

2-Chloracetamid

(CAS-Nr.: 79-07-2)

Es liegt eine ausführliche Toxikologische Bewertung (redaktionsgelesener Draft) von Chloracetamid der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie vor [1], auf die im folgenden Text zum großen Teil Bezug genommen wird.

Gentoxizität:

In vitro

Im Salmonella/Mikrosomen-Test nach Ames (Standard-Platteninkorporationstest) war Chloracetamid bei den Stämmen TA 98, TA 100, TA 1535 und TA 1537 ohne und mit metabolischer Aktivierung (S9-Mix aus mit Aroclor induzierter Rattenleber) in Konzentrationen von 4 bis 2500 mg/Platte nicht mutagen (Hoechst, 1979). Angaben darüber, ob die Substanz bis in den toxischen Bereich untersucht wurde, fehlen.

In einem Salmonella/Mikrosomen-Test nach Ames, durchgeführt als Standard-Platteninkorporationstest, erwies sich das Konservierungsmittel "CA 24" (70 % Chloracetamid, 30 % Natriumbenzoat) in Konzentrationen von 0 bis 1000 mg/Platte (0,35 bis 700 mg Chloracetamid/Platte) weder ohne noch mit S9-Mix als mutagen; in den hohen Dosen zeigten sich bakteriotoxische Effekte (keine weiteren Angaben; IBR, 1979 a).

In einem weiteren Standard-Platteninkorporationstest mit Salmonella typhimurium der Stämme TA 98, TA 100 und TA 1537 ohne und mit metabolischer Aktivierung durch S9-Mix aus mit Aroclor induzierter Rattenleber war ebenfalls keine mutagene Wirkung von Chloracetamid nachzuweisen. Untersucht wurden Chloracetamid-Konzentrationen von 0,05 bis 10 mg/Platte. Bei einer Konzentration von 20 mg/Platte fand kein Wachstum der Bakterien mehr statt. In keinem Fall konnte eine Erhöhung der Zahl der Revertanten durch Chloracetamid nachgewiesen werden (Voogd et al., 1989).

Bei der Durchführung eines Fluktuationstestes mit Klebsiella pneumoniae wurde eine mutagene Aktivität von Chloracetamid nachgewiesen. Die Bakterien wurden für 20 Stunden in Rinderbouillon inkubiert, der Chloracetamid in Konzentrationen von 0,1 bis 2 g/l zugesetzt war. Durch anschließende Inkubation auf Agarplatten, denen teilweise Streptomycin zugefügt wurde, konnte die Zahl der zur Streptomycinresistenz mutierten Bakterien ermittelt werden. Mit Chloracetamid stieg ab einer Konzentration von 0,5 g/l die Mutationsfrequenz konzentrationsabhängig bis auf das 10fache an. Bei dieser Konzentration bestand noch keine deutliche Bakteriotoxizität des Chloracetamids. Bei 2 g/l wurden 80 bis 85 % der Bakterien getötet (Voogd et al., 1989).

In vivo

In einem nur als Zusammenfassung vorliegenden Bericht wurde festgestellt, dass eine 2malige intraperitoneale Injektion des Konservierungsmittels "CA 24" (70 % Chloracetamid, 30 % Natriumbenzoat) in Dosen von 50 mg/kg Körpergewicht (1/3 der LD₅₀, entsprechend 35 mg Chloracetamid/kg Körpergewicht), 25 mg/kg Körpergewicht (1/6 LD₅₀, entsprechend 17,5 mg Chloracetamid/kg Körpergewicht) und 12,5 mg/kg Körpergewicht (1/12 LD₅₀, entsprechend 8,75 mg Chloracetamid/kg Körpergewicht) im Abstand von 24 Stunden beim Chinesischen Hamster keine strukturellen oder numerischen Chromosomenaberrationen im Knochenmark und in den Spermatogonien bewirkte; auch eine Erhöhung der Anzahl von Mikronuklei wurde im Knochenmark nicht beobachtet (Einzelheiten über Versuchsdurchführung, Auswertung etc. fehlen; IBR, 1979 b).

