TEXTE
46/2011

# Identifizierung und Bewertung ausgewählter Arzneimittel und ihrer Metaboliten (Ab- und Umbauprodukte) im Wasserkreislauf

Umwelt Bundes Amt
Für Mensch und Umwelt

| TEXTE | 46/2011

UMWELTFORSCHUNGSPLAN DES
BUNDESMINISTERIUMS FÜR UMWELT,
NATURSCHUTZ UND REAKTORSICHERHEIT

Forschungskennzahl 206 61 202
UBA-FB 001513

# Identifizierung und Bewertung ausgewählter Arzneimittel und ihrer Metaboliten (Ab- und Umbauprodukte) im Wasserkreislauf

von

**Prof. Dr. Klaus Kümmerer, Armin Schuster, Andreas Längin**
Institut für Umweltmedizin und Krankenhaushygiene (IUK)
Universitätsklinikum Freiburg (UKF), Freiburg

**Dr. Oliver Happel, Astrid Thoma**
DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW), Karlsruhe

**Dr. Klaus Schneider, Dr. Martin Hassauer**
Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH (FoBiG), Freiburg

**Stefan Gartiser, Dr. Christoph Hafner**
Hydrotox GmbH, Freiburg

Im Auftrag des Umweltbundesamtes

UMWELTBUNDESAMT

Diese Publikation ist ausschließlich als Download unter
http://www.uba.de/uba-info-medien/4149.html
verfügbar. Hier finden Sie auch eine Kurzfassung.

Die in der Studie geäußerten Ansichten
und Meinungen müssen nicht mit denen des
Herausgebers übereinstimmen.

ISSN 1862-4804

Durchführung der Studie:

Universitätsklinikum Freiburg
Breisacher Str. 115b
79106 Freiburg

DVGW-Technologiezentrum
Karlsruher Str. 84
76139 Karlsruhe

Forschungs- und Beratungsinstitut
Gefahrstoffe GmbH
Werthmannsstraße 16
79098 Freiburg

Hydrotox GmbH
Bötzinger Str. 29
79111 Freiburg

Abschlussdatum: März 2009

Herausgeber: Umweltbundesamt
Wörlitzer Platz 1
06844 Dessau-Roßlau
Tel.: 0340/2103-0
Telefax: 0340/2103 2285
E-Mail: info@umweltbundesamt.de
Internet: http://www.umweltbundesamt.de
http://fuer-mensch-und-umwelt.de/

Redaktion: Fachgebiet II 3.6-D Toxikologie des Trink- und Badebeckenwassers

Dr. Hermann H. Dieter

Dessau-Roßlau, August 2011

# Berichts-Kennblatt

| | | |
|---|---|---|
| Berichtsnummer<br>1. UBA-FB FG II 3.6 | 2. | 3. |
| 4. Titel des Berichts<br>Identifizierung und Bewertung ausgewählter Arzneimittel und ihrer Metaboliten (Ab- und Umbauprodukte) im Wasserkreislauf | | |
| 5. Autor(en), Name(n), Vorname(n)<br>Gartiser, Stefan; Hafner, Christoph; Happel, Oliver; Hassauer, Martin; Kronenberger-Schäfer, Kerstin; Kümmerer, Klaus; Längin, Andreas; Schneider, Klaus; Schuster, Armin; Thoma, Astrid | | 8. Abschlussdatum<br>März 2009 |
| 6. Durchführende Institution (Name, Anschrift)<br>Universitätsklinikum Freiburg, Institut für Umweltmedizin und Krankenhaushygiene – Angewandte Umweltforschung, Breisacher Straße 115b, 79106 Freiburg<br>DVGW-Technologiezentrum Wasser, Abteilung Analytik, Karlsruher Straße 84, 76139 Karlsruhe<br>Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH, Werthmannstraße 16, 79098 Freiburg<br>Hydrotox GmbH, Bötzinger Straße 29, 79111 Freiburg | | 9. Veröffentlichungsdatum<br>August 2011<br>10. UFOPLAN-Nr.<br>206 61 202<br>11. Seitenzahl: 195<br>12. Literaturangaben: 450 |
| 7. Fördernde Institution (Name, Anschrift)<br>Umweltbundesamt, Wörlitzer Platz 1, 06844 Dessau-Roßlau | | 13. Tabellen und Diagramme: 195<br>14. Abbildungen: 57 |
| 15. Zusätzliche Angaben: | | |

16. Kurzfassung

In diesem Vorhaben werden alle im Arzneimittel enthaltenen Substanzen als *Wirkstoffe* bzw. *Muttersubstanzen* (MS) bezeichnet, alle innerhalb des menschlichen Körpers gebildeten Substanzen als *Metabolite* (ME) und alle nachfolgend entstehenden als *Transformationsprodukte* (TP), wobei bakterielle TP, abiotisch entstehende TP und beispielsweise durch die Trinkwasseraufbereitung erzeugte, technische TP möglich sind. Wir haben die Frage untersucht, inwieweit aus persistierenden MS und ME bei der Trinkwasseraufbereitung durch Ozonung mutagene/gentoxische TP entstehen können. Zunächst entwickelten wir ein Verfahren zur Auswahl von potenziell problematischen MS und ME. In einem zweiten Schritt untersuchten wir ausgewählte Substanzen auf ihren biologischen Abbau, auf das Verhalten bei der Trinkwasser-Ozonung sowie nachfolgend die ozonten Ansätze nach einem zwischengeschalteten Anreicherungsschritt (Festphasenextraktion – SPE) im Ames-Test auf mutagene Wirkungen. Nicht ozonte Abbaulösungen haben wir auch direkt im Ames-Test untersucht. In einem Stufenprozess wählten wir aus anfänglich 706 bilanzierten MS letztlich 19 intensiv metabolisierte Substanzen aus, von denen insgesamt 36 Strukturisomere und 84 ME identifiziert wurden. Diese 120 Stoffe bewerteten wir toxikologisch und umwelthygienisch ausführlich. Grundlage waren Literaturdaten sowie QSAR-Berechnungen zur biologischen Abbaubarkeit, zur Mobilität und zur Mutagenität/Gentoxizität. Praktisch untersucht haben wir die ME *4-Acetamidoantipyrin*, *4-Formylaminoantipyrin* und *Sulfapyridin* sowie die unverändert ausgeschiedenen MS *Metformin* und *Piracetam*. *Guanylharnstoff*, ein kürzlich identifiziertes, stabiles Transformationsprodukt von Metformin haben wir ebenfalls ozont. Außer *Piracetam* waren alle Substanzen nur unvollständig biologisch abbaubar, was auf die Bildung abbaustabiler, bakterieller TP hinweist. Als Reinsubstanzen eingesetzt, konnten wir *Metformin*, *Piracetam* und *Guanylharnstoff* auch nach der Ozonung noch teilweise nachweisen. Bei *Metformin* und *Piracetam* haben wir Hinweise auf die Bildung technischer TP durch Ozonung erhalten. Die drei untersuchten ME wurden nach unseren Untersuchungen durch die Ozonung vollständig abgebaut. Mit keinem der durchgeführten Ansätze konnten wir mit unserer Methodik im Ames-Test ein eindeutig positives Ergebnis erzielen. Eignung und Leistungsfähigkeit der Methodik müssen noch weiter untersucht werden.

17. Schlagwörter

Abbautests, 4-Acetamidoantipyrin, Amestest, Arzneimittelbilanzierung, Arzneimittelwirkstoffe, Festphasenextraktion, 4-Formylaminoantipyrin, Metabolite, Metformin, Ozonung, Piracetam, QSAR, Sulfapyridin, Toxikologie, Transformationsprodukte, Trinkwasseraufbereitung, Umweltrelevanz, Wasserkreislauf

| | | |
|---|---|---|
| 18. Preis<br>151.430,00 € | 19. | 20. |

# Report Cover sheet

| | | |
|---|---|---|
| Report. No.<br>1. UBA-FB FG II 3.6 | 2. | 3. |
| 4. Report Title:<br>Identification and und assessment of selected pharmaceuticals and their metabolites (degradation and transformation products) in the water cycle | | |
| 5. Authors, name(s), First name(s):<br>Gartiser, Stefan; Hafner, Christoph; Happel, Oliver; Hassauer, Martin; Kronenberger-Schäfer, Kerstin; Kümmerer, Klaus; Längin, Andreas; Schneider, Klaus; Schuster, Armin; Thoma, Astrid | | 8. Report date:<br>march 2009 |
| 6. Performing organisation (name, adress):<br>Universitätsklinikum Freiburg, Institut für Umweltmedizin und Krankenhaushygiene – Angewandte Umweltforschung, Breisacher Straße 115b, 79106 Freiburg<br>DVGW-Technologiezentrum Wasser, Abteilung Analytik, Karlsruher Straße 84, 76139 Karlsruhe<br>Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH, Werthmannstraße 16, 79098 Freiburg<br>Hydrotox GmbH, Bötzinger Straße 29, 79111 Freiburg | | 9. Publication date:<br>10. UFOPLAN Ref. No.<br>206 61 202<br>11. Number of pages: 195<br>12. No. of references: 450 |
| 7. Sponsoring agency (name, adress):<br>Umweltbundesamt, Wörlitzer Platz 1, 06844 Dessau-Roßlau | | 13. No. of Tables and diagrams: 195<br>14. No of Figures: 57 |
| 15. Supplementary notes: | | |

16. Abstract

In this project, all originally applied substances are denoted as *active ingredients* or *mother substances* (MS); hence, all substances having undergone modification in the human body are referred to as *metabolites* (ME) and all subsequently arising products are referred to as *transformation products* (TP); these may be bacterial TP, abiotic TP or technical TP, resulting for example from drinking water purification. The main focus of the project is whether persisting MS and ME can lead to mutagenic/genotoxic TP if drinking water purification includes an ozonation process. First, we developed a method to identify potentially problematic MS and ME. Next, selected substances were tested in respect of their biodegradability and fate during drinking-water-ozonation. The Ames-test to identify mutagenic activity was performed using the original solutions of the biodegradability tests and the same solutions after ozonation – here we interposed solid-phase extraction (SPE) to concentrate substances before the Ames-test. From a total number of 706 balanced MS, we selected 19 MS known to undergo intensive metabolisation and identified 36 isomeric MS and 84 ME. These 120 substances were screened for their toxicological and environmental relevance. We considered literature as well as QSAR-models, computing the end-points biodegradability, mobility and mutagenicity/genotoxicity. The laboratory study included the ME *4-acetamidoantipyrine*, *4-formylaminoantipyrine* and *sulfapyridine* as well as the MS *metformin* and *piracetam*, which are excreted without metabolisation. We also ozonated *guanylurea*, a recently identified dead-end TP of metformin.

With the exception of *piracetam*, all the tested substances were only incompletely biodegradable, suggesting formation of stable bacterial TP. *Metformin*, *piracetam* and *guanylurea* could not be removed completely by the ozonation process. We received some evidence that technical TP are formed by ozonation of *metformin* and *piracetam*, whereas all tested ME were completely degraded by this treatment. None of the experiments showed an increase in mutagenicity in the Ames-test. The adequacy and sensitivity of the methodology need to be further investigated.

17. Keywords

degradation tests, 4-acetamidoantipyrine, amestest, drug balancing, pharmaceuticals, solid-phase extraction, 4-formylaminoantipyrine, metabolites, metformin, ozonation , piracetam, QSAR, sulfapyridine, toxikology, transformation products, drinking water purification, environmental relevance, water cycle

| | | |
|---|---|---|
| 18. Price<br>151.430,00 € | 19. | 20. |

# Inhaltsverzeichnis


**ZUSAMMENFASSUNG ..... 1**

**SUMMARY ..... 2**

**1 EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG ..... 3**

**1.1 Arzneimittel in der aquatischen Umwelt ..... 3**
**1.2 Situation in Deutschland ..... 3**
**1.3 Metabolite ..... 4**
**1.4 Transformationsprodukte aus der Umwelt ..... 5**
**1.5 Technische Transformationsprodukte aus der Trinkwasseraufbereitung ..... 5**
**1.6 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen zum Umweltverhalten ..... 7**
**1.7 Relevanz für den Menschen – toxikologische Bewertung ..... 8**
**1.8 Aufgabenstellung ..... 11**

**2 METHODEN ..... 12**

**2.1 Stoffauswahl ..... 12**

2.1.1 Mengenabschätzung ..... 12
2.1.2 Ausschluss von Wirkstoffen ..... 13
2.1.3 Metabolisierung ..... 14
2.1.4 Endauswahl ..... 14

**2.2 Untersuchungsstrategie ..... 14**
**2.3 Abbautests ..... 15**

2.3.1 Leichte biologische Abbaubarkeit ..... 15
2.3.2 Inhärente Abbaubarkeit / Mineralisierung ..... 16

**2.4 Ozonung ..... 17**

2.4.1 Allgemeine Informationen zu Ozon ..... 17
2.4.2 Einflussgrößen für die Ozonreaktion ..... 20
2.4.3 Toxische anorganische Transformationsprodukte der Ozonung ..... 22
2.4.4 Organische Nebenprodukte der Ozonung ..... 22
2.4.5 *N,N*-Dimethylnitrosamin-Problematik ..... 23
2.4.6 Erzeugen von Ozon-Starkwasser ..... 24
2.4.7 Versuchsablauf der Ozonungen ..... 25
2.4.8 UV-Bestrahlung und Chlorung ..... 27

**2.5 Anreicherung ..... 28**

2.5.1 Allgemeines Vorgehen bei der SPE-Anreicherung ..... 30

**2.6 Amestest ..... 31**
**2.7 umu-Test ..... 32**
**2.8 Charakterisierung ozoninduzierter Transformationsprodukte ..... 33**

**3 NOMENKLATUR, BEGRIFFLICHKEITEN ..... 34**

**3.1 Stoffbezeichnung ..... 34**
**3.2 Ozonbehandlung ..... 36**

**4 ERSTELLEN EINER STOFFLISTE / STOFFAUSWAHL (PHASE I) ..... 38**

**4.1 Erfassung des Medikamentenverbrauches ... 38**
**4.2 Erstellung von Stoffdossiers ... 40**
4.2.1 Exemplarisches Stoffdossier Ranitidin ... 42
4.2.2 Erste Auswahlliste ... 44
**4.3 Endgültige Stoffauswahl ... 49**

**5 EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN (PHASE II) ... 53**

**5.1 Leichte biologische Abbaubarkeit ... 53**
**5.2 Inhärente biologische Abbaubarkeit ... 54**
5.2.1 4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA) ... 54
5.2.2 4-N-Formylaminoantipyrin (FAA) ... 55
5.2.3 Sulfapyridin ... 57
5.2.4 Metformin ... 58
5.2.5 Piracetam ... 59
**5.3 Ozonung ... 60**
5.3.1 Blindprobe ... 61
5.3.2 4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA) ... 62
5.3.3 4-N-Formylaminoantipyrin (FAA) ... 62
5.3.4 Sulfapyridin ... 63
5.3.5 Metformin ... 65
5.3.6 Piracetam ... 65
5.3.7 Guanylharnstoff ... 66
**5.4 SPE-Anreicherung ... 66**
5.4.1 Wiederfindung der Testsubstanzen ... 66
**5.5 Analytik ... 67**
5.5.1 Analytik möglicher Transformationsprodukte ... 67
**5.6 Mutagenitätstests ... 68**
5.6.1 Ames-Test ... 68
5.6.2 umu-Test ... 72

**6 BEWERTUNG DER ERGEBNISSE (PHASE III) ... 74**

**6.1 Stoffauswahl ... 74**
**6.2 Einsatz von QSAR für die Stoffbewertung ... 75**
**6.3 Mutagenität ... 78**
**6.4 Unsicherheiten der Gefährdungsbeurteilung ... 79**

**7 AUSBLICK UND WEITERER FORSCHUNGSBEDARF ... 80**

**7.1 Stoffdatenbank Arzneimittel und Metabolite ... 80**
**7.2 Weitere Untersuchungen ... 80**

**Literatur ... 82**

**Anhang ..... 89**

**Ergänzende Ausführungen zu Methoden ..... 90**

Erstellung der Stoffdossiers ..... 90
QSAR ..... 90
Closed-Bottle-Test ..... 92
OxiTop-Test (Manometrischer Respirationstest) ..... 94
Inhärente Abbaubarkeit / Mineralisierung ..... 97
Ozonbestimmungen ..... 99
SPE-Anreicherung ..... 103
Amestest ..... 103
Stoffanalytik TZW ..... 104

**Ergänzende Ausführungen zu den Ergebnissen ..... 108**

Bilanzierte Wirkstoffverbräuche (> 1,0 Tonnen) ..... 108
Stoffdossier Acetylsalicylsäure ..... 118
Stoffdossier Allopurinol ..... 120
Stoffdossier Amoxicillin ..... 121
Stoffdossier Carbamazepin ..... 123
Stoffdossier Clarithromycin ..... 126
Stoffdossier Clindamycin ..... 127
Stoffdossier Diclofenac ..... 129
Stoffdossier Fenofibrat ..... 132
Stoffdossier Ibuprofen ..... 134
Stoffdossier Isosorbiddinitrat ..... 136
Stoffdossier Levodopa ..... 137
Stoffdossier Lincomycin ..... 139
Stoffdossier Metamizol ..... 140
Stoffdossier Metformin ..... 143
Stoffdossier Metoprolol ..... 145
Stoffdossier Mycophenolsäure ..... 147
Stoffdossier Naftidrofuryl ..... 148
Stoffdossier Omeprazol ..... 149
Stoffdossier Opipramol ..... 151
Stoffdossier Oxcarbazepin ..... 153
Stoffdossier Paracetamol ..... 154
Stoffdossier Pentoxifyllin ..... 156
Stoffdossier Phenoxymethylpenicillin ..... 159
Stoffdossier Piracetam ..... 161
Stoffdossier Ranitidin ..... 162
Stoffdossier Sulfadimethoxin ..... 164
Stoffdossier Sulfamethazin ..... 166
Stoffdossier Sulfamethoxazol ..... 168
Stoffdossier Sulfasalazin ..... 171
Stoffdossier Tilidin ..... 174
Stoffdossier Trimethoprim ..... 175
Stoffdossier Valproinsäure ..... 177
Stoffdossier Verapamil ..... 180
Ergebnisse zur leichten biologischen Abbaubarkeit ..... 182
Bedingungen und Parameter der Stoffanalytik ..... 193

## Glossar / Abkürzungen[1]

| | |
|---|---|
| AAA | 4-N-Acetylaminoantipyrin |
| AHFS | American Society of Health-System Pharmacists |
| AOK | Allgemeine Ortskrankenkasse |
| ATC | Anatomical Therapeutic Chemical Classification |
| AUC | Area Under Curve |
| CAS | Chemical Abstracts Service |
| CBT | Closed Bottle Test |
| CMR | Cancerogen, Mutagen, Reproduktionstoxisch |
| DDD | Defined Daily Dose |
| DMS | Dimethylsulfamid |
| DMSO | Dimethylsulfoxid |
| DOC | Dissolved Organic Carbon |
| ECOSAR | Ecological Structure-Activity Relationship (QSAR-Modell der EPA) |
| EINECS | European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances |
| ELINCS | European List of Notified Chemical Substances |
| EMEA | European Medicines Agency |
| EPA | Environmental Protection Agency (US-Umweltbehörde) |
| ERA | Environmental Risk Assessment, Umweltrisikoprüfung |
| ESIS | European chemical Substances Information System |
| FAA | 4-N-Formylaminoantipyrin |
| GKV | Gesetzliche Krankenversicherung |
| GOW | Gesundheitlicher Orientierungswert |
| GSH | Glutathion |
| HPLC | High Performance Liquid Chromatography |
| HSDB | Hazardous Substances Data Bank |
| IARC | International Agency for Research on Cancer (der WHO) |
| INN | International Nonproprietary Names |
| IUCLID | International Uniform Chemical Information Database |
| IUPAC | International Union of Pure and Applied Chemistry |
| LC | Liquid Chromatography |
| LD50 | Lethale Dosis für 50 % der Versuchstiere |
| $\log K_{OW}$ | Oktanol/Wasser Verteilungskoeffizient (identisch mit $\log P_{OW}$) |
| ME | Metabolit |
| MITI | Japanese Ministry of International Trade and Industry |
| MRT | Manometrischer Respirationstest |
| MS | Mass Spectrometry (in den Zusammensetzungen LC-MS, LC-MS/MS und MS-MS) |

[1] Abkürzungen wie SI-Einheiten werden nicht erklärt

| | |
|---|---|
| MS | Muttersubstanz (pharmazeutischer Wirkstoff) |
| NDMA | N,N-Dimethylnitrosamin (N-Nitrosodimethylamin |
| NLM | National Library of Medicine |
| NOAEL | No Observed Adverse Effect Level |
| NOEC | No Observed Effect Concentration |
| NOEL | No Observed Effect Level |
| OECD | Organisation for Economic Co-operation and Development |
| ÖKK | Öffentliche Krankenkasse |
| OTC | Over The Counter |
| PEC | Predicted Environmental Concentration |
| PKV | Private Krankenversicherung |
| PNEC | Predicted No Effect Concentration |
| QSAR | Quantitative Structure-Activity Relationship |
| QSPR | Quantitative Structure-Property Relationship |
| REACH | Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals |
| SPE | Solid Phase Extraction |
| t-BuOH | tertiärer Butylalkohol |
| TOC | Total Organic Carbon (gesamter organischer Kohlenstoff) |
| TP | Transformationsprodukt |
| TRGS | Technische Regeln für Gefahrstoffe |
| WHO | Word Health Organization (Weltgesundheitsorganisation) |
| WIdO | Wissenschaftliches Institut der AOK |

# Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Oxidationspotenziale einiger für die Wasserbehandlung interessanter Verbindungen ..... 18
Tab. 2: Charakteristische Nebenprodukte der Trinkwasserozonung ..... 23
Tab. 3: Schema der SPE-Anreicherung ..... 30
Tab. 4: Ergebnis der Bilanzierung aus dem Arzneiverordnungs-Report 2006 ..... 39
Tab. 5: Bilanzierte Wirkstoffe ..... 41
Tab. 6: Zusammenfassung der stoffspezifischen Daten ..... 45
Tab. 7: Komprimierte Zusammenfassung der stoffspezifischen Daten ..... 47
Tab. 8: Auswahl von 19 Muttersubstanzen mit metabolisierter Jahresmenge ..... 49
Tab. 9: Endgültige Stoffauswahl ..... 50
Tab. 10: Biologische Abbaubarkeit gemäß CBT und MRT ..... 53
Tab. 11: Einwaage der Prüfgegenstände in den Inhärenttests ..... 54
Tab. 12: Ermitteln der Konzentration vor und nach dem Ausblasen in der $c_0$-Probe mit Stickstoff ..... 61
Tab. 13: Wiederfindungsraten von Testsubstanzen mit der ausgewählten SPE-Anreicherung ..... 67
Tab. 14: Ames-Tests der Blindwert-Ansätze der Ozonung und Anreicherung ..... 69
Tab. 15: Ames-Tests von 4-N-Acetylaminoantipyrin-Ansätzen mit und ohne Ozonung ..... 69
Tab. 16: Ames-Tests von 4-N-Formylaminoantipyrin-Ansätzen mit und ohne Ozonung ..... 69
Tab. 17: Ames-Tests von Sulfapyridin-Ansätzen mit und ohne Ozonung ..... 71
Tab. 18: Ames-Tests von Metformin-Ansätzen mit und ohne Ozonung ..... 71
Tab. 19: Ames-Tests von Piracetam-Ansätzen nach Ozonung ..... 71
Tab. 20: Ames-Tests von Guanylharnstoff-Ansätzen nach Ozonung ..... 72
Tab. 21: Sulfapyridin 0,5 mg/L nach Ozonung und Anreicherung in DMSO ..... 73
Tab. 22: Sulfapyridin 1,0 mg/L nach Ozonung und Anreicherung in DMSO ..... 73
Tab. 23: Sulfapyridin nach Abbau im Zahn-Wellens-Test, Ozonung und Anreicherung in DMSO ..... 73
Tab. 24: Sulfapyridin 5 mg/L nach Ozonung und Anreicherung in DMSO ..... 73
Tab. 25: QSAR-Prognose (Multicase) von abbaustabilen Biotransformationsprodukten ..... 77
Tab. 26: Zusammensetzung der Stammlösung des Mineralmediums für den CBT ..... 92
Tab. 27: Übersicht der Testansätze im CBT ..... 93
Tab. 28: Übersicht der Testansätze im MRT ..... 95
Tab. 29: Genaue Zusammensetzung der Testansätze im MRT ..... 96
Tab. 30: Versuchsaufbau des Zahn-Wellens Tests mit $CO_2$-Erfassung ..... 98
Tab. 31: LC-MS/MS-Parameter für die Bestimmung von Metformin und Piracetam ..... 105
Tab. 32: LC-MS/MS-Parameter für die Bestimmung von FAA und Piracetam ..... 105
Tab. 33: LC-MS/MS-Parameter für die Bestimmung von Sulfapyridin (u. Sulfamethoxazol) ..... 105
Tab. 34: LC-MS-Parameter für die durchgeführten Full-Scan-Messungen ..... 105
Tab. 35: Wirkstoffe und Wirkstoffkombinationen mit Verbräuchen > 1,0 Tonnen ..... 108
Tab. 36: Auswahl von 19 metabolisierten Wirkstoffen und ihren Metaboliten ..... 112
Tab. 37: Auswahl von 7 Metaboliten und 3 Wirkstoffen ..... 116
Tab. 38: Auswahl von 3 Metaboliten und 2 Wirkstoffen ..... 117
Tab. 39: Acetylsalicylsäure und Metabolite ..... 118
Tab. 40: Allopurinol und Metabolit ..... 120
Tab. 41: Amoxicillin und Metabolit ..... 121
Tab. 42: Carbamazepin und Metabolite ..... 123
Tab. 43: Clarithromycin und Metabolite ..... 126
Tab. 44: Clindamycin und Metabolite ..... 127
Tab. 45: Diclofenac und Metabolite ..... 129
Tab. 46: Fenofibrat und Metabolite ..... 132
Tab. 47: Ibuprofen und Metabolite ..... 134
Tab. 48: Isosorbiddinitrat und Metabolite ..... 136

Tab. 49: Levodopa und Metabolite ..... 137
Tab. 50: Lincomycin und Metabolite ..... 139
Tab. 51: Metamizol und Metabolite ..... 140
Tab. 52: Metformin und Metabolite ..... 143
Tab. 53: Metoprolol und Metabolite ..... 145
Tab. 54: Mycophenolsäure und Metabolite ..... 147
Tab. 55: Naftidrofuryl und Metabolite ..... 148
Tab. 56: Omeprazol und Metabolite ..... 149
Tab. 57: Opipramol und Metabolite ..... 151
Tab. 58: Oxcarbazepin und Metabolite ..... 153
Tab. 59: Paracetamol und Metabolite ..... 154
Tab. 60: Pentoxifyllin und Metabolite ..... 156
Tab. 61: Phenoxymethylpenicillin und Metabolite ..... 159
Tab. 62: Piracetam und Metabolite ..... 161
Tab. 63: Ranitidin und Metabolite ..... 162
Tab. 64: Sulfadimethoxin und Metabolite ..... 164
Tab. 65: Sulfamethazin und Metabolite ..... 166
Tab. 66: Sulfamethoxazol und Metabolite ..... 168
Tab. 67: Sulfasalazin und Metabolite ..... 171
Tab. 68: Tilidin und Metabolite ..... 174
Tab. 69: Trimethoprim und Metabolite ..... 175
Tab. 70: Valproinsäure und Metabolite ..... 177
Tab. 71: Verapamil und Metabolite ..... 180
Tab. 72: Selektierte Ionen der untersuchten Verbindungen ..... 193
Tab. 73: Parameter Ozonungsansatz AAA ..... 193
Tab. 74: Zeitverlauf Ozonung AAA (links Ozon, rechts Prüfsubstanz) ..... 193
Tab. 75: Parameter Ozonungsansatz FAA ..... 193
Tab. 76: FAA (links Ozon, rechts Prüfsubstanz) ..... 193
Tab. 77: Parameter Ozonungsansatz Sulfapyridin ..... 193
Tab. 78: Sulfapyridin (links Ozon, rechts Prüfsubstanz) ..... 194
Tab. 79: Parameter Ozonungsansatz Metformin ..... 194
Tab. 80: Metformin (links Ozon, rechts Prüfsubstanz) ..... 194
Tab. 81: Parameter Ozonungsansatz Piracetam ..... 194
Tab. 82: Piracetam (links Ozon, rechts Prüfsubstanz) ..... 194
Tab. 83: Parameter Ozonungsansatz Sulfapyridin ..... 195
Tab. 84: Sulfapyridin (links Ozon, rechts Prüfsubstanz) ..... 195

# Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Untersuchungsstrategie ..... 15
Abb. 2: Grenzformeln des Ozon-Moleküls ..... 17
Abb. 3: Reaktionsmechanismen von Ozon mit einer elektronenreichen Verbindung ..... 18
Abb. 4: Angriff des Ozons an eine Doppelbindung ..... 19
Abb. 5: Mögliche Folgeprodukte ausgehend von dem reaktiven Carbonyloxid ..... 19
Abb. 6: Bildung von Wasserstoffperoxid aus der Reaktion des Carbonyloxids mit Wasser ..... 20
Abb. 7: Reaktionswege von Ozon im alkalischen Bereich ..... 21
Abb. 8: Bromatbildungswege während der Ozonbehandlung ..... 22
Abb. 9: Strukturen von Tolylfluanid und den Transformationsprodukten DMS und NDMA ..... 23
Abb. 10: Schema der Starkwassererzeugung für die Durchführung der Batch-Versuche ..... 24
Abb. 11: Arzneimittel, Metabolisierung und Transformation im Wasserkreislauf ..... 36
Abb. 12: Übersicht zur Stoffauswahl ..... 51
Abb. 13: Struktur 4-N-Acetylaminoantipyrin ..... 52
Abb. 14: Struktur 4-N-Formylaminoantipyrin ..... 52
Abb. 15: Struktur Sulfapyridin ..... 52
Abb. 16: Struktur Metformin ..... 52
Abb. 17: Struktur Piracetam ..... 52
Abb. 18: Struktur Guanylharnstoff ..... 52
Abb. 19: DOC-Elimination und $CO_2$-Entwicklung von Acetylaminoantipyrin im Kombinationstest ..... 54
Abb. 20: DOC-Elimination Acetylaminoantipyrin im Zahn-Wellens-Test ..... 55
Abb. 21: Analytik zur Abbaubarkeit von Acetylaminoantipyrin ..... 55
Abb. 22: DOC-Elimination und $CO_2$-Entwicklung von Formylaminoantipyrin im Kombinationstest ..... 56
Abb. 23: DOC-Elimination von Formylaminoantipyrin im Zahn-Wellens-Test ..... 56
Abb. 24: Analytik zur Abbaubarkeit von Formylaminoantipyrin ..... 56
Abb. 25: DOC-Elimination und $CO_2$-Entwicklung von Sulfapyridin im Kombinationstest ..... 57
Abb. 26: DOC-Elimination von Sulfapyridin im Zahn-Wellens-Test ..... 57
Abb. 27: Analytik zur Abbaubarkeit von Sulfapyridin ..... 58
Abb. 28: DOC-Elimination und $CO_2$-Entwicklung von Metformin im Kombinationstest ..... 58
Abb. 29: DOC-Elimination von Metformin im Zahn-Wellens-Test ..... 58
Abb. 30: Analytik zur Abbaubarkeit von Metformin ..... 59
Abb. 31: DOC-Elimination und $CO_2$-Entwicklung von Piracetam im Kombinationstest ..... 59
Abb. 32: Begleitende Analytik zur Abbaubarkeit von Piracetam ..... 60
Abb. 33: Ozonzehrung in der Blindprobe ..... 61
Abb. 34: Abnahme von AAA während der Ozonung ..... 62
Abb. 35: Abnahme von FAA während der Ozonung ..... 62
Abb. 36: Abnahme von Sulfapyridin-I während der Ozonung ..... 63
Abb. 37: Abnahme von Sulfapyridin-II während der Ozonung ..... 63
Abb. 38: Abnahme von Sulfapyridin-IV während der Ozonung ..... 64
Abb. 39: Abnahme von Metformin während der Ozonung ..... 65
Abb. 40: Abnahme von Piracetam während der Ozonung ..... 65
Abb. 41: Abnahme von Guanylharnstoff während der Ozonung ..... 66
Abb. 42: Full-Scan-Messungen ..... 67
Abb. 43: Verfügbarkeit von Stoffdaten in den IUCLID-Datensätzen ..... 75
Abb. 44: UV-Absorptionsspektrum von Ozon ..... 100
Abb. 45: Mechanismus der Ozonolyse des Indigos ..... 101
Abb. 46: LC-MS-Full-Scan-Messungen unterschiedlicher Sulfapyridin-Proben ..... 106
Abb. 47: Statist. Vergleich d. Vorkommens bestimmter Massen in versch. Sulfapyridin-Proben ..... 107
Abb. 48: Closed-Bottle-Test 4-N-Acetylaminoantipyrin ..... 183

Abb. 49: OxiTop-Test 4-N-Acetylaminoantipyrin ..... 184
Abb. 50: Closed-Bottle-Test 4-N-Formylaminoantipyrin ..... 185
Abb. 51: OxiTop-Test 4-N-Formylaminoantipyrin ..... 186
Abb. 52: Closed-Bottle-Test Sulfapyridin ..... 187
Abb. 53: OxiTop-Test Sulfapyridin ..... 188
Abb. 54: Closed-Bottle-Test Metformin ..... 189
Abb. 55: OxiTop-Test Metformin ..... 190
Abb. 56: Closed-Bottle-Test Piracetam ..... 191
Abb. 57: OxiTop-Test Piracetam ..... 192

## Zusammenfassung

Bis heute konnten zahlreiche Untersuchungen Arzneimittel in der aquatischen Umwelt nachweisen, wobei unter "Arzneimitteln" sowohl die unveränderten Wirkstoffe als auch die davon abgeleiteten Substanzen verstanden werden können. In diesem Projekt folgen wir der Nomenklatur, die alle im Arzneimittel enthaltenen Substanzen als *Wirkstoffe* bzw. *Muttersubstanzen* (MS) bezeichnet, alle innerhalb des menschlichen Körpers gebildeten Substanzen als *Metabolite* (ME) und alle nachfolgend entstehenden als *Transformationsprodukte* (TP), wobei bakterielle TP, abiotisch entstehende TP und beispielsweise durch die Trinkwasseraufbereitung erzeugte, technische TP möglich sind.

Wir haben die Frage untersucht, inwieweit aus persistierenden MS und ME bei der Trinkwasseraufbereitung durch Ozonung mutagene/gentoxische TP entstehen können.

Zunächst entwickelten wir ein Verfahren zur Auswahl von potenziell problematischen MS und ME. In einem zweiten Schritt untersuchten wir ausgewählte Substanzen auf ihren biologischen Abbau, auf das Verhalten bei der Trinkwasser-Ozonung sowie nachfolgend die ozonten Ansätze nach einem zwischengeschalteten Anreicherungsschritt (Festphasenextraktion – SPE) im Ames-Test auf mutagene Wirkungen. Nicht ozonte Abbaulösungen haben wir auch direkt im Ames-Test untersucht.

Unser Auswahlverfahren nutzt im ersten Schritt die jährlich publizierte Bilanzierung auf Grundlage des in Deutschland vollständig dokumentierten Verbrauches der GKV-finanzierten und von niedergelassenen Ärzten verschriebenen Fertigarzneien. Diese Auswertung ist an den MS orientiert und deckt für die meisten Substanzen auch deren tatsächlichen Verbrauchsschwerpunkt ab. In einem Stufenprozess wählten wir aus anfänglich 706 bilanzierten MS letztlich 19 intensiv metabolisierte Substanzen aus, von denen insgesamt 36 Strukturisomere und 84 ME identifiziert wurden. Diese 120 Stoffe bewerteten wir toxikologisch und umwelthygienisch ausführlich. Grundlage waren Literaturdaten sowie QSAR-Berechnungen zur biologischen Abbaubarkeit, zur Mobilität und zur Mutagenität/Gentoxizität. Praktisch untersucht haben wir die ME *4-Acetamidoantipyrin*, *4-Formylaminoantipyrin* und *Sulfapyridin* sowie die unverändert ausgeschiedenen MS *Metformin* und *Piracetam*. *Guanylharnstoff*, ein kürzlich identifiziertes, stabiles Transformationsprodukt von Metformin haben wir ebenfalls ozont.

Außer *Piracetam* waren alle Substanzen nur unvollständig biologisch abbaubar, was auf die Bildung abbaustabiler, bakterieller TP hinweist. Als Reinsubstanzen eingesetzt, konnten wir *Metformin*, *Piracetam* und *Guanylharnstoff* auch nach der Ozonung noch teilweise nachweisen. Bei *Metformin* und *Piracetam* haben wir Hinweise auf die Bildung technischer TP durch Ozonung erhalten. Die drei untersuchten ME wurden nach unseren Untersuchungen durch die Ozonung vollständig abgebaut. Mit keinem der durchgeführten Ansätze konnten wir mit unserer Methodik im Ames-Test ein eindeutig positives Ergebnis erzielen. Eignung und Leistungsfähigkeit der Methodik müssen noch weiter untersucht werden.

## Summary

To date, many investigations have been able to detect pharmaceuticals in the aquatic environment, whereby "pharmaceuticals" may refer to the unmodified active ingredient or a derivative substance. In this project, we follow the nomenclature, that denotes all originally applied substances as *active ingredients* or *mother substances* (MS); hence, all substances having undergone modification in the human body are referred to as *metabolites* (ME) and all subsequently arising products are referred to as *transformation products* (TP); these may be bacterial TP, abiotic TP or technical TP, resulting for example from drinking water purification.

The main focus of the project is whether persisting MS and ME can lead to mutagenic/genotoxic TP if drinking water purification includes an ozonation process.

First, we developed a method to identify potentially problematic MS and ME. Next, selected substances were tested in respect of their biodegradability and fate during drinking-water-ozonation. The Ames-test to identify mutagenic activity was performed using the original solutions of the biodegradability tests and the same solutions after ozonation – here we interposed solid-phase extraction (SPE) to concentrate substances before the Ames-test.

For substance selection we utilised the balance of all proprietary medicinal products prescribed by general practitioners and paid for by the Statutory Health Insurance system. In Germany, this comprehensive analysis of prescriptions is published once a year, and for most substances (MS) this balance represents the main focus of consumption. From a total number of 706 balanced MS, we selected 19 MS known to undergo intensive metabolisation and identified 36 isomeric MS and 84 ME. These 120 substances were screened for their toxicological and environmental relevance. We considered literature as well as QSAR-models, computing the endpoints biodegradability, mobility and mutagenicity/genotoxicity. The laboratory study included the ME *4-acetamidoantipyrine*, *4-formylaminoantipyrine* and *sulfapyridine* as well as the MS *metformin* and *piracetam*, which are excreted without metabolisation. We also ozonated *guanylurea*, a recently identified dead-end TP of metformin.

With the exception of *piracetam*, all the tested substances were only incompletely biodegradable, suggesting formation of stable bacterial TP. *Metformin*, *piracetam* and *guanylurea* could not be removed completely by the ozonation process. We received some evidence that technical TP are formed by ozonation of *metformin* and *piracetam*, whereas all tested ME were completely degraded by this treatment. None of the experiments showed an increase in mutagenicity in the Ames-test. The adequacy and sensitivity of the methodology need to be further investigated.

# 2 Einleitung und Aufgabenstellung

## 2.1 Arzneimittel in der aquatischen Umwelt

Bereits in den 70er Jahren des letzten Jahrhunderts wurden vereinzelt Befunde zum Vorkommen von Arzneimitteln in der Umwelt publiziert. Früh bekannt gewordene Beispiele betreffen z.B. das Hormon Ethinylestradiol, welches nach der Einführung der Antibabypille verbreitet Verwendung fand [66, 95] oder in Deutschland ab 1992 den Lipidsenker-Metaboliten Clofibrinsäure [117, 118,]. Hierzu hat sich auch 1994 das damalige Bundesgesundheitsamt geäußert, indem es auf die Konzentration im Berliner Oberflächen-, Grund- und Trinkwasser weit unterhalb einer Wirkschwelle verwiesen hat – aber auch auf grundsätzliche umwelthygienische Bedenken [20]. Mitte der 80er Jahre erschien von Richardson und Bowron [97] die erste relativ ausführliche Studie, die sich mit der biologischen Abbaubarkeit und dem Austrag von Arzneimitteln aus Kläranlagen beschäftigte.

Durch die Arbeit mehrerer Arbeitsgruppen erfuhr das Thema "Arzneimittel in der Umwelt" ab Mitte der 90er Jahre eine große Aufmerksamkeit – in Deutschland sowie dann auch im weiteren europäischen Raum. Die meisten Arbeiten konzentrierten sich zunächst auf leicht nachzuweisende und von der Menge her bedeutende Wirkstoffe wie beispielsweise Lipidsenker, Betablocker oder Schmerzmittel [55, 121]. Wie schon bei den als besonders gefährlich eingeschätzten Zytostatika [68] wurden später systematischere Ansätze gewählt, bei denen nicht nur der Nachweis der Stoffe, sondern auch deren Verhalten, wie z.B. die Abbaubarkeit und die Wirkung auf Umweltorganismen betrachtet wurden [2, 51, 53, 61]. Heute werden Arzneimittelrückstände im Zu- und Ablauf von Kläranlagen, in Oberflächenwässern und vereinzelt auch im Grund- und Trinkwasser weltweit nachgewiesen, wie Studien aus den Niederlanden [105, 110], den skandinavischen Staaten [49, 52], der Schweiz [15, 120], Italien [22], Spanien [23] und den USA [64] sowie andere, zusammenfassende Darstellungen [56, 66] belegen.

Neben Humanarzneimitteln wurden analoge Untersuchungen für Veterinärarzneimittel durchgeführt [122]. Diese konnten in Böden nachgewiesen werden und in Einzelfällen wurde ihr Vordringen auch ins Grundwasser nachgewiesen [136].

## 2.2 Situation in Deutschland

Sowohl das Umweltbundesamt [100, 125, 126, 127, 129] als auch der *Bund-Länder-Arbeitskreis Chemikaliensicherheit* (BLAC) [14] befassen sich seit Jahren intensiv mit dem Vorkommen von Arzneimitteln im Wasserkreislauf. Weitere Studien zu Verbrauchs- und Eintragsmengen sowie zum Nachweis der Stoffe wurden von Nord-

rhein-Westfalen [13], in Baden-Württemberg [17, 101, 102] und Bayern [11, 115], von der *Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe* (Arge Elbe) [96] sowie von Brandenburg [54] aufgesetzt. Einige Vorhaben sind speziellen Fragestellungen wie der Verbreitung von Antibiotikaresistenzen [57] oder den Umweltrisiken von Zytostatikaemissionen [67] gewidmet.

Bislang standen in erster Linie die applizierten Wirkstoffe selbst im Fokus des Interesses, nicht aber die ggf. im Stoffwechsel von Mensch und Tier entstehenden Produkte – im Folgenden Metabolite genannt – sowie die ggf. außerhalb des Körpers entstehenden Produkte – im Folgenden Transformationsprodukte genannt (zur Terminologie siehe Kapitel 4.1, S. 34ff).

Das hier durchgeführte und beschriebene Forschungsvorhaben ist ein Beitrag dazu, wie der Kenntnisstand über das Vorkommen und die Relevanz von Arzneimittelmetaboliten und -transformationsprodukten in der aquatischen Umwelt zu verbessern ist und es formuliert den Forschungsbedarf hierzu. Im Zentrum unseres Interesses steht die Möglichkeit des Entstehens von trinkwasserrelevanten Metaboliten und Transformationsprodukten mit gentoxischen Eigenschaften.

## 2.3 Metabolite

Nach Applikation eines pharmazeutischen Wirkstoffes kann dieser unverändert ausgeschieden oder durch den körpereigenen Stoffwechsel und/oder seine mikrobielle Flora charakteristisch verändert oder gar vollständig abgebaut werden. Die Metabolisierungs- und Ausscheidungsraten schwanken je nach Wirkstoff zwischen 0 % und 100 %. Ein Beispiel für intensive Metabolisierung ist das Antirheumatikum Diclofenac, von dem weniger als 1 % der applizierten Dosis unverändert ausgeschieden werden. Ein Beispiel für keinerlei Metabolisierung ist das Antidementivum Piracetam.

Manche Substanzen – trotzdem als Wirkstoff bezeichnet – bilden ihre arzneilich wirksame Form überhaupt erst nach einer metabolischen Aktivierung aus. Solche Substanzen werden als *Prodrug* bezeichnet. Beispiele für arzneilich unwirksame Prodrugs sind die Zytostatika Ifosfamid und Cyclophosphamid. Erst die Metaboliten Acrolein und Isophosphamid-Lost (Ifosfamid) sowie Acrolein und Phosphoramidlost (Cyclophosphamid) sind die DNA-aktiven Antitumor-Substanzen. Auch bei den Nicht-Prodrugs zeigen Metabolite oftmals eine pharmakologische Effektivität, diese kann geringer oder auch gleich hoch wie die des ursprünglich applizierten Wirkstoffes sein.

Auch wenn die im Sinne der jeweiligen Arzneimittelindikation beabsichtigte Wirksamkeit bei der Metabolisierung verlorengeht, so ist damit nicht unbedingt gesagt, dass solche Metabolite keinerlei human- oder ökotoxikologische Bedeutung mehr haben.

Trotzdem ist festzustellen, dass bei der langjährigen Erforschung der Umweltrisiken, die aus der Verwendung von Arzneimitteln resultieren, die Bewertung der Metaboliten bislang erstaunlich wenig Aufmerksamkeit gefunden hat.

Als Reaktion auf die Auswertung des Arzneimitteluntersuchungsprogrammes bat schließlich in 2003 die 61. Umweltministerkonferenz den Bundesumweltminister, das Umweltbundesamt zu beauftragen, Arzneistoffe zu identifizieren, die in relevanten Mengen – auch als stabile Metabolite – in die Umwelt gelangen können. Gegebenenfalls sollten auch neue Testmethoden, insbesondere als Grundlage für die Bewertung chronischer Arzneistoffexpositionen, entwickelt werden. Arzneimittel und Metabolite mit hohem toxischen Potenzial sowie mit hoher Persistenz und hohem Akkumulationspotenzial sollten auch dann berücksichtigt werden, wenn sie in nur relativ geringen Mengen in die Umwelt gelangen.

## 2.4 Transformationsprodukte aus der Umwelt

Stoffe, die unverändert oder als Metabolite ausgeschieden werden, können im Abwasser, bei der Abwasserreinigung oder als Spurenstoffe in Oberflächenwässern modifiziert werden und weitere abbaustabile Substanzen erzeugen: die Transformationsprodukte. Solche Stofftransformationen können aus unvollständigem mikrobiellen Abbau resultieren oder abiotisch aus Hydrolyse, Redoxreaktionen oder Photolyse. Auch durch Komplexierung mit Kationen oder durch Interaktion mit Huminstoffen sind deutliche Eigenschaftsveränderungen möglich.

Viele Wirkstoffe werden durch die kommunale Abwasserbehandlung nur unzureichend entfernt [14, 23, 24]. Bislang konnten z.B. für manche Antibiotika [47], für das Röntgenkontrastmittel Amidotrizoesäure [51] und für den Calciumantagonisten Verapamil [123] abbaustabile Transformationsprodukte gefunden werden. In anderen Studien wurde z.B. für den Lipidsenker Bezafibrat im bakteriellen Abbauversuch eine hydrolytische Spaltung zu 4-Chlorbenzoesäure und für das Antiphlogistikum-Analgetikum Ibuprofen eine Hydroxylierung als primärer Abbauschritt nachgewiesen [94]. Transformationen durch photolytische und/oder oxidative Reaktionen können zu mutagenen oder gentoxischen Produkten führen, wie aus entsprechenden Verfahren der Wasserbehandlung hinreichend bekannt ist (vgl. nächstes Kapitel 2.5).

Aus manchen Metaboliten, z.B. aus Konjugationsprodukten des Glutathions, der Glukuronsäure, des Glycins oder des Sulfats, können in Kläranlagen durch Rückspaltung sogar die ursprünglichen Wirkstoffe wieder entstehen.

## 2.5 Technische Transformationsprodukte aus der Trinkwasseraufbereitung

Gemäß §6 der Trinkwasserverordnung (TVO) [19] dürfen im Trinkwasser keine chemischen Stoffe in Konzentrationen enthalten sein, die Anlass zu gesundheitlicher Besorgnis bieten. Darüber hinaus besteht nach §6(3) TVO eine Verpflichtung, Verunreinigungen zu minimieren. Die Trinkwasseraufbereitung in den Wasserwerken dient deshalb, abgesehen von den mikrobiologischen Anforderungen, auch der Herstellung eines in chemischer Hinsicht einwandfreien Trinkwassers. In Fällen, in

denen anthropogen beeinflusstes Grund- oder Oberflächenwasser als Trinkwasserressource eingesetzt wird, ist zur Einhaltung der Qualitätsanforderungen häufig eine mehrstufige Aufbereitung notwendig. Die Art der Aufbereitung richtet sich nach dem jeweiligen Verunreinigungsgrad des Rohwassers und den örtlichen Gegebenheiten. Bei stärker anthropogen beeinflussten Wässern kommen oft mehrere Verfahren oder Verfahrenskombinationen zum Einsatz. Wichtige Verfahrensstufen sind dabei Uferfiltration, chemische Oxidation mit Ozon, Aktivkohleadsorption und Sicherheitschlorung.

Bei der Uferfiltration unterliegt das infiltrierte Oberflächenwasser einer Bodenpassage, bei der insbesondere mikrobielle Prozesse zu einem partiellen Umbau oder zu einer vollständigen Mineralisierung der enthaltenen Fremdstoffe führen können. Erfahrungswerte von einer beträchtlichen Anzahl von Standorten lassen den erheblichen Einfluss dieser Bodenpassage auch bei pharmazeutischen Wirkstoffen erkennen. In einem BMBF-Forschungsvorhaben konnte gezeigt werden, dass etwa 80 % der in den Oberflächengewässern mengenmäßig dominierenden Arzneimittelwirkstoffe nach der Uferpassage nicht mehr nachweisbar sind [107]. Ob die Substanzen dabei mikrobiell vollständig mineralisiert, modifiziert oder nur adsorbiert wurden, ist bisher im Einzelfall bislang nicht untersucht worden. Offensichtlich kann jedoch eine Reihe von Arzneimittelwirkstoffen, die in der Kläranlage nicht vollständig eliminiert werden, in nachgeschalteten Kompartimenten partiell oder vollständig mikrobiell abgebaut werden.

Müssen bei der Trinkwasseraufbereitung organische Spurenstoffe entfernt werden, so ist die Behandlung mit Oxidationsmitteln, insbesondere mit Ozon, in Deutschland Stand der Technik [74, 131, 132]. Darüber hinaus können organische Substanzen auch bei der Desinfektion mit Chlor oder durch UV-Bestrahlung über Umlagerungs-, Oxidations- und/oder Additions- bzw. Substitutionsreaktionen transformiert werden [58]. Jede Veränderung der chemischen Struktur bewirkt, dass eine Substanz nicht mehr nachweisbar ist und im allgemeinen Sprachgebrauch als "eliminiert" oder als "primär eliminiert" gilt. Tatsächlich kommt es häufig jedoch nicht zu einer vollständigen Mineralisation [z.B.9, 10], sondern es entstehen organische Reaktions- und Umbauprodukte, die unter Umständen auch durch nachfolgende Aufbereitungsstufen nicht aus dem Wasser entfernt werden.

Während die technischen Fragestellungen der Umsetzung des Ozonungsprozesses in der Praxis der Trinkwasseraufbereitung heute weitgehend gelöst sind, sind die chemischen Vorgänge und insbesondere die Bildung und die Beurteilung der entstehenden Reaktionsprodukte noch immer mit vielen Fragezeichen verbunden. Über Transformationsprodukte, die bei der Reaktion von Arzneimittelwirkstoffen oder hormonell wirksamen Stoffen mit Ozon, Chlor oder UV-Strahlung entstehen, liegen bislang nur wenige Erkenntnisse vor. McDowell et al. [79] konnten im EU-Projekt *POSEIDON* nachweisen, dass bei der Umsetzung des Antiepileptikums Carbamazepin mit Ozon die Transformationsprodukte BQM [1-(2-Benzaldehyd)-4-hydro-(1H,3H)-quinazolin-2-on], BQD [1-(2-Benzaldehyd)-(1H,3H)-quinazolin-2,4-dion] und BaQD

[1-(2-Benzoesäure)-(1H,3H)-quinazolin-2,4-dion] entstehen können. Im selben Projekt wurden auch mögliche Transformationsprodukte der Ozonung des Hormons Ethinylestradiol untersucht [59], einem Wirkstoff vieler Kontrazeptiva. Über die toxikologische Relevanz von Arzneimittel-Transformationsprodukten wurden in allen genannten Arbeiten keine Aussagen getroffen. Grundsätzlich können die Transformationsprodukte der Trinkwasseraufbereitung auch bei der Abwasserbehandlung entstehen, wenn dort entsprechende Verfahren zur Anwendung kommen.

Dass im Rahmen des mikrobiellen Abbaus und bei der Trinkwasseraufbereitung aus anthropogenen organischen Spurenstoffen unter Umständen auch aktivierte und toxikologisch hoch relevante Transformationsprodukte gebildet werden können, zeigten unter anderem Matsushita et al. [76, 77, 78]. Bei ihrer Untersuchung des aeroben, anaeroben und photolytischen Abbaus des Insektizids Fenitrothion stellten diese Autoren in verschiedenen Ames-Stämmen eine Zunahme der Mutagenität nach anaerobem Abbau und eine Verschiebung der Mutagenitätsspektren durch Photoabbau fest – die Punktmutationen nahmen ab, während Frameshift-Mutationen zunahmen.

## 2.6 Struktur-Eigenschafts-Beziehungen zum Umweltverhalten

Bereits geringe strukturelle Veränderungen eines Moleküls können dessen physikalisch-chemische Eigenschaften, die biologische Wirksamkeit, aber auch die Abbaubarkeit wesentlich beeinflussen. Bezüglich des photochemischen [46] wie auch des chemischen Abbaus sind einige begünstigende Strukturelemente wie z.B. Mehrfachbindungen oder Estergruppen bekannt und auch die Bedingungen, unter denen es zu einem Abbau durch Hydrolyse kommt [98]. Gleiches gilt für die biologische Abbaubarkeit [3, 50, 98]. Weitere Beispiele sind die Verschlechterung der Abbaubarkeit organischer Verbindungen durch Fluorierung sowie die Verstärkung wie auch Verminderung der Toxizität durch Einführen einer Hydroxylgruppe beim Benzol.

In den vergangenen zwei Jahrzehnten wurden zahlreiche Computer-basierte Methoden zur Berechnung von Stoffeigenschaften entwickelt und retrospektiv zur Bewertung von Umweltschadstoffen eingesetzt. Dazu werden physiko-chemische Parameter wie z.B. Flüchtigkeit und Wasserlöslichkeit, aber auch zunehmend heterogenere Gruppen von Stoffen modelliert. Für die Risikobewertung werden mit diesen Rechenmodellen auch Ökotoxizitäts- und Abbaueigenschaften vorhergesagt.

Zur Beurteilung der Bioabbaubarkeit [3] oder der Aktivität und Toxizität neuer Wirkstoffe stehen heute leistungsfähige Computerprogramme zur Verfügung (z.B. Multicase, TOPKAT, BESS, O-REX, DEREK, Chem Prop und andere). Die EU beabsichtigt, in ihrem Chemikalienrecht vermehrt QSAR (*Quantitative Structure-Activity* Relationship) zur Beurteilung des Umweltverhaltens von Stoffen zuzulassen und die Forschung voranzutreiben [65].

Die US Umweltbehörde EPA praktiziert dies schon in größerem Ausmaß und stellt im Rahmen der Stoffbewertung eigens ein QSAR/QSPR-Softwarepaket (EPI Suite[2]) über das Internet kostenlos zur Verfügung (QSPR = *Quantitative Structure-Property Relationship*)[3], das jedoch hinsichtlich der Güte der Vorhersagen gewissen Einschränkungen unterliegt. So kann mit diesem Softwarepaket, wie mit vielen anderen der oben genannten, auch nur ein einziger Parameter evaluiert werden, d.h. es können auch keine eigenen Datenbanken mit weiteren Parametern aufgebaut werden. Dies ist ein gravierender Nachteil solcher Programme. Meist sind die zugrundeliegenden Datensätze und die verwendeten Algorithmen nicht einsehbar – in solchen Fällen kann die Qualität der Vorhersage nicht eingeschätzt werden. Auch können die Ergebnisse nicht durch verbesserte Daten erweitert oder validiert werden [44]. Darüber hinaus eigenen sich viele Modelle nicht dazu, das für eine bestimmte Eigenschaft verantwortliche Strukturelement eines Moleküls zu identifizieren.

Im Gegensatz dazu verfügen einige Modelle über Lerndatensätze und Expertensysteme wie z.B. Multicase können im Idealfall laufend mit experimentellen Daten ergänzt und validiert, d.h. dem Erkenntnisfortschritt angepasst werden. Auch Erweiterungen um neue Parameter, wie z.B. die Sorption im Grundwasserleiter, sind möglich, sofern experimentelle Daten dafür vorliegen bzw. erarbeitet werden können. Mit solchen Stoffparametern kann z.B. das Transportverhalten im Untergrund modelliert werden.

Ergebnisse von Struktureigenschaftsmodellen können auch Eingang in andere Modelle finden. So kann bei der Simulation der Ausbreitung in Oberflächen- und Grundwässern das *Umweltverhalten* von schwer abbaubaren Stoffen besser eingeschätzt werden. Dies ermöglicht dann eine vorläufige Risikoabschätzung, ohne dass im Idealfall der Stoff überhaupt synthetisiert und experimentell untersucht werden muss. Dazu können auch Ausbreitungsmodelle unterschiedlicher Komplexität Verwendung finden (z.B. GREAT-ER [109], Simple Treat [48]). Bessere Kenntnisse über das Transportverhalten von Spurenstoffen im aquatischen System werden von der Senatskommission für Wasserforschung als wichtig angesehen [30]. Expertensysteme wie z.B. META [114] erlauben eine Aussage, mit welchen Metaboliten im Säugerorganismus und mit welchen Transformationsprodukten beim biologischen und photochemischen Abbau zu rechnen ist. Damit ist es möglich, auch Abbauzwischenprodukte in die Überlegungen einzubeziehen.

## 2.7 Relevanz für den Menschen – toxikologische Bewertung

Human- wie Tierarzneimittel erzielen ihre pharmakologische Wirkung häufig aufgrund einer sehr spezifischen molekularen Wechselwirkung. Metabolite können ähnliche pharmakologische Wirkungen aufweisen wie die Muttersubstanzen, wenn auch

[2] EPI = Estimation Programs Interface
[3] http://www.epa.gov/oppt/exposure/pubs/episuite.htm
www.epa.gov/oppt/newchems/tools/21ecosar.htm

häufig mit geringerer Potenz. Die Wirkung kann sich bereits bei geringen strukturellen Änderungen des Moleküls abschwächen oder ändern.

Einige Informationen zu relevanten Metaboliten werden bei den Prüfungen im Rahmen des Zulassungsverfahrens gewonnen. Studien zur Toxikokinetik gehören in Europa, den USA und in anderen Ländern zum vorklinischen Prüfprogramm.

Arzneimittel unterliegen nicht den im Chemikaliengesetz vorgeschriebenen Prüfungen auf (Öko)toxizität. Eine Prüfung neuer Wirkstoffe erfolgt jedoch im Rahmen des Zulassungsverfahrens auf Grundlage des von der *Safety Working Party* der *Europäischen Arzneimittelagentur* (EMEA[4]) veröffentlichten Leitfadens [84]. Dieser ist seit Dezember 2006 in Kraft und sieht eine Umweltrisikoprüfung (ERA[5]) vor. Der Leitfaden beschreibt ein Stufenmodell, das sich vor allem an den erwarteten Umweltkonzentrationen orientiert. Ein neuer Wirkstoff muss einer Umweltrisikoprüfung meist erst dann unterzogen werden, wenn er in einer Menge eingesetzt wird, die zur Überschreitung des PEC[6]-Aktionswertes von 0,01 µg/L führt. Nur für Substanzen mit besonders hohem Risikopotenzial – z.B. bei hormoneller Wirkung oder bei hoher Lipophilie[7] – wird eine Umweltrisikoprüfung unabhängig vom PEC-Wert verlangt. Eine Umweltrisikoprüfung soll auch dann durchgeführt werden, wenn ein alter Wirkstoff wesentlich häufiger eingesetzt wird als bisher, z.B. infolge einer neuen Indikation.

Erst die vertiefte Umweltprüfung nach Stufe B in Phase II sieht ausdrücklich die Berücksichtigung von relevanten Metaboliten vor. Relevant ist ein Metabolit dann, wenn sein Anteil an der Ausscheidungsmenge ≥ 10 % ist.

In Deutschland hat bislang insbesondere das Bund-Länder-Untersuchungsprogramm *Arzneimittel in der Umwelt* [14] auch zum Vorkommen von Metaboliten relevante Informationen erbracht. Die human- und ökotoxische Wirkung von Metaboliten ist in der Regel nur sehr unzureichend charakterisiert. Arzneimittelmetabolite sind in der Regel besser wasserlöslich als die Ausgangssubstanzen und werden somit besser ausgeschieden als diese. Sie zeigen damit aber auch eine höhere Mobilität im Wasserkreislauf.

Über stabile Transformationsprodukte, die aus Wirkstoffen bzw. deren Metaboliten in der Umwelt oder bei der Trinkwasseraufbereitung entstehen, liegen noch viel weniger Informationen vor (siehe Kapitel 2.3 und 2.4). Für Transformationsprodukte liegen in der Regel überhaupt keine toxikologischen Daten vor. Der BLAC empfiehlt deshalb weitere Untersuchungen zur Identifizierung wichtiger umwelt- und wasserwerksrelevanter Metaboliten und weiterer voraussichtlich relevanter, bisher nicht untersuchter Wirkstoffe [14, S. 110].

---

[4] EMEA = European Medicines Agency
[5] ERA = Environmental Risk Assessment
[6] PEC = Predicted Environmental Concentration
[7] bei einem $\log K_{OW}$ (Oktanol/Wasser Verteilungskoeffizient) > 4,5

Bisherige Ansätze zur Risikobewertung fokussierten auf die pharmakologisch bekannten Wirkungen der Muttersubstanzen. Sie kamen – auf der Basis eingeschränkter Daten und nur für wenige Wirkstoffe – zu dem Schluss, dass aufgrund der geringen Konzentrationen nur eine geringe oder keine Besorgnis für die menschliche Gesundheit besteht [25, 27, 112]. Zur gesundheitlichen Bedeutung von Metaboliten und Transformationsprodukten liegen jedoch kaum Aussagen vor. Unter anderem bei der Trinkwasserbehandlung durch Ozonung, Chlorung oder UV-Bestrahlung ist auch die Bildung weiterer Transformationsprodukte möglich. Besonderes Augenmerk ist hier auf die mögliche Entstehung gentoxischer Transformationsprodukte zu richten.

Die Bildung gentoxischer Verbindungen bei der Aufbereitung von Trinkwasser, insbesondere aus Oberflächenwasser, ist seit langem bekannt. In der Literatur wurden mehr als 500 Verbindungen beschrieben, die als Desinfektionsnebenprodukte (DNP) bei der Trinkwasseraufbereitung entstehen. Einige DNP, wie Trihalogenmethane, halogenierte Essigsäuren, Bromat oder halogenierte Hydroxyfurane (MX und Analoge) sind in diversen in-vitro Tests gentoxisch wirksam [6, 135].

DNP entstehen aus vielfältigen natürlichen organischen oder anorganischen (z.B. Ammonium oder Bromid) Verbindungen (Precursor-Substanzen). Die DNP-Fraktion wird meist über Summenparameter wie TOC[8] beschriebenen.

Eine Übersicht über das Vorkommen und die komplexe Problematik der toxikologischen Bewertung von Arzneimittelspuren, Metaboliten und Transformationsprodukten im Trinkwasser, wird von Dieter und Mückter gegeben [31].

Aus epidemiologischen Studien ergeben sich Verdachtsmomente, die einen Zusammenhang der Trinkwasserchlorung mit dem Auftreten bestimmter Krebsarten, insbesondere Blasenkrebs, nahelegen. Allerdings ist die Datenlage für eindeutige Schlüsse unzureichend [6, 60]. Trotzdem wurden zwei Nebenprodukte der Trinkwasserchlorung, Dichloressigsäure und 3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon (MX), von der *International Agency for the Research on Cancer* (IARC) als mögliche Humankanzerogene eingestuft [60]. Zur Entstehung von gentoxischen Transformationsprodukten aus Arzneimittelwirkstoffen oder aus deren Metaboliten während der Trinkwasserdesinfektion liegen, soweit nach kursorischer Prüfung ersichtlich, keine Literaturdaten vor. Das hohe fachöffentliche Interesse an dieser Problematik führte im April 2004 auf Einladung des Umweltbundesamtes zum internationalen Symposium "*Genotoxicity and Immunotoxicity: Unwelcome Effects in Aquatic Systems*".

Längst ist klar, dass die Bildung gentoxischer Verbindungen nicht nur durch die Trinkwasserchlorung induziert wird, sondern auch durch die alternativen Verfahren der Ozonung und UV-Bestrahlung. So entsteht beispielsweise bei der Ozonung von bromidhaltigem Wasser das mutmaßlich gentoxische Bromat [39]. Die Bildung von allein nicht gentoxischen Co-Mutagenen ist u.a. für die Chlorung heterozyklischer

[8] TOC = Total Organic Carbon (gesamter organischer Kohlenstoff)

Nitroaromaten oder Phenanthrenen [81, 90] sowie für den UV-Abbau von Pestiziden [77] beschrieben.

Der Ames-Test ist, insbesondere mit den beiden Teststämmen TA98 und TA100, der am häufigsten angewandte Mutagenitätstest im Wasserbereich [62, 89, 91]. Für die Untersuchung von Trinkwasser bzw. von Oberflächenwasser – z.B. Spurenstoffe betreffend – muss deren Konzentration für die Testung meist durch Anreicherungsverfahren erhöht werden [26, 69]. Der Ames-Test wird seit Jahrzehnten auch zur Risikoabschätzung von Desinfektionsnebenprodukten der Trinkwasseraufbereitung eingesetzt [6, 18, 29, 80].

## 2.8 Aufgabenstellung

In diesem Vorhaben sollten mit einem systematischen Ansatz trinkwasserrelevante Arzneimittelwirkstoffe oder deren Metabolite identifiziert werden, die bislang noch nicht Gegenstand einschlägiger Untersuchungen waren. Der Ansatz sollte auf Verbrauchsmengen, auf Informationen zur Metabolisierung, auf Daten zur toxikologischen Relevanz, auf Informationen zur biologischen Abbaubarkeit sowie auf den bisher publizierten Untersuchungen zum Vorkommen im Wasserkreislauf basieren.

Dabei sind zum einen sowohl solche Wirkstoffe von Interesse, die intensiv metabolisiert und anschließend nicht eliminiert werden und somit als Metaboliten die Trinkwasseraufbereitung erreichen können. Andererseits sind für die Fragestellung Wirkstoffe relevant, die in chemisch unveränderter Form die Trinkwasserversorgung erreichen können.

Für beide Stoffgruppen sollten identifizierte Vertreter exemplarisch und in einem Laborversuch einem typischen Aufbereitungsverfahren (Ozonung) ausgesetzt werden, um zu bestimmen, ob bei dieser Behandlung stabile Transformationsprodukte mit gentoxischer Wirkung entstehen.

Während in der ursprünglichen Projektplanung auch andere Trinkwasseraufbereitungsverfahren wie die Chlorung und UV-Behandlung untersucht und zudem der Einfluss der Uferfiltration anhand von Testfiltern simuliert werden sollten, erwies sich bereits die gewählte Kombination aus Abbautest, Ozonung und Anreicherung als so komplex, dass wir in Abstimmung mit dem Auftraggeber beschlossen haben, die vorhandenen Ressourcen hierauf zu konzentrieren. Die genannten Aufbereitungsverfahren werden jedoch in Kapitel 3.4.8 kurz diskutiert.

# 3 Methoden

## 3.1 Stoffauswahl

Die Gesamtmenge der in Deutschland jährlich verbrauchten Arzneimittel bzw. der darin enthaltenen Wirkstoffe war zunächst unbekannt. Als ersten Schritt zur Auswahl von bislang nicht identifizierten, aber möglicherweise umwelt- oder trinkwasserrelevanten humanmedizinischen Arzneimittelwirkstoffen, Metaboliten oder Transformationsprodukten haben wir deshalb eine repräsentative Mengenabschätzung sowie eine nachfolgende Wirkungsabschätzung durchgeführt.

### 3.1.1 Mengenabschätzung

Rezeptpflichtige Arzneimittel werden in Deutschland von niedergelassenen oder von Krankenhausärzten verordnet und über die gesetzliche (GKV) oder private Krankenversicherungen (PKV) abgerechnet. Die überwiegende Mehrzahl der Versicherten ist Mitglied der GKV[9]. Wie eigene Bilanzierungen oder jährlich erstellte Kostenanalysen[10] zeigen, wird die Mehrzahl der Medikamente im niedergelassenen Bereich verbraucht. In der Regel machen klinische Verbräuche nur rund 10 % der rezeptpflichtigen Arzneimittel aus[11].

Darüber hinaus sind einige risikoärmere Arzneimittelwirkstoffe auch in frei verkäuflichen Arzneimitteln enthalten (OTC, *Over The Counter*). Ein Beispiel wäre das Schmerzmittel Acetylsalicylsäure, das laut einer früheren Marktanalyse auch seinen eindeutigen Verbrauchsschwerpunkt in diesem Bereich hat [126].

In Deutschland ist ansonsten die Datenlage für den mengenmäßig dominierenden Verbrauchsbereich – dieser umfasst die von niedergelassenen Ärzten verordneten und GKV-finanzierten Fertigarzneimittel[12] – hervorragend. Sämtliche hier ausgestellten Rezepte werden ausgewertet und jährlich ausführlich im Arzneiverordnungs-Report sowie zusammengefasst auch vom Statistischen Bundesamt (Gesundheitsberichterstattung des Bundes) publiziert. Im hier vorgelegten Bericht haben wir die Angaben für das Jahr 2005 analysiert [113].

Im Arzneiverordnungsreport sind die Verbräuche von Einzelwirkstoffen und typischen Kombinationen als Vielfaches der durchschnittlichen Tagesdosis (DDD, *Defined Daily*

---

[9] laut Mikrozensus-Erhebung sind 88,0 % der Bevölkerung Mitglied der GKV (aktuellste Angabe aus der Gesundheitsberichterstattung des Bundes für das Jahr 2003)

[10] Angaben des Statistischen Bundesamtes, zugänglich über die Gesundheitsberichterstattung des Bundes (www.gbe-bund.de)

[11] diese klinischen Verbräuche umfassen dabei sowohl die stationär als auch die ambulant behandelten Patienten

[12] Fertigarzneimittel sind Handelspräparate. Daneben werden verordnete Arzneimittel für einzelne Patienten auch als sogenannte Rezepturen hergestellt. An den Gesamtkosten machen Rezepturen im Schnitt weniger als 10 %

*Dose*) angegeben. Angaben, welche Stoffmenge (bei Enzymen auch welche Aktivität) einer DDD entspricht, werden von der Weltgesundheitsorganisation WHO (*World Health Organization*) veröffentlicht. Teilweise hängt die DDD von der Applikationsform[13] ab. In diesen Fällen haben wir mit dem Mittelwert aller Angaben gerechnet. Bei fehlenden WHO-Angaben haben wir ggf. Werte aus der deutschen Liste (Amtlicher ATC-Index[14] mit DDD-Angaben 2007) des Wissenschaftlichen Institut der AOK (WIdO) übernommen. Der Arzneiverordnungsreport verwendet zur Bezeichnung der Wirkstoffe die INN-Nomenklatur (*International Nonproprietary Names*) der WHO. Wir haben die deutschen INN-Bezeichnungen verwendet, die als Amtlicher ATC-Code ebenfalls vom WIdO herausgegeben werden.

Waren weder bei der WHO noch beim WIdO DDD-Werte angegeben, so führten wir eine eigene Abschätzung aus den Dosierungsangaben der Arzneimittel-Fachinformationen der Hersteller durch. Die Abschätzung erfolgte in Anlehnung an das im Arzneiverordnungsreport [113] geschilderte Vorgehen, z.B. wurden nur Erwachsenendosierungen und Erhaltungsdosen berücksichtigt. Dabei haben wir alle im Arzneimittelverzeichnis "Rote Liste[15]" aufgeführten Arzneimittel berücksichtigt. In gleicher Weise wurden ergänzend fixe Wirkstoffkombinationen aufgelöst und die anteiligen Verbräuche der Einzelsubstanzen berechnet. Auch Enzymaktivitäten haben wir über die Herstellerangaben in eine Mengenangabe (Tonnen pro Jahr) umgerechnet.

Nochmals betont wird, dass die so ermittelten Werte nicht die individuellen Zubereitungen, die von Kliniken verbrauchten und auch nicht die von einer PKV oder privat bezahlten Medikamente enthalten. Abgesehen von den OTC-Medikamenten, die jedoch auf risikoärmeren Wirkstoffen beruhen, war es uns mit dem gewählten Ansatz dennoch möglich, realistische Mengenangaben zu berechnen.

### 3.1.2 Ausschluss von Wirkstoffen

Die Rote Liste (Stand 2008) führt genau 2385 humanmedizinische Arzneimittelwirkstoffe auf. Bereits bei einer groben Sichtung waren für uns mehr als 43 % davon als organische oder anorganische Naturstoffe oder als Pflanzenextrakte [vgl. 111] identifizierbar. Beispielsweise sind auch Wasser, Natriumchlorid, Sauerstoff, Ethanol, Glycerol oder Harnstoff Arzneimittelwirkstoffe. Solche natürlich vorkommenden Wirkstoffe oder Pflanzendrogen wie Theophyllin, Thymian oder Johanniskraut haben wir von der weiteren Betrachtung ausgeschlossen. Ebenfalls ausgeschlossen wurden alle nicht natürlich vorkommenden, aber biologisch leicht und vollständig abbaubaren organischen Verbindungen (z.B. Lactulose).

---

aus – allerdings gibt es Ausnahmen wie Zytostatika, die ganz überwiegend in Form von individuell hergestellten Rezepturen appliziert werden

[13] inhalativ, nasal, oral, parenteral, rektal, sublingual/buccal, transdermal oder vaginal

[14] ATC, *Anatomical Therapeutic Chemical Classification*, ist das therapiebezogene System der WHO zur Klassifizierung von Arzneimittelwirkstoffen

[15] Rote Liste Service GmbH, Mainzer Landstraße 55, 60329 Frankfurt/Main, www.rote-liste.de

Ergänzend ist anzumerken, dass auch nach einer solchen Vorauswahl manche humanmedizinisch eingesetzte Wirkstoffe – neben einem Einsatz in der Veterinärmedizin – nicht *ausschließlich* in Arzneimitteln zum Einsatz kommen können, sondern auch in weiteren Produkten, z.B. Natamycin zur Oberflächenbehandlung von Käse sowie Triclosan oder Benzalkoniumchlorid in Desinfektionsmitteln oder Kosmetika. Aufgrund ihrer verbreiteten Verwendung durch den Menschen können auch manche pflanzliche Inhaltsstoffe, die ebenfalls Arzneimittelwirkstoff sind, im Wasserkreislauf nachgewiesen werden, beispielsweise Coffein [115]. Haupteintragsquelle für das im Übrigen leicht biologisch abbaubare Coffein ist aber zweifelsfrei die Verwendung als Genussmittel.

Der Begriff "Arzneimittelwirkstoff" kennzeichnet somit aber weder eine ausschließlich anthropogen erzeugte Substanz noch deren ausschließlich medizinische Verwendung. Für die hier ausgewählten und untersuchten Wirkstoffe bzw. Metaboliten sind uns solche nichtmedizinischen Verwendungen nicht bekannt.

### 3.1.3 Metabolisierung

Für Wirkstoffe mit einer berechneten Jahresmenge von mehr als 0,5 Tonnen haben wir den Arzneimittel-Fachinformationen der Hersteller Angaben zur Resorptionsrate und zur Metabolisierung entnommen. Wir haben angenommen, dass die gesamte Menge der verschriebenen Arzneimittel vollständig eingenommen wurde und dass nicht resorbierte bzw. nach Resorption unverändert ausgeschiedene Wirkstoffanteile vollständig im Abwasser erscheinen.

### 3.1.4 Endauswahl

Für die Endauswahl haben wir mittels QSAR (siehe Anhang S. 90ff) Abschätzungen zur biologischen, aeroben Abbaubarkeit, zur Mobilität im aquatischen Milieu sowie einen Parameter zur Mutagenität/Gentoxizität berechnet. Weiterhin haben wir die Substanzen nach dem Vorkommen bestimmter, kritischer funktioneller Gruppen bewertet und bei Metaboliten die kommerzielle Verfügbarkeit recherchiert. Die Entscheidungskriterien haben wir in Form eines Ablaufschemas grafisch dargestellt.

## 3.2 Untersuchungsstrategie

Der experimentelle Teil der Arbeiten konzentrierte sich auf die Durchführung und Verknüpfung von Abbautests der ausgewählten Arzneimittelwirkstoffe und -metabolite mit nachfolgender Ozonung, als Beispiel für eine oxidative Stufe der Trinkwasseraufbereitung. Zur Bewertung eventuell entstehender Transformationsprodukte haben wir den Ames-Test auf Mutagenität herangezogen. Die gesamte Untersuchungsstrategie ist in Abb. 1 dargestellt.

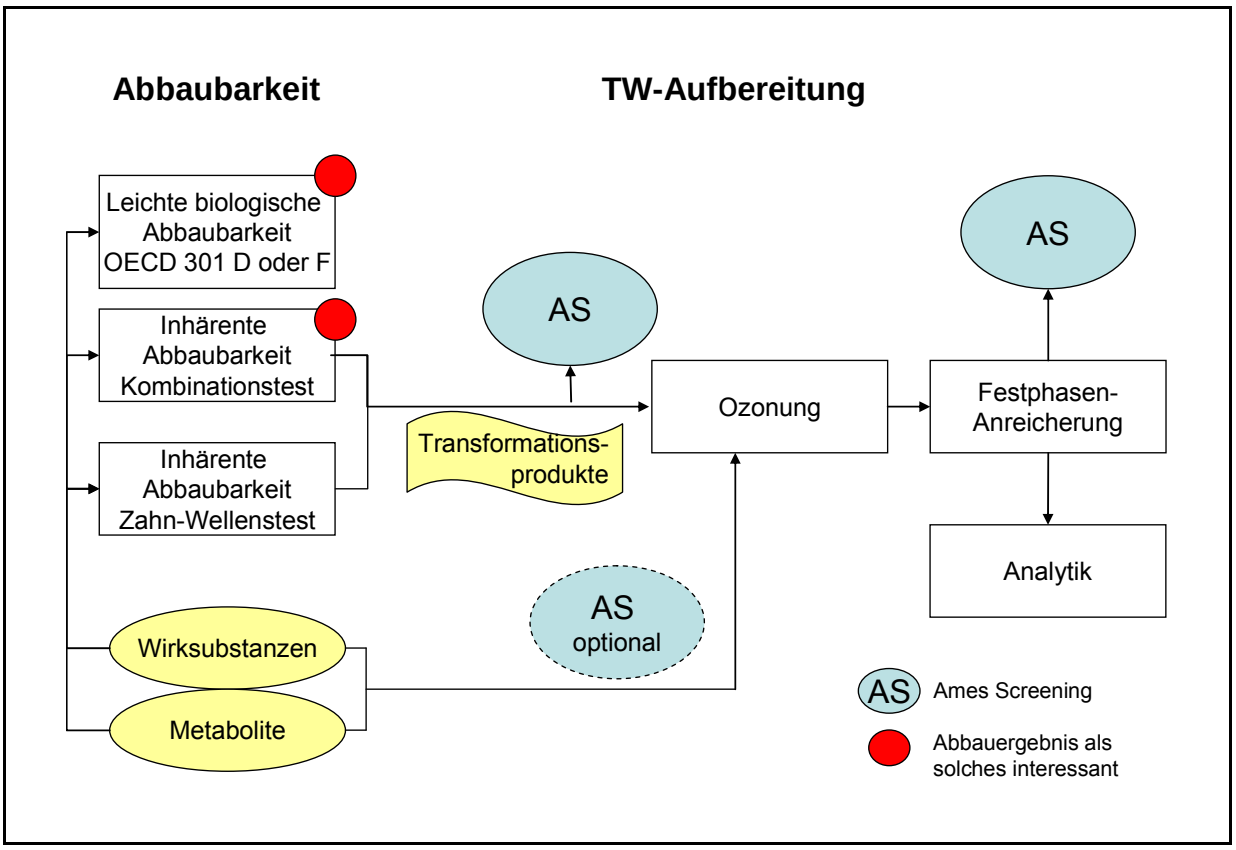



Abb. 1: Untersuchungsstrategie

Es wurden Versuche zur Bestimmung der leichten und inhärenten (synonym: potenziellen) biologischen Abbaubarkeit durchgeführt, wobei für die Bestimmung der inhärenten Abbaubarkeit zusätzlich der Kombinationstest, mit dem die Mineralisierung zu $CO_2$ als eindeutiges Maß der Endabbaubarkeit bestimmt werden kann, eingesetzt wurde. Die Transformationsprodukte der Abbautests sowie die Muttersubstanzen oder über den Chemikalienhandel erhältliche, definierte Metabolite wurden anschließend einer Ozonung zugeführt. Wie in Kapitel 3.5 ausgeführt wird, musste ein Kompromiss zwischen einer niedrigen Prüfsubstanzkonzentration bei der Ozonung und einer für die Aussagekraft des Ames-Tests wünschenswerten höheren Konzentration gefunden werden. Daher wurde nach der Ozonung eine Festphasenanreicherung durchgeführt.

## 3.3 Abbautests

### 3.3.1 Leichte biologische Abbaubarkeit

Zur Bestimmung der leichten biologischen Abbaubarkeit haben wir den *Closed-Bottle-Test* (CBT, OECD 301 D) [85] und den *OxiTop-* bzw. *Manometrischen Respirationstest* (MRT, OECD 301 F) [87] durchgeführt. Beide Tests arbeiten im geschlossenen System mit geringen Substanzkonzentrationen und mit niedriger Bakterien-

konzentration (Animpfung mit Kläranlagenablauf). Sie gehören zur Gruppe der diskontinuierlichen Testverfahren (*Die-away-Tests*).

**Closed-Bottle-Test**

Der *Closed-Bottle-Test* [85] ist ein Abbautest, mit dem organische Stoffe auf leichte aerobe biologische Abbaubarkeit (*Ready Biodegradability* gemäß OECD[16]) untersucht werden. Wird ein positives Ergebnis erzielt, so gilt diese Substanz auch in der aquatischen Umwelt als leicht biologisch abbaubar [93, 82]. Im CBT wird über vier Wochen hinweg der Sauerstoffverbrauch gemessen. Zur näheren Erläuterung siehe Darstellung des Tests im Anhang (S. 92ff).

**OxiTop-Test (Synonym: Manometrischer Respirationstest)**

Der *OxiTop*-Test (*Manometrischer Respirationstest*) untersucht ebenfalls die leichte biologische Abbaubarkeit von organischen Substanzen unter aeroben Bedingungen im Verlauf von vier Wochen. Im Unterschied zum CBT ist die Bakteriendichte höher, aber immer noch wesentlich geringer als beim *Zahn-Wellens-Test* (Kapitel 3.3.2). Wird ein positives Testergebnis erzielt, so gilt die betreffende Substanz auch in der aeroben aquatischen Umwelt als leicht biologisch abbaubar. Ähnlich wie beim CBT sind im MRT die Atmungsgase indirekte Messparameter für den biologischen Abbau der Testsubstanz. Zur näheren Erläuterung siehe Darstellung des Tests im Anhang (S. 94ff).

### 3.3.2 Inhärente Abbaubarkeit / Mineralisierung

Zur Bestimmung der inhärenten (synonym: potenziellen) biologischen aeroben Abbaubarkeit haben wir den *Zahn-Wellens-Test* (OECD 302 B) [86] mit dem *$CO_2$-Entwicklungstest* (OECD 301 B) [83] gekoppelt. Gegen Atmosphärenluft verschlossene Testansätze wurden mit kohlendioxidfreier Luft belüftet und das entstehende $CO_2$ in nachgeschalteten Absorberflaschen mit Natronlauge gebunden und quantifiziert. Von jeder Testsubstanz haben wir 2 Parallelansätze je 1 Liter mit einer Konzentration von 50 mg TOC/L untersucht und mit 200 mg/L Belebtschlamm (Trockensubstanz) einer kommunalen Kläranlage angeimpft. Nach 3 Stunden und dann wöchentlich wurden durch die seitlich angebrachten Septen Proben aus den Reaktoren bzw. Absorbern entnommen und der DOC (*Dissolved Organic Carbon*) bzw. der IC (*Inorganic Carbon*) bestimmt. Diese Methode erlaubte uns eine Unterscheidung des durch Adsorption eliminierten Anteils und der Mineralisierung zu $CO_2$. In einer Wiederholungsprüfung haben wir einen konventionellen offenen Zahn-Wellens-Test ohne $CO_2$-Erfassung durchgeführt, um Material für die Ozonungsexperimente bereitzustellen.

[16] Organisation for Economic Co-operation and Development (www.oecd.org)

## 3.4 Ozonung

### 3.4.1 Allgemeine Informationen zu Ozon

Die Bildung von Ozon aus reinem Sauerstoff ist ein endothermer Prozess, der 143,32 kJ/mol benötigt [92]. Ozon ist unter anderem mittels stiller elektrischer Entladung in der Gasphase großtechnisch herstellbar. Dabei zerschlagen hochenergetische Elektronen das Sauerstoffmolekül in zwei Sauerstoffatome. In einer nachfolgenden Stoßreaktion mit weiterem Sauerstoff (und einem zusätzlichen Stoßpartner) bildet sich dann das Ozonmolekül. Dabei werden in Großanlagen Ozonkonzentrationen bis zu 5 vol% erreicht [63]. Ozon ist thermodynamisch nicht stabil und zerfällt in der Rückreaktion wieder spontan zu Sauerstoff. Es ist ein starkes Oxidationsmittel und reagiert mit anorganischen und organischen Verbindungen. Großtechnisch findet es Verwendung bei der Aufreinigung und Desinfektion während der Trinkwassergewinnung und der Behandlung von Abwasser. Die elektronische Struktur des Moleküls erlaubt die Formulierung von mesomeren Grenzformeln, womit sich der elektrophile Charakter des Moleküls erklären lässt (Abb. 2).

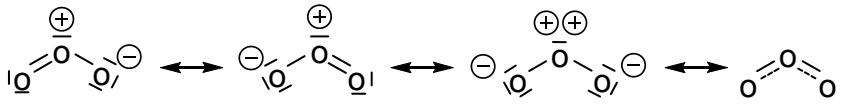


Abb. 2: Grenzformeln des Ozon-Moleküls

Im Vergleich zum zweiatomigen Sauerstoff besitzt Ozon in Wasser eine 14fach höhere Löslichkeit und liegt in Wasser metastabil vor. Die Ozonstabilität wird dabei empfindlich von mehreren Parametern (Schwermetallionen, org. Verunreinigungen, Temperatur, pH) bestimmt. Die erzielbare Ozon-Konzentration in Wasser einer Temperatur von 10 °C liegt in der Praxis der Starkwassererzeugung[17] bei Werten bis 30 mg/L.

Ozon ist ein starkes Oxidationsmittel. In Tab. 1 sind die relativen Oxidationspotenziale verschiedener Spezies aufgetragen, die im Umfeld der Wasseraufbereitung von Bedeutung sind. An dieser Stelle muss auch auf die Bildung von •OH-Radikalen aus Ozon hingewiesen werden, die sich selbst in Reinstwasser durch die Reaktion von Ozon mit Wasser bilden. Obwohl – verglichen mit der Konzentration des Ozons – die •OH-Radikalkonzentration um einige Größenordnungen tiefer liegt, darf dieser mögliche Reaktionspartner nicht außer Acht gelassen werden.

[17] Unter Starkwasser wird die technisch primär erzeugte Ozonlösung verstanden, die bei Batch-Versuchen Verwendung findet

Tab. 1: Oxidationspotenziale einiger für die Wasserbehandlung interessanter Verbindungen [63]

| Spezies | *Oxidationspotenzial* in eV |
|---|---|
| Fluor | 3,06 |
| Hydroxyl-Radikal | 2,80 |
| Naszierender Sauerstoff | 2,42 |
| Ozon | 2,07 |
| Wasserstoffperoxid | 1,77 |
| Perhydroxyl-Radikal | 1,70 |
| Hypochlorige Säure | 1,49 |
| Chlor | 1,36 |

In einem Review von von Gunten [131] werden fundamentale Reaktionen für die Umsetzung anorganischer und organischer Verbindungen mit Ozon beschrieben, die nach einem ersten Schritt in reaktiven Zwischenstufen enden (Abb. 3). Dabei handelt es sich bei den fünf vorgestellten Möglichkeiten um eine selektive elektrophile Addition, deren intermediäre Produkte je nach Lösungsmittel weiter reagieren können.

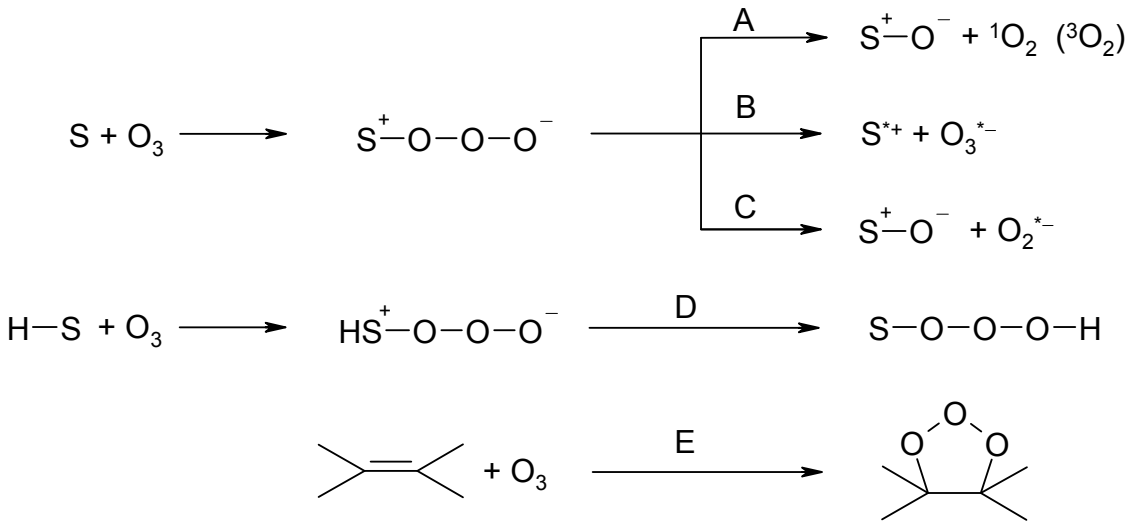



Abb. 3: Reaktionsmechanismen von Ozon mit einer elektronenreichen Verbindung (S) [nach 131]

Im Folgenden wird kurz auf die möglichen Reaktionspfade von Abb. 3 eingegangen:

(A) es kann zu einem Sauerstoffatom-Transfer kommen, der zu anionischen, ungeladenen oder kationischen Spezies führen kann. Hierbei wird Singulett- oder auch Triplett-Sauerstoff gebildet

(B) bei dieser Elektronentransfer-Reaktion bilden sich ein Radikalkation und ein Ozonradikal-Anion

(C) aus der gleichen reaktiven Zwischenstufe können sich auch ein Oxylradikal und ein Peroxidradikal-Anion bilden

(D) diese Reaktionsmöglichkeit kann als Ozoneinführung bezeichnet werden

(E) über eine Cycloaddition an eine Doppelbindung wird ein Primärozonid gebildet, das Ausgangspunkt weiterer Reaktionen ist

Bei der Reaktion von Ozon mit organischen Verbindungen ist der elektrophile Angriff an eine Doppelbindung von entscheidender Bedeutung (siehe Abb. 4, Nr. **1** u. **2**). Dieser Angriff und die nachfolgende C–C-Spaltung wird als Ozonolyse bezeichnet. Der von Criegee [28] untersuchte Mechanismus bildet nach der elektrophilen Ozonaddition über ein intermediär gebildetes Carbonium-Ion den 5-Ring 1,2,3-Trioxolan (Abb. 4, Nr. **2**), das als Zwischenprodukt nur in organischen Lösemitteln stabil ist.

