

# 2-Ethylhexansäure

[149-57-5]

<b>MAK-Wert</b>	nicht festgelegt, vgl. Abschn. II b der MAK- und BAT-Werte-Liste
<b>Spitzenbegrenzung</b>	–
<b>Hautresorption</b>	–
<b>Sensibilisierende Wirkung</b>	–
<b>Krebserzeugende Wirkung</b>	–
<b>Fruchtschädigende Wirkung</b>	–
<b>Keimzellmutagene Wirkung</b>	–
<b>BAT-Wert</b>	–

Der Begründung liegt die TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNG Nr. 275 2-Ethylhexansäure der BG Chemie (2000; siehe Anhang), in der sich die ausführliche Darstellung der Studien findet, sowie Literatur aus einer Anschlussrecherche zugrunde.

Metabolismusstudien zeigen, dass 2-Ethylhexanol rasch und quantitativ zu 2-Ethylhexansäure oxidiert wird. Daher kann unterstellt werden, dass beide Verbindungen ein nahezu identisches systemisch-toxisches Wirkprofil haben (vgl. Begründung „2-Ethylhexanol“ 2000), es ist jedoch von einer stärkeren Reizwirkung der Säure auszugehen. Das C-Atom 2 der 2-Ethylhexansäure ist asymmetrisch. Dadurch existieren die zwei Enantiomere (R)-(–)- und (S)-(+)-2-Ethylhexansäure. Technische Bedeutung hat ausschließlich die Mischung der beiden Enantiomeren, das Racemat (+/–)-2-Ethylhexansäure.

## 1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Siehe Zusammenfassung im Anhang.

## 2 Wirkungsmechanismus

Als Wirkungsmechanismus für die teratogenen Effekte bei der Maus wird die Hemmung von Histondeacetylasen diskutiert, die sowohl durch 2-Ethylhexansäure als auch von der strukturverwandten Verbindung Valproinsäure (2-Propylpentansäure) ausgelöst wird. Für die Zulässigkeit der Analogiebetrachtung mit Valproinsäure spricht, dass Valproinsäure und 2-Ethylhexansäure dieselbe primäre Wirkung auf die Regulation der Genexpression haben, indem sie Histondeacetylasen hemmen und damit Expression von Genen induzieren bzw. deren Repression durch Transkriptionsfaktoren, die Histondeacetylasen an diese Gene binden, aufheben. Diese Hemmung der Histon-

## 2 2-Ethylhexansäure

deacetylasen und die damit verbundene Derepression zum Beispiel des Transkriptionsfaktors PPAR $\delta$  (Peroxisomenproliferator aktivierter Rezeptor  $\delta$ ) wird nur durch das teratogene Stereoisomer der 2-Ethylhexansäure, durch Valproinsäure, und durch teratogene Derivate von Valproinsäure ausgelöst, sodass eine strikte Korrelation zwischen der Primärwirkung auf Histondeacetylasen und der in vivo ausgelösten Teratogenität besteht (Göttlicher et al. 2001; Lampen et al. 1999).

Als weiterer Mechanismus wurde die Induktion des Zink-bindenden Proteins Metallothionein in der Leber der Muttertiere mit nachfolgender Zink-Unterversorgung im Fetus und daraus resultierenden Missbildungen diskutiert (Bui et al. 1998). Die Induktion der Expression von Metallothionein wäre mit dem oben diskutierten Mechanismus der Hemmung von Histondeacetylasen vereinbar.

## 3 Toxikokinetik und Metabolismus

Ausführliche Angaben finden sich in Tabelle 1 im Anhang.

### 3.1 Resorption und Verteilung

2-Ethylhexansäure wird aus dem Gastrointestinaltrakt, über die Haut und nach den Erfahrungen am Menschen auch über die Atemwege resorbiert. Maximale Plasmakonzentrationen werden bei Schlundsondenapplikation nach ca. 19 Minuten erreicht. Bei 96-stündiger okklusiver epikutaner Exposition von Ratten gegen 100 oder 1000 mg/kg KG werden etwa 50% resorbiert, 30 bzw. 40% in den ersten 24 Stunden, 10 bzw. 4% in den ersten 8 Stunden. Die Haut der Tiere, die gegen 1000 mg/kg KG exponiert waren, wies histopathologisch Nekrosen und Entzündungen auf. Makroskopisch waren die Tiere ohne Befund. Bei oraler Applikation der gleichen Dosen wurden etwa 90% resorbiert, 20 bzw. 50% in den ersten 8 Stunden. Die maximalen Plasmakonzentrationen nach dermalen Applikation, die nach 5,7 Stunden erreicht werden, liegen um ca. den Faktor 10 niedriger als nach oraler Applikation (English et al. 1998). 2-Ethylhexansäure zeigte bei Maus und Ratte eine bevorzugte Verteilung in Nieren, Leber und Blut (Pennanen und Manninen 1991). Bei trächtigen Mäusen war ein Übertritt von 2-Ethylhexansäure in die Embryonen nachweisbar; die in den Embryonen gemessenen Konzentrationen entsprechen in etwa denen der Muttertiere (Collins et al. 1992).

