

Die BG RCI ist seit 2010 Rechtsnachfolger der BG Chemie

# TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNGEN

**ISBN 0937-4248**

# Trioxan

Nr. **185**

CAS-Nr. 110-88-3



**BG Chemie**  
Berufsgenossenschaft der  
chemischen Industrie

ISSN 0937-4248

Die Erstellung der TOXIKOLOGISCHEN BEWERTUNGEN ist nach bestmöglicher Sorgfalt erfolgt, jedoch ist eine Haftung bei fehlerhaften Angaben oder Bewertungen ausgeschlossen.

© Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie, Heidelberg

Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung, vorbehalten. Nachdrucke - auch auszugsweise - nur mit ausdrücklicher Genehmigung der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie.

Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie  
Postfach 10 14 80, 69004 Heidelberg  
Telefon: 06221 523 (0) 400  
E-Mail: [ToxikologischeBewertungen@bgchemie.de](mailto:ToxikologischeBewertungen@bgchemie.de)  
Internet: [www.bgchemie.de/toxikologischebewertungen](http://www.bgchemie.de/toxikologischebewertungen)

# Trioxan

## Trioxane

### 1 Zusammenfassung und Bewertung

Trioxan wird nach oraler oder inhalativer Exposition vom Körper aufgenommen. Aus den vorliegenden Befunden ergeben sich keine Hinweise auf eine Aufnahme des Stoffes durch die Haut. Nach oraler Verabreichung an Ratten wird  $^{14}\text{C}$ -Trioxan mit einer Halbwertszeit von weniger als 24 Stunden wieder ausgeschieden. Nach 72 Stunden sind 85 bis 90 % des Stoffes ausgeschieden, und zwar 72 bis 74 % als  $\text{CO}_2$  über die Lunge, 13 bis 15 % mit dem Urin und 0,7 bis 0,8 % mit den Fäzes. Zu diesem Zeitpunkt können noch 1,8 % der verabreichten Radioaktivität im Gewebe nachgewiesen werden. Die intraperitoneale Verabreichung von  $^{14}\text{C}$ -Trioxan an Ratten führt zu vergleichbaren Ergebnissen. Die Ausscheidung aus dem Plasma erfolgt biphasisch im Sinn eines offenen 2-Kompartimenten-Systems mit Halbwertszeiten von 4,5 bis 6,8 und 55 bis 69 Stunden im Wesentlichen als  $\text{CO}_2$  über die Lunge. Nur 1 bis 2 % der eingesetzten Radioaktivität werden mit dem Urin ausgeschieden, mit den Fäzes nur Spuren. Innerhalb von 72 Stunden werden 8 % des eingesetzten Trioxans als unveränderter Stoff mit der Atemluft wieder ausgeschieden. Zu diesem Zeitpunkt können noch 1,2 bis 1,5 % der eingesetzten Radioaktivität im Gewebe nachgewiesen werden, vor allem in Leber und Nieren. In trächtigen Ratten kommt es nach einmaliger oraler Verabreichung von  $^{14}\text{C}$ -Trioxan am 19. Tag der Trächtigkeit ebenfalls zu einer schnellen Ausscheidung mit einer Plasmahalbwertszeit von 14,5 Stunden. Nach 24 Stunden sind noch 4,2 % der eingesetzten Radioaktivität in den Tieren nachweisbar, im Wesentlichen in der Leber, im Blutplasma und in den Feten. In Letzteren kommt es innerhalb der nächsten 24 Stunden zu einer Anreicherung der Radioaktivität, während dieselbe im Gewebe der Muttertiere weiter sinkt. Es wird vermutet, dass Trioxan im Körper zu wesentlichen Teilen zu Formaldehyd hydrolysiert und über Ameisensäure zu  $\text{CO}_2$  abgebaut wird. Eine Untersuchung mit Rattenvollblut zeigt, dass Trioxan nach 1-stündiger Inkubation nur in sehr geringem Maß im Blut umgesetzt wird. 73 bis 93 % des eingesetzten Stoffes sind unverändert wieder gefunden worden.

Trioxan ist nach einmaliger Verabreichung nur sehr gering toxisch. Als die orale  $\text{LD}_{50}$  für Ratten werden Werte von 7740 bis 9500 mg/kg Körperge-

wicht angegeben. Die einmalige dermale Behandlung von Kaninchen mit 3980 oder 15000 mg/kg Körpergewicht führt nicht zu Todesfällen oder deutlichen Zeichen von Toxizität. Die Inhalation von Trioxan in Konzentrationen von 26000 oder 39100 mg/m<sup>3</sup> bewirkt bei Ratten keine Todesfälle oder deutliche Zeichen von Toxizität. Nur bei einer Inhalation von einer bei 70 °C mit Trioxan gesättigten Atmosphäre für 8 Stunden sterben 4 der 6 eingesetzten Ratten. Die nach intraperitonealer Verabreichung von Trioxan bei Ratte und Maus gefundenen LD<sub>50</sub>-Werte liegen mit 850 und 1800 mg/kg Körpergewicht sehr weit auseinander, weisen aber insgesamt auch auf eine geringe akute Toxizität hin.

Nach einmaliger Behandlung der intakten Kaninchenhaut mit Trioxan werden keine Reizerscheinungen beobachtet. Verbleibt der Stoff für längere Zeit auf der Haut oder wird er über einen längeren Zeitraum mehrfach aufgetragen, so wirkt er reizend. Am Kaninchenauge wirkt Trioxan leicht bis stark reizend. Die Wirkung ist reversibel.

Ein hautsensibilisierender Effekt von Trioxan ist in mehreren Studien am Meerschweinchen nicht aufgetreten.

Wird Trioxan in einer Dosis von 1000 mg/kg Körpergewicht 4 Wochen lang täglich mit der Schlundsonde an Ratten verabreicht, so wird die Körpergewichtsentwicklung nicht beeinflusst. Die Leukozytenzahl ist am Behandlungsende signifikant erniedrigt, die  $\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase-Aktivität im Blut leicht erhöht sowie der Protein- und Glukose-Spiegel im Blut erniedrigt. Eine niedrigere Dosis von 200 mg/kg Körpergewicht wird als no effect level angesehen. Nach oraler Verabreichung von 850 mg Trioxan/kg Körpergewicht für 4 Monate oder 213 mg/kg Körpergewicht für 7 Monate (jeweils an 5 Tagen/Woche) an Ratten können außer einer Hemmung der Körpergewichtsentwicklung und bei der hohen Dosis Magenschleimhautreizungen keine toxischen Effekte beobachtet werden. Bei der inhalativen Exposition von Ratten (6 Stunden/Tag, 5 Tage/Woche, 2 Wochen lang) gegenüber einer Konzentration von 18179 mg/m<sup>3</sup> sind die Körpergewichtsentwicklung und am Behandlungsende das Milzgewicht vermindert. Die Nasenschleimhaut zeigt Plattenepithelmetaplasien mit Nekrosen und Desquamation. Bei der chronischen Inhalation von 50, 500 oder 2500 mg Trioxan/m<sup>3</sup> (5 Stunden/Tag, 5 Tage/Woche, 12 Monate lang) treten bei Ratten mit der Zeit zunehmende Störungen der Motorik auf, die jedoch nicht konzentrationsabhängig sind. Die Acetylcholinesterase-Aktivität im Blutserum

aller behandelten Ratten ist am Versuchsende um ca. 30 % erniedrigt. Bei den beiden höheren Konzentrationen treten Epithelläsionen der Trachea auf. 50 mg Trioxan/m<sup>3</sup> Luft wird als Schwellenkonzentration für Ratten bezeichnet. Die toxikologische Relevanz aller nach mehrfacher oder chronischer Verabreichung von Trioxan erhobener Befunde ist - abgesehen von Effekten auf die Körpergewichtsentwicklung und die Schleimhäute des Atemtraktes nach Inhalation - als fraglich anzusehen, da korrelierende histopathologische Befunde in keinem Fall erhoben werden können.

Trioxan erweist sich in Untersuchungen zur Erfassung von Genmutationen an Prokaryonten in 5 Salmonella/Mikrosomen-Testen als nicht mutagen. Das selbe gilt für einen HPRT-Test und einen Chromosomenaberrationstest an V79-Zellen des chinesischen Hamsters. Lediglich ein Maus-Lymphoma-Test zeigt bei Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems parallel zur sehr hohen Zytotoxizität ein positives Ergebnis. In vivo ergeben sich in einem Mikrokerntest an BALB/c-Mäusen sowie im Dominant-Letal-Test an Ratten ebenfalls keine Hinweise auf eine mutagene Wirkung. An männlichen Drosophila melanogaster führt Trioxan nach 12-tägiger inhalativer Exposition zu einem leichten Anstieg der geschlechtsgebundenen rezessiven Letalmutationen, während die 2- bis 8-tägige Gabe von Trioxan im Futter bei männlichen Larven bzw. adulten männlichen Tieren keinen Anstieg der rezessorischen Letalmutationen bewirkt. Zwei Untersuchungen zur Einwirkung von Trioxan auf die DNA von Rattenhepatozyten in vivo zeigen widersprüchliche Ergebnisse. Nach der einmaligen intraperitonealen Verabreichung von 425 oder 850 mg Trioxan/kg Körpergewicht werden Einzelstrangbrüche in der DNA der Hepatozyten beobachtet. Ein UDS-Test mit einmaliger oraler Applikation von bis zu 2000 mg Trioxan/kg Körpergewicht verläuft dagegen eindeutig negativ. Insgesamt zeigt Trioxan in den validen in vitro- und in vivo-Studien kein genotoxisches Potenzial.

In einer Studie zur Zelltransformation mit Kulturen von Embryonalzellen der Maus hat Trioxan keinerlei Effekte auf die Zahl von transformierten Zellen, wenn bis in einen Konzentrationsbereich mit sehr hoher Zytotoxizität geprüft wird.

Trioxan führt in hohen Dosierungen zu fetaler Letalität, verzögertem Wachstum und angeborenen Missbildungen der Feten. Nach oraler Behandlung von trächtigen Ratten vom 8. bis zum 20. Tag der Trächtigkeit an jedem zweiten Tag mit 770 mg Trioxan/kg Körpergewicht ist bei den Tieren

keine maternale Toxizität zu beobachten. Nach Tötung am 21. Tag zeigt sich, verglichen mit unbehandelten Kontrolltieren, in dieser Dosisgruppe ein Anstieg der Zahl der Resorptionen, eine Abnahme des fetalen Körpergewichtes und der Länge der Feten, die Missbildungen des Gehirns, der Nieren und des Skelettsystems aufweisen. Die Zahl der Feten mit verzögerter Ossifikation ist signifikant erhöht. Eine Dosis von 1550 mg/kg Körpergewicht verstärkt die beobachteten Effekte, führt aber auch zu maternaler Toxizität. Die tägliche orale Gabe von 190 mg Trioxan/kg Körpergewicht ist ohne Wirkung. Die Aussagekraft dieser Studie ist allerdings nur eingeschränkt, da bei einer Anzahl von Tieren in jeder Behandlungsgruppe einschließlich der Kontrollgruppen histopathologische Veränderungen der Plazenten diagnostiziert worden sind, deren Einfluss auf die Entwicklung der aufgetretenen fetotoxischen Effekte unklar ist. In einer weiteren Teratogenitätsstudie, die nach der OECD-Richtlinie Nr. 414 durchgeführt worden ist, mit täglicher oraler Behandlung von Ratten vom 7. bis zum 20. Tag der Trächtigkeit wird in der höchsten Dosisgruppe (1000 mg/kg Körpergewicht) eine leichte Retardierung der Körpergewichtsentwicklung der Muttertiere gesehen. Die Häufigkeit der Resorptionen ist nicht beeinflusst, aber es treten tote Feten auf. Auch werden Fälle von Aplasie des Schwanzes und der Wirbelsäule beschrieben sowie eine verlangsamte Ossifikation verschiedener Knochen. Auch in einer niedrigeren Dosisgruppe (315 mg/kg Körpergewicht) treten noch wellige oder verdickte Rippen sowie verzögerte Ossifikation auf. Der no effect level für die embryotoxische Wirkung liegt in dieser Untersuchung bei 100 mg/kg Körpergewicht. Die Muttertiere aller Dosisgruppen weisen eine erniedrigte korrigierte Körpergewichtszunahme (Körpergewichtszunahme zwischen dem 7. und 21. Tag der Trächtigkeit abzüglich des Uterusgewichtes) verglichen mit den Kontrollen auf; abgesehen davon treten keine maternaltoxischen Wirkungen des Trioxans auf. Werden trächtige Ratten vom 2. bis zum 20. Tag der Trächtigkeit mit einer Trioxan-Dosis von 1160 mg/kg Körpergewicht an jedem zweiten Tag oral behandelt, so verenden mehr als 90 % der spontan geworfenen Jungtiere in den ersten 4 Lebenstagen und die Wurfgröße ist gegenüber Kontrollen signifikant vermindert. 580 mg Trioxan/kg Körpergewicht in der gleichen Zeit täglich gegeben, führt zu einer Verlangsamung der Körpergewichtsentwicklung der Muttertiere, hat aber keinen Einfluss auf die Wurfgröße und die Entwicklung der Jungtiere. Allerdings ist bei diesen Jungtieren im Alter von 8 Wochen die motorische Aktivität signifikant gegenüber den Kontrollen erniedrigt. Im erlernten aktiven Vermeidungstest kommt es im Alter von 18

