

# N,N',N''-Tris( $\beta$ -hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin

## MAK-Begründung

A. Hartwig<sup>1,\*</sup>

MAK Commission<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> 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

<sup>2</sup> Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

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

### Keywords

N,N',N''-Tris( $\beta$ -hydroxypropyl)-hexahydro-1,3,5-triazin; Reizwirkung; Formaldehydabspalter; Kanzerogenität; Keimzellmutagenität; Sensibilisierung; Hydrolyse

## Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has evaluated N,N',N''-tris( $\beta$ -hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazine [25254-50-6] considering all toxicological end points. N,N',N''-Tris( $\beta$ -hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazine is a formaldehyde releaser in aqueous solution. The substance is highly irritating to corrosive to the skin and eyes of rabbits. It is expected to undergo rapid hydrolysis in aqueous solution. For this reason, the observed local effects of irritation are attributed to the hydrolysis products formaldehyde and 1-amino-propan-2-ol. There are no studies that investigated the carcinogenic effects of N,N',N''-tris( $\beta$ -hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazine and its toxicity and genotoxic potential in the upper respiratory tract or nose, which are assumed to be the likely target organs. The substance has low mutagenic and clastogenic potency in vitro, presumably due to the release of formaldehyde. Formaldehyde was classified in Carcinogen Category 4 because it causes tumours in nasal tissue at concentrations that exceed their detoxification capacity. As formaldehyde is released from N,N',N''-tris( $\beta$ -hydroxypropyl)-hexahydro-1,3,5-triazine, the substance could be classified in Carcinogen Category 4. However, because it is not possible to derive a maximum concentration at the workplace (MAK value) for N,N',N''-tris( $\beta$ -hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazine, the substance has been assigned to Carcinogen Category 2 and given the footnote "Prerequisite for Category 4 in principle fulfilled, but insufficient data available for the establishment of a MAK or BAT value". As there are no data on the systemic bioavailability of N,N',N''-tris( $\beta$ -hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazine and formaldehyde released by hydrolysis in tissues, there is no experimental evidence that the formaldehyde reaches the germ cells. Therefore, N,N',N''-tris( $\beta$ -hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazine has been classified in Category 3B for germ cell mutagens. The substance is a skin sensitizer in guinea pigs. Therefore, N,N',N''-tris( $\beta$ -hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazine has been designated with "Sh". Skin contact is not expected to contribute significantly to systemic toxicity.

### Citation Note:

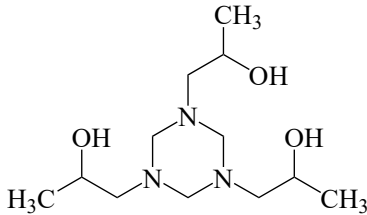
Hartwig A, MAK Commission. N,N',N''-Tris( $\beta$ -hydroxypropyl)-hexahydro-1,3,5-triazin. MAK-Begründung. MAK Collect Occup Health Saf. 2023 Sep;8(3):Doc057. [https://doi.org/10.34865/mb2525450kskd8\\_3or](https://doi.org/10.34865/mb2525450kskd8_3or)

Manuskript abgeschlossen:  
16 Mrz 2022

Publikationsdatum:  
29 Sep 2023

Lizenz: Dieses Werk ist  
lizenziert unter einer [Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



<b>MAK-Wert</b>	–
<b>Spitzenbegrenzung</b>	–
<b>Hautresorption</b>	–
<b>Sensibilisierende Wirkung (2022)</b>	<b>Sh</b>
<b>Krebserzeugende Wirkung (2022)</b>	<b>Kategorie 2<sup>a)</sup></b>
<b>Fruchtschädigende Wirkung</b>	–
<b>Keimzellmutagene Wirkung (2022)</b>	<b>Kategorie 3 B</b>
<b>BAT-Wert</b>	–
Synonyma	Hexahydro-1,3,5-tris(2-hydroxypropyl)-s-triazin α,α',α''-Trimethyl-1,3,5-triazin-1,3,5(2H,4H,6H)triethanol Reaktionsprodukte aus Paraformaldehyd und 1-Aminopropan-2-ol (2-Hydroxypropylamin) (Verhältnis 1:1)
Chemische Bezeichnung (IUPAC-Name)	1-[3,5-Bis(2-hydroxypropyl)-1,3,5-triazinan-1-yl]propan-2-ol
CAS-Nr.	25254-50-6
Formel	
	<chem>C12H27N3O3</chem>
Molmasse	261,36 g/mol
Schmelzpunkt	–36 bis –38 °C (ECHA 2017)
Siedepunkt bei 1013 hPa	40–195 °C (ECHA 2017)
Dichte bei 20 °C	1,09–1,11 g/cm <sup>3</sup> (ECHA 2017)
Dampfdruck	1,7 × 10 <sup>–8</sup> hPa (Median, ber.) (US EPA 2022)
log K <sub>ow</sub>	nicht messbar aufgrund von Hydrolyse (ECHA 2017) –0,019 (Median, ber.) (US EPA 2022) –0,3 (ber.) (NCBI 2022)
Löslichkeit	mischbar mit Wasser (ECHA 2017)
pH-Wert	k. A.
pKs-Wert	k. A.

Hydrolysestabilität	Schnelle Hydrolyse in Wasser zu Formaldehyd und 1-Aminopropan-2-ol (Halbwertszeit < 1 h). Aufgrund der starken Verdünnung im wassergemischten Kühlschmierstoff (0,15 %) ist eine vollständige Hydrolyse zu Formaldehyd und 1-Aminopropan-2-ol zu erwarten. Im Kühlschmierstoffkonzentrat ist von einer unvollständigen Hydrolyse auszugehen (ECHA 2017).
Stabilität	Zersetzung bei 195 °C (ECHA 2017)
Herstellung	N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin wird aus Paraformaldehyd und 1-Aminopropan-2-ol im Verhältnis 1:1 hergestellt (Fraunhofer ITEM 2008).
Reinheit	Es handelt sich um einen UVCB-Stoff, ein Gemisch, dessen qualitative oder quantitative Zusammensetzung unbekannt oder variabel ist. Die Inhaltsstoffe hängen von der Konzentration der aktiven Substanz, Temperatur und pH-Wert ab (ECHA 2017). Die aktive Substanz ist spezifiziert durch den Herstellungsprozess (k. w. A.), in diesem Fall durch das Verhältnis von Paraformaldehyd und 1-Aminopropan-2-ol (1:1) und die Definition eines Formaldehydgehaltes von 26–30 %, typisch 28 % (ECHA 2014).
Verunreinigungen	k. A.
Verwendung	Desinfektion bei Metallarbeiten, Konservierung von Treibstoffen, Haltbarmachung von geschlossenen Wasserkühlsystemen und wasserbasierten Schneidölen in der Metallbearbeitung (ECHA 2017)
Einsatzkonzentration	Konzentration im Kühlschmierstoffkonzentrat: 3 %; im wassergemischten Kühlschmierstoff: 0,1 bis max. 0,2 % (ECHA 2014, 2017)

<sup>a)</sup> Voraussetzung für Kategorie 4 prinzipiell erfüllt, aber Daten für MAK- oder BAT-Wert-Ableitung nicht ausreichend

Hinweis: Formaldehydabspalter.

Die Begründung basiert im Wesentlichen auf den öffentlich verfügbaren Daten (ECHA 2014, 2017) im Rahmen der Zulassung gemäß der Biozid-Verordnung.

## 1 Allgemeiner Wirkungscharakter

N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin ist ein Formaldehydabspalter in wässriger Lösung. Der Stoff wirkt an Haut und Auge von Kaninchen stark reizend bis ätzend. In Untersuchungen mit einmaliger und wiederholter oraler Gabe an Ratten sind die Reizeffekte dominierend. In wässriger Lösung ist eine schnelle Hydrolyse zu erwarten, sodass die beobachtete lokale Reizwirkung den Hydrolyseprodukten Formaldehyd und 1-Aminopropan-2-ol zuzuordnen sind, die beide stark reizend wirken.

