

**Ausgabe: März 2019**

Stand: November 2018

**p-Chloranilin**  
(CAS 106-47-8)

## Begründung zu p-Chloranilin

---

### 1. AGW-Wert

AGW-Wert\* : 0,3 mg/m<sup>3</sup> (0,06 ppm)

Kurzzeitkategorie II; Überschreitungsfaktor 2

Sh

H

Keine Schwangerschaftskategorie

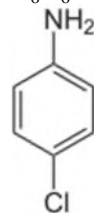
\*krebserzeugende Substanz mit Schwellenwert

### 2. Stoffcharakterisierung (aus BUA Stoffbericht 153, 1995)

Summenformel:

C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>ClN

Strukturformel:



IUPAC-Name:	1-Amino-4-Chlorbenzol
Synonyme:	p-Chloranilin, 4-Chloranilin, (4-Chlorphenyl)amin
Molekulargewicht:	127,57 g/mol
CAS-Nr.:	106-47-8
Schmelzpunkt:	72,5°C (bei 101.3 kPa)
Siedepunkt:	232°C (bei 101.3 kPa)
Wasserlöslichkeit:	2,62 g/l bei 20°C (wenig löslich in H <sub>2</sub> O)
Verteilungskoeffizient (log <sub>Po/w</sub> ):	1,83 (bei 25 °C)
Dampfdruck bei 20 °C:	0,02 hPa
Umrechnungsfaktoren:	1 ml/m <sup>3</sup> (ppm) = 5,3 mg/m <sup>3</sup>
(bei 101,3kPa, 20 °C)	1 mg/m <sup>3</sup> = 0,189 ml/m <sup>3</sup> (ppm)

Weitere Hintergrundinformationen:

Einstufung nach Verordnung EG Nr. 1272/2008 (CLP; 31.12. 2008) Anhang I, Tabelle 3-1:

Carc. Cat. 1B, H350

Acute Tox. 3, H331

Acute Tox. 3, H311

Acute Tox. 3, H301

Skin Sens. 1, H317

Bewertung durch die DFG-Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe (MAK1990/2009)

Krebserzeugend Kategorie 2

Kennzeichnung „H“ für Gefahr der Hautresorption

Kennzeichnung „Sh“ für Gefahr der Sensibilisierung der Haut

### 3. Einleitung

p-Chloranilin (pCA) ist ein aromatisches Amin und Vertreter der Stoffgruppe der Chloraniline, die sich sowohl aus den Chlorbenzolen als auch aus den Anilinen ableitet. Der Stoff ist von einer hohen Symmetrie gekennzeichnet und weist im Vergleich zu anderen Chloranilinen einen hohen Schmelzpunkt auf. Bei Raumtemperatur ist pCA eine feste, hellgelbe, kristalline Substanz mit schwachem Geruch nach aromatischem Chloramin. Bei Lagerung in geschlossenen Behältern im Dunkeln ist die Verbindung stabil (BUA 1995; MAK 1990).

Im Vergleich zu Anilin weist pCA eine höhere Lipophilie auf, die eine bessere Aufnahme von pCA in die Zellen ermöglicht (Cserhati, 1984).

Hinsichtlich der Art der toxischen Wirkung ähnelt pCA dem Anilin. Auch bei pCA steht im Vordergrund der nicht-kanzerogenen Effekte die akute toxische Wirkung von pCA. Diese beruht, ähnlich wie auch bei Anilin, auf der starken Bindungsaffinität von pCA zu Hämoglobin, die auf eine vergleichsweise starke N-Oxidation im Stoffwechsel zurückzuführen ist. pCA schädigt wie Anilin die Erythrozyten und ist ein starker Methämoglobinbildner (MetHb-Bildner). Unterschiede bestehen hinsichtlich der Wirkstärke. In der Literatur wird für pCA ein Hämoglobin-Bindungsindex (HBI) von 569 genannt, der von Anilin beträgt 22 (Neumann, 2003). Als Ursache werden Unterschiede im Aufbau und in der Stellungsisometrie vermutet. Es wird angenommen, dass die Position von Cl in para-Stellung zur funktionellen Gruppe die metabolische Eliminierung begünstigt und die Wirksamkeit von pCA im Vergleich zu Anilin steigert.

In Folge der MetHb-Bildung kann es symptomatisch zu einer Zyanose und nachfolgend zu Veränderungen hämatologischer Parameter wie Anämie, Heinz-Körper-Anstieg und Retikulozytose kommen. Neben Schädigungen des Bluts und des blutbildenden Systems sind auch Hämosiderinablagerungen in Milz, Leber und Nieren und Hämatopoese in Milz und Leber, Kongestion der Milz bei Maus und Ratte sowie erhöhtes Gewicht der Milz bei der Maus beschrieben worden. Auch neurotoxische Wirkungen wie Lähmungserscheinungen infolge Sauerstoffmangels und zerebraler Schädigung wurden beschrieben (Okazaki et al. 2003).

Untersuchungen zur kanzerogenen Wirkung von pCA beim Menschen liegen nicht vor.

Zur Bestimmung der Kanzerogenität bei Tieren liegen u. a. Untersuchungen an F344-Ratten und B6C3F1-Mäusen im Rahmen des NTP (1989) vor. Vor allem bei den männlichen Tieren wurde eine erhöhte Tumorzinzidenz in Milz und Leber nach Verabreichung von pCA-Hydrochlorid per Gavage über einen Zeitraum von 2 Jahren (5 Tage/Woche) festgestellt. Bei den weiblichen Tieren wurden vermehrt Vorstufen der Tumorentwicklung beobachtet. Hinsichtlich der kanzerogenen Wirkung deuten die vorliegenden Ergebnisse auf eine höhere Empfindlichkeit der männlichen Tiere hin.

Die Ergebnisse hinsichtlich der Art der beobachteten Tumoren decken sich mit denen einer vorangegangenen Studie (NCI, 1979) und sind vergleichbar mit den Befunden nach Exposition gegenüber Anilin (CIIT, 1982, MAK, 2002, SCOEL, No. 153, 2010 und 2015). Es wird angenommen, dass die kanzerogene Wirkung sowohl bei Anilin als auch bei pCA als sekundärer Effekt der Methämoglobinbildung und eine Folge der Freisetzung von Eisen und eines daraus resultierenden Erythrozyten-

Abbaus ist und zur Schädigung bei diesen Stoffen vorrangig der Milz führt. Daher werden im Weiteren zur Bewertung der toxischen Effekte von pCA auch die Effekte nach Anilin-Exposition vergleichend herangezogen. Allerdings bestehen Unterschiede hinsichtlich der Wirkstärke zwischen pCA und Anilin. Diese werden auch mit Einflüssen der Stellung funktionaler Gruppen innerhalb der Verbindungen begründet. Die para-Stellung von Chlor zur Aminogruppe im pCA bewirkt eine höhere Met-Hb-Bildung im Vergleich zu Anilin oder auch ortho-Chloranilin oder meta-Chloranilin.

Ausführliche Beschreibungen pCA-relevanter toxikologischer Studien sind u.a. in der MAK Begründung (MAK 1990/2009), dem BUA Stoffbericht 153 (1995), der AGS-Begründung (1997) sowie in internationalen pCA Reviews wie z. B. IARC-Monograph 57 (1993), NTP-Report 43 (1998), WHO-Bericht (CICADS Dokument Nr. 48, 2003) zu finden. Weiterhin sind diverse Stoffinformationen und toxikologische Daten in Stoffdatenbanken wie z. B. TOXLINE, RTECS oder TOXNET hinterlegt.

Die folgende Darstellung konzentriert sich auf die für die Ableitung eines AGW maßgeblichen Studien. Aber auch Studien zu kanzerogenen Endpunkten werden betrachtet, um eine mögliche AGW-Ableitung beurteilen zu können.

## 4. Toxikokinetik/Metabolismus und Wirkmechanismus

### 4.1: Toxikokinetik/Metabolismus

pCA wird schnell und nahezu vollständig nach einmaliger Gabe vom Organismus resorbiert und metabolisiert (WHO, CICADS 48, 2003).

Die Metabolisierung von pCA verläuft wie auch von Anilin (CAS 62-53-3) hauptsächlich über 3 Wege und ist bei Mensch und Versuchstieren ähnlich (WHO, CICADS 48 2003). Im Blut und im Urin nachgewiesene Hauptmetaboliten sind N-Acetyl-2-amino-5-Chlorphenylsulfat und 4-Chloroxalsäureanilid (Fließschema der Hauptmetabolisierungspfade nach WHO, CICADS 48, 2003 - Anhang 1).

1. Weg: - C-Hydroxylierung in der ortho-Stellung zu 2-Amino-5-Chlorphenol;  
- Sulfat-Konjugation zu 2-Amino-5-Chlorphenylsulfat  
- Acetylierung zu N-Acetyl-2-amino-5-Chlorphenylsulfat (im Urin nachgewiesen)
2. Weg: - Acetylierung zu 4 -Chloracetanilid (vor allem im Blut nachgewiesen)  
- Transformation zu 4 -Chlorglykolsäureanilid und 4-Chloroxalsäureanilid (im Urin nachgewiesen)
3. Weg: - Oxidation über 4-Chlor-N-phenylhydroxylamin zu 4-Chlornitrosobenzen (in Erythrozyten)

pCA ist ein starker Methämoglobinbildner.

Die Metabolisierungspfade von pCA konnten durch Untersuchungen im Rahmen akuter Vergiftungsfälle beim Menschen bestätigt werden.

Yoshida et al (Yoshida et al. 1991, 1992a, b, Literatur in Japanisch, zit. in WHO CICADS 48, 2003) beschreiben einen akuten Vergiftungsfall (keine Details zu Exposition oder Dosis), bei dem pCA (0.5% frei, 62% total), 2-Amino-5-chlorphenol (36%) und 2,4-Dichloroanilin (1.7%), als Ausscheidungsprodukte im Urin mittels HPLC detektiert wurden. Die biphasische Elimination der Metabolite war hierbei schneller ( $t_{1/2}$  von 1,7h für die erste Phase und 3-4h für die zweite Phase) als die Eliminierung von pCA ( $t_{1/2}$  von 2,4h bzw. 4,5h). Sowohl pCA als auch ein Metabolit waren noch nach 4 Tagen im Urin nachweisbar.

Reaktive Metabolite von pCA binden kovalent an Hämoglobin und an Proteine in Leber und Nieren. Beim Menschen sind Hämoglobin-Addukte bereits 30 min nach Exposition nachweisbar (Dial et al., 1998, zitiert in CICADS 48, 2003).

