

**1,2-Benzoldicarbonsäure, Di-9-11-verzweigte und lineare Alkylester
(CAS-NR.: 68515-43-5)**

Vorbemerkungen:

Bei Di-7-11-P handelt es sich um ein Phthalsäureestergemisch auf der Basis von verschiedenartig verzweigten Heptanolen, Nonanolen und Undecanolen.

Die CAS-Nr. eines Produktes mit stärker verzweigter Alkoholkomponente lautet 68515-42-4.

Daneben existiert auch zumindest ein Produkt von geringem Verzweigungsgrad, eine Mischung von Di-C7-C9-alkylphthalat [68515-41-3] und Di-C-9-C11-alkylphthalat [68515-43-5]. Weitere CAS-Nummern von Komponenten solcher Stoffe und Gemische sind 111381-89-6, 111381-90-9, 111381-91-0, 3648-20-2, 68515-44-6 und 68515-45-7.

Die linearkettigen und α -methylverzweigten Verbindungen sind weniger wirksam als die stärker verzweigten. Ferner sind die kürzerkettigen Diisoheptylphthalate (bzw. dessen Monoesterform) tendenziell als höher bioverfügbar und als toxikologisch aktiver anzusehen als die längerkettigen Diisononyl- bzw. Di-undecyl-Phthalat-Anteile.

Mutagene Effekte:

Es gibt nur wenige Daten zur Frage der mutagenen Wirkung.

Ein Produkt mit eher niedrigem Verzweigungsgrad wirkte negativ in einem Maus Lymphoma Test (Barber et al., 2000). Ein zuvor durchgeführter Maus Lymphoma Test hatte ein fragliches, nicht reproduzierbares Ergebnis gezeigt (Mitchell et al., 1983). Aufgrund der strukturellen Merkmale und in Analogie zu der sehr umfangreichen Datenbasis von Dibutyl-, Diethylhexyl- und Diisononyl-P (DBP, DEHP und DINP) zu diesem Endpunkt bestehen keine Verdachtsmomente auf eine gentoxische Wirkung.

Kanzerogenität:

In einer Langzeitstudie mit einem Produkt niedrigen Verzweigungsgrades (Alkoholkette linear und α -methyl-verzweigt), erhielten Fischer 344-Ratten die Substanz über 2 Jahre in den Konzentrationen von 300; 1.000 und 3.000 ppm im Futter (ca. 15, 50 und 150 mg/kg KG und Tag; n = 72/Dosis und Geschlecht). Während der Versuchszeit zeigten die Körpergewichte der männlichen Tiere aller

Dosisgruppen im Vergleich zur Kontrolle gegen Versuchsende eine Erhöhung um ca. 10 %, und zwar ohne Änderungen in der Futteraufnahme. Bei den weiblichen Tieren der höchsten Dosisgruppe wurde ein vermehrtes Auftreten von neoplastischen Veränderungen der Brustdrüsen registriert (6/61 gegenüber 1/55 in der Kontrollgruppe und 3/58 bzw. 2/59 in der unteren bzw. mittleren Dosisgruppe). In allen Dosisgruppen und bei beiden Geschlechtern wurde ferner eine um ca. 50 % erhöhte Inzidenz an mononukleären Zelleukämien beobachtet (Kontrollinzidenzen 20/72 bei männlichen und 18/70 bei weiblichen Tieren) und bei den männlichen Tieren aller Dosisgruppen eine erhöhte Inzidenz von Inselzelladenomen des Pankreas (0/68; 7/69; 12/71 und 4/71 mit steigender Dosis); bei den weiblichen Tieren betragen die Inzidenzen der Inselzelladenome (4/71; 4/69; 2/69 und 2/71). Die Häufigkeit der (bei diesem Rattenstamm häufigen und mit dem Körpergewicht zunehmenden) Leukämien lag noch im Bereich historischer Kontrollen. Mammatumor- und Inselzelladenomraten vergleichbarer Größenordnung waren gleichfalls schon zuvor in Kontrolltieren beobachtet worden und könnten im Rahmen der Spontanvarianz liegen und/oder auch (im Falle der Inselzelladenome) durch die höheren Körpergewichte begünstigt worden sein. Auch war eine Dosisabhängigkeit nicht zu beobachten. Die Autoren der Studie sahen unter Hinweis auf einige aufgeführte NCI-Studien mit gleichartigen Veränderungen im Tumorspektrum die beobachteten Häufungen nicht als Beleg für eine kanzerogene Wirkung (Thake and Houser, 1984; Hirzy, 1989). Eine Erhöhung der Lebergewichte wurde ferner im Rahmen einer pränatalen Toxizitätsstudie nachgewiesen (s. u.). Di-7-11-P ist ein schwacher Peroxisomenproliferator am Nager wie DEHP und DINP (Hirzy, 1989). Diese Form der Enzyminduktion ist mit einer generellen Lebervergrößerung verbunden und - zumindest initial - einer vermehrten DNA-Synthese. Bei Ratte und Maus stellt dies potentiell eine lebertumordisponierende Stoffwechselsituation dar.

