

Stoffmonographie für 1,2-Cyclohexandicarbonsäure- di-isononylester (Hexamoll® DINCH®) – HBM-Werte für die Summe der Metabolite Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure- mono-hydroxyisononylester (OH-MINCH) und Cyclohexan-1,2- dicarbonsäure-mono-carboxy- isooctylester (cx-MINCH) im Urin von Erwachsenen und Kindern

Stellungnahme der Kommission „Human- Biomonitoring“ des Umweltbundesamtes

1 Einleitung

1,2-Cyclohexandicarbonsäure-di-isononylester (Hexamoll® DINCH®) ist ein Weichmacher zur Herstellung von Kunststoffartikeln und wurde als Alternative für den gesundheitlich bedenklichen Weichmacher Di-(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) entwickelt [1, 2]. Die Abkürzung DINCH leitet sich von der chemischen Bezeichnung Diisononylcyclohexan-1,2-dicarbonsäureester ab und wird im Folgenden als Abkürzung für Hexamoll® DINCH® verwendet. Im Vergleich zu DEHP hat DINCH nach derzeitigem Kenntnisstand günstigere toxikologische Eigenschaften und im Gegensatz zu DEHP keine entwicklungs- und fruchtbarkeitsbeeinflussende oder fruchtschädigende Wirkung. DINCH eignet sich auch für sensible Anwendungsbereiche wie Kinderspielzeug [3] oder Medizin-

produkte [4]. Nach einem positiven Bescheid der europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) im Jahr 2006 wurde DINCH im Rahmen der EG-Verordnung 1935/2004 [5] über „Materialien im Kontakt mit Lebensmitteln“ für die Herstellung von Kunststoffen zum Verpacken von Lebensmitteln zugelassen. DINCH ist für Anwendungen im Lebensmittelkontakt in der Kunststoffverordnung Nr. 10/2011 der EU [6] unter der FCM-Stoffnummer 775 ohne spezifischen Migrationsgrenzwert gelistet. Somit ist lediglich der Gesamtmigrationsgrenzwert von 60 mg/kg Lebensmittel für Gruppe 32 einzuhalten. Die Produktionskapazität für DINCH in Ludwigshafen lag zur Markteinführung im Jahr 2002 bei 25.000 t/a und wurde bis Mitte 2007 um das 4-Fache auf 100.000 t/a gesteigert [7, 8]. In einem weiteren Schritt ist die Produktionskapazität im Jahr 2014 noch ein-

mal auf 200.000 Jahrestonnen verdoppelt worden [9].

2 Physikochemische Eigenschaften

Bei Raumtemperatur liegt DINCH als farblose Flüssigkeit vor und hat einen kaum wahrnehmbaren Geruch. Die molare Masse beträgt 424,7 g/mol [10]. Weitere physikochemische Eigenschaften sind in der **Tab. 1** dargestellt.

3 Verwendung und Exposition

DINCH wird inzwischen als alternativer Nicht-Phthalat-Weichmacher in der Produktion von Schuhen und Handtaschen (Kunstleder), bei der Textilbeschichtung (z. B. Regenmäntel) aber auch bei der Produktion von Haushaltsprodukten wie Tischdecken, Duschvorhängen

Tab. 1 Physikochemische Daten zu DINCH [11, 12]

Endpunkt	Wert
Zustand	Flüssig
Relative Dichte	0,95 g/cm ³ bei 20 °C
Siedepunkt	394 °C (Extrapolation); Zersetzung bei ca. 351 °C
Dampfdruck	2,2 × 10 ⁻⁷ hPa bei 20 °C
Verteilungskoeffizient log K _{ow}	10,0*
Wasserlöslichkeit	< 0,02 mg/l bei 25 °C

*Kalkuliert mit K_{ow}Win, V1.51, gemessen > 6 mit HPLC-Methode [12]

und Fußmatten, Tapeten, Bodenbelägen, Klebstoffen oder in Büroartikeln (z. B. Folien oder Radiergummis) verwendet [2]. Auch in sensibleren Bereichen wird DINCH eingesetzt, z. B. in Kinderspielzeug und Medizinprodukten wie Beuteln für Blutkonserven [13, 14]. DINCH wird darüber hinaus auch in Kunststoffen zum Verpacken von Lebensmitteln eingesetzt. Die Industrievereinigung für Lebensmitteltechnologie und Verpackung e. V. [15] berichtet, dass DINCH entsprechend der Zulassung des Herstellers [16] als Weichmacher für PVC (bis zu 40 %) und als Zusatzstoff in Polystyrol (max. 3 %) eingesetzt wird.

Migrationsversuche in Mineralwasser und Fruchtsäfte mit PVC-Verschlüssen, die 37 % DINCH enthielten, führten bei Lagerung bis zu 25 Tagen (28 °C) zu Migrationen im Bereich von 10–30 µg/kg [16]. Versuche mit PVC-Frischhaltefolie (DINCH-Gehalt 10–17,8 %) zur Migration in Lebensmittel und Lebensmittelsimulanzien ergaben Werte bis 29 ± 2 mg/dm² für Sonnenblumenöl und Käse mit hohem Fettgehalt („high fat cheese“). Bei geringerem Fettgehalt migrierten nur maximal 2,7 mg/dm². Bei einer Polystyrol-Probe, die 3 % DINCH enthielt, wurde nur eine Migration von 0,053 mg/kg in 50 % Ethanol festgestellt. In 10 % Ethanol und Olivenöl betrug die Migration < 0,037 mg/kg [16].

Im Rahmen eines Forschungsprojektes [17] wurden Mineralwässer mit GC/MS-Screening untersucht. Hier wurde auch DINCH in Wasser aus Glasflaschen mit Schraubverschluss nachgewiesen, Angaben zur Konzentration liegen nicht vor.

Untersuchungen zum Gehalt von DINCH in Hausstaub wurden von Nagorka et al. [8] publiziert. Die Autoren untersuchten in den Jahren 2001 bis 2006 den Hausstaub aus ca. 900 deutschen Haushalten mit Kindern zwischen 4 und 14 Jahren. Die Proben aus Staubsaugerbeuteln wurden gesiebt und die 63 µm-Fraktion analysiert. Die Nachweisgrenze für DINCH lag bei 0,31 mg/kg Staub. In der Pilotphase in den Jahren 2001–2002 war in keiner Hausstaubprobe DINCH feststellbar (274 Proben). Dieses Ergebnis war zu erwarten, da die Markteinführung von DINCH erst im Jahr 2002 erfolgte. In der Hauptphase der Untersuchung in den Jahren 2003–2006 (593 Proben) wurde DINCH vorwiegend in medizinischen Produkten und Kinderspielzeug eingesetzt [8]; in dieser Zeit waren bereits 20 % der Proben oberhalb der Nachweisgrenze. Das arithmetische Mittel lag bei 1,2 mg/kg Staub (Median < 0,31 mg/kg Staub). Im April 2009 wurden 36 Proben (nur 7 Proben aus Haushalten mit Kindern) mit der gleichen Methodik analysiert [8]. In dieser Untersuchung von Hausstaub konnte DINCH in fast allen Proben nachgewiesen werden. Die gemessenen Konzentrationen lagen deutlich über den Messwerten aus den Jahren 2003–2006; das arithmetische Mittel lag bei 12 mg/kg Staub (Median 2,2 mg/kg Staub).

In einer Untersuchung von Schossler et al. [18] wurde unter kontrollierten Bedingungen in einer Emissionskammer [Field and Laboratory Emission Cell (FLEC), Chematec] die Konzentration von DINCH in der Gasphase nach Einbringen einer weichen PVC-Probe gemessen (DINCH-Gehalt 17 %). Bei einer Temperatur von 23 °C und 50 % relativer Luftfeuchtigkeit wurde die Konzentration von DINCH in der Luft über einen Zeitraum von 5 Monaten gemessen. Eine Steady-state-Konzentration von 0,42 ± 0,02 µg/m³ wurde nach ca. 50 Tagen erreicht. Für eine Probenoberfläche von 0,018 m², ein Kammer Volumen V von 3,5 × 10⁻⁵ m³ und eine Luftwechselrate von n = 514/h berechneten die Autoren eine flächenspezifische Emissionsrate von 0,41 µg DINCH pro Stunde pro m² für das untersuchte PVC-Material. Aufgrund der Angaben zum Dampfdruck (s. **Tab. 1**) und zum Oktanol-Luft-Verteilungskoeffizienten (log p₀ = -6,88 bei

25 °C und 1013 mbar) sind in der Gasphase DINCH-Konzentrationen < 0,5 µg/m³ zu erwarten [18]. Die Messungen bestätigen diese Abschätzung.

4 Allgemeines toxikologisches Profil

Zusammenfassende Darstellungen der relevanten toxikologischen Untersuchungen und ihre Bewertungen finden sich in dem Bericht der europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit [16], in der Dokumentation der australischen Chemikalienbehörde (NICNAS) [19] sowie in der Publikation von Bath et al. [20]. Die Verwendung von DINCH in Medizinprodukten wurde durch ein wissenschaftliches Expertengremium der EU Kommission bewertet [4]. Das niederländische Institut für Gesundheit und Umwelt hat eine Bewertung von DINCH mit Blick auf die Verwendung in Kinderspielzeug durchgeführt [3]. DINCH wurde 2004 auch vom BfR bewertet und in die Empfehlungen I (als Weichmacher für PVC), XXVII (Förderbänder) und XXIX (Kunststoffschläuche für Getränke) aufgenommen [21]. Eine weitere Bewertung durch das BfR erfolgte 2011 [22].