bis 19 Wochen zu einer signifikanten Erniedrigung der Reaktionsfähigkeit. Die Gabe von 190 mg Trioxan/kg Körpergewicht ist auch in dieser Untersuchung ohne jeden Effekt auf Mutter- und Jungtiere. Eine 7 Wochen lange orale Behandlung von weiblichen Ratten (5 Tage/Woche) mit 1160 mg Trioxan/kg Körpergewicht führt zu einer signifikanten Verlängerung des Östruszyklus, hauptsächlich des Diöstrus, die innerhalb einer Nachbeobachtungszeit von 4 bis 5 Wochen reversibel ist. Die Tiere zeigen unter der Behandlung auch deutliche Zeichen von Toxizität. Dosierungen von 190 und 580 mg/kg Körpergewicht sind ohne Einfluss auf den Östruszyklus.

Zwei nur sehr ungenügend dokumentierte Berichte weisen auf eine mögliche hautsensibilisierende Wirkung von Trioxan am Menschen hin.

Trioxan ist in die Kategorie R<sub>E</sub>3 der fortpflanzungsgefährdenden Stoffe „Stoffe, die wegen möglicher fruchtschädigender (entwicklungsschädigender) Wirkungen beim Menschen zur Besorgnis Anlass geben“ gemäß der EU-Einstufungskriterien in der TRGS 905 legal eingestuft worden.

## 2 Stoffname

2.1	Gebrauchsname	Trioxan
2.2	IUPAC-Name	1,3,5-Trioxacyclohexan
2.3	CAS-Nr.	110-88-3
2.4	EINECS-Nr.	203-812-5

## 3 Synonyme, Trivial- und Handelsnamen

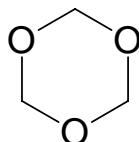
Aldeform  
Formaldehyde, cyclic trimer  
Formaldehyde trimer  
Marvosan  
Metaformaldehyd  
Metaformaldehyde  
Triformol  
1,3,5-Trioxacyclohexane  
Trioxane



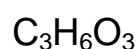
s-Trioxane  
 sym-Trioxane  
 1,3,5-Trioxane  
 Trioxymethylen  
 Trioxymethylene

## 4 Struktur- und Summenformel

4.1 Strukturformel



4.2 Summenformel



## 5 Physikalisch-chemische Eigenschaften

5.1	Molekularmasse, g/mol	90,08	
5.2	Schmelzpunkt, °C	60,2	(Lide und Frederikse, 1997)
		62 - 63	(Reuss et al., 2000)
		62 - 64	(Hoechst, 1989 a)
		64	(Budavari et al., 1996; Sax, 1999)
5.3	Siedepunkt, °C	114,5	(Budavari et al., 1996; Sax, 1999; Lide und Frederikse, 1997)
		115	(Hoechst, 1989 a; Reuss et al., 2000)
5.4	Dampfdruck, hPa	16,9 (bei 25 °C)	(Reuss et al., 2000)
		17,3 (bei 25 °C)	(Hoechst, 1989 a; Sax, 1999)
		41,6 (bei 37,5 °C)	
		377 (bei 86 °C)	
		440 (bei 90 °C)	(Reuss et al., 2000)
5.5	Dichte, g/cm <sup>3</sup>	1,17 (bei 65 °C)	(Budavari et al., 1996; Lide und Frederikse, 1997; Sax, 1999; Reuss et al., 2000)
		1,39 (als Kristalle)	(Reuss et al., 2000)

5.6	Löslichkeit in Wasser	sehr gut löslich (Lide und Frederikse, 1997; Sax, 1999) 172 g/l (bei 18 °C) 211 g/l (bei 25 °C) (Budavari et al., 1996; Reuss et al., 2000) 267 g/l (bei 25 °C) (Hoechst, 1989 a) vollständig löslich (bei 100 °C) (Reuss et al., 2000)
5.7	Löslichkeit in organischen Lösemitteln	löslich in Ethanol, Ether und Benzol (Lide und Frederikse, 1997) sehr gut löslich in Alkoholen, Ketonen, Ethern, Aceton, chlorierten und aromati- schen Kohlenwasserstoffen; nur wenig löslich in Pentan, Petrolether und niedrig molekularen Paraffinen (Budavari et al., 1996; Sax, 1999) löslich in Alkohol, Ketonen, Estern, orga- nischen Säuren, Ethern, Phenolen, chlo- rierten und aromatischen Kohlenwasser- stoffen; nur wenig löslich in aliphatischen Kohlenwasserstoffen (Reuss et al., 2000)
5.8	Löslichkeit in Fett	keine Information vorhanden
5.9	pH-Wert	keine Information vorhanden
5.10	Umrechnungsfaktor	1 ml/m <sup>3</sup> (ppm) $\triangleq$ 3,68 mg/m <sup>3</sup> 1 mg/m <sup>3</sup> $\triangleq$ 0,27 ml/m <sup>3</sup> (ppm) (bei 1013 hPa und 25 °C)

## 6 Herstellung, Produktionsmenge und Verwendung

### 6.1 Herstellung

Durch katalytische Trimerisierung von Formaldehyd in saurem Milieu (Reuss et al., 2000).

### 6.2 Hergestellte oder eingeführte Menge

Die weltweite Produktion 1997 betrug 380000 t (Reuss et al., 2000). Für die Bundesrepublik Deutschland sind keine publizierten Informationen vorhanden.

## 6.3 Verwendung

Hauptsächlich zur Herstellung von Kunststoffen (Polyoxymethylen) und als Formaldehyd abgebendes Material, da es unter geeigneten Bedingungen in - sehr reinen - Formaldehyd zerfällt, z. B. als Textilhilfsmittel, in Quervernetzern zur Herstellung von Karbonfasern, für die Holzbehandlung bei der Herstellung von Musikinstrumenten und in der Keramikindustrie. Es wird auch als Stabilisator, technisches Deodorant und Korrosionsschutz sowie als Zusatzstoff in Fotoentwicklern, als Festbrennstoff, in Oberflächenreinigern und als Desinfektionsmittel eingesetzt (Reuss et al., 2000).

## 7 Experimentelle Befunde

### 7.1 Toxikokinetik und Metabolismus

Nach Ergebnissen von Studien mit einmaliger oder wiederholter Verabreichung wird Trioxan nach oraler oder inhalativer Applikation vom Körper aufgenommen. Für die Aufnahme des Stoffes durch die Haut fehlen experimentelle Hinweise.

3 weibliche und 3 männliche Ratten (Sprague-Dawley, 221 bis 246 g schwer) wurden einmal mit einer Dosis von 2500 mg Trioxan/kg Körpergewicht mit der Schlundsonde behandelt. Das Trioxan war mit  $^{14}\text{C}$  radioaktiv markiert (keine nachvollziehbaren Angaben zur spezifischen Radioaktivität und zur Radioaktivitätsmenge). Die Tiere wurden in Stoffwechself Käfigen gehalten. Die im Urin, in den Fäzes sowie mit der Atemluft als  $\text{CO}_2$  ausgeschiedene Radioaktivität wurde nach 12, 24, 48 und 72 Stunden bestimmt. Nach 24 Stunden waren bei den Weibchen 58,5 % und bei den Männchen 63,3 % der verabreichten Radioaktivität wieder ausgeschieden. Nach 48 Stunden war die Ausscheidung so gut wie abgeschlossen. 72 Stunden nach der Behandlung hatten die Männchen insgesamt 90 % der Aktivität ausgeschieden, und zwar 73,8 % als  $\text{CO}_2$  in der Atemluft, 15,4 % mit dem Urin und 0,8 % mit den Fäzes. Die Weibchen schieden im gleichen Zeitraum 85,2 % der Radioaktivität aus, und zwar 71,5 % als  $\text{CO}_2$  in der Atemluft, 13 % mit dem Urin und 0,7 % mit den Fäzes. Im Gewebe der Weibchen und Männchen wurden noch je 1,8 % der verabreichten Radioaktivität wiedergefunden. Es bestanden damit bei der Aufnahme, Umsetzung und Ausscheidung von Trioxan keine Geschlechtsunterschiede bei den Ratten (Bio/dynamics, 1980 a).

Die Verteilung und Bindung von Trioxan im Gewebe wurde an trächtigen, 3,5 Monate alten Ratten untersucht.  $^{14}\text{C}$ -markiertes Trioxan (spezifische Radioaktivität angegeben als 3,6 MBq/mmol) wurde in einer Dosis von 40 mg/kg Körpergewicht (1,6 MBq/kg Körpergewicht), gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, einmalig mit der Schlundsonde an 3 Muttertiere am 19. Tag der Trächtigkeit verabreicht. 1, 2, 3, 5, 24, 27 und 48 Stunden später wurden je 30  $\mu\text{l}$  venöses Blut entnommen und die enthaltene Radioaktivität bestimmt. Der höchste Wert mit 4,67 % der insgesamt verabreichten Radioaktivität wurde nach 5 Stunden gefunden. Nach 48 Stunden betrug der Wert nur noch 0,6 %. Grafisch wurde eine Plasmahalbwertszeit von etwa 14,5 Stunden ermittelt. Weiterführend wurden Gruppen von ebenfalls 3 Muttertieren am 19. Tag der Trächtigkeit mit der gleichen Dosis an  $^{14}\text{C}$ -markiertem Trioxan oral behandelt und nach 3, 24 oder 48 Stunden getötet. Leber, Nieren, Lungen, Gehirn, Milz, Herz und Fettgewebe der Muttertiere sowie Leber, Nieren, Gehirn, ein Teil der Haut und der Restkörper der Feten wurden gewonnen und, soweit notwendig, nach Homogenisation auf Radioaktivität untersucht. Auch die Plazenta der Muttertiere sowie das Fruchtwasser wurden in gleicher Weise untersucht. Um die Bindung des radioaktiven Materials im Gewebe zu untersuchen, wurden die Homogenate mit 10-prozentiger Trichloressigsäure ausgefällt und mehrmals mit 70-prozentigem Alkohol gewaschen, bevor die Radioaktivität im Rückstand bestimmt wurde. In allen Gewebeproben und im Blutplasma der Tiere wurden in der Summe nach 3 Stunden 9 %, nach 24 Stunden 7,4 % und nach 48 Stunden 4,2 % der eingesetzten Radioaktivität wiedergefunden, wobei der weitaus größte Anteil in der Leber (3,3, 2,9 sowie 1,8 %), im Blutplasma (2,3, 1,5 sowie 0,6 %) und in den Feten (0,38, 0,29 sowie 0,16 %) jeweils bei den 3 Tötungszeitpunkten auftrat. Die anderen untersuchten Organe enthielten, abgesehen von den Nieren, nur Bruchteile dieser Radioaktivität. Aus den meisten Geweben und Körperflüssigkeiten erfolgte eine schnelle Ausscheidung der Radioaktivität, sodass nach 24 Stunden deutlich niedrigere Werte als nach 3 Stunden gemessenen wurden. Am schnellsten erfolgten die Ausscheidungen aus dem Gehirn der Muttertiere und aus dem Fruchtwasser, für die Halbwertszeiten von 8 bzw. 9 Stunden bestimmt wurden. In einigen Organen reicherte sich die Radioaktivität mit der Zeit allerdings weiter an, insbesondere in der Leber und den Nieren der Feten, sodass nach 48 Stunden deutlich höhere Radioaktivitäten in diesen Geweben gefunden wurden als nach 3 Stunden. Die Bestimmung der im Gewebe fest gebundenen Radioaktivität zeigte, dass der Anteil dieser Aktivität