Allerdings ist die tatsächliche Kanzerogenität der einzelnen Peroxisomenproliferatoren höchst unterschiedlich ausgeprägt. Von prognostischer Aussagekraft sind die Höhe der Wirkschwelle und das Ausmaß der Lebervergrößerung, weniger die maximale Peroxisomendichte und Enzymaktivität im Hochdosisbereich. Ausführlich untersucht in dieser Hinsicht wurden verschiedene lipidsenkende Pharmawirkstoffe sowie die mit Di-7-11-P strukturell verwandten Phthalsäureester DEHP und DINP. Die Phthalsäureester gehören zu den eher schwach wirksamen Verbindungen, und unter diesen zeigen DEHP und DINP wiederum eine relativ schwache Aktivität, so dass durchweg hohe Dosen zur Auslösung dieses Effektes erforderlich sind.

Nicht-Nager zeigen eine weitgehende Resistenz gegenüber dem Phänomen der Peroxisomenproliferation (s.u.) und der hiermit assoziierten Effekte wie Enzyminduktion, Hepatomegalie und Tumorinduktion. Hamster zeigen hingegen noch schwache Effekte (Lake et al., 1984).

Man nimmt heute an, dass die Speziesunterschiede auf Dichte und Funktionalität eines bestimmten Rezeptortyps zurückgehen, des peroxisomenstimulierenden (PPAR α -)Rezeptors, welcher bei Ratte und Maus in besonders hohem Maße und vollständiger Form exprimiert wird (Ashby et al., 1994; Bentley et al., 1993; Lee et al., 1995; Cattley et al., 1998; Maloney and Waxman, 1999). Die Stimulation der Rezeptoren führt in den Zielzellen dieser Spezies zu einer Vielzahl von Transkriptionen bzw. Genexpressionen und morphologisch zu einer Proliferation von

Zellorganellen (Peroxisomen, Mitochondrien, endoplasmatisches Retikulum), zur Suppression von Apoptose (Roberts et al., 1998) sowie zu einer zumindest initialen, bei manchen Stoffen auch kontinuierlichen Erhöhung der DNA-Synthese (Marsman et al., 1988) und Mitoserate nach Aktivierung der Kupffer'schen Sternzellen (Rose et al., 1997); die Leber ist in allen wirksamen Dosen auf längere Zeit vergrößert.

Transgene Mäuse, denen der peroxisomenstimulierende (PPAR α -)Rezeptor fehlt, zeigten mit besonders intensiv untersuchtem DEHP keine Peroxisomenproliferation, keine Hepatomegalie und keine vermehrte DNA-Synthese (Ward et al., 1998). Die Bioverfügbarkeit war gegeben, dies konnte man an den Hoden- und Nierenschädigungen sehen, die allerdings schwächer ausgeprägt waren als beim Wild-Typ. Auch war selbst mit der hochwirksamen Verbindung Wy-14,643 keine Hepatokanzerogenität an PPAR α -Knock-out-Mäusen mehr erkennbar (Peters et al., 1997).