4.1 Toxikokinetik

4.1.1 Untersuchungen an Ratten

Studien zur Toxikokinetik gemäß OECD-Richtlinie 417 [23–25] und zum Metabolismus [26] mit ¹⁴C-markiertem DINCH sind an männlichen und weiblichen Ratten durchgeführt worden. Generell sind bei diesen Studien keine geschlechtsspezifischen Unterschiede aufgetreten.

Nach oraler Applikation mit der Schlundsonde wird DINCH schnell aus dem Magen-Darm-Trakt (Gastrointestinaltrakt, GI-Trakt) aufgenommen, die Absorptionsrate unterliegt mit ansteigenden Dosierungen jedoch einer Sättigung. Nach einer hohen oralen Dosis von 1000 mg/kg KG betrug die Bioverfügbarkeit lediglich 5–6 %, nach einer niedrigen Dosis von 20 mg/kg KG jedoch 40–49 % [24, 25]. Die höchsten Konzentrationen im Plasma werden etwa 1 h nach oraler Verabreichung gemessen. Die Verteilung in den Organen ist unterschiedlich; die höchste Konzentration der Radioakti-

Tab. 2 Ausscheidungsfaktoren der DINCH-Metabolite im Urin in % der oralen DINCH-Gabe. In den ersten 24 h wird hauptsächlich CHDA mit einem Anteil von 22,2 % ausgeschieden, gefolgt von OH-MINCH mit einem Anteil von 9,55 %. Die weiteren oxidierten Metabolite oxo-MINCH und cx-MINCH werden jeweils zu einem Prozentanteil unterhalb von 2 % gebildet. Der einfache Monoester MINCH liegt deutlich unter 1 %. Im Zeitraum nach 24 h werden nur geringe Prozentanteile von allen Metaboliten ausgeschieden

	CHDA	MINCH	OH-MINCH	oxo-MINCH	cx-MINCH
0–24 h	22,20	0,65	9,55	1,85	1,67
24–48 h	1,46	0,07	1,18	0,18	0,36
0–48 h	23,70	0,72	10,73	2,03	2,03

Tabelle übernommen aus Koch et al. [29]

vität wurde in GI-Trakt, Nebenniere und Leber gemessen, die niedrigsten Werte in Gehirn, Muskelgewebe und Knochen [24, 25]. Die Elimination der Radioaktivität aus dem Plasma erfolgt biphasisch. Die Ausscheidung der Radioaktivität erfolgt schnell und nahezu vollständig über Fäzes und Urin, nicht jedoch über die Atemluft. Die toxikokinetischen Daten ergeben keinen Hinweis auf eine Akkumulation von DINCH.

Als Hauptmetabolit im Urin wurde nach oraler Verabreichung 1,2-Cyclohexandicarbonsäure (CHDA) bestimmt (0,6–4 % der applizierten Radioaktivität). Über den Kot wird hauptsächlich die unveränderte Ausgangssubstanz DINCH ausgeschieden (24–76 % der applizierten Radioaktivität), aber auch 1,2-Cyclohexandicarbonsäure-monoisononylester (MINCH; 3–5 % der verabreichten Radioaktivität). In der Galle wurden als Hauptmetabolit das MINCH-Glucuronat, aber auch MINCH selbst und seine Abbauprodukte identifiziert. Aus Versuchen mit wiederholter oraler Verabreichung ergeben sich keine Hinweise auf einen vermehrten Abbau der Prüfsubstanz selbst durch Enzyminduktion [26].

Silva et al. [27, 28] analysierten den Urin von weiblichen Ratten 24 h vor und 24 oder 48 h nach oraler oder subkutaner (sc) Applikation von 500 mg/kg KG DINCH. Auch in dieser Studie ist der Hauptmetabolit im Urin CHDA. Weiterhin wurden MINCH und 14 oxidierte Metabolite identifiziert.

4.1.2 Toxikokinetik beim Menschen

Koch et al. [29] untersuchten den Metabolismus von DINCH beim Menschen. Mit chromatographisch-massenspektrometrischen Methoden wurden die Metabolite und die Ausscheidungskinetik bestimmt.

Drei männliche Probanden erhielten oral 50 mg DINCH. Über einen Zeitraum von 48 h wurden alle anfallenden Einzelurine in separaten Behältern getrennt gesammelt und bis zur Analyse tiefgefroren aufbewahrt. Innerhalb von 24 h wurden ca. 13 % der oralen Dosis über den Urin in Form der an der aliphatischen Seitenkette oxidierten DINCH Metabolite Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure-mono-hydroxyisononylester (OH-MINCH), Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure-mono-oxoisononylester (oxo-MINCH) und Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure-mono-carboxyisooctylester (cx-MINCH) ausgeschieden; lediglich 1,7 % der aufgenommenen Dosis wurden an Tag 2 in Form dieser 3 Metabolite ausgeschieden. Auf den einfachen Monoester Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure-mono-isononylester (MINCH) im Urin entfiel deutlich unter 1 %. Insgesamt konnten von Koch et al. [29] in 48 h 39 % der Dosis als Metabolite im Urin wiedergefunden werden, wobei hiervon 23,7 % auf die Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure (CHDA) entfielen, die sich jedoch aufgrund ihrer für DINCH fehlenden Spezifität nicht als Biomarker für ein Human-Biomonitoring eignet. Die Ausscheidungsfaktoren der DINCH-Metabolite im Urin in % der oralen DINCH-Gabe sind in **Tab. 2** zusammengefasst.

Als diagnostisch spezifische und hinreichend empfindliche, über den Urin ausgeschiedene Biomarker einer DINCH-Exposition wurden die sekundären Oxidationsprodukte der Alkylseitenkette des Monoesters MINCH identifiziert: zuvorderst OH-MINCH, gefolgt von oxo-MINCH und cx-MINCH.

Der DINCH-Metabolismus beim Menschen wird in **Abb. 1** dargestellt.

4.2 Akute Toxizität

DINCH zeigt eine geringe akute Toxizität nach oraler oder dermalen Verabreichung. Eine Studie zur akuten oralen Toxizität von DINCH [30] ergab bei männlichen und weiblichen Ratten einen LD50-Wert > 5000 mg/kg KG. Bei Testung der dermalen Toxizität [31] wurden keine systemischen Effekte bei männlichen und weiblichen Ratten nach Applikation von 2000 mg/kg KG beobachtet. Studien zur inhalativen Exposition liegen nicht vor.

4.3 Haut- und Schleimhautreizung

DINCH hat eine leichte bis moderate Reizwirkung an der Haut oder am Auge. Es wurden keine Effekte gefunden, die die Notwendigkeit einer Einstufung als reizend zur Folge haben [32, 33].

4.4 Sensibilisierung

Das hautsensibilisierende Potenzial von DINCH wurde im Maximierungstest an Meerschweinchen untersucht [34]. Eine sensibilisierende Wirkung wurde bei keinem der 10 Versuchstiere beobachtet.

4.5 Toxizität bei wiederholter Verabreichung

Die Wirkung von DINCH nach wiederholter oraler Gabe wurde bei Ratten in subakuten, subchronischen und chronischen OECD-Richtlinien-konformen Studien untersucht.

In einer **subakuten Fütterungsstudie** [35] (28 Tage, 5 Wistar-Ratten pro Geschlecht und Dosis) führte die höchste Dosis (1674 mg/kg KG/Tag) bei weiblichen Ratten zu einer Erhöhung der Aktivität der γ -Glutamyltransferase und zu einer Erniedrigung der Bilirubinkon-

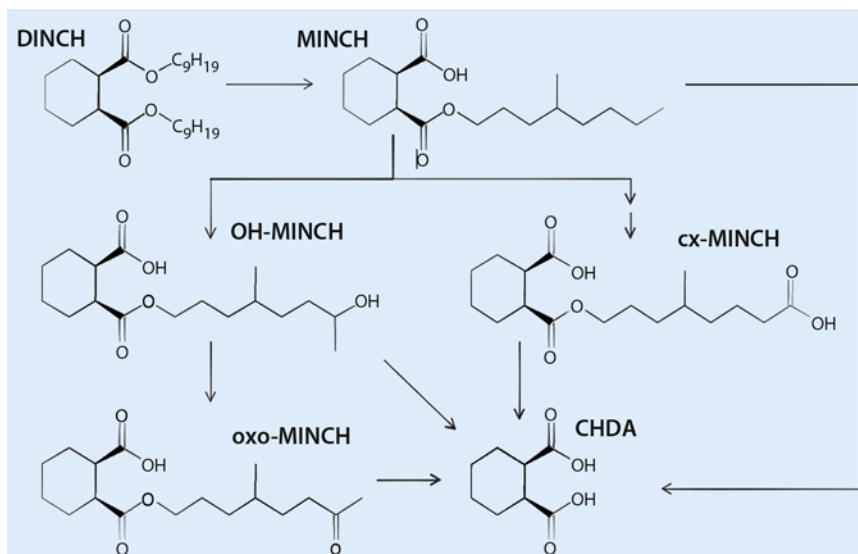


Abb. 1 ▲ Humanmetabolismus von DINCH (nach Koch et al. [29]). Durch Hydrolyse wird eine Seitenkette an der Esterfunktion des DINCH abgespalten und der Metabolit MINCH gebildet. Dieser kann weiter oxidiert werden zu OH-MINCH oder cx-MINCH. Durch erneute Oxidation kann aus dem OH-MINCH der oxo-MINCH-Metabolit gebildet werden. Eine weitere Folgereaktion kann ausgehend von OH-MINCH und cx-MINCH eine Hydrolyse sein, wobei CHDA entsteht. (Abbildung übernommen aus Koch et al. [29])

zentration im Serum. Diese Effekte wurden als Ergebnis adaptiver metabolischer Prozesse gewertet. Bei männlichen Ratten der höchsten Dosisgruppe (1585 mg/kg KG/Tag) wurden degenerierte Zellen der Übergangsepithelien der ableitenden Harnwege im Urinsediment gefunden. Die Autoren der Studie leiteten einen NOAEL von 3000 ppm, entsprechend 318 mg/kg KG/Tag für männliche und 342 mg/kg KG/Tag für weibliche Ratten, ab.

