

The MAK Collection for Occupational Health and Safety

4-Nitrobenzoesäure

MAK-Begründung

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: 4-Nitrobenzoesäure; MAK-Wert; maximale Arbeitsplatzkonzentration; Kanzerogenität; olfaktorisches Epithel; Klitorisdrüse; Entwicklungstoxizität; Genotoxizität; Reizwirkung; Spitzenbegrenzung

Citation Note: Hartwig A, MAK Commission. 4-Nitrobenzoesäure. MAK Begründung. MAK Collect Occup Health Saf [Original-Ausgabe. Weinheim: Wiley-VCH; 2017 Mai;2(2):697-728]. Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2026. https://doi.org/10.34865/mb6223d0063_w

Neuveröffentlichung (Online): 07 Aug 2026

Vormals erschienen bei Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb6223d0063>

Manuskript abgeschlossen: 24 Feb 2016

Erstveröffentlichung (Online): 31 Mai 2017

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-Nitrobenzoic acid

[4-Nitrobenzoesäure]

MAK Value Documentation in German language

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

DOI: 10.1002/3527600418.mb6223d0063

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has evaluated 4-nitrobenzoic acid [62-23-7]. Available study reports and publications are described in detail. 4-Nitrobenzoic acid caused a statistically significantly increased incidence of adenomas and of the sum of adenomas and carcinomas of the clitoris gland in female F344 rats in an oral, 2-year carcinogenicity study at doses of 60 mg/kg body weight and day and above. The incidence of adenomas and the sum of adenomas and carcinomas was above the range limit of the historical controls of the contract laboratory. As 4-nitrobenzoic acid is a metabolite of 4-nitrotoluene, which also induced tumors of the clitoral gland as well as tumors in other organs, 4-nitrobenzoic acid is classified in analogy to 4-nitrotoluene in Carcinogen Category 3B. 4-Nitrobenzoic acid has a weak mutagenic potency in vitro. It did not induce micronuclei in vivo or in vitro. There are no suitable data in humans to derive a MAK value. In rats, a 15-month study and a 2-year study resulted in a NOAEL of 60 mg/kg and day for delayed body weight gain in the females. Toxicokinetic scaling results in a concentration of 147 mg/m³ in workplace air. The LOAEC for local effects on the olfactory epithelium of rats in a 14-day study is 150 mg/m³, the NOAEC 20 mg/m³. Since 2014, the Commission uses an empirical approach to set MAK values for substances with critical effects on the upper respiratory tract or the eyes. Based on this approach, a MAK value of 1 mg/m³ for the inhalable fraction was derived. The dose of 60 mg/kg body weight and day which resulted in increased incidences of clitoral gland tumors corresponds to a concentration which is about 150 times higher than the MAK value. In view of the evaluation of carcinogenicity, this margin is considered to be sufficiently large. As local effects are critical, the substance is assigned to Peak Limitation Category I. The difference between NOAEC and LOAEC is large, thus an excursion factor of 2 has been established. 4-Nitrobenzoic acid is assigned to Pregnancy Risk Group D as the available data for prenatal toxicity are insufficient. Skin absorption does not contribute significantly to systemic toxicity and 4-nitrobenzoic acid is not expected to lead to contact sensitization.

Keywords

4-Nitrobenzoesäure; 4-Nitrobenzoic acid; 1-Carboxy-4-nitrobenzol; p-Nitrobenzoesäure; 4-Nitrobenzol-1-carbonsäure; Wirkungsmechanismus; Toxikokinetik; Metabolismus; (sub)akute Toxizität; (sub)chronische Toxizität; Reizwirkung; Reproduktionstoxizität; Fertilität; Entwicklungstoxizität; Genotoxizität; Kanzerogenität; Spitzenbegrenzung; fruchtschädigende Wirkung; krebserzeugende Wirkung; keimzellmutagene Wirkung; Hautresorption; sensibilisierende Wirkung; Arbeitsstoff; maximale Arbeitsplatzkonzentration; MAK-Wert; Toxizität; Gefahrstoff

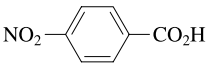
Author Information

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)

4-Nitrobenzoesäure

MAK-Wert (2016)	1 mg/m³ E
Spitzenbegrenzung (2016)	Kategorie I, Überschreitungsfaktor 2
Hautresorption	–
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung (2016)	Kategorie 3 B
Fruchtschädigende Wirkung (2016)	Gruppe D
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert	–
Synonyma	1-Carboxy-4-nitrobenzol p-Nitrobenzoesäure 4-Nitrobenzol-1-carbonsäure
Chemische Bezeichnung	4-Nitrobenzoesäure
CAS-Nr.	62-23-7
Formel	 NO_2
	$\text{C}_7\text{H}_5\text{NO}_4$
Molmasse	167,12 g/mol
Schmelzpunkt	238–240°C (ECHA 2015, 2016) 242°C (SRC 2015)
Dampfdruck	$3,3 \times 10^{-6}$ hPa (NLM 2015)
log K_{OW}	1,89 (ECHA 2015; NLM 2015)
pKa	3,44 (NLM 2015)
pH-Wert bei 20°C	3,1 (ECHA 2016)
Löslichkeit	200 mg/l (NLM 2015); 379 mg/l Wasser, pH-Wert 3,3 (ECHA 2015); 420 mg/l (ECHA 2016)

Stabilität	k. A.
Herstellung	Oxidation von 4-Nitrotoluol mit reinem Sauerstoff od. Oxidation mit 15% Salpetersäure bei 175°C (NLM 2015); Nitrierung u. anschließende Oxidation von Polystyrol (NLM 2015)
Reinheit	k. A.
Verunreinigungen	k. A.
Verwendung	organische Synthese; Herstellung von Intermediaten, Reagenz für Alkaloide, Herstellung von Pestiziden, Farbstoffen, Sprengstoffen, industriellen Lösemitteln (NTP 1994)

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

4-Nitrobenzoesäure ist bei Kaninchen nicht hautreizend, aber am Auge stark reizend.

In einer zweiwöchigen Inhalationsstudie an Ratten sind ab 150 mg 4-Nitrobenzoesäure/m³ minimale bis leichte Nekrosen im dorsalen Riechepithel erkennbar.

Bei Ratten wird 4-Nitrobenzoesäure nach oraler Gabe vollständig aufgenommen und bis zu 63% der verabreichten Dosis als freie 4-Nitrobenzoesäure hauptsächlich mit dem Urin ausgeschieden. Nach oraler Aufnahme beträgt bei Weißbüscheläffchen (Marmosets) die Halbwertszeit im Blut etwa eine Stunde. Der Metabolismus verläuft über die Reduktion der Nitrogruppe zur 4-Hydroxyaminobenzenoesäure und zur 4-Aminobenzenoesäure und ihren Konjugaten. Die Reduktion erfolgt bei oraler Gabe hauptsächlich durch Darmbakterien.

Nach oraler Aufnahme zeigt sich bei weiblichen Ratten eine verzögerte Körpergewichtsentwicklung bei 125 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag in einer 15-Monate- und einer Zwei-Jahre-Studie. In einer 13-Wochen-Untersuchung kommt es bei Ratten ab 160 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag zu Stauung und Hämosiderinablagerung in der Milz. Hämatologische Veränderungen, wie eine erhöhte Retikulozytenzahl, eine Verringerung der Erythrozytenzahl sowie eine Abnahme von Hämoglobingehalt und Hämatokritwert ergeben sich ab 210 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag in einer 15-Monate-Studie.

4-Nitrobenzoesäure ist in Bakterien mutagen und nur in CHO-Zellen klastogen. Bei Chinesischen Hamstern ist 4-Nitrobenzoesäure nicht klastogen in Knochenmarkszellen, und bei Mäusen findet sich keine vermehrte Häufigkeit von Mikrokerni in Knochenmarkszellen oder peripheren Erythrozyten.

4-Nitrobenzoesäure verursacht in einer oralen Zwei-Jahre-Kanzerogenitätsstudie nur in einer Spezies ab 60 mg/kg KG und Tag eine signifikant erhöhte Inzidenz an Adenomen in der Klitorisdrüse von weiblichen F344-Ratten.

Bei Ratten kommt es in einer 13-Wochen-Studie bei 660 mg/kg KG und Tag zu Hodenschädigungen. Bei Mäusen sind nach Exposition vor, während und nach einer kontinuierlichen Verpaarung der F0- und anschließender Exposition der F1-Generation ab ca. 1100 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag die Zeitspanne bis zum Eintreten der Trächtigkeit verlängert und die Anzahl der Nachkommen pro Wurf bzw. die Würfe pro Paar verringert.

Zur sensibilisierenden Wirkung von 4-Nitrobenzoesäure liegen keine klinischen Befunde oder tierexperimentellen Untersuchungen vor.

2 Wirkungsmechanismus

Eine typische Eigenschaft der Nitroaromaten ist die Schädigung des hämatologischen Systems, für das die Methämoglobinbildung charakteristisch ist (Begründung „Monozyklische aromatische Amine und Nitroverbindungen“ 2003). Infolge der Reduktion der Nitrogruppe kommt es zur Oxidation von Hämoglobin und damit zur Methämoglobinbildung. Die 4-Nitrobenzoesäure erzeugte nach wiederholter oraler Aufnahme in den 9- und 14-Tage- bzw. 13-Wochen- und 15-Monate-Studien an Ratten eine erhöhte Methämoglobinbildung (NTP 1994). Auch der für diese Reaktion verantwortliche Metabolit, die 4-Hydroxylaminobenzoessäure, wurde in Leberhomogenaten aus Wistar-Ratten identifiziert (Kato et al. 1969). In stark mit Methämoglobin belasteten Erythrozyten wird redoxaktives Eisen freigesetzt, das über die Fenton- und Haber-Weiss-Reaktionen als Katalysator für Autoxidationsreaktionen zu einer Bildung von Sauerstoffradikalen führt. Folge eines gestörten Redoxgleichgewichts in den Erythrozyten sind möglicherweise Membranveränderungen durch Lipidperoxidation, eine Störung der reversiblen Wechselwirkungen zwischen den Thiolgruppen des Hämoglobins und des Glutathions sowie die Bindung des Hämoglobins an die Membran der Erythrozyten. Erythrozyten, deren Elastizität und Deformierbarkeit reduziert sind, können den Milzsinus der roten Pulpa nur schlecht oder gar nicht passieren. In den Milzgefäßen sammeln sich Zelltrümmer an, in deren Folge Schwellungen, Entzündungsreaktionen, hyperplastische und fibrotische Veränderungen des Milzstromas entstehen (Begründung „3-Nitrobenzoesäure“ 2015). Veränderungen in der Milz, wie Stauung und Hämosiderinablagerung infolge eines Erythrozytenabbaus, wurden auch durch 4-Nitrobenzoesäure verursacht (siehe Abschnitt 5.2.2).

Die für die Regeneration des funktionstüchtigen Häms aus Methämoglobin verantwortliche NADH-abhängige Methämoglobin-Reduktase zeigt deutliche Speziesunterschiede. Mäuse besitzen einen höheren Reduktasespiegel als Ratten. Daher reagieren Mäuse wesentlich unempfindlicher als Ratten auf Substanzen, die infolge der Methämoglobinbildung zu hämatologischen Veränderungen und Milzschädigungen führen (NTP 1994; Srivastava et al. 2002).

3 Toxikokinetik und Metabolismus

3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

Aufnahme

Nach oraler Verabreichung einer am Säure-C-Atom mit ^{14}C markierten 4-Nitrobenzoesäure (0,4 mmol, 67 mg/kg KG) fand sich bei Weißbüscheläffchen (Marmosets, *Callicebus jacchus*) die höchste Blutkonzentration nach 30 bis 40 Minuten (Kuzniar und James 1981).

