

# Aminotris(methylenphosphonsäure) und ihre Natriumsalze

<b>MAK-Wert</b>	<b>nicht festgelegt, vgl. Abschn. II b der MAK- und BAT-Werte-Liste</b>	
<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>	–	
<b>Synonyma</b>	Aminotris(methanphosphonsäure), Aminotris(methylphosphonsäure), 1,1,1-Nitrilotrimethanphosphonsäure, Nitrilotrimethylphosphonsäure, Nitrilotris(methylphosphonsäure), Tris(phosphonomethyl)amin, Nitrilotrimethylentris(phosphonsäure)	
<b>Chemische Bezeichnung</b>	(Nitrilotris(methylen))trisphosphonsäure	
<b>CAS-Nr.</b>	Aminotris(methylenphosphonsäure)	6419-19-8
	Natriumsalze, Zahl der Natriumionen	
	x <sup>1)</sup>	20592-85-2
	2	4105-01-5
	3	7611-50-9
	4	94021-23-5
	5	2235-43-0
	6	15505-05-2
<b>Formel</b>	Säure: $N(CH_2PO_3H_2)_3$ Salze: $C_3H_{12-x}NO_9P_3Na_x$ x = 0–6 Molmasse Säure: 299,05 g/mol Salze: 321,0–430,9 g/mol	

<sup>1)</sup> Schließt alle Natriumsalze ein.

## 2 Aminotris(methylenphosphonsäure) und ihre Natriumsalze

Schmelzpunkt	Säure: 195–210 °C (OECD 2004) Salze: n. a.
Siedepunkt bei 1013 hPa	Säure: 480 °C (ber.), Zersetzung bei 225 °C (OECD 2004) Salze: n. a.
Dampfdruck bei 25 °C	$1,9 \times 10^{-10}$ Pa (ber.) (Hera 2004; OECD 2004)
Dichte bei 20 °C	1,32–1,36 g/cm <sup>3</sup> (als 60%ige wässrige Lösung) (OECD 2004)
log K <sub>OW</sub>	Säure: –3,53 (OECD 2004) Salze: n. a.
pH-Wert	Säure: <2 Tetranatriumsalz: ca. 7 Pentannatriumsalz: ca. 11 jeweils als 1%ige Lösung (Hera 2004)
Dissoziationskonstante	pK <sub>1</sub> <2; pK <sub>2</sub> <2; pK <sub>3</sub> 4,30; pK <sub>4</sub> 5,46; pK <sub>5</sub> 6,66; pK <sub>6</sub> 12,3 in 1 M KNO <sub>3</sub> (OECD 2004)
Löslichkeit	ca. 500 g/l in Wasser (Hera 2004; OECD 2004)
Stabilität	Zersetzung bei 225 °C unter Abgabe von Phosphin (Hera 2004; OECD 2004)
Herstellung	Säure: n. a. Salze: aus der Säure mit NaOH im geschlossenen System als wässrige Lösung, Feststoff durch Trocknen (OECD 2004)
Reinheit	80±2% (OECD 2004)
Verunreinigungen	

Substanz	CAS-Nr.	Formel	Anteil (% w/w)
(Hydroxymethyl)phosphonsäure	2617-47-2	CH <sub>3</sub> O <sub>4</sub> P	ca. 6
Phosphonsäure	13598-36-2	H <sub>3</sub> O <sub>3</sub> P	ca. 6
[(Methylimino)dimethylen]bisphosphonsäure	5995-25-5	C <sub>3</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>6</sub> P <sub>2</sub>	3–6
Ammoniumchlorid	12125-02-9	H <sub>4</sub> NCl	<2
Iminobis(methylenphosphonsäure)	17261-34-6	C <sub>2</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>6</sub> P <sub>2</sub>	<1
Orthophosphorsäure	7664-38-2	H <sub>3</sub> O <sub>4</sub> P	ca. 1
Salzsäure	7647-01-0	HCl	ca. 1

Verwendung	industrielle Wasserbehandlung, Verhinderung kristalliner Ablagerung, Waschen und Reinigen, Papier-, Textil- und Photoindustrie, Oberflächenenschutz in der Metallbearbeitung, Korrosionsschutz, Ölförderung (OECD 2004)
------------	---

Die  $\log_{10}$  der Stabilitätskonstanten der Komplexe von Metallionen mit ATMP betragen: Hg 21,7; Co 18,4; Cu 17,0; Pb 16,4; Ni 15,5; Zn 14,1; Cd 12,7; Ca 7,6; Mg 6,7 (OECD 2004).

Diese Bewertung stützt sich auf die Datenzusammenstellung der OECD zu „Phosphonic Acid Compounds Group 1“ (OECD 2004). Sie gilt für ATMP und ihre Natriumsalze (1–6 Na).

Bei Anwendung in Kühlschmierstoffen sind Zahl und Art der Kationen wegen der dort eintretenden Dissoziation für die Toxizität der Phosphonsäure ohne Bedeutung.

## **1 Allgemeiner Wirkungscharakter**

Bei Anwendung im wässrigen Milieu ist mit vollständiger Dissoziation der Salze zu rechnen. Mit Ausnahme pH-abhängiger Endpunkte kann daher von gleichartiger Wirkung der Säure und der Salze ausgegangen werden, deren pH-Wert entsprechend der Zahl der Natriumionen von <2 bis >11 variiert. Die gastrointestinale und die dermale Aufnahme sind sehr gering. Entsprechend wird ATMP bei oraler Zufuhr weitgehend über die Faeces, bei intravenöser Gabe über den Urin ausgeschieden. ATMP und ihre Salze sind akut nur gering toxisch. In einer 2-Jahre-Studie an Ratten sind bei oraler Gabe von 500 mg ATMP/kg KG und Tag Gewichtsverminderungen von Leber und Milz aufgetreten, ohne spezifische histopathologische Befunde. ATMP ist auf der Haut nur gering und am Auge mäßig reizend. Ihre Salze sind auf der Haut und am Auge gering reizend. Aus einem wenig validen negativen Maximierungstest mit ATMP sowie aus exponierten Kollektiven ergeben sich keine Hinweise auf Sensibilisierung. Zur Atemwegssensibilisierung liegen keine Berichte vor. Bis zur höchsten getesteten Dosis von ca. 300 mg ATMP/kg KG und Tag ist die Fertilität von Ratten nicht beeinträchtigt. Entwicklungstoxizität tritt bis zur maximalen Dosis von 1300 mg ATMP-Tetranatriumsalz/kg KG und Tag nicht auf.

Säure und Salze sind nicht mutagen in mehreren bakteriellen Mutagenitätstests. ATMP löst in Mauslymphomzellen Mutationen aus, ein Befund, der mit neutralisierter Säure ausbleibt. Er ist somit als pH-Effekt anzusehen. Das Pentanatriumsalz von ATMP ruft in einem Chromosomenaberrationstest an CHO-Zellen in vitro und einem Mikronukleustest bei der Maus in vivo keine Chromosomenschäden hervor. In der einzigen vorliegenden Kanzerogenitätsstudie tritt ein Osteosarkom auf. Die Bedeutung dieses Befundes ist unklar.

