

Endbericht

Analytische Methoden, Konzentrationen und Persistenz ausgewählter Pharmazeutika gegen die Coronavirusinfektion Covid-19 in niedersächsischen Oberflächengewässern

Dr. Wolf-Ulrich Palm[†], Dr. Mario Schaffer[‡], Prof. Dr. Klaus Kümmerer[†]

[†] Leuphana Universität Lüneburg, Institut für Nachhaltige Chemie und Umweltchemie
Universitätsallee 1, 21335 Lüneburg

[‡] NLWKN – Betriebsstelle Hannover-Hildesheim, Aufgabenbereich: Oberirdische Gewässer
An der Scharlake 39, 31135 Hildesheim

Version vom 14. November 2024

Antragsteller: Leuphana Universität Lüneburg,
Fakultät Nachhaltigkeitswissenschaften
Institut für Nachhaltige Chemie

Anschrift: Universitätsallee 1, 21335 Lüneburg

Tel.: 04131-677 2893

E-Mail: wolf-ulrich.palm@leuphana.de
klaus.kuemmerer@leuphana.de

Laufzeit: 1.5.2022 - 29.02.2024

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	3
1.1	Untersuchungen in den Teilprojekten und Ziele im Projekt	3
2	Experimentelle Methoden.....	8
2.1	Analytik.....	8
2.2	Auswertesoftware.....	8
2.3	Laboruntersuchungen zur Photolyse und Hydrolyse	9
2.3.1	Photolyse	9
2.3.2	Hydrolyse	9
2.4	Realproben	10
3	Ergebnisse	11
3.1	Quantenausbeuten und Photolyse.....	11
3.2	Hydrolysen	12
3.3	Abbau im Belebtschlamm	15
3.4	Untersuchungen in Realproben	18
3.4.1	Konzentrationen in Kläranlagen.....	18
3.4.2	Konzentrationen in Oberflächengewässern.....	21
4	Schlußfolgerungen.....	22
	Literatur.....	24

Zusammenfassung

Im Zeitraum Mai 2022 – Februar 2024 wurden abiotische Abbaureaktionen der potentiell gegen Covid-19 verwendbaren Pharmazeutika Adamantanamin, Ambrisentan, Apixaban, Azelastin, Imipramin, Molnupiravir, Nirmatrelvir, Remdesivir, Ritonavir und Rivaroxaban und deren Konzentration im Zu- und Ablauf und im Belebtschlamm von fünf niedersächsischen Kläranlagen und im Oberflächengewässer der Wietze und Zuflüssen untersucht. Die Analytik erfolgte über LC-MS/MS, wobei für alle zehn Analyten auch isotopenmarkierte Verbindungen als interne Standards verwendet wurden.

Generell ist die Photolyse und die abiotische Hydrolyse am pH=7 in Umweltproben für alle untersuchten Verbindungen ein langsamer Abbauweg mit Halbwertszeiten im Bereich von Wochen bis Jahren.

Die Verbindungen Azelastin, Imipramin, Molnupiravir, Remdesivir und Ritonavir sollten jedoch im Bereich typischer Aufenthaltszeiten im Belebtschlammwasser einer Kläranlage eliminiert werden. Ein Eintrag dieser Verbindungen in den Vorfluter ist demnach als gering anzusehen. Für Apixaban wurden die höchsten Konzentrationen im Bereich um 1000 ng/L im Zulauf der Kläranlagen gefunden. Im Zulauf (Ablauf) wurde Adamantanamin in 90 (95) %, Apixaban in 100 (100) %, Azelastin in 33 (5) %, Nirmatrelvir in 62 (61) %, Ritonavir in 52 (9) % und Rivaroxaban in 100 (100) % der Proben oberhalb der Bestimmungsgrenze gefunden. Übereinstimmend mit diesen Ergebnissen aus einer vorherigen Studie wurden Adamantanamin, Apixaban und Rivaroxaban mit maximalen Konzentrationen im Bereich von 50 – 100 ng/L in den Oberflächengewässerproben der Wietze und der Hengstbeeke gefunden.

1 Einleitung

Auf dem weltweiten Höhepunkt der Corona-Epidemie in den Jahren 2020 – 2022 wurde intensiv der Einsatz von Medikamenten gegen die Coronavirusinfektion Covid-19 (Coronavirus-Disease, erstmals 2019 aufgetreten [1]) erforscht und diskutiert. Dabei wurden (und werden) zum Teil schon verwendete und damit als Medikamente zugelassene sowie auch völlig neue, bisher noch nicht auf dem Markt vorhandene Verbindungen untersucht [1].

Unabhängig dieses aktuellen Anwendungsgebietes sind viele gegen Covid-19 angedachte Medikamente (eine Ausnahme ist z.B. das schon Ende der 1950er Jahre zugelassene Antidepressivum Imipramin) neue, strukturell komplizierte chemische Verbindungen mit z.B. höchst anspruchsvoller Stereochemie. Dies zeigt sich auch in aktuellen Daten zur Zulassung. So wurden z.B. Ambrisentan oder Rivaroxaban (siehe auch Tabelle 1) im Jahr 2008 zugelassen, eine Verbindung wie Remdesivir in der EU erst 2020 [2].

Entsprechend dieser hohen Aktualität und den damit verbundenen neuen Verbindungen sind naturgemäß wenig Informationen vorhanden zu den chemischen Eigenschaften und im Besonderen zum Verhalten und dem Konzentrationsniveau in Umweltmedien. Im Projekt sollten die Quellen und Senken und die Konzentrationsniveaus in niedersächsischen Gewässern typischer, ab 2020 diskutierter potentieller Wirkstoffe gegen Covid-19 untersucht werden. Eine Zusammenstellung der pharmazeutischen Industrie [1] wurde als Ausgangspunkt gewählt, die Verbindungen wurden, mit Ausnahme von Adamantanamin, Apixaban und Rivaroxaban in Gänze bisher in niedersächsischen Gewässern nicht untersucht, und die Auswahl der Verbindungen sollte darüber hinaus mit den folgenden Randbedingungen verknüpft sein:

- Referenzsubstanzen sollten in Reinstform kommerziell vorhanden sein.
- Es sollten isotopenmarkierte Standards der zu untersuchenden Verbindungen kommerziell vorhanden sein.
- Aufgrund der Struktur sollten die gewählten Verbindungen potentiell in der LC-MS/MS analysiert werden können.

Aufgrund dieser Randbedingungen wurden die in Tabelle 1 zusammengestellten Verbindungen ausgewählt und untersucht.

1.1 Untersuchungen in den Teilprojekten und Ziele im Projekt

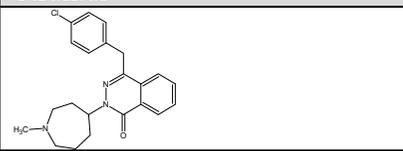
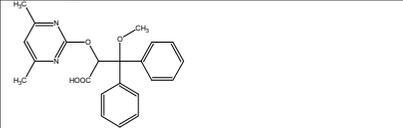
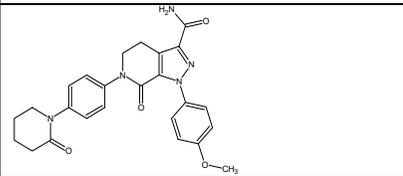
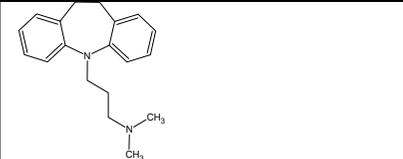
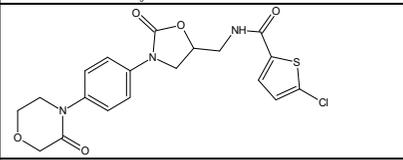
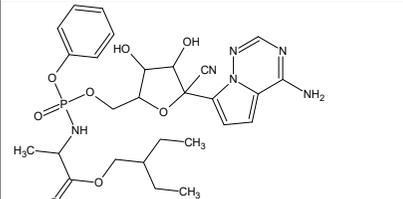
Das Projekt kann in Teilprojekte unterteilt werden, die den Abbau und die Konzentration in wässrigen Proben umfassen:

- Entwicklung der Analysemethoden in den Labor- und Realproben
- Messung der Quantenausbeuten und daraus Beurteilung der Photolyse durch die Berechnung der Halbwertszeiten für alle vier Jahreszeiten

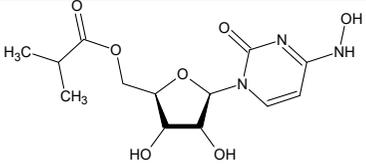
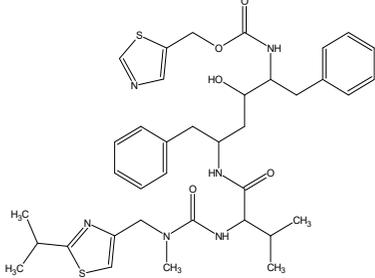
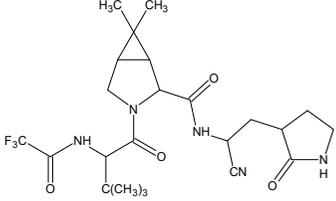
- Hydrolyse und Angabe der Halbwertszeit am pH=7 bei Raumtemperatur
- Spezielle und detaillierte Untersuchungen zur Hydrolyse im pH-Wert Bereich $2 < \text{pH} < 12$ und im Temperaturbereich $10 \text{ °C} < T / \text{°C} < 40 \text{ °C}$ der 2023 gegen Covid-19 zugelassenen antiviralen Wirkstoffe Molnupiravir, Remdesivir und Ritonavir bzw. Nirmatrelvir (Paxlovid) [2].
- Der Verlust und (abiotische und mikrobielle) Abbau im Belebtschlammwasser, beladen mit der originalen Massenkonzentration des Belebtschlammes, aus dem Belebtsbecken einer Kläranlage. Diese Experimente sollen Aufschluss über die Persistenz der untersuchten Verbindungen in einer typisch norddeutschen Kläranlage geben und die Frage beantworten, ob die Verbindungen potentiell in den Vorfluter und damit in die Umwelt eingetragen werden.
- Konzentrationen im Zu- und Ablauf in 5 niedersächsischen Kläranlagen, die im Folgenden mit A – E bezeichnet werden. Weiterhin wurden zusätzliche Messungen im Belebtschlammwasser der Kläranlagen D und E durchgeführt.
- Konzentrationen an sieben ausgewählten Messstellen im Oberflächengewässer der Wietze bzw. in Zuflüssen der Wietze.

Verbunden mit den Inhalten und Zielen des Projektes wurden Masterarbeiten [3] und Bachelorarbeiten [4][5][6][7] an der Leuphana Universität durchgeführt.