Für eine gesättigte wässrige Lösung berechnen sich mit den Modellen von Fiserova-Bergerova et al. (1990), Guy und Potts (1993) sowie Wilschut et al. (1995) Fluxe von 6,92; 0,66 bzw. 0,63 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ und Stunde. Unter der Annahme einer einstündigen Exposition von 2000 cm^2 Hautoberfläche würde dies Aufnahmemengen von 14; 1,3 bzw. 1,26 mg entsprechen.

Verteilung

Vier Stunden nach einer intraperitonealen Gabe von ^{14}C -4-Nitrobenzoesäure an Wistar-Ratten wurde die Substanz zu einer Zeit, in der bereits die Metaboliten im Urin auftraten auch in signifikanten Mengen in Blinddarm und Kolon nachgewiesen (Gardner und Renwick 1978).

Ausscheidung

Bei weiblichen 250 mg schweren Wistar-Ratten fanden sich nach einmaliger oraler oder intraperitonealer Verabreichung von 25 mg ^{14}C -4-Nitrobenzoesäure (100 mg/kg KG) innerhalb von 24 Stunden 94% bzw. 83% der Radioaktivität im Urin und 1% bis 8% in den Fäzes (Gardner und Renwick 1978). Nach oraler Verabreichung von 0,4 mmol ^{14}C -4-Nitrobenzoesäure/kg KG (67 mg/kg KG) an Weißbüscheläffchen betrug die Halbwertszeit im Blut ca. eine Stunde. Nach 48 Stunden fanden sich von der verabreichten Dosis 69% bis 91% im Urin und 2% bis 6% in den Fäzes. Nach intraperitonealer Gabe von 0,4 mmol/kg KG waren in einem Zeitraum von 48 Stunden von der verabreichten Dosis ca. 91% im Urin und 1,1% bis 4,5% in den Fäzes nachweisbar (Kuzniar und James 1981).

Zwei Stunden nach intraperitonealer Behandlung mit 200 mg 4-Nitrobenzoesäure wurden bei weiblichen Wistar-Ratten durchschnittlich 298 μg 4-Aminobenzoessäure pro Stunde im Urin nachgewiesen. Ethanol verstärkte den 4-Nitrobenzoesäure-Metabolismus (Tani und Kourounakis 1993).

Nach intraperitonealer Applikation von am Säure-C-Atom mit ^{14}C markierter 4-Nitrobenzoesäure (100 mg/kg KG) waren bei weibliche Frettchen nach 24 Stunden ca. 74% der verabreichten Dosis mit dem Urin ausgeschieden (Idle et al. 1978).

3.2 Metabolismus

In vitro

In In-vitro-Untersuchungen mit Homogenaten aus Rattenleber und -darmwand bzw. mit dem Inhalt von Blinddarm und Kolon von Ratten wurde eine Reduktion an der Nitrogruppe der 4-Nitrobenzoesäure nachgewiesen (Gardner und Renwick 1978; Peters und Fouts 1968) und als Metabolit die 4-Hydroxyaminobenzoessäure identifiziert (Kato et al. 1969). In mikrosomalen Präparationen von unterschiedlichen Kaninchengewebe war die Nitroreduktion von 4-Nitrobenzoesäure in der Leber am höchsten, gefolgt von Nierenrinde und Blase (Zenser et al. 1981). Unter verschiedenen Kaninchenrassen ergab sich der höchste Wert bei Neuseeland-Kaninchen (Cram et al. 1965). Bei Mikrosomen aus der Leber von Swiss-Mäusen wurde für die Reduktion von 4-Nitrobenzoesäure zu 4-Aminobenzoessäure eine Geschwindigkeit von 0,03 bis 0,04 $\mu\text{mol}/(\text{mg Protein} \times \text{Minute})$ angegeben (ECB 2000). Bei ähnlichen Untersuchungen mit Mikrosomen aus der Leber von Sprague-Dawley-Ratten betrug die Reduktionsgeschwindigkeit 0,151 $\text{nmol}/(\text{mg Protein} \times \text{Minute})$ (Norred et al. 1975). Sie war bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten höher als bei weiblichen und während der Trächtigkeit am geringsten (ECB 2000; Kato et al. 1970). In einer vergleichenden Untersuchung ergaben sich Reduktaseaktivitäten bei Ratten, Meerschweinchen und Mäusen von 2,72; 2,08 bzw. 2,04 $\mu\text{mol}/(\text{g Protein} \times \text{Stunde})$ (Adamson et al. 1965).

In den mikrosomalen Fraktionen von Leber, Darm und Nieren von acht bis 26 Wochen alten menschlichen Feten waren die Enzymaktivitäten des 4-Nitrobenzoesäure-Metabolismus in Leber- und Darmfraktionen nachweisbar, jedoch nicht in der der Nieren. Die Enzyme scheinen zur selben Klasse von NADPH_2 -abhängigen multifunktionellen Oxidoreduktasen zu gehören, die auch bei erwachsenen Menschen und Tieren bekannt sind (Pelkonen et al. 1971). Die Fähigkeit zur Metabolisierung der 4-Nitrobenzoesäure bzw. zur Reduktion der Nitrogruppe war bereits im Lebergewebe des ca. acht Wochen alten und damit jüngsten, untersuchten Fetus mit einem Gewicht von 6 bis 10 g vorhanden. Die Metabolisierungsaktivität stieg mit der Größe der Feten an und blieb dann ab einem Körpergewicht von 100 g und einem Alter von ca. 13 Wochen konstant bei etwa 0,05 bis 0,08 $\mu\text{mol}/\text{g Gewebe und Stunde}$ (Pelkonen 1973).

In *Salmonella typhimurium* TA98 konnte hinsichtlich der Reduktion von 4-Nitrobenzoesäure eine Nitroreduktase-Aktivität von 255 $\text{pmol}/(\text{mg Protein} \times \text{Minute})$ gemessen werden, während sie in CHO-Zellen nicht nachweisbar war (ECB 2000).

In einer Mikrosomenfraktion der Leber von Wistar-Ratten traten als 4-Nitrobenzoesäure-Metaboliten 4-Hydroxyaminobenzoessäure und 4-Aminobenzoessäure auf (Kato et al. 1969).

In vivo

In einer Untersuchung an Wistar-Ratten war aus Urinalysen eine Metabolisierung der 4-Nitrobenzoesäure zu 4-Aminobenzoessäure zu 25% der verabreichten Dosis ersichtlich (Wheeler et al. 1975 a).

Untersuchungen des Urins von weiblichen Wistar-Ratten ergaben nach einmaliger oraler oder intraperitonealer Verabreichung von ^{14}C -Säure-markierter 4-Nitrobenzoesäure, dass 2% bzw. 1% zu freier 4-Aminobenzoessäure, 20% bzw. 17% zu einer konjugierten Aminobenzoessäure und ca. 25% zu anderen, nicht weiter aufgeführten Metaboliten metabolisiert worden waren. Der Anteil der unveränderten 4-Nitrobenzoesäure im Urin betrug 55% bzw. 63% (Gardner und Renwick 1978).

Bei Weißbüscheläffchen wurden 48 Stunden nach oraler Gabe von 4-Nitrobenzoesäure von der im Urin gefundenen Menge 22,6 bis 61,2% als 4-Nitrohippursäure, 4,6 bis 21,9% als 4-Aminobenzoessäure und 6,2 bis 24,4% als 4-Acetamidobenzoessäure und 27,4 bis 51,1% als unveränderte Substanz ausgeschieden. Die reduktive Metabolisierung konnte durch Vorbehandlung mit Antibiotika nach oraler oder intraperitonealer Verabreichung von 4-Nitrobenzoesäure durchschnittlich um 81 bzw. 73% gehemmt werden. Das zeigt, dass nach oraler Aufnahme eine Reduktion durch Darmbakterien stattfindet (Kuzniar und James 1981).

Die Metabolisierung von 4-Nitrobenzoesäure/kg KG wurde bei weiblichen Frettchen nach intraperitonealer Applikation von am Säure-C-Atom mit ^{14}C markierter 4-Nitrobenzoesäure/kg KG anhand der Ausscheidungsprodukte im Urin untersucht. Mit einer Dünnschichtchromatographie waren 4% als unveränderte Substanz, 38% als Glycin- und 29% als Glucuronsäure-Konjugate identifizierbar. Als Glycinkonjugate traten hauptsächlich 4-Nitrohippursäure (52%) und in geringem Ausmaß 4-Acetamidobenzoessäure (3%) auf. Bei Ratten ergab sich ein anderes Metabolisierungsmuster. Ratten schieden 43% als unveränderte Säure aus. Auch Glycinkonjugate waren nachweisbar. Zudem reduzierten Ratten 52% der 4-Nitrobenzoesäure zu 4-Aminobenzoessäure, Frettchen nur 3% (Idle et al. 1978).

Zwei Stunden nach intraperitonealer Verabreichung von 200 mg 4-Nitrobenzoesäure wurden bei weiblichen Wistar-Ratten durchschnittlich 298 μg p-Aminobenzoessäure pro Stunde im Urin nachgewiesen, von diesen 255 μg pro Stunde in konjugierter Form. Im Plasma waren es 5 μg 4-Aminobenzoessäure pro Stunde und davon 3,7 μg pro Stunde als Konjugate. Durch Ethanol wurde der 4-Nitrobenzoesäure-Metabolismus verstärkt (Tani und Kourounakis 1993).

Fazit:

Bei Ratten wird 4-Nitrobenzoesäure nach oraler Gabe vollständig aufgenommen und bis zu 63% der verabreichten Dosis als freie 4-Nitrobenzoesäure hauptsächlich mit dem Urin ausgeschieden. Die Halbwertszeit bei Weißbüscheläffchen im Blut beträgt etwa eine Stunde. Der Metabolismus verläuft über die Reduktion der Nitrogruppe zur 4-Hydroxyaminobenzoessäure und zur 4-Aminobenzoessäure und ihren Konjugaten. Die Reduktion erfolgt bei oraler Gabe hauptsächlich durch Darmbakterien.

4 Erfahrungen beim Menschen

Bei Beschäftigten einer Arzneimittel und Sprengstoff produzierenden Fabrik wurde jeweils eine Urinprobe nach vier Wochen Urlaub (Kontrolle) und eine nach mehreren Arbeitstagen am Ende der Schicht (Exposition) auf mutagene Wirksamkeit

untersucht. Der Urin der sieben gegen bis zu 5,4 mg 4-Nitrobenzoesäure/m³ exponierten Probanden führte zu keiner signifikanten Erhöhung der Mutationshäufigkeit in *Salmonella typhimurium* TA98. Im Vergleich dazu verursachte der Urin von zwölf Trinitrotoluol-Exponierten vermehrt Mutationen in diesem Salmonellastamm (Ahlborg et al. 1985).

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

Nach oraler Aufnahme ergab sich bei Ratten innerhalb von 24 Stunden eine LD₅₀ von 1960 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG (Caujolle et al. 1966). Bei Mäusen lag die LD₅₀ zwischen 1470 mg/kg KG (Caujolle et al. 1966) und 3000 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG (Clariant GmbH 1955). Als Vergiftungssymptome traten erhöhte Reizbarkeit, Aggressivität, Krämpfe, teilweise Lähmungen der Hinterbeine, Erschöpfung, schnelle Atmung oder blutig-eitriger Tränenfluss auf. 4-Nitrobenzoesäure führte teilweise zur Infiltration von Erythrozyten in der Leber und zu myeloiden Metaplasien in der roten Pulpa der Milz (Caujolle et al. 1966).

5.1.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.1.4 Intraperitoneale und intravenöse Aufnahme

Innerhalb von 24 Stunden wurden nach intraperitonealer Applikation LD₅₀-Werte bei Ratten von 1210 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und bei Mäusen von 880 mg/kg KG angegeben (Caujolle et al. 1966).

Nach intravenöser Verabreichung betrug die sich innerhalb von 24 Stunden ergebende LD₅₀ bei Mäusen 770 mg/kg KG (Caujolle et al. 1966).