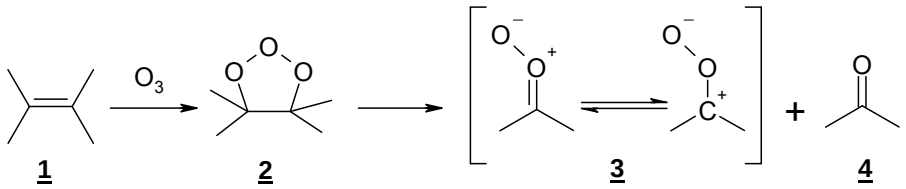



Abb. 4: Angriff des Ozons an eine Doppelbindung
zunächst bildet sich aus **1** das instabile Primärozonid **2** (1,2,3-Trioxolan), das in eine Ketoverbindung **4** (Aldehyd, Keton) und ein Carbonyloxid **3** zerfällt [nach 37]

Dieses Ozonid reagiert in wässriger Lösung nach Abb. 5 in Folge von Hydrolysereaktionen und Ring-Spaltung (C–C-Bindungsbruch) zu Aldehyden, Ketonen, Karbonsäuren und Peroxiden weiter [28, 37]. Aus den Bruchstücken (**3** und **4**) können über Folgereaktionen mit anderen Reaktionspartnern oder Umlagerungen verschiedene thermodynamisch stabile Endprodukte entstehen (**5** bis **9** in Abb. 5). Dabei werden oft Carbonylverbindungen gebildet, deren Sauerstoffe an den Kohlenstoffatomen der vormals angegriffenen Doppelbindung lokalisiert sind.

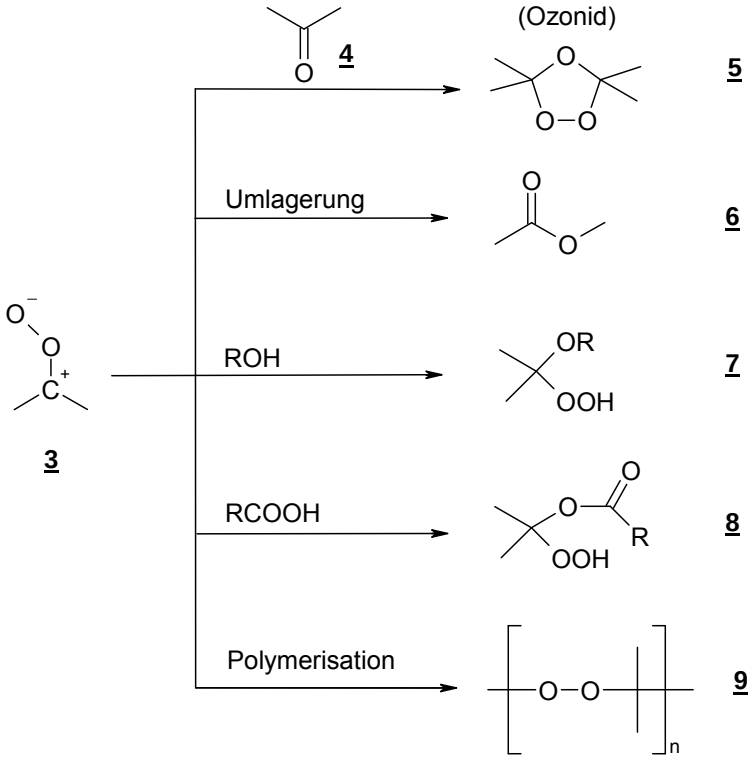



Abb. 5: Mögliche Folgeprodukte ausgehend von dem reaktiven Carbonyloxid nach [99]

Exemplarisch für die Bildung des Folgeproduktes **7** aus Abb. 5 soll die Reaktion des Carbonyloxids **3** mit Wasser beschrieben werden. Hier bildet sich neben einer Carbonylverbindung auch Wasserstoffperoxid, das ebenfalls oxidierend wirkt (Abb. 6).

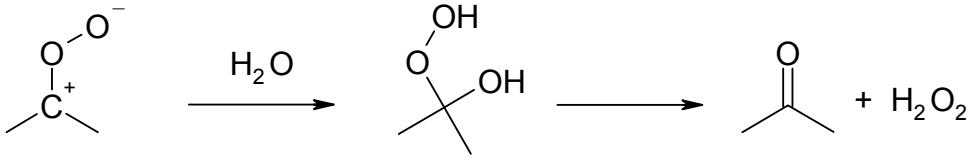



Abb. 6: Bildung von Wasserstoffperoxid aus der Reaktion des Carbonyloxids **3** mit Wasser

## 3.4.2 Einflussgrößen für die Ozonreaktion

Die Art und Weise, wie Ozon mit einer Substanz reagiert, ist von diversen Parametern abhängig. Die Kinetik der Reaktion sowie das sich bildende Produktspektrum sind in erster Linie von dem chemischen Aufbau der Substanz abhängig. Es muss aber beachtet werden, dass verschiedene physikalisch-chemische Randbedingungen Einfluss auf die Reaktion nehmen können. Einige dieser Größen sind neben der Ozonexposition der pH-Wert des Wassers, die Temperatur sowie anorganische und organische Wasserinhaltsstoffe. Abhängig vom vorliegenden Wassertyp tritt eine mehr oder weniger schnelle Ozonzehrung auf.

Zusätzlich können die während einer Ozonung auftretenden OH-Radikale mit verschiedenen Wasserinhaltsstoffen abreagieren. Beispiele für Radikalfänger sind das Carbonat-Ion oder der oftmals in Experimenten verwendete tertiäre Butylalkohol (t-BuOH). Während Ozon sehr selektiv reagiert, attackiert das OH-Radikal unselektiv mit annähernd diffusionskontrollierten Geschwindigkeitskonstanten. Aufgrund einer limitierten OH-Radikalbildung und der hohen Reaktionsrate treten – verglichen mit der Ozonkonzentration – während der Ozonung nur geringe OH-Radikalmengen auf, etwa um den Faktor $10^{-6}$–$10^{-10}$ niedriger als Ozon [41]. In der erwähnten Arbeit von von Gunten wird das Verhältnis der Ozon- und Radikalkonzentration näher untersucht. Darin wird ein Modell aufgestellt ($R_{ct}$-Konzept[18]), das es erlaubt, das Reaktionsverhalten eines Wassers in Bezug auf die Ozon- und Radikalreaktion charakterisieren zu können. Dieses Modell stellt demnach eine Verknüpfung der physikalisch-chemischen Randbedingungen mit den beobachteten Kinetiken und Reaktionspfaden bei Ozonungen her.

### Einflussgröße pH-Wert

Ozonmoleküle werden, katalysiert durch Hydroxid-Ionen, auch zu Hydroxyl-Radikalen abgebaut [133].

[18] $R_{ct}$ beschreibt das im Zeitverlauf (t) variable Konzentrationsverhältnis (c) von Hydroxylradikalen zu Ozon: $R_{ct} = c(\bullet OH)/c(O_3)$

$$(1) \quad O_3 + OH^- \rightarrow HO_2^- + O_2 \qquad k = 70 \frac{L}{mol \cdot s}$$

$$(2) \quad O_3 + HO_2^- \rightarrow {}^{\bullet}OH + O_2^{\bullet -} + O_2 \qquad k = 2{,}8 \cdot 10^6 \frac{L}{mol \cdot s}$$

$$(3) \quad O_3 + O_2^{\bullet -} \rightarrow O_3^{\bullet -} + O_2 \qquad k = 1{,}6 \cdot 10^9 \frac{L}{mol \cdot s}$$

Abb. 7: Reaktionswege von Ozon im alkalischen Bereich

Das Ozonid-Radikal aus Gleichung (3) der Abb. 7 zerfällt schnell zum OH-Radikal. Entsprechend Gleichung (1) kann der Ozonzerfall zum OH-Radikal künstlich durch eine Anhebung des pH-Wertes beschleunigt werden.

### Einflussgröße Temperatur

Die Temperatur stellt einen wichtigen Reaktionsparameter dar, der jedoch oft nicht systematisch untersucht wird. Eine höhere Temperatur fördert die Bildungsrate von OH-Radikalen [41], weshalb unterschiedliche Temperaturen zu unterschiedlichen Reaktionspfaden führen.

### Einflussgröße DOC

Der DOC-Gehalt kann die Ozonstabilität in unterschiedlicher Weise beeinflussen: Zum einen kann es durch direkte Reaktion des DOC mit Ozon zu einer erhöhten Ozonzehrung kommen, weshalb sich die Ozonexposition allgemein verringert. Zum anderen können über den DOC aber auch OH-Radikale abgefangen werden, was sich wiederum auf den Reaktionspfad auswirken kann. Aus diesen Gründen kann in natürlichen Wässern mit DOC-Gehalten von 0,7 mg/L bis 3,2 mg/L die Ozonexposition um den Faktor 60 variieren, während die OH-Radikalexposition um den Faktor 10 unterschiedlich sein kann [131, 40]. Generell ist mit einer Erhöhung des DOC-Gehaltes auch eine Erhöhung des $R_{ct}$-Wertes verknüpft.

### Einflussgröße Carbonatgehalt des Wassers

Die Carbonat-Alkalinität nimmt Einfluss auf die Stabilität des Ozons in wässriger Lösung. Als Radikalfänger greifen sowohl das Carbonat- als auch das Hydrogencarbonat-Ion in die oben beschriebene Reaktion zwischen OH-Radikal und DOC ein. Als Inhibitoren reagieren Carbonat und Hydrogencarbonat mit OH-Radikalen, ohne ein Superoxid ($O_2^{\bullet -}$) zu bilden, welches mit Ozon zu OH-Radikalen reagieren würde. Daher wird der Ozonumbau zu OH-Radikalen durch eine Erhöhung der Carbonat-Alkalinität verringert.

### 3.4.3 Toxische anorganische Transformationsprodukte der Ozonung

Bei der Ozonung bromidhaltiger Wässer kann Bromat gebildet werden. Bei toxikologischen Untersuchungen wurden Hinweise auf eine mögliche kanzerogene Wirkung gefunden [70], weshalb in der Trinkwasserverordnung [19] für Bromat ein Grenzwert von 10 µg/L festgesetzt ist. In der Literatur werden zwei Mechanismen der Bromatbildung aus Bromid diskutiert (Abb. 8). Der Mechanismus über das Ozonmolekül verläuft ausschließlich über das Hypobromit-Anion und ist daher nur bei höheren pH-Werten von Bedeutung. Bei niedrigen pH-Werten überwiegt der radikalische Mechanismus [104].

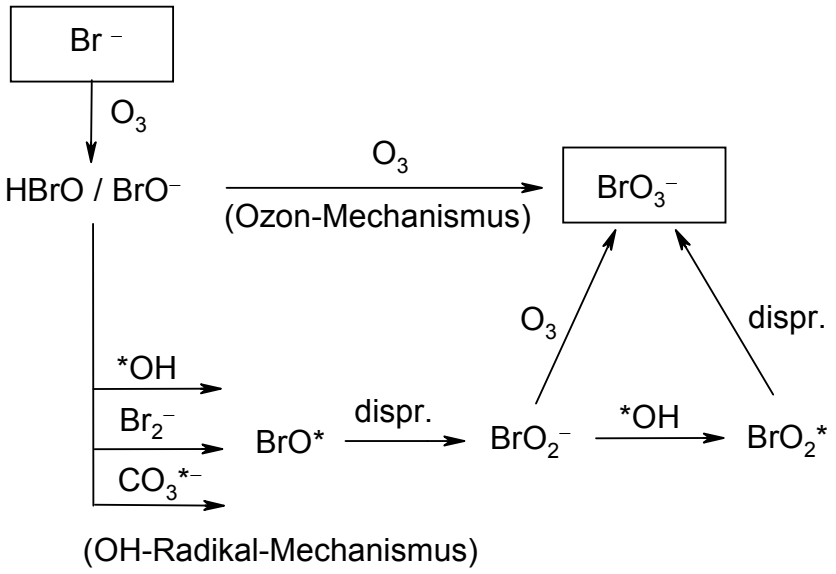



Abb. 8: Bromatbildungswege während der Ozonbehandlung nach [130]

Zu einer erhöhten Bromatbildung tragen eine lange Kontaktzeit, ein erhöhter pH sowie hohe Ozon- und Bromid-Konzentrationen bei. Im Hinblick auf das mögliche kanzerogene Potenzial müssen die Verfahrensparameter im Wasserwerk so optimiert werden, dass die Bromatbildung minimal ist und der Grenzwert eingehalten wird.

### 3.4.4 Organische Nebenprodukte der Ozonung

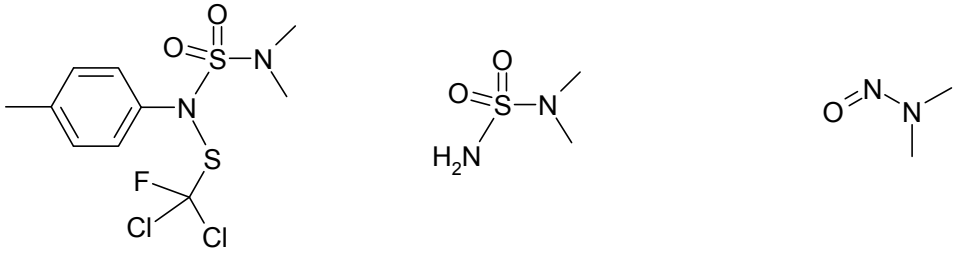
Der Angriff des Ozons erfolgt bei organischen Verbindungen oftmals an $\pi$-Elektronen von Doppelbindungen oder aromatischen Systemen. Nach der Bildung eines Primärozonids und eventuellen Umlagerungsreaktionen folgt die C–C-Spaltung der ursprünglichen Doppelbindung. Daraus ergeben sich meist charakteristische Reaktionsprodukte wie Aldehyde und Karbonsäuren (Abb. 4 und Abb. 5). Wichtige Nebenprodukte der Ozonung von Trinkwasser und deren zu erwartenden Konzentrationen sind in Tab. 2 aufgelistet. Hervorzuheben sind die erhöhten Gehalte der Karbonsäuren Oxalsäure, Essigsäure und Ameisensäure. Grundsätzlich nicht ausgeschlossen werden können Verbindungen, die in deutlich niedrigeren Konzentrationen entstehen, aber toxikologisch dennoch Relevanz haben, etwa aufgrund von Gentoxizität.

Tab. 2: Charakteristische Nebenprodukte der Trinkwasserozonung
Messdaten aus Wasserwerken nach [108]

| Verbindung | Strukturelement | *Konzentration* in µg/L |
|---|---|---|
| Formaldehyd, Acetaldehyd, Propionaldehyd | R–CHO | < 10 |
| Glyoxal | OHC–CHO | < 10 |
| Methylglyoxal | $CH_3$–C(O)–CHO | < 10 |
| Ameisensäure, Essigsäure | R–COOH | bis 100 |
| Oxalsäure | HOOC–COOH | bis 100 |
| Glyoxalsäure | OHC–COOH | < 10 |
| Brenztraubensäure, Ketomalonsäure | R–C(O)–COOH | < 10 |
| Glykolsäure, 3-Hydroxy-Buttersäure | R(OH)–COOH | < 10 |

## 3.4.5 *N,N*-Dimethylnitrosamin-Problematik

In letzter Zeit ist als mögliches Nebenprodukt der Trinkwasserozonung die Verbindungsklasse der Nitrosamine in den Fokus gerückt. Nitrosamine sind kanzerogen und haben im Falle ihres Auftretens bei der Ozonung in Wasserwerken weitreichende Auswirkungen auf die Prozessführung und Ozondosis. So konnte das TZW zeigen, dass der Fungizidwirkstoff Tolylfluanid biologisch u.a. zu dem Transformationsprodukt *N,N*-Dimethylsulfamid (DMS) abgebaut wird. DMS wird in der Folge nicht weiter biologisch abgebaut, erreicht das Grundwasser und setzt sich bei einer sich im Rahmen der Trinkwasseraufbereitung anschließenden Ozonung zu *N,N*-Dimethylnitrosamin (*N*-Nitrosodimethylamin, NDMA) um [106] (Abb. 9). Weder der biologische Abbau des Tolylfluanids zu DMS noch die Nitrosaminbildung während der Ozonung sind mechanistisch vollständig geklärt.




Tolylfluanid | N,N-Dimethylsulfamid (= DMS) | N,N-Dimethylnitrosamin (= NDMA)

Abb. 9: Strukturen von Tolylfluanid und den Transformationsprodukten DMS und NDMA

Das bakterielle Transformationsprodukt DMS wird in Deutschland in den betroffenen Gebieten in Oberflächenwässern (50 ng/L bis 100 ng/L) und Grundwässern (100 ng/L bis 1000 ng/L) gefunden [106]. Aus Labor- und Felduntersuchungen geht hervor, dass sich DMS nicht vollständig über Uferfiltration, Aktivkohle-Filter, Flockung oder oxidative bzw. desinfizierende Prozesse mit Wasserstoffperoxid, Kaliumpermanganat, Chlordioxid oder UV-Behandlung entfernen lässt. Nur über Nanofiltration ist DMS mit hoher Effizienz aus dem Wasser entfernbar. Während der Ozonung reagieren etwa 30 % bis 50 % des DMS zum kanzerogenen technischen Transformations-

produkt NDMA. Es konnte gezeigt werden, dass das NDMA in nachfolgenden Sand- oder Aktivkohle-Filtern biologisch abgebaut werden kann.

### 3.4.6 Erzeugen von Ozon-Starkwasser

Der Erzeugung von Ozon-Starkwasser dient der in Abb. 10 dargestellte Aufbau. Etwa 5 L demineralisiertes Wasser werden in die Blasensäule gefüllt und mittels eines Thermostaten auf 5 °C temperiert. Zusätzlich wird Phosphatpuffer in die Blasensäule zudosiert (66 mmol/L). Der pH-Wert bleibt knapp unter dem Neutralpunkt (pH ≈ 5,5). Über die Kühlung des Wassers und die Pufferung des pH-Werts ist es möglich, die Ozonkonzentration des Wassers zu steigern. Das Ozon entsteht über stille elektrische Entladung mittels eines Ozon-Generators (Firma Anseros, Tübingen, Ozomat COM-AD-02) aus Sauerstoff, wobei die Produktionsrate vom Gasfluss und der Generatorleistung abhängt. Bevor der ozonhaltige Sauerstoffstrom in die Blasensäule eintritt, wird das Ozon photometrisch bestimmt. Eine Fritte am Gasauslass führt zu einer feinen Bläschenbildung, worüber ein effektiver Gasaustausch gewährleistet ist. Das am oberen Säulenende austretende Gas strömt durch ein zweites Photometer, mit dem der Rest-Ozongehalt bestimmt wird. Über den Konzentrationsverlauf in diesem Messgerät lässt sich abschätzen, wann die Ozonsättigung im Starkwasser erreicht ist. Dieser Vorgang dauert etwas über 1 Stunde. Das überschüssige Ozon im Gasstrom wird durch eine mit Thiosulfat gefüllte Waschflasche geleitet und vernichtet. Bevor das Starkwasser mit ca. 20 mg/L bis 30 mg/L für Ozonungen aus der Anlage entnommen wird, erfolgt die mehrfache Bestimmung der Ozonkonzentration mit der Indigo-Methode (s. Anhang S. 101). Aus dem aktuellen Gehalt wird dann das benötigte Zugabevolumen errechnet. Angestrebt wird ein Ozongehalt von β(Ozon) = 20 mg/L im Starkwasser. Methoden der Ozonbestimmung sind im Anhang S. 99ff beschrieben.

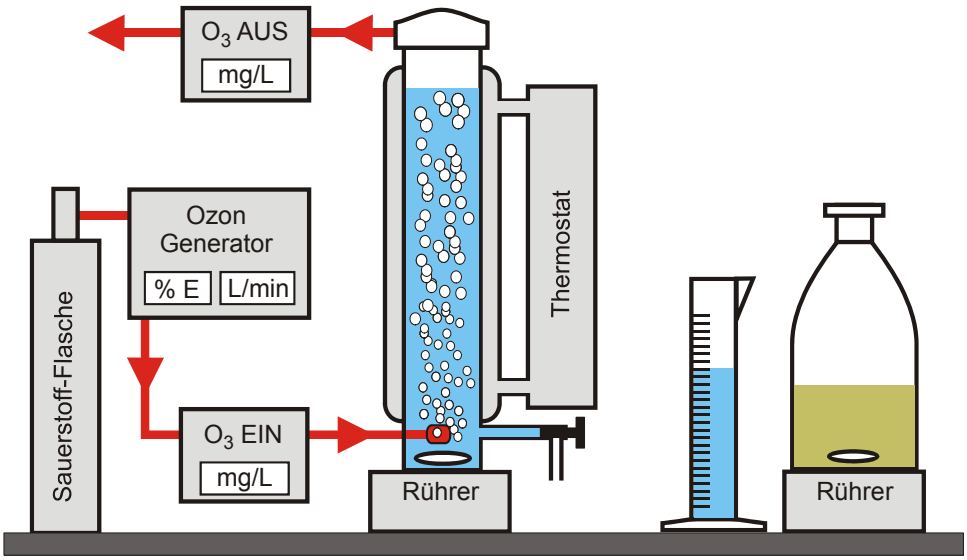



Abb. 10: Schema der Starkwassererzeugung für die Durchführung der Batch-Versuche (vereinfacht) Nachdem die Konzentration des Starkwassers ermittelt ist, wird eine definierte Menge aus der Blasensäule entnommen und zur vorbereiteten Probe gegeben

### 3.4.7 Versuchsablauf der Ozonungen

**Ozonen der Ausgangssubstanzen**

Die Ausgangsverbindungen mit einer Konzentration von einheitlich 0,5 mg/L sollten mit einer Dosis von 10 mg/L und einer Expositionszeit von 45 min ozont werden. Dazu haben wir in einer 10 L Glasflasche je 5 mg der in etwas Wasser gelösten Testsubstanz zu ca. 5 L Trinkwasser gegeben. Nach kräftiger Durchmischung entnahmen wir zwei Proben zur $c_0$-Wert-Bestimmung (Anfangskonzentration) (s.u. "Stoppen der Ozon-Reaktion"). Anschließend haben wir das Ozon-Starkwasser zügig zugesetzt. Da die Ozonkonzentration im Starkwasser von Versuch zu Versuch variiert (18 mg/L bis 25 mg/L), mussten vor jeder Zugabe die aktuelle Konzentration ermittelt und der Starkwasser-Anteil am 10 L Endvolumen sowie die daraus resultierende Trinkwasser-Vorlage bestimmt werden. Hieraus erklären sich die Abweichungen zu 1000 µg/L bei der $c_0$-Bestimmung in der Probe vor der Ozonstarkwasserzugabe (vgl. Tab. 12).

Bereits während der Ozonzugabe kann es zu einer deutlichen Ozonzehrung durch Stoffe im Trinkwasser (DOC) und durch die Testsubstanz kommen, wodurch die Ozondosis zum Zeitpunkt $t_0$ experimentell kaum bestimmbar ist. Die später in diesem Bericht angegebenen Ozondosen bei $t_0$ sind berechnet und ergeben sich aus der gemessenen Ozonkonzentration im Starkwasser (Mittelwert aus mehreren Messungen) dividiert durch den Verdünnungsfaktor, der sich aus dem Mischen mit dem vorgelegten Trinkwasser ergibt (z.B. bei einer 1:1-Mischung: 20 mg/L / 2 = 10 mg/L).

Die Kontaktzeit der Ozonung haben wir auf 45 Minuten festgesetzt. In dieser Zeitspanne bestimmten wir mehrmals die aktuelle Ozonkonzentration in der Probenlösung und entnahmen periodisch Wasserproben (ca. 20 mL), bei denen über das Einleiten von Stickstoff (s.u. "Stoppen der Ozon-Reaktion") das überschüssige Ozon ausgetrieben wurde. Mit diesen Proben haben wir das Abbauverhalten der Testsubstanz während der Ozonung untersucht.

**Ozonen der Abbaulösungen**

Bei der zuvor beschriebenen Methode der Ozonung von Reinsubstanzen konnten definierte Ausgangsbedingungen geschaffen werden (eingesetzte Substanzmenge und vergleichbare Trinkwassermatrix).

Bei der Ozonung der Abbaulösungen aus dem Kombinationstest (klarer Überstand ohne Belebtschlamm) liegt eine deutlich andere Situation vor. Die für den Bio-Abbau eingesetzte Stoffkonzentration richtet sich nach dem Kohlenstoffanteil der Verbindung, wobei wir als Startkonzentration einen Gehalt von TOC = 50 mg/L eingesetzt haben. Hieraus resultieren Substanzkonzentrationen von $\beta$(Testsubstanz) = 79 mg/L bis 134 mg/L. Zusätzlich dazu haben wir mit Belebtschlamm (200 mg/L Trockensubstanz) angeimpft, was zu einer Erhöhung des DOC-Gehaltes in der Probe führen kann. Es muss weiterhin beachtet werden, dass sich während der 28-tägigen Versuchszeit der Anteil an Biomasse deutlich verändern kann (z.B. wenn die Testsubstanz als Nährstoffquelle dient). Als weitere unbekannte Größe ist letztlich das Ausmaß der Bio-Transformationen zu berücksichtigen. Hier kann sich das Spektrum

von *nicht-abbaubar* über *teilweise-abbaubar* bis hin zu *vollständig mineralisierbar* erstrecken.

Zur Kopplung des durchgeführten Kombinationstests mit der Ozonung mussten wir einen Weg finden, der die oben erwähnten Unsicherheiten mit den Grenzen der Ozonung (Verhältnis zwischen Ozondosis zur Substanz- und DOC-Konzentration) miteinander vereint. Aufgrund physikalischer Grenzen des Ozoneintrags und zur Erhöhung der Vergleichbarkeit zu den Ozonungen der Ausgangssubstanzen haben wir auch für diese Experimente eine Ozonkonzentration von $\beta$(Ozon) = 10 mg/L eingesetzt. Aus stöchiometrischen Betrachtungen ist ersichtlich, dass eine Ozonung der unverdünnten Abbau-Lösungen mit einem Anfangsgehalt von $\beta$(Testsubstanz) von $\approx$ 100 mg/L nicht zielführend gewesen wäre.

Zur Anpassung des Verdünnungsfaktors haben wir angenommen, dass am Versuchsende 50 % der eingesetzten Testsubstanzmenge zu $CO_2$ mineralisiert und noch ca. 50 mg/L unveränderte Testsubstanz bzw. Transformationsprodukte enthalten sind. Am Ende des Abbauversuchs haben wir die Lösung von der Festsubstanz (Belebtschlamm) dekantiert und gekühlt gelagert. Ausgehend von den oben getroffenen Annahmen haben wir eine Verdünnung von 1:100 vorgenommen. Für den 10-Liter-Versuchsansatz kamen 100 mL der Abbaulösung zu ca. 5 L Trinkwasservorlage. Das weitere Vorgehen während der Ozonung entsprach dem oben beschriebenen.

**Stoppen der Ozon-Reaktion**

Das Ausmaß der Ozonexpositon hängt neben der Ozonkonzentration und der Wasserbeschaffenheit auch von der Einwirkdauer ab. Aus diesem Grund ist es für standardisierte Untersuchungen notwendig, die Reaktion zu einer gegebenen Zeit abstoppen zu können. Eine Möglichkeit ist die Zugabe eines schnell wirkenden Reduktionsmittels (z.B. Natriumsulfit, Natriumthiosulfat, Indigotrisulfonat). Diese Methode wirkt in wenigen Sekunden und ist bevorzugt zu verwenden, sofern keine Störungen mit der anschließenden Analytik oder einem Toxizitätstest auftreten. Alternativ kann auch über das kräftige Durchströmen der Probe mit Stickstoff oder Helium das restliche Ozon ausgetrieben werden. Die Ozonentfernung dauert bei dieser Methode jedoch mehrere Minuten, so dass der Endpunkt der Reaktion weniger präzise definiert werden kann. Weiterhin muss bei flüchtigen Verbindungen mit einem Verlust gerechnet werden.

Als großer Vorteil darf jedoch angeführt werden, dass keine zusätzlichen Chemikalien in die Lösung eingetragen werden und somit neue Einflussgrößen bezüglich der Analytik oder der Toxizitätstests vermieden werden. Um falsch-positive Ergebnisse bei den Toxizitätstests ausschließen zu können, haben wir die Methode des Austreibens mit Stickstoff verwendet. Allerdings können auch falsch-negative Ergebnisse durch das Austreiben flüchtiger Wirkstoffe oder Transformationsprodukte auftreten.

### 3.4.8 UV-Bestrahlung und Chlorung

Während wir in diesem Projekt ausschließlich die Ozonung untersucht haben, wird im Folgenden kurz auf die Chlorung und UV-Behandlung als Desinfektionsverfahren eingegangen. Für die Desinfektion von Trinkwasser in Deutschland sind derzeit Chlor, Natriumhypochlorit, Calciumhypochlorit, Chloridoxid und Ozon als Aufbereitungsstoffe sowie die UV-Bestrahlung als Verfahren zugelassen [21]. Alle genannten Desinfektionsverfahren beruhen auf ihrer stark oxidierenden Wirkung (vgl. auch Tab. 1).

Chlor und Hypochlorite haben sich als zuverlässige und kostengünstige Desinfektionsmittel seit Jahren bewährt. Beim Einsatz von Chlor ist zu beachten, dass die desinfizierende Wirkung mit steigendem pH-Wert durch Reaktion mit verschiedenen Wasserinhaltsstoffen abnimmt [124]. Beispielsweise entstehen in Gegenwart von Ammoniumionen Chloramine, die eine erhöhte Chlordosis erforderlich machen und die zu geschmacklichen und geruchlichen Beeinträchtigungen führen. Mit organischen Wasserinhaltsstoffen reagiert Chlor unter der Bildung von halogenorganischen Verbindungen. Wichtige reaktionsbestimmende Parameter sind die eingesetzte Chlordosis, der Gehalt an organischen Verbindungen im Wasser (z.B. Huminstoffe) sowie der Bromidgehalt. Daneben wirken sich der pH-Wert, die Temperatur und die Reaktionszeit auf die Höhe der Umsetzung aus [124]. Für Trihalogenmethan als ein potenzielles Reaktionsprodukt der Chlorung ist in der Trinkwasserverordnung [19] ein Grenzwert festgelegt, der zu einem reduzierten Einsatz von Chlor führen kann.

Die Desinfektion des Wassers mit UV-Strahlung (240 nm bis 290 nm) kann als Alternative zum Einsatz von chemischen Verfahren angesehen werden. Dabei ist sicherzustellen, dass jedes Wasservolumen eine ausreichende UV-Dosis erhält. Bei dieser Desinfektionsart wird hauptsächlich ausgenutzt, dass das Absorptionsmaximum der Desoxyribonukleinsäure (DNA) und Ribonukleinsäure (RNA) um 260 nm liegt und der Energieeintrag der intensiven Atomemissionslinie des Quecksilbers bei 254 nm gut aufgenommen werden kann. Die Inaktivierung von Mikroorganismen und Viren durch UV-Strahlung beruht in erster Linie auf einer photochemischen Reaktion, bei der es zu Schäden der DNA- bzw. RNA-Stränge kommt (Bildung von Pyrimidin-Dimeren).

Neben der gewollten Schädigung der Erbinformation laufen unter den gegebenen Bedingungen (Wellenlängenbereich, Intensität und Bestrahlungszeit) im Wasserwerk kaum weitere chemische Reaktionen ab, weshalb die Bildung von Nebenprodukten bei der UV-Desinfektion nur von untergeordneter Bedeutung ist. Organische Nebenprodukte sind entweder nicht oder nur in Spuren nachweisbar. Allerdings kann es bei der UV-Bestrahlung zur Bildung von Nitrit kommen. Als Nachteil ist an diesem physikalischen Verfahren das Fehlen der Depotwirkung der Desinfektion zu nennen, was zu einer Wiederverkeimung führen kann und den Einsatz eines weiteren chemischen Verfahrens oftmals notwenig macht [124].

## 3.5 Anreicherung

Nach der Ozonung der Testsubstanzen bzw. der verdünnten Abbaulösungen unter weitgehend realistischen Bedingungen (500 µg/L Substanz vs. 10 mg/L Ozon) muss für den ausgewählten Ames-Test (siehe Kapitel 3.6 u. Anhang S. 103ff) eine Aufkonzentrierung erfolgen. Für den Ames-Test nach OECD 471 [88] sind in der Chemikalienprüfung maximal 5 mg Testsubstanz pro Platte zu testen. Dies entspricht der absoluten Menge, die anfangs im 10 L Ozonungsansatz eingesetzt werden. In der Praxis wird jedoch der Konzentrationsbereich getestet, bei dem gerade noch Hemmwirkungen bei Bakterien auftreten.

Bei der Ausarbeitung einer Anreicherungsmethode mussten wir sehr unterschiedliche Randbedingungen berücksichtigen, die teilweise konträr zueinander stehen. Der von uns gewählte Weg stellt daher oftmals eine Kompromisslösung dar. Auf wesentliche Parameter wird im folgenden Abschnitt etwas näher eingegangen werden.

### Anreicherung und Diskriminierung

Können aufgrund zu niedriger Konzentration die Analytik oder der Toxizitätsstest nicht direkt mit der ozonten Lösung durchgeführt werden, so muss über ein geeignetes Verfahren eine Aufkonzentrierung erfolgen. In der Regel handelt es sich hierbei um eine Trennmethode, die auf physikalisch/chemischen Effekten beruht. Über die diskriminierenden Eigenschaften der Methode können störende Verbindungen entfernt werden. Übertragen auf die Problemstellung dieses Projektes bedeutet dies, dass ein Verfahren gefunden werden muss, das ausgehend von 10 L wässriger Probe möglichst alle entstandenen Transformationsprodukte der Ozonung auf ein Volumen von wenigen Millilitern reduziert. Neben Wasser als unerwünschtem Hauptanteil liegen zusätzlich auch anorganische Verbindungen und der natürlich vorkommende DOC des Trinkwassers bzw. Rückstände aus dem Belebtschlamm in den Proben vor. Erschwerend kommt hinzu, dass die gesuchten Transformationsprodukte der Ozonung vorab nicht bekannt sind, es sich jedoch wahrscheinlich um polare oder ionische Verbindungen handeln wird (Ketone, Aldehyde, Karbonsäuren).

### Vergleich verschiedener Anreicherungsverfahren

Die Gesamtheit der sich im Wasser befindlichen Verbindungen lässt sich in einem stark vereinfachten Schema in folgende Kategorien einteilen:

(A) ionisch (kationisch, zwitterionisch, anionisch), polar und unpolar
(B) flüchtig und nicht flüchtig

Methoden der Festphasenextraktion (*Solid Phase Extraction*, SPE) nutzen dabei hauptsächlich Unterschiede der unter (A) beschriebenen Eigenschaften aus. Auf der Seite der ionischen Wasserinhaltsstoffe lassen sich mit Ionenaustauscherharzen gezielt Anionen oder Kationen aus dem Wasser entfernen (Coulomb-Kräfte), wobei die Wechselwirkung zu unpolaren Verbindungen gering ist. Wird hingegen ein Austauschermaterial verwendet, das auf seiner Oberfläche lange Alkylketten (z.B.

$C_{18}$) trägt, so treten Van-der-Waals-Kräfte zu unpolaren Verbindungen auf. Anorganische Ionen erfahren dabei praktisch keine, ionische organische Verbindungen eingeschränkte Wechselwirkungen zur stationären Phase, wobei deren Wechselwirkung auch vom übrigen Molekülaufbau bestimmt wird. Um die Effizienz der Anreicherung polarer oder ionischer organischer Verbindungen zu verbessern, werden Austauschermaterialien angeboten, die neben einem unpolaren Strukturelement auch funktionelle Gruppen mit polarem oder ionischem Charakter aufweisen.

Das Abziehen von Wasser kann zur Kategorie B gezählt werden. Hierunter fallen beispielsweise die Gefriertrocknung und die Destillation (eventuell unter vermindertem Druck). Bei nichtflüchtigen Verbindungen tritt keine Diskriminierung zwischen ionischen, polaren und unpolaren Stoffen auf. Weiterhin ist zu erwähnen, dass das Konzentrat in einer wässrigen Phase bleibt, was für Toxizitätstests von Vorteil sein kann, da keine zusätzlichen Lösungsmittel in das System eingetragen werden. Es darf aber auch nicht unerwähnt bleiben, dass sämtliche anorganischen Salze in dem Konzentrat bleiben und sich somit die Salzkonzentration stark erhöht. Dies kann bei der Analytik zu verstärkten Matrixproblemen und bei den Toxizitätstests aufgrund der erhöhten Osmolalität zu Komplikationen führen. Das Abziehen von 10 L Wasser per Gefriertrocknung ist in der Praxis eine sehr zeitraubende Angelegenheit. Alternativ ist hier das *SpeedDry*-Verfahren der Firma Christ (Osterode) zu nennen, bei dem die Wasserprobe im flüssigen Zustand unter vermindertem Druck eingeengt wird. Zur Vermeidung von Siedeverzügen wird bei der technischen Realisierung eine Vakuumzentrifuge verwendet. Die Kapazität der Anlage ist jedoch auf ca. 500 mL Probenvolumen pro Bestückung bei einer Laufzeit von 4 h beschränkt, weshalb es sich hierbei ebenfalls um eine zeitraubende Alternative handelt.

Als weitere Möglichkeit soll die Umkehrosmose erwähnt werden, bei der eine Membran zum Einsatz kommt, die aufgrund ihrer Porenweite im Idealfall nur reines Wasser durchtreten lässt (= Permeat). Praktisch alle anderen Wasserinhaltsstoffe (anorganische Ionen und organische Moleküle) werden von der Membran zurückgehalten und reichern sich im Konzentrat an. Im Unterschied zur Gefriertrocknung oder Destillation ist die Flüchtigkeit von Verbindungen bei der Umkehrosmose kein diskriminierender Faktor. Jedoch bleibt die Problematik der Aufkonzentrierung anorganischer Salze auch bei dieser Methode erhalten.

### Anreicherung per Festphasenextraktion

In diesem Projekt haben wir die Anreicherung mittels Festphasenextraktion an einer polaren stationären Phase (*Chromabond Easy* 500 mg, 6 mL; Fa. Macherey-Nagel) durchgeführt. Es handelt sich hierbei um ein modifiziertes Polystyrol-Divinylbenzol-Copolymer, das einen schwachen Anionenaustauscher trägt. Nach Angaben des Herstellers eignet sich das Material zur Anreicherung von polaren Herbiziden, sauren, neutralen und basischen Pflanzenschutzmitteln und polaren Phenolen. Ein weiteres Applikationsfeld ist die Untersuchung von Medikamenten in Blut, Urin, Serum und Plasma. Aus diesem Grund erschien dieses Material als zur Anreicherung der Ozonungsansätze geeignet.

**Kompatibilität des Elutionsmittels**

In der Firmen-Applikation zur verwendeten SPE-Kartusche wird zur Elution der Analyten eine Methanol/Aceton-Mischung empfohlen. Im Hinblick auf den sich anschließenden Ames-Test sind jedoch beide Lösungsmittel als kritisch einzustufen, weshalb wir stattdessen Ethanol zur Elution verwendet haben. Aus analytischer Sicht (HPLC) ist Ethanol akzeptabel. Da durch die Nutzung von Ethanol mit einer schlechteren Elutionskraft gerechnet werden muss, haben wir das Elutionsvolumen pro Kartusche auf 10 mL gesetzt. Zur Vermeidung einer Kartuschen-Überladung haben wir das Proben-Volumen auf 1000 mL pro Kartusche beschränkt. Dies bedeutet, dass pro Ozonungsansatz 10 Kartuschen zur Anreicherung verwendet wurden und letztlich 100 mL Ethanoleluat vorgelegen haben.

**Weiteres Vorgehen nach der Elution**

Vom ethanolischen Gesamteluat haben wir 5 mL für die Analytik entnommen. Zu den restlichen 95 mL gaben wir 5 mL Dimethylsulfoxid (DMSO) und engten am Rotationsverdampfer auf 5 mL ein. Das Lösungsmittel DMSO fungiert hier als biokompatibler nichtflüchtiger 'Keeper', der das komplette Abziehen des Lösungsmittels bis zur Trockne verhindert. Idealerweise sollte nach dem Abziehen des Ethanols eine reine DMSO-Lösung vorliegen. In der Praxis muss aber noch mit einem kleinen Anteil von Ethanol und Wasser gerechnet werden.

### 3.5.1 Allgemeines Vorgehen bei der SPE-Anreicherung

Die folgende Tab. 3 gibt zusammenfassend einen Überblick über die Arbeitsschritte bei der SPE-Anreicherung.

Tab. 3: Schema der SPE-Anreicherung

| Schritt | Durchführung |
|---|---|
| 1) Konditionierung | 10 mL Methanol |
| 2) Äquilibrierung | 10 mL demineralisiertem Wasser |
| 3) Beladung pro Kartusche | 10 mL/min Fließgeschwindigkeit mit 1000 mL Wasserprobe |
| 4) Trocknung | 1 Stunde im Stickstoffstrom |
| 5) Elution | 10 mL Ethanol pro Kartusche |
| 6) Homogenisierung | Vereinigung der ethanolischen Eluate (= 100 mL) |
| 7) Probe für Analytik | Entnahme von 5 mL Ethanolextrakt |
| 8) Zugabe von 'Keeper' | 5 mL Dimethylsulfoxid (DMSO) |
| 9) Evaporation | Ethanol vollständig abziehen<br>(Rotationsverdampfer bei 30 °C bis 40 °C Wasserbadtemperatur und ca. 10 mbar) |
| 10) Probe für Ames-Test | Bereitstellung des DMSO-Extraktes für den Ames-Test |

Die Bewertung einer Anreicherungsmethode bezieht sich immer auf eine definierte Verbindung und erfolgt über die Bestimmung ihrer Wiederfindungsrate. Im Falle der unbekannten Transformationsprodukte nach der Ozonung kann nur ein Vergleich anhand bekannter Verbindungen mit ähnlichen physikalisch/chemischen Eigenschaften erfolgen. Für die Charakterisierung des Anreicherungsverfahrens haben wir

neben den fünf ausgewählten Testsubstanzen weitere pharmazeutische Verbindungen untersucht (Sulfamethoxazol, Carbamazepin, Ibuprofen und Salicylsäure).

Als interner Standard setzten wir deuteriertes Carbamazepin ein. Die Wassermatrix bestand aus 1 Teil Trinkwasser und 1 Teil demineralisiertem Wasser und entsprach damit der Matrix der Ozonungsexperimente. Um das Experiment unabhängig vom Einfluss der Trinkwassermatrix auf die Analyse (z.B. Ionisierung im Massenspektrometer) zu gestalten, sind wir folgendermaßen vorgegangen:

Zu einer Wasserprobe haben wir eine Multimischung von 9 Testsubstanzen gegeben, so dass letztlich pro Substanz jeweils 10 µg/L resultierten. Diese Mischung wurde über die SPE-Kartusche angereichert. Die anschließende Elution erfolgte mit 10 mL Ethanol. Anschließend haben wir den markierten internen Standard zugegeben. Unter optimalen Bedingungen errechnet sich ein Anreicherungsfaktor von 100 ($c_{Extrakt}$ = 1 mg/L). Mit diesem Extrakt konnten wir ohne weitere Zwischenschritte eine Direktinjektion durchführen. Zur Ermittlung der maximalen Signalintensität unter den gegebenen Matrixbedingungen haben wir eine analoge Anreicherung durchgeführt, wobei diesmal die Multi-Testsubstanz-Mischung und der interne Standard erst in das Ethanoleluat kam. Auf diese Weise ist eine 100 %-Probe mit realistischer Matrixzusammensetzung, aber ohne den Verlust von Testsubstanz, zugänglich. Die Analysenergebnisse dieser Probe haben wir – nach Einbeziehung des internen Standards zum Ausgleichen von messtechnischen Variationen – auf 100 % gesetzt und mit den Ergebnissen des anderen Anreicherungsexperimentes verglichen.

## 3.6 Amestest

Der Ames-Test nach DIN 38415-4 [34] ist ein bakterieller Mutagenitätstest mit *Salmonella* Typhimurium (siehe auch Anhang S. 103ff). Die Testdurchführung erfolgte nach DIN 38415-4 mit den Teststämmen TA98 und TA100, jeweils ohne bzw. mit Zugabe von S9[19] zur metabolischen Aktivierung. Die Methode basiert auf einer vereinfachten Version der OECD 471 [88]. Der Stamm TA98 erfasst Frameshiftmutagene (Rastermutagene), der Stamm TA100 hingegen Basenpaarsubstitutionsmutagene (Punktmutationen). Die wässrigen Proben wurden sterilfiltriert, die in DMSO überführten Proben gelten als autosteril. Als maximale Testkonzentration konnten bis zu 1 mL wässrige Probe bzw. 100 µL in DMSO überführte Probe pro Platte geprüft werden. Es wurden fünf Replikate je Testansatz geprüft.

Der Ames-Test haben wir zum einen direkt – d.h. ohne weitere Anreicherung – mit den Abbau-Ansätzen der nach vier Wochen beendeten Zahn-Wellens-Tests durchgeführt. Als maximales Testvolumen konnten 1 mL Probe pro Platte zugegeben werden, die maximale Konzentration im Ames-Test betrug daher, bei fehlender Abbaubarkeit, 50 µg TOC/Platte (Prüfkonzentration im Abbautest war 50 mg/L).

[19] Präparation aus Enzym-aktivierter Säugerleber Ratte) zur experimentellen Simulation der Metabolisierung

Zum anderen haben wir die Testsubstanzen (5 mg/10 L) sowie auch die Abbaulösungen (100 mL/10 L, was bei fehlendem Abbau rechnerisch einer Startkonzentration von 0,5 mg TOC/L entspricht) durch Zugabe von Ozon-Starkwasser (Ozondosis 10 mg/L) ozont, siehe Kapitel 3.4, S. 17ff. Anschließend wurde der ozonte 10 Liter-Ansatz über 10 SPE-Kartuschen angereichert, mit insgesamt 100 mL Ethanol eluiert, mit 5 mL DMSO als 'Keeper' versetzt und am Rotationsverdampfer auf 5 mL DMSO eingeengt. Dies entspricht unter optimalen Bedingungen einem Anreicherungsfaktor von 2000. Rechnerisch liegen die Konzentrationen der Testsubstanzen bzw. deren Transformationsprodukte – ohne Berücksichtigung der selektiven Anreicherung und Abbaubarkeit – in einer Größenordnung von maximal 1 mg/mL Testsubstanz bzw. bzw. 1 mg TOC/mL der Abbaulösung, gelöst in DMSO, vor. Bei einer maximalen Zugabe von 100 µL DMSO pro Platte entspricht die Konzentration im Ames-Test somit maximal 0,1 mg Testsubstanz bzw. TOC pro Platte. In den beiden letzten Experimenten wurde die 10fache Menge Sulfapyridin ozont und angereichert (entspricht maximal 10 mg/mL bzw. 1 mg/Platte).

## 3.7 umu-Test

Nachdem eine der untersuchten Substanzen (Sulfapyridin) im Ames-Test eine auffällige Erhöhung der Induktionsraten zeigte, haben wir diese Proben zusätzlich im umu-Test (nach DIN 38415-3) [33], der insbesondere im Abwasserbereich eingesetzt wird und in die Parameterliste der Abwasserverordnung aufgenommen wurde, untersucht. Der umu-Test ist ein Gentoxizitätstest mit dem gentechnisch veränderten Bakterium *Salmonella* Typhimurium TA 1535/pSK 1002. Die Bakterien werden mit verschiedenen Konzentrationen der Abwasserprobe inkubiert. Hierbei induzieren Gentoxine das so genannte umuC-Gen, das zum SOS-Reparatursystem der Zelle gehört, welches einer Schädigung der bakteriellen Erbsubstanz entgegenwirkt. Durch die Kopplung des umuC-Gens mit dem lacZ-Gen für die β-Galaktosidase kann indirekt die Aktivierung des umuC-Gens durch Farbstoffbildung mit o-Nitrophenyl-Galactopyranosid (ONPG) bei 420 nm photometrisch nachgewiesen werden. Die Induktionsrate (IR) entspricht der Zunahme der Extinktion bei 420 nm gegenüber der Negativkontrolle. Bei der Berechnung der Induktionsraten wird der Wachstumsfaktor, der über die optische Dichte bei 600 nm bestimmt wird, berücksichtigt. Eine Hemmung des Bakterienwachstums drückt sich in einem gegenüber der Kontrolle verminderten Wachstumsfaktor (WF) aus. Bei Wachstumsfaktoren unter 0,5 (= 50 % Wachstumshemmung) werden die Ergebnisse nicht gewertet. Als Ergebnis gilt der kleinste Wert der Verdünnungsstufe G ($G_{EU}$-Wert), bei dem eine Induktionsrate < 1,5 gemessen wird. Werden bei Zusatz von S9 unterschiedliche Induktionsraten gemessen, so ist der höhere der beiden Werte maßgebend (= $G_{EU}$-Wert).

Im umu-Test haben wir lediglich die nach der Ozonung von Sulfapyridin gewonnenen Proben untersucht. Ziel war es, die zunächst nicht eindeutigen Effekte in einem zweiten Prüfsystem zu untersuchen. Die Probenaufbereitung erfolgte analog zum Ames-Test. Es konnten maximal 3,9 % DMSO zugegeben werden. Dem entsprechen

im Ansatz 27 µL DMSO in 180 µL Gesamtvolumen. Höhere DMSO-Konzentrationen wirken bakterientoxisch. Die Induktionsrate wurde auf die Lösemittelkontrolle mit DMSO bezogen.

## 3.8 Charakterisierung ozoninduzierter Transformationsprodukte

In Zukunft werden Verbindungen anthropogenen Ursprungs immer stärker in den Fokus der Wasseranalyse rücken. Während für bekannte Muttersubstanzen oder Metaboliten größtenteils etablierte Methoden der Spurenbestimmung vorliegen, zeigt es sich immer mehr, dass nach unvollständigem biologischen Abbau von Muttersubstanzen bzw. Metaboliten auch persistierende Transformationsprodukte auftreten können und dass hier aus mechanistischer/analytischer Sicht Nachholbedarf besteht. Durch ihren meist polaren Charakter sowie eine oft höhere Stabilität stellen sie eine Gefahr für die Wasserqualität dar. Neben den im natürlichen Wasserkreislauf biologisch oder nicht-biologisch entstehenden Transformationsprodukten können während der Wasseraufbereitung (z.B. Chlorung, Ozonung, UV-Behandlung) auch technische Transformationsprodukte gebildet werden.

Da die biologischen, physikalischen oder chemischen Transformationsprodukte zunächst unbekannt sind, ergeben sich für die Analytik besondere Herausforderungen: Mit ihrer Hilfe sollen qualitative und quantitative Aussagen zu Transformationsprodukten im Spurenbereich ermöglicht werden. Die in diesem Zusammenhang zu berücksichtigende Problematik der Aufkonzentrierung bzw. Diskriminierung von unbekannten Analyten haben wir bereits in Abschnitt 3.5 diskutiert. Im Folgenden werden die generellen Möglichkeiten dargestellt, ozoninduzierte Transformationsprodukte zu charakterisieren.

### Ionenchromatographische Verfahren

Die Ionenchromatographie ist zur Quantifizierung möglicher anorganischer Transformationsprodukte (z.B. Sulfat, Chlorid, Nitrat) und kleiner ionischer organischer Verbindungen (z.B. Carbonsäuren) sehr gut geeignet. Diese Methode kann daher als ein wichtiger Baustein bei einer umfassenden Stoffbilanzierung angesehen werden.

### Flüssigchromatographische Verfahren mit photometrischer Detektion

Enthält eine Ausgangsverbindung konjugierte Doppelbindungen oder aromatische Strukturelemente, sollte die Verbindung mittels LC-DAD (*Liquid Chromatography – Diode Array Detector*) analysierbar sein. Wie in Kapitel 3.4.1 beschrieben, reagiert Ozon mit Doppelbindungen unter einer C–C-Bindungsspaltung, was sich auf die spektralen Absorptionseigenschaften auswirkt. Bedauerlicherweise liegen die Absorptionsbanden typischer Transformationsprodukte (z.B. Carbonsäuren, Carbonylverbindungen) in einem Bereich um 200 nm bis 220 nm, in dem mit diversen spektralen Interferenzen gerechnet werden muss. Daher eignet sich die photometrische Detektion bei LC-Verfahren gut zur Kontrolle der Substanzabnahme

während der Ozonung, jedoch kann es bei der Suche nach neuen Transformationsprodukten zu methodischen Limitierungen in der Detektion kommen.

**Flüssigchromatographische Verfahren mit massenspektrometrischer Detektion**

HPLC-MS-Techniken kommt eine zentrale Rolle bei der Identifizierung der durch Ozonung entstandenen Transformationsprodukte im niedrigen Konzentrationsbereich zu. Da die Massen der zu erwartenden Abbauprodukte zunächst nicht bekannt sind, kann eine Untersuchung im Full-Scan-Modus Informationen zu den neuen Massen liefern. Messungen im Negativ- und Positiv-Modus helfen, die Massen der unbekannten Abbauprodukte zu bestimmen und zu bewerten. Dabei kann unterschieden werden, ob Verbindungen eher basisch oder sauer reagieren. Zur weitergehenden Absicherung möglicher Strukturvorschläge eigenen sich MS/MS-Experimente mit ihren charakteristischen neutralen Verlustmassen.

Die Auflösung üblicher Massenspektrometer mit einem Quadrupol als Massenfilter reicht im Allgemeinen nicht zur eindeutigen Charakterisierung einer Verbindung aus. Neben der oben erwähnten Möglichkeit von MS/MS-Experimenten kann zusätzlich auch die Nutzung eines Spektrometers mit einer höheren Massengenauigkeit hilfreich sein (z.B. ein *Time-of-Flight*-Gerät, TOF). Über die exakte Masse reduziert sich die Auswahl möglicher Summenformeln deutlich und über das Berücksichtigen von Plausibilitätstests kann die Vorschlag-Liste zusätzlich eingeschränkt werden.

# 4 Nomenklatur, Begrifflichkeiten

## 4.1 Stoffbezeichnung

**Muttersubstanzen, Wirkstoffe und Prodrugs**

Arzneimittelwirkstoffe können nach der Applikation sowohl im menschlichen Körper als auch im sich anschließenden Wasserkreislauf abgebaut oder vielfältig modifiziert werden. Dies wurde bereits in der Aufgabenstellung (Kapitel 2.3 und 2.4, S. 4ff) dargestellt. In diesem Bericht verwenden wir die von einigen von uns (Längin et al. [72]) vorgeschlagene Nomenklatur, welche vor allem den Ort der jeweiligen Modifikation herausstellt.

Dabei bezeichnen wir die im Produkt (Arzneimittel) enthaltenen Substanzen als *Wirkstoffe* bzw. *Muttersubstanzen* – unabhängig davon, ob es sich wirklich bereits um das pharmazeutisch aktive Agens handelt oder erst um ein Prodrug.

Muttersubstanzen können sowohl durch metabolische Aktivitäten eigener Körperzellen als auch durch Mikroorganismen der Darm- oder Hautflora verändert werden. Bei oraler Aufnahme erfolgen solche Änderungen oft bereits bei der Resorption durch die Darmepithelien oder nachfolgend bei der Leberpassage und werden dann als

*First Pass*-Effekt bezeichnet. In den Arzneimittelinformationen der Hersteller wird die gesamte Metabolisierung im Rahmen der Pharmakokinetik dargestellt. Die Pharmakokinetik umfasst die Wirkstoff-Freisetzung aus der Darreichungsform, die Aufnahme in den Körper und die Verteilung in dessen Kompartimente sowie die Verstoffwechselung bis hin zur Ausscheidung.

Zur eindeutigen Bezeichnung der Arzneimittelwirkstoffe haben wir in diesem Bericht ausschließlich die deutschen INN-Bezeichnungen (siehe Kapitel 3.1.1) verwendet, teilweise ergänzt durch die CAS-Nummer des *Chemical Abstracts Service*.

### Metabolite

Aus der Muttersubstanz abgeleitete und identifizierte Stoffwechselprodukte haben wir als *Metabolite* bezeichnet. Metabolite sind in diesem Sinne sämtliche, vom menschlichen Körper ausgeschiedenen Um- oder Abbauprodukte der Muttersubstanz. Für Metabolite steht keine INN-Bezeichnung zur Verfügung, die von uns gewählten Bezeichnungen haben wir deshalb durch eine CAS-Nummer ergänzt, soweit diese verfügbar war.

### Transformationsprodukte

Im Gegensatz dazu haben wir alle erst nach der Ausscheidung entstehenden Folgesubstanzen als *Transformationsprodukte* bezeichnet. Soweit diese durch Mikroorganismen entstehen, ist die Ursache selbstverständlich ebenfalls deren Metabolismus. Der Terminus Transformationsprodukt hebt aber den unterschiedlichen Ort hervor, an dem diese Stoffänderung stattfindet. Es wird keine Aussage zum Prozess gemacht. Stofftransformationen können biologisch oder nichtbiologisch, etwa durch Photolyse (UV), Oxidation oder Reduktion entstehen. Es ist sogar möglich, dass durch Transformation die Muttersubstanz rückgebildet wird[20].

Transformationen können auch bei der Wasseraufbereitung entstehen, z.B. bei der Ozonung, Chlorung oder UV-Bestrahlung. In diesem Fall entstehen technische Transformationsprodukte.

In Abb. 11 haben wir die Abfolge der verschiedenen Metabolisierungs- und Transformationsvorgänge als Schema dargestellt. Links im Bild sind ergänzend Eliminationsprozesse genannt, welche Substanzen auf den verschiedenen Ebenen ganz oder teilweise aus dem Wasserkreislauf entfernen können. Nur durch die Müllverbrennung und den mikrobiellen Totalabbau werden Substanzen völlig zu den Endpunkten Wasser und Kohlendioxid abgebaut.

Wir haben vereinfachend angenommen, dass die Arzneimittel vollständig eingenommen werden. Es wird geschätzt, dass dies zu etwa 10 %–30 % nicht zutrifft und

[20] z.B. werden manche Wirkstoffe in der Leber sulfatiert oder glykosidiert. Die Rückspaltung (Hydrolyse) setzt dann den Wirkstoff wieder frei

entweder eine reguläre Abfallentsorgung (Verbrennung) erfolgt oder über Toilette oder Ausguss ein direkter, vorschriftswidriger Abwassereintrag[21].

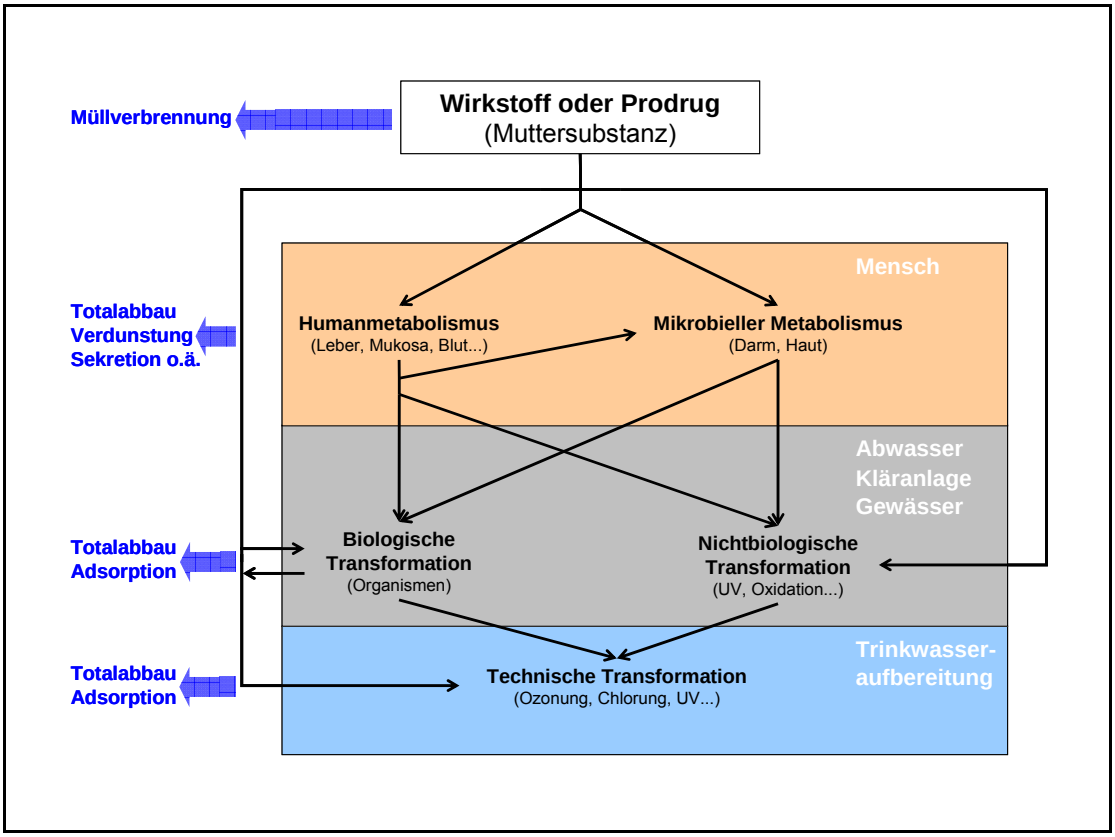



Abb. 11: Arzneimittel, Metabolisierung und Transformation im Wasserkreislauf

## 4.2 Ozonbehandlung

Die in diesem Abschnitt getroffenen Definitionen zur Ozonung sind u.a. an die Technische Regel W 225 vom DVGW [38] angelehnt.

### Ozonolyse

Unter Ozonolyse wird nach Criegee [28] das Einwirken des Ozon-Moleküls auf eine ungesättigte organische Verbindung verstanden, wobei letztlich die C–C-Mehrfachbindung so gelöst wird, dass beide C-Atome in dem jeweiligen Produkt mit Sauerstoff beladen erscheinen. Aus chemischer Sicht handelt es sich hierbei im primären Schritt um eine [2+3]-Cycloaddition. In der organischen Chemie wird die Ozonolyse oftmals in inerten Lösungsmitteln (Pentan, Tetrachlorethan, Essigester, usw.) sowie bei niedrigen Temperaturen (−78 °C) durchgeführt, um die Kinetik und Selektivität der Reaktion steuern zu können. Der Begriff Ozonolyse ist daher eng mit der Addition des Ozons an Doppelbindungen verknüpft und sollte nicht für andere Reaktionswege (z.B. Bromatbildung aus Bromid) verwendet werden.

[21] nach www.start-project.de nicht auszuschließen für ca. 16 % der festen u. ca. 43 % der flüssigen Arzneimittel

**Ozonide**

Nach der primären Cycloaddition von Ozon an eine Doppelbindung entsteht zunächst das 1,2,3-Trioxolan, welches als Ozonid bezeichnet wird. Dieses primär gebildete Ozonid ist aufgrund der O–O–O-Bindung energiereich und zerfällt unter gleichzeitiger Spaltung der C–C-Verknüpfung zu einem Aldehyd bzw. Keton und einem Carbonyloxid. Diese beiden Verbindungen können in einer zweiten Cycloaddition erneut ein Ozonid bilden (1,2,4-Trioxolan), welches eine definierte Verbindung darstellt und sich, sofern das Molekül nicht zu groß ist, über Vakuumdestillation, Kristallisation oder Chromatographie isolieren lässt. Abgesehen von einfachen Vertretern (Ethylenozonid) sind diese Ozonide nicht besonders explosiv. Beide genannten Ozonide gehören zur Gruppe der monomeren Ozonide. Daneben können sich auch polymere Ozonide bilden, die aufgrund ihrer Neigung zur Explosion alsbald vernichtet werden sollten [28].

**Ozonung**

Findet eine Wasserbehandlung über den Eintrag von gasförmigem Ozon oder durch Zugabe einer Ozon-Starkwasserlösung statt, so wird dies als Ozonung bezeichnet. Der Begriff der Ozonung definiert daher nicht einen speziellen Reaktionspfad, sondern beschreibt ganz allgemein die Behandlung eines Wassers mit Ozon.

**Ozonisierung**

Als Ozonisierung wird die Reaktion von Ozon mit Wasserinhaltsstoffen verstanden. Darin eingeschlossen sind neben der Ozonolyse von Doppelbindungen auch alle weiteren direkten und indirekten Reaktionen von Ozon bzw. dessen Folgeprodukten mit Stoffen in Wasser zu verstehen (Redox-Reaktionen, radikalische Reaktionen).

**Ozondosis**

Unter der Ozondosis/Ozondosierung wird die zugesetzte Menge Ozon pro Volumen ($\beta(O_3)$ in mg/L) verstanden. In den Experimenten dieser Arbeit wurden ausschließlich Batch-Tests durchgeführt, bei denen der Begriff Ozondosis als die rechnerisch ermittelte Ozonkonzentration nach Zugabe und Durchmischung des Ozon-Starkwassers zur Probenlösung verstanden wird.

**Ozoneintrag**

Der Ozoneintrag ist die rechnerische Differenz zwischen zudosierter und ausgetragener Ozonmenge pro Volumen.

**Ozonzehrung**

Unter Ozonzehrung ist die (zeitliche) Abnahme der Ozonkonzentration im Batch-Versuch nach der Zudosierung des Starkwassers zu verstehen. Die Höhe der Ozonzehrung hängt hauptsächlich von äußeren Randbedingungen (z.B. Temperatur, pH) und den Wasserinhaltsstoffen (anorganische und organische Verbindungen) ab. Weiterhin kann noch zwischen einer Ozonzehrung ohne und mit einem Zusatz einer

Testsubstanz unterschieden werden. Dabei ist das Ausmaß dieser zusätzlichen Ozonzehrung von der chemischen Struktur und der Konzentration der Testsubstanz abhängig.

**Ozonexposition**

Neben der Ozondosis ist die Einwirkzeit des Ozons ein weiterer Parameter bei der Charakterisierung von Ozonungen. In Batch-Versuchen ist das Integral der Ozonkonzentration über die Zeit (c·t) ein Maß für die Ozonexposition. Neben Ozondosis und Kontaktzeit sind die Ozonzehrung und die Art des Stoppens der Reaktion weitere Parameter, welche die Höhe der Ozonexposition bestimmen.

# 5 Erstellen einer Stoffliste / Stoffauswahl (Phase I)

Um eine Auswahl von experimentell zu untersuchenden Stoffen zu erhalten, haben wir zunächst aus einer vorliegenden, bundesweiten Verbrauchserhebung Einzeldosen in Wirkstoffmengen umgerechnet und Informationen zur Metabolisierung recherchiert. Substanzen, die entweder in hohem Maße bzw. gar nicht metabolisiert in den Wasserkreislauf gelangen, die in Publikationen bislang noch nicht berücksichtigt waren und für die Hinweise vorlagen, dass sie nicht biologisch abbaubar, ausreichend mobil und in toxikologischer Hinsicht relevant sind, haben wir dann in die engere Auswahl gezogen.

## 5.1 Erfassung des Medikamentenverbrauches

Wie in Kapitel 3.1 geschildert, haben wir sämtliche, im Arzneiverordnungsreport 2006 [113] aufgeführten Wirkstoffverbräuche (DDD) des Jahres 2005 ausgewertet. Insgesamt waren dies 915 DDDs für Wirkstoffe und Wirkstoffkombinationen: Für 621 Wirkstoffe konnten wir eine Tonnage berechnen. Anschließend haben wir die ersten 33 verbrauchsstärksten Wirkstoffkombinationen manuell nachgearbeitet, d.h. in die Einzelwirkstoffe aufgelöst und ebenfalls Wirkstoffmengen berechnet. Wir haben nur solche Kombinationen betrachtet, die keine Naturstoffe betrafen.

Nach diesem Schritt hatten wir 706 Wirkstoffe mit einem Gesamtverbrauch von 4201 Tonnen/Jahr bilanziert.

Aus den in den Fachinformationen der Arzneimittelhersteller verfügbaren Angaben konnten wir die Ausscheidung nicht metabolisierter Muttersubstanz berechnen oder abschätzen. Wir haben dies für alle Substanzen mit einem berechneten Jahresverbrauch von > 0,5 Tonnen durchgeführt. Insgesamt waren dies 261 Wirkstoffe mit einem Verbrauch von 3915 Tonnen/Jahr.

Die nachfolgende Tab. 4 zeigt die 54 Wirkstoffe mit einem Verbrauch von > 10 Tonnen/Jahr, die mehr als 86 % der bilanzierten Gesamtmenge stellen. Aufgeführt ist die insgesamt bilanzierte Wirkstoffmasse, der Anteil des unverändert ausge-

schiedenen Wirkstoffes sowie der Anteil von in metabolisierter Form ausgeschiedenem Wirkstoff. Im Folgenden nicht weiter berücksichtigte Substanzen wie die Lactulose (vollständig biologisch abbaubar) sowie Naturstoffe oder pflanzliche Wirkstoffe wie Johanniskraut, Theophyllin, Calciumcarbonat usw. sind in der Tabelle ebenfalls aufgeführt, sind aber optisch anders dargestellt.

Tab. 4: Ergebnis der Bilanzierung aus dem Arzneiverordnungs-Report 2006
Wirkstoffe mit einem Jahresverbrauch (2005) > 10 to / *Angaben betreffen nur den Hauptwirkstoff

| | | ***Masse* in to (Jahr 2005)** | | |
|---|---|---|---|---|
| **Nr.** | **Wirkstoff** | **Gesamtbilanz (Verbrauch)** | **unverändert ausgeschieden** | **metabolisiert ausgeschieden** |
| 1. | Metformin | 757 | 757 | 0 |
| 2. | Ibuprofen | 265 | 13 | 252 |
| 3. | Metamizol-Natrium | 202 | 20 | 182 |
| 4. | *Lactulose* | 182 | 2 | 180 |
| 5. | Amoxicillin mit Enzym-Inhibitoren* | 164 | 113 | 51 |
| 6. | Acetylsalicylsäure | 137 | 7 | 130 |
| 7. | Allopurinol | 132 | 40 | 92 |
| 8. | Piracetam | 120 | 120 | 0 |
| 9. | Metoprolol | 116 | 11 | 105 |
| 10. | Clindamycin | 98 | 5 | 93 |
| 11. | *Johanniskraut* | 88 | k.A. | k.A. |
| 12. | *Theophyllin* | 88 | 13 | 74 |
| 13. | Paracetamol | 87 | 8 | 78 |
| 14. | Acetylcystein | 85 | 4 | 80 |
| 15. | Amoxicillin | 76 | 53 | 24 |
| 16. | Valproinsäure | 67 | 6 | 60 |
| 17. | Mesalazin | 66 | 58 | 8 |
| 18. | Carbamazepin | 64 | 4 | 59 |
| 19. | *Calciumcarbonat* | 53 | k.A. | k.A. |
| 20. | Phenoxymethylpenicillin | 52 | 38 | 14 |
| 21. | Diclofenac | 48 | 16 | 32 |
| 22. | Verapamil | 44 | 8 | 36 |
| 23. | Ranitidin | 38 | 25 | 13 |
| 24. | Gabapentin | 37 | 37 | 0 |
| 25. | Hydrochlorothiazid | 34 | 32 | 1 |
| 26. | Irbesartan | 30 | 28 | 3 |
| 27. | Sulfasalazin | 27 | 3 | 24 |
| 28. | Sulfamethoxazol und Trimethoprim* | 27 | 6 | 20 |
| 29. | Tramadol | 27 | 19 | 7 |
| 30. | Levodopa und Decarboxylasehemmer* | 26 | 12 | 14 |
| 31. | Furosemid | 26 | 24 | 2 |
| 32. | Pentoxifyllin | 26 | 2 | 24 |
| 33. | *Thymiankraut* | 25 | k.A. | k.A. |
| 34. | Valsartan | 24 | 23 | 2 |
| 35. | *Kaliumchlorid* | 22 | k.A. | k.A. |
| 36. | Erythromycin | 19 | 16 | 4 |
| 37. | Simvastatin | 18 | 15 | 3 |
| 38. | *Calciumacetat, wasserfrei* | 18 | 0 | 18 |
| 39. | Tilidin, Kombinationen* | 17 | 2 | 14 |
| 40. | Clarithromycin | 16 | 5 | 11 |
| 41. | Methotrexat | 16 | 13 | 2 |
| 42. | Captopril | 16 | 10 | 6 |
| 43. | Levetiracetam | 15 | 11 | 4 |
| 44. | Bezafibrat | 15 | 8 | 7 |

| | | *Masse* in to (Jahr 2005) | | |
|---|---|---|---|---|
| **Nr.** | **Wirkstoff** | **Gesamtbilanz (Verbrauch)** | **unverändert ausgeschieden** | **metabolisiert ausgeschieden** |
| 45. | Lisinopril | 12 | 12 | 0 |
| 46. | Triamteren | 12 | 4 | 8 |
| 47. | *Efeublätter* | 12 | k.A. | k.A. |
| 48. | Sotalol | 12 | 12 | 0 |
| 49. | Oxcarbazepin | 11 | 1 | 11 |
| 50. | Clopidogrel | 11 | 4 | 7 |
| 51. | Cefaclor | 11 | 9 | 2 |
| 52. | Fenofibrat | 10 | 0 | 10 |
| 53. | Sevelamer | 10 | 10 | 0 |
| 54. | Spironolacton | 10 | 3 | 7 |

## 5.2 Erstellung von Stoffdossiers

Ausgangspunkt der Auswahl von Arzneimittelmetaboliten, welche unter humantoxikologischen Aspekten im Wasserkreislauf von Relevanz sein könnten, waren die in Kapitel 5.1 dargestellten Verkaufsmengen von Arzneimitteln in Deutschland, insbesondere die Hochrechnung der metabolisierten Anteile.

Die folgende Tab. 5 zeigt eine Auswertung der Arzneimittelwirkstoffe, die nach dem metabolisierten Anteil absteigend sortiert ist. Für pflanzliche oder anorganische Wirkstoffe besaßen wir keine Angabe zur Metabolisierung, dort haben wir deshalb die bilanzierte Verbrauchsmasse in Tonnen unverändert stehen gelassen.

Von dieser Reihe haben wir (in mengenmäßig abnehmender Reihenfolge) für 28 Humanarzneimittel eine detaillierte Betrachtung der entstehenden Metabolite und ihrer toxikologischen Eigenschaften erstellt. Nicht berücksichtigt haben wir die in der Tabelle optisch andersartig dargestellten Wirkstoffe, auf die mindestens eines der folgenden Kriterien zutrifft:

- es handelt sich um anorganische oder organische Naturstoffe, teilweise besteht auch über andere Quellen eine relevante Exposition des Menschen (z.B. Johanniskraut, Theophyllin)
- aufgrund der leichten Abbaubarkeit ist keine Entstehung stabiler toxischer Metabolite zu erwarten (z.B. Lactulose, Acetylcystein, Clavulansäure, s.u.)
- es handelt sich um Substanzen, die selbst Metabolit von anderen, bereits in der Liste enthaltenen Wirkstoffen sind (Mesalazin ist ein Metabolit von Sulfasalazin)

In der Tab. 5 sind die Substanzen, die zur Betrachtung der entstehenden Metaboliten ausgewählt wurden, in Fettdruck hervorgehoben. Das Antibiotikum Amoxicillin wurde dabei zweimal bilanziert, einmal mit und einmal ohne den Enzyminhibitor (Betalaktamasehemmer) Clavulansäure, der aufgrund der Instabilität/Abbaubarkeit nicht weiter in Betracht gezogen wurde (Clavulansäure ist zu 20 % der Masse von Amoxicillin enthalten).

Von den Kombinationswirkstoffen haben wir lediglich das Trimethoprim mit berücksichtigt, obwohl es mit nur 20 % der Masse des Hauptwirkstoffes Sulfamethoxazol in

den Medikamenten enthalten ist. Der Decarboxylasehemmer Carbidopa, der mit Levodopa kombiniert appliziert wird, ist zu 25 % der Masse des Hauptwirkstoffes enthalten und unterschreitet das Abschneidekriterium von 8 Tonnen (bei Omeprazol). Das Gleiche gilt für den Wirkstoff Naloxonhydrochlorid, der als Kombinationswirkstoff weniger als 10 % der Masse des Hauptwirkstoffes Tilidin ausmacht.

Tab. 5: Bilanzierte Wirkstoffe. Sortierung nach der metabolisierten Menge, ausgewählte Substanzen sind in Fettdruck
*die Massenangabe ist jeweils nur auf den Hauptwirkstoff bezogen

| | | ***Masse* in to** |
|---|---|---|
| **Nr.** | **Wirkstoff** | **metabolisiert ausgeschieden** |
| 1. | **Ibuprofen** | 252 |
| 2. | **Metamizol-Natrium** | 182 |
| 3. | *Lactulose* | 180 |
| 4. | **Acetylsalicylsäure** | 130 |
| 5. | **Metoprolol** | 105 |
| 6. | **Clindamycin** | 93 |
| 7. | **Allopurinol** | 92 |
| 8. | *Johanniskraut* | k.A. (88) |
| 9. | *Acetylcystein* | 80 |
| 10. | **Paracetamol** | 78 |
| 11. | *Theophyllin* | 74 |
| 12. | **Valproinsäure** | 60 |
| 13. | **Carbamazepin** | 59 |
| 14. | *Calciumcarbonat* | k.A. (53) |
| 15. | **Amoxicillin** mit Enzym-Inhibitoren* | 51 |
| 16. | **Verapamil** | 36 |
| 17. | **Diclofenac** | 32 |
| 18. | *Thymiankraut* | k.A. (25) |
| 19. | **Sulfasalazin** | 24 |
| 20. | **Pentoxifyllin** | 24 |
| 21. | **Amoxicillin** | 24 |
| 22. | *Kaliumchlorid* | k.A. (22) |
| 23. | **Sulfamethoxazol** und **Trimethoprim*** | 20 |
| 24. | *Calciumacetat, wasserfrei* | k.A. (18) |
| 25. | **Tilidin**, Kombinationen* | 14 |
| 26. | **Levodopa** und Decarboxylasehemmer* | 14 |
| 27. | **Phenoxymethylpenicillin** | 14 |
| 28. | **Ranitidin** | 13 |
| 29. | *Efeublätter* | k.A. (12) |
| 30. | **Clarithromycin** | 11 |
| 31. | **Oxcarbazepin** | 11 |
| 32. | **Fenofibrat** | 10 |
| 33. | **Isosorbiddinitrat** | 9 |
| 34. | **Naftidrofuryl** | 9 |
| 35. | **Mycophenolsäure** | 8 |
| 36. | **Opipramol** | 8 |
| 37. | *Mesalazin* | 8 |
| 38. | **Omeprazol** | 8 |

Unabhängig von den ausgewählten Metaboliten haben wir ergänzend zwei praktisch nicht metabolisierte Wirkstoffe für die Erstellung von Stoffdossiers ausgewählt: *Metformin*, das mit einer bilanzierten Verbrauchsmenge von 757 to an 1. Stelle der Erhebung steht und *Piracetam*, mit 120 to auf Platz 8 (Tab. 4). Diese Wirkstoffe stellen Modellsubstanzen für Arzneimittelwirkstoffe dar, die für die Bildung technischer Transformationsprodukte bei der Trinkwasseraufbereitung in Frage kommen (vgl. Kapitel 2.5, S. 5ff).

Exemplarisch zeigen wir an dieser Stelle das Stoffdossier von Ranitidin (der Übersichtlichkeit halber ohne Literaturliste). Das vollständige Stoffdossier findet sich, ebenso wie die restlichen in alphabetischer Reihenfolge im Anhang (S. 118ff).

## 5.2.1 Exemplarisches Stoffdossier Ranitidin

| **Substanz** | **CAS-Nr.** |
|---|---|
| Ranitidin | 66357-35-5 |
| Ranitidin-Hydrochlorid | 71130-06-8 u. 66357-59-3 |
| **Metabolite** | |
| Ranitidin-N-oxid | 73857-20-2 |
| Ranitidin-S-oxid | 73851-70-4 |
| Desmethylranitidin | 66357-25-3 |

### Pharmakologie und Toxizität von Ranitidin

Ranitidin ist ein Histamin-Antagonist für gastrische $H_2$-Rezeptoren. Es inhibiert die Histamin-induzierte gastrische Sekretion und Säureproduktion. Die übliche Tagesdosis ist 150 mg−300 mg. Beim Menschen wurden nur nach parenteraler Verabreichung hoher Dosen auch cholinerge Effekte in Form von Bradykardie, Erröten, Tränenfluss sowie Geistesverwirrung beobachtet. Ranitidin ist in hohen Konzentrationen im Ames-Test schwach mutagen. Die Effektkonzentrationen lagen dabei um ca. 3 Größenordnungen über den therapeutisch relevanten Blutplasmawerten. Kanzerogene Effekte wurden in Langzeitstudien an Mäusen, Ratten und Hunden nicht beobachtet [350, 353].

In Magensaft kann sich in vitro aus Ranitidin ein Nitrosoderivat bilden, das im Ames-Test mutagen ist [352]. Jedoch wurde bei Ranitidin-behandelten Patienten kein Anstieg der Mutagenität von Magensaft im Ames-Test gegenüber Kontrollpersonen beobachtet [359].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Ranitidin hat bei oraler Aufnahme eine Bioverfügbarkeit von ca. 50 %, es findet ein relevanter first-pass-Metabolismus in der Leber statt. Die Metaboliten sind Desmethylranitidin, Ranitidin-N-Oxid und Ranitidin-S-Oxid. Beim Menschen stellt das N-Oxid den Hauptmetabolit dar. Ältere Menschen haben ein kleineres Verteilungsvolumen, eine höhere AUC (*Area Under Curve*) und eine langsamere Eliminations-

halbwertszeit als jüngere erwachsene Personen. Einige Autoren berichten die Bildung eines nicht näher spezifizierten Furanylsäurederivates [354].

30 %−50 % der verabreichten Dosis wurden innerhalb von 24 h als Muttersubstanz im Urin ausgeschieden, davon Desmethylranitidin zu 2 %−3 % der Dosis, Ranitidin-N-Oxid zu 4 %−6 % und Ranitidin-S-Oxid zu 1 %. Der Rest wird über die Galle in Fäzes eliminiert. Die Halbwertszeit der Ausscheidung ist üblicherweise ca. 1,5 h−3 h (aber bis zu 6 h bei älteren Personen). Bei manifesten Nierenfunktionsstörungen kann die Ausscheidung verlangsamt sein [351, 353, 356, 357, 358, 360].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Beim Menschen wiesen die Metaboliten N-Oxid und S-Oxid nur eine schwache $H_2$-Rezeptor-blockierende Aktivität auf. In der Ratte war Desmethylranitidin 4fach weniger wirksam als die Muttersubstanz, beim Hund 2fach (keine Humandaten) [353]. In NLM [357, 358] wurden die Metaboliten Desmethylranitidin, Ranitidin-N-Oxid und Ranitidin-S-Oxid als pharmakologisch inaktiv bezeichnet.

Ranitidin-N-Oxid war in der Maus deutlich weniger akut toxisch (i.v. LD50 >1000 mg/kg) als die Muttersubstanz (i.v. LD50 60 mg/kg) [362].

Zu Effekten längerfristiger Exposition gegenüber Ranitidin-Metaboliten liegen keine Daten vor.

Bei spezieller Testung der cholinergen Aktivität war das S-Oxid hinsichtlich der Inhibition der Acetylcholinesterase in menschlichen Erythrozyten ca. 10fach schwächer wirksam als die Muttersubstanz [355].

Ranitidin war in hohen Konzentrationen im Ames-Test schwach mutagen. Die Effektkonzentrationen lagen dabei um ca. 3 Größenordnungen über den therapeutisch relevanten Blutplasmawerten. Die Hauptmetabolite (nicht näher spezifiziert) zeigten keine signifikante mutagene Wirkung [353].

In vitro kann sich aus Ranitidin ein Nitrosoderivat bilden, das im Ames-Test mutagen ist [352]. Ob diese Reaktion auch bei Metaboliten erfolgt, ist nicht bekannt.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Nach den vorliegenden spärlichen Befunden scheinen die Metabolite von Ranitidin deutlich schwächer pharmakologisch wirksam und weniger toxisch zu sein als die Muttersubstanz. Allerdings besteht die Möglichkeit, dass in reduktiver Umgebung die N- und S-Oxidgruppe wieder gespalten wird, was zur Rückbildung der Muttersubstanz führen würde.

Ranitidin wurde vereinzelt in europäischen und nordamerikanischen Oberflächengewässern nachgewiesen (keine Konzentrationsangabe) [361].

### 5.2.2 Erste Auswahlliste

Um potenziell relevante, bislang noch nicht identifizierte Arzneimittelmetabolite auszuwählen, haben wir die in den Stoffdossiers erhaltenen Informationen (siehe Anhang S. 118ff) in tabellarischer Form zusammengefasst (Tab. 6). Aus dieser ersten Zusammenstellung erstellten wir eine weitere, nochmals komprimierte Form der Darstellung, die einen schnellen Überblick über die bewertungsrelevanten Parameter ermöglicht (Tab. 7).

Wir haben dabei folgende Auswahlkriterien berücksichtigt:

- es erfolgt eine Metabolisierung der Muttersubstanz in relevantem Umfang (…die Metabolisierungsrate ist größer als 50 %)
- es entsteht eine geringe Anzahl von Metaboliten (…bis zu 3 Metabolite)
- die Metaboliten besitzen biologische Aktivität (z.B. ähnliche pharmakologische Wirksamkeit wie die Muttersubstanz)
- es liegen noch keine Daten zu Umweltvorkommen und/oder zu mutagenen Effekten der Metaboliten vor

Diese Kriterien erfüllten fünf der ausgewerteten 28 Humanarzneimittel (Muttersubstanzen): das Lincosamid-Antibiotikum *Clindamycin*, das Urikostatikum *Allopurinol*, das Antiepileptikum und Antipsychotikum *Valproinsäure*, das Hämorheologikum *Pentoxifyllin* und das Parkinsonmittel *Levodopa*.

Bei den drei zusätzlich betrachteten Tierarzneimitteln wurde ähnlich verfahren, wobei sich deren Auswahl am vorliegenden Nachweis im Wasserkreislauf orientierte. Von diesen erfüllte nur *Lincomycin* – wie Clindamycin ebenfalls ein Lincosamid-Antibiotikum – die genannten Kriterien, wobei der mengenmäßige Anteil der zwei Hauptmetabolite quantitativ nicht genau zu identifizieren war. In den folgenden Tab. 6 und Tab. 7 sind alle sechs vorgemerkten Substanzen durch Fettdruck hervorgehoben.

