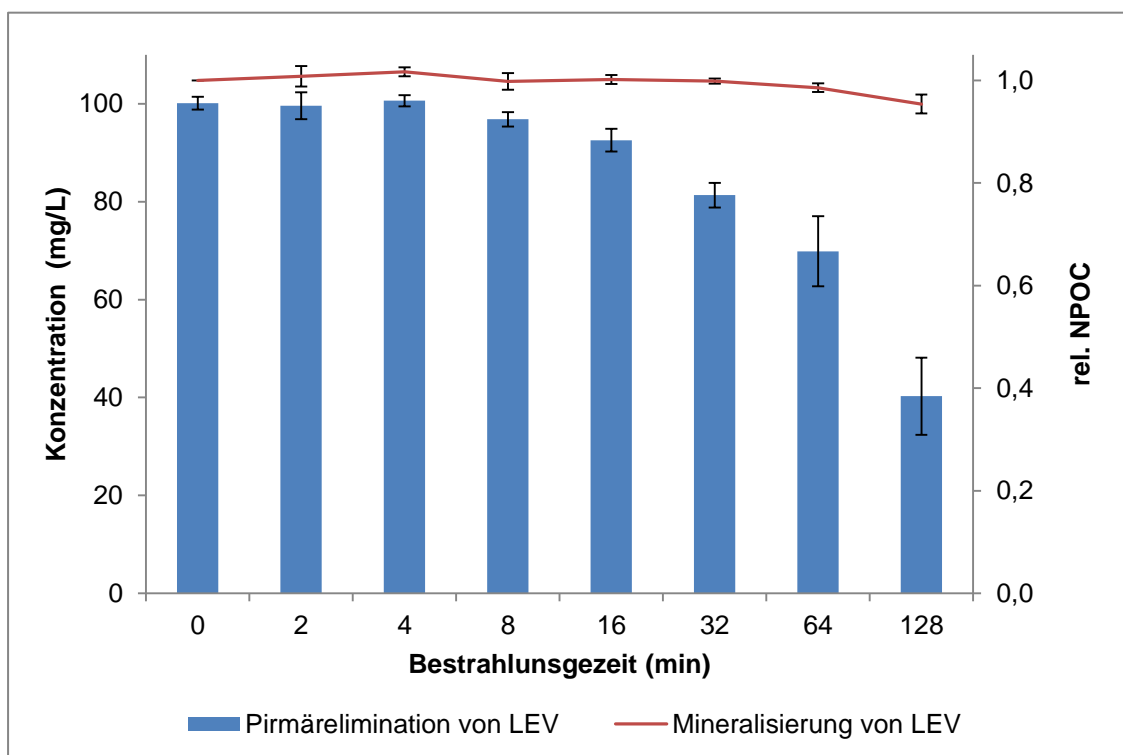


Abb. 4. Grafische Darstellung der Abhängigkeit zwischen der Konzentration und der Mineralisierung, sowie der Bestrahlungszeit von LEV

3.1.2 Bestimmung der Primärelimination mittels HPLC-Messung

In diesem Kapitel wird die Primärelimination von LEV bei einer Wellenlänge von 200 nm in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit grafisch dargestellt. Die Einzelmesswerte aus der Tabelle 15 (im Anhang) bestehen aus Triplikaten. Die Konzentrationen von LEV werden aus den gemessenen Peakflächen rechnerisch ermittelt. Die benötigte Steigung und der benötigte Achsenabschnitt werden aus der Geradengleichung (siehe Anhang Tabelle 8 und Abb. 19) entnommen. Die Messwerte in der Abb. 4 nehmen mit Zunahme der Bestrahlungszeit ab der 8. min ab und der Wert der Standardabweichung steigt. Die Auswertung bei der von

Saravanan et al. (2008) empfohlenen Wellenlänge von 205 nm befindet sich im Anhang (siehe Tabelle 16).

Bei dieser Methode wird eine Nachweisgrenze von 2,08 mg/L und eine Bestimmungsgrenze von 5,71 mg/L ermittelt.

3.1.3 Bestimmung der Abbau-Kinetik

In diesem Ergebnisteil werden die Bildung von TP in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit grafisch in Abb. 5, Abb. 6, Abb. 7, Abb. 8 und Abb. 9 dargestellt. In Hinblick auf die spätere Interpretation wird eine 5 %-Linie eingezeichnet. Es werden 35 potentielle TP, welche sich in 24 verschiedene m/z aufteilen, bestimmt. Von den 35 TP überschreiten 12 die gesetzte 5 % Grenze und insgesamt nimmt die relative Konzentration bei 34,3 % der bestimmten TP im Experiment ab. Die Verteilung zwischen der Ab- und Zunahme des molekularen Gewichtes der TP liegt bei 1:1.

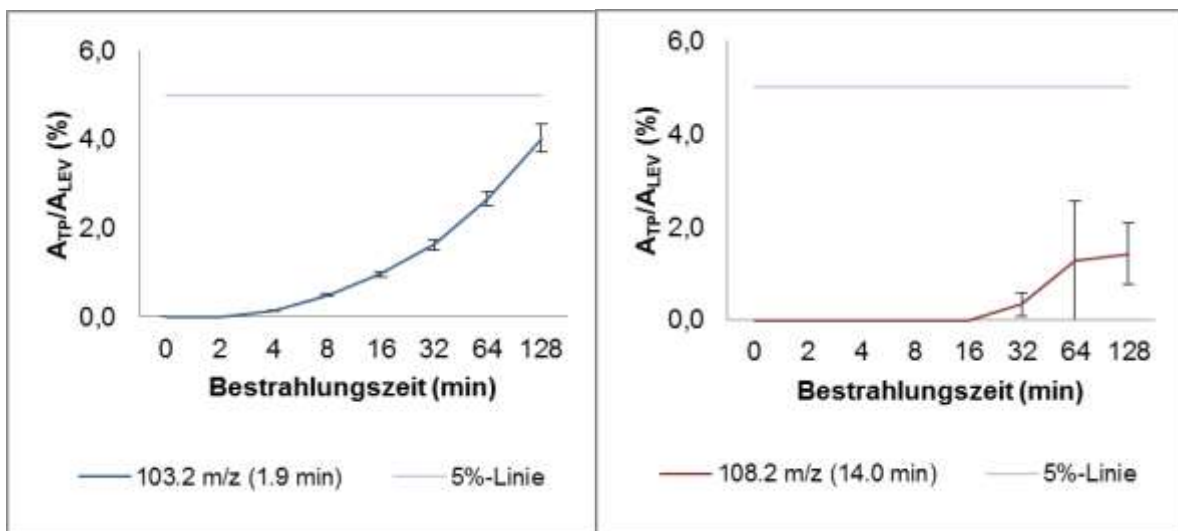


Abb. 5. Grafische Darstellung der TP von LEV in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit I

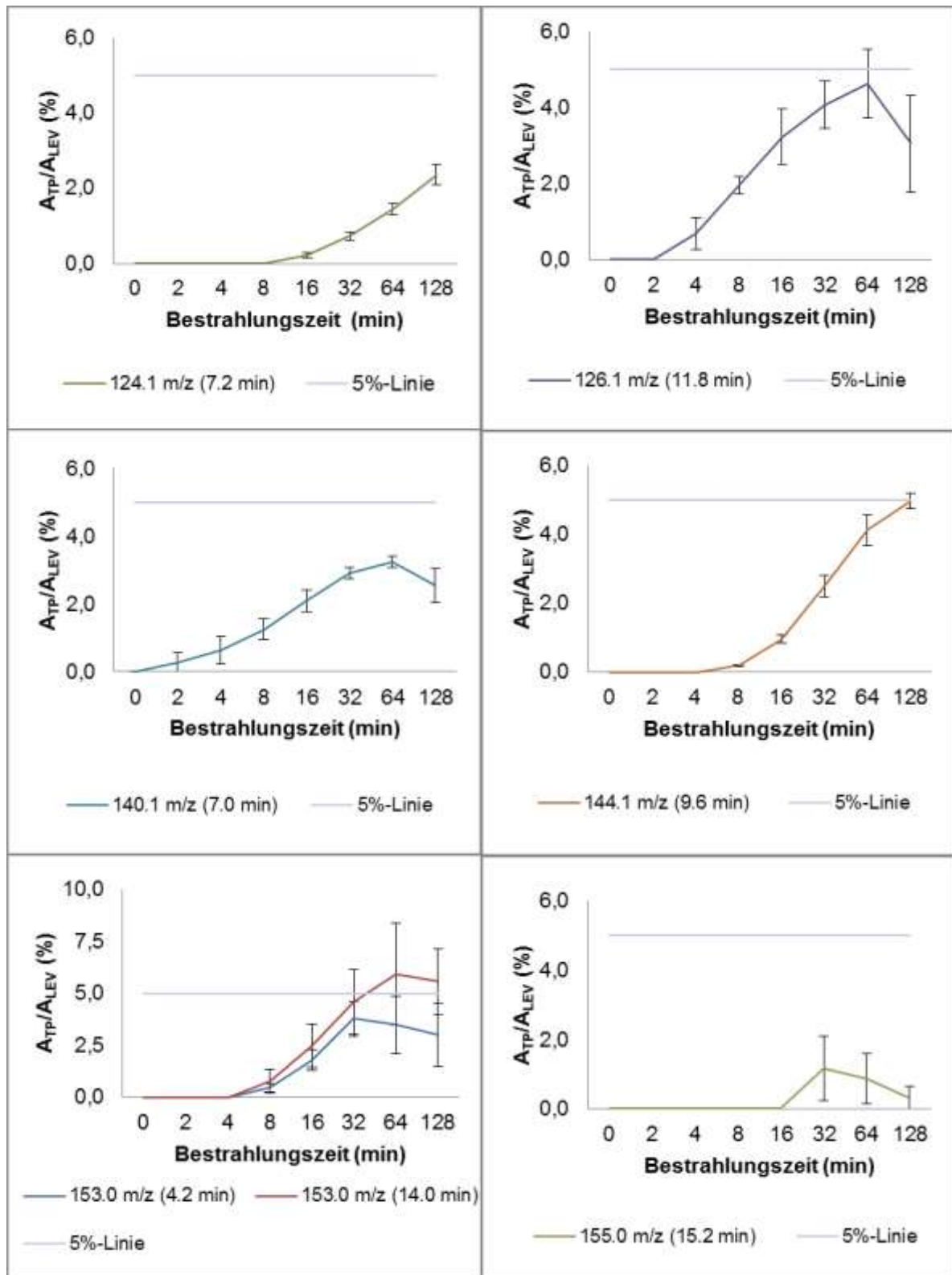


Abb. 6. Grafische Darstellung der TP von LEV in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit II

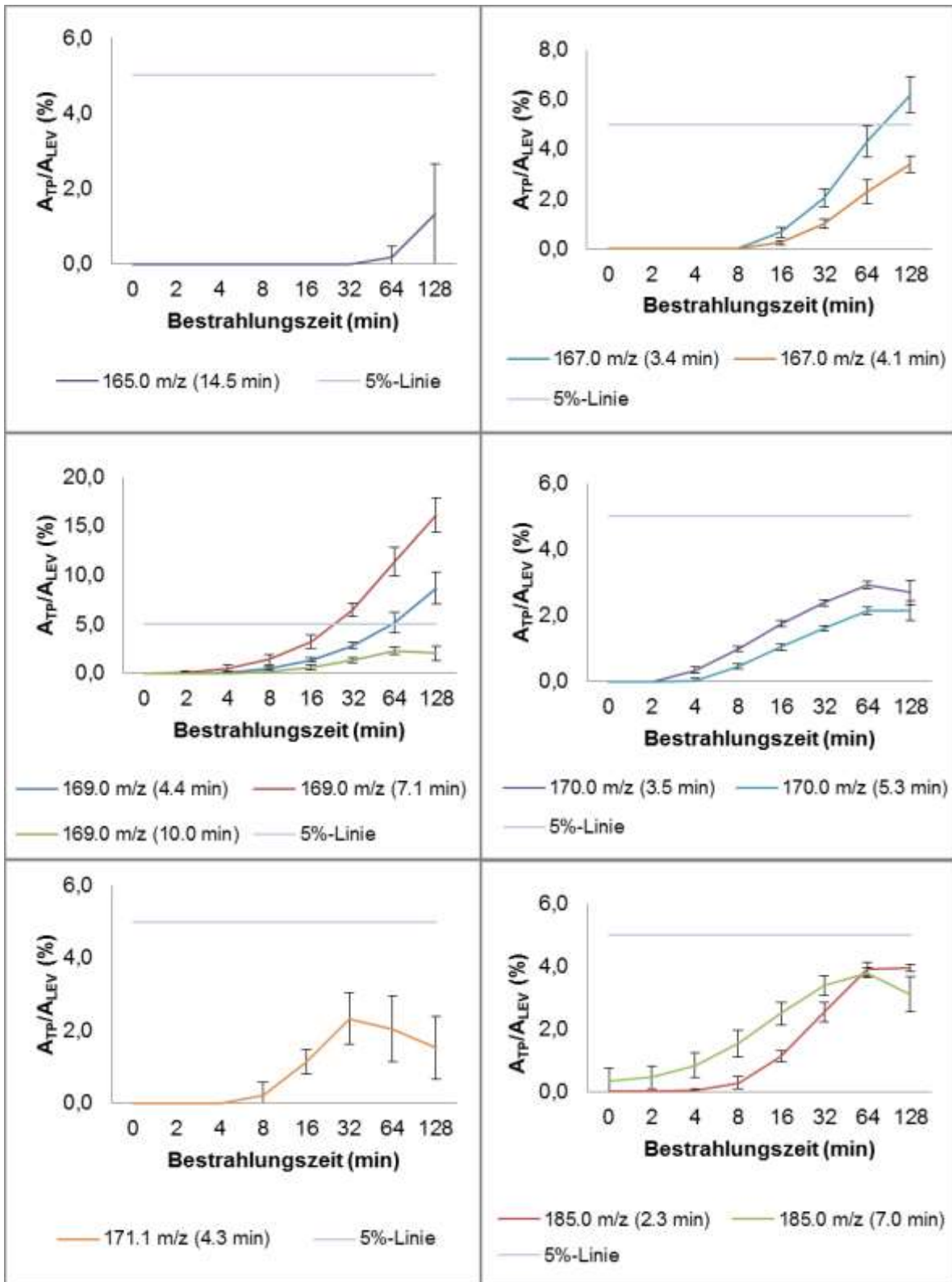


Abb. 7. Grafische Darstellung der TP von LEV in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit III

