

Studienergebnisse mit Baytubes® - Übersicht

**Dr. Gisela Stropp
Bayer Schering Pharma AG
Wuppertal**

**Inno.CNT Jahreskongress 20. Januar 2010
Marl**

Inhalt

- **Hintergrund und Vorgehensweise**
- **Charakterisierung Baytubes®**
- **Toxikologische Daten**
 - Auswertung der verfügbaren Literatur
 - Toxikologisches Prüfprogramm Baytubes®
 - **Schwerpunkt Inhalationsstudien => Vortrag Prof Pauluhn**
- **Exposition**
- **Risikocharakterisierung und Risikobewertung**
- **Ökotoxikologische Testung mit Baytubes®**
- **Zusammenfassung**



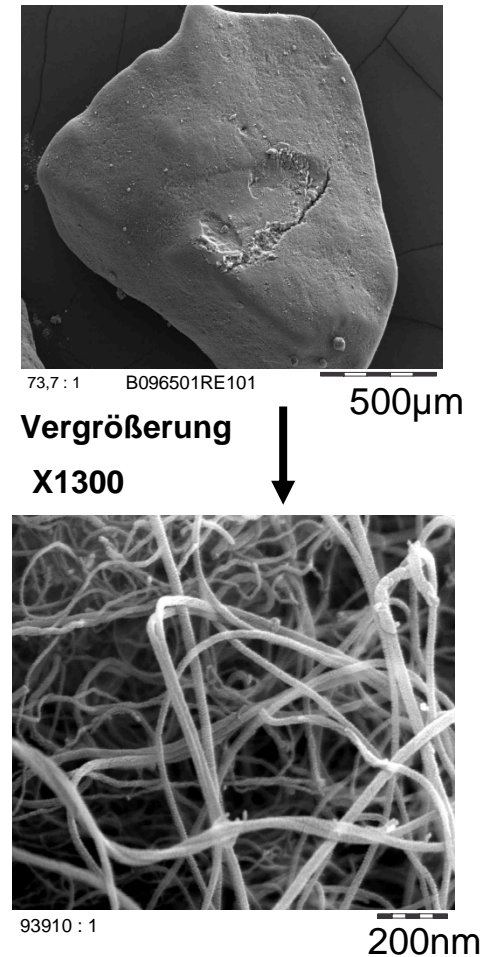
Hintergrund und Vorgehensweise

- **Product Stewardship Programm* zu Baytubes®:**
 - Charakterisierung von Gefährdung und Risiko mit den gängigen Methoden:
 - Identifizierung von Gefährdung (“Hazard”) => Testprogramm
 - Expositionsermittlung
 - Risikocharakterisierung
 - Risikobewertung und Ableitung Arbeitsplatzgrenzwert
 - Verwendung von akzeptierten Standardmethoden (OECD Prüfrichtlinien)
 - Besondere Berücksichtigung der Substanzcharakterisierung
 - Unter Einbeziehung von Überlegungen zum Wirkmechanismus

* ***www.baycareonline.com***

Baytubes® – Charakterisierung

- **“CNTs”** sind eine Gruppe verschiedenster Produkte
- **Baytubes®** sind **„Multi-Walled Carbon Nano Tubes“**:
 - Große und stabile Agglomerate von hoher chemischer Reinheit
 - Kurze, dünne und verknäulte Tubes
 - Geringe Verstaubung (EN15051-B)
 - Geringe Agglomeratdichte



Vgl. auch Poster Dr. Ragot “Product Stewardship Baytubes®“

Toxikologische Daten - Auswertung der verfügbaren Literatur (1)

- **ca. 450 Referenzen zu „CNT“**
- **Eine Vielzahl verschiedener Materialien untersucht**
 - Single/Multi-Wall (SWCNT/MWCNT), Verunreinigungen, Durchmesser, Länge/Dicke-Verhältnis, Dichte, Stabilität...
- **Die publizierten Studien (überwiegend in vitro) geben kein konsistentes Bild:**
 - Keine Charakterisierung der Testsubstanz vor und nach der Probenbehandlung
 - Begrenzte Information zur Probenbehandlung und Testsubstanzformulierung
 - Fehlen von (validierten) Negativ- und Positiv-Kontrollen
 - Geringe Zahl an untersuchten Parametern
 - Kleine Zahl an untersuchten Gruppen; keine Information zur Dosis-Wirkungsbeziehung (häufig nur eine Dosis untersucht)
 - Artificielle Aufnahmewege und Bolus-Exposition, z.B. intratracheale Instillation (erste Inhalationstudien inzwischen verfügbar)