In einer **subchronischen Fütterungsstudie** [36] (13 Wochen, 20 sechs Wochen alte Wistar-Ratten pro Geschlecht und Dosis) wurden bei männlichen Ratten Blut und degenerierte Zellen des Übergangsepithels im Urin beobachtet. Diese Effekte bewerteten die Autoren als substanzbedingt; der NOAEL lag bei 107 mg/kg KG/Tag.¹ Bei weiblichen Ratten wurde als adverser Effekt das erhöhte relative Nierengewicht in der höchsten Dosisgruppe (1312 mg/kg KG/Tag) diskutiert. Bei männlichen Ratten traten ab 107 mg/kg KG/Tag ebenfalls erhöhte relative Nierengewichte auf, diese wurden

¹ Anmerkung: Das Auftreten von Blut und von Zellen der Übergangsepithelien der ableitenden Harnwege im Urinsediment war am Tag 86 allerdings nicht mehr statistisch signifikant.

von den Autoren im Vergleich zu historischen Kontrollen jedoch als toxikologisch nicht relevant eingestuft; die Histopathologie ergab keine behandlungsbedingten Effekte. Die erhöhten γ -Glutamyltransferase- und TSH-Werte, die erhöhten Organengewichte der Leber und Schilddrüse wie auch die follikuläre Hyperplasie/Hypertrophie der Schilddrüse wurden von den Autoren einer gemeinsamen Pathogenese über die Induktion von Enzymen zugeordnet und als toxikologisch nicht relevant eingestuft. So zeigen zusätzliche Untersuchungen zur Wirkung von DINCH [37, 38], dass Schilddrüseneffekte über einen indirekten Mechanismus vermittelt werden: Induktion von Phase-II-Enzymen [39–41], hier insbesondere der UDP-Glucuronyltransferase, führt zu erhöhter Elimination von Schilddrüsenhormonen [42] und damit sekundär zu Schilddrüseneffekten. Diese Schilddrüseneffekte werden aus folgenden Gründen als nicht relevant für den Menschen betrachtet [16]: Der Ratte fehlt das Thyroxin-bindende Globin (TBG). Die Halbwertszeit von T4 im Plasma beträgt beim Menschen ca. 5 bis 9 Tage, während es bei der Ratte nur 12 h sind [40]. Bei der Ratte ist die Elimination der Hormone durch Konjugation über UDP-Glucuronyltransferase und Sulfotransferasen beschleunigt

und die Wiederaufnahme durch einen enterohepatischen Kreislauf im Vergleich zum Menschen geringer. Darüber hinaus sind die Glucuronyltransferasen in Nagern gut induzierbar [40]. Im Vergleich zum Menschen ist die Ratte deutlich empfindlicher [43, 44].

In einer Studie zur Zellproliferation über 1, 4 oder 13 Wochen [45] zeigten die behandelten Tiere (10 Wistar-Ratten pro Geschlecht und Dosis) nach oraler Verabreichung von 0, 40, 200 oder 1000 mg/kg KG/Tag DINCH keine klinischen Symptome wie auch keine Effekte hinsichtlich des Körpergewichtes und der Futtermittelaufnahme. Erhöhte relative Lebergewichte und eine gesteigerte Mitoserate in der Leber und der Schilddrüse wurden bereits ab 40 mg/kg KG/Tag beobachtet. Die Histopathologie ergab eine follikuläre Hypertrophie der Schilddrüse. Die Effekte auf beide Organe wurden als adaptiver Prozess betrachtet (ausführliche Diskussion in Kap. 4.7). In der Niere war die Proliferation der tubulären Zellen bei männlichen Ratten ab einer Dosis von 200 mg/kg KG/Tag nach 1 und 4 Wochen Behandlungsdauer signifikant erhöht. Diese Effekte traten bei 40 mg/kg KG/Tag nicht auf.

Die Dokumentation der chronischen Fütterungsstudie erfolgt in Kap. 4.7.

4.6 Genotoxizität

DINCH erwies sich sowohl in In-vitro-Studien als auch in vivo als nicht genotoxisch. Die Studien wurden nach OECD-Richtlinien durchgeführt, die Einzelergebnisse sind nachfolgend dargestellt:

Im bakteriellen Mutagenitätstest mit *Salmonella typhimurium* TA1535, TA100, TA1537, TA98 und *Escherichia coli* WP2uvrA war DINCH mit und ohne metabolische Aktivierung nicht mutagen [46]. Als Lösungsmittel diente Azeton. Es wurden Konzentrationen von 20 μ g/Platte bis 5 mg/Platte getestet.

Im Chromosomenaberrationstest mit V79-Zellen des chinesischen Hamsters zeigte DINCH in 3 unabhängigen Experimenten mit unterschiedlicher Expositions- und Kulturdauer keine klastogenen oder aneugenen Wirkungen [47]. Als Lösungsmittel wurde Azeton verwendet. Geprüft wurden Konzentration bis 1 mg/ml.

In einem HPRT-Genmutationstest mit CHO-Zellen wurde für DINCH ebenfalls keine Mutagenität festgestellt [48]. Geprüft wurden Konzentration bis 5 mg/ml (Lösungsmittel Azeton) in 2 unabhängigen Versuchsreihen mit und ohne Zugabe eines metabolisierenden Systems.

In einer Mikrokernstudie an Mäusen hatte DINCH keine klastogenen oder aneugenen Wirkungen [49]. In einem ersten Versuch erhielten 6 männliche NMRI-Mäuse pro Dosis 0 (Lösungsmittel Olivenöl), 500, 1000 oder 2000 mg/kg KG i.p. injiziert. Die Positivkontrolle wurde mit Cyclophosphamid behandelt. Die Tiere wurden 24 h nach Verabreichung getötet, das Knochenmark präpariert und die Mikrokernkerne in den polychromatischen Erythrozyten bestimmt. In keiner Behandlungsgruppe wurde ein Anstieg der Mikrokernrate gemessen, jedoch ein deutlicher Anstieg in der Positivkontrolle. In einem zweiten Versuch mit einer Dosis von i.p. 2000 mg/kg KG und einer Überlebenszeit von 48 h wurde ebenfalls keine mutagene Wirkung beobachtet.

4.7 Kanzerogenität

In einer Fütterungsstudie an männlichen und weiblichen Wistar-Ratten (50 + 10 pro Geschlecht und Dosis) zur chronischen Toxizität und Kanzerogenese von DINCH [50] wurden Dosen von 0, 40, 200 oder 1000 mg/kg KG/Tag eingesetzt. In Satellitengruppen wurden Urinalysen und Untersuchungen zur Hämatologie und klinischen Chemie durchgeführt (Probenahme nach 3, 6 und 12 Monaten). Nach 12 Monaten Exposition wurden die Ratten in den Satellitengruppen getötet und histopathologisch untersucht, nach 24 Monaten die Ratten der Hauptgruppen.

Klinische Symptome wurden nicht beobachtet und ebenso keine behandlungsbedingten Effekte auf die Körpergewichtsentwicklung, den Futter- und Wasserverbrauch oder die Sterblichkeitsrate. Die Hämatologie ergab ebenfalls keine behandlungsbedingten Befunde bis auf erhöhte Thrombozytenwerte in weiblichen Ratten nach der hohen Dosis.

Die erhöhte Aktivität der γ -Glutamyltransferase und der Abfall der Bilirubin-Konzentration im Serum nach der hohen Dosis wurden von den Autoren als

Effekte ohne toxikologische Relevanz bewertet. Sie wurden als Folge einer adaptiven metabolischen Antwort durch Induktion der mikrosomalen Enzyme interpretiert. Ebenso wurde der Anstieg der Aktivität der alkalischen Phosphatase nach der hohen Dosis als leichte und adaptive Beeinträchtigung der Leberfunktion interpretiert. In diesem Zusammenhang ist auch das erhöhte rel. Lebergewicht der weiblichen Ratten nach der hohen Dosis zu sehen. Eine Induktion der Phase-I- und Phase-II-Leberenzyme in Ratten wurde bereits in subakuten oralen Studien gezeigt [37, 38].

Bei männlichen Ratten der hohen Dosisgruppe wurden im Urinsediment degenerierte Zellen des Übergangsepithels gefunden sowie granuliert Harnzylinder und/oder Harnzylinder mit degenerierten Epithelzellen. Diese Harnzylinder zeigten sich ebenfalls bei männlichen Tieren nach 200 mg/kg KG/Tag. Die Befunde der Urinalyse waren auf die Probenahme nach 3 Monaten beschränkt, spätere Untersuchungen nach 6 und 12 Monaten zeigten diese Ergebnisse nicht. Die Autoren der Studie bewerteten die Befunde der Urinalyse als adaptiven Effekt, da sie nur temporär auftraten und entsprechende histopathologische Befunde der Niere fehlen. Im Zusammenhang mit den Ergebnissen der Urinalyse könnte auch die Erhöhung des relativen Nierengewichtes der männlichen Ratten in den Satellitengruppen nach 12 Monaten Exposition stehen (-3,8%, +8,0% und 10,4% nach 40, 200 und 1000 mg/kg KG/Tag; signifikant nur nach der mittleren Dosis). Insgesamt wurden diese Effekte jedoch nicht als advers bewertet, da die Histopathologie der Niere ohne Befund war.

