

The MAK Collection for Occupational Health and Safety

Bis(morpholino)methan

MAK-Begründung, Nachtrag

A. Hartwig^{1,*}, MAK Commission^{2,*}

¹ Vorsitz der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

² Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

* E-Mail: A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Keywords: Bis(morpholino)methan; Nase; oberer Respirationstrakt; Reizwirkung; Kanzerogenität; Formaldehydabspalter; Strukturanalogie; Keimzellmutagenität; Sensibilisierung;

Citation Note: Hartwig A, MAK Commission. Bis(morpholino)methan. MAK-Begründung, Nachtrag. MAK Collect Occup Health Saf [Original-Ausgabe. Weinheim: Wiley-VCH; 2018 Jul;3(3):1168-1188]. Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2026. https://doi.org/10.34865/mb562590kskd0065_w

Neuveröffentlichung (Online): 06 Mrz 2026

Vormals erschienen bei Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb562590kskd0065>

Addendum abgeschlossen: 22 Mrz 2017

Erstveröffentlichung (Online): 26 Jul 2018

Zur Vermeidung von Interessenkonflikten hat die Kommission *Regelungen und Maßnahmen* etabliert.



Dieses Werk ist lizenziert unter einer
Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz.

4,4'-Methylenedimorpholine¹⁾ / 4-(Morpholin-4-ylmethyl)morpholine [Bis(morpholino)methan]

MAK Value Documentation in German language

A. Hartwig^{1,*}, MAK Commission^{2,*}

DOI: 10.1002/3527600418.mb562590kskd0065

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated 4,4'-methylenedimorpholine [5625-90-1], considering all toxicological endpoints. Available publications and unpublished study reports are described in detail. 4,4'-Methylenedimorpholine is a formaldehyde releaser. The substance is corrosive to rabbit skin and induces local effects in the forestomach of rats after prolonged oral application. Therefore, the critical effect is presumably the local irritation in the respiration tract. Adequate data in humans and inhalation studies in animals to derive a maximum concentration at the work place (MAK value) is not available. Thus, the assignment of the substance to Section II b of the List of MAK and BAT Values is retained. A prenatal toxicity study in rabbits does not show any developmental toxicity up to the highest dose tested of 100 mg/kg body weight and day. 4,4'-Methylenedimorpholine induces mutations in bacteria and is mutagenic and predominantly clastogenic to mammalian cells. The clastogenicity has, however, not been confirmed in vivo. Adequate carcinogenicity studies with 4,4'-methylenedimorpholine are not available but the release of the local carcinogen formaldehyde has also to be taken into account for evaluating the carcinogenicity of 4,4'-methylenedimorpholine. At work places where 4,4'-methylenedimorpholine is used the mean air concentration of formaldehyde is about 2 µl/m³. As the difference between the MAK value of formaldehyde of 300 µl/m³ and the work place air concentration is sufficiently large, and the measured concentrations are in the range of the background levels, no classification into a Carcinogen Category is confirmed. Clinical data in humans reveal a skin sensitizing potential which is also due to the release of formaldehyde. The results of the animal experiments are negative but they are carried out at very low concentrations. 4,4'-Methylenedimorpholine is designated with an "Sh" notation. Skin contact is not expected to contribute significantly to systemic toxicity.

Keywords

Bis(morpholino)methan; Dimorpholinomethan; Methylenbismorpholin; 4,4'-Methylenmorpholin; Wirkungsmechanismus; Toxikokinetik; Metabolismus; (sub)akute Toxizität; (sub)chronische Toxizität; Reizwirkung; allergene Wirkung; Reproduktionstoxizität; Fertilität; Entwicklungstoxizität; Genotoxizität; Kanzerogenität; Spitzenbegrenzung; fruchtschädigende Wirkung; krebserzeugende Wirkung; keimzellmutagene Wirkung; Hautresorption; sensibilisierende Wirkung; Arbeitsstoff; maximale Arbeitsplatzkonzentration; MAK-Wert; Toxizität; Gefahrstoff; Formaldehydabspalter; formaldehyde releaser

Author Information

¹ Vorsitzende der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

² Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

* Email: A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

1) formaldehyde releaser

Bis(morpholino)methan¹⁾

[5625-90-1]

Nachtrag 2018

MAK-Wert	nicht festgelegt, vgl. Abschnitt II b der MAK- und BAT-Werte-Liste
Spitzenbegrenzung	–
Hautresorption	–
Sensibilisierende Wirkung (2017)	Sh
Krebserzeugende Wirkung	–
Fruchtschädigende Wirkung	–
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert	–

Zu Bis(morpholino)methan liegt eine Begründung von 1999 vor. Seither sind neue Studien durchgeführt worden, die eine Reevaluierung des Stoffes ermöglichen.

Es liegt zudem ein CLH-Bericht (Proposal for Harmonised Classification and Labelling) aus dem Jahre 2014 vor (BMLFUW 2014).

Besondere Hinweise

Bis(morpholino)methan ist ein Formaldehydabspalter. Aus dem kommerziell verfügbaren Konservierungsmittel, das Bis(morpholino)methan enthält (Reinheit 98,5 %), können sich 14 bis 16 % als Formaldehyd abspalten. Das Konzentrat wird am Verbrauchsort auf eine maximale Konzentration von 2000 µl/l oder 300 µl freies Formaldehyd/l verdünnt und als Konservierungsmittel eingesetzt, das gegen Bakterien und Pilze wirksam ist (US EPA 2010).

Sechzehn Luftmessungen in einem Betrieb mit Metall-verarbeitenden Maschinen und dem Einsatz von Bis(morpholino)methan als Biozid ergaben Formaldehydkonzentrationen im Maschinenbereich von weniger als 1 µl/m³ bis zu 6,19 µl/m³ mit einem Mittelwert von 1,97 µl/m³. Die Hintergrundbelastung in diesem Betrieb betrug

1) Formaldehydabspalter

etwa $1 \mu\text{l}/\text{m}^3$ (bis maximal $2,8 \mu\text{l}/\text{m}^3$). Klinische Untersuchungen der Beschäftigten wurden nicht durchgeführt (Lubrizol Corporation 2008, 2016). Über die von Bis(morpholino)methan abspaltbaren Formaldehydmengen lässt die Studie keine Aussage zu. Die Studie kann allerdings als Beleg dafür gewertet werden, dass bei der Anwendung des Bis(morpholino)methan-haltigen Biozids die freigesetzte Formaldehydkonzentration unterhalb des MAK-Wertes für Formaldehyd von $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ liegt.

Bei Anwesenheit von nitrosierenden Agenzien ist unter Umständen mit dem Auftreten von Nitrosomorpholin, einem kanzerogenen N-Nitrosamin, zu rechnen (Begründung 1999). Die Luftkonzentration von Nitrosomorpholin lag im Maschinenbereich bei $0,22 \mu\text{l}/\text{m}^3$ mit einem Maximalwert von $0,37 \mu\text{l}/\text{m}^3$, die Hintergrundbelastung betrug etwa $0,11 \mu\text{l}/\text{m}^3$ (Lubrizol Corporation 2008).

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

An der Kaninchenhaut wirkt Bis(morpholino)methan ätzend. Der kritische Effekt von Bis(morpholino)methan dürfte die lokale Reizwirkung am Atemtrakt sein. Inhalationsstudien mit wiederholter Gabe liegen jedoch nicht vor.

Den klinischen Beobachtungen beim Menschen zufolge weist Bis(morpholino)methan ein hautsensibilisierendes Potenzial auf, das auch auf die Freisetzung von Formaldehyd zurückgeführt werden kann. Die vorliegenden Ergebnisse in tierexperimentellen Untersuchungen sind zwar negativ, die Untersuchungen sind aber mit sehr geringen Substanzkonzentrationen durchgeführt worden.