## 4 Aminotris(methylenphosphonsäure) und ihre Natriumsalze

### 2 Wirkungsmechanismus

Für die toxischen Wirkungen von ATMP werden pH-Effekte und die Fähigkeit zur Komplexbildung mit Übergangsmetallionen sowie mit Calcium und Magnesium verantwortlich gemacht (OECD 2004).

### 3 Toxikokinetik und Metabolismus

#### 3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

##### Oral

Nach Schlundsondenapplikation von 150 mg  $^{14}\text{C}$ -ATMP/kg KG an acht männliche Charles-River-Ratten waren 74% der Dosis nach 24 Stunden, 83% nach 48 Stunden und 84,4 % bis zum 10. Tag p. a. mit den Faeces ausgeschieden. Spuren der Radioaktivität fanden sich im Urin (etwa 1%), in Blut, Geweben und Skelett (zusammen etwa 0,3%), nicht aber in der Ausatemluft. Insgesamt wurden 85,9% der Radioaktivität wiedergefunden. Die Anreicherung von  $^{14}\text{C}$  war in Niere und im Körper nach Organentnahme gering, während sie im Knochen und im Knochenmark im Vergleich zur Konzentration im Blutplasma fast um das 100fache höher war. Das Konzentrationsverhältnis Gewebe/Blut nach zehn Tagen betrug: Tibia 191, Femur 158, Knochenmark 104, Sternum 75,6, im Körper nach Organentnahme 7,81, Faeces 3,63, Niere 2,61, Milz 1,80, Leber 1,10, Erythrozyten 0,792, Muskel 0,644, Plasma 0,020. Autoradiographisch stellte sich die Deposition von  $^{14}\text{C}$  in allen Knochen dar, am stärksten in den Epiphysenfugen der Röhrenknochen und in den Nasenmuscheln. Dort war sie auch nach zehn Tagen noch hoch. Geringe Einlagerung von  $^{14}\text{C}$  war in der Magenschleimhaut und den Nieren zu finden, nichts in den übrigen Geweben. Die Ausscheidungskinetik mit dem Urin wie im Gesamtkörper war zweistufig mit einer raschen initialen Phase (Halbwertszeit ca. 5 Stunden) und einer langsamen zweiten Phase mit Halbwertszeiten von 70 Stunden für den Urin und 300 Stunden für den ganzen Körper (HERA 2004; OECD 2004).

##### Parenteral

Bei einmaliger intravenöser Applikation von 1,93  $\mu\text{Ci}$ /kg KG, entsprechend 15 mg  $^{14}\text{C}$ -ATMP/kg KG, an Charles-River-Ratten wurden 53% der Dosis im Urin wiedergefunden, 46% innerhalb von sechs Stunden. 21% fanden sich im Körper nach Organentnahme, 4,56% in den Faeces, 2,4% in Geweben und Organen, weniger als 0,1% im Blut. Die Wiederfindung betrug 88,9%. Die Verteilung in den Geweben entsprach den Befunden in der oralen Studie. Nur war die Anreicherung in den Knochen im Vergleich zur Konzentration im Blutplasma mit bis zum 1000fachen höher. Die Anreicherung war auch nach zehn Tagen noch feststellbar, vor allem in den Epiphysenfugen. Die Ausscheidungskinetik mit dem Urin wie im gesamten Körper war wiederum zweistufig mit einer raschen initialen Phase (Halbwertszeit ca. zwei Stunden im Urin und vier Stunden für den Ganzkörper) und einer langsamen zweiten Phase mit Halbwertszeiten von 130 Stunden für den Urin und 770 Stunden für den Ganzkörper. Aus dem Vergleich der Ausscheidungsmengen mit dem Urin nach oraler und intravenöser Applikation errechneten die Autoren eine gastrointestinale Aufnahme von 2,15% (HERA 2004; OECD 2004).

## Dermal

### Säure

Für die freie Säure liegen keine Daten vor. Da der  $\log K_{OW} -3,53$  beträgt, ergeben sich mit den Modellrechnungen zur dermalen Penetration sehr diskrepante Aufnahmeraten von  $4,3 \times 10^{-5}$  (Guy und Potts 1993) und  $0,0045 \text{ mg/cm}^2$  und Stunde (Wilschut et al. 1995). Die entsprechenden aufgenommenen Mengen bei einstündiger Exposition von  $2000 \text{ cm}^2$  Hautoberfläche wären  $0,09$  und  $9 \text{ mg ATMP}$ . Insgesamt deutet dies darauf hin, dass die dermale Resorption der Säure ähnlich wie die der Salze (s. u.) vernachlässigbar gering ist.

### Salze

Dermal an jeweils fünf männliche und fünf weibliche Wistar-Ratten als Natriumsalz verabreichtes  $^{14}\text{C}$ -ATMP war 48 Stunden p. a. noch zu 76 bzw. 60% auf der Applikationsstelle nachzuweisen. Dazu wurden  $0,2 \text{ ml}$  einer  $0,88\%$ igen neutralisierten wässrigen Lösung für 48 Stunden okklusiv auf  $10 \text{ cm}^2$  Haut aufgetragen, dies entspricht  $0,18 \text{ mg/cm}^2$ . Spuren von Radioaktivität waren bei den Tieren ( $\text{♂/♀}$ ) in Urin ( $0,2/0,5\%$ ), Faeces ( $0,087/0,03\%$ ), Ausatemluft ( $0,087/0,061\%$ ) und Rumpf ( $0,22/0,35\%$ ) zu finden. Die Autoren schätzten die dermale Resorption auf  $0,60\%$  bei männlichen und  $0,94\%$  bei weiblichen Ratten (HERA 2004; OECD 2004).

In einem Versuch mit dem  $^{14}\text{C}$ -markierten Natriumsalz der ATMP betrug der dermale Flux bei Ratten in vivo  $0,0016 \text{ mg/cm}^2$  pro 24 Stunden, also  $6,7 \times 10^{-5} \text{ mg/cm}^2$  und Stunde (HERA 2004).

## 3.2 Metabolismus

Bei Ratten waren nach Gabe von  $150 \text{ mg ATMP/kg KG}$  per Schlundsonde im 24-Stunden-Sammelurin zu  $25\%$  ATMP, zu  $46\%$  ein N-Methyl-Derivat und zu  $29\%$  ein unbekannter Metabolit nachweisbar. Dagegen übertraf nach intravenöser Applikation ( $15 \text{ mg/kg KG}$ ) die unveränderte Substanz im Urin mit  $64\%$  das N-Methyl-Derivat ( $21\%$ ) und den unbekannt Metaboliten ( $14\%$ ) (HERA 2004).