an der gesamten gefundenen Aktivität mit der Zeit anstieg. Am niedrigsten war dieser Anteil im Gehirn der Muttertiere und ihrer Feten 3 Stunden nach der Behandlung mit Trioxan. Im Gehirn wie auch in den Nieren der Feten war der Anteil an fest gebundener Radioaktivität höher als in den entsprechenden Organen der Muttertiere. Der Plasma-Gewebe-Koeffizient für Trioxan wurde anhand der Verteilung der Radioaktivität für die wichtigsten Organe bestimmt. 3 Stunden nach der Verabreichung war die Trioxan-Konzentration nur in der Leber der Muttertiere höher als im Plasma, nach 24 Stunden dann auch in Leber und Nieren der Feten und nach 48 Stunden wiesen dann nur noch das Gehirn, Herz, Muskel und Fettgewebe der Muttertiere sowie das Fruchtwasser eine geringere Konzentration auf als das Plasma. In der Bewertung aller Ergebnisse kamen die Autoren zu dem Schluss, dass es im Fall einer wiederholten Verabreichung von Trioxan an trächtige Ratten zu einer Anreicherung dieses Stoffes oder eines seiner Metaboliten in Leber, Nieren und Gehirn des Fötus kommen kann, die deutlich größer ist als in den vergleichbaren Organen der Muttertiere (Sitarek et al., 1990).

In einer weiteren Untersuchung zur Verteilung und Ausscheidung und zum Metabolismus von Trioxan wurde zwei Gruppen von je 42 männlichen Ratten (Wistar, mittleres Körpergewicht 220 g)  $^{14}\text{C}$ -markiertes Trioxan (Radioaktivität/Tier angegeben als 870 kBq) in einer Dosis von 40 oder 400 mg/kg Körpergewicht einmalig intraperitoneal appliziert. Die Tiere wurden danach in Stoffwechsellkäfige verbracht und Urin und Fäzes im 24-Stunden-Abstand 72 Stunden lang gesammelt. In den ersten 14 Stunden wurden stündlich und dann nach 24 Stunden das ausgeatmete  $\text{CO}_2$  und nicht umgesetztes Trioxan in der Atemluft gesammelt und von allen Ausscheidungsprodukten die Radioaktivität bestimmt. Von jeweils 6 Ratten/Dosis wurden in Zeitintervallen jeweils 30  $\mu\text{l}$  Blut aus der Schwanzvene entnommen, Plasma und rote Blutzellen getrennt und auf Radioaktivität untersucht. Schließlich wurden Gruppen von jeweils 6 Tieren aus jeder Dosisgruppe nach 2, 8, 12, 24, 48 oder 72 Stunden getötet, Leber, Nieren, Lungen, Gehirn, Milz, Fettgewebe und der Ischiasnerv entnommen und auf ihren Gehalt an Radioaktivität untersucht. Nach der Applikation von 40 mg  $^{14}\text{C}$ -Trioxan/kg Körpergewicht wurde der Stoff fast vollständig als  $\text{CO}_2$  in den ersten 24 Stunden ausgeschieden (87 % der verabreichten Radioaktivität). Im Urin fanden sich im gleichen Zeitraum nur 2,2 % und in den Fäzes nur Spuren der verabreichten Radioaktivität. Insgesamt wurden inner-

halb von 72 Stunden 90 % der Aktivität ausgeschieden. Bei der hohen Trioxan-Dosis von 400 mg/kg Körpergewicht stieg die Ausscheidung von radioaktivem CO<sub>2</sub> zunächst bis zu 12 Stunden an. Innerhalb von 24 Stunden wurden 70 % der verabreichten Radioaktivität als CO<sub>2</sub> ausgeschieden. Daneben kam es zur Ausscheidung von nicht umgesetztem Trioxan vor allem in der ersten Stunde, die nach 24 Stunden 8 % der eingesetzten Radioaktivität betrug. Während dieses Zeitraumes wurde noch weniger Radioaktivität im Urin (1 %) und etwas mehr in den Fäzes (1,3 % nach 72 Stunden) ausgeschieden. Nach 72 Stunden waren insgesamt 80 % der eingesetzten Radioaktivität ausgeschieden. Die im Blut bestimmten Radioaktivitäten stimmten mit dem Ausscheidungsverlauf überein. Nach Applikation von 40 mg <sup>14</sup>C-Trioxan/kg Körpergewicht sank die Radioaktivität im Blut schnell wieder ab im Sinn eines offenen 2-Kompartimenten-Systems mit Halbwertszeiten von 4,45 und 69,3 Stunden. In den Erythrozyten wurden nur minimale Mengen der Radioaktivität gebunden. Bei der höheren Dosis von 400 mg <sup>14</sup>C-Trioxan/kg Körpergewicht war die Radioaktivitätsmenge in den Erythrozyten 10-mal höher als im Plasma. Sie nahm in den ersten Stunden in beiden Proben zu, fiel dann aber ab der 4. bis 6. Stunde schnell ab. Auch hier ergab sich eine biphasische Abnahme mit Halbwertszeiten von 6,8 und 55,4 Stunden für das Plasma und 1,7 und 32,8 Stunden für die Erythrozyten. In den untersuchten Geweben und im Plasma wurde im Verhältnis zur eingesetzten Radioaktivität nur wenig dieser Aktivität nachgewiesen. Nach Applikation von 40 mg <sup>14</sup>C-Trioxan/kg Körpergewicht zeigte sich die meiste Radioaktivität nach 2 Stunden in der Leber, während die niedrigsten Werte im Fettgewebe, dem Ischiasnerv und dem Gehirn gefunden wurden. Die Radioaktivität nahm mit der Zeit in allen Geweben und im Plasma deutlich ab. Nach 72 Stunden wurden nur noch 1,2 % der eingesetzten Radioaktivität im Körper gefunden. Bei der Behandlung der Tiere mit 400 mg <sup>14</sup>C-Trioxan/kg Körpergewicht trat der höchste Wert der Radioaktivität im Plasma auf sowie in der Leber und den Nieren. Im Plasma und in der Leber stieg der Wert in den ersten 8 bis 12 Stunden noch an, um dann, wie in den anderen Geweben auch, etwas abzufallen. Insgesamt war aber auch hier die im Körper verbleibende Radioaktivität verglichen mit der verabreichten gering und überschritt nicht 1,5 %. Die Untersuchungen zeigten, dass Trioxan nach intraperitonealer Applikation schnell aufgenommen wurde und sich im Blut und den Organen verteilte. Der Stoff wurde fast vollständig metabolisiert und als CO<sub>2</sub> mit der Atemluft ausgeschieden. Die Autoren nahmen an, dass Trioxan zu Formaldehyd hydrolysiert und da-

nach über Ameisensäure zu CO<sub>2</sub> oxidiert wurde. Die Ausscheidung erfolgte sehr schnell und es bestanden keinerlei Anzeichen dafür, dass Trioxan oder ein Metabolit oder Umsetzungsprodukt des Stoffes im Körper angereichert wurde (Ligocka et al., 1998).

Zur Untersuchung der Metabolisierung von Trioxan wurde Rattenvollblut mit 10, 100 bzw. 500 µl Trioxan/ml versetzt und bei 37 °C eine Stunde lang inkubiert. Die Wiederfindungsraten für Trioxan betragen im Mittel 73, 93 bzw. 80 % (Extraktion mit Methylenchlorid und anschließende gaschromatographische Messung). Die Autoren leiteten aus den Ergebnissen die Vermutung ab, dass Trioxan, wenn überhaupt, im Blut nur in geringem Maß zu Ameisensäure und/oder Formaldehyd metabolisiert wird. Trotz großen analytischen Aufwandes konnten jedoch diese beiden mutmaßlichen Metaboliten wegen methodischer Schwierigkeiten nicht bestimmt werden (Bio/dynamics, 1980 b).

## 7.2 Akute und subakute Toxizität

Die Befunde zur Bestimmung der akuten Toxizität von Trioxan sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Anfang Tabelle 1

Tabelle 1. Daten zur akuten Toxizität von Trioxan nach einmaliger Applikation					
Spezies, Stamm, Geschlecht*	Zufuhrweg	Dosis (mg/kg Körpergewicht)	Effekte	Nachbeobachtungszeitraum	Literatur
Ratte	oral	9500	LD <sub>50</sub> (Überlebenszeit 24 bis 48 Stunden); narkotische Wirkung	keine Angaben	Hoechst, 1963
Ratte	oral	8190	LD <sub>50</sub>	14 Tage	Rinehart et al., 1967
Ratte	oral	> 3200	LD <sub>50</sub> ; keine Todesfälle, Dyspnoe, Apathie, Sektion ohne Befund	7 Tage	BASF, 1968
Ratte, Wistar, männlich	oral	8500	LD <sub>50</sub> ; narkotische Wirkung	keine Angaben	Czajkowska et al., 1987; Indulski et al., 1986
Ratte, Wistar, weiblich	oral	7740	LD <sub>50</sub>	keine Angaben	Sitarek et al., 1988
Kaninchen	dermal	> 3980	LD <sub>50</sub> ; keine Todesfälle, leichte bis mäßige Erytheme, die innerhalb des Nachbeobachtungszeitraumes reversibel waren	14 Tage	Rinehart et al., 1967

Tabelle 1. Daten zur akuten Toxizität von Trioxan nach einmaliger Applikation					
Spezies, Stamm, Geschlecht*	Zufuhrweg	Dosis (mg/kg Körpergewicht)	Effekte	Nachbeobachtungszeitraum	Literatur
Kaninchen, weiße Wiener	dermal	> 15000	LD <sub>50</sub> ; narkotische Wirkung, keine Effekte an der Haut	keine Angaben	Czajkowska et al., 1987; Indulski et al., 1986
Ratte	inhalativ	bei 20 oder 70 °C gesättigte Atmosphäre, 8 Stunden lang	keine Todesfälle bei 20 °C gesättigter Atmosphäre; Atonie, Taumeln und Zittern der Tiere, Sektion ohne Befund; 4/6 Tieren gestorben bei 70 °C gesättigter Atmosphäre; Atemnot, Schleimhautreizungen, Taumeln, mehrfach verkrustete Schnauzen und Hyperämie der Lungen	keine Angaben	BASF, 1968
Ratte, Wistar, männlich	inhalativ	> 26000 mg/m <sup>3</sup> , 4 Stunden lang	LC <sub>50</sub> ; keine Todesfälle, Verlangsamung der Körpergewichtsentwicklung	14 Tage	Czajkowska et al., 1987; Indulski et al., 1986
Ratte	inhalativ	> 39100 mg/m <sup>3</sup> , 4 Stunden lang	LC <sub>50</sub> ; keine Todesfälle, Verringerung des Körpergewichtes, Dyspnoe	14 Tage	Celanese, 1986
Ratte	intraperitoneal	850	LD <sub>50</sub>	keine Angaben	Jaros-Kaminska et al., 1985
Maus	intraperitoneal	ca. 1800	LD <sub>50</sub> ; Dyspnoe, Springkrämpfe, Apathie, Spättodesfälle, Verwachsungen und Substanzreste im Bauchraum	7 Tage	BASF, 1968

\* soweit angegeben

Ende Tabelle 1

Danach lagen die LD<sub>50</sub>-Werte nach oraler Verabreichung an Ratten zwischen 7740 und 9500 mg/kg Körpergewicht. Nach dermalen Verabreichung an Kaninchen war die LD<sub>50</sub> > 3980 oder > 15000 mg/kg Körpergewicht. Auch die inhalative Belastung der Tiere mit Konzentrationen von bis zu 39100 mg/m<sup>3</sup> unter Normalbedingungen führte zu keinen deutlichen akuten toxischen Effekten. Es wurde allerdings berichtet, dass die Inhalation von bei 70 °C gesättigtem Trioxan-Gas-/Luftgemisch nach 8 Stunden bei 4/6 eingesetzten Ratten zum Tod führte. Der Stoff ist damit nach allen vorliegenden Befunden als nur sehr gering akut toxisch anzusehen.