## 4.2 Wirkmechanismus (zum Wirkprinzip der Kanzerogenität vgl. Kapitel 8)

Akute Vergiftungssymptome zeigen sich in einer Zyanose, beruhend auf einer starken Methämoglobinbildung infolge der Oxidation von  $\text{Fe}^{2+}$  zu  $\text{Fe}^{3+}$  im Hämoglobin-Molekül.  $\text{Fe}^{3+}$  kann keinen Sauerstoff binden. Das verbleibende  $\text{Fe}^{2+}$ -Hämoglobin hat eine erhöhte Affinität zu Sauerstoff, so dass die Sauerstoff-Hämoglobin-Dissoziationskurve nach links verschoben wird. Als Konsequenz ist die Sauerstoffabgabe an die Gewebe reduziert und eine systemische Hypoxie tritt auf (Messmer, 2015, Barfield et al. 2015).

Neben den Symptomen einer Methämoglobinämie und Zyanose treten Effekte in Blut, Leber, Milz und Nieren auf, wie Veränderungen hämatologischer Parameter, Splenomegalie sowie moderater bis schwerer Hämosiderose in Milz, Leber und Nieren, z.T. begleitet von extramedullärer Hämatopoese. Diese Effekte treten sekundär nach exzessiver substanz-bedingter Hämolyse auf. Sie sind ein Zeichen für eine regenerative Anämie (NTP 1989, zitiert in WHO CICADS 48, 2003). Da pCA Methämoglobinämie hervorruft (beruhend auf metabolischer N-Oxidation), wurde spekuliert, dass die erhöhte Inzidenz an Milztumoren auf diese hämatotoxische Wirkung zurückgeführt werden kann (NTP, 1989+1998 zitiert in Calif. OEHHA 2010). Diese hämatotoxische Wirkung wurde bei Untersuchungen sowohl an Katzen und Hunden als auch an Ratten, Mäusen und Hamstern beobachtet. Dabei erwies sich die Katze als besonders empfindliche Spezies (siehe auch Anhang, Anlage 3, 5 und 6; McLean et al. (1969), Bayer AG (1984), Kondrashov (1969b); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003).

pCA wirkt kanzerogen in männlichen Ratten mit der Induktion von Milztumoren (Fibrosarkome und Osteosarkome). In weiblichen Ratten kommt es zu einer Zunahme der entsprechenden Vorstufen der Tumorentwicklung (WHO CICADS 48, 2003). Die Induktion von ungewöhnlichen Tumoren der Milz in Ratten initiierte Studien zur Pathogenese der Milz-Läsionen. Fibrosen der Milz wurde in allen mit pCA behandelten Dosisgruppen beobachtet (Goodman et al, 1984, zitiert in WHO CICADS 48, 2003) und können als typisch für die chronische Wirkung von Methämoglobinbildnern angesehen werden. Die Autoren schlugen als Wirkmechanismus vor, dass Methämoglobin, gebunden an pCA oder seine reaktiven Metabolite, in der Milz abgebaut wird und die reaktiven Metabolite dabei freigesetzt werden. Diese können an mesenchymalen Gewebe der Milz binden und fibrotische Veränderungen hervorrufen, welche zur Bildung von Milztumoren voranschreiten können. Bus & Popp (1987, zitiert in WHO CICADS 48, 2003) gehen davon aus, dass die Bildung von Milztumoren auf der Toxizität der Erythrozyten beruht. Beschädigte Erythrozyten werden in der Milz abgefangen, wo sie zu einer Verstopfung von Gefäßen, Hyperplasie, Fibrose und Tumoren führen können. Ob der Mechanismus der Bildung von Milztumoren auf genotoxischen oder nicht-genotoxischen Ereignissen beruht, ist weiterhin ungeklärt (WHO CICADS 48, 2003, Uno et al. 2015).

Auch die erhöhte Inzidenz von adrenalen Phaeochromozytomen in Ratten beiderlei Geschlechts wurde mit einer toxischen Wirkung von pCA in Verbindung gebracht (vgl. auch Greim et al 2009). Es gibt Hinweise auf eine karzinogene Wirkung bei männlichen Mäusen, begründet durch das Auftreten von hepatozellulären Tumoren und Hämangiosarkomen (MAK, 1990; WHO CICADS 48, 2003).

Es wird vermutet, dass die Unterschiede zwischen Ratte und Maus in Hinblick auf Neoplasien der Milz und Leber auf Unterschiede in der Verstoffwechselung von pCA beruhen. Mäuse weisen eine etwa 10fach höhere initiale Abbaurate von pCA im Vergleich zu Ratten oder Hunden auf (Perry et al., 1981 und NTP, 1989 zitiert in WHO CICADS 48, 2003). Für Anilin als strukturverwandte Substanz konnte eine höhere Konzentration des mutmaßlichen reaktiven Metaboliten Phenylhydroxylamin (3. Metabolisierungspfad) in Ratten im Vergleich zu Mäusen nachgewiesen werden. Darüber hinaus weisen Mäuse höhere Konzentrationen an Methämoglobinreduktase auf als Ratten (WHO CICADS 48, 2003).

Ein Vorschlag zu möglichen Wirkmechanismen von Anilin und strukturverwandten Verbindungen wurde von Lewalter und Korallus (1985), Bus und Popp (1987, Schema siehe Anhang, Anlage 2) und Käßlerlein et al. (2014) veröffentlicht und diskutiert.

Es ist davon auszugehen, dass Menschen bezogen auf die Methämoglobinbildung eine höhere Empfindlichkeit als Nagetiere aufweisen. Dies kann mit Untersuchungen begründet werden, welche zeigen, dass die Enzymspiegel in Erythrozyten (z.B. der NADH-abhängigen Methämoglobinreduktase) in

Ratte und Maus 5fach bzw. 10fach über den humanen Spiegeln lagen (WHO CICADS 48, 2003). Für Anilin ist bekannt, dass die orale Dosis für eine akute Methämoglobinämie im Menschen unter Berücksichtigung des Körpergewichts 10-100fach geringer ist als in Ratte oder Hund, (EU, 2002 zitiert in WHO CICADS 48, 2003). Für pCA sind jedoch die vorliegenden Daten für eine Quantifizierung dieser art-spezifischen Unterschiede nicht ausreichend.

Über die zuvor genannten Befunde hinaus bewirkte pCA in *in vitro* Tests mit Lebermikrosomen aus Maus, Ratte, Meerschweinchen und Kaninchen eine Depletion des Glutathion-Gehaltes und könnte somit seine hepatotoxische Wirkung über eine Erhöhung des oxidativen Stresses ausüben (Aikawa, 1978 zitiert in MAK, 1990).

Schemata zur Metabolisierung sind im Anhang in Anlage 1 und 2 dargestellt. Studien zur Untersuchung der Toxikokinetik von pCA sind im Anhang, Anlage 3, zusammengefasst. Ausgewählte Studien zur akuten Toxizität, die Hinweise auf mechanistische Zusammenhänge liefern, sind im Anhang, Anlage 4, zusammengefasst.

## 5. Toxizität nach wiederholter Belastung (AGW-relevante, nicht krebserzeugende Wirkung)

### Erfahrungen am Menschen

Eine Exposition gegenüber pCA am Arbeitsplatz kann bei der Herstellung und Verarbeitung von industriellen Färbe- und Druckverfahren, Pflanzenschutzmitteln und Arzneistoffen durch Einatmen von pCA-haltigen Staub oder durch Hautkontakt mit diesem oder pCA-haltigen Produkten erfolgen.

Aus der rezenten Literatur sind einige wenige Fallbeschreibungen von akuten Vergiftungsfällen mit pCA bekannt (siehe auch Kapitel 4). Drei Fälle akuter Methämoglobinämie traten bei frühgeborenen Säuglingen auf, bei denen die Innenluft der Inkubatoren fälschlicherweise mit Chlorhexidinglukonat-Lösung (0,025 g/100 ml) anstatt A.dest. befeuchtet wurde. Chlorhexidin zerfällt spontan unter pCA-Freisetzung. Dieser Prozess wird durch Wärmezufuhr, wie beim Befeuchtungsvorgang in Inkubatoren, weiter gefördert. Alle 3 Säuglinge überlebten, nach Intervention, MetHb-Konzentrationen von bis zu 44%, hervorgerufen durch perkutane und/oder inhalative pCA-Aufnahme (van der Vorst, 1990).

Aussagekräftige epidemiologische Untersuchungen zur Wirkung von pCA am Arbeitsplatz liegen nicht vor.

Für den Herstellungsprozess von pCA sind nur ältere Expositionsdaten aus einer ungarischen Produktionsstätte von Pacséri et al. (1958) mit Durchschnittswerten von 58 mg/m<sup>3</sup> (Bereich 37 bis 89) und 63 (Bereich 46-70) mg/m<sup>3</sup> (Messung an zwei Stellen in einer Anlage) bekannt. Neuere Daten waren nicht verfügbar.

Im Bereich der Verarbeitung von pCA sind ältere Daten aus einer russischen Monuron-Produktionsstätte verfügbar. Die angegebenen Konzentrationen liegen im Bereich von 0,2 bis 2,0 mg/m<sup>3</sup> (Levina et al., 1966).

Neuere Daten zur Inhalation von pCA an Produktionsstätten sind nicht vorhanden.

Die klinischen Befunde und die Bewertung der genannten Studien sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Gemessene oder geschätzte Daten zur dermalen Exposition von pCA an den verschiedenen Arbeitsplätzen sind nicht verfügbar (WHO CICADS 48 2003).