In vivo

Toxikologische Daten - Auswertung der verfügbaren Literatur (2)

- **Beispiele aus der Literatur, die die Komplexität exemplarisch zeigen:**

- SWCNT führen indirekt zur Zytotoxizität in vitro durch „Abreicherung“ des Nährmediums (Casey et al., Tox Letters 179, 78-84, 2008)
- Proteine werden durch SWCNTs absorbiert (Zhong et al., Carbon 47, 967-973)
- SWCNT interagiert mit Farbstoffen die zum Nachweis von Zytotoxizität verwendet werden

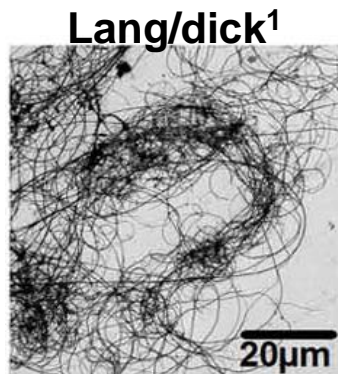
(Casey et al., Carbon 45, 1425-1432, 2007, Davoren et al., Toxicology in vitro 21, 438-448, 2007, Pulskamp et al., Toxicology Letters 168, 58-74, 2007, Monteiro-Riviere Inman, Carbon 44, 1070-1078, 2006, and Wörle-Knirsch et al., Nano Letters 6, 1261-1268, 2006)

- **Störfaktoren müssen bei der Testdurchführung berücksichtigt werden (see e.g. Doak et al., Mutagenesis 24, 285-293, 2009 und Belyanskaya et al., Carbon 45, 2643-2648, 2007)**

Toxikologische Daten - Auswertung der verfügbaren Literatur (3)

▪ „Lange und dicke“ MWCNT

→ Faser-artige Wirkung im Kurzzeittest¹
sowie Mesotheliome² in
längerdauernden Studien

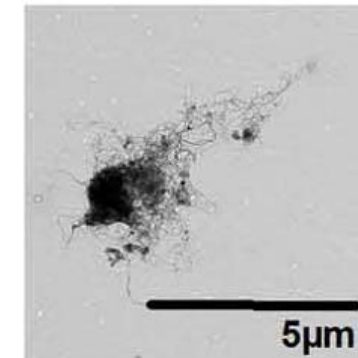


▪ „kurze, dünne und verknäulte“ MWCNT

→ Keine Faser-artige Wirkung im
Kurzzeittest¹

→ Keine krebserzeugend Wirkung im
Langzeitversuch³

Kurz/dünn/verknäult¹



=> Baytubes® gehören zur Gruppe der kurzen, dünnen und verknäulten MWCNTs, für die auf der Grundlage der verfügbaren Daten keine fasertypische Wirkung zu erwarten ist

1. Poland et al., Nature Nanotechnology (2008) 3, 7, 423 – 428

2. Tagaki et al., J. Toxicol. Sci. (2008) 33, 1, 105-116; Sakamoto et al., J. Tox. Sci. 34, 65-76, 2009

3. Muller et al., Tox. Sci. (2009), 110, 442-448;

Toxikologische Daten - Auswertung der verfügbaren Literatur - Zusammenfassung

- **Auswertung der verfügbaren Literatur**
 - Die Zahl der in vivo Studien ist limitiert; mit einigen CNTs wurden Effekte beschrieben, ABER
 - Derzeit ist noch kein konsistenter Wirkmechanismus erkennbar
 - Inhalationsstudien sind für die Risikobewertung und die Ableitung von Arbeitsplatzgrenzwerten von zentraler Bedeutung
 - Die in der Literatur untersuchten Materialien sind nicht mit Baytubes® identisch und Unterschiede in der Zusammensetzung können zu deutlichen Unterschieden im toxikologischen Profil der entsprechenden Materialien führen