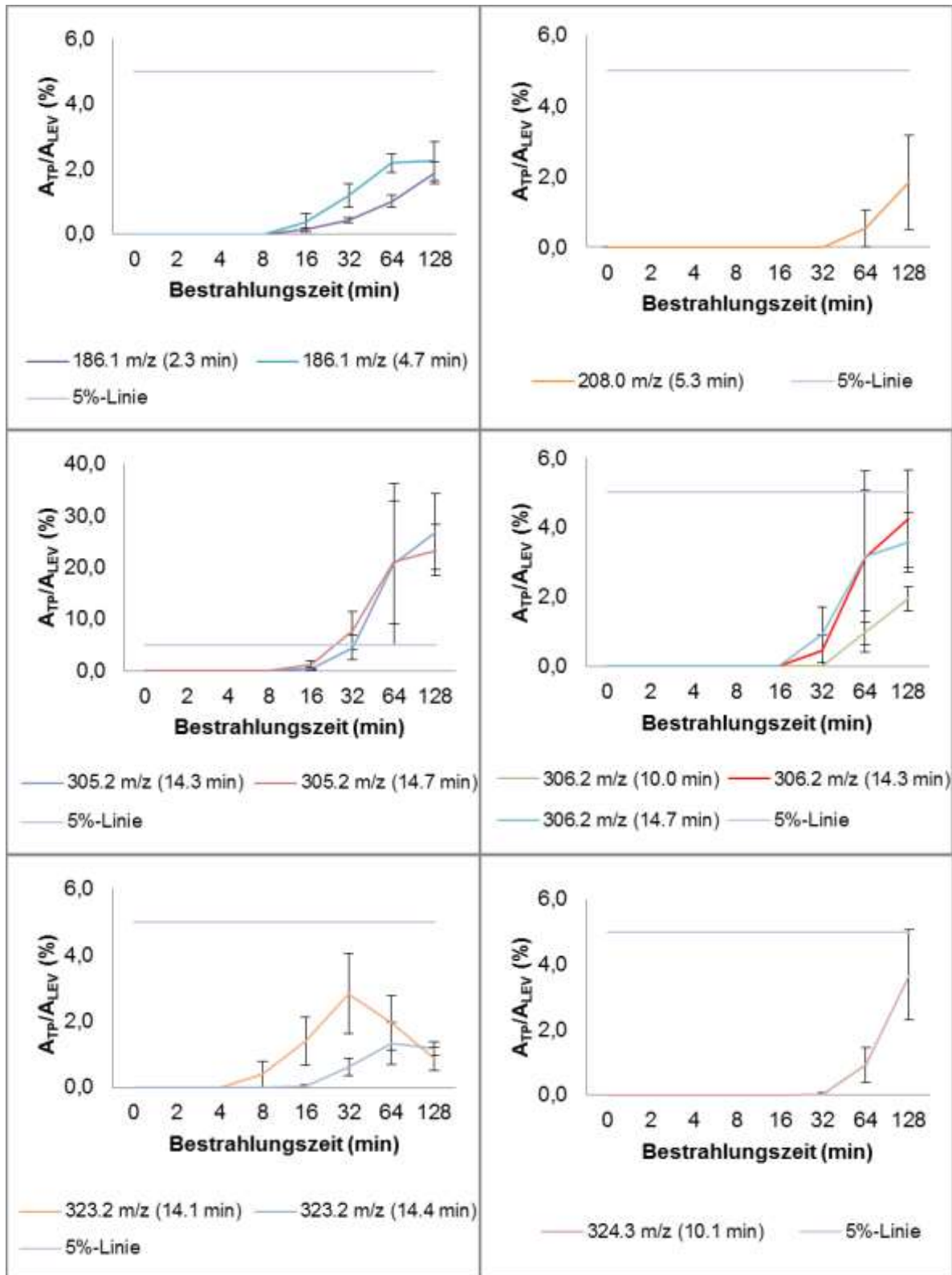


Abb. 8. Grafische Darstellung der TP von LEV in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit IV

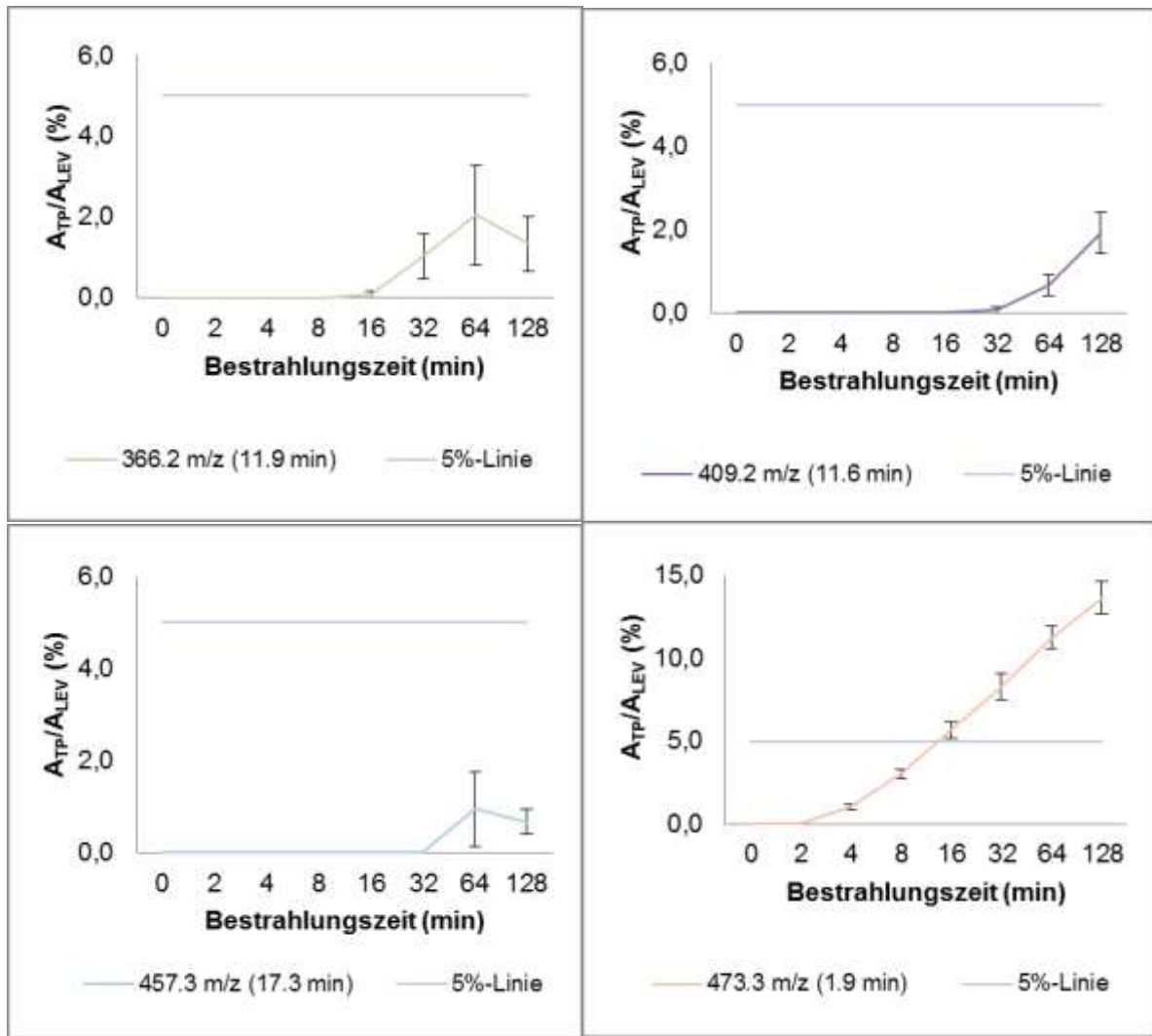


Abb. 9. Grafische Darstellung der TP von LEV in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit V

3.2 Pregabalin

In diesem Abschnitt werden die Messwerte der DOC-Bestimmung, die Primärelimination sowie die Kinetik von PB in den Unterkapiteln 3.2.1, 3.2.2 und 3.2.3 dargestellt. Die Photoabbauproben von PB zeigen keine sichtbare farbliche Veränderung der Reaktionslösung nach der Behandlung mit UV-Licht. Es wird keine signifikante Änderung des pH-Wertes bei PB festgestellt (siehe Abb. 3).

3.2.1 Bestimmung der Mineralisierung mittels DOC-Messung

In diesem Abschnitt werden die DOC-Messwerte in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit grafisch in der Abb. 10 dargestellt. Hierbei wird ein relatives Verhältnis der Zeitprobe zur Referenzprobe 0 min gebildet. Die Versuchsreihe „UV-Abbau PB 100 mg/L_III“ weist einen groben Einwaagefehler auf und wird in der Abb. 10 nicht berücksichtigt. Die Auswertung dieser Versuchsreihe befindet sich im Anhang (siehe Tabelle 13), ebenso wie eine Zusammenfassung der Rohdaten (siehe Tabelle 12). Der DOC-Gehalt (siehe Abb. 10) nimmt bis zur 2. min zu. Anschließend schwankt der DOC-Gehalt bis zur 32. min um die Startkonzentration und nimmt ab der 64. min mit zunehmender Bestrahlungszeit ab, gleichzeitig steigt der Wert der Standardabweichung. Eine Tendenz der Abnahme des DOC-Gehaltes zeichnet sich ab der 16. min ab.

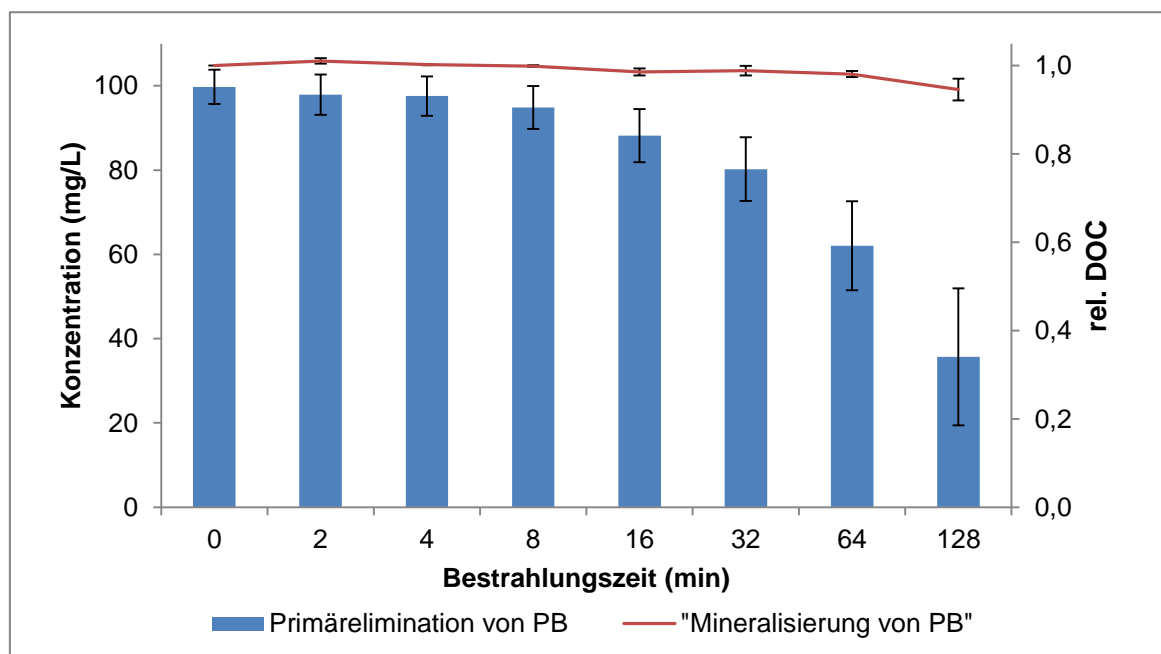


Abb. 10. Grafische Darstellung der Abhängigkeit zwischen der Konzentration und der Mineralisierung, sowie der Bestrahlungszeit von PB

3.2.2 Bestimmung der Primärelimination mittels HPLC-MS

In diesem Abschnitt wird die Abhängigkeit der Primärelimination von PB zur Bestrahlungszeit in der Abb. 10 dargestellt. Die Einzelmesswerte bestehen aus Duplikaten (siehe Anhang Tabelle 17). Die Konzentrationen von PB werden aus den gemessenen Peakflächen rechnerisch ermittelt. Aus der Geradengleichung (siehe Anhang Tabelle 10 und Abb. 21) werden der zur Berechnung benötigte Achsenabschnitt und die Steigung entnommen. Die erste Messreihe wird mit der oberen Kalibriergeraden und die zweite Messreihe mit der unteren ausgewertet. Die Wiederfindung beträgt $100 \pm 0,47 \%$. Eine Abnahme der Messwerte (siehe Abb. 10) wird mit Zunahme der Bestrahlungszeit ab der 8. min festgestellt und der Wert der Standardabweichung steigt. Die Versuchsreihe „UV-Abbau PB 100 mg/L_III“ weist einen groben Einwaagefehler auf und wird in der Auswertung nicht berücksichtigt. Diese Auswertung der Versuchsreihe befindet sich im Anhang (siehe Tabelle 18).

3.2.3 Bestimmung der Abbau-Kinetik

In diesem Ergebnisteil werden die Bildung von TP in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit grafisch in Abb. 11, Abb. 12, und Abb. 13 dargestellt. Im Hinblick auf die spätere Interpretation wird eine 5 % Linie eingezeichnet. Es werden 16 potentielle TP, welche sich in 16 verschiedenen Massenspuren aufteilen, bestimmt. Von diesen überschreiten vier die gesetzte 5 % Grenze und insgesamt nimmt die relative Konzentration bei 31,3 % der bestimmten potentiellen TP im Experiment ab. Die Verteilung zwischen der Ab- und Zunahme des molekularen Gewichtes der TP liegt bei einem Viertel zu drei Viertel.

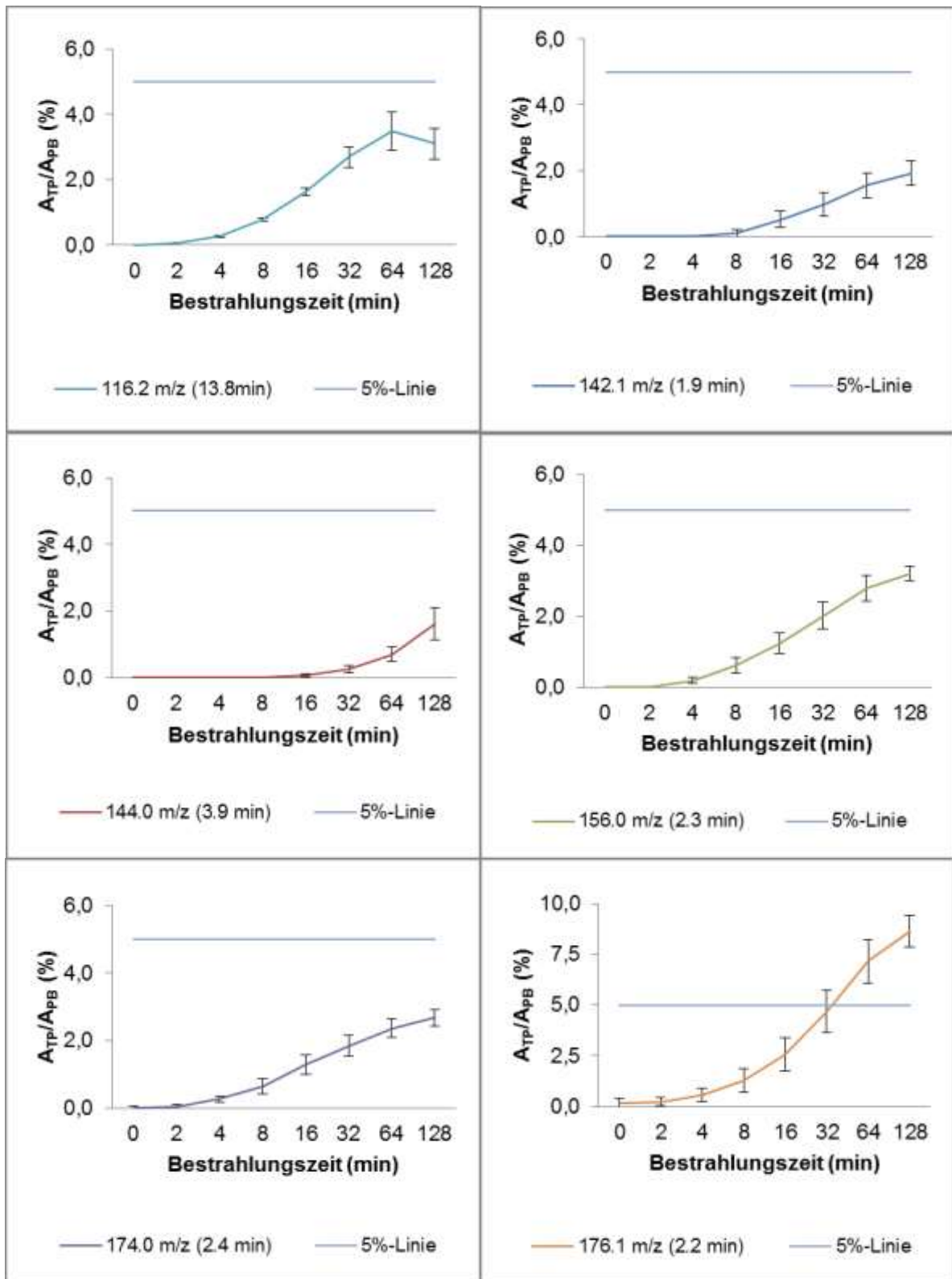


Abb. 11. Grafische Darstellung der TP von PB in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit I