Tabelle 1: Humanstudien

Art der Studie/ Größe der Kohorte/ Land	Studien- zeitraum	Art des Betriebes/ Expositionsbe- schreibung	Expositionskonz.	Ergebnisse/ Bewertung	Referenz
6 Personen Ungarn	April-Mai 1954; 4 w	Produktionsbetrieb; Inhalation und dermale Exposition	2 Messpunkte: 1. Reinigungsprozess: 58 (37 - 89) mg/m <sup>3</sup> 2. Redoxprozess: 63 (46 - 70) mg/m <sup>3</sup>	Zyanose, Kopfschmerzen, Schwindel 2/6 Personen: Anämie MetHb: 1.6 – 2.8g/100ml Blut	Pacséri et al. (1958), zitiert in BUA, 1995;

Art der Studie/ Größe der Kohorte/ Land	Studien- zeitraum	Art des Betriebes/ Expositionsbe- schreibung	Expositionskonz.	Ergebnisse/ Bewertung	Referenz
				Sulf-Hb: 0.5/100 ml Blut, Beide Werte waren höher als bei Arbeitern anderer Betriebe	WHO CICADS 2003
90 Arbeiter, frühere Sowjet- union	6 m	Produktionsbetrieb; Herstellung von Monuron (3-(4- Chlorphenyl)-1,1- dimethylharnstoff); Inhalation	Mischexposition gegen 0.2-2.0 mg/m <sup>3</sup> pCA sowie Chlorben- zol, Phosgen, Dime- thylamin, <i>p</i> - Chlorphenylisocyanat	Untersuchungen bei Schichtende; bei 14 Pers: MetHb u. Heinz-Körper ↑; 4 Pers.: leichte Zyanose, Kopfschmerzen, Übelkeit, Hb u. Erythrozyten ↓; MetHb, Heinz-Körper, ↑	Levina et al., 1966; zitiert in BUA, 1995; WHO CICADS 2003
USA	Langzeit- messun- gen (8-h zeitge- wichteter Mittelwert	Textilfärberei- Fabriken (Wiegen u. Mischvorgänge)	Pers.-bezogene Pro- benahme von 24 Textilwaagen; 95. Perzentil 0,27 mg/m <sup>3</sup> ; Konz. d. Färbemittel: 0.007-0.56 mg/m <sup>3</sup> ≡ unter 27 ng pCA / m <sup>3</sup>	Annahme: pCA-Gehalt in Pigmenten: <100mg/kg; 100% Inhalation u. 8h- Inhalationsvol.: 10m <sup>3</sup> sowie KG=64 kg: Exposi- tion pro Tag: < 4ng/kg KG/d	US EPA 1990, IPCS, 1994

### Tierexperimentelle Untersuchungen

Es liegen Untersuchungen an Ratten, Mäusen und Meerschweinchen zur wiederholten Expositionen gegenüber pCA vor. Eine tabellarische Zusammenstellung verfügbarer Daten ist im Anhang, Anlage 5 (orale Gabe) und in Anlage 6 (Inhalationsstudien) zu finden.

In einer 4-Monats-Inhalationsstudie von Kondrashov et al. (1969b) wurde nach Inhalation von 1 mg/m<sup>3</sup> pCA bei der Ratte eine verringerte Erythrozytenanzahl und Hämoglobinkonzentration im Blut beschrieben. In einer weiteren Studie (Zvezdaj et al. , 1970) wurde nach Inhalationsversuchen an Ratten ein Anstieg der MetHb-Konzentration vor allem in den beiden ersten Monaten gefunden. Aufgrund der limitierten Dokumentation können diese Inhalationsstudien jedoch nicht zu einer Bewertung hinsichtlich eines Arbeitsplatzgrenzwertes (AGW) oder einer Exposition-Risiko-Beziehung (ERB) herangezogen werden.

#### - Endpunkt Neurotoxizität

Es liegen nur begrenzt neurotoxikologische Daten an Säugermodellen vor. Eine Studie von Okazaki et al., 2003, untersuchte die akuten und verzögert einsetzenden neurotoxischen Effekte einer einmaligen intraperitonealen Gabe von 300 mg/kg pCA. Nach transienten akuten Intoxikationssymptomen mit Zyanose, unregelmäßiger Atmung und verminderter Aktivität der Tiere folgte die Ausbildung von funktionellen Defiziten. Diese manifestierten sich mit Lähmungserscheinungen der hinteren Extremitäten, Beeinträchtigungen des Stellreflexes, vermindertem Aufrichten der Tiere und reduzierter Greifkraft in den Vorder- und Hinterfüßen. Einige dieser Defizite zeigten eine Rückbildungstendenz. Darüber hinaus kam es zur Ausbildung fortschreitender histopathologischer degenerativer Befunde in Hirn, Rückenmark und peripheren Nerven. Die Studie zeigt einen hohen Grad an funktionellen Untersuchungen (in Anlehnung an Moser et al. 1991) und histopathologischen Befundungen (in Anlehnung an OECD TG 424, 1997), wurde allerdings nur in einer Dosisgruppe und mit einer einmaligen Hochdosisexposition durchgeführt. Sie kann daher, auch wegen der Art der Applikation, nur als bedingt aussagefähig für die Ableitung einer ERB oder eines AGW herangezogen werden.

Untersuchungen in zwei Kanzerogenitätsstudien mit pCA an Fischer 344 Ratten und B6C3F1 Mäusen (NCI No. 189, 1979) und zwei Kanzerogenitätsstudien mit pCA-HCl an Fischer 344/N Ratten und B6C3F1 Mäusen (NTP, 1989) zeigten in den täglichen klinischen Befundungen der Tiere Zyanose-Erscheinungen in männlichen Ratten bei 6 mg/kg/d pCA-HCl und bei 18 mg/kg/d in beiden Geschlechtern. In der 2-Jahres-Kanzerogenitätsstudie mit pCA an Ratten wurden keine klinischen Befunde im Versuchsverlauf beschrieben, ebenso nicht in den Mäusestudien. Voruntersuchungen zur Dosisfestlegung für die Kanzerogenitätsstudien über 16 Tage mit pCA-HCl an Fischer 344/N Ratten und

B6C3F1 Mäusen (NTP, 1989) zeigten Zyanose bei männlichen und weiblichen Ratten ab 25 mg/kg KG/d und Mortalität nach fortschreitender Lethargie ab 200 mg/kg KG/d und zyanotische Veränderungen bei Mäusen ab 25 mg/kg KG/d. Die Dosis von 25 mg/kg KG/d stellen für beide Spezies jeweils die niedrigste getestete Konzentration dar (siehe Tabelle in Anlage 7).

Auf Basis der gegenwärtigen Datenlage muss von einer akuten und chronischen neurotoxischen Wirkung von pCA nach Hochdosisexposition (in Dosierungen, die z.B. zu Zyanose führten) im Tierversuch ausgegangen werden.

#### - Endpunkt Reproduktionstoxizität

Es liegen keine reproduktionstoxikologischen Studien an Säugermodellen vor. Um eine potentielle reproduktionstoxische Wirkung von pCA bewerten zu können, wurde auf die Befunde von 2 Kanzerogenitätsstudien mit pCA an Fischer 344 Ratten und B6C3F1 Mäusen (NCI 189, 1979) und auf die Befunde von 2 Kanzerogenitätsstudien mit pCA-HCl an Fischer 344/N Ratten und B6C3F1 Mäusen (NTP, 1989) zurückgegriffen. Die Inzidenz von Neoplasien und nicht-neoplastischen Läsionen in den Reproduktionsorganen, der Hypophyse, der Brustdrüsen sowie der Nebennieren lassen nicht auf expositionsbedingte Effekte im Sinne einer reproduktionstoxischen Wirkung bei einer täglichen Exposition mit 5000 ppm im Futter bzw. 30 mg/kg/d oral per Gavage über einen Zeitraum von 2 Jahren schließen. Eine hohe Inzidenz von Interstitialzell-(Leydig-Zell-) Tumoren wurde in allen Untersuchungsgruppen, einschließlich der Kontrollgruppe, der Rattenstudien beobachtet. Die Inzidenz in der höchsten Dosisgruppe (30 mg/kg/d pCA) war statistisch signifikant erhöht (46/50 Tiere vs. 36/49 Tiere in der Kontrolle), lag aber in der Schwankungsbreite der historischen Kontrolldaten (untere Grenze 32/50, obere Grenze 49/50). Analoge Befunde wurden in den Mäusestudien nicht beobachtet. Eine expositionsbedingte Genese kann somit nicht als gesichert angesehen werden. Eine mögliche, expositionsbedingte Erhöhung der Inzidenz von Phaeochromozytomen (NTP, 1989) in männlichen Ratten liegt, obwohl statistisch signifikant, ebenfalls in der Schwankungsbreite der historischen Kontrolldaten. Phaeochromozytome sind, im Gegensatz zum Menschen, besonders in männlichen Ratten ein häufiger Altersbefund mit historischen Kontrollgruppeninzidenzen von 13-41% (Greim et al., 2009). Da es sich bei Phaeochromozytomen um Katecholamin-produzierende Tumoren handelt, ist die Bewertung dieses Befundes nicht relevant für eine reproduktionstoxikologische Einschätzung. Die Nebennieren wurden in diese Betrachtungen mit einbezogen, da in der *Zona reticularis* der Nebennierenrinde auch Androgene gebildet werden und pathophysiologische Veränderungen dieser Strukturen zu Störungen der Reproduktionsfähigkeit in beiden Geschlechtern führen können.

Darüber hinaus liegen Untersuchungen zum Einfluss von o-Chloranilin, m-Chloranilin und 2,4-Dichloranilin auf die Fehlbildungsrate von Spermien in (CBA♂xBALB/c♀) F1 Mäusen vor (Topham, 1980). Keine der aufgeführten strukturverwandten Substanzen führte nach 5-tägiger Applikation in Konzentrationsstufen bis zur letalen Dosis und einem Nachbeobachtungszeitraum von einem halben spermatogenen Zyklus (notwendig zur Ausbildung möglicherweise geschädigter Spermien) zu einer Zunahme missgebildeter Spermien.

Das Fehlen aussagekräftiger reproduktionstoxikologischer Studien an Säugermodellen lässt eine abschließende Bewertung nicht zu. Die vorliegenden Daten sprechen nicht für eine Beeinträchtigung der Fertilität bei Säugern. Da der Wirkmechanismus einer Methämoglobinbildung mit nachfolgender systemischer Hypoxie auch für Nicht-Säuger-Tiermodelle angenommen werden kann, sind fruchtschädigende Effekte beim Menschen beim gegenwärtigen Stand der Daten nicht abschließend zu bewerten.

Die Angaben zur Reprotoxizität von pCA sind im Anhang im Anhang in Tabelle 8 zusammengefasst.

## 6. Genotoxizität

### In vitro

Es liegt eine Vielzahl an *in vitro* Untersuchungen zur Bewertung der Genotoxizität von pCA vor. Diese sind detailliert im Anhang in Anlage 9, Tabelle 1, zusammengestellt. Sie sind u.a. in der MAK Begründung (MAK 1990/2009), dem BUA Stoffbericht 153 (1995), der AGS-Begründung (1997) sowie in internationalen pCA-Reviews wie z. B. IARC-Monograph 57 (1993), NTP-Report (1998), WHO-Bericht (CICADS 48, 2003) ausführlich beschrieben worden.

Die Studien konzentrieren sich vorrangig auf die Untersuchungen des genotoxischen Potentials von pCA auf Bakterien (*Salmonella typhimurium*-Stämme, *Escherichia coli*), Pilze (*Aspergillus nidulans*, *Saccharomyces cerevisiae*) und Säugetierzellen.

Die Ergebnisse der *Salmonella*-Mutagenitätstests (Ames Tests) sind uneinheitlich. Schwache mutagene Aktivitäten waren wiederholt in Gegenwart von S9-Mix (metabolische Aktivierung) zu beobachten, vermutlich auch aufgrund optimierter Testbedingungen in den später durchgeführten Untersuchungen. Keine mutagene Wirkung/ biologische Aktivität konnte mit dem Umu-Test mit *Salmonella typhimurium* oder in Mutagenitätstests mit *Escherichia coli* oder *Saccharomyces cerevisiae* (Fehlen der mitotischen Rekombination) beobachtet werden.

