

Toxizität von Ketoximen

1 Einleitung

Silikon-Dichtmassen enthalten Reagenzien zur Vernetzung, die bei der Aushärtung Ketoxime freisetzen. 2-Butanonoxim abspaltende Reagenzien werden derzeit am häufigsten eingesetzt. Für den Krebsverdachtsstoff 2-Butanonoxim (Methylethylketoxim, MEKO) wurde 2013 ein AGW von 1 mg/m³ festgelegt. Simulierte Arbeitsplatzmessungen der BG Bau zeigen, dass bei Arbeiten in geschlossenen Räumen (z. B. bei der Abdichtung von Fugen beim Ausbau von Badezimmern) mit erheblich höheren Luftkonzentrationen von 2-Butanonoxim als 1 mg/m³ zu rechnen ist.

Seitens der Hersteller von Silikon-Dichtmassen sind Tendenzen zu erkennen, auf Vernetzungsreagenzien auszuweichen, die anstelle von 2-Butanonoxim andere, zu 2-Butanonoxim homologe Ketoxime freisetzen. Bei diesen Ketoximen handelt es sich z. B. um Acetonoxim, 2-Pentanonoxim (MPKO) oder Methylisobutylketoxim (MIBKO).

In dieser Stellungnahme werden in kurzer Form zunächst wesentliche Aspekte der toxischen Wirkweise von 2-Butanonoxim sowie die Grundlagen der Ableitung des AGW der „Begründung zu Butanonoxim in TRGS 900“ [1] zusammengefasst. Es folgen ein Überblick bezüglich der Datenlage zur Toxizität der für die Substitution von 2-Butanonoxim relevanten Ketoxime und eine Einschätzung deren toxischen Potenzials.

2 Toxizität von 2-Butanonoxim (CAS 96-29-7)

Erkenntnisse zur Toxizität von 2-Butanonoxim basieren in erster Linie auf Tierversuchen. Im Vordergrund stehen Methämoglobinbildung¹ sowie adverse Effekte auf die Milz, Lebertoxizität und –kanzerogenität und Degeneration des olfaktorischen Epithels² (empfindlichster Endpunkt).

Wesentliche Effekte können durch zwei Mechanismen erklärt werden, obwohl auch weitere relevant sein könnten:

- Durch Hydrolyse von 2-Butanonoxim entsteht Hydroxylamin, welches enzymatisch zu Nitrit umgesetzt wird. Nitrit führt zur Schädigung der Erythrozyten³ durch Bildung von Methämoglobin. Folgen sind Veränderungen der Milz (Hämosiderose⁴, Organvergrößerung) sowie extramedulläre Hämatopoese⁵.
- 2-Butanonoxim kann enzymatisch zur 2-Nitrobutan metabolisiert werden. Dessen Deoxygenierung und Sulfatierung durch Arylsulfotransferase führt zum Hydroxylamin-O-sulfonat, das spontan das Nitreniumion (NH₂⁺) freisetzt. Dabei handelt es sich um eine hochreaktive Spezies, die mit Proteinen und DNA Addukte bildet. Die für diesen Metabolismus notwendigen Enzyme sind hauptsächlich in der Leber lokalisiert,

¹ Methämoglobin: oxidierte Form des Hämoglobins (Fe²⁺ => Fe³⁺), das zum Sauerstofftransport im Blut dient; Methämoglobin ist funktionsunfähig

² olfaktorisches Epithel: Riechschleimhaut

³ Erythrozyten: rote Blutkörperchen

⁴ Hämosiderose: erhöhte Eisenablagerungen

⁵ extramedulläre Hämatopoese: Bildung von Blutzellen (Hämatopoese) außerhalb des Knochenmarks (Medulla ossium)

wodurch sich die in Tierversuchen beobachtete Lebertoxizität und -kanzerogenität erklärt. Die niedrige Inzidenz bei weiblichen Versuchstieren könnte auf einer geringeren Arylsulfotransferaseaktivität im Vergleich zu männlichen Tieren beruhen, die eine verminderte Bildung des Hydroxylamin-O-sulfonats zur Folge hat.

Im Vergleich dazu wirkt Butanon überwiegend neurotoxisch und weist sonst keine Ähnlichkeiten zur Toxikologie von 2-Butanonoxim auf. (Neurotoxische Effekte wurden bei Ratten erst bei sehr hohen oralen oder inhalativen Expositionen von 2-Butanonoxim beobachtet.)