N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin ist hautsensibilisierend beim Meerschweinchen.

Untersuchungen zur Entwicklungstoxizität liegen nicht vor.

Der Stoff hat in vitro eine klastogene Wirkung an Säugerzellen, die auf der Induktion von Chromosomenaberrationen beruht und sich auch in der Bildung kleiner Kolonien im TK<sup>+/-</sup>-Genmutationstest zeigt. Die mutagene Wirkung an

Bakterien ist nicht eindeutig bewertbar. Am Knochenmark der Maus induzieren intraperitoneale Dosierungen bis 100 mg N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin/kg KG keine Mikronuklei, aber eine erhöhte Anzahl an Chromosomenaberrationen. Ein weiterer Chromosomenaberrationstest im Knochenmark nach oraler Gabe bis 425 mg/kg KG an Mäusen ist negativ verlaufen. Hier ist jedoch die maximal tolerierbare Dosis (MTD) nicht erreicht worden. Es liegt keine Untersuchung zur kanzerogenen Wirkung von N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin vor.

## 2 Wirkmechanismus

N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin ist in wässriger Lösung ein Formaldehydabspalter. Hierauf beruht seine biozide Wirkung gegen Bakterien und Pilze (ECHA 2017).

Das zweite Hydrolyseprodukt, 1-Aminopropan-2-ol, ist ein im Urin des Menschen und der Ratte natürlich vorkommender Aminoalkohol, da es als Vorstufe für die Biosynthese von Vitamin B12 endogen gebildet wird (Greim 1994).

### 2.1 Reizwirkung

Die lokale Wirkung bei oraler Applikation und die Reizwirkung an Haut und Augen dürften auf den freigesetzten Formaldehyd und das 1-Aminopropan-2-ol zurückzuführen sein, die beide stark reizend bis ätzend wirken (ECHA 2017), siehe MAK-Begründungen bzw. Nachträge „Formaldehyd“ (Greim 2000; Hartwig 2010) und „1-Aminopropan-2-ol“ (Greim 1994).

### 2.2 Genotoxische Wirkung

Die genotoxische Wirkung von N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin dürfte allein auf Formaldehyd (Greim 2000) zurückzuführen sein, da 1-Aminopropan-2-ol weder mutagen noch klastogen in Säugerzellen *in vitro* ist (siehe ECHA 2020; Greim 1994). Formaldehyd ist jedoch deutlich stärker mutagen in *Salmonella typhimurium* (Greim 2000) als N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin. Dies beruht vermutlich darauf, dass Formaldehyd aus N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin im Medium nicht schlagartig freigesetzt wird und so gleichzeitig eine Entgiftung stattfindet.

Die *In-vivo*-Untersuchungen verliefen negativ oder fraglich positiv. In allen drei Studien ist unklar, ob die MTD oder das Knochenmark erreicht wurde (siehe Abschnitt 5.6.2). Auch nach Gabe von Formaldehyd ist fraglich, ob zytogenetische Effekte ausschließlich durch lokale Einwirkung oder aber auch als Folge systemischer Verfügbarkeit von Formaldehyd auftreten können (Greim 2000), sodass die hier vorliegenden negativen *In-vivo*-Daten nicht denen von Formaldehyd widersprechen.

## 3 Toxikokinetik und Metabolismus

Es liegen keine Toxikokinetik- oder Metabolismusstudien mit N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin vor. Die Substanz hydrolysiert in wässrigem Medium sowohl *in vitro* als auch *in vivo* mit zunehmender Verdünnung in größerem Maß zu Formaldehyd und 1-Aminopropan-2-ol. Hydrolysegeschwindigkeit und Gleichgewichtskonzentration hängen von der Konzentration der Lösung, dem pH-Wert und der Temperatur ab (ECHA 2014, 2017; Fraunhofer ITEM 2008).

In einer Hydrolysestudie nach OECD-Prüfrichtlinie 111 konnte für N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin keine Halbwertszeit berechnet werden, da beim frühesten Messzeitpunkt nach 20 Minuten bereits 80–90 % der Muttersubstanz hydrolysiert waren (Fraunhofer ITEM 2008). Es ist somit von einer Halbwertszeit von unter 20 Minuten auszugehen.

Bei einem pH-Wert von 7 ist nach den Ergebnissen der Hydrolysestudie, die in einem geschlossenen System mit einer 1%igen Lösung durchgeführt wurde, mit einer maximalen Formaldehydkonzentration von etwa 20 % bezogen auf das initiale Gewicht von N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin zu rechnen (Fraunhofer ITEM 2008). Der Anteil an Formaldehyd im gesamten Molekül beträgt 34,5 %. In vivo wird jedoch durch den Abbau von Formaldehyd und die metabolisch freigesetzte Ameisensäure der pH-Wert erniedrigt und dadurch Formaldehyd und das basische 1-Aminopropan-2-ol dem Gleichgewicht der Hydrolyse entzogen. Das hierbei veränderte Konzentrationsgleichgewicht bedingt ein Milieu, welches eine schnellere Formaldehydabspaltung ermöglicht. Somit ist davon auszugehen, dass in vivo vermutlich mehr als 20 % Formaldehyd freigesetzt werden.

Die Halbwertszeit von Formaldehyd durch enzymatischen Abbau im Blut beträgt etwa 1–1,5 Minuten (EFSA 2014). Bei einer langen Halbwertszeit von N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin könnte die parallel ablaufende Entgiftung des entstehenden Formaldehyds vor dessen adversen Wirkungen schützen. Die Daten der Hydrolysestudie weisen auf eine schnelle Hydrolyse von N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin hin, es fehlen jedoch Daten für die Hydrolysegeschwindigkeit in den ersten 15 Minuten. Daher wird für die Risikobewertung hinsichtlich einer Worst-Case-Abschätzung davon ausgegangen, dass der Abbau des aus N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin entstehenden Formaldehyds langsamer erfolgt als dessen Bildung.

Zur perkutanen Resorption liegen keine experimentellen Untersuchungen vor. Modellrechnungen nach IH SkinPerm v2.04 (Tibaldi et al. 2014) und Fiserova-Bergerova et al. (1990) liefern für eine Stoffkonzentration von 1 % in wässriger Lösung (in Analogie zum N,N',N''-Tris(β-hydroxyethyl)hexahydro-1,3,5-triazin, siehe Hartwig und MAK Commission 2023) unter Standardbedingungen (60 Minuten Expositionsdauer, 2000 cm<sup>2</sup> exponierte Hautfläche) unter Verwendung eines log K<sub>OW</sub> von –0,019 eine Resorption von etwa 18 bzw. 54 µg/kg KG (mit log K<sub>OW</sub> –0,3: 14 bzw. 33 µg/kg KG). Nicht berücksichtigt wurde dabei eine zu vermutende rasche Hydrolyse des Stoffes im sauren Milieu der Hautoberfläche, die einer Resorption der unzersetzten Verbindung entgegenwirkt.

## 4 Erfahrungen beim Menschen

Es liegen keine Daten zu N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin beim Menschen vor.

Auch zur Untersuchung der allergenen Wirkung ist im Unterschied zum strukturell eng verwandten N,N',N''-Tris(β-hydroxyethyl)hexahydro-1,3,5-triazin (Greim 2003) bisher keine kommerzielle Testzubereitung verfügbar und es liegen keine Daten vor. Aufgrund der engen strukturellen Verwandtschaft mit dem als hautsensibilisierend beim Menschen bekannten N,N',N''-Tris(β-hydroxyethyl)hexahydro-1,3,5-triazin sowie wegen der hydrolytischen Bildung von Formaldehyd ist aber auch für N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin eine hautsensibilisierende Wirkung beim Menschen zu erwarten.