## 4 Erfahrungen beim Menschen

Wie andere Bisphosphonate komplexiert ATMP Calcium und reichert sich im Knochen an. Bei Onkologie-Patienten, die zum Schutz vor Knochenmetastasen ein Bisphosphonat erhielten, traten in einer Inzidenz kleiner als ein Prozent Kiefernekrosen auf (Felsenberg et al. 2006). Für die Autoren liegt der Zusammenhang mit einer hoch dosierten Bisphosphonattherapie nahe, ist aber nicht als singulärer Faktor anzunehmen. Für ATMP liegen keine diesbezüglichen Erfahrungen vor.

Auch nach vielen Jahren der Produktion und Verwendung von ATMP liegen keine Berichte über eine sensibilisierende Wirkung beim Menschen vor (OECD 2004). Da im geschlossenen System produziert und abgefüllt wird, hat diese Aussage nur geringe Relevanz.

Es liegen keine weiteren Angaben vor.

## 6 Aminotris(methylenphosphonsäure) und ihre Natriumsalze

### 5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

#### 5.1 Akute Toxizität

##### 5.1.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

##### 5.1.2 Orale Aufnahme

Die Untersuchungen zur akuten Toxizität von ATMP und ihren Natriumsalzen nach oraler Verabreichung sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

#### Säure

ATMP als 25%ige wässrige Lösung ergab nach Schlundsondenapplikation eine LD<sub>50</sub> von 2910 mg/kg KG bei Sprague-Dawley-Ratten. Gruppen von fünf Tieren (2–3 je Geschlecht) erhielten Dosen von 2000, 2510, 3160 oder 3980 mg/kg KG. Bei 3980 mg/kg KG verendeten alle Tiere, bei 3160 mg/kg KG eine männliche und eine weibliche und bei 2510 mg/kg KG eine weibliche Ratte. Als toxische Symptome wurden Schwäche in den ersten zwei Stunden p.a., Diarrhö, Speichelfluss und Tremor berichtet. Die Autopsie ergab Entzündung der gastrointestinalen Schleimhaut und Hyperämie von Leber und Nieren (OECD 2004).

Für die Maus ist eine akute orale LD<sub>50</sub> der ATMP von 2790 mg/kg KG angegeben (k. w. A.; OECD 2004)

#### Salze

Zwei akute Studien mit dem Tetranatriumsalz von ATMP folgten der OECD-Prüfrichtlinie 401. Jeweils fünf männliche und fünf weibliche Sprague-Dawley-Ratten erhielten per Schlundsonde eine Einzeldosis von 10 ml/kg KG einer wässrigen Lösung, die 41% aktives Salz enthielt. Dies entspricht 5740 mg aktivem Salz/kg KG. Zwei weibliche Tiere verendeten am ersten Tag. Lethargie, gekrümmte Haltung, Piloarrektion und verminderte Atemfrequenz wurden bei allen Tieren beobachtet, bei dreien auch Ptosis. Bei den Überlebenden waren die Befunde ab dem zweiten Tag normal. Die Sektion deckte bei den zwei verendeten Tieren Entzündung der Lunge auf, bei einem Tier intestinale Blutung. Keine Zeichen von Toxizität wurden bei den überlebenden Tieren festgestellt. Die akute LD<sub>50</sub> war somit größer als 5740 mg ATMP-Tetranatriumsalz/kg KG (entspricht 4437 mg ATMP/kg KG) (OECD 2004).

In einer Folgestudie wurden 15 ml/kg KG appliziert, dies entspricht 8610 mg aktivem Salz/kg KG. Sechs von zehn Tieren verendeten am ersten Tag. Lethargie, gekrümmte Haltung, Piloarrektion und verminderte Atemfrequenz und Ptosis wurden hier bei allen Tieren beobachtet. Bei den sechs verendeten Tieren ergab die Obduktion Entzündung der Lunge, pulmonale und intestinale Blutung, bei vier Tieren Blässe von Milz oder Nieren. Drei Tiere litten unter Diarrhö, drei unter Krämpfen und vier unter Ataxie. Hier wurde die akute orale LD<sub>50</sub> mit 8610 mg ATMP-Tetranatriumsalz/kg KG (entspricht 6655 mg ATMP/kg KG) abgeschätzt (OECD 2004).

Fünf Ratten je Dosisgruppe erhielten ATMP-Pentanatriumsalz in Dosen von 5040, 6320, 8000 oder 10040 mg/kg KG als wässrige Lösung. Bei der Dosis von 10040 mg

Salz/kg KG starben alle 5 Tiere, bei 8000 mg/kg KG 4 von 5 Tieren, und bei 6320 mg/kg KG 1 von 5 Tieren an den ersten drei Tagen p. a.. Klinische Beobachtungen waren schwere Diarrhö, Appetitverlust, Lethargie und zunehmende Schwäche. Bei der Sektion zeigte sich Hyperämie von Leber, Niere und Lunge. Die LD<sub>50</sub> betrug 7120 mg ATMP-Pentanatriumsalz/kg KG (entspricht 5205 mg ATMP/kg KG) (OECD 2004).

Tab. 1. Untersuchungen zur akuten Toxizität nach oraler Verabreichung von ATMP und ihren Natriumsalzen (OECD 2004)

Substanz	Spezies	Dosis (mg/kg KG)	LD <sub>50</sub> (mg/kg KG)
ATMP	Ratte	2000–3980	2910
ATMP	Maus	n. a.	2790
ATMP-Tetranatriumsalz	Ratte	5740	> 5740
ATMP-Tetranatriumsalz	Ratte	8610	ca. 8610
ATMP-Pentanatriumsalz	Ratte	5040–10040	7120

### 5.1.3 Dermale Aufnahme

Die Untersuchungen zur akuten Toxizität von ATMP und ihren Natriumsalzen nach dermalen Verabreichung sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

#### Säure

Aus dermalen Applikation der 25%igen Säure bei Neuseeland-Kaninchen leiteten die Autoren eine LD<sub>50</sub> von >6310 mg/kg KG ab. Letalität trat nicht auf. Einzelne Kaninchen hatten die Dosen von 1000, 1580, 2510, 3980 oder 6310 mg ATMP/kg KG in vermutlich 24-stündiger dermalen okklusiver Applikation erhalten. Bei keinem Tier waren Zeichen einer toxischen Wirkung festzustellen. Lediglich Aktivität und Nahrungsaufnahme waren bei den zwei Tieren, die 3980 bzw. 6310 mg/kg KG erhielten, vorübergehend reduziert. Mängel der Studie sind, dass jeweils nur ein Tier eingesetzt wurde, und das Fehlen der Sektion. Die dermale LD<sub>50</sub> lag über 6310 mg ATMP/kg KG (HERA 2004; OECD 2004).