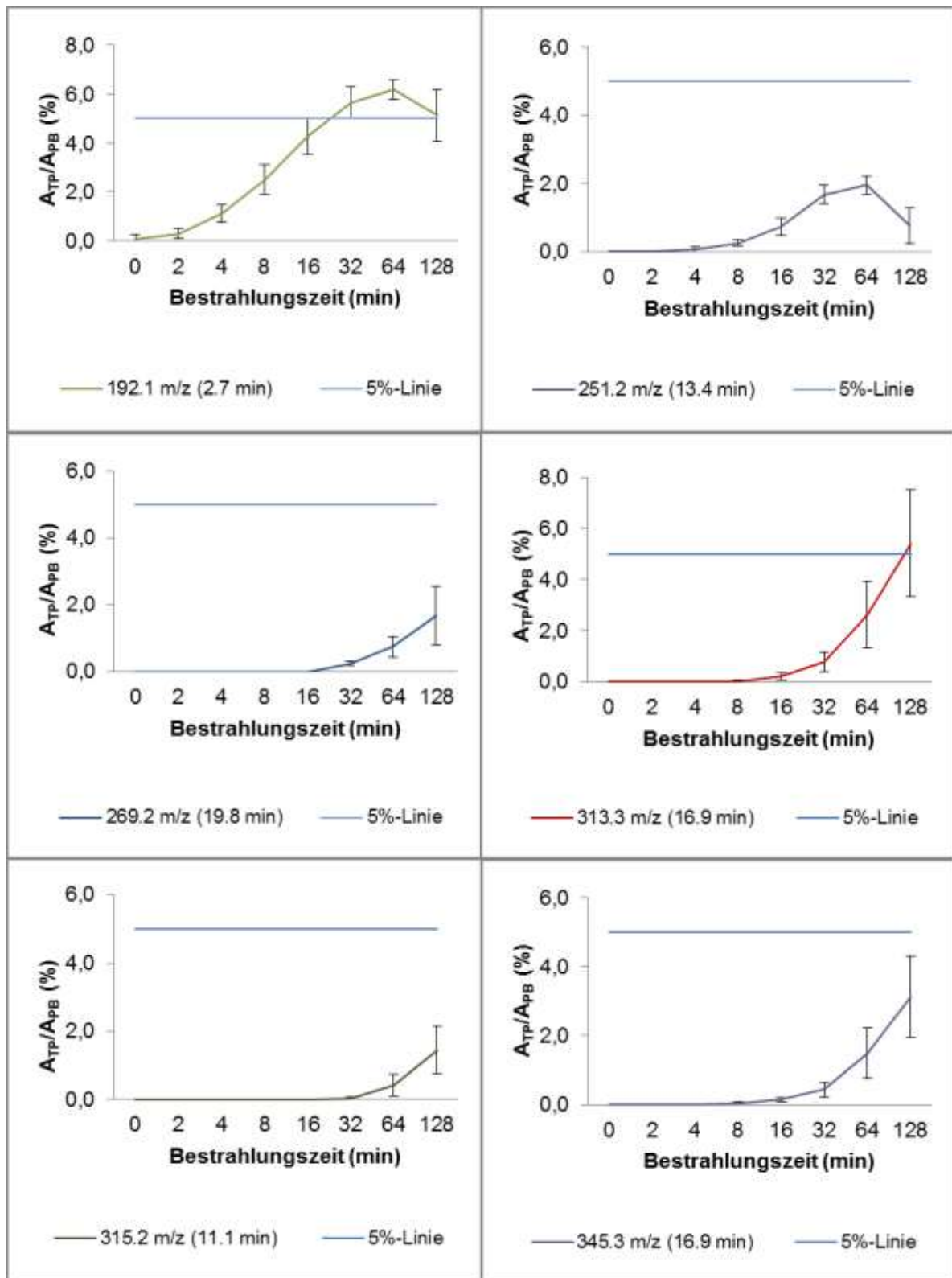


Abb. 12. Grafische Darstellung der TP von PB in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit II

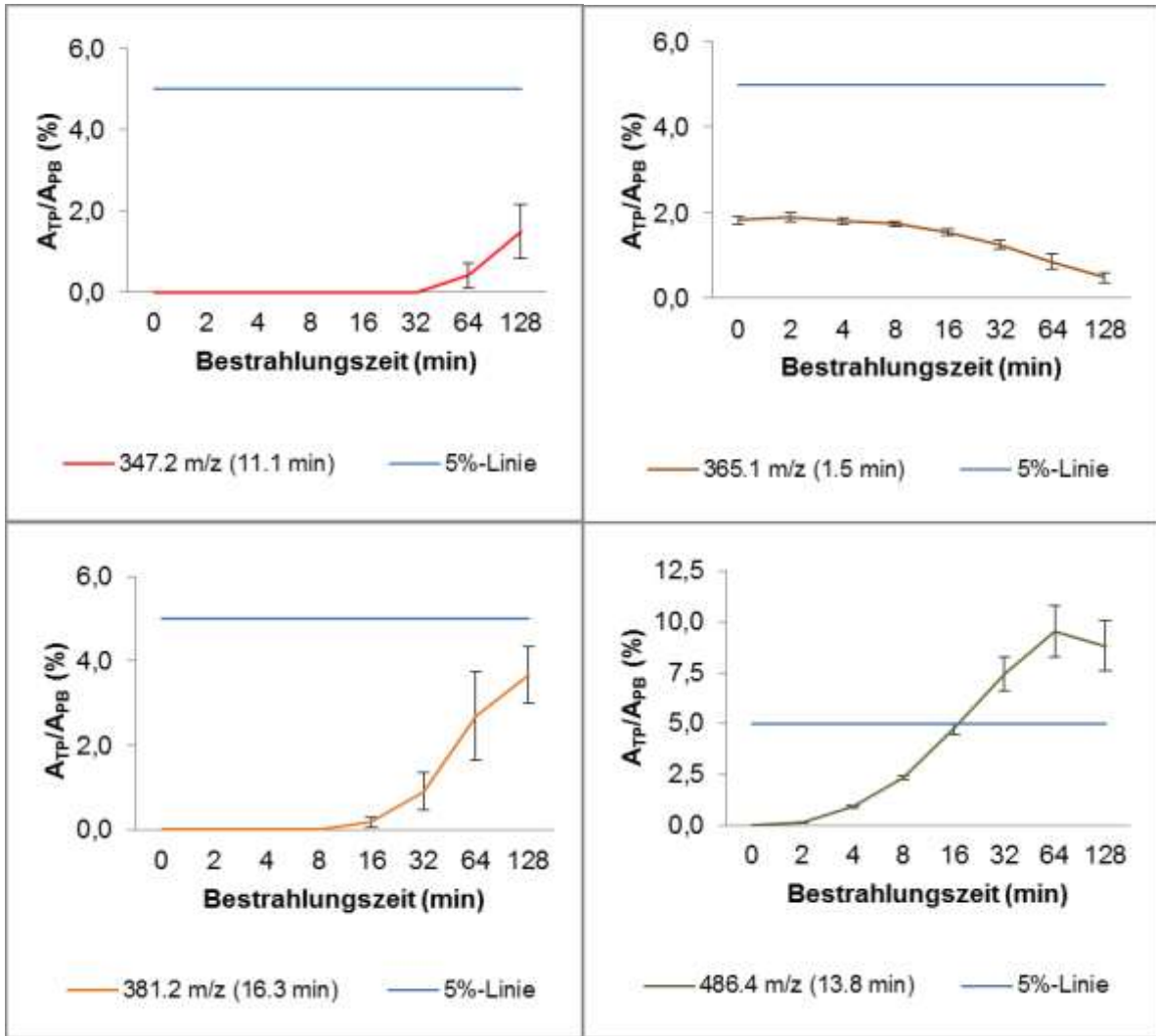


Abb. 13. Grafische Darstellung der TP von PB in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit III

4 Diskussion

4.1 Levetiracetam

4.1.1 Auswirkung der photolytischen Behandlung auf die Konzentration

Im Vergleich zur Mineralisierung ist bei der Primärelimination von LEV eine Abnahme der ermittelten Konzentration durch die Einwirkung von UV-Licht zu verzeichnen. Nach einer Bestrahlungszeit von 128 min mit UV-Licht kann die eingesetzte Konzentration von LEV auf $40,26 \pm 7,88$ mg/L gesenkt werden. Dies entspricht einer Elimination von LEV um $59,8 \pm 7,9$ %. Im Vergleich dazu nimmt der Gehalt des organisch gebundenen Kohlenstoffes um $4,6 \pm 1,9$ % ab. Dies lässt den Rückschluss zu, dass die Primärelimination von LEV in eine Umwandlung zu TP erfolgt.

In der grafischen Darstellung (Abb. 4) der Mineralisierung von LEV wird deutlich, dass LEV weniger zu Kohlenstoffdioxid und Wasser umgesetzt wird, sondern dazu neigt TP (siehe Abb. 14) zu bilden. Es kann eine Beziehung zwischen der Primärelimination von LEV und der Bildung von TP hergestellt werden. Diese Beziehung liefert keinen Rückschluss über die Anzahl der gebildeten TP, sondern zeigt auf, zu welchem Zeitpunkt die TP entstehen. Eine Abnahme der Konzentration von LEV ist nach 8 min zu verzeichnen. Zum selben Zeitpunkt kann ein TP größer 2 % nachgewiesen werden. Die größten Veränderungen finden im Zeitraum zwischen der 32. min und der 64. min statt. In diesem Zeitraum werden die meisten neugebildeten TP größer 2 % bestimmt und die Steigung der 5 % Grenze ist in dem genannten Bereich am größten. Insgesamt erreichen knapp ein Drittel der bestimmten TP die 5 % Grenze.

Bei der Auswertung der Daten muss die Möglichkeit der Na-Adduktbildung in Betracht gezogen werden (siehe 2.4.1). Diese wird bei der Identifikation eine TP von LEV in der Literatur (Helbling et al., 2010) beschrieben. Für die Auswertung bedeutet diese eine Aufspaltung der Konzentration der TP auf zwei verschiedene m/z (± 22 m/z). Eine Abnahme der Peakfläche ist somit zu verzeichnen. Infolgedessen besteht die Möglichkeit der Nichterfüllung der Auswertungskriterien (siehe 2.5.3) oder beide m/z erfüllen das Kriterium. Es wird angenommen, dass die Gleichgewichtseinstellung der jeweiligen Addukt-Verbindung dem Verhältnis

zwischen der Muttersubstanz und Adduktverbindung entspricht. Somit wird die Peakfläche der TP durch die Addukte um $32,3 \pm 1,9 \%$ reduziert.

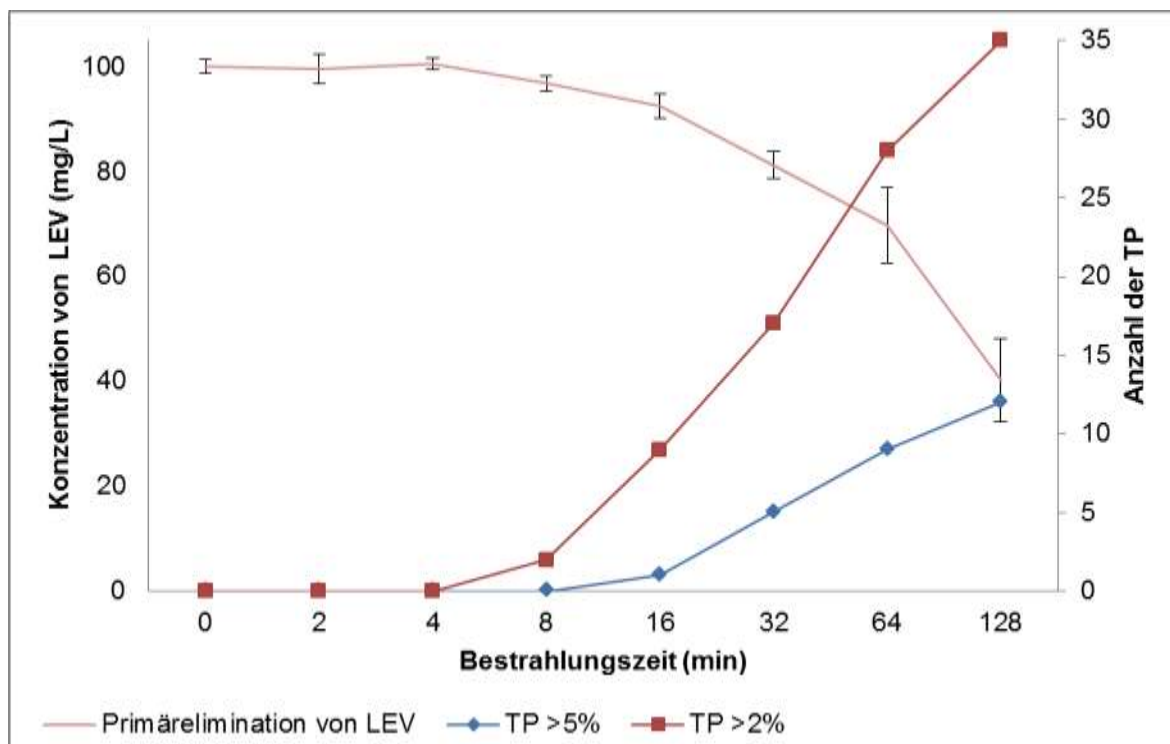


Abb. 14. Grafische Darstellung der Beziehung zwischen der Primärelimination und der TP-Bildung von LEV mit den Grenzen $> 2 \%$ und $> 5 \%$.

Wie die Studie von Chen et al. (2014) zeigt, ist eine Abnahme der Toxizität durch die Photolyse möglich. Dagegen zeigt eine Reihe von anderen Studien eine Zunahme der Toxizität (Calisto et al., 2011, Donner et al., 2013, Petrie, Barden und Kasprzyk-Hordern, 2014), Mutagenität (Calisto et al., 2011) sowie Kanzerogenität (Calisto et al., 2011) durch die TP-Bildung.

Aus den oben genannten Gründen müssen weitere Forschungen in Bezug auf die Toxizität der TP, welche die 5 % Grenze überschreiten, erfolgen. Auf der Grundlage der Abb. 14 ist eine separate toxikologische Untersuchung der Zeitpunkte 32 min, 64 min und 128 min zu empfehlen. Letzteres wird zurzeit im „Institut für nachhaltige Chemie und Umweltchemie“ erforscht, damit eine abschließende Beurteilung über die Umweltrisikobewertung der UV-Abbau-Technik und ihren späteren Einsatz in der vierten Reinigungsstufe getroffen werden kann.

Bei Vergleich der eigenen Ergebnisse ($59,8 \pm 7,9 \%$) mit der Studie von Kovalova et al. (2013) (0 % bis 17 %) wurde Abbau der Muttersubstanz erreicht. Es wird davon ausgegangen, dass in der Studie ein reiner UV-C-Strahler mit der Wellenlänge vom 254 nm verwendet wurde. Folglich findet in der Studie keine

direkte Photolyse statt (siehe Bedingung in 2.2.1). Das Absorptionsmaximum von LEV liegt bei 205 nm. Bei der eigenen Studie wurde ein UV-Quelle verwendet, welche den Wellenbereich von 200 nm bis 600 nm abdeckt und somit liegt das Absorptionsmaximum von LEV im Bereich der Strahlungsquelle. Darüber hinaus sind die erzielten Ergebnisse mit den Ergebnissen der Ozonbehandlung in der Literatur vergleichbar. Eine UV-Bestrahlung von ca. zwei Stunden entspricht 1 g O₃/g DOC (Lee et al., 2014). Neben der Ozonbehandlung können diese mit den Ergebnissen der Pulveraktivkohle mit anschließender Ultrafiltration verglichen werden. Bei diesem Verfahren werden bis zu 97 % der Muttersubstanz aus dem Abwasser entfernt (Margot et al., 2013). Im Gegensatz zur UV-Behandlung entstehen bei diesem Verfahren keine TP.