In einem Dominant-Letal-Test mit dem Konservierungsmittel "CA 24" (70 % Chloracetamid, 30 % Natriumbenzoat) an der NMRI-Maus (ca. 20 g Gewicht) wurden je 10 männlichen Mäusen einmal 114 bzw. 123 mg/kg Körpergewicht (79,8 bzw. 86 mg Chloracetamid/kg Körpergewicht) intraperitoneal verabreicht. Die Kontrollen erhielten 10 ml/kg Körpergewicht der für die Herstellung der Suspension verwendeten 0,5prozentigen Methylzellulose. Die LD₅₀ (24 Stunden) war mit 130 mg/kg Körpergewicht (91 mg Chloracetamid/kg Körpergewicht) bestimmt worden. Die behandelten männlichen Mäuse wurden über 10 Wochen mit je 3 virginellen weiblichen Mäusen/Woche gepaart. Die Implantationen waren nach der 1., 2. und 3. Woche, der Fertilitätsindex nach der 1. und 2. Woche reduziert. Auch die Anzahl der Feten war nach der 1., 2. und 3. Woche eindeutig geringer im Vergleich zu den Kontrollen. Nach der 4. Woche waren die Effekte nicht mehr zu beobachten. Diese genannten Veränderungen waren nach Ansicht der Verfasser auf eine toxische Wirkung des "CA 24" auf die Männchen in den ersten 3 Wochen zurückzuführen. Die Anzahl der Resorptionen, der Mutagenitätsindex und die Zahl tot entwickelter Feten war während der gesamten Versuchsperiode unverändert, woraus die Autoren schlossen, dass ein mutagener Effekt nicht anzunehmen ist (keine weiteren Angaben; IBR, 1979 c).

Kanzerogenität:

Keine Information vorhanden.

Reproduktionstoxizität:

Zur Prüfung der teratogenen Wirkung wurde Chloracetamid Ratten (Stamm CD und BDIX, Anzahl nicht angegeben) am 13. oder 14. Tag der Gravidität einmalig subkutan in einer Dosis bis zu 50 mg/kg Körpergewicht verabreicht, was etwa 71 % der LD₅₀ entsprach (LD₅₀ subkutan 70 mg/kg Körpergewicht). Diese Dosis wirkte toxisch und führte zum postnatalen Tod von 50 % der Jungtiere. Missbildungen wurden in keinem Fall festgestellt. Die Entwicklung der überlebenden Tiere verlief normal. Über die Toxizität bei den Muttertieren wurden keine Angaben gemacht (von Kreybig et al., 1968, 1969).

Wurde Chloracetamid (LD_{50} intraperitoneal 50 mg/kg Körpergewicht) an trächtige Long-Evans-Ratten in einer LD_{50} Dosis von 20 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal entweder einmalig am 7. oder am 11. und 12. Tag der Gravidität verabreicht, so fanden sich in beiden Gruppen keine embryotoxischen oder teratogenen Wirkungen. Auch die Muttertiere zeigten keine Vergiftungssymptome (keine weiteren Angaben; Thiersch, 1971).

In zwei vorliegenden 90-Tage-Studien an Ratten (ausführliche Darstellung der Studien am Ende von Punkt 3) mit Gaben von Chloracetamid bis zu 50 mg/kg Körpergewicht mit dem Futter wurden bei Versuchsende deutliche Erniedrigungen der Hodengewichte beobachtet. Hoden und Nebenhoden waren verkleinert. Die histopathologische Untersuchung ergab eine sehr starke Störung der Spermatogenese und insgesamt eine deutliche Zytotoxizität im Hoden. In einer der Untersuchungen traten diese Effekte in den niedrigen Dosierungen von 2 und 10 mg/kg Körpergewicht nicht mehr auf und in der hohen Dosierung von 50 mg/kg Körpergewicht fanden sich am Ende einer Nachbeobachtungszeit von 29 Tagen Zeichen einer teilweisen Regeneration im Bereich der Hodentubuli. Bei den weiblichen Tieren erwies sich die Follikelreifung als ungestört (Hoechst, 1985). In der zweiten Untersuchung wurden die bei einer Dosierung von 50 mg/kg Körpergewicht beobachteten Hodenschäden auch noch bei Gaben von 12,5 mg/kg Körpergewicht beobachtet, wenn auch in abgeschwächter Form (Hoechst, 1992).