Bei der oralen Verabreichung der sehr hohen Trioxan-Dosen an Ratten wurde neben eher unspezifischen Symptomen eine narkotische Wirkung des Stoffes beschrieben, die auch nach dermalen Applikation von 15000 mg Trioxan/kg Körpergewicht an Kaninchen aufgetreten sein soll. Die nach



intraperitonealer Verabreichung von Trioxan bei Ratte und Maus gefundenen LD<sub>50</sub>-Werte lagen mit 850 und 1800 mg/kg Körpergewicht sehr weit auseinander, wiesen aber insgesamt auch auf eine geringe Toxizität hin.

3 weibliche und 3 männliche Ratten (Sprague-Dawley, 221 bis 246 g schwer) wurden mit einer einmaligen Dosis von 2500 mg Trioxan/kg Körpergewicht oral behandelt. Nach der Behandlung erschienen die Tiere sehr inaktiv und motorisch gehemmt. Eine Ratte hatte eine sehr mühsame und beschleunigte Atmung. Die Symptome zeigten sich nur in den ersten 24 Stunden. Die nach 72 Stunden getöteten Tiere wiesen bei der Sektion keine behandlungsbedingten Effekte auf (Bio/dynamics, 1980 a).

In einem 4-Wochen-Versuch gemäß der OECD-Prüfrichtlinie Nr. 407 erhielten je 5 männliche und 5 weibliche Wistar-Ratten (Stamm Hoe:WISKf, SPF71, zu Versuchsbeginn ca. 6 Wochen alt) täglich (7-mal wöchentlich) 40, 200 bzw. 1000 mg Trioxan (Reinheitsgrad 99,1 %)/kg Körpergewicht als wässrige Lösung per Schlundsonde. Verhalten und allgemeiner Gesundheitszustand der Ratten waren normal. Die Körpergewichtsentwicklung wurde auch durch die höchste Dosis nicht beeinflusst, desgleichen der Futter- und Trinkwasserverbrauch. Todesfälle traten nicht auf. Die hämatologische Untersuchung ergab am Ende der Behandlungsperiode bei den männlichen und den weiblichen Ratten der 1000 mg/kg Körpergewicht-Gruppe eine statistisch signifikante Erniedrigung der Leukozytenzahlen. Die klinisch-chemischen Parameter zeigten bei den männlichen und weiblichen Tieren der oberen Dosisgruppe eine leichte Erhöhung der  $\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase-Aktivität; die weiblichen Ratten dieser Gruppe wiesen außerdem erhöhte Aktivitäten der Glutamat-Pyruvat- sowie der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase auf, weiterhin erniedrigte Protein- und Glukose-Spiegel. Die Sektion ergab keine auffälligen substanzbedingten Veränderungen, desgleichen die mikroskopische Untersuchung. Als no effect level ergab sich eine Dosis von 200 mg/kg Körpergewicht (Hoechst, 1990).

Je 5 männliche und 5 weibliche Sprague-Dawley-Ratten (mittleres Ausgangsgewicht 204 bzw. 199 g) inhalierten täglich 6 Stunden, 5-mal wöchentlich, 2 Wochen lang (10 Expositionen) 0 (Kontrollen), 100, 1000 oder 5000 ppm Trioxan (entsprechend 0, 368, 3680 bzw. 18400 mg/m<sup>3</sup>). Die mittleren analytischen Konzentrationen betragen 103, 984 und 4940 ppm (entsprechend 379, 3621 bzw. 18179 mg/m<sup>3</sup>). Es traten keine Todesfälle auf. Die Ratten der 5000 ppm-Gruppe zeigten herabgesetzte Stellreflexe,

persistente Pupillenverengung und während des größten Teils der Versuchszeit verminderte Körpergewichtszunahme. Hämoglobin- und Hämokritwerte sowie Erythrozyten- und Lymphozytenzahlen waren erhöht, während die Gesamtleukozyten und die segmentkernigen neutrophilen Granulozyten vermindert waren. Die Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase-Aktivität, das Gesamtprotein und Albumin waren leicht bis signifikant erhöht, der Blutzucker erniedrigt. Die toxikologische Signifikanz dieser Befunde wurde von den Autoren wegen der Abwesenheit von histopathologischen Korrelaten als unklar bezeichnet. Die relativen Milzgewichte der Tiere der höchsten Dosierungsgruppe waren erniedrigt. In der vorderen Nasenschleimhaut fand sich histopathologisch eine Plattenepithelmetaplasie mit Nekrosen und Desquamation. Außerdem bestand eine akute Rhinitis. Bei beiden Geschlechtern der 1000 ppm-Gruppe und bei den männlichen Ratten der 100 ppm-Gruppe trat als einziger behandlungsbedingter Effekt eine Verminderung der absoluten und relativen Milzgewichte auf (Bio/dynamics, 1983).

### **7.3 Haut- und Schleimhautverträglichkeit**

Eine Untersuchung auf hautreizende Wirkung erfolgte gemäß der OECD-Prüfrichtlinie Nr. 404 an 3 weiblichen weißen Neuseeland-Kaninchen (Anfangsgewicht 2,2 bis 2,5 kg) mit der Dosierung von 0,5 g Trioxan (Reinheitsgrad 99,1 %), angeteigt mit 0,2 ml 0,9-prozentiger Kochsalzlösung und einer Applikationsdauer von einmal 4 Stunden (semiokklusiv). 30 bis 60 Minuten sowie 24, 48 und 72 Stunden nach Entfernung des Stoffes wurden die Befunde bewertet. Zu keinem der Befundungszeitpunkte waren Reizungen zu beobachten (mittlere Reizwerte für Erythem und Ödem jeweils 0,0). Trioxan erwies sich also in diesem Versuch als nicht hautreizend (Hoechst, 1989 b).

Trioxan (gemahlen, auf feuchte Lämpchen aufgebracht) bewirkte an der geschorenen Kaninchenhaut nach 1-, 5- und 15-minütiger Einwirkung (semiokklusiv) keine Reizungen. Nach 20-stündiger Applikation (okklusiv) kam es 24 Stunden später zu leichter Rötung und starkem Ödem und nach 8 Tagen zu starken umschriebenen Nekrosen sowie starker Schuppenbildung (BASF, 1968).

An der intakten Kaninchenhaut bewirkten 500 mg Trioxan, die für 24 Stunden aufgetragen wurden, keine Reaktion. Die Bewertung nach der Draize-Skala ergab 0 (keine weiteren Angaben; Rinehart et al., 1967; Celanese, 1986).

Die einmalige Applikation von Trioxan auf die Haut von Kaninchen (weiße Wiener) führte zu keinerlei Reizerscheinungen. Wurde der Stoff 10 Tage lang täglich verabreicht, kam es zu einer leichten Hautreizung (keine weiteren Angaben; Indulski et al., 1986).

Die Bestimmung der hautreizenden Wirkung von Trioxan entsprechend der Methode nach Draize sowie die wiederholte tägliche Applikation des Stoffes zeigte keine Effekte (keine weiteren Angaben; Czajkowska et al., 1987).

3 weiße weibliche Neuseeland-Kaninchen (Anfangsgewicht 2,3 bis 2,7 kg) erhielten gemäß der OECD-Prüfrichtlinie Nr. 405 je einmal 100 mg Trioxan (Reinheitsgrad 99,1 %) in den Konjunktivalsack des linken Auges instilliert. Nach 24 und 48 Stunden wurden die Augen mit physiologischer Kochsalzlösung gespült. Die Beurteilung der Befunde erfolgte 1, 24, 48 und 72 Stunden nach der Applikation. 1 bis 48 Stunden nach der Behandlung zeigten die Tiere diffus karmesinfarbene bis diffus rot verfärbte Bindehäute sowie leichte Bindehautschwellungen. Zusätzlich wurde ein klarer farbloser Ausfluss beobachtet. Bei einem Tier war eine Stunde nach der Applikation die Cornea leicht getrübt und die Einzelheiten der Iris etwas verschattet. Nach 24 Stunden war sie gerötet. 72 Stunden nach der Instillation waren die Reizerscheinungen reversibel. Die mittleren Reizwerte lagen für Bindehautrötung bei 1,7, für Bindehautschwellung bei 0,7, für Iritis bei 0,1 und für Hornhauttrübung bei 0,0 (Hoechst, 1989 c). Die Autoren bewerteten die schleimhautreizende Wirkung von Trioxan anhand dieser Befunde nach den Einstufungskriterien der Richtlinie 83/467/EWG und der Gefahrstoffverordnung als nicht kennzeichnungspflichtig.

In einer Untersuchung zur Reizwirkung von Trioxan am Kaninchenauge wurden die Effekte nach der Draize-Bewertungsskala nach 24 Stunden mit 17 von 110 Punkten als leicht reizend bewertet. Nach 72 Stunden waren die Befunde noch nicht vollständig abgeklungen (keine weiteren Angaben; Rinehart et al., 1967).

Die einmalige Applikation von Trioxan in das Kaninchenauge führte zu einer starken Reizung (keine weiteren Angaben; Indulski et al., 1986).

Eine weitere Augenreizprüfung ergab beim Kaninchen nach einmaliger Applikation von 50 mm<sup>3</sup> gepulvertem Trioxan nach einer Stunde eine starke Rötung und ein sehr starkes Ödem der Konjunktiven sowie eine leichte Hornhauttrübung. Nach 24 Stunden war das Ödem etwas abgeklungen, die

anderen Befunde persistierten. 8 Tage nach der Behandlung waren die Erscheinungen jedoch völlig abgeklungen (BASF, 1968). Somit wirkte Trioxan in dieser Studie reizend am Auge.

24 Stunden nach der Behandlung jeweils eines Auges von 6 Kaninchen mit je 100 mg Trioxan war bei allen Tieren am belasteten Auge eine deutliche Konjunktivitis zu beobachten. In 3 Fällen trat eine Iritis, in 5 Fällen eine Trübung der Cornea und in 5 Fällen eine Ulzeration der Cornea auf. Nach 10 Tagen zeigten die Augen keinerlei Reizung mehr (keine weiteren Angaben; Celanese, 1986). Somit wirkte Trioxan in dieser Untersuchung stark reizend.

Am Kaninchenauge wurde Trioxan nach der Methode von Draize geprüft. Der Grad der Reizung betrug einen Tag nach der Applikation 58 von maximal 110 Punkten (stark reizend), nach 6 Tagen waren die Befunde vollständig abgeklungen (keine weiteren Angaben; Czajkowska et al., 1987). Somit wirkte Trioxan in dieser Untersuchung stark reizend am Auge.

#### **7.4 Sensibilisierende Wirkung**

Ein Maximierungstest am Meerschweinchen nach der OECD-Prüfrichtlinie Nr. 406 ergab, dass Trioxan (99,9-prozentig, Schuppenware) nicht sensibilisierend wirkte. Die intradermale Induktion erfolgte mit einer 5-prozentigen und die dermale Induktion mit einer 50-prozentigen wässrigen Lösung an 20 weiblichen Meerschweinchen (Anfangsgewicht 259 bis 319 g). Kontrollgruppen zu je 10 Tieren wurden entweder bei den Auslösungsterminen oder nur am zweiten Auslösungstermin ohne vorherige Induktion mit Trioxan behandelt. Sowohl nach der ersten Auslösung (20 Tage nach der intradermalen Induktion) als auch nach der zweiten Auslösung (27 Tage nach der intradermalen Induktion) jeweils mit einer 50-prozentigen Lösung wies keines der 20 behandelten Tiere eine positive Reaktion auf (BASF, 1989).