Bei Ratten führt die 90-tägige Gabe per Schlundsonde ab $50 \text{ mg}/\text{kg KG}$ und Tag im Vormagen zu lokalen Effekten wie Akanthose und Hyperkeratose.

Bei Kaninchen sind bis zur höchsten Dosis von $100 \text{ mg}/\text{kg KG}$ und Tag keine entwicklungstoxischen Wirkungen zu beobachten.

Bis(morpholino)methan wirkt *in vitro* an Bakterien mutagen sowie an Säugetierzellen mutagen und überwiegend klastogen. Die Klastogenität *in vitro* hat sich *in vivo* nicht bestätigt. *In-vivo*-Untersuchungen zur mutagenen Wirkung sowie zur Kanzerogenität liegen nicht vor.

2 Wirkungsmechanismus

Unverdünntes Bis(morpholino)methan mit einem pH-Wert von 10,8 wirkt ätzend an der Kaninchenhaut (Lubrizol Corporation 2001 b). Die ätzende Wirkung kann mit der Alkalinität des flüssigen Bis(morpholino)methans erklärt werden.

Aus Untersuchungen zur Hydrolyse von Bis(morpholino)methan konnten als Hydrolyseprodukte neben Formaldehydhydrat Methylenbismorpholin, N-Methylolmorpholin und Morpholin identifiziert werden. Mit der Erniedrigung des pH-Wertes und der Erhöhung der Temperatur nahm auch das Ausmaß der Hydrolyse zu (Lubrizol Deutschland GmbH 2007 a). Eindeutige Hinweise auf die abspaltbaren Formaldehydmengen lassen sich daraus nicht ableiten. So bleibt ungeklärt, welchen Beitrag das in wässriger Lösung ebenfalls ätzend wirkende Formaldehyd zur Ätzwirkung leistet.

3 Toxikokinetik und Metabolismus

3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

In einer Vorstudie erhielten Wistar-Ratten über intratracheale Instillation Bis(morpholino)methan (Reinheit > 93 %) in einmaligen Dosierungen von 2,5 mg/kg KG (zwei männliche und drei weibliche Tiere) oder 5 mg Bis(morpholino)methan/kg KG (je drei männliche und weibliche Tiere). Bei der zuerst gewählten höchsten Dosis von 15 mg/kg KG starben zwei der drei männlichen Tiere bzw. wurde ein Tier moribund. Im Blut erreichte die Morpholinkonzentration, ein Mol Bis(morpholino)methan ergibt zwei Mol Morpholin, nach zwei Stunden ein Maximum und lag unterhalb von 5 % der applizierten Gesamtdosis. Nach 12 Stunden lagen die per Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (GC-MS) bestimmten Morpholinkonzentrationen unterhalb der Bestimmungsgrenze von 1 µg/ml Blut. Innerhalb von 12 Stunden nach der Applikation wurden zwischen 44 und 100 % der applizierten Gesamtdosis mit dem Urin ausgeschieden (Lubrizol Deutschland GmbH 2007 b).

In der Hauptstudie zur Toxikokinetik nach einmaliger intratrachealer Gabe an je sechs männliche und weibliche Wistar-Ratten wurde je 2,5 mg Bis(morpholino)methan/kg KG mit unterschiedlichen ^{14}C -Markierungen, N,N'-Methylen-[U- ^{14}C]-bismorpholin und N,N'-[^{14}C]-Methylenbismorpholin, eingesetzt. **N,N'-Methylen-[U- ^{14}C]-bismorpholin** besitzt Markierungen an den beiden Morpholinringen ohne eine definierte Position. Dies ermöglicht die Summenbestimmung von Bis(morpholino)methan, Morpholin und einigen Morpholin-Metaboliten, aber nicht die von Formaldehyd. Bei je vier männlichen und weiblichen Tieren wurde die Exkretion der ^{14}C -morpholinmarkierten Substanz mit Urin und Faeces sieben Tage lang, bei je zwei männlichen und weiblichen Ratten die Kinetik im Blut über einen Zeitraum von 24 Stunden untersucht. Etwa 100 % der applizierten Dosis wurde über den Zeitraum von sieben Tagen mit dem Urin ausgeschieden, d. h. nach intratrachealer Gabe wird Bis(morpholino)methan vollständig aufgenommen. Die Radioaktivität in den Faeces wird mit 3 % der Gesamtdosis angegeben. In Organen und Geweben wurden nur sehr geringe Aktivitäten bestimmt, die Gesamtaktivität im Kadaver betrug nach sieben Tagen 0,4 % der applizierten Dosis. Die maximale Blutkonzentration wurde nach zwei Stunden, dem ersten Messzeitpunkt, erreicht. Diese entsprach etwa 2 % der gesamten applizierten Dosis. Die Halbwertszeit im Blut lag bei etwa fünf Stunden. Bei N,N'-[^{14}C]-Methylenbismorpholin ist die Methylengruppe markiert, womit Bis(morpholino)methan, Formaldehyd, CO_2 und Formaldehyd-Metaboliten erfasst werden. Bei je vier weiblichen und männlichen Tieren wurden Urin und Faeces und bei je zwei weiblichen und männlichen Ratten die Atemluft (Summe aus Formaldehyd und CO_2) über einen zeitlichen Verlauf von sieben Tagen untersucht. Die Bestimmung der Kinetik im Blut erfolgte bei je zwei männlichen und weiblichen Ratten über einen Zeitraum von 24 Stunden. Innerhalb von sieben Tagen wurden etwa 60 % der applizierten Dosis abgeatmet und etwa 25 % im Urin zurückgehalten, etwa 5 % der Radioaktivität wurde in den Faeces und etwa 10 % im Kadaver gefunden. Die maximalen Blutkonzentrationen wurden bei drei Tieren nach zwei Stunden (erster Messzeitpunkt) und bei einem Tier nach acht Stunden erreicht. Dabei betrug der Anteil an der Gesamtdosis zwischen 1,3 und 2,8 %. Die Halbwerts-

zeit im Blut betrug 25 bis 35 Stunden. Aus dem unterschiedlichen pharmakokinetischen Verhalten der beiden Substanzen mit unterschiedlichen Markierungen kann gefolgert werden, dass ein großer Anteil von Bis(morpholino)methan zu Morpholin und Formaldehyd umgesetzt wird. Jedoch ist eine quantitative Betrachtung einzelner Komponenten nicht möglich (BMLFUW 2014).

In einer nach OECD-Prüfrichtlinie 428 durchgeführten Studie zur Bestimmung der dermalen Aufnahme an dermatomierter menschlicher Haut wurde an unterschiedlichen Stellen 10 µl/cm² markiertes ¹⁴C-markiertes Bis(morpholino)methan eingesetzt. Die Markierung befand sich entweder an der Methylgruppe (N,N'-[¹⁴C]-Methylenbismorpholin) oder an beiden Morpholinringen (N,N'-Methylen-[U-¹⁴C]-bismorpholin). Proben der Rezeptorflüssigkeit und der flüchtigen Bestandteile wurden über einen Zeitraum von 24 Stunden nach der Aufbringung der markierten Testsubstanz in den ersten acht Stunden stündlich und danach alle zwei Stunden gesammelt. Nach Versuchsende wurde die Radioaktivität in allen Hautproben, der Rezeptorflüssigkeit, den Extrakten der Kohlenstoff-Fallen und Waschflüssigkeiten gemessen. Die Gesamtwiederfindungsrate lag zwischen 76 und 79 %. Für eine 3%ige Bis(morpholino)methan-Lösung ergab sich eine auf die Gesamtwiederfindungsrate korrigierte dermale Resorption von 68 % (Lubrizol Deutschland GmbH 2007 c).