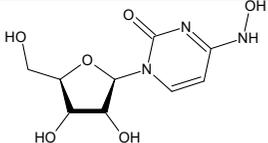
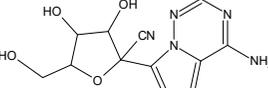
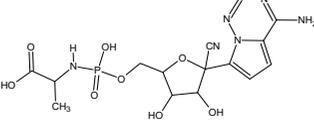
Tabelle 1: : Untersuchte Substanzen. Die z.T. komplexe Stereochemie ist in den Strukturen nicht dargestellt. IS = Nutzung eines isotopenmarkierten internen Standards

Struktur	Name	CAS-Nr	Summenformel	MG / g mol ⁻¹	Anwendung	IS
	Azelastin	58581-89-8	C ₂₂ H ₂₄ ClN ₃ O	381,9	Antihistaminikum Typ H1-Blocker allergische Rhinitis	JA
	Ambrisentan	177036-94-1 (S) 713516-99-5 (RAC)	C ₂₂ H ₂₂ N ₂ O ₄	378,4	Bluthochdruck	JA
	Apixaban	503612-47-3	C ₂₅ H ₂₅ N ₅ O ₄	459,5	Antikoagulanz	JA
	Imipramin	50-49-7	C ₁₉ H ₂₄ N ₂	280,4	Antidepressivum	JA
	Rivaroxaban	366789-02-8	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₃ O ₅ S	435,9	Antikoagulanz	JA
	Remdesivir	1809249-37-3	C ₂₇ H ₃₅ N ₆ O ₈ P	602,6	Virostatikum Ebolafieber Marburgfieber Covid-19	JA

Fortsetzung Tabelle 1: Untersuchte Substanzen. Die z.T. komplexe Stereochemie ist in den Strukturen nicht dargestellt. IS = Nutzung eines isotopenmarkierten internen Standards

Struktur	Name	CAS-Nr	Summenformel	MG / g mol ⁻¹	Verwendung	IS?
	Molnupiravir (EIDD 2801)	2349386-89-4	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₇	329,3	Virostatikum Covid-19	JA
	Ritonavir (Paxlovid)	155213-67-5	C ₃₇ H ₄₈ N ₆ O ₅ S ₂	720,9	Proteaseinhibitor HIV AIDS Covid-19	JA
	Nirmatrelvir (Paxlovid)	2628280-40-8	C ₂₃ H ₃₂ F ₃ N ₅ O ₄	499,5	Proteaseinhibitor Covid-19	JA
	1-Aminoadamantan (Adamantanamin, Amantadin)	768-94-5	C ₁₀ H ₁₇ N	151,3	Influenza-A Parkinson	JA

Fortsetzung Tabelle 1: Untersuchte Substanzen. Die z.T. komplexe Stereochemie ist in den Strukturen nicht dargestellt. IS = Nutzung eines isotoopenmarkierten internen Standards

Struktur	Name	CAS-Nr	Summenformel	MG / g mol ⁻¹	Verwendung	IS?
	N4-Hydroxycytidin (EIDD-1931)	3258-02-4	C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₆	259,2	Hydrolyseprodukt von Molnupiravir	JA
	GS-441524	1191237-69-0	C ₁₂ H ₁₃ N ₅ O ₄	291,3	Hydrolyseprodukt Remdesivir	NEIN
	GS-704277	1911579-04-8	C ₁₅ H ₁₉ N ₆ O ₈ P	442,3	Hydrolyseprodukt Remdesivir	NEIN

2 Experimentelle Methoden

Die generellen experimentellen Arbeiten, allgemeine Materialien und Methoden sind in [8][9][10] detailliert dargestellt. Die in diesem Projekt verwendeten und als Referenzverbindungen vorliegenden Substanzen sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Details zur Herkunft, Reinheit und Eigenschaften der Verbindungen und zu den konkreten Analysemethoden, zu den MRM-Übergängen, Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, Kalibrierungen, Wiederfindungen und beispielhafte Chromatogramme können auf Nachfrage erhalten werden.

2.1 Analytik

Die Analytik erfolgte in allen Fällen über eine HPLC-Triplequad-Kopplung (LC-MS/MS). Verwendet wurde eine LC (Agilent Technologies Series) Typ 1200 mit 6430 Triple Quad (Agilent Technologies) mit einer HPLC-Säule Agilent Poroshell 120 SB-C18, 4,6 x 30 mm, 2,7 µm Partikelgröße. Alle Messungen erfolgten im ESI-Positivmodus, Säulentemperatur 20 °C, Injektionsvolumen 10 µL und einem Fluss von 400 µL min⁻¹. Verwendet wurden unterschiedliche Gradienten aus Acetonitril und 0,1Vol% Ameisensäure. Die Quantifizierung erfolgte ausnahmslos über externe Kalibrierungen mit internen Standards (die Konzentration pro Standard betrug dabei in allen Proben ausnahmslos 100 µg/L), die als isotoopenmarkierte Verbindungen für alle Analyten vorhanden waren.

In einigen Fällen wurden Summenformeln überprüft über eine Kopplung einer HPLC (unter Bedingungen wie beschrieben für die LC-MS/MS) mit hochauflösender Massenspektroskopie (HRMS, Thermo Scientific, Dionex UltiMate UHPLC System mit einer LTQ Orbitrap-XL).

2.2 Auswertesoftware

- Auswertungen wie z.B. Kalibrierdaten zur Analytik erfolgten mit dem Softwarepaket „QQQ Masshunter (Version B.08.00 Build 8.0.598.0) der LC-MS/MS von Agilent“.
- Geschätzte Stoffeigenschaften wurden mit dem Paket „ACD/Percepta. Predicted properties using the implemented classical model. ACD/Labs Release 2022.2.3 (Build 3577. 7 Jun 2022). Advanced Chemistry Development, Inc., 1994-2021“ erhalten
- Tabellenkalkulationen mit “Microsoft Excel 2016”, Abbildungen mit “Sigma-Plot Vers. 14” und Anpassungen der Daten mit Standardabweichungen über „NLREG Version 6.5 (advanced)“ [11].
- Auswertungen zur Photochemie erfolgten über Fortran-Programme (GCC GNU Fortran Compiler (2015) VERS. 5.3.0) und über Excel, Berechnungen der photochemischen Halbwertszeiten erfolgten über „STARsci Version 2.1“ [12] und „SMARTS Version 2.9.2“ [13].

2.3 Laboruntersuchungen zur Photolyse und Hydrolyse

2.3.1 Photolyse

Die photochemischen Aufbauten sind in [14–16], die Photolyse einiger der im Projekt untersuchten Verbindungen ist in [4] dargestellt. UV-Spektren wurden mit einem UV-Spektrometer Lambda 45 (Perkin Elmer) in 1 cm Quarz-Küvetten aufgenommen. Alle Photolysen erfolgten bei $T=20\text{ °C}$ mit einer polychromatischen Xenon-Lichtquelle (Kante des Spektrums bei 280 nm, Aufnahme über ein SpectraWiz Spectrometer (Black-Comet C-25 Spectrometer, StellarNet Inc., USA) und einer Aktinometrie über das Eisenoxalat-Aktinometer [14–17]. Die Analytik erfolgte wiederum über LC-MS/MS.

2.3.2 Hydrolyse

Alle Hydrolysen erfolgten entweder in Reinstwasser (OmniaPure UV-TOC, 18,2 M Ω cm, Stakpure GmbH) oder in Phosphatpuffermischungen. Pufferlösungen wurden immer frisch aus Phosphorsäure, Kaliumdihydrogenphosphat und 1 N Natronlauge hergestellt und mit einer an drei pH-Werten (pH=4,7,10) täglich kalibrierten pH-Messsonde (Mikro-pH-Elektrode, pH-3110, WTW) mit einer Genauigkeit von $\Delta\text{pH}=\pm 0,02$ gemessen. Screeningversuche bzw. Messungen in Belebtschlammproben erfolgten in einem thermostatisierten Labor bei „Raumtemperatur“, d.h. $T=(20\pm 2)\text{ °C}$. Detaillierte Messungen wurden in einem Thermoschrank (TC 135 S, Liebherr) durchgeführt und die Temperatur (10 °C – 40 °C) über einen Datenlogger mitgeschrieben (Genauigkeit $\Delta T=\pm 0,5\text{ °C}$).

Hydrolysen erfolgten einerseits in Gemischen und mit Einzelsubstanzen. In einigen Fällen war ein geringer Anteil eines organischen Lösungsmittels (Acetonitril) vorhanden, für Messungen im Wasser mit Belebtschlamm und für die detaillierten Hydrolyseexperimente für Remdesivir, Molnupiravir, Ritonavir und Nirmatrelvir wurden Substanzgemische und Einzelverbindungen in Methanol vorgelegt und das Lösungsmittel in einem Stickstoffstrom (Dauer ca. 10 s) abgeblasen. Proben mit Belebtschlamm (100 mL) wurden über einen leichten Luftstrom über ein Sprudelelement (Stahl) aus eine Pumpe (MK-9501, Osaga) mit Sauerstoff versorgt und gleichzeitig gerührt.

Belebtschlammproben wurden mit einem Glasfaserfilter filtriert (Spritzenvorsatzfilter 1 μm , Macherey Nagel). In diesen Fällen wurden separate Konzentrationen in wässrigen Lösungen (bzw. in Methanol) der Stammlösungen zur Korrektur der Konzentrationen in der Flüssigphase im Bereich von 5-10 % vorgenommen.

Die Hydrolyse für hohe pH-Werte muss für die Analytik gestoppt werden. Dafür wurde der pH-Wert der Proben vor der Analyse (über LC-MS/MS) immer auf $\text{pH} \leq 7$ eingestellt. Dies wurde durch Zugabe des Puffers im Neutralbereich (pH=7,0) oder eines definierten Volumens einer

0,01 M Salzsäure (pH=2) gewährleistet Alle Proben wurden direkt nach der Probenahme analysiert. Weitere Details zu den durchgeführten Hydrolysen sind auch in [7] dargestellt.

2.4 Realproben

Die Realproben wurden in Braunglasflaschen entnommen, im Kühlschrank gelagert und spätestens 24 h nach der Probenahme filtriert (1 µm Glasfaser), 200 mL (Kläranlagenwasser) oder 500 mL (Flusswasser) mit jeweils 50 µL des Gemischs der internen Standards (jeweils c = 1000 µg/L) versetzt und auf HLB SPE Kartuschen (200 mg, Macherey Nagel) angereichert, mit Acetonitril eluiert und auf 500 µL ausgelitert (Anreicherungsfaktor 400 bzw. 1000). Details sind in [3], generelle Randbedingungen in publizierten Methoden [9,10] dargestellt.