In der Begründung zu Butanonoxim in TRGS 900 [1] wird sowohl ein AGW-analoger Wert für nicht-neoplastische (nicht krebsartige) als auch eine Expositions-Risiko-Beziehung (ERB) für krebserzeugende Wirkungen abgeleitet. In diesem speziellen Fall wurde der AGW-analoge Wert als AGW in der TRGS 900 festgelegt und ist daher im Rahmen des Risikomanagements heranzuziehen. Es ist wichtig anzumerken, dass ein AGW eines Stoffes, der auf einen AGW-analogen Wert basiert, nicht zwingend vor schädlichen Wirkungen schützt und dass ein Restrisiko, an arbeitsbedingtem Krebs zu erkranken, auch bei Unterschreitung des AGW nicht ausgeschlossen werden kann.

Grundlage für die Ableitungen des AGW-analogen Wertes und der ERB sind eine subchronische Studie (13 Wochen) an Mäusen [2] sowie eine Kanzerogenitätsstudie an Ratten und Mäusen [3] bei inhalativer Exposition. Für nicht krebserzeugende Wirkungen wird aus der subchronischen Studie eine LOAEC⁶ von 36 mg/m³ (10 ppm) sowie eine NOAEC⁷ von 10,8 mg/m³ (3 ppm) für Effekte am olfaktorischen Epithel von Mäusen ermittelt. Die niedrigste in der Kanzerogenitätsstudie getestete Luftkonzentration von 54 mg/m³ (15 ppm) stellt für nicht krebserzeugende Wirkungen einen LOAEC für Degeneration des olfaktorischen Epithels, Kongestion der Milz und Leberschäden bei Ratten und Mäusen dar. Weiterhin wurden signifikante Zunahmen von Leberadenomen ab 272 mg/m³ (75 ppm) bei männlichen Ratten und von Leberkarzinomen ab 1358 mg/m³ (374 ppm) bei Ratten und Mäusen beobachtet. Darüber hinaus traten bei männlichen Ratten ab 1358 mg/m³ (374 ppm) auch Fibrome der Brustdrüsen auf.

Aus diesen Daten wird gemäß des Leitfadens zur Quantifizierung von Krebsrisikozahlen ein AGW-analoger Wert von 0,66 mg/m³ (gerundet auf 1 mg/m³), basierend auf Wirkungen auf das Atemwegsepithel, abgeleitet.

Die ERB beruht auf Leberkanzerogenität in männlichen Ratten. Dabei wird die verstärkende, nicht krebserzeugende lebertoxische Wirkung berücksichtigt. Das bedeutet nach den Vorgaben der TRGS 910, dass sich das Risiko bei Dosen, die noch nicht lebertoxisch wirken, um den Faktor 10 reduziert. Es ergeben sich Risikokonzentrationen von

7,7 mg/m ³	für ein Risiko von 4 : 1.000
1,4 mg/m ³	für ein Risiko von 4 : 10.000
0,7 mg/m ³	für ein Risiko von 4 : 100.000.

Die Akzeptanzkonzentration dieser ERB liegt oberhalb des AGW-analogen Wertes und ist daher nicht maßgeblich.

⁶ LOAEL(C): Lowest Observed Adverse Effect Level (Concentration); niedrigste (beobachtete = im Experiment ermittelte) Dosis mit toxischer Wirkung

⁷ NOAEL(C): No Observed Adverse Effect Level (Concentration); höchste (beobachtete = im Experiment ermittelte) Dosis ohne toxische Wirkung

3 Toxizität von anderen Ketoximen

3.1 Acetonoxim (CAS 127-06-0)

Im Rahmen des REACH-Registrierungsverfahrens von Acetonoxim wird zur Ableitung eines DNELs (long term, worker) von 0,35 mg/m³ eine subchronische Studie (90 Tage) mit oraler Gabe an Ratten herangezogen, bei der ein NOAEL von 10 mg/kg KG/Tag ermittelt wurde. Als adverse Effekte werden u. a. dosisabhängige, statistisch signifikante Methämoglobinämie, erhöhte Leber- und Milzgewichte, Lebertoxizität (ausgeprägter bei männlichen Ratten) mit extramedullärer Hämatopoese sowie Veränderungen in der Milz mit extramedullärer Hämatopoese genannt.