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

5.2.1 Inhalative Aufnahme

Je zehn männliche Ratten wurden zwei Wochen lang, sechs Stunden pro Tag, an fünf Tagen pro Woche ausschließlich durch die Nase gegen 0, 20 (8–31), 150 (90–260) oder 1000 (540–1500) mg 4-Nitrobenzoesäure/m³ exponiert. Der massenmediane aerodynamische Durchmesser (MMAD) der Partikel betrug bei 20 mg/m³ ca. 5 µm,

bei 150 mg/m³ ca. 9 µm und bei 1000 mg/m³ ca. 13 µm. Pro Konzentration hatten 75, 57 bzw. 45% der Partikel einen aerodynamischen Durchmesser unter 10 µm. Die Untersuchungen von jeweils fünf Tieren pro Gruppe fanden am Behandlungsende oder nach einer Erholungszeit von 14 Tagen statt. Nur direkt nach Expositionsende traten ab 150 mg 4-Nitrobenzoesäure/m³ im vorderen bis mittleren Bereich des dorsalen Riechepithels (k. w. A.) minimale bis leichte Nekrosen auf, die nach 14 Tagen abgeheilt waren. Die histopathologischen Untersuchungen der Lunge und anderer Organe sowie Blut- und Urinalanalysen ergaben keine auffälligen Befunde (DuPont 1989, 2012).

5.2.2 Orale Aufnahme

Die Studien zur Toxizität nach wiederholter oraler Verabreichung von 4-Nitrobenzoesäure sind in der Tabelle 1 aufgeführt.

In einer 13-Wochen-Studie an F344-Ratten stieg der Methämoglobin-Spiegel im Blut vor allem bei den männlichen Tieren ab 40 mg/kg KG und Tag dosisabhängig an. Jeweils nach 30 Tagen war die Methämoglobin-Konzentration in jeder Dosisgruppe am höchsten und nach 90 Tagen deutlich niedriger (siehe Tabelle 1). Ein maximaler Wert von 4,03% Methämoglobin (Kontrolle 0,49%) ergab sich bei 660 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag nach 30 Tagen, und von 3,33% nach 90 Tagen. Nach 15 Monaten lag der Methämoglobin-Spiegel bei der höchsten Dosis von 210 mg/kg KG und Tag bei 0,28% (NTP 1994).

Menschen reagieren empfindlicher auf Methämoglobin-Bildner als Ratten. Daher ist die Frage, ab welcher 4-Nitrobenzoesäure-Dosierung es beim Menschen durch die Methämoglobin-Bildung zu einer Beeinträchtigung des Sauerstofftransportes kommt. Der Mittelwert der Hintergrundbelastung an Methämoglobin im Blut der Allgemeinbevölkerung ist 0,78%. Bis zu 5% Methämoglobin gelten als unbedenklich (Drexler und Greim 2008). Da zur 4-Nitrobenzoesäure keine Daten vorliegen, wird als Vergleichssubstanz Anilin herangezogen. Beim Menschen ergab eine sechsstündige Exposition gegen 2 ml Anilin/m³ eine Zunahme des Methämoglobin-Spiegels von 0,7% auf 1,2%, und damit ein Inkrement von 0,5% (Käfferlein et al. 2014). Bei Ratten führten sechsstündige Expositionen gegen 90 mg Anilin/m³ (24 ml/m³) zu einem Methämoglobin-Inkrement von ca. 1,2% (Pauluhn 2004). Bei linearer Extrapolation wäre das Inkrement des Methämoglobin-Spiegels bei 24 ml/m³ beim Menschen 6%. Die Erhöhung des Methämoglobin-Spiegels beim Menschen nach Exposition gegen dieselbe Anilinkonzentration wäre also um das Fünffache höher als bei Ratten, wenn eine lineare Extrapolation unterstellt wird. Das maximale Inkrement der Methämoglobinkonzentration nach 4-Nitrobenzoesäure-Exposition bei männlichen Ratten betrug in der 13-Wochen-Studie bei 40 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag nach 30 Tagen 0,72%. Überträgt man den oben genannten Speziesunterschied auf 4-Nitrobenzoesäure, wäre das Inkrement beim Menschen fünfmal höher, also 3,6%. Zusammen mit dem Basiswert von ca. 0,78% wäre der resultierende Gesamt-Methämoglobin-Spiegel damit unter der kritischen Grenze von 5%. Die Methämoglobin-Konzentration bei männlichen Ratten betrug nach Verabreichung von 160 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag nach 30 Tagen 1,92%. Aufgrund der Stauung und einer Hämosiderinablagerung in der Milz ist diese Dosis als LOAEL anzusehen. Der entsprechende NOAEL ist 70 mg/kg KG und Tag. Ab 660 mg

4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag ergaben sich hämatologische Veränderungen wie bei einer regenerativen Anämie in Form einer erhöhten Retikulozytenzahl sowie einer Verringerung der Erythrozytenzahl und einer Abnahme von Hämoglobingehalt und Hämatokritwert. Damit liegt der NOAEL in der 13-Wochen-Studie bei 40 mg/kg KG und Tag. In der Zwei-Jahre-Studie wurde nur bei der Zwischenuntersuchung nach 15 Monaten der Methämoglobin-Wert bestimmt. Er war lediglich bei den männlichen Tieren der höchsten Dosisgruppe erhöht. Die Veränderungen in der Milz konnten in der Zwei-Jahre-Studie aufgrund der Akkumulation mononukleärer Leukämiezellen nicht bewertet werden. Diese Anreicherung der mononukleären Leukämiezellen in der Milz zeigte sich bei allen unbehandelten und behandelten Tieren (NTP 1994).

Bei Ratten ergab sich als weitere systemische Wirkung eine verzögerte Körpergewichtsentwicklung. Sie trat in der 15-Monate-Studie und der Zwei-Jahre-Studie bereits ab 125 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag bei weiblichen Tieren auf. Der NOAEL betrug für diesen Effekt 60 mg/kg KG und Tag (NTP 1994).

Damit zeigte sich insgesamt bei Ratten ein chronischer NOAEL von 60 mg/kg KG und Tag.

Nur bei 14-tägiger Verabreichung sehr hoher Dosierungen von 1000 mg/kg KG und Tag waren Schädigungen in der Schilddrüse bzw. von 2000 mg/kg KG und Tag Atrophien in Hoden, Ovarien, Thymus und Knochenmark sichtbar (NTP 1994).

In einer 13-Wochen-Studie verursachte 4-Nitrobenzoesäure eine verzögerte Körpergewichtsentwicklung bei den männlichen Mäusen ab 170 mg/kg KG und Tag und bei den weiblichen Tieren ab 670 mg/kg KG und Tag. Jedoch ergab sich in der Zwei-Jahre-Studie nach 13-wöchiger Exposition mit bis zu 300 mg/kg KG und Tag bei den männlichen Tieren keine Beeinflussung des Körpergewichts. Hämatologische Veränderungen bzw. Auffälligkeiten in der Milz traten bei den Mäusen nach chronischer Verabreichung von bis zu 905 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag nicht auf. Damit war bei Mäusen der chronische NOAEL für eine verzögerte Körpergewichtsentwicklung 300 mg/kg KG und Tag für männliche und 365 mg/kg KG und Tag für weibliche Tiere (NTP 1994).

Die weiteren Details dieser Studien finden sich in Tabelle 1.

Fazit:

Aus der 15-Monate-Studie und der Zwei-Jahre-Studie lassen sich bei Ratten ein NOAEL von 60 mg/kg KG und Tag für die verzögerte Körpergewichtsentwicklung bei weiblichen Tieren sowie ein NOAEL von 100 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag für einen erhöhten Methämoglobin-Spiegel und Milzveränderungen bei männlichen Tieren ableiten. Jedoch wurden bei weiblichen Ratten ab 60 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag eine signifikant erhöhte Inzidenz an Adenomen in der Klitorisdrüse induziert (siehe Abschnitt 5.7).

Bei Mäusen ergab sich aus der 15-Monate- und 2-Jahres-Studie ein NOAEL von 365 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag für die verzögerte Körpergewichtsentwicklung.

Tab. 1 Untersuchungen zur Toxizität nach wiederholter oraler Verabreichung von 4-Nitrobenzoesäure

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratten, 5, (k. w. A.)	9 Tage, 1000 mg/kg KG u. Tag, 7 × in 9 Tagen, Untersuchung: 2 Tage p. A.	1000 mg/kg KG; Blut: Erythrozytenzahl um 37% ↓, Hämoglobingehalt um 26% ↓, MetHb (n. a.); keine makroskopischen u. mikroskopischen Auffälligkeiten	ECB 2000
Ratten, F344, je 5 ♂ u. ♀	14 Tage, 0, 2500, 5000, 10 000, 20 000 od. 40 000 mg/kg Fütter (ca. 0, 300, 600, 1200, 2400 od. 4800 mg/kg KG u. Tag ^{a)})	ca. 300 mg/kg KG; Blut: ♀: MetHb 0,16% (Kontrolle: 0,09%); ca. 600 mg/kg KG; Blut: ♀: MetHb 0,35%, ♂: Retikulozytenzahl ↑; ab ca. 1200 mg/kg KG; KG: 13–18% ↓, Blut: ♀: MetHb 0,53%, Hämoglobingehalt, Hämatokritwert u. Erythrozytenzahl ↓, Retikulozytenzahl ↑, ♀ u. ♂: Anzahl kernhaltiger Erythrozyten ↑, Milz: rel. u. abs. Gew. ↑, Schilddrüse: ♂: Stauung, ♀: Follikel epithel-Hypertrophie; ab ca. 2400 mg/kg KG; KG: 32–40% ↓, Blut: ♂: Hämoglobingehalt, Hämatokritwert u. Erythrozytenzahl ↓, MetHb: ♀: 1,63%, ♂: 3,06% (Kontrolle 0,14%), Milz: ♀: Stauung, Schilddrüse: ♂: Follikel epithel-Hypertrophie, Hoden u. Ovarien: Atrophie, Thymus: ♂ u. ♀: Atrophie, Knochenmark: ♀: Atrophie; ca. 4800 mg/kg KG; KG: 48–60% ↓, Blut: MetHb: ♀: 1,27%, ♂: 2,48%, Schilddrüse: Follikel epithel-Hyperplasie	NTP 1994

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratten, F344, je 10 ♂ u. ♀	13 Wochen, 0, 630, 1250, 2500, 5000 od. 10000 mg/kg Futter (lt. Autoren: ♂: 0, 40, 70, 160, 310 od. 660 mg/kg KG u. Tag; ♀: 0, 40, 80, 170, 340 od. 680 mg/kg KG u. Tag)	ab 40 mg/kg KG: Blut: MetHb: ♂: Kontrolle 0,49%; max. nach 30 Tagen 1,21% (nach 90 Tagen 0,66%, Kontrollwert 0,79%), Nieren: ♂: geringfügige Akkumulation hyaliner Tropfchen (α2u-Globulin) in Epithelzellen der proximalen Tubuli (dosisabh.), NOAEL ; ab 160/170 mg/kg KG: ♂: KG 5% ↓, Blut: MetHb: ♂: max. nach 30 Tagen 1,92% (nach 90 Tagen 0,89%), Milz: ♂ u. ♀: Hämosiderinablagerung in roter Pulpa u. Makrophagen, ♂: Stauung, Nieren: Tubulusepithelzellen mit vergrößerten Zellkernen, ♂: Hämosiderinablagerung; ab 310/340 mg/kg KG: KG 9–11% ↓, Milz: rel. Gew. ↑, Blut: MetHb nicht gemessen; 660/680 mg/kg KG: KG 17–26% ↓, Blut: hämatologische Parameter wie bei regenerativer Anämie, MetHb max. nach 30 Tagen: ♂: 4,03% (Kontrollwert 0,49%), nach 90 Tagen 3,33% (Kontrollwert 0,79%), ♀: 3,01% (Kontrollwert 1,24%), nach 90 Tagen 2,08% (Kontrollwert 0,78%), Heinz-Körper u. Retikulozytenzahl ↑, Hämoglobingehalt, Hämatokritwert u. Erythrozytenzahl ↓, Milz: rel. u. abs. Gew. ↑, ♀: Pigmentierung, Hoden: Stauung in Samenkanälchen; Pigmentierung (Hämosiderin) ist Hinweis auf hämolytische Anämie; MetHb stieg mit Ausnahme der Werte nach 30 Tagen zeit- u. dosisabhängig an, erreichte max. 4%	NTP 1994; Williams et al. 2001
Ratten, F344, je 10 ♂ u. ♀	15 Monate, 0, 1250, 2500 od. 5000 mg/kg Futter (lt. Autoren: ♂: 0, 50, 100 od. 210 mg/kg KG u. Tag; ♀: ca. 0, 60, 125 od. 250 mg/kg KG u. Tag)	60 mg/kg KG: NOAEL ; 125 mg/kg KG: ♀: KG ca. 6% ↓; 210/250 mg/kg KG: Blut: ♀: Hämoglobingehalt, Hämatokritwert u. Erythrozytenzahl ↓ u. ♂: MetHb 0,28% (Kontrollwert 0,22%), Milz: ♀: Gew. ↑ u. Hämosiderinakkumulation in Makrophagen, Nieren: ♂: dosisabh. Schweregrad von altersbedingten Nephropathien ↓; keine auffälligen Befunde bei histopathologischen Untersuchungen	NTP 1994; Williams et al. 2001