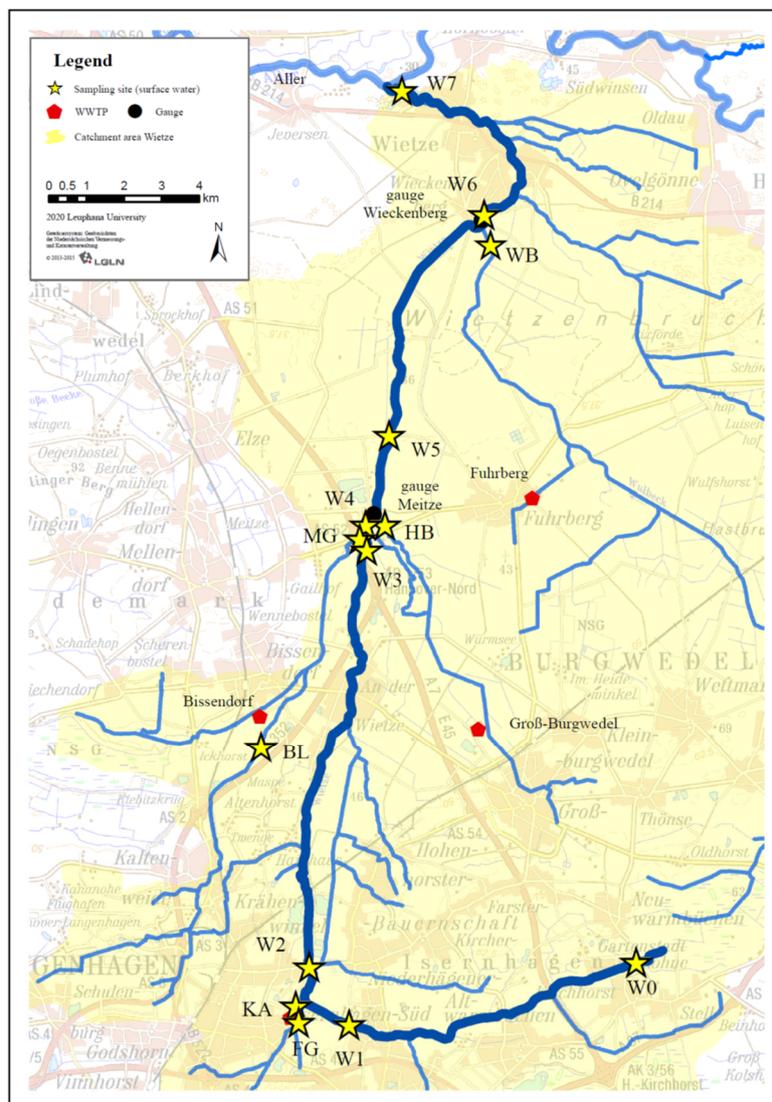


Abbildung 1: Messstellen entlang der Wietze und ihren Zuflüssen. Für das Projekt wurden die Messstellen W1, FG (Flussgraben), W2, BL (Blind), HB (Hengstbeeke), W5, W6 beprobt.

Der Belebtschlamm in Belebtschlammproben (nach Angaben der Kläranlagen und nach eigenen Messungen liegen die Massenkonzentration im Bereich von 2,5-3,5 g/L) sedimentiert innerhalb weniger Minuten und kann wie alle anderen Proben nach Abdekantieren leicht filtriert werden. Die Kläranlagenproben aus den Zu- und Abläufen bzw. Wasser aus dem Belebtschlamm wurden aus den Kläranlagen A – E entnommen. Proben aus Oberflächengewässer wurden aus der Wietze an den Probestellen W1, FG (Flussgraben), W2, W5, W6, einer Blindmessstelle (Mühlengraben) und HB (Hengstsee) entnommen. Die Messstellen an der Wietze wurden analog zu vorherigen Untersuchungen verwendet [9], eine Karte der verwendeten Messstellen ist in Abbildung 1 dargestellt.

Alle Proben in 1 L Braunglasflaschen wurden nicht konserviert in eisgekühlten Thermoboxen transportiert, gekühlt gelagert und am nächsten Tag aufbereitet. In den Wasserproben wurden neben den Vorortparametern (Temperatur, pH, Sauerstoffkonzentration, Leitfähigkeit) im Labor der DOC, DIC und die Anionen Chlorid, Nitrat, Phosphat, Sulfat analysiert.

3 Ergebnisse

3.1 Quantenausbeuten und Photolyse

Die UV-Spektren der untersuchten Verbindungen sind in der Abbildung 2 dargestellt. Nicht näher untersucht wurden die Produkte N4-Hydroxycytidin, GS-441524 und GS-704277. Beispielhaft ist weiterhin in Abbildung 2 das Sonnenspektrum für die maximale Sonnenhöhe am 21. Juni 2021 am Breitengrad 54° N dargestellt.

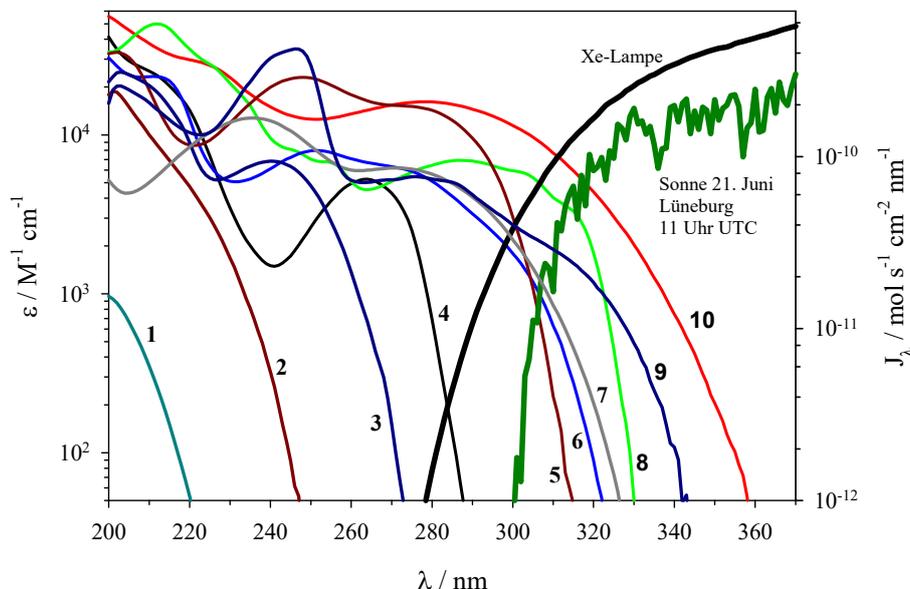


Abbildung 2: UV-Spektren der untersuchten Verbindungen. 1: Adamantanamin 2: Nirmatrelvir 3: Ritonavir 4: Ambrisentan 5: Rivaroxaban 6: Imipramin 7: Molnupiravir 8: Azelastin 9: Remdesivir 10: Apixaban. Bedingungen: (1) in Wasser. (2), (3) Mittelwerte für pH = 3 – 10. (4), (5), (6), (8), (10): Mittelwerte für pH = 4 – 9. (7), (9): am pH=7. Alle Lösungen wurden in 5 % Acetonitril aufgenommen. Weiterhin dargestellt ist das Spektrum der verwendeten polychromatischen Xenon-Lichtquelle und ein beispielhaftes Sonnenspektrum für den 21.6.2021 um 11 Uhr UTC (=13 Uhr MESZ).

Offensichtlich überlappen die UV-Spektren von Adamantanamin, Ambrisentan, Nirmatrelvir und Ritonavir nicht mit den maximal möglichen Sonnenintensitäten für Breitengrade im Nordeuropäischen Raum. Diese 4 Verbindungen sind demnach völlig persistent bezüglich des photochemischen Abbaus. Die ermittelten Quantenausbeuten Φ der anderen 6 Verbindungen für die wässrige Phase sind in der Tabelle 2 zusammengestellt. Die Quantenausbeuten sind gering (für Apixaban ist z.B. $\Phi = 1 \cdot 10^{-4}$) und die Halbwertszeiten in den Jahreszeiten werden höchst variabel im Bereich von Tagen – Monaten gefunden.

Tabelle 2: Ermittelte Quantenausbeuten Φ mit Standardabweichungen σ bei $T = 20\text{ °C}$ von Apixaban, Azelastin, Imipramin, Molnupiravir, Remdesivir und Rivaroxaban. Für die Messungen wurde eine polychromatische Xenonlampe ($\lambda > 280\text{ nm}$) verwendet. Angenommen wurde demnach eine im verwendeten Wellenlängenbereich unabhängige Quantenausbeute.

Verbindung	$\Phi \pm \sigma$	Lösungsmittel
Apixaban (s.a. [18])	$(1 \pm 0.5) \cdot 10^{-4}$	10% ACN
Azelastin	$(5 \pm 1.5) \cdot 10^{-4}$	10% ACN
Imipramin	$(9 \pm 1) \cdot 10^{-3}$	10% ACN
Molnupiravir	$(4 \pm 2) \cdot 10^{-4}$	Wasser
Remdesivir	$(1.6 \pm 0.2) \cdot 10^{-3}$	Wasser
Rivaroxaban (s.a. [18])	$(4.3 \pm 0.7) \cdot 10^{-2}$	10% ACN

Für Imipramin, Remdesivir und Rivaroxaban werden Halbwertszeiten der Photolyse für den 21.6. im Bereich einiger Tage berechnet. Es muss jedoch daran erinnert werden, dass die berechneten Werte z.B. keine Bewölkung, Abschattung, Einfluss der als Filter wirkenden Huminstoffe in natürlichen Gewässern berücksichtigen und natürlich an allen andern Tagen zunehmen und demnach als progressive Werte anzusehen sind. Die über das Jahr gemittelten maximal progressiv berechneten Halbwertszeiten bezüglich der Photolyse liegen im Bereich von zwei Monaten, für Remdesivir im Bereich von zwei Wochen. Der photochemische Abbau aller Verbindungen in natürlichen Oberflächengewässern muss danach als eher gering angesehen werden.

3.2 Hydrolysen

Die Hydrolyse wurde in Abhängigkeit vom pH-Wert und den vorliegenden Strukturen in mehreren Teilprojekten untersucht. Am $\text{pH}=7 \pm 0,2$ werden in einem Zeitraum von 19 – 25 Tagen Adamantanamin, Ambrisentan völlig stabil und Apixaban, Azelastin, Imipramin (zur in Realproben mit Partikeln überlagerten starken Adsorption von Azelastin und Imipramin siehe unten) Molnupiravir, und Rivaroxaban mit Halbwertszeiten für die Hydrolyse im Bereich von Monaten gefunden. Für einen pH-Wert $\text{pH} = 9-10$ lagen jedoch für Molnupiravir, Nirmatrelvir, Remdesivir und Ritonavir z.T. wesentlich geringere Halbwertszeiten vor. Diese typisch basenkatalysierte Hydrolyse der antiviral wirkenden Pharmazeutika wurde deshalb auch temperatur- und pH-abhängig untersucht [7], für Molnupiravir nur am $\text{pH}=12$ [6].