Im Gegensatz hierzu hatte pCA eine positive Wirkung auf Schäden im Pol A-Test mit *Escherichia coli* und *Aspergillus nidulans*. pCA induzierte DNA-Schäden im Pol A-Test mit *Escherichia coli* (Rosenkranz & Poirier, 1979) und Genmutationen in *Aspergillus nidulans* (Prasad et al., 1970, Anlage 9).

Weiterhin liegen Ergebnisse von *in vitro*-Tests auf Genmutationen in Säugetierzellen sowie Untersuchungen zur außerplanmäßigen DNA-Synthese in primären Ratten-Hepatozyten vor (siehe Anlage 9, NCI, Zaika et al. 1990). Einige Tests zu anderen Endpunkten wie mitotischer Rekombination, Induktion von DNA-Strangbrüchen, Chromosomenaberrationen und Schwesterchromatid-Austausch liegen vor (siehe Anlage 9, Anderson et al. 1990). Bei verschiedenen Mouse-Lymphoma-Assays konnte eine mutagene Aktivität nach Gabe von pCA sowohl mit als auch ohne metabolische Aktivierung nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu waren die Testergebnisse für die Induktion von Chromosomenaberrationen und Schwesterchromatid-Austausch in Ovarialzellen des chinesischen Hamsters (CHO-Zellen) und für die Induktion von DNA-Reparatur in primären Rattenhepatozyten (UDS-Test) uneinheitlich.

P-Chloranilin war beim Ames Test und *in vitro* Chromosomenaberrationen-Testen positiv, scheint aber für seine vollständige Expression von metabolischer Aktivierung (S9) abhängig zu sein. Die Ergebnisse deuten auf ein genotoxisches Potential hin.

## In vivo

Verwertbare *in vivo* Untersuchungen zur Beurteilung der Genotoxizität von pCA liegen nur wenige vor. Diese sind ebenfalls im Anhang in Anlage 9, Tabelle 2, zusammengestellt. Ausführliche Beschreibungen sind u.a. der MAK Begründung (MAK 1990/2009), dem BUA Stoffbericht 153 (1995), der AGS-Begründung (1997) sowie internationalen pCA-Reviews wie z. B. IARC-Monograph 57 (1993), NTP-Report (1998), WHO-Bericht (CICADS 48, 2003) zu entnehmen.

Die Verfütterung von pCA (7,84 mmol pCA/l (=1mg/l)) an 3 Tage alte *Drosophila melanogaster*-Larven über 6 Stunden führte im somatischen Mutations- und Rekombinationstest (SMART) zu Punktmutationen, Chromosomenbrüchen und mitotischen Rekombinationen. Es wurde eine Zunahme von Einzel- und Doppelspots an Flügeln beobachtet (Graf et al., 1990, zitiert in WHO CICADS Dokument Nr. 48, 2003).

Die orale Gabe (Gavage) von 180 mg pCA/kg KG (max. verträgliche Dosis) als Suspension in Tragant an CFLP Mäusen (♀, ♂) verursachte keine signifikante Erhöhung der Mikrokerne im Femurknochenmark im Zeitbereich von 24 bis 72 h nach der Verabreichung und wurde als negativ bewertet (BUA Stoffbericht 153,1995, zitiert in WHO CICADS 48, 2003).

In einer weiteren Studie wurden B6C3F1-Mäusen 0, 25, 50, 100, 200 oder 300 mg pCA/kg KG in phosphatgepufferter Kochsalzlösung 3 x in 24 Stunden per Gavage verabreicht. 24 Stunden nach der letzten Behandlung wurde eine signifikante Erhöhung der Mikrokerne bei der höchsten Dosis (300



mg/kg KG) beobachtet ( $p < 0.001$ ), nicht aber bis 200 mg/kg KG (zitiert in WHO CICADS 48, 2003, Hinweis auf unveröffentlichten NTP Report (2001)). Es sind keine weiteren Angaben vorhanden.

Im Vergleich dazu führte eine zweimalige intraperitoneale Gabe von 300 mg/kg **Anilin** an weibliche und männliche CD-1-Mäusen zur vermehrten Bildung von Mikronuklei in Knochenmarkszellen. Die zweimalige Gaben von 0, 30 oder 100 mg/kg KG zeigten keine Effekte (ECHA 2016).

Die Testung von **pCA** im alkalischen Comet-Assay *in vivo* über 3 Tage in männlichen Sprague-Dawley-Ratten in Konzentrationen von 0, 37.5, 75 und 150 mg/kg KG/d (orale Gabe, Schlundsondenapplikation) führte zu einer signifikanten Erhöhung der Anzahl von DNA-Fragmenten ab 75 mg/kg KG/d in Hepatozyten und Drüsenmagenepithel. Ab 37.5 mg/kg KW/Tag wurden klinische Vergiftungssymptome inkl. Zyanose beobachtet (Barfield & Burlinson, 2015).

Die positiven Befunde im Maus-Mikrokerntest (300 mg/kg KG) und alkalischen Comet-Assay in der Ratte (ab 75 mg/kg KG) weisen auf eine DNA-schädigenden Wirkung von **pCA** *in vivo* hin.

Die Ergebnisse der *in-vivo* Untersuchungen stützen die Annahme eines genotoxischen Potentials von **pCA**. *In vivo* wurde die Induktion von Mikronuklei in Knochenmarkszellen von Mäusen beobachtet. DNA-Schäden und Chromosomenaberrationen wurden in Ratten (Hepatozyten und Drüsenmagenepithel), B6C3F1-Mäusen und *Drosophila melanogaster*-Larven beobachtet. Allerdings sind NOAEL dokumentiert und die Effekt-Level für positive Effekte in *in vivo* Studien zur Genotoxizität liegen deutlich höher als die Effekt-Level für Methämoglobinämie und entsprechenden Sekundäreffekten.

Die Ergebnisse der genotoxischen Daten stimmen in ihrer Tendenz mit den Untersuchungen zur Genotoxizität von Anilin überein. Auch hier sind sowohl positive als auch negative Befunde beobachtet worden. Positive Ergebnisse waren in der Regel auf hohe Dosen beschränkt, die von Anzeichen von Toxizität begleitet waren (SCOEL/SUM 153, 2010).

## 7. Kanzerogenität

### In vitro

Ein Zelltransformationstest mit **pCA** (14,5 und 19,0 µg/ 52000 Zellen) an Ratten-Embryozellen, die mit Rauscher-Leukämieviren infiziert waren, wurde als positiv bewertet (Traul et al., 1981).

Gegensätzliche Untersuchungsergebnisse wurden für die Transformationsaktivität von **pCA** in Hamster-Embryozellen bei identischen Testkonzentrationen von 0,01 bis 100 µg/ml veröffentlicht (keine transformierten Kolonien in der Veröffentlichung von Pienta et al., 1977; positive Bewertung, transformierte Kolonien bei allen Testkonzentrationen in einer späteren Veröffentlichung von Pienta & Kawalek, 1981).

### 7.1 Tierexperimentelle Daten

#### inhalativ

Es liegen keine Daten vor.

#### oral

Zur Bewertung der Kanzerogenität liegen 2 Langzeit-Studien an F344/N-Ratten und B6C3F1-Mäusen beiderlei Geschlechts vor.

In der NCI-Studie (1979) wurde über einen Zeitraum von 78 Wochen (5 Tage/Woche) technisches **pCA** mit dem Futter an Ratten und Mäuse in Konzentrationen von 250 und 500 ppm (Ratten, ♂, ♀) und 2500 und 5000 ppm (Mäuse, ♂, ♀) verabreicht. Nach einer sich anschließenden Nachbeobach-

tungsphase von 24 Wochen (Ratten) und 13 Wochen (Mäuse) wurden die Tiere makroskopisch und histopathologisch untersucht (NCI-Report 189, 1979).

Wegen Unsicherheiten beim Studiendesign (es wurde darauf hingewiesen, dass aufgrund der Instabilität von pCA in Gegenwart von Feuchtigkeit und der Art der Verabreichung möglicherweise geringere Dosen von den Tieren aufgenommen wurden) wurde die Studie mit pCA-HCl (99,1% Reinheit), verabreicht per Gavage, wiederholt (NTP, 1989; Chhabra et al. 1991). In dieser Studie wurde männlichen und weiblichen F344/N-Ratten (2, 6, 18 mg pCA-HCl/kg KG) und B6C3F1-Mäusen (3, 10, 30 mg pCA-HCl/kg KG) über einen Zeitraum von 103 Wochen (5 Tage/Woche) pCA als Hydrochlorid verabreicht.

Die Ergebnisse beider Studien sind im Anhang in Anlage 10 zusammengefasst. Detaillierte Bewertungen sind in den Reviews u.a. der MAK Begründung (MAK 1990/2009), dem BUA Stoffbericht 153 (1995), der AGS-Begründung (1997) sowie in internationalen pCA-Reviews wie z. B. IARC-Monograph 57 (1993), NTP-Report (1998), WHO-Bericht (CICADS 48, 2003) vorgenommen worden.

In der Fütterungsstudie von 1979 wurde die kanzerogene Wirkung von pCA nicht eindeutig belegt. Bei männlichen F344-Ratten wurden in der hohen Dosisgruppe in der Milz sehr selten vorkommende Fibrome (6) und Sarkome (4) festgestellt. Bei den Mäusen war die Inzidenzrate von Hämangiomen und Hämangiosarkomen in Milz und Nieren erhöht. Bei beiden Tierspezies waren Hämosiderinablagerungen hauptsächlich in Leber, Milz und Niere als Folge des verstärkten Erythrozytenabbaus und bei Ratten nicht-neoplastische Veränderungen in der Milz (fokale Fibrosen der Kapsel) zu beobachten.

In der 2-Jahres-NTP-Studie von 1989 wurde eine kanzerogene Wirkung von pCA-HCl eindeutig an männlichen F344/N-Ratten nachgewiesen. Es wurde ein vermehrtes Auftreten von Sarkomen in der Milz beobachtet. Auch die Bildung von Phaeochromozytomen wurde auf die Gabe von pCA-HCl zurückgeführt. Phaeochromozytome und Sarkome in der Milz wurden auch bei weiblichen Ratten beobachtet, hier aber nicht als „eindeutiger Beweis der Kanzerogenität“ von den Autoren bewertet. Bei den männlichen Mäusen wurden vermehrt Hämangiosarkome in Milz und Leber und in der Leber hepatozelluläre Tumoren festgestellt. Bei weiblichen Mäusen wurde keine kanzerogene Wirkung beobachtet.