### 3.2 Metabolismus

2-Ethylhexansäure wird über eine Konjugation mit Glukuronsäure sowie eine Cytochrom-P450-abhängige  $\omega$ -Oxidation und  $\omega$ -1-Oxidation verstoffwechselt. Ferner kann 2-Ethylhexansäure wahrscheinlich wie Fettsäuren über die insbesondere in den Mitochondrien und Peroxisomen stattfindende  $\beta$ -Oxidation letztlich zu Acetyl-CoA abgebaut werden. Als Hauptmetaboliten erscheinen im 24-Stunden-Urin das Glukuronsäurekonjugat der 2-Ethylhexansäure (ca. 20% der applizierten Radioaktivität bei z. B. einmaliger Gabe von 100 mg/kg KG oral; English et al. 1998) sowie 2-Ethyl-1,6-hexandisäure und 6-Hydroxy-2-ethylhexansäure (zusammen 14%) und deren Gluku-

ronsäurekonjugate (nicht quantifiziert). Unmetabolisierte 2-Ethylhexansäure stellt nur einen geringen Anteil (6%) der über den Urin ausgeschiedenen Mengen dar. Die Hälfte der ausgeschiedenen Radioaktivität wurde von English et al. (1998) nicht identifiziert. Mit steigender Dosis nahm der Anteil der glukuronidierten 2-Ethylhexansäure zu und die Anteile der Cytochrom-P450-abhängigen höher oxidierten Metaboliten ab. Bei wiederholter Applikation verringerte sich im Vergleich zur einmaligen Applikation die Gesamtausscheidung, die Menge der glukuronidierten 2-Ethylhexansäure und der Cytochrom-P450-abhängigen Metaboliten. Es wird vermutet, dass bei wiederholter Applikation die  $\beta$ -Oxidation von 2-Ethylhexansäure induziert und die Verbindung verstärkt in die physiologischen Stoffwechselvorgänge integriert wird (English et al. 1998; Pennanen et al. 1991 a; Rettenmeier 1997). Als weiterer Metabolit wurde das terminale Olefin 2-Ethyl-5-hexensäure identifiziert. Beim Menschen wird Valproinsäure hauptsächlich über die  $\beta$ -Oxidation verstoffwechselt, so dass eine ähnliche Metabolisierung beim Menschen auch für 2-Ethylhexansäure anzunehmen ist (Rettenmeier 1997).

### **3.3 Elimination**

Unabhängig vom Applikationsweg wird bei der Ratte nach oraler, dermalen bzw. intravenöser Applikation der überwiegende Anteil der applizierten 2-Ethylhexansäure-Menge mit Eliminationshalbwertszeiten von 4,2 bis 6,8 Stunden im Wesentlichen mit dem Urin und zu geringeren Anteilen mit den Faeces ausgeschieden. Die Elimination aus dem Blut der Ratte nach oraler bzw. intravenöser Applikation erfolgte dreiphasig mit Eliminationshalbwertszeiten von 19 Minuten, 6,8 und 92,2 Stunden bzw. 11,1 Minuten, 6,6 und 117 Stunden. Nach dermalen Applikation ist eine zweiphasige Gesamtelimination mit Halbwertszeiten von durchschnittlich 4,2 und 251 Stunden ermittelt worden. Die Gesamtausscheidung im Urin und in den Faeces innerhalb von 96 Stunden beträgt ca. 90% der applizierten Radioaktivität nach einmaliger oraler Applikation, ca. 75% der applizierten Radioaktivität nach wiederholter oraler Applikation, ca. 77% der resorbierten und ca. 51% der applizierten Radioaktivität nach einmaliger dermalen Applikation und ca. 71% der applizierten Radioaktivität nach intravenöser Applikation (English et al. 1998). Die Ausscheidung über die Atemwege ist nicht untersucht worden.

## **4 Erfahrungen beim Menschen**

Bei Arbeitern finnischer Sägewerke ist nach dem Einsatz des Holzschutzmittels Sinesto B, das zu 26% aus 2-Ethylhexansäurenatriumsalz besteht, die Aufnahme von 2-Ethylhexansäure über die Atemwege und die Ausscheidung mit dem Urin nachgewiesen worden. Da die Werte für Ornithin und Arginin im Urin der hoch exponierten Arbeiter erhöht waren (statistisch signifikant gegenüber der Kontrolle und den niedrig exponierten Arbeitern), ist vermutet worden, dass 2-Ethylhexansäure die Citrullin-Synthese im Harnstoffzyklus hemmt (Kröger et al. 1990; Pennanen et al. 1990).

In einem Produktionsbetrieb für 2-Ethylhexansäure sind im Zeitraum von 1989 bis 1996 je zwei Fälle von Reizungen der Haut, der Augen und der Atemwege nach aku-

## 4 2-Ethylhexansäure

ter lokaler bzw. inhalativer Einwirkung aufgetreten (BASF AG 1997 a). Ferner ist ein Fall einer unter Behandlung reversiblen Corneaverätzung durch 2-Ethylhexansäure beschrieben worden (McLaughlin 1946).

Aus den Erfahrungen beim Menschen liegen keine Hinweise auf ein sensibilisierendes Potenzial der 2-Ethylhexansäure vor (BASF AG 1997 a; Hoechst AG 1997; IVDK 1997).

## 5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

### 5.1 Akute Toxizität

Vgl. Tabelle 2 im Anhang. 2-Ethylhexansäure erweist sich bei akuter oraler Applikation als gering toxisch ( $LD_{50}$  Ratte oral 2043 bis 3640  $\mu\text{g/kg KG}$ ). Bei dermalen Applikation ist der Stoff nach den für die Ratte bzw. das Meerschweinchen ermittelten  $LD_{50}$ -Werten ( $>2000$  bzw. 6300  $\text{mg/kg KG}$ ) ebenfalls gering toxisch und nach dem für das Kaninchen berichteten  $LD_{50}$ -Wert für die dermale Applikation von 1260  $\text{mg/kg KG}$  gesundheitsschädlich. Von Ratten wird die 6-stündige inhalative Exposition gegenüber ca. 400  $\text{ml/m}^3$  (2356  $\text{mg/m}^3$ ; Berechnung der Konzentration unklar; Eastman Kodak Company 1966) bzw. die 8-stündige Exposition gegenüber einer bei Raumtemperatur angereicherten bzw. gesättigten Atmosphäre (keine Konzentrationsangabe; BASF AG 1967) ohne klinischen Befund vertragen. Unter diesen Bedingungen wurden bei Ratten (Smyth und Carpenter 1944) und Meerschweinchen (Eastman Kodak Company 1982; Mellon Institute 1943) keine Todesfälle (k. w. A.) beobachtet. Nach oraler Applikation sind Dyspnoe, Apathie, Bauchlage, Schwäche und Prostration als Vergiftungssymptome und gefleckte Leber, denaturierter Magen und oberer Gastrointestinaltrakt als Sektionsbefunde der verendeten Tiere beschrieben worden. Die Sektion der überlebenden Tiere bei Versuchsende ist ohne Befund gewesen.