## 5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

### 5.1 Akute Toxizität

#### 5.1.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

#### 5.1.2 Orale Aufnahme

In einer Untersuchung nach OECD-Prüfrichtlinie 401 betrug die orale LD<sub>50</sub> von N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin an Wistar-Ratten 960 mg/kg KG. Nach der Substanzgabe wurden Lethargie, Abdominalatmung, Keuchen und gesträubtes Fell beobachtet. Die makroskopische Untersuchung zeigte Stauungen und Erosionen der

Mukosa im Bereich des Drüsenmagens, Stauungen und Schleimabgabe im Dünndarm, Emphyseme und Stauungen in der Lunge sowie marmoriert erscheinende Lebern. Die Körpergewichtszunahme war leicht reduziert (ECHA 2014).

### 5.1.3 Dermale Aufnahme

Ein Limit-Test nach OECD-Prüfrichtlinie 402 an fünf männlichen und fünf weiblichen Wistar-Ratten ergab für N,N',N''-Tris( $\beta$ -hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin eine dermale LD<sub>50</sub> von mehr als 2000 mg/kg KG. Die Tiere wiesen leichte bis gut definierte Erytheme auf. Drei der insgesamt zehn Ratten entwickelten Verhärtungen, dunkle Verfärbungen und Abschuppungen der Haut, die bis zum Ende der 14-tägigen Beobachtungszeit nicht vollständig reversibel waren. Ein Tier mit starker Nekrose starb nach der Exposition gegen 2000 mg/kg KG (ECHA 2014).

Eine weitere Untersuchung nach OECD-Prüfrichtlinie 402 an Wistar-Ratten ergab ebenfalls eine LD<sub>50</sub> von mehr als 2000 mg/kg KG. Es traten weder Mortalität noch klinische Symptome auf. Eine Hautreaktion wurde nicht berichtet, außer von einem Tier, welches in der makroskopischen Untersuchung lokale Hautdefekte und Narbenbildung aufwies (ECHA 2014).

## 5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

### 5.2.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

### 5.2.2 Orale Aufnahme

In einer 14-tägigen Dosisfindungsstudie wurde jeweils fünf männlichen und fünf weiblichen Wistar-Ratten täglich N,N',N''-Tris( $\beta$ -hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin in oralen Dosen von 0, 50, 100 oder 200 mg/kg KG und Tag in Erdnussöl mit der Schlundsonde verabreicht. Ein männliches Tier der mittleren Dosisgruppe starb nach Atemnot und angeschwollenem Abdomen. In der hohen Dosisgruppe trat bei einem weiblichen Tier ebenfalls Atemnot, schlechter Allgemeinzustand und ein reduziertes Körpergewicht auf. Bei 200 mg/kg KG und Tag war die Körpergewichtszunahme der weiblichen Tiere um ca. 10 % sowie auch die Futteraufnahme reduziert. Auf Basis dieser Daten wählten die Autoren die Dosierungen von 12, 30, 80 und 200 mg/kg KG und Tag für eine subchronische Studie (ECHA 2014).

In einer weiteren 14-tägigen Dosisfindungsstudie wurde ebenfalls fünf männlichen und fünf weiblichen Wistar-Ratten täglich N,N',N''-Tris( $\beta$ -hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin mit der Schlundsonde in Dosen von 0, 100, 250 oder 400 mg/kg KG und Tag in destilliertem Wasser verabreicht. Bei 400 mg/kg KG und Tag zeigten die Tiere beider Geschlechter gesträubtes Fell, Lethargie und Abdominalatmung. Ein weibliches Tier der mittleren Dosisgruppe starb. Körpergewichtszunahme und Futteraufnahme waren nicht signifikant verändert. Bei beiden Parametern zeigte sich lediglich eine leichte Reduktion bei den männlichen und weiblichen Tieren der hohen Dosisgruppe. Das relative Nierengewicht war bei den weiblichen Tieren ab der mittleren Dosis erhöht. Auf Basis dieser Daten wählten die Autoren die Dosierungen von 40, 100 und 250 mg/kg KG und Tag für eine subchronische Studie (ECHA 2014).

In einer 90-Tage-Schlundsondenstudie aus dem Jahr 2002 nach OECD-Prüfrichtlinie 408 wurde N,N',N''-Tris( $\beta$ -hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin in Dosierungen von 0, 12, 30, 80 oder 150 mg/kg KG und Tag (0; 0,48; 1,2; 3,2 oder 6 % in Erdnussöl) täglich an jeweils zehn männliche und zehn weibliche Wistar-Ratten pro Dosisgruppe mit der Schlundsonde verabreicht. Nur die erste Dosisgabe in der Hochdosisgruppe betrug 200 mg/kg KG und Tag und wurde ab dem 2. Tag aufgrund starker klinischer Symptome auf 150 mg/kg KG und Tag reduziert. Drei Todesfälle weiblicher Tiere der Dosisgruppen 12, 30 und 80 mg/kg KG und Tag waren nach Angaben der Autoren nicht behandlungsbedingt (systemische Arteriitis). Bei 30 mg/kg KG und Tag starb ein weibliches Tier nach Blutungen aus der Nase, reduziertem Hautturgor, blutigem Auge und Konjunktivitis. In der Pathologie zeigte sich bei diesem Tier eine Vergrößerung des submandibulären Lymphknotens. Bei 80 mg/kg KG und Tag starb zudem ein weibliches Tier mit Atemgeräuschen, reduzierter Aktivität und Blutungen aus der Nase sowie ein männliches Tier vermutlich durch Fehler bei der Schlundsondierung. In der höchsten Dosisgruppe starben zwei Tiere nach der ersten Substanzgabe

(200 mg/kg KG). Allerdings wiesen diese Tiere ebenfalls Läsionen im Bereich von Pharynx und Larynx auf, sodass auch diese Todesfälle applikationsbedingt sein könnten. Zwei weitere Tiere starben in der Hochdosisgruppe zu späteren Zeitpunkten (k. w. A.). Bei 30 mg/kg KG und Tag war bei einem männlichen und einem weiblichen Tier die motorische Aktivität reduziert. Bei 80 mg/kg KG und Tag waren Atemgeräusche bei drei männlichen und einem weiblichen Tier zu vernehmen und in der hohen Dosisgruppe wiesen zwei männliche und zwei weibliche Tiere einen schlechten Allgemeinzustand, reduzierte Aktivität und Atemgeräusche auf. Bei weiteren vier männlichen Tieren und drei weiblichen Tieren der hohen Dosisgruppe traten sporadisch Atemgeräusche auf und ein weibliches Tier zeigte reduzierte motorische Aktivität. Die Körpergewichtszunahme war nicht signifikant bei den männlichen Tieren der hohen Dosisgruppe in der 7. bis 13. Woche reduziert (9–10 %). Die Futtermittelaufnahme dieser Tiere war ebenfalls leicht reduziert. Die makroskopische Untersuchung zeigte eine leichte Verfärbung der Leber bei einem männlichen Tier bei 12 mg/kg KG und Tag, einem männlichen und einem weiblichen Tier bei 30 mg/kg KG und Tag, vier männlichen und einem weiblichen bei 80 mg/kg KG und Tag und zwei männlichen und einem weiblichen bei 150 mg/kg KG und Tag. Eosinophiles Zytoplasma der Hepatozyten wurde in der höchsten Dosisgruppe (n = 6) und bei 80 mg/kg KG (n = 2) beobachtet. Zudem fehlten vorwiegend bei den männlichen Tieren der höchsten Dosisgruppe Glykogen-Vakuolen in den Hepatozyten (n = 3). Einzelzellnekrosen wurden in der Leber von vier männlichen Tieren bei 80 mg/kg KG und Tag beobachtet, aber nicht in der höchsten Dosisgruppe. Bei 150 mg/kg KG und Tag traten bei drei der neun untersuchten weiblichen Tiere Entzündungen des Ösophagus sowie bei einem eine Myopathie des Ösophagus auf. Nach Angaben der Autoren betrug der LOAEL 80 mg/kg KG und Tag basierend auf der Mortalität, den Atemgeräuschen und den Befunden an Larynx und Pharynx, wobei die Effekte an der Leber als nicht bewertungsrelevant (k. w. A.) betrachtet wurden. Der NOAEL lag bei 30 mg/kg KG und Tag (ECHA 2014). In wässriger Lösung ist eine schnelle Hydrolyse des N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin zu erwarten, sodass die hier beobachtete lokale Reizwirkung den Hydrolyseprodukten Formaldehyd (Greim 2000; Hartwig 2010) und 1-Aminopropan-2-ol (Greim 1994) zuzuordnen ist, die beide stark reizend wirken. Ein Teil der Effekte könnte zudem auch auf die Schlundsondenbehandlung mit Erdnussöl zurückzuführen sein, welches zu einer Bildung eines Ölfilms im Ösophagus führt.