Tab. 6: Zusammenfassung der stoffspezifischen Daten, Reihung in absteigender Quantität des Metaboliteneintrags in die Umwelt

| Muttersubstanz (MS) betreffend | | | Metabolite (M) betreffend | | | | | | Umweltvorkommen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Wirkstoff** | **Muta** | **Kanz** | **Anteil in % (Anzahl)** | **% identifiz. (Anzahl)** | **Hauptmetabolite pharmakol. aktiv** | **Muta** | **Sonstige Toxizität** | **Rück-bildg.** | **MS/M** |
| Ibuprofen | − | k.D. | 90 (>4) | 75 (>3) | − | k.D. | k.D. | ? | +/+ |
| Metamizol | + | + | 100 (5) | 65, davon 50 (2) | + (MS ist Prodrug) | + | Nitrosierung gezeigt | −? | k.D./+ |
| Acetylsalicylsäure | +? | − | 100 (6) | 100, davon 75 (1) | + | +? | akut niedriger, auch Fruchtschäden | ? | +/+ |
| Metoprolol | − | +? | 90 (4) | 90, davon 60 (1) | + | − + (Nitroso) | akut niedriger, evtl. Nitrosierung, noch nicht in vivo nachgewiesen | | +/k.D. |
| **Clindamycin** | k.D. | k.D. | 90 (7) | 60, davon 50 (2) | + und − | k.D. | k.D. | ? | gering/k.D. |
| **Allopurinol** | − | −, TP | 5−30 (1) | 70 (1) | + | −, TP? | Allergie durch Metabolit? | ? | k.D./k.D. |
| Paracetamol | + | +? | 95 (8) | 95, davon 90 (2) | − | + | zusätzl.: endogen gebildetes Benzochinonimin stark toxisch und mutagen, aber vermutlich keine Umweltrelevanz | +? | +/k.D. MS Abbau Kläranl. |
| **Valproinsäure** | +? | k.D. | 95 (50) | 80 (2) | + | +? | Hepatotoxizität | ? | gering/k.D. |
| Carbamazepin | +? | + | 85 (32) | 70, davon 35 (1) | + | − | evtl. Nitrosierung, noch nicht in vivo nachgewiesen, nicht mutagenes Produkt | ? | +/+ |
| Amoxicillin | +? | k.D. | 20−30 (1) | 10−25 (1) | − | k.D. | Metabolit auch allergen | ? | gering/k.D. |
| Verapamil | − | − | 95 (12) | 40 (4) | + | k.D. | k.D. | − | gering/k.D. |
| Diclofenac | − | − | 90 (>10) | 90, davon 60 (3) | − | k.D. | Benzochinonimin-Bildung möglich, aber vermutlich keine Umweltrelevanz | ? | +/k.D. |
| Sulfasalazin | + | + | 90 (7) | 90 (7) | + (MS ist Prodrug) | + | Benzochinonimin-Bildung möglich, aber vermutlich keine Umweltrelevanz | − | +/k.D. |
| **Pentoxifyllin** | +? | +? | 95 (3) | 95, davon 50–80 (1) | + | k.D. | fruchtschädigend? | + | +/k.D. |
| Sulfamethoxazol | +? | +? | 80 (5) | 70, davon 30 (1) | − | k.D. | Allergie durch Metabolit, in vitro-Bildung eines schwach mutagenen Metaboliten | ? | +/+ |
| Trimethoprim | +? | k.D. | 20 (>5) | 20 | teilw. +? | k.D. | k.D. | ? | gering/k.D. |
| Tilidin | k.D. | k.D. | 70 (>2) | 5 (2) | + (MS ist Prodrug) | k.D. | k.D. | −? | k.D./k.D. |
| **Levodopa** | + | k.D. | 95/30 | 80–85 (2) | + und − | k.D. | | − | k.D. |

Fortsetzung der Tabelle

| Muttersubstanz (MS) betreffend | | | Metabolite (M) betreffend | | | | | | Umweltvorkommen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Wirkstoff** | **Muta** | **Kanz** | **Anteil in % (Anzahl)** | **% identifiz. (Anzahl)** | **Hauptmetabolite pharmakol. aktiv** | **Muta** | **Sonstige Toxizität** | **Rück-bildg.** | **MS/M** |
| Phenoxymethyl-penicillin | + | − | 90–95 (> 3) | 35–70 (1) | − | k.D. | | − | gering/k.D. |
| Ranitidin | (+) | − | 50 (3) | 10 | (+) | − | in vitro Nitrosierung der MS, muta-genes Produkt, noch nicht in vivo nachgewiesen | ? | gering/k.D. |
| Clarithromycin | − | k.D. | 60–80 (3) | 10–15 (1) | + | k.D. | k.D. | − | +/k.D. |
| Oxcarbazepin | + | + | fast 100 (> 4) | 93 (4) | + | k.D. | | ? | k.D./k.D. |
| Fenofibrat | − | + nur Nager | 90 (2) | 90 (2) | + | − | | ? | gering/+ |
| Isosorbiddinitrat | k.D. | k.D. | 100 (5) | ? (5) | + und − | − | wie Muttersubstanz embryotoxisch | − | k.D./k.D. |
| Naftidrofuryl | k.D. | k.D. | 100 (> 3) | ? | ? | k.D. | | − | k.D./k.D. |
| Mycophenolsäure | ? | − | 60–90 (1) | 60–90 (1) | − | k.D. | | + | k.D./k.D. |
| Opipramol | k.D. | k.D. | > 70 (5) | ca. 70 (2) | − | k.D. | in vitro Nitrosierung der Muttersub-stanz, mutagenes Produkt, noch nicht in vivo nachgewiesen | − | k.D./k.D. |
| Omeprazol | + | + | 100 (7) | ? (2) | − | k.D. | | ? | k.D./k.D. |
| | | | | | | | | | |
| **Tierarzneimittel** | | | | | | | | | |
| **Lincomycin** | −? | − | 60 (16) | ? (2) | gering | k.D. | | ? | +/k.D. |
| Sulfadimethoxin | k.D. | k.D. | bis 90 (2) | ? (2) | − | k.D. | | ? | (+)/k.D. |
| Sulfamethazin | −? | + nur Nager | 70–90 (> 4) | 35 (1) | − | k.D. | | ? | (+)/k.D. |

| | |
|---|---|
| Muta: | Mutagenität (beim Tabellenteil "Metabolite betreffend" ist Mutagenität die Mutagenität *ausgeschiedener* Metabolite) |
| Kanz: | Kanzerogenität |
| Anteil in % (Anzahl): | Ausmaß der Metabolisierung der MS beim Menschen in % (Mindestanzahl M) |
| % identifiz. (Anzahl): | Anteil identifizierter Metabolite an der gesamt ausgeschiedenen Menge MS+M in % (Anzahl identifizierter M) |
| Rückbildung: | mögliche Rückbildung der MS aus M im Organismus oder in der Umwelt (z.B. Glukuronidspaltung) |
| Umweltvorkommen MS/M: | Nachweis von MS/M in Klärwerkabläufen und/oder Flüssen |
| Bewertungen | + positiv / (+) schwach positiv / − negativ / ? fraglich bzw. unklar |
| k.D. | keine Daten |
| TP | Tumorpromoter |

Tab. 7: Komprimierte Zusammenfassung der stoffspezifischen Daten, Reihung in absteigender Quantität des Metaboliteneintrags in die Umwelt

| Wirkstoff | Umweltvork. MS/M | pharmakol. Aktivität M | Anzahl M begrenzt | Mutagenität MS/M | sonstige Relevanz |
|---|---|---|---|---|---|
| Ibuprofen | +/+ | | | −/k.D. | |
| Metamizol | k.D./+ | + | + | +/+ | Nitrosierung in vivo |
| Acetylsalicylsäure | +/+ | + | + | +?/+? | Metabolit auch fruchtschädigend |
| Metoprolol | +/k.D. | | + | −/− | Nitrosierung möglich |
| **Clindamycin** | (+)/k.D. | + | + | k.D./ k.D. | |
| **Allopurinol** | k.D./k.D. | + | + | −, TP/− | Allergie durch Metabolit? |
| Paracetamol | +/k.D. | | + | +/+ | Benzochinonimin stark hepatotoxisch und mutagen, aber vermutlich keine Umweltrelevanz |
| **Valproinsäure** | (+)/k.D. | + | + | +?/k.D. | Metabolite evtl. hepatotoxisch und mutagen |
| Carbamazepin | +/+ | + | | −/− | Nitrosierung möglich (nicht mutagenes Produkt) |
| Amoxicillin | (+)/k.D. | | | +?/k.D. | Metabolit auch allergen |
| Verapamil | (+)/k.D. | + | | −/k.D. | |
| Diclofenac | +/k.D. | | + | −/k.D. | Benzochinonimin-Bildung möglich, aber vermutlich keine Umwelt-relevanz |
| Sulfasalazin | +/ k.D. | + | | +/+ | Benzochinonimin-Bildung möglich, aber vermutlich keine Umwelt-relevanz |
| **Pentoxifyllin** | +/k.D. | + | + | +?/k.D. | |
| Sulfamethoxazol | +/+ | + | | +?/k.D. | Allergie durch Metabolit, in vitro-Bildung eines schwach mutagenen Metaboliten |
| Trimethoprim | (+)/k.D. | + | | +?/k.D. | |
| Tilidin | k.D./k.D. | + | | k.D./ k.D. | |
| **Levodopa** | k.D./k.D. | + | + | +/k.D. | |
| Phenoxymethylpenicillin | | | + | +/k.D. | |
| Ranitidin | (+)/k.D. | | | (+)/− | in vitro Nitrosierung der Muttersubstanz, mutagenes Produkt, noch nicht in vivo nachgewiesen |
| Clarithromycin | +/k.D. | + | | −/k.D. | |
| Oxcarbazepin | k.D./k.D. | + | | +/k.D. | |
| Fenofibrat | (+)/+ | + | + | −/− | |
| Isosorbiddinitrat | k.D./k.D. | + | ? | k.D./− | Metabolite auch embryotoxisch |
| Naftidrofuryl | k.D./k.D. | ? | ? | k.D./k.D. | |
| Mycophenolsäure | k.D./k.D. | | + | ?/k.D. | |

Fortsetzung der Tabelle

| Wirkstoff | Umweltvork. MS/M | pharmakol. Aktivität M | Anzahl M begrenzt | Mutagenität MS/M | sonstige Relevanz |
|---|---|---|---|---|---|
| Opipramol | k.D./k.D. | | + | k.D./k.D. | in vitro Nitrosierung der Muttersubstanz, mutagenes Produkt, noch nicht in vivo nachgewiesen |
| Omeprazol | k.D./k.D. | | ? | +/k.D. | |
| | | | | | |
| **Tierarzneimittel** | | | | | |
| **Lincomycin** | +/k.D. | (+) | ? | −?/k.D. | |
| Sulfadimethoxin | (+)/k.D. | − | ? | k.D./ k.D. | |
| Sulfamethazin | (+)/k.D. | − | ? | −?/k.D. | |

Umweltvork. MS/M: Nachweis von MS/M in Klärwerkabläufen und/oder Flüssen
pharmakol. Aktivität M: ausgeschiedene Metabolite sind pharmakologisch aktiv oder Wirkstoff ist ein Prodrug
Anzahl M begrenzt: maximal bis zu drei Metabolite machen mindestens 50 % des metabolisierten Anteils aus (inklusive Konjugate)
Bewertungen + positiv / (+) schwach positiv / − negativ / ? fraglich bzw. unklar
k.D. keine Daten
TP Tumorpromoter

## 5.3 Endgültige Stoffauswahl

Um zu einer endgültigen Stoffauswahl zu kommen, haben wir nur solche Muttersubstanzen berücksichtigt, die keine Naturstoffe sind oder leicht abbaubar, und bei denen durch Metabolisierung eine potenzielle Jahresmenge von mindestens 10 to entsteht (siehe Tab. 5).

Auf Grundlage der Stoffdossiers haben wir an dieser Stelle nochmals vier Wirkstoffe gestrichen: *Levodopa*, da der wirksame Metabolit Dopamin ein natürlich vorkommender Neurotransmitter ist, *Phenoxymethylpenicillin*, da mit Amoxicillin bereits ein β-Laktam-Antibiotikum in der Auswahlliste enthalten ist, *Clarithromycin*, da es insgesamt schon als recht gut untersucht gilt und biologisch abgebaut wird sowie *Oxcarbazepin*, das mit dem bereits ausgewählten Carbamazepin den dort erfassten Metaboliten gemeinsam hat (siehe Informationen der jeweiligen Stoffdossiers im Anhang, S. 118ff).

Nach diesem Auswahlverfahren blieben 18 Muttersubstanzen übrig. Trimethoprim übersteigt zwar mit einer bilanzierten Jahresmenge von 4,2 to nicht das Mengenkriterium, wurde aber als obligater Kombinationswirkstoff des ausgewählten Sulfamethoxazol trotzdem mit in die Auswahl genommen (siehe Tab. 8).

Tab. 8: Auswahl von 19 Muttersubstanzen mit metabolisierter Jahresmenge (alphabetisch)

| Nr. | Wirkstoff | bilanzierte, metabolisierte *Masse* in to |
|---|---|---|
| 1 | Acetylsalicylsäure | 130 |
| 2 | Allopurinol | 92 |
| 3 | Amoxicillin (Summe) | 75 |
| 4 | Carbamazepin | 59 |
| 5 | Clindamycin | 93 |
| 6 | Diclofenac | 32 |
| 7 | Fenofibrat | 10 |
| 8 | Ibuprofen | 252 |
| 9 | Metamizol | 182 |
| 10 | Metoprolol | 105 |
| 11 | Paracetamol | 78 |
| 12 | Pentoxifyllin | 24 |
| 13 | Ranitidin | 13 |
| 14 | Sulfamethoxazol | 20 |
| 15 | Sulfasalazin | 24 |
| 16 | Tilidin | 14 |
| 17 | Trimethoprim (Summe) | >4 |
| 18 | Valproinsäure | 60 |
| 19 | Verapamil | 36 |

Für diese 19 Muttersubstanzen haben wir sämtliche, aus der Literatur bekannten Metaboliten sowie eventuell vorhandene Strukturisomere dieser Muttersubstanzen zusammengestellt. Mittels QSAR haben wir weitere Auswahlkriterien wie $\log K_{OW}$, die aerobe biologische Abbaubarkeit und das gentoxische/mutagene Potenzial ermittelt. Wir haben auch geprüft, in wieweit die Reinsubstanzen für die nachfolgend anstehenden experimentellen Untersuchungen käuflich und zu einem vertretbaren Preis erhält-

lich sind. Insgesamt konnen wir für die 19 ausgewählten Substanzen 36 Strukturisomere und 84 Metabolite identifizieren, d.h. zusammen 120 Stoffdatensätze erstellen und mit QSAR berechnen. Inklusive der zusätzlich eingeschlossenen (siehe S. 42), nicht metabolisierten Wirkstoffe Metformin und Piracetam sind die zusammengefassten Ergebnisse im Anhang in Tab. 36, S. 112ff, vereinfacht dargestellt (für Metformin und Piracetam wurden keine QSAR-Berechnungen durchgeführt).

Stoffe, die nicht bzw. nicht zu einem vertretbaren Preis erhältlich waren, haben wir von der Liste gestrichen. Wir suchten nach Substanzen, die eine vorhergesagte aerobe biologische Abbaubarkeit von unter 60 % aufwiesen (entsprechend einem QSAR-Wert von <0,6 in der Tab. 36), die einen $\log K_{OW}$ von <3 aufwiesen und für die ein möglichst hohes Potenzial für mutagene bzw. gentoxische Wirkung vorhergesagt wurde. Ergänzend haben wir sämtliche Molekülstrukturen im Hinblick auf mögliche toxische Transformationsprodukte bei der Wasseraufbereitung geprüft. Folgende Molekülfunktionen oder Stoffgruppenzugehörigkeiten haben wir diesbezüglich als kritisch beurteilt: Nitrosamine, Amine, Sulfonamide, Dimethyl- oder Alkylamine, Azide, Guanidine und Hydrazine.

Zusätzlich haben wir für die Auswahl der Metabolite die bereits im Kapitel 5.2.2 genannten Auswahlkriterien berücksichtigt. Danach blieben die in Tab. 9 genannten zehn Substanzen übrig (Vorauswahl). Da aufgrund der zur Verfügung stehenden Ressourcen eine weitere Reduktion erforderlich war, haben wir uns dann letztlich auf fünf Substanzen geeinigt (Endauswahl): Die beiden Metamizol-Metabolite (siehe S. 140) 4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA) und 4-N-Formylaminoantipyrin (FAA) haben wir aufgrund der hohen Menge an metabolisiert ausgeschiedenem Wirkstoff ausgewählt. Beim dritten Metaboliten erhielt Sulfapyridin gegenüber den beiden Carbamazepin-Metaboliten (siehe S. 123) den Vorzug, da hier eine pharmakologische Wirksamkeit bekannt ist (siehe Darstellung beim Sulfasalazin-Stoffprofil, S. 171).

Tab. 9: Endgültige Stoffauswahl

| **Substanz** | **Muttersubstanz** (falls vorhanden) | **Status** | ***Masse* in to MS / ME** | **Vorauswahl** | **Endauswahl** |
|---|---|---|---|---|---|
| Carbamazepin-10,11-epoxid | Carbamazepin | ME | 64 / 59 | ● | |
| trans-10,11-Dihydroxy-10,11-dihydrocarbamazepin | Carbamazepin | ME | 64 / 59 | ● | |
| 4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA) | Metamizol | ME | 202 / 182 | ● | ● |
| 4-N-Formylaminoantipyrin (FAA) | Metamizol | ME | 202 / 182 | ● | ● |
| Metformin | — | (MS) | 757 / 0 | ● | ● |
| α-Hydroxymetoprolol | Metoprolol | ME | 116 / 105 | ● | |
| 1-(3'-Carboxypropyl)-3,7-dimethylxanthin | Pentoxifyllin | ME | 26 / 24 | ● | |
| Piracetam | — | (MS) | 120 / 0 | ● | ● |
| Sulfamethoxazol, Natriumsalz | — | MS | 27 / 20 | ● | |
| Sulfapyridin | Sulfasalazin | ME | 27 / 24 | ● | ● |

Status MS = stark metabolisierte Muttersubstanz / (MS) = nicht metabolisierte Muttersubstanz / ME = Metabolit
MS / ME MS = bilanzierte Menge der Muttersubstanz / ME = insgesamt metabolisierte Menge **aller** Metabolite
Vorauswahl im ersten Auswahlschritt ausgewählte Substanzen
Endauswahl im zweiten Auswahlschritt ausgewählte Substanzen

In Abb. 12 ist das gesamte Auswahlverfahren nochmals in einer Übersicht zusammengefasst worden:

915 als DDD bilanzierte Wirkstoffe und Wirkstoffkombinationen, davon
621 Wirkstoffe mit einer Menge (Jahr 2005) in Tonnen kalkulierbar

↓

706 als Jahresmenge (to) bilanzierte Muttersubstanzen,
nach manuellem Auftrennen von 33 Wirkstoffkombinationen mit DDD-Angaben

↓

Für 261 Wirkstoffe mit einer Jahresmenge > 0,5 to
wird die Metabolisierung berechnet

↓

Für 28 intensiv metabolisierte Wirkstoffe werden Stoffdossiers erstellt,
zusätzlich Metformin und Piracetam als nicht metabolisierte, verbrauchsstarke Wirkstoffe,
zusätzlich auch drei Tierarzneimittel berücksichtigt

↓

Auswahl von 19 metabolisierten Wirkstoffen mit 36 Strukturisomeren und 84 Metaboliten (120 Substanzen)
QSAR-Berechnungen, Literaturdaten zur Toxikologie und zur Ökologie

↓

Vorauswahl von 8 Metaboliten und schließlich 3 Metaboliten (4-N-Acetylaminoantipyrin, 4-N-Formylamino-antipyrin, Sulfapyridin), zusätzlich die 2 Muttersubstanzen Metformin und Piracetam später auch das Transformationsprodukt Guanylharnstoff zur Durchführung der praktischen Untersuchungen (Abbaubarkeit, Ozonung, Mutagenitätstests)

Abb. 12: Übersicht zur Stoffauswahl

Die nachfolgenden Abbildungen zeigen die Strukturformeln der von uns für die praktischen Untersuchungen ausgewählten Stoffe.

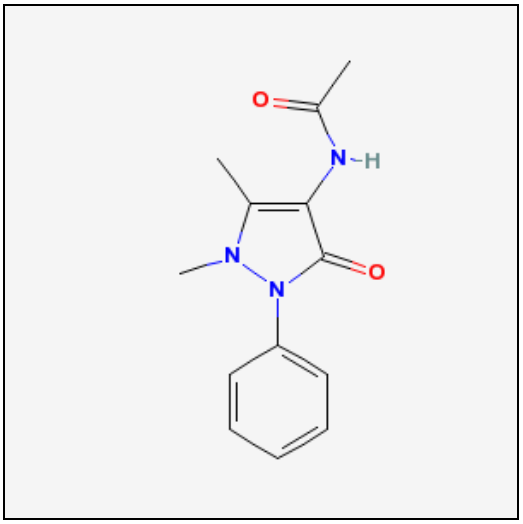


Abb. 13: Struktur 4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA) CAS-Nr. 83-15-8

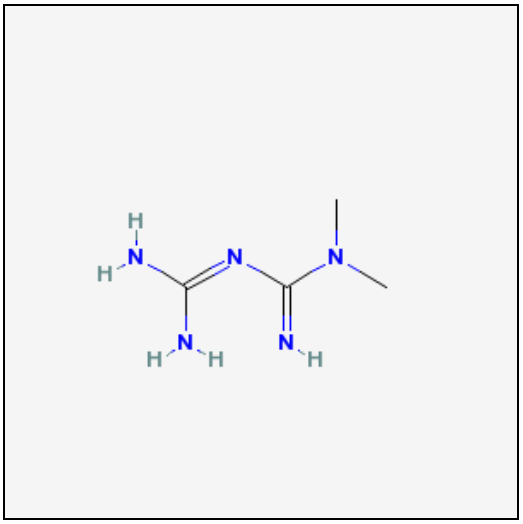


Abb. 16: Struktur Metformin CAS-Nr. 657-24-9

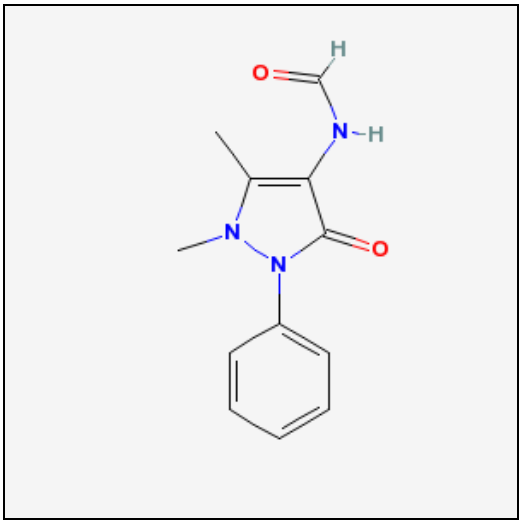


Abb. 14: Struktur 4-N-Formylaminoantipyrin (FAA) CAS-Nr. 1672-58-8

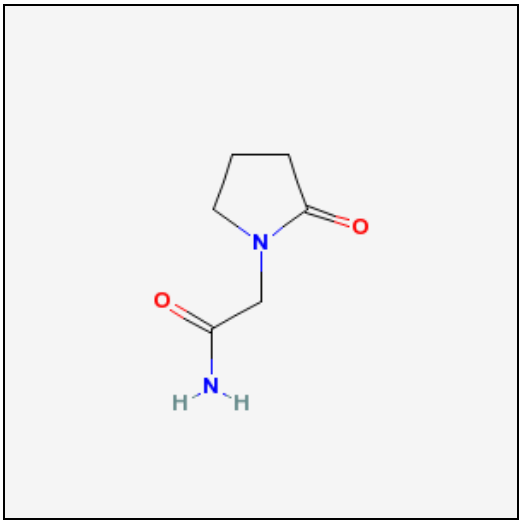


Abb. 17: Struktur Piracetam CAS-Nr. 7491-74-9

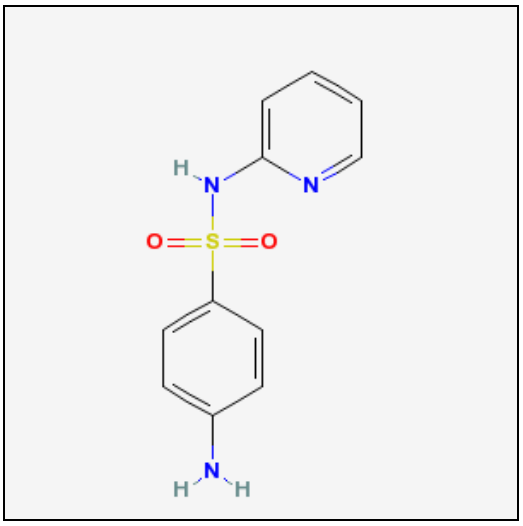


Abb. 15: Struktur Sulfapyridin CAS-Nr. 144-83-2

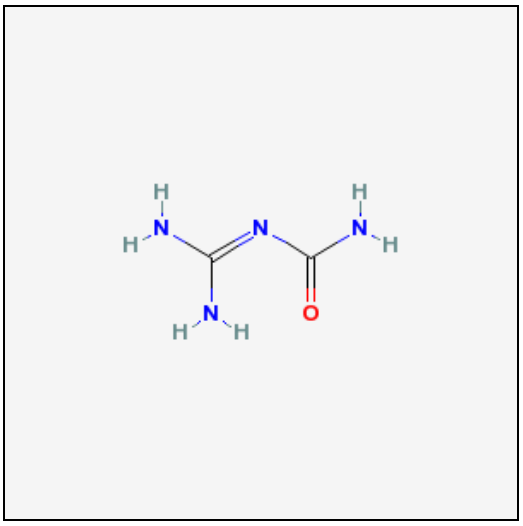


Abb. 18: Struktur Guanylharnstoff CAS-Nr. 141-83-3

# 6 Experimentelle Untersuchungen (Phase II)
## Biologischer Abbau und Bildung von technischen Transformationsprodukten durch Ozonung

## 6.1 Leichte biologische Abbaubarkeit

Die Ergebnisse der Untersuchungen auf leichte biologische Abbaubarkeit mittels *Closed-Bottle-Test* (CBT) und *Manometrischem Respirationstest* (MRT)[22] sind in Tab. 10 zusammengefasst. Ausführliche Versuchsauswertungen befinden sich im Anhang, S. 182ff[23].

Mit Ausnahme von Piracetam waren alle untersuchten Substanzen sowohl im CBT als auch im MRT nicht leicht biologisch abbaubar. Piracetam war im CBT nicht leicht biologisch abbaubar, während beim MRT das Kriterium für leichte biologische Abbaubarkeit sicher erfüllt wurde. Auch bei der Untersuchung auf inhärente Abbaubarkeit wurde Piracetam vollständig eliminiert (siehe Kapitel 6.2.5), so dass wir das abweichende Ergebnis beim CBT auf die dort sehr geringe Bakteriendichte zurückführen können – der CBT ist diesbezüglich der strengste der von uns durchgeführten Tests (vgl. Kapitel 3.3.1).

Tab. 10: Biologische Abbaubarkeit gemäß CBT und MRT

| **Substanz** | **CBT** | | **MRT** | |
|---|---|---|---|---|
| | **Abbau in Prozent, aus $O_2$-Verbrauch mit bzw. ohne die Annahme einer Nitrifizierung berechnet** | | | **C-Elimination** Angabe in % |
| | *ohne $NO_3$-Bildung* | *mit $NO_3$-Bildung* | *ohne $NO_3$-Bildung* | |
| 4-Acetamidoantipyrin (AAA) | 8,9 | 6,2 | 5,7 | 12,9 |
| 4-Formylaminoantipyrin (FAA) | 9,1 | 6,1 | 9,1 | 6,1 |
| Sulfapyridin | 9,0 | 6,0 | 0,1 | 37,7 |
| Metformin | 12,3 | 2,8 | 8,1 | 6,4 |
| Piracetam | 6,0 | 3,6 | 104,3 | 70,7 |

[22] die Bezeichnung *OxiTop*-Test ist dafür synonym
[23] die MRT-Ansätze von AAA, FAA, Sulfapyridin und Piracetam sind bezüglich einiger Parameter nicht valide

## 6.2 Inhärente biologische Abbaubarkeit

In Tab. 11 ist die Einwaage der Prüfsubstanzen auf Grundlage der über die Summenformel berechneten Molekül-Kohlenstoffgehalte (Spalte "TOC in %") dargestellt.

Tab. 11: Einwaage der Prüfgegenstände in den Inhärenttests

| **Zahn-Wellens Test mit $CO_2$-Erfassung** | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Prüfsubstanz** | **Herkunft** | ***TOC* in %** | ***Einwaage* in mg/L** | ***TOC* Beginn in mg/L** |
| 4-Formylaminoantipyrin (FAA) | Sigma Aldrich S349941 | 62,3 | 80,2 | 50,0 |
| 4-Acetamidoantipyrin (AAA) 97 % | Acros Organics 102260050 | 63,7 | 78,6 | 50,0 |
| Metformin Hydrochlorid 97 % | Aldrich D15,095-9 | 29,0 | 172,4 | 50,0 |
| Piracetam | MP Biomedicals 156275 | 50,7 | 98,7 | 50,0 |
| Sulfapyridin 99 % | Sigma 56252-25G | 53,0 | 94,4 | 50,0 |
| **Zahn-Wellens-Test** | | | | |
| **Prüfsubstanz** | **Herkunft** | ***TOC* in %** | **Einwaage in g/1,6L** | ***TOC* Beginn in mg/L** |
| 4-Formylaminoantipyrin (FAA) | Sigma Aldrich S349941 | 62,3 | 128,4 | 50,0 |
| 4-Acetamidoantipyrin (AAA) 97 % | Acros Organics 102260050 | 63,7 | 125,7 | 50,0 |
| Metformin Hydrochlorid 97 % | Aldrich D15,095-9 | 29,0 | 275,9 | 50,0 |
| Sulfapyridin 99 % | Sigma 56252-25G | 53,0 | 151,0 | 50,0 |

### 6.2.1 4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA)

In beiden Grafiken von Abb. 19 ist die Abbaubarkeit von 4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA) im Kombinationstest wiedergegeben. Abb. 20 enthält die Ergebnisse der Wiederholungsprüfung im Zahn-Wellens-Test (Die Referenzansätze enthalten jeweils Diethylenglykol als leicht abbaubare Substanz, siehe Methodik im Anhang S. 97ff).

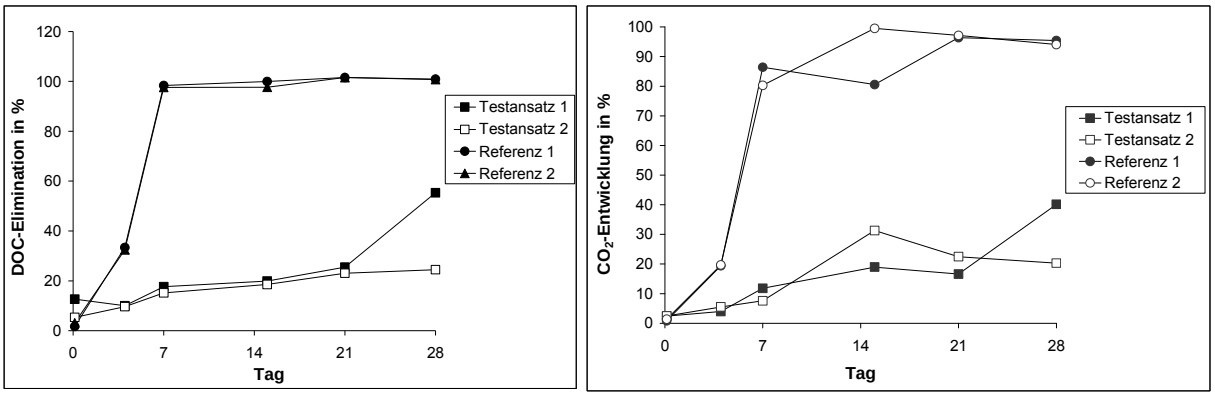



Abb. 19: DOC-Elimination und $CO_2$-Entwicklung von Acetylaminoantipyrin im Kombinationstest

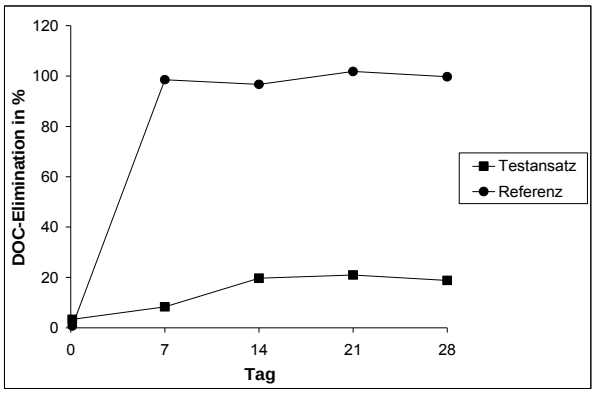



Abb. 20: DOC-Elimination Acetylaminoantipyrin im Zahn-Wellens-Test

Im Kombinationstest beobachteten wir nach einer lag-Phase von drei Wochen in einem der beiden Ansätze einen deutlichen Anstieg der DOC-Elimination bis auf 55 %, die durch die $CO_2$-Entwicklung bestätigt wurde. Im zweiten Ansatz erreichte die DOC-Elimination lediglich 24 % und in der Wiederholungsprüfung 19 %.

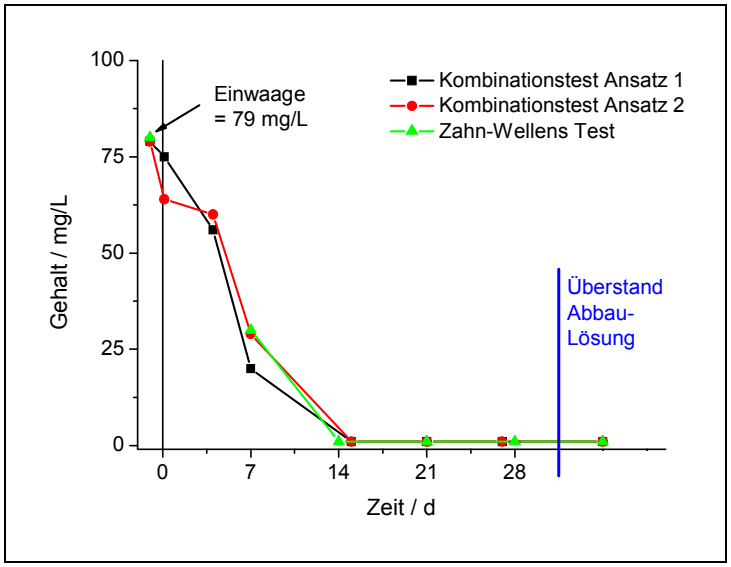



Abb. 21: Analytik zur Abbaubarkeit von Acetylaminoantipyrin

Abb. 21 zeigt die Ergebnisse der vom TZW durchgeführten Begleitanalytik.

Acetylaminoantipyrin war in beiden Versuchen nach 14 Tagen nicht mehr nachweisbar, Bestimmungsgrenze: 1 mg/L (= 1,3 % von $c_0$).

## 6.2.2 4-N-Formylaminoantipyrin (FAA)

In Abb. 22 ist die Abbaubarkeit von N-Formylaminoantipyrin (FAA) im Kombinationstest dargestellt und in Abb. 23 werden die Ergebnisse der Wiederholungsprüfung im Zahn-Wellens-Test gezeigt (Die Referenzansätze enthalten jeweils Diethylenglykol als leicht abbaubare Substanz, siehe Methodik im Anhang S. 97ff).

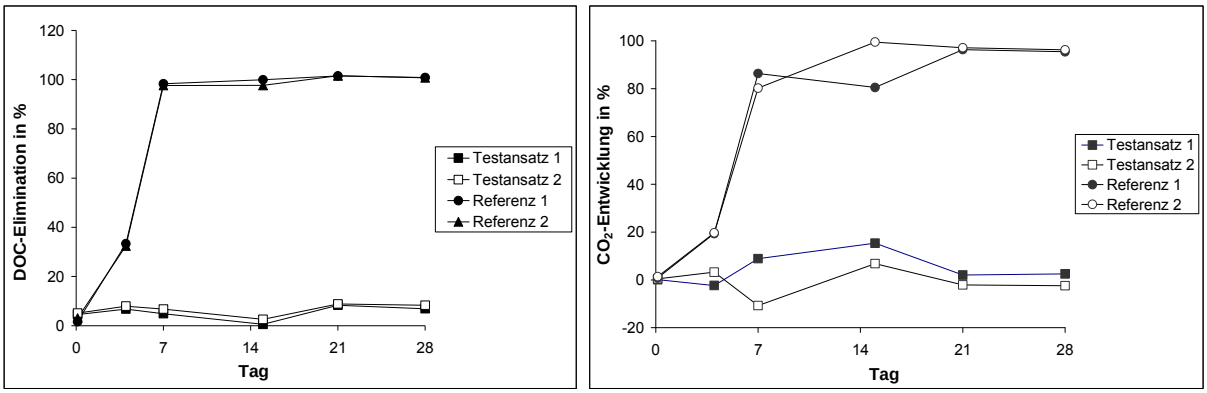



Abb. 22: DOC-Elimination und $CO_2$-Entwicklung von Formylaminoantipyrin im Kombinationstest

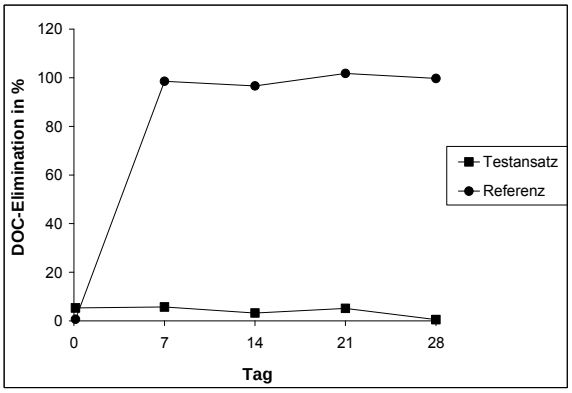



Abb. 23: DOC-Elimination von Formylaminoantipyrin im Zahn-Wellens-Test

Weder im Kombinationstest noch im Zahn-Wellens-Test beobachteten wir einen nennenswerten Abbau von Formylaminoantipyrin.

In Abb. 24 sind die Ergebnisse der vom TZW durchgeführten Begleitanalytik dargestellt. In Übereinstimmung mit den Daten zur $CO_2$-Entwicklung und DOC-Elimination lässt sich 4-N-Formylaminoantipyrin über den gesamten Versuchsverlauf analytisch nachweisen.

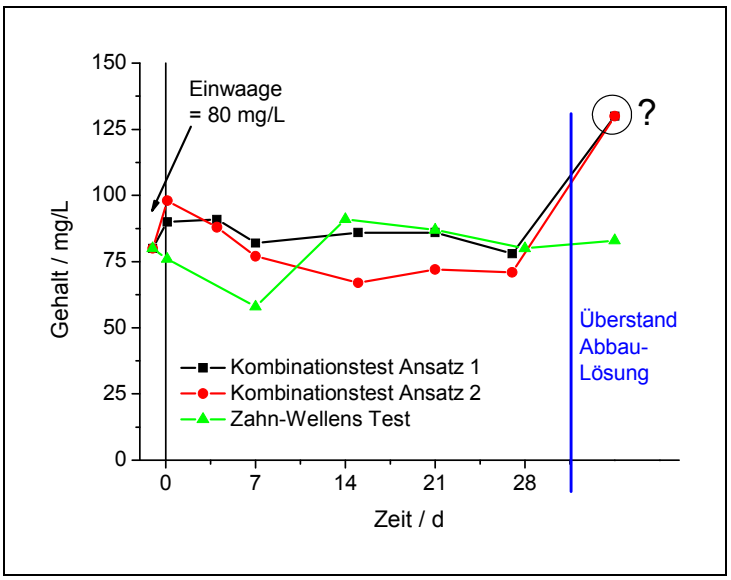



Abb. 24: Analytik zur Abbaubarkeit von Formylaminoantipyrin

Im Überstand der Abbaulösungen wurde nach Versuchsende ein Überbefund von rund 50 % der eingesetzten Menge bestimmt. Vermutlich handelt es sich hierbei um ein analytisches Problem, da die Messung in der Abbaulösung getrennt von der Analytik der übrigen Proben durchgeführt wurde.

### 6.2.3 Sulfapyridin

In beiden Grafiken von Abb. 25 ist das Ergebnis der Abbauversuche von Sulfapyridin im Kombinationstest wiedergegeben. In Abb. 26 sind die Ergebnisse der Wiederholungsprüfung im Zahn-Wellens-Test gezeigt.

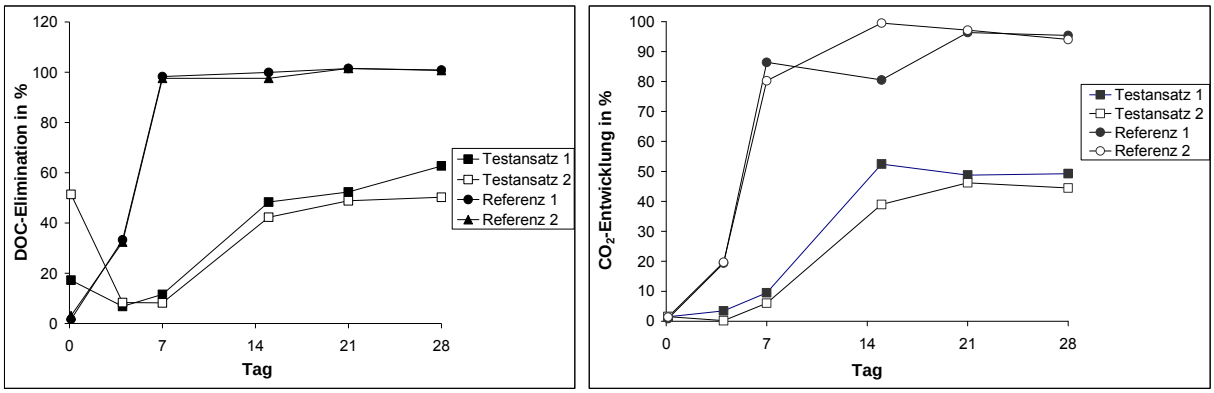



Abb. 25: DOC-Elimination und $CO_2$-Entwicklung von Sulfapyridin im Kombinationstest

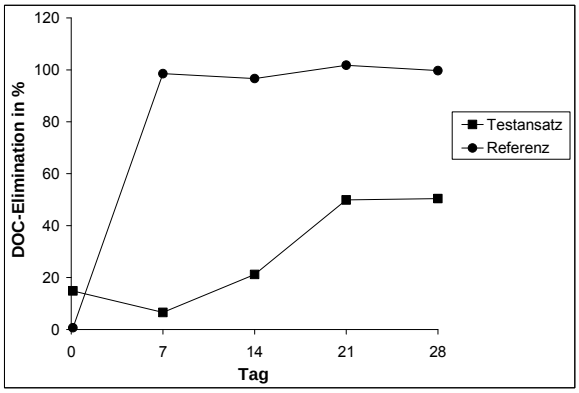



Abb. 26: DOC-Elimination von Sulfapyridin im Zahn-Wellens-Test

Sulfapyridin zeigte sowohl im Kombinationstest wie auch im Zahn-Wellens-Test drei Stunden nach Versuchsbeginn eine höhere DOC-Elimination als zum jeweils nächsten Messzeitpunkt. Dies deutet auf eine verzögerte Lösung in Wasser hin und/oder oder auf eine vorübergehende Adsorption an den Belebtschlamm. Bis zum Versuchsende erreichte die DOC-Elimination 50 % bis 64 % was auch durch die $CO_2$-Entwicklung (44 % bis 49 %) bestätigt wird.

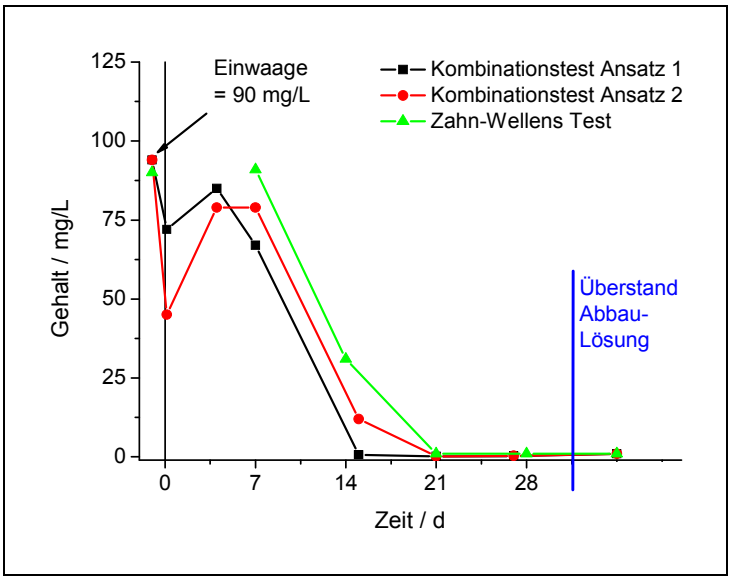



Abb. 27: Analytik zur Abbaubarkeit von Sulfapyridin

Die Abb. 27 zeigt, dass Sulfapyridin in beiden Experimenten nach 14 bzw. 21 Tagen analytisch nicht mehr nachweisbar war. Die Bestimmungsgrenze beträgt 1 mg/L (= 1,1 % von $c_0$).

## 6.2.4 Metformin

In Abb. 28 ist die Abbaubarkeit von Metformin im Kombinationstest wiedergegeben und in Abb. 29 das Ergebnis der Wiederholungsprüfung im Zahn-Wellens-Test.

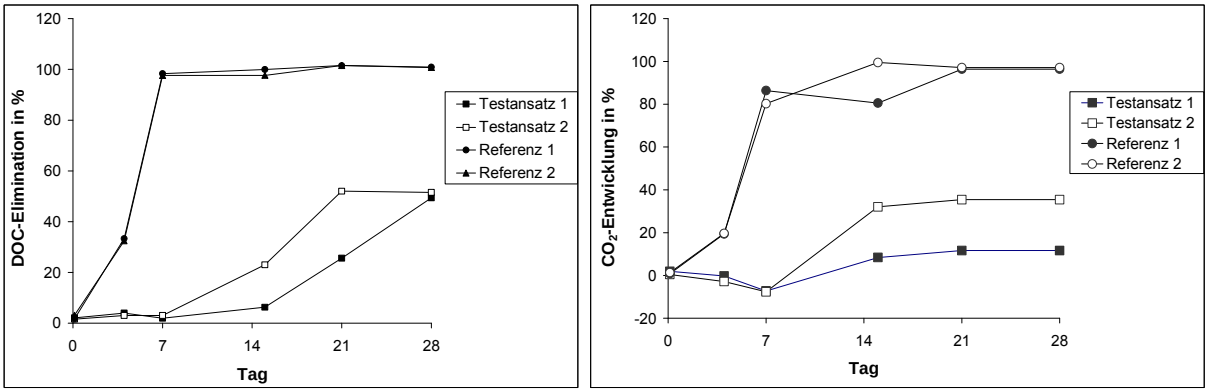



Abb. 28: DOC-Elimination und $CO_2$-Entwicklung von Metformin im Kombinationstest

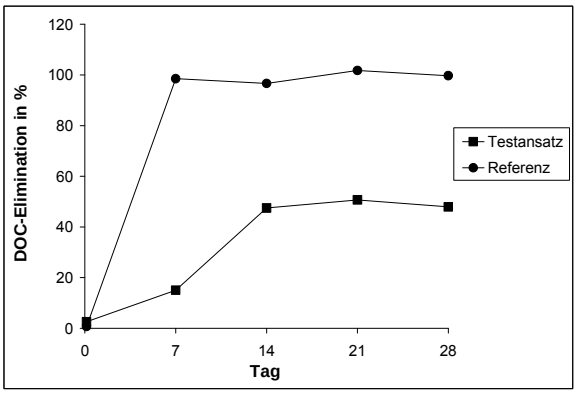



Abb. 29: DOC-Elimination von Metformin im Zahn-Wellens-Test

Im Kombinationstest beobachteten wir nach einer lag-Phase von 7 Tagen in beiden Ansätzen eine deutliche DOC-Elimination von 49 %–52 %, was durch die $CO_2$-Entwicklung bestätigt wurde. Der Zahn-Wellens-Test zeigte ein ähnliches Verhalten.

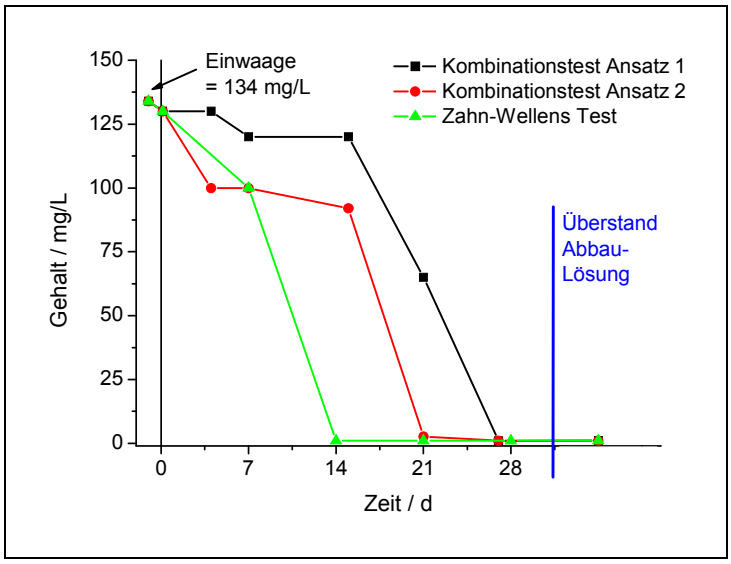



Abb. 30: Analytik zur Abbaubarkeit von Metformin

In Abb. 30 sind die Ergebnisse der vom TZW durchgeführten Begleitanalytik dargestellt. Sie zeigen, dass Metformin nach 14 bis 28 Tagen in den Ansätzen nicht mehr nachzuweisen war. Die Bestimmungsgrenze beträgt 1 mg/L (= 0,7 % von $c_0$).

## 6.2.5 Piracetam

In Abb. 31 ist die Abbaubarkeit von Piracetam im Kombinationstest wiedergegeben.

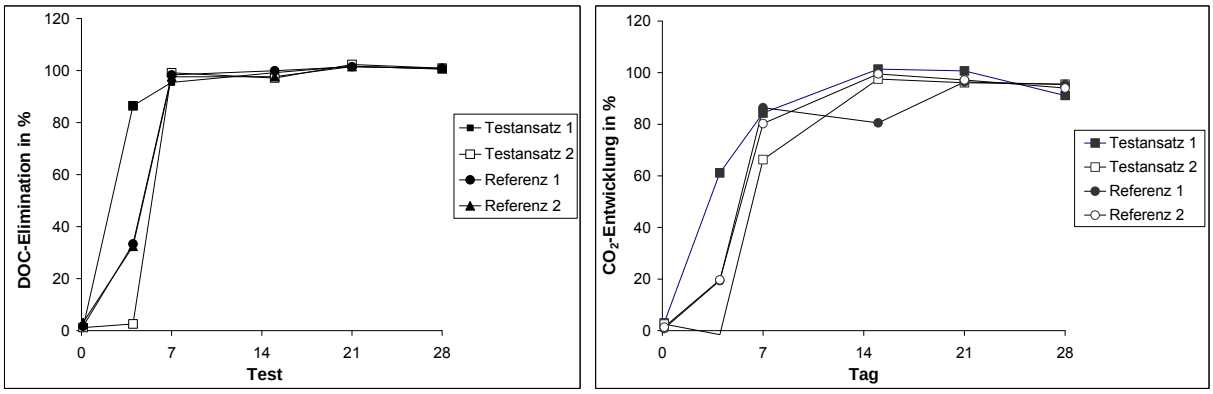



Abb. 31: DOC-Elimination und $CO_2$-Entwicklung von Piracetam im Kombinationstest

Die Mineralisierung von Piracetam erreichte nach 28 Tagen Werte von 94 % und 98 %. Aufgrund der sehr guten Endabbaubarkeit wurde diese Substanz nicht nochmals im Zahn-Wellens-Test untersucht. Da bei diesem Ergebnis keine Transformationsprodukte zu erwarten sind, wurde die Abbaulösung auch nicht ozont.

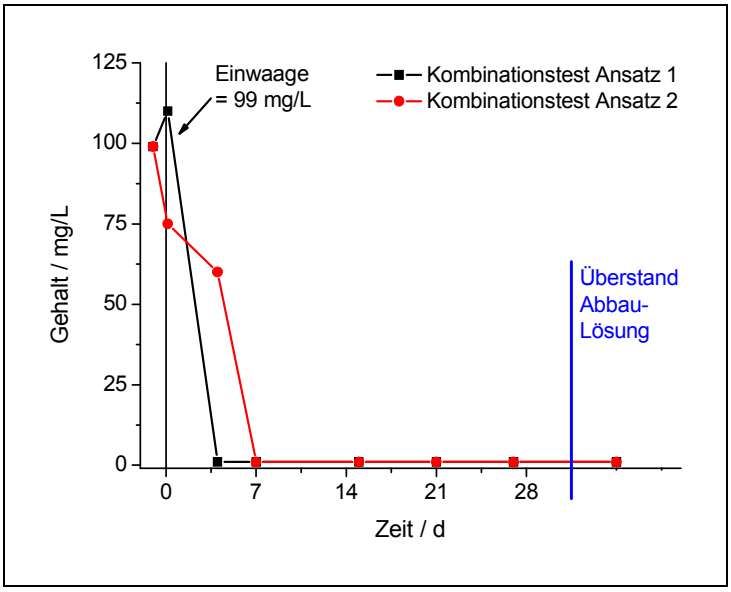



Abb. 32: Begleitende Analytik zur Abbaubarkeit von Piracetam

Die vom TZW durchgeführte Begleitanalytik (Abb. 32) zeigt in Übereinstimmung mit der nachgewiesenen Endabbaubarkeit, dass Piracetam bereits nach 7 Tagen analytisch nicht mehr nachweisbar ist, Bestimmungsgrenze: 1 mg/L (= 1 % von $c_0$).

## 6.3 Ozonung

Zu ca. 5 L Trinkwasser haben wir üblicherweise 5 mg Testsubstanz dosiert und diese anschließend mit ca. 5 L Ozonstarkwasser ($\beta$(Ozon) $\approx$ 20 mg/L) versetzt. Nach 45 min Reaktionszeit entfernten wir über das Einleiten eines starken Stickstoffstoms das Restozon. Um den Einfluss der Stickstoffeinleitung auf die Testsubstanzen abschätzen zu können, entnahmen wir nach dem Durchmischen der Substanzen mit dem Trinkwasser zwei Proben, von denen eine für 15 Minuten mit Stickstoff durchströmt wurde. Im Vergleich mit der Nullprobe ohne Stickstoffspülung kann über die Bestimmung der Wiederfindung eine Abschätzung über die Höhe des Verlustes getroffen werden (Tab. 12). Bei FAA haben wir keine Änderung in der Konzentration gefunden, AAA und Piracetam zeigten einen mäßigen Konzentrationseinbruch (25 % bzw. 5 % Abnahme). Bei Metformin fanden wir eine etwas erhöhte Konzentration (+15 %), wobei bei der Interpretation der Daten auch die Messunsicherheit der LC-MS/MS-Methode berücksichtigt werden muss (ca. 10 %). Mit einer Konzentrationsabnahme von Verbindungen während des Ausblasens muss daher gerechnet werden, wobei eher ionische Ozonungsprodukte entstehen, die gut wasserlöslich sind und unter den gegebenen Bedingungen kaum flüchtig sein sollten. Als Beispiel für ein eventuell flüchtiges Transformationsprodukt kann das zuvor erwähnte *N,N*-Dimethylnitrosamin (NDMA) genannt werden (S. 23ff).

Tab. 12: Ermitteln der Konzentration vor und nach dem Ausblasen in der $c_0$-Probe mit Stickstoff

| Testsubstanz | *Soll-Gehalt* in µg/L | *Gehalt* vor $N_2$-Behandlung in µg/L | *Gehalt* nach $N_2$-Behandlung in µg/L |
|---|---|---|---|
| FAA | 1000 | 1100 | 1100 |
| AAA | 830 | 830 | 630 |
| Metformin | 1060 | 850 | 980 |
| Piracetam | 1000 | 900 | 860 |
| Sulfapyridin-(I) | 1000 | 770 | 740 |
| Sulfapyridin-(II) | 1040 | 750 | 670 |
| Guanylharnstoff | 790 | 790 | 830 |

Während der Reaktionszeit ermittelten wir mehrmals die aktuelle Ozonkonzentration und entnahmen Proben für eine nachträgliche Stoffanalytik. Die folgenden Abbildungen zeigen die Konzentrationsabnahmen der Testsubstanzen bei gleichzeitiger Darstellung der Ozonzehrung über die Versuchszeit.

### 6.3.1 Blindprobe

Zu Beginn der Versuche haben wir eine Blindprobe (Wassermatrix ohne Substanzzugabe) ozont. Die Abb. 2 zeigt die erhaltene Ozonzehrung bei den gegebenen Randbedingungen.

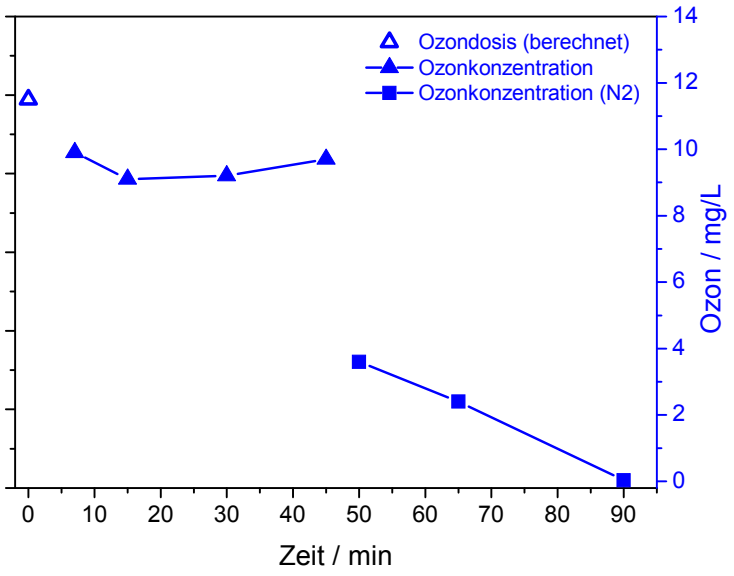



Abb. 33: Ozonzehrung in der Blindprobe
von anfänglich 11,5 mg/L Ozon bleiben nach Rückgang ca. 9 mg/L über 45 min lang erhalten

Es zeigte sich, dass nach anfänglicher Ozonzehrung das Konzentrationsniveau über den Rest der Versuchslaufzeit auf ca. 9 mg/L gleichblieb. Danach haben wir im Stickstoffstrom das Restozon ausgetrieben. Dieser Vorgang nahm bei der Blindprobe ca. 30 min in Anspruch.

Dieser Versuch diente darüber hinaus als Blindprobe für analytische und toxikologische Untersuchungen.

## 6.3.2 4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA)

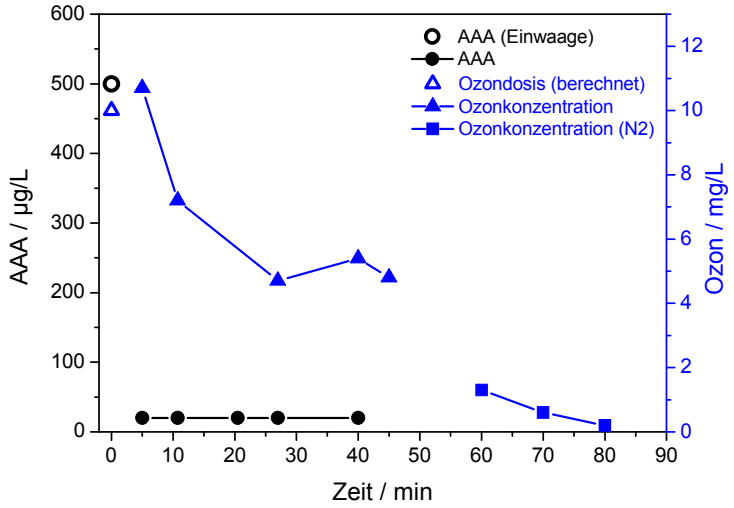



Abb. 34: Abnahme von AAA während der Ozonung

Die Umsetzung von AAA mit Ozon erfolgte sehr rasch, so dass bereits in der ersten Probe nach Zugabe des Ozonstarkwassers der Gehalt der Ausgangsverbindung unterhalb der Bestimmungsgrenze von 20 µg/L (= 4 % von $c_0$) lag (Abb. 34).

Im Vergleich zur Blindprobe zeigt sich hier eine deutliche Ozonzehrung.

## 6.3.3 4-N-Formylaminoantipyrin (FAA)

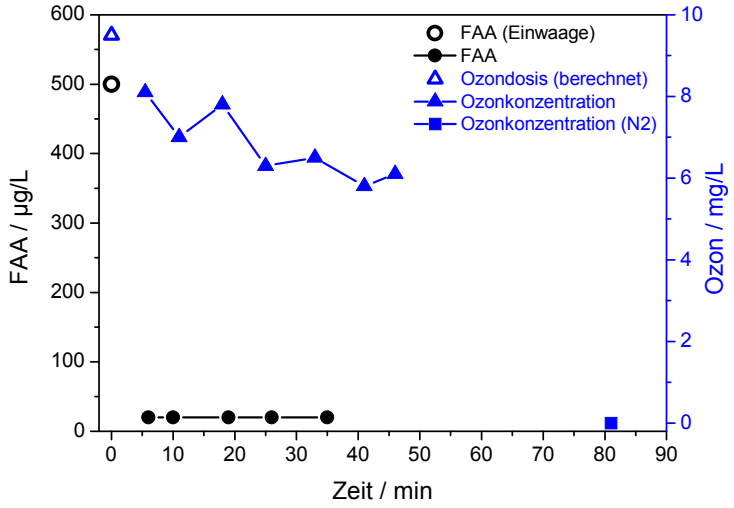



Abb. 35: Abnahme von FAA während der Ozonung

Das Verhalten von FAA gegenüber Ozon (Abb. 35) ist vergleichbar mit dem von AAA (Abb. 34).

Auch hier lag bereits in der ersten Probe nach Zugabe des Ozonstarkwassers der Gehalt von FAA unterhalb der Bestimmungsgrenze.

### 6.3.4 Sulfapyridin

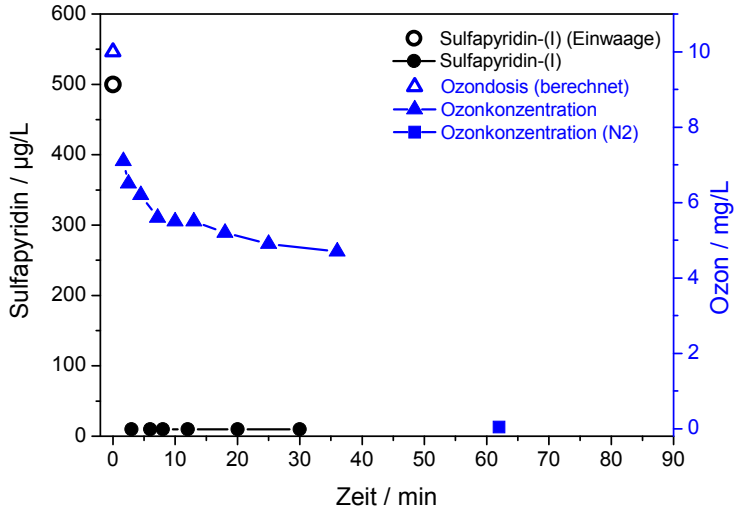



Abb. 36: Abnahme von Sulfapyridin-I während der Ozonung

Aufgrund der Befunde im nachfolgenden Ames-Test haben wir die Ozonung von Sulfapyridin mehrmals durchgeführt.

Die Ozonungen in Abb. 36 (Sulfapyridin I) und Abb. 37 (Sulfapyridin II) haben wir mit einer Ausgangskonzentration von 500 µg/L durchgeführt.

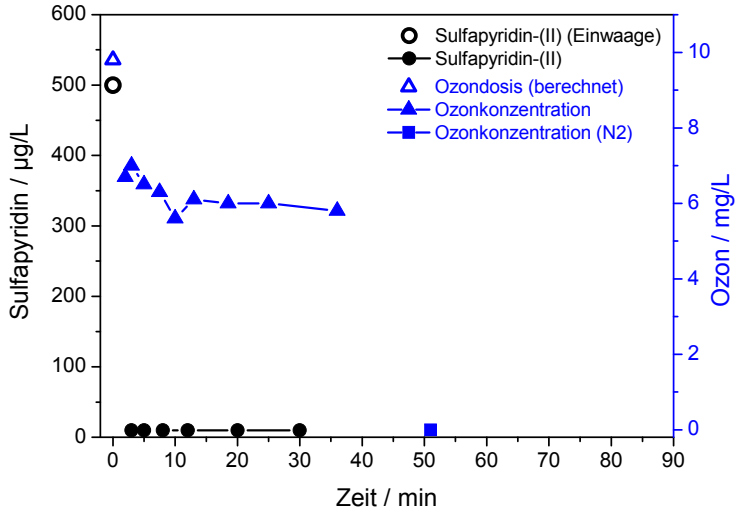



Abb. 37: Abnahme von Sulfapyridin-II während der Ozonung

In beiden Fällen lag die Konzentration der Ausgangsverbindung bereits unterhalb der Bestimmungsgrenze von 10 µg/L (= 2 % von $c_0$).

Aus beiden Messungen der Ozonkonzentration geht hervor, dass direkt nach dem Versuchsstart eine starke Ozonzehrung auftritt, was auf eine schnelle Umsetzung des Sulfapyridins mit dem Ozon hindeutet.

Da sich das Ausmaß der Ozonzehrung nach wenigen Minuten verringert, kann davon ausgegangen werden, dass die primär gebildeten Transformationsprodukte in der Folge nicht oder nur langsam mit Ozon weiterreagieren.

In zwei ergänzenden Versuchen haben wir Ozonungsansätze mit doppeltem (1 mg/L = Sulfapyridin-III) und 10fachem (5 mg/L = Sulfapyridin-IV) Stoffgehalt durchgeführt. Die weiteren Versuchsparameter blieben konstant. Für den Versuch Sulfapyridin-III haben wir nur die Ozonzehrung kontrolliert, jedoch keine analytische Gehaltsbestimmung vorgenommen. Den Ansatz Sulfapyridin-IV haben wir hingegen ausführlich untersucht und ihn im Folgenden beschrieben (Abb. 38).

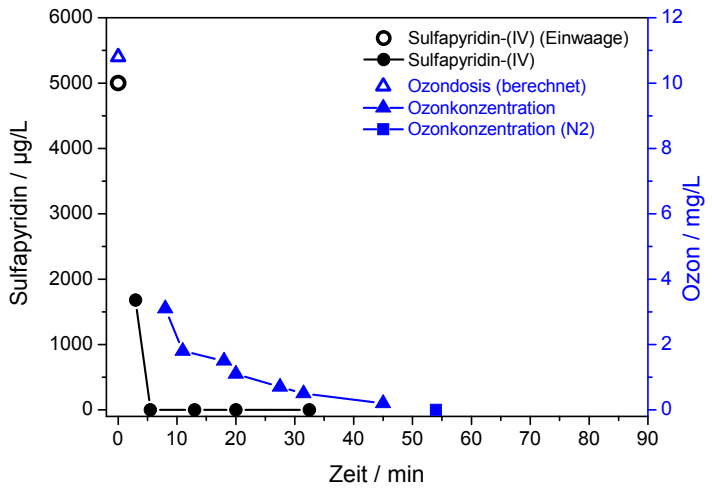



Abb. 38: Abnahme von Sulfapyridin-IV während der Ozonung

Die erste Probe zur Stoffanalytik haben wir 3 min nach dem Start der Ozonstarkwasserzugabe entnommen. Zu diesem Zeitpunkt war die Zugabe noch nicht beendet (erst ca. 65 % der Ozondosis). Trotz dieser verglichen mit der Sulfapyridinmenge geringen Ozondosis kann aus der Analyse auf einen deutlichen Stoffumsatz geschlossen werden.

Die hohe Reaktionsrate des Ozon in diesem Experiment zeigte sich in der sehr deutlichen Ozonzehrung, die nach 8 min Reaktionszeit bereits ca. 70 % betrug. Bei dieser Reaktion standen 5 mg/L (20 µmol/L) Sulfapyridin 10 mg/L (210 µmol/L) Ozon gegenüber – ein Reaktantenverhältnis von 1:10. Aus der hohen Sulfapyridinmenge und den zusätzlich ablaufenden, weiteren Ozonreaktionen erklärt sich die starke Ozonzehrung.

An dieser Stelle möchten wir nochmals darauf hinweisen, dass in Wasserwerken die realen Konzentrationsverhältnisse von Spurenstoffen und Ozon in anderen Größenbereichen liegen: Dort trifft beispielsweise ein organischer Spurenstoff im Bereich von 1 µg/L (0,004 µmol/L) auf 1 mg/L (21 µmol/L) Ozon, woraus sich ein Reaktantenverhältnis von ca. 1:5000 ergibt. Darüber hinaus wird die Ozonzehrung auch in solchen Wässern nicht von den anthropogen eingetragenen Spurenstoffen dominiert, sondern vom natürlicherweise vorhandenen DOC-Hintergrund.

Die von uns üblicherweise in den Versuchen verwendete Stoffmenge von 0,5 mg/L ergibt ein Reaktantenverhältnis von Substanz:Ozon von ca. 1:100.

### 6.3.5 Metformin

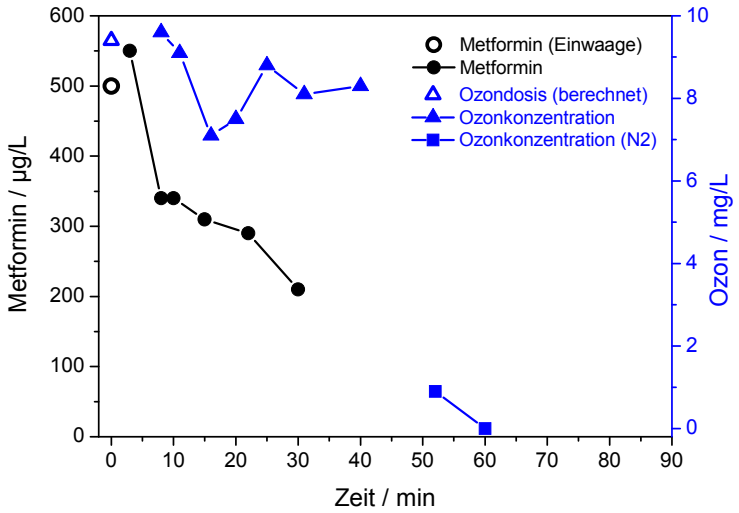



Abb. 39: Abnahme von Metformin während der Ozonung

Im Gegensatz zu den bislang besprochenen Umsetzungen (FAA, AAA und Sulfapyridin) haben wir bei Metformin unter den gewählten Versuchsbedingungen bei der Ozonung nur einen teilweisen Abbau gefunden.

Nach einer Ozonungszeit von 30 min konnten noch ca. 35 % der Startkonzentration gefunden werden (Abb. 39).

Da die Ozonkonzentration auf hohem Niveau bleibt (ca. 8 mg/L), vermuten wir, dass die primären Transformationsprodukte des Metformins nicht wesentlich zu einer weiteren Ozonzehrung beitragen. Bei den Unstetigkeiten in den gemessenen Ozonkonzentrationen (Messung 3 und 4) gehen wir von einer fehlerhaften Ozon-Analytik aus. Diese Messungen sollten als Ausreißer gewertet werden.

### 6.3.6 Piracetam

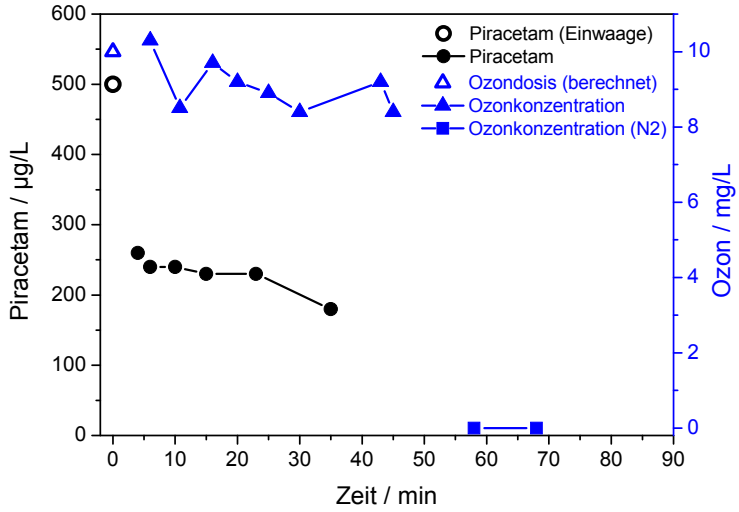



Abb. 40: Abnahme von Piracetam während der Ozonung

Ein ähnliches Bild wie Metformin zeigt auch Piracetam. Hier fanden wir in der ersten Probe ebenfalls einen starken Substanzabbau, der dann über die restliche Zeit nur langsam fortschritt (Abb. 40). Es stellt sich die Frage nach dem Mechanismus des initialen Abbaus und warum sich in den weiteren 30 min, trotz hoher Ozonkonzentration, eine deutlich langsamere Kinetik anschließt.

Fehler in der Einwaage oder in der Analytik können wir ausschließen, da die Untersuchung der $c_0$-Probe nach der Zugabe von Ozon-Starkwasser eine Konzentration von 450 µg/L erwarten lässt (vgl. Tab. 12). Weiterhin sollte – in Anlehnung an die Ergebnisse aus Tab. 12 – das Ausblasen mit Stickstoff keinen solch großen Effekt haben (bei Piracetam haben wir ca. 5 % Stoffverlust gefunden).

### 6.3.7 Guanylharnstoff

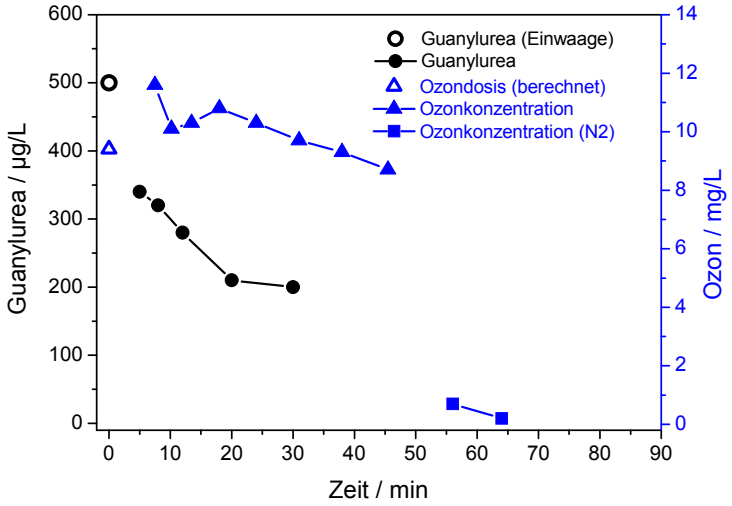



Abb. 41: Abnahme von Guanylharnstoff während der Ozonung

Guanylharnstoff (Guanylurea) ist ein abbaustabiles Transformationsprodukt von Metformin [270], das wir in den Bioabbau-Versuchen des Projektes erneut bestätigen konnten und ebenfalls für die Ozonung ausgewählt haben. Abb. 41 zeigt, dass sich Guanylharnstoff mit Ozon zu einem oder mehreren technischen Transformationsprodukten umsetzt.

Nach einer Ozonungszeit von 30 min war die Guanylharnstoff-Konzentration auf ca. 40 % des Anfangswertes abgefallen. Nach der vollständigen Entfernung des Restozons haben wir einen Restgehalt von ca. 12 % der Startkonzentration gefunden. Die Geschwindigkeit des Stoffabbaus von Guanylharnstoff während der Ozonung ist vergleichbar mit den Geschwindigkeiten des Abbaus von Piracetam und Metformin. Inwieweit die beiden Abbaukurven von Metformin und Guanylharnstoff im Hinblick auf einen analogen Abbaumechanismus über gleiche Strukturelemente beider Moleküle interpretierbar sind, bleibt zunächst ungeklärt.

## 6.4 SPE-Anreicherung

### 6.4.1 Wiederfindung der Testsubstanzen

Die Tab. 13 zeigt die Wiederfindungsquoten von neun Substanzen nach Anwendung der von uns gewählten Methodik. Die Ergebnisse zeigen deutliche Probleme auf, wobei nicht ersichtlich ist, ob es sich um eine schlechte Anreicherung (falsches SPE-Material) oder um eine nicht quantitative Elution (ungeeignetes Elutionsmittel bzw. ungünstige Elutionsbedingungen) handelt. Als akzeptabel dürfen die Werte von AAA, FAA, Carbamazepin und Sulfapyridin angesehen werden und bei Sulfamethoxazol wird immerhin noch über ein Fünftel des Stoffeinsatzes wiedergefunden. Die Wiederfindungsraten von Metformin, Piracetam und Salicylsäure sind hingegen gering, aber auch unter anderen Anreicherungsbedingungen (SPE-Material, Elutionsmittel) oft nicht befriedigend.

Im Gegensatz dazu sind für Ibuprofen Anreicherungsverfahren mit guten Erfolgsquoten bekannt. Wahrscheinlich wird unter den hier verwendeten Elutionsbedinungen der adsorbierte Stoff mit Ethanol nicht eluiert.

Tab. 13: Wiederfindungsraten von Testsubstanzen mit der ausgewählten SPE-Anreicherung

| Testsubstanz | Wiederfindung in % |
|---|---|
| AAA | 80 |
| FAA | 79 |
| Carbamazepin | 74 |
| Sulfapyridin | 53 |
| Sulfamethoxazol | 22 |
| Piracetam | 3 |
| Salicylsäure | 3 |
| Metformin | 2 |
| Ibuprofen | 2 |

## 6.5 Analytik

### 6.5.1 Analytik möglicher Transformationsprodukte

Die Muttersubstanzen Piracetam und Metformin wurden unter den gewählten Ozonungsbedingungen nicht vollständig abgebaut. Sulfapyridin, FAA und AAA hingegen reagierten schnell mit Ozon. Die Abb. 42 zeigt die Ergebnisse der Full-Scan-Messungen der ethanolischen Extrakte nach der SPE-Anreicherung.

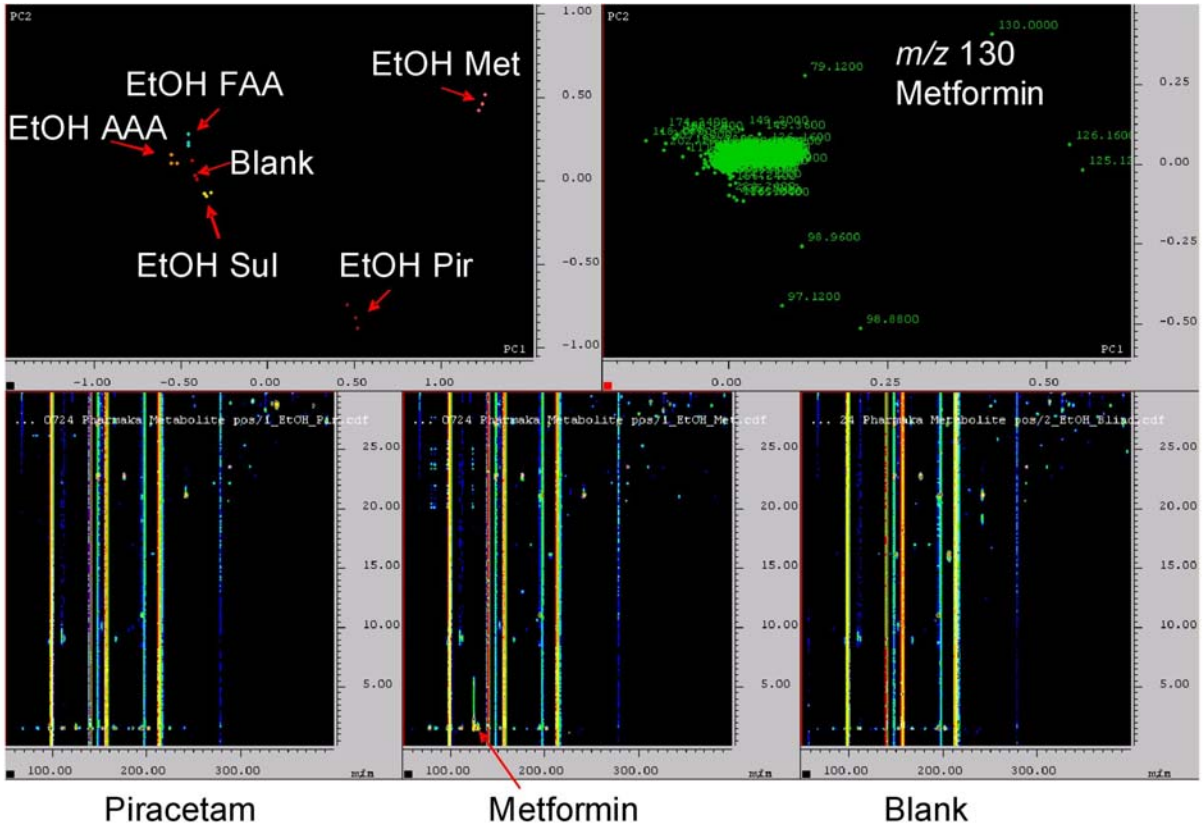



Abb. 42: Full-Scan-Messungen
Unten: Messungen von Piracetam, Metformin und Blank
Oben: Statistische Auswertung (jeweils drei Messungen pro Probe)

Die statistische Auswertung (oben links in der Abbildung) bestätigt die Ergebnisse der LC-MS/MS-Messungen: Nur die Extrakte von Metformin und Piracetam unterscheiden sich statistisch von der Blindprobe. Bei den Extrakten von Sulfapyridin, FAA und AAA können nur sehr geringe Unterschiede zum 'Blank' festgestellt werden: Die als Triplikate gemessenen Punkte der jeweiligen Lösungen liegen zwar als eigene Gruppe vor, jedoch sind diese Gruppen nahe im Umfeld des 'Blanks' angesiedelt. Dies bedeutet, dass in diesem Ethanolextrakt keine nennenswerten Konzentrationen der Ausgangsverbindung vorliegen (diese wurde mit Ozon umgesetzt) und dass keine detektierbaren und statistisch auswertbaren Transformationsprodukte über diese Methode gefunden werden können.

Das Fehlen von Transformationsprodukten kann unterschiedliche Ursachen haben:

- die entstandenen Transformationsprodukte lassen sich nicht an dem verwendeten SPE-Material anreichern
- die Elutionskraft des Ethanols reicht nicht aus, die angereicherten Verbindungen von dem Kartuschenmaterial zu lösen
- die im Extrakt enthaltenen Transformationsprodukte lassen sich nicht ausreichend ionisieren
- die Polarität der Transformationsprodukte ist so hoch, dass diese im Totvolumen eluieren, in dem verstärkt Matrixprobleme auftreten
- die Konzentration der entstehenden Transformationsprodukte liegt unter der Nachweisgrenze der Full-Scan-Technik

Die statistische Auswertung von Full-Scan-Messungen ist zur Aufklärung unbekannter neuer Verbindungen gut geeignet, jedoch konnten im Rahmen dieses Projektes noch keine eindeutigen Ergebnisse erzielt werden.

## 6.6 Mutagenitätstests

### 6.6.1 Ames-Test

Die Ergebnisse der Mutagenitätstests nach Ames sind in Tab. 14–Tab. 20 wiedergegeben.

Aus Tab. 14 ergibt sich, dass der Kontrollansatz aus dem inhärenten Abbautest erwartungsgemäß keine Mutagenität zeigt. Durch die Ozonung und Anreicherung von Trinkwasser (Blindwert) beobachteten wir lediglich im TA98 ohne S9 eine Erhöhung der Induktionsraten, die jedoch keiner Dosis-Wirkungsbeziehung folgt und in keinem der drei unabhängigen Experimente den Faktor 2 erreicht. Daraus wurde abgeleitet, dass die Anreicherungsmethode im Prinzip geeignet ist und keine falsch-positiven Resultate produziert.

Tab. 14: Ames-Tests der Blindwert-Ansätze der Ozonung und Anreicherung

| | | TA98 ohne S9 | | | | TA98 mit S9 | | | | TA100 ohne S9 | | | | TA100 mit S9 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Revertanten | | | | Rvertanten | | | | Rvertanten | | | | Rvertanten | | | |
| | | MW | RSD % | IR (NK) | IR (LMK) | MW | RSD % | IR (NK) | IR (LMK) | MW | RSD % | IR (NK) | IR (LMK) | MW | RSD % | IR (NK) | IR (LMK) |
| Blindwert direkt nach Abbau 11.-13.09.2008 | 1000 µL | 22,8 | 8,4 | 0,92 | | 28,8 | 19,4 | 1,02 | | 86,2 | 14,8 | 0,96 | | 102,6 | 8,8 | 0,92 | |
| | 670 µL | 21,6 | 15,6 | 0,87 | | 30,2 | 13,7 | 1,07 | | 88,2 | 11,8 | 0,98 | | 104,8 | 6,9 | 0,94 | |
| | 444 µL | 23,2 | 17,6 | 0,94 | | 29,4 | 10,4 | 1,04 | | 90,2 | 10,6 | 1,00 | | 110,2 | 11,4 | 0,99 | |
| | PK | 247,3 | 5,2 | 9,97 | | 1185,0 | 6,3 | 42,02 | | 442,0 | 12,9 | 4,91 | | 1473,7 | 2,6 | 13,18 | |
| | NK | 24,8 | 16,5 | 1,00 | | 28,2 | 13,1 | 1,00 | | 90,0 | 7,2 | 1,00 | | 111,8 | 7,2 | 1,00 | |
| Blindwert Ozonierung und SPE 09.-11.04.2008 | 100 µL | 19,3 | 13,0 | | 1,32 | 20,3 | 32,7 | | 0,87 | 61,0 | 13,4 | | 0,95 | 68,0 | 10,6 | | 1,03 |
| | 32 µL | 26,7 | 27,1 | | 1,82 | 23,3 | 17,8 | | 1,00 | 65,3 | 12,5 | | 1,02 | 71,0 | 7,3 | | 1,08 |
| | 10 µL | 22,3 | 13,7 | | 1,52 | 25,3 | 21,7 | | 1,09 | 61,7 | 6,8 | | 0,96 | 68,7 | 17,0 | | 1,04 |
| | PK | 360,0 | 25,0 | 15,00 | | 737,3 | 11,5 | 26,33 | | 528,0 | 10,9 | 7,30 | | 856,0 | 13,2 | 13,59 | |
| | NK | 24,0 | 8,3 | 1,00 | 1,64 | 28,0 | 18,9 | 1,00 | 1,20 | 72,3 | 18,0 | 1,00 | 1,13 | 63,0 | 11,1 | 1,00 | 0,95 |
| | LMK 100 µL | 14,7 | 15,7 | 0,61 | 1,00 | 23,3 | 20,3 | 0,83 | 1,00 | 64,0 | 10,2 | 0,88 | 1,00 | 66,0 | 24,1 | 1,05 | 1,00 |
| Blindwert Ozonierung und SPE 04.-06.06.2008 | 100 µL | 22 | 15,4 | | 1,06 | 24,60 | 12,1 | | 0,98 | 83,60 | 7,5 | | 1,15 | 85,20 | 10,2 | | 1,15 |
| | 50 µL | 27,4 | 18,0 | | 1,32 | 20,80 | 22,7 | | 0,83 | 81,80 | 8,5 | | 1,12 | 84,40 | 8,3 | | 1,14 |
| | 25 µL | 24,6 | 21,4 | | 1,18 | 22,80 | 28,8 | | 0,91 | 82,00 | 9,3 | | 1,12 | 81,60 | 9,4 | | 1,10 |
| | PK | 216 | 9,4 | 9,91 | | 632,67 | 7,2 | 29,56 | | 402,00 | 5,7 | 4,60 | | 891,33 | 10,5 | 9,90 | |
| | NK | 21,8 | 16,3 | 1,00 | 1,05 | 21,40 | 25,3 | 1,00 | 0,86 | 87,40 | 6,7 | 1,00 | 1,20 | 90,00 | 5,7 | 1,00 | 1,21 |
| | LMK 100 µL | 20,8 | 17,5 | 0,95 | 1,00 | 25,00 | 28,3 | 1,17 | 1,00 | 73,00 | 7,6 | 0,84 | 1,00 | 74,20 | 6,0 | 0,82 | 1,00 |
| Blindwert Ozonierung und SPE 19.-21.08.2008 | 100 µL | 24,2 | 13,2 | | 1,05 | 24,2 | 16,4 | | 1,22 | 93,6 | 5,8 | | 1,17 | 92,0 | 4,0 | | 1,17 |
| | 67 µL | 20,2 | 4,1 | | 0,88 | 23,8 | 18,6 | | 1,20 | 91,0 | 6,4 | | 1,14 | 86,4 | 5,7 | | 1,10 |
| | 44 µL | 21,2 | 18,7 | | 0,92 | 21,0 | 16,1 | | 1,06 | 98,2 | 15,7 | | 1,23 | 98,2 | 8,3 | | 1,25 |
| | PK | 309,7 | 8,9 | 11,38 | | 1173,0 | 6,4 | 64,45 | | 328,0 | 7,6 | 3,40 | | 1453,3 | 3,6 | 16,98 | |
| | NK | 27,2 | 13,6 | 1,00 | 1,18 | 18,2 | 18,0 | 1,00 | 0,92 | 96,4 | 7,1 | 1,00 | 1,21 | 85,6 | 2,8 | 1,00 | 1,09 |
| | LMK 100 µl | 23,0 | 10,6 | 0,85 | 1,00 | 19,8 | 26,6 | 1,09 | 1,00 | 79,8 | 11,7 | 0,83 | 1,00 | 78,6 | 11,6 | 0,92 | 1,00 |
| Blindwert Ozonierung und SPE 20.-22.11.2008 | 100 µL | 21,6 | 14,5 | | 1,24 | 30,2 | 6,8 | | 1,19 | 91,4 | 7,9 | | 1,08 | 99,8 | 4,9 | | 1,10 |
| | 67 µL | 20,6 | 19,0 | | 1,18 | 21,8 | 11,9 | | 0,86 | 88,8 | 12,7 | | 1,05 | 99,2 | 7,5 | | 1,09 |
| | 44 µL | 21,0 | 18,1 | | 1,21 | 27,0 | 5,9 | | 1,06 | 87,0 | 14,4 | | 1,03 | 92,4 | 12,8 | | 1,02 |
| | PK | 210,3 | 4,2 | 11,95 | | 565,0 | 3,8 | 19,89 | | 251,7 | 9,8 | 2,57 | | 1022,3 | 4,5 | 10,45 | |
| | NK | 17,6 | 3,1 | 1,00 | 1,01 | 28,4 | 12,6 | 1,00 | 1,12 | 98,0 | 7,7 | 1,00 | 1,16 | 97,8 | 10,4 | 1,00 | 1,08 |
| | LMK 100 µl | 17,4 | 3,1 | 0,99 | 1,00 | 25,4 | 11,3 | 0,89 | 1,00 | 84,6 | 9,1 | 0,86 | 1,00 | 90,8 | 12,0 | 0,93 | 1,00 |

MW: Mittelwert, RSD: Rel. Standardabweichung, IR: Induktionsrate, NK: Negativkontrolle (Wasser), LMK: Lösemittelkontrolle (DMSO), PK: Positivkontrolle

Weder Acetylaminoantipyrin (AAA) noch Formylaminoantipyrin (FAA) zeigten nach Durchführung des inhärenten Abbautests und nach Ozonung der Muttersubstanz bzw. der Abbaulösung eine mutagene Wirkung (Tab. 15 und Tab. 16).