### 5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

In Vorstudien mit 14-tägiger oraler Applikation im Futter und per Schlundsonde (Ratte und Maus; Tabelle 4 im Anhang) haben sich Befunde an der Leber (erhöhte Lebergewichte, Hypertrophie) und klinische Symptome gezeigt. Bei Applikation per Schlundsonde betrug der NOAEL für die männliche Maus 800  $\text{mg/kg KG}$ , der LOAEL 1600  $\text{mg/kg KG}$ . Für die weibliche Maus war der NOAEL 1600  $\text{mg/kg KG}$ . Für Ratten sowie für die Applikation per Futter wurden keine NOAELs erhalten: Der LOAEL für die Ratte bei oraler Applikation per Schlundsonde hat 200  $\text{mg/kg KG}$  und Tag betragen und für Ratte und Maus bei Applikation im Futter 0,75% (entsprechend 706 bzw. 756  $\text{mg/kg KG}$  und Tag für die männliche bzw. weibliche Ratte und 1608 bzw. 1965  $\text{mg/kg KG}$  und Tag für die männliche bzw. weibliche Maus). Bei Applikation dieser Dosen sind jeweils noch geringgradige Leberveränderungen festgestellt worden (Eastman Kodak Company 1987 a, b, c, d).

Durch die 90-tägige Applikation von bis zu 1,5% 2-Ethylhexansäure im Futter von Ratte und Maus kam es zu Veränderungen der Leber und zu einer Retardierung der Körpergewichtsentwicklung bei reduzierter Futteraufnahme. Die Leberveränderungen

sind durch eine dosisabhängige Organgewichtserhöhung, histopathologische Veränderungen in Form einer dosisabhängigen leichten bis mäßigen Hypertrophie der Hepatozyten und einer reduzierten Anzahl kleiner zytoplasmatischer Vakuolen sowie Veränderungen klinisch-chemischer Parameter (Erhöhung der Serumcholesterinwerte sowie der Aktivität der Alaninaminotransferase) charakterisiert. Bei Mäusen wurden außerdem reversible geringgradige histopathologische Veränderungen der proximalen Nierentubuli ohne Beeinträchtigung der Nierenfunktion sowie Veränderungen des Vormagens gesehen. Sämtliche Befunde waren während einer 28-tägigen Nachbeobachtungsperiode reversibel oder zeigten die Tendenz zur Reversibilität. Übereinstimmend ergab sich für Ratte und Maus bei subchronischer Applikation ein NOAEL von 0,1% 2-Ethylhexansäure im Futter (entsprechend 61 mg/kg KG und Tag für die männliche Ratte, 71 mg/kg KG und Tag für die weibliche Ratte, 180 mg/kg KG und Tag für die männliche Maus und 205 mg/kg KG und Tag für die weibliche Maus; Juberg et al. 1998).

2-Ethylhexansäure bewirkte sowohl in vitro als auch in vivo bei Ratte und Maus in der Leber eine Peroxisomenproliferation bzw. eine Aktivitätssteigerung der Markerenzyme einer Peroxisomenproliferation, der Cyanid-insensitiven Palmitoyl-CoA-Oxidase, Lauroyl-CoA-Oxidase und der Carnitin-Acetyl-Transferase. Das S-(+)-Enantiomer war dabei 1,6-fach wirksamer als das R-(-)-Isomer. Nach In-vitro-Studien mit Hepatozyten war eine Peroxisomenproliferation durch 2-Ethylhexansäure bei Meerschweinchen und Affe nicht festzustellen (vgl. Tabelle 8 im Anhang).

## **5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute**

### **5.3.1 Haut**

Vgl. Tabelle 5 im Anhang. Die Bewertung der Hautreizwirkung der 2-Ethylhexansäure an Kaninchen ist sehr divergierend und umfasst die Spanne von nicht reizend bis ätzend. Als ätzend an der Haut ist 2-Ethylhexansäure in einer gemäß der amerikanischen Transportrichtlinie (21 CFR § 191.11) durchgeführten Studie bewertet worden. Die Reversibilität der Befunde ist in dieser Studie nicht untersucht worden (Mellon Institute 1972 b). 2-Ethylhexansäure ist nach der EG-Richtlinie Nr. 83/467/EWG nicht reizend (Hoechst AG 1985 a), jedoch nach der aktuellen EG-Richtlinie Nr. 93/21/EWG als reizend an der Haut zu beurteilen, da 14 Tage nach der Applikation noch Reizerscheinungen bei 2 von 3 Kaninchen bestanden (BG Chemie 2000).

### **5.3.2 Auge**

Vgl. Tabelle 6 im Anhang. Am Kaninchenauge bewirkte 2-Ethylhexansäure starke Reizeffekte mit Hornhauttrübung, starker Rötung und Ödembildung, Iritis und Sekretabsonderungen. 2-Ethylhexansäure ist anhand einer gemäß der EG-Richtlinie Nr. 84/449/EWG durchgeführten und nach der EG-Richtlinie Nr. 83/467/EWG bewerteten Studie, in der sämtliche Befunde 7 Tage nach der Applikation reversibel gewesen sind, als nicht reizend am Auge beurteilt worden (Hoechst AG 1985 b). Als stark reizend am Auge ist 2-Ethylhexansäure in zwei Studien bewertet worden, in der die Befunde binnen der 6- bzw. 8-tägigen Nachbeobachtungszeit nicht reversibel gewesen sind (BASF AG 1953, 1967).