3.2 Metabolismus

Aus einem Molekül Bis(morpholino)methan können bei der Hydrolyse theoretisch zwei Moleküle Morpholin und ein Molekül Formaldehyd entstehen.

In der Vorstudie zur Toxikokinetik wurde nach intratrachealer Gabe bei Ratten das Hydrolyseprodukt Morpholin mittels GC-MS nachgewiesen. Formaldehyd selbst wurde nicht detektiert, sondern nur in einer Summe zusammen mit anderen Verbindungen gefunden (s. Abschnitt 3.1).

4 Erfahrungen beim Menschen

4.1 Einmalige Exposition

Hierzu liegen keine Daten vor.

4.2 Wiederholte Exposition

Hierzu liegen keine Daten vor.

Bei denen im Vorspann erwähnten Expositionsmessungen wurden keine Untersuchungen an den Beschäftigten durchgeführt.

4.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Hierzu liegen keine Daten vor.

4.4 Allergene Wirkung

4.4.1 Hautsensibilisierende Wirkung

In sechs Kliniken des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) sowie in der Universitätsklinik von Malmö wurden in den Jahren 2000 bis 2002 insgesamt 133 Kühlschmierstoff-exponierte Metallarbeiter mit einer 1%igen Zubereitung von Bis(morpholino)methan in Vaseline getestet. Hierbei wurden vier einfach positive, drei zweifach positive und vier fragliche, aber keine irritativen Reaktionen registriert. Die klinische Relevanz war in keinem Fall nachweisbar, da das Vorkommen der Substanz in den verwendeten Kühlschmierstoffen nicht erwiesen war. Die Reaktionen auf diesen Formaldehydabspalter erscheinen jedoch plausibel, da sechs der sieben positiv getesteten Patienten im Epikutantest auch auf Formaldehyd reagiert hatten (Geier et al. 2006). Eine ähnliche Häufigkeit positiver Reaktionen fand sich auch in einer Untersuchung des Finnish Institute of Occupational Health (FIOH). Dort wurden die zwischen Januar 2001 und Mai 2007 bei insgesamt 81 Patienten mit einer Sensibilisierung gegen Formaldehyd erhobenen Befunde näher ausgewertet. Acht dieser Patienten wurden auch epikutan mit einer 1%igen Zubereitung von Bis(morpholino)methan epikutan getestet, bei fünf von ihnen mit positivem Resultat (je zweimal einfach und zweimal zweifach positive Reaktion, in einem Fall keine Angabe). Drei von vier Getesteten mit zwei- oder einfach positiver Reaktion auf Bis(morpholino)methan wurden auch mit N,N'-Methylenbis(5-methyl)-oxazolidin getestet, wobei jeweils gleich ausgeprägte Reaktionen (zweimal einfach, einmal zweifach positiv) wie gegen Bis(morpholino)methan auftraten. Das von einem der beiden einfach positiv reagierenden Patienten genutzte Kühlschmiermittel enthielt Bis(morpholino)methan; dessen Konzentration wurde jedoch nicht angegeben (Aalto-Korte et al. 2008).

4.4.2 Atemwegssensibilisierende Wirkung

Ein 54-jähriger, nicht rauchender Beschäftigter mit Tätigkeit an einer computer-gesteuerten Fräsmaschine berichtete über eine zweijährige Symptomatik mit Rhinitis, Giemen, trockenem Husten und Brustenge, die sich in der Nacht und während der Arbeitszeit verstärkte, in Urlaubszeiten hingegen verringerte. An der Maschine wurde ein semi-synthetischer Kühlschmierstoff, der Bis(morpholino)methan als Biozid enthielt, eingesetzt. Zusätzlich berichtete er über intermittierende Episoden von Rhinitis durch Gräserpollen, Duftstoffe und Reinigungsmittel. Im Pricktest traten Reaktionen gegen Gräserpollen (8 mm Durchmesser), Hundeepithelien (5 mm), Cladosporium (4 mm), Bis(morpholino)methan (3 mm; k.w.A.), Cobaltchlorid (2,5 mm; 5 mg/ml) und den (noch nicht eingesetzten) Kühlschmierstoff (2,5 mm; k.w.A.) auf. Die während vier Wochen im Abstand von jeweils zwei Stunden vorgenommenen Messungen des expiratorischen Spitzenflusses wurden mit dem OASYS-Programm ausgewertet.

Es zeigte sich ein arbeitsplatzbezogener Effekt (OASYS-Score 3,4 von maximal 4; Gannon et al. 1996). Spirometrisch fand sich eine grenzwertig obstruktive Lungenfunktionseinschränkung (FEV1/FVC = 70 %, FEV1: Einsekundenkapazität, FVC:

forcierte Vitalkapazität). FEV1 (2,75 l; 86 % des erwarteten Wertes), FVC (3,95 l; 100 %) und die unspezifische Atemwegsreaktivität waren unauffällig. Das fraktionierte exhalierete Stickoxid (FENO) war unter Arbeitsplatzbedingungen mit $79 \mu\text{l}/\text{m}^3$ deutlich erhöht. Nach einer dreiwöchigen arbeitsfreien Zeit wurde ein 50-minütiger bronchialer Provokationstest mit einer vernebelten, wässrigen 7%igen Lösung des Kühlschmierstoffes vorgenommen. Hierbei trat eine Sofortreaktion mit einem Abfall der FEV1 um 20 % auf, der sich innerhalb von 15 Minuten zurückbildete. Nach 3 bis 11 Stunden zeigte sich ein erneuter FEV1-Abfall um bis zu etwa 30 %, der mit asthmatischen Symptomen verbunden war. Ein weiterer Provokationstest mit einer vernebelten 0,7%igen wässrigen Lösung von Bis(morpholino)methan führte zu sofortiger Rhinitis-Symptomatik und nach 9 bis 11 Stunden zu einem FEV1-Abfall um 16,5 %. Einen Tag nach der Provokation zeigte sich eine erhöhte unspezifische Atemwegshyperreaktivität ($\text{PD}_{20(\text{Methacholin})}$; vorher: $> 4800 \mu\text{g}$, nachher: $587 \mu\text{g}$) während das FENO wenig verändert war (vorher: $77 \mu\text{l}/\text{m}^3$, nachher: $70 \mu\text{l}/\text{m}^3$). Neun Monate nach Aufgabe der Tätigkeit bestand die Atemwegssymptomatik weiterhin, und der Patient verwendete ein lokales Corticosteroid (zweimal täglich $200 \mu\text{g}$ Beclomethason). Die zu dem Zeitpunkt ermittelten Lungenfunktionsparameter betrugen für FEV1 2,59 l (82 %) und für FVC 4,45 l (113 %); der FENO-Wert wurde mit $56 \mu\text{l}/\text{m}^3$ angegeben (Walters et al. 2013).

4.5 Reproduktionstoxizität

Hierzu liegen keine Daten vor.

4.6 Genotoxizität

Hierzu liegen keine Daten vor.

4.7 Kanzerogenität

Hierzu liegen keine Daten vor.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

5.1.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.1.2 Orale Aufnahme

In einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 423 erhielten je drei männliche und weibliche Sprague-Dawley-Ratten 200, 500 oder 2000 mg Bis(morpholino)methan/kg KG per Schlundsonde. Bei der höchsten Dosierung wurden nur weibliche und keine männlichen Tiere eingesetzt, bei der niedrigsten Dosis erfolgte die Verabreichung als wässrige Lösung und bei den beiden höheren Dosierungen unverdünnt. Bei 500 mg/kg KG starb ein männliches Tier, und bei 2000 mg/kg KG starben alle Tiere innerhalb von vier Stunden. Bei den gestorbenen Tieren wurden abnorm rote Lungen, schwarze Leber und Nieren, blaues Material im Magen, Blutansammlung, Ulzeration und Schorf der Magenmukosa, Blutansammlung und Schorf im Vormagen, Blutansammlung und blaues Material im Dünndarm sowie Blutansammlung im Dickdarm gefunden. Die überlebenden Tiere waren ohne auffälligen Befund. Der LD₅₀-Wert liegt damit zwischen 500 mg/kg KG und 2000 mg/kg KG (Lubrizol Corporation 2001 a).