Tab. 15: Ames-Tests von 4-N-Acetylaminoantipyrin-Ansätzen mit und ohne Ozonung

| | | TA98 ohne S9 | | | | TA98 mit S9 | | | | TA100 ohne S9 | | | | TA100 mit S9 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Revertanten | | | | Revertanten | | | | Revertanten | | | | Revertanten | | | |
| | | MW | RSD % | IR (NK) | IR (LMK) | MW | RSD % | IR (NK) | IR (LMK) | MW | RSD % | IR (NK) | IR (LMK) | MW | RSD % | IR (NK) | IR (LMK) |
| AAA 50 mg/L TOC direkt nach Abbau 11.-13.09.2008 | 1000 µL | 27,0 | 8,7 | 1,09 | | 27,4 | 15,6 | 0,97 | | 89,4 | 11,4 | 0,99 | | 98,4 | 11,6 | 0,88 | |
| | 670 µL | 25,8 | 12,1 | 1,04 | | 29,8 | 8,0 | 1,06 | | 91,4 | 7,7 | 1,02 | | 96,4 | 6,1 | 0,86 | |
| | 444 µL | 26,8 | 8,5 | 1,08 | | 31,6 | 16,7 | 1,12 | | 83,8 | 6,7 | 0,93 | | 102,2 | 6,9 | 0,91 | |
| | PK | 247,3 | 5,2 | 9,97 | | 1185,0 | 6,3 | 42,02 | | 442,0 | 12,9 | 4,91 | | 1473,7 | 2,6 | 13,18 | |
| | NK | 24,8 | 16,5 | 1,00 | | 28,2 | 13,1 | 1,00 | | 90,0 | 7,2 | 1,00 | | 111,8 | 7,2 | 1,00 | |
| AAA 0,5 mg/L nach Ozonierung 04.-06.06.2008 | 100 µL | 25,4 | 32,5 | | 1,22 | 27,0 | 15,3 | | 1,08 | 79,6 | 3,4 | | 1,09 | 79,0 | 4,3 | | 1,06 |
| | 50 µL | 22,0 | 23,0 | | 1,06 | 24,2 | 23,3 | | 0,97 | 83,4 | 9,5 | | 1,14 | 83,4 | 4,8 | | 1,12 |
| | 25 µL | 20,2 | 18,0 | | 0,97 | 21,2 | 23,7 | | 0,85 | 84,6 | 5,8 | | 1,16 | 83,0 | 6,9 | | 1,12 |
| | PK | 216,0 | 9,4 | 9,91 | | 632,7 | 7,2 | 29,56 | | 402,0 | 5,7 | 4,60 | | 891,3 | 10,5 | 9,90 | |
| | NK | 21,8 | 16,3 | 1,00 | 1,05 | 21,4 | 25,3 | 1,00 | 0,86 | 87,4 | 6,7 | 1,00 | 1,20 | 90,0 | 5,7 | 1,00 | 1,21 |
| | LMK 100 µL | 20,8 | 17,5 | 0,95 | 1,00 | 25,0 | 28,3 | 1,17 | 1,00 | 73,0 | 7,6 | 0,84 | 1,00 | 74,2 | 6,0 | 0,82 | 1,00 |
| AAA 0,5 mg/L TOC Ozonierung nach Abbau 19.-21.08.2008 | 100 µL | 27,0 | 13,1 | | 1,17 | 20,6 | 23,4 | | 1,04 | 90,0 | 10,4 | | 1,13 | 90,8 | 10,3 | | 1,16 |
| | 67 µL | 28,4 | 12,8 | | 1,23 | 25,0 | 8,9 | | 1,26 | 85,6 | 6,4 | | 1,07 | 80,0 | 5,4 | | 1,02 |
| | 44 µL | 23,2 | 14,7 | | 1,01 | 24,8 | 18,1 | | 1,25 | 97,4 | 9,3 | | 1,22 | 98,4 | 15,5 | | 1,25 |
| | PK | 309,7 | 8,9 | 11,38 | | 1173,0 | 6,4 | 64,45 | | 328,0 | 7,6 | 3,40 | | 1453,3 | 3,6 | 16,98 | |
| | NK | 27,2 | 13,6 | 1,00 | 1,18 | 18,2 | 18,0 | 1,00 | 0,92 | 96,4 | 7,1 | 1,00 | 1,21 | 85,6 | 2,8 | 1,00 | 1,09 |
| | LMK 100 µL | 23,0 | 10,6 | 0,85 | 1,00 | 19,8 | 26,6 | 1,09 | 1,00 | 79,8 | 11,7 | 0,83 | 1,00 | 78,6 | 11,6 | 0,92 | 1,00 |

MW: Mittelwert, RSD: Rel. Standardabweichung, IR: Induktionsrate, NK: Negativkontrolle (Wasser), LMK: Lösemittelkontrolle (DMSO), PK: Positivkontrolle

Tab. 16: Ames-Tests von 4-N-Formylaminoantipyrin-Ansätzen mit und ohne Ozonung

| | | TA98 ohne S9 | | | | TA98 mit S9 | | | | TA100 ohne S9 | | | | TA100 mit S9 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Revertanten | | | | Revertanten | | | | Revertanten | | | | Revertanten | | | |
| | | MW | RSD % | IR (NK) | IR (LMK) | MW | RSD % | IR (NK) | IR (LMK) | MW | RSD % | IR (NK) | IR (LMK) | MW | RSD % | IR (NK) | IR (LMK) |
| FAA 50 mg/L TOC direkt nach Abbau 11.-13.09.2008 | 1000 µL | 28,2 | 19,0 | 1,14 | | 29,4 | 8,2 | 1,04 | | 102,6 | 10,2 | 1,14 | | 115,8 | 7,4 | 1,04 | |
| | 670 µL | 27,4 | 13,3 | 1,10 | | 28,8 | 12,4 | 1,02 | | 95,2 | 10,9 | 1,06 | | 89,2 | 8,1 | 0,80 | |
| | 444 µL | 31,2 | 10,2 | 1,26 | | 27,4 | 10,5 | 0,97 | | 89,4 | 13,8 | 0,99 | | 106,0 | 8,4 | 0,95 | |
| | PK | 247,3 | 5,2 | 9,97 | | 1185,0 | 6,3 | 42,02 | | 442,0 | 12,9 | 4,91 | | 1473,7 | 2,6 | 13,18 | |
| | NK | 24,8 | 16,5 | 1,00 | | 28,2 | 13,1 | 1,00 | | 90,0 | 7,2 | 1,00 | | 111,8 | 7,2 | 1,00 | |
| FAA 0,5 mg/L nach Ozonierung 04.-06.06.2008 | 100 µL | 25,0 | 26,7 | | 1,20 | 23,8 | 12,7 | | 0,95 | 81,0 | 4,9 | | 1,11 | 83,8 | 10,9 | | 1,13 |
| | 50 µL | 26,6 | 11,2 | | 1,28 | 21,2 | 23,4 | | 0,85 | 81,2 | 6,4 | | 1,11 | 83,4 | 8,5 | | 1,12 |
| | 25 µL | 22,0 | 13,3 | | 1,06 | 23,0 | 22,2 | | 0,92 | 83,8 | 9,9 | | 1,15 | 94,0 | 7,4 | | 1,27 |
| | PK | 216,0 | 9,4 | 9,91 | | 632,7 | 7,2 | 29,56 | | 402,0 | 5,7 | 4,60 | | 891,3 | 10,5 | 9,90 | |
| | NK | 21,8 | 16,3 | 1,00 | 1,05 | 21,4 | 25,3 | 1,00 | 0,86 | 87,4 | 6,7 | 1,00 | 1,20 | 90,0 | 5,7 | 1,00 | 1,21 |
| | LMK 100 µL | 20,8 | 17,5 | 0,95 | 1,00 | 25,0 | 28,3 | 1,17 | 1,00 | 73,0 | 7,6 | 0,84 | 1,00 | 74,2 | 6,0 | 0,82 | 1,00 |
| FAA 0,5 mg/L TOC Ozonierung nach Abbau 19.-21.08.2008 | 100 µL | 28,0 | 20,0 | | 1,22 | 19,8 | 20,6 | | 1,00 | 87,2 | 5,5 | | 1,09 | 83,2 | 11,7 | | 1,06 |
| | 44 µL | 26,0 | 20,9 | | 1,13 | 20,6 | 21,0 | | 1,04 | 85,2 | 6,3 | | 1,07 | 86,4 | 7,9 | | 1,10 |
| | PK | 309,7 | 8,9 | 11,38 | | 1173,0 | 6,4 | 64,45 | | 328,0 | 7,6 | 3,40 | | 1453,3 | 3,6 | 16,98 | |
| | NK | 27,2 | 13,6 | 1,00 | 1,18 | 18,2 | 18,0 | 1,00 | 0,92 | 96,4 | 7,1 | 1,00 | 1,21 | 85,6 | 2,8 | 1,00 | 1,09 |
| | LMK 100 µL | 23,0 | 10,6 | 0,85 | 1,00 | 19,8 | 26,6 | 1,09 | 1,00 | 79,8 | 11,7 | 0,83 | 1,00 | 78,6 | 11,6 | 0,92 | 1,00 |

MW: Mittelwert, RSD: Rel. Standardabweichung, IR: Induktionsrate, NK: Negativkontrolle (Wasser), LMK: Lösemittelkontrolle (DMSO), PK: Positivkontrolle
Ozonierung nach Abbau: 67 µL pro Platte konnte nicht getestet werden, da zu wenig Probe vorhanden war.

Sulfapyridin war nach Durchführung des inhärenten Abbautests und nach Ozonung und Anreicherung der Abbaulösung nicht mutagen. In mehreren unabhängigen Versuchen wurden nach den Ozonungen der Muttersubstanz widersprüchliche Ergebnisse erzielt.

In einem ersten Experiment war die Induktionsrate im TA 98 ohne S9 deutlich erhöht, jedoch ohne einen Faktor von zwei zu erreichen. Im Wiederholungsexperiment konnte dieser Befund nicht reproduziert werden. Es ergab sich aber noch immer eine leichte Erhöhung (IR = 1,4). Daraufhin haben wir die Ausgangskonzentration verdoppelt, 10 Liter unter identischen Bedingungen ozont, angereichert und in 5 mL DMSO aufgenommen. Wiederum beobachteten wir lediglich eine IR von 1,3 im TA 98 ohne S9.

In einem weiteren Experiment wurde eine 10fach höhere Menge (10 mg/L) der Ozonung zugeführt und hierbei im TA 98 und TA 100 eine eindeutige mutagene Wirkung bestimmt. Das letzte Experiment zeigte allerdings ein ähnliches stammspezifisches Muster der Induktionsraten wie das des parallel mitbehandelten und getesteten Guanylharnstoffes (Tab. 17).

Im letzten unabhängigen Versuch nach Ozonung von 10 mg/L Sulfapyridin wurde dieses Ergebnis nicht bestätigt. Von daher muss der Versuch vom 16.–18.10.2008 insgesamt in Frage gestellt werden. Es wird vermutet, dass bei der Aufkonzentrierung Pyrolyseprodukte entstanden sind, die für die Mutagenität verantwortlich sind. Leider wurde in dieser Versuchsserie aus Kapazitätsgründen keine Negativkontrolle durch die Ozonung und Anreicherung mitgeführt, so dass diese Vermutung nicht verifiziert werden kann.

**Der eindeutig positive Befund des Experiments vom 16.–18.10.2008 wird daher nicht gewertet.**

Die experimentellen Daten werden dennoch dokumentiert, da sie auf die Problematik der möglichen Bildung von Artefakten bei der Durchführung von Mutagenitätstests mit angereicherten Proben hinweisen. Es bleiben jedoch die auch durch andere Versuche mit ozontem Sulfayridin begründeten Verdachtsmomente.

Tab. 17: Ames-Tests von Sulfapyridin-Ansätzen mit und ohne Ozonung

| | | TA98 ohne S9 | | | | TA98 mit S9 | | | | TA100 ohne S9 | | | | TA100 mit S9 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Revertanten | | | | Revertanten | | | | Revertanten | | | | Revertanten | | | |
| | | **MW** | **RSD %** | IR (NK) | IR (LMK) | **MW** | **RSD %** | IR (NK) | IR (LMK) | **MW** | **RSD %** | IR (NK) | IR (LMK) | **MW** | **RSD %** | IR (NK) | IR (LMK) |
| Sulfapyridin 50 mg/L TOC direkt nach Abbau 18.-20.09.2008 | 1000 µL | **25,8** | *15,4* | 1,04 | | **31,4** | *20,7* | 1,11 | | **91,0** | *10,2* | 1,01 | | **93,8** | *7,3* | 0,84 | |
| | 670 µL | **22,4** | *15,7* | 0,90 | | **37,4** | *31,7* | 1,33 | | **96,8** | *14,7* | 1,08 | | **112,0** | *14,9* | 1,00 | |
| | 444 µL | **22,4** | *25,0* | 0,90 | | **32,6** | *18,6* | 1,16 | | **82,0** | *16,3* | 0,91 | | **100,8** | *7,3* | 0,90 | |
| | PK | **247,3** | *5,2* | 9,97 | | **1185,0** | *6,3* | 42,02 | | **442,0** | *12,9* | 4,91 | | **1473,7** | *2,6* | 13,18 | |
| | NK | **24,8** | *16,5* | 1,00 | | **28,2** | *13,1* | 1,00 | | **90,0** | *7,2* | 1,00 | | **111,8** | *7,2* | 1,00 | |
| Sulfapyridin 0,5 mg/L nach Ozonierung 12.-14.08.2008 | 100 µL | **24,33** | *14,43* | | 1,77 | **16,67** | *15,10* | | 1,00 | **97,67** | *3,88* | | 0,98 | **84,33** | *2,98* | | 1,07 |
| | PK | **204,67** | *9,39* | 9,63 | | **920,00** | *18,51* | 51,83 | | **259,33** | *7,46* | 3,83 | | **1121,33** | *15,97* | 16,80 | |
| | NK | **21,25** | *26,72* | 1,00 | 1,55 | **17,75** | *9,62* | 1,00 | 1,06 | **67,75** | *7,56* | 1,00 | 0,68 | **66,75** | *7,17* | 1,00 | 0,85 |
| | LMK 100 µL | **13,75** | *10,91* | 0,65 | 1,00 | **16,75** | *8,96* | 0,94 | 1,00 | **99,75** | *9,63* | 1,47 | 1,00 | **78,50** | *13,42* | 1,18 | 1,00 |
| Sulfapyridin 0,5 mg/L nach Ozonierung 11.-13.09.2008 | 100 µL | **28,8** | *12,9* | | 1,29 | **26,8** | *14,5* | | 1,14 | **86,6** | *6,6* | | 1,00 | **100,0** | *8,9* | | 1,13 |
| | 67 µL | **25,4** | *21,3* | | 1,13 | **25,4** | *16,4* | | 1,08 | **94,8** | *10,5* | | 1,10 | **102,2** | *8,2* | | 1,15 |
| | 44 µL | **23,0** | *12,7* | | 1,03 | **24,8** | *11,2* | | 1,05 | **89,8** | *14,2* | | 1,04 | **93,4** | *11,0* | | 1,05 |
| | PK | **129,7** | *2,9* | 4,87 | | **635,3** | *21,2* | 24,82 | | **221,3** | *5,5* | 2,63 | | **790,0** | *4,9* | 9,52 | |
| | NK | **26,6** | *12,1* | 1,00 | 1,19 | **25,6** | *8,1* | 1,00 | 1,08 | **84,2** | *9,7* | 1,00 | 0,97 | **83,0** | *11,9* | 1,00 | 0,93 |
| | LMK 100 µL | **22,4** | *14,7* | 0,84 | 1,00 | **23,6** | *16,6* | 0,92 | 1,00 | **86,4** | *6,7* | 1,03 | 1,00 | **88,8** | *10,8* | 1,07 | 1,00 |
| Sulfapyridin 1 mg/L nach Ozonierung 11.-13.09.2008 | 100 µL | **23,4** | *12,3* | | 1,04 | **31,0** | *9,7* | | 1,31 | **89,6** | *13,3* | | 1,04 | **85,0** | *12,4* | | 0,96 |
| | 67 µL | **22,6** | *11,1* | | 1,01 | **24,2** | *12,2* | | 1,03 | **90,4** | *7,2* | | 1,05 | **98,8** | *6,9* | | 1,11 |
| | 44 µL | **23,0** | *13,7* | | 1,03 | **25,2** | *12,4* | | 1,07 | **91,8** | *9,9* | | 1,06 | **88,2** | *10,3* | | 0,99 |
| | PK | **129,7** | *2,9* | 4,87 | | **635,3** | *21,2* | 24,82 | | **221,3** | *5,5* | 2,63 | | **790,0** | *4,9* | 9,52 | |
| | NK | **26,6** | *12,1* | 1,00 | 1,19 | **25,6** | *8,1* | 1,00 | 1,08 | **84,2** | *9,7* | 1,00 | 0,97 | **83,0** | *11,9* | 1,00 | 0,93 |
| | LMK 100 µL | **22,4** | *14,7* | 0,84 | 1,00 | **23,6** | *16,6* | 0,92 | 1,00 | **86,4** | *6,7* | 1,03 | 1,00 | **88,8** | *10,8* | 1,07 | 1,00 |
| Sulfapyridin 5 mg/L nach Ozonierung 16.-18.10.2008 *) | 100 µL | **102,0** | *12,2* | | **4,86** | **99,2** | *8,0* | | **4,35** | **173,0** | *8,9* | | 1,97 | **152,6** | *8,6* | | 1,99 |
| | 67 µL | **51,4** | *4,7* | | **2,45** | **69,6** | *12,9* | | **3,05** | **124,4** | *5,1* | | 1,42 | **142,2** | *3,6* | | 1,85 |
| | 44 µL | **46,8** | *13,5* | | **2,23** | **46,4** | *14,9* | | **2,04** | **114,4** | *3,9* | | 1,30 | **111,4** | *6,9* | | 1,45 |
| | PK | **137,0** | *10,2* | 4,93 | | **741,3** | *7,0* | 26,10 | | **241,0** | *13,5* | 2,80 | | **1074,3** | *4,4* | 10,90 | |
| | NK | **27,8** | *26,0* | 1,00 | 1,32 | **28,4** | *18,7* | 1,00 | 1,25 | **86,0** | *12,6* | 1,00 | 0,98 | **98,6** | *10,8* | 1,00 | 1,28 |
| | LMK 100 µL | **21,0** | *11,7* | 0,76 | 1,00 | **22,8** | *11,4* | 0,80 | 1,00 | **87,8** | *12,1* | 1,02 | 1,00 | **76,8** | *13,3* | 0,78 | 1,00 |
| Sulfapyridin 5 mg/L nach Ozonierung 20.-22.11.2008 Wiederholungsexperiment | 100 µL | **25,6** | *11,6* | | 1,47 | **32,8** | *15,9* | | 1,29 | **91,8** | *9,4* | | 1,09 | **96,8** | *10,9* | | 1,07 |
| | 67 µL | **20,6** | *16,3* | | 1,18 | **23,8** | *15,6* | | 0,94 | **86,2** | *8,0* | | 1,02 | **92,0** | *8,1* | | 1,01 |
| | 44 µL | **19,5** | *8,9* | | 1,12 | **27,4** | *20,3* | | 1,08 | **89,4** | *10,7* | | 1,06 | **101,8** | *8,5* | | 1,12 |
| | PK | **210,3** | *4,2* | 11,95 | | **565,0** | *3,8* | 19,89 | | **251,7** | *9,8* | 2,57 | | **1022,3** | *4,5* | 10,45 | |
| | NK | **17,6** | *3,1* | 1,00 | 1,01 | **28,4** | *12,6* | 1,00 | 1,12 | **98,0** | *7,7* | 1,00 | 1,16 | **97,8** | *10,4* | 1,00 | 1,08 |
| | LMK 100 µL | **17,4** | *3,1* | 0,99 | 1,00 | **25,4** | *11,3* | 0,89 | 1,00 | **84,6** | *9,1* | 0,86 | 1,00 | **90,8** | *12,0* | 0,93 | 1,00 |
| Sulfapyridin 0,5 mg/L TOC Ozonierung nach Abbau 19.-21.08.2008 | 100 µL | **23,4** | *20,4* | | 1,02 | **16,2** | *17,1* | | 0,82 | **83,4** | *2,5* | | 1,05 | **80,8** | *11,9* | | 1,03 |
| | 67 µL | **22,8** | *15,9* | | 0,99 | **20,0** | *14,6* | | 1,01 | **79,8** | *6,5* | | 1,00 | **71,6** | *7,8* | | 0,91 |
| | 44 µL | **21,2** | *13,9* | | 0,92 | **23,4** | *13,7* | | 1,18 | **78,4** | *9,0* | | 0,98 | **76,2** | *9,7* | | 0,97 |
| | PK | **309,7** | *8,9* | 11,38 | | **1173,0** | *6,4* | 64,45 | | **328,0** | *7,6* | 3,40 | | **1453,3** | *3,6* | 16,98 | |
| | NK | **27,2** | *13,6* | 1,00 | 1,18 | **18,2** | *18,0* | 1,00 | 0,92 | **96,4** | *7,1* | 1,00 | 1,21 | **85,6** | *2,8* | 1,00 | 1,09 |
| | LMK 100 µL | **23,0** | *10,6* | 0,85 | 1,00 | **19,8** | *26,6* | 1,09 | 1,00 | **79,8** | *11,7* | 0,83 | 1,00 | **78,6** | *11,6* | 0,92 | 1,00 |

MW: Mittelwert, RSD: Rel. Standardabweichung, IR: Induktionsrate, NK: Negativkontrolle (Wasser), LMK: Lösemittelkontrolle (DMSO), PK: Positivkontrolle
*) Die im Versuch vom 16.-18.10. untersuchten Proben wurden vermutlich bei der Aufkonzentrierung z.B. durch Pyrolyseprodukte verunreinigt. Der positive Befund wurde im Wiederholungsexperiment nicht b
Dieser Versuch wird daher nicht gewertet.

Metformin und Piracetam waren in keinem der durchgeführten Ames-Tests mutagen (Tab. 18 und Tab. 19).

Tab. 18: Ames-Tests von Metformin-Ansätzen mit und ohne Ozonung

| | | TA98 ohne S9 | | | | TA98 mit S9 | | | | TA100 ohne S9 | | | | TA100 mit S9 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Revertanten | | | | Revertanten | | | | Revertanten | | | | Revertanten | | | |
| | | **MW** | **RSD %** | IR (NK) | IR (LMK) | **MW** | **RSD %** | IR (NK) | IR (LMK) | **MW** | **RSD %** | IR (NK) | IR (LMK) | **MW** | **RSD %** | IR (NK) | IR (LMK) |
| Metformin 50 mg/L TOC direkt nach Abbau 11.-13.09.2008 | 1000 µL | **29,0** | *19,4* | 1,17 | | **25,4** | *18,6* | 0,90 | | **92,2** | *13,9* | 1,02 | | **90,0** | *5,0* | 0,81 | |
| | 670 µL | **23,2** | *9,8* | 0,94 | | **25,8** | *15,8* | 0,91 | | **87,6** | *11,8* | 0,97 | | **101,4** | *12,7* | 0,91 | |
| | 444 µL | **29,2** | *22,6* | 1,18 | | **31,4** | *16,6* | 1,11 | | **100,4** | *7,5* | 1,12 | | **100,4** | *10,3* | 0,90 | |
| | PK | **247,3** | *5,2* | 9,97 | | **1185,0** | *6,3* | 42,02 | | **442,0** | *12,9* | 4,91 | | **1473,7** | *2,6* | 13,18 | |
| | NK | **24,8** | *16,5* | 1,00 | | **28,2** | *13,1* | 1,00 | | **90,0** | *7,2* | 1,00 | | **111,8** | *7,2* | 1,00 | |
| Metformim 0,5 mg/L nach Ozonierung 12.-14.08.2008 | 100 µL | **14,67** | *7,87* | | 1,07 | **14,67** | *27,56* | | 0,88 | **86,33** | *8,77* | | 0,87 | **67,33** | *2,27* | | 0,86 |
| | PK | **204,67** | *9,39* | 9,63 | | **920,00** | *18,51* | 51,83 | | **259,33** | *7,46* | 3,83 | | **1121,33** | *15,97* | 16,80 | |
| | NK | **21,25** | *26,72* | 1,00 | 1,55 | **17,75** | *9,62* | 1,00 | 1,06 | **67,75** | *7,56* | 1,00 | 0,68 | **66,75** | *7,17* | 1,00 | 0,85 |
| | LMK 100 µL | **13,75** | *10,91* | 0,65 | 1,00 | **16,75** | *8,96* | 0,94 | 1,00 | **99,75** | *9,63* | 1,47 | 1,00 | **78,50** | *13,42* | 1,18 | 1,00 |
| Metformin 0,5 mg/L nach Ozonierung 11.-13.09.2008 | 100 µL | **20,8** | *11,5* | | 0,93 | **27,0** | *10,8* | | 1,14 | **105,0** | *10,1* | | 1,22 | **103,6** | *6,0* | | 1,17 |
| | 67 µL | **24,8** | *24,1* | | 1,11 | **29,8** | *7,7* | | 1,26 | **82,6** | *9,9* | | 0,96 | **97,0** | *17,4* | | 1,09 |
| | 44 µL | **27,0** | *18,5* | | 1,21 | **26,6** | *14,5* | | 1,13 | **77,8** | *9,1* | | 0,90 | **89,4** | *14,3* | | 1,01 |
| | PK | **129,7** | *2,9* | 4,87 | 5,79 | **635,3** | *21,2* | 24,82 | 26,92 | **221,3** | *5,5* | 2,63 | 2,56 | **790,0** | *4,9* | 9,52 | 8,90 |
| | NK | **26,6** | *12,1* | 1,00 | 1,19 | **25,6** | *8,1* | 1,00 | 1,08 | **84,2** | *9,7* | 1,00 | 0,97 | **83,0** | *11,9* | 1,00 | 0,93 |
| | LMK 100 µL | **22,4** | *14,7* | 0,84 | 1,00 | **23,6** | *16,6* | 0,92 | 1,00 | **86,4** | *6,7* | 1,03 | 1,00 | **88,8** | *10,8* | 1,07 | 1,00 |
| Metformin 0,5 mg/L TOC Ozonierung nach Abbau 19.-21.08.2008 | 100 µL | **18,8** | *13,8* | | 0,82 | **17,2** | *26,8* | | 0,87 | **86,2** | *4,2* | | 1,08 | **84,8** | *9,1* | | 1,08 |
| | 67 µL | **28,0** | *11,3* | | 1,22 | **22,2** | *20,0* | | 1,12 | **83,6** | *8,2* | | 1,05 | **73,6** | *6,8* | | 0,94 |
| | 44 µL | **21,4** | *26,1* | | 0,93 | **21,8** | *20,4* | | 1,10 | **88,0** | *9,8* | | 1,10 | **82,4** | *8,6* | | 1,05 |
| | PK | **309,7** | *8,9* | 11,38 | | **1173,0** | *6,4* | 64,45 | | **328,0** | *7,6* | 3,40 | | **1453,3** | *3,6* | 16,98 | |
| | NK | **27,2** | *13,6* | 1,00 | 1,18 | **18,2** | *18,0* | 1,00 | 0,92 | **96,4** | *7,1* | 1,00 | 1,21 | **85,6** | *2,8* | 1,00 | 1,09 |
| | LMK 100 µL | **23,0** | *10,6* | 0,85 | 1,00 | **19,8** | *26,6* | 1,09 | 1,00 | **79,8** | *11,7* | 0,83 | 1,00 | **78,6** | *11,6* | 0,92 | 1,00 |

MW: Mittelwert, RSD: Rel. Standardabweichung, IR: Induktionsrate, NK: Negativkontrolle (Wasser), LMK: Lösemittelkontrolle (DMSO), PK: Positivkontrolle

Tab. 19: Ames-Tests von Piracetam-Ansätzen nach Ozonung

| | | TA98 ohne S9 | | | | TA98 mit S9 | | | | TA100 ohne S9 | | | | TA100 mit S9 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Revertanten | | | | Revertanten | | | | Revertanten | | | | Revertanten | | | |
| | | **MW** | **RSD %** | IR (NK) | IR (LMK) | **MW** | **RSD %** | IR (NK) | IR (LMK) | **MW** | **RSD %** | IR (NK) | IR (LMK) | **MW** | **RSD %** | IR (NK) | IR (LMK) |
| Piracetam 0,5 mg/l nach Ozonierung 04.-06.06.2008 | 100 µL | **25,2** | *12,4* | | 1,21 | **20,6** | *8,8* | | 0,82 | **85,4** | *4,2* | | 1,17 | **82,8** | *9,0* | | 1,12 |
| | 50 µL | **19,8** | *15,7* | | 0,95 | **24,8** | *12,9* | | 0,99 | **85,2** | *9,3* | | 1,17 | **87,6** | *7,2* | | 1,18 |
| | 25 µL | **17,8** | *12,2* | | 0,86 | **20,4** | *14,9* | | 0,82 | **83,6** | *4,8* | | 1,15 | **85,2** | *10,2* | | 1,15 |
| | PK | **216,0** | *9,4* | 9,91 | | **632,7** | *7,2* | 29,56 | | **402,0** | *5,7* | 4,60 | | **891,3** | *10,5* | 9,90 | |
| | NK | **21,8** | *16,3* | 1,00 | 1,05 | **21,4** | *25,3* | 1,00 | 0,86 | **87,4** | *6,7* | 1,00 | 1,20 | **90,0** | *5,7* | 1,00 | 1,21 |
| | LMK 100 µL | **20,8** | *17,5* | 0,95 | 1,00 | **25,0** | *28,3* | 1,17 | 1,00 | **73,0** | *7,6* | 0,84 | 1,00 | **74,2** | *6,0* | 0,82 | 1,00 |

MW: Mittelwert, RSD: Rel. Standardabweichung, IR: Induktionsrate, NK: Negativkontrolle (Wasser), LMK: Lösemittelkontrolle (DMSO), PK: Positivkontrolle

Guanylharnstoff zeigte nach Ozonung und Anreicherung im TA 98 und TA 100 eine eindeutige mutagene Wirkung (Tab. 20). Allerdings wurde ein ähnliches stammspezifisches Muster der Induktionsraten wie beim parallel mitbehandelten und getesteten Sulfapyridin beobachtet, das sich im Wiederholungsexperiment als nicht mutagen erwies (vgl. Tab. 17).

**Der Ansatz mit Guanylharnstoff wird daher ebenfalls nicht gewertet.**

Eine unabhängige Wiederholung des Experiments (Ozonung/Anreicherung/Ames-Test) konnte im Rahmen des Projektzeitraums leider nicht mehr durchgeführt werden.

Tab. 20: Ames-Tests von Guanylharnstoff-Ansätzen nach Ozonung

| | | TA98 ohne S9 | | | | TA98 mit S9 | | | | TA100 ohne S9 | | | | TA100 mit S9 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Revertanten | | | | Revertanten | | | | Revertanten | | | | Revertanten | | | |
| | | **MW** | **RSD [%]** | IR (NK) | IR (LMK) | **MW** | **RSD [%]** | IR (NK) | IR (LMK) | **MW** | **RSD [%]** | IR (NK) | IR (LMK) | **MW** | **RSD [%]** | IR (NK) | IR (LMK) |
| | 100 µL | **99,2** | *7,6* | | **4,72** | **88,4** | *8,9* | | **3,88** | **166,4** | *5,8* | | 1,90 | **139,8** | *9,3* | | 1,82 |
| Guanylharnstoff 0,5 | 67 µL | **46,8** | *5,5* | | **2,23** | **49,2** | *7,2* | | **2,16** | **114,8** | *4,4* | | 1,31 | **112,0** | *4,7* | | 1,46 |
| mg/L | 44 µL | **39,8** | *12,7* | | 1,90 | **26,6** | *15,6* | | 1,17 | **102,8** | *12,6* | | 1,17 | **101,4** | *13,6* | | 1,32 |
| nach Ozonierung | PK | **137,0** | *10,2* | 4,93 | 6,52 | **741,3** | *7,0* | 26,10 | 32,51 | **241,0** | *13,5* | 2,80 | 2,74 | **1074,3** | *4,4* | 10,90 | 13,99 |
| 11.-13.09.2008 | NK | **27,8** | *26,0* | 1,00 | 1,32 | **28,4** | *18,7* | 1,00 | 1,25 | **86,0** | *12,6* | 1,00 | 0,98 | **98,6** | *10,8* | 1,00 | 1,28 |
| | LMK 100 µL | **21,0** | *11,7* | 0,76 | 1,00 | **22,8** | *11,4* | 0,80 | 1,00 | **87,8** | *12,1* | 1,02 | 1,00 | **76,8** | *13,3* | 0,78 | 1,00 |

MW: Mittelwert, RSD: Rel. Standardabweichung, IR: Induktionsrate, NK: Negativkontrolle (Wasser), LMK: Lösemittelkontrolle (DMSO), PK: Positivkontrolle

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass die Koppelung von Ozonung und nachfolgender Anreicherung sehr komplex ist.

In den mitgeführten Blindwerten (Trinkwasser) beobachteten wir in einem von drei Experimenten in einem Stamm bereits eine deutliche Erhöhung der Induktionsrate. Nach der Ozonung und Anreicherung der Testsubstanzen unter Standardbedingungen (0,5 mg/L Ausgangskonzentration) ergab sich lediglich bei Sulfapyridin eine leichte Erhöhung der Induktionsrate, die in derselben Größenordnung lag wie die des Blindwertes.

Die in einem Experiment ermittelten positiven Befunde mit Sulfapyridin und Guanylharnstoff sind vermutlich auf Artefakte bei der Anreicherung zurückzuführen und konnten in einem Wiederholungsexperiment für Sulfapyridin nicht bestätigt werden. Es bleibt allerdings ein gewisser Anfangsverdacht für die bei der Ozonung von Sulfapyridin entstehenden Transformationsprodukte.

## 6.6.2 umu-Test

Die folgenden Tab. 21–Tab. 24 zeigen die Ergebnisse des umu-Tests, der lediglich für Sulfapyridin und seine Abbau-Ansätze zur Abklärung der Ergebnisse aus den Ames-Tests durchgeführt wurde (s.o.).

Tab. 21: Sulfapyridin 0,5 mg/L nach Ozonung und Anreicherung in DMSO
Test vom 30.09.2008, (Abkürzungen siehe Legende unter Tab. 24)

| | PK | 27 µL | 13,5 µL | 6,75 µL | 3,38 µL |
|---|---|---|---|---|---|
| **ohne S9** | | | | | |
| WF | 0,92 | 0,72 | 0,69 | 0,81 | 0,77 |
| IR | **3,73** | 1,49 | **1,53** | **1,54** | 1,39 |
| **mit S9** | | | | | |
| WF | 0,96 | 0,94 | 0,83 | 0,83 | 0,80 |
| IR | **4,16** | 1,39 | 1,22 | 1,27 | 1,11 |

Tab. 22: Sulfapyridin 1,0 mg/L nach Ozonung und Anreicherung in DMSO
Test vom 30.09.2008, (Abkürzungen siehe Legende unter Tab. 24)

| | PK | 27 µL | 13,5 µL | 6,75 µL | 3,38 µL |
|---|---|---|---|---|---|
| **ohne S9** | | | | | |
| WF | 0,92 | 0,75 | 0,80 | 0,90 | 0,83 |
| IR | **3,73** | **1,65** | **1,59** | **1,52** | 1,47 |
| **mit S9** | | | | | |
| WF | 0,96 | 0,87 | 0,87 | 0,93 | 0,86 |
| IR | **4,16** | 1,31 | 1,21 | 1,15 | 1,14 |

Tab. 23: Sulfapyridin nach Abbau im Zahn-Wellens-Test, Ozonung und Anreicherung in DMSO
Test vom 30.09.2008, (Abkürzungen siehe Legende unter Tab. 24)

| | PK | 27 µL | 13,5 µL | 6,75 µL | 3,38 µL |
|---|---|---|---|---|---|
| **Ohne S9** | | | | | |
| WF | 0,92 | 0,82 | 0,78 | 0,82 | 0,81 |
| IR | **3,73** | **1,58** | 1,43 | **1,72** | **1,58** |
| **mit S9** | | | | | |
| WF | 0,96 | 0,89 | 0,85 | 0,85 | 0,85 |
| IR | **4,16** | 1,43 | 1,22 | 1,28 | 1,16 |

Tab. 24: Sulfapyridin 5 mg/L nach Ozonung und Anreicherung in DMSO [10fach]
Test vom 22.10.2008

| | PK | 27 µL | 13,5 µL | 6,75 µL | 3,38 µL |
|---|---|---|---|---|---|
| **ohne S9** | | | | | |
| WF | 1,05 | 0,90 | 0,83 | 0,85 | 0,78 |
| IR | **3,26** | **1,70** | 1,47 | **1,59** | 1,41 |
| **mit S9** | | | | | |
| WF | 1,03 | 0,82 | 0,81 | 0,84 | 0,89 |
| IR | **3,94** | 1,37 | 1,23 | 1,19 | 1,06 |

WF: Wachstumsfaktor muss > 0,5 sein, sonst toxische Wirkung
IR: Induktionsrate, wird bei ≥ 1,3 bzw. 1,5 als gentoxisch gewertet
PK: Positivkontrolle mit S9: 2-Aminoanthracen 0,2 µg/mL bzw. ohne S9: 4-Nitroquinolinoxid 0,05 µg/mL

Zusammenfassend ist festzustellen, dass ohne S9 in allen Testansätzen erhöhte Induktionsraten bestimmt wurden, die auf einen gentoxischen Effekt hinweisen. Die Ergebnisse folgen aber keiner strikten Dosis-Wirkungs-Beziehung. Mit S9 beobachteten wir ebenfalls erhöhte Induktionsraten, die allerdings unter 1,5 blieben. In dem unabhängigen Wiederholungsexperiment mit 10fach erhöhter Sulfapyridinkonzentration bei der Ozonung wurden vergleichbare Ergebnisse erzielt, wobei diese Probe im

Ames-Test zwar eindeutig positiv war, dies aber auf Artefakte bei der Anreicherung zurückgeführt wurde (siehe Kapitel 6.6.1). Die Wachstumsraten sind gegenüber der zusätzlich mitgeführten Kontrolle (Wasser) etwas vermindert, was auf eine schwache Bakterientoxizität der Proben hinweist. Es ist davon auszugehen, dass ein gentoxischer Effekt durch Transformationsprodukte des ozonten Sulfapyridins induziert wird, wobei die Konzentrationsabhängigkeit nicht deutlich hervortritt.

# 7 Bewertung der Ergebnisse (Phase III)

## 7.1 Stoffauswahl

Das von uns durchgeführte Auswahlverfahren basiert auf einer Mengenbilanzierung, Arzneimittelinformationen zu Pharmakokinetik und Toxikologie, QSAR-Daten sowie sonstigen Literaturangaben. Es führte zu Arzneimittel-Metaboliten, die – unabhängig von den hier beschriebenen Überlegungen – bereits im Wasserkreislauf nachgewiesen wurden (siehe Stoffdossiers von Metamizol, S. 140, und Sulfasalazin, S. 171). Teilweise sind weitere Umweltnachweise einiger von uns ausgewählten Metaboliten erst nach unserer Stoffauswahl publiziert worden (s.u.). Dadurch wird bestätigt, dass die beschriebene Vorgehensweise geeignet ist, potenziell problematische Metabolite zu identifizieren.

Ebenso wird durch die Literatur bestätigt, dass eine eindeutige Nomenklatur (Kapitel 3.1.1 und 4.1) und Bezeichnung (z.B. INN-Name oder CAS-Nr.) erforderlich ist, um Missverständnisse zu vermeiden. So wurden die Metabolite FAA und AAA bereits in Berliner Oberflächenwasser nachgewiesen – im Bereich von < 1 µg/L – und dem nun nicht mehr zugelassenen Wirkstoff Dimethylaminophenazon (DMAA) zugeordnet. Es wurde eine Abreicherung durch Filtration von bis zu > 90 % festgestellt [262]. Eine neuere Untersuchung bestätigte, ebenfalls in Berlin, den aeroben Abbau beider Metabolite bei der Uferfiltration und im Labor, eventuelle Transformationsprodukte wurden nicht untersucht – erneut sind hier FAA und AAA nur als DMAA-Metabolite beschrieben und nicht als Metabolite auch von Metamizol [263]. Dieser Metabolismus war anderweitig bereits publiziert worden, mit Nachweisen in der Elbe (FAA auch in der Saale), und in einem Konzentrationsbereich von ebenfalls < 1 µg/L [96]. In den beiden erstgenannten Publikationen kommt erschwerend hinzu, dass "Dimethylaminophenazon" keine INN-Bezeichnung ist und die Substanz unter diesem Namen in den gängigen Arzneimittelverzeichnissen gar nicht auftaucht, auch nicht als Synonym. Bei Dimethylaminophenazon handelt es sich um den Wirkstoff Aminophenazon (CAS-Nr. 58-15-1).

Ein aktueller Bericht aus Bayern [115] wählte ebenfalls FAA und AAA für Wasseranalysen aus, allerdings werden in dieser Darstellung Wirkstoffe und Metabolite ohne Differenzierung gemeinsam aufgeführt und die Muttersubstanzen der Metaboliten werden nicht die genannt. In der Untersuchung wurden im Kläranlagenablauf FAA-

Konzentrationen von maximal 1,6 µg/L (Median 0,7 µg/L) und AAA-Konzentrationen von maximal 4 µg/L (Median 1,9 µg/L) gefunden. Im Oberflächengewässer (Donau) betrugen die Konzentrationen noch maximal 0,04 µg/L (Median 0,03 µg/L) für FAA und maximal 0,17 µg/L (Median 0,09 µg/L). Der Autor ist an einer laufenden Bayerischen Studie zum Vorkommen von Arzneimitteln und Metaboliten in Gewässern beteiligt [11].

## 7.2 Einsatz von QSAR für die Stoffbewertung

Die Nutzung von QSAR für die Bewertung von Stoffen, die im Roh- oder Trinkwasser vorkommen, ist naheliegend, denn die Kenntnisse über chemische Stoffe, ihr Verhalten in der Umwelt und ihre Bedeutung für die Trinkwassergewinnung sind generell nur sehr lückenhaft (Abb. 43). Für Transformationsprodukte liegen solche Kenntnisse im Allgemeinen gar nicht vor. Zum einen liegt dies daran, dass ihre chemische Struktur erst aufwändig bestimmt werden muss. Zum anderen sind sie meist nicht in den erforderlichen Mengen (wenn überhaupt) käuflich erhältlich, um die nötigen weitergehenden experimentellen und zudem sehr teuren Untersuchungen durchführen zu können. Auftragssynthesen sind ebenfalls sehr teuer. Hinzu kommt, dass es sich um eine nahezu unübersehbare Vielfalt chemischer Stoffe handelt.

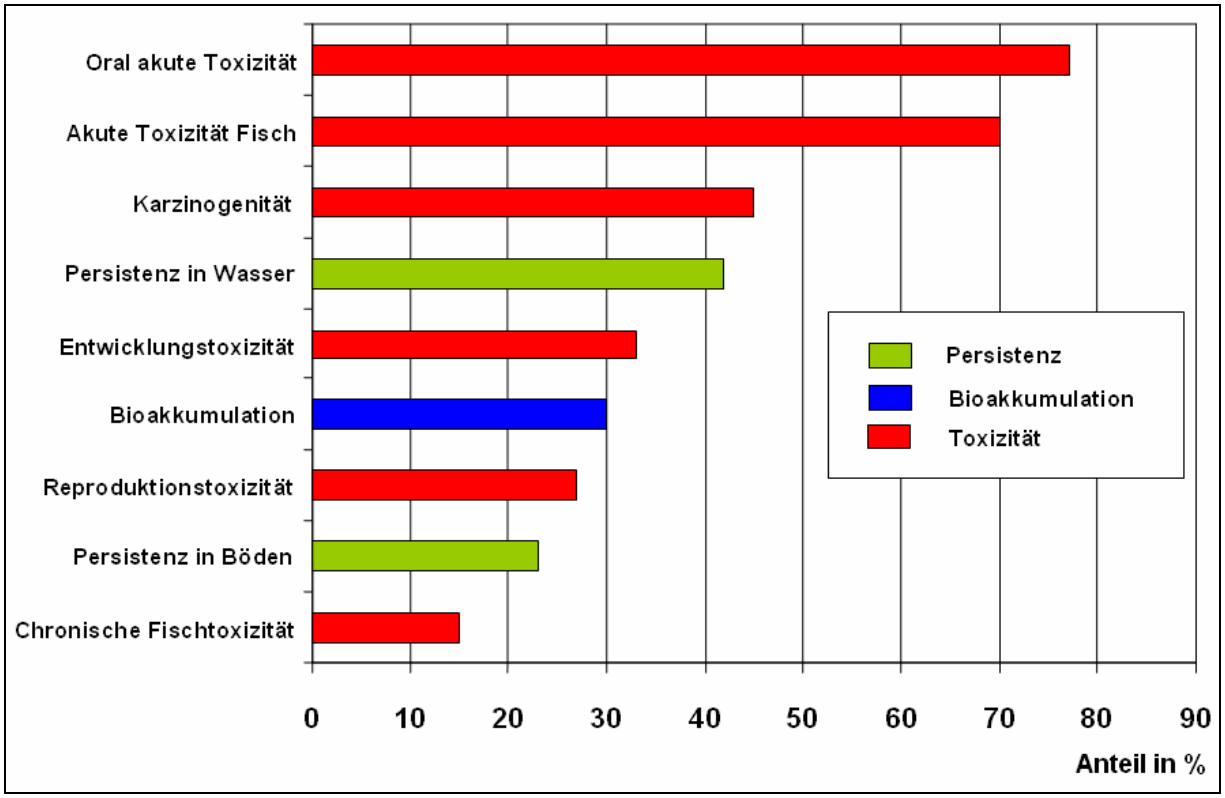



Abb. 43: Verfügbarkeit von Stoffdaten in den IUCLID-Datensätzen

Die Abb. 43 zeigt, für welchen Prozentsatz der im IUCLID-Datenformat[24] (*International Uniform Chemical Information Database*) erfassten Stoffe die jeweils aufgeführten Informationen (PBT-Kriterien) vorhanden sind. Insgesamt zeigen sich hier deutliche Lücken. Aussagen zu den Endpunkten eines Parameters, zu Testvarianten und der Datenqualität sind in IUCLID nicht verfügbar und nur zu rund 3000 der insgesamt rund 100.000 in der EU gehandelten Chemikalien[25] sind überhaupt Daten vorhanden. Für chemische Stoffe, für die keine IUCLID-Datensätze vorliegen, ist die Datenlage wahrscheinlich noch schlechter [5].

Die bisherigen Kenntnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- augenscheinlich strukturell sehr ähnliche Moleküle können sich in der Realität sehr unterschiedlich verhalten [71]
- es sind Regeln zur Vorhersage von Transformationsprodukten und deren Eigenschaften ableitbar, aber in ihrer einfachen Form nicht ausreichend!
- Daten für die Priorisierung von Stoffen und deren Bewertung fehlen!
- die Vielfalt der Stoffe und ihr diffuser Eintrag in den aquatischen Nutzungskreislauf führen zu einem großen Daten- und Informationsbedarf

Zur Bewertung von trinkwasserrelevanten Stoffen mit unzureichender Datenlage wird der gesundheitliche Orientierungswert (GOW) herangezogen. Fehlen experimentelle Daten, so gibt das Umweltbundesamt zur Bewertung nicht gentoxischer Stoffe im Trinkwasser oberhalb des GOW den Hinweis: "*Ersatzweise wird die Einstufung der Kontaminante im Gesamtbereich >0,1 µg/l bis ≤3 µg/l dann empfohlen, wenn wissenschaftlich entsprechend belastbare Erwartungsaussagen zur Beziehung zwischen Struktur und biochemisch-toxikologischem Potential der Kontaminante vorliegen („Struktur-/Aktivitätsbeziehung“)*". [128].

In Anbetracht der zum Teil komplexen chemischen Struktur von neuerdings auf Interesse stoßenden Kontaminanten wie Arzneimittel und ihren Transformationsprodukten reichen jedoch rein qualitatives und intuitives Expertenwissen oft nicht für eine erste, orientierende Bewertung aus. Quantitative Struktur-Eigenschafts-Beziehungen (*Quantitative Structure-Property Relationships*, QSPR) oder im Hinblick auf eine biologische Wirkung: Quantitative Struktur-Aktivitäts Beziehungen (*Quantitative Structure-Activity Relationships*, QSAR) bieten sich hier an (siehe z.B. www.edc-com.eu) wie sie auch im Rahmen von REACH[26][45] immer mehr an Bedeutung gewinnen.

Solche Methoden eignen sich dafür, wie in diesem Vorhaben gezeigt, aus einer großen und vielfältigen Grundmenge gezielt eine Stoffauswahl nach zuvor festgelegten Kriterien vorzunehmen. Generelle Schlüsseleigenschaften sind: Persistenz,

---

[24] in IUCLID werden Stoffdaten der europäischen Chemie-Industrie gemäß der Verordnung des Rates (EWG) 793/93 zur Bewertung und Kontrolle der Umweltrisiken chemischer Altstoffe gesammelt (IUCLID 4 umfasste 2006 etwa 10.500 Datensätze zu Altstoffen, derzeitige – März 2009 – ist IUCLID 5, http://iuclid.eu/)

[25] diese werden im EINECS-Verzeichnis geführt (European Inventory of Existing Commercial chemical Substances), Suchfunktion bei ESIS unter http://ecb.jrc.ec.europa.eu/esis/index.php?PGM=ein

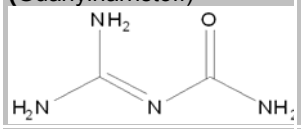
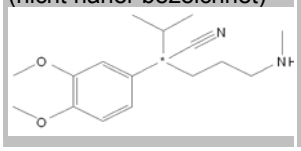
[26] Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals

Daten zur Mobilität im aquatischen Nutzungskreislauf wie z.B. Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient, biologische Abbaubarkeit und Sorption, Verhalten in der Trinkwasseraufbereitung (Sorption, Ozonung) und einige wenige orientierende toxikologische Eigenschaften wie z.B. Gentoxizität/Mutagenität.

Sollte sich dann weiterer Bedarf, z.B. für die Abschätzung der humantoxikologischen Wirkung, ergeben, so können neben QSAR weitere Computer-basierte Methoden, wie z.B. Docking-Methoden, in Betracht gezogen werden. Gleiches gilt für das Ausbreitungsverhalten (z.B. EUSES[27]). Wie in REACH kann auch das "*In-Silico-Across-Reading*" von Interesse sein und es können durch regelbasierte Expertensysteme auch Metabolite und zu erwartende Transformationsprodukte vorhergesagt werden, die dann mittels der zuvor genannten Methoden einer ersten, orientierenden Bewertung unterzogen werden können.

In Tab. 25 sind die Ergebnisse einer solchen Vorgehensweise für das im Vorhaben untersuchte Transformationsprodukt Guanylharnstoff (siehe S. 144) und ein ebenfalls in Kläranlagen entstehendes, abbaustabiles Transformationsprodukt[28] des Kalziumkanalblockers Verapamil (siehe S. 180ff) dargestellt [123].

Tab. 25: QSAR-Prognose (Multicase) von abbaustabilen Biotransformationsprodukten

| **Abbaustabiles Transformationsprodukt** | **logK$_{OW}$** | **Resorption im Darm** in % | **LD50$_{Ratte}$** in mg/kg | **Ames-Test, *Salmonella* Typhimurium** (TA98+S9$_{Ratte}$) | **Maus-Lymphom-Test** | **Mikrokern-Test** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Metformin-TP** (Guanylharnstoff)  | −1,44 (A) | 67,5 | 1181 | – | – | – |
| **Verapamil-TP** (nicht näher bezeichnet)  | 2,54 (B) | 86,4 | 94,1 | – **unknown*** CN−C−c= CN−C−CH− **deactivating*** CH$_2$−C−c=cH | + **moderate*** cH=cH−c= **69 % probability** | – |

(A) keine Sorption an Aktivkohle vorhergesagt
(B) Sorption an Aktivkohle wahrscheinlich
* in den Strukturelementen bedeuten große Kohlenstoffsymbole (C) eine aliphatische Bindung und kleine Kohlenstoffsymbole (c) eine aromatische

Die Ergebnisse lassen folgende erste Bewertung zu: Guanylharnstoff ist von geringer akuter Toxizität – Gentoxizität und Mutagenität sind ebenfalls nicht zu erwarten. Der Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient ist klein, so dass eine Entfernung aus dem Rohwasser durch Sorption an Aktivkohle nicht möglich sein wird. Daher ist die Untersuchung des Verhaltens von Guanylharnstoff bei der Ozonung, wie wir sie in diesem Vorhaben auch durchgeführt haben (siehe Kapitel 6.3.7, S. 66), von besonderem Interesse.

[27] European Union System for the Evaluation of Substances (http://ecb.jrc.ec.europa.eu/euses)
[28] dieses Transformationsprodukt ist ebenfalls ein Metabolit von Verapamil

Für das abbaustabile Biotransformationsprodukt des Wirkstoffes Verapamil ist die Situation gerade umgekehrt. Die Substanz ist aus toxikologischer Sicht kritisch zu bewerten, allerdings lässt der Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient erwarten, dass sie bei der Wasseraufbereitung mittels Aktivkohle gut eliminierbar ist. Für die Substanz ist eine gewisse Aktivität im Maus-Lymphomtest wahrscheinlich (man beachte, dass Multicase auch die Vorhersage einschränkende und die Aktivität beeinflussende Informationen ausgibt). Die akute Toxizität für die Ratte ist beim Verapamil-Transformationsprodukt ebenfalls deutlich höher als beim Guanylharnstoff.

Das Beispiel zeigt, dass mit Computer-basierten Methoden sehr schnell eine orientierende Gefährdungseinschätzung durchgeführt werden kann. Damit werden auch Hinweise für die weitere Vorgehensweise gegeben, wenn eine tiefergehende Stoffbewertung erforderlich ist. Darüber hinaus kann mit diesen Methoden auch schnell abgeschätzt werden, ob bzw. durch welche technische Maßnahme der jeweilige Schadstoff entfernbar ist oder nicht.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass in-silico-Methoden wie z.B. QSAR für die Bewertung von Schadstoffen in Trinkwasser, die Wasserchemie und die Wassertechnologie ein breites, bisher kaum genutztes Anwendungsgebiet und Potenzial haben.

## 7.3 Mutagenität

Die Abbaulösungen nach Durchführung des inhärenten Abbautests sowie die ozonten Abbaulösungen und Wirksubstanzen waren im Ames-Test nicht eindeutig positiv. Bei Sulfapyridin ergaben sich aber geringfügige Erhöhungen der Induktionsraten, die auch im umu-Test bestätigt wurden, so dass für Abbau- bzw. Transformationsprodukte von Sulfapyridin ein Anfangsverdacht bestehen bleibt.

Die Vorschaltung von Anreicherungsprozessen zum Nachweis gentoxischer Substanzen in Oberflächengewässern und Abwässern ist umstritten, da es hierbei sowohl zu einer selektiven Auswahl als auch zu Veränderungen der Substanzen selbst kommen kann. In der Literatur finden sich zahlreiche Beispiele für solche Untersuchungen. Erdinger et al. [43] konnten im Vergleich zur Negativkontrolle in Oberflächenwässern nach bis zu 40facher Festphasen-Anreicherung mittels Absorberharz[29] eine vom Anreicherungsfaktor abhängige Erhöhung der Revertantenzahl bestimmen.

Die in diesem Vorhaben eingesetzten "*Ready-to-use*" SPE-Säulen haben den Vorteil, dass nur geringe Lösungsmittelmengen eingesetzt werden müssen. Für diese Applikation liegen z.B. Vorschriften vor, um aromatische Kohlenwasserstoffe aus Urin anzureichern, so dass deren gentoxische Wirkung dann in biologischen Testverfahren nachgewiesen werden kann (z.B. [7]). Eine Einschränkung der Anreicherungsmethodik besteht dahingehend, dass für den Einsatz der gewonnenen Proben in

[29] Amberlite XAD (Handelsmarken der Rohm and Haas Company, Philadelphia, U.S.A.)

biologischen Tests nur untoxische Lösungsmittelmengen eingesetzt werden dürfen. So können lediglich 100 µL DMSO pro Platte zugegeben werden. Von wesentlicher Bedeutung ist, die komplette Probenaufbereitung mit Blindproben zu begleiten, da es durchaus möglich ist, dass gentoxische Wirkungen nachgewiesen werden, die auf Artefakte zurückzuführen sind. So können infolge zu hoher Temperaturen bei der Einengung im Rotationsverdampfer deutliche gentoxische Effekten induziert werden.

Die Enstehung von gentoxischen Desinfektionsnebenprodukten (*Disinfection By-products*) bei der Ozonung wird bereits seit Jahren diskutiert. Beispiele sind insbesondere die Reaktion von Bromid zum gentoxischen Bromat, das als mögliches gentoxisches Karzinogen gilt [16, 39], siehe auch Kapitel (2.7 und 3.4.3).

Einen detaillierten Überblick über die bei der Ozonung und Chlorung von Trinkwasser gebildeten Substanzen geben Weinberg et al. [135]. Diese stellen fest, dass die Desinfektionsnebenprodukte mit hoher Priorität (halogenierte Methane, Acetonitrile, Ketone und Nitromethane) der Chlorung von Trinkwasser zuzuordnen sind, während den spezifisch der Ozonung zugeordneten Desinfektionsnebenprodukten wie Bromat keine hohe Relevanz zugeordnet wurde.

Andere Studien weisen jedoch auch darauf hin, dass die Mutagenität nach der Aufbereitung mittels Chlorung oder Ozonung im Wesentlichen von den organischen Bestandteilen der Rohwässer bestimmt wird. Der Anstieg mutagener Aktivitäten nach der Ozonung wurde durch eine nachgeschaltete Aktivkohlefiltration effektiv eliminiert [26]. Matsuda et al. [75] bestimmten die Mutagenität von acht üblichen Bestandteilen von Huminsäuren im Ames-Test und fanden eine erhebliche Erhöhung der Induktionsraten im Stamm TA 100. In diesem Fall wurden 600 mL Probe bis zur Trockne eingedampft und in 6 mL DMSO aufgenommen. Aus der Arbeit geht allerdings nicht hervor, ob die Negativkontrollen ebenfalls diesen Anreicherungsschritt durchliefen. Als Ursache der Mutagenität wurden insbesondere neu gebildete Aldehyde vermutet.

Suibert et al. [119] untersuchten die Mutagenität von Rohwasser vor der Trinkwasseraufbereitung und von ozontem Trinkwasser. Die Proben wurden durch Adsorption an Adsorberharze angereichert, mittels Methanol bzw. Dichlormethan eluiert und DMSO aufgenommen. Im Rohwasser wurde eine deutlich höhere mutagene Wirkung festgestellt. Auch hier wurden keine Negativkontrollen des Anreicherungsprozesses mitgeführt.

## 7.4 Unsicherheiten der Gefährdungsbeurteilung

Wir weisen darauf hin, dass die hier durchgeführten bakteriellen Gentoxizitäts- bzw. Mutagenitätstests in der Bewertung des Risikopotenzials die erste Stufe darstellen und positive Befunde stets durch *in vitro* und *in vivo* Tests mit eukaryotischen Zellen überprüft werden sollten. Die hier durchgeführte Untersuchungsstrategie stellt somit

nur einen ersten Schritt zur Risikobewertung von Transformationsprodukten im Trinkwasser dar.

Weiterhin ist zu erwähnen, dass wir bislang in keinem Experiment unter den gewählten Bedingungen eindeutig positive Effekte beobachtet haben. Dies kann auf die beschriebene Problematik der selektiven Anreicherung und auf die im Vergleich zur Substanztestung geringeren Prüfkonzentrationen zurückzuführen sein. Aus den negativen Testergebnissen können gentoxische Effekte für die ausgewählten Substanzen und ihre Transformationsprodukte also noch nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden.

Zudem weisen wir darauf hin, dass bislang nur sehr wenige Substanzen mit dieser Methodenkombination getestet wurden.

# 8 Ausblick und weiterer Forschungsbedarf

## 8.1 Stoffdatenbank Arzneimittel und Metabolite

Um für künftige Untersuchungen weitere, bislang nicht untersuchte Arzneimittel-Metabolite auszuwählen, sollten zumindest die mengenmäßig relevanten Wirkstoffe und deren Metabolite systematisch in einer Datenbank hinterlegt werden. Diese sollte auch für Einzelstoffe die Metabolisierungs- und Ausscheidungsraten berücksichtigen, damit auch für Metaboliten Mengenabschätzungen möglich sind. Dabei sollten die Substanzen eindeutig bezeichnet werden: Wirkstoffe über ihre INN-Bezeichnung und alle Substanzen über ihre CAS-Nummern oder IUPAC-Bezeichnungen. Dann könnten z.B. auch identische Metabolite verschiedener Muttersubstanzen addiert werden. Entsprechend der hier aufgezeigten Vorgehensweise sind dann zur Stoffauswahl Datenbank- oder QSAR-generierte Informationen über Abbaubarkeit, Mobilität und Toxizität herzuziehen.

Wie in Kapitel 3.1.2 dargestellt, erscheint es angesichts der reichlich unsicheren Aussage des Begriffes "Arzneimittelwirkstoff" angebracht, die gelisteten Substanzen auch dahingehend zu systematisieren, ob es sich um natürlich und in großen Mengen vorkommende Substanzen handelt, ob die Wirkstoffe auch nichtmedizinisch eingesetzt werden und ob sie auch veterinärmedizinisch Verwendung finden. Wenn möglich, sollte eine Mengenabschätzung der Anwendungsbereiche vorgenommen werden.

## 8.2 Weitere Untersuchungen

Es wäre wünschenswert, weitere Arzneimittelmetaboliten mittels des hier aufgezeigten Screening-Verfahrens zu untersuchen. Wir schlagen vor, hierfür die in

Kapitel 5.2.2 genannten Auswahlkriterien heranzuziehen. Dort wurden bereits fünf Wirkstoffe identifiziert, deren Metaboliten in großen Mengen in die Umwelt gelangen und deren Prüfung auf Umweltvorkommen bzw. deren toxikologische Charakterisierung noch aussteht. Folgende Hauptmetabolite (Wirkstoffe in Klammern)[30] bieten sich für weitere Untersuchungen an:

- Oxipurinol (Allopurinol)
- N-Demethyl-Clindamycin und Clindamycin-Sulfoxid (Clindamycin)
- 5-Hydroxypentoxifyllin sowie Carboxyderivate des Pentoxifyllins (Pentoxifyllin)
- 2-Propyl-2-pentensäure, 2-Propyl-4-penten-säure, 2,4-Dienvalproinsäure und 4-Epoxyvalproinsäure (Valproinsäure)

Auch die vier erst in der Endauswahl ausgeschiedenen Metabolite (vgl. Tab. 9) bieten sich für eine Untersuchung an (Muttersubstanz ebenfalls in Klammern):

- Carbamazepin-10,11-epoxid (Carbamazepin)
- trans-10,11-Dihydroxy-10,11-dihydrocarbamazepin (Carbamazepin)
- $\alpha$-Hydroxymetoprolol (Metoprolol)
- 1-(3'-Carboxypropyl)-3,7-dimethylxanthin (Pentoxifyllin)

Das Untersuchungsspektrum sollte dabei nicht nur die Ozonung umfassen, sondern auch weitere Aufbereitungstechniken wie Uferfiltration, Chlorung oder UV-Behandlung.

Die Kombination von Abbau-, Ozonungs- und Mutagenitätstests ist ein vielversprechendes Instrument zur Bewertung von Arzneimittelmetaboliten und -transformationsprodukten. Allerdings kann die Methodik an vielen Stellschrauben wie der Prüfkonzentration, Ozonungsdauer und -konzentration sowie insbesondere dem gewählten Anreicherungsverfahren noch optimiert werden.

Bei Nachweisen oder Verdachtsmomenten auf mutagene oder gentoxische Wirkungen sind diese durch weitere *in vitro* und *in vivo* Tests mit eukaryotischen Zellen zu überprüfen.

[30] die ebenfalls identifizierte Muttersubstanz Levodopa wird zum Hauptmetaboliten Dopamin umgesetzt, welches ein körpereigener Neurotransmitter ist. Eine weitere Untersuchung von Dopamin erscheint deshalb als nicht angezeigt

## Literatur


1. Ahlers J, Diderich R: *Legislative perspective in ecological risk assessment*. In: Schüürmann G, Markert B (eds.) Ecotoxicology. J. Wiley, New York 1998:841–868
2. Al-Ahmad A, Daschner FD, Kümmerer K: *Biodegradability of cefotiam, ciprofloxacin, meropenem, penicillin G, and sulfamethoxazole and inhibition of waste water bacteria*. Arch Environ Cont Toxicol 1999;37:158–163
3. Alexander M: *Biodegradation and Bioremedation*. Academic Press 1994, San Diego
4. Alexy M, Voss G, Heinze J: *Optochemical sensor for determining ozone bases on novel soluble indigo dyes immobilized in a high permeable polymeric film*. Anal Bioanal Chem 2005;382:1628–1641
5. Allanou R, Hansen BG, van der Bilt Y: *Public Availability of Data on EU High Production Volume Chemicals*. Institute for Health and Consumer Protection (ISPRA), European Chemicals Bureau 1999: Publikation EUR 18996 EN, 1999
6. Amy G, Bull R, Craun GF, Pegram RA, Siddiqui M: *Disinfectants and disinfectant by-products*. United Nations Environment Programme, International Labour Organisation, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety 2000 first draft;Environmental Health Criteria 216:1–499 whqlibdoc.who.int/ehc/WHO_EHC_216.pdf
7. Andre V, Lebailly P, Deslandes E, Henry-Amar M, Gauduchon P: *Biomonitoring of urine mutagenicity with the Ames test: improvement of the extraction/concentration method*. Mutat Res 2002;520:199–205
8. Bahr C, Ernst M, Jekel M, Heinzmann B, Luck F, Ried A: *Pilotuntersuchungen zur kombinierten oxidativ-biologischen Behandlung von Klärwerksabläufen für die Entfernung von organischen Spuren- und Wirkstoffen und zur Desinfektion*. Schriftenreihe Kompetenzzentrum Wasser Berlin. Pilotox Band 5, Berlin 2007:1–87 www.kompetenz-wasser.de/index.php?id=9&type=0&jumpurl=fileadmin%2Fuser_upload%2Fpdf%2Fdownloads%2FBand5_Schriftenreihe_KWB_web.pdf
9. Baus C, Sacher F, Brauch HJ: *Efficiency of ozonation and AOP for methyl tert-butyl-ether (MTBE) removal in waterworks*. Ozone Sci Eng 2005;27(1):27–35
10. Baus C, Sona M, Brauch HJ: *Ozonation and combined ozone/$H_2O_2$, UV/ozone, and UV/$H_2O_2$ for treatment of fuel oxygenates MTBE, ETBE, TAME, and DIPE from water - A comparison of removal efficiencies*. Water Sci Technol 2007;55(12):307–311
11. Bayerisches Landesamt für Umwelt: *Arzneimittelwirkstoffe und deren Metaboliten: Belastungen des Wasserkreislaufs und Möglichkeiten der Verminderung*. Projekt unter Leitung des BLU, Referat 75. Laufzeit von 10/2006 bis 12/2009 www.lfu.bayern.de/analytik_stoffe/forschung_und_projekte/arzneimittel_wirkstoffe_abbauprodukte/index.htm
12. Bergheim M: *Biologische Abbaubarkeit und Risikobewertung ausgewählter Pharmazeutika in der aquatischen Umwelt*. Diplomarbeit an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen 2008
13. Bergmann A: *Eintrag von Arzneimitteln und deren Verhalten und Verbleib in der Umwelt – Literaturstudie*. Landesamt für Natur, Umwelt- u. Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV NRW) Fachbericht 2: 1–357
14. BLAC: *Arzneimittel in der Umwelt. Auswertung der Untersuchungsergebnisse*. Herausgeber: Freie und Hansestadt Hamburg – Behörde für Umwelt und Gesundheit – Institut für Hygiene und Umwelt im Auftrag des Bund/Länderausschusses für Chemikaliensicherheit (BLAC): 1–173 www.blak-uis.de/servlet/is/2146/P-2c.pdf
15. Blüm W, McArdell CS, Hoehn E, Schaubhut R, Labhart W, Bertschi S: *Organische Spurenstoffe im Grundwasser des Limmattales – Ergebnisse der Untersuchungskampagne 2004*. AWEL Bericht 2005:1–64
16. Bonacquisti TP: *A drinking water utility's perspective on bromide, bromate, and ozonation*. Toxicology 2006;221(2–3):145–148
17. Brauch HJ, Gabriel S, Hüther-Windbiel U, Leclerc N, Mallat E, Metzinger M, Sacher F, Stretz A, Wenz M: *Vorkommen von Pharmaka und Hormonen in Grund-, Oberflächenwässern und Böden in Baden-Württemberg*. Forschungsvorhaben des Ministeriums für Umwelt und Verkehr Baden-Württemberg Projekt-Nr. U33-00.012002. Reihe *Pharmaka und Hormone in der aquatischen Umwelt*, Abschlussbericht 2003:1–212
18. Bull RJ, Robinson M, Meier JR, Stober J: *Use of biological assay systems to assess the relative carcinogenic hazards of disinfection by-products*. J Environ Health Perspect 1982;46:215–227

19. Bundesgesetzgebung: *Trinkwasserverordnung (TrinkwV – Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch)*. BGBl I 2001;(Nr. 24):959–980 (in der aktuellen Fassung – zuletzt geändert am 31.10.2006)
20. Bundesgesundheitsamt: *Umwelthygienische Argumente gegen übermäßigen Arzneimittelgebrauch – BGA für Umweltverträglichkeitsprüfung bei Arzneimitteln*. Presseerklärung 18/1994 des damaligen Bundesgesundheitsamtes (BGA, 30.03.1994)
21. Bundesministerium für Gesundheit: *Liste der Aufbereitungsstoffe und Desinfektionsverfahren gemäß § 11 Trinkwasserverordnung*. Bundesgesundheitsblatt 10/2002; (45):827–845 (in der aktuellen Fassung – zuletzt geändert 8/2007)
22. Calamari D, Zuccato E, Castiglioni S, Bagnati R, Fanelli R: *Strategic of Therapeutic Drugs in the Rivers Po and Lambro in Northern Italy*. Environ Sci Technol 2003;37:1241–1248
23. Carballa M, Omil F, Lema JM: *Removal of cosmetic ingredients and pharmaceuticals in sewage primary treatment*. Water Res 2005;39:4790–4796
24. Castiglioni S, Bagnati R, Fanelli R, Pomati F, Calamari D, Zuccato E: *Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy*. Environ Sci Technol 2006;40:357–363
25. Christensen FM: *Pharmaceuticals in the environment – a human risk?* Reg Tox Pharm 1998;28:212–221
26. Cognet L, Courtois Y, Mallevialle J: *Mutagenic activity of disinfection by-products*. Environ Health Perspect 1986;69:165–175
27. Cooney CM: *No human risks with pharmaceuticals in water*. Environ Sci Technol 2005;39:397A
28. Criegee R: *Die Ozonolyse*. Chemie in unserer Zeit 1973;7(3):75–81
29. DeMarini DM, Landi S, Ohe T, Shaughnessy DT, Franzen R, Richard AM: *Mutation spectra in Salmonella of analogues of MX: implications of chemical structure for mutational mechanisms*. Mutat Res 2000;453:51–65
30. DFG: *Wasserforschung im Spannungsfeld zwischen Gegenwartsbewältigung und Zukunftssicherung*. Denkschrift der Deutschen Forschungsgemeinschaft 2003. WILEY-VCHS, S. 34, 44, 50
31. Dieter HH, Mückter H: *Regulatorische, gesundheitliche und ästhetische Bewertung sogenannter Spurenstoffe im Trinkwasser unter besonderer Berücksichtigung von Arzneimitteln*. Bundesgesundheitsblatt 3/2007;(50):322–331
32. DIN 38408-3 (11/1993): *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Gasförmige Bestandteile (Gruppe G); Bestimmung von Ozon (G 3). Absatz 4.10.*
33. DIN 38415-3 (12/1996): *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung – Suborganismische Testverfahren (Gruppe T) – Teil 3: Bestimmung des erbgutverändernden Potentials von Wasser mit dem umu-Test (T 3)*
34. DIN 38415-4 (12/1999): *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung – Suborganismische Testverfahren (Gruppe T) – Teil 4: Bestimmung des erbgutverändernden Potentials mit dem Salmonella-Mikrosomen-Test (Ames Test) (T 4)*
35. DIN EN ISO 8192 (05/2007): *Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der Hemmung des Sauerstoffverbrauchs von Belebtschlamm nach Kohlenstoff- und Ammonium-Oxidation*
36. DIN EN ISO 9888 (11/1999) *Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der aeroben biologischen Abbaubarkeit organischer Stoffe im wäßrigen Medium – Statischer Test (Zahn-Wellens-Test)*
37. Dowideit P, von Sonntag C: *Reaction of Ozone with Ethene and Ist Methyl- and Chlorine-Substituted Derivatives in Aqueous Solution*. Environ Sci Techn 1998; 32:1112–1119
38. DVGW (Mai 2002): *Ozon in der Wasseraufbereitung – Begriffe, Reaktionen, Anwendungsmöglichkeiten*. Technische Regel – Merkblatt W 225
39. Echigo S, Itoh S, Natsui T, Araki T, Ando R: *Contribution of brominated organic disinfection by-products to the mutagenicity of drinking water*. Water Sci Technol 2004; 50:321–328
40. Elovitz MS, von Gunten U, Kaiser HP: *Hydroxyl Radical/Ozone Ratios During Ozonation Prozesses. II. The Effect of Temperature, pH, Alkalinity, and DOM Properties*. Ozone Sci Eng 2000;22:123–150

41. Elovitz MS, von Gunten U: *Hydroxyl Radical/Ozone Ratios During Ozonation Processes. I. The $R_{ct}$ Concept*. Ozone Sci Eng 1999;21:239–260
42. EMEA: *Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use*. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) of the European Medicines Agency 2006, Doc.Ref. EMEA/CHMP/SWP/4447/00: 1–12 www.emea.europa.eu/pdfs/human/swp/444700en.pdf
43. Erdinger E, Dürr M, Grummt T: *Der Ames-Test zur Untersuchung von Oberflächenwasser*. In: Forschungsverbundvorhaben "Erprobung, Vergleich, Weiterentwicklung und Beurteilung von Gentoxizitätstests für Oberflächenwasser". Abschlussbericht BMBF-Projekt 1999, Hrsg.: Forschungszentrum Karlsruhe, Projektträger Wassertechnologie und Entsorgung (PtWT+E9), Dresden
44. Eriksson L, Jaworska JS, Worth AP, Cronin MTD, McDowell RM, Gramatica P: *Methods for reliability, uncertainty assessment, and applicability evaluations of classification and regression based QSARs*. Environ Health Persp 2003;22:1361–1375
45. Europäische Gesetzgebung: *Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Dezember 2006 zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), zur Schaffung einer Europäischen Agentur für chemische Stoffe, zur Änderung der Richtlinie 1999/45/EG und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 793/93 des Rates, der Verordnung (EG) Nr. 1488/94 der Kommission, der Richtlinie 76/769/EWG des Rates sowie der Richtlinien 91/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/EG und 2000/21/EG der Kommission*. Amtsblatt der Europäischen Union 2006;L396:1–851
46. Fasani E, Profumo A, Albini A: *Structure and medium-dependent photodecomposition of fluoroquinolone antibiotics*. Photochem Photobiol 1998;68:666–674
47. Gartiser S, Urich E, Alexy R, Kümmerer K: *Ultimate biodegradation and elimination of antibiotics in inherent tests*. Chemosphere 2007;67(3):604–613
48. Gerding V, Schwartz S, Trapp S, Matthies M: *Validierung von Umweltexpositionsmodellen und in Modellen verwendeten Parametern*. Erich Schmidt Verlag, Berlin 2000
49. Grung M, Heimstad ES, Moe M, Schlabach M, Svenson A, Thomas K, Woldegiorgis A: *Human and veterinary pharmaceuticals, narcotics, and personal care products in the environment. Current state of knowledge and monitoring requirements*. Report for the Norwegian Pollution Control Authority 2008;TA-2325/2007:1–96 www.sft.no/publikasjoner/2325/ta2325.pdf
50. Haderlein SB, Hofstetter TB, Schwarzenbach RP: *Subsurface chemistry of nitroaromatic compounds*. In: Spain JC, Huighes JB, Knackmuss HJ (Eds.) Biodegradation of Nitroaromatic Compounds and Explosives. CRC Press 2000, Boca Raton, FL, USA
51. Haiß A, Kümmerer K: *Biodegradability of the x-ray contrast compound amidotrizoic acid. Identification of aerobic degradation products and effects against sewage sludge microorganisms*. Chemosphere 2006;62:294–302
52. Halling-Sørensen B, Nießen N, Lanzky PF, Ingerslev F, Holten-Lutzhøft HC, Jørgensen SE: *Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – a review*. Chemosphere 1998;36:357–393
53. Halling-Sørensen B: *Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming*. Chemosphere 2000;40:731–739
54. Hanisch B, Abbas B, Kratz W: *Ökotoxikologische Bewertung von Humanarzneimitteln in aquatischen Ökosystemen*. Landesumweltamt Brandenburg (LUA), Studien und Tagungsberichte 2002;Band 39:1–184
55. Heberer T, Stan HJ: *Arzneimittelrückstände im aquatischen System*. Wasser und Boden 1998;50:20–25
56. Heberer Th: *Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: A review of recent research data*. Toxicol Lett 2002;131:5–17
57. Henninger A, Kümmerer K: *Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent*. Clin Microbiol Infec 2003;9:1203–1214
58. Huber MM, Korhonen S, Ternes TA, von Gunten U: *Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide*. Water Res 2005;39(15):3607–3617
59. Huber MM, Ternes TA, von Gunten U: *Removal of estrogenic activity and formation of oxidation products during ozonation of 17alpha-ethinylestradiol*. Environ Sci Technol 2004;39(19):5177–5186

60. IARC: *Some Drinking-water Disinfectants and Contaminants, including Arsenic*. World Health Organization – International Agency for Research on Cancer. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2004;84:1–512
61. Junker T, Alexy R, Knacker T, Kümmerer K: *Biodegradability of C-14-labeled antibiotics in a modified laboratory scale sewage treatment plant at environmentally relevant concentrations*. Environ Sci Technol 2006;40:318–326
62. Kargalioglu Y, McMillan BJ, Minear RA, Plewa MJ: *Analysis of the cytotoxicity and mutagenicity of drinking water disinfection by-products in Salmonella typhimurium*. Teratog Carcinog Mutagen 2002;22:113–128
63. Kirschner MJ, Hill M: in *Ullmann Ozone*. Wiley-VCH Verlag 2005, Weinheim
64. Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman EM, Zaugg SD, Barber LB, Buxton HT: *Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: A national reconnaissance*. Environ Sci Technol 2002;36:1202–1211
65. Kommission der Europäischen Gemeinschaften: *Weissbuch 2001. Strategie für eine zukünftige Chemikalienpolitik*. 1–36 (S. 16, Weitere Forschungsprioritäten) http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=COM:2001:0088:FIN:DE:PDF
66. Kümmerer K (Ed.): *Pharmaceuticals in the Environment. Sources, Fate, Effects and Risks*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 2008 (3rd Ed.)
67. Kümmerer K, Schuster A, Haiss A, Günther A, Jacobs J, Mohring S, Hamscher G, Simon D: *Umweltrisikobewertung von Zytostatika*. Literaturstudie und Gutachten im Auftrag des Umweltbundesamtes (FKZ 360 14 004) 2008 (unveröffentlicht):1–263
68. Kümmerer K, Steger-Hartmann T, Baranyai A, Bürhaus I: *Prüfung des biologischen Abbaus der Zytostatika Cyclophosphamid und Ifosfamid mit dem Closed-Bottle-Test (OECD 301 D)*. Zbl Hyg 1996;198:215–225
69. Kummrow F, Rech CM, Coimbrao CA, Roubicek DA, Umbuzeiro A: *Comparison of the mutagenic activity of XAD4 and blue rayon extracts of surface water and related drinking water samples*. Mutat Res 2003;541:103–113
70. Kurokawa Y, Maewaka Y, Takahashi M, Hayashi Y: *Toxicity and carcinogenity of potassium bromate – a new renal carcinogen*. Environ Health Perspect 1990;87:309–335
71. Längin A, Alexy R, König A, Kümmerer K: *Deactivation and transformation products in biodegradability testing of β-lactams amoxicillin and piperacillin*. Chemosphere 2009 (Artikel im Druck)
72. Längin A, Schuster A, Kümmerer K: *Chemicals in the Environment – the Need for a Clear Nomenclature: Parent Compounds, Metabolites, Transformation Products and Their Elimination*. Clean 2008;36(4):349–350
73. Maier D, Gilbert E, Kurzmann GE in: *Wasserozonung in der Praxis*. R. Oldenburg Verlag GmbH, München 1993:68–71
74. Maier D, Gilbert E, Kurzmann GE: *Wasserozonung in der Praxis*. Hrsg.: DVGW Deutsche Vereinigung des Gas- und Wasserfaches e.V., Kommissionsverlag R. Oldenbourg München, Wien 1993
75. Matsuda H, Ose Y, Nagase H, Sato T, Kito H, Sumida K: *Mutagenicity of the components of substance ozonated humic substance*. Sci Total Environ 1991;103:19–140
76. Matsushita T, Matsui Y, Inoue T, Taniwaki S, Inoue T: *Changes in mutagenicity during biodegradation of fenitrothion*. Chemosphere 2002;47:9–14
77. Matsushita T, Matsui Y, Matsui Y: *Estimating mutagenic compounds generated during photolysis of fenitrothion—by HPLC fractionation followed by mutagenicity testing and high-resolution GC-MS analysis*. Chemosphere 2006;64:122–151
78. Matsushita T, Matsui Y, Saeki R, Inoue T: *Mutagenicity of anaerobic fenitrothion metabolites after aerobic biodegradation*. Chemosphere 2005;61:1134–1141
79. McDowell DC, Huber MM, Wagner M, von Gunten U, Ternes TA: *Ozonation of carbamazepine in drinking water: identification and kinetic study of major oxidation products*. Environ Sci Technol 2005;39(20):8014–8022
80. Meyer P, Hirsch R, Reifferscheid G, Haberer K: *Entwicklung eines gemeinsamen Probenaufbereitungsverfahrens für die nachfolgende Bestimmung von organischen Wasserinhaltsstoffen und der Gentoxizität von gechlorten Wässern*. Vom Wasser 1996;86:305–320

81. Nakano K, Suyama K, Fukazawa H, Uchida M, Wakabayashi K, Shiozawa T, Terao Y: *Chlorination of harman and norharman with sodium hypochlorite and co-mutagenicity of the chlorinated products*. Mutat Res 2000;470:141–146
82. Nyholm N: *The European system of standarized legal tests for assessing the biodegradability of chemicals*. Environ Toxicol Chem 1991;10:1237–1246
83. OECD 1992a: *TG OECD 301B, Ready Biodegradability – $CO_2$ Evolution Test*. Organisation of Economic Cooperation and Development: Guidelines for Testing Chemicals: Ready Biodegradability Tests – revision, Paris
84. OECD 1992b: *TG OECD 301C, Ready Biodegradability – Modified MITI Test (I)*. Organisation of Economic Cooperation and Development: Guidelines for Testing Chemicals: Ready Biodegradability Tests – revision, Paris
85. OECD 1992c: *TG OECD 301D, Ready Biodegradability – Closed-Bottle-Test*. Organisation of Economic Cooperation and Development: Guidelines for Testing Chemicals: Ready Biodegradability Tests – revision, Paris
86. OECD 1992d: *TG OECD 302B, Inherent Biodegradability – Zahn-Wellens/EMPA test*. Organisation of Economic Cooperation and Development: Guidelines for Testing Chemicals: Inherent Biodegradability Tests – Paris
87. OECD 1992e: *TG OECD 301F, Ready Biodegradability – Manometric Respirometry test*. Organisation of Economic Cooperation and Development: Guidelines for Testing Chemicals: Ready Biodegradability Tests – revision, Paris
88. OECD 1997: *TG OECD 471, Bacterial Reverse Mutation Test*. Organisation of Economic Cooperation and Development: Guidelines for Testing Chemicals – Paris
89. Ohe T, Watanabe T, Wakabayashi K: *Mutagens in surface waters: a review*. Mutat Res 2004;567:109–149
90. Onodera S, Igarashi K, Fukuda A, Ouchi J, Suzuki S: *Mutagenic potentials of anthracene and phenanthrene compounds during water disinfection with chlorine*. Jpn J Toxicol Environ Health 1994;40(3):233–243
91. OSPAR: *Survey on genotoxicity test methods for the evaluation of wastewater within whole effluent assessment*. OSPAR Commission, protecting and conserving the North-East Atlantic and its resources 2002;OSPAR Hazardous Substances Series No. 156:1–42 www.ospar.org/v_publications/download.asp?v1=p00156
92. Ozonek J, Fijalkowki S, Czerwinski J: *Thermodynamic Aspects of Equilibrium Ozone Generation*. Plasma Process Polym 2007;4:701–709
93. Pagga U, Strotmann U: *Bakterientoxizität – standardisierte Testmethoden und Erfahrungen*. Gwf Wasser Abwasser 1997;140:827–835
94. Quintana JB, Weiss S, Reemtsma T: *Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a rnembrane bioreactor*. Water Res 2005;39:2654–2664
95. Rathner M, Sonneborn M: *Biologisch wirksame Östrogene in Trink- und Abwasser*. Forum Städte-Hygiene 1979;30 (Sonderheft März 1979):45–49
96. Reincke H, Wiegel S, Harms H, Stachel B, Brockmeyer R, Schmidt R, Aulinger A, Tümpling W: *Arzneistoffe in Elbe und Saale*. Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe, ARGE Elbe 2003;1–173
97. Richardson ML, Bowron JM: *The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment*. J Pharm Pharmacol 1985;37:1–12
98. Rieger PG, Meier HM, Gerle M, Vogt U, Groth T, Knackmuss HJ: *Xenobiotics in the environment: present and future strategies to obviate the problem of biological persistence*. J Biotechnol 2002;94:101–123
99. Rischbieter E: *Ozonierung von Alkenen in Alkoholen als Lösungsmitteln*. Dissertation an der Universität Braunschweig 2006, S. 6
100. Römbke J, Knacker T, Stahlschmidt-Allner P: *Umweltprobleme durch Arzneimittel*. (1996) Forschungsbericht (FKZ) 106 04 121 des Umweltbundesamtes 1996; UBA-FB 96-060, ISSN 0722-18
101. Sacher F, Brauch HJ: *Bewertung organischer Einzelstoffe im Hinblick auf ihr Verhalten bei der Wasseraufbereitung*. Schriftenreihe des DVGW-Technologiezentrums Wasser (TZW), Band 8 1999;Aktuelle Themen zur Trinkwasseraufbereitung und -verteilung:111–127

102. Sacher F, Gabriel S, Metzinger M, Stretz A, Wenz M, Lange FT, Brauch HJ, Blankenhorn I: *Arzneimittelwirkstoffe im Grundwasser. Ergebnisse eines Monitoring-Programms in Baden-Württemberg*. Vom Wasser 2002;99:183–195

103. Sacher F, Karrenbrock F, Knepper TP, Lindner K: *Untersuchung der Adsorbierbarkeit von organischen Einzelstoffen als ein Kriterium ihrer Trinkwasserrelevanz*. Vom Wasser 2001;96:173–192

104. Sacher F, Matschi A, Brauch HJ: *Analysis and occurrence of bromate in raw water and drinking water.* Acta Hydrochim Hydrobiol 1995;23:26–30

105. Sacher F, Stoks PG: *Pharmaceutical residues in waters in the Netherlands*. Bericht der RIWA 2003(Vereniging van Rivierwaterbedrijven), Nieuwegein 2003:1–23

106. Schmidt CK, Brauch HJ: *N,N-Dimethylsufamide as Precursor for N-Nitrosodimethylamine (NDMA) Formation upon Ozonation and its Fate During Drinking Water Treatment*. Environ Sci Technol 2008;42:6340–6346

107. Schmidt CK, Lange FT: *Ermittlung der potentiellen Reinigungsleistung der Uferfiltration/Untergrundpassage hinsichtlich der Eliminierung organischer Schadstoffe unter standortspezifischen Randbedingungen. Abschlussbericht 2006; Teilprojekt B6 im BMBF-Forschungsverbund "Exportorientierte F&E auf dem Gebiet der Wasserver- und -entsorgung. Teil I: Trinkwasser"*

108. Schmidt W: *Unerwünschte Stoffreaktionen bei der Wasseraufbereitung und Wasserverteilung.* Kapitel 11 im Tagungsband zur DVGW-Intensivschulung ‚Kurs 5, Wasserchemie“ 2007

109. Schowanek D, Webb S: *Examples of exposure simulation for pharmaceuticals in river basins with GREAT-ER 1.0 systems*. Royal Belgian Society of Engineers, International Seminar Day 09.03.2000, Brussels

110. Schrap SM, Rijs GBJ, Beek MA, Maaskant JFN, Staeb J, Stroomberg G, Tiesnitsch J: *Humane en veterinaire geneesmiddelen in Nederlands oppervlaktewater en afvalwater*. RIZA rapport 2003.023, Lelystad 2003:1–86

111. Schuster A, Hädrich C, Kümmerer K: *Flows of Active Pharmaceutical Ingredients Caused by Health Care on a Local, Regional, and Nationwide Level in Germany – Is Hospital Effluent Treatment an Effective Approach for Risk Reduction?* Water, Air, & Soil Pollution: Focus 2008;8(5–6):457–471

112. Schwab BW, Hayes EP, Fiori JM, Mastrocco FJ, Roden NM, Cragin D, Meyerhoff RD, D'Aco VJ, Anderson PD: *Human pharmaceuticals in US surface waters: a human health risk assessment*. Regul Toxicol Pharmacol 2005;42:296–312

113. Schwabe U, Paffrath (Hrsg.): *Arzneiverordnungs-Report 2006*. Springer Medizin Verlag Heidelberg 2007:1–1141. ISBN-10 3-540-34369-5

114. Sedykh A, Saiakhov R, Klopman G: *META V. A model of photo degradation for prediction of photoproducts of chemicals under natural like conditions*. Chemosphere 2001;45:971–981

115. Sengl M: *Chemikalien in der Umwelt - Medium Wasser. Antibiotika und andere Arzneistoffe*. Bayerisches Landesamt für Umwelt 2008;Fachtagungsbericht:12–17

116. Sontheimer H, Frick BR, Fettig J, Hörner G, Hubele C, Zimmer G: *Adsorptionsverfahren zur Wasserreinigung*. DVGW-Forschungsstelle am Engler-Bunte-Institut der Universität Karlsruhe (TH) 1985:120–139 (ISBN 392267111X)

117. Stan HJ, Heberer Th, Linkenhägner M. (1994): *Vorkommen von Clofibrinsäure im aquatischen System – Führt die therapeutische Anwendung zu einer Belastung von Oberflächen-, Grund- und Trinkwasser?* Vom Wasser 1994;83:57–68

118. Stan HJ, Linkenhägner M: *Identifizierung von 2-(4-Chlorphenoxy)-2-methylpropionsäure im Grundwasser mittels Kapillar-Gaschromatographie mit Atomemissionsdetektion und Massenspektrometrie*. Vom Wasser 1992;79:75–88

119. Sujbert L, Rácz G, Szende B, Schröder HC, Müller WEG, Török G: *Genotoxic potential of by-products in drinking water in relation to water disinfection: Survey of pre-ozonated and post-chlorinated drinking water by Ames-test*. Toxicology 2006;219:106–112

120. Tauxe-Wuersch A, De Alencastro LF, Grandjean D, Tarradellas J: *Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment*. Water Res 2005;39:1761–1772

121. Ternes TA: *Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers*. Water Res 1998;32:3245–3260

122. Thiele-Brun S: *Pharmaceutical antibiotic compounds in soils – a review*. J Plant Nutr Soil Sci 2003;166:145–167
123. Trautwein C, Kümmerer K, Metzger JW: *Aerobic biodegradability of the calcium channel antagonist verapamil and identification of a microbial dead-end transformation product studied by LC-MS/MS*. Chemosphere 2008;72(3):442–450
124. TZW-Schriftenreihe: *Desinfektionsverfahren in der Trinkwasseraufbereitung unter besonderer Berücksichtigung der UV-Desinfektion*. 12. TZW Kolloquium Dezember 2007
125. UBA 2003a (Hrsg.): *Eintrag von Antibiotika in die aquatische Umwelt – Prüfung der biologischen Abbaubarkeit ausgewählter Antibiotika, ihr Vorkommen im Abwasser und ihr möglicher Einfluss auf die Reinigungsleistung kommunaler Kläranlagen – Identifizierung von Risikofeldern*. Institut für Umweltmedizin und Krankenhaushygiene im Auftrag des Umweltbundesamt Berlin (FKZ 298 63 722)
126. UBA 2003b (Hrsg.): *Mengenermittlung und Systematisierung von Arzneimittelwirkstoffen im Rahmen der Umweltprüfung von Human- und Tierarzneimitteln gemäß § 28 AMG*. Umweltbundesamt Berlin, 2003 (FKZ 200 67 401)
127. UBA 2003c (Hrsg.): *Verhalten von Pharmaka und Metaboliten in Umwelttestsystemen, Teil 1: Wasser*. Umweltbundesamt Berlin, 2003 (FKZ 299 67 401/1)
128. UBA 2003d: *Bewertung der Anwesenheit teil- oder nicht bewertbarer Stoffe im Trinkwasser aus gesundheitlicher Sicht. Empfehlung des Umweltbundesamtes nach Anhörung der Trinkwasserkommission beim Umweltbundesamt*. Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 2003;46:249–251
129. UBA 2005 (Hrsg.): *Arzneimittel in der Umwelt – Zu Risiken und Nebenwirkungen fragen Sie das Umweltbundesamt*. UBA-Text 29/05:1–265. ISSN 0722-186X www.umweltdaten.de/publikationen/fpdf-l/2976.pdf
130. von Gunten U, Honigné J: *Bromate Formation during Ozonation of Bromide-Containing Waters: Ineraction of Ozone and Hydroxyl Radical Reactions*. Environ Sci Technol 1994;28:1234–1242
131. von Gunten U: *Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation*. Water Res 2003;37:1443–1467
132. von Gunten U: *Ozonation of drinking water: Part II. Disinfection and By-product formation in presence of bromide, iodide and chlorine*. Water Res 2003;37:1469–1487
133. von Gunten U: *The basic of oxidants in water treatment. Part B: ozone reactions*. Water Sci Techn 2007;55(12):25–29
134. Wagner R, Fischer WK, Fleming HC, Gerike P, Lingens F, Müller D, Reinarth G, Robra KH, Schlimme E, Steber J, Trenel J, Wilderer P, Wunderlich M: *Methoden zur Prüfung der biochemischen Abbaubarkeit chemischer Substanzen*. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1988
135. Weinberg HS, Krasner SW, Richardson SD, Thruston AD: *The Occurrence of Disinfection By-Products (DBPs) of Health Concern in Drinking Water: Results of a Nationwide DBP Occurrence Study*. EPA/600/R-02/068 September 2002 www.epa.gov/athens/publications/ reports/EPA_600_R02_068.pdf
136. Weiß K, Schüssler W, Porzelt M: *Quantifizierung von Sulfadimidin im Sickerwasser nach Beregnung gedüngter Flächen*. Vom Wasser 2006;2:12–16
137. WTW: *BSB-Fibel*. Wissenschaftlich-Technische Werkstätten (WTW) 1996, Weilheim

# Anhang

# Ergänzende Ausführungen zu Methoden

## Erstellung der Stoffdossiers

Zur Erstellung der Stoffdossiers führten wir Literaturrecherchen mit Hilfe folgender Quellen durch:

- Lehrbücher
- Fachkompendien, auch online, z.B. ÖKK (Öffentliche Krankenkasse: *Open Drug Data Base*), AFHS (*American Hospital Formulary Service*), IVT (Institut für Veterinärpharmakologie und -toxikologie: Tierarzneimittelkompendium)

und für die Metaboliten zusätzlich

- die Literatur- und Faktendatenbanken der U.S. National Library of Medicine: HSDB (*Hazardous Substances Data Bank*), PubMed und Toxline (*Toxicology Literature Online*)
- über Internetrecherchen zugängliche Zeitschriftenartikel sowie "graue Literatur" (z.B. Behördenberichte, Dissertationen)

Aus diesen Quellen stellten wir Informationen zur Muttersubstanz sowie den im Säuger entstehenden Metaboliten zusammen: Identifikation der Metaboliten mittels CAS-Nr. (soweit möglich), Charakterisierung der Muttersubstanz und ihrer Metaboliten hinsichtlich pharmakologischer Wirksamkeit und toxischer Eigenschaften, in beschränktem Umfang auch eine Angabe der Daten zu Umweltvorkommen. Nachdem der Fokus dieses Projektes auf der Identifizierung und Charakterisierung von Metaboliten lag, haben wir die Wirkungen der Muttersubstanzen nicht umfassend, sondern nur ganz knapp berichtet (aus Übersichtsarbeiten, ohne vollständige Darstellung aller vorliegender Daten).