#### Salze

In einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 402 applizierte man jeweils fünf männlichen und fünf weiblichen Ratten 5740 mg ATMP-Tetranatriumsalz/kg KG als wässrige Lösung (10 ml/kg KG) für 24 Stunden dermal okklusiv auf intakte Haut. Alle Ratten überlebten und wurden nach 14 Tagen obduziert. Klinische Zeichen beschränkten sich auf Lethargie und rötlichen Tränenfluss bei einem Tier am ersten Tag nach der Applikation. Entsprechend lag die dermale LD<sub>50</sub> über 5740 mg/kg KG (entspricht 4436 mg ATMP/kg KG) (OECD 2004).

ATMP-Pentanatriumsalz wurde in einer weiteren Studie als wässrige Lösung 24 Stunden okklusiv getestet. Einzelne Neuseeland-Kaninchen erhielten Dosen von 632, 1004, 1592, 2524, 4000 oder 6320 mg aktives Salz/kg KG. Zeichen von Toxizität waren nicht zu beobachten. Die dermale LD<sub>50</sub> lag über 6320 mg ATMP-Pentanatriumsalz/kg KG (entspricht 4620 mg ATMP/kg KG) (HERA 2004; OECD 2004).

## 8 Aminotris(methylenphosphonsäure) und ihre Natriumsalze

Tab. 2. Untersuchungen zur akuten Toxizität von ATMP und ihren Natriumsalzen nach dermalen Verabreichung (HERA 2004; OECD 2004)

Substanz	Spezies	Dosis (mg/kg KG)	LD <sub>50</sub> (mg/kg KG)
ATMP	Kaninchen	1000–6310	> 6310
ATMP-Tetranatriumsalz	Ratte	5740	> 5740
ATMP-Pentanatriumsalz	Kaninchen	632–6320	> 6320

### 5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

#### 5.2.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

#### 5.2.2 Orale Aufnahme

Die Untersuchungen zur Wirkung von ATMP und ihren Natriumsalzen nach wiederholter oraler Verabreichung sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

#### Säure

In einer Dosisfindungsstudie erhielten je fünf männliche und fünf weibliche Long-Evans-Ratten 34 Tage lang Dosen von 0, 125, 250, 500, 750 oder 1000 mg ATMP/kg KG und Tag im Futter. Behandlungsbedingte Effekte wurden nicht gesehen. Allerdings wurden keine hämatologischen oder klinisch-chemischen Befunde erhoben. Dagegen waren die Beobachtungen und die Sektionen nach OECD-Richtlinien durchgeführt worden (OECD 2004).

In einer kombinierten Langzeit-/Kanzergenitätsstudie nach OECD-Prüfrichtlinie 453 (Abweichungen s. u.) erhielten 70 Long-Evans-Ratten je Geschlecht und Dosisgruppe zwei Jahre lang ATMP in Dosen von 0, 50, 150 oder 500 mg/kg KG und Tag mit dem Futter. Bei Mortalität, Ophthalmoskopie, klinischer Chemie, Hämatologie, Urinanalyse und Histologie wurden keine behandlungsbedingten Effekte gesehen. Nur bei der höchsten Dosis waren nach 24 Monaten ein Abfall des absoluten und relativen Gewichts der Leber um 14% und des absoluten Gewichts der Milz um 15% sowie, allerdings nur nach zwölf Monaten, ein Anstieg des relativen Gewichts der Niere um 14% und der Testes um 23% aufgetreten. Das Körpergewicht war in dieser Dosisgruppe um ca. 2,5% nicht signifikant verringert. Bei den weiblichen Tieren war, allerdings nur nach einem Jahr, das absolute Nierengewicht um 13% abgefallen und, nur nach sechs Monaten, das relative Gewicht der Leber um 8% gesunken. Alle angegebenen Änderungen von Organengewichten waren signifikant. Die reversiblen Organengewichtsveränderungen, die nur nach sechs oder zwölf Monaten beobachtet worden waren, sind nicht bewertungsrelevant. Die Studie weicht von den Anforderungen der OECD-Prüfrichtlinie 453 insofern ab, als eine Hochdosisgruppe im eindeutig toxischen Bereich fehlt, Urinsediment und Serumalbumin und -protein nicht untersucht wurden, neurologische Befunde zumindest nicht beschrieben sind und die histologischen Untersuchungen von Trachea, Ösophagus, Thymus, Parathyreoidea, Mamma, peripheren Nerven sowie insbesondere der Knochen Sternum und Femur fehlen. Die Adversität der o. g. Organgewichtsbefunde, die nach 2 Jahren bei 500 mg/kg KG und Tag erhoben wurden, ist fraglich, da die histopathologische Untersuchung keine diesbezüglichen Befunde erbrachte (OECD 2004).

## Aminotris(methylenphosphonsäure) und ihre Natriumsalze 9

Tab. 3. Wirkung von ATMP und ihren Natriumsalzen nach wiederholter oraler Verabreichung (OECD 2004)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Testsubstanz	Exposition	Befunde
<b>Ratte</b> , je 12 ♂, davon 4 für Nach- beobachtung	ATMP, mit NaOH neutralisiert	<b>28 Tage</b> , 600 mg ATMP/kg KG und Tag; Schlundsonde	<b>600 mg/kg KG</b> : ohne auffälligen Befund, nur ein Tier nach 28 Tagen histopathologisch unter- sucht
<b>Ratte</b> , Long-Evans, je 5 ♂/♀	ATMP	<b>34 Tage</b> , 0, 125, 250, 500, 750, 1000 mg/kg KG und Tag im Futter	<b>1000 mg/kg KG</b> : NOAEL; ohne auffälligen Befund
<b>Ratte</b> , Wistar, je 10 ♂/♀	ATMP- Tetranatriumsalz	<b>90 Tage</b> , 2520 mg/kg Futter (207 (♂) bzw. 225 (♀) mg ATMP-Tetranatrium- salz/kg KG und Tag)	<b>207–225 mg/kg KG</b> : ohne auf- fälligen Befund, keine Histopa- thologie durchgeführt
<b>Ratte</b> , Long-Evans, je 70 ♂/♀	ATMP	<b>2 Jahre</b> , 0, 50, 150, 500 mg ATMP/kg KG und Tag im Futter, nach OECD- Prüfrichtlinie 453	<b>150 mg/kg KG</b> : NOAEL <b>500 mg/kg KG</b> : ♂: nach 2 Jahren: abs. u. rel. Lebergew. ↓ (14%), abs. Milz- gew. ↓ (15%); keine adversen Befunde bei der histopathologi- schen Untersuchung nach 1 Jahr: rel. Nierengew. ↑ (14%), rel. Testesgew. ↑ (23%); ♀: nach 1 Jahr: abs. Nierengew. ↓ (13%), nach 6 Monaten: rel. Lebergew. ↓ (8%)

### Salze

Bei einer 28-Tage-Studie mit Schlundsondenapplikation wurde bei zwölf männlichen Ratten eine mit Natriumhydroxid neutralisierte wässrige Lösung von ATMP in nur einer Dosis von 600 mg aktiver Säure/kg KG und Tag eingesetzt. Erfasst wurden Toxizitätssymptome, Mortalität, Körpergewichtsentwicklung und Nahrungsaufnahme. Urinanalyse und biochemische Untersuchung wurden jeweils bei nur einem Tier am 8., 13., 18. und 23. Tag, Histopathologie von drei Organen bei je einem Tier an vier weiteren Terminen durchgeführt. Die Tierzahl war zu klein, um die aufgetretene Reizung des Duodenums zu bewerten (OECD 2004). Der zu geringe Untersuchungsumfang lässt keine Ableitung eines NOAEL zu.