In einem Dominant-Letal-Test (siehe auch unter Punkt 1.b), in dem männlichen Mäusen einmalig Chloracetamid (123 mg/kg Körpergewicht) intraperitoneal verabreicht wurde und diese dann über mehrere Wochen mit unbehandelten Weibchen verpaart wurden, kam es zu einer Reduzierung des Fertilitätsindex und einer reduzierten Anzahl an Implantationen sowie an lebensfähigen Feten in den ersten 2 bis 3 Wochen nach Applikation. Wurde die Verpaarung 4 Wochen nach der Behandlung der männlichen Tiere vorgenommen, waren keine Effekte mehr zu beobachten. Die Autoren sahen diese Befunde als Ausdruck einer toxischen Beeinträchtigung der männlichen Tiere während der ersten 3 Wochen nach Chloracetamid-Behandlung an (IBR, 1979 c).

Ausführliche Darstellung der oben zitierten 90-Tage-Studien:

In einem 90-Tage-Fütterungsversuch (10 männliche und 10 weibliche junge Wistar-Ratten von etwa 80 g Gewicht/Versuchsgruppe, Stamm Hoe: WISKf(SPF71)) wurde Chloracetamid in Dosen von 0 (Kontrollen), 20, 100 und 500 mg/kg Futter (entsprechend der Autoren 0, 2, 10 und 50 mg/kg Körpergewicht/Tag) über 90 Tage verabreicht. Je 5 männliche und 5 weibliche Ratten wurden nach Abschluss der Behandlungsperiode 29 Tage nachbeobachtet. Die Körpergewichtsentwicklung war nur in der höchsten Dosisgruppe (500 mg/kg Futter = 500 ppm) bei männlichen und weiblichen Tieren negativ beeinflusst. Der Futterverbrauch war bei dieser Dosis in den ersten 30 Tagen erniedrigt. Die Blutuntersuchungen, klinisch-chemische Untersuchungen und Harnanalysen zeigten auch in der höchsten Versuchsgruppe bei Versuchsende keine Hinweise auf substanzbedingte Veränderungen bis auf eine Leukozytose bei männlichen und weiblichen Ratten, die aber reversibel war. In der höchsten Dosis wurde am Versuchsende bei den männlichen Ratten eine signifikante Erniedrigung der Hodengewichte beobachtet, die auch nach einer 29tägigen Nachbeobachtungszeit noch vorhanden war. Hoden und Nebenhoden waren verkleinert. Histopathologisch fand sich unmittelbar nach Versuchsende eine Depression bzw. ein Sistieren der Spermio-genese sowie eine mäßige Proliferation der Leydig-

schen Zwischenzellen. In den Nebenhoden wurden weder reife Spermien noch Vorstufen derselben gesehen, sondern nur vernetztes Eiweiß. Am Ende der 29tägigen Nachbeobachtungszeit fanden sich Zeichen einer teilweisen Regeneration im Bereich der Hodentubuli. Weitere histopathologische Veränderungen wurden bei den männlichen Tieren nicht beobachtet. Die weiblichen Tiere aller Dosisgruppen waren zu beiden Untersuchungszeitpunkten histopathologisch ohne Befund. Die Follikelreifung erwies sich als ungestört. In den Gruppen 100 und 20 mg/kg Futter (etwa 10 bzw. 2 mg/kg Körpergewicht/Tag) wurden keine substanzbedingten Organveränderungen gesehen (Hoechst, 1985).

