

Diethylentriaminpentakis- (methylenphosphonsäure) und ihre Salze

MAK-Wert	nicht festgelegt, vgl. Abschn. II b der MAK- und BAT-Werte-Liste
Spitzenbegrenzung	–
Hautresorption	–
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung	–
Fruchtschädigende Wirkung	–
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert	–
Synonyma	Diethylentriamin-N,N,N',N'',N''-penta- kis(methylenphosphonsäure) Diethylentriaminpentakis(methylen- phosphonsäure) Diethylentriaminpenta(methylenphos- phonsäure) Ethylentriaminpenta(methylenphos- phonsäure)
Chemische Bezeichnung	[[[(Phosphonomethyl)imino]bis[2,1- ethandiylnitrilobis(methylen)]]tetrakis- phosphonsäure
CAS-Nr.	Diethylentriaminpentakis(methylen- phosphonsäure) 15827-60-8 Natriumsalze, Zahl der Natriumionen x ¹⁾ 22042-96-2 1 94987-76-5 2 94987-75-4 3 95015-06-8 4 94987-77-6 5 61792-09-4 6 93841-74-8 7 68155-78-2 8 95183-54-3

¹⁾ Schließt alle Natriumsalze ein.

2 Diethylentriaminpentakis(methylenphosphonsäure) und ihre Salze

	9	93841-75-9
	10	93841-76-0
Formel	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{-PO}_3\text{H}_2 \\ \\ \text{N}((\text{CH}_2)_2\text{-N}(\text{CH}_2\text{-PO}_3\text{H}_2)_2)_2 \end{array}$ $\text{C}_9\text{H}_{28-x}\text{N}_3\text{O}_{15}\text{P}_5\text{Na}_x$ $x = 0-10$	
Molmasse	Säure: 573,20 g/mol Salze: 595,18–793,02 g/mol	
Schmelzpunkt	Säure: > 200 °C, geschätzt (OECD 2005) Salze: n. a.	
pH-Wert	Säure: < 2 Dinatriumsalz: 2–3 Heptanatriumsalz: 7–9 jeweils in 1%iger Lösung (OECD 2005)	
log K _{OW}	Säure: –3,4 (OECD 2005) Salze: n. a.	
Löslichkeit	in Wasser als Säure 500 g/l, bei pH 6–9 ≥ 500 g/l (OECD 2005)	
Stabilität	n. a.	
Herstellung	Säure: n. a. Salze: aus der Säure mit NaOH	
Reinheit	70–80% (OECD 2005)	
Verunreinigungen	Säure: je nach Probe und Hersteller: typisch bis 16% Komponenten mit 4 Methylenphosphonsäuregruppen, bis 2% andere Organophosphonate, bis 7% anorganische phosphorhaltige Säuren, bis zu 12,8% HCl (ACCPACP 2003 a; OECD 2005) Salze: bis 10% HCl (ACCPACP 2003 b), hier in neutralisierter Form als Chlorid, da der pH-Wert der Salze basisch ist	
Verwendung	Emulgator, Dispersens, Komplexbildner, Korrosionsschutz und Härtereregulator in Haushalts- und Industriereinigern, Kühlschmierstoffen, wasserbasierten Verfahren und in der Wasserbehandlung, Stabilisator für Peroxide, Hilfsstoff in der Erdölförderung (OECD 2005)	

Diese Begründung stützt sich auf die Datenzusammenstellung der OECD zu „Phosphonic Acid Compounds Group 3“ (OECD 2005) und den IUCLID-Datensatz zu Diethylentriaminpentakis(methylenphosphonsäure) (DTPMP) (AACPAC 2003 a) und den zu den Natriumsalzen der DTPMP, der neben den Daten von Salzen mit unbestimmter Anzahl Natriumionen (CAS-Nr. 22042-96-2) Daten des Octanatriumsalzes (CAS-Nr. 95183-54-3) und des Heptanatriumsalzes (CAS-Nr. 68155-78-2) enthält (AACPAC 2003 b).

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Bei Anwendung im wässrigen Milieu ist mit vollständiger Dissoziation der Salze der DTPMP zu rechnen. Mit Ausnahme pH-abhängiger Endpunkte kann daher von gleichartiger Wirkung der Säure und der Salze ausgegangen werden. Orale und dermale Resorption sind sehr gering. Salze der DTPMP werden bei oraler Aufnahme fast vollständig mit den Faeces ausgeschieden. Die akute Toxizität von DTPMP und deren Salzen ist gering. Bei längerer Exposition treten Effekte auf den Eisenstoffwechsel auf, die zu Anämie und Milzveränderung führen. Es kommt zu Störungen der Magnesium-, Calcium- und Phosphathomöostase sowie zu unspezifischen Befunden an der Leber. Salze und Säure reizen die Haut nur gering. Am Auge ist die Säure stark reizend, die Salze sind leicht reizend. Mit Sensibilisierung der Haut ist nicht zu rechnen. Bis zur höchsten getesteten Dosis von ca. 300 mg DTPMP/kg KG und Tag ist die Fertilität von Ratten nicht beeinträchtigt. Entwicklungstoxizität in Form von Wirbelanomalien wird bei Ratten ab maternaltoxischen Dosen von 2000 mg DTPMP-Salz/kg KG und Tag beobachtet.