Die menschliche Leber weist 1 - 10 % der funktionalen PPAR α -Rezeptordichte von Mäusen auf (Palmer et al., 1998). Hierin dürfte der Grund für die geringere toxikodynamische Empfindlichkeit des Menschen zu sehen sein, wie sie auch in vitro an Leberzellkulturen zum Ausdruck kommt (s.u.). Aus der langjährigen Erfahrung mit Fibrat-Therapien hat sich bisher kein Hinweis auf eine tumorigene Wirkung am Menschen ergeben.

In Leberzellkulturen von Kaninchen, Meerschweinchen, Marmosets und Menschen ließen sich mit DEHP bzw. DINP u.a. Peroxisomenproliferatoren bzw. ihren aktiven Metaboliten keine Effekte darstellen (Elcombe et al., 1997; Ashby et al., 1994; Butterworth et al., 1989; Dirven et al., 1993a; Goll et al., 1999; Hasmall et al., 1999).

Aufgrund der experimentellen und klinischen Erfahrungen werden Peroxisomenproliferatoren zur Zeit von IARC nicht als kanzerogen für den Menschen klassifiziert (IARC, 1995/1996). Diese Einschätzung wird überwiegend auch in neueren Publikationen geteilt, wenngleich sie heute differenzierter und mehr im Sinne quantitativer Unterschiede erfolgt (Cattley et al., 1998; Doull et al., 1999; Maloney and Waxman, loc. cit.).

Entwicklungsschäden und Reproduktionstoxizität:

Effekte auf Fertilität und Sexualorgane

Di-9-11-P wurde in einer 2-Generationenstudie an der Ratte geprüft. Die höchste Konzentration im Futter betrug 1 %; beide Elterngenerationen zeigten hierbei Körpergewichtsverminderungen, Leberschäden und verminderte Ovargewichte. Diese Effekte waren etwas schwächer ausgeprägt als beim parallel untersuchten Di-7-9-Phthalat. Auch die Nachkommen beider Generationen zeigten niedrigere Körpergewichte. Effekte auf die Fertilität wurden jedoch nicht beobachtet (Willoughby et al. 2000).

Entwicklungsschädigung

Pränatale Toxizitätsstudien

Kürzlich erschien eine Studie über die pränatale Toxizität eines Di-C₉-C₁₁-alkylphthalates (80 % lineare Alkohole, Rest mit überwiegend α -methylverzweigter Alkoholkette) an Sprague-Dawley-Ratten nach oraler Verabreichung von 250, 500 und 1.000 mg/kg vom 1. - 19. Trächtigkeitstag (Zubereitung in Olivenöl). Maternale Effekte wurden hierbei nicht beobachtet, auch keine Missbildungen. Di-9-11-P führte bei den Feten ab 500 mg/kg/Tag zu einer erhöhten Inzidenz an akzessorischen Lumbarrippen und nur bei 1000 mg/kg/Tag zu Nierenbeckenerweiterungen (Fulcher et al., 2001).

In diesem Zusammenhang wird darauf hingewiesen, dass z.B. lineares Di-n-octylphthalat (im Gegensatz etwa zu DEHP) nicht frucht- und fertilitätsschädigend ist (Foster et al., 1980; Hardin et al., 1987a,b; Heindel et al., 1989; Lamb IV et al., 1987, Oishi et al., 1990).

Fazit:

Mutagenität:

Aufgrund der strukturellen Merkmale und in Analogie zu der sehr umfangreichen Datenbasis von Dibutyl-, Diethylhexyl- und Diisononyl-P (DBP, DEHP und DINP) zu diesem Endpunkt bestehen keine Verdachtsmomente auf eine gentoxische Wirkung. Eine Kennzeichnung kommt gemäß den EG-Einstufungskriterien daher nicht in Betracht (M: -).