In allen mit DINCH behandelten Satellitengruppen wurde eine Veränderung des Kolloids in der Schilddrüse nach 12 Monaten beobachtet. Diese Veränderung wurde als ein alterungsbedingter Effekt betrachtet. Ein Unterschied zur Kontrollgruppe trat in den Hauptgruppen nach 24 Monaten nicht auf. Signifikante Effekte in den Satellitengruppen wurden auf die niedrige Inzidenz in der mitlaufenden Kontrollgruppe zurückgeführt, wie im Vergleich zu den historischen Kontrollwerten gezeigt werden konnte. Adenome der Schilddrüse traten bei bei-

den Geschlechtern nach der hohen Dosis und bei männlichen Ratten auch nach der mittleren Dosis auf. Der NOAEL liegt für männliche Tiere bei 40 mg/kg KG/Tag und für weibliche bei 200 mg/kg KG/Tag.

Die Wirkung von DINCH auf die Schilddrüse diskutierten die Autoren als einen sekundären Effekt nach Induktion der mikrosomalen Leberenzyme (s. oben). Als Folge der Induktion der Leberenzyme tritt eine vermehrte Bildung von T4-Glucuronat auf, das über die Galle ausgeschieden wird. Die vermehrte Ausscheidung von T4 führt zu einem erniedrigten T4-Serumspiegel und nachfolgender Kompensation durch Produktion von TSH, das eine Hypertrophie und Hyperplasie induzieren kann und letztendlich auch Tumoren in der Schilddrüse.

Die erhöhte Inzidenz der Fibroadenome der Brustdrüse bei weiblichen Ratten als auch der Inselzelladenome des Pankreas bei männlichen Tieren wurden von den Autoren als zufallsbedingt bewertet, da die Inzidenzen in der mitlaufenden Kontrollgruppe niedrig waren im Vergleich zu historischen Kontrollen.

4.8 Wirkung auf die Reproduktion und die Entwicklung

4.8.1 Reproduktionstoxizität

In einer 2-Generations-Studie an Ratten wurden Effekte von DINCH auf die Reproduktion untersucht [51]. Jeweils 25 männliche und 25 weibliche Wistar-Ratten erhielten über das Futter 0, 100, 300 oder 1000 mg DINCH/kg KG/Tag. Mindestens 74 Tage nach Behandlungsbeginn wurden die Tiere (F0-Generation) derselben Dosisgruppe verpaart und daraus die F1A-Generation erhalten. Eine weitere, nachfolgende Verpaarung der F0-Tiere ergab die F1B-Generation. Jeweils 25 männliche und 25 weibliche F1A-Ratten derselben Dosisgruppe wurden verpaart, um die F2-Generation zu erhalten; die Verpaarung erfolgte ≥ 73 Tage nach dem Absetzen der F1A-Jungtiere. Nach dem Absetzen der F2-Nachkommen wurde die Studie beendet. Die Exposition der F0- und F1-Ratten erfolgte kontinuierlich. Die F0-Tiere wurden nach dem Absetzen der F1B-Jungtiere getötet und makroskopisch und histopathologisch befundet, ebenso

Tab. 3 Systemische Wirkungen von DINCH in der 2-Generationen-Studie an Ratten [51], von den Autoren als advers eingestufte Effekte im Fettdruck

Dosis (mg/kg KG/Tag)	Weibliche F0-Tiere	Männliche F0-Tiere	Weibliche F1A-Tiere	Männliche F1A-Tiere
1000	γ-Glutamyltransferase ↑	–	γ-Glutamyltransferase ↑	–
	Gesamtbilirubinwert ↓	–	Gesamtbilirubinwert ↓	Gesamtbilirubinwert ↓
	Absolutes und relatives Lebergewicht ↑	Absolutes und relatives Lebergewicht ↑	Absolutes und/oder relatives Lebergewicht ↑	Absolutes und/oder relatives Lebergewicht ↑
	Absolutes und relatives Nierengewicht ↑	Absolutes und relatives Nierengewicht ↑	Absolutes und/oder relatives Nierengewicht ↑	Absolutes und/oder relatives Nierengewicht ↑
			Absolutes und relatives Schilddrüsengewicht ↑	Vakuolisierung des renalen tubulären Epithels (in 25/25)
		Hypertrophie und/oder Hyperplasie der Schilddrüse		
		Verändertes Kolloid der Schilddrüse		
300	γ-Glutamyltransferase ↑	–	γ-Glutamyltransferase ↑	–
	Gesamtbilirubinwert ↓	–	Gesamtbilirubinwert ↓	Gesamtbilirubinwert ↓
	Absolutes und relatives Lebergewicht ↑	Absolutes und relatives Lebergewicht ↑	Absolutes und/oder relatives Lebergewicht ↑	Absolutes und/oder relatives Lebergewicht ↑
	Absolutes und relatives Nierengewicht ↑	Absolutes und relatives Nierengewicht ↑	Absolutes und/oder relatives Nierengewicht ↑	Absolutes und/oder relatives Nierengewicht ↑
			Hypertrophie und/oder Hyperplasie der Schilddrüse	Vakuolisierung des renalen tubulären Epithels (in 9/25)
		Verändertes Kolloid der Schilddrüse		
100	Keine Effekte	Keine Effekte	Relatives Nierengewicht ↑	Relatives Nierengewicht ↑

die F1A-Elterntiere nach dem Absetzen der F2-Generation.

Reproduktionstoxische Effekte. DINCH-Dosen bis 1000 mg/kg KG/Tag hatten keinen Einfluss auf den Oestruszyklus vor der Verpaarung der F0- und F1A-Weibchen, das Paarungsverhalten, die Fertilität (Trächtigkeit, Geburt und Laktation), die Spermienparameter der F0- und F1A-Männchen bei der Sektion (Spermienmorphologie und -motilität in allen Dosisgruppen; Spermienanzahl in Cauda epididymidis sowie Hoden nur in der Kontrolle und der höchsten Dosis), das Gewicht der Sexualorgane und deren histopathologische Befunde.

Entwicklungstoxische Effekte. Dosierungen bis 1000 mg/kg KG/Tag ergaben keine Effekte auf die F1- und F2-Generation bezüglich Lebensfähigkeit, Körpergewichtsentwicklung von Tag 0 bis 21 post partum, sexuelle Reifung der F1A-Elterntiere wie auch keine klinischen Symptome und pathologischen Veränderungen bei der Sektion. Insgesamt wurden keine

behandlungsbedingten Effekte in der F1- und F2-Generation beobachtet.

Systemische Toxizität. Die behandlungsbedingten Effekte auf die Elterntiere in der F0- und F1-Generation werden in der **Tab. 3** dargestellt.

Die Autoren der Studie bewerteten die histopathologischen Effekte auf Niere und Schilddrüse und die damit im Zusammenhang stehenden erhöhten Organ Gewichte als eine substanzinduzierte Toxizität. Alle anderen Effekte wie auch die Induktion der Leberenzyme wurden als adaptive Effekte eingestuft.

Die Bewertung der Effekte auf die Schilddrüse in der F1-Generation als advers steht im Gegensatz zu der Bewertung der subchronischen [36] (s. Kap. 4.5) und der chronischen Fütterungsstudie [50] (s. Kap. 4.7) durch die jeweiligen Verfasser. In den genannten Studien wurden ähnliche Effekte berichtet, diese jedoch als sekundär zur Induktion der Leberenzyme betrachtet und/oder als toxikologisch nicht relevant.

In der 2-Generationen-Studie ist der NOAEL für entwicklungstoxische und

reproduktionstoxische Effekte 1000 mg/kg KG/Tag. Für die systemische Toxizität in der F0-Generation legten die Autoren der Studie einen NOAEL von 1000 mg/kg KG/Tag fest und für die systemische Toxizität in der F1-Generation einen NOAEL von 100 mg/kg KG/Tag (LOAEL 300 mg/kg KG/Tag, s. **Tab. 3**).

Die 2-Generationen-Studie wurde sowohl von der EFSA [16] wie auch von Bhat et al. [20] einer Neubewertung unterworfen (s. Kap. 5).

4.8.2 Entwicklungstoxizität

Bewertungsrelevante Studien zur Wirkung von DINCH auf die embryonale und fötale Entwicklung wurden an Ratten und Kaninchen gemäß der OECD Richtlinie 414 durchgeführt. Es wurden keine maternal- oder entwicklungstoxischen Effekte bei Dosierungen ≥ 1000 mg/kg KG/Tag berichtet.

In Versuchen an Wistar-Ratten [52] erhielten Gruppen von 25 Tieren am Tag 6 bis zum Tag 19 post coitum mit der Schlundsonde DINCH-Dosen von 0 (Lösungsmittelkontrolle Olivenöl), 200, 600 oder 1200 mg/kg KG/Tag. Das Applika-

tionsvolumen betrug jeweils 5 ml/kg KG. Die Schnittentbindung erfolgte am Tag 20 post coitum. Einschließlich der höchsten Dosis wurden keine maternaltoxischen Effekte auf Futterverbrauch, Körpergewichtsentwicklung und Gewicht der Gebärmutter beobachtet wie auch keine klinischen Symptome oder pathologische Veränderungen bei der Sektion. Weiterhin wurden keine Effekte auf die Konzeptionsrate oder die Anzahl der Gelbkörper, der Implantationen, der Resorptionen, der lebenden Föten oder auf das fötale Gewicht und das Verteilungsverhältnis der männlichen und weiblichen Föten berichtet. Es wurden keine behandlungsbedingten externen, viszeralen oder skelettalen Missbildungen festgestellt. In dieser Studie liegt der NOAEL für maternal- und pränatale entwicklungstoxische Effekte bei 1200 mg/kg KG/Tag.