In einem kurzen zusammenfassenden Bericht wird eine Untersuchung an Sprague-Dawley-Ratten beschrieben, die über 3 Monate Chloracetamid im Futter erhielten. Gruppen von je 10 weiblichen und 10 männlichen Ratten wurden mit 0 (Kontrollen), 12,5 oder 50 mg Chloracetamid/kg Körpergewicht täglich behandelt. In der Gruppe, die 50 mg/kg Körpergewicht erhielt, zeigte sich ab der 4. bis 6. Behandlungswoche eine leichte Sedierung, die Körpergewichtsentwicklung war signifikant reduziert und die Futtermittelaufnahme verringert. Bei der Sektion am Ende der Behandlungszeit wurde bei den männlichen Tieren eine deutliche Erniedrigung der Hodengewichte beobachtet und bei den weiblichen Tieren eine Vergrößerung der Schilddrüse. Die mit der kleineren Dosis von 12,5 mg/kg Körpergewicht behandelten Tiere zeigten die gleichen Effekte in deutlicher, aber abgeschwächter Form. Die Beobachtung des Verhaltens, die hämatologischen und klinisch-chemischen Untersuchungen und die Urinanalyse sowie die Prüfung des Hör- und Sehvermögens gaben keine Anhaltspunkte für durch die Prüfsubstanz bewirkte Effekte. Die histopathologische Untersuchung ergab in Abhängigkeit von der verabreichten Dosis eine sehr starke Störung der Spermatogenese bis zum vollständigen Verschwinden ausgereifter Spermien. Die anderen Organe wiesen keine histopathologischen Veränderungen auf (Hoechst, 1992).

Fazit:

Gentoxizität

Chloracetamid wirkt in vitro in drei Salmonella/Mikrosomen-Testen weder mit noch ohne metabolische Aktivierung gentoxisch. Auch in vivo im Chromosomenaberrationstest am Chinesischen Hamster mit Befundung des Knochenmarks und der Spermatogonien, im Mikronukleustest am Chinesischen Hamster und im Dominant-Letal-Test an der Maus ist Chloracetamid nicht mutagen. Nur ein in vitro-Fluktuationstest mit *Klebsiella pneumoniae* ist positiv gewesen. Somit kann eine mutagene Wirkung von Chloracetamid nach den vorliegenden Befunden nicht angenommen werden. Gemäß den EU-Einstufungskriterien erfolgt daher keine Einstufung (M: -).

Kanzerogenität

Da keine Informationen zur Kanzerogenität vorliegen, erfolgt gemäß den EU-Einstufungskriterien keine Einstufung (C: -).

Reproduktionstoxizität

Geeignete Studien zur Untersuchung der teratogenen Wirkung von Chloracetamid liegen nicht vor. Die zwei vorhandenen, nicht einstufigsrelevanten orientierenden Teratogenitätsuntersuchungen an Ratten mittels einmaliger Applikation (subkutan oder intraperitoneal) an bestimmten Trächtigkeitstagen und Aufzucht der Jungtiere ergeben keinen Hinweis auf eine teratogene Wirkung von Chloracetamid, jedoch sind 50 % der Jungtiere nach der Geburt verendet, wenn die Muttertiere mit einer hohen Dosis (ca. 70 % der LD₅₀) behandelt worden sind. Werden männliche Mäuse in einem Dominant-Letal-Test einmalig mit einer im Bereich der LD₅₀ liegenden Dosis an Chloracetamid intraperitoneal behandelt und dann in wöchentlichen Abständen verpaart, so kommt es innerhalb der ersten 3 Wochen zur Reduzierung des Fertilitätsindex, der Anzahl an Implantationen und an lebensfähigen Feten. Bei der Behandlung männlicher Ratten mit sonst kaum toxischen Dosen an Chloracetamid (50 mg/kg Körpergewicht/Tag) über 3 Monate wird in zwei Studien eine Verkleinerung und Gewichtserniedrigung von Hoden und Nebenhoden beobachtet. Histopathologisch wird eine starke Störung der Spermatogenese und Zytotoxizität beobachtet. Am Ende einer Nachbeobachtungszeit von 29 Tagen finden sich Zeichen einer teilweisen Regeneration im Bereich der Hodentubuli. Die Ergebnisse zeigen, dass Chloracetamid erhebliche Schädigungen an den Hoden von Ratten verursacht und die männliche Fertilität beim Versuchstier beeinträchtigen kann. Gemäß den EU-Einstufungsrichtlinien erfolgt eine Einstufung in die Kategorie 3, da Chloracetamid wegen möglicher Beeinträchtigung der Fortpflanzungsfähigkeit (Fruchtbarkeit) des Menschen zu Besorgnis Anlass gibt (R_F: 3).

