

SUMMARY

Organotin compounds used in PVC production as heat stabilisers are registered in the high tonnage bands under Regulation (EC) No 1907/2006 (REACH). Not for all of them are sufficient toxicological data, especially higher tier studies, available. Nevertheless, under REACH registration, using the read-across approach is the key to avoiding unnecessary animal testing. It has been assumed previously that dioctyltin bis(2-ethylhexyl mercaptoacetate) (DOTE) and dibutyltin maleate (DBTM) form corresponding dichloride compounds under simulated gastric conditions (dioctyltin dichloride (DOTC) or dibutyltin dichloride (DBTC), respectively) and thus it was hypothesised that their toxicological behaviour is similar to the chloride forms. DOTC and DBTC are known reproductive toxicants.

The aim of the present investigations is to further characterise the metabolites of DOTE and DBTM formed in a gastric environment in order to substantiate or challenge the application of a read-across approach to DOTC and DBTC as proposed under REACH.

NMR based investigations of DOTE

Nuclear magnetic resonance (NMR) based investigations of DOTE have shown that DOTC is not formed in a simulated gastric environment (0.1 mol/L of aqueous HCl, 72 h, 40 °C). Instead, DOTE was partially converted to dioctyltin (2-ethylhexyl mercaptoacetate) monochloride (DOTECl). ¹¹⁹Sn-NMR of the starting material revealed that the starting material contains 30% of monoctyltin tris(2-ethylhexyl mercaptoacetate) (MOTE) besides DOTE. Thus, the corresponding monochloride (MOTECl) was detected by NMR as well. The conversion of MOTECI to MOTECl is significantly slower than the conversion of DOTE to DOTECl: only 36% of MOTECI was converted whereas 79% of DOTE was converted to the corresponding monochloride during the reaction.

Three experiments with different extraction solvents (hexane, dichloromethane) or deuterated NMR solvents (dichloromethane-D₂, toluene-D₈) were conducted in order to investigate the influence of the organic extracts on the composition of the formed reaction products depending on their different extracting properties. Similar composition ratios of DOTE/MOTE/DOTECl/MOTECl were detected in all three experiments. Consequently, the influence of the organic extract on the composition of the formed reaction products when using different extraction solvents for NMR analysis is negligible.

The present study substantiates previous findings of a recent publication, namely that DOTE forms the corresponding monochloride (DOTECl) under simulated gastric conditions (0.1 mol/L of aqueous HCl, 72 h, 40 °C) [COSTLOW ET AL. 2017]. DOTC as a potential reaction product was not detected by NMR in any experiment. However, there are still uncertainties regarding a read-across approach applied to DOTC, since the testing conditions do not reflect the further metabolism under in vivo conditions.

NMR based investigations of DBTM

NMR based investigations of DBTM have shown that DBTM was quantitatively converted to bis(dibutylchlorotin) oxide dimer (DBDTC dimer) in a simulated gastric environment (0.1 mol/L of aqueous HCl, 72 h, 40 °C) using dichloromethane- D_2 as extraction solvent. Other potential metabolites such as DBTC or dibutyltin oxide (DBTO) were not detected. Thus, the [SCHILT ET AL. 2004] study, stating that DBTM was fully converted to DBTC and the corresponding ligand maleic acid (MA) after a 30-minute reaction time, could not be confirmed under the investigated conditions.

It has been demonstrated previously that upon hydrolysis of category members such as DBTC and DBTO, DBDTC distannoxane dimer is formed under similar conditions [P. MUNSCHI ET AL. 2010 and Y. PATEL ET AL. 2009].

Thus, it can be speculated via which intermediates (DBTO, DBTC to name only two possible pathways) the DBDTC dimer is formed during the hydrolysis of DBTM. Additional hydrolysis experiments of DBTM, DBTC and DBTO in a time-resolved fashion could help to reveal this information but are beyond the scope of this study.

In order to ensure that smaller amounts of DBTC are detectable, a spiking experiment of the DBDTC dimer with DBTC was performed which revealed that the limit of detection (LOD) of the ^{119}Sn -NMR analysis can be estimated at 3 mol%.