In einer Fütterungsstudie an Himalaya Kaninchen [53] wurden Gruppen von 25 künstlich befruchteten Kaninchen am Tag 6 bis 29 nach der Besamung gegenüber 0, 102, 311 oder 1028 mg DINCH/kg KG/Tag exponiert. Am Tag 29 wurden die Muttertiere getötet und der Sektion zugeführt. Bei der Sektion zeigten 19 bis 24 Tiere je Gruppe Implantationen. Die Auswertung erfolgte wie in der Studie an Ratten und ergab bis einschließlich 1028 mg/kg KG/Tag keine maternal- oder entwicklungstoxischen Effekte wie auch keine teratogenen Effekte. Auf Basis dieser Ergebnisse liegt der NOAEL bei 1028 mg/kg KG/Tag.

In einer Schlundsondenstudie, die als Dosisfindungsstudie für die anschließende 2- Generationen-Studie diente und sich zum Teil an den OECD-Richtlinien 414 und 415 orientierte [54], wurden prä- und postnatale entwicklungstoxische Effekte an Wistar-Ratten untersucht. Zehn trächtige Ratten pro Gruppe wurden vom Tag 3 post coitum bis zum Tag 20 post partum mit 0, 750 oder 1000 mg DINCH/kg KG/Tag behandelt. Die Lösungsmittelkontrolle erhielt Olivenöl. Die Muttertiere (F0) wurden nach dem Absetzen [Tag 21 post partum (pp)] der Nachkommen (F1) getötet und seziiert. Futteraufnahme und Gewichtsentwicklung der behandelten F0-Tiere entsprachen den Kontrollen, klinische Symptome traten nicht auf. Ebenso waren Trächtigkeit, Geburt und Lakta-

tion unbeeinflusst durch die Behandlung. Die Sektion der F0-Tiere ergab keine Befunde. Alle männlichen F1-Tiere und 3 weibliche F1-Tiere pro Wurf wurden am Tag 21 pp für die weitere Untersuchung selektiert, nicht selektierte Nachkommen verworfen. Die Studie endete 100 bis 105 Tage post partum mit der Sektion der F1-Ratten. Die Exposition der Muttertiere ergab keine klinischen Symptome der F1-Tiere und hatte keinen behandlungsbedingten Effekt auf die Körpergewichtsentwicklung, die Morphologie der Sexualorgane oder die sexuelle Reifung der Nachkommen. Der Anogenital-Abstand (AGD) bzw. Anogenital-Index sowie das Auftreten von Brustwarzen bei männlichen Tieren waren unbeeinflusst. Die Untersuchung der Motilität der Spermien der F1-Tiere bei Versuchende ergab ebenfalls keine Effekte. Der NOAEL für reproduktionstoxische und entwicklungstoxische Effekte liegt in dieser Studie bei 1000 mg/kg KG/Tag.

Furr et al. [55] beschreiben die Ergebnisse eines fötalen Phthalat-Screeningtests (FPS), in dem der Einfluss auf die fötale Testosteronproduktion und die Genexpression der Steroidogenese untersucht wurde. Trächtigen Sprague-Dawley-Ratten wurde einmal am Tag oral das betreffende Phthalat (Schlundsonde, in Maiskeimöl, Dosis 750 mg/kg KG/Tag) vom 14. bis 18. Tag der Trächtigkeit – und damit im kritischen Zeitfenster für die sexuelle Differenzierung der männlichen Tiere – verabreicht. Am 18. Trächtigkeitstag wurden die Föten entnommen und deren Hoden zur Ex-vivo-Bestimmung der testikulären Testosteronproduktion sowie zur Bestimmung testikulärer Genexpressionsmuster via RT-PCR-Array verwendet. Nähere Angaben zum Testdesign sind bei Hannas et al. [56] zu finden. DINCH führte zu keiner Hemmung der fötalen testikulären Testosteronproduktion [55, 57].

5 Bewertung

Auf Basis der vorliegenden Studien für DINCH wurden von 2 verschiedenen Gremien [16, 19] unterschiedliche TDI-Werte abgeleitet. Diese leicht unterschiedlichen Ableitungen beruhen vorwiegend darauf, dass die Ergebnisse der tierexpe-

rimentellen Studien unterschiedlich interpretiert und bewertet und somit unterschiedliche NOAEL-Werte herangezogen wurden. Gemeinsam haben beide Ableitungen, dass jeweils ein Sicherheitsfaktor von 100 verwendet wurde. Ferner liegt eine aktuelle und ausführliche Ableitung für eine RfD von Bath et al. [20] vor. Bewertungen der toxikologischen Daten durch weitere Gremien liegen vor, die Ableitungen von NOAEL-Werten werden nachfolgend dargestellt, TDI-Werte wurden jedoch nicht abgeleitet. Eine Zusammenfassung aller Bewertungen findet sich in

■ **Tab. 4.**

5.1 European Food Safety Authority (EFSA)

Grundlage für die Ableitung eines TDI-Wertes durch die EFSA waren nierentoxische Effekte. Bei der subchronischen Fütterungsstudie an Ratten [36] sehen die Autoren der EFSA-Dokumentation die Hämaturie und degenerierte Zellen des Übergangsepithels im Urin von männlichen und weiblichen Ratten² nach der hohen Dosis und von männlichen Ratten auch nach der mittleren Dosis als relevante Effekte an [16].

Weiterhin werden die Effekte von DINCH auf die Niere in der 2-Generationen-Studie an Ratten als bewertungsrelevant eingestuft. Hier trat bei männlichen F1-Ratten ab der mittleren Dosis von 300 mg/kg KG/Tag eine Vakuolisierung des tubulären Epithels auf. Der NOAEL lag bei 100 mg/kg KG/Tag. Aufgrund dieser Befunde an der Niere wurde von der EFSA ein NOAEL von 100 mg/kg KG/Tag festgelegt. Unter Anwendung eines Unsicherheitsfaktors von 100 wurde aus diesem NOAEL ein TDI von 1 mg/kg KG abgeleitet [16].

Die durch DINCH induzierte Hyperplasie der Schilddrüse in der subchronischen und 2-Generationen-Studie sowie die erhöhte Inzidenz von Schilddrüsenadenomen in der chronischen Studie wurden von der EFSA wegen der höheren Empfindlichkeit von Ratten im Vergleich

² Anmerkung: Die Auswertung der Originalstudie [36] ergab keinen Hinweis auf das Vorkommen degenerierter Zellen des Übergangsepithels im Urin von weiblichen Ratten.

Tab. 4 Übersicht zu NOAEL-Werten und daraus abgeleiteten TDI-Werten/Referenzdosen für DINCH

Bewertung	Zugrunde gelegte Effekte	Zugrunde gelegte Studie	NOAEL (mg/kg KG/Tag)	TDI-Wert/RfD
EFSA [16]	Nephrotoxizität: Hämaturie, degenerierte Zellen des Übergangsepithels im Urin, Vakuolisierung des tubulären Epithels	Subchronische Studie [36] und 2-Generationen-Studie [51]	100	TDI: 1 mg/kg KG
NICNAS [19]	Erhöhte Nierengewichte	Chronische Studie [50]	40	TDI: 0,4 mg/kg KG
Bath et al. [20]	Hypertrophie und Hyperplasie der Schilddrüse in der F1-Generation	2-Generationen-Studie [51]	BMDL ₁₀ : 21 (human-äquivalente Dosis)	RfD: 0,7 mg/kg KG/Tag
SCENHIR [4]	Nephrotoxizität: Hämaturie und degenerierte Zellen des Übergangsepithels im Urin	Subchronische Studie [36]	107	Nicht abgeleitet
RIVM [3]	Nephrotoxizität: Vakuolisierung des tubulären Epithels	2-Generationen-Studie [51]	100	Nicht abgeleitet
CPSC [59]	Schilddrüseneffekte: Adenome	Chronische Studie [50]	40	Nicht abgeleitet

zum Menschen als kein geeigneter Parameter für die TDI-Ableitung angesehen.

5.2 National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS)

Im Gegensatz zur Bewertung der EFSA sehen die Autoren der australischen Stoffdokumentation erhöhte Nierengewichte bei männlichen Ratten in der chronischen Fütterungsstudie [50] als bewertungsrelevanten Effekt [19]. Nach 12 Monaten Exposition war das absolute Nierengewicht der männlichen Ratten in der Satelliten-gruppe (n=10) bei der mittleren Dosis von 200 mg/kg KG/Tag signifikant um 20% erhöht (p<0,01). Nach 24 Monaten Exposition war es bei gleicher Dosis um 4,5% erhöht, der Effekt war schwach signifikant (p<0,05). Das absolute Nierengewicht bei männlichen Ratten war auch in der hohen Dosis signifikant erhöht, jedoch zeigte sich keine Dosis-Wirkungs-Beziehung. Der NOAEL lag bei 40 mg/kg KG/Tag. Die Autoren der NICNAS-Dokumentation sehen das erhöhte Nierengewicht nicht als adaptiven Prozess, da der Nachweis, wie die Induktion der entsprechenden Enzyme, in der Niere fehlt. Unter Anwendung eines Unsicherheitsfaktors von 100 wurde ein TDI-Wert von 0,4 mg/kg KG abgeleitet.³

³ Anmerkung: Es gibt Schwachstellen bezüglich der Auswahl dieser Studie als Schlüsselstudie: 1) Die Histopathologie ergab keine Befunde an der Niere, 2) das relative Nierengewicht war nach 24 Monaten in keiner Behandlungsgruppe erhöht und 3) eine signifikante Erhöhung des relativen Nierengewichtes bei männlichen Ratten lag nur nach 12 Monaten Exposition mit 200 mg/kg KG/Tag vor.