Kanzerogenität:

Aufgrund der Ergebnisse der 2-Jahresstudie mit Di-7-11-Phthalat an der Ratte und der generellen Kenntnis zu Speziesdifferenzen im Wirkbild von Peroxisomenproliferatoren erfolgt gemäß den EG-Einstufungskriterien keine Einstufung von Di-7-11-P (C: -).

Reproduktionstoxizität/Fertilitätsminderung:

Auch für Di-7-11-P mit höherem Verzweigungsgrad bestehen Verdachtsmomente auf eine hodenschädigende und fertilitätshemmende Wirkung an der Ratte, möglicherweise in kennzeichnungsrelevanten Dosisbereichen; zumal in der Gruppe der Phthalsäureester der enge Zusammenhang zwischen hodenschädigender und fruchtschädigender Wirkung belegt ist. Für linearkettige bzw. α -methylverzweigte Heptylphthalate wurden die Verdachtsmomente in 2-Generationsstudien entkräftet. Bei DEHP und DINP konnte für Primaten eine im Vergleich zur Ratte niedrigere Bioverfügbarkeit belegt werden. Ferner gibt es Hinweise auch auf eine geringere toxikodynamische Empfindlichkeit von Spezies ohne funktionell aktiven PPAR α -Rezeptor (Ward et al., 1998).

Aufgrund dieser Erfahrungslage erfolgt gemäß den EG-Einstufungskriterien für lineare bzw. a-methyl-verzweigte Produkte keine Einstufung (R_F: -).

Reproduktionstoxizität/Entwicklungsschädigung:

In einer Teratogenitätsstudie an Ratten führte das Di-9-11-Phthalat lediglich zu geringfügigen skelettalen (akzessorische Lumbarr Rippen) und viszeralen Variationen (erweiterte Nierenbecken).

Damit ergibt sich gemäß den EG-Einstufungskriterien für das Di-C9-C11-Phthalat eine Einstufung als entwicklungsschädigend Kategorie 3 (R_E: 3)

Literatur:

- [1] Ashby, J., Brady, A., Elcombe, C.R., Elliott, B.M., Ishmael, J., Odium, J. Tugged, J.D., Kettle, S., Purchase, I.F.H. (1994): Mechanistically-based human hazard assessment of peroxisome proliferator-induced hepatocarcinogenesis. *Hum. Exp. Toxicol.* 13, Suppl. 2, 1 - 117
- [2] Barber, E.D., Cofine, M., Rundell, J., Przygoda, R., Astill, B.D., Moran, E., Mulholland, A., Robinson, E., Schneider, B. (2000): Results of the L5178Y Mouse Lymphoma Assay and the Balb/3T3 Cell In Vitro Transformation Assay for Eight Phthalate Esters. *J. Appl. Toxicol.* 20, 69 - 80
- [3] Bentley, P., Calder, I., Elcombe, C., Grasso, P., Stringer, D., Wiegand, H.J. (1993): Hepatic peroxisome proliferation in rodents and its significance for humans. *Food Chem. Toxicol.* 31, 857 - 907
- [4] Butterworth, B.E., Smith-Oliver, T., Earle, L., Loury, D.J., White, R.D., Doolittle, D.J., Working, P.K., Cattley, R.C., Jirtle, R., Michalopoulos, G., and Strom, D. (1989): Use of primary cultures of human hepatocytes in toxicology studies. *Canc. Res.* 49, 1075 - 1084
- [5] Cattley, R.C., DeLuca, J., Elcombe, C., Fenner-Crisp, P., Lake, B.G., Marsman, D.S., Pastoor, T.A., Popp, J.A., Robinson, D.E., Schwetz, B., Tugwood, J., Wahli, W. (1998): Do peroxisome proliferating compounds pose a hepatocarcinogenic hazard to humans? *Regulatory Toxicol. and Pharmacol.* 27, 47 - 60
- [6] Dirven, H.A.A.M., van den Broek, P.H.H., Peeters, M.C.E., Peters, J.G.P., Mennes, W.C., Blaauboer, B.J., Noordbhoek, J., and Jongeneelen, F.J. (1993): Effects of the peroxisome proliferator mono(2-ethylhexyl) phthalate in primary hepatocyte cultures derived from rat, guinea pig, rabbit and monkey. *Biochem. Pharmacol.* 45, 2425 - 2434
- [7] Doull J., Cattley, R., Elcombe, C. Lake, B.G., Swenberg, J., Wilkinson, C., Williams, G., van Gemert, M. (1999) A Cancer Risk Assessment of Di(2-ethylhexyl)phthalate: Application of the New U.S. EPA Risk Assessment Guidelines. *Regul. Toxicol. and Pharmacol.* 29, 327 - 357