Da keine teratogene Wirkung und entwicklungsschädigende Effekte lediglich im vermutlich stark maternaltoxischen Bereich (70 % der LD₅₀) beobachtet wurden, erfolgt keine Einstufung dieses Endpunktes (R_E: -).

Literatur:

- [1] Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie, Chloracetamid, in: Toxikologische Bewertungen Teil B, Stoffspezifischer Teil, BG-Nr. 8
- [2] Hoechst AG, Pharma Forschung Toxikologie Ames-Test - Substanz 128/79 - Chloracetamid unveröffentlichter Bericht Nr. 351/79 A (1979)
- [3] Hoechst AG, Pharma Forschung Toxikologie Chloracetamid - 3 Monate Fütterung (90 Tage) an der Wistar-Ratte unveröffentlichter Bericht Nr. 85.0899 (1985)
- [4] Hoechst Celanese Corporation Letter from Hoechst Celanese Corporation to USEPA submitting information concerning a chloracetamide toxicity study in Sprague-Dawley rats with attachments (1992) NTIS/OTS 0536952
- [5] IBR (International Bio-Research, Hannover) Mutagenicity evaluation of Konservierungsmittel CA 24 in the Ames Salmonella/microsome plate test unveröffentlichter Bericht, Projekt Nr. 0-0-513-78 (1979 a) im Auftrag der Biochema Schwaben Dr. Lehmann & Co, Memmingen

- [6] IBR (International Bio-Research, Hannover) Die Einwirkung von "CA 24 / Biochemia Schwaben" auf die Chromosomen des Knochenmarks und des Hodengewebes beim chinesischen Hamster unveröffentlichter Bericht (1979 b) im Auftrag der Biochemia Schwaben Dr. Lehmann & Co, Memmingen
- [7] IBR (International Bio-Research, Hannover) Prüfung von Konservierungsmittel "CA 24" im Dominant-Letal-Test an der Maus unveröffentlichter Bericht, Projekt Nr. 2-1-183-79 (1979 c) im Auftrag der Biochemia Schwaben Dr. Lehmann & Co, Memmingen
- [8] Kreybig, von, T., Preussmann, R., Schmidt, W. Chemische Konstitution und teratogene Wirkung bei der Ratte. I. Carbonsäureamide, Carbonsäurehydrazide und Hydroxamsäuren Arzneimittelforschung, 18, 645 - 657 (1968)
- [9] Kreybig, von, T., Preussmann, R., von Kreybig, I. Chemische Konstitution und teratogene Wirkung bei der Ratte. II. N-Alkylharnstoffe, N-Alkylsulfonamide, N,N-Dialkylacetamide, N-Methylthioacetamid, Chloracetamid Arzneimittelforschung, 19, 1073 - 1076 (1969)
- [10] Thiersch, J.B. Investigations into the differential effect of compounds on rat litter and mother in: Congenital malformations of mammals, p. 95 - 113 Masson und Cie, Paris (1971).
- [11] Voogd, C.E., van der Stel, J.J., van Bruchem, M.C., Peters, R.J.B., de Leer, E.W.B., Versteegh, J.F.M. Een onderzoek naar de mutagene werking van chloreringsprodukten van cyaanazijnzuur in waterig milieu Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene, Bilthoven, Rapport-Nr. 718629003 (1989).

(Stand: Mai 1999)