Säure und Salze sind nicht mutagen in mehreren bakteriellen Mutagenitätstests, die Säure ist nicht klastogen im Chromosomenaberrationstest am Knochenmark der Ratte. Dagegen haben Tests an Maus-Lymphomzellen positive Resultate mit der neutralisierten und nicht neutralisierten Säure mit metabolischer Aktivierung, nicht aber mit einem neutralen Salz mit unbestimmter Anzahl an Natriumionen erbracht. Eine Kanzerogenitätsstudie liefert keinen positiven Befund.

2 Wirkungsmechanismus

DTPMP ist ein potenter Komplexbildner. Die im Tierversuch beobachtete Anämie ist vermutlich auf einen Mangel an verfügbarem Eisen zurückzuführen. Auch Störungen der Calcium- und Magnesiumhomöostase werden bei hohen Dosierungen beobachtet. Die \log_{10} der Stabilitätskonstanten der Komplexe von Metallionen mit DTPMP betragen: Hg 22,6; Cu 19,5; Zn 19,1; Ni 19; Co 17,3; Cd 9,7; Pb 8,6; Ca 6,7; Mg 6,6 (OECD 2005).

4 Diethylentriaminpentakis(methylenphosphonsäure) und ihre Salze

3 Toxikokinetik und Metabolismus

3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

Säure

Für die freie Säure liegen keine Daten vor. Da der $\log K_{OW} - 3,4$ beträgt, ergeben sich mit den Modellrechnungen zur dermalen Penetration sehr diskrepante Aufnahmezeiten von $2,3 \times 10^{-7}$ (Guy und Potts 1993) und $6,3 \times 10^{-4}$ mg/cm² und Stunde (Wilschut et al. 1995). Insgesamt deutet dies jedoch darauf hin, dass die dermale Resorption der Säure ähnlich wie die der Salze (s. u.) vernachlässigbar gering ist.

Salze

Eine Untersuchung zur oralen und dermalen Resorption wurde mit ¹⁴C-DTPMP durchgeführt, das mit Natrium „neutralisiert“ war. Ratten erhielten 10 mg/kg KG der Substanz p. o. und schieden bis 72 Stunden nach der Substanzgabe 98% über den Stuhl aus, 1,3% im Urin und 0,4% als CO₂ mit der Atemluft. In einer Studie mit 72-stündiger dermalen Applikation fand man 89% der applizierten Dosis von 0,6 mg/kg KG auf der Rattenhaut, <2% im Urin, <1,5% im Restkörper und <0,01% im Stuhl (k. w. A.) (OECD 2005). Salze der DTPMP werden somit oral und dermal kaum resorbiert und bei oraler Gabe fast vollständig mit den Faeces ausgeschieden.

In einem Versuch mit dem ¹⁴C-markierten Natriumsalz der Aminotrismethylenphosphonsäure betrug der dermale Flux bei Ratten in vivo 0,0016 mg/cm² pro 24 Stunden, also $6,7 \times 10^{-5}$ mg/cm² und Stunde (HERA 2004). Für DTPMP-Salze wird aufgrund der ähnlichen Struktur und Größe eine ähnlich geringe dermale Penetrationsrate erwartet. DTPMP wird im Knochen angereichert, was in der Medizin zur Anwendung in der Knochenszintigrafie genutzt wird (Laznicek et al. 1996).

3.2 Metabolismus

Hierzu liegen keine Daten vor.

4 Erfahrungen beim Menschen

Hierzu liegen keine Daten vor.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

5.1.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.1.2 Orale Aufnahme

Säure

Die LD₅₀ der DTPMP bei Applikation als 58%ige Lösung bei Ratten war 4164 mg/kg KG. Bei den verendeten Tieren war das Gastrointestinalum entzündet und die Leber leicht verfärbt (k. w. A.) (OECD 2005).

Salze

Für das Heptanatriumsalz der DTPMP liegen drei Studien vor. In einer ersten Untersuchung an Ratten blieben 5838 mg Salz/kg KG, 42%ig in Wasser, ohne letalen Effekt. In einer nachfolgenden Einzeldosisstudie mit 8757 mg Salz/kg KG verendeten 9 von 10 Ratten innerhalb 48 Stunden. Symptome waren reduzierte Atmung, Diarrhoe, Ataxie und Krämpfe. Demnach liegt hier die LD₅₀ zwischen 5838 und 8758 mg/kg KG. In einer weiteren Studie mit einer 33%igen wässrigen Lösung trat bei der maximal verabreichten Dosis von 1650 mg Salz/kg KG bis zu 14 Tage nach Applikation keine Letalität auf. Diese Studie trägt somit nicht zur Findung der LD₅₀ bei (OECD 2005).

In einem Test mit einer 26%igen Lösung des Octanatriumsalzes der DTPMP und anderen Komponenten, die zusammen 43% „aktives Salz“ ergaben (10% HCl, je 3% H₃PO₃ und HOCH₂PO₃H₂ und 1% H₃PO₄, jeweils als Natriumsalze, 57% Wasser, der pH-Wert der Testsubstanz als 1%ige Lösung war 10,9) per Schlundsonde an Sprague-Dawley-Ratten trat bis zur höchsten applizierten Dosis von 3870 mg/kg KG „aktivem Salz“ keine Letalität ein. Die Nachbeobachtungszeit wurde nicht angegeben. Also liegt auch hier die LD₅₀ oberhalb von 3870 mg/kg KG, bezogen auf Octanatriumsalz über 2340 mg/kg KG (ACCPACP 2003 b; OECD 2005).