## QSAR

Mittels QSAR wurde die anhand der Bilanzierung getroffene erste Stoffauswahl (Wirkstoffe und Metabolite) weiter eingeengt. Hierbei wurden sowohl Umwelteigenschaften (Abbaubarkeit, erwartete Umweltmobilität gemäß $\log K_{OW}$) als auch Toxizitätsparameter (Gentoxizität) modelliert.

Zu beachten ist, dass die verwendeten Programme nur das zweidimensionale Molekülgerüst aus dem Smilescode berücksichtigen. Die eventuelle Chiralität von Verbindungen wird dabei grundsätzlich nicht berücksichtigt.

### Berechnung des $\log K_{OW}$

Zur Berechnung des $\log K_{OW}$ wurden 2 Programme herangezogen:

***EPI Suite*** (Version 3.20), welches von der Environmental Protection Agency (EPA) und der Syracuse Research Corporation (SRC) entwickelt wurde sowie ***Multicase*** von der Firma MultiCASE Inc. (Cleveland, USA, CASE für *Computer Automated Structure Evaluation*). Beide Ansätze unterscheiden sich ganz wesentlich. *EPI Suite*

generiert Vorhersagen aufgrund der in einem zu berechnenden Molekül vorhandenen, vorher festgelegten Teilstrukturen, die aus einem Lerndatensatz durch lineare und gegebenenfalls multiple Regression einmalig abgeleitet und fest in die Software integriert wurden. Im Gegensatz dazu werden bei *Multicase* die Teilstrukturen, die von Interesse sind, über ein aufwändiges statistisches Verfahren (genetische Algorithmen) generiert. Bei *Multicase* kann der Nutzer bei genügender Sachkenntnis und Erfahrung ein Modul auch erweitern und selbst neu validieren, was bei *EPI Suite* nicht möglich ist.

Bei einem Treffer in der Datenbank von *EPI Suite* gibt das Programm ggf. auch experimentell bestimmte und in der Datenbank hinterlegte Werte aus. In diesem Fall wurde der experimentelle Wert dem berechneten in jedem Fall vorgezogen. Lag kein experimenteller Wert vor, so wurde aus den zwei vorhergesagten Werten das arithmetische Mittel bestimmt.

### Berechnung der biologischen, aeroben Abbaubarkeit

Zur Berechnung der biologischen, aeroben Abbaubarkeit wurden 3 verschiedene Programme herangezogen:

***EPI Suite*** (Version 3.20), welches von der Environmental Protection Agency (EPA) und der Syracuse Research Corporation (SRC) entwickelt wurde, mit dem Programmteil BioWin und seinen 6 verschiedenen aeroben Abbaumodellen, ***Multicase*** (Modul zur aeroben, leichten biologischen Abbaubarkeit nach dem modifizierten MITI I-Test, d.h. OECD 301C [84]) sowie ***Leadscope*** (Version 2.4.15-6) – ein selbst erstelltes Modell mit MITI-Daten.

Da alle Modelle unterschiedliche Bewertungs-Skalen verwenden, wurden alle Skalen auf 0 bis 1 umgerechnet und nach folgendem Schema, durch Berechnung von (x), zusammengefasst:

$$x = \frac{a + b + (c/4{,}75) + (d/4{,}75) + e + f + (6 \cdot (g/100)) + (6 \cdot (h/100))}{n_1 + 6 \cdot n_2 + 6 \cdot n_3}$$

(jede Software, wenn Sie einen Wert liefert, bekam dabei die gleiche Wichtung)

### Software: EPI Suite

a = BIOWIN1 (Linear Model) Probability
b = BIOWIN2 (Non-Linear Model) Probability
c = BIOWIN3 und BIOWIN4 numerical output
d = BIOWIN5 (Linear MITI Model) Probability
e = BIOWIN6 (Non-Linear MITI Model) Probability
$n_1$ = Anzahl Ergebnisse aus BIOWIN1, 2, 3, 4, 5 und 6

Die Modelle BIOWIN3 und 4 liefern Originalwerte, wobei Ergebnisse <1,75 als "abbauresistent" gewertet werden und Ergebnisse >4,75 lassen einen Abbau innerhalb von Stunden erwarten. Die für die ausgewählten Substanzen von BIOWIN3 und 4 kalkulierten Ergebnisse liegen zwischen 1,34 und 4,42.

Probability-Werte sollten mathematisch gesehen zwischen 0 und 1 liegen. Biowin1 liefert jedoch Werte bis 1,4 und Biowin5 liefert Werte ab −0,43.

**Multicase**
f="*The projected ready biodeg activity*". Dieses Modell liefert bei den getesteten Substanzen Werte von 0,16–91,8. $n_2$ = Anzahl Ergebnisse aus Multicase

**Software: Leadscope**
g=Abbaubarkeit in %. Leadscope lieferte bei den getesteten Substanzen Werte von −23 %–74 %. $n_3$= Anzahl Ergebnisse aus Multicase.

# Abbautests

## Closed-Bottle-Test

### Herstellen des Mineralmediums

Für die Herstellung des Mineralmediums wurden gemäß Tab. 26 vier verschiedene Stammlösungen vorbereitet, aliquotiert und bis zum Gebrauch bei −70 °C gelagert. Für die Herstellung von Mineralmedium wurde von jeder Stammlösung 1 mL benötigt und auf 1 L mit Aqua dest. aufgefüllt.

Tab. 26: Zusammensetzung der Stammlösung des Mineralmediums für den CBT

| Bezeichnung der Lösung | Substanz | *Konzentration* in g/L |
|---|---|---|
| A | Kaliumdihydrogenphosphat | 8,50 |
| | Dikaliumhydrogenphosphat | 21,75 |
| | Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat | 33,40 |
| | Ammoniumchlorid | 0,50 |
| B | Calciumchlorid-Dihydrat | 36,40 |
| C | Magnesiumsulfat-Heptahydrat | 22,50 |
| D | Eisen(III)chlorid-Hexahydrat | 0,25 |

### Behandlung des Inokulums

Zur Beimpfung des Testansatzes wurde als Inokulum frisch gewonnener und filtrierter (S&S Papier-Faltenfilter 595 1/2) Ablauf einer kommunalen Kläranlage verwendet. Die ersten 200 mL des Filtrates wurden verworfen. Bis zum Gebrauch wurde das Inokulum belüftet. Das Inokulum sollte zwischen $10^1$ und $10^3$ KBE/mL beinhalten. Pro Liter Testansatz wurden zwei Tropfen Inokulum zugefügt.

### Ansatz der Testkulturen

Vor Testbeginn wurden die verwendeten 250 mL-Flaschen mit 10 % (*V*/*V*) ethanolischer HCl-Lösung gereinigt, anschließend zweimal mit VE-Wasser und einmal mit hochreinem Wasser (Millipore-Wasser) gespült und im Trockenschrank getrocknet. Am Vortag des Testbeginns erfolgte die Sauerstoffsättigung des VE-Wassers auf ungefähr 9 mg/L $O_2$ mit medizinischer Druckluft. Die belüfteten Kanister (2×28 L) wurden über Nacht bei 20 °C im Thermoschrank gelagert. In der Tab. 27 sind die Testansätze übersichtlich dargestellt.

Tab. 27: Übersicht der Testansätze im CBT

| Bezeichnung des Testansatzes | Zusammensetzung |
|---|---|
| Blindansatz | Medium + Inokulum |
| Referenz | Medium + Inokulum + Natriumacetat |
| Substanz | Medium + Inokulum + Testsubstanz |
| Toxizitätskontrolle | Medium + Inokulum + Testsubstanz + Natriumacetat |

Die Aktivität des Inokulums wird durch die Referenzkontrolle gezeigt. Zudem dient sie zusammen mit dem Testansatz als Vergleichsparameter zur Auswertung der Toxizitätskontrolle, mit der toxische Einflüsse der Testsubstanzen festgestellt werden können. Deren Aussagekraft wird jedoch insofern eingeschränkt, da nur Effekte auf solche Mikroorganismen erfasst werden, die in Gegenwart von Natriumacetat die Testsubstanz unter Sauerstoffverbrauch abbauen können [1].

Die eingesetzten Substanzkonzentrationen richteten sich nach dem *Theoretischen Sauerstoffbedarf* ThSB (5 mg $O_2$/L), der aufgrund der bekannten chemischen Zusammensetzung nach der Versuchsvorschrift OECD 301D berechnet wird. Für die Referenzkontrolle wurde jeweils 6,41 mg/L Natriumacetat (entspricht ca. 5 mg $O_2$/L ThSB) verwendet.

Die Testsubstanz wurde im Testansatz und in der Toxizitätskontrolle in der gleichen Konzentration eingesetzt. Die Ansätze erfolgten jeweils in 10 L-Polyethylenkanistern, aus denen anschließend das luftblasenfreie Abfüllen der Enghalsflaschen erfolgte. Nach dem Verschließen wurden die Flaschen im Dunkeln bei 20 °C im Thermoschrank inkubiert. Der Test wurde im Doppelansatz durchgeführt.

### Sauerstoff-, pH- und Temperaturmessung

Während der Versuchsdauer wurde an sechs Versuchstagen (Tag 0, 1, 7, 14, 21 und 28) von jedem Ansatz die Sauerstoffzehrung mittels einer Sauerstoffsonde in Parallelmessungen bestimmt. Messungen des pH-Wertes und der Temperatur wurden zur Qualitätssicherung ebenfalls durchgeführt.

Der Test kann gemäß der Testvorschrift als valide betrachtet werden, wenn…

- die Referenzsubstanz innerhalb von 14 Tagen mindestens zu 60 % abgebaut wird
- die Abbauwerte der Parallelansätze um weniger als 20 % differieren (im Plateau, am Testende oder am Ende des 10 (wahlweise 14)-Tage-Fensters, in dem mindestens 60 % der Testsubstanz abgebaut sind)
- die Referenzsubstanz in der Toxizitätskontrolle zu mehr als 25 % abgebaut wird (bei Werten unter 25 % gilt die Substanz als Inhibitor)
- die Konzentration an gelöstem Sauerstoff im Blindansatz insgesamt nicht mehr als um 1,5 mg/L abnimmt
- in den Testansätzen die Konzentration an gelöstem Sauerstoff nicht unter 0,5 mg/L fällt

**Berechnung der Ergebnisse**

Der Abbau einer Testsubstanz wird indirekt über die Sauerstoffzehrung (BSB) ermittelt, von der die Zehrung eines mitgeführten Blindansatzes, der nur aus Mineralmedium und Inokulum besteht, abzuziehen ist.

Formel zur Berechnung des Biologischen Sauerstoffbedarfs (BSB):

$$\text{BSB (in mg } O_2\text{/mg Testsubstanz)} = \frac{(O_2)_{T,n} - (O_2)_{B,n}}{(c_T)}$$

| | |
|---|---|
| BSB | gemessener biologischer Sauerstoffbedarf in mg $O_2$/mg Testsubstanz |
| ThSB | theoretischer Sauerstoffbedarf bzw. CSB in mg $O_2$/mg Testsubstanz |
| $(O_2)_{T,n}$ | Sauerstoffzehrung am Tag n im Ansatz mit Testsubstanz |
| $(O_2)_{B,n}$ | Sauerstoffzehrung am Tag n im Blindansatz |
| $(c_T)$ | Konzentration der Testsubstanz in mg/L |

Diese Differenz wird als prozentualer Anteil ThSB bzw. im Falle der Toxizitätskontrolle als ThSB des Gemisches aus beiden Komponenten als Abbauwert angegeben.

Formel zur Berechnung des Abbaus in Prozent:

$$\text{Abbau (in \%)} = \frac{\text{BSB}}{\text{ThSB}} \cdot 100$$

Als leicht biologisch abbaubar gilt eine Testsubstanz, wenn sie innerhalb eines 10-Tage-Fensters, das ab dem Zeitpunkt ihres 10 %igen Abbaus beginnt, zu mindestens 60 % abgebaut wird.

## OxiTop-Test (Manometrischer Respirationstest)

Der biologische Sauerstoffbedarf kann entweder wie beim CBT direkt über Sauerstoffmessungen oder auch indirekt über eine Messung des gebildeten Kohlendioxids bestimmt werden, denn bei der Atmung wird für ein aufgenommenes Molekül Sauerstoff ein Molekül Kohlendioxid abgegeben.

Der MRT bestimmt die abgegebene Kohlendioxidmenge anhand einer Druckmessung. Die Flaschen des *OxiTop-Control*-Systems sind über die Messköpfe fest verschlossen und enthalten ein genau definiertes Gasvolumen. Das bei Atmungsprozessen frei werdende Kohlendioxid wird in den Messköpfen über Natriumhydroxid abgefangen:

$$2\ NaOH + CO_{2\ (gasförmig)} \rightarrow Na_2CO_{3\ (fest)} + H_2O$$

Damit wird das gebildete Kohlendioxid aus der Gasphase entfernt und durch die Veratmung von Sauerstoff entsteht ein fortschreitender Unterdruck. Um den Austausch von Sauerstoff aus der Gasphase in die wässrige Phase zu beschleunigen

und um Sauerstoffmangel in der Messprobe zu unterbinden, wurden die Proben während der gesamten Messdauer kräftig durchmischt.

Für Messung des Unterdruckes muss auch die Temperaturabhängigkeit des Wasserdampfpartialdruckes und des Partialdruckes der trockenen Luft berücksichtigt werden. Bei einer Temperaturzunahme wird sich eine Probe ausdehnen und damit der Druck in der Gasphase ansteigen. Das Abkühlen einer Probe führt entsprechend zur Volumenabnahme und damit zu einem Unterdruck. Liegt die Messprobe beim Ansetzen allerdings in einem Temperaturbereich von 15 °C bis 21 °C, so werden in den Messköpfen durch eine automatisierte Anpassungsfunktion Temperaturvariabilitäten bei der Berechnung des BSB berücksichtigt.

Das Ansetzen des Nährmediums und die Herstellung des Inokulums entspricht der Vorgehensweise beim CBT (s.o.).

### Testansatz

Die Testdurchführung erfolgte in Anlehnung an die entsprechenden Vorschriften der OECD [87] und des DIN [35]. Für jede der untersuchten Substanzen wurde eine Doppelbestimmung und jeweils eine Toxizitäts- und Sterilkontrolle angesetzt (siehe Tab. 28). Zusätzlich wurden für jede Versuchs-Charge auch noch drei Blindwerte und drei Referenz-Ansätze hergestellt. Blindwerte, Referenzen und Toxizitätskontrollen übernehmen die gleichen Funktionen wie im CBT. Der Blindwert wird bei den Berechnungen des BSB von den BSB-Werten der Testansätze abgezogen. Idealerweise sollte er während der gesamten Versuchsdauer konstant bleiben. Die Qualitätskontrolle dient zur Überprüfung der Aktivität des Inokulums und die Toxizitätskontrolle erfasst mögliche toxische Einflüsse der Testsubstanz auf die Mikroorganismen. Die Sterilkontrolle dient zur Erfassung einer abiotischen Sauerstoffzehrung. Durch die Zugabe von Natriumazid wurden in diesem Ansatz Bakterien abgetötet, so dass ein bakterieller Abbau der Testsubstanz hier nicht zu erwarten ist.

Tab. 28: Übersicht der Testansätze im MRT

| Bezeichnung des Testansatzes | Zusammensetzung |
|---|---|
| Blindansatz | Medium + Inokulum |
| Referenz | Medium + Inokulum + Natriumacetat |
| Substanz | Medium + Inokulum + Testsubstanz |
| Sterilkontrolle | Medium + Inokulum + Testsubstanz + Natriumazid |
| Toxizitätskontrolle | Medium + Inokulum + Testsubstanz + Natriumacetat |

Die eingesetzten Substanzkonzentrationen richteten sich auch hier nach dem ThSB (30 mg/L), welcher für jede Verbindung berechnet werden kann (Berechnungsformel siehe [12], Anhang III). Pro Doppelansatz wurde eine Testkultur mit dem Gesamtvolumen von 1000 mL vorbereitet. Für die Toxizitäts- und Sterilkontrollen entsprach das Gesamtvolumen 500 mL, Blindwert sowie Qualitätskontrolle wurden mit einem Volumen von 1500 mL vorgelegt. Je nach Testansatz wurde die Stammlösung der Testsubstanz, Nährmedium A–D, Natriumazid, Natriumacetat, Inokulum und Wasser in variierenden Konzentrationen zugegeben (Tab. 29).

Jede Testflasche (500 mL) wurde mit Hilfe eines Überlaufkolbens mit einem Volumen von 432 mL befüllt, damit in jeder Flasche die Gasphase dasselbe, genau definierte Volumen erhält. Anschließend erfolgte die Zugabe eines Magnetrührstabes in die Flasche und die Zugabe von zwei Natriumhydroxid-Plätzchen in die Gummiköcher. Nach Einsetzen der Gummiköcher in die Flasche wurde der Messkopf aufgeschraubt, die Daten der Flaschen mittels Infrarotübertragung in den Controller eingelesen und anschließend sofort im Thermoschrank im Dunkeln bei (20±1)°C inkubiert. Des Weiteren wurden zu Beginn und am Ende der gesamten Messdauer aus jedem Ansatz Rückstellproben für eine spätere substanzspezifische Analytik sowie Proben für eine Bestimmung des gelösten organischen Kohlenstoffs entnommen. Zusätzlich erfolgte für jeden Ansatz noch die Aufzeichnung des pH-Wertes.

Tab. 29: Genaue Zusammensetzung der Testansätze im MRT

| Testansatz | Blindwert | Referenz | Substanz | Steril kontrolle | Toxizitäts-kontrolle |
|---|---|---|---|---|---|
| Menge der Testsubstanz | – | – | entsprechend 30 mg/L ThSB | | |
| Natriumacetat | – | – | – | – | entsprechend 30 mg/L ThSB |
| Konz. Natriumazid in g/L | – | – | – | 0,16 | – |
| Volumen Lsg. A in mL | 15 | 15 | 10 | 5 | 5 |
| Volumen Lsg. B–D in mL | 1,5 | 1,5 | 1 | 0,5 | 0,5 |
| Voumen Inokulum in mL | 120 | 120 | 80 | 40 | 40 |
| Wasser | auf Gesamtvolumen auffüllen | | | | |
| Gesamtvolumen in mL | 1500 | 1500 | 1000 | 500 | 500 |

### Druckmessung

Mit dem *OxiTop*-Control System erfolgte für jede Flasche eine automatisierte Druckmessung und anschließende BSB-Berechnung. Bei einer Gesamtmessdauer von 28 Tagen wurden für jede Flasche insgesamt 360 Messwerte aufgezeichnet.

### DOC-Messung

Am Versuchsbeginn (Tag 0) und am Tag 28 erfolgten DOC-Messungen zur Bestimmung des gelösten organischen Kohlenstoffs und anschließend die Berechnung der Kohlenstoffwiederfindungsrate.

### Berechnung des Abbaugrades

Der Abbau einer Testsubstanz wurde entsprechend der OECD-Vorschrift als prozentualer Anteil des biologischen Sauerstoffbedarfs (BSB) am theoretischen Sauerstoffbedarf (ThSB) ausgedrückt [12]. Für die Berechnung des Abbaugrades wurde der in jeder Flasche gemessene Unterdruck aber zunächst mit folgender Formel in den BSB-Wert umgerechnet [137]:

$$BSB = \frac{M(O_2)}{R \cdot T_m} \cdot \left( \frac{V_{ges} - V_{fl}}{V_{fl}} + \alpha \frac{T_m}{T_0} \right) \cdot \Delta p\,(O_2)$$

| | |
|---|---|
| M ($O_2$) | Molekulargewicht Sauerstoff (32 g/mol) |
| R | Allgemeine Gaskonstante (83,144 $L \cdot hPa \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$) |
| $T_0$ | *Temperatur* von 273,15 °K |
| $T_m$ | *Messtemperatur* von 293,15 °K |
| $V_{ges}$ | *Flaschenvolumen* in mL |
| $V_{fl}$ | *Probenvolumen* in mL |
| $\alpha$ | Bunsenscher Absorptionskoeffizient (0,03103) |
| $\Delta p$ ($O_2$) | *Differenz des Sauerstoffpartialdruckes* in hPa |

Diese Umrechnung erfolgte automatisiert, so dass die BSB-Werte für die einzelnen Flaschen sofort vorlagen. Der BSB für eine Testsubstanz errechnete sich dann aus diesen Werten, indem von der Sauerstoffzehrung in den Versuchsansätzen die Zehrung des Blindwertes abgezogen wurde [12].

Eine Testsubstanz gilt dann als leicht biologisch abbaubar, wenn sie nach Abbau der ersten 10 % innerhalb eines 10-Tage-Fensters und innerhalb von 28 Tagen nach Versuchsbeginn zu insgesamt mindestens 60 % abgebaut wird.

Der Test gilt als valide, wenn während der 28 Tage Testdauer:

- Natriumacetat in der Qualitätskontrolle innerhalb von 14 Tagen zu mindestens 60 % und in der Toxizitätskontrolle zu mindestens 25 % abgebaut wird
- die Abbauwerte der Testsubstanz in den Parallelansätzen im Plateau, am Testende oder am Ende des 10-Tage-Fensters um weniger als 20 % voneinander abweichen
- der Sauerstoffverbrauch im Blindansatz etwa 20–30 mg/L beträgt und 60 mg/L nicht übersteigt
- der pH-Wert im Schwankungsbereich zwischen 6 und 8,5 liegt

## Inhärente Abbaubarkeit / Mineralisierung

Zur parallelen Bestimmung der DOC-Elimination und der $CO_2$-Entwicklung koppelten wir den Zahn-Wellens-Test [86] mit dem $CO_2$-Entwicklungstest [83] (auch Sturmtest genannt). Die gegen die Atmosphäre verschlossenen Ansätze werden mit $CO_2$-freier Luft belüftet und das entstehende $CO_2$ in nachgeschalteten Absorberflaschen in NaOH absorbiert und nachfolgend als IC (*Inorganic Carbon*) quantifiziert.

Um die Luft $CO_2$-frei zu waschen, leiteten wir diese über eine Kolonne von drei in Reihe geschalteten und mit Natronkalk[31] (3 mm–5 mm, Fa. Roth 8652.1) gefüllten Gasfilterflaschen. Danach folgte eine Waschflasche mit NaOH (c = 0,1 mol/L) und eine mit deionisiertem Wasser. Anschließend wurde die $CO_2$-freie Luft nach einer Aufteilung in zwei Kanäle über je eine leere Gaswaschflasche zum Abtropfen des Kondenswassers geleitet und mit einem Luftrechen verbunden, von dem 22 Luftkanäle zu den 2000 mL Reaktoren führten. Jeder Ansatz bestand aus einer 2000 mL Gaswaschflasche (ohne Fritte) als Reaktor und einer nachgeschalteten 2000 mL

[31] Bezeichnung für eine Mischung aus NaOH und $Ca(OH)_2$

Absorberflasche mit NaOH (c = 0,2 mol/L) mit Fritte sowie einer weiteren 200 mL Absorberflasche, die den Zutritt von Raumluft in die Absorber verhindern soll. Der Belebtschlamm und das Verdünnungswasser wurden einen Tag vor Zugabe der Prüfsubstanzen in die Reaktoren gegeben und mit $CO_2$-freier Luft inkubiert.

Von jeder Testsubstanz wurden 2 Parallelansätze zu je 1 L mit einer Konzentration von 50 mg TOC/L untersucht. Angeimpft wurde mit Belebtschlamm einer Kläranlage, entsprechend 200 mg/L Trockensubstanz. Zum Nachweis der Schlammaktivität wurde als Referenz das leicht und vollständig biologisch abbaubare Diethylenglykol mitbestimmt. Da die Absorberflaschen ebenfalls mit 1 L NaOH gefüllt waren und jeweils gleiche Volumina aus Reaktor und Absorber entnommen wurden, entsprechen die IC-Messungen im Absorber unmittelbar dem mineralisierten Kohlenstoff. Das in der wässrigen Phase gelöste $CO_2$ wurde zu Beginn und am Ende des Versuches mittels IC-Bestimmung erfasst. Da der pH in den geschlossenen Reaktoren nur mit sehr großem Aufwand eingestellt werden kann, wurde in Anlehnung an DIN EN ISO 9888 [36] die 10fache Menge an Phosphatpuffer (Nährlösung A) zugegeben. Eine Kontrolle des pH-Wertes erfolgte mit den Proben für die DOC-Bestimmung.

Nach 3 Stunden und dann wöchentlich wurden je 10 mL (Standard) bis 15 mL Probe durch die seitlich angebrachten Septen aus dem Reaktor bzw. Absorber entnommen und der DOC (*Dissolved Organic Carbon*) bzw. IC (*Inorganic Carbon*) bestimmt. Zusätzlich wurden zu jedem Messzeitpunkt Proben von je 2 mL eingefroren, in denen am TZW die jeweilige Stoffkonzentration analytisch bestimmt wurde.

Die DOC- und IC-Bestimmungen erfolgten mittels eines TOC-Messgerätes (TOC-5000A, Shimadzu). Das Messprinzip beruht auf Verbrennung des organisch gebundenen Kohlenstoffs bei 680 °C mit Platinkatalysator (TOC) bzw. Ausstrippen des anorganischen Kohlenstoffs nach Ansäuerung mit Phosphorsäure (DIC) und nachfolgender Bestimmung des $CO_2$ im Sauerstoffstrom in einem non-dispersiven Infrarotgasanalysator (NDIR). Für die DOC-Bestimmung wurden die Proben filtriert (0,45 µm Porengröße, Weißrand FP 30/045 CA, Fa. Whatman Schleicher & Schuell, Dassel).

Tab. 30: Versuchsaufbau des Zahn-Wellens Tests mit $CO_2$-Erfassung

| | $CO_2$-Entwicklungs-Test | Zahn-Wellens-Test | Kombinationstest |
|---|---|---|---|
| Norm | OECD 301 B | OECD 302 B | |
| Testkategorie | leichte biologische Abbaubarkeit | inhärente biologische Abbaubarkeit | inhärente biologische Abbaubarkeit |
| Inokulum | Belebtschlamm 30 mg/L TS | Belebtschlamm 0,2 g/L–1 g/L TS | Belebtschlamm 0,2 g/L TS |
| Prüfkonzentration | 10–20 mg TOC/L | 50–400 mg DOC/L | 50 mg TOC/L |
| Gültigkeitskriterium Blindwerte | 40–70 mg $CO_2$/L in 28 d | keine Vorgaben | interne Forderung < 50 mg IC/L bzw. 183 mg $CO_2$/L in 28 d |
| Versuchszeit | 28 d | 28 d | 28 d |
| Messwerte | $CO_2$-Entwicklung | DOC-Elimination | $CO_2$-Entwicklung und DOC-Elimination |
| Aussagekraft in Bezug auf das Verhalten in Kläranlagen | Bestimmung der Endabbaubarkeit | Simulation des Verhaltens in Kläranlagen | Differenzierung von Endabbaubarkeit und Elimination |
| Methodische Einschränkungen | Verhältnismäßig geringe Inokulumdichte | Keine Unterscheidung von Bioabbau und Adsorption | Mögliche Hemmwirkung aufgrund höherer Konzentration |

| | $CO_2$-Entwicklungs-Test | Zahn-Wellens-Test | Kombinationstest |
|---|---|---|---|
| | | möglich. Evtl. Hemmwirkung bei höherer Konzentration | der Prüfsubstanz |

Das Verfahren haben wir, mit leichten Modifikationen, bereits im UBA-Vorhaben (FKZ 298 63 722) zur Abbaubarkeit von Antibiotika verwendet [47, 125].

Die DOC-Elimination $D_i$ zum Zeitpunkt t wird folgendermaßen berechnet:

$$D_i\,(\text{in }\%) = \left(1 - \frac{DOC_{\text{Testansatz (t)}} - DOC_{\text{Blindwertansatz (t)}}}{TOC_{\text{Testansatz }(t_0)}}\right) \cdot 100$$

Hierbei wird der Ausgangs-TOC (= $TOC_{Testansatz\ (t0)}$) aus dem TOC der Abwasserprobe und dem Verdünnungsverhältnis im Zahn-Wellens-Test berechnet.

Die Mineralisierung *Yi* zum Zeitpunkt t errechnet sich folgendermaßen:

$$Y_i\,(\text{in }\%) = \left(\frac{IC_{\text{Testabsorber (t)}} - IC_{\text{Blindwertabsorber (t)}}}{TOC_{\text{Testansatz }(t_0)}}\right) \cdot 100$$

Hierbei wird der mineralisierte Kohlenstoff aus der Differenz des anorganischen Kohlenstoffs in den Absorbern des Testansatzes und der Kontrollansätze (Mittelwert) berechnet und wiederum auf den eingesetzten Kohlenstoff (= $TOC_{\text{Testansatz }(t_0)}$) bezogen. Am letzten Tag bestimmten wir zudem der IC-Wert in den Reaktoren, um eventuell in der Wasserphase gelöstes $CO_2$ mit zu erfassen.

## Ozonbestimmungen

Zur Ermittlung der Ozon-Starkwasserkonzentration und zur Kontrolle der Ozonzehrung während der Ozonungs-Experimente ist die Gehaltsbestimmung des Ozons ein wichtiger experimenteller Parameter. Dazu kann die Eigenabsorption des Ozons bei 258 nm für eine photometrische Quantifizierung ausgenutzt werden, sofern keine anderen in diesem Spektralbereich absorbierenden Stoffe vorliegen. Weitgehend unabhängig von organischen Wasserinhaltsstoffen ist eine Methode der Ozonbestimmung, die auf der stöchiometrischen Reaktion mit dem Farbstoff Indigotrisulfonat beruht. Über die Höhe der Entfärbung erfolgt die photometrische Quantifizierung des Ozons. Für absolute Gehaltsbestimmungen und zur Überprüfung von photometrischen Ozon-Gasdetektoren eignet sich die Umsetzung von Ozon mit Iodid in neutraler Lösung. Das dabei gebildete Iod wird mit Thiosulfat titrimetrisch quantifiziert. Im Folgenden werden alle drei Verfahren beschrieben.

### Ozonbestimmung über die Absorptionsbande des Ozon-Moleküls

Das Ozonmolekül zeigt eine starke Absorptionsbande im Bereich um 258 nm, die zur Bestimmung genutzt werden kann (Abb. 44). Der molare Extinktionskoeffizient für Ozon beträgt $\varepsilon_{258\ nm}$ = 2950 L/(mol·cm) und ermöglicht die direkte Bestimmung der Ozonkonzentration im Wasser [32]. Für die Bestimmung in der Gasphase wird ein

Extinktionskoeffizient von $\varepsilon_{253,7\ nm}$ = 3024 L/(mol·cm) angegeben [73]. Die Wellenlänge des Extinktionskoeffizienten bei 254 nm entspricht einer Atomlinie des Quecksilbers und liegt noch auf dem Absorptionsmaximum des Ozons. Daher kann hier über einen einfachen photometrischen Aufbau die Ozonkonzentration im Gas oder in Wasser über den stofflich gegebenen Extinktionskoeffizienten bestimmt werden. Zur Bestimmung der Ozonkonzentration im Sauerstoffstrom vor und hinter der Blasensäule wird diese Art der Detektion genutzt (vgl. Abb. 10). Die Quantifizierung des Ozons in wässriger Lösung ist in gleicher Weise möglich, wobei beachtet werden muss, dass keine anderen in diesem Bereich absorbierenden Verbindungen (z.B. aus dem DOC) im Wasser vorliegen. Zur Kontrolle der Ozonkonzentration des Starkwassers kann dieses Verfahren aber uneingeschränkt verwendet werden, da hier demineralisiertes Wasser verwendet wird und der zugesetzte Phosphatpuffer zu keiner spektralen Interferenz beiträgt.

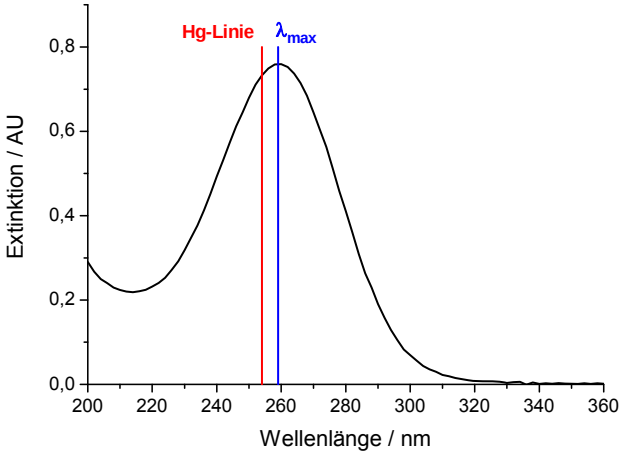



Abb. 44: UV-Absorptionsspektrum von Ozon, gelöst in Wasser
das Absorptionsmaximum des Ozons befindet sich hier bei 259 nm. Für einen einfachen Photometeraufbau eignet sich als Lichtquelle die Atomlinie des Quecksilbers bei 254 nm

**Arbeitsanweisung:** Bei der direkten Ozonbestimmung nach DIN [32] sollte die Ozonkonzentration $\beta(O_3)$ = 3 mg/L bis 12 mg/L betragen, was bei einer 1-cm-Küvette einer Extinktion von 0,2 bis 0,8 entspricht. Bei höheren Ozonkonzentrationen wie z.B. im Ozon-Starkwasser (bis zu 30 mg/L) muss zuvor eine Verdünnung erfolgen oder mit einer Küvette mit geringerer Schichtdicke gearbeitet werden. Vor der Messung muss die Quarzküvette intensiv mit der zu untersuchenden Lösung gespült werden. Danach wird die Küvette vollständig gefüllt und zur Vermeidung von Ozonverlusten durch Ausgasung verschlossen. Die Extinktion der Lösung wird sofort und zur Prüfung der Stabilität z.B. nochmals nach 3 Minuten bei 258 nm (oder 254 nm Hg-Linie) bestimmt.

Auswertung für 1-cm-Küvette ohne Verdünnung und 258 nm (nach DIN):

$\beta(O_3)$ / mg/L = Ext·16,271

Bei der Quantifizierung über die Hg-Linie bei 254 nm werden nur 96,9 % der maximalen Extinktion erreicht, weshalb sich ein geänderter Faktor ergibt:

$\beta(O_3)$ / mg/L = Ext·16,798

**Ozonbestimmung mit der Indigo-Methode**

Zur Bestimmung der Ozonkonzentration in organisch belasteten Wässern eignet sich eine photometrische Methode, bei der über die Abnahme der Extinktion des blauen Farbstoffs Indigotrisulfonat quantifiziert wird (DIN 38 404 Teil 3) [32]. Es handelt sich hierbei um eine stöchiometrische und auf Ozon spezifische Reaktion, sofern einige Randbedingungen eingehalten werden.

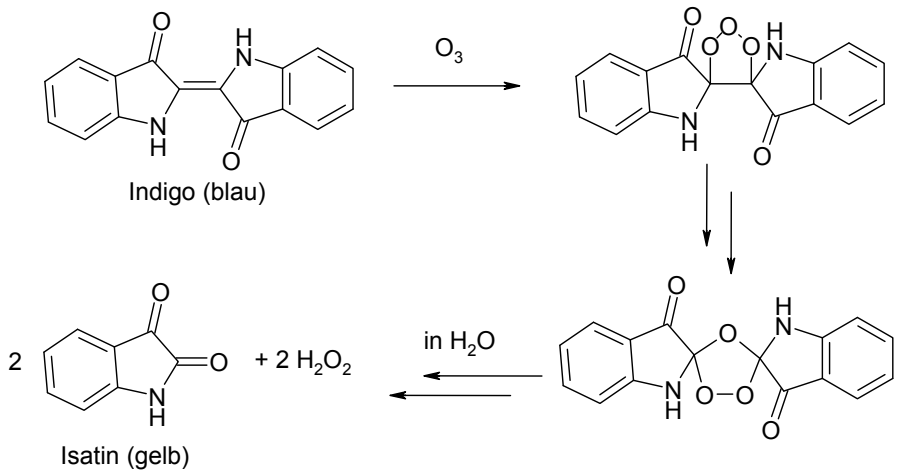



Abb. 45: Mechanismus der Ozonolyse des Indigos [nach 4]
dieses Reaktionsmuster steht stellvertretend für diverse Indigo-Derivate, z.B. Indigotrisulfonat

Der in der DIN-Methode angegebene Arbeitsbereich erstreckt sich von $\beta$(Ozon) = 0,05 mg/L bis 10 mg/L und wird über das entsprechende Zugabevolumen angepasst. Da bei der Starkwassererzeugung Konzentrationen über 20 mg/L erhalten werden, ist der Arbeitsbereich der Methode gemäß DIN-Vorschrift bereits überschritten. Dies hat zur Folge, dass es trotz einer proportional geringeren Starkwasserzugabemenge zur Indigolösung zu fehlerhaften Quantifizierungen kommen kann (Minderbefunde). Eine mögliche Erklärung könnte sein, dass bei zu hohen lokalen Ozon-Konzentrationen während der Mischung Transformationsprodukte des Indigotrisulfonats zu weiteren Folgeprodukten über die Reaktion mit Ozon abgebaut werden. Das dabei gezehrte Ozon kann nicht mehr mit Indigotrisulfonat reagieren, woraus sich die Minderbefunde erklären lassen. Als Abhilfe ist auf eine ausreichende Vorverdünnung der Indigolösung und ein gutes Durchmischen während der Ozonzugabe zu achten. Über eine Vorverdünnung des Starkwassers vor der Zugabe zur Indigolösung kann zwar die Ozonkonzentration angepasst werden, jedoch besteht Unsicherheit bezüglich des Ausmaßes der schnell ablaufenden Ozonzehrung während des Verdünnungsvorganges.

**Arbeitsanweisung:** Indigo-Stammlösung: In einem 250 mL Messkolben werden 0,25 mL konz. Phosphorsäure in ca. 100 mL dest. Wasser gemischt. Darin werden

193 mg Kaliumindigotrisulfonat gegeben und nach dem Lösen bis zur Marke aufgefüllt. Diese Lösung ist kühl und dunkel gelagert ca. 4 Monate haltbar. Eine 100fache Verdünnung dieser Lösung in einer 1-cm-Küvette muss bei 600 nm eine Extinktion von 0,20 ±0,01 aufweisen. Als Arbeitsverdünnung werden 25 mL dieser Stammlösung im Messkolben auf 250 mL mit dest. Wasser verdünnt. Diese Lösung ist messtäglich frisch herzustellen.

Zur Ozonbestimmung werden in einen 100 mL Messkolben 10 mL der verdünnten Indigolösung gegeben. Liegt der zu erwartende Konzentrationsbereich zwischen 0,05 mg/L bis 0,5 mg/L, wird der Messkolben mit der Wasserprobe bis zur Marke befüllt. Bei höheren Ozonkonzentrationen wird ein angepasstes Probenvolumen unter kräftigem Mischen zu der vorverdünnten Indigolösung gegeben. Beispielsweise eignet sich zur Bestimmung einer Starkwasserkonzentration von ca. $\beta(O_3)$ = 20 mg/L ein Probenvolumen von 1 mL. Als Referenz dient der Extinktionswert einer 1:10 mit ozonfreiem Wasser verdünnten Indigolösung. Die photometrische Messung erfolgt in einer 5-cm-Küvette bei 600 nm direkt nach dem Mischen (spätestens aber nach 4 h).

Über folgende Gleichung (bei Benutzung einer 5-cm-Küvette und einem 100 mL Messkolben) wird die Ozon-Konzentration zugänglich (s. auch DIN [32]):

$\beta(O_3) = [(Ext_{Referenz} - Ext_{Probe})\cdot 48] / [V_P]$ mit $V_p$ = Volumen der Probe / mL

**Ozonbestimmung mittels Iodometrie**

Die Bestimmung der Ozonkonzentration im Gasstrom durch das Einleiten des Gases in eine konzentrierte Kaliumiodidlösung ist ein absolutes Bestimmungsverfahren, da eine quantitative Reaktion erfolgt und das gebildete Iod mittels Titration bestimmt wird. Die Reaktion von Ozon mit Kaliumiodid verläuft nur in neutraler, gepufferter wässriger Lösung stöchiometrisch exakt nach folgender Gleichung (pH 7, $\beta$(KI) = 3 mol/L) [73]:

$$O_3 + 2\,KI + H_2O \quad \rightarrow \quad I_2 + O_2 + 2\,KOH$$

Zusätzlich zur Einhaltung des pH-Wertes muss darauf geachtet werden, dass keine weiteren redoxaktiven Stoffe vorhanden sind. Die gebildete Iodmenge wird nach Ansäuern der Probenlösung mittels Titration mit Thiosulfat bestimmt:

$$I_2 + 2\,S_2O_3^{\,2-} \quad \rightarrow \quad S_4O_6^{\,2-} + 2\,I^-$$

Die Kaliumiodid-Adsorberlösung wird aus 20 g Kaliumiodid, 7,3 g Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat und 3,5 g Kaliumdihydrogenphosphat, gelöst in 1000 mL dest. Wasser, hergestellt. Zur Titration findet eine Thiosulfat-Maßlösung mit c = 0,1 mol/L Verwendung. Die Schwefelsäure zum Ansäuern vor der Titration wird durch vorsichtiges Zugeben von 25 mL konz. Schwefelsäure zu 75 mL dest. Wasser erhalten. Zur Verbesserung der Endpunktindikation kann handelsübliche Zinkiodid-Stärkelösung verwendet werden.

Mittels Iodometrie entsprechen 1 mol Thiosulfat = 0,5 mol Ozon.

1 mL Thiosulfat = 0,5 · 48 g/mol · 0,001 L · 0,1 mol/L = 2,4 mg Ozon

Über die titrierte Ozonmenge können unter Berücksichtigung der Eintragszeit und der Gasflussmenge auch der Ozoneintrag pro Minute sowie die Bestimmung der Ozonkonzentration im Gasstrom erhalten werden.

## SPE-Anreicherung

Nach abgeschlossener Ozonung und dem Austreiben des Restozons mit Stickstoff wurden die Proben bei 4 °C gelagert. Die Anreicherung erfolgte üblicherweise am nächsten oder übernächsten Tag mittels Festphasenextraktion (SPE) mit einer Vakuumkammer (Separtis Vacuum Master).

Die eingesetzten Kartuschen '*Chromabond Easy* (500 mg / 6 mL)' wurden in einem ersten Schritt mit je 10 mL Methanol konditioniert und im Anschluss mit je 10 mL demin. Wasser äquilibriert. Die Beladung der Kartusche (1 L pro Kartusche) erfolgte mit einem Durchsatz von 10 mL/min. Anschließend wurde 1 Stunde im Stickstoffstrom getrocknet und mit 10 mL Ethanol eluiert. Von den vereinigten Ethanol-Eluaten wurden 5 mL für analytische Untersuchungen entnommen und zur übrigen Ethanolmenge wurden 5 mL DMSO als 'Keeper' zugesetzt. Am Rotationsverdampfer wurde bei 30 °C bis 40 °C Wassertemperatur und einem reduziertem Druck von 50 mbar und später 20 mbar das Ethanol abgezogen, so dass ca. 5 mL übrig blieben. In der praktischen Ausführung hat sich gezeigt, dass es sich schwierig gestaltet, exakt 5 mL Endvolumen zu erreichen. Es waren daher neben DMSO noch etwas Ethanol und Wasser in der Probe vorhanden.

## Amestest

Der Ames-Test nach DIN 38415-4 [34] ist ein bakterieller Mutagenitätstest mit *Salmonella* Typhimurium-Stämmen, die aufgrund einer Mutation auf histidinfreiem Medium nicht mehr wachsen können. Diese histidinbedürftigen Mutanten können wieder rückmutieren (Reversion) und auf Minimalagarplatten Kolonien bilden. Jeder *Salmonella*-Stamm hat eine spezifische Spontanmutationsrate. Die darüber hinausgehende Anzahl der rückmutierten Bakterien (Revertanten) ist ein Maß für das mutagene Potenzial einer Substanz oder einer Probe. Bestimmte Mutagene werden in höheren Organismen erst durch Metabolisierung aktiviert (Promutagene) oder inaktiviert. Dem bakteriellen System werden deshalb die hierfür benötigten Enzyme mit dem Rattenleberextrakt S9 (Fa. Moltox) zugegeben. Die angewendete Testversion basiert auf einer vereinfachten Version der OECD-Richtlinie 471 [88] mit den Teststämmen TA 98 und TA 100. Der Stamm TA 98 erfasst Frameshiftmutagene (Rastermutagene) und der Stamm TA 100 Basenpaarsubstitutionsmutagene (Punktmutationen).

Die zu untersuchenden, wässrigen Proben wurden sterilfiltriert (*Celluloseacetat Membranfilter*, Whatman Schleicher & Schuell: FP 30/0,45 CA-S, Lot Nr. FO0137-2), die in DMSO überführten Proben gelten als autosteril. Als maximales Testvolumen konnten bis zu 1 mL wässrige Probe bzw. 100 µL in DMSO überführte Probe pro Platte geprüft werden. Abweichend von der Vorschrift prüften wir 5 anstelle von lediglich 2 Replikaten je Testansatz (TA 98, TA 100 jeweils mit und ohne metabolische

Aktivierung, 3 Konzentrationsstufen), um auch geringe Effekte statistisch besser absichern zu können. Als Positivkontrollsubstanzen wurden eingesetzt: 2-Aminoanthracen (2 µg/Platte bei TA 98 und 2,5 µg/Platte bei TA 100 und jeweils mit metabolischer Aktivierung) und ohne metabolische Aktivierung 2-Nitrofluoren (1,5 µg/Platte bei TA 98) bzw. Natriumazid (0,5 µg/Platte bei TA 100).

Nach DIN 38415-4 wird eine Probe dann als mutagen bezeichnet, wenn in einem der Stämme mit oder ohne S9 eine Induktionsdifferenz zur Lösemittelkontrolle von 80 (TA 100) bzw. 20 Revertanten (TA 98) induziert wird und eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung gegeben ist. Die Revertantenzahl der Negativkontrollansätze soll für TA 100 im Bereich von 80–180 und für TA 98 im Bereich von 15–40 Revertanten pro Platte liegen. Bei der hier durchgeführten Wirkstofftestung bewerteten wir eine Probe in Anlehnung an die der DIN zugrunde liegende OECD Guideline 471 dann als mutagen, wenn die Induktionsrate (Quotient Revertantenzahlen auf der Testplatte durch Revertantenzahl im Negativkontrollansatz) einen Faktor von 2 überschritt und eine Dosis-Wirkungsbeziehung gegeben war.

## Stoffanalytik TZW

Parallel zu den Messungen des Ozonabbaus während der Ozonung der Testsubstanzen wurden Proben genommen, die Aussagen zur Abbaugeschwindigkeit ermöglichen sollen. Dazu wurden in gewissen Zeitabständen jeweils ca. 10 mL Probe aus dem Batch-Versuch entnommen und sogleich 15 min kräftig mit Stickstoff durchspült. Da die Ausgangskonzentration der Testsubstanzen bei 500 µg/L lag, konnte in der anschließenden Analytik auf eine Anreicherung verzichtet und die Quantifizierung über eine direkte Injektion in das LC-MS-System durchgeführt werden. Bei dieser Vorgehensweise ergab sich z.B. für FAA und AAA eine Bestimmungsgrenze von ca. 20 µg/L, was 4 % der Ausgangskonzentration entspricht. Für Sulfapyridin wurde eine Bestimmungsgrenze von 10 µg/L erzielt. Dies bedeutet, dass bei FAA, AAA (und Sulfapyridin) bereits nach ca. 5 min mehr als 96 % (98 %) der Ausgangsmenge mit dem Ozon reagiert hatten. Wird in einer ersten Näherung bei den genannten Testsubstanzen eine Kinetik erster Ordnung angenommen (exponentieller Abfall der Stoffkonzentration über die Zeit), so ist zu erwarten, dass es zu einer vollständigen Umsetzung dieser Testsubstanzen nach der Ozonungszeit von 45 min kam.

Anders verhielten sich die beiden Muttersubstanzen Piracetam und Metformin. Bei diesen Testsubstanzen wurde nur eine mäßige Umsetzung während der Ozonung beobachtet, wobei in erster Näherung der Stoffumsatz bei ca. 50 % lag.

Zur Direktmessung wurden 500 µL der wässrigen Probe bis zur Trockne eingeengt. Bei Piracetam und Metformin wurde der Rückstand in 100 µL Methanol aufgenommen; davon wurden 12,5 µL in das LC-MS-System injiziert. Bei FAA und AAA wurde im Gegensatz dazu der Rückstand in einer Mischung aus 50 µL Methanol und 50 µL Ammoniumacetatlösung (20 mmol/L) mit 5 % Acetonitril aufgenommen.

Sulfapyridin wurde vor der Injektion in einer Mischung aus 20 % Acetonitril und 80 % Wasser, in dem 20 mmol/L Ammoniumacetat enthalten waren, aufgenommen.

Tab. 31: LC-MS/MS-Parameter für die Bestimmung von Metformin und Piracetam

| Parameter | Typ/Wert |
|---|---|
| HPLC-System | Agilent Technologies 1100 Serie Liquid Chromatograph |
| MS-MS-System | Applied Biosystems / MDS Sciex API 2000 |
| Injektionsvolumen | 12,5 µL |
| Trennsäule | Luna, 250 mm x 2 mm, 5 µm (Fa. Phenomenex) |
| Eluent | A: 20 mmol/L wässrige Ammoniumformiat-Lösung<br>B: 20 mmol/L Ammoniumformiat in Acetonitril/Methanol (2:1 *V*:*V*) |
| Eluentprogramm | 0 min: 80 % A 20 % B<br>8 min: 50 % A 50 % B<br>9 min: 100 % B<br>15 min: 100 % B<br>16 min: 80 % A 20 %B |
| Fluss | 0,2 mL/min |
| Interface | Elektrospray |
| Ionisierungsmodus | positiv |
| Detektion | MS-MS |

Tab. 32: LC-MS/MS-Parameter für die Bestimmung von FAA und Piracetam
siehe Tab. 31, mit folgenden geänderten Parametern

| Parameter | Typ/Wert |
|---|---|
| Trennsäule | Nucleosil, 250 mm x 2 mm |
| Eluent | A: 20 mmol/L wässrige Ammoniumacetat-Lösung<br>B: 20 mmol/L Ammoniumacetat in Acetonitril/Methanol (2:1 *V*:*V*) |

Tab. 33: LC-MS/MS-Parameter für die Bestimmung von Sulfapyridin (u. Sulfamethoxazol)

| Parameter | Typ/Wert |
|---|---|
| HPLC-System | Agilent Technologies 1200 Serie Liquid Chromatograph |
| MS-MS-System | Applied Biosystems / MDS Sciex API 2000 |
| Injektionsvolumen | 15 µL |
| Trennsäule | MZ Aqua Perfect, 250 mm x 2,1 mm, 5 µm |
| Eluent | A: 20 mmol/L wässrige Ammoniumacetat-Lösung (mit HOAc auf pH 5,1)<br>B: 20 mmol/L Ammoniumacetat in Acetonitril/Methanol (2:1 *V*:*V*) |
| Eluentprogramm | 0 min: 80 % A 20 % B<br>10 min: 100 % B<br>18 min: 100 % B<br>20 min: 80 % A 20 % B |
| Fluss | 0,2 mL/min |
| Interface | Elektrospray |
| Ionisierungsmodus | positiv |
| Detektion | MS-MS |

Tab. 34: LC-MS-Parameter für die durchgeführten Full-Scan-Messungen

| Parameter | Typ/Wert |
|---|---|
| HPLC-System | Agilent Technologies 1200 Serie Liquid Chromatograph |
| MS-MS-System | Applied Biosystems / MDS Sciex API 4000 |
| Injektionsvolumen | 50 µL |
| Trennsäule | Phenomenex Synergi Fusion-RP 80 A (150 mm x 2 mm, 4 µm) |
| Säulentemperatur | 40 °C |
| Eluent | A: 10 mmol/L wässrige Ammoniumformiat-Lösung (pH 4)<br>B: Acetonitril |
| Eluentprogramm | 0 min: 100 % A<br>2 min: 100 % A<br>17 min: 50 % A 50 % B<br>27 min: 100 %B<br>30 min: 100 % A |
| Fluss | 0,3 mL/min |
| Interface | Elektrospray |
| Ionisierungsmodus | Je 1 kompletter Lauf positiv und negativ |
| Detektion | Enhanced MS (EMS) |
| Massenbereich | m/z 50 bis m/z 400 |

Zur Quantifizierung der Abbauraten der ausgewählten Testsubstanzen haben wir eine LC-MS/MS-Detektion genutzt: Dabei wird nach der Ionisierung über einen ersten Massenfilter eine Ionenmasse selektiert. Im Anschluss findet eine Fragmentierung statt, bei der es zu einem Massenverlust kommt. Über einen weiteren Massenfilter lassen sich die Fragmente selektiv und sehr empfindlich detektieren.

Im Gegensatz dazu wurden zur Analytik unbekannter Transformationsprodukte LC-MS-Messungen im Full-Scan-Modus durchgeführt. Da bei diesen Messungen keine Informationen über die Produktmassen vorliegen, muss während der gesamten Laufzeit des Chromatogramms der gesamte Massenbereich erfasst werden. Hieraus ergibt sich eine dreidimensionale Information aus Retentionszeit, Masse-zu-Ladungs-Verhältnis und Intensität. Ein Nachteil dieser Detektionsmethode ist der Verlust an Empfindlichkeit, da die Integrationszeit pro Massenpunkt kurz ist.

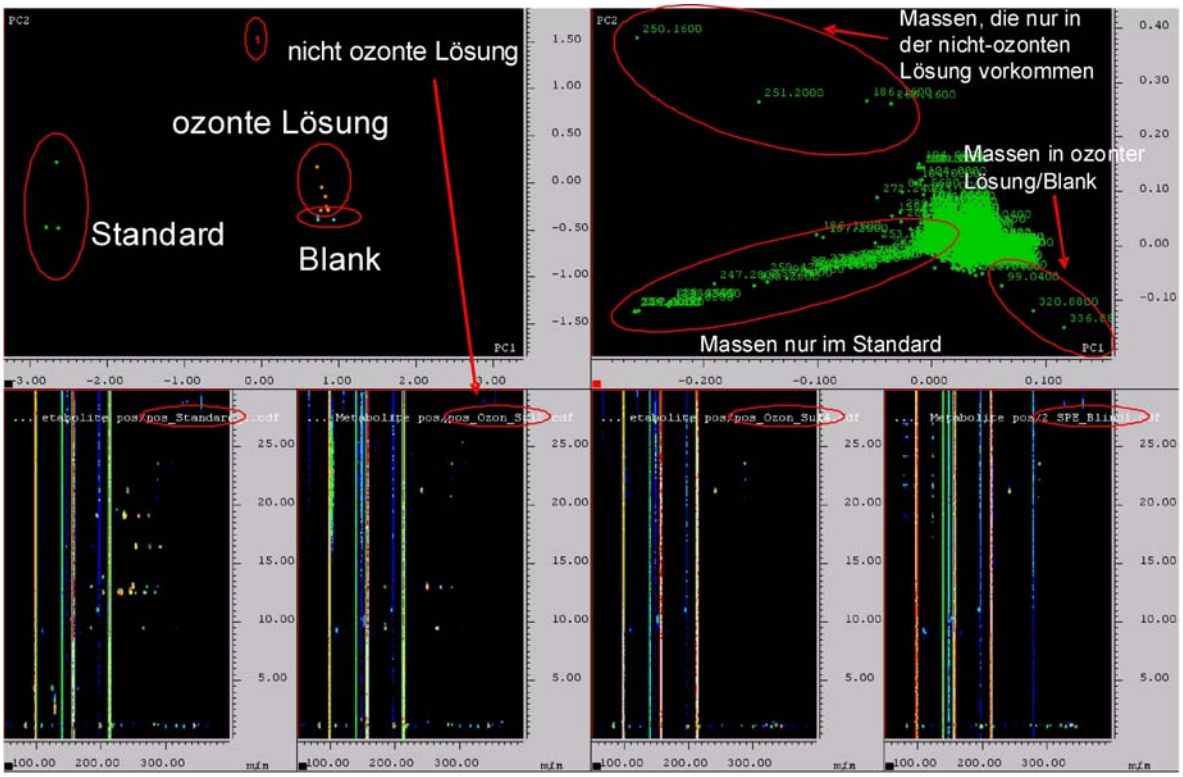



Abb. 46: LC-MS-Full-Scan-Messungen unterschiedlicher Sulfapyridin-Proben
Unten: 4 Scans (x-Achse = Masse, y-Achse = Retentionszeit, z-Achse (Farbe) = Intensität)
Oben links: Statistische Auswertung der Massen von Hauptsignalen: Je größer die Unterschiede in den Full-Scan-Spektren sind, desto weiter liegen die Punkte auseinander
Oben rechts: Unterscheidung der verschiedenen Probenkategorien

Statistische Methoden können genutzt werden, um systematische Unterschiede zwischen Blindprobe und dotierten Proben zu erkennen, selbst wenn diese nur geringe Signalintensitäten aufweisen. Als Beispiel sei die PCA (*Principle Component Analysis*) genannt (siehe Abb. 46, Software Amix Viewer 3.8 von Bruker). In dieser Abbildung zeigt sich im oberen Bildteil die Gruppenbildung von Massen, die statistisch in einer der Proben-Kategorien vorkommen. Weiterhin ist es möglich, selektierte Massen zwischen den einzelnen Proben vergleichend darzustellen (Abb. 47). Hier

zeigt sich beispielsweise, dass Sulfapyridin im Standard und in der nicht-ozonten Lösung in gleicher Weise enthalten ist, es jedoch im 'Blank' sowie nach der Ozonzugabe nicht detektiert werden kann.

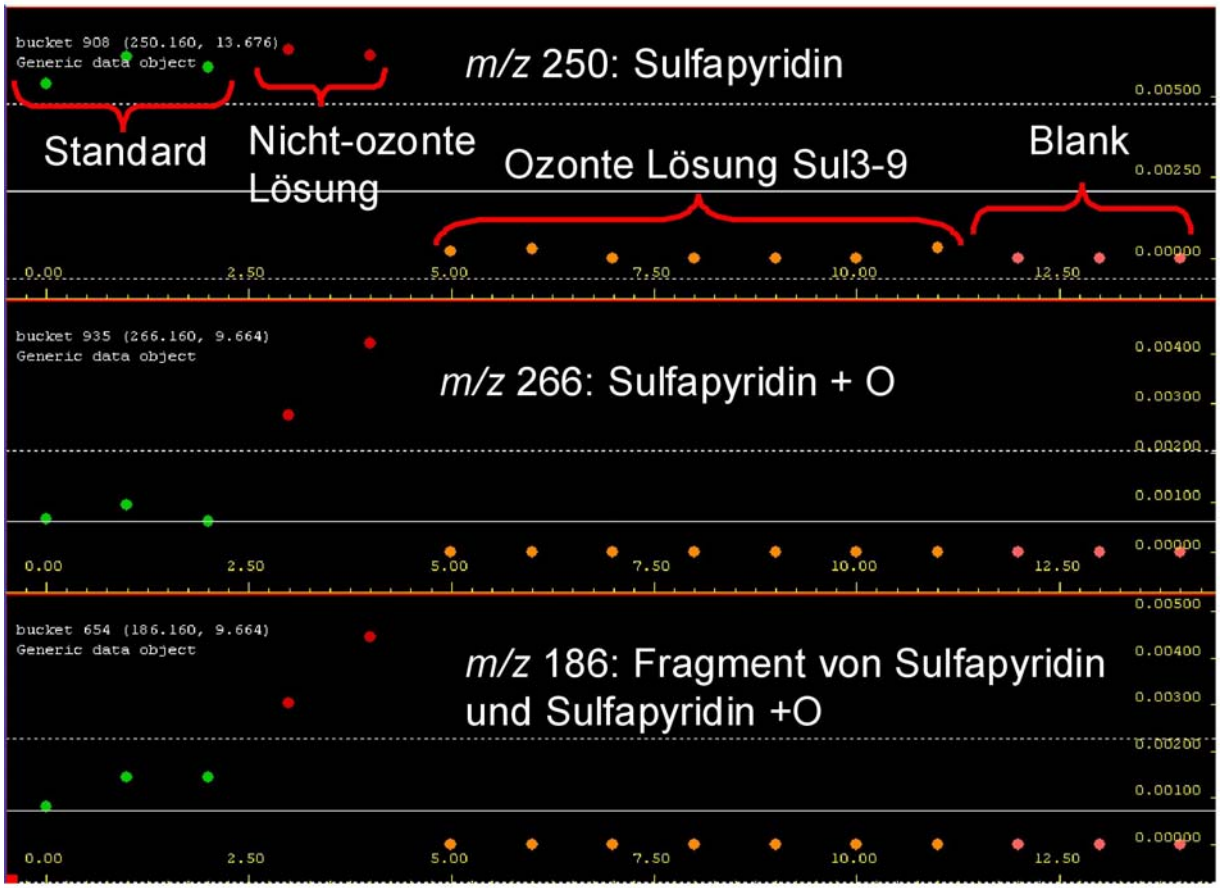



Abb. 47: Statistischer Vergleich des Vorkommens bestimmter Massen in verschiedenen Sulfapyridin-Proben

# Ergänzende Ausführungen zu den Ergebnissen

## Bilanzierte Wirkstoffverbräuche (> 1,0 Tonnen)

Tab. 35: Wirkstoffe und Wirkstoffkombinationen mit Verbräuchen > 1,0 Tonnen

| Ohne Berücksichtigung der Metabolisierung | | | Nach Metabolisierung | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Pos.** | **Wirkstoff** | **Wirkstoff *Masse* in to** | **Restwirkstoff *Masse* in to** | **Metaboliten *Masse* in to** | **Pos. Sort. Metaboliten** |
| 1. | Metformin | 757,4 | 757,4 | 0,0 | 568. |
| 2. | Ibuprofen | 265,0 | 13,2 | 251,7 | 1. |
| 3. | Metamizol-Natrium | 201,9 | 20,2 | 181,7 | 2. |
| 4. | Lactulose | 182,2 | 2,2 | 180,1 | 3. |
| 5. | Amoxicillin mit Enzym-Inhibitoren | 164,4 | 113,4 | 51,0 | 15. |
| 6. | Acetylsalicylsäure | 137,1 | 6,9 | 130,2 | 4. |
| 7. | Allopurinol | 132,1 | 39,6 | 92,5 | 7. |
| 8. | Piracetam | 120,1 | 120,1 | 0,0 | 569. |
| 9. | Metoprolol | 115,8 | 11,3 | 104,5 | 5. |
| 10. | Clindamycin | 97,7 | 4,9 | 92,8 | 6. |
| 11. | Johanniskraut | 88,2 | 0,0 | 88,2 | 8. |
| 12. | Theophyllin | 87,6 | 13,1 | 74,5 | 11. |
| 13. | Paracetamol | 86,7 | 8,5 | 78,2 | 10. |
| 14. | Acetylcystein | 84,7 | 4,2 | 80,5 | 9. |
| 15. | Amoxicillin | 76,1 | 52,5 | 23,6 | 21. |
| 16. | Valproinsäure | 66,6 | 6,5 | 60,1 | 12. |
| 17. | Mesalazin | 66,0 | 58,1 | 7,9 | 37. |
| 18. | Carbamazepin | 63,5 | 4,3 | 59,2 | 13. |
| 19. | Calciumcarbonat | 52,5 | 0,0 | 52,5 | 14. |
| 20. | Phenoxymethylpenicillin | 52,0 | 38,5 | 13,5 | 27. |
| 21. | Diclofenac | 48,4 | 16,2 | 32,2 | 17. |
| 22. | Verapamil | 44,5 | 8,2 | 36,2 | 16. |
| 23. | Ranitidin | 38,5 | 25,0 | 13,5 | 28. |
| 24. | Gabapentin | 36,5 | 36,5 | 0,0 | 570. |
| 25. | Hydrochlorothiazid | 33,6 | 32,2 | 1,3 | 118. |
| 26. | Irbesartan | 30,4 | 27,7 | 2,7 | 79. |
| 27. | Sulfasalazin | 27,2 | 2,7 | 24,5 | 19. |
| 28. | Sulfamethoxazol und Trimethoprim | 26,9 | 6,5 | 20,4 | 23. |
| 29. | Tramadol | 26,7 | 19,5 | 7,2 | 41. |
| 30. | Levodopa und Decarboxylasehemmer | 26,2 | 12,4 | 13,8 | 26. |
| 31. | Furosemid | 25,7 | 24,0 | 1,7 | 101. |
| 32. | Pentoxifyllin | 25,6 | 1,5 | 24,1 | 20. |
| 33. | Thymiankraut | 25,2 | 0,0 | 25,2 | 18. |
| 34. | Valsartan | 24,5 | 22,8 | 1,7 | 100. |
| 35. | Kaliumchlorid | 21,6 | 0,0 | 21,6 | 22. |
| 36. | Erythromycin | 19,1 | 15,5 | 3,6 | 65. |
| 37. | Simvastatin | 18,0 | 15,0 | 3,1 | 74. |
| 38. | Calciumacetat, wasserfrei | 18,0 | 0,0 | 18,0 | 24. |
| 39. | Tilidin, Kombinationen | 16,9 | 2,5 | 14,5 | 25. |
| 40. | Clarithromycin | 16,1 | 4,6 | 11,5 | 30. |
| 41. | Methotrexat | 15,7 | 13,4 | 2,4 | 84. |
| 42. | Captopril | 15,6 | 9,6 | 6,0 | 48. |
| 43. | Levetiracetam | 15,5 | 11,1 | 4,3 | 58. |
| 44. | Bezafibrat | 14,8 | 7,8 | 7,0 | 43. |
| 45. | Lisinopril | 12,2 | 12,2 | 0,0 | 571. |
| 46. | Triamteren | 12,1 | 4,4 | 7,8 | 39. |

| Ohne Berücksichtigung der Metabolisierung | | | Nach Metabolisierung | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Pos.** | **Wirkstoff** | **Wirkstoff *Masse* in to** | **Restwirkstoff *Masse* in to** | **Metaboliten *Masse* in to** | **Pos. Sort. Metaboliten** |
| 47. | Efeublätter | 11,9 | 0,0 | 11,9 | 29. |
| 48. | Sotalol | 11,9 | 11,9 | 0,0 | 572. |
| 49. | Oxcarbazepin | 11,3 | 0,8 | 10,5 | 31. |
| 50. | Clopidogrel | 11,2 | 4,5 | 6,7 | 46. |
| 51. | Cefaclor | 11,1 | 8,7 | 2,4 | 81. |
| 52. | Fenofibrat | 10,5 | 0,3 | 10,1 | 32. |
| 53. | Sevelamer | 10,2 | 10,2 | 0,0 | 573. |
| 54. | Spironolacton | 9,9 | 2,7 | 7,2 | 42. |
| 55. | Isosorbiddinitrat | 9,5 | 0,7 | 8,7 | 33. |
| 56. | Ciprofloxacin | 9,5 | 7,7 | 1,8 | 97. |
| 57. | Naftidrofuryl | 9,1 | 0,5 | 8,7 | 34. |
| 58. | Opipramol | 9,1 | 0,9 | 8,2 | 36. |
| 59. | Mycophenolsäure | 9,0 | 0,7 | 8,3 | 35. |
| 60. | Atenolol | 8,7 | 8,3 | 0,4 | 190. |
| 61. | Enalapril | 8,6 | 8,6 | 0,0 | 574. |
| 62. | Colestyramin | 8,4 | 8,4 | 0,0 | 575. |
| 63. | Pentaerithrityltetranitrat | 8,2 | 3,3 | 4,9 | 56. |
| 64. | Aciclovir | 8,1 | 6,5 | 1,6 | 104. |
| 65. | Omeprazol | 7,8 | 0,0 | 7,8 | 38. |
| 66. | Plantago ovata (Indische Flohsamen) | 7,7 | 0,0 | 7,7 | 40. |
| 67. | Acarbose | 7,6 | 0,9 | 6,7 | 45. |
| 68. | Isosorbidmononitrat | 7,4 | 0,6 | 6,8 | 44. |
| 70. | Ribavirin | 7,0 | 3,9 | 3,2 | 71. |
| 69. | Amantadin | 7,0 | 7,0 | 0,0 | 576. |
| 71. | Amitriptylin | 6,8 | 0,2 | 6,6 | 47. |
| 72. | Pantoprazol | 6,8 | 1,4 | 5,4 | 50. |
| 73. | Losartan | 6,6 | 1,5 | 5,1 | 54. |
| 74. | Diltiazem | 6,4 | 1,8 | 4,6 | 57. |
| 75. | Primidon | 6,3 | 5,1 | 1,2 | 128. |
| 76. | Roxithromycin | 5,9 | 4,6 | 1,2 | 125. |
| 77. | Quetiapin | 5,8 | 0,6 | 5,2 | 52. |
| 78. | Eprosartan | 5,7 | 5,4 | 0,3 | 244. |
| 79. | Cefuroximaxetil | 5,7 | 5,7 | 0,0 | 577. |
| 80. | Doxepin | 5,6 | 0,2 | 5,4 | 51. |
| 81. | Eisen(II)glycinsulfat | 5,6 | 0,0 | 5,6 | 49. |
| 82. | Doxycyclin | 5,5 | 5,0 | 0,5 | 175. |
| 83. | Fluvastatin | 5,4 | 0,2 | 5,2 | 53. |
| 84. | Flupirtin | 5,3 | 2,2 | 3,1 | 72. |
| 85. | Amiodaron | 5,3 | 4,0 | 1,3 | 121. |
| 86. | Esomeprazol | 5,1 | 1,7 | 3,4 | 67. |
| 87. | Torasemid | 5,1 | 2,0 | 3,1 | 73. |
| 88. | Telmisartan | 5,0 | 4,5 | 0,5 | 178. |
| 89. | Zinkoxid | 5,0 | 0,0 | 5,0 | 55. |
| 90. | Strontiumranelat | 4,8 | 4,8 | 0,0 | 578. |
| 91. | Bisoprolol | 4,8 | 2,6 | 2,1 | 89. |
| 92. | Sulpirid | 4,6 | 3,2 | 1,4 | 116. |
| 93. | Phenytoin | 4,6 | 2,4 | 2,2 | 88. |
| 94. | Naproxen | 4,6 | 0,7 | 3,8 | 60. |
| 95. | Venlafaxin | 4,5 | 2,3 | 2,2 | 87. |
| 96. | Cefadroxil | 4,4 | 4,4 | 0,0 | 579. |
| 97. | Trimipramin | 4,3 | 2,9 | 1,3 | 119. |
| 98. | Hydroxycarbamid | 4,2 | 2,6 | 1,6 | 103. |
| 99. | Celecoxib | 4,2 | 0,5 | 3,7 | 62. |
| 100. | Zinkoxid, Kombinationen | 4,1 | 0,0 | 4,1 | 59. |

| Ohne Berücksichtigung der Metabolisierung | | | Nach Metabolisierung | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Pos.** | **Wirkstoff** | **Wirkstoff *Masse* in to** | **Restwirkstoff *Masse* in to** | **Metaboliten *Masse* in to** | **Pos. Sort. Metaboliten** |
| 102. | Dexibuprofen | 4,0 | 0,4 | 3,6 | 63. |
| 101. | Sucralfat | 4,0 | 2,9 | 1,2 | 130. |
| 103. | Lamotrigin | 4,0 | 0,6 | 3,4 | 68. |
| 104. | Nifedipin | 4,0 | 0,2 | 3,7 | 61. |
| 105. | Pregabalin | 3,9 | 3,8 | 0,1 | 347. |
| 106. | Celiprolol | 3,8 | 3,7 | 0,1 | 325. |
| 107. | Nitrendipin | 3,8 | 1,4 | 2,4 | 83. |
| 108. | Propranolol | 3,7 | 0,2 | 3,4 | 66. |
| 110. | Kaliumcitrat | 3,6 | 0,0 | 3,6 | 64. |
| 109. | Azithromycin | 3,6 | 2,5 | 1,1 | 135. |
| 111. | Ramipril | 3,5 | 0,7 | 2,9 | 77. |
| 113. | Clozapin | 3,5 | 0,3 | 3,2 | 70. |
| 112. | Ambroxol | 3,5 | 0,5 | 3,0 | 76. |
| 114. | Melperon | 3,5 | 0,4 | 3,0 | 75. |
| 115. | Lithium | 3,3 | 0,0 | 3,3 | 69. |
| 116. | Amlodipin | 3,3 | 1,3 | 2,0 | 95. |
| 117. | Entacapon | 3,3 | 0,8 | 2,5 | 80. |
| 118. | Levofloxacin | 3,3 | 3,1 | 0,1 | 298. |
| 119. | Moxifloxacin | 3,2 | 1,7 | 1,5 | 111. |
| 120. | Carvedilol | 3,0 | 2,7 | 0,4 | 215. |
| 121. | Dickflüssiges Paraffin | 3,0 | 3,0 | 0,0 | 522. |
| 122. | Norfloxacin | 3,0 | 2,6 | 0,3 | 233. |
| 123. | Candesartan | 3,0 | 2,9 | 0,1 | 354. |
| 124. | Mebeverin | 2,9 | 0,1 | 2,8 | 78. |
| 125. | Amisulprid | 2,9 | 2,9 | 0,1 | 367. |
| 126. | Calciumdobesilat | 2,8 | 2,5 | 0,2 | 270. |
| 128. | Methocarbamol | 2,7 | 0,3 | 2,4 | 82. |
| 127. | Oxytetracyclin, Kombinationen | 2,7 | 2,2 | 0,5 | 174. |
| 129. | Tiaprid | 2,7 | 2,3 | 0,4 | 193. |
| 130. | Tolperison | 2,6 | 0,5 | 2,1 | 90. |
| 131. | Propafenon | 2,6 | 0,5 | 2,1 | 94. |
| 132. | Nateglinid | 2,6 | 0,5 | 2,1 | 93. |
| 133. | Tetrazepam | 2,5 | 0,2 | 2,2 | 86. |
| 134. | Sertralin | 2,5 | 0,7 | 1,7 | 98. |
| 135. | Phenoxymethylpenicillin-Benzathin | 2,4 | 2,0 | 0,4 | 204. |
| 136. | Xipamid | 2,3 | 1,1 | 1,2 | 126. |
| 138. | Eisen(II)sulfat | 2,3 | 0,0 | 2,3 | 85. |
| 137. | Povidon-Iod | 2,3 | 2,3 | 0,0 | 422. |
| 139. | Doxycyclin und Ambroxol | 2,3 | 2,1 | 0,2 | 264. |
| 140. | Citalopram | 2,3 | 0,8 | 1,5 | 112. |
| 141. | Talinolol | 2,3 | 0,9 | 1,3 | 117. |
| 142. | Fexofenadin | 2,2 | 2,1 | 0,1 | 320. |
| 143. | Promethazin | 2,2 | 0,1 | 2,1 | 91. |
| 144. | Chloralhydrat | 2,2 | 0,1 | 2,1 | 92. |
| 145. | Pravastatin | 2,2 | 1,8 | 0,4 | 210. |
| 146. | Gemfibrozil | 2,0 | 0,1 | 1,9 | 96. |
| 147. | Azathioprin | 2,0 | 0,3 | 1,7 | 99. |
| 148. | Nicotinsäure | 2,0 | 0,6 | 1,4 | 113. |
| 149. | Indometacin | 2,0 | 0,4 | 1,6 | 106. |
| 150. | Terbinafin | 1,9 | 1,5 | 0,4 | 208. |
| 151. | Flecainid | 1,9 | 0,6 | 1,2 | 124. |
| 152. | Lercanidipin | 1,8 | 1,5 | 0,3 | 227. |
| 155. | Metronidazol, parenteral | 1,8 | 0,4 | 1,4 | 114. |
| 153. | Etidronsäure und Calcium | 1,8 | 1,8 | 0,0 | 580. |

| Ohne Berücksichtigung der Metabolisierung | | | Nach Metabolisierung | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Pos.** | **Wirkstoff** | **Wirkstoff *Masse* in to** | **Restwirkstoff *Masse* in to** | **Metaboliten *Masse* in to** | **Pos. Sort. Metaboliten** |
| 154. | Cefixim | 1,8 | 1,8 | 0,0 | 581. |
| 156. | Pilocarpin | 1,8 | 0,8 | 1,0 | 139. |
| 158. | Salbutamol | 1,8 | 0,2 | 1,5 | 109. |
| 157. | Acemetacin | 1,8 | 0,9 | 0,9 | 148. |
| 159. | Prednisolon | 1,8 | 0,2 | 1,6 | 102. |
| 160. | Mirtazapin | 1,7 | 1,0 | 0,7 | 158. |
| 161. | Metoclopramid | 1,7 | 0,7 | 1,0 | 140. |
| 162. | Hydroxychloroquin | 1,7 | 1,1 | 0,6 | 161. |
| 163. | Buflomedil | 1,7 | 0,5 | 1,2 | 129. |
| 164. | Clomethiazol | 1,7 | 0,1 | 1,6 | 107. |
| 165. | Perazin | 1,6 | 0,1 | 1,5 | 110. |
| 167. | Methionin | 1,6 | 0,0 | 1,5 | 108. |
| 166. | Levodopa, Decarboxylase- u. COMT-Hemmer | 1,6 | 1,2 | 0,4 | 219. |
| 168. | Diclofenac, Kombinationen | 1,6 | 0,0 | 1,6 | 105. |
| 169. | Zidovudin und Lamivudin | 1,6 | 1,3 | 0,3 | 250. |
| 170. | Salicylsäure | 1,5 | 0,7 | 0,9 | 145. |
| 171. | Nitrofurantoin | 1,5 | 0,6 | 0,9 | 143. |
| 172. | Ciclosporin | 1,5 | 0,9 | 0,6 | 165. |
| 173. | Pipamperon | 1,5 | 0,3 | 1,2 | 127. |
| 174. | Molsidomin | 1,5 | 0,9 | 0,6 | 168. |
| 175. | Glibenclamid | 1,5 | 0,1 | 1,4 | 115. |
| 176. | Olmesartanmedoxomil | 1,4 | 1,1 | 0,4 | 212. |
| 177. | Phenobarbital | 1,4 | 0,5 | 1,0 | 138. |
| 180. | Ticlopidin | 1,4 | 0,1 | 1,3 | 120. |
| 179. | Acamprosat | 1,4 | 1,3 | 0,1 | 291. |
| 178. | Vigabatrin | 1,4 | 1,4 | 0,0 | 582. |
| 181. | Lopinavir mit Ritonavir | 1,4 | 0,3 | 1,1 | 136. |
| 182. | Sultamicillin | 1,4 | 0,2 | 1,1 | 132. |
| 183. | Etoricoxib | 1,3 | 0,0 | 1,2 | 123. |
| 184. | Ginkgo biloba | 1,2 | 0,0 | 1,2 | 122. |
| 186. | Cefpodoxim | 1,2 | 1,1 | 0,1 | 301. |
| 185. | Ofloxacin | 1,2 | 1,2 | 0,1 | 364. |
| 187. | Progesteron | 1,2 | 0,1 | 1,1 | 133. |
| 188. | Dexpanthenol | 1,2 | 0,1 | 1,1 | 131. |
| 189. | Cefalexin | 1,2 | 1,2 | 0,0 | 583. |
| 190. | Urapidil | 1,2 | 0,4 | 0,8 | 151. |
| 191. | Chlorprothixen | 1,2 | 0,3 | 0,9 | 144. |
| 192. | Trospium | 1,2 | 1,2 | 0,0 | 461. |
| 193. | Topiramat | 1,1 | 0,9 | 0,3 | 241. |
| 194. | Aceclofenac | 1,1 | 0,0 | 1,1 | 134. |
| 195. | Efavirenz | 1,1 | 0,8 | 0,2 | 253. |
| 196. | Betahistin | 1,1 | 0,1 | 1,0 | 137. |
| 197. | Codein | 1,1 | 0,2 | 0,9 | 142. |
| 198. | Oxazepam | 1,0 | 0,2 | 0,8 | 152. |
| 199. | Methylphenidat | 1,0 | 0,1 | 0,9 | 141. |
| 200. | Dimenhydrinat | 1,0 | 0,3 | 0,6 | 163. |

| | |
|---|---|
| Restwirkstoff | Menge nicht metabolisierten Wirkstoffes |
| Metabolitenmasse | potenziell entstehende Menge an Metaboliten |
| Pos. Sort. Metaboliten | Position bei Sortierung nach der Masse an entstehenden Metaboliten |

Tab. 36: Auswahl von 19 metabolisierten Wirkstoffen und ihren Metaboliten, ergänzt durch 2 nicht metabolisierte Wirkstoffe – Darstellung mit Auswahlkriterien

| Substanz | Status | CAS-Nr. | Verf. | Log $K_{ow}$ | Abbau | Mutagenität |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Acetylsalicylsäure** | **MS** | **50-78-2** | v | 1,19 | 0,62 | 20 % |
| Salicylsäure | ME | 69-72-7 | v | 2,26 | 0,60 | 20 % |
| Salicylursäure | ME | 487-54-7 | v | 0,95 | 0,65 | 80 % |
| Gentisinsäure | ME | 490-79-9 | v | 1,74 | 0,48 | 60 % |
| Gentisursäure | ME | 25351-24-0 | v | 0,54 | 0,51 | 85 % |
| **Allopurinol 1** | **MS** | **315-30-0** | v | −1,00 | 0,29 | 20 % |
| **Allopurinol 2** | **MS** | **315-30-0** | | −1,09 | 0,25 | 20 % |
| Oxipurinol | ME | 2465-59-0 | v | −1,87 | 0,28 | 20 % |
| **Amoxicillin 1** | **MS** | **26787-78-0** | v | 0,87 | 0,23 | 20 % |
| **Amoxicillin 2** | **MS** | **26787-78-0** | v | 0,87 | 0,64 | |
| Penicilloinsäure | ME | 11039-68-2 | | −0,50 | 0,41 | 20 % |
| **Carbamazepin** | **MS** | **298-46-4** | v | 2,45 | 0,16 | 76 % |
| Carbamazepinglukuronid | ME | 60342-79-2 | | 1,57 | 0,22 | 76 % |
| Carbamazepin-10,11-epoxid | ME | 36507-30-9 | v | 1,73 | 0,05 | 76 % |
| trans-10,11-Dihydroxy-10,11-dihydrocarbamazepin | ME | 58955-93-4 | v | 0,62 | 0,25 | 76 % |
| 9-Hydroxymethyl-10-carbamoylacridan | ME | 68011-71-2 | | 1,64 | 0,19 | 86 % |
| 2-Hydroxycarbamazepin | ME | 68011-66-5 | | 2,09 | 0,18 | 76 % |
| 3-Hydroxycarbamazepin | ME | 68011-67-6 | | 2,10 | 0,14 | 76 % |
| **Clindamycin 1** | **MS** | **18323-44-9** | v | 2,16 | 0,06 | 20 % |
| **Clindamycin 2** | **MS** | **18323-44-9** | v | 2,16 | 0,31 | |
| Hydroxy-Clindamycin | ME | | | 0,38 | 0,25 | 20 % |
| N-Demethyl-Clindamycin | ME | | | 1,63 | 0,40 | 20 % |
| Clindamycin-Sulfoxid | ME | | | −0,20 | 0,08 | 20 % |
| N-Demethyl-Clindamycin-Sulfoxid | ME | | | −0,44 | 0,41 | 20 % |
| 5'-Oxo-Clindamycin | ME | | | −0,47 | 0,16 | 20 % |
| 5'-Oxo-Clindamycin-Sulfoxid | ME | | | −2,53 | 0,17 | 20 % |
| **Diclofenac** | **MS** | **15307-86-5** | v | 4,51 | 0,22 | |
| **Diclofenac, Natriumsalz** | **MS** | **15307-79-6** | v | 0,70 | 0,13 | 20 % |
| **Diclofenac, Kaliumsalz** | **MS** | **15307-81-0** | v | 0,65 | 0,14 | |
| Diclofenac-Glukuronid | ME | | | 1,91 | 0,49 | 20 % |
| 3'-Hydroxydiclofenac | ME | 69002-85-3 | | 3,37 | 0,23 | 20 % |
| 4'-Hydroxydiclofenac | ME | 64118-84-9 | v | 3,70 | 0,18 | 20 % |
| 5-Hydroxydiclofenac | ME | 69002-84-2 | v | 3,94 | 0,24 | 20 % |

Fortsetzung der Tabelle

| Substanz | Status | CAS-Nr. | Verf. | Log $K_{ow}$ | Abbau | Mutagenität |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 4'-5-Dihydroxydiclofenac | ME | 69002-86-4 | | 2,65 | 0,26 | 20 % |
| 3'-Hydroxy-4'-methoxydiclofenac | ME | 106610-60-0 | | 3,36 | 0,17 | 20 % |
| 5-Hydroxy-4-(glutathion-S-yl)-diclofenac | ME | | | −1,55 | 0,39 | 80 % |
| 5-Hydroxy-6-(glutathion-S-yl)-diclofenac | ME | | | | 0,57 | |
| 4'-Hydroxy-3'-(glutathion-S-yl)-diclofenac | ME | | | −1,52 | 0,39 | 80 % |
| 4'-Hydroxy-2'-glutathion-deschlorodiclofenac | ME | | | −2,13 | 0,45 | 20 % |
| **Fenofibrat** | **MS** | **49562-28-9** | v | 5,45 | 0,30 | 20 % |
| Fenofibrinsäure | ME | 42017-89-0 | v | 4,11 | 0,18 | 20 % |
| **Ibuprofen** | **MS** | **15687-27-1** | v | 3,97 | 0,51 | 20 % |
| 2-Hydroxy-Ibuprofen | ME | 51146-55-5 | v | 2,38 | 0,44 | 20 % |
| 2-Carboxy-Ibuprofen | ME | 15935-54-3 | v | 2,18 | 0,42 | 20 % |
| 2-Phenylpropansäure (Hydratropsäure) | ME | 492-37-5 | v | 2,02 | 0,54 | 66 % |
| **Metamizol** | **MS** | **50567-35-6** | v | −3,08 | 0,30 | |
| **Metamizol, Natriumsalz** | **MS** | **68-89-3** | v | −3,61 | 0,38 | 66 % |
| **Metamizol, Natriumsalz, Monohydrat** | **MS** | **5907-38-0** | v | −4,76 | 0,29 | |
| 4-N-Methylaminoantipyrin | ME | 519-98-2 | v | 1,20 | 0,33 | 66 % |
| 4-Aminoantipyrin | ME | 83-07-8 | v | 0,67 | 0,32 | |
| 4-N-Acetylaminoantipyrin | ME | 83-15-8 | v | 0,56 | 0,22 | 66 % |
| 4-N-Formylaminoantipyrin | ME | 1672-58-8 | v | 0,85 | 0,31 | 66 % |
| 4-(N-Nitroso-N-methyl)aminoantipyrin | ME | 73829-38-6 | | 0,77 | 0,21 | 95 % |
| **Metformin** | **(MS)** | **657-24-9** | v | | | |
| **Metoprolol** | **MS** | **37350-58-6 / 51384-51-1** | v | 1,88 | 0,49 | 20 % |
| α-Hydroxymetoprolol | ME | 56392-16-6 | v | 0,61 | 0,52 | 20 % |
| O-Demethylmetoprolol | ME | 62572-94-5 | | 1,33 | 0,57 | 20 % |
| Metoprololsäure | ME | 56392-14-4 | | −0,63 | 0,42 | 20 % |
| deaminiertes Metoprolol / 2-hydroxy-3-(4-(2-methoxyethyl)-phenoxy)-Propanolsäure | ME | 56392-15-5 | | 0,88 | 0,56 | 20 % |
| potenziell: N-Nitrosometoprolol | ME | 134720-05-1 | | 2,02 | 0,23 | 77 % |
| **Paracetamol (Acetaminophen)** | **MS** | **103-90-2** | v | 0,46 | 0,46 | 60 % |
| Paracetamol-Glukuronid | ME | 16110-10-4 | v | −1,12 | 0,31 | 20 % |
| Paracetamol-Sulfat | ME | 10066-90-7 | v | −2,44 | 0,33 | 20 % |
| 3-Hydroxyparacetamol | ME | | | 0,07 | 0,55 | 60 % |
| p-Aminophenol | ME | 123-30-8 | v | 0,04 | 0,47 | 60 % |

Fortsetzung der Tabelle

| Substanz | Status | CAS-Nr. | Verf. | Log $K_{ow}$ | Abbau | Mutagenität |
|---|---|---|---|---|---|---|
| N-Acetyl-p-benzochinonim | ME | 50700-49-7 | v | 0,97 | 0,53 | 20 % |
| **Pentoxifyllin** | **MS** | **6493-05-6** | v | 0,29 | 0,31 | 92 % |
| 1-(5'-Hydroxyhexyl)-3,7-dimethylxanthine (Lisophyllin) | ME | 6493-06-7 | v | 0,75 | 0,20 | 92 % |
| 1-(3'-Carboxypropyl)-3,7-dimethylxanthin | ME | 6493-07-8 | v | −0,11 | 0,48 | 98 % |
| 1-(4'-Carboxybutyl)-3,7-dimethylxanthin | ME | 38975-44-9 | | 0,38 | 0,46 | 92 % |
| **Piracetam** | **(MS)** | **7491-74-9** | v | | | |
| **Ranitidin** | **MS** | **66357-35-5** | v | 0,27 | 0,16 | |
| **Ranitidin-Hydrochlorid** | **MS** | **71130-06-8 / 66357-59-3** | v | 0,27 | 0,16 | |
| Ranitidin-N-oxid | ME | 73857-20-2 | v | 1,03 | 0,25 | |
| Ranitidin-S-oxid | ME | 73851-70-4 | v | −0,96 | 0,16 | |
| Desmethylranitidin | ME | 66357-25-3 | | 0,61 | 0,40 | |
| **Sulfamethoxazol 1** | **MS** | **723-46-6** | v | 0,89 | 0,19 | |
| **Sulfamethoxazol 2** | **MS** | **723-46-7** | | 0,47 | | 20 % |
| **Sulfamethoxazol, Natriumsalz** | **MS** | **4563-84-2** | v | 0,89 | 0,19 | 66 % |
| **Sulfamethoxazol-Trimethoprim-Kombination (Co-Trimoxazol)** | **MS** | **8064-90-2** | v | | −0,20 | |
| Sulfamethoxazol-Hydroxylamin | ME | 114438-33-4 | | 0,86 | 0,29 | 85 % |
| 4-Nitrososulfamethoxazol | ME | 131549-85-4 | | 1,61 | 0,29 | 66 % |
| N-Acetoxysulfamethoxazol | ME | 169306-48-3 | | 0,92 | 0,48 | 66 % |
| N-1-Acetylsulfamethoxazol | ME | 18607-98-2 | | 0,67 | 0,46 | 66 % |
| N-4-Acetylsulfamethoxazol | ME | 21312-10-7 | v | 1,24 | 0,50 | 66 % |
| **Sulfasalazin 1** | **MS** | **599-79-1** | v | 1,47 | 0,23 | |
| **Sulfasalazin 2** | **MS** | **599-79-1** | | 1,07 | 0,28 | |
| **Sulfasalazin 3** | **MS** | **599-79-1** | | 1,07 | 0,55 | |
| Sulfapyridin | ME | 144-83-2 | v | 0,35 | 0,11 | |
| N-Acetylsulfapyridin | ME | 19077-98-6 | v | 1,29 | 0,43 | |
| Acetylsulfapyridin-O-glukuronid | ME | 69233-18-7 | | −0,90 | 0,40 | |
| Hydroxysulfapyridin | ME | | | 0,60 | 0,12 | 81 % |
| Hydroxysulfapyridinglukuronid | ME | | | −1,52 | 0,18 | |
| 5-Aminosalicylsäure | ME | 89-57-6 | v | 1,18 | 0,36 | 20 % |
| N-Acetyl-5-aminosalicylsäure | ME | 51-59-2 | v | 1,45 | 0,35 | 75 % |
| **Tilidin (Hydrochlorid)** | **MS** | **24357-97-9** | v | 3,88 | 0,50 | 98 % |
| Nortilidin | ME | 38677-94-0 | | 3,40 | 0,65 | 98 % |

Fortsetzung der Tabelle

| Substanz | Status | CAS-Nr. | Verf. | Log $K_{ow}$ | Abbau | Mutagenität |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Bisnortilidin | ME | 53948-51-9 | | 3,32 | 0,59 | 98 % |
| **Trimethoprim** | **MS** | **738-70-5** | v | 0,91 | 0,17 | 66 % |
| **Trimethoprimsulfat** | **MS** | **56585-33-2** | v | | −0,08 | |
| 3'-Desmethyl-Trimethoprim | ME | | | 0,57 | 0,16 | 90 % |
| 4'-Desmethyl-Trimethoprim | ME | | | 0,37 | 0,18 | 66 % |
| Trimethoprim-1-N-oxid | ME | | | 0,19 | 0,17 | |
| Trimethoprim-3-N-oxid | ME | | | 1,50 | 0,17 | |
| a-Hydroxy-Trimethoprim | ME | | | 0,57 | 0,16 | 90 % |
| **Valproinsäure** | **MS** | **99-66-1** | v | 2,75 | 0,63 | |
| **Natriumvalproat** | **MS** | **1069-66-5** | v | 0,95 | 0,44 | 20 % |
| Valproinsäureglukuronid | ME | 60113-83-9 | | 0,58 | 0,72 | 20 % |
| 2-Propyl-2-pentensäure | ME | 60218-41-9 | v | 2,49 | 0,62 | 20 % |
| 2-Propyl-4-pentensäure | ME | 1575-72-0 | v | 2,56 | 0,72 | 20 % |
| 3-Hydroxyvalproinsäure | ME | | | 1,34 | 0,44 | 20 % |
| 3-Ketovalproinsäure | ME | | | 0,98 | 0,73 | 20 % |
| **Verapamil** | **MS** | **52-53-9** | v | 3,79 | 0,40 | |
| **Verapamilhydrochlorid** | **MS** | **152-11-4** | v | 3,79 | 0,53 | 20 % |
| Norverapamil 2,8-bis-(3,4-dimethoxyphenyl)-2-isopropyl-6-azaoctanitril | ME | 67018-85-3 | | 5,13 | 0,56 | 20 % |
| D-617 / N-Dealkylverapamil; 2-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-methylamino-2-isopropylvaleronitril | ME | | | 3,18 | 0,63 | 20 % |
| D-620 / N-Dealkylnorverapamil | ME | | | 2,63 | 0,57 | 20 % |
| D-702 / 2-(3,4-dimethoxy-phenyl)-8-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-6-methyl-2-isopropyl-6-azaoctanitril | ME | | | 5,11 | 0,48 | 20 % |
| D-703 / (2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-8-(3,4-dimethoxy-phenyl)-6-methyl-2-isopropyl-6-azaoctanitril | ME | | | 5,11 | 0,51 | 20 % |
| PR 22 / D-715 / N-Dealkylverapamil 2-(4-hydroxy-3-meth-oxyphenyl)-8-(3,4-dimethoxyphenyl)-6-methyl-2-isopropyl-6-azaoctanitril | ME | | | 4,78 | 0,54 | 20 % |
| PR-25 / 2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-methylamino-2-isopropylvaleronitril | ME | | | 2,83 | 0,61 | 20 % |

| | |
|---|---|
| Status | MS=Muttersubstanz / (MS)=in der Liste ergänzte, nicht metabolisierte Muttersubstanz / ME=Metabolit |
| CAS-Nr. | Identifikations-Nr. des Chemical Abstracts Service |
| Verf. | kommerzielle Verfügbarkeit, v=verfügbar |
| Log $K_{ow}$ | mit QSAR kalkulierter oder experimentell bestimmter Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser |
| Abbau | zusammengefasste Vorhersage für die aerobe biologische Abbaubarkeit verschiedener QSAR-Modelle (Skala 0–1) |
| Mutagenität | QSAR-Vorhersage von Multicase zur Wahrscheinlichkeit von Mutagenität / Gentoxizität |

Tab. 37: Auswahl von 7 Metaboliten und 3 Wirkstoffen – Darstellung mit Auswahlkriterien

| Substanz | Status | CAS-Nr. | Verf. | Log $K_{ow}$ | Abbau | Mutagenität |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Carbamazepin-10,11-epoxid | ME | 36507-30-9 | v | 1,73 | 0,05 | 76 % |
| trans-10,11-Dihydroxy-10,11-dihydrocarbamazepin | ME | 58955-93-4 | v | 0,62 | 0,25 | 76 % |
| 4-N-Acetylaminoantipyrin | ME | 83-15-8 | v | 0,56 | 0,22 | 66 % |
| 4-N-Formylaminoantipyrin | ME | 1672-58-8 | v | 0,85 | 0,31 | 66 % |
| Metformin | (MS) | **657-24-9** | v | | | |
| a-Hydroxymetoprolol | ME | 56392-16-6 | v | 0,61 | 0,52 | 20 % |
| 1-(3'-Carboxypropyl)-3,7-dimethylxanthin | ME | 6493-07-8 | v | −0,11 | 0,48 | 98 % |
| Piracetam | (MS) | **7491-74-9** | v | | | |
| Sulfamethoxazol, Natriumsalz | MS | **4563-84-2** | v | 0,89 | 0,19 | 66 % |
| Sulfapyridin | ME | 144-83-2 | v | 0,35 | 0,11 | |

| | |
|---|---|
| Status | MS=Muttersubstanz / (MS)=in der Liste ergänzte, nicht metabolisierte Muttersubstanz / ME=Metabolit |
| CAS-Nr. | Identifikations-Nr. des Chemical Abstracts Service |
| Verf. | kommerzielle Verfügbarkeit, v=verfügbar |
| Log $K_{ow}$ | mit QSAR kalkulierter oder experimentell bestimmter Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser |
| Abbau | zusammengefasste Vorhersage für die aerobe biologische Abbaubarkeit verschiedener QSAR-Modelle (Skala 0–1) |
| Mutagenität | QSAR-Vorhersage von Multicase zur Wahrscheinlichkeit von Mutagenität / Gentoxizität |

Tab. 38: Auswahl von 3 Metaboliten und 2 Wirkstoffen – Darstellung mit Auswahlkriterien

| Substanz | Status | CAS-Nr. | Verf. | Log $K_{ow}$ | Abbau | Mutagenität |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 4-N-Acetylaminoantipyrin | ME | 83-15-8 | v | 0,56 | 0,22 | 66 % |
| 4-N-Formylaminoantipyrin | ME | 1672-58-8 | v | 0,85 | 0,31 | 66 % |
| Metformin | (MS) | **657-24-9** | v | | | |
| Piracetam | (MS) | **7491-74-9** | v | | | |
| Sulfapyridin | ME | 144-83-2 | v | 0,35 | 0,11 | |

| | |
|---|---|
| Status | MS=Muttersubstanz / (MS)=in der Liste ergänzte, nicht metabolisierte Muttersubstanz / ME=Metabolit |
| CAS-Nr. | Identifikations-Nr. des Chemical Abstracts Service |
| Verf. | kommerzielle Verfügbarkeit, v=verfügbar |
| Log $K_{ow}$ | mit QSAR kalkulierter oder experimentell bestimmter Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser |
| Abbau | zusammengefasste Vorhersage für die aerobe biologische Abbaubarkeit verschiedener QSAR-Modelle (Skala 0–1) |
| Mutagenität | QSAR-Vorhersage von Multicase zur Wahrscheinlichkeit von Mutagenität / Gentoxizität |

# Stoffdossiers

Die Stoffdossiers der ausgewählten Wirkstoffe sind in alphabetischer Reihenfolge angeordnet.