Zur Ableitung des DNELs durch den Registranten:

1. Umrechnung $NOAEL_{oral} \Rightarrow NAEL_{inhalativ}^8$
 $NAEL_{inhalativ} = (NOAEL_{oral}/0,38) * 0,67 * 0,5 = 8,8 \text{ mg/m}^3$
2. Extrapolation subchronisch => chronisch
Divisor 2
3. Allometrische Extrapolation
"Not typically applied in the derivation of an inhalation DNEL"
4. Interspeziesextrapolation
Divisor 2,5; Standardwert
5. Intraspeziesextrapolation
Divisor 5; Arbeiter

3.2 2-Pentanoxim (CAS 623-40-5)

Zum Zeitpunkt der Stellungnahme des IFA vom 24.08.2015 diente eine in dem REACH-Registrierungsdossier von 2-Pentanoxim zitierte Studie zur Reproduktionstoxizität bei Ratten (5 Wochen, oral) zur Ableitung eines DNEL (long term, worker, systemic) von 0,735 mg/m³, der auf einem NOAEL von 15 mg/kg KG/Tag basierte. Beobachtete Effekte waren u. a. Beeinträchtigung der Erythrozyten, erhöhte Gewichte und Kongestion der Milz sowie extramedulläre Hämatopoese der Milz (dosisabhängig) und der Leber. Diese Studie wird aktuell jedoch nicht mehr als Schlüsselstudie für den DNEL (long term, worker, systemic) herangezogen.

Zur Ableitung des DNELs durch den Registranten:

1. Umrechnung $NOAEL_{oral} \Rightarrow NAEL_{inhalativ}$
 $NAEL_{inhalativ} = (NOAEL_{oral}/0,38) * 0,67 * 0,5 = 13,22 \text{ mg/m}^3$
2. Extrapolation subakut => chronisch
Divisor 6
3. Allometrische Extrapolation
Divisor 1; "No interspecies differences are to be taken into account for an inhalation DNEL"
4. Interspeziesextrapolation
Divisor 1; "No interspecies differences are to be taken into account for an inhalation DNEL"
5. Intraspeziesextrapolation
Divisor 3; "...supported by data from similar compounds. Toxicological evaluation of other structurally similar oxime silanes demonstrated similar toxicities whose severity did not increase with longer duration exposure and showed recoverability once compound exposure was stopped."

Am 10.03.2016 wurde dem Registrierungsdossier eine weitere Tierversuchsstudie an Ratten bei 2-wöchiger inhalativer Exposition (2 mal 5 Tage; 6 Stunden pro Tag) hinzugefügt. Daraus leiten die Registranten den aktuell gelisteten DNEL (long term, worker, systemic) von 8,3 mg/m³ ab, der den oben genannten Wert ablöst. Bei Ratten der mittleren und hohen

⁸ NAEL(C): No Adverse Effect Level (Concentration); höchste (durch Extrapolation ermittelte) Dosis ohne toxische Wirkung

Dosisgruppe (Expositionshöhe 150 und 300 ppm) wurden erhöhte Milzgewichte beobachtet. Vor dem Hintergrund, dass in Tierversuchsstudien zur Toxizität von Oximen übereinstimmend Symptome der Milz auftraten, kann die Erhöhung der Milzgewichte als einsetzender adverser Effekt beurteilt werden. Diese Ansicht vertreten die Autoren der Zusammenfassung und Bewertung der Studie jedoch nicht und legen 300 ppm (hohe Dosisgruppe) als NOAEC_{Ratte} fest.

Zur Ableitung des DNELs durch den Registranten:

1. *Anpassung des Startwerts (Atemvolumen und Expositionsbedingungen)*
Divisor 2
2. *Extrapolation subakut => chronisch*
Divisor 6
3. *Allometrische Extrapolation*
Divisor 2,5
4. *Interspeziesextrapolation*
Divisor 1; "No interspecies differences are to be taken into account for an inhalation DNEL"
5. *Intraspeziesextrapolation*
Divisor 5