5.1.3 Dermale Aufnahme

Säure

DTPMP als 58%ige Lösung verursachte nach 24-stündiger okklusiver Applikation an Kaninchen bis zur maximal verabreichten Dosis von 4605 mg/kg KG keine Letalität innerhalb von 14 Tagen, womit die LD₅₀ über 4605 mg/kg KG liegt (k. w. A.) (OECD 2005).

Salze

Das Heptanatriumsalz der DTPMP löste in einer Studie an Ratten nach OECD-Prüfrichtlinie 402 bis 5838 mg/kg KG (10 ml/kg KG, 42%ig incl. Verunreinigungen, okklusiv, 24 Stunden) keine Letalität und keine signifikanten toxischen Effekte aus. Die dermale LD₅₀ liegt daher höher als 5838 mg Heptanatriumsalz/kg KG. In einer anderen Studie mit 24-stündiger okklusiver Applikation einer 33%igen Formulierung trat bei 2145 mg Heptanatriumsalz/kg KG keine Letalität innerhalb von 14 Tagen auf (ACCPACP 2003 b; OECD 2005).

Eine 26%ige wässrige Lösung des Octanatriumsalzes von DTPMP (10% HCl, je 3% H₃PO₃ und HOCH₂PO₃H₂ und 1% H₃PO₄, jeweils als Natriumsalze, 57% Wasser, der pH-Wert der Testsubstanz als 1%ige Lösung war 10,9) wurde in einer Dosierung von 2000 mg/kg KG an Kaninchen getestet (k. w. A.). Die damit applizierten 520 mg Octa-

6 Diethylentriaminpentakis(methylenphosphonsäure) und ihre Salze

natriumsalz/kg KG lösten Erythem am Applikationsort aus, aber keine Letalität. Die Nachbeobachtungsdauer wurde nicht berichtet. Somit lag hier die LD₅₀ über 520 mg Octanatriumsalz/kg KG (k. w. A.) (ACCPACP 2003 b; OECD 2005).

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

5.2.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.2.2 Orale Aufnahme

Säure

Hierzu liegen keine Daten vor.

Salze

In einer 90-Tage-Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 408 erhielten je 12 männliche und weibliche Wistar-Ratten Futter mit einem Natriumsalz von DTPMP (CAS No: 22042-96-2) in wässriger Lösung in Konzentrationen von 0, 100, 1000 oder 10000 mg/kg. Dies entsprach 8, 83 und 842 mg DTPMP-Salz/kg KG und Tag (♂) bzw. 9, 92 und 902 mg/kg KG und Tag (♀). Effekte auf Mortalität, Körpergewicht oder Pathomorphologie wurden nicht gesehen. Behandlungsbedingte Befunde gab es nur in den Hochdosisgruppen: Bei den männlichen Tieren war das absolute Lebergewicht gering, aber signifikant vermindert. Bei beiden Geschlechtern waren die Erythrozytenzahl signifikant erhöht sowie das mittlere korpuskuläre Hämoglobin und Volumen der Erythrozyten erniedrigt (Hämoglobin nicht mitgeteilt). In der Milz waren die Eisenkomplexe und die altersentsprechende Pigmentierung verringert. Die Eisenkonzentration im Serum war bei den weiblichen Tieren abgefallen, bei den männlichen Tieren die Eisenbindungskapazität im Serum gestiegen. Die Knochendichte insgesamt und die der Trabekel war bei beiden Geschlechtern verstärkt. Einziger Effekt, der unterhalb der Höchstdosis auftrat, war die reduzierte Inzidenz von Mikrolithiasis (Mikrosteinbildung) in den Nieren der weiblichen Tiere bei allen Dosen. Der Calcium-Plasmaspiegel blieb immer unverändert. Die Autoren erklärten den Einfluss auf Hämoglobin- und Knochenstoffwechsel mit der Fähigkeit der DTPMP, mit Calcium und Eisen Chelate zu bilden. Der NOAEL betrug 83 mg/kg KG und Tag (OECD 2005).

In einer älteren 90-Tage-Studie (kompatibel mit OECD Prüfrichtlinie 408) erhielten Sprague-Dawley-Ratten eine Nahrung mit neutralisierter DTPMP (50%ige Lösung) in Konzentrationen von 100, 10000 oder 10000 mg Salz/kg, entsprechend 4, 45 und 511 mg/kg KG und Tag (♂) bzw. 6, 57 und 656 mg/kg KG und Tag (♀). Körper- und Lebergewicht der männlichen Tiere waren in den beiden oberen Dosisgruppen reduziert (k. w. A.). Einziger weiterer Befund bei der mittleren Dosis war das verminderte Hämosiderin in der Milz beider Geschlechter. Die Anämie bei beiden Geschlechtern der Hochdosisgruppe bestand in reduziertem Hämoglobin, Hämatokrit, verringerter Erythrozytenzellzahl sowie geringerer Eisenkonzentration im Plasma. Dazu waren Herzgewicht und Hämosiderin in der Milz erniedrigt. Bei 4 mg/kg KG und Tag war bei den männlichen Tieren das Gewicht der Leber reduziert ohne histopathologische Auf-

fälligkeit. Die Autoren führen die Effekte auf Chelierung von Eisen im Serum zurück. Sie waren in 60 Tagen reversibel. Der NOAEL aus dieser Studie beträgt ca. 50 mg/kg KG und Tag. Die Studie lag auch für die Datenzusammenstellung der OECD nur als Sekundärzitat vor (OECD 2005).