Eine zweite 90-Tage-Schlundsondenstudie aus dem Jahr 2002 nach OECD-Prüfrichtlinie 408 wurde mit jeweils zehn männlichen und zehn weiblichen Wistar-Ratten pro Dosisgruppe durchgeführt. Die Tiere erhielten N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin täglich in Dosierungen von 0, 40, 100 oder 250 mg/kg KG und Tag (0; 0,4; 1; 2,5 % in destilliertem Wasser). Es gab jeweils eine zusätzliche Kontroll- und Hochdosisgruppe, die im Anschluss an die Dosierung weitere 28 Tage ohne Behandlung gehalten wurden. In der Studie traten keine behandlungsbedingten klinischen Symptome auf. In der FOB-Untersuchung („functional observational battery“) am Ende der Expositionsperiode wiesen die weiblichen Tiere der Hochdosisgruppe eine signifikante Abnahme der motorischen Aktivität in den ersten zehn Minuten und eine signifikante Reduktion der gesamten, der motorischen und der stereotypischen Aktivität in den zweiten zehn Minuten des Beobachtungsintervalls auf. Am Ende der Erholungszeit war die motorische Aktivität unverändert. Während der letzten drei Wochen der Expositionszeit war bei den männlichen Tieren der Hochdosisgruppe die Körpergewichtszunahme verglichen mit der Kontrolle um etwa 9 % reduziert, ebenso bei den weiblichen Tieren der mittleren und hohen Dosisgruppe (ca. 8 %). Eine statistisch signifikant reduzierte Futtermittelaufnahme wurde bei den männlichen Tieren der mittleren und hohen Dosisgruppe nur in der 11. Woche beobachtet. Die männlichen Tiere der hohen Dosisgruppe wiesen eine signifikant verminderte Thrombozytenzahl auf, die jedoch im Bereich der historischen Kontrolle lag. Die weiblichen Hochdosis-Tiere hatten ein statistisch signifikant reduziertes MCV (mittleres Erythrozyteneinzelvolumen) sowie in der Erholungsgruppe verminderte MCHC (mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration) und Monozyten-Zahl, erhöhte Werte an Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit und Neutrophilen. Nach Angaben der Autoren (ohne weitere Erläuterung) sind die Werte ohne toxikologische Relevanz. Bei den männlichen Tieren waren im Blut ab der niedrigsten Dosis die Konzentrationen von Natrium, ab der mittleren die von Calcium und in der höchsten Dosisgruppe die von Phosphor erhöht. Bei den männlichen Tieren waren in der hohen Dosisgruppe die relativen Gewichte der Nebennieren und Testes sowie das relative Leber- und Herzgewicht bei der mittleren und hohen Dosis statistisch signifikant erhöht. Auch nach der Erholungsphase war in der Hochdosisgruppe ein statistisch signifikanter Anstieg der relativen Gewichte von Nebennieren, Nebenhoden und Leber zu beobachten. Bei den weiblichen Tieren waren die absoluten Gewichte der Nebennieren bei der mittleren und der hohen Dosis sowie die relativen Gewichte bei allen Dosierungen statistisch signifikant erhöht. Das relative

Nierengewicht war bei mittlerer und hoher Dosis statistisch signifikant erhöht. Nach Angaben der Studienautoren liegt der NOAEL bei 40 mg/kg KG und Tag. Die Autoren merken an, dass es kein histopathologisches Korrelat zu den Organgewichtsbefunden gibt. Zudem sind vorwiegend die relativen Organgewichte betroffen, was ein Resultat der erniedrigten Körpergewichte sein kann. Auch sind trotz der stark reizenden Eigenschaften der Substanz keine Effekte auf den Gastrointestinaltrakt gefunden worden (ECHA 2014).

Beide 90-Tage-Studien liegen nicht im Original vor und eine abschließende Bewertung ist daher nicht möglich.

### 5.2.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

## 5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

### 5.3.1 Haut

An drei weiblichen Neuseeländer-Kaninchen wurde eine Prüfung auf Hautreizung nach OECD-Prüfrichtlinie 404 durchgeführt. Ein Tier wurde an drei verschiedenen Applikationsstellen drei Minuten, eine Stunde bzw. vier Stunden semiokklusiv gegen 0,5 ml unverdünntes N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin exponiert, zwei weitere Tiere nur vier Stunden lang. Bei der Begutachtung nach vier Stunden wiesen die Stellen mit dreiminütiger und einstündiger Exposition gut definierte Erytheme auf. Die vierstündige Exposition führte zu einem Reizindex (24, 48 und 72 Stunden gemittelt) von 2,55 für Erytheme bzw. von 2,0 für Ödeme von maximal 4,0. Die individuellen Werte für Erytheme (24, 48 und 72 Stunden nach Expositionsende) lagen bei 1,67; 2,33 und 3,67 und die für Ödeme bei 1,33; 2,00 und 2,67. Bei zwei der drei Tiere waren die Erytheme nicht reversibel innerhalb der 14-tägigen Nachbeobachtungszeit, was auf tiefere Hautschäden hinweist (ECHA 2014).

Eine zweite Untersuchung auf hautreizende Wirkung nach OECD-Prüfrichtlinie 404 fand ebenfalls mit vierstündiger semiokklusiver Exposition gegen 0,5 ml N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin an drei männlichen Neuseeländer-Kaninchen statt. Nach Ende der Behandlung wurde die auf der Haut verbliebene Testsubstanz mit Wasser entfernt. Die Berechnung des Reizindex für Erytheme und Ödeme erfolgte in dieser Studie nach 24 und 72 Stunden und betrug 2,7 von maximal 4,0. Schorfbildung war nach sieben Tagen bei zwei von drei Tieren zu beobachten. Nach 14 Tagen waren alle Befunde reversibel (ECHA 2014).

Zusammengefasst ist N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin an der Kaninchenhaut stark reizend bis ätzend.

### 5.3.2 Auge

An drei Neuseeländer-Kaninchen wurde eine Prüfung auf Augenreizung nach OECD-Prüfrichtlinie 405 durchgeführt. Den Tieren wurde 0,1 ml unverdünntes N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin in jeweils ein Auge appliziert und nach 24 Stunden gespült. Ablesungen erfolgten eine Stunde, 24, 48 und 72 Stunden sowie sieben, 14 und 21 Tage nach Instillation. Die von den Autoren berechneten durchschnittlichen Reizwerte betrug 2,33; 3,67; 4,67; 4,67; 3,67; 4,33 und 2,00. Die Schäden an der Cornea sowie Rötung und Schwellung der Konjunktiven waren innerhalb von 72 Stunden nicht reversibel. Die bis 21 Tage nach der Exposition nicht reversiblen Schäden der Cornea zunehmender Schwere (Reizwerte: 1, 1, 1 von maximal 4, 72 Stunden nach Behandlung; Reizwerte: 1, 2, 2 von maximal 4, 21 Tage nach Behandlung) passen dazu, dass die Substanz ein Formaldehydabspalter ist (ECHA 2014).