## **6 2-Ethylhexansäure**

### **5.4 Allergene Wirkung**

Hierzu liegen keine Angaben vor.

### **5.5 Reproduktionstoxizität**

#### **5.5.1 Fertilität**

In einer Trinkwasser-Fertilitätsstudie sind bei der Han:Wistar-Ratte in der für die Muttertiere leicht toxischen Dosis von 600 mg/kg KG tendenziell die Zeit bis zur Befruchtung verlängert und die Wurfgröße signifikant geringer gewesen. Die Untersuchung der Geschlechtsorgane der Elterntiere ergab keinen auffälligen Befund. Ab 300 mg/kg KG ist die Entwicklung der Jungtiere während der Laktation verlangsamt gewesen (Pennanen et al. 1993).

#### **5.5.2 Entwicklungstoxizität**

Vgl. Tabelle 7 im Anhang.

Bei der Fischer-344-Ratte hat 2-Ethylhexansäure bei oraler Applikation (Tag 6 bis 15) der nicht maternaltoxischen Dosis von 250 mg/kg KG per Schlundsonde in einer gemäß EPA-Richtlinien durchgeführten Teratogenitäts-/Embryotoxizitätsstudie fetotoxisch gewirkt indem die Ossifikation verzögert war. Teratogene Veränderungen sind bis zur maternaltoxischen Dosis von 500 mg/kg KG nicht festgestellt worden. 100 mg/kg KG waren ohne Befund (Hendrickx et al. 1993).

Im Widerspruch zu diesen Befunden stehen die Ergebnisse einer Studie an der Wistar-Ratte, in der 2-Ethylhexansäure als Positivkontrollsubstanz in einer Dosierung von 600 mg/kg KG von Tag 6 bis 15 p.c. per Schlundsonde verabreicht worden ist. Die Dosis hat Zeichen maternaler Toxizität, wie vorübergehende signifikante Verminderung der Nahrungsaufnahme, verminderte Körpergewichtsentwicklung und erhöhte relative Lebergewichte hervorgerufen. Außerdem hat 2-Ethylhexansäure fruchtschädigend gewirkt, was sich in einer signifikanten Reduktion der mittleren Fetengewichte, einer signifikanten Erhöhung der skelettalen Missbildungsrate (Adaktylie, Schwanzmissbildungen, Wirbelsäulenmissbildungen) und einer nicht signifikanten, aber substanzbedingten Erhöhung der viszeralen Missbildungsrate zeigte. Auch die Rate an skelettalen Variationen (akzessorische Wirbel, verkrümmter Hals, akzessorische 14. und gewellte Rippen) und an Feten mit verzögerter Skelettreifung ist signifikant erhöht gewesen (BASF AG 1997 b).

Diese Befunde haben die Ergebnisse einer Trinkwasser-Studie mit Applikation an den Tagen 6 bis 19 an der Han:Wistar-Ratte bestätigt, in der neben 600 mg/kg KG noch 300 und 100 mg/kg KG verabreicht wurden. 2-Ethylhexansäure hat keine klinischen Zeichen maternaler Toxizität hervorgerufen. Marginale maternaltoxische Effekte in Form einer Gewichtsreduzierung der Plazenta sind ab 300 mg/kg KG und in Form eines geringeren Körpergewichtes (11%) bei verminderter Trinkwasseraufnahme bei 600 mg/kg KG gesehen worden. Auf die Anzahl von Implantationen, Resorptionen und lebenden Feten hat die Exposition gegen 2-Ethylhexansäure keinen Effekt ausgeübt, während sie die Trächtigkeitsrate ab 300 mg/kg KG nicht signifikant reduziert hat. Der Anteil an Feten mit skelettalen oder viszeralen Missbildungen ist dosisabhängig mit

4,9; 8,9 und 15,3% pro Wurf im Vergleich zu 2,4% pro Wurf in der Kontrollgruppe angestiegen. Dabei ist die Summe der skelettalen Missbildungen statistisch signifikant ab 300 mg/kg KG vermehrt gewesen, wobei als Einzelmissbildung vor allem die Ausprägung eines Klumpfußes hervortrat, der spontan bei Ratten nicht auftritt. Folgende nicht statistisch signifikant erhöhte und bei mehr als nur einem Tier pro Dosisgruppe aufgetretene Missbildungen sind festgestellt worden: dosisunabhängig ab 100 mg/kg KG eine Skoliose, ab 300 mg/kg KG eine Unterentwicklung der Beine und bei 600 mg/kg KG anomaler Knöchelknorpel, Fehlen des Wadenbeins sowie zusätzliche Brustrippen. Als signifikant vermehrte viszerale Variationen traten in der unteren und mittleren Dosisgruppe eine Dilatation des Harntraktes sowie in der oberen Dosisgruppe eine Gehirnentrikeldilatation auf. Fetotoxische Effekte in Form von Skelettvariationen (v. a. gewellte Rippen) sind zum Teil dosisabhängig ab 100 mg/kg KG und reduzierte Fetengewichte ab 300 mg/kg KG festgestellt worden (Pennanen et al. 1992 b). Bei 100 mg/kg KG war somit eine, allerdings nicht signifikante, Erhöhung der Summe aller skelettalen Missbildungen festzustellen. Somit stellt diese Dosis einen NOAEL für teratogene Wirkung dar, während sie als LOAEL für Entwicklungstoxizität aufzufassen ist.