In einer Ein-Jahres-Fütterungsstudie mit F344-Ratten nach OECD-Prüfrichtlinie 452 wurde ebenfalls eine „neutralisierte“ Lösung von DTPMP verwendet. Hier war das Hämosiderin in der Milz ab 100 mg/kg KG und Tag vermindert und bei 500 mg/kg KG und Tag Hämoglobin, Hämatokrit sowie die Eisen- und Magnesiumkonzentration im Plasma. Dazu fanden sich nicht weiter spezifizierte Änderungen in der Histopathologie der Leber. Das Gewicht von Leber und Milz war vermindert. Effekte am Knochen wurden nicht berichtet. Der NOAEL war 100 mg/kg KG und Tag. Die Studie lag auch für die Datenzusammenstellung der OECD nur als Sekundärzitat vor (ACCPACP 2003 b; OECD 2005).

Eine Zwei-Jahre-Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 451 lag der OECD ebenfalls nur als Sekundärzitat vor: Je 50 männliche und weibliche F344-Ratten erhielten per Schlundsonde 4, 20 oder 100 mg DTPMP-Salz/kg KG und Tag. Ab 4 mg/kg KG und Tag war bei den männlichen Tieren das Milzgewicht und bei den weiblichen Tieren der Phosphatgehalt im Knochen verringert. Bei 4 mg/kg KG und Tag waren die Konzentrationen von Eisen im Plasma und von Magnesium im Knochen der männlichen Tiere vermindert, während letztere bei den weiblichen Tieren erhöht war. Bei 20 und 100 mg/kg KG und Tag kamen Änderungen der Konzentrationen von Globulinen, Phosphor und Magnesium im Plasma, Abfall des Eisengehalts und der Eisenbindungskapazität des Plasmas sowie des Hämosiderins in der Milz dazu. Zu erwartende Effekte auf Knochenmineralisation, Knochenauf- und -abbau blieben aus (ACCPACP 2003 b; OECD 2005). Ein NOAEL wurde in OECD (2005) nicht angegeben. Effekte traten zum Teil gegenläufig oder nur bei einem Geschlecht auf, daher ist die Adversität der Befunde unklar.

5.2.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

5.3.1 Haut

Säure

An der Haut von Kaninchen wurden 0,5 ml einer 50%igen wässrigen Lösung entsprechend 350 mg der Säure 4 Stunden lang okklusiv getestet. Die Testlösung enthielt 12,8% HCl. Es trat nur sehr leichtes Erythem und Ödem auf. Die Substanz wurde als leicht irritierend angesehen. Die Studie hatte nur geringe Abweichungen von der OECD-Prüfrichtlinie 404, die als nicht entscheidend für das Ergebnis angesehen wurden (OECD 2005).

In einer älteren Untersuchung war eine Formulierung mit 58% DTPMP (entsprechend 412 mg DTPMP, mit maximal 56,8 mg HCl) bei 24-stündiger okklusiver Applikation ebenfalls leicht irritierend an der Kaninchenhaut (ACCPACP 2003 a; OECD 2005).

8 Diethylentriaminpentakis(methylenphosphonsäure) und ihre Salze

In einer nachfolgenden Studie wurde eine 50%ige Lösung (426 mg DTPMP mit 10% HCl) 24 Stunden an intakter und abradiierter Haut getestet (n. a. ob okklusiv). Nur nach 24 nicht aber nach 4 Stunden war leichtes Erythem zu sehen. Die Testsubstanz wurde als leicht reizend gewertet (ACCPACP 2003 a; OECD 2005).

Salze

Sechs Kaninchen wurden 4 Stunden lang okklusiv mit 0,5 ml einer Formulierung mit 42% DTPMP-Heptanatriumsalz, entsprechend 292 mg Salz, behandelt. Die Studie war konform zur OECD-Prüfrichtlinie 404 von 1981. Die Formulierung löste 1, 24, 48 und 72 Stunden p. a. keine Hauterscheinungen aus. Dieses Salz ist somit nicht hautreizend. Bei einer längeren Einwirkungsdauer von 24 Stunden (daher nicht konform zur OECD-Prüfrichtlinie 404) war 0,5 ml einer 33%igen wässrigen Lösung des Heptanatriumsalzes (entsprechend 215 mg Salz) im semiokklusiven Test an intakter und skarifizierter Kaninchenhaut leicht reizend. Befundet wurde nur 0 und 48 Stunden nach Ende der Exposition. Nur zum Zeitpunkt 0 fand sich sehr leichtes Erythem, auf der skarifizierten Haut auch Ödem. Der primäre Hautreizindex betrug 0,4 von maximal 8, der Wert nur für intakte Haut war 0,25 (ACCPACP 2003 b; OECD 2005).

Bei 24-stündiger Testung einer Formulierung mit 26% Octanatriumsalz (entsprechend 300 mg appliziertes Salz, pH-Wert 10,9 als 1%ige Lösung) an intakter und skarifizierter Haut trat sehr leichtes Erythem an der skarifizierten Haut bei 4/6 Kaninchen und einem der intakten Areale auf. Der primäre Hautreizindex betrug 0,25 von maximal 8, der Wert nur für intakte Haut war 0,08 (ACCPACP 2003 b; OECD 2005). Dieses Salz ist somit nicht hautreizend.