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratten, F344, je 50 ♂ u. ♀	2 Jahre, 0, 1250, 2500 od. 5000 mg/kg Futter (lt. Autoren: ♂: 0, 50, 100 od. 210 mg/kg KG u. Tag; ♀: 0, 60, 125 od. 250 mg/kg KG u. Tag)	50/60 mg/kg KG; ♀: NOAEL; 100/125 mg/kg KG; ♀: KG ca. 8% ↓ (k. A. ob signifikant), ♂: NOAEL; 210/250 mg/kg KG; ♀: KG 10–16% ↓, Nieren: ♂: dosisabh. Schweregrad von altersbedingten Nephropathien ↓, Milz: histopathologische Beurteilung der Hämosiderinakkumulation in Makrophagen und extramedulläre Hämatopoese schwierig, da Milz bei allen ♂ u. vielen ♀ unbehandelten u. behandelten Tieren mit mononukleären Leukämiezellen angefüllt; kanzerogene Befunde bei ♀: siehe Abschnitt 5.7	NTP 1994; Williams et al. 2001
Mäuse, CD1, je 5 ♂ u. ♀	14 Tage, 0, 2500, 5000, 10 000, 20 000 od. 30 000 mg/kg Futter (lt. Autoren: ♂: 0, 410, 830, 1500, 3700 od. 5770 mg/kg KG u. Tag; ♀: 0, 520, 1130, 2060, 3990 od. 7060 mg/kg KG u. Tag ^{b)})	ab 1500/2060 mg/kg KG; KG-Entw. ↓; Dosisfindungsstudie für 33-Wochen-Fertilitätsstudie	NTP 1990
Mäuse, B6C3F1, je 5 ♂ u. ♀	14 Tage, 0, 2500, 5000, 10 000, 20 000 od. 40 000 mg/kg Futter (0, 500, 1000, 2000, 4000 od. 8000 mg/kg KG u. Tag ^{b)})	ab 1000 mg/kg KG; KG ♀: ↓; ab 2000 mg/kg KG; KG ♂: ↓, rel. Organgew. ♀: Leber ↑ u. Thymus ↓; ab 4000 mg/kg KG; Mortalität: 3 ♂ u. 2 ♀, Lethargie u. Ataxie, KG ♂: ↓, rel. Organgew. ♂: Leber ↑ u. Thymus ↓, Hoden: Degenerationen, Knochenmark: ♀: Blutungen u. Atrophie	NTP 1994
Mäuse, B6C3F1, je 10 ♂ u. ♀	13 Wochen, 0, 1250, 2500, 5000, 10 000 od. 20 000 mg/kg Futter (lt. Autoren: ♂: 0, 170, 330, 670, 1900 od. 4000 mg/ kg KG u. Tag; ♀: 0, 240, 460, 970, 2500 od. 4900 mg/kg KG)	ab 170 mg/kg KG; ♂ KG 7% ↓; 460 mg/kg KG; ♀: NOAEL; ab 970 mg/kg KG; ♀: KG 6% ↓; keine auffälligen Befunde bei Organgew. u. histopathologischen Untersuchungen	NTP 1994

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Mäuse, B6C3F1, je 10 ♂ u. ♀	15 Monate, 0, 1250, 2500 od. 5000 mg/kg Futter (lt. Autoren: ♂: 0, 150, 300 od. 675 mg/kg KG u. Tag; ♀: 0, 170, 365 od. 905 mg/kg KG u. Tag)	bis 675/905 mg/kg KG; keine auffälligen Befunde bei hämatologischen od. histopathologischen Untersuchungen	NTP 1994
Mäuse, B6C3F1, je 50 ♂ u. ♀	2 Jahre, 0, 1250, 2500 od. 5000 mg/kg Futter (lt. Autoren: ♂: 0, 150, 300 od. 675 mg/kg KG u. Tag; ♀: 0, 170, 365 od. 905 mg/kg KG u. Tag)	300/365 mg/kg KG; NOAEL; 675/905 mg/kg KG; ♀: KG 19% I; ♂: 10% I; keine auffälligen Befunde bei histopathologischen Untersuchungen	NTP 1994

^{a)} Umrechnungsfaktor 0,12 nach EFSA (2012); ^{b)} Umrechnungsfaktor 0,2 nach EFSA (2012);
Gew. = Gewicht; KG-Entw. = Körpergewichtsentwicklung; MetHb = Methämoglobin

5.2.3 Dermale Aufnahme

Je fünf Kaninchen wurden 21-mal innerhalb von 28 Tagen 0,5 ml einer 10%igen Lösung von 4-Nitrobenzoesäure in Sesamöl in die rasierte Flankenhaut einge-rieben. Zu Beginn und am Ende des Behandlungszeitraums erfolgten Blut- und Urinuntersuchungen. Nach einer Nachbeobachtungszeit von drei Tagen wurden histologische Untersuchungen der inneren Organe durchgeführt. Es fanden sich keine auffälligen Befunde an der Haut, beim Blutbild, bei der Urinanalyse oder bei der Untersuchung der inneren Organe (Clariant GmbH 1955). Da es sich bei der Applikation jedoch nur um eine 10%ige 4-Nitrobenzoesäure-Lösung handelte, kann diese Studie nicht zur Bewertung der dermalen Wirksamkeit herangezogen werden.

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

5.3.1 Haut

Bei je drei Kaninchen wurden 0,02 ml unverdünnte 4-Nitrobenzoesäure oder bis zu 1:1000 verdünnte Lösungen intrakutan in die rasierte Haut injiziert. Einschließlich der höchsten Verdünnung traten in allen Konzentrationsbereichen Rötungen auf, die zwei Tage lang bestehen blieben (Clariant GmbH 1955).

Je drei Neuseeland-Kaninchen erhielten semiokklusiv vier Stunden lang 500 mg 4-Nitrobenzoesäure (angeteigt mit 0,35 ml Polyethylenglykol 400) auf die rasierte Haut. Die Beurteilungen erfolgten 24, 48 und 72 Stunden nach der Entfernung der Substanz. Aus den Einzelbefunden nach 24, 48 und 72 Stunden ergaben die Mittelwerte aller Tiere jeweils 0 für die Erythem- und Schorfbildung und auch für die Ödembildung (Clariant GmbH 1989 a).

5.3.2 Auge

Die Einbringung von 0,5 ml einer 10%igen in Sesamöl gelösten 4-Nitrobenzoesäure bewirkte bei Kaninchen innerhalb der folgenden 24 Stunden eine leichte Rötung (Clariant GmbH 1955).

Je drei Neuseeland-Kaninchen erhielten eine 24-stündige Applikation von 100 mg 4-Nitrobenzoesäure in den Bindehautsack des linken Auges. An den Bindehäuten zeigten sich innerhalb einer Stunde und bis zu 72 Stunden danach deutliche Hyperämien bis diffuse kräftige Rötungen sowie sehr leichte bis eindeutige Schwellungen. Die Iris zweier Tiere war bis 24 Stunden p. A. und bei dem dritten Tier bis 72 Stunden nach der Behandlung gerötet. Bei einem Tier traten nach 24 bis 72 Stunden p. A. diffuse Hornhauttrübungen auf. Die Reizsymptome wurden von einem klaren farblosen bzw. weiß-schleimigem Ausfluss begleitet. Sieben Tage nach der Behandlung waren alle Reizerscheinungen verschwunden. Aus den Einzelbefunden nach 24, 48 und 72 Stunden ergaben die berechneten Mittelwerte für die Hornhauttrübung 0,3 (Einzelwerte: 0, 0 und 1), für die Iritis 0,4 (Einzelwerte: 0,3; 0,3 und 0,7), für die Bindehautrötung 2,4 (Einzelwerte: 2,7; 2,3 und 2,3) und für die Bindehautschwellung 1,4 (1,7; 1,0 und 1,7) (Clariant GmbH 1989 b). Aufgrund des Ausmaßes der Bindehaut-

rötung ist 4-Nitrobenzoesäure nach GHS als schwer augenreizend zu klassifizieren (ECHA 2016).

5.4 Allergene Wirkung

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.5 Reproduktionstoxizität

5.5.1 Fertilität

Detaillierte Angaben zu den vorliegenden Studien zur Fertilität finden sich in Tabelle 2.

Bei Ratten ergaben sich nach 13-wöchiger 4-Nitrobenzoesäure-Gabe mit dem Futter bei 660 mg/kg KG und Tag Stauungen in den Samenkanälchen (NTP 1994).

In einer Fütterungsstudie mit einer 33 Wochen langen Exposition vor, während und nach einer kontinuierlichen Verpaarung der F0- und Exposition der F1-Generation war bei CD1-Mäusen ab 1100 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag die Zeitspanne bis zum Eintreten der Trächtigkeit verlängert. Es kam zu einer verringerten Anzahl von Nachkommen pro Wurf oder Würfen pro Paar. Bei der Kreuzverpaarung von mit 1100 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag behandelten weiblichen Tieren mit unbehandelten männlichen Mäusen war die Anzahl der lebenden F2-Nachkommen um 40% verringert. In der F1-Generation verlängerte 4-Nitrobenzoesäure den Östruszyklus und schädigte die Spermatogonien (NTP 1990, 1994).

Fazit:

Bei F344-Ratten lässt sich aus einer 13-Wochen-Studie aufgrund von Hodenschädigungen ein NOAEL von 310 mg/kg KG und Tag ableiten. Der LOAEL lag bei 660 mg/kg KG und Tag (NTP 1994). Nach Exposition vor, während und nach einer kontinuierlichen Verpaarung der F0- und Exposition der F1-Generation waren bei CD1-Mäusen ab ca. 1100 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag die Zeitspanne bis zum Eintreten der Trächtigkeit verlängert und die Anzahl von Nachkommen pro Wurf bzw. die Würfe pro Paar verringert. Es ergab sich ein NOAEL von 500 mg/kg KG und Tag (NTP 1990, 1994).

5.5.2 Entwicklungstoxizität

Studien, die eine Bewertung der Entwicklungstoxizität ermöglichen, liegen nicht vor. In der oben beschriebenen Studie (siehe auch Tabelle 2) mit einer Exposition vor, während und nach einer kontinuierlichen Verpaarung mit anschließender Kreuzverpaarung der F1-Tiere kam es bei Mäusen ab ca. 1100 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag bei den F1-Feten zu einer verzögerten Entwicklung im Uterus und einer verringerten Anzahl von Nachkommen pro Wurf in der F1-Generation. Nach der Geburt waren bei F1- und F2-Nachkommen Körperlänge und -gewicht

verringert und später die Körpergewichtsentwicklung verlangsamt. In der F2-Generation starben 40% der Nachkommen (NTP 1990, 1994).