5.3 Bath et al.

Nach Auffassung von Bath et al. [20] sind ausreichend Daten vorhanden, die die US EPA Kriterien [58] zum Nachweis eines Potenzials für Schilddrüsenbeeinträchtigungen über einen hormonvermittelten MOA erfüllen. Die Autoren sehen deshalb die 2-Generationen-Studie an Wistar-Ratten als Schlüsselstudie zur Ableitung einer RfD an. In dieser Studie zeigte die erwachsene F1-Generation im Vergleich zu den Ratten der chronischen Studie eine höhere Inzidenz an Schilddrüsen- und Niereneffekten. Auf Basis human-äquivalenter Dosen wurde eine Benchmark-Modellierung durchgeführt, die im Ergebnis zu einer BMDL₁₀ von 21 mg/kg KG/Tag für den Endpunkt Schilddrüsenhypertrophie/-hyperplasie führte. Unter Berücksichtigung eines Assessmentfaktors von 10 für Intraspezies-Unterschiede sowie eines Assessmentfaktors von 3 wegen des Fehlens einer zweiten chronischen Studie an einem weiteren Tier wurde eine RfD von 0,7 mg/kg/Tag abgeleitet.

5.4 Weitere Bewertungen

Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks (SCENHIR; European Commission): In dieser Stoffdokumentation [4] wurde auf Grundlage der Niereneffekte in der subchronischen Fütterungsstudie an Ratten ein NOAEL von 107 mg/kg KG/Tag abgeleitet. Ein TDI-Wert wurde nicht angegeben.

U.S. Consumer Product Safety Commission (CPSC, USA): In einem Bericht für die CPSC [59] nennen die Autoren einen NOAEL von 40 mg/kg KG/Tag aus

der chronischen Fütterungsstudie an Ratten mit Bezug auf die Schilddrüseneffekte. Ein TDI-Wert wurde nicht abgeleitet.

Nationales Institut für öffentliche Gesundheit und Umwelt (RIVM, Niederlande): In Übereinstimmung mit der Bewertung durch die EFSA [16] wird ein NOAEL von 100 mg/kg KG/Tag aus der 2-Generationen-Studie für die Risikobewertung bezüglich Exposition via Kinderspielzeug zugrunde gelegt [3].

5.5 Bewertung der Kommission Human-Biomonitoring

In Übereinstimmung mit der Bewertung durch die EFSA [16] und andere Institutionen werden die Effekte auf die Leber und die Schilddrüse als nicht bewertungsrelevant eingestuft. Im Gegensatz dazu sind die folgenden nephrotoxischen Effekte von Relevanz:

1. Vakuolisierung des tubulären Epithels ab 300 mg/kg KG/Tag bei männlichen F1-Ratten nach etwa 4 Monaten Exposition in der 2-Generationen Studie [51]; NOAEL 100 mg/kg KG/Tag
2. Hämaturie bei männlichen Ratten nach 326 mg/kg KG/Tag in einer subchronischen Studie [36]; NOAEL 107 mg/kg KG/Tag
3. Harnzylinder mit degenerierten Epithelzellen im Urinsediment der männlichen Ratten nach 3 Monaten Exposition ab 200 mg/kg KG/Tag (temporär) in einer chronischen Fütterungsstudie [50]
4. In allen drei Studien parallel zu den bereits beschriebenen Effekten eine Erhöhung des relativen Nierengewichtes

5. Zellproliferation von tubulären Zellen der Niere bei männlichen Ratten in einer subchronischen Fütterungsstudie [45] ab einer Dosis von 200 mg/kg KG/Tag; kein Effekt bei 40 mg/kg KG/Tag

Die unter Punkt 1 bis 5 beschriebenen Befunde sind evident für eine toxische Wirkung auf die renalen Tubuli. Die Ausscheidung von Zellen des Übergangsepithels über den Urin in der subchronischen und chronischen Studie bei Dosierungen entsprechend dem LOAEL steht nicht in einem unmittelbaren Zusammenhang mit den oben genannten Effekten auf die Niere. Die unter Punkt 1 bis 4 genannten Studien beziehen sich bei der nephrotoxischen Wirkung auf eine vergleichbare Expositionsdauer von bis zu 4 Monaten; der Zufuhrweg ist identisch. Ein NOAEL für nephrotoxische Effekte von 100 mg/kg KG/Tag wird aus den bewertungsrelevanten Studien 1 und 2 abgeleitet und durch oben genannte Einzelaspekte aus der Gesamtheit der Studien unterstützt. Der entsprechende TDI-Wert beträgt 1 mg/kg KG.

6 HBM-Parameter und Analytik

Als diagnostisch valide Biomarker einer DINCH-Exposition wurden die Oxidationsprodukte der Alkylseitenkette des Monoesters MINCH identifiziert: Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure-mono-hydroxyisononyl-ester (OH-MINCH), Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure-mono-carboxyisooctyl-ester (cx-MINCH) und Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure-mono-oxoisooctyl-ester (oxo-MINCH) [29]. Da oxo-MINCH bislang überwiegend semi-quantitativ betrachtet wurde und ein analytischer Standard erst kürzlich synthetisch erschlossen worden ist, liegt bislang das Hauptaugenmerk auf der Analyse von OH-MINCH und cx-MINCH. Diese beiden Biomarker unterscheiden sich auch deutlich in ihren Halbwertszeiten der Ausscheidung.

Die Analytik erfolgt mithilfe der HPLC-MS/MS. Die Probenvorbereitung beinhaltet die Zugabe der isotope-markierten internen Standards für die DINCH-Metabolite OH-MINCH und cx-MINCH und die Spaltung möglicher

Konjugate dieser beiden Metabolite mittels β -Glucuronidase. Die LOQ-Werte (LOQ, Limit of Quantification) liegen für die oxidierten Metabolite bei 0,05 $\mu\text{g/l}$. Die relativen Standardabweichungen der Konzentrationen beider Metabolite für die Messungen in Serie und die Tag-zu-Tag Messungen sind kleiner als 10 % [60].

7 Ableitung der HBM-Werte

Die Ableitung folgt dem Weg, den die HBM-Kommission 2007 beschrieben hat [61]:

HBM I = $[\text{TDI} \times (\text{gemitteltetes Molekulargewicht Metabolite/Molekulargewicht DINCH}) \times \text{Fue}] / \text{Urinmenge [l/kg KG/Tag]}$

1. Bestimmung des Verhältnisses der gemittelten Molmassen der Metabolite OH-MINCH und cx-MINCH zu der Molmasse von DINCH:

$$[(\text{OH-MINCH} + \text{cx-MINCH}) : 2] / \text{DINCH} = [(314 + 328) : 2] / 424,7 = 0,75$$
2. Bestimmung des metabolischen Konversionsfaktors (f_{ue}): Von oral aufgenommenem DINCH werden nach den Ergebnissen der oben genannten toxikokinetischen Studie binnen 48 h 10,73 % in Form von OH-MINCH und 2,03 % in Form von cx-MINCH, zusammen 12,76 %, im Urin ausgeschieden. Der metabolische Konversionsfaktor (f_{ue}) beträgt somit 0,1276
3. Urinmenge: Kinder 0,03 l/kg/Tag; Erwachsene 0,02 l/kg/Tag
4. Berechnung: **HBM I** = $[\text{TDI} \times (\text{mol Met/mol DINCH}) \times \text{Fue}] / \text{Urinmenge in l/kg/Tag}$

HBM I (OH-MINCH + cx-MINCH) Kinder: $[1000 \times 0,75 \times 0,1276] / 0,03 = 3190$, gerundet 3000 $\mu\text{g/l}$

HBM I (OH-MINCH + cx-MINCH) Erw.: $[1000 \times 0,75 \times 0,1276] / 0,02 = 4785$, gerundet 4500 $\mu\text{g/l}^4$

⁴ Basierend auf der RfD von 0,7 mg/kg KG/Tag ergäben sich folgende Werte:
 HBM I (OH-MINCH + cx-MINCH) Kinder: 2233 $\mu\text{g/l}$,
 HBM I (OH-MINCH + cx-MINCH) Erw.: 3350 $\mu\text{g/l}$.

8 Ergebnisse zum Human-Biomonitoring von DINCH-Metaboliten

Im Rahmen eines vom Umweltbundesamt vergebenen Forschungsvorhabens wurden die neuen Human-Biomonitoring-Analyse-Methoden für DINCH bzw. seine Metabolite zur Analyse von Urinproben der Umweltprobenbank für Humanproben (ESB Hum) eingesetzt [62]. Es sollten so erstmalig innere Belastungen in einem Teilkollektiv der deutschen Allgemeinbevölkerung bestimmt und ein möglicher Zeitverlauf der Belastungen über die Probenjahre (1995–2012) hinweg ermittelt werden. In der Studie wurden insgesamt 300 24-h-Urinproben untersucht. Diese stammen aus den Jahren 1999, 2003, 2006, 2009 und 2012. Pro Jahr wurden 60 Proben, darunter 30 Proben von weiblichen Probanden und 30 Proben von männlichen Probanden analysiert. Bei den Probanden handelt es sich hauptsächlich um Studenten der Universität Münster im Alter von 20 bis 30 Jahren.

Aus den Ergebnissen der Analysen wird ersichtlich, dass OH-MINCH der dominierende DINCH-Metabolit ist, der in 29,7 % aller Proben nachgewiesen werden konnte. Weitere Metaboliten sind cx-MINCH (24 %), oxo-MINCH (22 %) und MINCH (1,7 %).