5.3.2 Auge

Säure

In einem Irritationstest enthielt die Testdosis von 0,1 ml einer 58%igen Lösung 82 mg aktive Säure. 24 Stunden Kontaktzeit im Tränensack von Kaninchen führte zu mäßigem Erythem, mäßiger Sekretion, leichtem Ödem und Restitutio ad integrum innerhalb 7 Tagen (OECD 2005). Der pH-Wert ist nicht angegeben. Laut ACCPACP (2003 a) ist die Menge an enthaltener HCl in der Testsubstanz nicht eindeutig nachvollziehbar, sie könnte entweder 8% oder „unbedeutend“ gewesen sein.

In einer nachfolgenden Studie nach ähnlichem Protokoll wurde wiederum 0,1 ml einer wässrigen Lösung verwandt, die 85,2 mg aktiver Säure einschließlich 11,4–14,2 mg HCl enthielt. Hier waren die Effekte gravierender mit starkem Initialschmerz, wolki-ger Trübung der Cornea, abgeschwächter Reaktion auf Licht, Nekrose im Konjunktivalsack und leichter Nekrose der unteren Cornea. Wenn die Testsubstanz nach einer Minute ausgespült wurde, waren die Befunde ähnlich (OECD 2005). Der pH-Wert ist nicht angegeben.

Unterschiede im HCl-Gehalt und damit im pH-Wert könnten für die unterschiedlichen Ergebnisse beider Studien verantwortlich sein, insgesamt ist aber DTPMP als reizend am Auge anzusehen (OECD 2005).

Salze

In einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 405 war 0,1 ml einer 42%igen Formulierung mit 58 mg Heptanatriumsalz (einschließlich Verunreinigungen) leicht reizend am Kaninchenauge. Die Reizwerte betrugen nach einer Stunde: Iris 1 von max. 2 bei 1/3 Tieren, konjunktivale Rötung 2 von max. 3 bei 2/3 und 1 bei 1/3, konjunktivale Chemosis 2 von max. 4 bei 1/3 und 1 bei 2/3 Tieren. Die Reizung bildete sich innerhalb 24 Stunden zurück. Nach Ansicht der Autoren war die Substanz nicht, nach der der OECD leicht irritierend (ACCPACP 2003 b; OECD 2005).

Ähnliche Effekte zeigte eine weitere Studie mit 43 mg des Heptanatriumsalzes (einschließlich Verunreinigungen) in 0,1 ml Wasser. Bei allen 6 Kaninchen bestand jedoch noch Rötung und Ödem der Konjunktiven nach 24 Stunden; 2 Tage p. a. waren die Tiere dagegen symptomfrei (ACCPACP 2003 b; OECD 2005).

„Leicht irritierend“ am Kaninchenauge war das Ergebnis einer knapp berichteten Studie mit 0,1 ml einer Formulierung, darunter 26% entsprechend 56 mg Octanatriumsalz der DTPMP. Verunreinigungen waren 10% HCl, je 3% H_3PO_3 und $\text{HOCH}_2\text{PO}_3\text{H}_2$ und 1% H_3PO_4 , jeweils als Natriumsalze, der Rest war Wasser. Der pH-Wert der Testsubstanz als 1%ige Lösung war laut Datenblatt 10,9. Die Befunde sind nur als Reizwerte mitgeteilt und bestanden an den Konjunktiven bei einem Tier noch bis 72 Stunden p. a. (ACCPACP 2003 b; OECD 2005).

Die Salze waren somit leicht reizend am Auge, während die Säure stärker reizend war. Unterschiede in der Reizwirkung am Auge von Säure und Salz sind vermutlich durch den unterschiedlichen pH-Wert zu erklären.

5.4 Allergene Wirkung

Es existieren Sensibilisierungstests am Meerschweinchen, die aber nicht einer speziellen Substanz der Gruppe zugeordnet werden können, da die Studienberichte nicht im Original vorliegen. Demnach war entweder die Säure oder eines ihrer Salze nicht sensibilisierend im Buehler-Test nach OECD-Prüfrichtlinie 406 (Konzentration in beiden Phasen, Induktion und Provokation, 5%) oder im Meerschweinchen-Maximierungstest nach OECD-Prüfrichtlinie 406. Hierbei war die Induktionskonzentration intradermal 1%, dermal 10%, die Provokationskonzentration 2,5% (ACCPACP 2003 a, b; OECD 2005).

5.5 Reproduktionstoxizität**5.5.1 Fertilität****Säure**

In einer Fertilitätsstudie erhielten je 20 männliche und weibliche Long-Evans-Ratten DTPMP in Konzentrationen von 0, 300, 1000 oder 3000 mg/kg Futter. Die Behandlung begann für die F_0 -Elterntiere mit der Verpaarung. Die F_1 -Tiere wurden ab dem Absetzen bis zum Postnataltag 21 der F_{2b} -Generation exponiert, so dass nur die F_1 -Tiere ausreichend lang exponiert wurden, um Effekte auf die männliche Fertilität feststellen zu können. In der hohen Dosisgruppe hatten die F_0 -Muttertiere Würfe mit 21% weniger

10 Diethylentriaminpentakis(methylenphosphonsäure) und ihre Salze

lebenden Feten mit einem um 3% geringeren Geburtsgewicht, beides nicht signifikant. Widersprüchliche Befunde wurden bei den F_{2a}- und F_{2b}-Generationen erhalten. So war das Geburtsgewicht der Nachkommen in der F_{2a}-Generation signifikant um 6,5% vermindert, die Trächtigkeitsrate der Muttertiere nicht signifikant um 17% reduziert. Das Gewicht der Nachkommen entwickelte sich jedoch nach der Geburt normal. In den Würfen F_{2b} war dagegen die Trächtigkeitsrate der Muttertiere nicht beeinträchtigt, das Geburtsgewicht der Feten nur um 2% nicht signifikant erniedrigt. Aufgrund der widersprüchlichen Befunde wurden diese in OECD (2005) als von fraglicher toxikologischer Bedeutung bewertet. Der NOAEL für die Beeinträchtigung der Fertilität aus dieser Studie wird mit 3000 mg/kg Futter, entsprechend 294 mg/kg KG und Tag für männliche Tiere und 312 mg/kg KG und Tag für weibliche Tiere, angegeben (ACCPACP 2003 a; OECD 2005).