Der Vergleich zu CBZ zeigt bei der photolytische Behandlung mit UV-Licht eine Elimination unter 5 % (Kovalova et al., 2013, Rivera-Utrilla et al., 2013). Andere Studien berichten von bis zu 23 % mit einem UV-C-Strahler (254 nm) (De la Cruz, N et al., 2012). Die beste Vergleichbarkeit zeigt die Studie von Chiron, Minero und Vione (2006). In dieser wird zum einem dieselbe UV-Strahlungsquelle (TQ 150 von Heraeus) verwendet und zum anderen eine höhere Wirkstoffkonzentration eingesetzt. Die Unterschiede zur eigenen sind die Zugabe von Chlor / Natriumchlorid und Eisen(III) sowie die Verwendung von Pyrexglas (vgl. 2.2.1). Hierbei können insgesamt zwölf TP bestimmt werden von denen sechs TP durch die direkte Photolyse entstehen. Bei der kinetischen Untersuchung konnte Acridin als ein TP (10 % bezogen auf die Startkonzentration der Muttersubstanz) von CBZ nachgewiesen werden. Dieses TP ist als mutagenen und karzinogenen Substanzen bekannt und entsteht bei der photolytischen Behandlung (Chiron, Minero und Vione, 2006). In dieser Studie werden eine Elimination von >60 % erreicht (Mohapatra et al., 2014). Diese Erkenntnis lässt den Rückschluss zu, dass die TQ 150 als UV-Strahlungsquelle für den Abbau geeigneter ist als ein reiner UV-C-Strahler (254 nm).

4.1.2 Einfluss der UV-Lichtemission auf die strukturelle Veränderung

Aufgrund der unterschiedlichen physikalischen / chemischen Eigenschaften der TP und der Stärke der Wechselwirkung mit der stationären / mobilen Phase, können diese in unterschiedliche Zeitcluster eingeordnet werden. Die Polarität nimmt mit jedem weiteren Zeitcluster ab. Bei der Betrachtung können gleiche m/z in verschiedene Zeitcluster oder mehrfach dem gleichen Zeitcluster zugeordnet werden. Der Grund ist eine Stellungsisomerie der funktionellen Gruppen oder die

gleiche empirische Formel der TP. Letzteres beinhaltet unterschiedliche Strukturen, welche zur selben empirischen Formel führen.

Die Abb. 15 zeigt einen Schwerpunkt beim Zeitintervall 4,0 min bis 4,9 min sowie beim Zeitintervall von 14,0 min bis 14,9 min. In diesem Zeitcluster sind die meisten TP nachweisbar. Im Zeitcluster 10,0 min bis 10,9 min befindet sich die Muttersubstanz von LEV und dient als Referenzwert. Diese Einordnung der TP in Zeitcluster ermöglicht eine Aussage über die Polarität der entstanden TP. Die Zusammenfassung nach dem Kriterium „polar“ und „unpolar“ ergibt, dass 51,4 % der TP polarer und 40,0 % unpolarer als LEV sind.

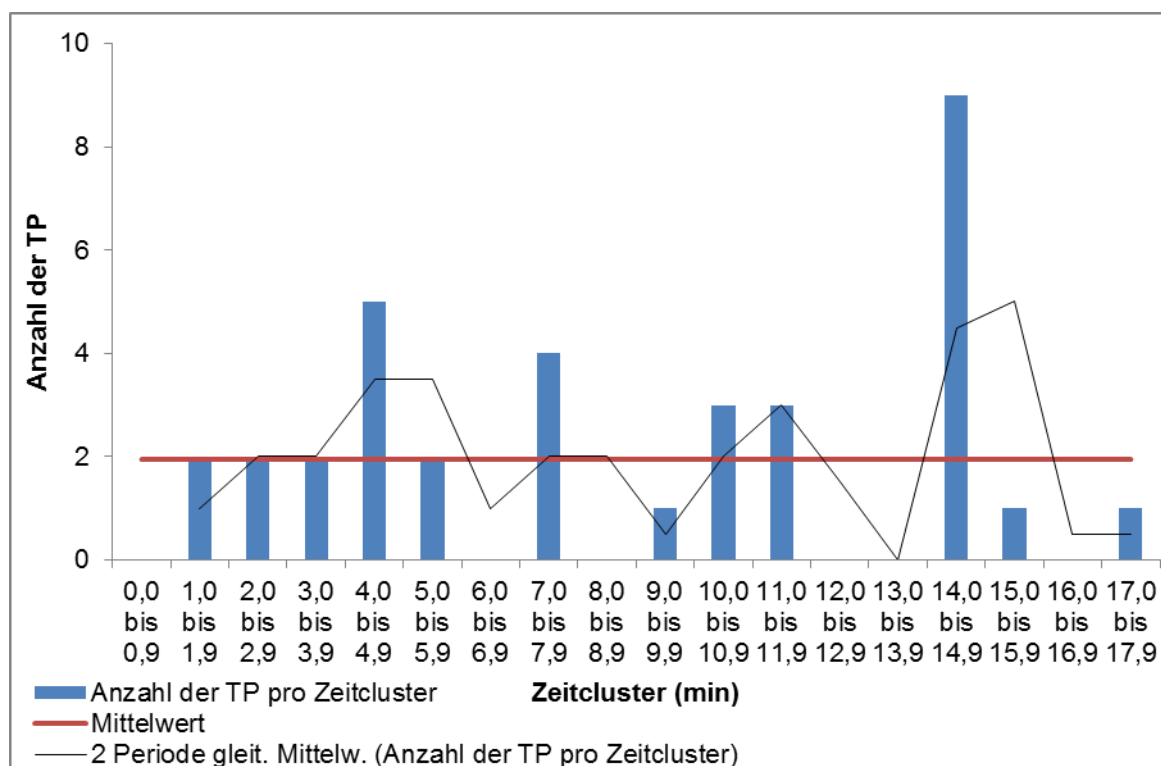


Abb. 15. Einteilung der entstanden TP (> 2 %) von LEV in Zeitcluster von 0,0 min bis 17,9 min

Bei der kinetischen Untersuchung erweisen sich 34,3 % der ermittelten TP als nicht stabil. Es ist davon auszugehen, dass diese als kurzfristige Zwischenprodukte entstehen und zu anderen TP umgesetzt werden, oder eine strukturelle Umlagerung stattfindet. Die Bildung von Zwischenprodukten, welche bei dem Abbau entstehen, werden von Klöpffer (2013) beschrieben. Eine Umsetzung kann zum Beispiel durch die Oxidation von Aldehyd-Gruppen oder Keto-Gruppen zur Carbonsäure erfolgen, welches im Simulationsprogramm EAWAG (Das Wasserforschungs-Institut des ETH-Bereichs, 2014) vorgeschlagen wird. Die Annahme der Oxidation der Muttersubstanz zur Carbonsäure wird durch ältere Studien (Bredereck, Müller und Schönberg, 1958) unterstützt. Diese zeigen die Bildung von Carbonsäure durch photochemische Oxidationsprozesse. In dieser Studie kann die beschriebene Reaktion in eine Reihe cyclischer Ketone in

wässrigem Medium nachgewiesen werden. Eine Beispielreaktion für diese Reaktion ist Cyclohexanon zur Capronsäure unter Einwirkung von Licht und Wasser. In der älteren Studie werden Umlagerungsreaktionen von Nitro-Verbindungen unter Einwirkung von Licht nachgewiesen. Zum Beispiel von o-Nitrobenzaldehyd in o-Nitrosobenzoessäure (Bredereck, Müller und Schönberg, 1958, S. 156).

Mit einer hohen Wahrscheinlichkeit findet bei den photolytischen Abbauprozessen mittels UV-Lampe eine einfache bis mehrfachen Hydroxylierung der Substanz statt. Dies gilt sowohl für LEV als auch für PB. Anschließend können diese gebildeten Zwischenprodukte über den oben beschriebenen Abschnitt zur Carbonsäure aufoxidiert werden. Diese funktionelle Gruppe kann im günstigsten Fall abgespalten werden oder es wird Kohlenstoffdioxid aus dem Molekül abgespalten (Das Wasserforschungs-Institut des ETH-Bereichs, 2014).

Der Abbaumechanismus des TP 103,1 m/z (siehe Abb. 16) wird in der Literatur durch ein Hydrolyse-Experimente nachgewiesen wird (Saravanan et al., 2008, G. Seitz und Neubeck, 2012). Eine weitere Möglichkeit liefert das Simulationsprogramm EAWAG (Das Wasserforschungs-Institut des ETH-Bereichs, 2014). Hierbei wird zunächst die Carbonsäureamid-Gruppe der Muttersubstanz hydrolysiert und in einem weiteren Schritt in zwei Moleküle aufgespalten. Das zweite Aufspaltungsprodukt kann als Na-Addukt bestimmt werden.

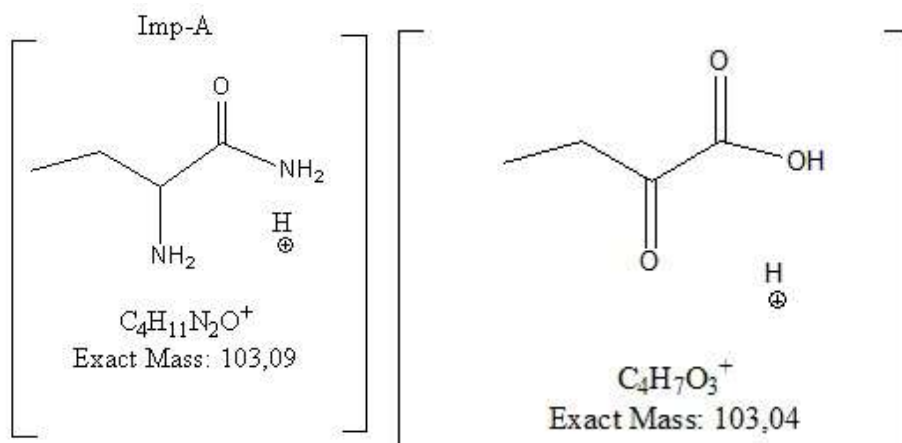


Abb. 16. Strukturvorschlag der Massenspuren 103,1 m/z (links Literatur u. rechts EAWAG)

4.2 Pregabalin

4.2.1 Auswirkung der photolytischen Behandlung auf die Konzentration

Wie bei LEV kann bei PB die Konzentration von PB auf $40,43 \pm 15,91$ mg/L gesenkt werden. Dies entspricht einer Elimination von PB um $60,3 \pm 15,3$ %. Die Mineralisierung von PB ist mit einer Abnahme des organischen Kohlenstoffes $5,4 \pm 2,1$ % in etwa vergleichbar. Folglich können dieselben Rückschlüsse gezogen werden (Vergleiche 4.1.1).

Die Abb. 17 zeigt eine vergleichbare Beziehung zwischen der Abnahme der Primärelimination von PB und der Bildung von TP. Ab der 2. min entsteht das TP 365,1 m/z (siehe Abb. 13). Dieses TP wird durch die Begleitsubstanz Lactose hervorgerufen. Diese Annahme wird durch die Abnahme der relativen Konzentration zur Bestrahlungszeit und mit dem Maximum des TP zum Zeitpunkt 0 min unterstützt. Nach der 8. min entsteht das erste TP größer 2 %. Die im Vergleich zu LEV größte Veränderung findet im Zeitraum zwischen der 32. min und der 128. min statt. In diesem Zeitraum ist die Steigung der 2 % am größten. Folglich können in diesem Zeitraum die meisten neugebildeten TP nachgewiesen werden. Insgesamt erreichen knapp ein Viertel der TP die 5 % Grenze.

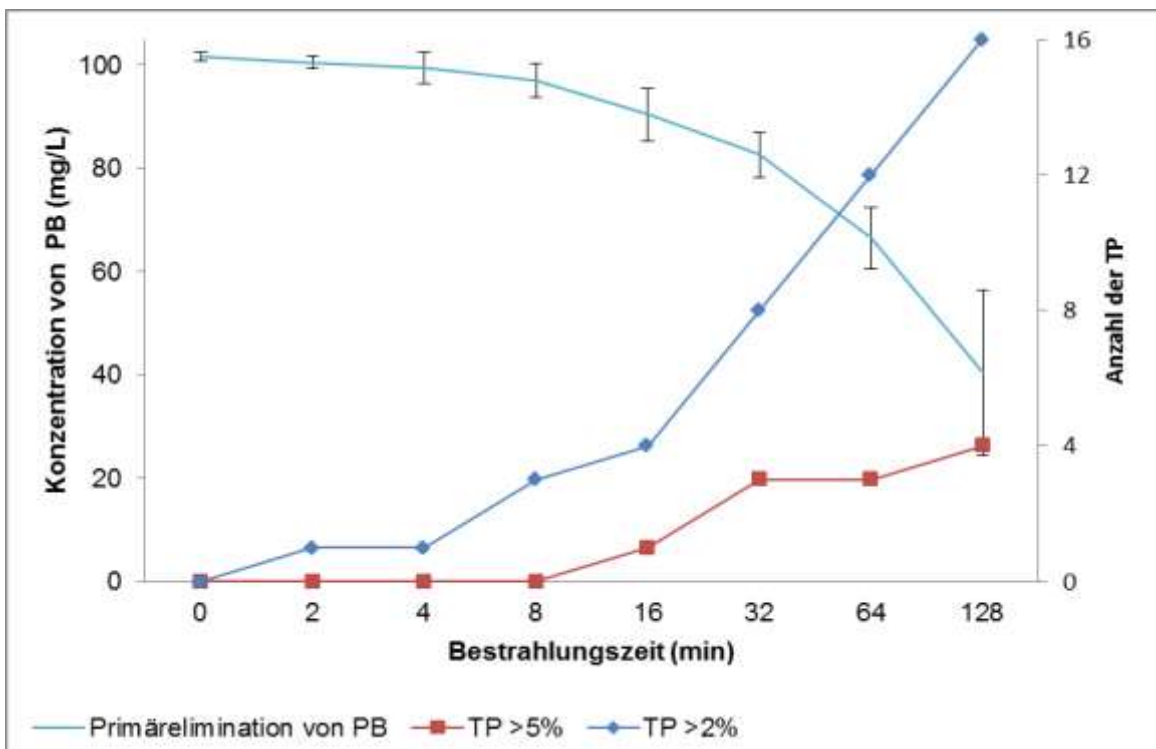


Abb. 17. Grafische Darstellung der Beziehung zwischen der Primärelimination und der TP-Bildung von PB in den Grenzen 2 % und 5 %

Aus den in Abschnitt 4.1.1 genannten Gründen müssen weitere Forschungen in Bezug auf die Toxizität der TP, welche die 5 % Grenze erreichen, erfolgen. Auf der Grundlage der Abb. 17 ist eine separate toxikologische Untersuchung der Zeitpunkte 32 min, 64 min und 128 min zu empfehlen. Letzteres wird zurzeit im „Institut für nachhaltige Chemie und Umweltchemie“ erforscht.

Ein unabhängig durchgeführter Test mit Lactose-Monohydrat unter gleichen Bedingungen zeigt eine Mineralisierung von $16,8 \pm 4,1$ %. Werden diese gewonnenen Erkenntnisse auf das Präparat Lyrica[®] projiziert, wird eine Abnahme des organischen Kohlenstoffes um $1,2 \pm 0,3$ % erzielt. Damit liegt die Abnahme innerhalb der oben angegebenen Toleranzgrenze von PB und bewegt sich im Bereich der Fehlertoleranz des Messgerätes.

4.2.2 Einfluss der UV-Lichtemission auf die strukturelle Veränderung

Für die Vergleichbarkeit mit LEV werden entstandene TP nach dem beschriebenen Schema in Abschnitt 4.1.2 eingeordnet. Die Abb. 18 zeigt einen Schwerpunkt beim Zeitintervall 2,0 min bis 2,9 min. In diesem Zeitcluster sind die meisten potentiellen TP nachweisbar. Im Zeitcluster 6,0 min bis 6,9 min befindet sich die Muttersubstanz von PB. Der Vergleich der Übersicht Abb. 15 mit Abb. 18 zeigt eine größere Anzahl der potentiellen TP bei LEV. Dies hängt zum einen mit der Molekülstruktur von LEV zusammen und zum anderen ist durch den Zusatzstoff Natriumacetat die im Abschnitt 4.1.2 thematisierte Bildung von $[M+Na]^+$ - Molekülonen möglich.