Zusammengefasst ist N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin am Kaninchenauge stark reizend bis ätzend.



## 5.4 Allergene Wirkung

### 5.4.1 Hautsensibilisierende Wirkung

Es liegen zwei verschiedene Maximierungstests vor. Ein Maximierungstest wurde an 20 weiblichen Dunkin-Hartley-Meerschweinchen nach OECD-Prüfrichtlinie 406 durchgeführt. Dazu wurde eine intradermale Induktion mit einer 1%igen Lösung der Testsubstanz, gefolgt von einer topischen Induktion mit 25%iger Lösung vorgenommen. Bei der Provokationsbehandlung nach drei Wochen mit 5- und 10%iger Lösung der Testsubstanz traten bei allen Kontrolltieren leichte Reizeffekte auf. Nach weiteren vier Wochen zeigte bei einer zweiten Provokation mit niedrigeren Konzentrationen (1- und 2,5%ig) keines der Kontrolltiere Hauteffekte, aber 19 der 20 vorbehandelten Tiere eine positive Reaktion. Als Vehikel diente Alembicol D (vorwiegend Triglyceride der C8- und C10-Fettsäuren von Kokosnussöl) (ECHA 2014).

Ein zweiter Maximierungstest mit N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin wurde an zehn männlichen und zehn weiblichen Hartley-Meerschweinchen nach OECD-Prüfrichtlinie 406 durchgeführt. Dabei wurde nach intradermaler Induktion mit einer 1%igen Lösung der Testsubstanz (Vehikel: destilliertes Wasser) sowie topischer Induktion und nachfolgender Provokation mit unverdünnter Testsubstanz bei acht der behandelten Tiere eine Reaktion ausgelöst (ECHA 2014). Allerdings wirkte die unverdünnte Substanz im Vortest schwach reizend und bei Kaninchen stark reizend bis ätzend (siehe [Abschnitt 5.3.1](#)). Deshalb ist unklar, inwieweit diese Reaktionen tatsächlich auf die sensibilisierende oder die reizende Wirkung zurückzuführen ist, sodass das positive Testergebnis für die Bewertung nicht herangezogen wird.

Insgesamt wirkt N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin, wie auch das strukturanaloge N,N',N''-Tris(β-hydroxyethyl)hexahydro-1,3,5-triazin (Greim 2003) beim Meerschweinchen hautsensibilisierend.

Unabhängig von der Frage, ob die sensibilisierende Wirkung auch auf der Wirkung des Gesamtmoleküls oder hydrolytisch gebildeter Molekülfragmente beruht, ist der hydrolytisch freigesetzte Formaldehyd zumindest weitgehend als ursächlich anzusehen.

## 5.5 Reproduktionstoxizität

### 5.5.1 Fertilität

Generationenstudien sind nicht durchgeführt worden.

In den zwei 90-Tage-Studien an Ratten (siehe [Abschnitt 5.2.2](#)) zeigen sich keine Effekte durch N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin auf die Reproduktionsorgane (ECHA 2014).

### 5.5.2 Entwicklungstoxizität

Hierzu liegen keine Angaben vor.

## 5.6 Genotoxizität

### 5.6.1 In vitro

Ein Mutagenitätstest an den Salmonella typhimurium-Stämmen TA98, TA100, TA102, TA1535 und TA1537 aus dem Jahr 2000, nach OECD-Prüfrichtlinie 471, wurde mit N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin in Konzentrationen von 0; 18,7; 37,5; 75; 150 oder 300 µg/Platte durchgeführt. Weder in An- noch in Abwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems trat eine erhöhte Anzahl an Revertanten auf. Im Vortest war die nächsthöhere Konzentration von 625 µg/Platte in An- und Abwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems zytotoxisch. Im

Haupttest wurde demnach nicht bis zu zytotoxischen Konzentrationen getestet (ECHA 2014). Der Test wurde ohne Präinkubation durchgeführt, was laut OECD-Prüfrichtlinie 471 für Aldehyde die empfindlichere Testmethode ist.

Ein zweiter Mutagenitätstest aus dem Jahr 2000 wurde mit den Stämmen *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 und *Escherichia coli* WP2uvrA<sup>-</sup> durchgeführt. Die eingesetzten Konzentrationen waren im ersten Experiment 0, 5, 15, 50, 150, 500 oder 1500 µg/Platte für die *Salmonella*-Stämme und 0, 15, 50, 150, 500, 1500 oder 5000 µg/Platte für *E. coli*, jeweils in An- und Abwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems. In einem zweiten Experiment wurden für den Stamm TA100 unter Zugabe eines metabolischen Aktivierungssystems die Konzentrationen 0, 5, 15, 50, 150, 300 oder 500 µg/Platte eingesetzt. Ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems wirkte N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin in keinem der Stämme mutagen. In Anwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems zeigte sich eine konzentrationsabhängige mutagene Wirkung im Stamm TA100. Die Revertanzahl war weniger als verdoppelt, nach Angaben der Autoren des Registrierungs-Dossiers aber deutlich über den historischen Kontrollen, sodass sie den Stoff als schwach mutagen bewerten. Eine zytotoxische Wirkung wurde ab 500 µg/Platte beobachtet, jeweils mit und ohne Zugabe eines metabolischen Aktivierungssystems (ECHA 2014). Der Test wurde ohne Präinkubation durchgeführt, was laut OECD-Prüfrichtlinie 471 für Aldehyde die empfindlichere Testmethode ist.

Ein Chromosomenaberrationstest aus dem Jahr 2001 wurde nach OECD-Prüfrichtlinie 473 in CHL-Zellen (Chinesischer-Hamster-Lungenzellen) durchgeführt. N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin wurde ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems in Konzentrationen von 0; 3,6; 7,3; 14,5; 22 oder 29 µg/ml (29 µg/ml zytotoxisch) und unter Zugabe eines metabolischen Aktivierungssystems 0; 7,3; 14,5; 22; 29; 58; 87 oder 116 µg/ml sechs Stunden exponiert, gefolgt von einer 18-stündigen Kultivierungsphase. Es zeigten sich ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems ab 7,3 µg/ml und unter Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems (keine Konzentrationsangabe) eine konzentrationsabhängige klastogene Wirkung und eine Induktion von Polyploidie. Es wurden vorwiegend Chromosomenbrüche und -austausche beobachtet. Der Mitotische Index war ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems bei 7,3 µg/ml auf 80 % reduziert (ECHA 2014).

In einem TK<sup>+/-</sup>-Mutationstest mit L5178Y-Mauslymphomzellen nach OECD-Prüfrichtlinie 476 war N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin mit und ohne Zugabe eines metabolischen Aktivierungssystems positiv. Die Zellen wurden drei Stunden mit Konzentrationen von 0; 2,5; 5; 10; 20; 40 oder 60 µg/ml (ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems) und mit 0, 5, 10, 20, 40, 60 oder 80 µg/ml unter Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems inkubiert. Die maximalen Konzentrationen wurden aufgrund ihrer Zytotoxizität in einem Vortest ermittelt und das relative Wachstum der Zellen in der Hauptstudie bestimmt. N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin induzierte konzentrationsabhängig und statistisch signifikant eine erhöhte Anzahl von Mutanten. Die vorwiegend kleinen Kolonien sind ein Hinweis auf klastogene Ereignisse als Ursache für das positive Testergebnis. Das relative Wachstum der Zellen bei der niedrigsten mutagenen Konzentration (10 µg/ml ohne bzw. 20 µg/ml mit Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems) lag über 80 % (ECHA 2014).