Salze

In der oralen 90-Tagestudie nach OECD-Prüfrichtlinie 408 (s. Abschnitt 5.2.2) wurden auch Ovar, Eileiter, Cervix, Uterus, Testes, Epididymis und Samenbläschen untersucht. Bis zu Dosen von 842 mg/kg KG und Tag bei männlichen Tieren und 903 mg/kg KG und Tag bei weiblichen Tieren lagen keine behandlungsbedingten histologischen Veränderungen vor (OECD 2005).

5.5.2 Entwicklungstoxizität

Säure

Aus der unter 5.5.1 angeführten Studie wurde ein NOAEL von 1000 mg/kg Futter (entsprechend 100 mg/kg KG und Tag) für postnatale Entwicklungstoxizität angegeben (OECD 2005). Diese Aussage bezieht sich auf die in der hohen Dosisgruppe (3000 mg/kg Futter, entsprechend ca. 300 mg/kg KG und Tag) um 3% (F₁), 6% (F_{2a}) und 2% (F_{2b}) verringerten Geburtsgewichte der Nachkommen und die leicht verringerte Zahl lebender Nachkommen (F₁).

Salze

Gruppen von jeweils 25 Sprague-Dawley-Ratten wurde ein neutrales DTPMP-Salz vom 6. bis 19. Gestationstag in Dosierungen von 0, 500, 1000 oder 2000 mg/kg KG und Tag per Schlundsonde verabreicht, und die Tiere wurden am 20. Gestationstag untersucht. Nach Gabe von 2000 mg/kg KG und Tag trat Maternaltoxizität in Form 32%iger signifikant reduzierter Körpergewichtszunahme auf. Der Anteil an Feten pro Wurf mit skelettalen Anomalien betrug für die Kontrolle und die drei Expositionsgruppen 0; 5,9; 4,8 und 15,9% und war nach den vorliegenden Angaben auch bei der hohen Dosisgruppe nicht signifikant, wobei historische Kontrolldaten nicht angegeben sind. In der hohen Dosisgruppe handelte es sich um drei von 109 Feten, davon zwei mit Wirbelanomalien und einer mit Verschmelzung von Rippen. Bei 1000 mg/kg KG und Tag wurde bei einem von 124 Feten eine Wirbelanomalie beobachtet. Die Autoren der Studie hielten diese Skeletteffekte für behandlungsbedingt (ACCPACP 2003 b). Feten mit subkutanen Hämatomen traten in allen Gruppen auf, die Inzidenz war jedoch nur bei 500 mg/kg KG und Tag signifikant erhöht. Aufgrund der fehlenden Dosisabhängigkeit ist dieser Befund nicht bewertungsrelevant. Die Zahlen der Corpora lutea,

Resorptionen, Postimplantationsverluste und der lebenden Feten waren jeweils nicht verändert. Das Auftreten der Skelettanomalien wurde wegen der geringen nicht signifikant erhöhten Inzidenz als von unklarer toxikologischer Relevanz beurteilt, besonders bei 1000 mg/kg KG und Tag. Nach OECD (2005) liegt der NOAEL für Maternal- und Entwicklungstoxizität bei 1000 mg/kg KG und Tag (OECD 2005).

5.6 Genotoxizität

5.6.1 In vitro

Bakterien

Säure

In einem Platteninkorporationstest nach OECD-Prüfrichtlinie 471 an den Salmonella-typhimurium-Stämmen TA98, TA100, TA1535 und TA1537 wurde eine 50%ige wässrige Lösung von DTPMP bis über die Toxizitätsschwelle von 10 µl/Platte mit S9-Mix und 0,3 µl/Platte ohne S9-Mix getestet. Es kam zu keiner mutagenen Wirkung (OECD 2005).

Ein zweiter Test mit der gleichen Testsubstanz und Anwendung von Dosen bis 10 µl/Platte (toxisch ab 1 µl/Platte ohne S9-Mix und bei einigen Stämmen mit S9-Mix) an den gleichen Stämmen verlief ebenfalls mit negativem Ergebnis (OECD 2005).

Salze

Im Salmonella-Mutagenitätstest mit Präinkubation nach OECD-Prüfrichtlinie 471 an den Salmonella-typhimurium-Stämmen TA98, TA100, TA1537 und TA1535 und am Escherichia-coli-Stamm WP2 uvr waren Natriumsalze der DTPMP bis 5000 µg/Platte in An- und Abwesenheit von S9-Mix nicht mutagen. Ohne S9-Mix waren Dosen ab 1250 µg/Platte toxisch (ACCPACP 2003 b; OECD 2005).