In Tabelle 3 und in der Abbildung 3 sind die Ergebnisse der erhaltenen temperatur- und pH-abhängigen Hydrolysen dargestellt. Die Aktivierungsenergien liegen in einem typischen Bereich von $E_a = 34\text{--}87\text{ kJ/mol}$, wie auch für andere Carbonsäuren und Amide bekannt [19][20]. Nicht ungewöhnlich ist die sauer katalysierte Hydrolyse für alle Verbindungen vernachlässigbar und nur die neutrale Hydrolyse (k_N) und die basische Hydrolyse (k_B) wirken. Mit dem Ionenprodukt des Wassers $pK = 14$ ist demnach die Geschwindigkeitskonstante k_{hyd} der Hydrolyse:

$$k_{hyd} = k_B \cdot 10^{-pK} \cdot 10^{pH} + k_N$$

Tabelle 3: Geschwindigkeitskonstanten für die neutrale Hydrolyse (k_N) bei $T=20\text{ °C}$ und für die basische Hydrolyse (k_B) bei $T=20\text{--}40\text{ °C}$ für Remdesivir, Ritonavir, Nirmatrelvir und Molnupiravir. Die angegebenen Fehler entsprechen einer Standardabweichung. n.b. = nicht bestimmt. Weiterhin angegeben ist die bei $pH=12$ ermittelte Aktivierungsenergie E_A der Hydrolyse.

Parameter	Remdesivir	Ritonavir	Nirmatrelvir	Molnupiravir
$k_{N,20} / s^{-1}$	$(2,2 \pm 0,6) 10^{-7}$	$(1,0 \pm 0,8) 10^{-7}$	$(9 \pm 6) \cdot 10^{-8}$	≈ 0 (n.b.)
$k_{B,10} / M^{-1}s^{-1}$	$(2,9 \pm 0,07) 10^{-2}$	$(6,8 \pm 0,09) 10^{-2}$	$(5,3 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	$(3,4 \pm 0,06) 10^{-2}$
$k_{B,20} / M^{-1}s^{-1}$	$(3,6 \pm 0,2) 10^{-2}$	$(1,0 \pm 0,04) 10^{-1}$	$(1,2 \pm 0,03) 10^{-3}$	$(7,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-2}$
$k_{B,30} / M^{-1}s^{-1}$	$(8,8 \pm 0,2) 10^{-2}$	$(1,8 \pm 0,05) 10^{-1}$	$(2,6 \pm 0,02) \cdot 10^{-3}$	$(3,4 \pm 0,1) 10^{-1}$
$k_{B,40} / M^{-1}s^{-1}$	n.b.	n.b.	n.b.	$(1,2 \pm 0,01)$
$E_A / kJ\ mol^{-1}$	40 ± 15	34 ± 3	57 ± 1	87 ± 4

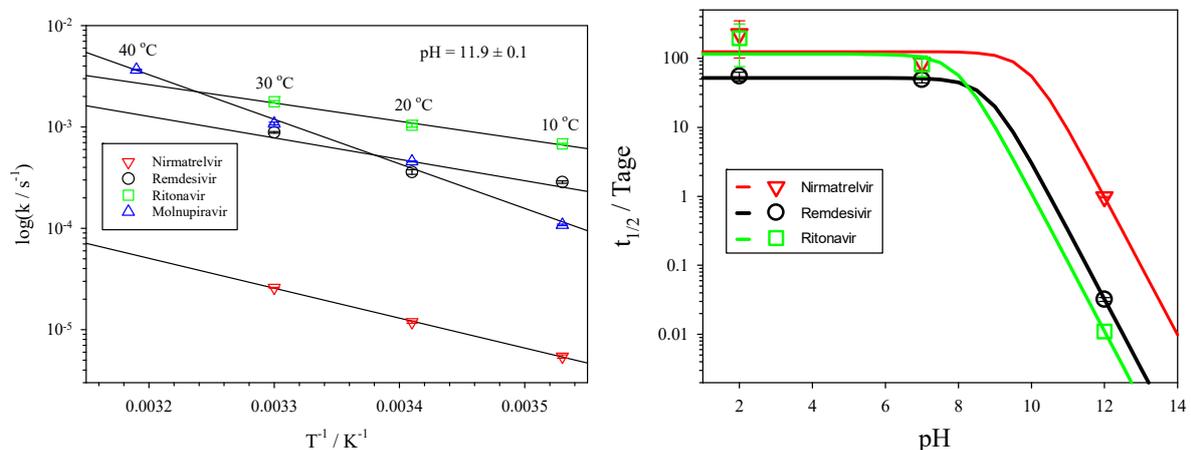


Abbildung 3: Links: Arrhenius-Auftragung ($\log(k)$ versus $1/T$) für die Hydrolyse von Nirmatrelvir, Remdesivir, Ritonavir und Molnupiravir am $pH=11,9 \pm 0,1$. Rechts: Halbwertszeiten für die Hydrolyse von Nirmatrelvir, Remdesivir und Ritonavir in Abhängigkeit vom pH-Wert für $T=20\text{ °C}$.

In der Abbildung 3 ist die große Dynamik der innerhalb eines Faktors 10000 variierenden Halbwertszeiten sichtbar. Alle Verbindungen besitzen bezüglich der Hydrolyse unterhalb eines $pH < 8$ Halbwertszeiten im Bereich von Monaten. Für Molnupiravir wurde die Hydrolyse

oberhalb pH>10 im Detail in separaten Messungen untersucht. So wurden für pH-Werte im Bereich von pH=7 für Molnupiravir Halbwertszeiten im Bereich eines Jahres gefunden.

Für Molnupiravir wurde das Hydrolyseprodukt N4-Hydroxycytidin und für Remdesivir GS-704277 in den Labormessungen gefunden und quantifiziert. Beide Produkte werden praktisch quantitativ gebildet und die Ausbeute für beide Produkte beträgt im Rahmen der Fehler ($\pm 10\%$) jeweils 100 %.

Die Kinetik für GS-704277 in der Hydrolyse des Remdesivirs am pH=12 und T = 20 °C ist in der Abbildung 4 dargestellt. Die Kinetik von GS-704277 wird in Form einer Folgereaktion gefunden, wobei demnach das Hydrolyseprodukt selbst nicht stabil ist und in einer langsamen Reaktion (Halbwertszeit im Bereich von 10 Tagen) zu einem unbekanntem Produkt abgebaut wird. Interessanterweise wird in vivo als Produkt aus der enzymatisch beeinflussten Hydrolyse das Produkt GS-441524 gefunden [21]. Dieses Produkt wurde ebenfalls analysiert, konnte jedoch am pH=12 in der hier untersuchten abiotischen Hydrolyse nicht gefunden werden. Tatsächlich wurde GS-441524 am sauren pH=2 in sehr geringen Konzentrationen (<1 %) nachgewiesen, dagegen wurde jedoch nicht das Produkt GS-704277 gefunden. Weitere, nähere Untersuchungen zu den Produkten wurden nicht durchgeführt.

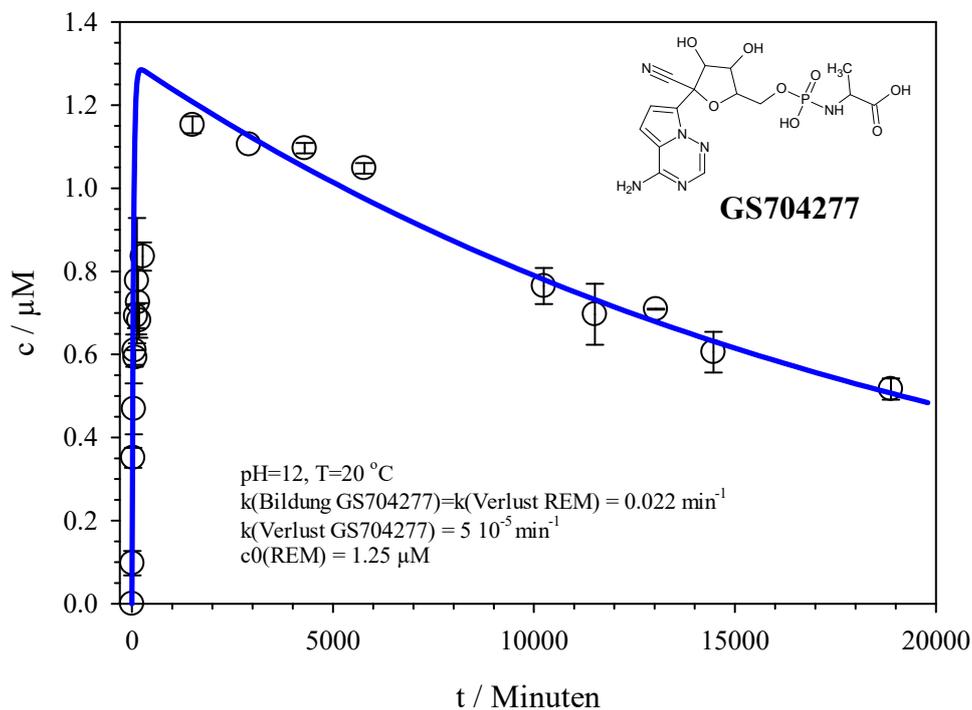


Abbildung 4: Bildung des Produktes GS-704277 in der Hydrolyse von Remdesivir am pH=12 und für T=20 °C. Wie aus dem Verlust von Remdesivir erwartet, wird ein schneller Anstieg gemessen und GS-704277 wird dann selbst sehr langsam weiter hydrolysiert. Das Produkt aus GS-704277 ist unbekannt, gebildet wird jedoch nicht das in-vivo gefundene Produkt GS-441524 [21].

3.3 Abbau im Belebtschlamm

Nicht überraschend wurden schon in den ersten Messungen praktisch identische, aber auch stark unterschiedliche Konzentrationsniveaus im Zu- und Ablauf der beprobten Kläranlagen (siehe Abschnitt 3.4) gefunden. Einige Substanzen wurden jedoch im Zu- und Ablauf nicht gemessen (wie Molnupiravir) und es stellte sich die Frage, welche von den untersuchten Substanzen in der Kläranlage potentiell persistent sind oder abgebaut werden. Dafür wurden Experimente ähnlich einem Zahn-Wellens Test mit jedoch den original vorliegenden Konzentrationen an Belebtschlamm und geringen Konzentrationen an Analyten im Bereich von 200-500 µg/L durchgeführt. Entsprechende Doppelversuche erfolgten in einem Gesamtmesszeitraum von 50 Stunden mit Mischungen der 10 untersuchten Verbindungen in Proben aus dem Belebtschlamm der Kläranlage E (pH≈7,5, mit ca. 2,6 g Belebtschlamm). Die Ergebnisse der Messungen bei T=20 °C sind in der Abbildung 5 dargestellt.