Nichtneoplastische Veränderungen traten vermehrt in Form von

- Fibrosen und Fettzellmetaplasien (in der höchsten Dosisgruppe) in der Milz bei Ratten beiderlei Geschlechts
- Knochenhyperplasien des Femurs bei den hochdosierten männlichen Ratten und bei den weiblichen Ratten der mittleren und oberen Dosisgruppe
- Zysten am *Pars distalis* des Hypophysenvorderlappens bei den weiblichen Ratten

im Vergleich zu den Kontrollen auf.

Das Auftreten einer mononukleären Leukämie war bei den pCA-HCl-exponierten Ratten im Vergleich zu den Kontrolltieren signifikant verringert. Damit wurde auch die längere Überlebenszeit der exponierten Ratten im Vergleich zu den Kontrollen begründet.

Sowohl bei Ratten als auch bei den Mäusen wurden Hämosiderinablagerungen in der Leber und bei den Mäusen auch in der Niere beobachtet. Weibliche Mäuse zeigten vermehrt Proliferationen hämatopoetischer Zellen in der Leber. Die Anzahl maligner Lymphome war bei Mäusen beiderlei Geschlechts im Vergleich zu den Kontrollgruppen signifikant verringert. Dieser ungewöhnliche Befund könnte auf den vorkommenden hämolytischen Prozessen basieren, welche in Folge zu den beobachteten Hämosiderinablagerungen führten.

Durch hämatologische Untersuchungen an männlichen und weiblichen Ratten nach 6, 12, 18 und 24 Monaten konnten frühe Anzeichen einer hämatolytischen Anämie belegt werden. Der MetHb-Gehalt war bei den Tieren aller Dosisgruppen erhöht. Nachdem der Hb-Gehalt, Hämatokrit und die Erythrozytenzahl erniedrigt und das Erythrozytenvolumen, der Hämoglobinkoeffizient und die Zahl kernhaltiger Erythrozyten zunächst erhöht waren, zeigten diese Parameter nach 24 Monaten in den Ratten der mittleren und hohen Dosisgruppe eine Normalisierung.

Die Ergebnisse der NTP-Studie liefern für männliche Ratten eine klare Evidenz für eine kanzerogene Wirkung (Milztumoren). Die Bewertung der erhöhten Phaeochromozytominzidenz kann allerdings nicht abschließend vorgenommen werden. Hier könnte ursächlich ebenfalls eine Entkopplung der oxi-

dativen Phosphorylierung beteiligt sein. Allerdings erscheinen toxische, Stress-bedingte Mechanismen für die pCA-induzierten Effekte (Hämangiosarkome, Osteosarkome, Fibrosarkome und Fibrosen), von größerer Bedeutung zu sein (MAK, 2010 (Stellungnahme zu Phaeochromozytomen); Greim et al. 2009). Bisher liegen keine Hinweise vor, dass Phaeochromozytome im Tier substanz-vermittelt über genotoxische Mechanismen induziert werden können (Ozaki et al. 2002, zit. in MAK, 2010 (Stellungnahme zu Phaeochromozytomen)). Hingegen sind viele Substanzen, die Phaeochromozytome im Tierexperiment induzieren, Entkoppler der oxidativen Phosphorylierung (MAK, 2010 (Stellungnahme zu Phaeochromozytomen); Greim et al. 2009).

Für weibliche Ratten ist die Evidenz nicht eindeutig belegt. Für männliche Mäuse ergeben sich Hinweise für eine kanzerogene Wirkung (Lebertumoren: Adenome/Karzinome und Hämangiosarkome). Für weibliche Mäuse ist keine Evidenz einer kanzerogenen Wirkung erkennbar.

## **intraperitoneal**

Ein Maus-Lungen-Tumortest mit pCA als Testsubstanz verlief negativ. pCA wurde auf seine Lungentumorerzeugende Wirkung an A/St-Mäusen untersucht (♀, ♂, 10 Tiere / Dosisgruppe). Über einen Zeitraum von 8 Wochen wurden den Mäusen 3x pro Woche 25, 57.5 bzw. 60 mg pCA/kg KG i.p., gelöst in Tricaprylin, injiziert. Nach 4 Monaten wurden die Tiere untersucht. Lungentumoren wurden nur bei einem weiblichen Tier in der Niedrig-Dosis-Gruppe gefunden. Die Überlebensrate war bei den weiblichen Tieren unverändert (10/10); bei den männlichen Tieren betrug sie 10/10, 4/10 und 9/10 in den jeweiligen Dosisgruppen (Maronpot et al. 1986).

## **7.2 Humandaten**

Es liegen keine Humandaten zur kanzerogenen Wirkung von pCA vor.

## **8. Vorherrschendes Wirkprinzip der Kanzerogenität**

Der vorherrschende toxische Effekt von pCA ist, wie bei anderen aromatischen Aminen und auch Anilin, die Methämoglobinbildung. Diese beruht auf der starken N-Oxidation im Stoffwechsel. Bei der Beschreibung des kanzerogenen Mechanismus wird diskutiert, ob die kanzerogene Wirkung hauptsächlich durch die akut und chronisch toxischen oder durch die genotoxischen Eigenschaften bestimmt wird.

- Genotoxizität

Die Ergebnisse der im Rahmen der Beschreibung des Wirkprinzips der Kanzerogenität mit zu berücksichtigenden *in vitro* Tests zur Genotoxizität zeigen, sowohl mit als auch ohne S9-Aktivierung, uneinheitliche Ergebnisse. *In vivo* wurde die Induktion von Mikronuklei in Knochenmarkszellen, von DNA-Schäden und Chromosomenaberrationen beobachtet. Für diese Effekte sind NOAEL dokumentiert und die Effekt-Level für positive Effekte in *in vivo* Studien zur Genotoxizität liegen deutlich höher als die Effekt-Level für Methämoglobinämie und entsprechenden Sekundäreffekten.

Eine ähnliche Datenlage hinsichtlich der Genotoxizität zeigt auch Anilin. Anilin ist nicht mutagen in Standard-Bakterientests. In Säugetierzellen *in vitro* sind die Ergebnisse nicht einheitlich, aber es wurden positive Ergebnisse hinsichtlich chromosomaler Effekte, SCE und Mutagenität beobachtet. *In vivo* wurde die Induktion von Mikronuklei in Knochenmarkszellen von Ratten und Mäusen beobachtet. Allerdings waren die Dosen in diesen Studien hoch und verursachten eine deutliche MHb-Bildung (Bomhard und Herbold, 2005).

- Systemische Toxizität und sekundäre Effekte

Eine pCA-bedingte Erhöhung der Methämoglobin-Werte wurde schon nach kurzer Zeit in Tierversuchen beobachtet, verbunden mit einem Anstieg der Heinz-Körper, Verringerung der Erythrozytenzahl, Zyanose bis zur Anämie und Hämosiderinablagerungen. Vergleichbare Wirkungen sind für Anilin bekannt. Die toxischen Wirkungen werden auch hier durch die N-Oxidationsprodukte Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol ausgelöst. Die wichtigsten Metabolite sind das N-Acetyl-4-aminophenol (A4AP) sowie das N-Acetylanilin (Acetanilid). Ein geringerer Teil des aufgenommenen Anilins wird zusätzlich sowohl in der Leber als auch in Erythrozyten des Blutes an der Aminogruppe zu N-Hydroxyaminobenzol und N-Nitrosobenzol oxidiert. Diese Metabolite sind für die toxische Wirkung des Anilins verantwortlich, da über diese Stoffwechselwege gleichzeitig die Bildung von Methämoglobin (MetHb) hervorgerufen wird. MetHb ist im Vergleich zum regulären Hämoglobin nicht mehr in der Lage, Sauerstoff zu binden, so dass eine Exposition gegenüber Anilin letztendlich zu einer verringerten Sauerstoffaufnahme des Blutes bis zur Zyanose führt.

Die Methämoglobinbildung führt bei Nagern insbesondere zu einer Schädigung der Milz. Bei längerer Aufnahme von Anilin wird durch Hämolyse ständig Eisen freigesetzt, das in Milz und Kupffer-Zellen der Leber zur Erhöhung des Gehaltes an freiem Eisen und in Folge dessen zur Schädigung der Erythrozyten und Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies führt. Toxische Effekte nach wiederholter Verabreichung sind in Form von Fibrosen vorrangig in der Milz, aber auch in Leber und Nieren zu beobachten.

Für die kanzerogene Wirkung scheint die Bildung von Fibrosen in den Zielorganen eine Rolle zu spielen. Ob diese Fibrosen als Folgen einer unspezifischen Zytotoxizität zum Beispiel durch Überlastung der Milz durch vermehrten Erythrozyten-Abbau einzuordnen sind, oder ob spezifische biochemische Mechanismen wie beispielsweise Beeinträchtigung der mitochondrialen Atmung oder Beeinflussung der Apoptose zum Tragen kommen, ist derzeit nicht bewertbar (MAK, 2003, Neumann, 2003). Es wird angenommen, dass die damit verbundene Schädigung der genannten Organe eine ursächliche Randbedingung für die Entstehung der Tumoren ist (Goodman et al, 1984; NTP, 1998, Neumann, 2003). Die Bewertung des kanzerogenen Potentials wird durch die Annahme einer der Tumorbildung vorausgehenden zytotoxischen Wirkung erschwert.

Untersuchungen zur Struktur-Wirkungsbeziehung von aromatischen Aminen in Hinblick auf ihre kanzerogene Wirkung zeigten, dass die Struktur der aromatischen Verbindungen die kanzerogene Potenz beeinflusst. In mono- oder polyzyklischen aromatischen Verbindungen führen Aminogruppen in  $\beta$ - oder 2-Position (zum Beispiel bei  $\beta$ -Naphthylamin) oder eine Substitution in der para-Stellung bei Phenyl- und Polyphenylverbindungen zu einer stärkeren kanzerogenen Wirkung als Amino-Substituenten in anderen Positionen. Dies scheint auf einer bevorzugten metabolischen N-Oxidation dieser Kanzerogene zu beruhen, während eine Ring-Oxidation bevorzugt ist in Verbindungen, die nicht in  $\beta$ - oder para-Stellung substituiert sind. Zusätzliche Substitution durch Methyl- oder Halogengruppen erhöht in vielen Fällen, aber nicht allen, die Kanzerogenität. Dies wird unterstützt durch den Befund, dass pCA, Cresidin und 2,6-Dimethylanilin stärkere Kanzerogene darstellen als Anilin (Talaska, 2003).