Die Zusammenfassung nach dem Kriterium „polar“ und „unpolar“ ergibt, dass sieben TP polarer als PB und zehn TP unpolarer sind. Aufgrund dieser Erkenntnis kann vermutet werden, dass 43,8 % in der wässrigen Phase verbleiben und 50,0 % in den Klärschlamm übergehen, wobei davon auszugehen ist, dass sieben von den neun gefunden unpolaren TP aus den Begleitsubstanzen herrühren. Letztere Vermutung muss mit empfindlicheren Messgeräten und mit der Reinsubstanz wiederholt sowie bestätigt werden. Bei der kinetischen Untersuchung erweisen sich 31,3 % der ermittelten TP als nicht stabil. In beiden Experimenten (LEV und PB) kann eine Zunahme der Polarität der entstanden TP gezeigt werden. Dies spiegelt sich mit Erkenntnis aus Literaturstudien zu der photolytischen Behandlung wieder (Wols und Hofman-Caris, C H M, 2012).

Die Verwendung des Klärschlammes mit TP zur landwirtschaftlichen Nutzung in Deutschland ist zurzeit nicht gesetzlich geregelt. Die existierende Verordnung

(Klärschlammverordnung (AbfKlärV)) lässt keine Verbringung bei nicht Einhaltung von Grenzwerten zu. Diese Grenzwerte richten sich nach der Konzentration von Schwermetallen, Polychlorierten Biphenylen (PCB), halogenorganischen Verbindungen (AOX) und dem an TCDD-Toxizitätsäquivalenten. Folglich kann nur ein Verbot ausgesprochen werden, wenn eines der genannten Untersuchungsparameter überschritten ist (Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz, 2012).

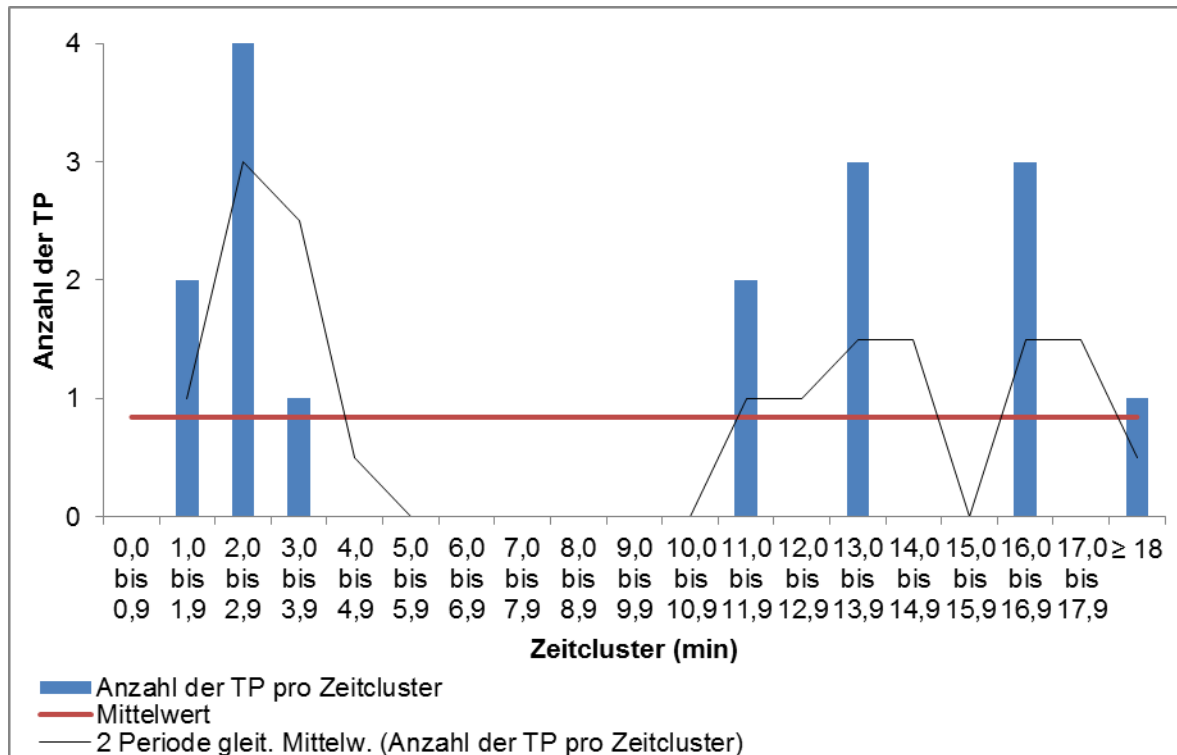


Abb. 18. Einteilung der entstanden TP (> 2 %) von PB in Zeitcluster von 0,0 min bis 18 min

4.3 Fehleranalyse

Die verhältnismäßige Standardabweichung zwischen den unabhängigen Testreihen von 8 % bei LEV (siehe Tabelle 15 im Anhang) und 16 % bei PB (siehe Tabelle 17 im Anhang) ist mit der indirekten photochemischen Reaktion zu erklären. Hierbei absorbiert die Begleitsubstanz die UV-Strahlung und führt somit zur Spaltung der Muttersubstanz (siehe 2.2.1). Für reproduzierbare Ergebnisse muss die Reaktionsschicht, welche sich nahe der Tauchlampe befindet, ständig erneuert werden, damit keine durch Adsorption verursachten Belege an der Außenseite des „Einstrahlungsfensters“ entstehen, die als UV-Filter wirken können. In dieser Schicht ist die Konzentration des photochemischen Produktes am größten (Bredereck, Müller und Schönberg, 1958). Weitere Faktoren wie zum Beispiel die Alterung der Lampe und die Bildung von Belegen durch die Kühlwässern (Algen, Eisenhydroxid usw.) werden von Bredereck, Müller und Schönberg (1958) genannt. Somit spielt die „zufällige“ Durchmischung der Reaktionslösung eine entscheidende Rolle. Dagegen kann der Einfluss des pH-Wertes bezogen auf die Testsubstanzen als vernachlässigbar gering betrachtet werden. Die Einflussgröße der Betriebsstunden der Strahlungsquelle kann als Fehlerquelle vernachlässigt werden. Grund hierfür sind die kurzen Abstände zwischen den Experimenten sowie der kurzen Versuchsdauer von jeweils zwei Stunden. Dieses würde erst bei der Vergleichbarkeit mit zukünftigen Messdaten eine Rolle spielen. Laut Hersteller nimmt die Intensität nach 1000 Betriebsstunden im Wellenbereich zwischen 200 nm bis 280 nm um ein Viertel ab (Heraeus, 2003).

Bei PB kommen Verluste in der Probenvorbereitung bei der Einwaage und beim Filtrationsvorgang in Betracht sowie die Toleranzgrenzen bei der Herstellung der Wirkstoffkapsel.

Die anfängliche Schwankung des organisch gebundenen Kohlenstoffes bei der Bestimmung der Mineralisierung in Abschnitt 3.1.1 und 3.2.1 kann auf die Messunsicherheit des Gerätes zurückgeführt werden.

4.4 Fazit und Ausblick

Die voneinander unabhängig durchgeführten Abbauprobungen belegen ein stabiles Eliminationsverfahren des Wirkstoffes LEV ($59,8 \pm 7,9 \%$), dessen Messwerte sich bei gleichbleibender Ausgangssituation verhältnismäßig gut reproduzieren lassen. Dieses zeigt die ermittelte Standardabweichung bei der Primärelimination sowie vergleichbare Ergebnisse bei den kinetischen Untersuchungen der TP. Im Vergleich dazu können bei PB ($60,3 \pm 15,3 \%$) vergleichbare Ergebnisse erzielt werden. Die Reproduzierbarkeit ist bei PB geringfügig schlechter, welche sich bei den kinetischen Untersuchungen der TP widerspiegelt. Damit kann mit UV-Behandlungen der Eintrag der Muttersubstanzen in das aquatische Ökosystem reduziert werden, dafür werden allerdings unbekannte TP eingeleitet.

Die Photoabbau-Experimente in Millipore-Wasser mit den Wirkstoffen LEV und PB zeigen die Bildung von TP bei einer Behandlung mit UV-Strahlung. Der nächste Schritt würde die Durchführung unter realen Bedingungen sein; zum Beispiel Experimente in Oberflächengewässern, Meerwasser, Abwasser sowie Experimente mit mehreren Antiepileptika. Folglich können Rückschlüsse über den Einfluss verschiedener Matrix-Effekte gewonnen werden, damit der Einfluss der indirekten photochemischen Reaktion durch hohe Nährstoffkonzentration im Abwasser (Klöpffer, 2013, S. 264), Huminstoffe im Oberflächengewässer (Klöpffer, 2013, S. 43, S. 62, S. 223, S. 265), Salinität (Klöpffer, 2013, S. 14, S. 43) und der Einfluss des Abbauverhaltens unter den verschiedenen Antiepileptika mit berücksichtigt wird. Aus den gewonnenen Daten kann eine effektivere Prognose über das Abbauverhalten in der vierten Reinigungsstufe getroffen werden.

Darüber hinaus muss eine Strukturaufklärung der entstandenen TP erfolgen. Bei gleichem m/z und zu unterschiedlichen Retentionszeiten können Stellungsisomere der TP entstanden sein. Welches Isomer am wahrscheinlichsten ist, hängt von der energetischen Stellung ab. Für eine bessere Strukturaufklärung sollte ein hochauflösendes MS verwendet werden. Dieses ermöglicht eine exakte Bestimmung der Atommasse. Die dazugehörige Software kann zusätzlich Vorschläge für die Zusammensetzung der Summenformel liefern. Mit einem H-NMR Spektrometer können Daten für die Stellung der Wasserstoffatome in den Seitenketten ermittelt werden. Diese Daten geben Auskünfte über eventuell enthaltene Doppelbindungen. Zur Unterstützung kann das Simulationsprogramm EAWAG herangezogen werden.

5 Literaturverzeichnis

ANALYTIK JENA, 2007. *Grundlagen* [online]. *Instrumentation und Techniken der Summenparameteranalytik* [Zugriff am: 21. Dezember 2014]. Verfügbar unter: <http://files.vogel.de/vogelonline/vogelonline/files/3765.pdf>

APONET.DE, 2014. *Arzneimitteldatenbank: Lyrica 150mg, ausführliche Informationen (Zusammensetzung) | aponet.de* [online] [Zugriff am: 16. Januar 2015]. Verfügbar unter: http://www.aponet.de/wissen/arzneimitteldatenbank/suchergebnis/arzneimitteldetails/lyrica-150mg_3341950200/zusammensetzung.html#top

BREDERECK, H., E. MÜLLER und A. SCHÖNBERG, Hg., 1958. *Präparative Organische Photochemie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. Organische Chemie in Einzeldarstellungen. ISBN 978-3-662-12757-5.

BRODIN, T., J. FICK, M. JONSSON und J. KLAMINDER, 2013. Dilute concentrations of a psychiatric drug alter behavior of fish from natural populations [online]. *Science (New York, N.Y.)*, **339**(6121), 814-815. ISSN 1095-9203. Verfügbar unter: doi:10.1126/science.1226850

BUDZIKIEWICZ, H. und M. SCHÄFER, 2012. Massenspektrometrie. Eine Einführung. *Massenspektrometrie*.

BUNDESMINISTERIUM DER JUSTIZ UND FÜR VERBRAUCHERSCHUTZ, 2012. *Klärschlammverordnung (AbfKlärV)*. *AbfKlärV*.

CALISTO, V., DOMINGUES, M ROSÁRIO M, G.L. ERNY und V.I. ESTEVES, 2011. Direct photodegradation of carbamazepine followed by micellar electrokinetic chromatography and mass spectrometry [online]. *Water research*, **45**(3), 1095-1104. ISSN 1879-2448. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.watres.2010.10.037

CHALLIS, J.K., M.L. HANSON, K.J. FRIESEN und C.S. WONG, 2014. A critical assessment of the photodegradation of pharmaceuticals in aquatic environments: defining our current understanding and identifying knowledge gaps [online]. *Environmental science. Processes & impacts*, **16**(4), 672-696. ISSN 2050-7895. Verfügbar unter: doi:10.1039/c3em00615h

CHEMAXON, 2014a. *Levetiracetam - chemicalize.org* [online] [Zugriff am: 12. Dezember 2014]. Verfügbar unter: <http://www.chemicalize.org/structure/#!mol=Levetiracetam&source=fp>

- CHEMAXON, 2014b. *pregabalin* - *chemicalize.org* [online] [Zugriff am: 13. Dezember 2014]. Verfügbar unter: <http://www.chemicalize.org/structure/#!mol=Pregabalin&source=fp>
- CHEN, Z.-F., G.-G. YING, Y.-X. JIANG, B. YANG, H.-J. LAI, Y.-S. LIU, C.-G. PAN und F.-Q. PENG, 2014. Photodegradation of the azole fungicide fluconazole in aqueous solution under UV-254: kinetics, mechanistic investigations and toxicity evaluation [online]. *Water research*, **52**, 83-91. ISSN 1879-2448. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.watres.2013.12.039
- CHIRON, S., C. MINERO und D. VIONE, 2006. Photodegradation Processes of the Antiepileptic Drug Carbamazepine, Relevant To Estuarine Waters [online]. *Environmental science & technology*, **40**(19), 5977-5983. ISSN 1520-5851. Verfügbar unter: doi:10.1021/es060502y
- CLARKE, B.O. und S.R. SMITH, 2011. Review of 'emerging' organic contaminants in biosolids and assessment of international research priorities for the agricultural use of biosolids [online]. *Environment international*, **37**(1), 226-247. ISSN 1873-6750. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.envint.2010.06.004
- DAS WASSERFORSCHUNGS-INSTITUT DES ETH-BEREICHS, 2009. *Anthropogene Spurenstoffe im Wasser* [online] [Zugriff am: 19. Dezember 2014]. Verfügbar unter: http://www.eawag.ch/medien/publ/eanews/news_67/en67d.pdf
- DAS WASSERFORSCHUNGS-INSTITUT DES ETH-BEREICHS, 2014. *EAWAG-BBD Pathway Prediction System* [online]. 30.06.214 [Zugriff am: 23. Dezember 2014]. Verfügbar unter: <http://eawag-bbd.ethz.ch/predict/>
- DE LA CRUZ, N, J. GIMÉNEZ, S. ESPLUGAS, D. GRANDJEAN, DE ALENCASTRO, L F und C. PULGARÍN, 2012. Degradation of 32 emergent contaminants by UV and neutral photo-fenton in domestic wastewater effluent previously treated by activated sludge [online]. *Water research*, **46**(6), 1947-1957. ISSN 1879-2448. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.watres.2012.01.014
- DE LA CRUZ, N, L. ESQUIUS, D. GRANDJEAN, A. MAGNET, A. TUNGLER, DE ALENCASTRO, L F und C. PULGARÍN, 2013. Degradation of emergent contaminants by UV, UV/H₂O₂ and neutral photo-Fenton at pilot scale in a domestic wastewater treatment plant [online]. *Water research*, **47**(15), 5836-5845. ISSN 1879-2448. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.watres.2013.07.005
- DONNER, E., T. KOSJEK, S. QUALMANN, K.O. KUSK, E. HEATH, D.M. REVITT, A. LEDIN und H.R. ANDERSEN, 2013. Ecotoxicity of carbamazepine and its UV photolysis transformation products [online]. *The Science of the total environment*, **443**, 870-876. ISSN 1879-1026. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.scitotenv.2012.11.059

DOUSA, M., P. GIBALA und K. LEMR, 2010. Liquid chromatographic separation of pregabalin and its possible impurities with fluorescence detection after postcolumn derivatization with o-phthalaldehyde [online]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **53**(3), 717-722. ISSN 07317085. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.jpba.2010.04.008

EBERT, I., S. CONRADI, A. HEIN und R. AMATO, 2014. Arzneimittel in der Umwelt - vermeiden, reduzieren, überwachen [online]. Hintergrund // April 2014. Verfügbar unter: http://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/378/publikationen/09.04.2014_hintergrundpapier_arzneimittel.pdf

ESCHER, B.I. und K. FENNER, 2011. Recent advances in environmental risk assessment of transformation products [online]. *Environmental science & technology*, **45**(9), 3835-3847. ISSN 1520-5851. Verfügbar unter: doi:10.1021/es1030799

EUROPÄISCHE UNION, 2013. *Richtlinie 2013/39/EU des Europäischen Parlaments und des Rates vom 12. August 2013 zur Änderung der Richtlinien 2000/60/EG und 2008/105/EG in Bezug auf prioritäre Stoffe im Bereich der Wasserpolitik* Text von Bedeutung für den EWR [online] [Zugriff am: 23. Januar 2015]. Verfügbar unter: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:226:0001:0017:DE:PDF>

FATTA-KASSINOS, D., M.I. VASQUEZ und K. KÜMMERER, 2011. Transformation products of pharmaceuticals in surface waters and wastewater formed during photolysis and advanced oxidation processes - degradation, elucidation of byproducts and assessment of their biological potency [online]. *Chemosphere*, **85**(5), 693-709. ISSN 1879-1298. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.chemosphere.2011.06.082

FERRER, P., C. RAFANIELLO, M. SABATÉ, E. BALLARÍN, A. COMA, C. ZARA, A. CAPUANO, F. ROSSI, J.-R. LAPORTE und L. IBÁÑEZ, 2014. Cross-national comparison of antiepileptic drug use: Catalonia, Denmark and Norway, 2007-2011. *Epidemiology Biostatistics and Public Health*, **11**(3), 1-9.