5.1.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.1.4 Intratracheale Instillation

In einer Vorstudie erhielten drei männliche Wistar-Ratten zunächst in einer einmaligen Dosierung von 15 mg Bis(morpholino)methan/kg KG durch intratracheale Instillation. Zwei Tiere starben, und das dritte wurde getötet, da sich der Gesundheitszustand rapide verschlechterte (s. Abschnitt 3.1; Lubrizol Deutschland GmbH 2007 b).

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

5.2.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.2.2 Orale Aufnahme

Die Studien mit oraler Verabreichung von Bis(morpholino)methan sind in Tabelle 1 beschrieben.

In einer 14-tägigen Dosisfindungsstudie an Ratten mit Schlundsondengabe wurden ab 50 mg/kg KG und Tag lokale Effekte im Vormagen festgestellt (BMLFUW 2014).

Tab. 1 Wirkung von Bis(morpholino)methan nach oraler Verabreichung an Ratten

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Sprague Dawley, 5 ♂, 5 ♀	14 Tage, 0, 50, 250, 1000 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, 7 Tage/Woche, Reinheit: k. A., Vehikel: k. A., Dosisfindungsstudie	kein NOAEL für lokale Effekte; ab 50 mg/kg KG: <u>Vormagen</u> : Verdickungen, k. w. A.	BMLFUW 2014
Ratte, Sprague Dawley, 10 ♂, 10 ♀	90 Tage, 0, 5, 15, 50, 250/150 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, 7 Tage/Woche, Reinheit: 98 %, Vehikel: Erdnussöl, 250 mg/kg KG u. Tag: Reduktion auf 150 mg/kg KG u. Tag nach 10 Wochen, da starke Toxizität, 28-tägige Erholungszeit: höchste Dosis- u. Kontrollgruppe (je 10 Tiere pro Dosis u. Geschlecht), OECD-Prüfrichtlinie 408	15 mg/kg KG: NOAEL für lokale Effekte im Vormagen; ab 15 mg/kg KG: Nasopharynx: epitheliale/subepitheliale Entzündungszellen u. Entzündungsexsudat (♂); ab 50 mg/kg KG: sporadisch gekrümmte Haltung u. Rasselatmung; <u>Vormagen</u> : Akanthose u. Hyperkeratose (♂ u. ♀, nicht vollständig reversibel, Schweregrad nach 28 Tagen stark vermindert); 250/150 mg/kg KG: Mortalität ↑ daher Dosisreduktion, gekrümm- te Haltung, laute Atmung, Speichelfluss ↑, KG ↓ (moribunde Tiere); <u>Plasma</u> : Gesamtplasmaprotein, Albumin od. Albumin-Globulin- Verhältnis leicht ↓; <u>Urin</u> : Volumen ↑; <u>Vormagen</u> : subepitheliale Entzündungszellinfiltrate u. Ulzerationen (♂ u. ♀), Perforation der Magenwand (1 ♀); <u>Larynx</u> : epitheliale Hyperplasie (♂ u. ♀), Hyperkeratose (♀); <u>Nasopharynx</u> : epitheliale/subepitheliale Entzündungszellen u. Entzündungsexsudat (♀); keine Effekte auf Futter- u. Wasserverbrauch, Hämatologie, FOB, Organgewichte, Ophthalmoskopie	Lubrizol Corporation 2002 a; Lubrizol Deutschland GmbH 2002

FOB: Functional Observational Battery

In einer nach OECD-Prüfrichtlinie 408 durchgeführten 90-tägigen Schlundsondenstudie an männlichen und weiblichen Sprague-Dawley-Ratten wurde die höchste Dosis von 250 mg/kg KG und Tag aufgrund starker Toxizität wie Körpergewichtsabnahme und Mortalität auf 150 mg/kg KG und Tag nach 10 Wochen erniedrigt. Nach der Dosisreduktion hatten die Tiere weiterhin eine gekrümmte Haltung und Rasselatmung, ein männliches Tier starb und ein weibliches wurde in extremis getötet. Bei den mit 50 mg/kg KG und Tag behandelten Tieren traten sporadisch gekrümmte Haltung und Rasselatmung auf. Die klinischen Befunde und die veränderten Plasmaparameter bei 250/150 mg/kg KG und Tag sind vermutlich die Folge der lokalen Reizwirkungen auf den Magen. Dem erhöhten Urinvolumen bei 250/150 mg/kg KG und Tag wird bei einem fehlenden Effekt auf die Wasseraufnahme eine begrenzte toxikologische Bedeutung beigemessen. Die Nekropsie vorzeitig gestorbener Tiere sowie von Tieren der höchsten Dosisgruppe ergab im Allgemeinen Schädigungen im Vormagen, Rötungen und Verdickungen des Epithels sowohl im Magen als auch im Vormagen und Aufblähungen des Darms, die auf die irritierende Wirkung der Testsubstanz zurückzuführen sind. Auf histologischer Ebene (s. Tabelle 2) kam es ab 15 mg/kg KG und Tag vermehrt zu Entzündungen im Nasopharynx männlicher Tiere. Ab 50 mg/kg KG und Tag wurden im Vormagen bei männlichen und weiblichen Tieren Akanthose und Hyperkeratose beobachtet. Der letztgenannte Befund war nach der 28-tägigen Erholungszeit nicht vollständig reversibel, jedoch im Schweregrad stark vermindert. Während der 12. Woche wurden funktionelle Leistungstests (motorische Aktivität, Griffstärke der Vorder- und Hintergliedmaßen) und Untersuchungen der sensorischen Reaktivität auf verschiedene Stimuli jeweils zwei Stunden nach der Schlundsondengabe bei allen Tieren durchgeführt. Substanzbedingte Veränderungen ergaben sich dabei nicht. Die Effekte im oberen Respirationstrakt werden als nicht systemische Effekte gesehen, die durch unbeabsichtigte Instillation oder eine andere direkte Aktion der Testsubstanz während der Applikation hervorgerufen wurden (Lubrizol Corporation 2002 a). Bei einer zusätzlichen Evaluation wurde diese Einschätzung noch unterstützt durch die Tatsache, dass der Effekt nicht dosisabhängig und am meisten bei den Tieren ausgeprägt war, die vorzeitig verstarben (Lubrizol Deutschland GmbH 2002). Der NOAEL für lokale Effekte im Vormagen betrug 15 mg/kg KG und Tag. Der NOAEL für systemische Effekte lag bei der höchsten Dosis von 250/150 mg/kg KG und Tag.