Bei monozyklischen aromatischen Verbindungen zeigt der Vergleich von ortho-, meta- und para-Chloranilin in Abhängigkeit von der Position der Substituenten eine zunehmende Bindung an Hb durch die p-Substitution (MetHb-Bildungskapazität; Hb-Index: Bindung [mmol/mol Hb] pro Dosis [mmol/kg KG]:  $0,5 < 12,5 < 569$ ; im Vergleich: Anilin: 22). Diese Reihenfolge zeigt sich bei vergleichbarem Toxizitätsmuster auch bei anderen Parametern wie Hämato-, Milz-, Nieren- Lebertoxizität (Neumann, 2003).

Es wird diskutiert, dass die toxische Wirkung von pCA, ähnlich wie auch beim Anilin, durch die N-Oxidationsprodukte ausgelöst wird. Diese führen sekundär vorrangig zu Schäden an der Milz, neben anderen Geweben. In Folge einer Hämolyse ist anzunehmen, dass der Eisengehalt sich erhöht und auch, ähnlich wie bei Anilin, Zeigerwerte der Lipidperoxidation, wie z. B. MDA, ansteigen. Diese Parameter wurden allerdings in den vorliegenden Studien nicht bestimmt. Demnach führt oxidativer Stress zu Schädigungen der Milz und anderer Organe: Die Bildung freier Radikale wurde zumindest für Anilin in der Literatur beschrieben (Brennan und Schiestl, 1999).

Weiterhin wird bei Anilin auch die Umsetzung von Phenylhydroxylamin mit Oxyhämoglobin zu Hämoglobin-thiyl-Radikalen als Ursache für die Erythrozytenalterung bzw. Hämolyse diskutiert. Danach

wäre die Freisetzung von Eisen nicht Folge des Abbaus geschädigter Erythrozyten, sondern Ursache für deren Schädigung. Es ist daher derzeit nicht eindeutig zu klären, wie der Ablauf von der MetHb-Bildung zur Milz-Toxizität genau stattfindet und welche Bedeutung der Bildung reaktiver Sauerstoffspezies genau zukommt im Gegensatz zur Vorstellung der Überforderung der Milz durch den Erythrozyten-Abbau. In diesem Zusammenhang ist auch nicht geklärt, ob die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies hier zur den genotoxischen oder den promovierenden Effekten zu zählen ist.

#### - Kanzerogenität

Es gibt eine starke Ähnlichkeit zwischen den toxischen und karzinogenen Effekten von pCA und dem strukturell ähnlichen Anilin. Beide verursachen Methämoglobinämie, beide induzieren Sarkome der Milz und Phaeochromozytome in den Nebennieren männlicher Ratten. Beide Substanzen sind in einigen Tests genotoxisch und unterliegen einer metabolischen Aktivierung zu reaktiven elektrophilen Verbindungen, welche an Makromoleküle binden können. Anilin bindet kovalent an Proteine und RNA, sowie zu einem geringeren Grad an DNA. DNA-Bindungsstudien wurden für pCA nicht durchgeführt (Calif. OEHHA, 2010).

Es liegen sowohl positive als auch negative Studienergebnisse zur Kanzerogenität bei Ratten und Mäusen vor. Die beobachteten Tumoren wurden auch nach chronischer Gabe von Anilin beschrieben (MAK 1983/2007).

Die Studien mit pCA (NTP, 1989 und NCI, 1979) an Ratte und Maus lassen unter Berücksichtigung der Unterschiede in den Tiermodellen einige Gemeinsamkeiten erkennen. Im Mittelpunkt der beobachteten Tumoren stehen Blutgefäßtumoren. Bei den positiven Befunden handelt es sich vor allem um zum Teil metastasierende Tumorlokalisationen in der Milz (Fibrome, Fibrosarkome, Sarkome, Karzinome und Hämangiosarkome), bei den männlichen Mäusen darüber hinaus auch um Lebertumoren (hepatozelluläre Adenome, Karzinome, Hämangiosarkome).

Bezüglich der Lebertumoren bei der männlichen B6C3F1 Maus ist der Mechanismus unsicher. In der Bewertung ist aber zu berücksichtigen, dass die B6C3F1 Maus eine besondere Empfindlichkeit für Lebertumore aufweist, und bezogen auf die Hämangiosarkome in der Leber mechanistisch ein Bezug zur Methämoglobinbildenden Wirkung denkbar ist, da auch in der Leber Hämosiderinablagerungen als Folge des verstärkten Erythrozytenabbaus beobachtet wurden (vgl. Anlage 10 und Nyska et al. 2004). Eine entsprechende Assoziation von Hämangiosarkomen der Leber mit Hämosiderose bei der männlichen Maus wurde auch mit anderen hämatotoxischen Stoffen beobachtet (Nyska et al. 2004).

Kirkland et al. (2016) bewerteten 2016 die vorliegenden Stoffdaten erneut und ordneten pCA weiterhin der Gruppe der genotoxischen Stoffe zu, obwohl pCA ohne HCl in der Datenbank Carcinogenic Potency Database der NTP (NTP-CPDB) als nicht genotoxisch bewertet wurde. Die kanzerogene Wirkung von pCA-HCl ist in dieser Datenbank als positiv bei männlichen Ratten (Milz) und männlichen Mäusen (Leber, blutbildendes System), basierend auf der NTP-Studie von 1989, bewertet worden. Die Ergebnisse bei den weiblichen Tieren gingen jeweils als negativ in die Bewertung ein. Da davon auszugehen ist, dass in biologischen Systemen sowohl das freie pCA als auch das Hydrochlorid-Salz vorkommen, wurde pCA sowohl ohne als auch mit Hydrochlorid-Salz von Kirkland et al. in der Gruppe der genotoxischen Stoffe belassen.

#### Fazit:

pCA zeigt ein genotoxisches Potential. Die Effekt-Level für positive Effekte in *in vivo* Studien zur Gentoxizität liegen jedoch deutlich höher als die Effekt-Level für Methämoglobinämie und entsprechende Sekundäreffekte.

Ob die Gentoxizität bei der Entstehung der Tumoren in der Milz eine Rolle spielt ist nicht bekannt.

Die verfügbaren Daten lassen für pCA eine dem Anilin vergleichbaren Mechanismus der krebserzeugenden Wirkung vermuten. Aufgrund der Dosis-Wirkungs-Beziehung sowie der zu Anilin bekannten Daten und verfügbaren Bewertungen ist plausibel, dass die Gentoxizität bei der krebserzeugenden Wirkung von pCA eine untergeordnete Rolle spielt.

## 9. Ableitung AGW

### 9.1 Relevante systemische oder lokale nicht krebserzeugende Wirkungen

Es sind keine Daten zur chronischen Toxizität von pCA nach inhalativer oder dermalen Belastung, den gängigen Expositionspfaden am Arbeitsplatz, vorhanden, die für eine Grenzwertableitung geeignet wären.

Zur Untersuchung der Toxikokinetik liegen Daten nach einmaliger Gabe vor. Entsprechende tierexperimentelle Studien deuten auf einen mehrstufigen Mechanismus hin (siehe Kapitel 4). Beim Menschen sind Hämoglobin-Addukte bereits 30 min nach Exposition nachweisbar (Lewalter & Korallus, 1985, zitiert in WHO CICADS 48, 2003). Die Art der Exposition wird bei den Humandaten nicht eindeutig genannt. Bei anderen vorliegenden Einzelfallstudien wird eine Kombination von dermalen, oraler und inhalativer Aufnahme angenommen. Eine quantitative Bewertung der Humandaten ist hier nicht möglich.

Reproduktionstoxische Effekte sind nicht bekannt. Zur Bewertung embryotoxischer Effekte in Säugermodellen liegen keine Daten vor.

In der 2-Jahres-Kanzerogenitätsstudie (NTP, 1989, F344-Ratten, m, f, oral über Gavage) wurden die Tiere hinsichtlich nichtkanzergener Endpunkte untersucht: Mortalität, klinische Symptome, Körpergewicht, klinisch-chemische Parameter, makroskopische und histopathologische Befunde. Hinsichtlich der Entwicklung der Körpergewichte und der Mortalität wurden keine Unterschiede zur Kontrollgruppe beobachtet.

In Bezug auf den postulierten Wirkmechanismus (siehe Kapitel 8) werden als Endpunkte für die nichtkanzergen Effekte die Erythrozytenanzahl und Met-Hämoglobin-Konzentration bei Ratten in der 2-Jahres-Kanzerogenitätsstudie zur Bewertung herangezogen. Eine Erhöhung der MetHb-Konzentration bewirkt einen Sauerstoffmangel in Blut und Gewebe und führt letztendlich zu Zyanose und Folgeerscheinungen. Zusätzlich kommt es zu einer Verringerung der Erythrozytenanzahl.

Tabelle 2: Zusammenstellung der Erythrozytenanzahl, Hämoglobin-Gehalte und MetHb-Gehalte in F344- Ratten, 2-Jahres-Kanzerogenitätsstudie (pCA-HCl; NTP, 1989; 5d/w über 103 w)

		0 mg/kg KG/d	2 mg/kg KG/d	6 mg/kg KG/d	18 mg/kg KG/d
<b>6 Monate nach Expositionsbeginn</b>					
Erythrozyten [10 <sup>6</sup> mm <sup>3</sup> ]	♂	9.34 ± 0.102	9.10 ± 0.190	8.61 ± 0.094*	7.58 ± 0.058*
	♀	8.54 ± 0.123	8.08 ± 0.113*	7.60 ± 0.057*	6.49 ± 0.121*
Hämoglobin [g/dl]	♂	15.3 ± 0.21	15.2 ± 0.27**	14.6 ± 0.14**	14.7 ± 0.14**
	♀	14.8 ± 0.24	14.3 ± 0.18	13.9 ± 0.12*	13.2 ± 0.32*
Met-Hämoglobin [% Hämoglobin]	♂	0.26 ± 0.111	0.79 ± 0.151**	0.89 ± 0.178*	1.97 ± 0.170*
	♀	0.20 ± 0.108	0.63 ± 0.322	0.07 ± 0.029	0.45 ± 0.136
<b>12 Monate nach Expositionsbeginn</b>					
Erythrozyten [10 <sup>6</sup> mm <sup>3</sup> ]	♂	8.91 ± 0.183	9.04 ± 0.104	8.57 ± 0.192**	8.38 ± 0.103
	♀	8.41 ± 0.197	8.13 ± 0.166	7.62 ± 0.202	8.17 ± 0.173
Hämoglobin [g/dl]	♂	14.3 ± 0.28	14.5 ± 0.16	13.9 ± 0.28	14.4 ± 0.18
	♀	14.8 ± 0.31	14.5 ± 0.16	13.8 ± 0.36	14.8 ± 0.30
Met-Hämoglobin [% Hämoglobin]	♂	0.28 ± 0.056	0.41 ± 0.090	1.08 ± 0.122*	1.18 ± 0.167*
	♀	0.47 ± 0.108	0.34 ± 0.069	1.16 ± 0.123*	1.82 ± 0.122*
<b>18 Monate nach Expositionsbeginn</b>					
Erythrozyten [10 <sup>6</sup> mm <sup>3</sup> ]	♂	8.92 ± 0.106	8.89 ± 0.177	8.47 ± 0.167	7.32 ± 0.206*
	♀	8.30 ± 0.122	8.00 ± 0.104	7.35 ± 0.119*	6.80 ± 0.075
Hämoglobin [g/dl]	♂	14.4 ± 0.	13.8 ± 0.42	13.9 ± 0.24	13.7 ± 0.47
	♀	14.6 ± 0.27	14.1 ± 0.18	13.5 ± 0.23*	13.5 ± 0.24*
Met-Hämoglobin [% Hämoglobin]	♂	1.04 ± 0.056	1.96 ± 0.130*	2.37 ± 0.245*	4.09 ± 0.248*
	♀	0.75 ± 0.082	1.42 ± 0.106*	2.52 ± 0.178*	3.41 ± 0.156*
<b>24 Monate nach Expositionsbeginn</b>					
Erythrozyten [10 <sup>6</sup> mm <sup>3</sup> ]	♂	7.82 ± 0.268	8.07 ± 0.179	8.08 ± 0.262	7.54 ± 0.402
	♀	7.12 ± 0.248	7.22 ± 0.226	7.33 ± 0.162	7.10 ± 0.184