Nach diesen Messungen sind Adamantanamin, Ambrisentan, Apixaban und Rivaroxaban vollständig persistent und sollten in einer Kläranlage nicht abgebaut werden. Dieses Ergebnis deckt sich mit der vollständigen Persistenz in der abiotischen Hydrolyse (siehe Abschnitt 3.2). Das unterschiedliche Adsorptionsverhalten der Verbindungen ist in den Graphiken der Abbildung 5 gut sichtbar. So wird die Startkonzentration von Rivaroxaban zeitlich unabhängig um einen Faktor 2,5 in der Lösung reduziert. Imipramin und Azelastin werden zwar in der wässrigen Phase abgebaut mit Halbwertszeiten im Bereich von 5-10 Stunden, zeigen jedoch einen starken adsorbierten Anteil und eine nicht weiter untersuchte Offsetkonzentration in der wässrigen Phase. Im Gegensatz zu diesen 6 Verbindungen zeigen die 4 als antiviral wirkenden Verbindungen Molnupiravir, Nirmatrelvir, Remdesivir und Ritonavir über eine Reaktion 1. Ordnung gut auszuwertende Kinetiken mit geringen adsorbierten Anteilen am Belebtschlamm. Die enzymatische Hydrolyse von Molnupiravir und Remdesivir ist so effektiv (mit Halbwertszeiten im Bereich von $t_{1/2} \approx 1$ h), für Ritonavir etwas abgeschwächer ($t_{1/2} \approx 10$ h), dass alle drei Verbindungen in einer Kläranlage vollständig über eine enzymatische Hydrolyse abgebaut werden. Dagegen wird Nirmatrelvir im Belebtschlammwasser wesentlich langsamer abgebaut mit Halbwertszeiten im Bereich einiger Tage. Der bis zu einem Faktor 1000 beschleunigende Einfluss der enzymatischen Hydrolyse verglichen mit der abiotischen Hydrolyse (am pH=7) ist in der Abbildung 6 dargestellt.

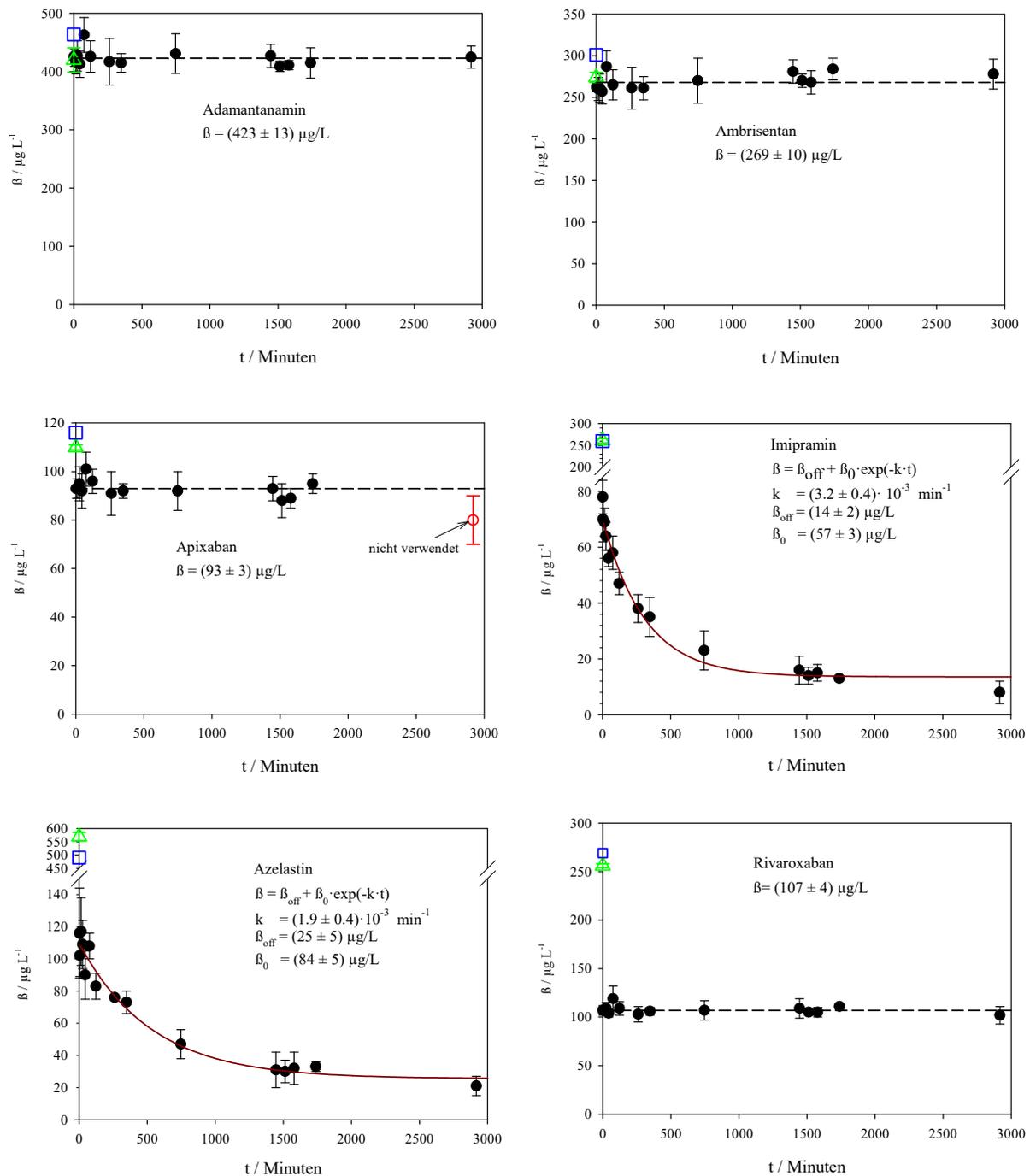
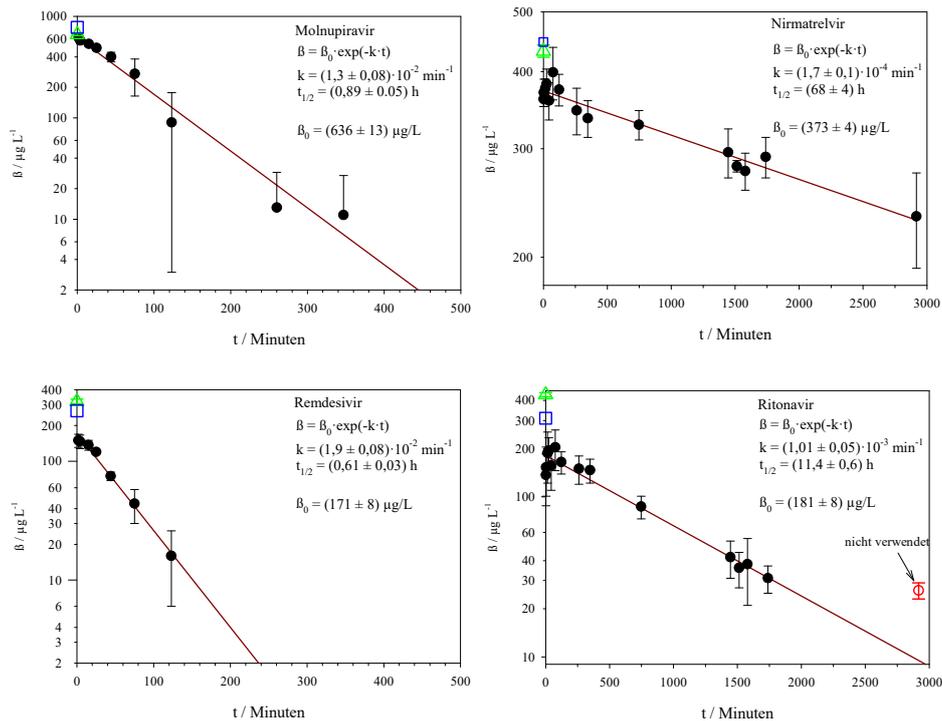


Abbildung 5: Lineare Konzentrations-Zeit Verläufe in den Untersuchungen des Verlustes aller Verbindungen im Belebtschlammwasser aus dem Belebtschloß der Kläranlage E, direkt verwendet nach der Probenahme am 20.9.2023, $\text{pH} \approx 7,5$, $\beta(\text{O}_2) = 3,2 \text{ mg/L}$, Feststoffgehalt $2,6 \text{ g/L}$. Die Messung im Labor erfolgte bei $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$, der Belebtschlamm wurde ständig mit Luft über Sprudelelemente belüftet und dadurch auch gerührt, Ergebnisse aus Doppelproben, $N=2 \times 15$, Messzeit 50 h. Adamantanamin, Ambrisentan, Apixaban und Rivaroxaban sind vollständig persistent, Imipramin und Azelastin zeigen einen starken adsorbierten Anteil und eine Offsetkonzentration in der Lösung. \square = Blindprobe in Wasser \triangle = Blindprobe in Methanol. Alle Proben (auch Blind in Wasser und Methanol) wurden mit Glasfaserfilter $1 \mu\text{m}$ filtriert.



Fortsetzung Abbildung 5: Logarithmierte Konzentrations-Zeit Verläufe in den Untersuchungen des Verlustes von Molnupiravir, Nirmatrelvir, Remdesivir und Ritonavir im Belebtschlammwasser aus dem Belebtschlamm der Kläranlage E, direkt verwendet nach der Probenahme am 20.9.2023, $\text{pH} \approx 7,5$, $\beta(\text{O}_2) = 3,2 \text{ mg/L}$, Feststoffgehalt $2,6 \text{ g/L}$. Die Messung im Labor erfolgte bei $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$, der Belebtschlamm wurde ständig mit Luft über Sprudelelemente belüftet und dadurch auch gerührt, Ergebnisse aus Doppelproben, $N=2 \times 15$, Messzeit 50 h. Geraden aus linearen Regressionen. \square = Blindprobe in Wasser \triangle = Blindprobe in Methanol. Alle Proben (auch Blind in Wasser und Methanol) wurden mit Glasfaserfilter $1 \mu\text{m}$ filtriert.