Eingeschränkt sind die Informationen und der Untersuchungsumfang aus einer 90-Tage-Fütterungsstudie mit je fünf männlichen und fünf weiblichen Sprague-Dawley-Ratten, denen 6000 mg einer 32%igen wässrigen Lösung von ATMP-Tetranatriumsalz

## 10 Aminotris(methylenphosphonsäure) und ihre Natriumsalze

pro kg Futter verabreicht wurden. Alle Tiere überlebten. Nahrungsaufnahme und Gewichtsentwicklung blieben normal, klinische Auffälligkeiten gab es nicht. Die aufgenommene Dosis wurde mit 161 mg ATMP/kg KG und Tag für männliche und 175 mg ATMP/kg KG und Tag für weibliche Tiere kalkuliert. Dies entspricht 207 und 225 mg ATMP-Tetranatriumsalz/kg KG und Tag. Erfasst wurden Toxizitätssymptome, Mortalität, Körpergewichtsentwicklung und Nahrungsaufnahme. Ophthalmoskopie, Urinanalyse und biochemische Untersuchungen wurden durchgeführt. Dabei und bei der makroskopisch-pathologischen Untersuchung gab es keine behandlungsbedingten Befunde (OECD 2004). Wegen der fehlenden Histopathologie kann kein NOAEL abgeleitet werden.

### 5.2.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

### 5.2.4 Subkutane Aufnahme

Bei einer Studie an Wistar-Ratten mit täglicher subkutaner Verabreichung von 10 mg ATMP/kg KG (pH 7,0 durch NaOH) für die Dauer von sieben Tagen wurde ein nicht signifikanter Einfluss auf die Ossifikation, gemessen an der Breite der Tibiaepiphyse (+30%), und eine verminderte Mineralisation von Osteoid festgestellt. Nach acht Tagen wurde die Resorption von <sup>45</sup>Calcium aus isoliertem Rattenduodenum untersucht. Es wurde keine veränderte Calciumaufnahme durch die Behandlung mit neutralisiertem ATMP festgestellt (p<0,001; n = 37). Ein signifikanter Effekt auf Plasma-calcium wurde nach zwei, drei und sieben subkutanen Injektionen nicht gesehen. Ausschließlich nach zwei Verabreichungen war das Plasmaphosphat signifikant um 13% vermindert (OECD 2004).

## 5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

### 5.3.1 Haut

#### Säure

Die Hautreizung von ATMP wurde in einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 404 von 1982 an drei Neuseeland-Kaninchen getestet. Es wurde vier Stunden lang auf der intakten geschorenen Haut okklusiv und nicht wie nach aktueller Richtlinie vorgeschrieben semi-okklusiv appliziert. Die Dosis von 0,5 ml einer wässrigen Lösung, die 50% ATMP und 1% HCl enthielt, entsprach 333 mg aktiver Säure. Hautreaktionen wurden 1, 24, 48 und 72 Stunden nach Ende der Applikation bewertet. Bis 24 Stunden lag bei allen Tieren leichtes Erythem vor, aber kein Ödem. Der primäre Irritationsindex (PII) wurde mit 0,4 von 8 ermittelt (OECD 2004).

In einer weiteren Studie aus dem Jahr 1967 wurde ATMP als Pulver und als 25%ige wässrige Lösung an je drei Neuseeland-Kaninchen okklusiv über einen Zeitraum von vier Stunden auf der intakten geschorenen Haut getestet. Die Haut wurde über sieben Tage befundet. Das Pulver löste keine sichtbaren Erytheme oder Ödeme aus, die 25%ige wässrige Lösung der Säure löste mäßige Erytheme und begrenzte Ödeme aus, die nach sieben Tagen abgeheilt waren. Der maximale Reizindex betrug hier nach 24

Stunden 4,6 von 8 (keine Differenzierung Erythem/Ödem mitgeteilt) (OECD 2004). Der primäre Irritationsindex betrug 2,75 von 8. Die Identifikation der Testsubstanz über eine Herstellerbezeichnung war nicht möglich, somit ist auch keine Aussage über Reinheit oder Verunreinigungen möglich. Daher gewichtet die Kommission die zuerst zitierte Studie höher und sieht ATMP als gering hautreizend an.

### **Salze**

Analog zur Säure wurde die Hautreizung des ATMP-Tetranatriumsalzes in einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 404 von 1982 (s. o.) an drei Neuseeland-Kaninchen okklusiv vier Stunden lang auf der intakten geschorenen Haut getestet. Die Dosis von 0,5 ml einer wässrigen Lösung enthielt 41% aktives Salz, dies entspricht 287 mg Salz oder 222 mg der Säure. Die Hautreaktionen wurden 1, 24, 48 und 72 Stunden nach Ende der Applikation bewertet. Eine Stunde nach der Behandlung lag bei einem Tier ein leichtes Erythem vor, aber kein Ödem. Der primäre Irritationsindex (PII) wurde mit 0,1 von 8 ermittelt. Das Salz war somit gering reizend (OECD 2004).

Das ATMP-Pentanatriumsalz wurde an drei Kaninchen als 40%ige wässrige Lösung mit einmaliger 24-stündiger okklusiver Applikation auf intakter geschorener Haut getestet (k. w. A.). Beobachtet wurde über sieben Tage. Zwei der Tiere zeigten eine kaum wahrnehmbare Rötung, die nach 72 Stunden abgeklungen war, aber kein Ödem. Der PII war 0,6 von 8 (HERA 2004; OECD 2004).

### **5.3.2 Auge**

#### **Säure**

In einem Draize-Test wurden drei Kaninchen je 100 mg ATMP als Pulver in den Konjunktivalsack eines Auges appliziert, und die Tiere wurden sieben Tage beobachtet. Dabei wurde eine initiale Schmerzreaktion registriert. Bewertet wurde nach Kay und Calandra (1962), mit einem Irritationsindex (EII) von 0 bis 110. Dieser beinhaltet Ausmaß und Dauer der Wirkung auf Cornea, Iris und Konjunktiva nach 24, 48 und 72 Stunden. Unmittelbar nach der Instillation waren bei den drei Tieren Lidschluss, Ödem, heftige Sekretion, mäßige Rötung der Konjunktiven und mäßige Trübung der Cornea zu beobachten. Die Augen wurden 24 Stunden p. a. gespült. Zu diesem Zeitpunkt lagen die maximalen Scores vor, für die einzelnen Tiere 57, 49 und 55, auch mit Entzündung der Iris. Die Reaktionen klangen ab, waren aber nach sieben Tagen noch nachzuweisen. Der maximale durchschnittliche Reizindex betrug 53,6 nach 24 Stunden, der EII 43,7, was eine mäßige Irritation bedeutet (HERA 2004; OECD 2004).