Es zeigte sich anhand der analysierten DINCH-Metabolite ein klarer Zusammenhang mit dem Jahr der Probenahme. Bis einschließlich 2003 konnten keine DINCH-Metabolite in den Proben gefunden werden. Ab dem Jahr 2006 bis hin zum Jahr 2012 stiegen sowohl der Prozentsatz der Urinproben, in denen DINCH-Metabolite nachgewiesen wurden, als auch die Konzentrationen der Metabolite in den einzelnen Urinproben. In 2012 waren in nahezu allen untersuchten Proben (98,3 %) DINCH-Metabolite nachweisbar und quantifizierbar. Auch die höchsten Metabolitkonzentrationen wurden in diesem letzten Jahr der Probenreihe gemessen. Der geometrische Mittelwert von OH-MINCH stieg signifikant von Konzentrationen unterhalb des LOQ in 2006 auf 0,40 $\mu\text{g/l}$ im Jahr 2012 an. Gleiche Trends wurden auch für die Metabolite cx-MINCH und oxo-MINCH beobachtet. Die Konzentration von cx-MINCH

stieg ebenfalls von einem Wert unterhalb des LOQ in 2006 auf 0,18 µg/l im Jahr 2012 an, die von oxo-MINCH von einem Wert unterhalb des LOQ in 2006 auf 0,25 µg/l in 2012. Für den Analyten MINCH, der nur zu einem geringen Anteil ausgeschieden wird, wurden zu geringe Detektionsraten bzw. Konzentrationen bestimmt, um einen signifikanten Zeittrend zu erkennen.

Für die Proben des Jahres 2012 ergab sich für OH-MINCH ein 95. Perzentil von 2,09 µg/l und ein Maximalwert von 236 µg/l. Für cx-MINCH ergab sich ein 95. Perzentil von 0,86 µg/l und ein Maximalwert von 98,4 µg/l. Für den Maximalwert liegt die Summe aus OH- und cx-MINCH somit bei 334 µg/l. Dieser Wert entspricht ca. 7,5 % des HBM I (OH-MINCH + cx-MINCH) Wertes.

Schütze et al. [62] berechneten für 2012, basierend auf dem 24-h-Urinvolumen der Probe mit den höchsten DINCH-Metabolitkonzentrationen, eine DINCH-Aufnahme von 36,3 µg/kg KG/Tag. Diese berechnete Aufnahmemenge entspricht ca. 3,7 % des TDIs von 1000 µg/kg KG/Tag.

Danksagung. Die HBM-Kommission dankt Dr. Ulrich Wahnschaffe, Dr. Oliver Licht und Dr. Inge Mangelsdorf (Hannover) für die Erstellung des Textentwurfes, Dr. Rainer Otter (Ludwigshafen), Petra Apel (Berlin), Dr. Holger M. Koch (Bochum) und Prof. Dr. Jürgen Angerer (Uttenreuth) für die ergänzenden Beiträge sowie Angela Lehmann (Berlin) für die Unterstützung bei der redaktionellen Bearbeitung.

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. Es besteht kein Interessenkonflikt.

Quellenverzeichnis⁵

1. Wadey BL (2003) An innovative plasticizer for sensitive applications. *J Vinyl Addit Technol* 9(4):172–176. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/vnl.10080/abstract>
2. BASF (2012) Hexamoll® DINCH® – der zuverlässige Nicht-Phthalatweichmacher. http://www.weichmacher.basf.com/portal/5/de/dt.jsp?setCursor=1_222675&seite=einsatzgebiete_hexamoll_dinch, http://www.weichmacher.basf.com/portal/5/de/dt.jsp?setCursor=1_230801

3. Janssen PJCM, Bremmer HJ (National Institute for Public Health and the Environment RIVM, Centre for Substances and Integrated Risk Assessment (SIR)) (2009) Risk assessment non-phthalate plasticizers in toys. 1–27. https://www.vwa.nl/txmpub/files/?p_file_id=2000547
4. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR) (2008) Opinion on the safety of medical devices containing DEHP-plasticized PVC or other plasticizers on neonates and other groups possibly at risk. http://ec.europa.eu/health/archive/ph_risk/committees/04_scenihr/docs/scenihr_o_014.pdf
5. Europäisches Parlament und Rat (2004) Verordnung (EG) Nr. 1935/2004 über Materialien und Gegenstände, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen 27. Oktober 2004 und zur Aufhebung der Richtlinien 80/590/EWG und 89/109/EWG. http://europa.eu/legislation_summaries/consumers/product_labelling_and_packaging/l21082a_de.htm
6. EU VERORDNUNG (EU) (2011) Nr. 10/2011 DER KOMMISSION vom 14. Januar 2011 über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen. Amtsblatt der Europäischen Union L 12/1–89. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1400498090801&uri=CELEX:32011R0010>
7. Badina J (2008) Base chemicals. Intermediates. BASF reinforces its presence in China [Chimie de base. Intermédiaires. BASF renforce sa présence en Chine] *Info Chimie Magazine* 45(484):20
8. Nagorka R, Conrad A, Scheller C, Süßenbach B, Moriske HJ (2011) Weichmacher und Flammschutzmittel im Hausstaub. Teil 2. Gefahrstoffe – Reinh. Luft 71(6): 286–292. [http://www.gefahrstoffe.de/gest/article.php?data\[article_id\]=61206](http://www.gefahrstoffe.de/gest/article.php?data[article_id]=61206)
9. BASF Pressemitteilung P-14-231 (2014) BASF verdoppelt Produktionskapazität für Hexamoll® DINCH® auf 200.000 Jahrestonnen. <http://basf.com/group/pressemitteilung/P-14-231>
10. BASF (2011) Technisches Merkblatt, Hexamoll® DINCH®, M 6168 d, Juni 2011 Ludwigshafen. http://www.weichmacher.basf.com/portal/5/de/dt.jsp?setCursor=1_222592
11. BASF (2000) Physico-chemical properties of 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl)ester. Analytical report 99L00403. Ludwigshafen*
12. BASF (1999) Physico-chemical properties of 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl) ester. Analytical report: 99L00403. ZAX Analytik BASF, Ludwigshafen
13. Bhaskaran Nair CS, Vidya R, Ashalatha PM (2011) Hexamoll DINCH plasticised PVC containers for the storage of platelets. *Asian J Transfus Sci* 5(1):18–22. <http://dx.doi.org/10.4103%2F0973-6247.75972>
14. Nussbaumer W, Schennach H, Mayersbach P, Nussbaumer O, Amann E, Herman M, Mayer W (2010) Suitability of a New Phthalate Free Plasticizer (Diisononyl-Cyclohexan-1,2-Dicarboxylat; Dinch) for Blood Bags. *Vox sanguinis* 99: Issue supplement S1, 116, P-0311, The XXXIst International Congress of the ISBT is organised in joint cooperation with the 43rd Congress of the DGTI Berlin, Germany, June 26–July 1. www.isbtweb.org/uploads/tx_isbtarchive/pdfs/2010_Berlin.pdf
15. IVLV (2011) Merkblätter für die Prüfung von Packmitteln, Merkblatt No. 107/2011: Leitfaden zur Bewertung von Phthalaten in Lebensmittelkontaktmaterialien. Industrievereinigung für Lebensmitteltechnologie und Verpackung e. V. (IVLV), herausgegeben von dem IVLV Arbeitskreis „Bewertung von Bedarfsgegenständen“ der Arbeitsgruppe „Qualität und Sicherheit verpackter Lebensmittel – QSVL“ – V1, Sept. 2011
16. EFSA (2006) Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request related to a 12th list of substances for food contact materials. *EFSA J* 395–401, 1–21. http://www.pvch.ch/docs/PDF/Hexamoll_DINCH_afc_op_ej_12thlist_op_en.pdf
17. Bopp K, Kuch B, Roth M (2010) Hormonelle Aktivität in natürlichen Mineralwässern? Deutsche Lebensmittel-Rundschau 106:489–500
18. Schössler P, Schripp T, Salthammer T, Bahadir M (2011) Beyond phthalates: gas phase concentrations and modeled gas/particle distribution of modern plasticizers. *Sci Total Environ* 409(19):4031–4038. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969711006334>
19. National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS) (2008) 1,2-Cyclohexanedicarboxylic acid, 1,2-diisononyl ester („Hexamoll DINCH“) Full Public Report: STD/1259. <http://www.nicnas.gov.au/publications/car/new/std/std-fullr/std1000fr/std1259fr.pdf>
20. Bhat VS, Durham JL, Ball GL, English JC (2014) Derivation of an oral reference dose (RfD) for the non-phthalate alternative plasticizer 1,2-cyclohexane dicarboxylic acid, di-isononyl ester (DINCH). *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 17(2):63–94
21. Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) (2004) Bekanntmachung des Bundesinstituts für Risikobewertung: Gesundheitliche Beurteilung von Kunststoffen im Rahmen des Lebensmittel- und Bedarfsgegenständengesetzes. 207. Mitteilung. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 47(6):602–604. <http://link.springer.com/article/10.1007/s00103-004-0850-3>
22. Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) (2011) BfR bewertet Untersuchungen zu hormonaähnlichen Wirkungen von in natürlichen Mineralwässern vorkommenden Substanzen. Stellungnahme Nr. 007/2011 des BfR vom 2. Feb. 2011, Berlin. http://www.bfr.bund.de/cm/343/bfr_bewertet_untersuchungen_zu_hormonaehnlichen_wirkungen_von_in_natuerlichen_mineralwaessern_vorkommenden_substanzen.pdf
23. OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development) OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS Test No. 417 Toxicokinetics. 23 July 2010. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-417-toxicokinetics_9789264070882-en
24. BASF (2003) 14C-1,2-Cyclohexanedicarboxylic acid, diisononyl ester – study of the biokinetics in rats. Project no.: 02B0608/016021. Ludwigshafen*
25. BASF (2005) 14C-1,2-Cyclohexanedicarboxylic acid, diisononyl ester – Study of the Biokinetics in Rats. Amendment No. 1 to the Report. Project No.: 02B0608/016021. Ludwigshafen*
26. BASF (2005) Investigations on the metabolism of 14C-1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid diisononyl ester (DINCH) in rats. Project No.: 197662. Ludwigshafen*

⁵ Die mit „*“ gekennzeichneten Studien sind unveröffentlicht, wurden aber im Rahmen der Erstellung dieser Stellungnahme eingesehen.