Eine Studie zur hautsensibilisierenden Wirkung von Trioxan wurde an männlichen Meerschweinchen (Stamm Hartley) mit einem Gewicht von ca. 300 g durchgeführt. 10 Tiere erhielten innerhalb von 10 Tagen 4 Applikationen von jeweils 0,1 ml einer Trioxan-Lösung (keine Angabe des Lösemittels und der Konzentration) auf die geschorene Rückenhaut appliziert. Die eingesetzte Konzentration wurde in einem Vorversuch als maximale nicht reizende Konzentration ermittelt. Zum Zeitpunkt der dritten Applikation wurden zusätzlich 0,2 ml Freund's Adjuvans intradermal neben der Applika-

tionsstelle für das Trioxan verabreicht (Split-Adjuvans-Test). Nach einer Wartezeit von 2 Wochen erfolgte die Auslösung mit Trioxan-Lösung auf der einen geschorenen Rückenseite und dem Lösemittel als Kontrolle auf der anderen geschorenen Rückenseite. 24 und 48 Stunden danach wurden die Tiere auf die Bildung von Ödemen und Erythemen hin beobachtet. Die mäßige Ausprägung dieser Hautveränderungen bei 2 oder mehr der 10 Tiere wurde als positives Ergebnis gewertet. Im Fall des Trioxans kam es nur bei einem Tier zu Effekten, sodass der Stoff als nicht hautsensibilisierend bewertet wurde (Rao et al., 1981).

In einem Maximierungstest am Meerschweinchen (Stamm Hartley) konnte kein hautsensibilisierendes Potenzial von Trioxan festgestellt werden (keine weiteren Angaben; Indulski et al., 1986).

Eine Untersuchung der sensibilisierenden Eigenschaften von Trioxan unter Verwendung der Methode von Magnusson und Kligman ergab ein negatives Ergebnis (keine weiteren Angaben; Czajkowska et al., 1987).

## **7.5 Subchronische und chronische Toxizität**

Gruppen von 8 bis 10 männlichen Wistar-Ratten (200 bis 230 g schwer) erhielten 106 bzw. 213 mg Trioxan/kg Körpergewicht/Tag an 5 Tagen/Woche, 7 Monate lang bzw. 850 mg/kg Körpergewicht/Tag an 5 Tagen/Woche, 4 Monate lang per Magensonde verabreicht. Die Dosierungen entsprachen  $\frac{1}{80}$ ,  $\frac{1}{40}$  bzw.  $\frac{1}{10}$  der LD<sub>50</sub>. Die Untersuchungen erstreckten sich auf Verhalten, monatliche Körpergewichtsentwicklung, Mortalität, Erythrozyten-, Leukozyten-, Thrombozyten-, Retikulozytenzahl, Hämatokritwert, Hämoglobingehalt, Differentialblutbild, Gerinnungszeit, Gesamtprotein-, Albumin-, Harnstoff- und Bilirubingehalt sowie Alaninaminotransferase-, Aspartataminotransferase-, alkalische Phosphatase-, Sorbitoldehydrogenase- und Acetylcholinesterase-Aktivität. Herz, Leber, Lungen, Milz, Nebennieren und Nieren wurden gewogen und histologisch untersucht. Die Körpergewichtsentwicklung der Tiere der 213 bzw. 850 mg/kg Körpergewicht-Gruppe war gegenüber der Kontrollgruppe um ca. 2,5 bzw. 5 % gehemmt, die der 106 mg/kg Körpergewicht-Gruppe um ca. 15 % erhöht. 213 bzw. 850 mg Trioxan/kg Körpergewicht führten zu Magenschleimhautreizungen. Eine kumulative Wirkung von Trioxan ließ sich, bezogen auf die Mortalitätsrate, nicht beobachten (keine weiteren Angaben; Czajkowska und Krysiak, 1987; Indulski et al., 1986).

In einer älteren, schlecht dokumentierten Untersuchung zur subakuten Toxizität von Trioxan wurde der Stoff an erwachsene Ratten mit dem Futter verabreicht, bis die Tiere nach 16 bis 67 Tagen verstarben oder nach 30 bis 99 Tagen getötet wurden. Es wurden keine Angaben zur verwendeten Trioxan-Dosis bzw. -Konzentration im Futter gemacht. Von den eingesetzten 14 Ratten zeigten die länger überlebenden eine hyperchrome Anämie sowie eine starke erythroblastische Reaktion im Knochenmark (7 Tiere). Alle Tiere nahmen kaum an Gewicht zu oder hatten ein verringertes Körpergewicht am Ende der Untersuchung. Die beobachteten Symptome gliederten sich nach einer Proteinmangelernährung (keine weiteren Angaben; Piette, 1948).

Gruppen von männlichen Wistar-Ratten (ca. 250 g schwer) bzw. weiblichen Himalaja-Meerschweinchen (ca. 280 g schwer) inhalierten 0 (Kontrollen), 50, 500 bzw. 2500 mg Trioxan/m<sup>3</sup> Luft 5 Stunden/Tag an 5 Tagen/Woche 12 Monate lang. Bei der Ratte wurden folgende Parameter untersucht: Verhalten, Körpergewicht, Futterverbrauch, Körpertemperatur und Mortalität, jeden Monat bis auf den 7. und 9. Monat die Motorik und das Verhalten in einem Laufrad, nach 3, 6 und 12 Monaten Erythrozyten-, Leukozyten-, Thrombozyten-, Retikulozytenzahl, Hämatokritwert, Hämoglobingehalt, Differentialblutbild, Gerinnungszeit, nach 1, 3, 6 und 12 Monaten Gesamtprotein-, Albumin-, Harnstoff-, Glukose-, anorganischer Phosphat-, Calcium-, Chloridgehalt, sowie Alaninaminotransferase-, Aspartataminotransferase-, Acetylcholinesterase-, alkalische Phosphatase- und Sorbitoldehydrogenase-Aktivität, nach 12 Monaten Harnzusammensetzung (Dichte, pH-Wert, Protein-, Glukose-, Keton-, Bilirubin-, Blutgehalt, Sediment). Nach der Sektion wurden Organe (keine weiteren Angaben) gewogen und lichtmikroskopisch, Leber und Trachea auch zusätzlich elektronenmikroskopisch untersucht. Bei den Meerschweinchen wurden nach jedem Expositionsmonat bis auf den 7., 9. und 11. Monat die Atemfrequenz sowie die Dauer der Inspirations- und Expirationsphasen ermittelt. Bei den Ratten bewirkte Trioxan eine zunehmende Störung der motorischen Koordination im Laufrad, die nach 12-monatiger Exposition in allen Behandlungsgruppen am ausgeprägtesten und signifikant war. Eine Konzentrations-/Wirkungsbeziehung bestand jedoch nicht. Die Acetylcholinesterase-Aktivität des Blutserums war am Expositionsende um ca. 30 % in allen Konzentrationsgruppen erniedrigt. 2500 mg Trioxan/m<sup>3</sup> führten zu histopathologischen Veränderungen der Nieren und des Atemtraktes, 500 bzw. 2500 mg/m<sup>3</sup> zu Epithelläsio-

nen der Trachea (keine weiteren Angaben). Bei der Konzentration von 50 mg/m<sup>3</sup> ließen sich keine histopathologischen Veränderungen erkennen. Die Meerschweinchen wiesen während der Behandlungszeit keine Veränderungen der Atmungsfunktion auf. 50 mg Trioxan/m<sup>3</sup> Luft wurden als Schwellenkonzentration für Ratten bezeichnet (Indulski et al., 1986).

## 7.6 Gentoxizität

### 7.6.1 In vitro

Die vorliegenden Befunde zur Gentoxizität von Trioxan in vitro sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Anfang Tabelle 2

<b>Tabelle 2. In vitro-Gentoxizitätsteste mit Trioxan</b>					
Testsystem	geprüfter Konzentrationsbereich (µg/Platte bzw. µg/ml)*	metabolisches Aktivierungssystem	Ergebnis		Literatur
			mit metabolischer Aktivierung	ohne metabolische Aktivierung	
<b>1 Teste auf Genmutationen an Bakterien</b>					
Escherichia coli Sd-4-73, Induktion von Streptomycin-unabhängigen Mutanten	„ein kleiner Kristall“	nicht verwendet	nicht geprüft	negativ	Szybalski, 1958
Salmonella typhimurium TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538, Standard-Platteninkorporationstest	0,5 - 5000 (keine Bakteriotoxizität)	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Litton Bionetics, 1980 a
Salmonella typhimurium TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538, Standard-Platteninkorporationstest	0,5 - 5000 (keine Bakteriotoxizität)	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Kowalski et al., 1984
Salmonella typhimurium TA 97, TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, Präinkubationstest	10000 (98 % rein)	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Zeiger et al., 1988
Salmonella typhimurium TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, Standard-Platteninkorporations- und Präinkubationstest	20 - 5000 (keine Bakteriotoxizität, 99 % rein)	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ in beiden Testen	negativ in beiden Testen	BASF, 1988

<b>Tabelle 2. In vitro-Gentoxizitätsteste mit Trioxan</b>					
Testsystem	geprüfter Konzentrationsbereich (µg/Platte bzw. µg/ml)*	metabolisches Aktivierungssystem	Ergebnis		Literatur
			mit metabolischer Aktivierung	ohne metabolische Aktivierung	
<b>2 Teste auf Genmutationen an Säugerzellen</b>					
Maus-Lymphom-Zellen L5178Y/TK+/-, Trifluor-thymidin-Resistenz-Test	313 - 15000 mg/ml ohne S9-Mix (Zytotoxizität nur gering), 156 - 7500 mg/ml mit S9-Mix (hohe Zytotoxizität ab 625 mg/ml)	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	positiv	negativ	Litton Bionetics, 1980 b
V79-Zellen des chinesischen Hamsters, HPRT-Test, 6-Thioguanin-Resistenz-Test	100 - 900 (99,9 % rein, keine Zytotoxizität)	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Hoechst, 1992 a
V79-Zellen des chinesischen Hamsters, Chromosomenaberrationstest	90,0 - 909 (99,9 % rein, keine Zytotoxizität)	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Hoechst, 1992 b
* sofern nicht angegeben, finden sich in den Publikationen keine Angaben zu zytotoxischen Wirkungen sowie zur Reinheit des verwendeten Trioxans					

Ende Tabelle 2

Die vorliegenden Gentoxizitätsstudien in vitro waren fast ausschließlich negativ. In 5 Testen unter Verwendung von Bakterien wurden nur negative Ergebnisse erzielt. Das gleiche gilt für einen HPRT-Test des chinesischen Hamsters und einen Chromosomenaberrationstest auch an V79-Zellen. Lediglich ein Test an Maus-Lymphom-Zellen zeigte bei Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems ein positives Ergebnis. Allerdings verlief der parallel durchgeführte Test ohne metabolische Aktivierung negativ. Beide Teste wurden mit sehr hohen Trioxan-Konzentrationen durchgeführt, die im Fall des positiv verlaufenen Testes mit metabolischer Aktivierung zu massiver Zytotoxizität führten. Das Ausmaß der mutagenen Wirkung war direkt an diese Zytotoxizität gekoppelt, sodass die Relevanz dieses Ergebnisses bezweifelt werden muss.

## 7.6.2 In vivo

In einem Mikronukleustest erhielten männliche BALB/c-Mäuse (7 bis 8 Wochen alt) 2125 bzw. 4250 mg Trioxan/kg Körpergewicht in zwei Dosen je



weils intraperitoneal verabreicht. Pro Dosisgruppe und Kontrolle wurden 4 Tiere eingesetzt. 6 Stunden nach der Behandlung wurden Knochenmarkpräparate aus dem Femur angefertigt. In der niedrigen Dosis- und der Kontrollgruppe wurden insgesamt 8000 polychromatische Erythrozyten, in der hohen 7550 ausgewertet. Verglichen mit der Kontrolle kam es nicht zum Anstieg mikronukleushaltiger polychromatischer Erythrozyten (Przybojewska et al., 1984).