Ein zweiter TK<sup>+/-</sup>-Mutationstest mit L5178Y-Mauslymphomzellen nach OECD-Prüfrichtlinie 476 bestätigt das Ergebnis. N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin induzierte auch hier in An- und Abwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems eine konzentrationsabhängige und statistisch signifikant erhöhte Anzahl an Mutanten und vorwiegend kleine Kolonien. Die Zellen wurden drei Stunden mit Konzentrationen von 0; 2,5; 5; 10; 20; 30 oder 40 µg/ml inkubiert. Die maximalen Konzentrationen wurden aufgrund darüber beginnender Zytotoxizität in einem Vortest ermittelt und das relative Wachstum der Zellen in der Hauptstudie bestimmt. Das relative Wachstum der Zellen lag bei der niedrigsten mutagenen Konzentration von 20 µg/ml bei über 80 % (ECHA 2014).

### 5.6.2 In vivo

Ein Chromosomenaberrationstest am Knochenmark von Mäusen aus dem Jahr 2002 nach OECD-Prüfrichtlinie 475 zeigte eine schwache klastogene Wirkung von N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin. Die Substanz wurde einmalig intraperitoneal an jeweils fünf männliche und fünf weibliche NMRI-Mäuse in Dosierungen von 0, 10, 50 oder 100 mg/kg KG (in 0,9 % NaCl in Wasser) verabreicht und die Knochenmarkszellen der Tiere 24 Stunden

später (die Hochdosistiere zusätzlich nach 48 Stunden) auf Chromosomenaberrationen untersucht. Im Vergleich zu den Kontrolltieren wiesen die behandelten männlichen und weiblichen Tiere eine etwa 2- bis 4,5fache Anzahl an Aberrationen auf, vorwiegend Chromosomenbrüche und -fragmente. Polyploide Zellen waren verglichen mit der Kontrolle nicht statistisch signifikant erhöht. Bei keiner der Dosierungen der Hauptstudie traten klinische Symptome auf. Die Dosierungen wurden nach einer Vorstudie ausgewählt, in der eine weibliche Maus einmalig mit 200 mg/kg KG intraperitoneal behandelt wurde und direkt danach teilweise Lähmungen, Atemnot und Apathie zeigte. Auch bei drei männlichen und drei weiblichen Tieren, die einmalig 100 mg/kg KG intraperitoneal erhielten, trat noch Apathie auf. Nach Angaben der Studienautoren ist das Ergebnis nicht eindeutig, da zum einen eine hohe Standardabweichung auftrat, zum anderen die Ergebnisse nur leicht über den historischen Kontrollen (0,0–4,5 % aberrante Zellen) lagen. Jedoch diskutierten die Studienautoren nicht die Ergebnisse der mitlaufenden Positiv- und Negativkontrolle. Nach Angaben der Autoren des Biozid-Dossiers zeigt die Substanz Anzeichen einer klastogenen Wirkung (ECHA 2014).

Ein zweiter Chromosomenaberrationstest aus dem Jahr 2000 nach OECD-Prüfrichtlinie 475 wurde nach oraler Gabe von zweimal 0, 106, 212 oder 425 mg/kg KG innerhalb von 24 Stunden an jeweils fünf männliche und fünf weibliche Swiss-Mäuse durchgeführt. Die höchste Dosis der Studie entsprach 60 % der LD<sub>50</sub> von 710 mg/kg KG. Das Knochenmark der Tiere wurde 24 Stunden nach der letzten Behandlung untersucht. Klinische Symptome oder Effekte auf das Körpergewicht traten nicht auf. N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin verursachte keine Reduktion des Mitose-Index und keine Induktion von Chromosomenaberrationen (ECHA 2014). Die MTD war jedoch nicht erreicht und es lässt sich nicht abschließend klären, ob das Knochenmark erreicht wurde. Die Positivkontrolle zeigte ein funktionierendes Testsystem an.

In einem Mikronukleus-Test aus dem Jahr 2002 nach OECD-Prüfrichtlinie 474 wurde jeweils fünf männlichen und fünf weiblichen NMRI-Mäusen pro Dosisgruppe einmalig intraperitoneal 0, 10, 50 oder 100 mg N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin/kg KG (in 0,9 % NaCl in Wasser) appliziert. Nach 24 Stunden sowie für die höchste Dosis auch nach 48 Stunden fand die Sektion statt. Jeweils 2000 polychromatische Erythrozyten (PCE) pro Tier wurden untersucht. Die Dosierungen wurden nach einer Vorstudie ausgewählt, in der weibliche Mäuse einmalig mit 200 mg/kg KG intraperitoneal behandelt wurden und direkt danach teilweise Lähmungen, Atemnot, Apathie und geschlossene Augen zeigten. Nach Gabe von 100 mg/kg KG trat noch Apathie auf. Dies zeigte sich auch in der Hauptstudie, in der die Tiere bei der höchsten Dosis eine Stunde nach Behandlung apathisch waren und die Augen geschlossen hielten. N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin induzierte in dieser Studie keine Mikronuklei im Knochenmark. Nach Angaben der Studienautoren war das Verhältnis der PCE zu Gesamt-Erythrozyten bei der höchsten Dosis reduziert. Den Autoren des Biozid-Dossiers zufolge lagen die Werte jedoch innerhalb der historischen Kontrollwerte des Labors (n = 10) und es ist nicht klar, ob in der Untersuchung die MTD oder aber das Knochenmark erreicht wurden (ECHA 2014).

### 5.6.3 Zusammenfassung

N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin hat *in vitro* eine klastogene Wirkung an Säugerzellen, die auf Chromosomenaberrationen beruht und sich auch in der Bildung kleiner Kolonien im TK<sup>±</sup>-Genmutationstest zeigt. Es liegen zwei Mutagenitätstests an Bakterien vor, welche aufgrund verschiedener Einschränkungen (insensitives Testsystem; negativ, aber nicht bis zur Höchstgrenze getestet; positiv, aber Revertanten weniger als zweifacher Kontrollwert) keine eindeutige Bewertung zulassen.

N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin hydrolysiert vollständig zu Formaldehyd und 1-Aminopropan-2-ol (siehe [Abschnitt 1](#)). Da 1-Aminopropan-2-ol zu keiner mutagenen oder klastogenen Wirkung an Säugerzellen *in vitro* führt (ECHA 2020; Greim 1994), ist zu vermuten, dass die positiven Ergebnisse auf die Freisetzung von Formaldehyd zurückzuführen sind.

Am Knochenmark der Maus induzierten intraperitoneale Dosierungen bis 100 mg N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin/kg KG keine Mikronuklei, wobei unklar ist, ob die MTD erreicht wurde. Im identischen Versuchsansatz trat bei den Mäusen im Knochenmark eine erhöhte Anzahl Chromosomenaberrationen auf, wobei dieses Ergebnis als fraglich positiv gewertet wurde. Ein weiterer Chromosomenaberrationstest mit oraler Gabe bis

425 mg/kg KG an Mäusen war negativ. Hier war die MTD nicht erreicht und es ist nicht bekannt, ob das Knochenmark erreicht wurde.

Auch nach Gabe von Formaldehyd ist fraglich, ob zytogenetische Effekte ausschließlich durch lokale Einwirkung oder auch als Folge systemischer Verfügbarkeit von Formaldehyd auftreten können (Greim 2000), sodass die hier vorliegenden negativen In-vivo-Daten nicht denen von Formaldehyd widersprechen.

## 5.7 Kanzerogenität

Es liegen keine Untersuchungen mit N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin oder dem Hydrolyseprodukt 1-Aminopropan-2-ol vor.

Die lokale Kanzerogenität des zweiten Hydrolyseprodukts Formaldehyd ist ausführlich dokumentiert (siehe ECHA 2014; Greim 2000; Hartwig 2010).