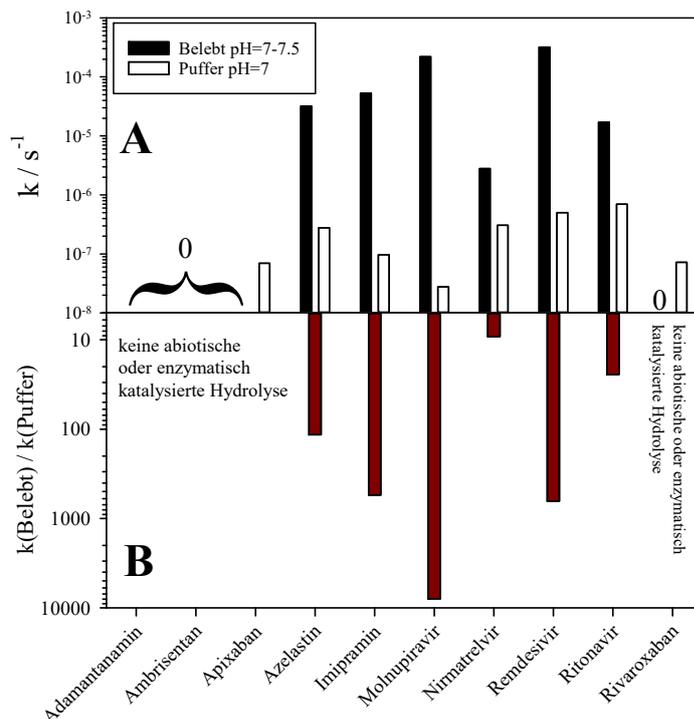


Abbildung 6:
A: Geschwindigkeitskonstanten im Belebtschlammwasser ($+ 2,6 \text{ g}$ Belebtschlamm, $\text{pH} \approx 7,5$) und im Puffer ($\text{pH}=7$) und
B: Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten $k(\text{Belebt}) / k(\text{Puffer})$

3.4 Untersuchungen in Realproben

3.4.1 Konzentrationen in Kläranlagen

Einige Kenngrößen der untersuchten Kläranlagen für den Zeitraum 2003-2021 [22] sind in der Abbildung 7 zusammengestellt. Bezüglich des mittleren Ablaufs unterscheiden sich die Kläranlagen untereinander um mehr als einen Faktor 10. Die über einen fast 20-jährigen Zeitraum gemittelten Ablaufwerte sind dabei praktisch identisch zu den im Projektzeitraum vorliegenden Ablaufwerten.

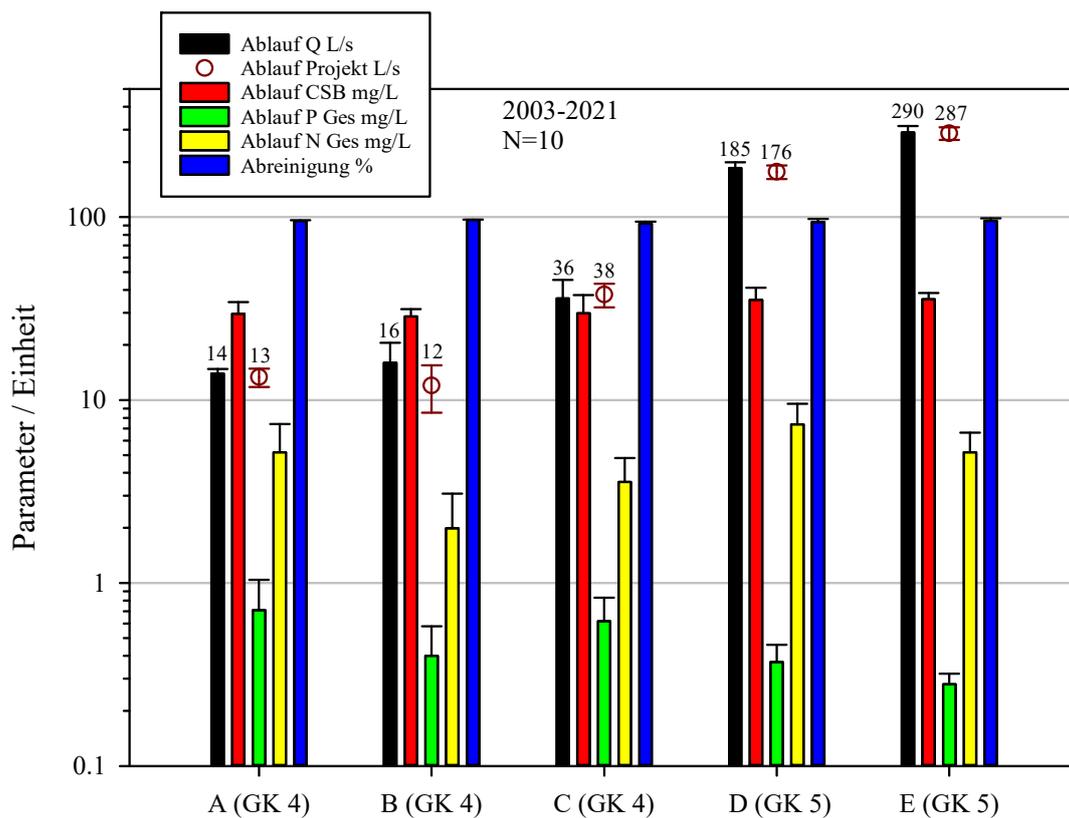


Abbildung 7: Ablauf- und Abreinigungswerte der untersuchten Kläranlagen A - E gültig für den Zeitraum 2003-2021 [22]. Die Fehlerbalken entsprechen einer Standardabweichung (N=10). GK(Größenklasse)=4: 10000-100000 Einwohnerwerte, GK=5: > 100000 Einwohnerwerte. Die Mittelwerte der Abläufe an den Probenahmeterminen (braune Kreise) stimmen gut mit den knapp 20-jährigen Mittelwerten überein.

Untersucht wurden die Zu- und Abläufe der 5 Kläranlagen A – E in 3 Hauptkampagnen im November 2022 und März bzw. Juni 2023. In keiner Probe wurde Ambrisentan, Imipramin, Molnupiravir und Remdesivir oberhalb der Bestimmungsgrenzen (5-10 ng/L) gefunden. Azelastin wurde nur in einigen wenigen Proben nahe der Bestimmungsgrenze gefunden. Die Konzentrationen der Verbindungen mit den höchsten Konzentrationen sind in der Abbildung 8 zusammengestellt. Die Substanz mit der höchsten Konzentration mit maximalen

Konzentrationen im Bereich von 1000 ng/L ist Apixaban, Rivaroxaban wurde mit Konzentrationen, die um einen Faktor 2 geringer sind als Apixaban und Adamantanamin mit geringeren Konzentrationen um grob einem Faktor 5 gefunden. Nirmatrelvir und aufgrund der geringeren Dosierung abgeschwächt das im Gemisch Paxlovid als Booster eingesetzte Ritonavir werden sporadisch und mit geringeren Konzentrationen von maximal 200 ng/L gefunden. In der Kampagne im Juni 2023 konnten Nirmatrelvir und Ritonavir nicht mehr nachgewiesen werden, in der Kläranlage A nie. Dieses qualitative wie auch quantitative Muster wurde ebenfalls in den Proben aus dem Belebtecken der Kläranlagen D und E gemessen.

In der Kläranlage C wurde im November 2022 der Ablauf vor und nach dem vorhandenen Schönungsteich analysiert mit praktisch identischen Konzentrationen. Aus diesem Grund wurde in den nachfolgenden Kampagnen nur der Ablauf vor dem Schönungsteich analysiert. Diese Messungen und Messungen von Doppelproben belegen eine gute Übereinstimmung der Konzentrationen über das gesamte Aufbereitungsverfahren in Mehrfachmessungen im Bereich von 10 – 20 %.

Apixaban und Rivaroxaban stimmen innerhalb einer Variation eines Faktors 2-3 über alle Proben in den Zu- und Abläufen aller 5 Kläranlagen (N=15) überein. Die Ablaufkonzentration für Apixaban beträgt (71 ± 22) % und für Rivaroxaban (58 ± 18) % der Konzentration des Zulaufs. Die Konzentration dieser Verbindungen ist demnach praktisch unabhängig von der Größe der Kläranlage. Da die Kläranlage A keinen Zufluss aus einem Krankenhaus besitzt, werden die Konzentrationen dieser Verbindungen praktisch vollständig aus häuslichen Anwendungen hervorgerufen. Dagegen werden stark variierende Konzentrationsniveaus für Adamantanamin und Nirmatrelvir in allen Kläranlagen und darüber hinaus von diesen Mittelwerten noch abweichende Konzentrationen in der Kläranlage A gefunden. Ohne die Daten aus der Kläranlage A betragen die Ablaufkonzentration für Adamantanamin (110 ± 85) % und für Nirmatrelvir (59 ± 75) % der Zulaufkonzentrationen. Adamantanamin ist vollständig persistent, variiert jedoch stark in der Konzentration. Nirmatrelvir wird ebenfalls mit hoher Variation der Konzentration gefunden, in der Junikampagne 2023 nur noch in der größten Kläranlage E.

Im Einklang mit diesen Ergebnissen werden im Belebtecken ähnliche bzw. identische Konzentrationen wie im Ablauf gefunden.

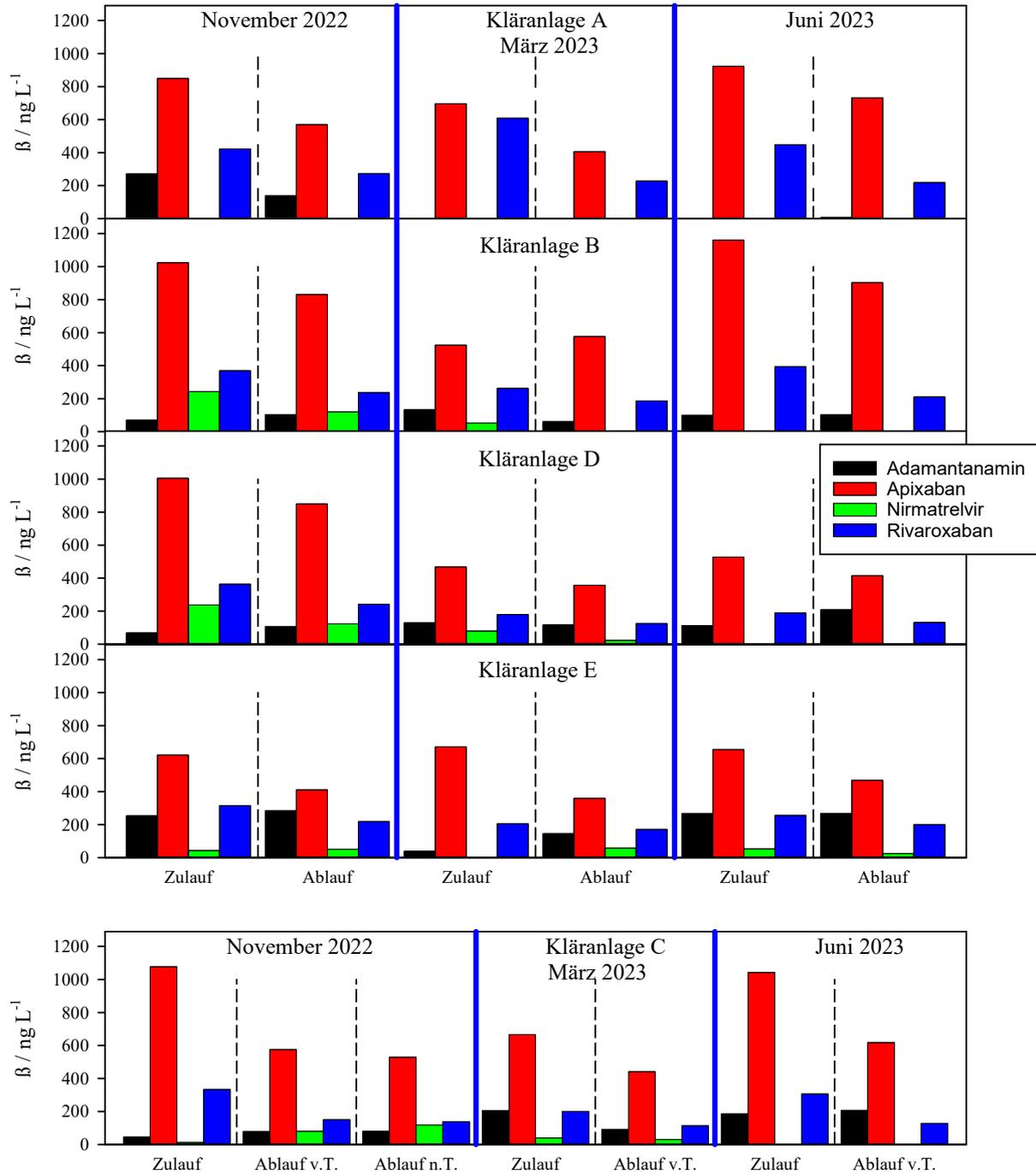


Abbildung 8: Massenkonzentrationen ($\beta/\text{ng L}^{-1}$) der in den Kläranlagen gefundenen Verbindungen Adamantanamin, Apixaban, Nirmatrelvir und Rivaroxaban um Zu- und Ablauf für die 3 Hauptkampagnen im November 2022 und März bzw. Juni 2023. In der Kläranlage C wurde im November 2022 der Ablauf vor und nach dem vorhandenen Schönungsteich analysiert mit praktisch identischen Konzentrationen.