In einem Dominant-Letal-Test erhielten männliche Wistar-Ratten 850 bzw. 1700 mg Trioxan/kg Körpergewicht/Tag an 5 Tagen/Woche 8 Wochen lang per Magensonde als wässrige Lösung verabreicht. Die Dosierungen entsprachen 10 bzw. 20 % der LD<sub>50</sub>. Pro Dosis- und Kontrollgruppe wurden 10 Tiere eingesetzt, die Kontrolltiere erhielten den Träger Wasser. Während jeder der 8 Behandlungswochen wurden die männlichen Tiere mit unbehandelten weiblichen Tieren im Verhältnis 1 : 2 gepaart. Die Sektion der weiblichen Ratten fand 13 bis 14 Tage nach der Mitte des Verpaarungsintervalls statt. Für die mit Trioxan behandelten Gruppen lagen der Fertilitätsindex sowie die Zahlen der lebenden und der toten Feten im Normalbereich. Es wurden keine substanzabhängigen dominanten Letalfaktoren beobachtet. Bei einigen männlichen Tieren ließen sich fokale Nekrosen des Epithels der Hodenkanälchen sowie eine Schädigung der Spermatogenese erkennen (keine weiteren Angaben; Baranski et al., 1984).

In einem weiteren Dominant-Letal-Test inhalierten männliche Wistar-Ratten 5 Stunden/Tag an 5 Tagen/Woche 12 Monate lang 2500 mg Trioxan/m<sup>3</sup> Luft in einer dynamischen Inhalationskammer. Pro Dosis- und Kontrollgruppe wurden 14 Tiere eingesetzt. Am Ende des Versuches wurden die männlichen Tiere mit unbehandelten Rattenweibchen im Verhältnis 1 : 2 gepaart. Die Sektion der weiblichen Tiere fand 13 bis 14 Tage nach der Mitte des Verpaarungsintervalls statt. Für die mit Trioxan behandelte Gruppe lagen der Fertilitätsindex sowie die Zahlen der lebenden und der toten Feten im Normalbereich. Es wurden weder substanzabhängige dominante Letalfaktoren beobachtet noch präimplantative Verluste festgestellt (Baranski et al., 1984).

Bei *Drosophila melanogaster* führte Trioxan nach inhalativer Exposition zu einem leichten Anstieg der geschlechtsgebundenen rezessiven Letalmutationen von 0,18 % in der Kontrollgruppe auf 1,02 %. Männliche Tiere wurden hierzu 12 Tage lang in einem geschlossenen Glasgefäß gegenüber 66,7 mg Trioxan/l Luft exponiert (keine weiteren Angaben zur Methodik).

Die Bewertung basierte auf 683 F<sub>1</sub>-Paaren (Kontrolle 4431 Paare). Die 2- bis 8-tägige Gabe von 10 bis 25 mg Trioxan im Futter bewirkte bei männlichen Larven bzw. adulten männlichen Tieren keinen Anstieg der rezessiven Letalmutationen. Es wurden 763 bzw. 917 F<sub>1</sub>-Paare untersucht (Kontrolle 5305 bzw. 5942 Paare; Filippova et al., 1967).

Zur Bestimmung der DNA-Schäden an Hepatozyten von mit Trioxan behandelten Tieren wurde 150 bis 200 g schweren Ratten eine Einzeldosis von 425 oder 850 mg/kg Körpergewicht (entsprechend der halben LD<sub>50</sub> oder der LD<sub>50</sub>) durch intraperitoneale Injektion verabreicht. 4 Stunden später wurden die Tiere getötet, die Lebern präpariert und die Einzelstrangbrüche der Hepatozyten mit der alkalischen Elutionsmethode bestimmt. Als Maß wurde die Elutionsgeschwindigkeitskonstante K und der DNA-Strangbruch-Index DFI herangezogen. K war für beide Dosierungen signifikant höher als bei unbehandelten Kontrolltieren. Eine Dosisabhängigkeit war jedoch nicht festzustellen. Beide Dosierungen führten zu einer Erhöhung um etwa 80 %. Der DNA-Strangbruch-Index hatte dagegen nur einen sehr kleinen Wert von 0,001 bis 0,002 im Vergleich zur mitgeführten Mitomycin-C-Kontrolle, die K um 160 % erhöhte und einen DFI von 2,56 hatte. Die Autoren gingen davon aus, dass Trioxan in der Lage ist, die physikalisch-chemischen Eigenschaften der DNA in Hepatozyten zu beeinflussen und damit ein mutagenes Risiko darstellt (Jaros-Kaminska et al., 1985).

In einem entsprechend den Prüfrichtlinien der OECD durchgeführten UDS-Test, in dem die DNA-Reparatur in Hepatozyten durch Messung des Einbaus von <sup>3</sup>H-Thymidin bestimmt wurde, wurde Gruppen von je 6 männlichen Wistar-Ratten (Chbb:THOM) mit einem mittleren Gewicht von 258 g Trioxan (99,9 % rein) in Dosierungen von 250, 500, 1000 oder 2000 mg/kg Körpergewicht, gelöst in Wasser, einmalig oral verabreicht. 4 und 18 Stunden danach wurden je 3 Tiere/Gruppe getötet und Hepatozyten aus den Lebern gewonnen. Diese wurden anschließend unter Zusatz von <sup>3</sup>H-Thymidin inkubiert und die DNA-Reparatur als eingebaute Radioaktivität nach 18 Stunden gemessen. In keinem Fall konnte eine Erhöhung der Radioaktivität in den Hepatozyten behandelter Ratten im Vergleich zur Kontrolle nachgewiesen werden, sodass das Testergebnis negativ war (BASF, 1997).

## **7.7 Kanzerogenität**

Zur kanzerogenen Wirkung liegen keine Untersuchungsergebnisse an Versuchstieren vor. In vitro wurde ein Zelltransformationstest an C3H 10T-1/2-

Zellkulturen (Embryonalzellen der Maus) durchgeführt. Kulturen mit je 300 Zellen wurden mit Trioxan-Konzentrationen von 0 (Kontrolle), 1, 10, 100, 500, 1000, 5000, 10000 oder 20000 µg/ml für 24 Stunden inkubiert und danach in normales Medium verbracht und darin weiter gehalten. Die Zytotoxizität wurde bis zu einer Konzentration von 10000 µg/ml gemessen und erreichte 48 %. Bei 20000 µg/ml trat keine Koloniebildung mehr auf. 11 Tage nach der Inkubation mit Trioxan wurde bei 6 Kulturen/Konzentration das Medium entfernt, der Zellrasen gewaschen, fixiert und angefärbt. Die gebildeten Kolonien wurden auf Transformationen untersucht. Die verbliebenen 6 Kulturen/Konzentration wurden weitere 27 Tage im Medium gehalten und dann ebenfalls wie die anderen Kulturen behandelt und ausgewertet. Weder an den nach 11 Tagen fixierten Zellkolonien noch an den über 38 Tage kultivierten konnten Transformationen beobachtet werden, während in den Positivkontrollen mit Benzo(a)pyren nach beiden Zeitpunkten Transformationen mit der erwarteten Häufigkeit auftraten (Environmental Pathology Laboratory, 1981).

## **7.8 Reproduktionstoxizität**

Die teratogene Wirkung von Trioxan wurde auch in einer Untersuchung entsprechend der Prüfrichtlinie Nr. 414 der OECD und der Richtlinie der EU geprüft. Gruppen von je 23 trächtigen Rattenweibchen (Wistar, 8 bis 10 Wochen alt) wurden vom 7. bis zum 20. Tag der Trächtigkeit mit einer wässrigen Lösung von Trioxan mit Dosierungen von 0 (Kontrollen), 100, 315 oder 1000 mg/kg Körpergewicht täglich oral mit der Schlundsonde behandelt. Am 21. Tag der Trächtigkeit wurden die Tiere getötet und seziiert. Bei allen Tieren wurde der Uterus gewogen, die Feten entnommen, die Zahl der lebenden und der toten Feten sowie der Resorptionen und der Gelbkörper bestimmt und alle Proben makroskopisch untersucht. Die Hälfte der Feten jedes Wurfes wurde mit Alkohol fixiert und nach Sektion auf Anomalien der inneren Organe untersucht. Anschließend wurden ihre Skelette nach Anfärbung mit dem Stereomikroskop befundet. Die verbliebenen Feten wurden in Bouins Lösung verbracht und auf Organanomalien überprüft. Die Behandlung mit Trioxan führte bei den Muttertieren zu keinen Todesfällen oder klinischen Zeichen von Toxizität. In der höchsten Dosisgruppe waren die Körpergewichtszunahme und die Futteraufnahme ab dem 10. Tag der Trächtigkeit bis zum Versuchsende leicht, aber statistisch

signifikant vermindert. Betrachtet man die korrigierte Körpergewichtszunahme (Körpergewichtszunahme zwischen dem 7. und 21. Tag der Trächtigkeit abzüglich des Uterusgewichtes), so war dieser Wert bei allen Dosierungen erniedrigt, besonders aber bei der höchsten Dosis. Das mittlere korrigierte Körpergewicht betrug in der Kontrollgruppe 33,60 g, in der niedrigsten Dosisgruppe 27,13 g, in der mittleren Dosisgruppe 28,96 g und in der höchsten Dosisgruppe 18,88 g. Bei der Sektion und bei der Bestimmung des Uterusgewichtes zeigten die behandelten Tiere keine Unterschiede zu den Kontrollen. Auch die Wurfgröße und Geschlechtsverteilung innerhalb der Würfe wurden durch Trioxan nicht beeinflusst. In der höchsten Dosisgruppe waren das Körpergewicht der Feten und ihre Länge erniedrigt, während das Plazentagewicht erhöht war. In der höchsten Dosisgruppe wurden signifikant vermehrt retardierte Feten gefunden. Die Häufigkeit von Resorptionen war durch die Gabe von Trioxan nicht beeinflusst. In der höchsten Dosisgruppe wurden 5 tote Feten in 5 Würfen beobachtet. Die morphologische Untersuchung der Feten aus der höchsten Dosisgruppe zeigte zwei Fälle von Aplasie des Schwanzes, verbunden mit Aplasien sakraler Wirbelbögen und -körper und kaudaler Wirbelkörper. Die Häufigkeit von Feten mit Knochendefekten war in dieser Dosisgruppe erhöht. Zusätzlich wurde eine verlangsamte Ossifikation verschiedener Knochen beobachtet. Auch in der mittleren Dosisgruppe zeigten die untersuchten Feten mit gesteigerter Häufigkeit wellige oder verdickte Rippen und verzögerte Ossifikation. Die niedrigste Dosis hatte keinen Effekt auf die Morphologie der Feten. Die Autoren gaben einen no observed effect level (NOEL) von 100 mg/kg Körpergewicht für die embryo- und fetotoxische Wirkung von Trioxan an. Für die maternale Toxizität wurde wegen des in allen Dosisgruppen erniedrigten korrigierten Körpergewichtes kein NOEL genannt (Hoechst Marion Roussel, 1998).

In einer Untersuchung, in der neben der Fertilitätsbeeinflussung durch Trioxan auch die Fähigkeit zur Auslösung von Dominant-Letal-Mutationen geprüft werden sollte (siehe auch Kapitel 7.6.2), wurden männlichen Ratten 0 (Kontrolle), 850 oder 1700 mg Trioxan/kg Körpergewicht täglich an 5 Tagen/Woche 8 Wochen lang oral verabreicht. Während jeder Behandlungswoche wurde jedes Männchen mit zwei Weibchen verpaart. In einer weiteren Untersuchung inhalierten die Männchen 5 Stunden/Tag an 5 Tagen/Woche eine Trioxan-Konzentration von 2500 mg/m<sup>3</sup> für 12 Monate und wurden anschließend über eine Woche mit je 2 Weibchen verpaart. Die Autopsie

der trächtigen Weibchen wurde 13 bis 14 Tage nach der Mitte des Verpaarungsintervalls ausgeführt. Es wurde kein Anstieg in der Zahl der Präimplantationsverluste, der toten Implantate und der lebenden Feten/Weibchen bei den behandelten Paaren, verglichen mit den Kontrollen, beobachtet. Trioxan beeinflusste die Fertilität der Männchen nicht, obgleich bei einigen behandelten Tieren die mikroskopische Untersuchung des Hodens fokale Nekrosen des Epithels der Hodenkanälchen sowie Veränderungen der Spermatogenese ergab (keine weiteren Angaben; Baranski et al., 1984).