## 6 Bewertung

Aufgrund des Hydrolyseprodukts Formaldehyd ist von einer kanzerogenen und lokal reizenden Wirkung von N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin auszugehen. Das sind somit auch die empfindlichsten Endpunkte.

**Krebserzeugende Wirkung.** Es liegen keine Untersuchungen zur krebserzeugenden Wirkung von N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin vor. Die Substanz weist in vitro ein geringes mutagenes und klastogenes Potenzial auf. Dieses ist vermutlich auf die Freisetzung von Formaldehyd zurückzuführen. Eine mögliche genotoxische Wirkung am wahrscheinlichen Ziel oberer Atemtrakt bzw. Nase ist nicht untersucht.

Die lokale Kanzerogenität des Hydrolyseprodukts Formaldehyd hingegen ist ausführlich dokumentiert (siehe ECHA 2014; Greim 2000; Hartwig 2010). Formaldehyd ist in Kanzerogenitäts-Kategorie 4 eingestuft, da es bei Konzentrationen, die die Entgiftungskapazitäten des Nasengewebes überschreiten, in diesem Gewebe kanzerogen wirkt. N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin spaltet Formaldehyd in wässriger Lösung sehr schnell ab. So sind nach 20 Minuten 80 % der Ausgangssubstanz hydrolysiert und die Halbwertszeit in wässriger Lösung liegt unter 20 Minuten, konnte jedoch nicht genau bestimmt werden, da keine kürzeren Zeitpunkte untersucht worden sind. Aus einer 0,1%igen Lösung werden in einer Hydrolysestudie nach OECD-Prüfrichtlinie 111 bei pH 7 etwa 20 % Formaldehyd freigesetzt (Fraunhofer ITEM 2008). In vivo ist die Freisetzung vermutlich höher, da die Hydrolyseprodukte eliminiert werden und das Reaktionsgleichgewicht dadurch in Richtung Hydrolyse verschieben, sodass von einer vollständigen Formaldehydabspaltung auszugehen ist (siehe Abschnitt 3). Außerdem kommt die ebenfalls lokal reizende Wirkung von 1-Aminopropan-2-ol hinzu. Wird die Entgiftungskapazität für Formaldehyd in der Nase nicht überschritten, tritt dort keine kanzerogene Wirkung auf. Aufgrund der lokal kanzerogenen Wirkung des Hydrolyseprodukts Formaldehyd könnte N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin in Analogie in Kanzerogenitäts-Kategorie 4 eingestuft werden. Da jedoch kein MAK-Wert für N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin abgeleitet werden kann (siehe Abschnitt MAK-Wert und Spitzenbegrenzung), wird der Stoff der Kanzerogenitäts-Kategorie 2 zugeordnet und erhält die Fußnote „Voraussetzung für Kategorie 4 prinzipiell erfüllt, aber Daten für MAK- oder BAT-Wert-Ableitung nicht ausreichend“.

**MAK-Wert und Spitzenbegrenzung.** Es liegen keine Inhalationsstudien mit N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin vor. Die Hydrolysegeschwindigkeit der Substanz ist abhängig von der Konzentration, dem pH-Wert und der Temperatur, wobei aus einem Molekül N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin jeweils drei Moleküle Formaldehyd und 1-Aminopropan-2-ol entstehen können.

In einer Inhalationsstudie mit dem strukturanalogen N,N',N''-Tris(β-hydroxyethyl)hexahydro-1,3,5-triazin an Ratten (Hartwig 2015) ist die, verglichen mit Formaldehyd und 2-Aminoethanol, stärkere lokale Reizwirkung (LOAEC 3 mg/m<sup>3</sup> ≈ 0,33 ml/m<sup>3</sup>) nach 28-tägiger Exposition vermutlich mit der Aerosol-Impaktierung zu erklären. Wegen der

starken Effekte des N,N',N''-Tris(β-hydroxyethyl)hexahydro-1,3,5-triazin bei der LOAEC der 28-Tage-Studie und einer fehlenden NOAEC kann aus dieser Studie nach wie vor (siehe Hartwig und MAK Commission 2023) kein MAK-Wert abgeleitet werden. Aufgrund der Rolle der Aerosol-Impaktierung kann auch kein MAK-Wert in Analogie zum gasförmigen Formaldehyd aufgestellt werden (siehe Begründung „N,N',N''-Tris(β-hydroxyethyl)hexahydro-1,3,5-triazin“, Hartwig und MAK Commission 2023).

Dies ist auch für das hier bewertete N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin anzunehmen. Die Dampfdruckmessung ( $6,4 \times 10^{-5}$  hPa bei 20 °C,  $1,3 \times 10^{-4}$  hPa bei 25 °C (OECD TG 104; Effusionsmethode, Dampfdruckgleichgewicht); 9,303 hPa bei 25 °C (statisches Verfahren; ECHA 2014)) ist vermutlich wie bei dem struktur-analogen N,N',N''-Tris(β-hydroxyethyl)hexahydro-1,3,5-triazin fehlerbehaftet. Es ist eher anzunehmen, dass die Dampfdrücke der beiden Triazine im ähnlichen Bereich liegen und auch das N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin bei Konzentrationen, bei denen Formaldehyd schon dampfförmig ist, noch als Aerosol vorliegt. Aufgrund der stärkeren Effekte durch die Aerosol-Impaktierung kann daher auch für das N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin kein MAK-Wert abgeleitet werden. Eine Spitzenbegrenzung entfällt.

Bei Anwendung in verdünnten wässrigen Lösungen sollte mit einer vollständigen Hydrolyse gerechnet und daher der MAK-Wert für Formaldehyd (Greim 2000; Hartwig 2010) eingehalten werden.

**Fruchtschädigende Wirkung.** Eine Zuordnung zu einer Schwangerschaftsgruppe entfällt, da kein MAK-Wert aufgestellt wird.

**Keimzellmutagene Wirkung.** N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin hat in vitro eine klastogene Wirkung an Säugerzellen, die sich in der Induktion von Chromosomenaberrationen und in der Bildung kleiner Kolonien im TK<sup>+/-</sup>-Genmutationstest zeigt. Die mutagene Wirkung an Bakterien ist nicht eindeutig bewertbar. Am Knochenmark der Maus induzierten intraperitoneale Dosierungen bis 100 mg N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin/kg KG keine Mikronuklei, wobei unklar ist, ob die MTD erreicht wurde. Im identischen Versuchsansatz trat bei den Mäusen im Knochenmark eine erhöhte Anzahl von Chromosomenaberrationen auf, wobei dieses Ergebnis aufgrund der hohen Standardabweichungen als fraglich positiv gewertet wurde. Ein weiterer Chromosomenaberrationstest am Knochenmark nach oraler Gabe bis 425 mg/kg KG an Mäusen verlief negativ. Hier war die MTD nicht erreicht und es ist nicht bekannt, ob das Knochenmark erreicht wurde. Untersuchungen an Keimzellen liegen nicht vor.

Da 1-Aminopropan-2-ol keine mutagene oder klastogene Wirkung an Säugerzellen in vitro zeigt (siehe ECHA 2020; Greim 1994), ist zu vermuten, dass die positiven In-vitro-Ergebnisse von N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin auf die Freisetzung von Formaldehyd zurückzuführen sind. Wird davon ausgegangen, dass nach Inhalation durch Hydrolyse schlagartig das gesamte Formaldehyd im oberen Atemtrakt freigesetzt wird, ist dieses wahrscheinlich nicht systemisch verfügbar. Daten dazu fehlen jedoch.