FICK, J., R.H. LINDBERG, M. TYSKLIND und LARSSON, D G JOAKIM, 2010. Predicted critical environmental concentrations for 500 pharmaceuticals [online]. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, **58**(3), 516-523. ISSN 1096-0295. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.yrtph.2010.08.025

FRAUNHOFER INSTITUT, 2014. *Forschung Kompakt* [online]. *Umwelthormone – kleine Mengen mit großer Wirkung* [Zugriff am: 24. Januar 2015]. Verfügbar unter:

http://www.fraunhofer.de/content/dam/zv/de/presse-medien/2014/April/Forschung_Kompakt/fk04_2014_APRIL.pdf

G. SEITZ und M. NEUBECK, 2012. Levetiracetam - 7.3/2535. Kommentar zur Ph. Eur. 7.3. In: K. HARTKE, Hg. *Allgemeiner Teil: Monographien A-Z*. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges. (u.a.).

GARMS, A., 14. Nov. 2013. Wasseranalysen zeigen, was Ärzte verschreiben [online]. *Die Welt*, **2013** [Zugriff am: 21. Dezember 2014]. Verfügbar unter: <http://www.welt.de/wissenschaft/umwelt/article121881755/Wasseranalysen-zeigen-was-Aerzte-verschreiben.html>

HELBLING, D.E., J. HOLLENDER, H.-P.E. KOHLER, H. SINGER und K. FENNER, 2010. High-throughput identification of microbial transformation products of organic micropollutants [online]. *Environmental science & technology*, **44**(17), 6621-6627. ISSN 1520-5851. Verfügbar unter: doi:10.1021/es100970m

HERAEUS NOBLELIGHT, 2002. *Medium Pressure UV Lamps* [online]. 11 September 2002, 12:00 [Zugriff am: 12. Dezember 2014]. Verfügbar unter: http://prolight.info/pdf_specs/Heraeus_Medium_Pressure_Lamps.pdf

HERAEUS, 2003. *Labor-UV-Reaktorsystem* [online]. Betriebsanleitung. 25 September 2003, 12:00 [Zugriff am: 12. Dezember 2014]. Verfügbar unter: https://www.helmholtz-berlin.de/pubbin/igama_output?modus=datei&did=275

HESSE, M., S. BIENZ, H. MEIER und B. ZEEH, 2012. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie. 114 Tabellen*. 8., überarb. und erw. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Thieme. ISBN 3135761088.

HOLLENDER, J., S.G. ZIMMERMANN, S. KOEPKE, M. KRAUSS, C.S. MCARDELL, C. ORT, H. SINGER, U. von GUNTEN und H. SIEGRIST, 2009. Elimination of organic micropollutants in a municipal wastewater treatment plant upgraded with a full-scale post-ozonation followed by sand filtration [online]. *Environmental science & technology*, **43**(20), 7862-7869. ISSN 1520-5851. Verfügbar unter: doi:10.1021/es9014629

INTERNATIONALE KOMMISSION ZUM SCHUTZ DES RHEINS, 2010. *Auswertungsbericht Humanarzneimittel - Bericht Nr. 182* [online]. 14 Juli 2010, 12:00 [Zugriff am: 19. Dezember 2014]. Verfügbar unter: http://www.iksr.org/uploads/media/Bericht_Nr._182d.pdf

ITZIAR, OLAIZOLA SAN JOSÉ, 2006. DER EINFLUSS VON LEVETIRACETAM UND VALPROINSÄURE AUF THROMBOZYTENFUNKTIONEN BEIM MENSCHEN - EINE PLACEBOKONTROLLIERTE STUDIE [online]. DISSERTATION zur Erlangung des doctor medicinae der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms – Universität Münster. Verfügbar unter: <http://d-nb.info/991859065/34>

KLAMINDER, J., M. JONSSON, J. FICK, A. SUNDELIN und T. BRODIN, 2014. The conceptual imperfection of aquatic risk assessment tests: highlighting the need for tests designed to detect therapeutic effects of pharmaceutical contaminants [online]. *Environmental Research Letters*, **9**(8), 084003. ISSN 1748-9326. Verfügbar unter: doi:10.1088/1748-9326/9/8/084003

KLÖPFER, W., 2013. *Verhalten und Abbau von Umweltchemikalien. Physikalisch-Chemische Grundlagen*. Weinheim: Wiley. ISBN 3527672133.

KNOLLMANN, J. und H. HÜBNER, 2013. 0052-01-05_Rietberg_Studie Spurenstoffelimination - ZKA Rietberg_2013-07-30_EA8 [online]. Verfügbar unter: http://www.lanuv.nrw.de/wasser/abwasser/forschung/pdf/Abschlussbericht_Klaeranlage_Rietberg.pdf

KOVALOVA, L., H. SIEGRIST, U. von GUNTEN, J. EUGSTER, M. HAGENBUCH, A. WITTMER, R. MOSER und C.S. MCARDELL, 2013. Elimination of micropollutants during post-treatment of hospital wastewater with powdered activated carbon, ozone, and UV [online]. *Environmental science & technology*, **47**(14), 7899-7908. ISSN 1520-5851. Verfügbar unter: doi:10.1021/es400708w

KROMIDAS, S., Hg., 2006. *HPLC richtig optimiert. Ein Handbuch für Praktiker*. Weinheim: Wiley-VCH. ISBN 3527314709.

KÜMMERER, K., 2010. Neuartige Spurenstoffe im Wasser [online], **HW 54**(6). Verfügbar unter: http://www.leuphana.de/fileadmin/user_upload/PERSONALPAGES/_ijkl/kuemmerer_klaus/files/HyWa-Neuartige_Spurenstoffe_im_Wasser.pdf

LEE, Y., L. KOVALOVA, C.S. MCARDELL und U. von GUNTEN, 2014. Prediction of micropollutant elimination during ozonation of a hospital wastewater effluent [online]. *Water research*, **64**, 134-148. ISSN 1879-2448. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.watres.2014.06.027

LI, Z., H. FENET, E. GOMEZ und S. CHIRON, 2011. Transformation of the antiepileptic drug oxcarbazepine upon different water disinfection processes [online]. *Water research*, **45**(4), 1587-1596. ISSN 1879-2448. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.watres.2010.11.038

MARGOT, J., C. KIENLE, A. MAGNET, M. WEIL, L. ROSSI, DE ALENCASTRO, LUIZ FELIPPE, C. ABEGGLEN, D. THONNEY, N. CHÈVRE, M. SCHÄRER und D.A. BARRY, 2013. Treatment of micropollutants in municipal wastewater: ozone or powdered activated carbon? [online]. *The Science of the total environment*,

461-462, 480-498. ISSN 1879-1026. Verfügbar unter:
doi:10.1016/j.scitotenv.2013.05.034

MARTENS-LOBENHOFFER, J. und S.M. BODE-BÖGER, 2005. Determination of levetiracetam in human plasma with minimal sample pretreatment [online]. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, **819**(1), 197-200. ISSN 1570-0232. Verfügbar unter:
doi:10.1016/j.jchromb.2005.01.040

MAYDELL, B.v., 1997. *Neurophysiologisch dokumentierte zentralnervöse Nebenwirkungen von Gabapentin im Vergleich zu Carbamazepin und Placebo bei gesunden Probanden*. Univ., Diss.--München, 1997.

MINISTERIUM FÜR KLIMASCHUTZ, UMWELT, LANDWIRTSCHAFT, NATUR- UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2012. Expertenkommission Programm Reine Ruhr und Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz [online]. Vom Programm „Reine Ruhr“ zur Strategie einer nachhaltigen Verbesserung der Gewässer- und Trinkwasserqualität in Nordrhein-Westfalen. Verfügbar unter:
https://www.umwelt.nrw.de/umwelt/pdf/programm_reine_ruhr_2012.pdf

MINISTERIUM FÜR KLIMASCHUTZ, UMWELT, LANDWIRTSCHAFT, NATUR- UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2013. Mikroschadstoffe aus kommunalem Abwasser [online]. Stoffflussmodellierung, Situationsanalyse und Reduktionspotenziale für Nordrhein-Westfalen. Verfügbar unter:
https://www.umwelt.nrw.de/umwelt/pdf/mikroschadstoffe_aus_kommunalem_abwasser.pdf

MOHAPATRA, D.P., S.K. BRAR, R.D. TYAGI, P. PICARD und R.Y. SURAMPALLI, 2014. Analysis and advanced oxidation treatment of a persistent pharmaceutical compound in wastewater and wastewater sludge-carbamazepine [online]. *The Science of the total environment*, **470-471**, 58-75. ISSN 1879-1026. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.scitotenv.2013.09.034

OECD, 2008. *Test No. 316: Phototransformation of Chemicals in Water – Direct Photolysis* [online]. OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS [Zugriff am: 3. Oktober 2008].

ORTIZ DE GARCÍA, SHEYLA, G. PINTO PINTO, P. GARCÍA ENCINA und R. IRUSTA MATA, 2013. Consumption and occurrence of pharmaceutical and personal care products in the aquatic environment in Spain [online]. *The Science of the total environment*, **444**, 451-465. ISSN 1879-1026. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.scitotenv.2012.11.057

OTTO, H.-H., 2011. 2.1 Analgetika. Pregabalin. In: H.-H. OTTO und N. KAREN, Hg. *Arzneimittel. Ein Handbuch für Ärzte und Apotheker*. 11. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges, S. 38-39.

OTTO, H.-H., 2014. 9 Antiepileptika. Levetiracetam. In: H.-H. OTTO und N. KAREN, Hg. *Arzneimittel. Ein Handbuch für Ärzte und Apotheker*. 11. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges, S. 15-17.

PETRIE, B., R. BARDEN und B. KASPRZYK-HORDERN, 2014. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring [online]. *Water research*. ISSN 1879-2448. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.watres.2014.08.053

PFIZER, 2014. *Pfizer Reports Top-Line Results From a Phase 3 Study Evaluating Pregabalin Controlled-Release Formulation as a Treatment for Patients With Postherpetic Neuralgia* [online]. 23 Dezember 2014, 12:00 [Zugriff am: 23. Dezember 2014]. Verfügbar unter: http://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer_reports_top_line_results_from_a_phase_3_study_evaluating_pregabalin_controlled_release_formulation_as_a_treatment_for_patients_with_postherpetic_neuralgia

PUBCHEM, 2014a. *Levetiracetam - PubChem* [online] [Zugriff am: 13. Dezember 2014]. Verfügbar unter: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5284583#section=Protein-Binding>

PUBCHEM, 2014b. *Pregabalin - PubChem* [online] [Zugriff am: 13. Dezember 2014]. Verfügbar unter: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5486971#section=Top>

RADKA, A., 2003. Antibiotika in der aquatischen Umwelt : Eintrag, Elimination und Wirkung auf Bakterien [online]. Verfügbar unter: <http://www.freidok.uni-freiburg.de/volltexte/660/pdf/Diss-gesamt.pdf>

RIVERA-UTRILLA, J., M. SÁNCHEZ-POLO, M.Á. FERRO-GARCÍA, G. PRADOS-JOYA und R. OCAMPO-PÉREZ, 2013. Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review [online]. *Chemosphere*, **93**(7), 1268-1287. ISSN 1879-1298. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.chemosphere.2013.07.059

ROOS, V., L. GUNNARSSON, J. FICK, LARSSON, D G J und C. RUDÉN, 2012. Prioritising pharmaceuticals for environmental risk assessment: Towards adequate and feasible first-tier selection [online]. *The Science of the total environment*, **421-422**, 102-110. ISSN 1879-1026. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.scitotenv.2012.01.039

SACHVERSTÄNDIGENRAT FÜR UMWELTFRAGEN. Umweltgutachten 2008-Umweltschutz im Zeichen des Klimawandels [online]. Verfügbar unter: http://www.umweltrat.de/SharedDocs/Downloads/DE/01_Umweltgutachten/2008_Umweltgutachten_BTD.pdf?__blob=publicationFile

SARAVANAN, G., G. JYOTHI, Y. SURESH, A. ANNERAO, M. RAMAKRISHNA, M. YOGESHWAR REDDY und B. RAVIBABU, 2008. LC Method for the Determination of the Stability of Levetiracetam Drug Substance under Stressing Conditions [online]. *Chromatographia*, **67**(1-2), 173-177. ISSN 0009-5893. Verfügbar unter: doi:10.1365/s10337-007-0472-7

SCHÜRENKAMP, J., 2009. *Identifizierung und Quantifizierung von Antidepressiva und Neuroleptika aus biologischem Material mittels LC-ESI-MS/MS*. Univ., Diss.--Münster, 2009.

SCHWABE, U. und D. PAFFRATH, Hg., 2012. *Arzneiverordnungs-Report 2012. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*. Berlin: Springer. SpringerLink : Bücher. ISBN 3642292410.

SCHWABE, U., 2004. Antiepileptika. In: U. SCHWABE und D. PAFFRATH, Hg. *Arzneiverordnungs-Report 2004. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 324-333. ISBN 978-3-642-18513-7.

SCHWABE, U., 2006. Antiepileptika. In: U. SCHWABE und D. PAFFRATH, Hg. *Arzneiverordnungs-Report 2005. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, S. 394-405. ISBN 3-540-28368-4.

SCHWABE, U., 2007. Antiepileptika. In: U. SCHWABE und D. PAFFRATH, Hg. *Arzneiverordnungs-Report 2006. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag Heidelberg, S. 394-407. ISBN 978-3-540-34369-1.

SCHWABE, U., 2008a. Antiepileptika. In: U. SCHWABE und D. PAFFRATH, Hg. *Arzneiverordnungs-Report 2007. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 353-367. ISBN 978-3-540-72547-3.

SCHWABE, U., 2008b. Antiepileptika. In: U. SCHWABE und D. PAFFRATH, Hg. *Arzneiverordnungs-Report 2008. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 347-360. ISBN 978-3-540-69218-8.

SCHWABE, U., 2009. Antiepileptika. In: U. SCHWABE und D. PAFFRATH, Hg. *Arzneiverordnungs-Report 2009. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 349-362. ISBN 978-3-642-01079-8.

SCHWABE, U., 2010. Antiepileptika. In: U. SCHWABE und D. PAFFRATH, Hg. *Arzneiverordnungs-Report 2010. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 373-388. ISBN 978-3-642-13379-4.

SCHWABE, U., 2011. Antiepileptika. In: U. SCHWABE und D. PAFFRATH, Hg. *Arzneiverordnungs-Report 2011. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 385-399. ISBN 978-3-642-21991-7.

SCHWABE, U., 2012. Antiepileptika. In: U. SCHWABE und D. PAFFRATH, Hg. *Arzneiverordnungs-Report 2012. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*. Berlin: Springer, S. 387-402. ISBN 3642292410.

SCHWABE, U., 2013. Antiepileptika. In: U. SCHWABE und D. PAFFRATH, Hg. *Arzneiverordnungs-Report 2013. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 375-390. ISBN 978-3-642-37123-3.