5.2.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

5.3.1 Haut

In einer nach OECD-Prüfrichtlinie 404 durchgeführten Studie wurde je 0,5 ml unverdünntes Bis(morpholino)methan mit einem pH-Wert von 10,8 bei drei männlichen Weißen-Neuseeländer-Kaninchen semiokklusiv vier Stunden lang auf die ra-

Tab. 2 Inzidenzen histopathologischer Befunde im Magen, Larynx und Nasopharynx nach 90-tägiger oraler Verabreichung von Bis(morpholino)-methan an Sprague-Dawley-Ratten am Versuchsende (Anzahl betroffener Tiere/Anzahl untersuchter Tiere) (Lubrizol Corporation 2002 a)

Organ	Dosis (mg/kg KG u. Tag)								
Histopathologische Veränderung	0	5	15	50	250/150	0	250/150	Erholung	Erholung
Vormagen									
Akanthose									
minimal	♂	0/10	0/10	1/9	0/6	0/10	0/10	7/10	
	♀	0/10	0/10	5/10	1/8	0/10	0/10	2/6	
geringfügig	♂	0/10	0/10	1/9	0/6	0/10	0/10	1/10	
	♀	0/10	0/10	0/10	3/8	0/10	0/10	3/6	
mäßig	♂	0/10	0/10	0/9	6/6	0/10	0/10	0/10	
	♀	0/10	0/10	0/10	4/8	0/10	0/10	0/6	
Hyperkeratose									
minimal	♂	0/10	0/10	0/9	0/6	0/10	0/10	7/10	
	♀	0/10	0/10	3/10	1/8	0/10	0/10	6/6	
geringfügig	♂	0/10	0/10	1/9	4/6	0/10	0/10	1/10	
	♀	0/10	0/10	0/10	7/8	0/10	0/10	0/6	
mäßig	♂	0/10	0/10	0/9	2/6	0/10	0/10	0/10	
subepitheliale Entzündungszellinfiltrate									
minimal	♀	0/10	0/10	0/10	1/8	0/10	0/10	1/6	
geringfügig	♂	0/10	0/10	0/9	1/6	0/10	0/10	0/10	
	♀	0/10	0/10	0/10	3/8	0/10	0/10	0/6	

Tab. 2 (Fortsetzung)

Organ	Dosis (mg/kg KG u. Tag)					
Histopathologische Veränderung	0	5	15	50	250/150	0 Erholung 250/150 Erholung
mäßig	♂	0/10	0/10	0/9	5/6	0/10 0/10
	♀	0/10	0/10	0/10	4/8	0/10 0/6
epitheliale Ulzeration	♂	0/10	0/10	0/9	6/6	0/10 0/10
	♀	0/10	0/10	0/10	7/8	0/10 0/6
Perforation	♀	0/10	0/10	1/10	0/8	0/10 0/6
submuköses Narbengewebe	♀	0/10	0/10	0/10	0/8	0/10 1/6
Larynx						
epitheliale Hyperplasie	♂	0/10	0/10	0/9	1/6	0/10 1/10
	♀	0/10	0/10	0/10	2/8	0/10 0/6
Hyperkeratose, minimal	♀	0/10	0/10	0/10	1/8	0/10 0/6
Nasopharynx						
epitheliale/subepitheliale Entzündungszellen						
minimal	♂	0/10	0/10	0/9	0/6	0/10 0/10
	♀	0/10	0/10	0/10	2/8	0/10 0/6
geringfügig	♂	0/10	0/10	1/9	0/6	0/10 0/10
	♀	0/10	0/10	0/10	1/8	0/10 0/6
Entzündungsexsudat oberhalb Epithel	♂	0/10	0/10	2/9	0/6	0/10 1/10
	♀	0/10	0/10	0/10	2/8	0/10 0/6
epitheliale Ulzeration	♂	0/10	0/10	1/9	0/6	0/10 0/10
epitheliale Hyperplasie	♂	0/10	0/10	1/9	0/6	0/10 0/10

n. u.: nicht untersucht

sierte intakte Haut aufgetragen. Die Beurteilung erfolgte nach einer Stunde, 24, 48 und 72 Stunden. Als Ausdruck einer ätzenden Wirkung traten mäßige bis starke Erytheme, starke Ödeme, vereinzelte ausgeblichene Hautbereiche, Hämorrhagien von Kapillaren und Abschuppungen auf. Nach neun Tagen wurden die Tiere getötet (Lubrizol Corporation 2001 b).

5.3.2 Auge

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.4 Allergene Wirkung

In der Begründung 1999 ist ein negativer Bühler-Test aufgeführt, in dem zur Induktionsbehandlung lediglich eine 1%ige und zur Auslösebehandlung eine 0,25%ige Testkonzentration verwendet wurden. Diese sind angesichts der im Test bei der Induktion ausgebliebenen irritativen Wirkung der Substanz deutlich zu niedrig, so dass das negative Ergebnis nicht für die Bewertung herangezogen werden kann.

An Meerschweinchen (20 behandelte Tiere und 10 Kontrolltiere) wurde ein Maximierungstest nach Magnusson und Kligman gemäß der OECD-Prüfrichtlinie 406 durchgeführt. Bei der intradermalen Induktion mit 0,1%iger Testkonzentration zeigten nur 4 von 20 Tieren eine ausgeprägtere Reizwirkung als die Kontrolltiere, und bei der topischen Induktionsbehandlung mit 10%iger Testkonzentration traten keine irritativen Effekte auf. Für die Auslösebehandlung wurden 1 %- und 5%ige Testkonzentrationen verwendet, die zu keinen Hautreaktionen führten (Lubrizol Corporation 2001 c). Damit sind für die intradermale und die topische Induktionsbehandlung zu geringe Konzentrationen eingesetzt worden, und der Test wird ebenfalls nicht zur Bewertung herangezogen.

5.5 Reproduktionstoxizität

5.5.1 Fertilität

Eine Studie zur Fertilität liegt nicht vor.

In der 90-tägigen Schlundsondenstudie nach OECD-Prüfrichtlinie 408 an Sprague-Dawley-Ratten ergaben sich bis zur höchsten Dosis von 250/150 mg/kg KG und Tag keine substanzbedingten Effekte auf die Reproduktionsorgane (s. Abschnitt 5.2.2; Lubrizol Corporation 2002 a).

5.5.2 Entwicklungstoxizität

In einer nach OECD-Richtlinie 414 durchgeführten Entwicklungstoxizitätsstudie erhielten je 22 Weiße-Neuseeländer-Kaninchen vom 6. bis zum 28. Gestationstag per Schlundsonde 0, 10, 30 oder 100 mg Bis(morpholino)methan/kg KG und Tag, gelöst in Maiskeimöl. Die Reinheit der Testsubstanz betrug 93,5 %. Teratogene Effekte wurden bis zur höchsten Dosis nicht beobachtet. Es traten geringe reversible

verzögerte Ossifikationen auf, die zufällig und nicht konsistent waren. Bei den Muttertieren zeigten sich ab 30 mg/kg KG und Tag lokale Wirkungen im Magen wie Erosionen und granuläre Veränderungen und bei 100 mg/kg KG und Tag eine Abnahme des Körpergewichts und der Futteraufnahme. Es ist sehr wahrscheinlich, dass die Abnahme von Körpergewicht und Futteraufnahme sekundäre Effekte der lokalen Wirkung sind. Der NOAEL für die maternale Toxizität betrug 10 mg/kg KG und Tag, der für die entwicklungstoxische Wirkung 100 mg/kg KG und Tag (Lubrizol Deutschland GmbH 2005).

5.6 Genotoxizität

5.6.1 In vitro

Bisher war die Genotoxizität nicht ausreichend untersucht. Die Ergebnisse eines Salmonella-Mutagenitätstests deuteten darauf hin, dass Bis(morpholino)methan durch das abgespaltene Formaldehyd mutagen wirken kann (Begründung von 1999).

Die neuen Studien zur In-vitro-Genotoxizität sind in Tabelle 3 aufgeführt.