27. Silva M, Calafat A, Furr J, Gray E, Preau J, Samandar E (2011) Biomarkers of Di(isononyl)cyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH). Abstract Number: 2010-3, PITTCON 2011, March 13-18, Atlanta. <http://ca.pittcon.org/technical+program/tpabstra11.nsf/Agenda+Time>
28. Silva MJ, Furr J, Preau J, Samandar E, Gray E, Calafat A (2012) Identification of potential biomarkers of exposure to di(isononyl)cyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH), an alternative for phthalate plasticizers. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 22(2):204-211. <http://www.nature.com/jes/journal/v22/n2/full/jes201143a.html>
29. Koch HM, Schütze A, Pälme C, Angerer J, Brüning T (2013) Metabolism of the plasticizer and phthalate substitute diisononyl-cyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH[®]) in humans after single oral doses. *Arch Toxicol* 87(5):799-806. doi:10.1007/s00204-012-0990-4
30. BASF (1999) 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl)ester, acute oral toxicity in rats. Project no.:10A0223/991059. Ludwigshafen
31. BASF (1999) 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl)ester, acute dermal toxicity in rats. Project no.:11A0223/991060. Ludwigshafen*
32. BASF (2004) Hexamol[®] DINCH – Acute dermal irritation/ corrosion in rabbits. Project No.: 18H0010/042033. Ludwigshafen*
33. BASF (1999) 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl)ester – acute eye irritation in rabbits. Project No.: 11H0223/992126. Ludwigshafen
34. BASF (1999) 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl)ester –maximization test in guinea pigs. Project no.: 30H0223/992127. Ludwigshafen*
35. BASF (2000) 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl) ester. Repeated dose oral toxicity study in Wistar rats. Administration in the diet for 4 weeks and recovery period of 2 weeks. Project no.: 37S0223/99062. Ludwigshafen*
36. BASF (2002) 1,2 Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl)ester – Subchronic oral toxicity study in Wistar rats. Administration in the diet for 3 months. Project No.: 50S0107/01009. Ludwigshafen*
37. BASF (2005) 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl) ester. Liver enzyme induction study in Wistar rats. Administration in the diet over 2 weeks. Project No.: 48C0107/01181. Ludwigshafen*
38. BASF (2005) 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl) ester. Thyroid function study in male Wistar rats using perchlorate discharge as a diagnostic test. Administration in the diet over 4 weeks. Project no.: 48C0107/01180. Ludwigshafen*
39. Boas M, Feldt-Rasmussen U, Skakkebaek NE, Main KM (2006) Environmental chemicals and thyroid function. *Eur J Endocrinol* 154(5):599-611. <http://eje-online.org/content/154/5/599.long>
40. Capen CC (1997) Mechanistic data and risk assessment of selected toxic end points of the thyroid gland. *Toxicol Pathol* 25(1):39-48. <http://tpx.sagepub.com/content/25/1/39.full.pdf>
41. Klaassen CD, Hood AM (2001) Effects of microsomal enzyme inducers on thyroid follicular cell proliferation and thyroid hormone metabolism. *Toxicol Pathol* 29(1):34-40. <http://tpx.sagepub.com/content/29/1/34.full.pdf>
42. Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR (2007) Williams textbook of endocrinology, 11th revised edition, Saunders, 1936 p. ISBN: 978-1-4160-2911-3. <http://www.us.elsevierhealth.com/category/williams-textbook-of-endocrinology-expert-consult/9781416029113/>
43. International Agency for Research on Cancer (IARC) (1999) Species differences in thyroid, kidney and urinary bladder carcinogenesis. In: Capen CC, Dybing E, Rice JM & Wilbourn JD (Hrsg) IARC Sci. Pub. no. 147, ISBN 92 832 2147 8. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Publications/index0.php>
44. Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA (2010) Endocrine system (Chap. 17). In: Fundamentals of toxicologic pathology (2nd ed). Academic Press, San Diego, 2010, 513-551. ISBN: 978-0-12-370469-6. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123704696000179>
45. BASF (2005) 1,2 Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl) ester. S-Phase response study in the liver of Wistar rats. Administration in the diet for 1, 4 and 13 weeks. Project no.: 99S0107/01082. Ludwigshafen*
46. BASF (2000) Salmonella typhimurium/Escherichia coli reverse mutation assay (standard plate test and preincubation test) with 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl)ester. Project no.: 40M0223/994088. Ludwigshafen*
47. BASF (2000d) In vitro Chromosome Aberration Assay in Chinese Hamster V79 Cells with 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl)ester. RCC-CCR Project no. 651400. BASF Project no.: 32M0223/999040. Roßdorf*
48. BASF (2001) In vitro gene mutation test with 1,2 Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl)ester in CHO cells (HPRT Locus assay). Project no.: 50M0107/014031. Ludwigshafen*
49. BASF (2001) Micronucleus assay in bone marrow cells of the mouse with cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl)ester. Study conducted by RCC Cytotest Cell Research. Sponsored by BASF AG, Ludwigshafen, Germany*
50. BASF (2005) 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl) ester – Combined Chronic Toxicity/ Carcinogenicity study in CrGlxBrlHan:Wl-rats; Administration in the diet up to 24 months. Project no.: 82S0107/01094. Ludwigshafen*
51. BASF (2003) 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl) ester. Two-generation reproduction toxicity study in Wistar rats. Continuous dietary administration. Project no.: 70 R01 07/01021. Ludwigshafen*
52. BASF (2002) 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl) ester. Prenatal developmental toxicity study in Wistar rats. Oral administration (Gavage). Project no.: 30 R0223/99124. Ludwigshafen*
53. BASF (2004) 1,2-CYCLOHEXANE DICARBOXYLIC ACID, DI(ISONONYL)ESTER – Prenatal developmental toxicity study in Himalayan rabbits. Administration in the diet Project no.: 42R0107/01135. Ludwigshafen*
54. BASF (2002) 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid, di(isononyl) ester. Pre-/postnatal developmental toxicity study in Wistar rats. Oral administration (gavage). Project no.: 60R0223/99095. Ludwigshafen*
55. Furr JR, Lambright CS, Wilson VS, Foster PM, Gray LE Jr (2014) A short-term in vivo screen using fetal testosterone production, a key event in the phthalate adverse outcome pathway, to predict disruption of sexual differentiation. *Toxicol Sci* 140(2):403-424. doi:10.1093/toxsci/kfu081. <http://toxsci.oxfordjournals.org/content/140/2/403.abstract>
56. Hannas BR, Lambright CS, Furr J, Howdeshell KL, Wilson VS, Gray LE (2011) Dose-response assessment of fetal testosterone production and gene expression levels in rat testes following in utero exposure to diethylhexyl phthalate, diisobutyl phthalate, diisooheptyl phthalate, and diisononyl phthalate. *Toxicol Sci* 123(1):206-216. <http://toxsci.oxfordjournals.org/content/123/1/206.abstract>
57. Gray LE (2011) Additive effects of compounds with different modes of action: effects of mixtures of phthalates and other toxicants on sexual differentiation in rats: a risk assessment framework based upon disruption of common developing systems. Environmental health decision meeting: mixtures and cumulative risk assessment: new approaches using the latest science and thinking about pathways, July 27-28, 2011, Conference Center Washington, DC. http://nas-sites.org/emergingscience/files/2011/06/Mixtures_July2011_agenda3.pdf; <http://nas-sites.org/emergingscience/files/2011/08/Gray.pdf>; <http://nas-sites.org/emergingscience/meetings/mixtures/>
58. U.S. Environmental Protection Agency (1998) Assessment of thyroid follicular cell tumors. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/630/R-97/002
59. CPSC (2010) Review of exposure and toxicity data of phthalate substitutes. Bethesda. <http://www.cpsc.gov/about/cpsia/phthalsub.pdf>, <http://www.cpsc.gov/PageFiles/126546/phthalsub.pdf>
60. Schütze A, Pälme C, Angerer J, Weiss T, Brüning T, Koch HM (2012) Quantification of biomarkers of environmental exposure to di(isononyl)cyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH) in urine via HPLC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 895-896:123-130. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1570023212001900>
61. HBM Kommission (2007) Ableitung von Human-Biomonitoring-(HBM-)Werten auf der Basis tolerabler Aufnahmemengen –Teil II: Grundlagen und Ableitungsweg. Stellungnahme der Kommission Human-Biomonitoring des Umweltbundesamtes. Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz 50(2):251-254. <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00103-007-0146-5>
62. Schütze A, Kolossa-Gehring M, Apel P, Brüning T, Koch HM (2014) Entering markets and bodies: increasing levels of the novel plasticizer Hexamol[®] DINCH[®] in 24 h urine samples from the German Environmental Specimen Bank. *Int J Hyg Environ Health* 217(2-3):421-426. doi:10.1016/j.ijheh.2013.08.004. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1438463913001168>