SCHWABE, U., 2014. Antiepileptika. In: U. SCHWABE und D. PAFFRATH, Hg. *Arzneiverordnungs-report 2014. Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*: Springer Verlag, S. 427-444. ISBN 3662434865.

SIGMA-ALDRICH, 2013a. *Safety Data Sheet* [online]. *Levetiracetam*. 5 Mai 2013, 12:00 [Zugriff am: 19. Oktober 2014]. Verfügbar unter: http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/PrintMSDSAction.do?name=msdspdf_1410292120725474

SIGMA-ALDRICH, 2013b. *Safety Data Sheet* [online]. *Pregabalin*. 23 März 2013, 12:00 [Zugriff am: 19. Oktober 2014]. Verfügbar unter: http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/PrintMSDSAction.do?name=msdspdf_1410292115451670

SUNDERER, G., K. GÖTZ und K. STORCH, 2014. *Medieninhaltsanalyse zu anthropogenen Spurenstoffen im Wasser* [online]. *Ergebnisse aus dem Projekt TransRisk*. 8 April 2014, 12:00 [Zugriff am: 21. Dezember 2014]. Verfügbar unter: <http://www.isoe.de/fileadmin/redaktion/Downloads/Risikoanalyse/st-21-isoe-2014.pdf>

THE HUMAN METABOLOME DATABASE, 2014a. *Human Metabolome Database: Showing metabocard for Levetiracetam (HMDB15333)* [online]. Version 3.6 [Zugriff am: 12. Dezember 2014]. Verfügbar unter: <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB15333>

THE HUMAN METABOLOME DATABASE, 2014b. *Human Metabolome Database: Showing metabocard for Pregabalin (HMDB14375)* [online]. Version 3.6 [Zugriff am: 13. Dezember 2014]. Verfügbar unter: <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB14375>

U.S. NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE, 2007. *TOXNET-Toxicology Data Network* [online]. *Pregabalin*. 13 Dezember 2007, 12:00 [Zugriff am: 13. Dezember 2014]. Verfügbar unter: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+148553-50-8>

U.S. NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE, 2014. *DailyMed - KEPBRA-levetiracetam injection, solution, concentrate* [online]. 10.2014 [Zugriff am: 12. Dezember 2014]. Verfügbar unter: <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=c6d5784d-abf9-45fe-ac5a-d5c53bd50f7e>

ULRIKE KOLLER, 2009. *UV B-Strahlung - Wirkung auf den Menschen* [online]. 18 Januar 2009, 12:00 [Zugriff am: 12. Dezember 2014]. Verfügbar unter: <http://www.gesundheitsamt.de/alle/umwelt/physik/strahl/nion/uv/mensch.htm>

UMWELTBUNDESAMT, 2012. *Arzneimittel* [online]. 31 Mai 2012, 12:00 [Zugriff am: 4. August 2014]. Verfügbar unter: <http://www.umweltbundesamt.de/themen/chemikalien/arzneimittel/arzneimittel-umweltWacker>

UMWELTBUNDESAMT, 2014a. *Arzneimittel in der Umwelt sind eine globale Herausforderung* [online]. 9 April 2014, 12:00 [Zugriff am: 4. August 2014]. Verfügbar unter: <http://www.umweltbundesamt.de/presse/presseinformationen/arzneimittel-in-der-umwelt-sind-eine-globale>

UMWELTBUNDESAMT, 2014b. *Arzneimittel und Umwelt* [online]. 13 Februar 2014, 12:00 [Zugriff am: 4. August 2014]. Verfügbar unter: <http://www.umweltbundesamt.de/themen/chemikalien/arzneimittel/arzneimittel-umwelt>

WANKE, A., 2012. *Analytik Organischer Spurenstoffe in der BFUL* [online]. *Möglichkeiten und Grenzen* [Zugriff am: 4. August 2014]. Verfügbar unter: http://www.umwelt.sachsen.de/umwelt/wasser/download/09_Wanke.pdf

WHO COLLABORATING CENTRE FOR DRUG STATISTICS METHODOLOGY, 2013a. *WHOCC - ATC/DDD Index* [online]. *N03A ANTIPILEPTICS* [Zugriff am: 9. Januar 2015]. Verfügbar unter: http://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AF01&showdescription=yes

WHO COLLABORATING CENTRE FOR DRUG STATISTICS METHODOLOGY, 2013b. *WHOCC - ATC/DDD Index* [online]. *N03AX Other antiepileptics* [Zugriff am: 9. Januar 2015]. Verfügbar unter: http://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AX

WIßLER, C., 2012. Das Menschenrecht auf Wasser [online]. Verfügbar unter: http://www.uni-kassel.de/fb07/fileadmin/datas/fb07/5-Institute/IWR/Laskowski/Das_Menschenrecht_auf_Wasser_Symposium_Wasser_im_globalen_Wandel.pdf

WODE, F., P. VAN BAAR, U. DÜNNBIER, F. HECHT, T. TAUTE, M. JEKEL und T. REEMTSMA, 2014. Search for over 2000 current and legacy micropollutants on a wastewater infiltration site with a UPLC-high resolution MS target screening method [online]. *Water research*, **69C**, 274-283. ISSN 1879-2448. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.watres.2014.11.034

WOLS, B.A. und HOFMAN-CARIS, C H M, 2012. Review of photochemical reaction constants of organic micropollutants required for UV advanced oxidation processes in water [online]. *Water research*, **46**(9), 2815-2827. ISSN 1879-2448. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.watres.2012.03.036

A Anhang

A.1 Berechnung des theoretischen Kohlenstoffgehaltes

A.1.1 Bestimmung des NPOCs von Levetiracetam

Formel 1: Berechnung des theoretischen Kohlenstoffgehaltes von LEV

$$\text{Kohlenstoffgehalt} = \frac{n \cdot M_C}{M_{C_8H_{14}N_2O_2}} \cdot 100 \% = \frac{8 \cdot 12,011 \frac{g}{mol}}{170,2108 \frac{g}{mol}} \cdot 100 \% = 56,45 \%$$

n = Anzahl der Atome in der Verbindung (hier Kohlenstoffatome)

M_C = molare Masse von Kohlenstoff (12,011 g/mol)

$M_{C_8H_{14}N_2O_2}$ = molare Masse von LEV (170,2108 g/mol)

A.1.2 Bestimmung des DOCs von Pregabalin

Formel 2: Berechnung des theoretischen Kohlenstoffgehaltes von PB

$$\text{Kohlenstoffgehalt} = \frac{n \cdot M_C}{M_{C_8H_{17}NO_2}} \cdot 100 \% = \frac{8 \cdot 12,011 \frac{g}{mol}}{159,2278 \frac{g}{mol}} \cdot 100 \% = 60,35 \%$$

n = Anzahl der Atome in der Verbindung (hier Kohlenstoffatome)

M_C = molare Masse von Kohlenstoff (12,011 g/mol)

$M_{C_8H_{17}NO_2}$ = molare Masse von PB (159,2278 g/mol)

A.1.3 Bestimmung des DOCs von Lactose-Monohydrat

Formel 3: Berechnung des theoretischen Kohlenstoffgehaltes von Lactose-Monohydrat

$$\text{Kohlenstoffgehalt} = \frac{n \cdot M_C}{M_{C_{12}H_{24}O_{12}}} \cdot 100 \% = \frac{12 \cdot 12,011 \frac{g}{mol}}{360,3144 \frac{g}{mol}} \cdot 100 \% = 40,00 \%$$

n = Anzahl der Atome in der Verbindung (hier Kohlenstoffatome)

M_C = molare Masse von Kohlenstoff (12,011 g/mol)

$M_{C_{12}H_{24}O_{12}}$ = molare Masse von Lactose – Monohydrat (360,3144 g/mol)

A.2 Kalibrierungen /Kalibriergeraden der Primärelimination

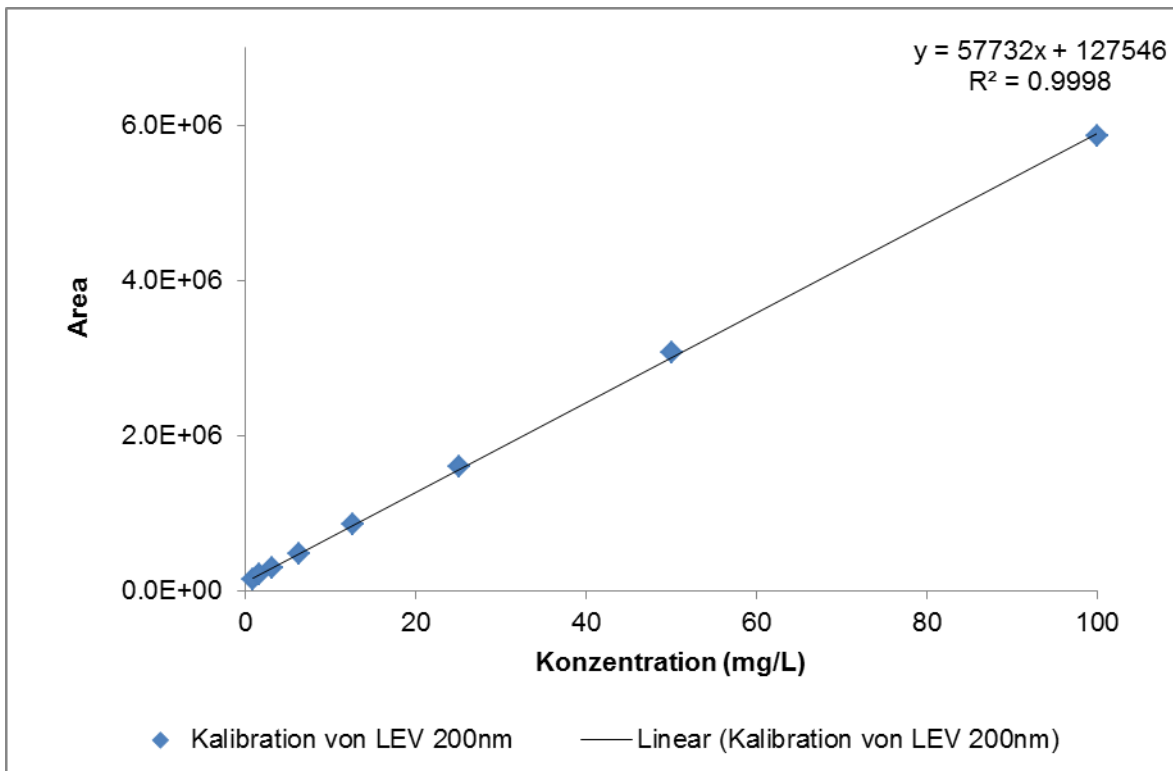


Abb. 19. Darstellung der Kalibriergeraden für die Primärelimination von LEV mittels HPLC bei der Wellenlänge einer 200 nm und einem Injektionsvolumen von 10 µL

Tabelle 8. Darstellung der Ergebnisse der Kalibrierung der Primärelimination von LEV mittels HPLC bei einer Wellenlänge von 200 nm und einem Injektionsvolumen von 10 µL

Konzentration (mg/L)	1. Messung (Peak Area 1)	2. Messung (Peak Area 2)	3. Messung (Peak Area 3)	\bar{x} (Peak Area)
0,0977 ^{*)}	116.303	103.735	138.060	119.366
0,1953 ^{*)}	78.728	125.096	148.886	117.570
0,3906 ^{*)}	66.380	141.667	161.339	123.129
0,7813	104.568	170.915	178.485	151.323
1,5625	181.473	217.904	239.862	213.080
3,125	245.860	302.565	330.813	293.079
6,25	461.075	466.411	504.094	477.193
12,5	813.665	849.100	903.474	855.413
25	1.563.354	1.594.987	1.627.856	1.595.399
50	3.042.049	3.055.043	3.106.313	3.067.802
100	5.846.580	5.807.219	5.951.594	5.868.464

^{*)} wird in der Auswertung nicht berücksichtigt

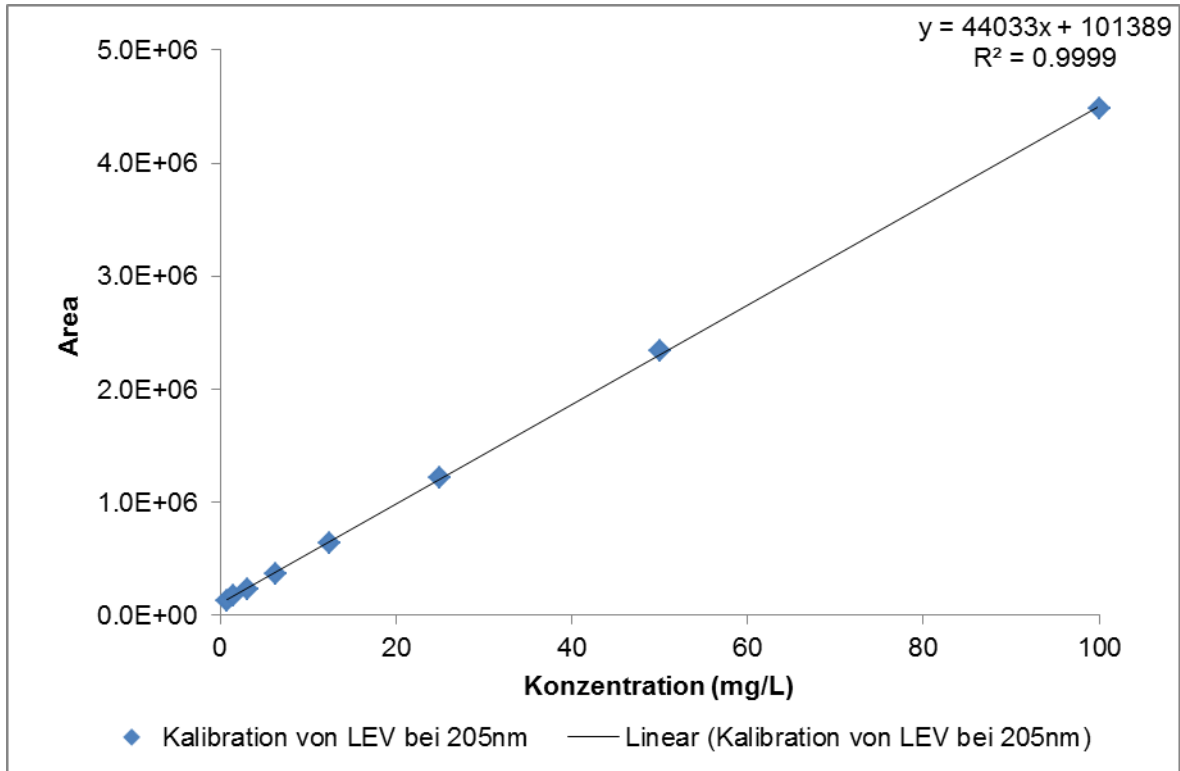


Abb. 20. Darstellung der Kalibriergeraden für die Primärelimination von LEV mittels HPLC bei einer Wellenlänge von 205 nm und einem Injektionsvolumen von 10 μ L

Tabelle 9. Darstellung der Ergebnisse der Kalibrierung der Primärelimination von LEV mittels HPLC bei einer Wellenlänge von 205 nm und einem Injektionsvolumen von 10 μ L

Konzentration (mg/L)	1. Messung (Peak Area 1)	2. Messung (Peak Area 2)	3. Messung (Peak Area 3)	\bar{x} (Peak Area)
0,0977 ^{*)}	93.219	91.341	100.116	94.892
0,1953 ^{*)}	92.125	103.165	111.810	102.367
0,3906 ^{*)}	81.431	112.456	123.723	105.870
0,7813	96.518	142.624	144.878	128.007
1,5625	151.015	172.294	184.186	169.165
3,125	212.077	236.099	255.503	234.560
6,25	349.495	368.846	391.243	369.861
12,5	601.348	649.986	675.419	642.251
25	1.195.087	1.212.201	1.240.269	1.215.852
50	2.311.843	2.331.833	2.370.402	2.338.026
100	4.476.249	4.444.812	4.535.938	4.485.666