Bei Han:Wistar-Ratten ist nach einmaliger Applikation von 600 mg/kg KG per Schlundsonde am Gestationstag 6, nicht aber an den Tagen 5 und 7, eine Verminderung der Implantationen/Tier und eine Erhöhung der Inzidenz an Resorptionen beobachtet worden. In der Studie mit Trinkwasserapplikation (siehe 5.5.1) war die Resorptionsrate nicht erhöht. Dieser Unterschied ist von den Autoren mit den unterschiedlichen Plasmahöchstspiegeln bei kontinuierlicher Applikation mit dem Trinkwasser und einmaliger Applikation per Schlundsonde erklärt worden. Sie diskutieren, dass 2-Ethylhexansäure zwar potenziell embryotoxisch wirke, diese Embryotoxizität, ähnlich wie bei der strukturisomeren Valproinsäure, sich aber erst bei Überschreitung bestimmter, relativ hoch liegender Plasmakonzentrationen manifestiere. Da 2-Ethylhexansäure eine Plasmahalbwertszeit von nur ca. 3 Stunden hat (Pennanen und Manninen 1991; Studie mit intraperitonealer Verabreichung), würden bei gleicher Dosis/Tag nach einmaliger oraler Applikation per Schlundsonde voraussichtlich deutlich höhere Plasmaspiegel erreicht als bei kontinuierlicher Applikation mit dem Trinkwasser (Pennanen et al. 1993).

In der unter 5.5.1 beschriebenen Fertilitätsstudie an Wistar-Ratten wurden ab 300 mg/kg KG Schwanzmissbildungen bei den Jungtieren gefunden (Pennanen et al. 1993). Beim Neuseeland-Kaninchen sind bis zur obersten geprüften Dosis von 250 mg/kg KG (Schlundsonde, Tag 6–18) keine Befunde erhoben worden, die auf ein embryotoxisches, fetotoxisches oder teratogenes Potenzial der 2-Ethylhexansäure hindeuten würden. Ab 100 mg/kg KG starb jeweils ein Tier der beiden oberen Dosisgruppen und bei 250 mg/kg KG war die Gewichtszunahme der Muttertiere vermindert (Hendrickx et al. 1993).

### **Mechanistische Studien**

Die einmalige orale Applikation von ca. 1820 mg 2-Ethylhexansäure/kg KG per Schlundsonde am 12. Gestationstag bei der Wistar- (Ritter et al. 1987) und der Sprague-Dawley-Ratte (Scott et al. 1994) bewirkte teratogene Veränderungen der Extremitäten, des Schwanzes und des Herzens sowie Hydronephrose. Das Fetengewicht war

## 8 2-Ethylhexansäure

verringert. Da jedoch in den Publikationen zu diesen Studien sowohl genauere Angaben über maternaltoxische Effekte dieser im Vergleich zu den weiteren Studien an der Ratte sehr hohen Dosis als auch Aussagen zur statistischen Auswertung fehlen bzw. nicht eindeutig sind, können diese Studien zur Bewertung der reproduktionstoxischen Wirkung von 2-Ethylhexansäure nur eingeschränkt verwendet werden.

Bei der NMRI- und der SWV-Maus, nicht aber der C57BL/6NCrlBR-Maus, sind durch parenterale Applikation von Dosierungen 500 mg/kg KG (3- bzw. 4-mal im Abstand von 12 Stunden zwischen dem 7. bis 10. Gestationstag intraperitoneal bzw. in einer Studie s.c. appliziert) teratogene Veränderungen in Form einer Exenzephalie v. a. bei Beginn der Applikation vor Tag 9 induziert worden. Es zeigte sich, dass das S-(+)-Enantiomer nicht bzw. erst bei maternal-letalen Dosen teratogen wirkt, das R-(-)-Enantiomer stark teratogen wirkt und die teratogene Potenz des Racemates zwischen dem der beiden Enantiomeren liegt (Collins et al. 1992; Hauck et al. 1990). Die unterschiedliche teratogene Potenz ist nicht in einer unterschiedlichen Pharmakokinetik der beiden Enantiomere begründet (Collins et al. 1992). Die Autoren diskutierten als Ursache für die deutlichen Unterschiede der teratogenen Wirkung stereoselektive Wechselwirkungen der Enantiomere mit Proteinen (Enzyme, Rezeptoren) oder anderen chiralen Zellbestandteilen (Collins et al. 1992; Hauck et al. 1990; siehe Tabelle 7 im Anhang). Diese Studien hatten im Wesentlichen zum Ziel, die für die Auslösung der Exenzephalie kritische Gestationszeit sowie den empfindlichsten Mäusestamm zu bestimmen. Angaben zur maternalen Toxizität fehlen weitestgehend, und in der Studie von Collins et al. (1992) wurden nicht immer Kontrolltiere im Experiment mitgeführt. Da zudem die 2-Ethylhexansäure nur in hohen Dosen subkutan bzw. intraperitoneal appliziert wurde, sind die Studien zur Bewertung des teratogenen Potenz unter Arbeitsplatzbedingungen nicht geeignet. Die Stärke der von Collins et al. (1992) und Hauck et al. (1990) verwendeten Tiermodelle liegt jedoch darin, dass sie die im Menschen eindeutig dokumentierte Teratogenität der verwandten Verbindung Valproinsäure (Nau et al. 1991) gut abbilden.

Nach einer weiteren mechanistischen Studie an Ratten wurde gezeigt, dass 2-Ethylhexansäure in den Lebern der Muttertiere die Synthese des Zink-bindenden Proteins Metallothionein induziert, wodurch mehr Zink in den Lebern der Muttertiere fixiert und die Zink-Versorgung der Embryonen bzw. Feten beeinträchtigt wird. Die Gabe von 2-Ethylhexansäure führte bei adäquater Zink-Versorgung zu verringerten Fetengewichten und -größen, sowie zu erhöhter Missbildungsinzidenz (Bui et al. 1998; vergleiche Seite 42 bis 44 im Anhang).