		0 mg/kg KG/d	2 mg/kg KG/d	6 mg/kg KG/d	18 mg/kg KG/d
Hämoglobin [g/dl]	♂	14.1 ± 0.41	14.0 ± 0.33	13.9 ± 0.48	13.8 ± 0.71
	♀	13.2 ± 0.41	13.2 ± 0.43	13.8 ± 0.16	14.1 ± 0.54
Met-Hämoglobin [% Hämoglobin]	♂	1.56 ± 1.333	1.79 ± 0.136	2.16 ± 0.101*	2.17 ± 0.195*
	♀	1.67 ± 0.099	1.97 ± 0.099	2.03 ± 0.167**	1.91 ± 0.149**

\*\* P<0.05; \* P<0.01

Umrechnung der eingesetzten Konzentration von pCA-HCl in pCA.

2 mg pCA-HCl/ kg KG/d	≡ 1,56 mg pCA/ kg /d	(Hinweis. 5d/w)
6 mg pCA-HCl/ kg KG/d	≡ 4,67 mg pCA/kg /d	(Hinweis. 5d/w)
18 mg pCA-HCl/ kg KG/d	≡ 14,00 mg pCA/kg /d	(Hinweis. 5d/w)

Ein Vergleich der Werte zeigt, dass bereits in der niedrigsten Dosis von 2 mg/kg KG nach 6 Monaten signifikante Veränderungen bei den Parametern Hämoglobin oder Erythrozytenanzahl zu beobachten sind. Zu späteren Zeitpunkten nahmen diese Unterschiede ab und waren nach 18 Monaten zumindest bei den männlichen Tieren nicht mehr signifikant. Ähnlich verhält es sich mit den MetHb-Gehalten. Dies ist vermutlich auf Kompensationseffekte des Organismus zurückzuführen. Ähnlich verhält es sich auch bei den anderen Dosisgruppen. Daher ist zu beobachten, dass mit zunehmender Expositionszeit in den höheren Dosisgruppen die signifikanten Veränderungen der betrachteten Parameter abnehmen. Demnach steigt auch für die hämatologischen Parameter der LOAEL mit der Expositionszeit an.

Als weitere nicht-krebserzeugende Wirkung in der Ratte ist die verstärkte Bildung von Fibrosen zu deuten. Sowohl bei weiblichen als auch männlichen Ratten war die Bildung von Fibrosen dosisabhängig. Die Ergebnisse hierzu sind im Auszug aus der Tabelle 10 im Anhang zusammengefasst.

Tabelle 3: Auszug Tabelle 10 (NTP 1989)

		0 mg/kg/d	2 mg/kg/d	6 mg/kg/d	18 mg/kg/d
Tumoren und nicht-neoplastische Veränderungen					
Milz					
Fibrosen	♂	3/49 (6,3%)	11/50* (22%)	12/50* (24%)	41/50**(82%)
	♀	1/50 (2 %)	2/50 (4 %)	3/50 (6 %)	42/50**(84%)
Fett-Zell-Metaplasie	♂	0/49	0/50	0/50	24/50** (48%)
	♀	0/50	0/50	0/50	11/50 (22 %)
Nebennierenmark					
Medulläre Hyperplasie	♂	15/49	21/48	15/48	17/49
	♀	4/50	4/50	7/50	24/50**

\*P<0.05; \*\*P<0.01



Aufgrund der Analogie im Wirkmechanismus zu Anilin ist es sinnvoll, die Studienergebnisse mit pCA der vergleichbar durchgeführten Fütterungsstudie (CIIT, 1982) mit Anilin gegenüberzustellen (vgl. auch Tabelle 4). In dieser chronischen Studie mit Anilin x HCl (CIIT, 1982) stellte die niedrigste Dosis von 7 mg Anilin/ kg KG/d (10 mg Anilin-HCl) einen LOAEL in Bezug auf die Erythrozyten-Toxizität dar. Die anderen verwendeten Dosen betragen 30 mg Anilin x HCl (≡ 22 mg Anilin/ kg7d) und 100 mg Anilin x HCl (≡ 72 mg Anilin/ kg/d). Die verwendeten Dosen von Anilin sind demnach um den Faktor 5 höher als die verwendeten pCA-Dosen in der oben genannten NTP Studie. Die beobachteten Effekte sind vergleichbar mit den Befunden und Ergebnisse hinsichtlich der bestimmten Parameter der 2-Jahres-Kanzerogenitätsstudie (NTP, 1989) mit pCA. Demnach ist aus dieser Studie eine höhere Wirksamkeit von pCA hinsichtlich der beobachteten Endpunkte für die nichtkanzerogenen Effekte wie Erythrozytenanzahl und Met-Hämoglobin-Konzentration bei Ratten schon in Bezug auf die verwendete Dosis im Vergleich zu Anilin erkennbar.

## 9.2 Ableitung eines AGW-analogen Wertes

Zur Bewertung der toxischen Wirkung von pCA sind in der nachfolgenden Gegenüberstellung Anilin / p-Chloranilin einige Stoffdaten, Wirkmechanismen und Ergebnisse der toxikologischen Untersuchungen unter Berücksichtigung der Begründungspapiere von SCOEL und MAK für Anilin tabellarisch

zusammengefasst. Diese dienen dazu, die AGW-Ableitung im Zusammenhang mit Informationen zu vergleichbaren Stoffen zu betrachten.

Tabelle 4: Gegenüberstellung Anilin / pCA

	Anilin	p-Chloranilin
Struktur		
CAS	62-53-3	106-47-8
MAK-Wert	2 ml/m <sup>3</sup> ≙ 7.7 mg/m <sup>3</sup>	-
MAK Überschreitungs-faktor	2 (wegen systemischer Wirkung)	
Metabolisie-rungspfade	Vergleichbarer Wirkmechanismus (N-Oxidation im Organismus) von Anilin und pCA, aber relevante quantitative Unterschiede, daher nur unterstützende Betrachtung von Anilin im Read-across und direkte Ableitung eines AGW aus pCA-Daten	
Canc. Kat. (MAK)	3B	2
Canc. Kat. (CLP)	2	1B
Akute Toxizität	Milz, Hämosiderosen, MetHb	MetHb, Leber, Niere
LD <sub>50</sub> Ratte	440 mg/kg KG, oral	300 – 420 mg/kg KG oral
NOEL nach ein-maliger Expositi-on (human)	45 mg	Keine Daten vorhanden
T <sub>1/2</sub>	3,5 h	
NOAEL (human)	2 ppm (7,7 mg/m <sup>3</sup> ) ↑MetHb <1,5 % (Hintergrundwert ca. 1%, Effekt-level ca. 5%), reversibel in 24h (Käfferlein et al. 2014)	Keine Daten vorhanden
Effekte nach wiederholter Exposition	Anämie, Heinz-Körper-Anstieg, Leber, Niereneffekte	Anämie, Milz, Heinz-Körper-Anstieg, Hämosiderosen, Leber, Niereneffekte
Subchronische / Chronische Toxi-zität	LOAEC Ratte, inhal., 2 Wochen: 8,5 ppm; Hämosiderose und extramedulläre Hämatopoese ; NOAEL 1.4 ppm (Pauluhn 2004)  LOAEL Ratte, oral, 28Tage: 4 mg/kg; Hb-Addukte, ab 12 mg/kg Milzeffekte, kein NOAEL (Mellert et al. 2004; Zwirmer-Baier et al. 2003)  LOAEL Ratte, oral, 2 Jahre: 7 mg/kg KG (niedrigste untersuchte Dosis; CIIT 1982)	LOAEL Ratte, oral, 2 Jahre: 1,56 mg/kg KG (niedrigste untersuchte Dosis; NTP, 1989)
HBI (Hämoglob-in-bindungs-Index)	Ratte 22 Maus 2,2 Sabbioni & Jones 2002 vergleichbarer MoA, quantitative Unterschiede	Ratte 569 Maus 132 Sabbioni & Jones 2002
Tumorlokalisation Ratte	Sarkome der Milz, (Hämangiosarkome, Fibrosarkome, Osteosarkome)	Sarkome der Milz, (Hämangiosarkome, Fibrosarkome, Osteosarkome)
Tumorlokalisation Maus	Keine Tumoren	Leberadenome, - karzinome und -hämangiosarkome, Hämangiosarkome der Milz
Gentoxizität,	In vitro: Ames Test - mit u. ohne metabol. Akt. + metabol. Akt. + Norharman	In vitro: Ames Test +/- mit und ohne metabol. Aktivierung