Säugetierzellen

Säure

Es liegen drei TK^{+/-}-Tests an Maus-Lymphomzellen L5178Y vor. Der erste wurde in Anlehnung an die spätere OECD-Prüfrichtlinie 476 von 1984 mit einer 50%igen wässrigen Lösung von DTPMP durchgeführt. Testkonzentrationen waren 70–1400 µg aktive Säure/ml ohne S9-Mix und 35–1050 µg aktive Säure/ml mit S9-Mix. Die Spitzenkonzentrationen verursachten ein relatives Überleben unter 50%. Die Mutationshäufigkeit stieg in An- und Abwesenheit von S9-Mix dosisabhängig und reproduzierbar mehr als zweifach an. Die niedrigste wirksame Konzentration in Anwesenheit von S9-Mix war 420 µg/ml, entsprechend 0,73 mM (relatives Überleben 75%). Um zu klären, ob der Effekt pH-Wert-bedingt war, wurde ein zweiter Test mit neutralisierter Testsubstanz angesetzt. In Anwesenheit von S9-Mix verlief der Test wiederum positiv (ACCPACP 2003 a; OECD 2005).

Weitere Studien belegten, dass der Befund nicht durch die Selektion präexistenter Mutanten positiv war. In diesem Experiment erhielt man wiederum in Anwesenheit von S9-Mix positive Ergebnisse bei der Expression am zweiten Tag, nicht jedoch am

12 Diethylentriaminpentakis(methylenphosphonsäure) und ihre Salze

Tag des Inkubationsbeginns und am 6. Tag. In Abwesenheit von S9-Mix stieg die Zahl der Mutationen zwar dosisabhängig höher an als die der Lösemittelkontrollen, aber nicht signifikant (OECD 2005).

Das positive Ergebnis stützt eine weitere Studie mit neutralisierter Säure, mit der die Stabilität der induzierten Mutanten belegt wurde (OECD 2005).

Die oben genannten Studien wurden alle vor Veröffentlichung der OECD-Prüfrichtlinie 476 aus dem Jahr 1984 durchgeführt. In den Studien wurden die Kolonien automatisch und nicht nach Größe getrennt ausgewertet. Eine Differenzierung nach Kolonigröße wurde erst in der überarbeiteten Prüfrichtlinie von 1997 gefordert.

Im HPRT-Test an CHO-Zellen induzierte die 19,7%ige Säure in An- und Abwesenheit von S9-Mix keine Genmutation am HPRT-Locus. Die höchste Konzentration von 8000 µg/ml war höher als für diesen Test nach OECD-Prüfrichtlinie 476 erforderlich und auch zytotoxisch (relatives Überleben 65% mit und 44% ohne S9-Mix). Allerdings war nicht klar, ob sich die Konzentration auf Testsubstanz oder auf aktive Säure bezieht (OECD 2005).

Salze

Ein Natriumsalz (Reinheit angegeben mit 46,9% als Säure), CAS Nr. 22042-96-2, wurde, neutralisiert mit NaOH, an Maus-Lymphomzellen L5178Y entsprechend OECD-Prüfrichtlinie 476 von 1997 bis 2200 µg/ml in An- und Abwesenheit von S9-Mix getestet. Ein Anstieg der Mutationshäufigkeit war bei den Positivkontrollen Ethylmethansulfonat und Benzo(a)pyren, nicht aber mit der Testsubstanz zu beobachten. Die Toxizitätsgrenze wurde jedoch nicht erreicht, da das relative Überleben bei >75% lag. In diesem Test wurde, wie von der Prüfrichtlinie gefordert, nach großen und kleinen Kolonien differenziert (ACCPACP 2003 b; OECD 2005).

Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu den positiven Befunden im gleichen Testsystem mit der Säure, zumal dabei das Ergebnis auch nach Neutralisation der Säure positiv blieb und eine Verfälschung des Ergebnisses durch Selektion präexistenter Mutanten ausgeschlossen wurde. Für diese Diskrepanz fehlt eine plausible Erklärung.

5.6.2 In vivo

Säure

Hierzu liegen keine Daten vor.

Salze

DTPMP als wässrige Lösung, neutralisiert auf pH 7,0, war Testsubstanz in einem Chromosomenaberrationstest an Sprague-Dawley-Ratten nach OECD-Prüfrichtlinie 475. Sechs Ratten je Geschlecht und Dosis erhielten bis 1970 mg/kg KG (berechnet als Säure) per Schlundsonde und wurden nach 6, 12 oder 24 Stunden getötet. Die höchste Dosis löste 25% Mortalität und Gewichtsverlust aus. Von 4–6 Tieren je Gruppe wurden die Metaphasen ausgewertet. Es kam nicht zu einem Abfall im Mitoseindex. Die Autoren schlossen daraus, dass es nicht zur Einwirkung der Substanz auf das Knochenmark kam. Die Häufigkeit von Chromosomenaberrationen war nicht erhöht (OECD 2005).

5.7 Kanzerogenität

Säure

Hierzu liegen keine Daten vor.

Salze

Die in Abschnitt 5.2.2 beschriebene Zwei-Jahre-Studie an Ratten mit einem Natriumsalz, CAS-Nr. 22042-96-2, als neutralisierte 50%ige wässrige Lösung war als Kanzerogenitätsstudie nach OECD-Prüfrichtlinie 451 konzipiert. Sie lag für die Datenzusammenstellung der OECD (2005) nicht im Original vor. Bei 0, 4, 20 und 100 mg/kg KG und Tag verendeten insgesamt 171 Tiere ohne auffälligen histopathologischen Befund und daher nicht behandlungsbedingt. Neoplastische Effekte unterschieden sich nicht zwischen behandelten und unbehandelten Gruppen (k. w. A. zur Kanzerogenität) (ACCPACP 2003 b; OECD 2005).