Weiterhin liegt ein toxikologisches Gutachten zu 2-Pentanoxim (im Vergleich zu 2-Butanonoxim) der Firma AdvanSix (Morris Plains, New Jersey) vom 27.10.2016 vor. Es enthält eine Zusammenfassung von toxikologischen in vitro und in vivo Studien. In tabellarischer Form (ja/nein; statistisch signifikant) werden auch die Ergebnisse einer 14- und einer 90-Tagesstudie bei inhalativer Exposition von Ratten (5 Tage pro Woche, 6 Stunden am Tag) beschrieben, wobei es sich offensichtlich um die oben genannte Studie der REACH-Registrierung sowie deren Fortsetzung handelt. Für beide Studien werden signifikant erhöhtes Gewicht sowie Pigmentierung der Milz der weiblichen sowie signifikant erhöhte Lebergewichte⁹ der männlichen Ratten berichtet, die bei 300 ppm auftraten. Die Autoren bewerten diese Befunde als nicht wesentlich („no significant toxicity“). Niedrigere Dosen wurden nicht untersucht oder nicht beschrieben. Aus dieser Studie wird ein DNEL (worker, inhalation, long-term, systemic/local effects) von 25 mg/m³ (6 ppm) abgeleitet. Die Festlegung von 300 ppm als NOAEC_{Ratte} (anstatt als LOAEC_{Ratte}) ist wie bei der 14-Tagesstudie, bei der schon in der mittleren Dosisgruppe (150 ppm) erhöhte Organgewichte auftraten, kritisch zu sehen. Leider liegen keine Zahlenwerte für die Erhöhung der Leber- und Milzgewichte vor, so dass das Ausmaß sowie eine mögliche Progredienz der Effekte im Vergleich zu der 14-Tagesstudie nicht beurteilt werden kann. Diese Unsicherheiten lassen bei einer mehr konservativen Betrachtung die Einführung eines zusätzlichen Sicherheitsfaktors (Extrapolation LOAEC => NOAEC) von 3 als gerechtfertigt erscheinen, was in einen DNEL von 8,4 mg/m³ (2 ppm) münden würde.

Zur Ableitung des DNELs:

1. *Anpassung des Startwerts (Atemvolumen und Expositionsbedingungen)*
Divisor 2
2. *Interspezies Variabilität*
Divisor 2,5
3. *Extrapolation subchronisch => chronisch*
Divisor 2
4. *Bei konservativerem Ansatz zusätzlich: Extrapolation LOAEC => NOAEC*
Divisor 3

⁹ Im Gegensatz zu dem Gutachten der Firma AdvanSix werden im REACH-Dossier bei der 14-Tagesstudie keine erhöhten Lebergewichte erwähnt.

Insgesamt stehen die Ergebnisse im Einklang mit den vorliegenden Befunden zur toxischen Wirkung von Oximen, obgleich die Wirkstärke von 2-Pentanonoxim verglichen mit 2-Butanonoxim geringer sein könnte. In einer 90-Tagesstudie bei inhalativer Exposition von Ratten gegen 2-Butanonoxim, allerdings bei einer um 25% höheren Luftkonzentration, wurden deutlich mehr und stärker adverse Effekte beobachtet. Der Verdacht auf ein krebserzeugendes Potential von 2-Pentanonoxim, das Oximen generell aufgrund der Datenlage unterstellt werden muss, kann durch eine 90-Tagesstudie jedoch nicht ausgeräumt werden.

3.3 Methylisobutylketoxim (CAS 105-44-2)

Zur Toxizität von Methylethylketoxim liegen nur wenige Informationen vor. Es sind weder deutsche noch internationale Grenzwerte bekannt. Methylethylketoxim ist derzeit unter REACH vorregistriert, daher existiert noch kein REACH-Dossier, so dass auch keine DNELs recherchierbar sind.

In dem REACH-Registrierungsdossier von Acetonoxim wird allerdings eine Tierversuchsstudie an Ratten bei oraler Gabe (13 Wochen) im Rahmen des „read-across“ zitiert. Es wurden Wirkungen auf Erythrozyten und Hämosiderose (ab 50 mg/kg KG/Tag) sowie bei allen Dosierungen extramedulläre Hämatopoese in der Milz beobachtet. Dennoch rechtfertigt der Registrant die Festlegung eines NOAEL von 15 mg/kg KG/Tag, weil er die Effekte als geringfügig und reversibel ansieht.