## Stoffdossier Acetylsalicylsäure

Tab. 39: Acetylsalicylsäure und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Acetylsalicylsäure | 50-78-2 |
| **Metabolite** | |
| Salicylsäure | 69-72-7 |
| Salicylursäure und deren Konjugate | 487-54-7 |
| Gentisinsäure | 490-79-9 |
| Gentisursäure | 25351-24-0 |

### Pharmakologie und Toxizität von Acetylsalicylsäure

Acetylsalicylsäure ist ein Analgetikum, Antipyretikum und Antiphlogistikum und hemmt die Thrombozytenaggregation. Tagesdosen sind, je nach Verwendungszweck, 30 mg–6000 mg. Übliche Nebenwirkungen sind vor allem gastrointestinale Beschwerden. Gelegentlich wurde das Auftreten von Asthma berichtet. Bei hohen Dosen können Kopfschmerzen, Hautausschläge, Hyperglykämie oder Hypoglykämie, Schwindel, Ohrensausen, Seh- und Hörstörungen, Tremor, Verwirrtheitszustände, Hyperthermie, Hyperventilation, Störungen des Säure-Basen-Gleichgewichtes, Lebereffekte, Exsikkose und Ateminsuffizienz auftreten. In Teratogenitätsstudien an verschiedenen Spezies mit Acetylsalicylsäure wurden bei Dosen ab 75 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ Fehlbildungen und weitere Fruchtschäden beobachtet. Acetylsalicylsäure war im Ames-Test negativ, in *Bacillus subtilis* dagegen mutagen. Zytogenetische Untersuchungen mit Salicylsäure in Hamsterzellkulturen erbrachten widersprüchliche Ergebnisse. Acetylsalicylsäure war in *Drosophila* nicht mutagen. Langzeitstudien mit Acetylsalicylsäure an Ratten und Mäusen zeigten kein kanzerogenes Potenzial [138, 139, 141, 143, 144].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Die Resorption von Acetylsalicylsäure nach oraler Exposition ist nahezu vollständig (80 %−100 %), jedoch ist die Bioverfügbarkeit wegen eines *First-Pass*-Effektes in der Leber geringer. Eine Hydrolyse von Acetylsalicylsäure zu Salicylsäure erfolgt bereits in der Darmschleimhaut. Hauptmetaboliten der Acetylsalicylsäure sind neben der Salicylsäure das Glycinkonjugat der Salicylsäure (Salicylursäure), die Ether- und Esterglukuronide der Salicylsäure (Salicylphenolglukuronid und Salicylacetylglukuronid). Etwa 75 % einer verabreichten Dosis werden als Salicylursäure über den Urin ausgeschieden, 10 % als Salicylsäure und 10 %−20 % als Glukuronide. In geringen Mengen entstehen auch durch Oxidation von Salicylsäure Gentisinsäure und deren

Glycinkonjugat, die Gentisinursäure. Bei höheren Dosen wird wegen Sättigung des Stoffwechsels weniger Salicylursäure und vermehrt Salicylsäure ausgeschieden. Die Eliminationshalbwertszeit der Salicylsäure beträgt je nach Dosis 2 h−30 h [138, 139, 141, 143].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Die akute Toxizität von Acetylsalicylsäure ist größer als die der Metabolite: in der Maus waren die LD50-Werte für Acetylsalicylsäure 250 mg/kg, für Salicylsäure 480 mg/kg, für Salicylursäure >1000 mg/kg und für Gentisinsäure 4500 mg/kg. In einer chronischen Studie an Ratten wurden nach oraler Exposition auch gegenüber der höchsten getesteten Dosis von 200 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ Acetylsalicylsäure keine schädlichen Effekte beobachtet. Wegen der schnellen Hydrolyse zu Salicylsäure wurde dieser NOAEL auch für diesen Metaboliten als bewertungsrelevant angesehen.

In Teratogenitätsstudien an verschiedenen Spezies mit Acetylsalicylsäure und Salicylsäure wurden bei Dosen ab 75 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ Fehlbildungen und weitere Fruchtschäden beobachtet. Acetylsalicylsäure und Salicylsäure waren im Ames-Test negativ, in *Bacillus subtilis* waren beide Substanzen mutagen. Zytogenetische Untersuchungen mit Salicylsäure in Hamsterzellkulturen erbrachten widersprüchliche Ergebnisse. Acetylsalicylsäure war in *Drosophila* nicht mutagen. Langzeitstudien mit Acetylsalicylsäure an Ratten und Mäusen zeigten kein kanzerogenes Potenzial, was auch auf den Hauptmetaboliten Salicylsäure zu extrapolieren ist. Human- und Tierdaten zeigen eine antikanzerogene Wirkung von Acetylsalicylsäure [142, 144].

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Die Metabolite von Acetylsalicylsäure sind pharmakologisch wirksam, jedoch akut weniger toxisch als diese. Es besteht die Möglichkeit, dass die im Organismus gebildeten Konjugate der Metaboliten in der Umwelt wieder gespalten werden, was zur Rückbildung der ursprünglichen Metaboliten führen würde. Die Mutagenität von Acetylsalicylsäure und Salicylsäure ist unklar.

Acetylsalicylsäure und die Metabolite Salicylsäure, Salicylursäure und Gentisinsäure wurden in Zuläufen von Kläranlagen in Konzentrationen von 1,5 µg/L−5 µg/L bestimmt. Dagegen waren die Werte in den Abläufen mit 0,2 µg/L−0,3 µg/L geringer. In Fließgewässern wurde Salicylsäure, die auch natürlichen Ursprungs sein kann, nur in Spuren nachgewiesen [138, 140].

### Literatur

138. ARGE, Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe: *Arzneistoffe in Elbe und Saale*. 2003. www.arge-elbe.de/wge/Download/Berichte/03Arzn.pdf (Abfragedatum März 2007)
139. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
140. Hilp M: *Arzneimittelbelastung in der Umwelt*. Pharmazeutische Zeitung 47/2006. www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=2280&type=0 (Abfragedatum März 2007)

141. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
142. NLM, U.S. National Library of Medicine: *ChemIDplus Advanced* 2007b. chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidheavy.jsp (Abfragedatum März 2007)
143. ÖKK: *Medikamentenvergleich online*. 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
144. SCCNFP, Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products: *Opinion of the Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products intended for Consumers Concerning Salicylic Acid adopted by the SCCNFP during the 20th plenary meeting of 4 June 2002*. www.eu.nl/food/fs/sc/sccp/out170_en.pdf (Abfragedatum März 2007)

## Stoffdossier Allopurinol

Tab. 40: Allopurinol und Metabolit

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Allopurinol | 315-30-0 |
| **Metabolit** | |
| Oxipurinol | 2465-59-0 |

### Pharmakologie und Toxizität von Allopurinol

Allopurinol ist ein Xanthinoxidase-Hemmer, es hemmt die Harnsäureproduktion und wird deshalb zur Therapie von Gicht (aufgrund von Hyperurikämie) und Nierensteinen eingesetzt. Die Tagesdosis ist 100 mg−800 mg und muss bei Niereninsuffizienz reduziert werden. Die häufigsten beobachteten Nebenwirkungen sind (teilweise verzögert auftretende) erythematöse oder makulopapulöse juckende Hautausschläge. In seltenen Fällen kann sich eine starke Hypersensitivität entwickeln. Gelegentlich wurden auch gastrointestinale Beschwerden und Nierenfunktionsstörungen berichtet, seltener kommt es zu Lebereffekten oder hämatologischen Veränderungen. Allopurinol war in Bakterientests und bei Untersuchungen mit humanen Lymphozyten in vitro nicht mutagen. Allopurinol wirkte in Langzeitstudien an Ratten nicht kanzerogen (Dosis 10 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$), jedoch nach Initiation mit N-Nitroso-n-butyl-(4-hydroxybutyl)amin tumorpromovierend in der Blase [145, 146, 150, 148, 149].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Allopurinol wird rasch zu etwa 80 % oral resorbiert, ca. 20 % werden über Fäzes eliminiert. Nach systemischer Resorption werden 5 %−30 % Muttersubstanz (zunehmend bei chronischer Gabe) über den Urin ausgeschieden, der Rest wird hauptsächlich zu Oxipurinol (auch als Alloxanthin bezeichnet) metabolisiert und ebenfalls über den Urin eliminiert. Die Ausscheidung von Oxipurinol erfolgt wegen tubulärer Rückresorption verzögert, es besteht die Möglichkeit der Akkumulation. Allopurinol und Oxipurinol können als Purinanaloge Ribonukleotide und -nukleoside bilden, welche in geringen Mengen im Urin nachweisbar sind [145, 150, 151].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Oxipurinol ist pharmakologisch gleich wirksam wie Allopurinol und wird auch teilweise anstelle von Allopurinol verwendet. Die Ribonukleotide und -nukleoside sind pharma-

kologisch nicht wirksam [145, 150, 151, 152]. Wegen der längeren biologischen Halbwertszeit wurde vermutet, dass Oxipurinol für die Auslösung der Hypersensitivität verantwortlich sein könnte. Dies wurde in 3 Fällen bestätigt [147].

Allopurinol und Oxipurinol waren in Bakterientests und bei Untersuchungen mit humanen Lymphozyten in vitro nicht mutagen. Allopurinol wirkte in Langzeitstudien an Ratten nicht kanzerogen (Dosis 10 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$), jedoch nach Initiation mit N-Nitroso-n-butyl-(4-hydroxybutyl)amin tumorpromovierend in der Blase [146]. Nachdem Oxipurinol der Hauptmetabolit von Allopurinol (mit längerer Halbwertszeit im Organismus) ist, haben diese Erkenntnisse auch für Oxipurinol Relevanz.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Der Metabolit Oxipurinol ist pharmakologisch aktiv und möglicherweise auch Verursacher der allergischen Hautreaktionen nach Allopurinol-Exposition. Es besteht der Verdacht tumorpromovierender Wirkung in der Blase.

Angaben zu Umweltvorkommen von Allopurinol oder Oxipurinol liegen nicht vor.

### Literatur


145. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
146. EPA, Environmental Protection Agency: *Xanthine (116900) and Oxypurinol (447509) Technical Document*. 1999. www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/tech_docs/tech_116900.htm (Abfragedatum März 2007)
147. Hamanaka H, Mizutani H, Nouchi N, Shimizu Y, Shimizu M: *Allopurinol hypersensitivity syndrome: hypersensitivity to oxypurinol but not allopurinol*. Clin Exp Dermatol 1998; 23:32−34
148. Markel A: *Allopurinol-induced DRESS Syndrome*. IMAJ 2005;7:656−660
149. Merck: *Allopurinol. Drug Information Provided by Lexi-Comp*. 2006 www.merck.com/mmpe/lexicomp/allopurinol.html (Abfragedatum März 2007)
150. NLM, U.S. National Library of Medicine: *ChemIDplus Advanced* 2007b. chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidheavy.jsp (Abfragedatum März 2007)
151. ÖKK: *Medikamentenvergleich online*. 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
152. Walter-Sack I, de Vries JX, Ernst B, Frei M, Kolb S, Kosmowski J, Priebe U, Schroder HE, Slotty C, Voss A, Weber A, Wegscheider K: *Uric acid lowering effect of oxipurinol sodium in hyperuricemic patients – therapeutic equivalence to allopurinol*. J Rheumatol 1996;23:498−501


## Stoffdossier Amoxicillin

Tab. 41: Amoxicillin und Metabolit

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Amoxicillin | 26787-78-0 |
| **Metabolit** | |
| Penicilloinsäure | 11039-68-2 |

### Pharmakologie und Toxizität von Amoxicillin

Amoxicillin ist ein Breitband-Antibiotikum, das z.T. auch in fixen Kombination mit Inhibitoren der bakteriellen β-Laktamasen wie Clavulansäure eingesetzt wird. Die übliche Tagesdosis ist 1000 mg−3000 mg. Häufigste Nebenwirkungen sind gastrointestinale Beschwerden und allergische Hautreaktionen. Seltener kommt es zu Leberfunktionsstörungen und nur in Einzelfällen zu Leber- oder Nierenschäden oder hämatologischen Veränderungen. In Human- und Tierstudien wurde keine fruchtschädigende Wirkung beobachtet. In menschlichen Lymphozyten und Mukosazellen des Magens verursachte Amoxicillin in vitro oxidative DNA-Schäden [153, 154, 156, 157, 159].

### Toxikokinetik und Metabolismus

75 %−95 % einer oralen Dosis werden im Magen-Darmtrakt absorbiert. Etwa 20 %−30 % einer oral verabreichten Amoxicillin-Dosis werden in der Leber metabolisiert. Der Hauptmetabolit ist die bakteriologisch inaktive Penicilloinsäure. 60 %−75 % der verabreichten Dosis werden als unveränderter Wirkstoff über den Urin ausgeschieden und 10 %−25 % als Penicilloinsäure. Bei Nierenfunktionsstörungen ist die Ausscheidung verzögert [153, 157, 159].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Der Hauptmetabolit Penicilloinsäure ist bakteriologisch inaktiv [159].

In Allergietests reagierten ca. 55 % der Patienten mit Penicillinallergie positiv auf Penicilloinsäure [160]. Weitere Informationen zur Toxizität des Metaboliten liegen nicht vor.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Penicilloinsäure ist der pharmakologisch inaktive Hauptmetabolit von Amoxicillin.

Amoxicillin ist in der Umwelt wegen der leichten Abbaubarkeit durch mikrobielle Laktamasen nicht in relevanten Konzentrationen zu erwarten. Amoxicillin war nur selten und meist in geringen Konzentrationen in Oberflächengewässern oder Kläranlagen nachzuweisen [155]. Angaben zu Metaboliten liegen nicht vor.

### Literatur


153. Arabski M, Kazmierczak P, Wisniewska-Jarosinska M, Poplawski T, Klupinska G, Chojnacki J, Drzewoski J, Blasiak J: *Interaction of amoxicillin with DNA in human lymphocytes and H. pylori-infected and non-infected gastric mucosa cells*. Chem Biol Interact 2005;152:13−24, zitiert nach NLM, 2007b
154. Berkovitch M, Diav-Citrin O, Greenberg R, Cohen M, Bulkowstein M, Shechtman S, Bortnik O, Arnon J, Ornoy A: *First-trimester exposure to amoxycillin/clavulanic acid: a prospective, controlled study*. Br J Clin Pharmacol 2004; 58:298−302, zitiert nach NLM, 2007b
155. BLAC, Bund/Länderausschuss für Chemikaliensicherheit: *Arzneimittel in der Umwelt Auswertung der Untersuchungsergebnisse Freie und Hansestadt Hamburg*. Behörde für Umwelt und Gesundheit, Institut für Hygiene und Umwelt 2003. www.blak-uis.de/servlet/is/2146/P-2c.pdf (Abfragedatum März 2007)

156. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
157. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
158. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b. www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum März 2007)
159. ÖKK: *Medikamentenvergleich online*. 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
160. Sullivan TJ, Wedner HJ, Shatz GS, Yecies LD, Parker CW: *Skin testing to detect penicillin allergy*. J Allergy Clin Immunol 1981;68:171−180, zitiert nach NLM, 2007b

## Stoffdossier Carbamazepin

Tab. 42: Carbamazepin und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Carbamazepin | 298-46-4 |
| **Metabolite** | |
| Carbamazepinglukuronid | 60342-79-2 |
| Carbamazepin-10,11-epoxid | 36507-30-9 |
| trans-10,11-Dihydroxy-10,11-dihydrocarbamazepin | 58955-93-4 |
| 9-Hydroxymethyl-10-carbamoylacridan | 68011-71-2 |
| 2-Hydroxycarbamazepin | 68011-66-5 |
| 3- Hydroxycarbamazepin | 68011-67-6 |

### Pharmakologie und Toxizität von Carbamazepin

Carbamazepin ist ein Antiepileptikum und wird auch zur Behandlung von Trigeminusneuralgien sowie bipolaren Störungen und Alkoholentzugserscheinungen eingesetzt. Die Tagesdosis ist 100 mg bis (kurzzeitig) 2000 mg. Akut werden neurologische Symptome (Stupor, Reizbarkeit) und Atemdepression beobachtet. Bei längerfristiger Anwendung sind die häufigsten Symptome Kopfschmerz, Schwindel, Ataxie und Sehstörungen, es können auch gastrointestinale Beschwerden, hämatologische Veränderungen und allergische Reaktionen auftreten. Die Substanz induziert fremdstoffmetabolisierende Enzyme in der Leber. Bei Überdosierung kann es zu Krämpfen kommen. Carbamazepin verursachte in Patienten eine Induktion von Schwesterchromatidaustausch, jedoch keine anderen Chromosomenmutationen. Die Muttersubstanz und der Urin der Patienten war in Bakterien nicht mutagen [165, 173, 175, 176]. Carbamazepin führte in menschlichen Lymphozyten in vitro zur Bildung von Mikronuklei. Zur Induktion in vivo von Schwesterchromatidaustausch und Chromosomenaberrationen in Lymphozyten liegen widersprüchliche Angaben vor. In Tierstudien war Carbamazepin fruchtschädigend und kanzerogen [162, 165, 167, 173, 171, 178].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Carbamazepin wird langsam, aber fast vollständig resorbiert. Der Metabolismus ist komplex, insgesamt wurden beim Menschen 32 Metabolite identifiziert. Ein Hauptmetabolit ist das Carbamazepin-10,11-Epoxid (Plasmakonzentrationen bis zu 50 % der Konzentration der Muttersubstanz), welches entweder zu trans-10,11-Dihydroxy-10,11-dihydrocarbamazepin oder 9-Hydroxymethyl-10-carbamylacridan weiterrea-

giert. Trans-10,11-Dihydroxy-10,11-dihydrocarbamazepin repräsentiert etwa 35 % der mit dem Urin ausgeschiedenen Dosis und 9-Hydroxymethyl-10-carbamoylacridan 5 %. Aus beiden kann sich das 9-O-Glukuronid des Carbamylacridans bilden. Weitere Metabolite in relevanter Menge sind Hydroxycarbamazepine (25 %), welche als Glukuronide und Sulfate im Urin ausgeschieden werden sowie das N-Glukuronid des Carbamazepins (15 %). Als weitere Reaktionsprodukte können 2-Methylsulfinylcarbamazepin und 2-Methylsulfonylcarbamazepin entstehen (ca. 5 %). Insgesamt wurden 72 % einer verabreichten Dosis mit dem Urin ausgeschieden und 28 % in Fäzes [161, 165, 175].

Als weitere Metabolite des Carbamazepin-Epoxids in zellfreien Systemen wurden zwei Stereoisomere des 11-Glutathionyl-10-hydroxy-carbamazepin identifiziert [166].

Unter simulierten Magenbedingungen bildete sich in vitro in Gegenwart von Nitrit das N-Nitrosoderivat von Carbamazepin [179].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Das Carbamazepin-Epoxid ist pharmakologisch etwa gleich wirksam wie die Muttersubstanz, die anderen Metabolite sind inaktiv [161, 165, 175].

Sowohl das Carbamazepin-Epoxid als auch das N-Nitrosoderivat von Carbamazepin waren im Ames-Test nicht mutagen [168, 179]. Carbamazepin und die in der Tabelle aufgeführten Metabolite (mit Ausnahme des Glukuronids, welches nicht getestet wurde) verursachten in humanen Lymphozyten in vitro keine Schwesterchromatidaustausche oder Chromosomenaberrationen [170]. Das Carbamazepin-Epoxid und dessen Glutathionderivate binden in vitro an Protein [166].

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Hinsichtlich der pharmakologischen Wirksamkeit ist das Carbamazepin-Epoxid der Muttersubstanz vergleichbar, die anderen Metabolite sollen inaktiv sein. Die vorliegenden unvollständigen Daten zur Mutagenität von Metaboliten kamen zu negativen Ergebnissen.

Carbamazepin und Carbamazepin-Epoxid werden in Abwässern und Oberflächengewässern gefunden (Verhältnis etwa 6:1). Carbamazepin war in Oberflächengewässern (Median 0,07 µg/L) und im Zulauf von Kläranlagen in Konzentrationen von mehreren µg/L nachzuweisen, 0 %−37 % waren in Kläranlagen abbaubar [161, 163, 164, 169, 172, 180]. Carbamazepin ist durch Ozon, jedoch nicht oder nur wenig durch $ClO_2$ abbaubar [169].

Das Hauptabbauprodukt von Carbamazepin-Epoxid unter UV/$H_2O_2$-Einwirkung war Acridin, welches mutagen ist [177].

### Literatur

161. ARGE, Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe: *Arzneistoffe in Elbe und Saale* 2003. www.arge-elbe.de/wge/Download/Berichte/03Arzn.pdf (Abfragedatum März 2007)

162. Awara WM, El-Gohary M, El-Nabi SH, Fadel WA: *In vivo and in vitro evaluation of the mutagenic potential of carbamazepine: does melatonin have anti-mutagenic activity?* Toxicology 1998;125:45−52, zitiert nach NLM, 2007b
163. BLAC, Bund/Länderausschuss für Chemikaliensicherheit: *Arzneimittel in der Umwelt*. Auswertung der Untersuchungsergebnisse Freie und Hansestadt Hamburg, Behörde für Umwelt und Gesundheit, Institut für Hygiene und Umwelt 2003 www.blak-uis.de/servlet/is/2146/P-2c.pdf (Abfragedatum März 2007
164. BLfW, Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft: *Arzneistoffe in der Umwelt* 2004. www.bayern.de/lfw/service/download/mat114.pdf (Abfragedatum: März 2007)
165. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
166. Bu HZ, Kang P, Deese AJ, Zhao P, Pool WF: *Human in vitro glutathionyl and protein adducts of carbamazepine-10,11-epoxide, a stable and pharmacologically active metabolite of carbamazepine*. Drug Metab Dispos 2005;33:1920−1924, zitiert nach NLM, 2007b
167. Celik A: *The assessment of genotoxicity of carbamazepine using cytokinesis-block (CB) micronucleus assay in cultured human blood lymphocytes*. Drug Chem Toxicol 2006;29:227−236, zitiert nach NLM, 2007b
168. Glatt HR, Oesch F, Frigerio A, Garattini S: *Epoxides metabolically produced from some known carcinogens and from some clinically used drugs. I. Differences in mutagenicity*. Int J Cancer 1975;16:787−797
169. Huber MM: *Elimination of Pharmaceuticals during Oxidative Treatment of Drinking Water and Wastewater: Appllication of Ozone and Chlorine Dioxide*. A dissertation to the Swiss Federal Institute of Technology Zurich. 2004. e-collection.ethbib.ethz.ch/ecol-pool/diss/fulltext/eth15768.pdf (Abfragedatum März 2007)
170. Königstein M, Larisch M, Obe G: *Mutagenicity of antiepileptic drugs*. 1. Carbamazepine and some of its metabolites. Mutat Res 1984;139:83−86
171. Li S, Lu B, Yang X: *Relationship between the effect of carbamazepine on SCE frequencies and folic acid in epileptic patients*. Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao 1999;24: 563−565, zitiert nach NLM, 2007b
172. Metzger JW, Kuch B, Schneider C: *Pharmaka und Hormone in der aquatischen Umwelt* 2003. www.xfaweb.baden-wuerttemberg.de/fofaweb/print/wb_u5300_01.pdf (Abfragedatum: März 2007)
173. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
174. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b. www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum März 2007)
175. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org/ (Abfragedatum März 2007)
176. Sinues B, Gazulla J, Bernal ML, Lanuza J, Fanlo A, Saenz MA, Barolome M: *Six mutagenicity assays in exposure biomonitoring of patients receiving carbamazepine for epilepsy or trigeminal neuralgia*. Mutat Res 1995;334:259−265, zitiert nach NLM, 2007
177. Vogna D, Marotta R, Andreozzi R, Napolitano A,d'Ischia M: *Kinetic and chemical assessment of the UV/$H_2O_2$ treatment of antiepileptic drug carbamazepine*. Chemosphere 2004,54:497−505, zitiert nach NLM, 2007
178. WHO, World Health Organization: *Poisons Information Monographs PIM100* 1999. www.inchem.org/documents/pims/pharm/pim100.htm (Abfragedatum März 2007)
179. Ziebarth D, Schramm T, Braun R: *Microbial mutagenicity testing of N-nitrosoiminostilbene and N-nitrosoiminodibenzyl, the nitrosation products of the drugs carbamazepine and trimipramine hydrochloride*. Archiv für Geschwulstforschung 1989;59:393−397, zitiert nach NLM, 2007
180. Zühlke S: *Verhalten von Phenazonderivaten, Carbamazepin und estrogenen Steroiden während verschiedener Verfahren der Wasseraufbereitung*. Dissertation an der Technischen Universität Berlin 2004 edocs.tu-berlin.de/diss/2004/zuehlke_sebastian.pdf (Abfragedatum März 2007)

## Stoffdossier Clarithromycin

Tab. 43: Clarithromycin und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Clarithromycin | 81103-11-9 |
| **Metabolite** | |
| 14-Hydroxy-Clarithromycin | 110671-78-8 |
| N-Demethyl-Clarithromycin | |
| Clarithromycin-N-oxid | |

### Pharmakologie und Toxizität von Clarithromycin

Clarithromycin (6-O-Methyl-Erythromycin) ist ein Makrolid-Antibiotikum. Die übliche Tagesdosis ist 500 mg−1000 mg. Die häufigsten Nebenwirkungen sind gastrointestinale Beschwerden und allergische Hautreaktionen, seltener treten Kopfschmerzen, Leberfunktionsstörungen und hämatologische Veränderungen auf. Tests auf Gentoxizität (Mutagenität in Bakterien und Säugerzellen in vitro, Tests auf Induktion unplanmäßiger DNA-Synthese in vitro, Dominant-Letal- und Mikronukleustest in vivo) kamen zu negativen Resultaten. Hinsichtlich der Induktion von Chromosomenaberrationen in vitro sind widersprüchliche Ergebnisse berichtet. Daten zu kanzerogenen Effekten liegen nicht vor. Clarithromycin verursachte in Tierstudien Embryoletalität und Teratogenität [181, 183, 188].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Clarithromycin wird oral schnell und effizient resorbiert. Aufgrund eines starken *First-Pass*-Effektes in der Leber beträgt die Bioverfügbarkeit nur 50 %−55 %. Die Hauptmetabolite 14-Hydroxy-Clarithromycin und N-Demethyl-Clarithromycin entstehen in der Leber. Weiterhin werden im Magen geringe Mengen an Descladinosyl-Derivaten gebildet. 20 %−40 % der Muttersubstanz werden unverändert mit dem Urin ausgeschieden, 10 %−15 % als 14-Hydroxy-Clarithromycin. 40 % der verabreichten Dosis fanden sich in Fäzes (davon 4 % Muttersubstanz) [181, 183, 188].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

14-Hydroxy-Clarithromycin ist ebenfalls antibakteriell wirksam, die anderen Metabolite sind inaktiv [181, 183, 188]. Weitere Informationen zu den Metaboliten liegen nicht vor.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Clarithromycin wurde in Konzentrationen in Oberflächengewässern in wenigen ng/L und in Klärwerken (Zulauf: 0,3 µg/L−0,5 µg/L, Ablauf 0,15 µg/L−0,4 µg/L) gefunden [182, 186, 189]. Es wurde in Klärwerken zu 15 %-89 % abgebaut. Der Abbau durch $ClO_2$ war nur langsam, durch Ozon effektiver [184]. Bei der Reaktion mit Ozon bildet sich das N-Oxid [185].

## Literatur


181. AHFS: *AHFS Pharmacologic-Therapeutic Classification* 2007. American Society of Health-System Pharmacists, Inc., Bethesda, MD www.ashp.org/mngrphs/ahfs/ (Abfragedatum April 2007)
182. AWEL, Amt für Abfall, Wasser, Energie und Luft: *Organische Spurenstoffe im Grundwasser des Limmattales*. Ergebnisse der Untersuchungskampagne 2004 in Zusammenarbeit mit Eawag – Das Wasserforschungs-Institut des ETH-Bereichs und Kantonales Labor Zürich 2005. www.wasser.zh.ch/internet/bd/awel/wa/de/mikroverunr.SubContainerList.SubContainer1.ContentContainerList.0025.DownloadFile.pdf?CFC_cK=1227782200804 (Abfragedatum April 2007)
183. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
184. Feldmann DF: *Modellberechnungen zum Verhalten und Verbleib von Arzneimittelrückständen im Krankenhausabwasser und Beurteilungsmöglichkeiten ihres ökotoxikologischen Gefährdungspotentials*. Dissertation an der Technischen Universität Berlin 2005 opus.kobv.de/tuberlin/volltexte/2005/1059/pdf/feldmann_dirk.pdf (Abfragedatum April 2007)
185. Lange F, Cornelissen S, Kubac D, Sein MM, von Sonntag J, Hannich CB, Golloch A Heipieper HJ, Moder M, von Sonntag C: *Degradation of macrolide antibiotics by ozone: a mechanistic case study with clarithromycin*. Chemosphere 2006;65:17−23, zitiert nach NLM 2007
186. MUNLV, Ministerium für Umwelt, Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen: *Ergebnisbericht Rheingraben-Nord* 2007. www.niederrhein.nrw.de/rheingraben/ (Abfragedatum April 2007)
187. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b. www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum März 2007)
188. ÖKK: *Medikamentenvergleich online*. 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
189. UBA, Umweltbundesamt: *Arzneimittel in der Umwelt – Zu Risiken und Nebenwirkungen fragen Sie das Umweltbundesamt*. UBA-Texte 29/05 2005. www.umweltdaten.de/publikationen/fpdf-l/2976.pdf (Abfragedatum April 2007)


# Stoffdossier Clindamycin

Tab. 44: Clindamycin und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Clindamycin | 18323-44-9 |
| **Metabolite** | |
| Hydroxy-Clindamycin | |
| N-Demethyl-Clindamycin | |
| Clindamycin-Sulfoxid | |
| N-Demethyl-Clindamycin-Sulfoxid | |
| 5'-Oxo-Clindamycin | |
| 5'-Oxo-Clindamycin- Sulfoxid | |

## Pharmakologie und Toxizität von Clindamycin

Clindamycin ist ein Antibiotikum, das als Hydrochlorid, Phosphat oder Palmitat verabreicht wird. Die Tagesdosis ist 150 mg−2400 mg. Als relativ häufige Nebenwirkungen werden Auftreten von Diarrhö und Kolitis mit gastrointestinalen Beschwerden beschrieben, seltener Hautrötungen Lebereffekte und hämatologische Veränderungen [190, 193].

Angaben zu mutagenen oder kanzerogenen Effekten von Clindamycin liegen nicht vor.

### Toxikokinetik und Metabolismus

Clindamycin wird nach oraler Aufnahme nahezu vollständig resorbiert. Häufig werden als Hauptmetabolite N-Demethyl-Clindamycin (z.T. fälschlicherweise als Dimethyl-Clindamycin bezeichnet) und Clindamycin-Sulfoxid genannt, jedoch wurden noch weitere Metabolite beschrieben:

Hydroxy-Clindamycin.....15 % Ausscheidung
N-Demethyl-Clindamycin.....6 % Ausscheidung
Clindamycin-Sulfoxid.....35 % Ausscheidung
N-Demethyl-Clindamycin-Sulfoxid.....2 % Ausscheidung
5'-Oxo-Clindamycin .....Hauptmetabolit in Fäzes
5'-Oxo-Clindamycin-Sulfoxid .....keine Mengenangabe
Clindamycose.....keine Mengenangabe

Die Metabolite werden über Urin und Galle eliminiert, ca. 10 % einer verabreichten Dosis werden beim Menschen als Muttersubstanz über den Urin ausgeschieden [190, 192, 193].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Die Angaben zur pharmakologischen Wirksamkeit der Metabolite sind widersprüchlich: in Übersichtsarbeiten werden N-Demethyl-Clindamycin und Clindamycin-Sulfoxid als pharmakologisch inaktiv beschrieben [190, 193], jedoch fanden Seaberg et al. [195] im Vergleich zur Muttersubstanz eine vergleichbare antibiotische Aktivität der Metabolite Clindamycin-Sulfoxid, N-Demethyl-Clindamycin und N-Demethyl-Clindamycin-Sulfoxid gegenüber *Plasmodium falciparium*. Nach ÖKK [194] soll N-Demethyl-Clindamycin stärker wirksam sein als die Muttersubstanz, Clindamycin-Sulfoxid dagegen schwächer.

Angaben zu mutagenen Effekten von Clindamycin-Metaboliten wurden nicht gefunden.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Die Aussagen zur pharmakologischen Wirksamkeit der Metabolite sind widersprüchlich. In konservativer Vorgehensweise kann eine im Vergleich zur Muttersubstanz vergleichbare Aktivität vermutet werden.

Clindamycin wurde in geringen Konzentrationen in Fließgewässern nachgewiesen [191]. In der Kläranlage erfolgt keine Rückhaltung von Clindamycin, zu Metaboliten werden keine Angaben gemacht [192].

### Literatur

190. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York

191. Christian T, Schneider RJ, Goldbach HE: *Untersuchungen zum Eintrag von Antibiotika und natürlichen endokrinen Disruptoren nach Gülleausbringung in Gewässer Nordrhein-Westfalens*. Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn, Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes USL, Nr. 131. 2005 www.usl.uni-bonn.de/pdf/Forschungsbericht %20131.pdf (Abfragedatum März 2007)
192. Feldmann DF: *Modellberechnungen zum Verhalten und Verbleib von Arzneimittelrückständen im Krankenhausabwasser und Beurteilungsmöglichkeiten ihres ökotoxikologischen Gefährdungspotentials*. Dissertation an der Technischen Universität Berlin 2005 opus.kobv.de/tuberlin/volltexte/2005/1059/pdf/feldmann_dirk.pdf (Abfragedatum März 2007)
193. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
194. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
195. Seaberg LS, Parquette AR, Gluzman IY, Phillips GW, Brodasky TF, Krogstad DJ: *Clindamycin activity against chloroquine-resistant Plasmodium falciparum*. J Infect Dis 1984;150:904−911

## Stoffdossier Diclofenac

Tab. 45: Diclofenac und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Diclofenac | 15307-86-5 |
| Diclofenac, Natriumsalz | 15307-79-6 |
| Diclofenac, Kaliumsalz | 15307-81-0 |
| **Metabolite** | |
| Diclofenac-Glukuronid | |
| 3'- Hydroxydiclofenac | 69002-85-3 |
| 4'-Hydroxydiclofenac | 64118-84-9 |
| 5- Hydroxydiclofenac | 69002-84-2 |
| 4'-5- Dihydroxydiclofenac | 69002-86-4 |
| 3'-Hydroxy-4'-methoxydiclofenac | 106610-60-0 |
| 5-Hydroxy-4-(glutathion-S-yl)-diclofenac | |
| 5-Hydroxy-6-(glutathion-S-yl)-diclofenac | |
| 4'-Hydroxy-3'-(glutathion-S-yl)-diclofenac | |
| 4'-Hydroxy-2'-glutathion-deschlorodiclofenac | |

und die jeweiligen Konjugate der phenolischen Metabolite (Glukuronide oder Sulfate)

### Pharmakologie und Toxizität von Diclofenac

Diclofenac wird als Analgetikum, Antipyretikum und Antiphlogistikum eingesetzt. Die Tagesdosis ist 30 mg−200 mg. Häufige Nebenwirkungen sind gastrointestinale Beschwerden und Leberfunktionsstörungen. Selten treten neurotoxische Wirkungen, allergische Reaktionen oder hämatologische Veränderungen auf. Gentoxische oder kanzerogene Effekte wurden nicht beobachtet. In Tierstudien zeigten sich fruchtschädigende Effekte nur bei maternal toxischen Dosen [199, 200, 205, 207].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Diclofenac wird oral rasch und vollständig resorbiert. Die Bioverfügbarkeit beträgt wegen eines ausgeprägten *First-Pass*-Effektes in der Leber nur ca. 50 %−60 %. Diclofenac akkumuliert in der Synovialflüssigkeit, die Eliminationshalbwertszeit ist dort deutlich länger als im Plasma. Die Metabolisierung von Diclofenac erfolgt teilweise durch Glukuronidierung der Muttersubstanz, aber vorwiegend durch Hydroxylierung

(Hauptmetabolit: 4'-Hydroxydiclofenac, weiterhin 5-Hydroxydiclofenac und 4'-5-Dihydroxydiclofenac). In geringerem Umfang erfolgt eine anschließende Methoxylierung zu 3'-Hydroxy-4'-methoxydiclofenac. Die phenolischen Metabolite werden weitgehend glukuronidiert (meist an der Carboxylgruppe der Phenylessigsäuregruppe) oder sulfatiert (meist an der 4'-Hydroxygruppe).

50 %−70 % der applizierten Dosis werden in Form von (überwiegend konjugierten) Metaboliten über den Urin ausgeschieden, weniger als 1 % davon als Muttersubstanz. 5 %−10 % stellen Konjugate der Muttersubstanz dar, Konjugate von 4'-Hydroxydiclofenac repräsentieren beim Menschen 20 %−50 % der verabreichten Dosis (in anderen Spezies geringer). Die anderen Hydroxymetabolite und deren Glukuronide entstehen je zu etwa 5 %−20 %. 30 %−35 % der verabreichten Dosis werden als Metaboliten mit der Galle in Fäzes eliminiert (10 %−20 % 4'-Hydroxydiclofenac-Konjugate, 5 %–6 % Konjugate der anderen Hydroxymetabolite und 1 %−5 % Diclofenac-Konjugate). Die Metabolite werden im Urin meist mit Halbwertszeiten von 1 h−3 h ausgeschieden, lediglich das 3'-Hydroxy-4'-methoxydiclofenac wird langsamer ausgeschieden [196, 202, 207, 205].

Zusätzlich zu den o.g. Metaboliten wurde in Ratten nach i.p. Gabe und auch in menschlichen Hepatozyten bzw. Mikrosomen in vitro die Entstehung von Glutathion-(GSH)-addukten gezeigt, welche allem Anschein nach aus p-Benzochinonimin-Derivaten von Hydroxydiclofenac-Metaboliten entstehen (5-Hydroxy-4-(glutathion-S-yl)-diclofenac, 4'-Hydroxy-3'-(glutathion-S-yl)-diclofenac, 5-Hydroxy-6-(glutathion-S-yl)-diclofenac [208, 209]. Erst kürzlich wurde ein weiteres Stoffwechselprodukt, 4'-Hydroxy-2'-glutathion-deschlorodiclofenac identifiziert [210].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

4'-Hydroxydiclofenac besitzt etwa 3 % der antiinflammatorischen Wirkung der Muttersubstanz, 3'-Hydroxydiclofenac ist noch weniger aktiv. Die anderen Metabolite sind pharmakologisch unwirksam [196, 207].

Die akute Toxizität der Metabolite ist geringer als die der Muttersubstanz. Die oralen LD50-Werte in der Ratte sind [205]:

Diclofenac.....62,5 mg/kg
3'-Hydroxydiclofenac .....774 mg/kg
4'-Hydroxydiclofenac .....190 mg/kg
5- Hydroxydiclofenac.....1430 mg/kg
4'-5-Dihydroxydiclofenac .....1000 mg/kg

Für hepatotoxische Nebenwirkungen werden die o.g. p-Benzochinonimine des Diclofenacs angesehen, welche kovalent an Hepatozytenproteine binden können. Allerdings wird eine relevante Bildung dieser reaktiven Spezies nur bei hoher Cytochrom P450-Aktivität in Kombination mit niedrigen Aktivitäten kompetierender Stoffwechselpfade und bei Depletion von entgiftendem GSH sowie anderen reduzierenden Agenzien vermutet [208, 209].

Weitere Informationen zur Toxizität (inkl. Gentoxizität) liegen nicht vor.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Die Metabolite des Diclofenac sind pharmakologisch praktisch inaktiv und weisen eine geringere akute Toxizität als die Muttersubstanz auf. Evtl. können in der Umwelt durch reduktive Prozesse die Oxidationsprodukte gespalten werden, so dass die Muttersubstanz rückgebildet wird.

Potenziell ist bei den reaktiven Benzochinonimin-Stoffwechselprodukten eine starke zytotoxische Wirkung zu unterstellen, jedoch scheint eine relevante Bildung dieser Intermediate nur bei hohen Dosen relevant zu sein.

Diclofenac wurde häufig in Oberflächengewässern und Kläranlagen nachgewiesen. Die Abbauraten in Kläranlagen lagen bei 16 %−70 %. Diclofenac wird durch Ozonung und $ClO_2$-Behandlung effektiv oxidiert [197, 198, 201, 203, 204]. Zu Metaboliten liegen uns keine Angaben vor.

### Literatur


196. AHFS: *AHFS Pharmacologic-Therapeutic Classification*. American Society of Health-System Pharmacists 2007. www.ashp.org/mngrphs/ahfs/ (Abfragedatum März 2007)
197. ARGE, Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe: *Arzneistoffe in Elbe und Saale* 2003. www.arge-elbe.de/wge/Download/Berichte/03Arzn.pdf (Abfragedatum März 2007)
198. BLAC, Bund/Länderausschuss für Chemikaliensicherheit: *Arzneimittel in der Umwelt*. Auswertung der Untersuchungsergebnisse Freie und Hansestadt Hamburg. Behörde für Umwelt und Gesundheit, Institut für Hygiene und Umwelt 2003 www.blak-uis.de/servlet/is/2146/P-2c.pdf (Abfragedatum März 2007)
199. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
200. EMEA, European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Veterinary Medicines and Inspections: *Committee for Veterinary Medicinal Products: Diclofenac, Summary Report* 2003. www.emea.eu.int/pdfs/vet/mrls/088503en.pdf (Abfragedatum März 2007)
201. Feldmann DF: *Modellberechnungen zum Verhalten und Verbleib von Arzneimittelrückständen im Krankenhausabwasser und Beurteilungsmöglichkeiten ihres ökotoxikologischen Gefährdungspotentials*. Dissertation an der Technischen Universität Berlin 2005 opus.kobv.de/tuberlin/volltexte/2005/1059/pdf/feldmann_dirk.pdf (Abfragedatum März 2007)
202. Freitag G: *Die Bedeutung genetischer Polymorphismen im Enzym Cytochrom P450 2C9 für Pharmakokinetik und Wirkungen der Nichtsteroidalen Antiphlogistika Diclofenac und Ibuprofen*. Dissertation an der Medizinischen Fakultät der Charité Universitätsmedizin Berlin 2005. edoc.hu-berlin.de/dissertationen/freytag-georg-tobias-heinrich-2005-04-07/HTML/front.html (Abfragedatum März 2007)
203. Huber MM: *Elimination of Pharmaceuticals during Oxidative Treatment of Drinking Water and Wastewater: Appllication of Ozone and Chlorine Dioxide*. A dissertation to the Swiss Federal Institute of Technology Zurich 2004 e-collection.ethbib.ethz.ch/ecol-pool/diss/fulltext/eth15768.pdf (Abfragedatum März 2007)
204. Metzger JW, Kuch B, Schneider C: *Pharmaka und Hormone in der aquatischen Umwelt* 2003 www.xfaweb.baden-wuerttemberg.de/fofaweb/print/wb_u5300_01.pdf (Abfragedatum März 2007)
205. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
206. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b. www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum März 2007)
207. ÖKK: *Medikamentenvergleich online*. 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)

208. Shen S, Marchick MR, Davis MR, Doss GA, Pohl LR: *Metabolic activation of diclofenac by human cytochrome P450 3A4: role of 5-hydroxydiclofenac*. Chem Res Toxicol 1999;12:214−222, zitiert nach NLM, 2007b
209. Tang W, Stearns RA, Wang RW, Chiu SH, Baillie TA: *Roles of human hepatic cytochrome P450s 2C9 and 3A4 in the metabolic activation of diclofenac*. Chem Res Toxicol 1999;12:192−199, zitiert nach NLM, 2007b
210. Yu LJ, Chen Y, Deninno MP, O'Connell TN, Hop CE: *Identification of a novel glutathione adduct of diclofenac, 4'-hydroxy-2'-glutathion-deschloro-diclofenac, upon incubation with human liver microsomes*. Drug Metab Dispos 2005;33:484−488, zitiert nach NLM, 2007b

## Stoffdossier Fenofibrat

Tab. 46: Fenofibrat und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Fenofibrat | 49562-28-9 |
| **Metabolite** | |
| Fenofibrinsäure | 42017-89-0 |
| Glukuronid der Fenofibrinsäure | |

### Pharmakologie und Toxizität von Fenofibrat

Fenofibrat ist ein Lipidsenker. Die übliche Tagesdosis ist 50 mg−200 mg. Fenofibrat ist ein Prodrug, der eigentliche Wirkstoff ist die Fenofibrinsäure. Gelegentlich wurden gastrointestinale Beschwerden, Myopathien und Hautreaktionen, auch Photosensibilisierung berichtet, seltener kommt es zu Leberfunktionsstörungen und Hepatitis. In Tierstudien wurden embryoletale und teratogene Effekte berichtet [211, 213, 217].

Fenofibrat induziert wie andere Lipidsenker durch Aktivierung der *Peroxisome Proliferator-Activated Receptors* (PPARs) eine Peroxisomenproliferation in Leberzellen. Diese wird als Ursache der in Ratten und Mäusen vermehrt auftretenden Lebertumore nach Exposition gegenüber verschiedenen Lipidsenkern und Phthalaten angesehen. Peroxisomenproliferation wird beim Menschen nicht bzw. nur in sehr geringem Umfang beobachtet. Eine direkte Gentoxizität ist offensichtlich nicht gegeben. Fenofibrat führt jedoch zu erhöhten Wasserstoffperoxid-Konzentrationen in Leberzellen, was potenziell zu oxidativen DNA-Schäden führen könnte [215, 220, 212, 214, 218].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Fenofibrat wird oral schnell und nahezu vollständig resorbiert, wenn es zusammen mit Mahlzeiten eingenommen wird (bei leerem Magen weniger effizient). Es erfolgt eine schnelle Hydrolyse zum aktiven Wirkstoff Fenofibrinsäure, im Plasma ist praktisch kein Fenofibrat nachzuweisen. Im Organismus wird aus Fenofibrinsäure das Glukuronsäurekonjugat gebildet. Ein relevanter oxidativer Metabolismus findet offensichtlich nicht statt. Eine Arbeit [214] beschreibt einen weiteren Metaboliten mit reduzierter Carbonylgruppe bei in vitro-Exposition von Hepatozyten. Fenofibrat wird weitgehend in Form der freien Säure und des Glukuronids ausgeschieden, zu 60 %−80 % mit dem Urin, in Fäzes finden sich bis zu 25 % der verabreichten Dosis [211, 217].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Fenofibrinsäure besitzt nach den vorliegenden Daten vergleichbare pharmakologische und toxische Eigenschaften wie die Muttersubstanz [215, 220, 212, 214, 218]. Es handelt sich vor allem um die peroxisomenproliferierende Wirkung. Direkte Mutagenität ist nach den vorliegenden Daten nicht von Relevanz.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Fenofibrinsäure weist vergleichbare pharmakologische und toxische Eigenschaften wie die Muttersubstanz auf.

Fenofibrat war im Ablauf von Kläranlagen und in Fließgewässern in Deutschland meist nicht nachweisbar. Fenofibrinsäure wurde in Kläranlagenabläufen in Konzentrationen von 0,38 µg/L (Median) und in Flüssen in Konzentrationen von 0,045 µg/L (Median) gefunden [219].

### Literatur


211. AHFS: *AHFS Pharmacologic-Therapeutic Classification* 2007. American Society of Health-System Pharmacists, Inc., Bethesda, MD. www.ashp.org/mngrphs/ahfs/ (Abfragedatum März 2007)
212. Balfour JA, McTavish D, Heel RC: *Fenofibrate. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in dyslipidaemia*. Drugs 1990; 40:260−290, zitiert nach NLM, 2007
213. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
214. Cornu-Chagnon MC, Dupont H, Edgar A: *Fenofibrate: metabolism and species differences for peroxisome proliferation in cultured hepatocytes*. Fundamental and Applied Toxicology 1995;26:63−74 (jetzt Toxicol Sci), zitiert nach NLM, 2007
215. Eilers F: *Wirkungen von Liganden der "Peroxisome Proliferator-Activated Receptors" auf die Migration von Endothelzellen und die Expression der endothelialen Adhäsionsmoleküle E-Selectin, VCAM-1 und ICAM-1*. Dissertation an der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin 2006 edoc.hu-berlin.de/dissertationen/eilers-friedrich-2006-03-23/HTML/
216. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007 www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/ (Abfragedatum März 2007)
217. ÖKK: *Medikamentenvergleich online*. 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
218. Roberts WC: *Safety of fenofibrate--US and worldwide experience*. Cardiology 1989;76:169−179, zitiert nach NLM, 2007
219. Sattelberger R: *Arzneimittelrückstände in der Umwelt. Bestandsaufnahme und Problemdarstellung*. Umweltbundesamt GmbH, Wien, Österreich 1999. www.umweltbundesamt.at/fileadmin/site/publikationen/R162.pdf (Abfragedatum März 2007)
220. Trapp C: *Untersuchungen zur Reparatur und Mutagenität oxidativer DNA-Schäden in vivo und deren Bedeutung für die Kanzerogenese*. Dissertation an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz 2006 deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=982606788&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=982606788.pdf (Abfragedatum März 2007)

## Stoffdossier Ibuprofen

Tab. 47: Ibuprofen und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Ibuprofen | 15687-27-1 |
| **Metabolite** | |
| 2-Hydroxy-Ibuprofen und Konjugate | 51146-55-5 |
| 2-Carboxy-Ibuprofen und Konjugate | 15935-54-3 |
| 2-Phenylpropansäure (Hydratropsäure) | 492-37-5 |

### Pharmakologie und Toxizität von Ibuprofen

Ibuprofen ist ein Medikament mit antiphlogistischer, antirheumatischer, antipyretischer und analgetischer Wirkung. Die chirale Substanz kommt meist als Racemat in den Handel. Nur das (S)-Enantiomer ist pharmakologisch wirksam, die (R)-Form wird im Körper zum Teil in die (S)-Konfiguration umgewandelt, aber nicht umgekehrt [225]. Empfohlene Dosierungen sind 1200 mg/d−1800 mg/d. Bei 5 %–15 % der Patienten wurden gastrointestinale Nebenwirkungen beobachtet (Übelkeit, Sodbrennen, Bauchschmerzen). Seltenere Nebenwirkungen sind Thrombozytopenie, Kopfschmerzen, Schwindel, Sehstörungen und toxische Amblyopie. Die Muttersubstanz scheint nach den vorliegenden Erkenntnissen nicht gentoxisch zu sein [221, 224, 225, 228].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Ibuprofen wird im Magen-Darm-Trakt, vorwiegend im oberen Dünndarm, rasch und nahezu vollständig (über 80 %) resorbiert. Die Elimination erfolgt hauptsächlich als Metabolite über den Harn (beim Menschen 43 % 2-Hydroxy-Ibuprofen und 26 % 2-Carboxy-Ibuprofen bzw. deren nicht näher spezifizierte Konjugate sowie geringe Mengen an 1- und 3-Hydroxy-Ibuprofen und Spuren von 2-Phenylpropansäure). Ca. 14 % werden als konjugiertes Ibuprofen und nur 1 % als unverändertes Ibuprofen mit dem Harn ausgeschieden, der Rest über die Galle mit dem Stuhl [221, 224, 225, 228, 231].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Die Metabolite von Ibuprofen sind pharmakologisch unwirksam [221, 225]. Angaben zur Gentoxizität der Metaboliten liegen nicht vor. Die Muttersubstanz scheint nach den vorliegenden Erkenntnissen nicht gentoxisch zu sein [228].

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Nach den vorliegenden, spärlichen Angaben scheinen die Metabolite von Ibuprofen pharmakologisch deutlich weniger wirksam als die Muttersubstanz zu sein. Allerdings besteht die Möglichkeit, dass die im Organismus gebildeten Konjugate in der Umwelt wieder gespalten werden, was zur Rückbildung der Muttersubstanz führen würde.

In Oberflächengewässern wurden die Ibuprofen-Metabolite z.T. in höheren Konzentrationen als die Muttersubstanz nachgewiesen, wobei Hydroxy-Ibuprofen meist, aber nicht in allen Fällen, in höheren Konzentrationen als Carboxy-Ibuprofen vorlag. Ibuprofen und Carboxy-Ibuprofen werden in der Kläranlage weitgehend abgebaut, Hydroxy-Ibuprofen nur in geringem Umfang [222, 223, 227, 229, 230, 232, 231].

Ibuprofen wird durch Ozonung nur wenig und durch $ClO_2$-Behandlung nicht abgebaut [226].

## Literatur


221. Aranda JV, Thomas R: *Intravenous ibuprofen for preterm newborns*. NeoReviews 2005;6:e516−e523
222. ARGE, Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe: *Arzneistoffe in Elbe und Saale* 2003 www.arge-elbe.de/wge/Download/Berichte/03Arzn.pdf (Abfragedatum März 2007)
223. BLfW, Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft: *Arzneistoffe in der Umwelt* 2004 www.bayern.de/lfw/service/download/mat114.pdf (Abfragedatum März 2007)
224. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
225. Bützer P: *Systemdynamik: Medikament als Racemat im Vergleich zum reinen Enantiomer - Ibuprofen, Dexibuprofen*. Simulationen 2006. www.buetzer.info/fileadmin/pb/pdf-Dateien/Ibuprofen.pdf (Abfragedatum März 2007)
226. Huber MM: *Elimination of Pharmaceuticals during Oxidative Treatment of Drinking Water and Wastewater: Appllication of Ozone and Chlorine Dioxide*. A dissertation to the Swiss Federal Institute of Technology Zurich 2004 e-collection.ethbib.ethz.ch/ecol-pool/diss/fulltext/eth15768.pdf (Abfragedatum März 2007)
227. Metzger JW, Kuch B, Schneider C: *Pharmaka und Hormone in der aquatischen Umwelt* 2003 www.xfaweb.baden-wuerttemberg.de/fofaweb/print/wb_u5300_01.pdf (Abfragedatum März 2007)
228. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
229. Reddersen K: *Das Verhalten von Arzneimittelrückständen im Wasserkreislauf Berlins*. Dissertation an der Technischen Universität Berlin 2004. edocs.tu-berlin.de/diss/2004/reddersen_kirsten.pdf (Abfragedatum März 2007)
230. Sattelberger R: *Arzneimittelrückstände in der Umwelt*. Bestandsaufnahme und Problemdarstellung. Umweltbundesamt GmbH, Wien, Österreich. 1999 www.umweltbundesamt.at/fileadmin/site/publikationen/R162.pdf (Abfragedatum März 2007)
231. Weigel S: *Occurrence, distribution and fate of pharmaceuticals and further polar contaminants in the marine environment*. Dissertation an der Universität Hamburg 2003. deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=970667825&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=970667825.pdf (Abfragedatum März 2007)
232. Weigel S, Berger U, Jensen E, Kallenborn R, Thoresen H, Hühnerfuss H: *Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromso/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites*. Chemosphere 2004;56:583−592

## Stoffdossier Isosorbiddinitrat

Tab. 48: Isosorbiddinitrat und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Isosorbiddinitrat | 87-33-2 |
| **Metabolite** | |
| Isosorbid-2-mononitrat | 16106-20-0 |
| Isosorbid-5-mononitrat | 16051-77-7 |
| Isosorbid-5-mononitrat-2-glukuronid | 32871-20-8 |
| Isosorbid | 652-67-5 |
| Sorbid | |

### Pharmakologie und Toxizität von Isosorbiddinitrat

Isosorbiddinitrat ist ein Vasodilatator, welcher vor allem zur Behandlung von ischämischen Herzkrankheiten und deren Prophylaxe eingesetzt wird. Die übliche Tagesdosis für Langzeittherapie ist 30 mg−120 mg. Häufige Nebenwirkungen sind Kopfschmerzen zu Beginn der Behandlung, weiterhin Blutdruckabfall, Schwindel, Gleichgewichtsstörungen, Schwächegefühl, Übelkeit und Erbrechen. Angaben zu gentoxischen oder kanzerogenen Effekten liegen nicht vor. In Tierstudien wurden bei hohen Dosen embryotoxische Effekte beobachtet [234, 235, 236, 237].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Isosorbiddinitrat wird rasch und nahezu vollständig resorbiert. Aufgrund eines effektiven *First-Pass*-Effektes ist die Bioverfügbarkeit bei oraler Gabe von Tabletten nur ca. 20 %−30 %, bei sublingualer Aufnahme ist sie ca. 40 %−60 %. Isosorbiddinitrat wird durch Denitrierung rasch zu Isosorbid-2-mononitrat (15 %−25 %) und Isosorbid-5-mononitrat (75 %−85 %) metabolisiert, die Halbwertszeit im Organismus ist etwa 1 h. Isosorbid-5-mononitrat zeigt keinen *First-Pass*-Effekt, wird aber in der Leber zu etwa 50 % zu Isosorbid metabolisiert. Hauptmetabolite sind beim Menschen Isosorbid und dessen Glukuronid. Isosorbid-5-mononitrat wird im Gegensatz zu Isosorbid-2-mononitrat ebenfalls in relevantem Umfang glukuronidiert. Es entsteht auch Sorbid. Die Muttersubstanz wird im Urin nur in Spuren nachgewiesen. Die Metabolite werden fast ausschließlich über dem Urin ausgeschieden [234, 235, 236].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Beide Mononitrate sind pharmakologisch aktiv, vor allem das Isosorbid-5-mononitrat, welches auch selbst als Vasodilatator eingesetzt wird. Die anderen Metabolite sind nicht gefäßerweiternd. Isosorbid-5-mononitrat verursachte in Tierstudien bei hohen Dosen eine erhöhte Anzahl von Totgeburten sowie vermehrte postnatale Mortalität. Isosorbid-5-mononitrat zeigte in allen vorliegenden Untersuchungen zur Gentoxizität bei "biologisch relevanten Konzentrationen" (keine Aussagen über höhere Dosen) negative Ergebnisse (Ames-Test, Tests auf Genmutationen in Mauslymphomzellen, Chromosomenaberrationen in humanen Lymphozyten sowie Mikronukleustest in der

Maus). Isosorbid-5-mononitrat war in einer Langzeitstudie an Ratten nicht kanzerogen [234, 235, 236].

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Unter den Metaboliten sind die beiden Mononitrate pharmakologisch wirksam. Eine Rückreaktion der Glukuronide zu den Ausgangssubstanzen ist denkbar. Angaben zu Umweltvorkommen wurden nicht gefunden.

### Literatur


233. AHFS: *AHFS Pharmacologic-Therapeutic Classification*. American Society of Health-System Pharmacists 2007. www.ashp.org/mngrphs/ahfs/ (Abfragedatum März 2007)
234. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
235. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b. www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum März 2007)
236. ÖKK: *Medikamentenvergleich online*. 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
237. Thadani U, Rodgers T: *Side effects of using nitrates to treat angina*. Expert Opin Drug Metab Toxicol 2006;5:667−674, zitiert nach NLM, 2007b


## Stoffdossier Levodopa

Tab. 49: Levodopa und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Levodopa | 59-92-7 |
| **Metabolite** | |
| Dopamin | 51-61-6 |
| 3,4-Dihydroxyphenylessigsäure (DOPAC) | 102-32-9 |
| 3-Methoxy-4-hydroxyphenylessigsäure (Homovanillinsäure) | 306-08-1 |
| 3-O-Methyldopa | 300-48-1 |

### Pharmakologie und Toxizität von Levodopa und Kombinationspräparaten

Levodopa ist ein Medikament zur Behandlung von Morbus Parkinson und verwandten Krankheitsbildern. Es wird meist in Kombination mit Carboxylasehemmern (z.B. Carbidopa oder Benserazid, im Verhältnis Levodopa:Carbidopa 4:1 bis 10:1) eingesetzt. Der nicht ZNS-gängige Carboxylasehemmer dient dabei der Inhibition der peripheren Decarboxylierung des Prodrugs Levodopa zu Dopamin und damit einer erhöhten Verfügbarkeit im Gehirn, wo der Stoffwechsel nicht inhibiert wird. Die übliche Tagesdosis ist 300 mg−1600 mg Levodopa und 75 mg−400 mg Carbidopa. Levodopa verursacht Übelkeit, Erbrechen und Anorexie vor allem bei Gabe von Dosen von weniger als 70 mg Carbidopa. Bei längerer Anwendung kommt es häufig zu motorischen Störungen (unkontrollierte Bewegungen) und anderen neurologischen Effekten (u.a. Unruhe, Aufmerksamkeitsstörungen, Müdigkeit und Angstgefühle). Seltener treten stärkere gastrointestinale Effekte, Hyperventilation, Leberfunktionsstörungen und Blutdruckabfall auf. Levodopa war im Ames-Test und hinsichtlich der Induktion von Genmutationen in Hamsterzellen in vitro schwach mutagen. Weitere

Daten zu mutagenen oder kanzerogenen Effekten liegen nicht vor. Levodopa verursachte in Tierstudien teratogene Effekte [238, 239, 240, 241, 242].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Levodopa wird oral schnell und nahezu vollständig systemisch aufgenommen, wobei gleichzeitige Nahrungsaufnahme die Resorption erhöht. Carbidopa wird zu 40 %−70 % resorbiert. Die Plasmahalbwertszeit von Levodopa wird durch Carbidopa erhöht. Levodopa wird bereits teilweise im Magen und im Darm metabolisiert, zusätzlich findet ein *First-Pass*-Effekt in der Leber statt. Insgesamt wurden mehr als 30 Metabolite identifiziert. Mehr als 95 % der verabreichten Dosis werden zu Dopamin decarboxyliert, was durch gleichzeitige Gabe von Carbidopa verlangsamt stattfindet. Weiterhin findet O-Methylierung zu 3-Methoxy-4-hydroxyphenylessigsäure (Homovanillinsäure, HVA) statt. Dopamin wird weiter zu 3,4-Dihydroxyphenylessigsäure (DOPAC) metabolisiert. Diese Metabolite werden mit dem Urin ausgeschieden (zusammen 80 %−85 % der verabreichten Dosis, ca. 50 % als DOPAC und 13 %−42 % als HVA). Neben dem Metaboliten Dopamin werden auch geringe Mengen an Norepinephrin, Epinephrin (Adrenalin), 3-Methoxytyramin und 3-O-Methyldopa (O-Methylierung) gebildet. Die Muttersubstanz findet sich im Urin nur in Spuren, weiterhin werden auch geringe Mengen an Vanillmandelsäure gefunden. Allerdings vermindert sich bei gleichzeitiger Gabe von Carboxylasehemmern die Ausscheidung der Levodopa-Metabolite und die der Muttersubstanz steigt auf bis zu 7 % der verabreichten Dosis [238, 239, 241, 242, 244].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Der Wirkungsmechanismus von Levodopa ist unklar, vermutlich wirkt es durch die Erhöhung des Dopaminspiegels im Gehirn. Somit ist Dopamin als pharmakologisch aktiver Wirkstoff anzusehen, die anderen Metabolite sind nach den vorliegenden Angaben inaktiv [238, 239, 242]. Weitere Angaben liegen nicht vor.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Dopamin ist vermutlich der pharmakologisch aktive Metabolit von Levodopa, die anderen Metabolite scheinen inaktiv. Angaben zu Umweltvorkommen wurden nicht gefunden.

### Literatur

238. AHFS: *AHFS Pharmacologic-Therapeutic Classification*. American Society of Health-System Pharmacists 2007. www.ashp.org/mngrphs/ahfs/ (Abfragedatum April 2007)
239. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
240. Glatt H: *Endogenous mutagens derived from amino acids*. Mutat Res 1990;238:235−243, zitiert nach NLM, 2007b
241. IPCS, International Programme on Chemical Safety: *Poisons Information Monograph: Levodopa (PIM 305)* www.inchem.org/documents/pims/pharm/levedopa.htm (Abfragedatum April 2007)

242. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum April 2007)
243. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b. www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum April 2007)
244. ÖKK: *Medikamentenvergleich online*. 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum April 2007)

## Stoffdossier Lincomycin

Tab. 50: Lincomycin und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Lincomycin | 154-21-2 |
| Lincomycinhydrochlorid (bzw. Monohydrat) | 859-18-7 (bzw. 7179-49-9) |
| **Metabolite** | |
| Lincomycinglukuronid | |
| N-Demethyllincomycin | |
| Lincomycinsulfoxid | |

### Pharmakologie und Toxizität von Lincomycin

Lincomycin ist ein Antibiotikum, das vor allem Anwendung in der Veterinärmedizin findet. Es ist dem Clindamycin strukturell verwandt, weist aber geringere Wirksamkeit auf. Die übliche Tagesdosis ist 10 mg/kg−25 mg/kg. Nebenwirkungen sind gastrointestinale Störungen (Übelkeit, Gastroenteritis, Erbrechen, Diarrhö), Hautrötungen und Urtikaria, jedoch selten mit allergischem Hintergrund. Bei Pferden und Wiederkäuern wurde auch das Auftreten von Laryngealabszessen beobachtet. Bei hoher Dosierung kam es zu Depression, Schwäche und schwankendem Gang. Lincomycin war bei in vitro und in vivo-Studien überwiegend nicht gentoxisch und in einer Langzeitstudie an Ratten nicht kanzerogen. In einer von mehreren Studien an Ratten wurden embryoletale, aber durchgängig keine teratogenen Effekte beobachtet [246, 247, 250].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Die Resorption nach oraler Gabe ist 30 %−50 %, sie wird durch gleichzeitige Nahrungsaufnahme vermindert. Nach Lincomycin-Exposition wurden insgesamt 16 Metabolite identifiziert. Die Hauptmetabolite sind N-Desmethyllincomycin und Lincomycinsulfoxid. 40 % der verabreichten Dosis wurden bei Hund und Mensch als Muttersubstanz ausgeschieden, Konjugation (Glukuronidierung oder Sulfatierung) wurde dort nicht beobachtet, jedoch in anderen Spezies. Bei Ratte und Schwein wurden 80 %−95 % einer Dosis über Fäzes eliminiert. Auch die Metabolite werden über Urin, Galle und Fäzes ausgeschieden [247, 250].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

N-Desmethyllincomycin und Lincomycinsulfoxid weisen eine 15−100fach geringere antibakterielle Aktivität auf als die Muttersubstanz, die anderen Metabolite sind vermutlich unwirksam [250].

Informationen zur Toxizität der Metabolite liegen nicht vor.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Die Metabolite von Lincomycin sind im Vergleich zur Muttersubstanz pharmakologisch deutlich weniger aktiv bzw. inaktiv.

Lincomycin wurde in Oberflächengewässern in ca. 20 % der untersuchten Proben nachgewiesen, es liegen jedoch nur wenige Daten vor, Median 0,06 µg/L; max. 0,73 µg/L [245, 248, 249].

### Literatur


245. Christian T: *Antibiotika in Oberflächengewässern Nordrhein-Westfalens – Herkunft, Eintrag, Verbleib und Relevanz*. Dissertation an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn 2004 deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=973442247&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=973442247.pdf (Abfragedatum April 2007)
246. EMEA. European Medicines Agency: *Lincomycin*. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Veterinary Medicines and Inspections. Summary Report (2) 2000 www.emea.eu.int (Abfragedatum April 2007)
247. IVT, Institut für Veterinärpharmakologie und -toxikologie: *Tierarzneimittelkompendium*. Zürich, Schweiz 2007. www-vetpharm.uzh.ch/ (Abfragedatum April 2007)
248. LUA-NRW, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen: *Antibiotika, Resistenzen und Bakterien in Kläranlagen*. Materialien 72, Essen. 2006 www.lanuv.nrw.de/veroeffentlichungen/materialien/mat72/mat72.pdf (Abfragedatum April 2007)
249. Pawelzick H: *Tierarzneimittel aus der Intensivtierhaltung als neue Umweltkontaminanten – Untersuchungen zu Eintrag und Verhalten verschiedener Antibiotika in der Umwelt mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektrometrie*. Dissertation an der Universität Hannover 2005 deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=976198991&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=976198991.pdf (Abfragedatum April 2007)
250. WHO, World Health Organization: *Toxicological Evaluation of Certain Veterinary Drug Residues in Food*. WHO Food Additives Series 45. Prepared by the Fifty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) 2000 www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v45je02.htm (Abfragedatum April 2007)


## Stoffdossier Metamizol

Tab. 51: Metamizol und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Metamizol | 50567-35-6 |
| Metamizol, Natriumsalz | 68-89-3 |
| Metamizol, Natriumsalz, Monohydrat | 5907-38-0 |
| **Metabolite** | |
| 4-N-Methylaminoantipyrin (MAA) | 519-98-2 |
| 4-Aminoantipyrin (AA) | 83-07-8 |
| 4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA) | 83-15-8 |
| 4-N-Formylaminoantipyrin (FAA) | 1672-58-8 |
| 4-(N-Nitroso-N-methyl)aminoantipyrin (NMAA) | 73829-38-6 |

### Pharmakologie und Toxizität von Metamizol

Metamizol wird als Analgetikum, Antipyretikum und Antirheumatikum eingesetzt. Die Tagesdosis ist 1000 mg−3000 mg. Gelegentliche Nebenwirkungen waren Blutdruck-

abfall und gastrointestinale Beschwerden, selten hämatologische Veränderungen (Thrombozytopenie, Agranulazytose) und lebensbedrohliche Analgetika-Intoleranz [251, 258, 262].

Metamizol bzw. das korrespondierende Natriumsalz ist ein Prodrug. Der aktive Wirkstoff ist 4-N-Methylaminoantipyrin (MAA).

Metamizol war im Ames-Test in verschiedenen *Salmonella*-Stämmen schwach oder nicht mutagen und verursachte Chromosomenmutationen in Hamsterzellen in vitro. Es bewirkte in vivo im Knochenmark von Mäusen Schwesterchromatidaustausche und in der Leber von Mäusen unterschiedlicher Stämme die vermehrte Bildung von Tumoren. In Ratten war die Substanz nicht kanzerogen, jedoch nach Diethylnitrosamin-Initiation tumorpromovierend in der Rattenleber [255, 256, 259, 260].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Die Resorption erfolgt rasch und nahezu vollständig. Der aktive Wirkstoff 4-N-Methylaminoantipyrin (MAA) entsteht bereits im Magen. MAA wird weiter zu 4-Aminoantipyrin (AA), welches ebenfalls pharmakologisch wirksam ist, sowie 4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA) und 4-N-Formylaminoantipyrin (FAA) metabolisiert. Etwa 60 %−70 % einer verabreichten Dosis werden mit Halbwertszeiten von 3 h−10 h über den dem Urin ausgeschieden (AAA 26 %–30 %, FAA 23 %, MAA 7 % und AA 6 %), wobei bei älteren Personen und Personen mit Leber- oder Nierenschäden die Ausscheidung verlangsamt ist [251, 252, 258]. Es entstehen in geringem Umfang auch nitrosierte Metabolite, die im Urin nachgewiesen werden konnten, z.B. N-Nitroso-N-methylaminoantipyrin (NMAA) [261].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

MAA ist der pharmakologisch wirksame Metabolit des Metamizol, AA ist ebenfalls, aber schwächer wirksam, die restlichen Metabolite werden als pharmakologisch inaktiv angesehen [251, 252, 258].

Bei der akuten Toxizität erwies sich MAA als am wenigsten und AA als am stärksten toxisch, die Muttersubstanz lag in der Wirkstärke zwischen diesen beiden Metaboliten, Basis orale LD50-Werte, Maus [257]:

Metamizol-Na ..... 2891 mg/kg
MAA ..... 7000 mg/kg
AA ..... 800 mg/kg

Gentoxizität und Kanzerogenität: Metamizol war im Ames-Test in verschiedenen *Salmonella*-Stämmen schwach oder nicht mutagen und verursachte Chromosomenmutationen in Hamsterzellen in vitro. Es bewirkte in vivo im Knochenmark von Mäusen Schwesterchromatidaustausche und in der Leber von Mäusen unterschiedlicher Stämme die vermehrte Bildung von Tumoren. In Ratten war die Substanz nicht kanzerogen, jedoch tumorpromovierend in der Rattenleber. Der Metabolit AA war im Ames-Test mutagen in TA97 (mit und ohne metabolische Aktivierung, nicht aber in

anderen Stämmen) [255, 256, 259, 260]. Zu den anderen Metaboliten lagen keine entsprechenden Untersuchungen vor.

Die Metamizol-Metabolite können in Gegenwart von Nitrit im Organismus nitrosiert werden und wurden auch als Ausscheidungsprodukt beim Menschen im Urin (und auch im Speichel) identifiziert. Nach Gabe von 500 mg Metamizol wurde eine Gesamtausscheidung von ca. 400 µg N-Nitroso-N-methylaminoantipyrin (NMAA) im Urin gemessen [261]. Nitrosamine sind als potenziell gentoxische und kanzerogene Substanzen zu betrachten. NMAA war im Ames-Test mutagen (TA100, nur mit metabolischer Aktivierung, nicht in TA98) und erbrachte im Test auf Chromosomenaberrationen in Hamsterlungenzellen in vitro ein fragliches Resultat [254, 260]. Allerdings hat sich NNAA im Tierversuch nicht als kanzerogen erwiesen [261].

4-Nitrosoantipyrin, das Oxidationsprodukt von AA, war im Ames-Test in mehreren Stämmen – ohne metabolische Aktivierung – mutagen [259].

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Metamizol ist ein Prodrug. Der Primärmetabolit von Metamizol, MAA, ist der pharmakologisch aktive Wirkstoff und wird weiter zu weniger wirksamen bzw. pharmakologisch unwirksamen Substanzen verstoffwechselt. Die akute Toxizität des AA ist höher als die von MAA oder der Muttersubstanz. AA ist mutagen, ebenso nitrosierte Metabolite, welche im Organismus in Gegenwart von Nitrit entstehen.

AAA und FAA wurden in Abwasser, Kläranlagenablauf und Oberflächengewässern im Verhältnis 1:3 nachgewiesen: Summe ca. 3 µg/L im Kläranlagenablauf; in Flüssen Median 0,12 µg/L. Zu den anderen Metaboliten des Menschen, die in geringeren Mengen ausgeschieden werden, liegen keine Daten vor [251, 253; 262].

### Literatur


251. ARGE, Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe: *Arzneistoffe in Elbe und Saale* 2003 www.arge-elbe.de/wge/Download/Berichte/03Arzn.pdf (Abfragedatum März 2007)
252. Aventis: *Aventis Pharma Novalginy* 2003 www.narkosearzt-hamburg.de/NEF-Medikamente/Metamizol-Novalgin.pdf (Abfragedatum März 2007)
253. BLfW, Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft: *Arzneistoffe in der Umwelt* 2004 www.bayern.de/lfw/service/download/mat114.pdf (Abfragedatum März 2007)
254. GDEC: *Genotoxic Database of Environmental Chemicals* 2007 members.jcom.home.ne.jp/mo-ishidate/M-9.html (Abfragedatum März 2007)
255. Giri AK, Mukhopadhyay A: *Mutagenicity assay in Salmonella and in vivo sister chromatid exchange in bone marrow cells of mice for four pyrazolone derivatives*. Mutat Res 1998;420:15−25
256. Izumi K, Sano N, Otsuka H, Kinouchi T, Ohnishi Y: *Tumor promoting potential in male F344 rats and mutagenicity in Salmonella typhimurium of dipyrone*. Carcinogenesis 1991;12:1221−1225
257. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
258. ÖKK: *Medikamentenvergleich online*. 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
259. Parisis DM, Rao GS: *Mutagenicity of 4-aminoantipyrine and 4-nitrosoantipyrine, the C-nitroso derivative of antipyrine*. Mutat Res 1988;206:317−326

260. Sakai A, Yoshikawa K, Tanimura A, Tomita I: *Mutagenicity of reaction products of sulpyrine with nitrite*. Mutat Res 1981;90:57−65
261. Ziebarth D: *In vivo Nitrosierung von Metamizol beim Menschen*. Arch Pharm 1994; 327:381−384
262. Zühlke S: *Verhalten von Phenazonderivaten, Carbamazepin und estrogenen Steroiden während verschiedener Verfahren der Wasseraufbereitung*. Dissertation an der Technischen Universität Berlin 2004
edocs.tu-berlin.de/diss/2004/zuehlke_sebastian.pdf (Abfragedatum März 2007)
263. Massmann G, Dünnbier U, Heberer T, Taute T: *Behaviour and redox sensitivity of pharmaceutical residues during bank filtration – Investigation of residues of phenazone-type analgesics*. Chemosphere 2008;71(8):1476–1485

## Stoffdossier Metformin

Tab. 52: Metformin und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Metformin | 657-24-9 |
| Metforminhydrochlorid | 1115-70-4 |
| **Metabolite** | |
| keine Humanmetabolite bekannt | |

### Pharmakologie und Toxizität von Metformin

Metformin ist ein Antidiabetikum für die Behandlung von Typ 2 (nicht-insulinabhängigem) Diabetes mellitus, welches seine Wirksamkeit durch einen vermehrten zellulären Glukoseverbrauch, eine Zunahme der Insulin-Rezeptoren-Anzahl, eine Hemmung der Gluconeogenese in der Leber sowie auf eine verminderte Glukoseresorption durch den Darm entfaltet. Es wirkt nicht hypoglykämisch, da es keine Freisetzung von Insulin aus dem Pankreas verursacht. Metformin senkt beim Menschen die Blutspiegel von Cholesterin und Triglyceriden – zudem besitzt es fibrinolytische Eigenschaften. Übliche Tagesdosen sind 0,5 g bis maximal 2,5 g. Übliche Nebenwirkungen sind, vor allem bei Behandlungsbeginn, gastrointestinale Beschwerden wie Übelkeit, Erbrechen, Durchfälle, Blähungen, Bauchschmerzen oder -krämpfe, welche bei hoher Dosierung in bis zu 50 % der Fälle auftreten. Bei einschleichender oder längerer Behandlung vermindern sich diese Nebenwirkungen. Die intestinale Aufnahme von Vitamin B12 und Folat kann gehemmt werden. In seltenen Fällen treten Überempfindlichkeitsreaktionen bis hin zum anaphylaktischen Schock auf. In vereinzelten Fällen wurden Leukopenien und Thrombopenien beobachtet. Bei Patienten mit Nierenfunktionsstörungen kann Akkumulation mit nachfolgender metabolischer Azidose auftreten.

In Tierstudien waren bei Dosen bis 600 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ (ca. das 2fache der maximalen Tagesdosis des Menschen) keine schädlichen Effekte auf die Nachkommen ersichtlich. Es wurde aber in der Muttermilch nachgewiesen. Begrenzt aussagekräftige Humanstudien kommen hinsichtlich erhöhter Sterblichkeit und des vermehrten Auftretens von kongenitalen Fehlbildungen zu widersprüchlichen Aussagen. Metformin wirkte bei in vitro-Studien (Ames-Test, Untersuchung auf Mutagenität bzw. Chromosomenschäden in Säugerzellen) sowie in einem Mikronukleustest in der Maus in vivo nicht gentoxisch. In Kanzerogenitätsstudien an Ratten und Mäusen wurden als einzi-

ger Effekt in weiblichen Ratten bei der höchsten Dosis (900 mg·kg$^{-1}$·d$^{-1}$, ca. das 3fache der maximalen Tagesdosis des Menschen) vermehrt gutartige stromale Uteruspolypen beobachtet [264, 265, 267, 268, 269].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Ungefähr 50 % der oral verabreichten Dosis sind systemisch verfügbar, wobei die Bioverfügbarkeit mit zunehmender Dosis abnimmt. Die Plasmahalbwertszeit bei normaler Nierenfunktion liegt bei 1,5 h–2 h. Metformin wird im Körper nicht metabolisiert [265, 267, 269].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Es sind keine Daten vorhanden.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Metformin stellt aufgrund des hohen Verbrauchs und der unveränderten Ausscheidung durch den Menschen ein Umweltrisiko dar [264]. Ein kanadischer Bericht zitiert Konzentrationen im Kläranlagenablauf von 0,245 µg/L−0,409 µg/L [266] (keine weiteren Details). Weitere Angaben zum Vorkommen von Metformin in Gewässern wurden nicht gefunden.

### Ergänzende Information zu Transformationsprodukten

Mit Guanylharnstoff (Guanylurea, CAS-Nr. 141-83-3) konnte im IUK vor kurzem ein stabiles bakterielles Transformationsprodukt des Metformin identifiziert werden [270]. Mittlerweile konnten wir diesen Stoff bereits im Kläranlagenablauf nachweisen (noch nicht publizierte Ergebnisse).

### Literatur


264. ARGE, Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe: *Arzneistoffe in Elbe und Saale* 2003. www.arge-elbe.de/wge/Download/Berichte/03Arzn.pdf (Abfragedatum September 2008)
265. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
266. Hydromantis Inc.: *Review of the State of Knowledge of Municipal Effluent Science and Research Review of Effluent Substances*. Hydromantis Inc. Minnow Environmental Inc. University of Waterloo, Dept. of Civil Engineering 2005 www.ccme.ca/assets/pdf/csr_rev_effluent_substances.pdf (Abfragedatum September 2008)
267. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum September 2007)
268. NLM, U.S. National Library of Medicine: *ChemIDplus Advanced* 2007b. chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidheavy.jsp (Abfragedatum September 2007)
269. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum September 2007)
270. Trautwein C, Kümmerer K: *Incomplete degradation of the type II antidiabetic Metformin*. Poster auf Knappe-Tagung in Nîmes 19.–20.02.08 www.uniklinik-freiburg.de/iuk/live/umweltforschung/veroeffentlichungen/Poster_Metformin_Knappe.pdf

## Stoffdossier Metoprolol

Tab. 53: Metoprolol und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Metoprolol | 37350-58-6; 51384-51-1 |
| **Metabolite** | |
| α-Hydroxymetoprolol | 56392-16-6 |
| O-Demethylmetoprolol | 62572-94-5 |
| Metoprololsäure | 56392-14-4 |
| deaminiertes Metoprolol<br>2-hydroxy-3-[4-(2-methoxyethyl)phenoxy]-Propanolsäure | 56392-15-5 |
| potenziell: N- Nitrosometoprolol | 134720-05-1 |

### Pharmakologie und Toxizität von Metoprolol

Metoprolol (als Tartrat oder Succinat erhätlich) ist ein $\beta_1$-adrenerger Antagonist. Die Tagesdosis ist 100 mg. Die chirale Substanz kommt meist als Racemat in den Handel. Das (S)-Enantiomer hat eine ca. 500fach höhere Affinität zu β-adrenergen Rezeptoren als die (R)-Form. Als häufigere Nebenwirkungen sind Kurzatmigkeit, Müdigkeit und Schwindel sowie gastrointestinale Beschwerden, Schlaflosigkeit und Depression beschrieben. Metoprolol war in allen durchgeführten Tests nicht mutagen (keine näheren Angaben). In chronischen Studien verursachte Metoprolol in Swiss-Mäusen benigne Lungenadenome, nicht aber in CD1-Mäusen oder Ratten. In Kaninchen verursachte Metoprolol bei Dosen von 64 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ leichte Embryoletalität und postnatale Sterblichkeit [273, 274, 276, 277].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Metoprolol wird nach oraler Aufnahme nahezu vollständig aus dem Darm resorbiert. Die Metabolisierung erfolgt überwiegend oxidativ in der Leber. Aufgrund eines effektiven *First-Pass*-Effektes ist die Bioverfügbarkeit nur ca. 40 %−50 %.