6 Bewertung

Bakterielle Genmutationstests und ein HPRT-Test in vitro sowie ein Chromosomenaberrationstest in vivo bringen negative Ergebnisse. Uneinheitlich sind die Befunde der Tests an Maus-Lymphomzellen L5178Y. Während DTPMP, auch neutralisiert, in drei Tests in Anwesenheit von S9-Mix positive Resultate liefert, ist ein Natriumsalz nicht mutagen. Hier ist jedoch nicht die nach OECD-Prüfrichtlinie geforderte Maximaldosis eingesetzt worden. Insgesamt sind die widersprüchlichen Maus-Lymphomtests nicht zu erklären.

In der einzigen Studie zur Kanzerogenität treten keine erhöhten Tumorinzidenzen auf. Auf Grundlage der negativen Kanzerogenitätsstudie und des negativen In-vivo-Chromosomenaberrationstests erfolgt keine Einstufung in eine der Kategorien für Kanzerogene oder Keimzellmutagene.

Der systemische NOAEL bei oraler Gabe in einer 90-Tage-Studie an Ratten beträgt etwa 80 mg/kg KG und Tag. Aufgrund zweier Tests am Kaninchenaugen muss von starker Reizwirkung der Säure am Auge ausgegangen werden, die Salze sind weniger reizend. Da jedoch weder Untersuchungen an Menschen noch Tierversuche zur lokalen Wirkung bei inhalativer Exposition vorliegen und ein Grenzwert, der allein auf dem systemischen NOAEL basiert (80 mg/kg KG und Tag entspräche bei 10 m³ Atemvolumen und 70 kg KG ca. 560 mg/m³ für den Menschen) so hoch ist, dass mit Irritation der Atemwege gerechnet werden muss, kann kein MAK-Wert festgelegt werden.

Weder die Salze noch die Säure sind bei epikutaner Applikation akut toxisch. Die dermale Penetrationsrate der strukturverwandten Aminotrismethylenphosphonsäure als Natriumsalz ist in vivo bei Ratten sehr gering, und das Natriumsalz der DTPMP wird von Ratten nach 72 Stunden nur zu weniger als 3,5% dermal resorbiert (0,04% pro Stunde). Für die Säure liegen keine entsprechenden Daten vor. Modellrechnungen deuten auf eine sehr geringe Hautpenetration hin. Daher werden DTPMP und ihre Salze nicht mit „H“ markiert.

Hinweise auf Entwicklungstoxizität in Form skelettaler Anomalien zeigen sich bei Ratten nach Gabe eines neutralen DTPMP-Salzes in der maternaltoxischen Dosis von

14 Diethylentriaminpentakis(methylenphosphonsäure) und ihre Salze

2000 mg/kg KG und Tag. Der NOAEL für Entwicklungstoxizität des Salzes liegt bei 1000 mg/kg KG und Tag. Mit der Säure DTPMP werden Hinweise auf mögliche entwicklungstoxische Effekte (verringertes Geburtsgewicht) bei etwa 300 mg/kg KG und Tag erhalten (NOAEL 100 mg/kg KG und Tag). Eine Entwicklungstoxizitätsstudie zur Erfassung möglicher skelettaler Anomalien ist nicht durchgeführt worden.

Im Buehler- und im Maximierungstest an Meerschweinchen erweist sich DTPMP oder eines ihrer Salze als nicht sensibilisierend an der Haut. Die Testberichte liegen jedoch nicht im Original vor. Zur Atemwegssensibilisierung gibt es keine Berichte. Eine Markierung mit „Sh“ oder „Sa“ wird nicht vorgenommen.

7 Literatur

- ACCPACP (American Chemistry Council, Phosphonic Acid Compounds Panel) (2003 a) [[(Phosphonomethyl)imino]bis[(ethylenitrilo)bis(methylene)]]tetrakisphosphonic acid, sodium salt. IUCLID dataset, 09.10.2003, ACCPACP, USA
- ACCPACP (2003 b) [[(Phosphonomethyl)imino]bis[(ethylenitrilo)bis(methylene)]]tetrakisphosphonic acid, sodium salt. IUCLID dataset, 09.10.2003, ACCPACP, USA
- Guy RH, Potts RO (1993) Penetration of industrial chemicals across the skin: a predictive model. *Am J Ind Med* 23: 711 – 719
- HERA (Human & Environmental Risk Assessment) (2004) Human & environmental risk assessment on ingredients of European household cleaning products: phosphonates (CAS 6419-19-8; 2809-21-4; 15827-60-8), draft, [http://www.heraproject.com/files/30-F-04- HERA Phosphonates Full web wd.pdf](http://www.heraproject.com/files/30-F-04-HERA%20Phosphonates%20Full%20web%20wd.pdf)
- Laznicek M, Laznickova A, Budsky F (1996) $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -DTPMP as a skeletal scintigraphy agent: distribution in rats in comparison with $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MDP. *Nucl Med Commun* 17: 1016 – 1020
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (2005) Phosphonic acid compounds group 3, OECD SIDS Initial Assessment Report, revidierter Entwurf nach SIAM 18, OECD, Paris, FR
- Wilschut A, ten Berge WF, Robinson PJ, McKone TE (1995) Estimating skin permeation. The validation of five mathematical skin permeation models. *Chemosphere* 30: 1275 – 1296

abgeschlossen am 28.03.2007