In einer Tierversuchsstudie an Ratten bei oraler Gabe (12 Wochen) zeigten sich hämolytische Anämie¹⁰, extramedulläre Hämatopoese sowie Hämosiderose der Milz als Symptome. Ein NOAEL wird mit 30 mg/kg KG/Tag beziffert (histologische Effekte in der Milz). Jedoch sind schon bei dieser Dosis erhöhte, wenn auch nicht signifikante Zunahmen der Milzgewichte zu beobachten [4].

Orientiert man sich an den aus den in den oben genannten Studien hergeleiteten NOAELs von 15 mg/kg KG/Tag bzw. 30 mg/kg KG/Tag, so lässt sich daraus ein DNEL (long term, worker) zwischen 0,5 mg/m³ und 1 mg/m³ ableiten, wenn ein Ableitungsschema analog zur DNEL-Ableitung von Acetonoxim (s.o.) gewählt wird.

4 Stellungnahme

Die Datenlage zur Toxizität der Ketoxime Acetonketoxim, Methylisobutylketoxim und 2-Pentanonoxim ist deutlich schlechter als die von 2-Butanonoxim. Vorliegende Informationen lassen jedoch darauf schließen, dass adverse Effekte durch Ketoxime auf gemeinsamen Wirkprinzipien beruhen, da bei den bekannten Tierversuchsstudien überwiegend gleichartige adverse Effekte auftreten. Es lassen sich plausible Mechanismen formulieren, dass die Toxizität der Ketoxime von deren funktionellen Gruppe ausgeht, die unter Freisetzung von Hydroxylamin oder einer reaktiven „Hydroxylamin“-verwandten Spezies metabolisiert wird. Untermauert wird diese These auch dadurch, dass sich die Toxizität von 2-Butanonoxim deutlich von der des Butanons unterscheidet. Grundsätzlich ist allen zu 2-Butanonoxim homologen Ketoximen ein krebserzeugendes Potenzial zu unterstellen, wobei sich deren Wirkstärken auf Basis der derzeitigen Datenlage nicht beurteilen lassen.

Die in den Registrierungsdossiers bei der ECHA hinterlegten DNELs (worker, long term) von Acetonoxim (0,35 mg/m³) sowie der durch das IFA abgeschätzte DNEL für

¹⁰ hämolytische Anämie: Blutarmut (Anämie) durch verkürzte Lebensdauer der Erythrozyten

Methylisobutylketoxim liegen in gleicher Größenordnung wie der AGW-analoge Wert von 2-Butanonoxim und sind von Endpunkten abgeleitet, die auch für 2-Butanonoxim relevant sind. Auf Grundlage dieser derzeit vorliegenden Informationen ist daher davon auszugehen, dass diese Ketoxime im Vergleich zu Butanonoxim bei vergleichbarer Expositionshöhe aus toxikologischer Sicht keinen Vorteil bieten. Ähnliches gilt für 2-Pentanonoxim, jedoch liegt auch ein konservativ abgeleiteter DNEL mit 8,4 mg/m³ höher. Das Risiko einer krebserzeugenden Wirkung kann jedoch ohne eine entsprechende Langzeitstudie nicht beurteilt werden.

1. Ausschuss für Gefahrstoffe (AGS). *Begründung zu Butanonoxim in TRGS 900*. 2013; Available from: <http://www.baua.de/de/Themen-von-A-Z/Gefahrstoffe/TRGS/Arbeitsplatzgrenzwerte.html>.
2. Newton, P.E., et al., *An evaluation of changes and recovery in the olfactory epithelium in mice after inhalation exposure to methylethylketoxime*. *Inhal Toxicol*, 2002. **14**(12): p. 1249-60.
3. Newton, P.E., et al., *A chronic inhalation toxicity/oncogenicity study of methylethylketoxime in rats and mice*. *Inhal Toxicol*, 2001. **13**(12): p. 1093-116.
4. Rusch, G.M., et al., *Comparative reprotoxicity of three oximes*. *Drug Chem Toxicol*, 2009. **32**(4): p. 381-94.

Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung – IFA,
Referat Toxikologie der Arbeitsstoffe

Die Beantwortung Ihrer Anfrage erfolgt nach bestem Wissen und Gewissen auf Grundlage Ihrer Angaben und des von Ihnen mitgeteilten Sachverhalts. Sie kann auch nicht den Anspruch auf Vollständigkeit und Rechtsverbindlichkeit erheben. Haftungs- und Regressansprüche jeder Art sind ausgeschlossen.