#### **Salze**

In einer Untersuchung nach OECD-Prüfrichtlinie 405 war ATMP-Tetranatriumsalz nur kurzfristig gering irritierend am Kaninchenauge, nachdem 0,1 ml als wässrige Lösung mit 41% aktivem Salz in je einen Konjunktivalsack von drei Neuseeland-Kaninchen appliziert worden war. Als geringfügige Befunde wurden ausschließlich in der ersten Stunde nach der Behandlung getrübe Cornea, Iritis, geringe Konjunktivitis und Chemosis der Cornea beschrieben. Die Befunde bildeten sich in 24 Stunden zurück. Der EII wurde mit 0,7 angegeben (HERA 2004; OECD 2004). Der maximale durchschnittliche Reizindex war 5,7/110 nach einer Stunde.

## 12 Aminotris(methylenphosphonsäure) und ihre Natriumsalze

Eine wässrige Lösung von ATMP-Pentanatriumsalz mit 40% aktivem Salz wurde in je einen Konjunktivalsack von drei Neuseeland-Kaninchen appliziert. Die Augen wurden nach 24 Stunden gespült. In der ersten Stunde p. a. waren leichte Sekretion und Rötung, sehr leichtes Ödem und eine Spur von Trübung der Cornea zu beobachten. Die Befunde gingen zurück und waren bei zwei Kaninchen nach 72, beim dritten nach 120 Stunden wieder normal. Der EII wurde von den Autoren des Risk Assessments mit 3,8 errechnet (OECD 2004; Hera 2004). Der maximale durchschnittliche Reizindex war 11,7/110 nach einer Stunde.

### 5.4 Allergene Wirkung

Hierzu liegt lediglich eine kurze Zusammenfassung über einen abgewandelten Maximierungsversuch nach Magnusson und Kligman mit ATMP vor. 20 Meerschweinchen erhielten wässrige Lösungen der Testsubstanz intradermal injiziert (k. w. A.). Angaben zur topischen Induktion und zur Auslösung fehlen. Es gab keine Hinweise auf Sensibilisierung (OECD 2004).

### 5.5 Reproduktionstoxizität

#### 5.5.1 Fertilität

##### Säure

In einer 3-Generationen-Studie aus dem Jahre 1979 erhielten je 12 männliche und 24 weibliche Long-Evans-Ratten mit der Nahrung ATMP [90% rein, 10% vermutlich Methyliminobis(methylenphosphonsäure)] in Konzentrationen von 0, 300, 1000 oder 3000 mg/kg Futter (entspricht 275 mg ATMP/kg KG und Tag bei den männlichen und 310 mg ATMP/kg KG und Tag bei den weiblichen Tieren in der hohen Dosisgruppe). Die Behandlung begann 60 Tage vor der ersten Paarung der F<sub>0</sub>-Generation. Die Tiere des ersten Wurfs jeder Generation (F<sub>1a</sub>, F<sub>2a</sub>, F<sub>3a</sub>) wurden am Ende der Laktation (Tag 21) obduziert, zufällig ausgewählte Tiere des zweiten Wurfs (F<sub>1b</sub>, F<sub>2b</sub>) wurden weiter verpaart. Tiere der F<sub>1b</sub>-, F<sub>2b</sub>-, die nicht verpaart wurden, und die Tiere der F<sub>3b</sub>-Generation wurden ebenfalls obduziert. In keiner Gruppe oder Generation wurden adverse Effekte bei den Reproduktionsparametern oder histopathologische Befunde gesehen. Auch die klinische Beobachtung einschließlich Mortalität, Gewichtsentwicklung und Nahrungsaufnahme blieb ohne auffälligen Befund. Die gemittelte höchste Dosis von 275 mg ATMP/kg KG und Tag bei den männlichen und 310 mg ATMP/kg KG und Tag bei den weiblichen Tieren war somit NOAEL für parentale und Entwicklungstoxizität. Entsprechend der damaligen Richtlinie sind Östruszyklus und Spermienparameter bei den Elterntieren sowie Entwicklungsparameter bei den Nachkommen nicht untersucht worden (OECD 2004).

In der 2-Jahre-Studie (vgl. Abschnitt 5.2.2) war bei männlichen Long-Evans-Ratten, die zwei Jahre lang ATMP im Futter in einer täglichen Dosis von 500 mg/kg KG aufgenommen hatten, nach zwölf Monaten ein Anstieg des relativen Gewichts der Testes um 23% aufgetreten. Die Befunde waren zum Teil auf die Abnahme des Körpergewichts zurückzuführen und zu späteren Zeitpunkten nicht mehr nachweisbar. Histopathologische Auffälligkeiten an Hoden und Ovarien bestanden nicht. Die Gewichtsveränderungen der Testes wurden daher als nicht relevant angesehen (OECD 2004).

## 5.5.2 Entwicklungstoxizität

### Säure

In der unter Abschnitt 5.5.1 genannten 3-Generationen-Studie an Long-Evans-Ratten traten keine relevanten Änderungen bei Trächtigkeitsdauer, Wurfgröße, Überleben und Gewicht der Nachkommen bis zum 21. Laktationstag auf. Entsprechend der Richtlinie wurde keine morphologische Untersuchung der Feten durchgeführt. Aus dieser Studie ergab sich für die Nachkommen ein NOAEL von 310 mg ATMP/kg KG und Tag (OECD 2004).

### Salze

Die im Folgenden beschriebenen Versuche wurden mit Lösungen der Säure durchgeführt, welche mit Natronlauge auf pH-Werte um 7 eingestellt wurden. In diesem Bereich liegt ATMP als Natriumsalz mit 4 Natriumionen vor. Die Autoren der Berichte (HERA 2004; OECD 2004) interpretieren die Dosisangaben nicht als die der Salze, sondern als die der aktiven Säure, die auf ATMP mit 4 Natriumionen umgerechnet werden können.