5 %−10 % der verabreichten Dosis werden beim Menschen in Form der Muttersubstanz und bis ca. 90 % in metabolisierter Form über den Urin eliminiert. 3 Metabolismuswege sind bekannt: Durch O-Demethylierung wird das O-Demethylmetoprolol gebildet, welches via Seitenkettenoxidation zu Metoprololsäure weiterreagiert (60 %−65 % der verabreichten Dosis). Durch α-Hydroxylierung der Methoxyethylgruppe entsteht zu ca. 10 % das α-Hydroxymetoprolol und durch oxidative Deaminierung der Seitenkette zu ebenfalls ca. 10 % das deaminierte Metoprolol, 2-hydroxy-3-[4-(2-methoxyethyl)phenoxy]Propanolsäure. Aufgrund genetischer Polymorphismen des für Metoprolol stoffwechselrelevanten CYP2D6-Allels (schnelle und langsame Hydroxylierer) werden deutliche Interspeziesunterschiede in der Pharmakokinetik beobachtet [274, 276, 277, 278].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Vergleichbare Angaben zur akuten Toxizität (LD50, Hund intravenös) zeigen, dass die Muttersubstanz die höchste toxische Wirkung aufweist:

Metoprolol:.....60 mg/kg
O-Demethylmetoprolol:.....150 mg/kg
α-Hydroxymetoprolol: .....200 mg/kg
Metoprololsäure:.....> 500 mg/kg
deaminiertes Metoprolol: .....> 500 mg/kg

Die beiden Metabolite α-Hydroxymetoprolol und O-Demethylmetoprolol weisen pharmakologische Wirksamkeit auf, jedoch schwächer als die Muttersubstanz (ED50-Werte um den Faktor 2−10 höher, je nach getestetem Endpunkt) [276, 277].

Metoprolol war in allen durchgeführten Tests nicht mutagen (keine näheren Angaben). In chronischen Studien verursachte Metoprolol in Swiss-Mäusen benigne Lungenadenome, nicht aber in CD1-Mäusen oder Ratten. In Kaninchen verursachte Metoprolol bei Dosen von 64 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ leichte Embryoletalität und postnatale Sterblichkeit [276]. Wegen der intensiven Metabolisierung können diese Befunde auch für die Metabolite als relevant gewertet werden.

Ein möglicher Metabolit ist das N-Nitrosometoprolol, das im Organismus in Gegenwart von Nitrit gebildet werden könnte. Eine Entstehung dieses Metaboliten wurde aber in vivo noch nicht gezeigt. N-Nitrosometoprolol verursachte in vitro in menschlichen und Ratten-Hepatozyten DNA-Fragmentierung und unplanmäßige DNA-Synthese und in vivo in Ratten Induktion von Mikronuklei in Hepatozyten, nicht aber im Knochenmark oder der Milz. Aus den Unterschieden der Wirkstärken in vitro und in vivo wurde auf eine Detoxifikation in vivo geschlossen [275].

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Die Metabolite von Metoprolol sind akut geringer toxisch und teilweise pharmakologisch wirksam, jedoch ebenfalls schwächer als die Muttersubstanz. Es besteht die Möglichkeit, dass die im Organismus gebildeten Oxidationsprodukte in der Umwelt wieder gespalten werden, so dass die Muttersubstanz rückgebildet wird. Ein potenzieller Metabolit, N-Nitrosometoprolol, ist gentoxisch.

Metoprolol wurde in Grundwasser, Kläranlagen (Zulauf und Ablauf, Abbau ca. 70 %) und Oberflächengewässern nachgewiesen [271, 272], zu den Metaboliten liegen keine Angaben vor.

### Literatur


271. ARGE, Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe: *Arzneistoffe in Elbe und Saale* 2003. www.arge-elbe.de/wge/Download/Berichte/03Arzn.pdf (Abfragedatum März 2007)
272. BLAC, Bund/Länderausschuss für Chemikaliensicherheit: *Arzneimittel in der Umwelt*. Auswertung der Untersuchungsergebnisse Freie und Hansestadt Hamburg. Behörde für Umwelt und Gesundheit, Institut für Hygiene und Umwelt 2003 www.blak-uis.de/servlet/is/2146/P-2c.pdf (Abfragedatum März 2007)
273. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York

274. Cerqueira PM, Coelho EB, Geleilete TJM, Goldman GH, Lanchote VL: *Influence of chronic renal failure on stereoselective metoprolol metabolism in hypertensive patients*. J Clin Pharmacol 2005;45:1422−1433
275. Martelli A, Allavena A, Sottofattori E, Brambilla G: *Low clastogenic activity in vivo of the N-nitroso derivatives of 5 β-adrenergic-blocking drugs proved to be potent genotoxins in vitro*. Toxicol Lett 1994;73:185−191
276. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
277. Sharma A, Pibarot P, Pilote S, Dumesnill JG, Arsenault M, Bélanger PM, Meibohm B, Hamelin BA: *Modulation of metoprolol pharmacokinetics and hemodynamics by diphenhydramine coadministration during exercise testing in healthy premenopausal women*. J Pharmacol Exp Ther 2005;313:1172−1181
278. Tan W: *Roles of Amino Acids in the Food Effect: Metabolic and Pharmacokinetic Studies on Propafenone and Metoprolol*. Thesis Submitted to University of Saskatchewan Saskatoon, Canada 2000 www.collectionscanada.ca/obj/s4/f2/dsk1/tape4/PQDD_0031/NQ63929.pdf (Abfragedatum März 2007)

## Stoffdossier Mycophenolsäure

Tab. 54: Mycophenolsäure und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Mycophenolsäure | 24280-93-1 |
| Mycophenolsäure, Natriumsalz | 37415-62-6 |
| Mycophenolsäure, Dinatriumsalz | 23047-11-2 |
| Mycophenolat-Mofetil | 128794-94-5 |
| **Metabolite** | |
| Mycophenolsäureglukuronid | |

### Pharmakologie und Toxizität von Mycophenolsäure

Das Mykotoxin Mycophenolsäure ist ein Immunsuppressivum, welches in Form von Natriumsalzen oder Derivaten (Mycophenol-Mofetil, Prodrug 2-Morpholinoethylester der Mycophenolsäure) zur Verhinderung von Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantationen und bei der Behandlung von Morbus Crohn oder des systemischen Lupus erythematosus verwendet wird. Die übliche Tagesdosis ist 1 g−3 g. Nebenwirkungen sind gastrointestinale Beschwerden, Blutungen des Magen-Darmtraktes, hämatologische Veränderungen (Leukopenie) sowie als Folge der Immunsuppression eine erhöhte Anfälligkeit für verschiedene opportunistische Infektionen und die Möglichkeit der Bildung von Lymphomen sowie anderen Tumoren, insbesondere der Haut. In Übersichtsarbeiten wird Mycophenolsäure weder als mutagen noch als kanzerogen beschrieben, jedoch findet sich in einer älteren Arbeit ein Hinweis auf Mutagenität in Säugerzellen. Mycophenolsäure verursachte in Tierstudien auch in Abwesenheit maternaler Toxizität teratogene Effekte [279, 280, 282, 283].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Im Organismus wird aus Mycophenolsäure vor allem das phenolische Glukuronid gebildet, welches im Darm durch Mikroorganismen wieder gespalten werden kann. Die Muttersubstanz wird dann in enterohepatischer Zirkulation rückresorbiert. Über

60 %−87 % der verabreichten Dosis werden als Glukuronid mit dem Urin ausgeschieden, nur 1 %−3 % als Muttersubstanz [279, 280, 282].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Das Mycophenolsäureglukuronid ist pharmakologisch inaktiv. Weitere Angaben liegen nicht vor. Aufgrund der möglichen Spaltung des Glukuronids im Organismus sind die Eigenschaften der Muttersubstanz relevant [279, 282].

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Der Hauptmetabolit, Mycophenolsäureglukuronid, ist pharmakologisch inaktiv, jedoch ist eine Rückbildung der Muttersubstanz in der Umwelt denkbar. Angaben zu Umweltvorkommen wurden nicht gefunden.

### Literatur


279. AHFS: *AHFS Pharmacologic-Therapeutic Classification*. American Society of Health-System Pharmacists, Inc., Bethesda MD 2007 www.ashp.org/mngrphs/ahfs/ (Abfragedatum März 2007)
280. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
281. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum März 2007)
282. ÖKK: *Medikamentenvergleich online*. 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
283. Umeda M, Tsutsui T, Saito M: *Mutagenicity and inducibility of DNA single-strand breaks and chromosome aberrations by various mycotoxins*. Gann 1977;68:619−625, zitiert nach NLM, 2007


## Stoffdossier Naftidrofuryl

Tab. 55: Naftidrofuryl und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Naftidrofuryl | 31329-57-4 |
| Naftidrofuryloxalat | 3200-06-4 |
| **Metabolite** | |
| Tetrahydro-alpha-(1-naphthalenylmethyl)-2-furanpropanoic acid | |
| 2-(Diethylamino)ethanol | 100-37-8 |

### Pharmakologie und Toxizität von Naftidrofuryl

Naftidrofuryl ist ein Vasotherapeutikum und wirkt über eine Steigerung des Kreislaufs (durchblutungsfördernd wegen der Hemmung von Gefäßverengung) und des Stoffwechsels. Es wird in u.a. in Form des Oxalats verabreicht. Die übliche Tagesdosis ist 400 mg−600 mg. In seltenen Fällen kommt es zu gastrointestinalen Beschwerden (Magenbeschwerden, Übelkeit, Erbrechen, epigastrische Schmerzen, Diarrhö). In Einzelfällen wurden Effekte auf das Zentralnervensystem (Schwindel, Kopfschmerzen, Nervosität, Schlafstörungen) und Hautreaktionen beschrieben, weiterhin vereinzelt Leberschädigung und Nephrolithiasis (Calciumoxalatsteine). Naftidrofuryl verursachte in Kaninchen bei maternal toxischen Dosen eine Verminderung der Implan-

tationsrate und der lebenden Nachkommen sowie eine Tendenz zu verzögerter Ossifikation, jedoch keine teratogenen Effekte [285, 288].

Angaben zu gentoxischen oder kanzerogenen Effekten liegen nicht vor.

### Toxikokinetik und Metabolismus

Naftidrofuryl wird oral rasch resorbiert und von plasmatischen Pseudocholinesterasen verstoffwechselt. Als Hauptmetabolite im Urin des Menschen wurde das primäre Spaltprodukt Tetrahydro-beta-(1-naphthalenylmethyl)-2-furanpropionsäure und zwei Stereoisomere der 3-(1-Naphthalenylmethyl)-tetrahydrofuran-2-on-5-propionsäure identifiziert. Letztere entstehen aus dem Primärmetaboliten durch Oxidation des Tetrahydrofuransystems, hydrolytische Ringöffnung des gamma-Butyrolactons und anschließende Bildung eines gamma-Butyrolactons mit der zweiten Carbonylgruppe. Die Ausscheidung erfolgt z.T. in Form von Glukuroniden [285, 286].

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Über die pharmakologischen und toxischen Eigenschaften der Metabolite sowie zum Umweltvorkommen liegen keine Daten vor.

### Literatur


284. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007. www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum März 2007)
285. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
286. Roth K, Hildebrand M, Beyer KH: *Metabolism of nafronyl in man*. Eur J Drug Metab Pharmacokinet 1989;14:133−138, zitiert nach NLM, 2007
287. PTCL, Physical & Theoretical Chemistry Laboratory: *List of Known and Suspected Teratogens*. South Parks Road, Oxford OX1 3QZ, UK ptcl.chem.ox.ac.uk/MSDS/teratogens.html (Abfragedatum März 2007)
288. Umemura T, Esaki K, Sasa H, Yanagita T: *Teratogenicity of intragastric administration of naftidrofuryl oxalate (Is 121) in rabbits*. Preclinical Reports of the Central Institute for Experimental Animals 1985;11:91−103 pomology.org/003/438/003438746.html (Abfragedatum März 2007)


## Stoffdossier Omeprazol

Tab. 56: Omeprazol und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Omeprazol | 73590-58-6 |
| Omeprazole sodium [USAN] | 95510-70-6 |
| **Metabolite** | |
| 5-Hydroxymethylomeprazol | 92340-57-3 |
| 3-Hydroxymethylomeprazol | |
| Omeprazolsulfon | 88546-55-8 |
| Omeprazolsulfenamid | 102332-89-8 |
| Omeprazolsulfid | 73590-85-9 |
| Omeprazol-Carbonsäure | 120003-84-1 |
| 5-O-Desmethylomeprazol | 151602-49-2 |

### Pharmakologie und Toxizität von Omeprazol

Omeprazol reduziert durch eine Inhibition der $H^+/K^+$-ATPase (Protonenpumpe) die gastrische Säuresekretion und wird zur Therapie von gastroösophagealem Reflux und Magen-Darmgeschwüren eingesetzt. Die übliche Tagesdosis ist 20 mg−120 mg. Gelegentlich treten als Nebenwirkungen gastrointestinale Beschwerden, neurotoxische Symptome (Kopfschmerzen, Schwindel, Benommenheit etc.), Hautausschlag (Urtikaria, Juckreiz) auf, seltener wurden Leberfunktionsstörungen oder hämatologische Veränderungen berichtet. In Tests auf Genmutationen in Bakterien und Säugerzellen in vitro wurden negative Ergebnisse erhalten. Hinsichtlich der vermehrten Mikronukleusbildung sind die Ergebnisse in menschlichen Lymphozyten in vitro widersprüchlich, in Ratten positiv. Omeprazol verursachte in vivo in der Leber und im Knochenmark von Ratten Mikronuklei und induzierte in der Magenschleimhaut unplanmäßige DNA-Synthese. In Langzeitstudien an Ratten wurde bei Gabe hoher Dosen die Bildung von karzinoiden Tumoren des Magens beobachtet, welche auf eine Hypergastrinämie zurückgeführt werden, die auch beim Menschen auftreten kann. In Teratogenitätsstudien an Ratten und Kaninchen wurden vermehrt Embryoletalität, fetale Resorption und postnatale Entwicklungsverzögerungen, jedoch keine Teratogenität oder Fertilitätsstörungen beobachtet [290, 291, 292, 296, 298].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Omeprazol ist säureunbeständig und wird deshalb oral in magensaftresistenten Kapseln verabreicht. Es wird dann im Dünndarm resorbiert. Die Bioverfügbarkeit einer einzelnen oralen Dosis liegt bei ca. 35 % und steigt nach wiederholter Applikation auf 60 % an. Omeprazol wird vor allem in der Leber vollständig metabolisiert. Der überwiegende Teil der Metabolisierung erfolgt durch polymorphe Isoformen des CYP2C19 zu 5-Hydroxyomeprazol, einem Hauptmetaboliten im Plasma. Dieser kann auch glukuronidiert werden. Bestimmte Bevölkerungsgruppen (3 %−5 % der 'Kaukasier') zeigen genetisch bedingt eine reduzierte Aktivität dieses Isoenzyms (Langsam-Metabolisierer, Mephenytoin-Polymorphismus). Weitere Metabolite sind 3-Hydroxyomeprazol, Omeprazolsulfon, Omeprazolsulfid, das zyklisierte Sulfenamid, 5-O-Desmethylomeprazol und die aus dem Hydroxid durch Oxidation gebildete Carbonsäure. 70 %−80 % einer oral verabreichten Dosis werden als Metabolite über den Urin ausgeschieden, der Rest über Galle und Fäzes [289, 291, 294, 295, 298, 299].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Hinsichtlich der inhibierenden Wirkung auf die Säuresekretion zeigt keiner der Metabolite pharmakologische Wirkung. Angaben zu toxischen Wirkungen, insbesondere Gentoxizität, liegen nicht vor.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Die Metabolite von Omeprazol sind pharmakologisch inaktiv. Weitere Daten zur Toxizität oder Angaben zu Vorkommen in der Umwelt liegen nicht vor.

### Literatur


289. Äbelö A, Andersson TB, Antonsson M, Naudot AK, Skanberg I, Weidolf L: *Stereoselective metabolism of omeprazole by human cytochrome P450 enzymes*. Drug Metab Dispos 2000;28:966−972 dmd.aspetjournals.org/cgi/content/full/28/8/966 (Abfragedatum März 2007)
290. AHFS: *AHFS Pharmacologic-Therapeutic Classification*. American Society of Health-System Pharmacists 2007 www.ashp.org/mngrphs/ahfs/ (Abfragedatum März 2007)
291. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
292. Furihata C, Hirose K, Matsushima T: *Genotoxicity and cell proliferative activity of omeprazole in rat stomach mucosa*. Mutat Res 1991;262:73−76, zitiert nach NLM, 2007
293. Hofmann U, Schwab M, Treiber G, Klotz U: *Sensitive quantification of omeprazole and its metabolites in human plasma by liquid chromatography-mass spectrometry*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2006;831:85–90, zitiert nach NLM, 2007
294. Kanazawa H, Okada A, Matsushima Y, Yokota H, Okubo S, Mashige F, Nakahara K: *Determination of omeprazole and its metabolites in human plasma by liquid chromatography-mass spectrometry*. J Chromatogr A 2002;949:1−9, zitiert nach NLM, 2007
295. Li XQ, Weidolf L, Simonsson R, Andersson TB: *Enantiomer/enantiomer interactions between the S- and R- isomers of omeprazole in human cytochrome P450 enzymes: major role of CYP2C19 and CYP3A4*. J Pharmacol Exp Ther 2005;315:777-787 jpet.aspetjournals.org/cgi/content/full/315/2/777 (Abfragedatum März 2007)
296. Martelli A, Mattioli F, Mereto E, Brambilla Campart G, Sini D, Bergamaschi G, Brambilla G: *Evaluation of omeprazole genotoxicity in a battery of in vitro and in vivo assays*. Toxicology 1998;130:29−41, zitiert nach NLM, 2007
297. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum März 2007)
298. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
299. Shimizu M, Uno T, Niioka T, Yaui-Furukori N, Takahata T, Sugawara K, Tateishi T: *Sensitive determination of omeprazole and its two main metabolites in human plasma by column-switching high-performance liquid chromatography: application to pharmacokinetic study in relation to CYP2C19 genotypes*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2006;832:241−248, zitiert nach NLM, 2007


## Stoffdossier Opipramol

Tab. 57: Opipramol und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Opipramol | 315-72-0 |
| Opipramolhydrochlorid | 909-39-7 |
| **Metabolite** | |
| Carbonsäurederivat von Opipramol (I) | |
| Decarboxyliertes Derivat von I (II) | |
| Dehydroxyethylopipramol (III) | |
| Iminostilben (IV) | 256-96-2 |
| Opipramol-N-oxid (V) | |
| Nitrosoderivate | 104639-62-5 |

### Pharmakologie und Toxizität von Opipramol

Opipramol ist ein Antidepressivum, welches in Form des Hydrochlorids verabreicht wird, die Tagesdosis ist 50 mg−300 mg. Übliche Nebenwirkungen sind Schläfrigkeit, Benommenheit oder Müdigkeit, seltener treten psychische Effekte (Konfusion, Erregung, Unruhe, Angst) oder Schwindel und Kopfschmerzen auf. Gelegentlich bis vereinzelt kommt es zu kardiovaskulären Effekten, allergischen Hautreaktionen, gastro-

intestinalen Beschwerden oder Leberfunktionsstörungen. Angaben zu mutagenen oder kanzerogenen Effekten liegen nicht vor. Benzodiazepine stehen im Verdacht, fruchtschädigend zu wirken, Daten zu Opipramol liegen aber nicht vor [300, 306].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Nach oraler Aufnahme wird Opipramol vollständig resorbiert und weitgehend metabolisiert. Opipramol wird überwiegend durch Dehydroxyethylierung der Piperazinseitenkette (Dehydroxyethylopipramol, Metabolit III bei Lappenberger [303]) sowie oxidativ an der Hydroxygruppe der Piperazinseitenkette zur Carbonsäure verstoffwechselt (Metabolit I). Weitere identifizierte Metabolite sind das Decarboxylierungsprodukt der Carbonsäure (Metabolit II), Opipramol-N-oxid (Metabolit V) und das Carbamazepinderivat Iminostilben (Metabolit IV). Lediglich 7 %−10 % einer verabreichten Dosis werden als Muttersubstanz über den Urin ausgeschieden, 70 % als Metabolite, wobei Dehydroxyethylopipramol und das Carbonsäurederivat die Hauptmetabolite darstellen. Mit den Fäzes werden bis zu 30 % eliminiert [302, 303, 305, 306].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Der Hauptmetabolit Dehydroxyethylopipramol ist pharmakologisch inaktiv [306]. Weitere Angaben zu den Metaboliten liegen nicht vor.

Bei Anwesenheit von Nitrit bilden sich in vitro mutagene Reaktionsprodukte, wobei speziell ein nur in Spuren gebildetes Nitroaren, 4-[3-(2-nitro-9-(10H)-acridinon-10-yl)propyl]-1-piperazine-ethanol, besonders stark mutagen wirkt [301, 307]. Ob eine Nitrosierung in vivo erfolgt, ist unklar.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Ein Hauptmetabolit, Dehydroxyethylopipramol, ist pharmakologisch inaktiv. Ggf. entstehende Nitrosierungsprodukte können mutagen wirken.

Angaben zu Umweltvorkommen liegen nicht vor.

### Literatur


300. AHFS: *AHFS Pharmacologic-Therapeutic Classification* 2007. American Society of Health-System Pharmacists www.ashp.org/mngrphs/ahfs/ (Abfragedatum April 2007)
301. Glatt HR, Faigle JW, Oesch F: *Tricyclic drugs: potent mutagenicity of traces of a nitroarene formed in the reaction of opipramol with nitrite*. Mutat Res 1987;190:7−11, zitiert nach NLM, 2007
302. Kees F, Jehkul A, Bucher M, Mair G, Kiermaier J, Grobecker H: *Bioavailability of opipramol from a film-coated tablet, a sugar-coated tablet and an aqueous solution in healthy volunteers*. Arzneimittelforschung 2003;53:87−92, zitiert nach NLM, 2007
303. Lappenberg-Pelzer M, Tenczer J: *Identification and determination of opipramol metabolites in plasma and urine*. J Anal Toxicol 1998;22:215−219
304. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum März 2007)

305. Novartis: *Arzneimittel-Fachinformationen zu Insidon* 2006 www.big2.novartispharma.de/ph/at/ph_at_at_files/fachinfo/FI_Insidon_Dragees.pdf (Abfragedatum März 2007)
306. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
307. Takeda Y, Kanaya H: *Formation of nitroso compounds and mutagens from tranquilizers by drug/nitrite interaction*. Cancer Letters 1981;12:81−86, zitiert nach NLM, 2007

## Stoffdossier Oxcarbazepin

Tab. 58: Oxcarbazepin und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Oxcarbazepin | 28721-07-5 |
| **Metabolite** | |
| 10-Hydroxy-Oxcarbazepin und dessen Glukuronid | 29331-92-8 |
| 10,11-Dihydroxy-Oxcarbazepin | 35079-97-1 |

### Pharmakologie und Toxizität von Oxcarbazepin

Oxcarbazepin ist ein dem Carbamazepin strukturverwandtes Antiepileptikum. Es ist ein Prodrug, der aktive Wirkstoff ist das 10-Monohydroxyderivat (MHD). Die Tagesdosis ist 600 mg−2400 mg. Häufige Nebenwirkungen sind Müdigkeit, Schwindel, Kopfschmerz und Schwächegefühl, Verwirrtheit und Depression, gastrointestinale Beschwerden, Sehstörungen und Akne. Seltener traten Leberfunktionsstörungen und hämatologische Veränderungen auf. Die Substanz induziert in geringem Umfang fremdstoffmetabolisierende Enzyme in der Leber. Oxcarbazepin bindet in vitro an DNA und war in Tierstudien kanzerogen. Oxcarbazepin wirkte in Tierstudien bei maternal toxischen Dosen embryoletal, entwicklungsverzögernd und teratogen [309, 310, 313]

### Toxikokinetik und Metabolismus

Oxcarbazepin wird oral rasch und nahezu vollständig resorbiert. In der Leber erfolgt eine schnelle Metabolisierung zu MHD und in geringerem Umfang auch zum 10,11-Dihydroxyderivat (DHD). 80 % der verabreichten Dosis wurden mit dem Urin ausgeschieden (27 % MHD, 49 % MHD-Glukuronid, 3 % DHD, 13 % Konjugate der Muttersubstanz). Die Muttersubstanz fand sich im Urin nur in Spuren. In Fäzes wurden 4 % der verabreichten Dosis gefunden [308, 311, 313].

Analog zum Carbamazepin (siehe Stoffdossier Carbamazepin) ist die Bildung eines N-Nitrosoderivates denkbar. Entsprechende Untersuchungen liegen aber nicht vor.

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Oxcarbazepin ist ein Prodrug, der eigentliche Wirkstoff ist MHD [313].

Weitere Informationen zu Metaboliten liegen uns nicht vor.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Der Metabolit 10-Monohydroxy-Oxcarbazepin ist der Wirkstoff des Prodrug Oxcarbazepin. Zu den anderen Metaboliten liegen hinsichtlich der pharmakologischen Wirksamkeit oder Toxizität keine Daten vor.

Zu Umweltvorkommen wurden keine Angaben gefunden. Der Metabolit DHD ist auch ein Metabolit von Carbamazepin. Für DHD liegen ebenfalls keine Angaben vor, jedoch zur Vorstufe, das Carbamazepin-Epoxid, siehe Stoffbericht Carbamazepin).

### Literatur


308. AHFS: *AHFS Pharmacologic-Therapeutic Classification* 2007. American Society of Health-System Pharmacists www.ashp.org/mngrphs/ahfs/ (Abfragedatum April 2007)
309. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
310. Castren K, Pienimaki P, Arvela P, Vahakangas K: *Metabolites and DNA-binding of carbamazepine and oxcarbazepine in vitro by rat liver microsomes*. Human and Experimental Toxicology 1996;15:577−582, zitiert nach NLM, 2007
311. May TW, Korn-Merker E, Rambeck B: *Clin Pharmacokinet of oxcarbazepine*. Clin Pharmacokinet 2003;42:1023−1042, zitiert nach NLM, 2007
312. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007 www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum April 2007)
313. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum April 2007)


## Stoffdossier Paracetamol

Tab. 59: Paracetamol und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Paracetamol (Acetaminophen) | 103-90-2 |
| **Metabolite** | |
| Paracetamol-Glukuronid | 16110-10-4 |
| Paracetamol-Sulfat | 10066-90-7 |
| 3-Hydroxyparacetamol | |
| p-Aminophenol | 123-30-8 |
| N-Acetyl-p-benzochinonimin und Konjugate sowie das Mercaptursäurederivat | 50700-49-7 |
| 3-Thiomethylparacetamol und Konjugate | |

### Pharmakologie und Toxizität von Paracetamol

Paracetamol ist ein Analgetikum und Antipyretikum, die antiphlogistische Wirkung ist nur schwach. Die übliche Tagesdosis ist 300 mg−1000 mg, als maximale Tagesdosis werden 4 g angegeben. Gelegentlich treten allergische Hautreaktionen auf. Nach Überdosierung (> 10 g/d) wurden gastrointestinale Beschwerden, massive Leber- und Nierentubulusnekrosen, selten auch hämatologische Veränderungen, Nierennekrosen und hyperglykämisches Koma berichtet. Paracetamol bewirkt intrazellulär eine Depletion von Thiolgruppen und Lipidperoxidation. In Bakterien ist Paracetamol nicht mutagen. In Säugerzellen in vitro und in vivo wurden Chromosomenmutationen induziert (Aberrationen, Schwesterchromatidaustausch und Mikronuklei, letztere nur in vitro). Diese Effekte traten bei hohen Dosen auf und werden nicht als direkte Muta-

genität, sondern durch die inhibierende Wirkung auf DNA-Synthese und DNA-Reparatur interpretiert. Die vorliegenden Humanbefunde zu kanzerogenen Wirkungen werden von der IARC als "*Inadequate Evidence*" bei Mensch und Tier zusammengefasst, Paracetamol ist hinsichtlich der krebserzeugenden Wirkung nicht klassifizierbar [315, 316, 318, 320, 321, 323, 324].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Nach oraler Gabe wird Paracetamol rasch und vollständig resorbiert. Die Resorption erfolgt vorwiegend aus dem Dünndarm. Die Bioverfügbarkeit ist dosisabhängig und beträgt in der Regel 70 %−90 %. Innerhalb von 24 h werden 90 %−100 % der verabreichten Paracetamol-Dosis im Urin ausgeschieden. Die Eliminationshalbwertszeit beträgt beim gesunden Erwachsenen 1 h−3 h. Die Metabolisierung erfolgt vor allem in der Leber, bei niedrigen Dosen ist ein *First-Pass*-Effekt zu beobachten. 2 %−5 % des Paracetamols werden unverändert über den Urin ausgeschieden. Hauptmetabolite im Urin sind das 4-Glukuronid (60 %−80 %) und das 4-Sulfat (20 %−40 %), N-Deacetylierung zu p-Aminophenol findet nur in geringem Ausmaß statt. Geringe Mengen (< 5 %) werden bei üblichen Dosen durch Cytochrom P450 zu N-Acetyl-p-benzochinoniminin, dem radikalischen Semichinonimin oder 3-Hydroxyparacetamol oxidiert. Aus N-Acetyl-p-benzochinoniminin kann sich das 3-Glutathion- und in der Folge das 3-Cysteinylkonjugat bzw. das Mercaptursäurederivat bilden (Ausscheidungsprodukt), was eine Entgiftungsreaktion darstellt. Ein weitere Reaktionsmöglichkeit ist die Sulfhydrierung des Chinonimins, welche zur Bildung von 3-Thiomethylparacetamol sowie dessen Sulfat-, Glukuronid- und Sulfonderivaten und auch eines über die 3-S-Position verbrückten Dimers führt [316, 318, 320, 323].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Die Glukuronid- und Sulfatkonjugate (Hauptmetabolite) sind pharmakologisch unwirksam und werden renal ausgeschieden. Mit zunehmender Dosis wird Paracetamol infolge von Sättigung dieser Stoffwechselwege vermehrt durch Cytochrom P450 (CAP2E1) zu N-Acetyl-p-benzochinonimin oxidiert. Dieser Metabolit ist sehr reaktiv und kann an Proteine und ggf. an andere zelluläre nukleophile Makromoleküle binden, wird aber bei niedrigen Dosen praktisch vollständig durch Reaktion mit Glutathion deaktiviert. Bei Aufnahme hoher Dosen kann N-Acetyl-p-benzochinonimin aufgrund von Glutathiondepletion nur noch unvollständig entgiftet werden und trägt offensichtlich zu den beobachteten massiven hepatotoxischen (und evtl. auch nephrotoxischen) Effekten bei Überdosierung bei [316, 318, 320].

Der Metabolit p-Aminophenol (entsteht aber nur in geringem Umfang) verursacht Chromosomenschäden [317]. N-Acetyl-p-benzochinonimin verursachte keine Mutationen in Bakterien, aber DNA-Brüche in Hepatozyten und Leukämiezellen in vitro [319].

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Bei üblicher Dosierung werden überwiegend die pharmakologisch inaktiven Metaboliten 4-Paracetamolglukuronid und 4-Paracetamolsulfat gebildet. In geringem Umfang bildet sich über oxidative Stoffwechselwege N-Acetyl-p-benzochinonimin, welches bei geringen Dosen durch Reaktion mit Glutathion praktisch vollständig entgiftet wird. Bei höheren Dosen kann N-Acetyl-p-benzochinonimin aufgrund von Glutathiondepletion nicht mehr effizient entgiftet werden und wirkt durch die Bildung von z.B. Proteinaddukten hepatotoxisch und evtl. auch nephrotoxisch. Auch gentoxische Wirkung wurde gezeigt.

Paracetamol wurde in Klärwerkszuläufen in Konzentrationen von 19 µg/L−35 µg/L nachgewiesen, in der Klärwerkspassage wird es nahezu vollständig abgebaut [314].

### Literatur


314. ARGE, Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe: *Arzneistoffe in Elbe und Saale* 2003. www.arge-elbe.de/wge/Download/Berichte/03Arzn.pdf (Abfragedatum März 2007)
315. Bergman K, Müller L, Teigen SW: *The genotoxicity and carcinogenicity of paracetamol: a regulatory (re)view. Series: current issues in mutagenesis and carcinogenesis, No. 65*. Mutat Res 1996;349:263−88, zitiert nach NLM, 2007b
316. Bessems JGM, Vermeulen NPE: *Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches*. Crit Rev Toxicol 2001;31:55−138
317. Bomhard EM, Herbold BA: *Genotoxic activities of aniline and its metabolites and their relationship to the carcinogenicity of aniline in the spleen of rats*. Crit Rev Toxicol 2005;35:783−835, zitiert nach NLM, 2007b
318. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
319. Dybing E, Holme JA, Gordon WP, Soderlund EJ, Dahlin DC, Nelson SD: *Genotoxicity studies with paracetamol*. Mutat Res 1984;138:21–32, zitiert nach NLM, 2007b
320. IARC, International Agency for Research on Cancer: *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. Vol. 73. Some Chemicals that Cause Tumours of the Kidney or Urinary Bladder in Rodents and Some Other Substances* WHO, World Health Organization, Geneva 1999
321. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
322. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum März 2007)
323. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
324. Rannug U, Holme JA, Hongslo JK, Srám R: *International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens*. An evaluation of the genetic toxicity of paracetamol. Mutat Res 1995;327:179−200, zitiert nach NLM, 2007b


## Stoffdossier Pentoxifyllin

Tab. 60: Pentoxifyllin und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Pentoxifyllin | 6493-05-6 |
| **Metabolite** | |
| 1-(5'-Hydroxyhexyl)-3,7-dimethylxanthine (Lisophyllin) | 6493-06-7 |
| 1-(3'-Carboxypropyl)-3,7-dimethylxanthin | 6493-07-8 |
| 1-(4'-Carboxybutyl)-3,7-dimethylxanthin | 38975-44-9 |

### Pharmakologie und Toxizität von Pentoxifyllin

Pentoxifyllin ist ein Vasodilatator und wird zur Therapie arterieller Durchblutungsstörungen eingesetzt. Es inhibiert auch die Expression inflammatorischer Zytokine und reduziert damit auch die Neutrophilen-Reaktion [336]. Die Tagesdosis ist 300 mg−1200 mg. Gelegentlich treten gastrointestinale Nebenwirkungen auf oder Schwindel und Kopfschmerz, selten Hitzegefühl, Tachykardie, Angina pectoris, Thrombozytopenie oder Überempfindlichkeitsreaktionen [325, 332].

Im Ames-Test und in Säugerzellen in vitro ist Pentoxifyllin nicht mutagen, verursacht jedoch in humanen Lymphozyten und V79 Hamsterzellen unplanmäßige DNA-Synthese und klastogene Effekte (Chromosomenaberrationen, Schwesterchromatidaustausch und Mikronuklei) Allerdings liegen in der Literatur (z.B. Pubmed-Datenbank) zahlreiche Berichte über antimutagene Wirkungen von Pentoxifyllin und anderen Methylxanthinen vor. Langzeitstudien in Mäusen zeigen keine kanzerogene Wirkung, in Ratten wird eine marginal vermehrte Bildung benigner Mammatumore beobachtet. Diese Tumoren treten in alten Ratten häufiger auf. Pentoxifyllin inhibiert die kanzerogene Wirkung von N-Methylnitrosoharnstoff in Ratten. Pentoxifyllin ist in Tierstudien nicht teratogen, aber embryotoxisch [325, 326, 327, 335].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Pentoxifyllin wird nach oraler Aufnahme aus dem gastrointestinalen Trakt rasch und nahezu vollständig resorbiert. Aufgrund eines starken *First-Pass*-Effektes in der Leber beträgt die Bioverfügbarkeit nur 10 %−50 %. Pentoxifyllin wird in der Leber und in Erythrozyten effektiv metabolisiert. Die Metabolisierung erfolgt vor allem durch Hydroxylierung der aliphatischen Seitenkette oder oxidative Kettenverkürzung unter Bildung einer Carbonsäure. Hauptmetabolite sind das 5-Hydroxyhexyldimethylxanthin (Lisophyllin) und das 3-Carboxypropylderivat. Beide liegen in höheren Plasmakonzentrationen als die Muttersubstanz vor. Lisophyllin steht im reversiblen Gleichgewicht zur Muttersubstanz. Ein weiterer Metabolit ist das 4-Carboxybutylderivat. Pentoxifyllin wird zu 90 %−95 % über den Urin eliminiert, in Fäzes zu ca. 4 %. Hauptmetabolit im Urin ist das 3-Carboxypropylderivat (50 %−80 % der verabreichten Dosis), die anderen Metabolite repräsentieren zusammen etwa 20 %. Die Muttersubstanz war im Urin nur in Spuren nachweisbar. Es wurden keine Glukuronid- bzw. Schwefelsäure-Konjugate im Urin beobachtet [325, 329, 332, 336].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Je nach Endpunkt weisen die Metabolite von Pentoxifyllin unterschiedliche Aktivität auf: 5-Hydroxypentoxifyllin ist etwa gleich vasodilatatorisch wirksam wie die Muttersubstanz, die Carboxyderivate zeigen eine schwächere Wirkung. Hinsichtlich der inhibierenden Wirkung auf Zytokinfreisetzung in Mäuse-Makrophagen ist das 3-Carboxypropylderivat weniger wirksam als die Muttersubstanz und die anderen 2 Metabolite, jedoch sind die Carboxymetabolite mit verkürzten Seitenketten hinsichtlich der Inhibition einer TNF$\alpha$-vermittelten Zytotoxizität auf Mäuse-Fibrosarkomzellen effektiver als

Pentoxifyllin und 5-Hydroxypentoxifyllin [325, 328]. Zu gentoxischen Effekten liegen keine Daten vor.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Pentoxifyllin-Metabolite sind in Abhängigkeit von der betrachteten pharmakologischen Wirkung unterschiedlich aktiv: hinsichtlich der vasodilatatorischen Wirkung ist 5-Hydroxypentoxifyllin gleich wirksam (Rückbildung der Muttersubstanz ist zusätzlich möglich), die Carboxyderivate sind weniger aktiv. Hinsichtlich der Inhibition von inflammatorischen Zytokinen sind auch diese Metabolite aktiv (keine Rückbildung der Muttersubstanz möglich).

Aufgrund der ähnlichen Struktur von 5-Hydroxypentoxifyllin und der Einstellung eines Gleichgewichtes mit der Muttersubstanz sind die Befunde zu Pentoxifyllin (Gentoxizität, Mutagenität und Fruchtschädigung) vermutlich auch für 5-Hydroxy-pentoxifyllin zu übertragen.

Pentoxifyllin wurde in ca. 30 % der untersuchten Proben in deutschen Flüssen und im Ablauf von Kläranlagen nachgewiesen, die Abbaurate in Kläranlagen lag bei 30 %−50 % [330, 333, 334]. Angaben zu Metaboliten liegen nicht vor.

### Literatur


325. AHFS: *AHFS Pharmacologic-Therapeutic Classification*. American Society of Health-System Pharmacists 2007. www.ashp.org/mngrphs/ahfs/ (Abfragedatum März 2007)
326. Bespalov VG, Aleksandrov VA, Lidak M: *An experimental study of the possibilities of using pentoxifylline for the prevention of cancer at different sites*. Eksp Klin Farmakol 1993;56:35−37, zitiert nach NLM, 2007
327. Bozsakyova E, Chalupa I, Sebova L, Slamenova D: *Chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges and micronuclei induced by pentoxifylline in in vitro cultivated Chinese hamster cells (V79) and human blood lymphocytes*. Mutat Res 2001;497:63−70, zitiert nach NLM, 2007
328. Fantin M, Quintieri L, Kusz E, Kis E, Glavinas H, Floreani M, Padrini R, Duda E, Vizler C: *Pentoxifylline and its major oxidative metabolites exhibit different pharmacological properties*. European Journal of Pharmacology 2006;535:301−309, zitiert nach NLM, 2007
329. Lambert WE, Yousouf MA, van Liedekerke BM, de Roose JE, de Leenheer AP: *Simultaneous determination of pentoxifylline and three metabolites in biological fluids by liquid chromatography*. Clin Chem 1989;35:296−301
330. Metzger JW, Kuch B, Schneider C: *Pharmaka und Hormone in der aquatischen Umwelt* 2003. www.xfaweb.baden-wuerttemberg.de/fofaweb/print/wb_u5300_01.pdf (Abfragedatum März 2007)
331. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum März 2007)
332. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
333. Reddersen K: *Das Verhalten von Arzneimittelrückständen im Wasserkreislauf Berlins*. Dissertation an der Technischen Universität Berlin 2004. edocs.tu-berlin.de/diss/2004/reddersen_kirsten.pdf (Abfragedatum März 2007)
334. Sattelberger R: *Arzneimittelrückstände in der Umwelt. Bestandsaufnahme und Problemdarstellung*. Umweltbundesamt GmbH, Wien, Österreich. 1999 www.umweltbundesamt.at/fileadmin/site/publikationen/R162.pdf (Abfragedatum März 2007)

335. Slamenova D, Dusinska M, Gabelova A, Horvathova E, Oravec C, Chalupa I, Szabova E: *Assessment of toxicity, clastogenicity, mutagenicity and transforming activity of pentoxifylline in mammalian cells cultured in vitro*. Mutat Res 1994;322:275−285, zitiert nach NLM, 2007
336. Sullivan GW, Carper HT, Novick WJ, Mandell GL: *Inhibition of the inflammatory action of interleukin-1 and tumor necrosis factor (alpha) on neutrophil function by pentoxifylline*. Infect Immun 1988;56:1722−1729

## Stoffdossier Phenoxymethylpenicillin

Tab. 61: Phenoxymethylpenicillin und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Phenoxymethylpenicillin (Penicillin V) | 87-08-1 |
| Phenoxymethylpenicillin, Kaliumsalz | 132-98-9 |
| Phenoxymethylpenicillin, Natriumsalz | 1098-87-9 |
| **Metabolite** | |
| Penicilloinsäure | 11039-68-2 |
| 6-Aminopenicillinsäure | 551-16-6 |

### Pharmakologie und Toxizität von Phenoxymethylpenicillin

Phenoxymethylpenicillin ist ein Antibiotikum. Übliche Tagesdosen liegen im Bereich 1000 mg−2000 mg. Die am häufigsten beschriebenen Nebenwirkungen sind Hypersensitivitätsreaktionen der Haut und gastrointestinale Beschwerden. Seltener werden hämatologische Veränderungen berichtet. Das Kaliumsalz von Phenoxymethylpenicillin war im Ames-Test nicht mutagen, induzierte aber bei hohen Konzentrationen in Mauslymphomzellen in vitro Genmutationen und in Hamsterzellen (nur ohne metabolische Aktivierung) Schwesterchromatidaustausche und Chromosomenaberrationen. In humanen Lymphozyten wurden in vitro vermehrt Chromosomenaberrationen, Chromatidgaps und -brüche beobachtet. Möglicherweise sind die hohen Kaliumkonzentrationen für die chromosomalen Effekte ursächlich. β-Laktame interagieren aber auch mit DNA-Polymerasen. In Langzeitstudien des *National Toxicology Program* an Ratten und Mäusen war das Kaliumsalz nicht kanzerogen. Human- oder Tiererfahrungen zur Fruchtschädigung liegen nicht vor [337, 338, 340, 342, 343, 344].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Aufgrund einer relativ hohen Säurestabilität ist Phenoxymethylpenicillin besser bioverfügbar als andere Penicillinderivate. 60 %−73 % werden oral resorbiert. Nahrung verzögert die Resorption, vermindert sie aber nicht. 35 %−70 % einer verabreichten Dosis werden durch Hydrolyse des Laktamringes zu Penicilloinsäure metabolisiert. In geringem Umfang entstehen auch verschiedene hydroxylierte Derivate sowie die 6-Aminopenicillinsäure. Innerhalb von 6 h−8 h werden 26 %−65 % einer verabreichten Dosis als Muttersubstanz oder Metabolite mit dem Urin ausgeschieden und 32 % in den Fäzes. Bei Kleinkindern und Personen mit Nierenfunktionsstörungen ist die Ausscheidung verzögert [337, 338, 340, 343].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Der Hauptmetabolit Penicilloinsäure ist bakteriologisch inaktiv, die in geringen Mengen gebildeten Hydroxymetabolite sind pharmakologisch aktiv [337, 340].

In Allergietests reagierten ca. 55 % der Patienten mit Penicillinallergie positiv auf Penicilloinsäure [345]. Weitere Informationen zur Toxizität dieses Metaboliten liegen nicht vor.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Der Hauptmetabolit von Phenoxymethylpenicillin ist pharmakologisch inaktiv. Phenoxymethylpenicillin ist in der Umwelt wegen der leichten Abbaubarkeit durch mikrobielle Laktamasen nicht in relevanten Konzentrationen zu erwarten. Phenoxymethylpenicillin wurde im Raum Köln-Bonn nur vereinzelt in Oberflächengewässern und nur in geringen Konzentrationen gefunden [339]. Angaben zu Metaboliten oder Transformationsprodukten liegen nicht vor.

### Literatur


337. AHFS: *AHFS Pharmacologic-Therapeutic Classification*. American Society of Health-System Pharmacists 2007. www.ashp.org/mngrphs/ahfs/ (Abfragedatum April 2007)
338. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
339. Christian T, Schneider RJ, Goldbach HE: *Untersuchungen zum Eintrag von Antibiotika und natürlichen endokrinen Disruptoren nach Gülleausbringung in Gewässer Nordrhein-Westfalens*. Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn, Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes USL, Nr. 131, 2005. www.usl.uni-bonn.de/pdf/Forschungsbericht %20131.pdf (Abfragedatum April 2007)
340. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum April 2007)
341. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum April 2007)
342. NTP, National Toxicology Program: *Toxicology and Carcinogenesis Studies of Penicillin VK (CAS No. 132-98-9) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies)*. TR 336. 1988. ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/tr336.pdf (Abfragedatum April 2007)
343. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum April 2007)
344. Stemp G, Pascoe S, Gatehouse D: *In vitro and in vivo cytogenetic studies of three beta-lactam antibiotics (penicillin VK, ampicillin and carbenicillin)*. Mutagenesis 1989;4:439−445, zitiert nach NLM, 2007b
345. Sullivan TJ, Wedner HJ, Shatz GS, Yecies LD, Parker CW: *Skin testing to detect penicillin allergy*. J Allergy Clin Immunol 1981;68:171−180, zitiert nach NLM, 2007b

## Stoffdossier Piracetam

Tab. 62: Piracetam und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Piracetam | 7491-74-9 |
| **Metabolite** | |
| bislang keine Humanmetabolite bekannt | |

### Pharmakologie und Toxizität von Piracetam

Piracetam ist ein Wirkstoff zur Behandlung von kognitiven Störungen (Antidementivum). Es bewirkt signifikante EEG-Veränderungen, die sich in einer erhöhten Aufmerksamkeit und verbesserten kognitiven Funktion äußern (Erhöhung der Alpha- und Betaaktivitäten, Verringerung der Deltaaktivität). Übliche Tagesdosen zur Behandlung kognitiver Störungen sind 2 g−5 g, zur Behandlung von kortikalen Myoklonien bis zu 24 g. Die häufigsten unerwünschten Wirkungen der Behandlung sind: Nervosität, Reizbarkeit, Schlaflosigkeit, Zittern, Depression, Schläfrigkeit. Diese treten bei älteren Personen häufiger als bei jüngeren Patienten auf. Piracetam wirkt auch als Hämorheologikum (Hemmung der Thrombozytenaggregation, erhöhte Deformierbarkeit von Erythrozyten).

In Tierstudien wurden bei Dosen bis zu 4800 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ keine embryotoxischen oder teratogenen Effekte beobachtet. Entsprechende Humanuntersuchungen liegen nicht vor. Die Substanz wird mit der Muttermilch ausgeschieden. Alle Untersuchungen zu mutagenen oder klastogenen Wirkungen kamen zu negativen Resultaten. In Langzeitstudien an Ratten und Mäusen wurden bei Dosen bis zu 2400 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ keine kanzerogenen Effekte beobachtet [346, 347, 349].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Piracetam wird nach oraler Verabreichung rasch und praktisch vollständig im Gastrointestinaltrakt resorbiert (Bioverfügbarkeit nahezu 100 %). Piracetam wird weder beim Menschen noch beim Tier metabolisiert und wird unverändert über die Nieren ausgeschieden. Die Halbwertszeit beträgt bei jungen, gesunden Erwachsenen 4 h−5 h. Bei älteren Personen ist die Ausscheidung von Piracetam verlangsamt (Halbwertszeit ca. 8 h), ebenso bei Patienten mit Nierenfunktionsstörungen [347, 349].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Keine Daten vorhanden.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Angaben zum Umweltvorkommen von Piracetam liegen nicht vor.

### Literatur

346. Daunderer M: *Klinische Toxikologie* 2001. Loseblattausgabe, 154. Erg. Lfg, 12/01

347. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum September 2007)
348. NLM, U.S. National Library of Medicine: *ChemIDplus Advanced* 2007b chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidheavy.jsp (Abfragedatum September 2007)
349. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum September 2007)

## Stoffdossier Ranitidin

Tab. 63: Ranitidin und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Ranitidin | 66357-35-5 |
| Ranitidin-Hydrochlorid | 71130-06-8 u. 66357-59-3 |
| **Metabolite** | |
| Ranitidin-N-oxid | 73857-20-2 |
| Ranitidin-S-oxid | 73851-70-4 |
| Desmethylranitidin | 66357-25-3 |

### Pharmakologie und Toxizität von Ranitidin

Ranitidin ist ein Histamin-Antagonist für gastrische $H_2$-Rezeptoren. Es inhibiert die Histamin-induzierte gastrische Sekretion und Säureproduktion. Die übliche Tagesdosis ist 150 mg−300 mg. Beim Menschen wurden nur nach parenteraler Verabreichung hoher Dosen auch cholinerge Effekte in Form von Bradykardie, Erröten, Tränenfluss sowie Geistesverwirrung beobachtet. Ranitidin ist in hohen Konzentrationen im Ames-Test schwach mutagen. Die Effektkonzentrationen lagen dabei um ca. 3 Größenordnungen über den therapeutisch relevanten Blutplasmawerten. Kanzerogene Effekte wurden in Langzeitstudien an Mäusen, Ratten und Hunden nicht beobachtet [350, 353].

In Magensaft kann sich in vitro aus Ranitidin ein Nitrosoderivat bilden, das im Ames-Test mutagen ist [352]. Jedoch wurde bei Ranitidin-behandelten Patienten kein Anstieg der Mutagenität von Magensaft im Ames-Test gegenüber Kontrollpersonen beobachtet [359].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Ranitidin hat bei oraler Aufnahme eine Bioverfügbarkeit von ca. 50 %, es findet ein relevanter *First-Pass*-Metabolismus in der Leber statt. Die Metaboliten sind Desmethylranitidin, Ranitidin-N-Oxid und Ranitidin-S-Oxid. Beim Menschen stellt das N-Oxid den Hauptmetabolit dar. Ältere Menschen haben ein kleineres Verteilungsvolumen, eine höhere AUC (*Area Under Curve*) und eine langsamere Eliminationshalbwertszeit als jüngere erwachsene Personen. Einige Autoren berichten die Bildung eines nicht näher spezifizierten Furanylsäurederivates [354].

30 %−50 % der verabreichten Dosis wurden innerhalb von 24 h als Muttersubstanz im Urin ausgeschieden, davon Desmethylranitidin zu 2 %−3 % der Dosis, Ranitidin-N-Oxid zu 4 %−6 % und Ranitidin-S-Oxid zu 1 %. Der Rest wird über die Galle in Fäzes eliminiert. Die Halbwertszeit der Ausscheidung ist üblicherweise ca. 1,5 h−3 h (aber

bis zu 6 h bei älteren Personen). Bei manifesten Nierenfunktionsstörungen kann die Ausscheidung verlangsamt sein [351, 353, 356, 357, 358, 360].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Beim Menschen wiesen die Metaboliten N-Oxid und S-Oxid nur eine schwache $H_2$-Rezeptor-blockierende Aktivität auf. In der Ratte war Desmethylranitidin 4fach weniger wirksam als die Muttersubstanz, beim Hund 2fach (keine Humandaten) [353]. In NLM [357, 358] wurden die Metaboliten Desmethylranitidin, Ranitidin-N-Oxid und Ranitidin-S-Oxid als pharmakologisch inaktiv bezeichnet.

Ranitidin-N-Oxid war in der Maus deutlich weniger akut toxisch (i.v. LD50 >1000 mg/kg) als die Muttersubstanz (i.v. LD50 60 mg/kg) [362].

Zu Effekten längerfristiger Exposition gegenüber Ranitidin-Metaboliten liegen keine Daten vor.

Bei spezieller Testung der cholinergen Aktivität war das S-Oxid hinsichtlich der Inhibition der Acetylcholinesterase in menschlichen Erythrozyten ca. 10fach schwächer wirksam als die Muttersubstanz [355].

Ranitidin war in hohen Konzentrationen im Ames-Test schwach mutagen. Die Effektkonzentrationen lagen dabei um ca. 3 Größenordnungen über den therapeutisch relevanten Blutplasmawerten. Die Hauptmetabolite (nicht näher spezifiziert) zeigten keine signifikante mutagene Wirkung [353].

In vitro kann sich aus Ranitidin ein Nitrosoderivat bilden, das im Ames-Test mutagen ist [352]. Ob diese Reaktion auch bei Metaboliten erfolgt, ist nicht bekannt.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Nach den vorliegenden spärlichen Befunden scheinen die Metabolite von Ranitidin deutlich schwächer pharmakologisch wirksam und weniger toxisch zu sein als die Muttersubstanz. Allerdings besteht die Möglichkeit, dass in reduktiver Umgebung die N- und S-Oxidgruppe wieder gespalten wird, was zur Rückbildung der Muttersubstanz führen würde.

Ranitidin wurde vereinzelt in europäischen und nordamerikanischen Oberflächengewässern nachgewiesen (keine Konzentrationsangabe) [361].

### Literatur


350. AHFS: *AHFS Pharmacologic-Therapeutic Classification*. American Society of Health-System Pharmacists 2007. www.ashp.org/mngrphs/ahfs/ (Abfragedatum März 2007)
351. Bell JA, Dallas FA, Jenner WN, Martin LE: *The metabolism of ranitidine in animals and man*. Biochemical Society Tansactions 1980;8:93
352. De Flora S, Bennicelli C, Camoirano A, Zanacchi P: *Genotoxicity of nitrosated ranitidine*. Carcinogenesis 1983;4:255−260, zitiert nach NLM 2007b
353. GSK, GlaxoSmithKline Inc: *Product Monograph: ZANTAC* 2006 https://www.gsk.ca/en/products/prescription/zantac_pm_02142006.pdf (Abfragedatum März 2007)

354. IMB, Irish Medicines Board: *Summary of Product Characteristics* 2004 www.imb.ie/view_spc.asp?pa_number=PA0593%2F012%2F001&type=HUMAN (Abfragedatum: März 2007)
355. Kosh JW, Sowell JW, Chapman JM: *Comparison of the cholinergic activity of selected H2-antagonists and sulfoxide metabolites*. Pharm Res 1989;6:709−713
356. McNeill JJ, Mihaly GW, Anderson A, Marshall AW, Smallwood RA et al.: *Pharmacokinetics of the $H_2$-receptor antagonist ranitidine in man*. Br J Clin Pharmacol 1981;12:411−415
357. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
358. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online. 2007b* www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/ (Abfragedatum März 2007)
359. O'Connor HJ, Riley SE, Axon AT, Garner RC: *Effect of histamine H2-receptor antagonist therapy on the mutagenic activity of gastric juice*. Mutat Res 1987;188:201−208, zitiert nach NLM, 2007b
360. Pérez-Guillé G, Guillé-Pérez A, Toledo-López A, Juárez-Olguín H, Flores-Pérez C, Flores-Pérez J, Carrasco-Portugal M, Lares-Asseff I, Camacho-Vieyra A: *Effect of age on the pharmacokinetics of ranitidine in healthy Mexican volunteers*. Proc West Pharmacol Soc 2005;48:84−88
361. Reddersen K: *Das Verhalten von Arzneimittelrückständen im Wasserkreislauf Berlins*. Dissertation an der Technischen Universität Berlin 2004 edocs.tu-berlin.de/diss/2004/reddersen_kirsten.pdf (Abfragedatum: März 2007)
362. Tamura J, Sato N, Ezaki H, Miyamoto H, Oda S, Hirai K, Tokado H, Matsumoto M, Shirai T: *Acute toxicity of ranitidine and its metabolite in mice, rats and rabbits, and subacute oral toxicity of ranitidine in rats*. J Toxicol Sci 1983;8,Suppl 1:1−24

## Stoffdossier Sulfadimethoxin

Tab. 64: Sulfadimethoxin und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Sulfadimethoxin | 122-11-2 |
| Sulfadimethoxin, Natriumsalz | 1037-50-9 |
| **Metabolite** | |
| N4-Acetylsulfadimethoxin | 24341-30-8 |
| Sulfadimethoxinglukuronid | |

### Pharmakologie und Toxizität von Sulfadimethoxin

Sulfadimethoxin ist ein Antibiotikum, das vor allem Anwendung in der Veterinärmedizin findet. Teilweise wird es in Kombination mit Trimethoprim verabreicht. Die übliche Tagesdosis ist 20 mg−100 mg. Bei Wiederkäuern besteht die Gefahr einer Kristallurie (Harnkristall-Bildung). Bei hoher Dosierung wurden in Tieren Anorexie, Depression, Tremor, Krämpfe und Teratogenität beobachtet [364]. Sulfadimethoxin stört die Schilddrüsenfunktion und wirkte in diesem Organ tumorpromovierend. Untersuchungen zu mutagenen Effekten liegen nicht vor [369, 370].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Sulfadimethoxin wird nach oraler Gabe zu 60 %−9 % mit Halbwertszeiten von 2 h−3 h resorbiert. Sulfadimethoxin wird durch Acetylierung, Hydroxylierung und Konjugation in der Leber verstoffwechselt. Die Acetylierung ist reversibel (Rückbildung der Muttersubstanz), das Gleichgewicht liegt aber auf der Seite des Acetylderivates.

Je nach Spezies wird ein relevanter Anteil unverändert ausgeschieden. Bei allen Karnivoren wird der größte Anteil nicht metabolisiert und unverändert als Sulfadimethoxin ausgeschieden. Die Hauptmetaboliten von Sulfadimethoxin sind N4-Acetylsulfadimethoxin und der Glukuronidmetabolit. Beim Menschen und Primaten wird der größte Teil glukuronidiert, bei Katze und Kaninchen ist dieser Metabolit nicht nachweisbar. Beim Kaninchen werden 91 % als Acetylsulfadimethoxin ausgeschieden, beim Meerschweinchen 67 % [363]. Außer beim Hund, der nicht acetylieren kann, ist bei den Karnivoren N4-Acetylsulfadimethoxin der Hauptmetabolit (z.B. 18 % bei der Katze). Die Kombination mit Trimethoprim hat keine Auswirkungen auf den Sulfadimethoxin-Metabolismus [364].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Im Gegensatz zum Acetylmetaboliten (aus dem jedoch in der Umwelt die Muttersubstanz potenziell rückgebildet werden kann) haben die Hydroxymetaboliten noch eine antimikrobielle Aktivität (2,5 %−39,5 % der Originalsubstanz) [364]. Weitere Angaben liegen nicht vor.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Eine Rückbildung der Muttersubstanz aus Acetyl- und Glukuronidmetaboliten ist denkbar. Hydroxylierte Metabolite besitzen antibakterielle Aktivität, entstehen jedoch offensichtlich nur in geringem Umfang.

Sulfadimethoxin wurde in Oberflächengewässern nur vereinzelt nachgewiesen, es liegen jedoch keine detaillierten Daten vor (max. 0,06 µg/L−15 µg/L, keine Mittelwerte [366, 368].

Sulfadimethoxin ist nach Vorgabe der OECD-Tests der Serie 301 (Untersuchung auf leichte biologische Abbaubarkeit) zu < 10 % biologisch abbaubar [365].

### Literatur


363. Bridges JW, Kibby MR, Walker SR, Williams RT: *Species differences in the metabolism of sulphadimethoxine*. Biochem J 1968;109:851−856, zitiert nach NLM, 2007
364. IVT, Institut für Veterinärpharmakologie und -toxikologie: *Tierarzneimittelkompendium, Zürich, Schweiz* 2007. www-vetpharm.uzh.ch/ (Abfragedatum März 2007)
365. IWW, Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasserforschung: *Eintrag von Arzneimitteln und deren Verhalten und Verbleib in der Umwelt – Literaturstudie*. Kurzfassung des Abschlussberichts. Mülheim a. d. Ruhr, 2006
366. LUA-NRW, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen: *Antibiotika, Resistenzen und Bakterien in Kläranlagen. Materialien 72*. Essen. 2006 www.lanuv.nrw.de/veroeffentlichungen/materialien/mat72/mat72.pdf (Abfragedatum März 2007)
367. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007 www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/ (Abfragedatum März 2007)
368. Pawelzick H: *Tierarzneimittel aus der Intensivtierhaltung als neue Umweltkontaminanten – Untersuchungen zu Eintrag und Verhalten verschiedener Antibiotika in der Umwelt mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektrometrie*. Dissertation an der Universität Hannover 2005 deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=976198991&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=976198991.pdf (Abfragedatum März 2007)

369. Son HY, Nishikawa A, Ikeda T, Nakamura H, Miyauchi M, Imazawa T, Furukawa F, Hirose M: *Lack of modifying effects of environmental estrogenic compounds on the development of thyroid proliferative lesions in male rats pretreated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN)*. Japanese Journal of Cancer Research 2000;91:899−905 (jetzt Cancer Sci), zitiert nach NLM, 2007
370. Tamura T, Mitsumori K, Totsuka Y, Wakabayashi K, Kido R, Kasai H, Nasu M, Hirose, M: *Absence of in vivo genotoxic potential and tumor initiation activity of kojic acid in the rat thyroid*. Toxicology 2006;222:213−224, zitiert nach NLM, 2007

## Stoffdossier Sulfamethazin

Tab. 65: Sulfamethazin und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Sulfamethazin (Sulfadimidin) | 57-68-1 |
| Sulfamethazin, Natriumsalz | 1981-58-4 |
| **Metabolite** | |
| N(4)-Acetylsulfamethazin | 100-90-3 |
| 5-Hydroxysulfamethazin | 51395-19-8 |
| 6-Hydroxymethylsulfamethazine | 51395-20-1 |
| Desaminosulfamethazin | 6149-31-1 |
| N(4)-Glukosekonjugat von Sulfamethazin | |

### Pharmakologie und Toxizität von Sulfamethazin

Sulfamethazin ist ein veterinärmedizinisches Breitband-Antibiotikum. Unter dem Synonym Sulfadimidin ist es auch als humanmedizinischer Wirkstoff gelistet (ATC), derzeit sind aber in Deutschland keine entsprechenden Fertigarzneimittel verfügbar. Wegen der besseren Löslichkeit wird häufig das Na-Salz verwendet. Sulfamethazin wird häufig in fester Kombination mit Trimethoprim im Verhältnis 5:1 gegeben (siehe S. 175). Die übliche Tagesdosis ist 12,5 mg/kg (Kombinationspräparate)−300 mg/kg (Einzelsubstanz). Beim Menschen wurde das gelegentliche Auftreten von Kopfschmerzen, gastrointestinalen Beschwerden, Leberfunktionsstörungen, Hepatomegalie und Ikterus sowie Hypersensitivitätsreaktionen berichtet und bei Neugeborenen Hyperbilirubinämie. Bei hoher Dosierung kann Kristallurie (Ausscheidung von Harnkristallen) auftreten. Bei oraler Gabe hoher Dosen wurde bei Tieren Abgeschlagenheit, Fressunlust, Indigestion, Verstopfung oder Durchfall, Erbrechen, Milchrückgang, Muskelschwäche und Inkoordination berichtet, seltener das Auftreten von Fieber, Leukopenie, Urtikaria, Leberschädigung und zentralnervösen Störungen. Weiterhin verursacht Sulfamethazin Störungen der Schilddrüsenfunktion, wobei sich Nager als empfindlichste Gruppe erwiesen. Sulfamethazin wird als nicht mutagen bewertet (überwiegend negative Ergebnisse in Gentoxizitätstests in vitro und in vivo, so z.B. bei Untersuchungen der Mutagenität in Bakterien und Säugerzellen in vitro, DNA-Schädigung in Säugerzellkulturen, Chromosomenschäden in vivo). Induktion von Schwesterchromatidaustauschen wurde in Hamsterzellen, jedoch nur in Abwesenheit metabolischer Aktivierung beobachtet. In Nagerstudien wurden durch Sulfamethazin Schilddrüsentumore verursacht, welche jedoch bei therapeutischen Dosen für den Menschen von untergeordneter Relevanz sind. Sulfamethazin wirkt in hohen Dosen beim Tier fertilitätsmindernd und teratogen [375, 376, 378].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Sulfamethazin wird nach oraler Gabe zu 70 %−90 % resorbiert. Überwiegend erfolgt eine Metabolisierung in der Leber durch Hydroxylierung, Acetylierung und Konjugation mit Glukuronsäure. Metabolite sind N(4)-Acetylsulfamethazin (Hauptmetabolit beim Menschen), 5-Hydroxysulfamethazin (5-Hydroxy-4,6-dimethylpyrimidin) – vor allem beim Pferd, 6-Hydroxymethylsulfamethazin (6-Hydroxymethyl-4-methylpyrimidin sowie Glukuronide der Muttersubstanz und der Metabolite. Bei Schweinen wurde auch Desaminomethylsulfamethazin nachgewiesen. Die Acetylierung erfolgt beim Menschen durch die N-Acetyltransferase NAT2, für die ein genetischer Polymorphismus bekannt ist (schneller und langsamer Acetyliererstatus, wird häufig durch Sulfamethazin als Referenzsubstanz bestimmt). Die Stoffwechselprodukte werden mit dem Urin ausgeschieden (beim Menschen je nach Acetyliererstatus 61 %−94 % als Acetylsulfamethazin sowie 10 %−20 % freie oder konjugierte Hydroxylierungsprodukte) und in geringeren Mengen auch über die Fäzes [375, 376, 378]. N-Oxidierung oder Nitrosierung scheint nicht stattzufinden [374].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Die antibakterielle Wirksamkeit der Hydroxymetabolite ist 3 %−40 %, das Acetylderivat und die Glukuronide sind inaktiv [376]. Weitere Informationen zu Metaboliten liegen nicht vor.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Eine Spaltung der Acetyl- und Glukuronidderivate in der Umwelt und somit die Rückbildung der Muttersubstanz ist denkbar. Hydroxylierte Metabolite besitzen antibakterielle Aktivität, entstehen jedoch offensichtlich nur in geringerem Umfang.

Sulfamethazin wurde vereinzelt in geringen Konzentrationen im Ablauf von Kläranlagen und in Konzentrationen bis zu 0,16 µg/L in Oberflächengewässern nachgewiesen [371, 372, 373, 377, 381]. Sulfamethazin war auch im Grundwasser nachweisbar [380, 382]. Angaben zu Metaboliten liegen nicht vor.

### Literatur


371. AWEL, Amt für Abfall, Wasser, Energie und Luft: *Organische Spurenstoffe im Grundwasser des Limmattales / Ergebnisse der Untersuchungskampagne 2004*. In Zusammenarbeit mit Eawag – Das Wasserforschungs-Institut des ETH-Bereichs und Kantonales Labor Zürich 2005. www.wasser.zh.ch/internet/bd/awel/wa/de/mikroverunr.SubContainerList.SubContainer1.ContentContainerList.0025.DownloadFile.pdf?CFC_cK=1227782200804 (Abfragedatum April 2007)
372. BLAC, Bund/Länderausschuss für Chemikaliensicherheit: *Arzneimittel in der Umwelt – Auswertung der Untersuchungsergebnisse*. Freie und Hansestadt Hamburg. Behörde für Umwelt und Gesundheit, Institut für Hygiene und Umwelt 2003. www.blak-uis.de/servlet/is/2146/P-2c.pdf (Abfragedatum April 2007)
373. BLfW, Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft: *Arzneistoffe in der Umwelt* 2004. www.bayern.de/lfw/service/download/mat114.pdf (Abfragedatum April 2007)
374. Doerge DR, Decker CJ: *Inhibition of peroxidase-catalyzed reactions by arylamines: mechanism for the anti-thyroid action of sulfamethazine*. Chem Res Toxicol 1994;7:164−169, zitiert nach NLM, 2007b

375. IARC, International Agency for Research on Cancer: *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. Vol. 79. Some Thyrotropic Agents*. WHO, World Health Organization Geneva 2001
376. IVT, Institut für Veterinärpharmakologie und -toxikologie: *Tierarzneimittelkompendium*. Zürich 2007. www-vetpharm.uzh.ch/ (Abfragedatum April 2007)
377. IWW, Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasserforschung: *Eintrag von Arzneimitteln und deren Verhalten und Verbleib in der Umwelt – Literaturstudie*. Kurzfassung des Abschlussberichts. Mülheim a. d. Ruhr 2006
378. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum April 2007)
379. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum April 2007)
380. Pawelzick H: *Tierarzneimittel aus der Intensivtierhaltung als neue Umweltkontaminanten – Untersuchungen zu Eintrag und Verhalten verschiedener Antibiotika in der Umwelt mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektrometrie*. Dissertation an der Universität Hannover 2005 deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=976198991&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=976198991.pdf (Abfragedatum April 2007)
381. Reddersen K: *Das Verhalten von Arzneimittelrückständen im Wasserkreislauf Berlins*. Dissertation an der Technischen Universität Berlin 2004 edocs.tu-berlin.de/diss/2004/reddersen_kirsten.pdf (Abfragedatum April 2007)
382. UBA, Umweltbundesamt: *Eintrag von Antibiotika in die aquatische Umwelt. Prüfung der biologischen Abbaubarkeit ausgewählter Antibiotika, ihr Vorkommen im Abwasser und ihr möglicher Einfluss auf die Reinigungsleistung kommunaler Kläranlagen - Identifizierung von Risikofeldern*. Abschlussbericht 2003, F&E-Vorhaben 298 63 722 www.uniklinik-freiburg.de/iuk/live/umweltforschung/projekte/Abschlussbericht_uba.pdf (Abfragedatum April 2007)

## Stoffdossier Sulfamethoxazol

Tab. 66: Sulfamethoxazol und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Sulfamethoxazol | 723-46-6 |
| Sulfamethoxazol, Natriumsalz | 4563-84-2 |
| Sulfamethoxazol-Trimethoprim-Kombination (Co-Trimoxazol) | 8064-90-2 |
| **Metabolite** | |
| Sulfamethoxazol-Hydroxylamin | 114438-33-4 |
| 4-Nitrososulfamethoxazol | 131549-85-4 |
| N-Acetoxysulfamethoxazol | 169306-48-3 |
| N-1-Acetylsulfamethoxazol | 18607-98-2 |
| N-4-Acetylsulfamethoxazol | 21312-10-7 |

und die jeweiligen Konjugate (vor allem Glukuronide)

### Pharmakologie und Toxizität von Sulfamethoxazol

Sulfamethoxazol wird häufig in Kombination mit Trimethoprim (im Verhältnis 5:1) als Antibiotikum verwendet. Die Tagesdosis ist 1600 mg−3200 mg, in schweren Fällen auch höher. Gelegentlich treten gastrointestinale Beschwerden und Hautausschläge, seltener neurotoxische Effekte (Kopfschmerzen, Müdigkeit etc.), Überempfindlichkeitsreaktionen (z.T. lebensbedrohlich) oder hämatologische Veränderungen auf.

Sulfamethoxazol war im Ames-Test (bei starker Toxizität) nicht mutagen. In humanen Lymphozyten in vitro verursachte die Substanz keine Chromosomenaberrationen, ebenso nicht das Gemisch Sulfamethoxazol/Trimethoprim in humanen Fibroblasten.

Nach in vivo Anwendung von Sulfamethoxazol/Trimethoprim-Kombinationspräparaten wurden beim Menschen in peripheren Lymphozyten oder im Knochenmark keine Chromosomenaberrationen induziert, aber Mikronuklei im Knochenmark. In einer Studie wurde ein Zusammenhang zwischen der Sulfamethoxazol-Verwendung und dem vermehrten Auftreten von Tumoren in Lunge und Cervix sowie Myelomen, Lymphomen und Leukämien beobachtet. Diese Befunde bedürfen der Bestätigung. In einer Langzeitstudie an Ratten verursachte Sulfamethoxazol vermehrt Schilddrüsenadenome und -karzinome. Die IARC wertet die Befunde als "*Inadequate Evidence for Carcinogenicity*" beim Menschen und als "*Limited Evidence*" in Tierstudien (Gesamtbewertung: nicht klassierbar). Sulfamethoxazol zeigte in Tierstudien embryotoxische und teratogene Wirkung, beim Menschen wurde in einer Studie zu Effekten der Sulfamethoxazol/Trimethoprim-Kombination eine erhöhte Fehlbildungsrate beobachtet [383, 386, 392, 399].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Sulfamethoxazol wird bei oraler Aufnahme nahezu vollständig resorbiert. In Kombination mit Trimethoprim verlangsamt sich die Resorption etwas, ansonsten scheint die Pharmakokinetik unbeeinflusst. Eine Metabolisierung erfolgt hauptsächlich durch Hydroxylierung, Acetylierung und Konjugation mit Glukuronsäure. Bei der Acetylierung konnten keine ausgeprägten Polymorphismen beobachtet werden.

Ca. 17 % einer oral verabreichten Dosis wurden unverändert mit dem Urin ausgeschieden, 45 %−70 % einer verabreichten Dosis werden mit dem Urin ausgeschieden, davon ca. 1/3–1/5 unkonjugiert. Ca. 50 % entfielen auf das N-4-Acetylsulfamethoxazol, 2 %−3 % auf das Hydroxylaminderivat. Geringe Mengen werden auch in Fäzes eliminiert [383, 386, 392].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Acetylierte Metabolite sind bakteriell unwirksam, besitzen jedoch weiterhin die toxischen Eigenschaften der Muttersubstanz. Die akute Toxizität von N-4-Acetylsulfamethoxazol (orale LD50 in Maus bzw. Ratte: 3471 mg/kg bzw. 8400 mg/kg) ist nur geringfügig niedriger als die von Sulfamethoxazol (orale LD50 in Maus bzw. Ratte: 2300 mg/kg bzw. 6200 mg/kg) [386, 392, 398, 399].

Das Hydroxylaminderivat wird als idiosynkratisch toxisch beschrieben. Sulfamethoxazol-Hydroxylamin, nicht aber die Muttersubstanz, wirkt stark apoptotisch auf T-Zellen [390]. Als Ursache für beobachtete Hypersensitivitätsreaktionen beim Menschen (vor allem Hautreaktionen, aber auch systemische Effekte) wird das endogen gebildete Oxidationsprodukt, das Nitrososulfamethoxazol, angesehen. Vermutlich ist für die toxische Wirkung die Bildung von Proteinaddukten relevant [392, 394, 400].

In vitro wurde auch die Bildung des N-Acetoxyderivates aus dem Sulfamethoxazol-Hydroxylamin gezeigt. Dieser potenzielle Metabolit ist stärker zytotoxisch als das Hydroxylaminderivat und im Ames-Test schwach mutagen [396].

Hydroxylamin- und Nitrosoderivate stehen in der Zelle in einem Redox-Gleichgewicht. Sie können durch Glutathion, Cystein (in geringem Umfang auch im Plasma) entgiftet werden, jedoch wird bei Depletion dieser Reduktionsmittel die Reaktion mit zellulären Makromolekülen als wahrscheinlich angesehen [393, 395].

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Die Metaboliten von Sulfamethoxazol sind zwar pharmakologisch inaktiv, Acetylmetabolite sind jedoch vergleichbar toxisch wie die Muttersubstanz und Hydroxylaminderivate übertreffen diese teilweise noch hinsichtlich allergischer Reaktionen. Unter reduktiven Umweltbedingungen ist eine Rückbildung der Muttersubstanz denkbar.

Sulfamethoxazol war in Oberflächengewässern (USA: Median 0,15 µg/L, maximal 1,9 µg/L) und in Zu- und Abläufen von Kläranlagen nachzuweisen [384, 385, 387]. Die Abbauraten in Kläranlagen betrugen 15 %−45 % [388]. Sulfamethoxazol wird durch Ozonung und $ClO_2$-Behandlung effektiv oxidiert [391].

N-Acetylsulfamethoxazol machte in einer Untersuchung in unbehandeltem Abwasser bis zu 86 % der Gesamtfracht – Muttersubstanz plus dieser Metabolit, ca. 1,7 µg/L – aus. Im Ablauf betrugen die Konzentrationen von Sulfamethoxazol und N-Acetylsulfamethoxazol im Median noch 0,4 µg/L, mit einem Anteil des Metaboliten von nur noch ca. 3 %. Die Autoren vermuten, dass die Muttersubstanz im Verlauf der Abwasserbehandlung rückgebildet werden könnte [389].

### Literatur


383. AHFS: *AHFS Pharmacologic-Therapeutic Classification*. American Society of Health-System Pharmacists 2007. www.ashp.org/mngrphs/ahfs/ (Abfragedatum März 2007)
384. ARGE, Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe: *Arzneistoffe in Elbe und Saale* 2003. www.arge-elbe.de/wge/Download/Berichte/03Arzn.pdf (Abfragedatum März 2007)
385. BLAC, Bund/Länderausschuss für Chemikaliensicherheit: *Arzneimittel in der Umwelt – Auswertung der Untersuchungsergebnisse*. Freie und Hansestadt Hamburg. Behörde für Umwelt und Gesundheit, Institut für Hygiene und Umwelt 2003 www.blak-uis.de/servlet/is/2146/P-2c.pdf (Abfragedatum März 2007)
386. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
387. Christian T: *Antibiotika in Oberflächengewässern Nordrhein-Westfalens – Herkunft, Eintrag, Verbleib und Relevanz –*. Dissertation an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn 2004 deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=973442247&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=973442247.pdf (Abfragedatum März 2007)
388. Feldmann DF: *Modellberechnungen zum Verhalten und Verbleib von Arzneimittelrückständen im Krankenhausabwasser und Beurteilungsmöglichkeiten ihres ökotoxikologischen Gefährdungspotentials*. Dissertation an der Technischen Universität Berlin 2005 opus.kobv.de/tuberlin/volltexte/2005/1059/pdf/feldmann_dirk.pdf (Abfragedatum März 2007)
389. Göbel A, Thomsen A, McArdell CS, Joss A, Giger W: *Occurrence and sorption behavior of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in activated sludge treatment*. Environ Sci Technol, 2005, 39: 3981−3989, zitiert nach NLM, 2007b
390. Hess DA, Sisson ME, Suria H, Wijsman J, Puvanesasingham R, Madrenas J, Rieder MJ: *Cytotoxicity of sulfonamide reactive metabolites: apoptosis and selective toxicity of CD8(+) cells by the hydroxylamine of sulfamethoxazole*. FASEB J 1999;13:1688−1698, zitiert nach NLM, 2007b

391. Huber MM: *Elimination of Pharmaceuticals during Oxidative Treatment of Drinking Water and Wastewater: Application of Ozone and Chlorine Dioxide*. A dissertation to the Swiss Federal Institute of Technology Zurich 2004 e-collection.ethbib.ethz.ch/ecol-pool/diss/fulltext/eth15768.pdf (Abfragedatum März 2007)
392. IARC, International Agency for Research on Cancer: *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. Vol. 79. Some Thyrotropic Agents*. WHO, World Health Organization, Geneva 2001
393. Lavergne SN, Kurian JR, Bajad SU, Maki JE, Yoder AR, Guzinski MV, Graziano FM, Trepanier LA: *Roles of endogenous ascorbate and glutathione in the cellular reduction and cytotoxicity of sulfamethoxazole-nitroso*. Toxicology 2006;222:25−36, zitiert nach NLM, 2007b
394. Lehmann DF, Newman N, Morse PD: *The effect of cimetidine on the formation of sulfamethoxazole hydroxylamine in patients with human immunodeficiency virus*. J Clin Pharmacol 1998;38:463−466
395. Naisbitt DJ, Hough SJ, Gill HJ, Pirmohamed M, Kitteringham NR, Park BK: *Cellular disposition of sulphamethoxazole and its metabolites: implications for hypersensitivity*. Br J Pharmacol 1999;126:1393−1407, zitiert nach NLM, 2007b
396. Nakamura H, Uetrecht J, Cribb AE, Miller MA, Zahid N, Hill J, Josephy PD, Grant DM, Spielberg SP: *In vitro formation, disposition and toxicity of N-acetoxy-sulfamethoxazole, a potential mediator of sulfamethoxazole toxicity*. J Pharmacol Exp Ther 1995;274: 1099−1104, zitiert nach NLM, 2007b
397. NLM, U.S. National Library of Medicine: *ChemIDplus Advanced* 2007b chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidheavy.jsp (Abfragedatum März 2007)
398. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum März 2007)
399. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
400. Vyas PM, Roychowdhury S, Khan FD, Prisinzano TE, Lamba J, Schuetz EG, Blaisdell J, Goldstein JA, Munson KL, Hines RN, Svensson CK: *Enzyme-mediated protein haptenation of dapsone and sulfamethoxazole in human keratinocytes: I. Expression and role of cytochromes P450*. J Pharmacol Exp Ther 2006;319:488−496 jpet.aspetjournals.org/cgi/reprint/jpet.106.105858v1.pdf (Abfragedatum März 2007)

## Stoffdossier Sulfasalazin

Tab. 67: Sulfasalazin und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Sulfasalazin | 599-79-1 |
| **Metabolite** | |
| Sulfapyridin | 144-83-2 |
| N-Acetylsulfapyridin | 19077-98-6 |
| Acetylsulfapyridin-O-glukuronid | 69233-18-7 |
| Hydroxysulfapyridin | |
| Hydroxysulfapyridinglukuronid | |
| 5-Aminosalicylsäure | 89-57-6 |
| N-Acetyl-5-aminosalicylsäure | 51-59-2 |

### Pharmakologie und Toxizität von Sulfasalazin

Sulfasalazin wird für die Therapie von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und rheumatoider Arthritis verwendet. Sulfasalazin ist ein Prodrug. Der antiinflammatorische Wirkstoff ist die 5-Aminosalicylsäure. Der Metabolit Sulfapyridin wirkt antibakteriell. Bei rheumatischen Erkrankungen scheint Sulfapyridin mit zur pharmakologischen Wirkung beizutragen. Die Tagesdosis ist 1000 mg/d−4000 mg/d, in speziellen Fällen auch höher (jedoch Risiko von Nebenwirkungen). Häufige Nebenwirkun-

gen sind Kopfschmerzen, Müdigkeit und Übelkeit, seltener treten allergische Hautreaktionen, Leberfunktionsstörungen und Hepatitis, Pneumonitis hämatologische Veränderungen sowie eine reversible Verschlechterung der Spermienqualität (Oligospermie, Infertilität) auf. In Langzeitstudien an Ratten und Mäusen wurden kanzerogene Wirkungen in beiden Spezies beobachtet ("*Some Evidence of Carcinogenicity*" in Ratten bei Nieren- und Blasentumoren, "*Clear Evidence*" in Mäusen bei Lebertumoren). Sulfasalazin war in Bakterien und in Säugerzellen in vitro nicht mutagen, induzierte jedoch in vitro in Säugerzellen Schwesterchromatidaustausch und Kinetochor-haltige Mikronuklei (Aneuploidie) und in vivo in Mäusen nach mehrmaliger Exposition Mikronuklei. In Tierstudien wurde bei maternal nicht toxischen Dosen keine fruchtschädigende Wirkung beobachtet, jedoch war die männliche Fertilität beeinträchtigt [402, 411, 412, 407].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Sulfasalazin wird teilweise (10 %−30 %) bereits im Dünndarm resorbiert. Ein Großteil davon (80 %) wird über die Leber mit der Galle in den Dünndarm ausgeschieden, der Rest (ca. 10 %) wird unverändert über den Urin eliminiert. Der nicht im Dünndarm resorbierte Anteil (ca. 70 %) wird im Dickdarm durch die Darmflora in die Metabolite 5-Aminosalicylsäure und Sulfapyridin gespalten. Sulfapyridin wird dort weitgehend resorbiert und in der Leber acetyliert, hydroxyliert und anschließend auch glukuronidiert. Je nach genetisch bedingtem Acetyliererstatus resultieren unterschiedliche Plasmaspiegel an Sulfapyridin. Bei langsamen Acetylierern treten höhere Plasmakonzentrationen auf und die Gefahr von Nebenwirkungen ist dann erhöht. Sulfapyridin besitzt eine höhere Plasmahalbwertszeit als Sulfasalazin. Die Sulfapyridin-Metabolite werden mit dem Urin ausgeschieden (ca. 70 % der anteiligen gegebenen Dosis). 5-Aminosalicylsäure wird nur zu 25 % im Colon resorbiert und bereits teilweise in der Darmschleimhaut, aber auch der Leber acetyliert. Ca. 15 % der verabreichten Dosis werden mit dem Urin ausgeschieden, die überwiegende Menge der 5-Aminosalicylsäure (75 %) wird über Fäzes eliminiert. Insgesamt sind 70 %−90 % einer verabreichten Dosis von Sulfasalazin in Form von Muttersubstanz oder Metaboliten im Urin nachzuweisen, der Rest in Fäzes [402, 403, 412, 407, 414].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Die Muttersubstanz wird überwiegend erst im Dickdarm an der Azogruppe gespalten. Hierbei entsteht die pharmakologisch aktive 5-Aminosalicylsäure und Sulfapyridin, welches vor allem für die unerwünschten Nebenwirkungen verantwortlich scheint. Die weiteren Metabolite zeigen nur geringe pharmakologische Wirkung [402, 412].

Die akute Toxizität von Sulfasalazin und Sulfapyridin ist vergleichbar (orale LD50 bei Ratte/Maus > 10 g/kg), die von 5-Aminosalicylsäure liegt etwas höher (orale LD50 bei Ratte/Maus ca. 3 g/kg) [408]. 5-Aminosalicylsäure ist ein effektiver Sauerstoffradikalfänger (was auch im Zusammenhang mit der antiinflammatorischen Wirkung gesehen wird), wobei die Substanz zu einem Benzochinonimin oxidiert werden kann. Dieses

Produkt ist als potenziell zellschädigend (Proteinaddukte) anzusehen, wird jedoch normalerweise durch reduzierende Komponenten der Zelle (z.B. Glutathion) effektiv entgiftet [405, 413].

Sulfapyridin und/oder dessen acetylierte Metabolite verursachten in vitro und in vivo Schwesterchromatidaustausch und Mikronuklei. Die Aneuploidie-erzeugende Wirkung von Sulfasalazin wird deshalb dem Sulfapyridin zugeschrieben. 5-Aminosalicylsäure und N-Acetyl-Aminosalicylsäure sind nicht gentoxisch [411].

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

5-Aminosalicylsäure ist der pharmakologisch wirksame Metabolit von Sulfasalazin. Sulfapyridin ist antibakteriell wirksam und die Ursache der Aneuploidie-erzeugenden Wirkung von Sulfasalazin. Es ist zu vermuten, dass die metabolischen Modifikationen (z.B. Acetylierung) der beiden Hauptmetabolite in der Umwelt reversibel sind und 5-Aminosalicylsäure und Sulfapyridin rückgebildet werden können.

Zu Umweltvorkommen liegen kaum Angaben vor. Sulfapyridin war in der Schweiz in der Limmat in Konzentrationen von wenigen ng/L und in Abläufen von Schweizer und kanadischen Kläranlagen in Konzentrationen um 0,1 µg/L nachzuweisen [401, 406]. Auch in Klärschlämmen wurde die Substanz gefunden [404].

### Literatur


401. AWEL, Amt für Abfall, Wasser, Energie und Luft: *Organische Spurenstoffe im Grundwasser des Limmattales / Ergebnisse der Untersuchungskampagne 2004*. In Zusammenarbeit mit Eawag – Das Wasserforschungs-Institut des ETH-Bereichs und Kantonales Labor Zürich 2005 www.wasser.zh.ch/internet/bd/awel/wa/de/mikroverunr.SubContainerList.SubContainer1.ContentContainerList.0025.DownloadFile.pdf?CFC_cK=1227782200804 (Abfragedatum März 2007)
402. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
403. Fahrenholz DMG: *Der Einfluß von Sulfasalazin und seiner Metabolite auf die Leukotrien- und Thromboxansynthese in Monozyten und neutrophilen Granulozyten*. Dissertation an der Medizinischen Hochschule Hannover 2005 deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=980969948&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=980969948.pdf (Abfragedatum März 2007)
404. Gobel A, Thomsen A, McArdell CS, Alder AC, Giger W, Theiss N, Loffler D, Ternes TA: *Extraction and determination of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in sewage sludge*. J Chromatogr A 2005;1085:179−189, zitiert nach NLM, 2007c
405. Lopez-Alarcon C, Rocco C, Lissi E, Carrasco C, Squella JA, Nunez-Vergara L, Speisky H: *Reaction of 5-aminosalicylic acid with peroxyl radicals: protection and recovery by ascorbic acid and amino acids*. Pharm Res 2005;22:1642−1648, zitiert nach NLM, 2007c
406. Miao XS, Bishay F, Chen M, Metcalfe CD: *Occurrence of antimicrobials in the final effluents of wastewater treatment plants in Canada*. Environ Sci Technol 2004; 38:3533−3541, zitiert nach NLM, 2007c
407. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
408. NLM, U.S. National Library of Medicine: *ChemIDplus Advanced* 2007b chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidheavy.jsp (Abfragedatum März 2007)
409. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum März 2007)

410. NLM, U.S. National Library of Medicine: *TOXLINE* 2007d toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?TOXLINE, Abfragedatum: März, 2007
411. NTP, National Toxicology Program: *Toxicology and Carcinogenesis Studies of Salicylazosulfapyridine in F344 Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies)*. TR 457. U.S. Department of Health and Human Services; Public Health Service 1997
412. ÖKK: *Medikamentenvergleich online*. 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
413. Pearson DC, Jourd'heuil D, Meddings JB: *The anti-oxidant properties of 5-aminosalicylic acid*. Free Radic Biol Med 1996;21:367−373, zitiert nach NLM, 2007c
414. Schroder H, Schroder BM: *Isolation and determination of a hydroxylated metabolite of sulfapyridine from human urine*. Acta Pharm Suec 1973;10:263−268, zitiert nach NLM, 2007d

## Stoffdossier Tilidin

Tab. 68: Tilidin und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Tilidin (Hydrochlorid) | 24357-97-9 |
| **Metabolite** | |
| Nortilidin | 38677-94-0 |
| Bisnortilidin | 53948-51-9 |

### Pharmakologie und Toxizität von Tilidin

Tilidin ist ein Analgetikum, die übliche Tagesdosis ist 200 mg. Häufig werden Kombinationspräparate mit dem Opioidrezeptor-Antagonisten Naloxon (Verhältnis 50:4) verabreicht, um hochdosiertem Missbrauch vorzubeugen. Tilidin ist ein Prodrug, die pharmakologisch wirksame Substanz ist der Metabolit Nortilidin. Gelegentliche Nebenwirkungen sind Übelkeit, Erbrechen, Benommenheit, Obstipation oder Atemdepression, allergische Haut- oder Atemwegsreaktionen. In Tierstudien zeigte sich keine teratogene Wirkung [417]. Daten zu Gentoxizität oder Kanzerogenität fehlen.

### Toxikokinetik und Metabolismus

Tilidin wird nach oraler Gabe schnell und vollständig (99 %) resorbiert. Tilidin unterliegt nach oraler Gabe einem intensiven *First-Pass*-Effekt. Die Bioverfügbarkeit der Muttersubstanz ist ca. 8 %, über 2/3 werden durch N-Demethylierung zur eigentlichen Wirksubstanz (+)-Nortilidin metabolisiert. Dieses ist wegen eines raschen Metabolismus nur zu ca. 50 % bioverfügbar (1/3 der verabreichten Tilidindosis). Durch weitere Demethylierung entsteht Bisnortilidin (ebenfalls pharmakologisch aktiv). Der weitere Stoffwechsel führt zu einer Reihe nicht identifizierter Metabolite, die keine pharmakologische Wirksamkeit zeigen sollen. Tilidin und seine Metaboliten werden zu 90 % renal ausgeschieden, wobei 0,1 %−0,2 % Muttersubstanz, ca. 2 %−3 % Nortilidin und 3 %−5 % Bisnortilidin unverändert im Urin eliminiert werden [417, 415, 418].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Nortilidin ist die eigentliche Wirksubstanz des Prodrug Tilidin. Auch der Metabolit Bisnortilidin besitzt pharmakologische Wirksamkeit.