Zur Prüfung der pränatalen Toxizität von Trioxan erhielten 3 Monate alte, trächtige Wistar-Ratten (205 bis 245 g schwer) in Gruppen von je 16 bis 22 Tieren vom 8. bis zum 20. Tag der Trächtigkeit jeden zweiten Tag jeweils 0 (Kontrolle), 770, 1550 oder 3870 mg/kg Körpergewicht (entsprechend  $\frac{1}{10}$ ,  $\frac{1}{5}$  oder  $\frac{1}{2}$  der vorher bestimmten oralen  $LD_{50}$ ) als 15-prozentige wässrige Lösung mit der Schlundsonde verabreicht. In einer zweiten Versuchsreihe wurden Gruppen von je 13 bis 17 trächtigen Wistar-Ratten vom 8. bis zum 20. Tag der Trächtigkeit täglich mit 0 (Kontrolle) bzw. 190 mg Trioxan (Formaldehyd-Gehalt 0,001 %) oder mit 20 mg Formaldehyd/kg Körpergewicht als 0,5-prozentige wässrige Lösung oral behandelt. Die Körpergewichtsentwicklung sowie der Futter- und Wasserverbrauch wurde bei allen Tieren bestimmt und die Tiere wurden am 21. Tag der Trächtigkeit getötet. Nach der Sektion wurden verschiedene Organe der Muttertiere gewogen und histopathologisch untersucht, einschließlich der Plazenten der Tiere. Die Embryo- und Fetalttoxizität sowie teratogene Effekte an den Feten wurden bestimmt. Während der Untersuchung traten bei den Tieren keine Todesfälle auf. Die mit den beiden höchsten Trioxan-Dosierungen behandelten Muttertiere zeigten eine Verlangsamung der Körpergewichtsentwicklung und ein Absinken der täglichen Futteraufnahme, verglichen mit den Kontrollen. In der Gruppe der mit 3870 mg Trioxan/kg Körpergewicht behandelten Tiere verringerte sich das absolute Gewicht der Leber und der Plazenta und erhöhte sich das relative Gewicht der Nieren und der Nebennieren. Das relative Nierengewicht war auch bei einer Dosis von 1550 mg/kg Körpergewicht erhöht. Bei der histopathologischen Untersuchung wurde eine erhöhte Mitoserate der Hepatozyten und eine hydropische Degeneration der Leber bei den Tieren der höchsten Dosisgruppe und eine erhöhte Mitoserate der Hepatozyten auch bei der mittleren Dosisgruppe beobachtet. Ein Teil der Plazenten der eingesetzten Muttertiere zeigten in allen Dosisgruppen und in den Kontrollgruppen histopathologische Verän-

derungen (Fibrinablagerungen, entzündliche Infiltrationen und fokale Nekrosen). Eine im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich erhöhte Anzahl der Tiere mit Veränderungen in den Plazenten wurde in der mittleren, mit 1150 mg/kg Körpergewicht behandelten Dosisgruppe gefunden (37/55, Kontrolle 26/81). Auch bei der Dosis von 190 mg/kg Körpergewicht, bei der die zum Vergleich herangezogene Kontrollgruppe mit 7/79 untersuchten Plazenten gegenüber der für die hohen Dosen mitgeführten Kontrollgruppe, in der 26/81 Plazenten betroffen waren, sehr niedrig lag, war die Anzahl der Tiere mit Veränderungen in den Plazenten im Vergleich zu der relativ niedrigen Inzidenz erhöht (21/87). Bei den Muttertieren, die Trioxan in Dosen von 770 oder 190 mg/kg Körpergewicht erhalten hatten, wurden sonst keine Hinweise auf eine maternaltoxische Wirkung des Stoffes gefunden. Ab einer Dosis von 770 mg/kg Körpergewicht stieg die Zahl der Resorptionen dosisabhängig an und es kam ebenfalls dosisabhängig zu einer Abnahme des fetalen Körpergewichtes und der Körperlänge der Feten. Bei den beiden höheren Dosen verringerte Trioxan die mittlere Anzahl lebender Feten/Wurf. Wegen der hohen intrauterinen Mortalität und der extrem kleinen Körpergröße der überlebenden Feten bei der höchsten Dosis war es hier nicht möglich, eine Untersuchung auf Missbildungen durchzuführen. Die Dosierungen 770 und 1550 mg/kg Körpergewicht führten zu Missbildungen des Gehirns, der Nieren und/oder des Skelettsystems und erhöhten signifikant die Zahl der Feten mit verzögerter Ossifikation. Keine derartigen Effekte wurden bei einer Dosis von 190 mg Trioxan/kg Körpergewicht oder 20 mg Formaldehyd/kg Körpergewicht beobachtet. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass Trioxan in ausreichend hohen Dosierungen an Ratten zu fetaler Letalität, verzögertem fetalem Wachstum und angeborenen Missbildungen führte. Diese Effekte traten nicht nur bei maternaltoxischen Dosen auf, sondern auch bei 770 mg/kg Körpergewicht. Eine Beteiligung von Formaldehyd an den beobachteten Wirkungen wurde ausgeschlossen. Die Aussagekraft dieser Untersuchung wurde allerdings durch die Tatsache eingeschränkt, dass bei einer Anzahl von eingesetzten Tieren in allen Behandlungsgruppen und den Kontrollgruppen histopathologische Veränderungen der Plazenten beobachtet wurden, deren Einfluss auf die Entwicklung der aufgetretenen fetotoxischen Effekte unklar ist (Sitarek et al., 1988).

Zur Bestimmung der Wirkung von Trioxan auf den gemessenen Östruszyklus der Ratte wurden Gruppen von 4 Monate alten weiblichen Tieren (mitt-

leres Gewicht 214 g) an 5 Tagen/Woche 7 Wochen lang mit wässrigen Trioxan-Lösungen oral mit der Schlundsonde behandelt. Es wurden Dosierungen von 0 (Kontrollen), 190, 580 oder 1160 mg/kg Körpergewicht verabreicht. Tägliche Vaginalabstriche wurden in den ersten 14 Tagen der Behandlung sowie in der 6. und 7. Behandlungswoche vorgenommen sowie in der 4. und 5. Woche nach Abschluss der Behandlung. Die beiden niedrigeren Dosierungen hatten keinerlei Einfluss auf die Länge des Zyklus und seine einzelnen Phasen. Die mit 1160 mg Trioxan/kg Körpergewicht behandelten Tiere zeigten in der 6. und 7. Woche eine signifikante Verlängerung des Zyklus im Vergleich zu den Kontrollen, die hauptsächlich auf eine Verlängerung des Diöstrus zurückzuführen war. Diese Tiere zeigten auch äußerliche Zeichen von Toxizität, wie struppiges Fell und Nasenausfluss, und waren in ihrer Körpergewichtsentwicklung signifikant gegenüber den Kontrollen gehemmt. Alle beobachteten Effekte waren im Lauf der Nachbeobachtungszeit reversibel. Die Autoren schlussfolgerten, dass Trioxan den Östruszyklus nur beeinflusst, wenn auch andere Veränderungen in Verbindung mit ausgeprägter Toxizität auftreten (Sitarek und Baranski, 1990 a).

In einer weiteren Untersuchung zur Reproduktionstoxizität von Trioxan wurde die postnatale Entwicklung der Nachkommen von Ratten untersucht, die während der Trächtigkeit mit dem Stoff behandelt worden waren. Gruppen von 14 bis 17 trächtigen Wistar-Ratten (4 Monate alt, 190 bis 210 g schwer) wurden vom 2. bis 20. Tag der Trächtigkeit entweder jeden zweiten Tag mit 190 oder 1160 mg Trioxan/kg Körpergewicht oder täglich mit 580 mg Trioxan/kg Körpergewicht in wässriger Lösung oral mit der Schlundsonde behandelt. Je eine Kontrollgruppe erhielt jeden zweiten Tag oder jeden Tag die entsprechende Menge Wasser verabreicht. Nach der Geburt zogen die Muttertiere die Jungen bis zu einem Alter von 28 Tagen auf. Gemessen wurde die Zahl der lebend und der tot geborenen Jungen und das Körpergewicht der Jungen bei der Geburt sowie die Körpergewichtsentwicklung der Heranwachsenden bis zu einem Alter von 19 Wochen. Zusätzlich wurde bei den Neugeborenen die morphologische Entwicklung verfolgt (Zeitpunkt der Öffnung der Augen sowie der Bildung der Schneidezähne). Im Alter von 4 und 8 Wochen wurde bei den Jungtieren die Zahl der Erythrozyten, der Hämatokritwert und der Hämoglobingehalt im Blut bestimmt. Auch Neuroentwicklungsparameter wurden in den ersten 2½ Wochen an den Jungtieren untersucht. In randomisierten Gruppen von 10 Jungtieren/eingesetzter Dosierung wurde im Alter von 8, 11 und 14 Wo-

chen die motorische Aktivität und in der 18. bis 19. Woche das Verhalten im erlernten aktiven Vermeidungstest gemessen. Keines der Muttertiere verendete unter der Trioxan-Behandlung oder zeigte klinische Zeichen von Toxizität. Die Behandlung mit 580 oder 1160 mg Trioxan/kg Körpergewicht bewirkte eine deutliche Verlangsamung der Körpergewichtsentwicklung. Bei den mit der höchsten Dosis behandelten Muttertieren kam es zu einer signifikanten Erniedrigung der Wurfgröße und über 90 % der zur Welt gebrachten Tiere starben, in den meisten Fällen innerhalb der ersten 4 Tage ihres Lebens, sodass hier keine weiteren Untersuchungen durchgeführt wurden. In den beiden niedrigeren Dosisgruppen kam es zu keiner Beeinflussung der Wurfgröße oder der Entwicklung der Jungtiere. Erythrozytenzahl, Hämatokritwert und Hämoglobingehalt wurden gegenüber der Kontrolle nicht verändert. Eine Dosis von 580 mg Trioxan/kg Körpergewicht setzte bei den männlichen Jungtieren im Alter von 8 Wochen die motorische Aktivität auf 70 % der Kontrollen herab und hatte auch bei den 8 und 14 Wochen alten weiblichen Jungtieren eine signifikante erniedrigende Wirkung auf die motorische Aktivität. Im erlernten aktiven Vermeidungstest kam es bei diesen Tieren zu einer signifikanten Erniedrigung der Reaktionsfähigkeit. In der 190 mg/kg Körpergewicht-Gruppe waren diese Effekte nicht zu beobachten (Sitarek und Baranski, 1990 b).

## **7.9 Wirkungen auf das Immunsystem**

Keine Information vorhanden.

## **7.10 Neurotoxizität**

Keine Information vorhanden.

## **7.11 Sonstige Wirkungen**

Keine Information vorhanden.

# **8 Erfahrungen beim Menschen**

Bei 84 Zahnärzten, Zahntechnikern und einschlägigem Hilfspersonal mit Kontaktekzem wurden Epikutanteste mit der Standardserie der CMEA-Län-



der und einigen Berufsallergenen durchgeführt. Trioxan wurde als Desinfektionsmittel im dentalen Bereich mit in die Untersuchungen einbezogen (5-prozentig in gelber Vaseline). Von den Patienten litten 31 (36,9 %) an einem berufsbedingten allergischen Ekzem. Unter diesen befand sich ein Fall mit einer Allergie gegen Trioxan (1,2 % des Patientenumfangs; Berova et al., 1990).

In einer nur sehr ungenügend dokumentierten älteren Untersuchung wurde an 66 Studenten der Zahnmedizin (24 männliche, 42 weibliche) überprüft, inwieweit sie eine Allergie gegenüber 12 Stoffen, u. a. auch Trioxan, entwickelten, mit denen sie während ihres Studiums innerhalb von 3½ Jahren häufig in Berührung gekommen waren. Die Probanden wurden zu Beginn der Studie mit allen 12 Stoffen im Epikutantest geprüft. 3 Personen zeigten gegen jeweils einen Stoff eine „manifeste“ Allergie, 9 eine „latente“ Allergie (keine Erklärung der Begriffe „manifest“ und „latent“). Am Ende der Studienzeit wurde die Untersuchung wiederholt. Jetzt wiesen 7 der Teilnehmer eine „manifeste“ Allergie auf. Eine „latente“ Allergie wurde bei 43 der Teilnehmer gefunden. Der prozentuale Anteil der positiv reagierenden weiblichen Teilnehmer war im Vergleich mit den männlichen Teilnehmern sehr hoch. Trioxan wirkte mit 28,8 % am stärksten allergisch, gefolgt von Chlorphenol-Campher (25,8 %), Eugenol (22,7 %) und Amalgam (15,2 %). Eine Aufschlüsselung nach „manifesten“ und „latenten“ Allergien wurde nicht gemacht und ein Bezug der Prozentzahlen nicht angegeben (keine weiteren Angaben; Dzhemileva et al., 1976).