In einer für die Bewertung relevanten Trinkwasserstudie an der Ratte (Penannen et al. 1992 b) wurden fetotoxische Effekte bereits ab 100 mg/kg KG und teratogene Wirkungen ab 300 mg/kg KG ohne ausgeprägte maternal-toxische Effekte gesehen, während in je einer Studie mit Schlundsondenapplikation an der Ratte und am Kaninchen keine Wirkungen bei ähnlichen Dosen auftraten. Hinsichtlich der Empfindlichkeit für diese Effekte gibt es deutliche Stammesunterschiede in einer Spezies. Die Uneinheitlichkeit der Datenlage ist plausibel, da selbst für das gut dokumentierte und mit 2-Ethylhexansäure chemisch verwandte humane Teratogen Valproinsäure erhebliche Unterschiede in der Auslösbarkeit teratogener Veränderungen in Mausmodellen (Faiella et al. 2000; Nau et al. 1991) bestehen. Bei der uneinheitlichen Datenlage kommt den Versuchen mit Mäusen (Collins et al. 1992; Hauck et al. 1990) eine besondere Bedeutung zu, in denen sich Neuralrohrdefekte ausprägen.



## 5.6 Genotoxizität

### 5.6.1 In vitro

2-Ethylhexansäure wirkte im Salmonella-Mutagenitätstest weder ohne noch mit metabolischer Aktivierung mutagen (Hoechst AG 1982; NTP 1985; Warren et al. 1982; Zeiger et al. 1988). Im Chromosomenaberrationstest an Ovarzellen des Chinesischen Hamsters zeigte sich ohne metabolische Aktivierung ein negativer und mit metabolischer Aktivierung ein schwach positiver Befund (NTP 1986, 1991). Im Schwester-Chromatid-Austausch-Test an Ovarzellen des Chinesischen Hamsters wirkte 2-Ethylhexansäure mit und ohne metabolische Aktivierung positiv (NTP 1986, 1991). In Humanlymphozyten induzierte 2-Ethylhexansäure ohne metabolische Aktivierung eine schwache Erhöhung der Schwester-Chromatid-Austauschrates (Sipi et al. 1992).

### 5.6.2 In vivo

Hierzu liegen keine Angaben vor.

2-Ethylhexanol, das quantitativ über 2-Ethylhexansäure metabolisiert wird, ist umfassend hinsichtlich genotoxischer Wirkungen in vitro im Salmonella-Mutagenitätstest, Maus-Lymphom-Test, HPRT-Test, DNA-Reparatur-Test, UDS-Test, Chromosomenaberrationstest sowie in vivo im Mikrokerntest und Dominant-Letal-Test untersucht worden. Die Prüfungen von 2-Ethylhexanol in diesen Testsystemen haben keine relevanten Hinweise auf ein genotoxisches Potenzial der Verbindung ergeben (Begründung „2-Ethylhexanol“ 2000). Bei gemeinsamer Betrachtung der für 2-Ethylhexansäure und 2-Ethylhexanol ermittelten Befunde zur genotoxischen Wirkung erscheint auch für 2-Ethylhexansäure eine genotoxische Wirkung wenig wahrscheinlich.

## 5.7 Kanzerogenität

Hierzu liegen keine Angaben vor.

Der metabolische Vorläufer 2-Ethylhexanol ist in keine Kanzerogenitäts-Kategorie eingestuft worden (Begründung „2-Ethylhexanol“ 2000).

Die Bewertung der Kanzerogenität von 2-Ethylhexanol lautet: „2-Ethylhexanol ist ein Peroxisomenproliferator und ein Metabolit von Diethylhexylphthalat, das im Tierversuch ebenfalls peroxisomenproliferierend wirkt und Lebertumoren verursacht, aber in keine Kanzerogenitäts-Kategorie eingestuft ist. Lebertumoren mit 2-Ethylhexanol traten nur bei weiblichen Mäusen auf, wobei die MTD überschritten war (750 mg/kg KG; verringerte Körpergewichtsentwicklung, Mortalität). Es ist unklar, ob es bei dieser Dosis zu einer Peroxisomenproliferation kam. Im Vergleich dazu führte eine 90-Tage-Studie mit Mäusen bei der höchsten getesteten Dosis von 500 mg 2-Ethylhexanol/kg KG nicht zu Peroxisomenproliferation. Dosierungen, die in einer 90-Tage-Studie an Ratten zu Peroxisomenproliferation führten, riefen in der 2-Jahresstudie keine Lebertumoren bei Ratten hervor. Dies bedeutet, dass die Peroxisomenproliferation als Erklärung der Lebertumoren nicht plausibel ist. Da der Stoff nicht genotoxisch ist und weil die MTD überschritten war, scheint eher die Lebertoxizität für die Tumorentstehung verantwortlich zu sein, sodass bei Einhaltung des MAK-Wertes, der vor Lebertoxizität schützt, Lebertumoren auszuschließen sind“.

### 6 Bewertung

2-Ethylhexansäure ist ein Peroxisomenproliferator und ein Metabolit von 2-Ethylhexanol, das im Tierversuch ebenfalls peroxisomenproliferierend wirkt. Zur Ableitung eines Grenzwertes für 2-Ethylhexansäure ist die Analogie zu 2-Ethylhexanol nicht heranziehbar, da im Vergleich zu 2-Ethylhexanol die Reizwirkung von 2-Ethylhexansäure wegen der Säurefunktion deutlicher als die des Alkohols sein wird. Eine Reizwirkung von 2-Ethylhexansäure ist auch durch die wenigen Erfahrungen am Arbeitsplatz belegt. Untersuchungen zur wiederholten inhalativen Exposition gegen 2-Ethylhexansäure liegen, im Gegensatz zu 2-Ethylhexanol, nicht vor, so dass die Aufstellung eines Grenzwertes nicht möglich ist und 2-Ethylhexansäure im Abschnitt II b der MAK- und BAT-Werte-Liste geführt wird.

Der systemische NOAEL nach subchronischer Applikation über das Futter liegt bei der Ratte bei 65 mg/kg KG, bei der Maus bei etwa 200 mg/kg KG.