^{*)} wird in der Auswertung nicht berücksichtigt

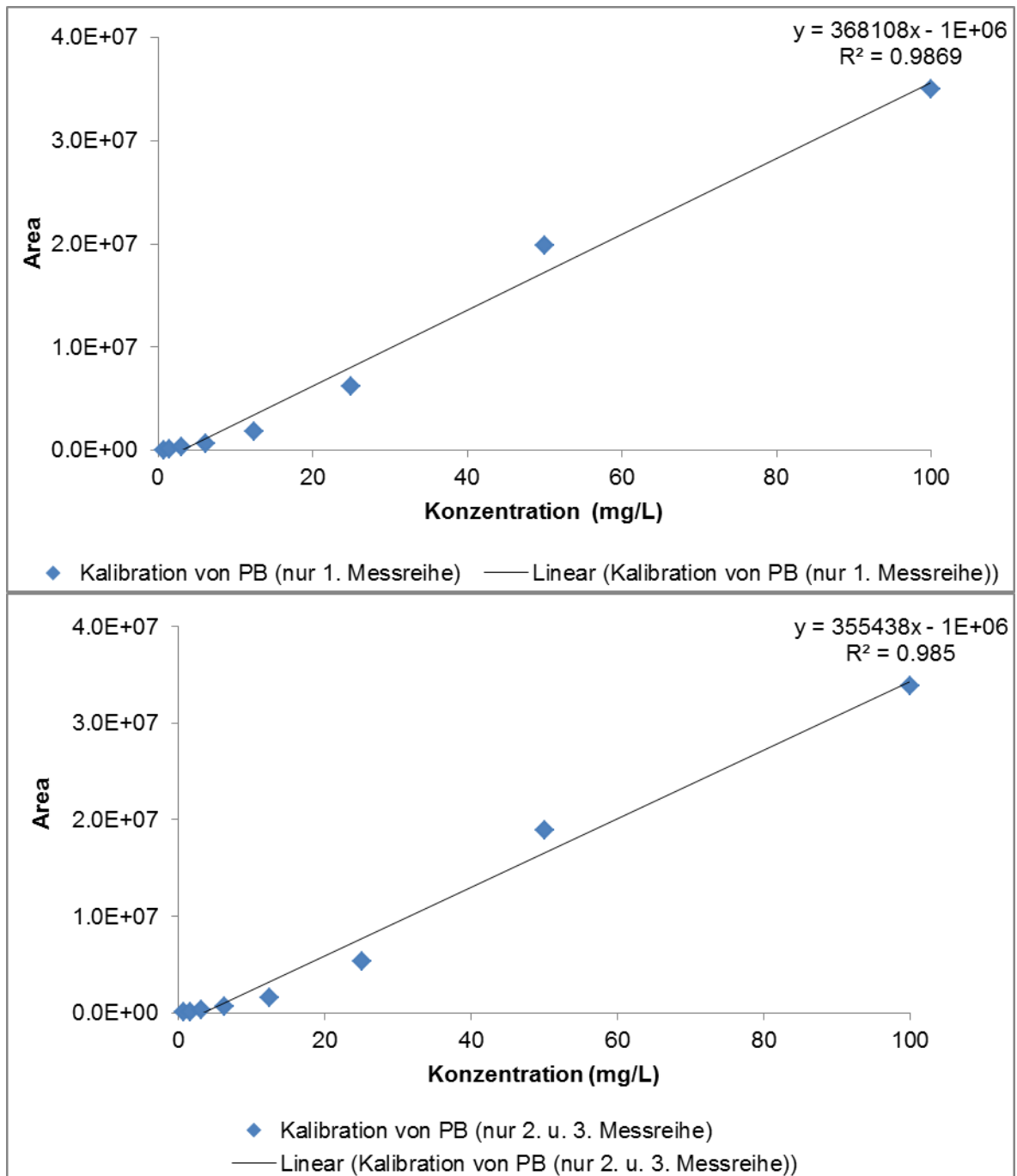


Abb. 21. Kalibriergerade für die Auswertung der Primärelimination von PB bei einem Injektionsvolumen von $5 \mu\text{L}$ (oben für die erste Messreihe und unten für die zweite sowie dritte Messreihe)

Tabelle 10. Darstellung der Ergebnisse der Kalibrierung der Primärelimination von PB

Konzentration (mg/L)	1. Messung (Peak Area 1)	2. Messung (Peak Area 2)	3. Messung (Peak Area 3)	\bar{x} (Peak Area 2 u. 3)
0,0024	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
0,0049	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
0,0098	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
0,0195	32.279	37.775	58.761	48.268
0,0391	114.491	95.516	89.040	92.278
0,0781	291.388	265.313	213.799	239.556
0,1563	698.603	538.483	464.687	501.585
0,3125	1.794.580	1.324.150	1.104.998	1.214.574
0,6250	6.230.964	4.350.162	3.084.354	3.717.258
1,25	19.900.554	17.953.427	14.267.256	16.110.341
2,50	34.979.296	32.678.263	31.944.385	32.311.324

A.3 Rohdaten

A.3.1 Bestimmung der Mineralisierung von Levetiracetam

Tabelle 11. Darstellung der NPOC-Messwerte vom UV-Abbau von LEV

Zeitpunkt (min)	Probenbezeichnung	NPOC (mg/L)	\bar{x} (mg/L)	$s_{\bar{x}}$ (mg/L)
0	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	56,61	56,46	± 0,76
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	56,76		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	55,21		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	57,24		
2	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	57,04	56,90	± 0,70
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	55,72		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	57,32		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	57,52		
4	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	58,08	57,39	± 0,56
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	57,50		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	56,51		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	57,47		
8	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	55,87	56,33	± 0,67
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	55,64		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	56,45		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	57,37		
16	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	56,18	56,56	± 0,51
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	56,61		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	56,07		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	57,37		
32	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	56,61	56,39	± 0,52
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	56,73		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	55,49		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	56,73		
64	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	55,54	55,65	± 0,48
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	55,46		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	55,16		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	56,45		
128	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	53,53	53,85	± 0,84
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	52,75		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	54,07		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	55,06		

A.3.2 Bestimmung der Mineralisierung von Pregabalin

Tabelle 12. Darstellung der DOC-Messwerte vom UV-Abbau von PB (ohne PB_III)

Zeitpunkt (min)	Probenbezeichnung	DOC (mg/L)	\bar{x} (mg/L)	$S_{\bar{x}}$ (mg/L)
0	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	64,35	63,91	± 0,47
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	63,26		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	64,12		
2	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	65,29	64,60	± 0,49
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	64,28		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	64,23		
4	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	64,56	64,06	± 0,56
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	63,28		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	64,33		
8	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	64,40	63,86	± 0,56
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	63,08		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	64,10		
16	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	63,31	63,02	± 0,87
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	61,84		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	63,90		
32	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	63,24	63,19	± 0,27
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	63,49		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	62,83		
64	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	63,74	62,70	± 0,79
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	61,84		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	62,52		
128	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	58,87	60,46	± 1,53
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	59,98		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	62,52		

Tabelle 13. Darstellung der DOC-Messwerte vom UV-Abbau von PB

Zeitpunkt (min)	Probenbezeichnung	DOC (mg/L)	\bar{x} (mg/L)	$s_{\bar{x}}$ (mg/L)
0	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	64,35	62,80	± 1,96
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	63,26		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	59,48		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	64,12		
2	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	65,29	63,57	± 1,84
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	64,28		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	60,47		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	64,23		
4	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	64,56	62,97	± 1,94
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	63,28		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	59,71		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	64,33		
8	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	64,40	63,05	± 1,49
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	63,08		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	60,62		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	64,10		
16	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	63,31	62,11	± 1,74
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	61,84		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	59,40		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	63,90		
32	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	63,24	62,24	± 1,67
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	63,49		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	59,38		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	62,83		
64	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	63,74	61,69	± 1,88
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	61,84		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	58,66		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	62,52		
128	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	58,87	59,43	± 2,22
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	59,98		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	56,35		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	62,52		

A.3.3 Bestimmung der Mineralisierung von Lactose-Monohydrat

Tabelle 14. Darstellung der NPOC-Messwerte vom UV-Abbau von Lactose-Monohydrat

Zeitpunkt (min)	Probenbezeichnung	NPOC (mg/L)	\bar{x} (mg/L)	$s_{\bar{x}}$ (mg/L)
0	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_I	38,28	38,26	± 0,58
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_II	37,54		
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_III	38,96		
2	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_I	38,78	38,59	± 0,21
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_II	38,29		
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_III	38,69		
4	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_I	38,59	38,68	± 0,19
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_II	38,51		
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_III	38,94		
8	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_I	38,72	38,69	± 0,12
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_II	38,54		
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_III	38,82		
16	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_I	38,62	38,77	± 0,34
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_II	38,46		
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_III	39,24		
32	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_I	38,38	38,79	± 0,38
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_II	38,69		
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_III	39,29		
64	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_I	37,37	37,50	± 0,28
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_II	37,23		
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_III	37,89		
128	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_I	33,60	31,84	± 1,91
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_II	29,19		
	UV-Abbau LAC-M 100 mg/L_III	32,72		

A.3.4 Bestimmung der Primärelimination von Levetiracetam mittels HPLC

Tabelle 15. Darstellung der Primärelimination von LEV mittels HPLC bei der Wellenlänge einer 200 nm

Zeitpunkt (min)	Probenbezeichnung	Konzentration (mg/L)	\bar{x} (mg/L)	$s_{\bar{x}}$ (mg/L)
0	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	100,02	100,13	± 1,30
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	101,31		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	101,14		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	98,05		
2	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	96,02	99,60	± 2,74
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	102,06		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	102,44		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	97,85		
4	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	101,92	100,63	± 1,13
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	100,65		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	101,10		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	98,83		
8	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	98,89	96,82	± 1,45
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	96,17		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	97,28		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	94,94		
16	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	94,61	92,56	± 2,33
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	93,24		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	93,77		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	88,61		
32	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	81,69	81,33	± 2,52
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	78,82		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	85,29		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	79,51		
64	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	61,48	69,86	± 7,16
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	80,88		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	70,73		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	66,34		
128	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I ^{*)}	31,60	40,26	± 7,88
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II ^{*)}	34,35		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III ^{*)}	51,57		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV ^{*)}	43,55		

^{*)} Bei der Auswertung wird ein starkes Tailing festgestellt

Tabelle 16. Darstellung der Primärelimination von LEV bei der Wellenlänge einer 205 nm

Zeitpunkt (min)	Probenbezeichnung	Konzentration (mg/L)	\bar{x} (mg/L)	$s_{\bar{x}}$ (mg/L)
0	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	99,85	100,32	± 1,55
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	102,08		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	101,34		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	98,02		
2	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	96,29	99,81	± 2,69
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	102,44		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	102,41		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	98,10		
4	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	101,78	100,32	± 1,17
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	100,27		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	100,71		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	98,53		
8	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	98,44	97,19	± 1,08
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	96,77		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	97,91		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	95,64		
16	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	94,89	92,38	± 2,67
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	93,07		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	93,67		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	87,91		
32	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	83,48	82,32	± 2,17
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II	80,34		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	85,30		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	80,14		
64	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I	61,78	70,16	± 7,83
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II ^{*)}	82,63		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III	70,50		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV	65,74		
128	UV-Abbau LEV 100 mg/L_I ^{*)}	31,52	40,33	± 7,81
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_II ^{*)}	34,58		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_III ^{*)}	51,33		
	UV-Abbau LEV 100 mg/L_IV ^{*)}	43,89		

*) Bei der Auswertung wird ein starkes Tailing festgestellt

A.3.5 Bestimmung der Primärelimination von Pregabalin mittels HPLC-MS

Tabelle 17. Darstellung der Primärelimination von PB mittels HPLC-MS (ohne PB_III)

Zeitpunkt (min)	Probenbezeichnung	Konzentration (mg/L)	\bar{x} (mg/L)	$s_{\bar{x}}$ (mg/L)
0	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	100,66	101,72	± 0,85
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	102,73		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	101,77		
2	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	101,57	100,49	± 1,20
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	101,08		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	98,82		
4	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	97,64	99,40	± 2,99
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	103,61		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	96,96		
8	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	98,08	96,95	± 3,26
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	100,25		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	92,51		
16	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	83,22	90,39	± 5,11
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	94,71		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	93,26		
32	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	85,44	82,63	± 4,44
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	76,36		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	86,07		
64	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	65,35	66,53	± 5,97
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	59,88		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	74,37		
128	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	22,82	40,43	± 15,91
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	37,10		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	61,36		

Tabelle 18. Darstellung der Primärelimination von PB mittels HPLC-MS

Zeitpunkt (min)	Probenbezeichnung	Konzentration (mg/L)	\bar{x} (mg/L)	$s_{\bar{x}}$ (mg/L)
0	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	100,66	99,73	± 3,52
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	102,73		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	93,78		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	101,77		
2	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	101,57	97,89	± 4,63
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	101,08		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	90,07		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	98,82		
4	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	97,64	97,56	± 4,11
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	103,61		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	92,03		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	96,96		
8	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	98,08	94,86	± 4,59
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	100,25		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	88,59		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	92,51		
16	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	83,22	88,19	± 5,85
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	94,71		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	81,57		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	93,26		
32	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	85,44	80,21	± 5,68
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	76,36		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	72,95		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	86,07		
64	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	65,35	62,04	± 9,34
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	59,88		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	48,58		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	74,37		
128	UV-Abbau PB 100 mg/L_I	22,82	35,69	± 16,03
	UV-Abbau PB 100 mg/L_II	37,10		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_III	21,48		
	UV-Abbau PB 100 mg/L_IV	61,36		

Tabelle 19. Berechnung der theoretischen Einwaage von PB aus einer 150 mg/L Lyrica®-Kapsel

theoretische Einwaage			
Leergewicht	Einwaage Kapsel (PB Pfizier 150 mg)	Einwaage Lyrica® (100 mg)	Kohlenstoffanteil
0,4418 g	198,0 mg	132,0 mg	64,7 mg
0,4510 g	200,3 mg	133,5 mg	64,7 mg
0,4867 g	190,3 mg	126,9 mg	64,7 mg
0,4893 g	200,9 mg	133,9 mg	64,7 mg

praktische Einwaage			
Leergewicht	Einwaage Lyrica®(100 mg)	Einwaage Lyrica®(100 mg)	Einwaage Lactose-1-Wasser
0,4693 g	132,0 mg	132,0 mg	11,0 mg
0,4699 g	133,5 mg	133,5 mg	11,0 mg
0,4932 g	126,9 mg	126,9 mg	11,0 mg
0,4589 g	133,9 mg	133,9 mg	11,0 mg

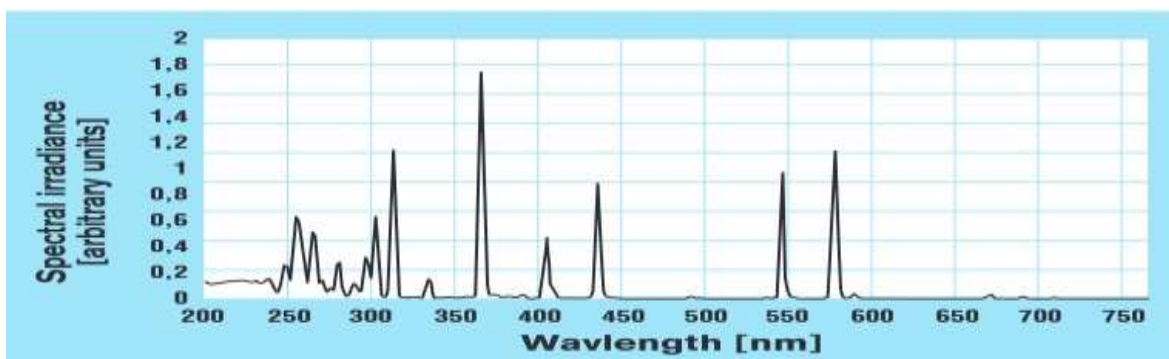


Abb. 22. Darstellung eines typischen Emissionsspektrums einer UV-Strahlungsquelle (Heraeus Noblelight 2002)

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Es wurden nur die in der Arbeit ausdrücklich benannten Quellen und Hilfsmittel benutzt. Wörtlich oder sinngemäß übernommenes Gedankengut habe ich als solches kenntlich gemacht.

Datum, Ort

Unterschrift