Fazit:

Bei Mäusen ergab sich aus einer Generationenstudie ein NOAEL für Fetotoxizität und maternale Toxizität von ca. 500 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag. Untersuchungen zur Teratogenität fehlen.

5.6 Genotoxizität

5.6.1 In vitro

In den vorliegenden Salmonella-Mutagenitätstests (siehe Tabelle 3) induzierte 4-Nitrobenzoesäure in einigen Studien mit *S. typhimurium* TA98, TA1538 und TA1537 vermehrt Leserastermutationen (Chiu et al. 1978; Clariant GmbH 1987; Shimizu und Yano 1986), mit *S. typhimurium* TA100 eine erhöhte Inzidenz von Basenaustauschmutationen (Clariant GmbH 1987; Kawai et al. 1987; Shimizu und Yano 1986; Sundvall et al. 1984; Zeiger et al. 1987) bzw. keine erhöhte Mutationshäufigkeit in *S. typhimurium* TA98, TA100, TA 1535, TA1537 oder TA1538 (Chiu et al. 1978; Dellarco und Pival 1989; Goldmann et al. 1977; Kawai et al. 1987; Shimizu und Yano 1986; Sundvall et al. 1984; Suzuki et al. 1983; Wheeler et al. 1975 b). Insgesamt war die mutagene Wirkung schwach ausgeprägt.

In einem UDS-Test mit primären Rattenhepatozyten wurde bei einer Konzentration von 1000 nmol 4-Nitrobenzoesäure/ml keine unplanmäßige DNA-Synthese induziert (Probst et al. 1981). In CHO-Zellen verursachte 4-Nitrobenzoesäure ohne metabolische Aktivierung erhöhte Inzidenzen an Schwesterchromatidaustauschen ab 498 µg/ml und an Chromosomenaberrationen ab 875 µg/ml (NTP 1994). In V79-Zellen war 4-Nitrobenzoesäure bis zu einer Konzentration von 2000 µg/ml nicht mutagen (Clariant GmbH 1988).

5.6.2 In vivo

Eine nach OECD-Prüfrichtlinie 475 mit Chinesischen Hamstern durchgeführte Untersuchung ergab nach einmaliger oraler Verabreichung von 5000 mg 4-Nitrobenzoesäure (in Sesamöl gelöst)/kg KG keine erhöhte Inzidenz an Chromosomenaberrationen in Knochenmarkszellen (Clariant GmbH 1990).

Es wurde eine nach OECD-Prüfrichtlinie 474 im Jahr 1990 durchgeführte Studie an NMRI-Mäusen beschrieben. In dieser induzierte die einmalig mit der Schlundsonde verabreichte Gabe von 1500 mg 4-Nitrobenzoesäure (in Sesamöl gelöst)/kg KG keine erhöhte Inzidenz an Mikronuklei in peripheren unreifen Erythrozyten (ECB 2000).

Nach 13-wöchiger Verabreichung eines 4-Nitrobenzoesäure enthaltenden Futters wurden bei weiblichen und männlichen B6C3F1-Mäusen bei bis zu ca. 680 mg/kg KG und Tag keine Mikronuklei in den peripheren Erythrozyten des Blutes nachgewiesen (NTP 1994).

Tab. 2 Wirkungen von 4-Nitrobenzoesäure auf die Fertilität

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratten, F344, je 5 ♂ u. ♀	14 Tage, 0, 2500, 5000, 10000, 20000 od. 40000 mg/kg Futter (ca. 0, 250, 500, 1000, 2000 od. 4000 mg/kg KG u. Tag)	ab ca. 2000 mg/kg KG: KG 32–40% ↓, <u>Hoden u. Ovarien:</u> Atrophie; weitere Befunde siehe Tabelle 1	NTP 1994
Ratten, F344, je 10 ♂ u. ♀	13 Wochen, 0, 630, 1250, 2500, 5000 od. 10000 mg/kg Futter (lt. Autoren: ♂: 0, 40, 70, 160, 310 od. 660 mg/kg KG u. Tag; ♀: 0, 40, 80, 170, 340 od. 680 mg/kg KG u. Tag)	70 mg/kg KG: NOAEL; ab 160 mg/kg KG: ♂: KG ↓; ab 340 mg/kg KG: ♀: KG ↓; 660 mg/kg KG: <u>Hoden:</u> Stauung in den Samenkanälchen; weitere Befunde siehe Tabelle 1	NTP 1994
Ratten, F344, je 10 ♂ u. ♀	15 Monate od. 2 Jahre, 0, 1250, 2500 od. 5000 mg/kg Futter (lt. Autoren: ♂: 0, 50, 100 od. 210 mg/kg KG u. Tag; ♀: 0, 60, 125 od. 250 mg/kg KG u. Tag)	ab 60 mg/kg KG: im 2. Jahr: KG-Entw. ♀ ↓; 210/250 mg/kg KG: keine auffälligen Befunde bei histopathologischen Untersuchungen der Gonaden; weitere Befunde siehe Tabelle 1	NTP 1994
Mäuse, B6C3F1, je 5 ♂ u. ♀	14 Tage, 0, 2500, 5000, 10000, 20000 od. 40000 mg/kg Futter (ca. 0, 500, 1000, 2000 od. 4000 mg/kg KG u. Tag)	ab ca. 1000 mg/kg KG: ♀: KG ↓; ab ca. 2000 mg/kg KG: ♂: KG ↓; ab ca. 4000 mg/kg KG: Mortalität: 3 ♂ u. 2 ♀, <u>Hoden:</u> Degenerationen; weitere Befunde siehe Tabelle 1	NTP 1994
Mäuse, B6C3F1, je 10 ♂ u. ♀	13 Wochen, 0, 1250, 2500, 5000, 10000 od. 20000 mg/kg Futter (lt. Autoren: ♂: 0, 170, 330, 670, 1900 od. 4000 mg/kg KG u. Tag; ♀: 0, 240, 460, 970, 2500 od. 4900 mg/kg KG)	ab 170/240 mg/kg KG: KG-Entw. ♂: ↓; ab 330/460 mg/kg KG: KG-Entw. ♀: ↓; keine auffälligen Befunde bei Gew. od. histopathologischer Untersuchung der Gonaden; weitere Befunde siehe Tabelle 1	NTP 1994

Tab. 2 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Mäuse, CD1, je 10 ♂ u. ♀	13 Wochen, 0, 1250, 2500, 5000, 10000 od. 20000 mg/kg Futter (lt. Autoren: ♂: 0, 170, 330, 670, 1900 od. 4000 mg/kg KG u. Tag; ♀: 0, 240, 460, 970, 2500 od. 4900 mg/kg KG)	ab 1900 mg/kg KG: KG-Entw. ♂: ↓; 4000 mg/kg KG: Gew. von Hoden u. Nebenhoden ↓, KG-Entw. ♀: ↓, Östruszyklus verlängert; keine auffälligen Befunde bei Spermienzahl	Chapin et al. 1987; NTP 1994
Mäuse, CD1, je 20 ♂ u. ♀	33 Wochen, F0: Exposition vor u. während kontinuierlicher Verpaarung, fortlaufend während aller 5 Würfe pro Elterntier (Dauer 18 Wochen); F1 jeweils bis zur Entwöhnung wie bei entsprechenden Muttertieren, Untersuchung F1 aus 1.-4. Wurf am 74. Lebenstag; Kreuzverpaarung: behandelte (nur 0- od. 1100-mg/kg-KG-F1) × unbehandelte F1 aus 5. Wurf, Exposition vor, während u. nach Kreuzverpaarung (Dauer 15 Wochen); Untersuchung F2 am 1. Lebenstag; Dosierung 0; 0,35; 0,75 od. 1,5% im Futter (lt. Autoren: 0, 500, 1100 od. 2400 mg/kg KG u. Tag)	Kontrolle: F0-Elterntiere: Würfe/Paar = 4,9; 500 mg/kg KG: NOAEL; ab 1100 mg/kg KG: F0-Elterntiere: ♀ nach dem Werfen: KG 7-9% ↓, Würfe/Paar = 4,5 → teils kein 4. u. 5. Wurf; Zeitspanne bis zum Werfen v.a. bei 3. u. 4. Wurf ↑; F1: Dauer der Entw. im Uterus ↑, Geburt: Länge 22% ↓, KG 17% ↓, KG-Entw. 10% ↓; Kreuzverpaarung behandelte F1-♀ × unbehandelte F1-♂: behandelte F1-♀: KG 9% ↓, rel. Nierengew. 9% ↓, Östruslänge 5,4 Tage (Kontrolle 4,9 Tage), substanzbedingte Hepatitis; F2: Anzahl lebender Nachkommen/Wurf ↓, lebende Nachkommen 40% ↓, KG 25% ↓; Kreuzverpaarung behandelte F1-♂ × unbehandelte F1-♀: keine auffälligen Befunde, Ausnahme: Anzahl veränderter Spermatogonien ↑; 2400 mg/kg KG: F0-Elterntiere: ♀ nach dem Werfen: KG 10-15% ↓, Würfe/Paar = 3,5, Zeitspanne bis zum Werfen nach 1. Wurf ↑; F1: Anzahl Nachkommen/Wurf ↓, Geburt: Länge 38% ↓, KG 18% ↓, KG-Entw. 30% ↓	Chapin et al. 1997; NTP 1990, 1997
Mäuse, B6C3F1, je 10 ♂ u. ♀	15 Monate od. 2 Jahre, 0, 1250, 2500 od. 5000 mg/kg Futter (lt. Autoren: ♂: 0, 150, 30 od. 675 mg/kg KG u. Tag; ♀: 0, 170, 365 od. 905 mg/kg KG u. Tag)	675/905 mg/kg KG: keine auffälligen Befunde bei Gew. od. histopathologischer Untersuchung; weitere Befunde siehe Tabelle 1	NTP 1994

Tab. 3 Untersuchungen zur Genotoxizität von 4-Nitrobenzoesäure in vitro

Stamm	Konzentration ^{a)}	wirksame Konz. ^{a)}	Zytotox. ^{a)}	Ergebnis	Literatur
				– m.A.	+ m.A.
Leserastermutationen in Salmonella typhimurium					
TA98	0,1–10 µmol/Platte	0,1 µM	1 µM	+ (bis 3,5-fach)	n. u.
TA98	0,3–10 µmol/Platte	–	–	–	–
TA98	k. A.	k. A.	k. A.	–	–
TA98	100	–	k. A.	–	–
TA98	250–5000	–	–	–	–
TA98	10–5000	100	5000	+ (dosisabh.: 2,7–4,5-fach)	n. u.
TA98	4–5000	k. A.	–	+	+
TA1537	10–5000	–	5000	–	n. u.
TA1537	4–5000	k. A.	–	+	+
TA1538	10–5000	500	5000	+ (dosisabh.: 2,9-fach)	n. u.
TA1538	4–5000	k. A.	500	+	+
TA1538	50	–	k. A.	–	–

Tab. 3 (Fortsetzung)