→ Einzelfallbetrachtung notwendig

→ Für Baytubes® ist ein Product Stewardship Program etabliert

Toxikologische Daten - Toxikologisches Prüfprogramm Baytubes®

- **Akute Toxizität, oral (OECD 423, Fütterung, in Nahrungsmittelpaste)**
 - LD50 rat: ≥ 5000 mg/kg; keine Vergiftungssymptome und keine Mortalität
- **Akute Toxizität, dermal (OECD 402, Testsubstanz angefeuchtet und feucht abgedeckt)**
 - LD50 rat: > 2.000 mg/kg; keine lokalen Effekte, keine Vergiftungssymptome und keine Mortalität
- **Hautreizung (OECD 404, Testsubstanz angefeuchtet)**
 - Nicht reizend (Kaninchen): keine Hauteffekte
- **Augenreizung (OECD 405, trockene Testsubstanz)**
 - Nicht reizend (Kaninchen): gerötete Konjunktiven bei 1/3 Tieren; reversibel innerhalb 72 Stunden, keine Vergiftungssymptome
- **Hautsensibilisierung (OECD 406, modifizierter Maximierungstest, Vehikel: Vaseline; erwärmt auf 37°C; maximale herstellbare Konzentration 23,8% für Induktion und Auslösung verwendet)**
 - Negativ (bei allen Tieren keine Hauteffekte)
- **Genotoxizität in vitro** (in deionisiertem Wasser; 30 min Ultraschallbad, 25°C, 47kHz; Unter den Testbedingungen Verschiebung der Agglomeratgröße von >100 μm auf 10 μm)
 - Keine chromosomenschädigende Wirkung in vitro (OECD 473)*
 - Keine genmutagene Wirkung in vitro (AMES-Test, OECD 471)*

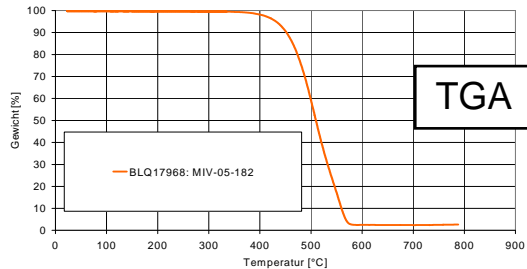
* Wirnitzer et al., Toxicology Letters 186, 160-165, 2009

Toxikologische Daten - Toxikologisches Prüfprogramm Baytubes®

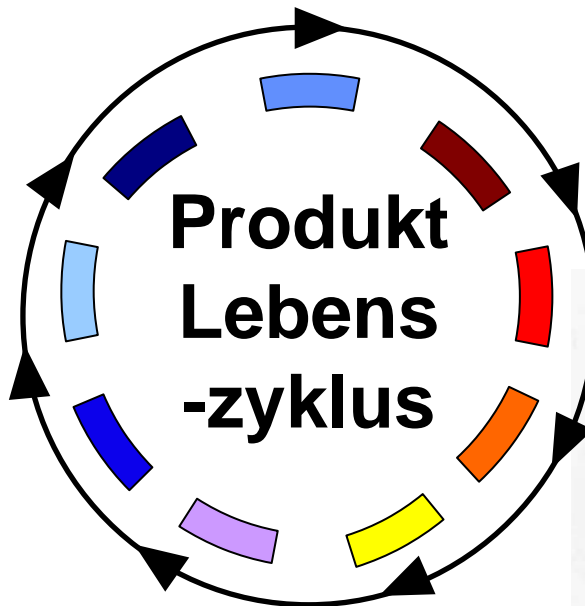
Schwerpunkt Inhalationsstudien => Vortrag Prof Pauluhn

Expositionsermittlung: Sichere Verwendung von Baytubes über den Lebenszyklus

- **Entsorgung:** z.B. geeignete Abfallbeseitigung; Baytubes wird bei > 600°C vollständig verbrannt



- **Verwendung**
z.B. Nanopartikel in Matrix fest eingebunden, dadurch keine relevante Exposition



- **Produktion:** z.B. geschlossenen System, automatische Abfüllung, Abgasverbrennung



Luftmessungen von Baytubes® bei der Kompoundierung < 0,5 µg/m³ (Nachweisgrenze)