## **9 Einstufungen und Grenzwerte**

Trioxan ist in die Kategorie R<sub>E</sub>3 der fortpflanzungsgefährdenden Stoffe „Stoffe, die wegen möglicher fruchtschädigender (entwicklungsschädigender) Wirkungen beim Menschen zur Besorgnis Anlass geben“ gemäß der EU-Einstufungskriterien in der TRGS 905 legal eingestuft worden (TRGS 905, 2002).

Aufgrund der unter Kapitel 7.5 beschriebenen subchronischen Inhalationsversuche mit Ratten wurde in Polen für Trioxan ein Arbeitsplatzgrenzwert von 15 (Mittelwert) bzw. 75 mg/m<sup>3</sup> (Spitzenbegrenzung) vorgeschlagen (Indulski et al., 1986) bzw. festgelegt (RTECS, 2002).

## **10 Arbeitsmedizinische Empfehlungen**

Allgemeine arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen in Anlehnung an die BG-Vorschrift „Arbeitsmedizinische Vorsorge“ (BGV A4, bisherige VBG 100) unter Beachtung von G 29 (Benzolhomologe) der berufsgenossenschaftlichen Grundsätze für arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen. Beachtung der möglichen fruchtschädigenden Wirkung.

## Literatur

Baranski, B., Stetkiewicz, J., Czajkowska, T., Sitarek, K., Szymczak, W.  
Evaluation of mutagenic and gonadotoxic properties of trioxane and dioxolane  
Med. Pr., 35, 245 - 255 (1984)

BASF AG, Gewerbehygienisch-Pharmakologisches Institut  
1,3,5-Trioxan - Gewerbetoxikologische Vorprüfung  
unveröffentlichter Bericht, Versuchs-Nr. XVIII/227 (1968)

BASF AG, Abteilung Toxikologie  
Report on the study of 1,3,5-trioxane (ZST test substance no.: 88/164) in the Ames test  
(standard plate test and preincubation test with *Salmonella typhimurium*)  
unveröffentlichter Bericht, Project No. 40M0164/884027 (1988)

BASF AG, Abteilung Toxikologie  
Report on the maximization test for the sensitizing potential of Trioxan-Schuppen in  
guinea-pigs  
unveröffentlichter Bericht, Project No. 30H0917/882359 (1989)

BASF AG, Abteilung Toxikologie  
In vivo unscheduled DNA synthesis (UDS) assay with 1,3,5-Trioxan in rat hepatocytes,  
single oral administration  
unveröffentlichter Bericht, Project No. 80M0125/964104 (1997)

Berova, N., Stransky, L., Krasteva, M.  
Studies on contact dermatitis in stomatological staff  
Dermatol. Monatsschr., 176, 15 - 18 (1990)

Bio/dynamics Inc., Department of Metabolism and Analytical Chemistry  
The metabolic fate of <sup>14</sup>C-s-trioxane after oral administration to rats  
unveröffentlichter Bericht Nr. 79030 (1980 a)  
im Auftrag der Celanese Corporation, New York

Bio/dynamics Inc., Department of Metabolism and Analytical Chemistry  
Determination of s-trioxane and its possible metabolites, formaldehyde and formic acid,  
after incubation in whole blood  
unveröffentlichter Bericht Nr. 79029 (1980 b)  
im Auftrag der Celanese Corporation, New York

Bio/dynamics Inc., Division of Biology and Safety Evaluation  
A two week inhalation toxicity study of C-235 in the rat  
unveröffentlichter Bericht, Project No. 82-7572 (1983)  
im Auftrag der Celanese Corporation, New York

Budavari, S., O'Neil, M.J., Smith, A., Heckelman, P.E., Kinneary, J.F (eds.)  
The Merck index  
12<sup>th</sup> ed., p. 1658  
Merck & Co., Whitehouse Station, New York (1996)

Celanese Engineering Resins, Inc., Chatham, New York  
Trioxane - specialty chemical - literature summary of toxicity information (1986)

- Czajkowska, T., Krysiak, B.  
 Experimental studies of toxic effects of 1,3,5-trioxane and 1,3-dioxolane. II. Accumulation of toxic effects  
 Med. Pr., 38, 244 - 249 (1987)
- Czajkowska, T., Krysiak, B., Popinska, E.  
 Experimental studies of toxic effects of trioxane and dioxolane. I. Acute toxic effects  
 Med. Pr., 38, 184 - 190 (1987)
- Dzhemileva, T., Dachev, B., Berova, N.  
 Medikamentöse Allergien bei Studenten der Stomatologie - Untersuchung der Dynamik (deutsche Übersetzung aus dem Bulgarischen)  
 Probl. Stomatol., 4, 55 - 64 (1976)
- Environmental Pathology Laboratory of the University of Minnesota, Minneapolis  
 An assay of cell transformation and cytotoxicity in C3H 10T 1/2 clonal cell line for the test chemical: C-235  
 unveröffentlichter Bericht (1981)  
 im Auftrag der Celanese Corporation, New York
- Filippova, L.M., Pan'shin, O.A., Kostyankovskii, R.G.  
 Chemical mutagens. IV. Mutagenic activity of geminal systems (englische Übersetzung aus dem Russischen)  
 Genetika, 3, 134 - 148 (1967)
- Hoechst AG, Gewerbe- und Arzneimitteltoxikologie  
 Trioxan  
 internes Schreiben (1963)
- Hoechst AG, Abteilung UCV  
 Datenblatt „Altstoffe“ - 1,3,5-Trioxan (1989 a)
- Hoechst AG, Pharma Forschung Toxikologie und Pathologie  
 Trioxan - Prüfung auf Hautreizung am Kaninchen  
 unveröffentlichter Bericht Nr. 89.0918 (1989 b)
- Hoechst AG, Pharma Forschung Toxikologie und Pathologie  
 Trioxan - Prüfung auf Augenreizung am Kaninchen  
 unveröffentlichter Bericht Nr. 89.0960 (1989 c)
- Hoechst AG, Pharma Forschung Toxikologie und Pathologie  
 Trioxan - Subakute orale Toxizität (28 Applikationen in 29 Tagen) an SPF-Wistar-Ratten  
 unveröffentlichter Bericht Nr. 90.0513 (1990)
- Hoechst AG, Pharma Development Central Toxicology  
 1,3,5-Trioxane - Detection of gene mutations in somatic cells in culture - HGPRT-test with V79 cells  
 unveröffentlichter Bericht Nr. 92.0840 (1992 a)
- Hoechst AG, Pharma Development Central Toxicology  
 1,3,5-Trioxane - Chromosome aberrations in vitro in V79 Chinese hamster cells  
 unveröffentlichter Bericht Nr. 92.0479 (1992 b)

Hoechst Marion Roussel GmbH, Global Preclinical Development Germany, Drug Safety  
Trioxan - Rat oral developmental toxicity (teratogenicity) study  
unveröffentlichter Bericht Nr. 97.0791 (1998)

Indulski, J., Czajkowska, T., Sokal, J.A., Stetkiewicz, J.  
MAC-values for trioxane and dioxolane at the work place proposed on the basis of animal studies

MEDICHEM'86, Fourteenth International Congress on Occupational Health in the Chemical Industry, pp. 548 - 556 (1986)

Jaros-Kaminska, B., Baranski, B., Palus, J.  
Interaction of trioxane and dioxolane with DNA in vitro and in vivo  
Stud. Biophys., 107, 205 - 214 (1985)

Kowalski, Z., Spiechowicz, E., Baranski, B.  
Absence of mutagenicity of trioxane and dioxolane in Salmonella typhimurium  
Mutat. Res., 136, 169 - 171 (1984)

Lide, D.R., Frederikse, H.P.R. (eds.)  
CRC handbook of chemistry and physics  
77<sup>th</sup> ed., p. 3-325  
CRC Press, Boca Raton, New York, London, Tokyo (1997)

Ligocka, D., Sapota, A., Jakubowski, M.  
The disposition and metabolism of 1,3,5-[U-<sup>14</sup>C]trioxane in male Wistar albino rats  
Arch. Toxicol., 72, 303 - 308 (1998)

Litton Bionetics Inc.  
Mutagenicity evaluation of C-120 in the Ames Salmonella/microsome plate test  
unveröffentlichter Bericht, Project No. 20988 (1980 a)  
im Auftrag der Celanese Corporation, New York

Litton Bionetics Inc.  
Mutagenicity evaluation of C-120 in the mouse lymphoma forward mutation assay  
unveröffentlichter Bericht, Project No. 20989 (1980 b)  
im Auftrag der Celanese Corporation, New York

Piette, M.M.  
Anémies par le trioxyméthylène chez le rat  
Ann. Pharm. Fr., 6, 207 - 210 (1948)

Przybojewska, B., Dziubaltowska, E., Kowalski, Z.  
Genotoxic effects of dioxolane and trioxane in mice evaluated by the micronucleus test  
Toxicol. Lett., 21, 349 - 352 (1984)

Rao, K.S., Betso, J.E., Olson, K.J.  
A collection of guinea pig sensitization test results - grouped by chemical class  
Drug Chem. Toxicol., 4, 331 - 351 (1981)

Reuss, G., Disteldorf, W., Gamer, A.O., Hilt, A.  
Formaldehyde - low molecular mass polymers: 11.2.1. Trioxane  
in: Ullmann's encyclopedia of industrial chemicals  
6<sup>th</sup> ed.  
Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim (2000)

- Rinehart, W.E., Kaschak, M., Pfitzer, E.A.  
Range-finding toxicity data for 43 compounds  
Ind. Hyg. Found. Am. Chem. Toxicol. Ser. Bull., 6, 1 - 11 (1967)
- RTECS (Registry of Toxic Effects of Chemical Substances)  
s-Trioxane, RTECS Number YK0350000  
produced by NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) (2002)
- Sax's dangerous properties of industrial materials  
s-Trioxane  
10<sup>th</sup> ed.  
John Wiley & Sons, Inc. (1999)
- Sitarek, K., Baranski, B.  
The effect of oral exposure to trioxane on the oestrous cycle in rats  
Pol. J. Occup. Med., 3, 209 - 213 (1990 a)
- Sitarek, K., Baranski, B.  
Effect of maternal exposure to trioxane on postnatal development in rats  
Pol. J. Occup. Med., 3, 285 - 292 (1990 b)
- Sitarek, K., Baranski, B., Stetkiewicz, J., Stetkiewicz, I.  
Teratogenicity, fetal and placental toxicity of 1,3,5-trioxane administered to pregnant female rats  
Pol. J. Occup. Med., 1, 51 - 61 (1988)
- Sitarek, K., Baranski, B., Sapota, A.  
Distribution and binding of 1,3,5-[U14C]-trioxane in maternal and fetal rats  
Pol. J. Occup. Med., 3, 83 - 94 (1990)
- Szybalski, W.  
Special microbiological systems. II. Observations on chemical mutagenesis in microorganisms  
Ann. NY Acad. Sci., 76, 475 - 489 (1958)
- TRGS (Technische Regeln für Gefahrstoffe) 905  
Verzeichnis krebserzeugender, erbgutverändernder und fortpflanzungsgefährdender Stoffe  
Ausgabe März 2001 (Bundesarbeitsblatt, Heft 3, 97 - 101 (2001)), zuletzt geändert: Bundesarbeitsblatt, Heft 10, 64 - 78 (2002)
- Zeiger, E., Anderson, B., Haworth, S., Lawlor, T., Mortelmans, K.  
Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals  
Environ. Mol. Mutagen., 11, Suppl. 12, 11 - 158 (1988)