3.4.2 Konzentrationen in Oberflächengewässern

Die drei Verbindungen Adamantanamin, Apixaban und Rivaroxaban wurden in Probestellen in der Wietze, die von der Kläranlage D beeinflusst sind, ebenfalls in hohen Konzentrationen im Oberflächengewässer gefunden. Zum Vergleich wurde Carbamazepin in einigen Proben mitanalysiert. Wie für die Proben aus den Kläranlagen sind die Konzentrationen in einer Übersicht zu den einzelnen Messstellen in der Abbildung 9 zusammengefasst.

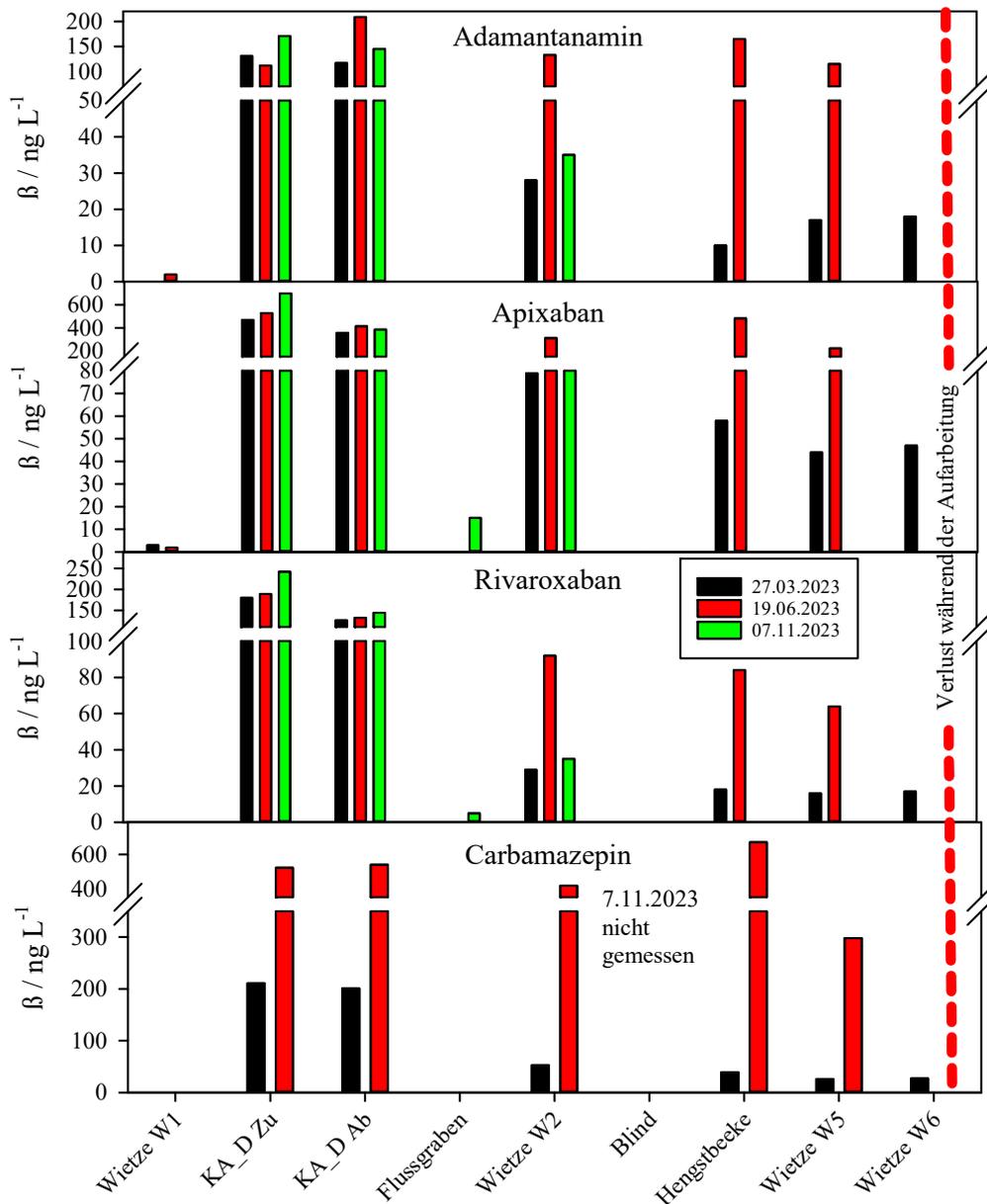


Abbildung 9: Massenkonzentrationen ($\beta/\text{ng L}^{-1}$) der Verbindungen Adamantanamin, Apixaban, Rivaroxaban sowie als Vergleich für Carbamazepin in Oberflächengewässerproben an der Wietze. Zum Vergleich wurden auch die Konzentrationen im Zu- und Ablauf der Kläranlage D angegeben. Die Probe W6 für den 19.6.23 wurde während der Aufbereitung zerstört. Am 7.11.23 wurden keine Proben nach der Messstelle W2 genommen.

An der Blindmessstelle im Mühlengraben, einem Zufluss in die Wietze, wurden in keiner Probe Konzentrationen oberhalb der Bestimmungsgrenze gefunden. Wie für andere Pharmazeutika [9] [23] ist die alleinige Quelle dieser Verbindungsgruppe demnach der Ablauf der Kläranlagen im Einzugsgebiet. Wie schon in anderen Projekten gefunden [9] [23] sind die Konzentrationen in der Hengstbeeke, dem Vorfluter der Kläranlage C, mit Konzentrationsniveaus wie im Ablauf der Kläranlage D gefunden sehr hoch. Die Konzentrationen in der Wietze nehmen aufgrund der Verdünnung im Verlauf der Wietze bis zum Zufluss in die Aller ab. In der Kampagne am 19.6.2023 betrug der Einfluss der Kläranlage D auf den Volumenstrom der Wietze über 80 % und entsprechend sind die Konzentrationen in der Wietze (und im Zufluss Hengstbeeke) praktisch vergleichbar zu den Konzentrationen im Ablauf der Kläranlagen C und D. Zu den Zeitpunkten mit relativ hohen Volumenströmen im Bereich von 1 - 2 m³ s⁻¹ am Pegel Wieckenberg sind die Konzentrationen wie erwartet aufgrund der Verdünnung grob einen Faktor 10 geringer. Die gefundenen Konzentrationen für Adamantanamin, Apixaban und Rivaroxaban im Jahr 2023 sind den Konzentrationen in einer Probe aus einer anderen Studie von der Messstelle Wietze/Wieckenberg aus dem Juni 2020 [24] vergleichbar.

4 Schlußfolgerungen

Generell ist die Photolyse und die abiotische Hydrolyse am pH=7 für alle untersuchten Verbindungen ein langsamer Abbauweg mit Halbwertszeiten im Bereich von Wochen – Jahren (siehe Abbildung 10).

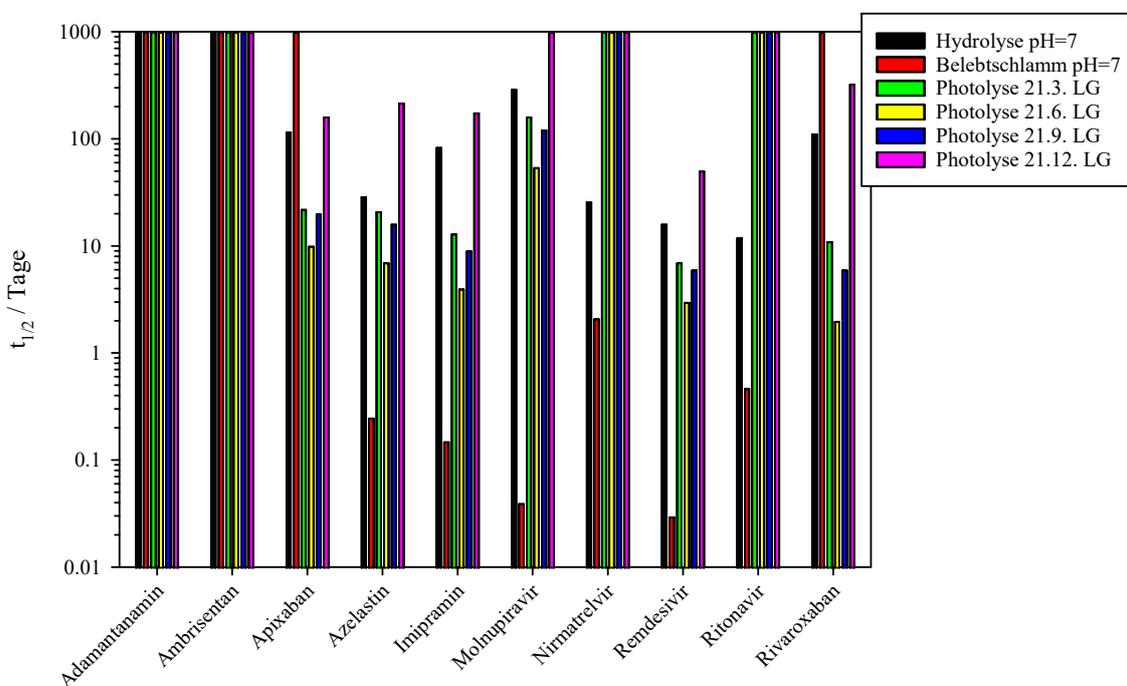


Abbildung 10: Zusammenfassung der Halbwertszeiten für die abiotische Hydrolyse, die enzymatisch beeinflusste Hydrolyse im Belebtschlammwasser und der Photolyse aller untersuchten Verbindungen. Die Halbwertszeit 1000 Tage wurde in der Photolyse formal für einen auch theoretisch nicht möglichen Abbau angegeben.