- [8] Elcombe, C.R., Bell, D.R., Elias, E., Hasmall, S.C., and Plant, N.J. (1997): Peroxisome proliferators species differences in response of primary hepatocyte cultures. *Annals New York Acad. Sci.* 804, 628 - 635
- [9] Foster et al. (1980): Study of the Testicular Effects and Changes in Zinc Excretion Produced by Some n-Alkyl Phthalates in the Rat. *Toxicol. and Appl. Pharmacol.* 54, 392 - 398
- [10] Fulcher, S.M., Willoughby, Chr. R., Heath, J.A., Veenstra, G.E., Moore, N.P. (2001): Development toxicity of di-(C₇-C₉ alkyl) phthalate and di-(C₉-C₁₁ alkyl) phthalate in the rat. *Reprod. Toxicol.* 15, 95 - 102
- [11] Goll, V., Alexandre, E., Viollon-Abadie, C., Nicod, L., Jaeck, D., Richert, L. (1999): Comparison of the Effects of Various Peroxisome Proliferators on Peroxisomal Enzyme Activities, DNA Synthesis, and Apoptosis in Rat and Human Hepatocyte Cultures. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 160, 21 - 32
- [12] Hardin, B.D., Schuler, R.L., Burg, J.R., Booth, G.M. Hazelden, K.P., MacKenzie, K.M., Piccirillo, V.J. Smith, K.N. (1987a): Evaluation of 60 Chemicals in a Preliminary Developmental Toxicity Test. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.* 7, 29 - 48.
- [13] Hardin, B.D. (1987b): A Recommended Protocol for the Chernoff/Kavlock Preliminary Developmental Toxicity Test and a Proposed Method for Assigning Priority Scores Based on Results of That Test. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.* 7, 85 - 94
- [14] Hasmall, S.C., James, N.H., Macdonald, N., West, D., Chevalier, S., Cosulich, S.C., Roberts, A.R. (1999): Suppression of apoptosis and induction of DNA synthesis in vitro by the phthalate plasticizers monoethylhexylphthalate (MEHP) and diisononylphthalate (DINP): a comparison of rat and human hepatocytes in vitro. *Arch. Toxicol.* 73, 451 - 456
- [15] Heindel et al. (1989) Reproductive Toxicity of Three Phthalic Acid Esters in a Continuous Breeding Protocol. *Fund. Appl. Toxicol.* 12, 508 - 518
- [16] Hirzy, J.W. (1989): Carcinogenicity of general-purpose phthalates: structure-activity relationships. *Drug Metabol. Rev.* 21, 55 - 63
- [17] IARC (1995): Peroxisome proliferation and its role in carcinogenesis. Views and expert opinions of an IARC Working Group Lyon, 7 - 11 Dec. 1995, IARC Technical Report No. 24, Lyon
- [18] IARC (1996): Clofibrate. Gemfibrozil. In: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans, some pharmaceutical drugs, Vol. 66, Lyon
- [19] Lake, B.G., Gray, T.J.B., Foster, J.R., Stubberfield, C.R., and Gangolli, S.D. (1984): Comparative studies on di-(2-ethylhexyl) phthalate-induced hepatic peroxisome proliferation in the rat and hamster. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 72, 46 - 60
- [20] Lamb IV., J.C., Chapin, R.E., Teague, J., Lawton, A.D., Reel, J.R. (1987): Reproductive Effects of Four Phthalic Acid Esters in the Mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 88, 255 - 269