The present study demonstrates that DBTM forms hydrolysis products which are identical to DBTC or DBTO and therefore gives important information on the hydrolysis behaviour of DBTM.

Furthermore, it was demonstrated that DBTM, which belongs to the class of dialkyltin compounds carrying carboxyl ligands, does not form metabolites which are similar to dialkyltin compounds carrying thiol ligands such as MOTE or DOTE under simulated gastric conditions.

ZUSAMMENFASSUNG

Organozinnverbindungen, die bei der PVC-Herstellung als Hitzestabilisatoren verwendet werden, sind in hochtonnagigen Mengenbereichen gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 (REACH) registriert. Nicht für alle von ihnen liegen ausreichende toxikologische Daten vor, insbesondere mehrstufige Studien fehlen. Ein Schlüsselansatz bei der REACH-Registrierung ist jedoch die Anwendung des „read-across“ (Analogiekonzepts), um unnötige Tierversuche zu vermeiden. Bisher wurde angenommen, dass DOTE und DBTM unter gastrischen Bedingungen die dementsprechenden Dichloridverbindungen (DOTC bzw. DBTC) bilden, und somit das toxikologische Verhalten der Chloridspezies ähnlich ist. DOTC und DBTC sind bekannte reproduktionstoxische Substanzen.

Ziel der vorliegenden Studie ist es, die unter gastrischen Bedingungen gebildeten Metaboliten von DOTE und DBTM weiter zu charakterisieren, um die vorgeschlagenen „read across“ zu DOTC und DBTC unter REACH zu belegen oder in Frage zu stellen.

NMR-basierte Untersuchungen von DOTE

Kernspinresonanz (NMR) basierte Untersuchungen von Dioctylzinn bis(2-ethylhexylmercaptoacetat) (DOTE) haben gezeigt, dass Dioctylzinn dichlorid (DOTC) unter simulierten gastrischen Bedingungen (0,1 mol/L wässrige HCl, 72 h, 40 h) nicht gebildet wird. Stattdessen wurde DOTE teilweise in Octylzinn (2-ethylhexylmercaptoacetat) monochlorid (DOTECl) umgewandelt. Die Messung des Edukts mittels ^{119}Sn -NMR ergab, dass das Ausgangsmaterial neben DOTE auch 30 % monoctylzinn tris(2-ethylhexylmercaptoacetat) (MOTE) enthielt. Somit wurde das entsprechende Monochlorid Reaktionsprodukt (MOTECl) auch durch NMR nachgewiesen. Die Reaktion von MOTE zu MOTECl verläuft wesentlich langsamer als die Umwandlung von DOTE zu DOTECl: Nur 36 % von MOTE wurden umgewandelt, während 79 % von DOTE in der Reaktion in das entsprechende Monochlorid konvertiert wurden.

Drei Versuche mit unterschiedlichen Extraktionslösungsmitteln (Hexan, Dichlormethan) oder deuterierten NMR-Lösungsmitteln (Dichlormethan-D₂, Toluol-D₈) wurden durchgeführt, um den Einfluss auf die Zusammensetzung der organischen Extrakte aufgrund ihrer unterschiedlichen Extraktionseigenschaften zu untersuchen. Ähnliche Zusammensetzungsverhältnisse von DOTE/MOTE/DOTECl/MOTECl wurden in allen drei Experimenten beobachtet. Folglich ist der Einfluss auf die Zusammensetzung des organischen Extrakts durch Verwendung verschiedener Lösungsmittel zur Extraktion für die NMR-Analytik vernachlässigbar.

Die vorliegende Studie untermauert frühere Ergebnisse einer kürzlich erschienenen Veröffentlichung, wonach DOTE unter gastrischen Bedingungen (0,1 mol/L wässrige HCl, 72 h, 40 °C) das entsprechende Monochlorid (DOTECl) bildet [COSTLOW ET AL. 2017]. DOTC als potentielles Reaktionsprodukt wurde in keinem der Experimente mittels NMR nachgewiesen. Es bestehen jedoch immer noch Unsicherheiten hinsichtlich eines „read across“ auf DOTC, da die Testbedingungen keinen weiteren Metabolismus unter in-vivo-Bedingungen widerspiegeln.