Weitere Informationen zu den Metaboliten liegen nicht vor.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Die Metabolite Nortilidin und Bisnortilidin sind pharmakologisch wirksam, sie werden jedoch im Organismus effektiv zu weiteren Metaboliten verstoffwechselt und nur in geringen Mengen ausgeschieden. Diese Metabolite sind nicht charakterisiert.

Angaben zum Umweltvorkommen der Muttersubstanz und der bereits identifizierten Metabolite liegen nicht vor. Aufgrund der Metabolisierung sind für diese Substanzen nur geringe Konzentrationen zu erwarten.

### Literatur


415. Hajda JP, Jähnchen E, Oie S, Trenk D: *Sequential first-pass metabolism of nortilidine: the active metabolite of the synthetic opioid drug tilidine*. J Clin Pharmacol 2002; 42:1257−1261
416. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed (Abfragedatum März 2007)
417. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)
418. Vollmer KO, Thomann P, Hengy H: *Pharmacokinetics of tilidine and metabolites in man*. Arzneimittelforschung 1989;39:1283−1288, zitiert nach NLM, 2007


## Stoffdossier Trimethoprim

Tab. 69: Trimethoprim und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Trimethoprim | 738-70-5 |
| Sulfamethoxazol-Trimethoprim-Kombination (Co-Trimoxazol) | 8064-90-2 |
| Trimethoprimsulfat | 56585-33-2 |
| **Metabolite** | |
| 3'-Desmethyl-Trimethoprim | |
| 4'-Desmethyl -Trimethoprim | |
| Trimethoprim-1-N-oxid | |
| Trimethoprim-3-N-oxid | |
| α-Hydroxy-Trimethoprim und Konjugate (Glukuronide und Sulfate) | |

### Pharmakologie und Toxizität von Trimethoprim

Das Antibiotikum Trimethoprim wird häufig in Kombination mit dem Sulfonamid Sulfamethoxazol (im Verhältnis 1:5) verwendet. Die Tagesdosis ist 320 mg−640 mg. Gelegentlich treten gastrointestinale Beschwerden, seltener neurotoxische Effekte (Kopfschmerzen, Müdigkeit etc.), Überempfindlichkeitsreaktionen (in Kombination mit Sulfamethoxazol, z.T. lebensbedrohlich, wobei Sulfamethoxazol für diese Wirkung verantwortlich scheint) oder hämatologische Veränderungen auf. Nach längerer Einnahme wurde eine Reduktion der Spermienzahlen beobachtet. Beim Menschen wurde in einer Studie zu Effekten der Sulfamethoxazol/Trimethoprim-Kombination eine erhöhte Fehlbildungsrate beobachtet. In Tierstudien wirkte die Substanz embryotoxisch und teratogen. Trimethoprim war in Ames-Tests überwiegend nicht mutagen und verursachte in vitro keine Genmutationen oder unplanmäßige DNA-Synthese in Säugerzellen. In vitro-Studien zur Induktion von Chromosomenmutatio-

nen kamen zu widersprüchlichen Ergebnissen, in vivo (auch nach Humanexposition) waren die Befunde negativ [419, 422, 423, 425, 426].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Trimethoprim wird bei oraler Aufnahme rasch und nahezu vollständig resorbiert. Die Metabolisierung erfolgt hauptsächlich durch O-Demethylierung, N-Oxidation und Hydroxylierung und führt zu den demethylierten 3'- und 4'-Hydroxyderivaten, welche im Organismus glukuronidiert oder sulfatiert werden können. In geringerem Umfang werden 1- und 3-N-Oxide gebildet sowie das $\alpha$-Hydroxy-Trimethoprim.

70 %−100 % einer verabreichten Dosis werden mit dem Urin ausgeschieden, davon etwa 50 % als Muttersubstanz und der Rest als Metabolite (1 %−2 % N-Oxide). Geringe Mengen (4 %) werden über die Galle in den Fäzes eliminiert [419, 421, 422, 423, 426, 427].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Für die 1- und 3-Oxide wird wegen der Derivatisierung der Pteridinstruktur keine antibakterielle Wirkung angenommen. Eventuell besitzen die 3'-, 4'- und $\alpha$-Hydroxy-Derivate eine pharmakologische Wirksamkeit, dies ist jedoch nicht experimentell nachgewiesen [423].

Weitere Informationen zur Wirkung von Metaboliten liegen nicht vor.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Die hydroxylierten Derivate haben möglicherweise pharmakologische Wirksamkeit, entstehen aber nur zu ca. 10 % der verabreichten Dosis. Eine Rückbildung der Muttersubstanz aus den Metaboliten in der Umwelt ist denkbar.

Trimethoprim war meist nur in sehr geringen Konzentrationen in Oberflächengewässern nachzuweisen [420]. Ein Abbau in der Kläranlage findet nicht statt [424].

### Literatur


419. AHFS: *AHFS Pharmacologic-Therapeutic Classification*. American Society of Health-System Pharmacists 2007. www.ashp.org/mngrphs/ahfs/ (Abfragedatum März 2007)
420. BLAC, Bund/Länderausschuss für Chemikaliensicherheit: *Arzneimittel in der Umwelt – Auswertung der Untersuchungsergebnisse*. Freie und Hansestadt Hamburg. Behörde für Umwelt und Gesundheit, Institut für Hygiene und Umwelt 2003 www.blak-uis.de/servlet/is/2146/P-2c.pdf (Abfragedatum März 2007)
421. Brooks MA, De Silva JA, D'Arconte L: *Determination of trimethoprim and its N-oxide metabolites in urine of man, dog, and rat by differential pulse polarography*. J Pharm Sci 1973;62:1395−1397
422. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
423. EMEA, European Medicines Agency: *Trimethoprim, Summary Report (2)*. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Veterinary Medicines and Inspections, Committee for Veterinary Medicinal Products1997 www.emea.eu.int/pdfs/vet/mrls/025597en.pdf (Abfragedatum März 2007)

424. Feldmann DF: *Modellberechnungen zum Verhalten und Verbleib von Arzneimittelrückständen im Krankenhausabwasser und Beurteilungsmöglichkeiten ihres ökotoxikologischen Gefährdungspotentials*. Dissertation an der Technischen Universität Berlin 2005 opus.kobv.de/tuberlin/volltexte/2005/1059/pdf/feldmann_dirk.pdf (Abfragedatum März 2007)
425. IARC, International Agency for Research on Cancer: *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. Vol. 79. Some Thyrotropic Agents*. WHO, World Health Organization, Geneva 2001
426. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
427. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org (Abfragedatum März 2007)

## Stoffdossier Valproinsäure

Tab. 70: Valproinsäure und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Valproinsäure | 99-66-1 |
| Natriumvalproat | 1069-66-5 |
| **Metabolite** | |
| Valproinsäureglukuronid | 60113-83-9 |
| 2-Propyl-2-pentensäure | 60218-41-9 |
| 2-Propyl-4-pentensäure | 1575-72-0 |
| 3-Hydroxyvalproinsäure | |
| 3-Ketovalproinsäure | |

### Pharmakologie und Toxizität von Valproinsäure

Valproinsäure ist ein Antiepileptikum. In letzter Zeit nimmt auch die Bedeutung als Chemotherapeutikum zu (Proliferationsinhibitor für neuronale Zellen). Die Tagesdosis als Antiepileptikum ist 15 mg/kg−30 mg/kg, die maximale Dosis ist 60 mg/kg. Valproinsäure hat sich in Tierstudien als teratogen erwiesen, auch beim Menschen bestehen entsprechende Erfahrungen (Neuralrohrdefekte). Häufigere Nebenwirkungen sind neurotoxische Effekte (Sedation, Ataxie, Schwindel, Kopfschmerz, Hyperaktivität, Appetitsteigerung), gastrointestinale Beschwerden, Veränderungen von Leberfunktionsparametern und akute Pankreatitis. In seltenen Fällen wurden schwere Leberschäden und hämatologische Veränderungen beobachtet. Mutagene Wirkungen konnten nicht eindeutig nachgewiesen werden [428, 429, 435, 432]. Die Berichte zur Induktion von Schwesterchromatidaustausch und Chromosomenaberrationen in vivo (Lymphozyten von Epilepsiepatienten) sind widersprüchlich [439, 430]. Weitere Untersuchungen berichten eine proliferationshemmende Wirkung auf Tumorzellen in vitro und in vivo [438].

### Toxikokinetik und Metabolismus

Die Resorption erfolgt rasch und praktisch vollständig. Die Metabolisierung erfolgt überwiegend in der Leber, wobei ein *First-Pass*-Effekt vorliegt, und führt zu einem komplexen Metabolitenmuster. Beim Menschen wurden insgesamt über 50 Metabolite identifiziert. Es erfolgt überwiegend (10 %−70 %) eine Glukuronidierung. Die β-Oxidation führt zur 2-Propyl-2-, -3- oder -4-pentensäure, 3-Hydroxyvalproinsäure sowie zur 3-Ketovalproinsäure, letztere erscheint zu 10 %−60 % im Urin (durch β-Oxidation entstehen noch weitere Metabolite). Die ω-Hydroxylierung führt u.a. zur 4- und

5-Hydroxyvalproinsäure, 4-Keto-2-valproinsäure, 2-Propylglutarsäure und zur 2-Propylbernsteinsäure. Auch die Metabolite werden als Glukuronide ausgeschieden [429, 440, 441].

1 %−5 % einer verabreichten Dosis werden unverändert über den Urin eliminiert. Bis zu 95 % werden als Glukuronsäurekonjugate über den Urin ausgeschieden (Hauptmetabolite im Urin: Valproinsäureglukuronid mit 10 %−70 % und 3-Ketovalproinsäure mit 10 %−60 %). Spuren fanden sich auch in Fäzes und der Atemluft. Die Eliminationshalbwertszeit ist durchschnittlich 13 h (Spanne 9 h−18 h). Bei Leber- oder Niereninsuffizienz ist die Plasma-Proteinbindung von Valproinsäure vermindert und die Eliminationshalbwertszeit verlängert [428, 429, 432, 435, 441].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Nachdem der Hauptmetabolit im Plasma (2-Propyl-2-pentensäure) keine teratogene Wirkung zeigt, wird diese Eigenschaft der Muttersubstanz zugeschrieben. 2-Propyl-2-pentensäure und 2-Propyl-4-pentensäure sind pharmakologisch fast genauso wirksam wie die Muttersubstanz. Als ursächlich für die hepatotoxischen Wirkungen werden 2-Propyl-4-pentensäure, 2,4-Dienvalproinsäure und/oder die 4-Epoxyvalproinsäure angesehen. Die ungesättigten Verbindungen werden bei niedriger Dosierung als Cysteinkonjugat (via Glutathionkonjugation) und das Epoxyderivat durch enzymatische Spaltung (Epoxidhydrolase) entgiftet [428, 429, 441]. Substanzen mit endständigen Olefingruppen können DNA alkylieren [436]. Ob dies für die Metabolite 2-Propyl-4-pentensäure und 2,4-Dienvalproinsäure zutrifft, wurde nicht gezeigt. Auch bei dem Epoxid sind potenziell alkylierende Eigenschaften zu vermuten. Andererseits wurde beobachtet, dass Valproinsäure in vitro und in vivo antiproliferierende Wirkung auf Tumorzellen hat [438].

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Bei dem komplexen Metabolismus der Valproinsäure ist eine umfassende Abschätzung der pharmakologischen und toxikologischen Relevanz aller Metabolite nicht möglich. Zwei Stoffwechselprodukte (2-Propyl-2-pentensäure und 2-Propyl-4-pentensäure) sind pharmakologisch als fast genauso wirksam wie die Muttersubstanz beschrieben. Der 2-Propyl-4-pentensäure, 2,4-Dienvalproinsäure und/oder der 4-Epoxyvalproinsäure werden hepatotoxische Wirkungen und potenziell gentoxische Wirkungen unterstellt. Es ist zu erwarten, dass diese, als Glukuronide ausgeschiedenen reaktiven Metabolite unter Umweltbedingungen zu den ursprünglichen Verbindungen gespalten werden können, aber auch zu (vermutlich hydroxylierten) Folgeprodukten weiterreagieren können.

Valproinsäure wurde in Oberflächengewässern in Baden-Württemberg mit mittleren Konzentrationen von ca. 10 ng/L gefunden und in Zuläufen von Kläranlagen mit ca. 100 ng/L. In Schwebstoffen von Kläranlagenzuläufen wurden Konzentrationen bis zu mehreren mg/kg gefunden. Kläranlagen eliminierten Valproinsäure zu 16%−99 %

[431, 437]. Angaben zu Umweltvorkommen von Valproinsäuremetaboliten wurden nicht gefunden.

## Literatur


428. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
429. Eikel D: *Struktur-Teratogenitäts-Studien von Valproinsäure-Analogen*. Dissertation an der Universität Hannover 2005 deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=976205025&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=976205025.pdf (Abfragedatum März 2007)
430. Hu LJ, Lu XF, Lu BQ, Huang YQ: *The effect of valproic acid on SCE and chromosome aberrations in epileptic children*. Mutat Res 1990;243:63−66, zitiert nach NLM, 2007b
431. Metzger JW, Kuch B, Schneider C: *Pharmaka und Hormone in der aquatischen Umwelt* 2003. www.xfaweb.baden-wuerttemberg.de/fofaweb/print/wb_u5300_01.pdf (Abfragedatum März 2007)
432. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007a. toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
433. NLM, U.S. National Library of Medicine: *PubMed online* 2007b www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/ (Abfragedatum März 2007)
434. NLM, U.S. National Library of Medicine: *TOXLINE* 2007c toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?TOXLINE (Abfragedatum März, 2007)
435. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org/ (Abfragedatum März 2007)
436. Rettie AE: *Mechanisms of P-450-dependent desaturation* 1998. Crisp Data Base National Institutes Of Health, zitiert nach NLM, 2007c
437. Schneider C: *Synthetische organische Spurenstoffe in der aquatischen Umwelt und ihr Verhalten im Klärprozess*. Dissertation an der Universität Stuttgart 2005 elib.uni-stuttgart.de/opus/volltexte/2006/2575/pdf/2003CS_D.pdf (Abfragedatum März 2007)
438. Singh G, Driever PH, Sander JW: *Cancer risk in people with epilepsy: the role of antiepileptic drugs*. Brain 2005;128:7−17, zitiert nach NLM, 2007b
439. Taneja N, Kucheria K, Jain S, Tandon JK, Maheshwari MC: *Sister-chromatid exchanges are increased in epileptics, but not by sodium valproate*. Mutat Res 1992;283:233−235, zitiert nach NLM, 2007b
440. University of Illinois at Chicago: *Antiepileptic Drug Metabolism* 2006 www.uic.edu/classes/phar/phar402/Antiepileptic %20Drug %20Metabolism7.htm (Abfragedatum März 2007)
441. Wong H: *Ontogeny of Drug Disposition in the Newborn: Studies Examining Valproic Acid and Diphenhydramine in Chronically Instrumented Lambs*. Thesis submitted to the University of British Columbia 2000 www.collectionscanada.ca/obj/s4/f2/dsk1/tape4/PQDD_0016/NQ56645.pdf (Abfragedatum März 2007)

# Stoffdossier Verapamil

Tab. 71: Verapamil und Metabolite

| Substanz | CAS-Nr. |
|---|---|
| Verapamil | 52-53-9 |
| Verapamilhydrochlorid | 152-11-4 |
| **Metabolite** | |
| Norverapamil (2,8-bis-(3,4-dimethoxyphenyl)-2-isopropyl-6-azaoctanitril) | 67018-85-3 |
| D-617 (N-Dealkylverapamil; 2-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-methylamino-2-isopropylvaleronitril) | |
| D-620 (N-Dealkylnorverapamil) | |
| D-702 (2-(3,4-dimethoxy-phenyl)-8-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-6-methyl-2-isopropyl-6-azaoctanitril) | |
| D-703 (2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-8-(3,4-dimethoxy-phenyl)-6-methyl-2-isopropyl-6-azaoctanitril | |
| PR 22 (D-715, (N-Dealkylverapamil; 2-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-8-(3,4-dimethoxyphenyl)-6-methyl-2-isopropyl-6-azaoctanitril)) | |
| PR-25 (2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-methylamino-2-isopropylvaleronitril) | |

## Pharmakologie und Toxizität von Verapamil

Verapamil hemmt den Ca-Einstrom in Herz- und Gefäßmuskelzellen und ist ein Vasodilator, welcher zur Behandlung von Hypertonie und ischämischen Herzkrankheiten eingesetzt wird. Üblicherweise wird es als Racemat verwendet, das (S)-Enantiomer ist pharmakologisch wirksamer. Die übliche Tagesdosis ist 240 mg−480 mg. Häufige Nebenwirkungen sind gastrointestinale Beschwerden. Gelegentlich kommt es zu allergischen Reaktionen, neurotoxischen Effekten oder zu Leberfunktionsstörungen. Humanstudien ergeben Anhaltspunkte für eine kanzerogene Wirkung in verschiedenen Organen. In in vitro und in vivo-Studien war Verapamil überwiegend nicht mutagen, in einer Langzeitstudie an Ratten wurde keine kanzerogene Wirkung beobachtet, bei Coadministration mit Kanzerogenen wirkte Verapamil tumorinhibierend. Verapamil war in Tierstudien nicht teratogen, aber bei Ratten (nicht aber Kaninchen) in maternal toxischen Dosen embryotoxisch [443, 445, 446, 444].

## Toxikokinetik und Metabolismus

Verapamil wird nach oraler Exposition rasch und nahezu vollständig resorbiert. Aufgrund eines effektiven *First-Pass*-Effektes in der Leber (stärker für das (S)-Enantiomer) beträgt die Bioverfügbarkeit einer Einmaldosis nur ca. 20 %. Bei Mehrfachapplikation ist die Verfügbarkeit bis zu 2fach höher, was auf eine Sättigung des Stoffwechsels zurückgeführt wird. Verapamil wird fast vollständig verstoffwechselt. Insgesamt 12 Metabolite wurden identifiziert, Hauptmetabolite sind das N-demethylierte Norverapamil (6 % der verabreichten Dosis im Urin) und weitere N- und O-dealkylierte Verbindungen (siehe Tab. 71), wovon Mengenangaben nur zu D-617 (22 %), D-703 (7 %) und zu D-620 (3 %−4 %) vorliegen. Die Ausscheidung erfolgt zu 70 % über den Urin (davon 3 %−4 % Muttersubstanz) und bis zu 16 % in Fäzes [442, 446, 447].

### Pharmakologie und Toxizität der Metabolite

Norverapamil weist eine pharmakologische Wirksamkeit von ca. 20 % der Muttersubstanz auf, die restlichen Metabolite sind weitgehend inaktiv [442].

Informationen zur Toxizität der Metabolite liegen nicht vor.

### Pharmakologische und toxikologische Relevanz der Metaboliten

Unter den Metaboliten von Verapamil weist nur das Norverapamil nennenswerte pharmakologische Wirksamkeit auf. Hinsichtlich der toxischen Wirkungen liegen keine Informationen vor.

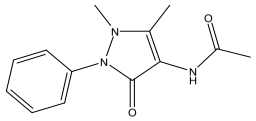
Zu Vorkommen in Umweltmedien liegen kaum Informationen vor. Verapamil wurde in Österreich in Kläranlagen nur vereinzelt gefunden (max. 68 ng/L), aus den spärlichen Daten ist kein nennenswerter Abbau zu vermuten [449]. Auch in Berlin war Verapamil vereinzelt in Zu- und Abläufen von Kläranlagen in Konzentrationen < 0,1 µg/L nachzuweisen [448].

### Literatur


442. Abernethy DR, Wainer IW, Anacleto I: *Verapamil metabolite exposure in older and younger men during steady-state oral verapamil administration*. Drug Metab Dispos 2000;28:760−765
443. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. 2006, McGraw-Hill Companies, Inc. New York
444. NLM, U.S. National Library of Medicine: *HSDB, Hazardous Substances Databank* 2007 toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB (Abfragedatum März 2007)
445. OEHHA, Office of Environmental Health Hazard Assessment, California Environmental Protection Agency: *Evidence of the Carcinogenicity of Verapamil. Draft* 2004 www.oehha.ca.gov/prop65/hazard_ident/pdf_zip/verapamilhid.pdf (Abfragedatum März 2007)
446. ÖKK: *Medikamentenvergleich online* 2007. oekk.oddb.org/ (Abfragedatum März 2007)
447. Pauli-Magnus C, von Richter O, Burk O, Ziegler A, Mettang T, Eichelbaum M, Fromm MF: *Characterization of the major metabolites of verpamil as substrates and inhibitors of P-glycoprotein*. J Pharmacol Exp Ther 2000;293:376−382
448. Reddersen K: *Das Verhalten von Arzneimittelrückständen im Wasserkreislauf Berlins*. Dissertation an der Technischen Universität Berlin 2004 edocs.tu-berlin.de/diss/2004/reddersen_kirsten.pdf (Abfragedatum März 2007)
449. Scharf S, Gans O, Sattelberger R: *Arzneimittelwirkstoffe im Zu- und Ablauf von Kläranlagen*. Umweltbundesamt GmbH, Wien. 2002 www.umweltbundesamt.at/fileadmin/site/publikationen/BE201.pdf (Abfragedatum März 2007)
450. von Richter O: *Expression und Funktion arzneimittelmetabolisierender Enzyme und des ABC-Transporters P-Glykoprotein in Dünndarm und Leber des Menschen*. Dissertation an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen 2000 tobias-lib.ub.uni-tuebingen.de/volltexte/2000/159/pdf/diss.pdf (Abfragedatum März 2007)

# Ergebnisse zur leichten biologischen Abbaubarkeit

**Test-Substanz:** 4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA)



K.Kümmerer, A.Längin, IUK Uniklinik Freiburg

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Datum: | | Bearbeiter: | Name | |
| Testdauer | 28 Tage vom: | 07.05.2008 | bis: | 04.06.2008 |

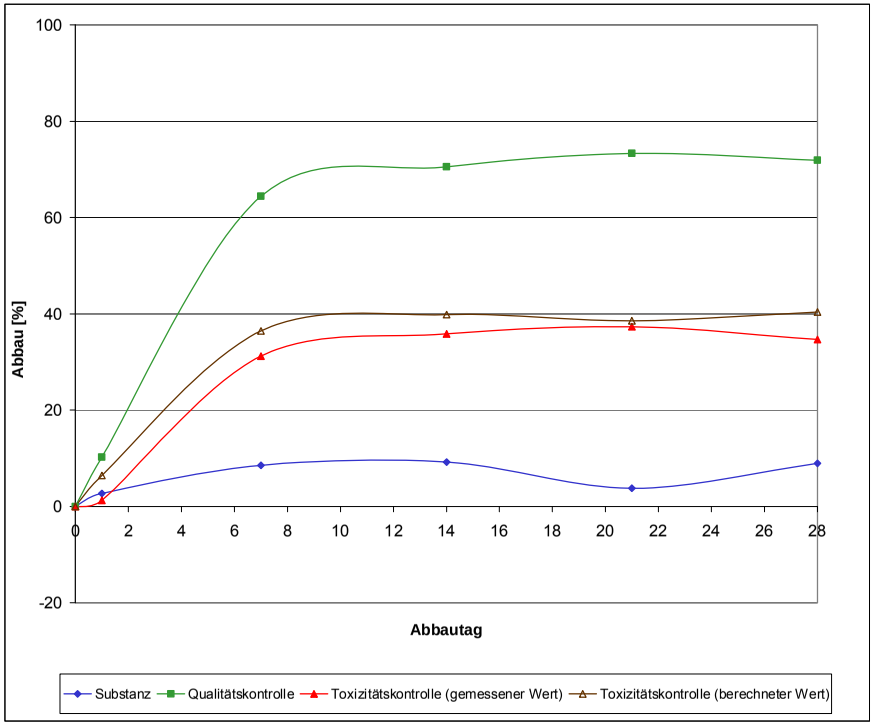
Smilescode:
CC1=C(C(=O)N(N1C)C2=CC=CC=C2)NC(=O)C

QSAR-Vorhersage: 0

**Ausgangsdaten**

| Zusammensetzung | Testansatz | Qualitätskontrolle | Tox-Kontrolle | |
|---|---|---|---|---|
| | Subst. | NaAc | Subst. | NaAc |
| Konz.[mg/l] | 2,84 | 6,41 | 2,84 | 6,41 |
| ThSB [$O_2$/l] / [mg] Subst. | 1,76 | 0,78 | 1,76 | 0,78 |
| ThSB Ansatz | 5,00 | 5,00 | 10,00 | |

| Tag | | 0 | 1 | 7 | 14 | 21 | 28 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Testansatz:** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 9,04 | 8,56 | 8,30 | 8,13 | 8,32 | 7,92 |
| | 2. Messung | | 8,53 | 8,30 | 8,18 | 8,50 | 8,12 |
| | Mittel | 9,04 | 8,55 | 8,30 | 8,16 | 8,41 | 8,02 |
| | Verbrauch | | 0,49 | 0,74 | 0,88 | 0,63 | 1,02 |
| | Realverbrauch | | 0,14 | 0,42 | 0,46 | 0,19 | 0,45 |
| | **%ThSB** | | 2,70 | 8,50 | 9,20 | 3,80 | 8,90 |
| **Qualitätskontrolle/Referenz** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,65 | 7,81 | 5,23 | 4,70 | 4,50 | 4,28 |
| | 2. Messung | | 7,75 | 5,00 | 4,70 | 4,59 | 4,68 |
| | Mittel | 8,65 | 7,78 | 5,12 | 4,70 | 4,55 | 4,48 |
| | Verbrauch | | 0,87 | 3,54 | 3,95 | 4,11 | 4,17 |
| | Realverbrauch | | 0,51 | 3,22 | 3,53 | 3,67 | 3,60 |
| | **%ThSB** | | 10,20 | 64,40 | 70,50 | 73,30 | 71,90 |
| **Toxkontrolle:** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,99 | 8,52 | 5,61 | 5,16 | 4,78 | 4,77 |
| | 2. Messung | | 8,49 | 5,50 | 4,81 | 4,86 | 5,12 |
| | Mittel | 8,99 | 8,51 | 5,56 | 4,99 | 4,82 | 4,95 |
| | Verbrauch | | 0,49 | 3,44 | 4,01 | 4,17 | 4,05 |
| | Realverbrauch | | 0,13 | 3,12 | 3,58 | 3,73 | 3,47 |
| | **%ThSB gem.** | | 1,25 | 31,20 | 35,80 | 37,30 | 34,70 |
| *ThSB%Anteil Substanz* | *0,50* | | 5,10 | 32,20 | 35,25 | 36,65 | 35,95 |
| *ThSB%Anteil NaAc* | *0,50* | | 1,35 | 4,25 | 4,60 | 1,90 | 4,45 |
| | **%ThSB ber.** | | 6,45 | 36,45 | 39,85 | 38,55 | 40,40 |
| | **Differenz (ber.-gem.)** | | 5,20 | 5,25 | 4,05 | 1,25 | 5,70 |
| **Blindwert/Impfzehrkontrolle** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,37 | 7,91 | 8,06 | 7,90 | 7,91 | 7,76 |
| | 2. Messung | | 8,11 | 8,05 | 7,99 | 7,95 | 7,83 |
| | Mittel | 8,37 | 8,01 | 8,06 | 7,95 | 7,93 | 7,80 |
| | Verbrauch | | 0,36 | 0,32 | 0,42 | 0,44 | 0,57 |



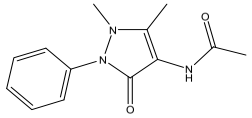

| Abbau % Tag | 0 | 1 | 7 | 14 | 21 | 28 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Substanz | 0,00 | 2,70 | 8,50 | 9,20 | 3,80 | 8,90 |
| Qualitätskontrolle | 0,00 | 10,20 | 64,40 | 70,50 | 73,30 | 71,90 |
| Toxizitätskontrolle (gemessener Wert) | 0,00 | 1,25 | 31,20 | 35,80 | 37,30 | 34,70 |
| Toxizitätskontrolle (berechneter Wert) | 0,00 | 6,45 | 36,45 | 39,85 | 38,55 | 40,40 |

**Validität:**

| | |
|---|---|
| 1. Die Differenz der Doppelbestimmung am Tag 28 darf nicht mehr als 20% betragen | Valide |
| 2. Die Toxizitätskontrolle darf am Tag 14 nicht weniger als 25% Abgebaut sein | Valide |
| 3. Der Sauerstoffverbrauch des Blindwertes muss am Tag 28 kleiner als 1,5 mg/l sein | Valide |
| 4. Die Sauerstoffkonzentration der Testansätze darf nicht unter 0,5 mg/l liegen | Valide |
| 5. Die Qualitätskontrolle muß am Tag 14 zu 60% abgebaut sein. | Valide |

Abb. 48: Closed-Bottle-Test 4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA)

**Test-Substanz:** 4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA)



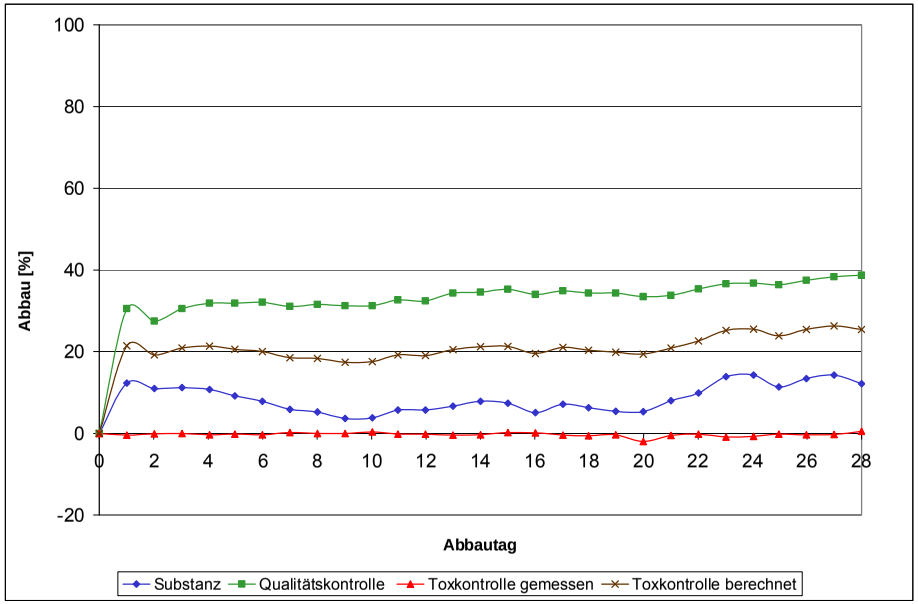
K.Kümmerer,
A.Längin, IUK
Uniklinik
Freiburg

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Datum: | | Bearbeiter: | 0,00 | |
| Testdauer | 28 Tage vom: | 08.05.2008 | bis: | 05.06.2008 |

Smilescode:
CC1=C(C(=O)N(N1C)C2=CC=CC=C2)NC(=O)C

QSAR -Vorhersage: 0

| Abbau [%] Zeit [d] | Substanz | Qualitätskontrolle | Toxkontrolle gemessen | Toxkontrolle berechnet |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| 1 | 12,3 | 30,6 | -0,4 | 21,4 |
| 2 | 10,9 | 27,4 | -0,1 | 19,2 |
| 3 | 11,2 | 30,6 | -0,1 | 20,9 |
| 4 | 10,7 | 31,9 | -0,4 | 21,3 |
| 5 | 9,2 | 31,9 | -0,2 | 20,5 |
| 6 | 7,8 | 32,1 | -0,3 | 20,0 |
| 7 | 5,8 | 31,1 | 0,2 | 18,5 |
| 8 | 5,2 | 31,6 | -0,1 | 18,4 |
| 9 | 3,7 | 31,2 | 0,0 | 17,4 |
| 10 | 3,8 | 31,2 | 0,3 | 17,5 |
| 11 | 5,7 | 32,7 | -0,2 | 19,2 |
| 12 | 5,7 | 32,4 | -0,2 | 19,1 |
| 13 | 6,6 | 34,3 | -0,4 | 20,5 |
| 14 | 7,8 | 34,6 | -0,3 | 21,2 |
| 15 | 7,3 | 35,2 | 0,2 | 21,3 |
| 16 | 5,1 | 34,0 | 0,1 | 19,5 |
| 17 | 7,1 | 34,9 | -0,4 | 21,0 |
| 18 | 6,2 | 34,3 | -0,6 | 20,3 |
| 19 | 5,4 | 34,3 | -0,4 | 19,9 |
| 20 | 5,3 | 33,4 | -2,0 | 19,4 |
| 21 | 8,0 | 33,8 | -0,5 | 20,9 |
| 22 | 9,9 | 35,3 | -0,2 | 22,6 |
| 23 | 13,9 | 36,6 | -0,9 | 25,2 |
| 24 | 14,3 | 36,8 | -0,8 | 25,5 |
| 25 | 11,3 | 36,3 | -0,2 | 23,8 |
| 26 | 13,4 | 37,4 | -0,4 | 25,4 |
| 27 | 14,3 | 38,3 | -0,3 | 26,3 |
| 28 | 12,2 | 38,7 | 0,5 | 25,4 |



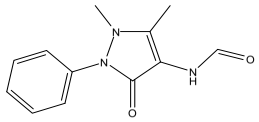

| Abbau % Tag | 28 |
|---|---|
| Substanz | 12,17 |
| Qualitätskontrolle | 38,67 |
| Toxizitätskontrolle (gemessener Wert) | 0,50 |
| Toxizitätskontrolle (berechneter Wert) | 25,42 |

Validität:

| | |
|---|---|
| 1. Die Differenz der Doppelbestimmung am Tag 28 darf nicht mehr als 20% betragen | NICHT VALIDE |
| 2. Die Tox-Kontrolle darf am Tag 14 nicht weniger als 25% Abgebaut sein | NICHT VALIDE |
| 3. Ist der Abbau der Testsubstanz <60% muß der pH Wert zwischen 6 und 8,5 liegen | Valide |
| 4. Die Qualitätskontrolle muß am Tag 14 zu 60% abgebaut sein | NICHT VALIDE |
| 5. Blindansatz nicht größer als 60 mg/l | Valide |

Abb. 49: OxiTop-Test 4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA)

**Test-Substanz:** 4-N-Formylaminoantipyrin (FAA)



K.Kümmerer, A.Längin, IUK Uniklinik Freiburg

| Datum: | | Bearbeiter: | Name |
|---|---|---|---|
| Testdauer | 28 Tage vom: 07.05.2008 | bis: | 04.06.2008 |

Smilescode:
CC1=C(C(=O)N(N1C)C2=CC=CC=C2)NC=O

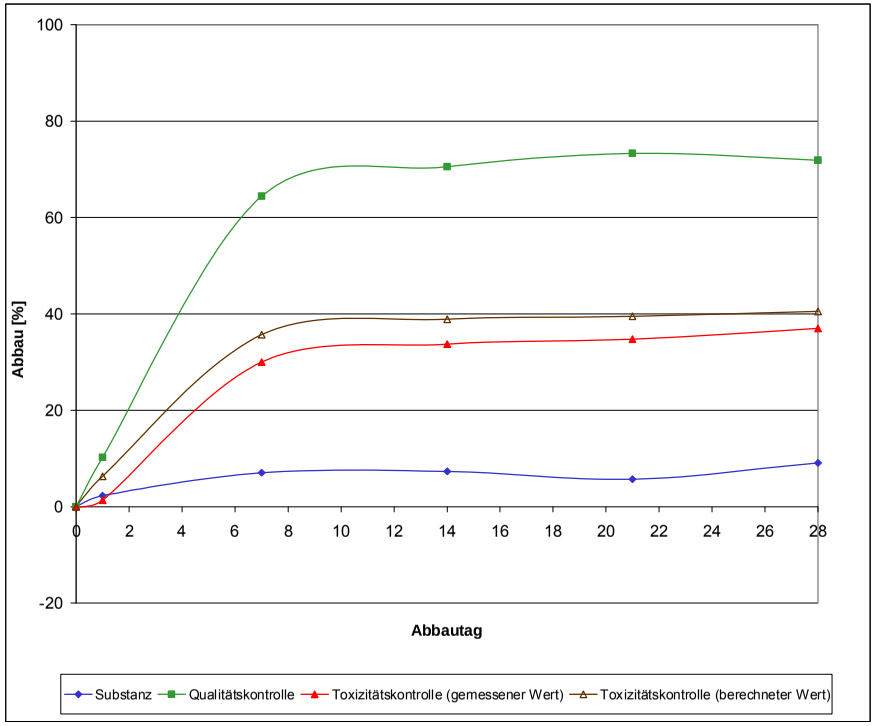
QSAR-Vorhersage: 0

**Ausgangsdaten**

Zusammensetzung

| | Testansatz Subst. | Qualitätskontrolle NaAc | Tox-Kontrolle Subst. | Tox-Kontrolle NaAc |
|---|---|---|---|---|
| Konz.[mg/l] | 3,01 | 6,41 | 3,01 | 6,41 |
| ThSB [$O_2$/l] / [mg] Subst. | 1,66 | 0,78 | 1,66 | 0,78 |
| ThSB Ansatz | 5,00 | 5,00 | 10,00 | |

| Tag | | 0 | 1 | 7 | 14 | 21 | 28 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Testansatz:** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 9,01 | 8,52 | 8,33 | 8,30 | 8,27 | 7,95 |
| | 2. Messung | | 8,55 | 8,36 | 8,14 | 8,30 | 8,01 |
| | Mittel | 9,01 | 8,54 | 8,35 | 8,22 | 8,29 | 7,98 |
| | Verbrauch | | 0,48 | 0,67 | 0,79 | 0,73 | 1,03 |
| | Realverbrauch | | 0,12 | 0,35 | 0,37 | 0,29 | 0,46 |
| | **%ThSB** | | 2,30 | 7,00 | 7,30 | 5,70 | 9,10 |
| **Qualitätskontrolle/Referenz** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,65 | 7,81 | 5,23 | 4,70 | 4,50 | 4,28 |
| | 2. Messung | | 7,75 | 5,00 | 4,70 | 4,59 | 4,68 |
| | Mittel | 8,65 | 7,78 | 5,12 | 4,70 | 4,55 | 4,48 |
| | Verbrauch | | 0,87 | 3,54 | 3,95 | 4,11 | 4,17 |
| | Realverbrauch | | 0,51 | 3,22 | 3,53 | 3,67 | 3,60 |
| | **%ThSB** | | 10,20 | 64,40 | 70,50 | 73,30 | 71,90 |
| **Toxkontrolle:** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,97 | 8,47 | 5,71 | 5,15 | 5,26 | 4,65 |
| | 2. Messung | | 8,48 | 5,60 | 5,20 | 4,85 | 4,74 |
| | Mittel | 8,97 | 8,48 | 5,66 | 5,18 | 5,06 | 4,70 |
| | Verbrauch | | 0,49 | 3,32 | 3,80 | 3,92 | 4,28 |
| | Realverbrauch | | 0,14 | 3,00 | 3,37 | 3,48 | 3,70 |
| | **%ThSB gem.** | | 1,35 | 30,00 | 33,70 | 34,75 | 37,00 |
| *ThSB%Anteil Substanz* | *0,50* | | 5,10 | 32,20 | 35,25 | 36,65 | 35,95 |
| *ThSB%Anteil NaAc* | *0,50* | | 1,15 | 3,50 | 3,65 | 2,85 | 4,55 |
| | **%ThSB ber.** | | 6,25 | 35,70 | 38,90 | 39,50 | 40,50 |
| | **Differenz (ber.-gem.)** | | 4,90 | 5,70 | 5,20 | 4,75 | 3,50 |
| **Blindwert/Impfzehrkontrolle** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,37 | 7,91 | 8,06 | 7,90 | 7,91 | 7,76 |
| | 2. Messung | | 8,11 | 8,05 | 7,99 | 7,95 | 7,83 |
| | Mittel | 8,37 | 8,01 | 8,06 | 7,95 | 7,93 | 7,80 |
| | Verbrauch | | 0,36 | 0,32 | 0,42 | 0,44 | 0,57 |




| Abbau % Tag | 0 | 1 | 7 | 14 | 21 | 28 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Substanz | 0,00 | 2,30 | 7,00 | 7,30 | 5,70 | 9,10 |
| Qualitätskontrolle | 0,00 | 10,20 | 64,40 | 70,50 | 73,30 | 71,90 |
| Toxizitätskontrolle (gemessener Wert) | 0,00 | 1,35 | 30,00 | 33,70 | 34,75 | 37,00 |
| Toxizitätskontrolle (berechneter Wert) | 0,00 | 6,25 | 35,70 | 38,90 | 39,50 | 40,50 |

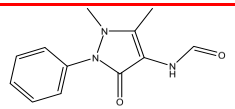
**Validität:**

| | |
|---|---|
| 1. Die Differenz der Doppelbestimmung am Tag 28 darf nicht mehr als 20% betragen | Valide |
| 2. Die Toxizitätskontrolle darf am Tag 14 nicht weniger als 25% Abgebaut sein | Valide |
| 3. Der Sauerstoffverbrauch des Blindwertes muss am Tag 28 kleiner als 1,5 mg/l sein | Valide |
| 4. Die Sauerstoffkonzentration der Testansätze darf nicht unter 0,5 mg/l liegen | Valide |
| 5. Die Qualitätskontrolle muß am Tag 14 zu 60% abgebaut sein. | Valide |

Abb. 50: Closed-Bottle-Test 4-N-Formylaminoantipyrin (FAA)

Abb. 51: OxiTop-Test 4-N-Formylaminoantipyrin (FAA)

***Test-Substanz:*** 4-N-Formylaminoantipyrin (FAA)



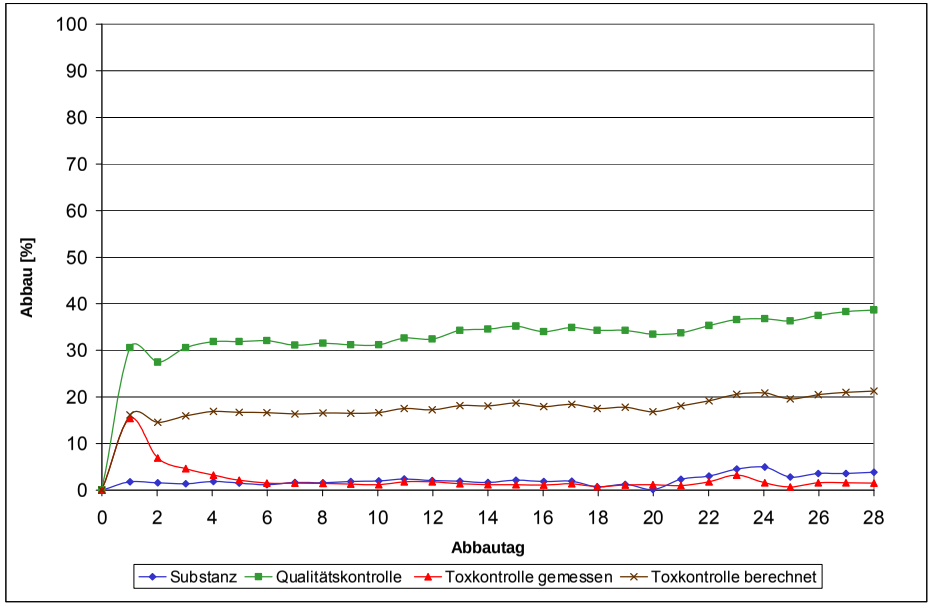
K.Kümmerer,
A.Längin, IUK
Uniklinik
Freiburg

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Datum: | | | Bearbeiter: | 0,00 |
| Testdauer | 28 Tage vom: | 08.05.2008 | bis: | 05.06.2008 |

Smilescode:
CC1=C(C(=O)N(N1C)C2=CC=CC=C2)NC=O

QSAR -Vorhersage: 0

| Abbau [%] | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Zeit [d] | Substanz | Qualitätskontrolle | Toxkontrolle gemessen | Toxkontrolle berechnet |
| 0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| 1 | 1,8 | 30,6 | 15,4 | 16,2 |
| 2 | 1,6 | 27,4 | 6,9 | 14,5 |
| 3 | 1,4 | 30,6 | 4,6 | 16,0 |
| 4 | 1,9 | 31,9 | 3,3 | 16,9 |
| 5 | 1,5 | 31,9 | 2,2 | 16,7 |
| 6 | 1,2 | 32,1 | 1,5 | 16,6 |
| 7 | 1,7 | 31,1 | 1,5 | 16,4 |
| 8 | 1,6 | 31,6 | 1,4 | 16,6 |
| 9 | 1,8 | 31,2 | 1,3 | 16,5 |
| 10 | 2,0 | 31,2 | 1,2 | 16,6 |
| 11 | 2,4 | 32,7 | 1,8 | 17,5 |
| 12 | 2,1 | 32,4 | 1,8 | 17,3 |
| 13 | 1,9 | 34,3 | 1,4 | 18,1 |
| 14 | 1,7 | 34,6 | 1,2 | 18,1 |
| 15 | 2,2 | 35,2 | 1,2 | 18,7 |
| 16 | 1,9 | 34,0 | 1,1 | 17,9 |
| 17 | 1,9 | 34,9 | 1,4 | 18,4 |
| 18 | 0,7 | 34,3 | 0,8 | 17,5 |
| 19 | 1,2 | 34,3 | 1,1 | 17,8 |
| 20 | 0,2 | 33,4 | 1,2 | 16,8 |
| 21 | 2,3 | 33,8 | 1,0 | 18,1 |
| 22 | 3,1 | 35,3 | 1,8 | 19,2 |
| 23 | 4,6 | 36,6 | 3,3 | 20,6 |
| 24 | 4,9 | 36,8 | 1,6 | 20,9 |
| 25 | 2,8 | 36,3 | 0,7 | 19,6 |
| 26 | 3,6 | 37,4 | 1,6 | 20,5 |
| 27 | 3,6 | 38,3 | 1,6 | 21,0 |
| 28 | 3,8 | 38,7 | 1,5 | 21,3 |

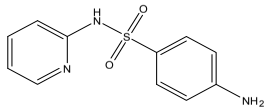



| Abbau % | |
|---|---|
| Tag | 28 |
| Substanz | 3,83 |
| Qualitätskontrolle | 38,67 |
| Toxizitätskontrolle (gemessener Wert) | 1,50 |
| Toxizitätskontrolle (berechneter Wert) | 21,25 |

Validität:

| | |
|---|---|
| 1. Die Differenz der Doppelbestimmung am Tag 28 darf nicht mehr als 20% betragen | Valide |
| 2. Die Tox-Kontrolle darf am Tag 14 nicht weniger als 25% Abgebaut sein | NICHT VALIDE |
| 3. Ist der Abbau der Testsubstanz <60% muß der pH Wert zwischen 6 und 8,5 liegen | Valide |
| 4. Die Qualitätskontrolle muß am Tag 14 zu 60% abgebaut sein | NICHT VALIDE |
| 5. Blindansatz nicht größer als 60 mg/l | Valide |

**Test-Substanz:** Sulfapyridin



K.Kümmerer, A.Längin, IUK Uniklinik Freiburg

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Datum: | | Bearbeiter: | Name | |
| Testdauer | 28 Tage vom: | 07.05.2008 | bis: | 04.06.2008 |

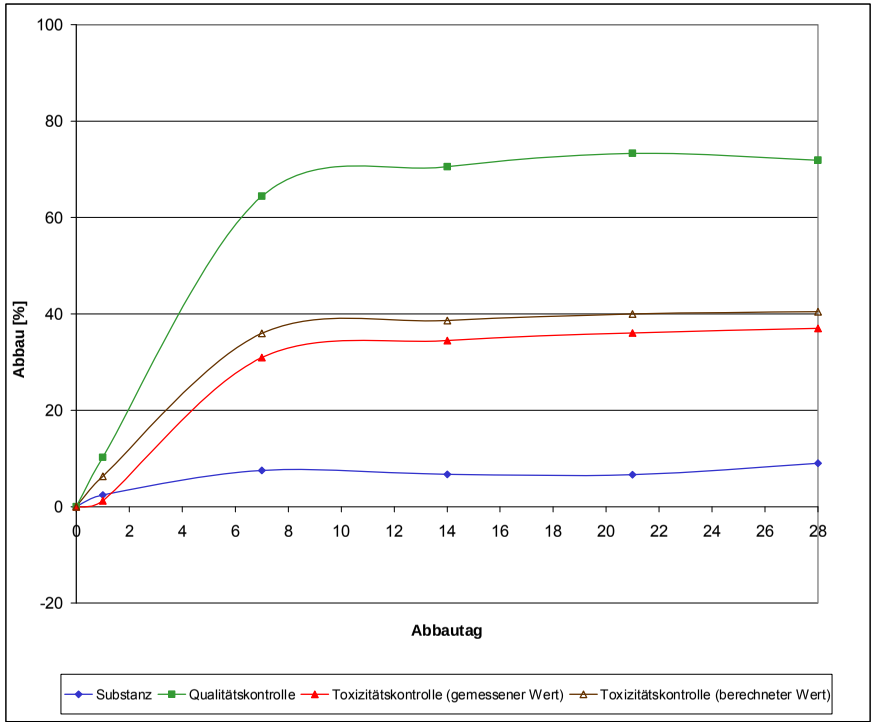
Smilescode:
C1=CC=NC(=C1)NS(=O)(=O)C2=CC=C(C=C2)N

QSAR-Vorhersage: 0

**Ausgangsdaten**

| Zusammensetzung | Testansatz | Qualitätskontrolle | Tox-Kontrolle | |
|---|---|---|---|---|
| | Subst. | NaAc | Subst. | NaAc |
| Konz.[mg/l] | 3,25 | 6,41 | 3,25 | 6,41 |
| ThSB [$O_2$/l] / [mg] Subst. | 1,54 | 0,78 | 1,54 | 0,78 |
| ThSB Ansatz | 5,00 | 5,00 | 10,00 | |

| Tag | | 0 | 1 | 7 | 14 | 21 | 28 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Testansatz:** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,99 | 8,50 | 8,28 | 8,19 | 8,19 | 8,00 |
| | 2. Messung | | 8,52 | 8,32 | 8,27 | 8,25 | 7,93 |
| | Mittel | 8,99 | 8,51 | 8,30 | 8,23 | 8,22 | 7,97 |
| | Verbrauch | | 0,48 | 0,69 | 0,76 | 0,77 | 1,03 |
| | Realverbrauch | | 0,12 | 0,38 | 0,34 | 0,33 | 0,45 |
| | **%ThSB** | | 2,40 | 7,50 | 6,70 | 6,60 | 9,00 |
| **Qualitätskontrolle/Referenz** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,65 | 7,81 | 5,23 | 4,70 | 4,50 | 4,28 |
| | 2. Messung | | 7,75 | 5,00 | 4,70 | 4,59 | 4,68 |
| | Mittel | 8,65 | 7,78 | 5,12 | 4,70 | 4,55 | 4,48 |
| | Verbrauch | | 0,87 | 3,54 | 3,95 | 4,11 | 4,17 |
| | Realverbrauch | | 0,51 | 3,22 | 3,53 | 3,67 | 3,60 |
| | **%ThSB** | | 10,20 | 64,40 | 70,50 | 73,30 | 71,90 |
| **Toxkontrolle:** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,98 | 8,50 | 5,63 | 5,39 | 4,99 | 4,70 |
| | 2. Messung | | 8,50 | 5,52 | 4,83 | 4,88 | 4,71 |
| | Mittel | 8,98 | 8,50 | 5,58 | 5,11 | 4,94 | 4,71 |
| | Verbrauch | | 0,48 | 3,41 | 3,87 | 4,05 | 4,28 |
| | Realverbrauch | | 0,12 | 3,09 | 3,45 | 3,61 | 3,70 |
| | **%ThSB gem.** | | 1,20 | 30,90 | 34,45 | 36,05 | 37,00 |
| *ThSB%Anteil Substanz* | *0,50* | | 5,10 | 32,20 | 35,25 | 36,65 | 35,95 |
| *ThSB%Anteil NaAc* | *0,50* | | 1,20 | 3,75 | 3,35 | 3,30 | 4,50 |
| | **%ThSB ber.** | | 6,30 | 35,95 | 38,60 | 39,95 | 40,45 |
| | **Differenz (ber.-gem.)** | | 5,10 | 5,05 | 4,15 | 3,90 | 3,45 |
| **Blindwert/Impfzehrkontrolle** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,37 | 7,91 | 8,06 | 7,90 | 7,91 | 7,76 |
| | 2. Messung | | 8,11 | 8,05 | 7,99 | 7,95 | 7,83 |
| | Mittel | 8,37 | 8,01 | 8,06 | 7,95 | 7,93 | 7,80 |
| | Verbrauch | | 0,36 | 0,32 | 0,42 | 0,44 | 0,57 |



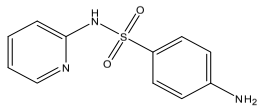

| Abbau % | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Tag | 0 | 1 | 7 | 14 | 21 | 28 |
| Substanz | 0,00 | 2,40 | 7,50 | 6,70 | 6,60 | 9,00 |
| Qualitätskontrolle | 0,00 | 10,20 | 64,40 | 70,50 | 73,30 | 71,90 |
| Toxizitätskontrolle (gemessener Wert) | 0,00 | 1,20 | 30,90 | 34,45 | 36,05 | 37,00 |
| Toxizitätskontrolle (berechneter Wert) | 0,00 | 6,30 | 35,95 | 38,60 | 39,95 | 40,45 |

**Validität:**

| | |
|---|---|
| 1. Die Differenz der Doppelbestimmung am Tag 28 darf nicht mehr als 20% betragen | Valide |
| 2. Die Toxizitätskontrolle darf am Tag 14 nicht weniger als 25% Abgebaut sein | Valide |
| 3. Der Sauerstoffverbrauch des Blindwertes muss am Tag 28 kleiner als 1,5 mg/l sein | Valide |
| 4. Die Sauerstoffkonzentration der Testansätze darf nicht unter 0,5 mg/l liegen | Valide |
| 5. Die Qualitätskontrolle muß am Tag 14 zu 60% abgebaut sein. | Valide |

Abb. 52: Closed-Bottle-Test Sulfapyridin

**Test-Substanz:** Sulfapyridin



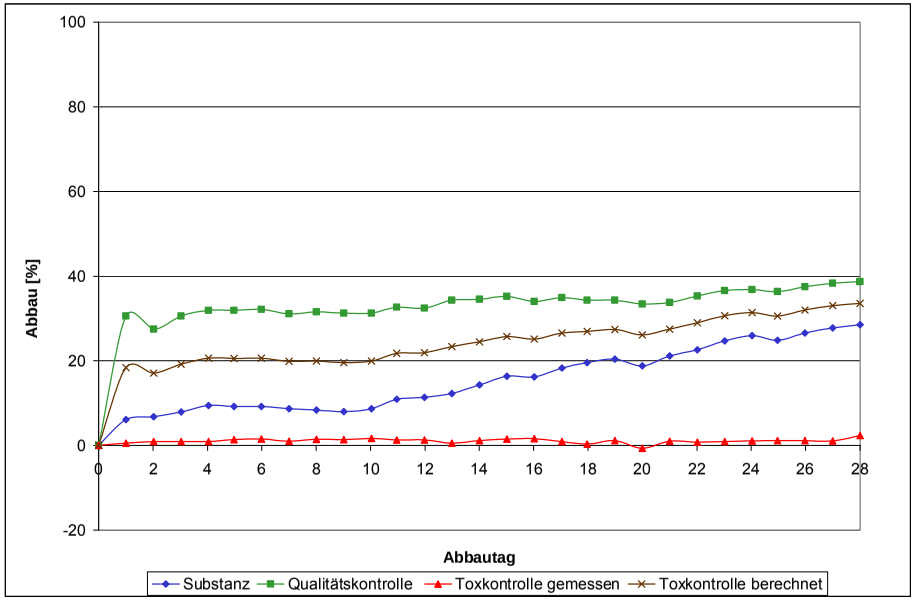
K.Kümmerer,
A.Längin, IUK
Uniklinik
Freiburg

| | | | |
|---|---|---|---|
| Datum: | | Bearbeiter: | 0,00 |
| Testdauer 28 Tage vom: | 08.05.2008 | bis: | 05.06.2008 |

Smilescode:
C1=CC=NC(=C1)NS(=O)(=O)C2=CC=C(C=C2)N

QSAR -Vorhersage: 0

| Abbau [%] | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Zeit [d] | Substanz | Qualitätskontrolle | Toxkontrolle gemessen | Toxkontrolle berechnet |
| 0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| 1 | 6,1 | 30,6 | 0,6 | 18,3 |
| 2 | 6,8 | 27,4 | 0,9 | 17,1 |
| 3 | 7,9 | 30,6 | 0,9 | 19,2 |
| 4 | 9,4 | 31,9 | 0,9 | 20,6 |
| 5 | 9,2 | 31,9 | 1,3 | 20,5 |
| 6 | 9,2 | 32,1 | 1,5 | 20,6 |
| 7 | 8,7 | 31,1 | 1,0 | 19,9 |
| 8 | 8,4 | 31,6 | 1,4 | 20,0 |
| 9 | 8,0 | 31,2 | 1,3 | 19,6 |
| 10 | 8,7 | 31,2 | 1,7 | 19,9 |
| 11 | 10,9 | 32,7 | 1,3 | 21,8 |
| 12 | 11,4 | 32,4 | 1,3 | 21,9 |
| 13 | 12,3 | 34,3 | 0,6 | 23,3 |
| 14 | 14,3 | 34,6 | 1,2 | 24,4 |
| 15 | 16,3 | 35,2 | 1,5 | 25,8 |
| 16 | 16,2 | 34,0 | 1,6 | 25,1 |
| 17 | 18,3 | 34,9 | 0,9 | 26,6 |
| 18 | 19,6 | 34,3 | 0,3 | 26,9 |
| 19 | 20,4 | 34,3 | 1,1 | 27,4 |
| 20 | 18,8 | 33,4 | -0,7 | 26,1 |
| 21 | 21,2 | 33,8 | 1,0 | 27,5 |
| 22 | 22,6 | 35,3 | 0,8 | 28,9 |
| 23 | 24,7 | 36,6 | 0,9 | 30,6 |
| 24 | 25,9 | 36,8 | 1,1 | 31,4 |
| 25 | 24,8 | 36,3 | 1,2 | 30,6 |
| 26 | 26,6 | 37,4 | 1,1 | 32,0 |
| 27 | 27,8 | 38,3 | 1,1 | 33,1 |
| 28 | 28,5 | 38,7 | 2,3 | 33,6 |



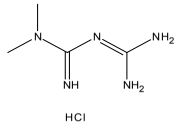

| Abbau % | |
|---|---|
| Tag | 28 |
| Substanz | 28,50 |
| Qualitätskontrolle | 38,67 |
| Toxizitätskontrolle (gemessener Wert) | 2,33 |
| Toxizitätskontrolle (berechneter Wert) | 33,58 |

Validität:

| | |
|---|---|
| 1. Die Differenz der Doppelbestimmung am Tag 28 darf nicht mehr als 20% betragen | NICHT VALIDE |
| 2. Die Tox-Kontrolle darf am Tag 14 nicht weniger als 25% Abgebaut sein | NICHT VALIDE |
| 3. Ist der Abbau der Testsubstanz <60% muß der pH Wert zwischen 6 und 8,5 liegen | Valide |
| 4. Die Qualitätskontrolle muß am Tag 14 zu 60% abgebaut sein | NICHT VALIDE |
| 5. Blindansatz nicht größer als 60 mg/l | Valide |

Abb. 53: OxiTop-Test Sulfapyridin

**Test-Substanz:** Metformin




K.Kümmerer,
A.Längin, IUK
Uniklinik
Freiburg

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Datum: | | Bearbeiter: | Name | |
| Testdauer | 28 Tage vom: | 07.05.2008 | bis: | 04.06.2008 |

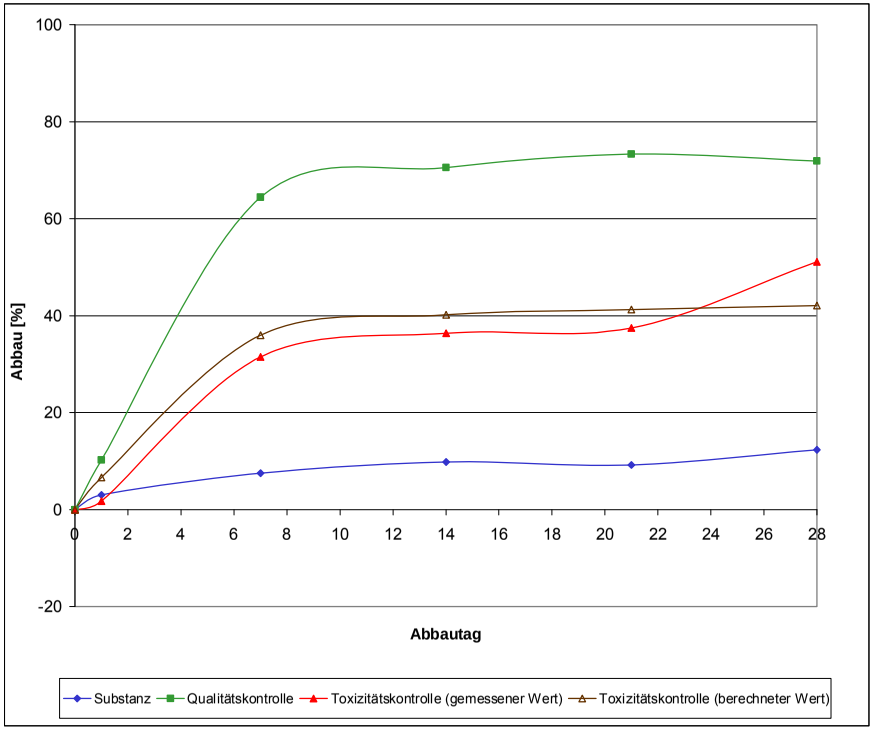
Smilescode:
CN(C)C(=N)N=C(N)N.Cl

QSAR-Vorhersage: 0

**Ausgangsdaten**

| Zusammensetzung | Testansatz | Qualitätskontrolle | Tox-Kontrolle | |
|---|---|---|---|---|
| | Subst. | NaAc | Subst. | NaAc |
| Konz.[mg/l] | 8,63 | 6,41 | 8,63 | 6,41 |
| ThSB [$O_2$/l] / [mg] Subst. | 0,58 | 0,78 | 0,58 | 0,78 |
| ThSB Ansatz | 5,00 | 5,00 | 10,00 | |

| Tag | | 0 | 1 | 7 | 14 | 21 | 28 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Testansatz:** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,44 | 7,94 | 7,76 | 7,52 | 7,59 | 7,27 |
| | 2. Messung | | 7,92 | 7,74 | 7,53 | 7,49 | 7,23 |
| | Mittel | 8,44 | 7,93 | 7,75 | 7,53 | 7,54 | 7,25 |
| | Verbrauch | | 0,51 | 0,69 | 0,91 | 0,90 | 1,19 |
| | Realverbrauch | | 0,15 | 0,38 | 0,49 | 0,46 | 0,62 |
| | **%ThSB** | | 3,00 | 7,50 | 9,80 | 9,20 | 12,30 |
| **Qualitätskontrolle/Referenz** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,65 | 7,81 | 5,23 | 4,70 | 4,50 | 4,28 |
| | 2. Messung | | 7,75 | 5,00 | 4,70 | 4,59 | 4,68 |
| | Mittel | 8,65 | 7,78 | 5,12 | 4,70 | 4,55 | 4,48 |
| | Verbrauch | | 0,87 | 3,54 | 3,95 | 4,11 | 4,17 |
| | Realverbrauch | | 0,51 | 3,22 | 3,53 | 3,67 | 3,60 |
| | **%ThSB** | | 10,20 | 64,40 | 70,50 | 73,30 | 71,90 |
| **Toxkontrolle:** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,43 | 7,93 | 4,94 | 4,32 | 4,24 | 4,58 |
| | 2. Messung | | 7,87 | 4,99 | 4,42 | 4,25 | 0,91 |
| | Mittel | 8,43 | 7,90 | 4,97 | 4,37 | 4,25 | 2,75 |
| | Verbrauch | | 0,53 | 3,47 | 4,06 | 4,19 | 5,69 |
| | Realverbrauch | | 0,17 | 3,15 | 3,64 | 3,75 | 5,11 |
| | **%ThSB gem.** | | 1,70 | 31,50 | 36,35 | 37,45 | 51,10 |
| *ThSB%Anteil Substanz* | *0,50* | | 5,10 | 32,20 | 35,25 | 36,65 | 35,95 |
| *ThSB%Anteil NaAc* | *0,50* | | 1,50 | 3,75 | 4,90 | 4,60 | 6,15 |
| | **%ThSB ber.** | | 6,60 | 35,95 | 40,15 | 41,25 | 42,10 |
| | **Differenz (ber.-gem.)** | | 4,90 | 4,45 | 3,80 | 3,80 | -9,00 |
| **Blindwert/Impfzehrkontrolle** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,37 | 7,91 | 8,06 | 7,90 | 7,91 | 7,76 |
| | 2. Messung | | 8,11 | 8,05 | 7,99 | 7,95 | 7,83 |
| | Mittel | 8,37 | 8,01 | 8,06 | 7,95 | 7,93 | 7,80 |
| | Verbrauch | | 0,36 | 0,32 | 0,42 | 0,44 | 0,57 |



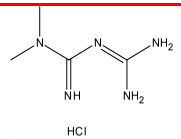

| Abbau % | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Tag | 0 | 1 | 7 | 14 | 21 | 28 |
| Substanz | 0,00 | 3,00 | 7,50 | 9,80 | 9,20 | 12,30 |
| Qualitätskontrolle | 0,00 | 10,20 | 64,40 | 70,50 | 73,30 | 71,90 |
| Toxizitätskontrolle (gemessener Wert) | 0,00 | 1,70 | 31,50 | 36,35 | 37,45 | 51,10 |
| Toxizitätskontrolle (berechneter Wert) | 0,00 | 6,60 | 35,95 | 40,15 | 41,25 | 42,10 |

**Validität:**

| | |
|---|---|
| 1. Die Differenz der Doppelbestimmung am Tag 28 darf nicht mehr als 20% betragen | Valide |
| 2. Die Toxizitätskontrolle darf am Tag 14 nicht weniger als 25% Abgebaut sein | Valide |
| 3. Der Sauerstoffverbrauch des Blindwertes muss am Tag 28 kleiner als 1,5 mg/l sein | Valide |
| 4. Die Sauerstoffkonzentration der Testansätze darf nicht unter 0,5 mg/l liegen | Valide |
| 5. Die Qualitätskontrolle muß am Tag 14 zu 60% abgebaut sein. | Valide |

Abb. 54: Closed-Bottle-Test Metformin

**Test-Substanz:** Metformin-HCl



Structure4

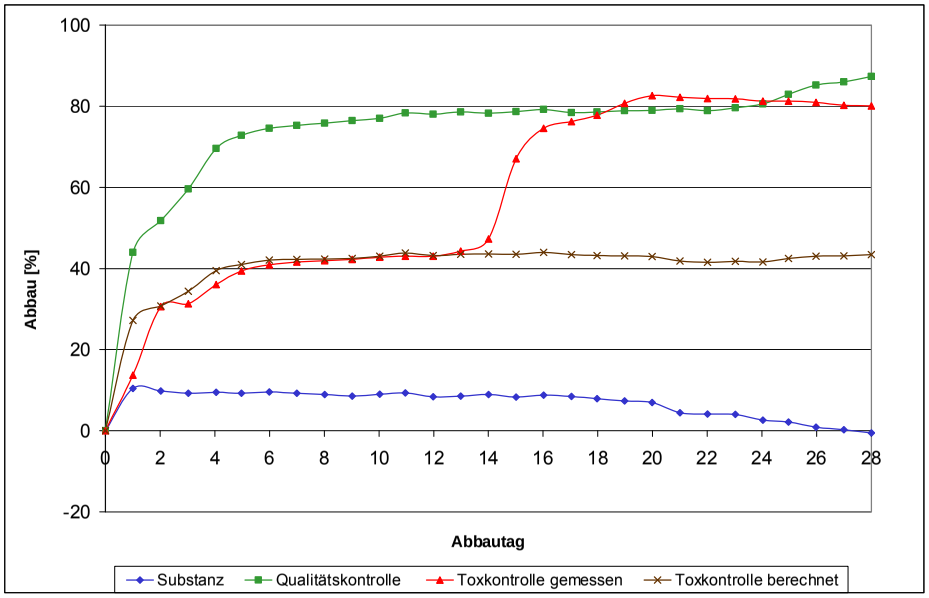
K.Kümmerer,
A.Längin, IUK
Uniklinik
Freiburg

| | | | |
|---|---|---|---|
| Datum: | | Bearbeiter: | Bergheim |
| Testdauer 28 Tage vom: | 12.04.2007 | bis: | 10.05.2007 |

Smilescode:
CN(C)C(=N)N=C(N)N.Cl

QSAR -Vorhersage: 6,692

| Abbau [%] Zeit [d] | Substanz | Qualitätskontrolle | Toxkontrolle gemessen | Toxkontrolle berechnet |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| 1 | 10,4 | 44,0 | 13,7 | 27,2 |
| 2 | 9,8 | 51,8 | 30,6 | 30,8 |
| 3 | 9,2 | 59,6 | 31,3 | 34,4 |
| 4 | 9,4 | 69,6 | 36,1 | 39,5 |
| 5 | 9,2 | 72,8 | 39,4 | 41,0 |
| 6 | 9,6 | 74,6 | 40,9 | 42,1 |
| 7 | 9,2 | 75,2 | 41,6 | 42,2 |
| 8 | 8,9 | 75,8 | 41,9 | 42,3 |
| 9 | 8,6 | 76,4 | 42,3 | 42,5 |
| 10 | 9,0 | 77,0 | 42,8 | 43,0 |
| 11 | 9,3 | 78,3 | 43,0 | 43,8 |
| 12 | 8,3 | 78,0 | 43,0 | 43,2 |
| 13 | 8,5 | 78,6 | 44,3 | 43,5 |
| 14 | 8,9 | 78,2 | 47,3 | 43,6 |
| 15 | 8,3 | 78,7 | 67,1 | 43,5 |
| 16 | 8,8 | 79,2 | 74,6 | 44,0 |
| 17 | 8,4 | 78,4 | 76,2 | 43,4 |
| 18 | 7,9 | 78,6 | 77,8 | 43,2 |
| 19 | 7,3 | 78,9 | 80,7 | 43,1 |
| 20 | 6,9 | 79,0 | 82,6 | 43,0 |
| 21 | 4,4 | 79,3 | 82,2 | 41,9 |
| 22 | 4,1 | 78,9 | 81,9 | 41,5 |
| 23 | 4,0 | 79,6 | 81,8 | 41,8 |
| 24 | 2,6 | 80,6 | 81,2 | 41,6 |
| 25 | 2,1 | 82,9 | 81,2 | 42,5 |
| 26 | 0,9 | 85,2 | 80,9 | 43,1 |
| 27 | 0,3 | 86,0 | 80,2 | 43,1 |
| 28 | -0,6 | 87,3 | 80,1 | 43,4 |



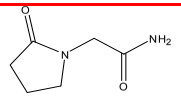

| Abbau % Tag | 28 |
|---|---|
| Substanz | -0,56 |
| Qualitätskontrolle | 87,33 |
| Toxizitätskontrolle (gemessener Wert) | 80,06 |
| Toxizitätskontrolle (berechneter Wert) | 43,39 |

Validität:

| | |
|---|---|
| 1. Die Differenz der Doppelbestimmung am Tag 28 darf nicht mehr als 20% betragen | Valide |
| 2. Die Tox-Kontrolle darf am Tag 14 nicht weniger als 25% Abgebaut sein | Valide |
| 3. Ist der Abbau der Testsubstanz <60% muß der pH Wert zwischen 6 und 8,5 liegen | Valide |
| 4. Die Qualitätskontrolle muß am Tag 14 zu 60% abgebaut sein | Valide |
| 5. Blindansatz nicht größer als 60 mg/l | Valide |

Abb. 55: OxiTop-Test Metformin

**Test-Substanz:** Piracetam




Structure22

K.Kümmerer, A.Längin, IUK Uniklinik Freiburg

| Datum: | | Bearbeiter: | Name |
|---|---|---|---|
| Testdauer | 28 Tage vom: 07.05.2008 | bis: | 04.06.2008 |

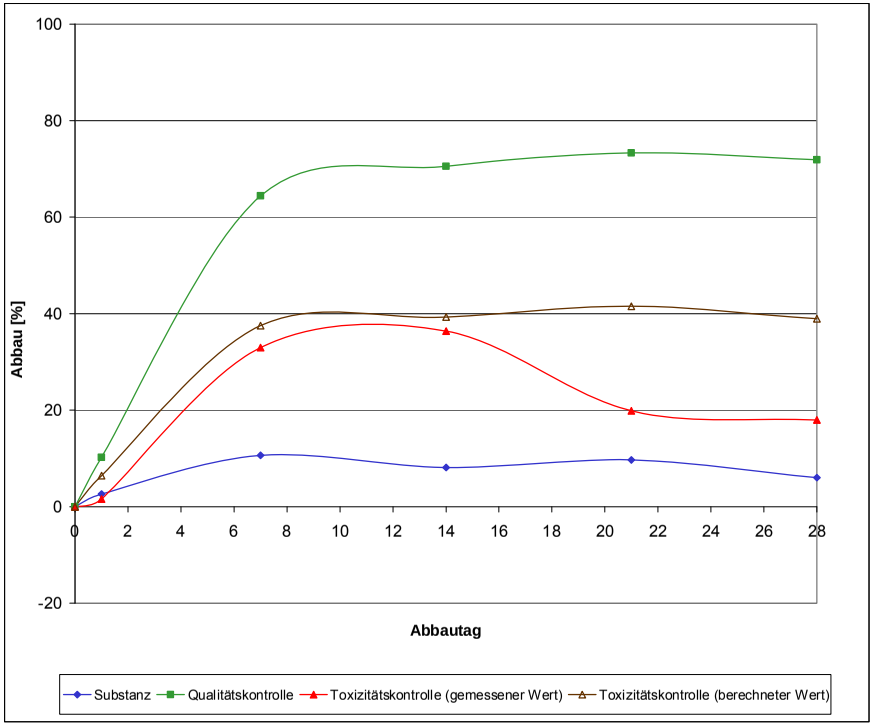
Smilescode:
C1CC(=O)N(C1)CC(=O)N

QSAR-Vorhersage: 0

**Ausgangsdaten**

| Zusammensetzung | Testansatz | Qualitätskontrolle | Tox-Kontrolle | |
|---|---|---|---|---|
| | Subst. | NaAc | Subst. | NaAc |
| Konz.[mg/l] | 3,70 | 6,41 | 3,70 | 6,41 |
| ThSB [$O_2$/l] / [mg] Subst. | 1,35 | 0,78 | 1,35 | 0,78 |
| ThSB Ansatz | 5,00 | 5,00 | 10,00 | |

| Tag | | 0 | 1 | 7 | 14 | 21 | 28 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Testansatz:** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,45 | 7,96 | 7,64 | 7,72 | 7,52 | 7,33 |
| | 2. Messung | | 7,96 | 7,57 | 7,52 | 7,53 | 7,82 |
| | Mittel | 8,45 | 7,96 | 7,61 | 7,62 | 7,53 | 7,58 |
| | Verbrauch | | 0,49 | 0,84 | 0,83 | 0,92 | 0,87 |
| | Realverbrauch | | 0,13 | 0,53 | 0,41 | 0,48 | 0,30 |
| | **%ThSB** | | 2,60 | 10,60 | 8,10 | 9,70 | 6,00 |
| **Qualitätskontrolle/Referenz** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,65 | 7,81 | 5,23 | 4,70 | 4,50 | 4,28 |
| | 2. Messung | | 7,75 | 5,00 | 4,70 | 4,59 | 4,68 |
| | Mittel | 8,65 | 7,78 | 5,12 | 4,70 | 4,55 | 4,48 |
| | Verbrauch | | 0,87 | 3,54 | 3,95 | 4,11 | 4,17 |
| | Realverbrauch | | 0,51 | 3,22 | 3,53 | 3,67 | 3,60 |
| | **%ThSB** | | 10,20 | 64,40 | 70,50 | 73,30 | 71,90 |
| **Toxkontrolle:** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,45 | 7,95 | 4,70 | 4,31 | 6,95 | 8,07 |
| | 2. Messung | | 7,91 | 4,97 | 4,46 | 5,10 | 4,09 |
| | Mittel | 8,45 | 7,93 | 4,84 | 4,39 | 6,03 | 6,08 |
| | Verbrauch | | 0,52 | 3,62 | 4,07 | 2,43 | 2,37 |
| | Realverbrauch | | 0,16 | 3,30 | 3,64 | 1,99 | 1,80 |
| | **%ThSB gem.** | | 1,60 | 33,00 | 36,40 | 19,85 | 17,95 |
| *ThSB%Anteil Substanz* | *0,50* | | 5,10 | 32,20 | 35,25 | 36,65 | 35,95 |
| *ThSB%Anteil NaAc* | *0,50* | | 1,30 | 5,30 | 4,05 | 4,85 | 3,00 |
| | **%ThSB ber.** | | 6,40 | 37,50 | 39,30 | 41,50 | 38,95 |
| | **Differenz (ber.-gem.)** | | 4,80 | 4,50 | 2,90 | 21,65 | 21,00 |
| **Blindwert/Impfzehrkontrolle** | | | | | | | |
| | 1. Messung | 8,37 | 7,91 | 8,06 | 7,90 | 7,91 | 7,76 |
| | 2. Messung | | 8,11 | 8,05 | 7,99 | 7,95 | 7,83 |
| | Mittel | 8,37 | 8,01 | 8,06 | 7,95 | 7,93 | 7,80 |
| | Verbrauch | | 0,36 | 0,32 | 0,42 | 0,44 | 0,57 |



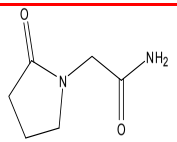

| Abbau % Tag | 0 | 1 | 7 | 14 | 21 | 28 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Substanz | 0,00 | 2,60 | 10,60 | 8,10 | 9,70 | 6,00 |
| Qualitätskontrolle | 0,00 | 10,20 | 64,40 | 70,50 | 73,30 | 71,90 |
| Toxizitätskontrolle (gemessener Wert) | 0,00 | 1,60 | 33,00 | 36,40 | 19,85 | 17,95 |
| Toxizitätskontrolle (berechneter Wert) | 0,00 | 6,40 | 37,50 | 39,30 | 41,50 | 38,95 |

**Validität:**

| | |
|---|---|
| 1. Die Differenz der Doppelbestimmung am Tag 28 darf nicht mehr als 20% betragen | Valide |
| 2. Die Toxizitätskontrolle darf am Tag 14 nicht weniger als 25% Abgebaut sein | Valide |
| 3. Der Sauerstoffverbrauch des Blindwertes muss am Tag 28 kleiner als 1,5 mg/l sein | Valide |
| 4. Die Sauerstoffkonzentration der Testansätze darf nicht unter 0,5 mg/l liegen | Valide |
| 5. Die Qualitätskontrolle muß am Tag 14 zu 60% abgebaut sein. | Valide |

Abb. 56: Closed-Bottle-Test Piracetam

**Test-Substanz:** Piracetam



Structure5

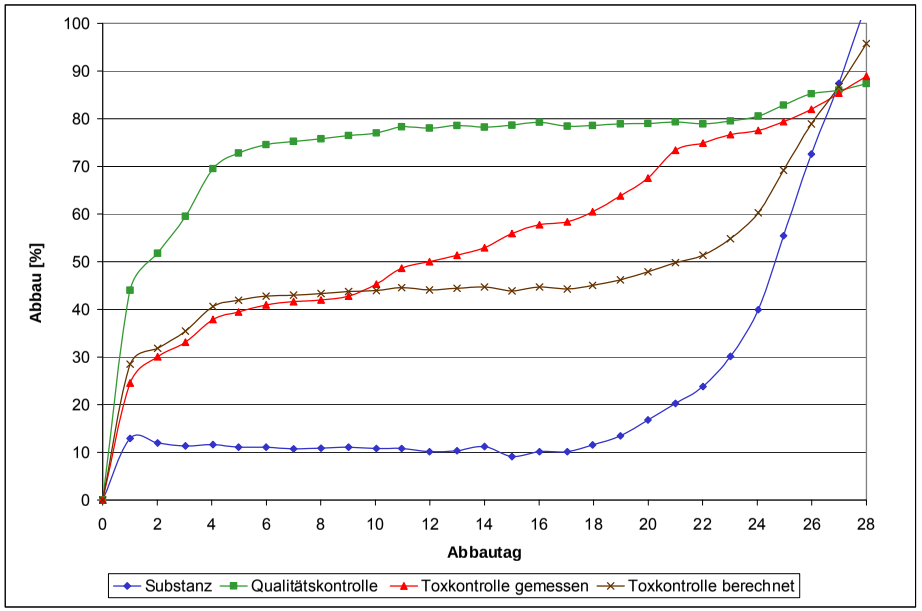
K.Kümmerer, A.Längin, IUK Uniklinik Freiburg

| | | | |
|---|---|---|---|
| Datum: | | Bearbeiter: | Bergheim |
| Testdauer 28 Tage vom: | 12.04.2007 | bis: | 10.05.2007 |

Smilescode:
C1CC(=O)N(C1)CC(=O)N

QSAR -Vorhersage: -27,69

| Abbau [%] Zeit [d] | Substanz | Qualitätskontrolle | Toxkontrolle gemessen | Toxkontrolle berechnet |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| 1 | 12,9 | 44,0 | 24,6 | 28,5 |
| 2 | 11,9 | 51,8 | 30,1 | 31,9 |
| 3 | 11,4 | 59,6 | 33,1 | 35,5 |
| 4 | 11,6 | 69,6 | 37,9 | 40,6 |
| 5 | 11,1 | 72,8 | 39,4 | 41,9 |
| 6 | 11,1 | 74,6 | 40,9 | 42,8 |
| 7 | 10,7 | 75,2 | 41,6 | 43,0 |
| 8 | 10,9 | 75,8 | 41,9 | 43,3 |
| 9 | 11,1 | 76,4 | 42,8 | 43,8 |
| 10 | 10,8 | 77,0 | 45,3 | 43,9 |
| 11 | 10,8 | 78,3 | 48,7 | 44,6 |
| 12 | 10,2 | 78,0 | 50,0 | 44,1 |
| 13 | 10,3 | 78,6 | 51,3 | 44,4 |
| 14 | 11,2 | 78,2 | 52,9 | 44,7 |
| 15 | 9,1 | 78,7 | 55,9 | 43,9 |
| 16 | 10,1 | 79,2 | 57,7 | 44,7 |
| 17 | 10,1 | 78,4 | 58,4 | 44,3 |
| 18 | 11,6 | 78,6 | 60,4 | 45,1 |
| 19 | 13,5 | 78,9 | 63,8 | 46,2 |
| 20 | 16,8 | 79,0 | 67,6 | 47,9 |
| 21 | 20,3 | 79,3 | 73,4 | 49,8 |
| 22 | 23,8 | 78,9 | 74,9 | 51,3 |
| 23 | 30,2 | 79,6 | 76,7 | 54,9 |
| 24 | 39,9 | 80,6 | 77,6 | 60,3 |
| 25 | 55,4 | 82,9 | 79,4 | 69,2 |
| 26 | 72,6 | 85,2 | 81,9 | 78,9 |
| 27 | 87,4 | 86,0 | 85,4 | 86,7 |
| 28 | 104,3 | 87,3 | 88,9 | 95,8 |




| Abbau % Tag | 28 |
|---|---|
| Substanz | 104,28 |
| Qualitätskontrolle | 87,33 |
| Toxizitätskontrolle (gemessener Wert) | 88,89 |
| Toxizitätskontrolle (berechneter Wert) | 95,81 |

Validität:

| | |
|---|---|
| 1. Die Differenz der Doppelbestimmung am Tag 28 darf nicht mehr als 20% betragen | NICHT VALIDE |
| 2. Die Tox-Kontrolle darf am Tag 14 nicht weniger als 25% Abgebaut sein | Valide |
| 3. Ist der Abbau der Testsubstanz <60% muß der pH Wert zwischen 6 und 8,5 liegen | Valide |
| 4. Die Qualitätskontrolle muß am Tag 14 zu 60% abgebaut sein | Valide |
| 5. Blindansatz nicht größer als 60 mg/l | Valide |

Abb. 57: OxiTop-Test Piracetam

# Bedingungen und Parameter der Stoffanalytik

Tab. 72: Selektierte Ionen der untersuchten Verbindungen

| Verbindung | Precursor-Ion / m/z | Produkt-Ion I / m/z | Produkt-Ion II / m/z |
|---|---|---|---|
| Metformin | 129,9 | 59,9 | 70,9 |
| Piracetam | 142,9 | 97,9 | 125,8 |
| AAA | 246,0 | 83,3 | 104,0 |
| FAA | 231,9 | 82,9 | 103,9 |
| Sulfapyridin | 250,1 | 156,2 | 92,2 |

Tab. 73: Parameter Ozonungsansatz AAA

| **4-N-Acetylaminoantipyrin (AAA)** | |
|---|---|
| Matrix: | 1 Teil Trinkwasser + 1 Teil demineralisiertes Wasser |
| pH-Wert: | natürlich |
| Ozonkonzentration: | 10 mg/L |
| Stoffkonzentration: | 0,5 mg/L |

Tab. 74: Zeitverlauf Ozonung AAA (links Ozon, rechts Prüfsubstanz)

| *Zeit* / min | $\beta(O_3)$ / mg/L |
|---|---|
| 5 | 10,7 |
| 11 | 7,2 |
| 27 | 4,7 |
| 40 | 5,4 |
| 45 | 4,8 |

| *Zeit* / min | $\beta(AAA)$ / mg/L |
|---|---|
| 0 | 0,83 |
| 0 + $N_2$ | 0,63 |
| 5 | < 0,02 |
| 20,5 | < 0,02 |
| 27 | < 0,02 |
| 40 | < 0,02 |
| nach $N_2$ | < 0,02 |

Tab. 75: Parameter Ozonungsansatz FAA

| **4-N-Formylaminoantipyrin (FAA)** | |
|---|---|
| Matrix | Trinkwasser |
| pH-Wert | natürlich |
| Ozonkonzentration | 10 mg/L |
| Stoffkonzentration | 0,5 mg/L |

Tab. 76: FAA (links Ozon, rechts Prüfsubstanz)

| *Zeit* / min | $\beta(O_3)$ / mg/L |
|---|---|
| 2,75 | 10,7 |
| 5,5 | 8,1 |
| 11 | 7,0 |
| 18 | 7,8 |
| 25 | 6,3 |
| 33 | 6,5 |
| 41 | 5,8 |
| 46 | 6,1 |
| 81 | 0 |

| *Zeit* / min | $\beta(FAA)$ / mg/L |
|---|---|
| 0 | 1,10 |
| 0 + $N_2$ | 1,10 |
| 6 | < 0,02 |
| 10,5 | < 0,02 |
| 19 | < 0,02 |
| 26 | < 0,02 |
| 35 | < 0,02 |

Tab. 77: Parameter Ozonungsansatz Sulfapyridin

| **Sulfapyridin** | |
|---|---|
| Matrix | Trinkwasser |
| pH-Wert | natürlich |
| Ozonkonzentration | 10 mg/L |
| Stoffkonzentration | 0,5 mg/L |

Tab. 78: Sulfapyridin (links Ozon, rechts Prüfsubstanz)

| *Zeit* / min | *β(O₃)* / mg/L |
|---|---|
| 2 | 6,7 |
| 3 | 7,0 |
| 5 | 6,5 |
| 7,5 | 6,3 |
| 10 | 5,6 |
| 13 | 6,1 |
| 18,5 | 6,0 |
| 25 | 6,0 |
| 36 | 5,8 |
| 66 | 0 |

| *Zeit* / min | *β(Sulfapyridin)* / mg/L |
|---|---|
| 0 | 0,75 |
| 0 + N2 | 0,67 |
| 3,5 | < 0,01 |
| 5,75 | < 0,01 |
| 8 | < 0,01 |
| 12 | < 0,01 |
| 20 | < 0,01 |
| 30 | < 0,01 |
| nach $N_2$ | < 0,01 |

Tab. 79: Parameter Ozonungsansatz Metformin

| **Metformin** | |
|---|---|
| Matrix: | Trinkwasser |
| pH-Wert: | natürlich |
| Ozonkonzentration: | 10 mg/L |
| Stoffkonzentration: | 0,5 mg/L |

Tab. 80: Metformin (links Ozon, rechts Prüfsubstanz)

| *Zeit* / min | *β(O₃)* / mg/L |
|---|---|
| 2,25 | 6,0 |
| 8 | 9,6 |
| 11 | 9,1 |
| 16 | 7,1 |
| 20 | 7,5 |
| 25 | 8,8 |
| 31 | 8,1 |
| 40 | 8,3 |
| 56 | 0,9 |
| 64 | 0 |

| *Zeit* / min | *β(Metformin)* / mg/L |
|---|---|
| 0 | 0,85 |
| 0 + N2 | 0,98 |
| 3,5 | 0,55 |
| 5,75 | 0,34 |
| 8 | 0,34 |
| 12 | 0,31 |
| 20 | 0,29 |
| 30 | 0,21 |
| nach $N_2$ | 0,07 |

Tab. 81: Parameter Ozonungsansatz Piracetam

| **Piracetam** | |
|---|---|
| Matrix: | Trinkwasser |
| pH-Wert: | natürlich |
| Ozonkonzentration: | 10 mg/L |
| Stoffkonzentration: | 0,5 mg/L |

Tab. 82: Piracetam (links Ozon, rechts Prüfsubstanz)

| *Zeit* / min | *β(O₃)* / mg/L |
|---|---|
| 6 | 10,3 |
| 10,75 | 8,5 |
| 16 | 9,7 |
| 20 | 9,2 |
| 25 | 8,9 |
| 30 | 8,4 |
| 43 | 9,2 |
| 45 | 8,4 |
| 60 | 0 |

| *Zeit* / min | *β(Piracetam)* / mg/L |
|---|---|
| 0 | 0,90 |
| 0 + $N_2$ | 0,86 |
| 4 | 0,26 |
| 6 | 0,24 |
| 10 | 0,24 |
| 15 | 0,23 |
| 23 | 0,23 |
| 35 | 0,18 |

Tab. 83: Parameter Ozonungsansatz Sulfapyridin

| **Sulfapyridin** | |
|---|---|
| Matrix: | Trinkwasser |
| pH-Wert: | natürlich |
| Ozonkonzentration: | 10 mg/L |
| Stoffkonzentration: | 5 mg/L |

Tab. 84: Sulfapyridin (links Ozon, rechts Prüfsubstanz)

| ***Zeit* / min** | ***β(O₃)* / mg/L** |
|---|---|
| 2,5 | 0,22 |
| 4 | 1,70 |
| 8 | 3,10 |
| 11 | 1,80 |
| 18 | 1,50 |
| 20 | 1,10 |
| 27,5 | 0,73 |
| 31,5 | 0,52 |
| 45 | 0,23 |
| 54 | 0 |

| ***Zeit* / min** | ***β(Sulfapyridin)* / mg/L** |
|---|---|
| 0 | 9,5 |
| 1 | 1,7 |
| 3 | < 0,1 |
| 5 | < 0,1 |
| 13 | < 0,1 |
| 20 | < 0,1 |
| 32,5 | < 0,1 |
| 30 | < 0,1 |
| nach $N_2$ | < 0,1 |