- [21] Lee, S.S., Pineau, T., Drago, J., Lee, E.J., Owens, J.W., Kroetz, D.L., Fernandez-Salguero, P.M., Westphal, H, Gonzales, F.J. (1995): Targeted disruption of the alpha isoform of the peroxisome proliferator-activated receptor gene in mice results in abolishment of the pleiotropic effects of peroxisome proliferators. *Mol. Cell. Biol.* 15, 3012 - 3022
- [22] Maloney, E.K. and Waxman, D.J. (1999): Trans-Activation of PPAR α and PPAR γ by Structurally Diverse Environmental Chemicals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 161, 209 - 218
- [23] Marsman, D.S., Cattley, R.C., Conway, J.G., Popp, J.A. (1988): Relationship of hepatic peroxisome proliferation and replicative DNA synthesis to the hepatocarcinogenicity of the peroxisome proliferators, di(2-ethylhexyl)phthalate and [4-chloro-6-(2,3-xylidino)-2-pyrimidini-[thio]acetic acid (Wy-14,643) in rats. *Cancer Res.* 48, 6739 - 6744
- [24] Mitchell, A.D., Rudd, C.J., Coleman, R.L. (Feb. 1983): SRI-Proj. LSC-2575. Unveröffentlichter Bericht an Monsanto SR-8-017
- [25] Oishi, S. (1990): Effects of phthalic acid esters on testicular mitochondrial functions in the rat. *Arch. Toxicol.* 64, 143 - 147
- [26] Palmer, C.A.N., Hsu, M.H., Griffin, K.J., Raucy, J.L., Johnson, E.F. (1998): Peroxisome proliferator activated receptor- α expression in human liver. *Mol. Pharmacol.* 53, 14 - 22
- [27] Peters, J.M., Cattley, R.C., and Conzalez, F.J. (1997): Role of PPAR α in the mechanism. *Food Additives and Contaminants* 8, 701 - 706
- [28] Roberts, R.A., James, N.H. Woodyatt, H.J., Macdonald, N. Tugwood, J.D. (1998): Evidence for the suppression of apoptosis by the peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPAR alpha). *Carcinogenesis* 19, 43- 48 (1998)
- [29] Rose, M.L., Germolec, D.R., Schoonhoven, R., Thurman, R.G. (1997): Kupffer cells are causally responsible for the mitogenic effect of peroxisome proliferators. *Carcinogenesis* 18, 1453 - 1456
- [30] Thake, D.C., Houser, R.M. (1984): A chronic toxicity study of Santicizer® 711 in Fischer 344 rats. Monsanto Corp. Rep. MSL-3444; March 1984
- [31] Ward, J.M., Peters, J.M., Perella, C.M., Gonzalez, F.J. (1998): Receptor and Nonreceptor-Mediated Organ-Specific Toxicity of Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in Peroxisome Proliferator-Activated Receptor a-Null Mice. *Toxicol. Pathol.* 26, 240 - 246
- [32] Willoughby, C.R., Fulcher, S.M., Creasy, D.M., Health, J.A., Priston, R.A.J., Moore, N.P., (2000): Two-generation reproduction toxicity studies of di(C₇-C₉ alkyl) phthalate and di-(C₉-C₁₁ alkyl) phthalate in the rat. *Reprod. Toxicol.* 14, 427 – 450.