Stamm	Konzentration ^{a)}	wirksame Konz. ^{a)}	Zytotox. ^{a)}	Ergebnis	Literatur
Basenaustauschmutationen in <i>Salmonella typhimurium</i>					
TA100	0,3–10 µmol/Platte	3 µM	–	–	– (Standardtest) + Präinkubation mit FMN Dellarco und Prival 1989
TA100	100–200	100	k. A.	+ (1,35 Revertanten/µg)	– Sundvall et al. 1984
TA100	0,1–1 µmol/Platte	–	–	–	n. u. Chiu et al. 1978
TA100	10–5000	100	–	+ (dosisabh. bis 3-fach)	+ (dosisabh. bis 4-fach) Zeiger et al. 1987
TA100	100	–	k. A.	–	– Suzuki et al. 1983
TA100	10–5000	500	5000	+ (bis 4,4-fach)	n. u. Shimizu und Yano 1986
TA100	250–5000	500	–	+ (0,87 Revertanten/µg)	+ (0,59 Revertanten/µg) Kawai et al. 1987
TA100	4–5000	k. A.	500	+	+ Clariant GmbH 1987
TA1535	10–5000	–	5000	–	n. u. Shimizu und Yano 1986
TA1535	4–5000	k. A.	500	+	+ Clariant GmbH 1987
TA1535	k. A.	k. A.	k. A.	+ (0,26 Revertanten/µg)	n. u. Sundvall et al. 1984

Tab. 3 (Fortsetzung)

Stamm	Konzentration ^{a)}	wirksame Konz. ^{a)}	Zytotox. ^{a)}	Ergebnis – m.A.	+ m.A.	Literatur
Mutationen in E. coli						
E. coli WP2uvrA	4–5000	k. A.	500	+	+	Clariant GmbH 1987
SCE in CHO-Zellen						
	58–1750 µg/ml	498 µg/ml	1510 µg/ml	+	–	NTP 1994
DNA-Reparatur-Synthese (UDS) in Rattenhepatozyten						
	1 µmol/ml		k. A.	–	n. u.	Probst et al. 1981
CA in CHO-Zellen						
	440–1750 µg/ml	875 µg/ml	–	+	–	NTP 1994
Mutationen (HPRT) in V79-Zellen						
	500–2000 µg/ml	–	2000 µg/ml	–	–	Clariant GmbH 1988

^{a)} wenn nicht anders angegeben bezieht sich die Angabe auf µg/Platte;
 Abkürzungen: FMN: Flavinmononukleotid zur Nitroreduktion, – m.A. = ohne metabolische Aktivierung, + m.A. = mit metabolischer Aktivierung,
 n. u. = nicht untersucht

Fazit:

4-Nitrobenzoesäure verursachte in *Salmonella typhimurium* Leserastermutationen und Basenaustauschmutationen, in CHO-Zellen Schwesterchromatidaustausche und Chromosomenaberrationen, aber im UDS-Test mit primären Rattenhepatozyten keine unplanmäßige DNA-Synthese und in V79-Zellen keine Mutationen. Bei Chinesischen Hamstern kam es nicht zu einer erhöhten Inzidenz an Chromosomenaberrationen in Knochenmarkszellen und bei Mäusen nach einmaliger oder bis zu 13-wöchiger Exposition von 4-Nitrobenzoesäure ergab sich keine vermehrte Bildung von Mikronuklei in den peripheren Erythrozyten des Blutes.

5.7 Kanzerogenität

In Zwei-Jahre-Kanzerogenitätsstudien erhielten je 50 männliche und weibliche F344-Ratten 0, 1250, 2500 oder 5000 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg Futter (lt. Autoren: ♂: 0, 50, 100 oder 210 mg/kg KG und Tag; ♀: 0, 60, 125 oder 250 mg/kg KG und Tag) und auch je 50 männliche und weibliche B6C3F1-Mäuse 0, 1250, 2500 od. 5000 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg Futter (lt. Autoren: ♂: 0, 150, 300 oder 675 mg/kg KG und Tag; ♀: 0, 170, 365 oder 905 mg/kg KG und Tag). Nur bei weiblichen F344-Ratten kam es zu einer signifikant erhöhten Häufigkeit von Adenomen in der Klitorisdrüse ab 60 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag (siehe Tabelle 4). Bei Addition der Inzidenzen der Adenome und Karzinome war der Anstieg in allen Behandlungsgruppen statistisch signifikant erhöht, aber nicht dosisabhängig. Die Inzidenzen lagen dabei über denen der Mittelwerte sowie der Bereichsgrenze der historischen Kontrolle des Auftragslabors. Die Inzidenzen der Hyperplasien, also die Vorstufen der Tumoren, waren nicht erhöht, und die mittlere Zeit bis zur Diagnose der Tumoren war nicht verkürzt. Daher wurde das Ergebnis nur als „some evidence of carcinogenicity“ bewertet (NTP 1994).

Vor allem bei männlichen F344-Ratten war die Milz mit mononukleären Leukämiezellen angefüllt. Die Inzidenzen betrugen bei den Kontroll- und den behandelten männlichen Tieren 29/50 (Kontrolle), 35/50 (60 mg/kg KG), 26/50 (125 mg/kg KG) und 2/50 (250 mg/kg KG) und bei den weiblichen Tieren 17/50 (Kontrolle), 11/50 (60 mg/kg KG), 3/50 (125 mg/kg KG) und 0/50 (250 mg/kg KG) (NTP 1994).

Die Klitoris- bzw. Präputialdrüsen liegen im Genitalbereich von weiblichen und männlichen Ratten oder Mäusen und produzieren Sexuallockstoffe.

Spontane Neoplasien der Klitorisdrüse treten vor allem bei F344-Ratten auf. Bei Sprague-Dawley- oder Wistar-Ratten bzw. bei B6C3F1- oder CD1-Mäusen werden sie relativ selten beobachtet (Gad 2008).

In der NTP-Studie zu 4-Nitrotoluol wurde eine Übersicht der bei Kontrolltieren aufgetretenen Inzidenzen von Neoplasien der Klitorisdrüse bei F344-Ratten dargestellt (NTP 2002). Die Aufstellung ist in Tabelle 5 abgebildet. In der Kanzerogenitätsstudie mit 4-Nitrobenzoesäure wurde das NIH-07-Futter verabreicht. Die Durchführung der Studie erfolgte am Southern Research Institute.

Tab. 4 Studie zur Kanzerogenität von 4-Nitrobenzoesäure an F344-Ratten

Autor:	NTP 1994				
Stoff:	4-Nitrobenzoesäure (Reinheit >99%)				
Spezies:	Ratte, F344/N, je 50 ♂ u. ♀				
Applikation:	0, 1250, 2500 od. 5000 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg Futter				
Dosis:	♀: 0, 60, 125 od. 250 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG u. Tag				
Dauer:	104 Wochen				
Toxizität:	ab 125 mg/kg KG: KG-Entw. ♀: 8% ↓				
		mg/kg KG u. Tag			
		0	60	125	250
Überlebende	♀	27/50 (54%)	23/50 (46%)	21/50 (42%)	21/50 (42%)
Tumoren und Präneoplasien					
Klitorisdrüse					
Hyperplasien	♀	10/50	6/49	6/49	7/50
Adenome	♀	4/50 (8%)	12/49 (24%)*	10/49 (20%)	12/50 (24%)*
adjustiert auf Überlebende	♀	11,9%	42,5%	33,7%	42,1%
„Life Table Test“		p=0,034	p=0,013	p=0,030	p=0,013
„Logistic Regression Test“		p=0,046	p=0,013	p=0,050	p=0,023
Karzinome	♀	1/50 (2%)	2/49 (4%)	5/49 (10%)	4/50 (8%)
adjustiert	♀	3,7%	6,0%	19,3%	11,7%
„Life Table Test“		p=0,085	p=0,460	p=0,056	p=0,139
„Logistic Regression Test“		p=0,117	p=0,459	p=0,084	p=0,224
Adenome od. Karzinome (kombiniert)	♀	4/50 (8%)	14/49 (29%)**	15/49 (31%)**	15/50 (30%)**
adjustiert	♀	11,9%	45,9%	48,9%	47,7%
„Life Table Test“		p=0,008	p=0,005	p=0,001	p=0,002
„Logistic Regression Test“		p=0,011	p=0,004	p=0,003	p=0,004
mittlere Zeit bis zur Diagnose [Tage]		699	712	672	683
Historische Kontrolle des Auftragslabors bis 20.08.1992 (NTP 1994)					
Adenome		27/367 (7,4%), 0–19%			
Karzinome		21/367 (5,7%), 0–15%			
Adenome od. Karzinome (kombiniert)		47/367 (12,8%), 2–21%			

* p = ≤ 0,05; ** p = ≤ 0,01

Tab. 5 Inzidenzen spontaner Neoplasien in der Klitorisdrüse weiblicher F344-Ratten in NTP-Studien nach Verabreichung von NIH-07-Futter (NTP 2002)

	Adenome	Karzinome	Adenome od. Karzinome
Daten des Southern Research Institute (bis 21.12.1999)			
Benzylacetat (Beginn 1988)	0/50	1/50	1/50
2,2-Bis(brommethyl)-1,3-propandiol	4/48	1/48	5/48
Butylbenzylphthalat	3/50	4/50	7/50
D&C Yellow No 11 (Beginn 1990)	11/49	6/49	17/49
Emodin	10/49	2/49	12/49
2-Nitroanisol	3/45	4/45	7/45
4-Nitrobenzoesäure (Beginn 1988)	4/50	1/50	4/50
Gesamtinzidenz in allen Fütterungsstudien mit NIH-07-Futter			
Gesamt (%)	89/968 (9,2%)	30/968 (3,1%)	118/968 (12,2%)
Mittelwert $\pm$ Standardabweichung	9,2% $\pm$ 6,0%	3,1% $\pm$ 3,2%	12,2% $\pm$ 7,7%
Bereich	0%–22%	0%–12%	2%–35%

Die historischen Kontrolldaten des Auftragslabors umfassen einen Bereich von 2% bis 35% für die Inzidenzen der Summe aus Adenomen und Karzinomen der Klitorisdrüse. Die niedrigste Spontaninzidenz (2%) ergab sich in einer Studie mit Benzylacetat, die im selben Jahr (1988) wie die Untersuchung mit 4-Nitrobenzoesäure begonnen wurde. Die höchste Spontaninzidenz trat in einer Studie mit D&C Yellow No 11 auf, die zwei Jahre später (1990) als die Studie mit 4-Nitrobenzoesäure durchgeführt wurde. Das heißt, in einem Zeitraum von nur zwei Jahren variierte die Spontaninzidenz zwischen 2% und 35% im selben Labor. Die Mittelwerte der spontanen Klitorisdrüsentumoren in allen Fütterungsstudien des NTP bis 1999 (Tabelle 5) entsprechen in etwa den Mittelwerten der historischen Kontrollinzidenzen des Auftragslabors bis 1994 (Tabelle 4).

Verschiedene Publikationen haben jedoch ergeben, dass die Klitorisdrüsen-Tumoren nicht unbedeutend sind (McConnell et al. 1986; Reznik und Ward 1981). Spontane Adenome der Klitorisdrüse sind außer bei F344-Ratten selten. Adenome entstehen, wie die Adenokarzinome aus den Azinuszellen (Rudman et al. 2012) und werden von einigen Autoren als Vorstufe der Karzinome betrachtet (Reznik und Ward 1981). Substanzen, die diese Tumoren induzieren, tun es auch in anderen Geweben, wie in der Haut und in den Hautanhangsgebilden, z. B. den Talgdrüsen (Reznik und Ward 1981).

Fazit:

Bei weiblichen F344-Ratten kam es zu einer signifikant, aber nicht dosisabhängig erhöhten Inzidenz an Adenomen in der Klitorisdrüse ab 60 mg/kg KG und Tag. Bei Addition der Häufigkeiten von Adenomen und Karzinomen lagen diese in allen Behandlungsgruppen über denen der Mittelwerte der historischen Kontrolle des Auftragslabors. Die Inzidenzen der bei F344-Ratten spontan auftretenden Klitorisdrüsentumoren sind sehr variabel und umfassen einen Bereich zwischen 2% und 35%. Bei anderen Rattenstämmen sind Tumoren der Klitorisdrüse selten.

6 Bewertung

Kritischer Effekt der 4-Nitrobenzoesäure ist die lokale Wirkung am olfaktorischen Epithel. Systemisch ergeben sich Methämoglobin-Bildung, Wirkungen auf das hämatopoetische System und Milzveränderungen und eine verzögerte Körpergewichtsentwicklung. Zudem tritt eine signifikant erhöhte Inzidenz an Adenomen in der Klitorisdrüse von weiblichen F344-Ratten auf.