In einem nach OECD-Richtlinie 471 durchgeführten bakteriellen Mutagenitätstest in den Salmonella-Stämmen TA98, TA100, TA1535 und TA1537 sowie in Escherichia coli WP2uvrA trat bei den Stämmen TA98 und TA100 ab 300 µg Bis(morpholino)methan/Platte mit Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems und ab 500 µg Bis(morpholino)methan/Platte ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems eine reproduzierbare Erhöhung der Revertantenzahl auf (Lubrizol Corporation 2000).

In einem nach OECD-Richtlinie 473 durchgeführten Chromosomenaberrationstest mit CHL-Zellen führte Bis(morpholino)methan ab 30 µg/ml ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems bzw. ab 60 µg/ml unter Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems zu einem dosisabhängigen Anstieg der Häufigkeit von Zellen mit strukturellen und numerischen Chromosomenaberrationen (ohne Gaps). Hauptsächlich wurden Chromatidenbrüche und Chromatidenaustausche induziert. Bei Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems kam es auch vermehrt zu polyploiden Zellen (Lubrizol Corporation 2001 d).

In einem nach OECD-Richtlinie 476 durchgeführten TK^{+/-}-Mutationstest mit L5178Y-Mauslymphomzellen wurde ab 30 µg/ml ein dosisabhängiger Anstieg der Mutationshäufigkeit beobachtet, unabhängig von der metabolischen Aktivierung. Bis(morpholino)methan induzierte mehr kleine als große Kolonien, was auf eine vorwiegend klastogene Wirkung hinweist (Lubrizol Corporation 2001 e).

5.6.2 In vivo

In der Dosisfindungsstudie für den nach OECD-Prüfrichtlinie 474 durchgeführten Mikronukleus-Test an Cr1:CD-1(ICR)B-Mäusen wurden je zwei männliche und weibliche Tiere einmalig mit 0, 500, 750, 1000 oder 1500 mg/kg KG per Schlundsonde behandelt. Da sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern zeigte, wurden in der Hauptstudie nur männliche Mäuse eingesetzt. Je sieben männ-

Tab. 3 Genotoxizität von Bis(morpholino)methan in vitro

Endpunkt	Testsystem	Konzentration	wirksame Konzentration	Zytotoxizität	Ergebnis	Literatur
Genmutation (Platteninkorporation)	OECD-Prüfrichtlinie 471, Reinheit: 98 %, Vehikel: destilliertes Wasser S. typhimurium TA98	I. Exp.: 0, 5, 15, 50, 150, 500, 1500 µg/Platte,	– m.A.: 500 µg/Platte, + m.A.: 300 µg/Platte	– m.A.: ab 1000 µg/Platte, + m.A.: ab 500 µg/Platte	– m.A. + m.A.	Lubrizol Corporation 2000
		II. Exp.: 0, 15, 50, 150, 300, 500, 1500 µg/Platte				
		I. Exp.: 0, 5, 15, 50, 150, 500, 1500 µg/Platte,	– m.A.: 500 µg/Platte, + m.A.: 300 µg/Platte	– m.A.: ab 1500 µg/Platte, + m.A.: ab 500 µg/Platte	– m.A. + m.A.	
		II. Exp.: – m.A.: 0, 15, 50, 150, 300, 500, 1500 µg/Platte, + m.A.: 0, 5, 15, 50, 150, 300, 500 µg/Platte				
	S. typhimurium TA100	I. Exp.: 0, 5, 15, 50, 150, 500, 1500 µg/Platte,	– m.A.: 500 µg/Platte, + m.A.: 300 µg/Platte	– m.A.: ab 1500 µg/Platte, + m.A.: ab 500 µg/Platte	– m.A. + m.A.	
		II. Exp.: – m.A.: 0, 15, 50, 150, 300, 500, 1500 µg/Platte, + m.A.: 0, 5, 15, 50, 150, 300, 500 µg/Platte				
		I. u. II. Exp.: 0, 5, 15, 50, 150, 500, 1500 µg/Platte	–	ab 1500 µg/ Platte	–	
		I. u. II. Exp.: 0, 15, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/Platte	–	ab 1500 µg/ Platte	–	
	S. typhimurium TA1535, TA1537	I. u. II. Exp.: 0, 5, 15, 50, 150, 500, 1500 µg/Platte	–	ab 1500 µg/ Platte	–	
		I. u. II. Exp.: 0, 15, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/Platte	–	ab 1500 µg/ Platte	–	
		I. u. II. Exp.: 0, 15, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/Platte	–	ab 1500 µg/ Platte	–	
		I. u. II. Exp.: 0, 15, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/Platte	–	ab 1500 µg/ Platte	–	

Tab. 3 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konzentration	wirksame Konzentration	Zytotoxizität	Ergebnis	Literatur
					- m.A. + m.A.	
CA	CHL-Zellen, Reinheit: 98 %, Vehikel: Kulturmedium, OECD-Prüfrichtlinie 473	+ m.A.: 0, 15, 30, 45, 60 µg/ml, - m.A.: 0, 30, 60, 120 µg/ml	- m.A.: 30 µg/ml, + m.A.: 60 µg/ml	- m.A.: > 60 µg/ml, + m.A.: > 120 µg/ml	+ +	Lubrizol Corporation 2001 d
Genmutation TK ^{+/-}	L5178Y-Mauslymphom- zellen, Reinheit: 98 %, Vehikel: Kulturmedium, OECD-Prüfrichtlinie 476	0; 3,75; 7,5; 15; 30; 45; 60 µg/ml	30 µg/ml	rel. Überleben < 50 %; - m.A.: ab 45 µg/ml, + m.A.: bei 60 µg/ml	+ +	Lubrizol Corporation 2001 e

CA: Chromosomenaberrationen; Exp: Experiment; m.A.: metabolische Aktivierung; CHL: Chinese Hamster Lung

liche Tiere erhielten einmalig 0, 250, 500 oder 1000 mg Bis(morpholino)methan/kg KG in Erdnussöl per Schlundsonde. Die höchste Dosis- und die Kontrollgruppe umfassten je 14 Tiere. Neben der Untersuchung war nach 24 Stunden ein zweiter Untersuchungszeitpunkt nach 48 Stunden vorgesehen. Fünf männliche Tiere, die Cyclophosphamid bekamen, dienten als Positivkontrolle. Bei 1000 mg/kg KG traten zusammengekauerte Haltung, Lethargie, struppiges Fell, Oberlidlähmung, unsicherer Gang, verminderte Atmungsrate, geräuschvolles und mühsames Atmen, Dehydratation und geschwollener Bauch auf. Ein Tier dieser Dosisgruppe starb vorzeitig. Die Tiere wurden nach 24 bzw. 48 Stunden getötet, das Knochenmark präpariert und die polychromatischen und normochromatischen Erythrozyten auf Mikronuklei untersucht. Die Anzahl der Erythrozyten mit Mikronuklei wurde durch die Behandlung nicht erhöht. Bei 1000 mg/kg KG war an beiden Untersuchungszeitpunkten das Verhältnis von polychromatischen zu normochromatischen Erythrozyten erniedrigt. Zusammen mit den klinischen Symptomen und dem vorzeitigen Tod eines Tieres ist dies der Hinweis, dass die Testsubstanz systemisch verfügbar ist (Lubrizol Corporation 2001 f).

Bei einem nach OECD-Prüfrichtlinie 486 durchgeführten UDS-Test (Test auf Induktion der DNA-Reparatursynthese) wurden aus den gleichen Gründen wie oben beschrieben nur männliche Tiere eingesetzt. Je vier Sprague-Dawley-Ratten wurden per Schlundsonde einmalig mit 0, 300 oder 900 mg Bis(morpholino)methan/kg KG behandelt (sechs Kontrolltiere). Im ersten Teil der Studie wurde 16 Stunden nach der Dosierung die Leber perfundiert (Positivkontrolle: 2-Acetylaminofluoren), im zweiten Teil nach zwei Stunden (Positivkontrolle: N,N'-Dimethylhydrazindihydrochlorid). Bei 900 mg/kg KG wiesen die Tiere im ersten Experiment gekrümmte Haltung, laute Atmung und Diurese auf. Die Behandlung mit Bis(morpholino)methan führte bis zur höchsten Dosis von 900 mg/kg KG nicht zu einer Induktion der DNA-Reparatursynthese in der Leber (Lubrizol Corporation 2002 b).