- **Weiterverarbeitung**
z.B. angemessene Handhabung, Einsatz von technischen und persönlichen Schutzausrüstungen

Risikocharakterisierung und Risikobewertung

▪ **Toxikologisches Profil Baytubes®:**

- Geringe akute Toxizität, nicht reizend an Haut und Auge, keine Hautsensibilisierung, nicht genmutagen im Ames Test und nicht chromosomenschädigend in vitro
- Baytubes® gehören zur Gruppe der kurzen, dünnen und verknäulten MWCNTs, für die auf der Grundlage der verfügbaren Daten keine fasertypische Wirkung zu erwarten ist.
- Toxizität bei inhalativer Exposition ist umfassend untersucht und publiziert (=> Vortrag Prof. Pauluhn)
- Bayer Occupational Exposure Limit: OEL (8-hour TWA): 0.05 mg/m³

▪ **Exposition: keine relevante Exposition entlang des Lebenszyklus (Verwendung als Additiv in Polymeren)**

- Bei der Weiterverarbeitung an typischen Arbeitsplätzen Exposition gegenüber Baytubes® < 0,5 µg/m³ (< 0,0005 mg/m³; Nachweisgrenze; 1/100xOEL)

=> Die betrachtete Verwendung von Baytubes® ist unter Berücksichtigung aller verfügbarer Daten sicher

Ökotoxikologische Testung mit Baytubes®

- **Ökotoxikologisches Testprogramm für Baytubes®***
 - Akute Bakterientoxizität (OECD 209)
 - EC50 > 10,000 mg/l (activated sludge)
 - Akute Toxizität Fisch (OECD 203)
 - LC50 > 100 mg/l (Brachydanio rerio (Zebrafisch); 96 h)
 - Akute Toxizität Daphnie (OECD 202)
 - EC50 > 100 mg/l (Daphnia magna; 48 h)
 - Akute Toxizität Alge (OECD 201)
 - EC50 134 mg/l (Desmodesmus subspicatus (Grünalge); 72 h)
- **Expositionsermittlung**
 - Bei den geplanten Anwendungen (Baytubes eingebunden in Polymermatrix) wird die Exposition durch Abrieb als vernachlässigbar eingeschätzt¹
 - Forschungsaktivitäten laufen (z.B. CarboSafe in Inno.CNT²)
 - Erste Schätzungen³ deuten auf geringe “Predicted Environmental Concentrations”

=> Alle bisher durchgeführten Standardstudien (GLP; nach OECD Prüfrichtlinie) zeigen mit Baytubes keine relevanten adversen Effekte unter realistischen Expositionsbedingungen.

¹ Projekt TRACER (BMBF), Publikation in Vorbereitung

² Projekt CarboSafe (BMBF), www.inno-cnt.de

³ Müller, Nowack (2008) Environ. Sci. Technol. 42, 4447–4453

* untersucht bei Currenta

Zusammenfassung

- **Erfahrungen aus dem Product Stewardship Programm mit Baytubes®**
 - **Die verfügbaren toxikologischen und ökotoxikologischen Testmethoden sind prinzipiell anwendbar; für schwerlösliche Partikel sind Inhalationsstudien von besonderer Bedeutung**
 - **Störfaktoren aufgrund von spezifischen physiko-chemischen Interferenzen müssen insbesondere bei den in vitro Testmodellen berücksichtigt werden**
 - **Die Testsubstanzcharakterisierung vor und während der Testung ist wichtig**
 - **Die Testergebnisse geben keinen Hinweis auf eine spezifische “Nano”-Toxizität, die durch verfügbare Testmethoden nicht abgedeckt wäre**
- **Diese Einschätzung deckt sich mit Bewertungen der Working Party of Manufactured Nanomaterials ²**

1 BAuA, BfR, UBA (2007) Nanotechnology: Health and environmental risks of nanomaterials – Research Strategy – http://www.baua.de/nn_47716/de/Themen-von-A-Z/Gefahrstoffe/Nanotechnologie/pdf/Research-strategy.pdf?

2: Working Party on Manufactured Nanomaterials (2009) Preliminary Review of OECD Test Guidelines for their Applicability to Manufactures Nanomaterials. Document No. 15, OECD 2009; ENV/JM/MONO(2009)21