Krebserzeugende Wirkung. 4-Nitrobenzoesäure verursachte ab 60 mg/kg KG und Tag eine statistisch signifikant erhöhte Inzidenz an Adenomen in der Klitorisdrüse von weiblichen F344-Ratten. Jedoch trat keine Dosisabhängigkeit auf, und die Karzinominzidenz war nicht signifikant erhöht. Bei Addition der Inzidenzen der Adenome und Karzinome war dieser Anstieg in allen Behandlungsgruppen statistisch signifikant und lag über der Inzidenz der historischen Kontrolle des Auftragslabors. Da die Tumorzinzidenz jedoch nicht dosisabhängig anstieg, die mittlere Latenzzeit bis zur Diagnose nicht verkürzt und die Inzidenz an Hyperplasien nicht erhöht war, wurden die Tumoren in der Klitorisdrüse vom NTP nur mit „some evidence of carcinogenic activity“ bewertet. Das gleiche trifft für die NTP-Studie mit dem in Kanzerogenitäts-Kategorie 3 B eingestuften 4-Nitrotoluol zu, das diesen Tumortyp ebenfalls bei weiblichen F344-Ratten bei gleichen Konzentrationen im Futter hervorruft (Inzidenz der Adenome signifikant erhöht, Inzidenz der Karzinome nicht), zudem aber auch bronchioalveoläre Lungentumoren (Inzidenz der Adenome signifikant erhöht, Inzidenz der Karzinome nicht) bei männlichen Mäusen und subkutane Tumoren (Inzidenz der Fibrome signifikant erhöht, Inzidenz der Fibrosarkome nicht) bei männlichen Ratten verursacht. 4-Nitrotoluol wird von F344-Ratten zu 68% zu 4-Nitrobenzoesäure und seinen Metaboliten metabolisiert (siehe Begründung „4-Nitrotoluol“ 2007). Die Induktion weiterer Tumorarten durch 4-Nitrotoluol könnte damit zusammenhängen, dass 4-Nitrotoluol erst zu ausscheidungsfähigen Produkten metabolisiert werden muss und daher länger im Körper verbleibt als 4-Nitrobenzoesäure, die überwiegend unmetabolisiert und daher schnell ausgeschieden werden kann. Jedoch wurden auch durch 4-Nitrotoluol nur solche Tumoren induziert, für die die jeweilige Spezies eine hohe Spontanumorzinzidenz aufweist.

Bei den durch 4-Nitrobenzoesäure induzierten Neoplasien der Klitorisdrüse lagen die Inzidenzen der Adenome bzw. der Summe von Adenomen und Karzinomen oberhalb der Bereichsgrenze der historischen Kontrolle des Auftragslabors. Da Tu-

moren der Klitorisdrüse auch bei 4-Nitrotoluol neben anderen Spontantumoren nachweisbar waren, 4-Nitrobenzoesäure eine ähnliche, wenn auch schwächere, Wirksamkeit verglichen mit 4-Nitrotoluol aufweist und eine mutagene Wirkung in *Salmonella typhimurium* nachweisbar ist, bleibt der Verdacht auf eine kanzerogene Wirkung der 4-Nitrobenzoesäure bestehen. 4-Nitrobenzoesäure wird analog dem 4-Nitrotoluol in die Kanzerogenitäts-Kategorie 3 B eingestuft.

Keimzellmutagene Wirkung. 4-Nitrobenzoesäure ist mutagen in Bakterien. Es verursachte in *Salmonella typhimurium* Leseraster- und Basenaustauschmutationen und in CHO-Zellen Schwesterchromatidaustausche und Chromosomenaberrationen. Im UDS-Test mit primären Rattenhepatozyten trat keine unplanmäßige DNA-Synthese auf. Bei Mäusen kam es nach einmaliger oraler Applikation von 1500 mg/kg KG nicht zu einer erhöhten Inzidenz an Chromosomenaberrationen in Knochenmarkszellen oder bei Chinesischen Hamstern bei 5000 mg/kg KG nicht zu einer vermehrten Bildung von Mikronuklei in den peripheren Erythrozyten des Blutes. Bei Mäusen verursachte die 13-wöchige orale Aufnahme von 680 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag keine vermehrte Bildung von Mikronuklei in den peripheren Erythrozyten des Blutes. Damit rechtfertigen die vorliegenden Daten keine Einstufung in eine Kategorie für Keimzellmutagene.

MAK-Wert. Für die Ableitung eines MAK-Wertes geeignete Daten beim Menschen liegen nicht vor. Bei Ratten lässt sich aus einer 15-Monate- und einer Zwei-Jahre-Studie ein NOAEL von 60 mg/kg KG und Tag für die verzögerte Körpergewichtsentwicklung bei weiblichen Tieren ableiten.

Bei der Übertragung des NOAEL von 60 mg/kg KG und Tag in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen Ratte und Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturwert (1:4), die angenommene orale Resorption (100%), das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen (10 m^3) des Menschen sowie die angenommene 100%ige inhalative Resorption und die am Arbeitsplatz nur an fünf Tagen pro Woche stattfindende Exposition (7:5). Damit errechnet sich eine entsprechende Konzentration von 147 mg 4-Nitrobenzoesäure/ m^3 . Bezogen auf die systemische Wirkung würde der MAK-Wert nach dem üblichen Vorgehen der Kommission, Übertragung des NOAEL aus dem Tierversuch auf den Menschen (1:2) und „Preferred Value Approach“, 50 mg/ m^3 betragen.

Die NOAEC für lokale Effekte am olfaktorischen Epithel von Ratten betrug in der 14-Tage-Studie 20 mg/ m^3 . Bei dieser Konzentration hatten 75% der Partikel einen aerodynamischen Durchmesser von $<10 \text{ }\mu\text{m}$. Da eine chronische Inhalationsstudie fehlt, kann keine Aussage zu einer Wirkungsverstärkung mit der Zeit getroffen werden. Nach den Vorschlägen von Brüning et al. (2014) ist daraus eine Konzentration für die Luft am Arbeitsplatz von 1,7 mg/ m^3 E abzuleiten, die eine mögliche Wirkungsverstärkung bei chronischer Exposition (1:6) und die Übertragung der Effekte am olfaktorischen Epithel auf den Menschen (1:2) berücksichtigt. Nach dem üblichen Vorgehen der Kommission lässt sich daraus für die lokalen Effekte am olfaktorischen Epithel ein MAK-Wert von 1 mg/ m^3 E ableiten.

Bei einem MAK-Wert von 1 mg 4-Nitrobenzoesäure/ m^3 beträgt der Abstand zu den ab 60 mg/kg KG und Tag (entspricht einer Luftkonzentration von 147 mg

4-Nitrobenzoesäure/m³) bei weiblichen F344-Ratten aufgetretenen Adenomen der Klitorisdrüse das 150-Fache. Das wird in Anbetracht der Kanzerogenitäts-Bewertung als ausreichend groß angesehen.

Spitzenbegrenzung. Aufgrund der Ableitung eines MAK-Wertes für 4-Nitrobenzoesäure auf Basis der lokalen Effekte am olfaktorischen Epithel erfolgt die Zuordnung zur Spitzenbegrenzungs-Kategorie I. Da ein großer Abstand der NOAEC zur LOAEC bei 150 mg 4-Nitrobenzoesäure/m³ besteht, wird ein Überschreitungsfaktor von 2 festgesetzt.

Fruchtschädigende Wirkung. In einer Fütterungsstudie an Mäusen mit einer 33 Wochen langen Exposition vor, während und nach einer kontinuierlichen Verpaarung der F0- und Exposition der F1-Generation ergab sich ein NOAEL von 500 mg 4-Nitrobenzoesäure/kg KG und Tag aufgrund maternaler Toxizität und Fetotoxizität. Nach toxikokinetischer Umrechnung (siehe oben) und dem speziesspezifischen Korrekturwert zwischen Maus und Menschen (1:7) entspricht dieser Wert einer Luftkonzentration von 700 mg/m³ und liegt weit über dem MAK-Wert. Untersuchungen zur Teratogenität fehlen. Da die vorliegenden Daten nicht für eine abschließende Bewertung ausreichen, wird 4-Nitrobenzoesäure der Schwangerschaftsgruppe D zugeordnet.

Hautresorption. Studien zur dermalen Resorption fehlen. Für den Menschen lässt sich aus Modellrechnungen (Abschnitt 3.1) eine dermale Aufnahme von maximal 14 mg bei Exposition gegen eine gesättigte wässrige Lösung unter der Annahme einer einstündigen Exposition von 2000 cm² Hautoberfläche abschätzen. Bei der toxikokinetischen Übertragung des sich bei Ratten ergebenden oralen chronischen NOAEL von 60 mg/kg KG auf den Menschen werden berücksichtigt: der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen Ratte und Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturwert (1:4), die angenommene orale Resorption (100%), das Körpergewicht (70 kg) und die am Arbeitsplatz nur an fünf Tagen pro Woche stattfindende Exposition (7:5) sowie die Übertragung des NOAEL aus dem Tierversuch auf den Menschen (1:2). Daraus ergibt sich eine systemisch tolerierbare 4-Nitrobenzoesäure-Menge von 735 mg. Die Aufnahme über die Haut liegt bei deutlich weniger als 25% der systemisch zulässigen Menge, und der Stoff wird nicht mit „H“ markiert.

Sensibilisierende Wirkung. Zur sensibilisierenden Wirkung liegen keine klinischen Befunde oder Ergebnisse aus tierexperimentellen Untersuchungen vor, so dass 4-Nitrobenzoesäure weder mit „Sh“ noch mit „Sa“ markiert wird.

7 Literatur

- Adamson RH, Dixon RL, Francis FL, Rall DP (1965) Comparative biochemistry of drug metabolism by azo and nitro reductase. *Proc Natl Acad Sci* 54: 1386–1391
- Albert RE (1997) Allergic contact sensitizing chemicals as environmental carcinogens. *Environ Health Perspect* 105: 940–948