Zusammenfassung. Bis(morpholino)methan wirkt *in vitro* an Bakterien mutagen sowie an Säugetierzellen mutagen und überwiegend klastogen. Die Klastogenität *in vitro* hat sich *in vivo* nicht bestätigt. *In-vivo*-Untersuchungen zur mutagenen Wirkung fehlen.

5.7 Kanzerogenität

Zur Kanzerogenität liegen nur zwei Studien mit subkutaner Gabe an Ratten vor, in denen Tumoren an der Injektionsstelle beobachtet worden sind (Druckrey et al. 1968; Preussmann 1968). Diese sind bereits in der Begründung von 1999 als nicht für die Bewertung der kanzerogenen Wirkung geeignet angesehen worden, da die Applikationsform nicht für den Menschen relevant ist (Begründung von 1999).

Neue Daten zur Kanzerogenität gibt es nicht.

6 Bewertung

Bis(morpholino)methan führt in einer 90-tägigen Schlundsondenstudie an Ratten zu lokalen Effekten im Vormagen und wirkt ätzend an der Kaninchenhaut. Damit ist der kritische Effekt von Bis(morpholino)methan die lokale Reizwirkung am Atemtrakt.

Die Substanz ist ein Formaldehydabspalter.

MAK-Wert und Spitzenbegrenzung. Geeignete Daten beim Menschen zur Ableitung eines MAK-Wertes liegen nicht vor. In einer Arbeitsplatzstudie haben sich Luftkonzentrationen von $1,97 \mu\text{l}$ Formaldehyd/ m^3 ergeben, jedoch sind keine klinischen Untersuchungen der Beschäftigten durchgeführt worden (Lubrizol Corporation 2008, 2016). Tierstudien mit wiederholter inhalativer Gabe fehlen. In einer oralen 90-Tage-Studie an Ratten ergibt sich ein NOAEL für lokale Effekte wie Akanthose und Hyperkeratose im Vormagen von $15 \text{ mg Bis(morpholino)methan/kg KG}$ und Tag. Systemische Toxizität wird bis zur höchsten Dosis von 250 mg/kg KG und Tag, die nach 10 Wochen auf 150 mg/kg KG und Tag reduziert worden ist, nicht beobachtet (Lubrizol Corporation 2002 a; Lubrizol Deutschland GmbH 2002). Bei geringeren pH-Werten als 8, wie sie im Magen (pH-Wert: 1-1,5) vorliegen, wird aus Bis(morpholino)methan Formaldehyd freigesetzt. Maximal können 16 % der Verbindung als Formaldehyd abgespalten werden. Da für Bis(morpholino)methan die lokalen Effekte im Vordergrund stehen und Inhalationsstudien zur Klärung der lokalen Effekte im Atemtrakt fehlen, wird die Substanz dem Abschnitt II b zugeordnet. Eine Spitzenbegrenzung entfällt.

Fruchtschädigende Wirkung. In einer nach OECD-Richtlinie 414 durchgeführten Entwicklungstoxizitätsstudie an Kaninchen treten bis zur höchsten Dosis von $100 \text{ mg Bis(morpholino)methan/kg KG}$ und Tag, gegeben per Schlundsonde, keine entwicklungstoxischen Effekte auf. Bereits ab 30 mg/kg KG und Tag kommt es bei den Muttertieren zu lokalen Reizwirkungen im Magen (Lubrizol Deutschland GmbH 2005). Da kein MAK-Wert abgeleitet wird, entfällt die Zuordnung zu einer Schwangerschaftsgruppe.

Krebserzeugende Wirkung. Geeignete Studien zur Bewertung der Kanzerogenität von Bis(morpholino)methan liegen nicht vor. Da die Substanz ein Formaldehydabspalter ist, ist auch Formaldehyd bei der Bewertung der Kanzerogenität zu berücksichtigen. Formaldehyd ist ein lokales Kanzerogen mit der Bildung von Plattenepithelzellkarzinomen in der Nasenhöhle von Ratten und Mäusen (Nachtrag „Formaldehyd“ 1987). Messungen der Luftkonzentration am Arbeitsplatz mit der Exposition gegen Bis(morpholino)methan sind durchschnittlich bei $1,97 \mu\text{l}$ Formaldehyd/ m^3 (< 1 bis $6,2 \mu\text{l/m}^3$) (Lubrizol Corporation 2008, 2016). Da der Abstand der Luftkonzentrationen von Formaldehyd und dem MAK-Wert von Formaldehyd bei $300 \mu\text{l/m}^3$ mit 150 ausreichend groß ist, und die gemessenen Luftkonzentrationen im Hintergrundbereich liegen, wird weiterhin keine Einstufung in eine Kategorie für Kanzerogene vorgenommen.

Keimzellmutagene Wirkung. Bis(morpholino)methan wirkt in vitro an Bakterien mutagen sowie mutagen und überwiegend klastogen an Säugetierzellen (Lubrizol Corporation 2000, 2001 d, e). Die Klastogenität in vitro hat sich in vivo nicht bestätigt (Lubrizol Corporation 2001 f). In-vivo-Untersuchungen zur mutagenen Wirkung liegen nicht vor. Ähnlich wie bei Formaldehyd könnten lokal an der Eintrittspforte genotoxische Effekte zu erwarten sein, in Abhängigkeit von der freigesetzten Formaldehydmenge. Die Luftmessungen am Arbeitsplatz weisen eine unterhalb des Grenzwertes für Formaldehyd liegende Belastung nach (s. oben). Insgesamt reichen die Daten zur Genotoxizität für Bis(morpholino)methan nicht aus, um eine Einstufung in eine der Kategorien für Keimzellmutagene vorzunehmen.

Hautresorption. Daten zur dermalen Aufnahme beim Menschen liegen nicht vor. In einer nach OECD-Prüfrichtlinie 428 durchgeführten In-vitro-Studie an dermatomierter menschlicher Haut wurde mit ^{14}C -markiertes Bis(morpholino)methan mit unterschiedlichen Markierungen und achtstündiger Exposition eingesetzt. Es wurden $10\text{ }\mu\text{l}/\text{cm}^2$ appliziert. Nach 24 Stunden wurden von einer 3%igen Bis(morpholino)methan-Lösung 68 % resorbiert (Lubrizol Deutschland GmbH 2007 c). Mit einer angenommenen Dichte von $1\text{ g}/\text{cm}^3$ lässt sich daraus ein Flux von $8,5\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^2$ und Stunde berechnen. Dies würde unter der Annahme einer einstündigen dermalen Exposition beider Hände und Unterarme (ca. 2000 cm^2) eine Aufnahme von 17 mg ergeben. Aus einer 90-tägigen Schlundsondenstudie an Ratten ergibt sich ein systemischer subchronischer NOAEL bei Ratten von ca. $250\text{ mg}/\text{kg KG}$ und Tag (Lubrizol Corporation 2002 a). Zur toxikokinetischen Übertragung dieses systemischen NOAEL auf den Menschen werden berücksichtigt: der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen der Ratte und dem Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturwert (1:4), die angenommene orale Resorption von 100 %, die tägliche Exposition der Tiere im Vergleich zur fünftägigen Exposition pro Woche am Arbeitsplatz (7:5), das Körpergewicht (70 kg) des Menschen, eine mögliche Wirkungsverstärkung mit der Zeit (1:2) und die Übertragung des NOAEL des Tierversuchs auf den Menschen (1:2). Damit errechnet sich eine systemisch tolerable Menge von 1530 mg. Da die dermal aufgenommene Menge geringer ist als 25 % der systemischen tolerablen Menge, wird der Stoff nicht mit „H“ markiert.