Die Verbindungen Azelastin, Imipramin, Molnupiravir, Remdesivir und Ritonavir sollten im Bereich der Aufenthaltszeit einer Verbindung in einer Kläranlage ($t_{1/2} \approx 1-4$ Tage) im Belebtschlammwasser einer Kläranlage eliminiert werden. Sollten diese Verbindungen in eine Kläranlage eingetragen werden, ist ein Eintrag in den Vorfluter demnach als gering anzusehen. Tatsächlich wurden Azelastin und Ritonavir zwar in einigen Fällen im Zulauf, jedoch nie im Ablauf einer Kläranlage gefunden, Imipramin, Molnupiravir und Remdesivir wurden in keiner Probe oberhalb der Bestimmungsgrenze gefunden.

Im Zulauf (Ablauf) wurde Adamantanamin in 90 (95) %, Apixaban in 100 (100) %, Azelastin in 33 (5) %, Nirmatrelvir in 62 (61) %, Ritonavir in 52 (9) % und Rivaroxaban in 100 (100) % der Proben oberhalb der Bestimmungsgrenze gefunden.

Übereinstimmend mit diesen Ergebnissen wurden nur Adamantanamin, Apixaban und Rivaroxaban mit Konzentrationen > 5 ng/L in den Oberflächengewässerproben der Wietze und der Hengstbeeke gefunden. Dies deckt sich auch mit den Ergebnissen einer vorherigen landesweiten NLWKN-Studie [24], bei der diese drei und weitere sogenannte PMT-Stoffe aufgrund ihrer schlechten Abbaubarkeit und hohen Mobilität als gewässerrelevant identifiziert wurden.

Eine qualitative Übersicht der Ergebnisse im Projekt ist in der Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4: Qualitative Stabilitäten der untersuchten Verbindungen. Kriterien: Direkte Photolyse (Sonne, oberste Schicht Wasser für den 21.6., $T=20$ °C, Sauerstoffsättigung, Breitengrad 54 °N): ■ = $t_{1/2} > 7$ Tage ■ = $2 \leq t_{1/2} \leq 7$ Tage. Hydrolyse (pH=7, $T=20$ °C, Sauerstoffsättigung): ■ = stabil bzw. $t_{1/2} \geq 100$ Tage. ■ = $25 \leq t_{1/2} \leq 100$ Tage ■ = $12 \leq t_{1/2} \leq 25$ Tage. Biologischer Abbau (pH=7-7,5, $T=20-25$ °C, Sauerstoffsättigung, Verlust in der KA. Ablauf/Zulauf bzw. Verlust im Labor frischer Belebtschlamm nach 1 h): ■ = stabil bzw. Verlust < 30 % ■ = $30 \leq$ Verlust ≤ 90 % ■ = Verlust > 90 %

	Direkte Photolyse	Hydrolyse pH=7	Eliminierung Bio
Adamantanamin	■	■	■
Ambrisentan	■	■	■
Apixaban	■	■	■
Azelastin	■	■	■ Abbau, aber ca. 50 % Adsorption
Imipramin	■	■	■ Abbau, aber ca. 70 % Adsorption
Molnupiravir	■	■	■
Nirmatrelvir	■	■	■
Remdesivir	■	■	■
Ritonavir	■	■	■
Rivaroxaban	■	■	■ kein Abbau, nur ca. 50 % Adsorption

Danksagung

Das Projekt wurde vom Niedersächsischen Ministerium für Umwelt, Energie, Bauen und Klimaschutz finanziert und vom NLWKN begleitet. Daten zum Pegel Wieckenberg wurden freundlicherweise von Herrn Ulrich Neubauer (NLWKN, Betriebsstelle Verden), Daten zum Pegel Meitze von Herrn Stefan Plötner (NLWKN, Betriebsstelle Hildesheim), Daten zu den Kläranlagen von Nils Kindt und Christian Bock, Jens Kalmbach, Jens-Ulrich Waschewski, Jörg Schwanke sowie Timo Sander und Marcel Ratschat zur Verfügung gestellt. Julie Maschmann, Simon Soetbehr, Giulia Harms, Cloe Lucci, und Sarah EL Kadi haben im Rahmen des Projektes Abschlussarbeiten angefertigt. Weiterhin sei David Jung, Melina Lange und Alexander Pascal Klaas für die aktive Mitarbeit am Projekt gedankt.

Literatur

- [1] VFA, Die forschenden Pharmaunternehmen (vfa). Therapeutische Medikamente gegen die Coronavirusinfektion Covid-19, <https://www.vfa.de/>.(Zugriff: 22.4.2024). (2024).
- [2] VFA, Die forschenden Pharmaunternehmen (vfa). Covid-19: zugelassene und zur Zulassung eingereichte Medikamente, <https://www.vfa.de/>.(Zugriff: 22.4.2024). (2023).
- [3] J.-A.C. Maschmann, Methodenentwicklung über LC-MS/MS und Konzentrationen von fünf potentiellen COVID-19 Medikamenten in Oberflächengewässern und in zwei niedersächsischen Kläranlagen, Masterarbeit, Leuphana Universität Lüneburg, 2022.
- [4] S. Soetbehr, Experimentelle Untersuchung zur direkten Photolyse ausgewählter N-Heterocyclen mit potenzieller Wirkung gegen COVID-19, Bachelorarbeit, Leuphana Universität Lüneburg, 2022.
- [5] G. Harms, Analytics of therapeutic substances against the coronavirus infection Covid-19 and their adsorption capacity on surfaces, Bachelorarbeit, Leuphana Universität Lüneburg, 2022.
- [6] C. Lucci, Investigation into the Reaction Kinetics of the Hydrolysis of Molnupiravir to 4N-hydroxycytidine, Bachelorarbeit, Kalamazoo College, Kalamazoo (MI) und Leuphana Universität Lüneburg, 2022.
- [7] S.E. Kadi, Experimentelle Untersuchung zur Kinetik der Hydrolyse antiviral wirkender Covid-19 Medikamente: Nirmatrelvir, Remdesivir und Ritonavir, Bachelorarbeit, Technische Hochschule Lübeck und Leuphana Universität Lüneburg, 2024.
- [8] W.-U. Palm, M. Schaffer, K. Kümmerer, Endbericht zum Projekt: "Konzentrationen, Quellen und Senken ausgewählter Mikroverunreinigungen im Oberflächengewässer der Wietze" (<https://www.nlwkn.niedersachsen.de/download/142968>), Leuphana Universität, Lüneburg, 2019.
- [9] F. Löher, W.-U. Palm, M. Schaffer, O. Olsson, Concentrations and sources of methylxanthines in a Northern German river system, *Sci. Total Environ.* 775 (2021) 145898.
- [10] A.-K. Siemers, W.-U. Palm, C. Faubel, J.S. Mänz, D. Steffen, W. Ruck, Sources of nitrogen heterocyclic PAHs (N-HETs) along a riverine course, *Sci. Total Environ.* 590-591 (2017) 69–79.
- [11] P.H. Sherrod, Nonlinear Regression and Curve Fitting Program NLREG, Version 6.5 (advanced), 6430 Annandale Cove, Brentwood, TN 37027-6313, USA, 2013.
- [12] H. Schwander, P. Koepke, A. Ruggaber, T. Nakajima, A. Kaifel, A. Oppenrieder, System for Transfer of Atmospheric Radiation (STARsci Version 2.1), (2003).

- [13] C.A. Gueymard, SMARTS (Simple Model of the Atmospheric Radiative Transfer of Sunshine). [http://www.nrel.gov/rredc/smarts/SMARTS code version 2.9.5 for Windows](http://www.nrel.gov/rredc/smarts/SMARTS_code_version_2.9.5_for_Windows), (2006).
- [14] W.-U. Palm, Photochemistry of 9-acridinecarboxaldehyde in aqueous media, *Photochem. Photobiol. Sci.* 17 (2018) 964–974.
- [15] W.-U. Palm, Oxygen dependence in the photoreaction of the pesticide metamidon, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 347 (2017) 138–145.
- [16] W.-U. Palm, N. Schmidt, M. Stahn, S. Grimme, A kinetic study of the photolysis of sulfamethoxazole with special emphasis on the photoisomer, *Photochem. Photobiol. Sci.* 22 (2023) 615–630.
- [17] OECD, Phototransformation of Chemicals in Water - Direct Photolysis, OECD/OCDE guideline 316: OECD guidelines for the testing of chemicals, Paris, France, 2008.
- [18] M. Yassine, L. Fuster, M.-H. Dénier, E. Geneste, P. Pardon, A. Grélard, E. Dufourc, M.A. Iskandarani, S. Aït-Aïssa, J. Garric, H. Budzinski, P. Mazellier, A.S. Trivella, Photodegradation of novel oral anticoagulants under sunlight irradiation in aqueous matrices, *Chemosphere.* 193 (2018) 329–336.
- [19] T. Mill, W. Mabey, Hydrolysis of Organic Chemicals, in: *Reactions Processes*, Springer, Berlin, Heidelberg, 1988: pp. 71–111.
- [20] W. Mabey, T. Mill, Critical review of hydrolysis of organic compounds in water under environmental conditions, *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 7 (1978) 383–415.
- [21] Y. Li, L. Cao, G. Li, F. Cong, Y. Li, J. Sun, Y. Luo, G. Chen, G. Li, P. Wang, F. Xing, Y. Ji, J. Zhao, Y. Zhang, D. Guo, X. Zhang, Remdesivir Metabolite GS-441524 Effectively Inhibits SARS-CoV-2 Infection in Mouse Models, *J. Med. Chem.* 65 (2022) 2785–2793.
- [22] NLWKN, Die Beseitigung kommunaler Abwässer in Niedersachsen - Lagebericht. Ausgaben (alle 2 Jahre für den Zeitraum 2003 - 2023) sind auf der Internetseite des NLWKN verfügbar, Bearbeitung: Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft, Küsten- und Naturschutz (NLWKN). Niedersächsisches Ministerium für Umwelt, Energie und Klimaschutz, Hannover, 2005-2023.
- [23] W.-U. Palm, M. Schaffer, K. Kümmerer, Endbericht zum Projekt: "Konzentrationen und Umweltverhalten von Transformationsprodukten bedeutsamer Pharmazeutika und von Coffein in der Wietze" (<https://www.nlwkn.niedersachsen.de/>), Leuphana Universität, Lüneburg, 2021. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.15678.36163>.
- [24] M. Scheurer, K. Nödler, R. Schmid, M. Schaffer, Vorkommen persistenter und mobiler organischer Spurenstoffe in niedersächsischen Oberflächengewässern (PMT/vPvM-Stoffe), Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft, Küsten- und Naturschutz (NLWKN), Hildesheim, 2022.