In einer Entwicklungstoxizitätsstudie erhielten 24 Sprague-Dawley-Ratten pro Gruppe vom 6. bis 15. Gestationstag eine auf einen pH-Wert von 7,8 eingestellte ATMP-Lösung mit der Schlundsonde in Dosen von 0, 100, 500 oder 1000 mg/kg KG und Tag, berechnet als ATMP. Bei den Muttertieren war die Körpergewichtszunahme in der hohen Dosisgruppe um 12% reduziert. Relevante embryo- oder fetotoxische Effekte wurden bei 100 oder 500 mg/kg KG und Tag nicht beobachtet. Bei 6 von 16 Feten eines Wurfes der hohen Dosisgruppe waren häufig auftretende multiple Missbildungen (gebeugte Vorderpfoten, verkürzter und verdickter Rumpf, übertriebene Vorbeugung des Kopfes, bei zweien auch Malrotation des Herzens) zu beobachten, wobei das Muttertier als einziges dieser Dosisgruppe eine massiv geringere (-50%) Körpergewichtszunahme verzeichnete. Da bei der hohen Dosisgruppe sonst keine weiteren entwicklungstoxischen Effekte auftraten, wurde der NOAEL für Entwicklungstoxizität mit 1000 mg/kg KG und Tag bewertet. Der NOAEL für Maternaltoxizität wird mit 500 mg ATMP/kg KG und Tag angegeben (OECD 2004). Der NOAEL für Entwicklungstoxizität entspricht etwa 1300 mg ATMP-Tetranatriumsalz/kg KG und Tag.

Jeweils 35 CD-1-Mäuse je Dosisgruppe erhielten in einer Entwicklungstoxizitätsstudie vom 6. bis 15. Gestationstag eine auf einen pH-Wert von 7 neutralisierte ATMP-Lösung mit der Schlundsonde in Dosen von 0, 100, 500 oder 1000 mg ATMP/kg KG und Tag. Keine behandlungsbedingten Effekte fanden sich bei den Muttertieren aller Dosisgruppen. Vermehrt entwicklungstoxische Effekte waren ebenfalls nicht zu beobachten; lediglich bei sechs Feten eines Wurfes der mittleren Dosisgruppe wurden vermehrt Skelettmissbildungen (Fehlform der Tibia und Auffälligkeiten von Fibula, Rippen und Sternum) beobachtet. Da bei der hohen Dosisgruppe keine vergleichbaren Befunde auftraten, sehen die Autoren ATMP als nicht embryotoxisch und nicht teratogen an. Der NOAEL für maternale Toxizität und Entwicklungstoxizität wurde mit 1000 mg ATMP/kg KG und Tag angegeben (OECD 2004). Dieser NOAEL entspricht etwa 1300 mg ATMP-Tetranatriumsalz/kg KG und Tag.

## 14 Aminotris(methylenphosphonsäure) und ihre Natriumsalze

### 5.6 Genotoxizität

#### 5.6.1 In vitro

Der Salmonella-Mutagenitätstest (Spot- und Platteninkorporationstest) an den Stämmen TA98, TA100, TA1535 und TA1537 nach OECD-Prüfrichtlinie 471 in An- und in Abwesenheit metabolischer Aktivierung (Aroclor-induzierter S9-Mix von Ratte und Maus) ergab in keiner der Kombinationen einen Anstieg der Revertanten. ATMP war im Platteninkorporationstest in Konzentrationen von 0,01–10 µl/Platte einer 50%igen wässrigen Lösung (6,5–6500 µg ATMP/Platte) und im Spotttest in einer Konzentration von 25 µl/Platte, entsprechend 16,3 mg ATMP/Platte, eingesetzt worden. Die oberen Konzentrationen waren im Platteninkorporationstest zytotoxisch (OECD 2004).

In einem früheren Salmonella-Mutagenitätstest waren Konzentrationen von 0–12 mg ATMP-Tetranatriumsalz/Platte in An- und in Abwesenheit metabolischer Aktivierung durch Aroclor-induzierten S9-Mix an den Stämmen TA98 und TA100 nicht mutagen und nicht zytotoxisch. Kontrollen mit 2-Aminoanthracen, Methylmethansulfonat und Daunomycin waren positiv (OECD 2004).

Im Maus-Lymphomzelltest mit L5178Y Zellen nach OECD-Prüfrichtlinie 476 (Abweichung: keine Wiederholung durchgeführt) wurde ATMP als etwa 50%ige wässrige Lösung bis 1200 µl/l (entspricht 780 µg ATMP/ml) in An- und in Abwesenheit metabolischer Aktivierung (Aroclor-induzierter S9-Mix) eingesetzt. Toxizität trat bis zur Löslichkeitsgrenze bei 1200 µl/l nicht signifikant auf. Die Konzentration von 1200 µl/l mit metabolischer Aktivierung wurde wegen Präzipitation eliminiert. Genotoxizität trat in den Kulturen ohne metabolische Aktivierung nicht ein, dagegen eine dosisabhängige bis zu vierfach erhöhte Mutantenzahl in den Kulturen mit metabolischer Aktivierung. Die Autoren erklären das mit einem pH-Effekt (s. u.) (OECD 2004).

Bei einer Folgestudie nach OECD-Prüfrichtlinie 476 war die 50%ige ATMP-Lösung mit NaOH neutralisiert und wurde nur mit metabolischer Aktivierung in Konzentrationen von 0 bis 1200 µl/l, entsprechend 0 bis 780 µg aktive Säure/ml getestet. Ein erster Versuch wurde wegen des geringen Wachstums der Kontrollkulturen nicht gewertet. Im zweiten Versuch stieg die Zahl der Mutanten nicht an, Zytotoxizität trat nicht ein. Ab 610 µl/l trat Präzipitation auf. Das Ergebnis macht den niedrigen pH-Wert im ersten Versuch als Ursache für den positiven Befund plausibel. In beiden Versuchen reagierten die Positivkontrollen planmäßig (OECD 2004).

In einem In-vitro-Chromosomenaberrationstest nach OECD-Prüfrichtlinie 473 an CHO-Zellen war die Testsubstanz 40%iges ATMP-Pentanatriumsalz. In einem ersten Versuch wurden höhere Konzentrationen ohne metabolische Aktivierung drei Stunden lang eingesetzt. Bei Konzentrationen von 0, 1510, 2160, 3080 oder 4400 µg/ml (jeweils als aktives Salz) betrug der Prozentsatz der aberranten Zellen (in Klammern der Mitoseindex) 1 (100%), 3,5 (111%), 0 (112%), 3 (115%) bzw. 0 (86%). Mit metabolischer Aktivierung war das Resultat 1,0 (100%), 1,0 (110%), 8,0 (79%), 1,5 (85%) und 1,0 (59%). Im zweiten Versuch wirkte die Testsubstanz ohne metabolische Aktivierung über 17,8 Stunden ein. Bei Konzentrationen von 0; 31,3; 62,5; 125 oder 250 µg/ml betrug der Prozentsatz der aberranten Zellen (in Klammern der Mitoseindex) 0 (100%), 1,5 (57%), 0 (98%), 1,0 (57%) und 1,5 (60%). Bei 500 µg/ml betrug der Mitoseindex noch 10%. Wirkte die Testsubstanz mit metabolischer Aktivierung über einen Zeitraum von drei Stunden ein, wurde weder Mutagenität noch Zytotoxi-

zität beobachtet. Dabei war das Resultat bei gleichen Konzentrationen wie im ersten Versuch 2,0 (100%); 1,0 (91%); 1,5 (98%); 0,5 (94%) und 0,5 (94%). Die Positivkontrollen wirkten wie erwartet. Die erforderliche Höchstkonzentration für diesen Test von 10 mM wurde erreicht (OECD 2004).