Sensibilisierende Wirkung. Den klinischen Beobachtungen beim Menschen zufolge weist Bis(morpholino)methan ein hautsensibilisierendes Potenzial auf, das sicherlich auch auf die Freisetzung von Formaldehyd zurückgeführt werden kann. Bis(morpholino)methan wird daher mit „Sh“ markiert. Die vorliegenden Ergebnisse in tierexperimentellen Untersuchungen sind zwar negativ, wegen der verwendeten geringen Substanzkonzentrationen jedoch nicht für die Bewertung heranziehbar. Zur immunologischen Wirkung des Bis(morpholino)methan an den Atemwegen liegt ein Bericht vor, der auf eine atemwegssensibilisierende Wirkung von Bis(morpholino)methan hinweist, der aber als einzige Kasuistik gemäß den Kriterien der Kommission nicht ausreicht, um eine atemwegssensibilisierende Wirkung von Bis(morpholino)methan zu begründen. Bis(morpholino)methan wird daher weiterhin nicht mit „Sa“ markiert.

7 Literatur

- Aalto-Korte K, Kuuliala O, Suuronen K, Alanko K (2008) Occupational contact allergy to formaldehyde and formaldehyde releasers. *Contact Dermatitis* 59: 280–289
- BMLFUW (Federal Ministry of Agriculture, Forestry, Environment and Water Management) (2014) CLH report. Proposal for harmonised classification and labelling on 4-(morpholin-4-yl-methyl)morpholine. AT Competent Authority, Federal Ministry of Agriculture, Forestry, Environment and Water Management, Wien, Österreich, <https://echa.europa.eu/documents/10162/d404e0c2-cbb3-4cbf-a424-f10fde00357b>
- Druckrey H, Preussmann R, Bücheler J, Ivankovic S (1968) Carcinogene alkylierende Substanzen, II. Bis-(morpholino)-methan. *Z Krebsforsch* 71: 105–108
- Gannon PF, Newton DT, Belcher J, Pantin CF, Burge PS (1996) Development of OASYS-2: a system for the analysis of serial measurement of peak expiratory flow in workers with suspected occupational asthma. *Thorax* 51: 484–489
- Geier J, Lessmann H, Becker D, Bruze M, Frosch PJ, Fuchs T, Jappe U, Koch P, Pföhler C, Skudlik C (2006) Patch testing with components of water-based metalworking fluids: results of a multicentre study with a second series. *Contact Dermatitis* 55: 322–329
- Lubrizol Corporation (2000) Reverse mutation assay “Ames test” using *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. Safepharm Laboratories Limited, Projektnummer 525/311, Lubrizol Corporation, Wickliffe, Ohio, USA, unveröffentlicht
- Lubrizol Corporation (2001 a) Acute oral toxicity in the rat – acute toxic class method. Safepharm Laboratories Limited, Projektnummer SPL 525/337, Lubrizol Corporation, Wickliffe, Ohio, USA, unveröffentlicht
- Lubrizol Corporation (2001 b) Acute dermal irritation in the rabbit. Safepharm Laboratories Limited, Projektnummer SPL 525/339, Lubrizol Corporation, Wickliffe, Ohio, USA, unveröffentlicht
- Lubrizol Corporation (2001 c) Skin sensitization to the guinea-pig (Magnusson & Kligman method). Huntington Life Science Limited, Projektnummer LBL 047/004057/SS, Lubrizol Corporation, Wickliffe, Ohio, USA, unveröffentlicht
- Lubrizol Corporation (2001 d) Chromosome aberration test in CHL cells in vitro. Safepharm Laboratories Limited, Projektnummer SPL 525/309, Lubrizol Corporation, Wickliffe, Ohio, USA, unveröffentlicht
- Lubrizol Corporation (2001 e) L5178Y TK^{+/−} mouse lymphoma assay. Safepharm Laboratories Limited, Projektnummer SPL 525/310, Lubrizol Corporation, Wickliffe, Ohio, USA, unveröffentlicht
- Lubrizol Corporation (2001 f) Micronucleus test in the mouse. Safepharm Laboratories Limited, Projektnummer SPL 525/357, Lubrizol Corporation, Wickliffe, Ohio, USA, unveröffentlicht
- Lubrizol Corporation (2002 a) Ninety day repeated dose oral (gavage) toxicity study in the rat. Safepharm Laboratories Limited, Projektnummer SPL 525/341, Lubrizol Corporation, Wickliffe, Ohio, USA, unveröffentlicht
- Lubrizol Corporation (2002 b) In vivo liver unscheduled DNA synthesis (UDS) assay. Safepharm Laboratories Limited, Projektnummer SPL 525/372, Lubrizol Corporation, Wickliffe, Ohio, USA, unveröffentlicht
- Lubrizol Corporation (2008) Interoffice Memorandum, exposure study. 7. Februar 2008, Lubrizol Corporation, Wickliffe, Ohio, USA, unveröffentlicht

1188 MAK Value Documentations

- Lubrizol Corporation (2016) Exposure to airborne formaldehyde in a metalworking machine shop, supplemental statistical analysis. Appendix A, 2. Mai 2016, Lubrizol Corporation, Wickliffe, Ohio, USA, unveröffentlicht
- Lubrizol Deutschland GmbH (2002) 90-day oral toxicity study in the rat. Further comments on the histopathological findings. Safepharma Laboratories Limited, Projektnummer SPL 525/341, Lubrizol Deutschland GmbH, Hamburg, unveröffentlicht
- Lubrizol Deutschland GmbH (2005) Oral prenatal developmental toxicity test in New Zealand White rabbits. TNO, Berichtsnummer V 6166, Lubrizol Deutschland GmbH, Hamburg, unveröffentlicht
- Lubrizol Deutschland GmbH (2007 a) Hydrolysis study in dependence of pH, temperature and concentration (in German: Hydrolysestudie bei verschiedenen pH-Werten, Konzentrationen und Temperaturen). BASF GKA Kompetenzzentrum Analytik, Auftragsnummer 07E00282, Lubrizol Deutschland GmbH, Hamburg, unveröffentlicht
- Lubrizol Deutschland GmbH (2007 b) Toxicokinetics of the formaldehyde donor in rats. Pre-study with intratracheal instillation. Fraunhofer ITEM, Studiennummer 03N06530, Lubrizol Deutschland GmbH, Hamburg, unveröffentlicht
- Lubrizol Deutschland GmbH (2007 c) The in vitro percutaneous absorption through human skin. Charles River Laboratories, Studiennummer 777385, Lubrizol Deutschland GmbH, Hamburg, unveröffentlicht
- Preussmann R (1968) Direct alkylating agents as carcinogens. *Food Cosmet Toxicol* 6: 576–577
- US EPA (United States Environmental Protection Agency) (2010) Occupational and residential exposure and risk assessment for the new active ingredient N,N-methylenebis(morpholine). US EPA, Washington, DC, USA,
https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/cleared_reviews/csr_PC-054702_24-Aug-10.pdf
- Walters GI, Moore VC, Robertson AS, McGrath EE, Parkes E, Burge PS (2013) Occupational asthma from sensitisation to 4,4-methylene-bis(morpholine) in clean metalworking fluid. *Eur Respir J* 42: 1137–1139

abgeschlossen am 22.03.2017