Es liegen bei den insgesamt uneinheitlichen Befunden hinreichende Anhaltspunkte für eine fruchtschädigende Wirkung der 2-Ethylhexansäure in Dosen ohne ausgeprägte maternale Toxizität vor. Aus den vorliegenden Studien lässt sich kein NOAEL für Entwicklungstoxizität ableiten, da in einer Studie noch in der untersten geprüften Dosis von 100 mg/kg KG und Tag bei der Ratte fruchtschädigende Wirkungen auftraten. Auch ist die antiepileptische Therapie von Menschen mit der verwandten Verbindung 2-Propylpentansäure (Valproinsäure) im Dosisbereich von 20 mg Natriumvalproat/kg KG und Tag in Bezug auf Neuralrohrschlussdefekte nicht als NOAEL, sondern eventuell als LOAEL (2 bis 4% Fehlbildungen) anzusehen. Die diskutierten Mechanismen der Teratogenität, wie Hemmung von Histondeacetylasen und Induktion von Metallothionein, legen zwar nahe, dass ein NOAEL existiert, der jedoch unterhalb der bisher getesteten Dosen zu erwarten ist.

Der systemische NOAEL bei chronischer Aufnahme über das Futter ist 60 mg/kg KG für Ratten. Rechnet man den NOAEL auf den Menschen bei einstündiger dermalen Exposition (Resorptionsrate aus Versuch mit Ratten: 10% Resorption während 8 Stunden, für 1 Stunde somit ca. 2%) um, kann die für eine Stunde applizierte Menge  $60 \text{ mg/kg} / 0,02 \times 70 \text{ kg KG} = 210000 \text{ mg}$  (233 ml) betragen. Da dies eine relativ große Menge ist und bei Kontakt zur unverdünnten Flüssigkeit mit Hautschäden und Reizwirkungen zu rechnen ist, die einen längerfristigen Kontakt verhindern, wird derzeit von einer Markierung mit „H“ abgesehen.

Eine Markierung mit „S“ ist nicht notwendig, da aus dem industriellen Umgang mit 2-Ethylhexansäure keine Anhaltspunkte für eine sensibilisierende Wirkung vorliegen. Aus dem Informationsverbund Dermatologischer Kliniken liegen ebenfalls keine Anhaltspunkte dafür vor.

Aus den vorliegenden Untersuchungen zu 2-Ethylhexansäure und zu dem besser untersuchten 2-Ethylhexanol ergibt sich keine Notwendigkeit für die Einstufung als Keimzellmutagen.

### 7 Literatur

BASF AG (1967) Gewerbehygienisch-Pharmakologisches Institut – Bericht über die toxikologische Prüfung der  $\alpha$ -Aethylhexansäure, unveröffentlichter Bericht Nr. XVI 366

- BASF AG (1997 a) Schriftliche Mitteilung an die Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie vom 28.01.1997
- BASF AG (1997 b) LVT - Prenatal toxicity in Wistar rats after oral administration (gavage) unveröffentlichter Bericht, Project No. 30R0071/96006, Test Substance No. 96/71
- BG Chemie (Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie) (2000) TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNG Nr. 275 2-Ethylhexansäure, BG Chemie, Heidelberg (siehe Anhang)
- Bui LM, Taubeneck MW, Commisso JF, Uriu-Hare JY, Faber WD, Keen CL (1998) Altered zinc metabolism contributes to the developmental toxicity of 2-ethylhexanoic acid, 2-ethylhexanol and valproic acid. *Toxicology* 126: 9–21
- Collins MD, Scott WJ, Miller SJ, Evans DA, Nau H (1992) Murine teratology and pharmacokinetics of the enantiomers of sodium 2-ethylhexanoate. *Toxicol Appl Pharmacol* 112: 257–265
- Eastman Kodak Company (1966) Toxicity and health hazard summary, Chemical: 2-ethyl hexanoic acid, NTIS/OTS 0206606 und NTIS/OTS 512928
- Eastman Kodak Company (1982) Toxicity summary 2-ethylhexanoic acid NTIS/OTS 0206606 und NTIS/OTS 512928
- Eastman Kodak Company (1987 a) Two week oral (gavage) toxicity study of 2-ethylhexanoic acid in the rat, Bericht, EK Accession No. 904442, HAEL No 87-0023, im Auftrag der Chemical Manufacturers Association, NTIS/OTS 0525547
- Eastman Kodak Company (1987 b) Two week oral (gavage) toxicity study of 2-ethylhexanoic acid in the mouse, Bericht, EK Accession No. 904442, HAEL No 87-0023, im Auftrag der Chemical Manufacturers Association, NTIS/OTS 0525547
- Eastman Kodak Company (1987 c) Two week oral (dietary administration) toxicity study of 2-ethylhexanoic acid in the rat, Bericht, EK Accession No. 904442, HAEL No 87-0023, im Auftrag der Chemical Manufacturers Association, NTIS/OTS 0525547
- Eastman Kodak Company (1987 d) Two week oral (dietary administration) toxicity study of 2-ethylhexanoic acid in the mouse, Bericht, EK Accession No. 904442, HAEL No 87-0023, im Auftrag der Chemical Manufacturers Association, NTIS/OTS 0525547
- ECB (European Chemicals Bureau) (2000) IUCLID dataset 2-ethylhexanoic acid, ECB, Ispra, Italien
- English JC, Deisinger PJ, Guest D (1998) Metabolism of 2-ethylhexanoic acid administered orally or dermally to the female Fischer 344 rat. *Xenobiotica* 28: 699–714
- Faiella A, Wernig M, Consalez GG, Hostick U, Hofmann C, Hustert E, Boncinelli E, Balling R, Nadeau JH (2000) A mouse model for valproate teratogenicity: parental effects, homeotic transformations, and altered HOX expression. *Hum Mol Genet* 9: 227–236
- Göttlicher M, Minucci S, Zhu P, Krämer OH, Schimpf A, Giavara S, Lo Coco F, Nervi C, Pelicci PG, Heinzl T (2001) Valproic acid defines a novel class of HDAC inhibitors inducing differentiation of transformed cells. *EMBO J* 20: 6969–6978
- Hauck RS, Wegner C, Blumtritt P, Fuhrhop JH, Nau H (1990) Asymmetric synthesis and teratogenic activity of (R)- and (S)-2-ethylhexanoic acid, a metabolite of the plasticizer di-(2-ethylhexyl)phthalate. *Life Sci* 46: 513–518
- Hendrickx AG, Peterson PE, Tyl RW, Fisher LC, Fosnight LJ, Kubena MF, Vrbancic MA, Katz GV (1993) Assessment of the developmental toxicity of 2-ethylhexanoic acid in rats and rabbits. *Fundam Appl Toxicol* 20: 199–209
- Hoechst AG (1982) Study of the mutagenic potential of the compound 2-Ethylhexansäure in strains of *Salmonella typhimurium* (Ames test) and *Escherichia coli*, unveröffentlichter Bericht Nr 275/82
- Hoechst AG (1985 a) 2-Ethylhexansäure – Prüfung auf Hautreizung am Kaninchen, unveröffentlichter Bericht Nr. 85.0591
- Hoechst AG (1985 b) 2-Ethylhexansäure – Prüfung auf Hautreizung am Kaninchen, unveröffentlichter Bericht Nr. 85.0991
- Hoechst AG (1997) Schriftliche Mitteilung an die Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie vom 13.02.1997
- IVDK (Informationsverbund Dermatologischer Kliniken) (1997) Schriftliche Mitteilung an die Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie vom 07.01.1997
- Juberg DR, David RM, Katz GV, Bernard LG, Gordon DR, Vlaovic MS, Topping DC (1998) 2-Ethylhexanoic acid: subchronic oral toxicity studies in the rat and mouse. *Food Chem Toxicol* 36: 429–436