- Ahlborg G Jr, Bergström B, Hogstedt C, Einistö P, Sorsa M (1985) Urinary screening for potentially genotoxic exposures in a chemical industry. *Br J Ind Med* 42: 691–699
- Brüning T, Bartsch R, Bolt HM, Desel H, Drexler H, Gundert-Remy U, Hartwig A, Jäckh R, Leibold E, Pallapies D, Rettenmeier AW, Schlüter G, Stropp G, Sucker K, Triebig G, Westphal G, van Thriel C (2014) Sensory irritation as a basis for setting occupational exposure limits. *Arch Toxicol* 88: 1855–79
- Caujolle F, Caujolle D, Morisand C (1966) Comparative toxicities of nitrobenzoic acids towards rats and mice. *CR Seances Soc Biol Ses Fil* 160: 1097–1100
- Chapin R, Gulati DK, Russell SL (1987) Para-nitrobenzoic acid: sperm morphology vaginal cytology evaluations in rodents. N01-ES-3-5026. National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC, USA
- Chapin RE, Sloane RA, Haseman JK (1997) The relationships among reproductive endpoints in swiss mice, using the reproductive assessment by continuous breeding database. *Fund Appl Toxicol* 38: 129–142
- Chiu CW, Lee LH, Wang CY, Bryan GT (1978) Mutagenicity of some commercially available nitro compounds for *Salmonella typhimurium*. *Mutat Res* 58: 11–22
- Clariant GmbH (1955) p-Nitrobenzoesäure. *Gewerbetoxxikol. Lab. Hoechst AG*, 28.10.1955, Berichts-Nr 55.0059, unveröffentlicht
- Clariant GmbH (1987) p-Nitrobenzoesäure. Study of the mutagenic potential in strains of *Salmonella typhimurium* (Ames Test) and *Escherichia coli*. 7. Dezember 1987, Pharma Forschung Toxikologie und Pathologie, Hoechst Aktiengesellschaft, Berichts-Nr 87.1620, unveröffentlicht
- Clariant GmbH (1988) p-Nitrobenzoesäure. Detection of gene mutations in somatic cells in culture, HGPRT-test with V79 cells. 18. August 1988, Pharma Forschung Toxikologie und Pathologie, Hoechst Aktiengesellschaft, Berichts-Nr 88.1222, unveröffentlicht
- Clariant GmbH (1989 a) p-Nitrobenzoesäure. Prüfung auf Hautreizung am Kaninchen. 25. August 1989, Pharma Forschung Toxikologie und Pathologie, Hoechst Aktiengesellschaft, Berichts-Nr 89.1217, unveröffentlicht
- Clariant GmbH (1989 b) p-Nitrobenzoesäure. Prüfung auf Augenreizung am Kaninchen. 19. September 1989, Pharma Forschung Toxikologie und Pathologie, Hoechst Aktiengesellschaft, Berichts-Nr 89.1329, unveröffentlicht
- Clariant GmbH (1990) Evaluation of p-Nitrobenzoesäure in the in vivo cytogenetic test in bone marrow cells of the Chinese hamster – chromosome analysis. 18. Mai 1990, Pharma Research Toxicology and Pathology, Hoechst Aktiengesellschaft, Berichts-Nr 90.0498, unveröffentlicht
- Cram RL, Juchau MR, Fouts MR (1965) Differences in hepatic drug metabolism in various rabbit strains before and after pretreatment with phenobarbital. *Proc Soc Exp Biol Med* 118: 872–875
- Dellarco VL, Prival MJ (1989) Mutagenicity of nitro compounds in *Salmonella typhimurium* in the presence of flavin mononucleotide in a preincubation assay. *Environ Mol Mutagen* 13: 116–127
- Drexler H, Greim H (Hrsg) (2008) Methämoglobin-Bildner, Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte), Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA) und Biologische Leitwerte (BLW), 15. Lieferung, Wiley-VCH, Weinheim, <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.bb6253d0015/pdf>
- DuPont (1989) Two-week inhalation study with 4-nitrobenzoic acid (PNBA) in rats. Haskell Laboratory for toxicology and industrial medicine, 6/5/89, Medical Research Nr. 8155–001, Haskell Laboratory Berichts Nr. 78–89, Newark, DE, USA, unveröffentlicht

- DuPont (2012) 4-Nitrobenzoic acid. Dokument 8EHQ-1218731, Kontrollnummer: 88120000274, 18. Jul. 2012, DuPont Haskell Global Centers for Health and Environmental Sciences, Newark, DE, USA, unveröffentlicht
- ECB (European Chemicals Bureau) (2000) 4-Nitrobenzoic acid. IUCLID dataset, 18.02.2000, ECB, Ispra, Italien
- ECHA (European Chemicals Agency) (2015) Information on registered substances. Dataset on 4-nitrobenzoic acid (CAS Number 62-23-7), individual submission, first publication 27.02.2013, last modification 24.12.2015, <http://echa.europa.eu/web/guest/information-on-chemicals>
- ECHA (European Chemicals Agency) (2016) Information on registered substances. Dataset on 4-nitrobenzoic acid (CAS Number 62-23-7), joint submission, first publication 27.02.2013, last modification 03.02.2016, <http://echa.europa.eu/web/guest/information-on-chemicals>
- EFSA (European Food Safety Authority) (2012) Scientific opinion: Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, scientific panels and units in the absence of actual measured data. EFSA J 10: 2579, <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/doc/2579.pdf>
- Fiserova-Bergerova V, Pierce JT, Droz PO (1990) Dermal absorption potential of industrial chemicals: criteria for skin notation. *Am J Ind Med* 17: 617–635
- Gad SC (2008) Carcinogenicity studies. In: Gad SC (Hrsg) *Preclinical development handbook: Toxicology*, John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, USA, 423–458
- Gardner DM, Renwick AG (1978) The reduction of nitrobenzoic acids in the rat. *Xenobiotica* 8: 679–690
- Goldman P, Wheeler LA, Carter JH, Ingelfinger JA, Soderberg FB (1977) Properties of the Ames salmonella mutants lodged in the gastrointestinal tract of gnotobiotic rats. *Am J Clin Nutr* 30: 1921–1926
- Greim H, Gelbke H-P, Reuter U, Thielmann HW, Edler L (2003) Evaluation of historical control data in carcinogenicity studies. *Hum Exp Toxicol* 22: 541–549
- Guy RH, Potts RO (1993) Penetration of industrial chemicals across the skin: a predictive model. *Am J Ind Med* 23: 711–719
- Idle JR, Millburn P, Williams RT (1978) Taurine conjugates as metabolites of arylacetic acids in the ferret. *Xenobiotica* 8: 253–264
- Käfferlein HU, Broding HC, Bünger J, Jettkant B, Koslitz S, Lehnert M, Marek EM, Blaszkewicz M, Monsé C, Weiss T, Brüning T (2014) Human exposure to airborne aniline and formation of methemoglobin: a contribution to occupational exposure limits. *Arch Toxicol* 88: 1419–1426
- Kato R, Oshima T, Takanaka A (1969) Studies on the mechanism of nitro reduction by rat liver. *Mol Pharmacol* 5: 487–498
- Kato R, Onoda K, Takanaka A (1970) Strain differences in the metabolism and action of drugs in mice and rats. *Jap J Pharmacol* 20: 562–571
- Kawai A, Goto S, Matsumoto Y, Matsushita H (1987) Mutagenicity of aliphatic and aromatic nitro compounds. *Jpn J Ind Health* 29: 34–54
- Kuzniar EJA, James SP (1981) Influence of the gut on the metabolism microflora of 4-nitrobenzoic acid in the marmoset. *Xenobiotica* 11: 675–683
- Maronpot RR, Thoolen RJMM, Hansen B (2015) Two-year carcinogenicity study of acrylamide in Wistar Han rats with in utero exposure. *Exp Toxicol Pathol* 67: 189–195
- McConnell EE, Solleveld HA, Swenberg JA, Boorman GA (1986) Guidelines for combining neoplasms for evaluation of rodent carcinogenesis studies. *J Natl Cancer Inst* 76: 283–289

- NLM (National Library of Medicine) (2015) 4-Nitrobenzoic acid. Hazardous Substances Data Bank,
<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>
- Norred WP, Nishie K, Keyl AC (1975) Effects of short-term administration of nitrosamines on rat hepatic microsomal enzymes. *Biochem Pharmacol* 24: 1313–1316
- NTP (National Toxicology Program) (1990) Final report on the reproductive toxicity of para nitrobenzoic acid (CAS No 62-23-7) in Swiss CD-1 mice. National Toxicology Program, report #NTP-90-116, National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, NC, USA
- NTP (National Toxicology Program) (1994) Toxicology and carcinogenesis studies of p-nitrobenzoic acid (CAS No 62-23-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed studies). NTP Technical Report Series No. 442, US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA,
http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr442.pdf
- NTP (1997) p-Nitrobenzoic acid. *Environ Health Perspect*, Vol 105, Suppl 1, 327–328,
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1470224/pdf/envhper00326-0322.pdf>
- NTP (2002) Toxicology and carcinogenesis studies of p-nitrotoluene (CAS No 99-99-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed studies). NTP Technical Report Series No. 498, US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA,
https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr498.pdf
- Pauluhn J (2004) Subacute inhalation toxicity of aniline in rats: analysis of time-dependence and concentration-dependence of hematotoxic and splenic effects. *Toxicol Sci* 81: 198–215
- Pelkonen O, Vorne M, Jouppila P, Kärki NT (1971) Metabolism of chlorpromazine and p-nitrobenzoic acid in the liver, intestine and kidney of the human foetus. *Acta Pharmacol Toxicol* 29: 284–294
- Pelkonen O (1973) Drug metabolism in the human fetal liver. Relationship to fetal age. *Arch Int Pharmacodyn* 202: 281–287
- Peters MA, Fouts JR (1968) An evaluation of two procedures used in the study of p-nitrobenzoic acid metabolism by rat liver. *Toxicol Appl Pharmacol* 12: 242–248
- Probst GS, McMahon RE, Hill LE, Thompson CZ, Epp JK, Neal SB (1981) Chemically-induced unscheduled DNA synthesis in primary rat hepatocyte cultures: a comparison with bacterial mutagenicity using 218 compounds. *Environ Mutagen* 3: 11–32
- Reznik G, Ward JM (1981) Morphology of hyperplastic and neoplastic lesions in the clitoral and preputial gland of the F344 rat. *Vet Pathol* 18: 228–238
- Richardson ML, Gangolli (1994) The dictionary of substances and their effects. Band 6, Royal Society of Chemistry, Cambridge, Great Britain, 140–141
- Rudmann D, Cardiff R, Chouinard L, Goodman D, Küttler K, Marxfeld H, Molinolo A, Treumann S, Yoshizawa K for the INHAND Mammary, Zymbal's, Preputial, and Clitoral Gland Organ Working Group (2012) Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse mammary, zymbal's, preputial, and clitoral glands. *Toxicol Pathol* 40: 7S–39S
- Sax I (Hrg) (1984) Dangerous properties of industrial materials, 6th Ed, Van Nostrand Reinhold, New York, 650
- Shimizu M, Yano E (1986) Mutagenicity of mono-nitrobenzene derivatives in the ames test and rec assay. *Mutat Res* 170: 11–22
- SRC (Syracuse Research Corporation) (2015) p-Nitrobenzoic acid. PhysProp database,
<http://www.srcinc.com/what-we-do/environmental/scientific-databases.html>

- Srivastava S, Alhomida AS, Siddiqi NJ, Puri SK, Pandey VC (2002) Methemoglobin reductase activity and in vitro sensitivity towards oxidant induced methemoglobinemia in Swiss mice and Beagle dogs erythrocytes. *Mol Cell Biochem* 232: 81–85
- Sundvall A, Marklund H, Rannug U (1984) The mutagenicity on *Salmonella typhimurium* of nitrobenzoic acids and other wastewater components generated in the production of nitrobenzoic acids and nitrotoluenes. *Mutat Res* 137: 71–78
- Suzuki J, Koyama T, Suzuki S (1983) Mutagenicities of mono-nitrobenzene derivatives in the presence of norharman. *Mutat Res* 120: 105–110
- Tani E, Kourounakis PN (1993) Effect of ethanol and its interaction with ascorbic acid or tocopherol-acetat on p-nitrobenzoic acid reduction and lipid peroxidation. *Res Commun Subst Abuse* 14: 7–15
- Wheeler LA, Soderberg FB, Goldman P (1975 a) The relationship between nitro group reduction and the intestinal microflora. *J Pharmacol Exp Ther* 194: 135–144
- Wheeler LA, Carter JH, Soderberg FB, Goldman P (1975 b) Association of salmonella mutants with germfree rats: site specific model to detect carcinogens as mutagens. *Proc Natl Acad Sci USA* 72: 4607–4611
- Williams KD, Dunnick J, Horton J, Greenwell A, Eldridge SR, Elwell M, Sills RC (2001) p-Nitrobenzoic acid alpha2u nephropathy in 13-week studies is not associated with renal carcinogenesis in 2-year feed studies. *Toxicol Pathol* 29: 507–513
- Wilschut A, ten Berge WF, Robinson PJ, McKone TE (1995) Estimating skin permeation. The validation of five mathematical skin permeation models. *Chemosphere* 30: 1275–1296
- Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W (1987) *Salmonella* mutagenicity tests: III. Results from the testing of 255 chemicals. *Environ Mutagen* 9, Suppl 9: 1–109
- Zenser TV, Mattammal MB, Palmier MO, Davis BB (1981) Microsomal nitroreductase activity of rabbit kidney and bladder: implications in 5-nitrofurantoin-induced toxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 219: 735–740

abgeschlossen am 24.02.2016