Formaldehyd ist in Kategorie 5 für Keimzellmutagene eingestuft. Dies bedeutet, dass durch Inhalation aufgenommenes Formaldehyd unter Einhaltung des MAK-Wertes von 0,3 ml/m<sup>3</sup> keinen nennenswerten Beitrag zum genetischen Risiko für den Menschen leistet (Greim 2000; RAC und SEAC 2020). Theoretisch könnte N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin ebenfalls in die Kategorie 5 für Keimzellmutagene eingestuft werden, es kann aber kein MAK-Wert aufgestellt werden. Da Daten zur systemischen Bioverfügbarkeit des N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin und dem durch Hydrolyse freigesetzten Formaldehyd fehlen, liegt kein experimenteller Beleg vor, dass das freigesetzte Formaldehyd in aktiver Form die Keimzellen erreicht. Daher wird N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin in Kategorie 3 B für Keimzellmutagene eingestuft.

**Hautresorption.** Zur dermalen Aufnahme von N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin liegen keine experimentellen Untersuchungen vor. Abschätzungen auf der Basis von Modellrechnungen lassen eine Resorption von maximal 54 µg/kg KG erwarten. Diese Dosis liegt weit unter dem systemischen NOAEL von 40 mg/kg KG für Ratten. Für einen 70 kg schweren Menschen beträgt die maximal zu erwartende aufgenommene Gesamtmenge an N,N',N''-Tris(β-hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin unter den genannten Bedingungen 3,78 mg (0,014 mmol). Bei Annahme

einer raschen vollständigen Hydrolyse ergibt sich daraus eine Freisetzung von 0,042 mmol (1,26 mg) Formaldehyd. Der physiologisch bedingte Formaldehydspiegel im Blut des Menschen beträgt etwa 2–3 mg/l also 10–15 mg in 5 l Blut (Heck et al. 1985), sodass der zusätzliche maximale Eintrag von Formaldehyd im Variationsbereich der physiologischen Belastung liegt. Daher wird N,N',N''-Tris( $\beta$ -hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin nicht mit „H“ markiert.

**Sensibilisierende Wirkung.** Es liegen keine Befunde beim Menschen zur hautsensibilisierenden Wirkung, aber ein eindeutig positives Ergebnis am Meerschweinchen mit Verwendung von Adjuvans vor. Aufgrund der Eigenschaft der Substanz, Formaldehyd freizusetzen und wegen der engen strukturellen Beziehung zu dem beim Menschen als hautsensibilisierend bekannten N,N',N''-Tris( $\beta$ -hydroxyethyl)hexahydro-1,3,5-triazin (Hartwig und MAK Commission 2023) wird N,N',N''-Tris( $\beta$ -hydroxypropyl)hexahydro-1,3,5-triazin trotz der bisher fehlenden klinischen Befunde mit „Sh“ markiert.

Zur atemwegssensibilisierenden Wirkung liegen keine Untersuchungen vor, daher erfolgt keine Markierung mit „Sa“.

## Anmerkungen

### Interessenkonflikte

Die in der Kommission etablierten Regelungen und Maßnahmen zur Vermeidung von Interessenkonflikten ([www.dfg.de/mak/interessenkonflikte](http://www.dfg.de/mak/interessenkonflikte)) stellen sicher, dass die Inhalte und Schlussfolgerungen der Publikation ausschließlich wissenschaftliche Aspekte berücksichtigen.

## Literatur

- ECHA (European Chemicals Agency) (2014) Biocidal active substance. Study summaries on reaction product of paraformaldehyde and 2-hydroxypropylamine (ratio 1:1), [notified as  $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,3,5-triazine-1,3,5(2H,4H,6H)-triethanol – HPT] (CAS Number 25254-50-6, Doc III A. Helsinki: ECHA
- ECHA (European Chemicals Agency) (2017) Regulation (EU) n° 528/2012 concerning the making available on the market and use of biocidal products, Evaluation of active substances, Assessment Report, Reaction products of para-formaldehyde and 2-hydroxy-propylamine (ratio 1:1) [notified as  $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,3,5-triazine-1,3,5(2H,4H,6H)-triethanol – HPT], Product-type 2, 6, 11 & 13. Helsinki: ECHA
- ECHA (European Chemicals Agency) (2020) 1-Aminopropan-2-ol (CAS Number 78-96-6). Registration dossier. Joint submission, first publication 03 Mar 2011, last modification 23 May 2020. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/13935>, abgerufen am 15 Okt 2020
- EFSA (European Food Safety Authority) (2014) Endogenous formaldehyde turnover in humans compared with exogenous contribution from food sources. EFSA J 12(2): 3550. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3550>
- Fiserova-Bergerova V, Pierce JT, Droz PO (1990) Dermal absorption potential of industrial chemicals: criteria for skin notation. Am J Ind Med 17(5): 617–635. <https://doi.org/10.1002/ajim.4700170507>
- Fraunhofer ITEM (Fraunhofer Institute of Toxicology and Experimental Medicine) (2008) Hydrolysis of the equilibrium mixture of hexahydro-1,3,5-tris(2-hydroxypropyl)-s-triazine and N,N-methylene-bis-(5-methyloxazolidine). 25 Feb 2008, Hannover: Fraunhofer ITEM, unveröffentlicht
- Greim H, Hrsg (1994) 1-Aminopropan-2-ol. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten. 20. Lieferung. Weinheim: VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb7896kskd0020>
- Greim H, Hrsg (2000) Formaldehyd. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten. 31. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb5000d0031>
- Greim H, Hrsg (2003) N,N',N''-Triethylhexahydro-1,3,5-triazin. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten. 36. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb77927kskd0036>
- Hartwig A, Hrsg (2010) Formaldehyd. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten. 48. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb5000d0048>

- Hartwig A, Hrsg (2015) N,N',N''-Tris( $\beta$ -hydroxyethyl)hexahydro-1,3,5-triazin. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten. 58. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb471904kskd0058>
- Hartwig A, MAK Commission (2023) N,N',N''-Tris( $\beta$ -hydroxyethyl)hexahydro-1,3,5-triazin. MAK Begründung, Nachtrag. MAK Collect Occup Health Saf 8(3): Doc056. [https://doi.org/10.34865/mb471904kskd8\\_3ad](https://doi.org/10.34865/mb471904kskd8_3ad)
- Heck HD, Casanova-Schmitz M, Dodd PB, Schachter EN, Witek TJ, Tosun T (1985) Formaldehyde (CH<sub>2</sub>O) concentrations in the blood of humans and Fischer-344 rats exposed to CH<sub>2</sub>O under controlled conditions. Am Ind Hyg Assoc J 46(1): 1–3. <https://doi.org/10.1080/15298668591394275>
- NCBI (National Center for Biotechnology Information) (2022) Hexahydro-1,3,5-tris(2-hydroxypropyl)-s-triazine. PubChem compound summary for CID 91360. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hexahydro-1\\_3\\_5-tris\\_2-hydroxypropyl\\_-s-triazine](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hexahydro-1_3_5-tris_2-hydroxypropyl_-s-triazine), abgerufen am 18 Feb 2022
- RAC (Committee for Risk Assessment), SEAC (Committee for Socio-economic Analysis) (2020) Opinion on an Annex XV dossier proposing restrictions on formaldehyde and formaldehyde releasers. ECHA/RAC/RES-O-0000006740-76-01/F, RAC opinion, adopted 13 March 2020. Helsinki: ECHA. <https://echa.europa.eu/documents/10162/07116332-7ee9-c983-3976-35e85ac32bcb>, abgerufen am 10 Dez 2021
- Tibaldi R, ten Berge W, Drolet D (2014) Dermal absorption of chemicals: estimation by IH SkinPerm. J Occup Environ Hyg 11(1): 19–31. <https://doi.org/10.1080/15459624.2013.831983>
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2022) CompTox Chemicals Dashbord. Tris(N-hydroxypropyl)hexahydrotriazine (CAS Number 25254-50-6). <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/properties/DTXSID4042042>, abgerufen am 18 Jan 2022