### **5.6.2 In vivo**

Nachdem in einer Dosisfindungsstudie keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern gefunden wurden, wurde ATMP-Pentatrium-Natriumsalz in einem Mikronukleustest an sechs männliche CD-1-Mäuse nach OECD-Prüfrichtlinie 474 als 50%ige Lösung in Dosen von 500, 1000 oder 2000 mg aktives Salz/kg KG per Schlundsonde gegeben. Damit wurde die Maximaldosis für diesen Test eingesetzt. Die Behandlung führte bei keinem Tier zu klinischer Toxizität, auch nicht zu Zytotoxizität im Knochenmark bei der höchsten Dosis. Mikronukleus-haltige polychromatische Erythrozyten stiegen nach 24 und 48 Stunden (nur 2000 mg/kg KG) nicht an. ATMP war somit nicht klastogen (HERA 2004).

## **5.7 Kanzerogenität**

### **5.7.1 Kurzzeitstudien**

Hierzu liegen keine Angaben vor.

### **5.7.2 Langzeitstudien**

Nach der in Abschnitt 5.2.2 genannten Langzeit-/Kanzerogenitätsstudie erhielten je 70 Long-Evans-Ratten zwei Jahre lang Dosen von 0, 50, 150 oder 500 mg ATMP/kg KG und Tag mit dem Futter. Annähernd 50 Tiere je Gruppe überlebten bis zum Studienende. Nach Angabe der Autoren waren die Häufigkeiten von neoplastischen und nicht-neoplastischen Läsionen in allen Gruppen gleich. Ein einziges „Osteosarcoma Axilla“ bei einem Hochdosistier wurde von den Studienautoren als ungewöhnlicher Typ und Zufallsbefund bewertet (k. w. A.) (OECD 2004). Diesem Tumor kommt nach Ansicht der Kommission aus mehreren Gründen Bedeutung zu: Er ist bei der getesteten Spezies sehr selten; ATMP wird im Knochen extrem angereichert wie auch Natriumfluorid, das im Knochen vergleichbar stark akkumuliert und dort Osteosarkome auslöst; und das Osteosarkom ist offensichtlich als Zufallsbefund in der Axilla gefunden worden. Es ist unklar, ob die Knochen entsprechend der OECD-Prüfrichtlinie untersucht wurden, da nur die Untersuchung von Knochenmark explizit erwähnt wird.

## **5.8 Sonstige Wirkungen**

Hierzu liegen keine Angaben vor.

## **6 Bewertung**

Der systemische NOAEL von ATMP liegt bei oraler Gabe in einer 2-Jahre-Studie an Ratten im Bereich von 150 bis 500 mg/kg KG und Tag. Am Kaninchenauge war die Reizwirkung der Säure als Pulver deutlich, während gelöste Salze nur gering bis sehr gering reizend waren. Da jedoch weder Untersuchungen an Menschen noch Tierversuche zur lokalen Wirkung auf die Atemwege bei inhalativer Exposition vorliegen, kann

## 16 Aminotris(methylenphosphonsäure) und ihre Natriumsalze

kein MAK-Wert aus der 2-Jahre-Studie mit oraler Applikation abgeleitet werden. ATMP wird dem Abschnitt II b der MAK- und BAT-Werte-Liste zugeordnet.

In Entwicklungstoxizitätsstudien an Ratten und Mäusen waren ATMP-Salze bis zu maximalen Dosierungen von 1300 mg/kg KG und Tag nicht embryotoxisch oder teratogen. Unter der Annahme einer oralen Resorption von 2% ergibt sich hieraus eine bioverfügbare Dosis von 26 mg/kg KG und Tag, was (bei einem Körpergewicht von 70 kg und einem Atemvolumen von 10 m<sup>3</sup>) einer Konzentration von 182 mg/m<sup>3</sup> entspricht. In der Praxis ist das Auftreten eines Aerosols in diesem Konzentrationsbereich nicht wahrscheinlich; damit sind bei Inhalation auch keine fruchtschädigenden Wirkungen zu erwarten. Da jedoch kein MAK-Wert abgeleitet werden kann, kann auch keine Zuordnung zu einer Schwangerschaftsgruppe erfolgen.

Weder die Salze noch die Säure sind bei epikutaner Applikation akut toxisch. Die Hautresorption eines neutralen ATMP-Natriumsalzes beträgt im Tierversuch etwa 1%. Auch die berechneten Aufnahmemengen für die Säure sind sehr gering. Daher werden ATMP und deren Natriumsalze nicht mit „H“ markiert.

Zur Sensibilisierung liegt nur ein wenig valider negativer Maximierungstest mit ATMP vor. Zur Atemwegssensibilisierung gibt es keine Berichte. Eine Markierung mit „Sh“ oder „Sa“ wird daher nicht vorgenommen.

ATMP und ihre Salze sind nicht genotoxisch. ATMP löste in Maus-Lymphomzellen eine dosisabhängige, bis zum Vierfachen erhöhte Anzahl der Mutanten in den Kulturen mit metabolischer Aktivierung aus. Dieser Befund blieb bei der Wiederholung des Tests mit neutralisierter Säure aus. Er ist somit als pH-Effekt anzusehen. Es erfolgt daher keine Einstufung in eine der Kategorien für Keimzellmutagene.

In der einzigen Studie zur Kanzerogenität berichten die Autoren keine erhöhten Tumorzinidenzen. Es erfolgt daher keine Einstufung in eine der Kategorien für Kanzerogene. Ein einzelnes beobachtetes Osteosarkom ist angesichts der Seltenheit dieses Tumors und der hohen Akkumulation von ATMP im Knochen ein zu klärender Befund. Es ist jedoch unklar, ob die dazu notwendigen Untersuchungen der Knochen durchgeführt wurden, da nur die Untersuchung von Knochenmark explizit erwähnt wird.

## 7 Literatur

- Felsenberg D, Hoffmeister B, Amling M, Mundlos S, Seibel M, Fratzl P (2006) Kiefernekrosen nach hoch dosierter Bisphosphonattherapie. Dtsch Aertzbl 103: A3078–A3080
- 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, HERA, Brüssel, Belgien, <http://www.heraproject.com/RiskAssessment>. cfm
- Kay JH, Calandra JC (1962) Interpretation of eye irritation tests. J Soc Cosmet Chem 13: 281–289
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (2004) ATMP and salts (Phosphonic Acid Compounds Group 1), CAS Nr. 6419-19-8, OECD SIDS Initial Assessment Report, final draft, OECD, Paris, Frankreich, <http://cs3-hq.oecd.org/scripts/hpv/Index2.asp?CASNUM=6419198>
- 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 05.03.2008