## 12 2-Ethylhexansäure

- Kröger S, Liesivuori J, Manninen A (1990) Evaluation of worker's exposure to 2-ethylhexanoic acid (2-EHA) in Finnish sawmills. *Int Arch Occup Environ Health* 62: 213–216
- Lampen A, Siehler S, Ellerbeck U, Göttlicher M, Nau H (1999) New molecular bioassays for the estimation of the teratogenic potency of valproic acid derivatives in vitro: activation of the peroxisomal proliferator-activated receptor (PPARdelta). *Toxicol Appl Pharmacol* 160: 238–249
- McLaughlin RS (1946) Chemical burns of the human cornea. *Am J Ophthalmol* 29: 1355–1362
- Mellon Institute (1943) Progress report for the month ended March 31, Report 6-33, NTIS/OTS 0512952 und NTIS/OTS 0206613
- Mellon Institute (1972 b) Miscellaneous toxicity studies. Results of Department of Transportation corrosive test (4-hour covered skin exposure). Report 35-67 im Auftrag der Union Carbide Corporation. NTIS/OTS 0512952 und NTIS/OTS 0206613
- Nau H, Hauck RS, Ehlers K (1991) Valproic acid-induced neural tube defects in mouse and human: aspects of chirality, alternative drug development, pharmacokinetics and possible mechanisms. *Pharmacol Toxicol* 69: 310–321
- NTP (National Toxicology Program) (1985) Annual plan for fiscal year 1985, NTP-85-055
- NTP (National Toxicology Program) (1986) Annual plan for fiscal year 1986, 79
- NTP (National Toxicology Program) (1991) Unpublished data
- Pennanen S, Manninen A (1991) Distribution of 2-ethylhexanoic acid in mice and rats after intraperitoneal injection. *Pharmacol Toxicol* 68: 57–59
- Pennanen S, Manninen A, Savolainen H (1990) Urinary arginine and ornithine in occupational exposure to 2-ethylhexanoic acid. *Arch Toxicol* 64: 426–427
- Pennanen S, Auriola S, Manninen A, Komulainen H (1991 a) Identification of the main metabolites of 2-ethylhexanoic acid in rat urine using gas chromatograph-mass spectrometry. *J Chromatogr* 568: 125–134
- Pennanen S, Tuovinen K, Huuskonen H, Komulainen H (1992 b) The developmental toxicity of 2-ethylhexanoic acid in Wistar rats. *Fundam Appl Toxicol* 19: 505–511
- Pennanen S, Tuovinen K, Huuskonen H, Kosma V-M, Komulainen H (1993) Effects of 2-ethylhexanoic acid on reproduction and postnatal development in Wistar rats. *Fundam Appl Toxicol* 21: 204–212
- Rettenmeier AW (1997) Schriftliche Mitteilung an die Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie vom 16.09.1997
- Ritter EJ, Scott WJ, Randall JL, Ritter JM (1987) Teratogenicity of di(2-ethylhexyl) phthalate, 2-ethylhexanol, 2-ethylhexanoic acid, and valproic acid, and potentiation by caffeine. *Teratology* 35: 41–46
- Scott WJ, Collins MD, Nau H (1994) Pharmacokinetic determinants of embryotoxicity in rats associated with organic acids. *Environ Health Perspect* 102: 97–101
- Sipi P, Järventaus H, Norppa H (1992) Sister-chromatid exchanges induced by vinyl esters and respective carboxylic acids in cultured human lymphocytes. *Mutat Res* 279: 75–82
- Smyth HF, Carpenter CP (1944) The place of the range finding test in the industrial toxicology laboratory. *J Ind Hyg Toxicol* 26: 269–273
- Warren JR, Lalwani ND, Reddy JK (1982) Phthalate esters as peroxisome proliferator carcinogens. *Environ Health Perspect* 45: 35–40
- Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K (1988) Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environ Mol Mutagen* 11, Suppl 12: 1–158

Anhang: TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNG Nr. 275 der BG Chemie (2000)

abgeschlossen am 28.02.2002