	Anilin	p-Chloranilin
	In vitro Säugetiertestsysteme: + (SCH, CA) +/- (DNA-SB, CA, TK <sup>+/-</sup> , Transformation) - (UDS, MN) → Ergebnis: uneinheitlich	In vitro Säugetiertestsysteme: + (SCH, CA, TK <sup>+/-</sup> , Transformation, Hemmung der Mitoseaktivität) +/- (UDS) - (DNA-SB) → Ergebnis: uneinheitlich
	In vivo Säugetiertestsysteme: + (SCH, DNA-SB, DNA-Bindung, MN, Mutagene im Urin) - (CA, DLT) NOAEL Maus, i.p. Bolusgabe: 2 x 100 mg/kg im Mikrokerntest (ECHA 2016)	In vivo Säugetiertestsysteme: + (makromolekulare Bindung, MN)  NOAEL Maus, oral Bolusgabe: 3 x 100 mg/kg im Mikrokerntest (zitiert in WHO CICADS 48, 2003) NOAEL Maus, oral Bolusgabe: 180 mg/kg im Mikrokerntest (BUA Stoffbericht 1995 zitiert in WHO CICADS 2003)
Fibrose bzw. Capsulitis	LOEL Ratte, oral, 2 Jahre: 7 mg/kg (Futter) (CIIT, 1982)	LOEL Ratte, oral, 2 Jahre: 1,56 mg/kg KG /d (Sonde) (NTP, 1989)
Tumorbildung  TD <sub>50</sub>	Ratte: 72 mg/kg KG/d (Futter) (CIIT-Studie, 1982); TD <sub>50</sub> Ratte: 160 mg/kg KG /d	Ratte: 1,56 mg/kg KG /d (Sonde) Maus: 3 mg/kg KG /d (Sonde) TD <sub>50</sub> Ratte: 7,6 mg/kg KG /d TD <sub>50</sub> Maus: 33,8 mg/kg KG /d

Die beobachteten Effekte von Anilin und pCA sind ähnlich. Die Wirkungsstärke ist bei pCA aber deutlich höher als bei Anilin. Dies lässt sich mit dem Einfluss der Stellungsisomerie erklären, die u.a. eine bevorzugte Bindung von pCA an Proteine in Leber und Niere sowie eine schnellere Ausscheidung von Anilin im Vergleich zu PCA bewirkt. Der Einfluss der Stellungsisomerie ist auch beim Vergleich zu ortho-Chloranilin zu beobachten (Dial et al. 1998). Die para-Stellung von Cl führt auch hier zu einer höheren Wirkstärke. So beträgt der Hämoglobinbindungs-Index von ortho-Chloranilin nur 0,5, der von meta-Chloranilin 12,5.

Es ist plausibel, dass die Gentoxizität bei der krebserzeugenden Wirkung von pCA eine untergeordnete Rolle spielt. Daher sprechen die beobachteten Daten in den Studien zur Genotoxizität und der Kanzerogenität nicht gegen die Ableitung eines gesundheitsbasierten Arbeitsplatzgrenzwertes für pCA. Zielorgane sind hier, wie auch bei Anilin, die Milz und das hämatopoetische System.

Als Grundlage für die Ableitung eines AGW kann daher als Endpunkt die Bildung von Fibrosen in der Milz herangezogen werden.

Valide Daten zur Toxizität nach inhalativer Verabreichung liegen nicht vor, so dass eine Grenzwertableitung für den Arbeitsplatz auf der Grundlage NTP-Langzeitstudie (NTP, 1989) mit Verabreichung von pCA mittels Gavage (orale Gabe) an Ratten erfolgt.

### Die Grenzwertableitung kann über verschiedenen Wegen erfolgen:

#### 1.) Startpunkt LOAEL für Fibrose und MetHb-Bildung (Hämatotoxizität); extrapolierter NOAEL

Als Ausgangspunkt für die Ableitung dient der sogenannte POD (Point of Departure). Es wird die Dosis von 1,56 mg/kg aus der Langzeitstudie (Verabreichung 5 Tage/Woche) als POD verwendet. Hier wurde MetHb-Bildung und ein signifikanter Anstieg an Fibrosen in der Milz bei männlichen Ratten beobachtet (vgl. Tabelle 2 und 3 in Kapitel 9.1; NTP 1989).

#### Zeitextrapolation

Es liegt eine Langzeitstudie vor, daher ist eine Zeitextrapolation nicht erforderlich.

#### LOAEL-NOAEL-Extrapolation

Aufgrund der Steilheit der Dosis-Wirkungsbeziehung wird ein Extrapolationsfaktor von 3 verwendet. Dieser Faktor entspricht dem von der ECHA, guidance R.8 vorgeschlagenen Standardwert.

Allometrischer Scalingfaktor

Die Interspeziesvariabilität deckt die Unterschiede zwischen Tier und Menschen im Mittel ab. Aufgrund der unterschiedlichen metabolischen Rate unterscheidet sich die Dosis bezogen auf das Körpergewicht zwischen Ratte und Mensch um den Faktor 4.

Interspeziesvariabilität / Intraspeziesextrapolation

Für pCA selbst liegen keine Daten zu Speziesunterschieden vor. Da pCA sich strukturell und in seinen toxikologischen Wirkungen ähnlich wie andere aromatische Amine verhält, werden die Daten zu den verwandten Verbindungen wie Anilin als substanzgruppenspezifische Beschreibung der Speziesunterschiede herangezogen. Anilin ist wie auch pCA ein starker MetHb-Bildner. Anilin-Expositionen führen zu Hämatoxizität und Schädigungen der Milz. Es wird ein ähnlicher Wirkmechanismus wie bei pCA angenommen. Die aus der N- und Ringhydroxylierung resultierenden Metabolite führen zur Bildung von MetHb. Untersuchungen zu Anilin weisen darauf hin, dass die Ratte bezüglich der MetHb-Bildung wesentlich unempfindlicher ist als der Mensch (Faktor 5 bis > 40 nach oraler Exposition) (Jenkins et al., 1972; Hassauer et al., 2002). Vergleichende Untersuchungen des Metaboliten Acetanilid weist ebenfalls eine höhere Empfindlichkeit des Menschen gegenüber der Ratte aus (Faktor 12). Untersuchungen zu Acetophenetidin belegen eine 5-fach höhere Empfindlichkeit des Menschen gegenüber der Ratte.

Demgegenüber belegen neue Humandaten zu Anilin, dass kein zusätzlicher Unsicherheitsfaktor erforderlich ist, um eine mögliche höhere Empfindlichkeit des Menschen zu kompensieren (Käfferlein et al., (2014). Die Studie zeigt, dass nach einer 6-stündigen Exposition gegenüber 2 ppm eine Met-Hb-Bildung von 1,6% als Maximum im Blut erreicht wurde. Dieser Wert ist mehr als 2-fach niedriger als das kritische Met-Hb-Niveau von 5 %, bei der die Gefahr einer beginnende Zyanose definiert wurde. Es wurden auch keine geschlechterspezifischen Unterschiede beobachtet. Die in der Literatur genannten Unterschiede in der Sensitivität zwischen schnellen und langsamen Acetylierern, wonach bei 50 % der europäischen Bevölkerung eine höhere Empfindlichkeit zu erwarten und zu berücksichtigen wäre, haben sich in dieser Studie nicht gezeigt.

Die o.g. Studie war Grundlage für die Neubewertung von Anilin durch SCOEL (2015). Der 8-hour-TWA wurde von der Kommission mit 2 ppm festgelegt, der STEL beträgt 5 ppm. Die Ergebnisse dieser Studie sind auch für die Bewertung von pCA hinsichtlich der Empfindlichkeit gegenüber Menschen zu berücksichtigen.

Aufgrund fehlender Datenlage ist eine höhere Empfindlichkeit von Mensch im Vergleich zur Ratte nicht völlig auszuschließen. Daher wird trotz der Hinweise auf eine geringere Empfindlichkeit des Menschen bei Anilin für die AGW-Ableitung von pCA der Standard- Interspezies/Intraspeziesfaktor von 5 verwendet.

Pfad zu Pfad-Extrapolation

Aufgrund von Untersuchungen zur Toxikokinetik wird eine sehr effektive Resorption für alle Pfade angenommen. Daher wird kein Faktor für die Übertragbarkeit der Befunde nach oraler Gabe auf andere Pfade angewendet.

Daraus ergibt sich ein Extrapolationsfaktor von: 60

<u>AGW-Berechnung:</u>	Faktoren
LOAEL-NOAEL-Extrapolation	3
Scaling	4
Zeitextrapolation	1
Korrekturfaktor (5d/w im Tierversuch/ 5d/w Arbeitsplatz)	1
Variabilitätsfaktor (Interspeziesvariabilität, Intraspeziesvariabilität)	5

Für die weitere Berechnung ist zu beachten, dass in den Untersuchungen pCA-HCl (M: 163,21 g/mol) in einer Dosierung von 2 mg/kg KG/Tag eingesetzt wurde. Demnach ergibt sich unter der Berücksichtigung der Molmassen von pCA (127,57 g/mol) und HCl (35,64g/mol) ein PoD von 1,56 mg pCA/kg KG.

Aus dem LOAEL oral in der Ratte aus der chronischen Studie mit 1,56 mg/kg KG (Verabreichung 5 Tage/Woche; Fibrose und MetHb-Bildung bei männlichen Ratten) und einem Gesamtextrapolationsfaktor von 60 für die Ratte resultiert für die Ableitung eines AGW eine Dosis von 0,026 mg/kg KG. Unter Berücksichtigung des Körpergewichts von 70 kg für den Menschen sowie einem Atemvolumen von 10m<sup>3</sup> pro 8 Stunden (leichte Aktivität, gemäß BekGS 901) ergibt sich ein Grenzwert von **0,18 mg/m<sup>3</sup> = 0,034 ppm**

## **2.) Startpunkt LOAEL für Fibrose und Benchmarkberechnung (BMDLo5):**

Aus der Benchmarkberechnung bezogen auf den Befund Fibrose in der Langzeitstudie (NTP 1989) ergibt sich ein BMDL05 von 0,95 mg/kg KG/Tag.

Mit den Extrapolationsfaktoren (s.o.):

Scaling	4
Zeitextrapolation	1
Korrekturfaktor (5d/w im Tierversuch/ 5d/w Arbeitsplatz)	1
Variabilitätsfaktor (Interspeziesvariabilität, Intraspeziesvariabilität)	5
⇒ Gesamtfaktor 20	

ergibt sich eine Dosis von 0,95 mg/kg / 20 = 0,0475 mg/kg KG/Tag. Unter Berücksichtigung des Körpergewichts von 70 kg für den Menschen sowie einem Atemvolumen von 10m<sup>3</sup> pro 8 Stunden (leichte Aktivität, gemäß BekGS 901) ergibt sich ein Grenzwert von **0,33 mg/m<sup>3</sup> = 0,063 ppm**

**Fazit: Bei beiden Berechnungen führen zu Grenzwerten in ähnlicher Größenordnung und es wird ein gerundeter Wert von 0,3 mg/m<sup>3</sup> entsprechend 0,06 ppm aus dem BMDLo5 als belastbarsten Startpunkt als AGW vorgeschlagen.**

## **9.3 Expositions – Risiko – Beziehung bei krebserzeugender Wirkung**

### **9.3.1 Krebslokalisation mit Humanrelevanz und quantifizierbaren Krebsinzidenzen**

pCA induziert nach oraler Exposition im Tierversuch vor allem Blutgefäßtumoren. In den vorliegenden Studien an Ratten und Mäusen wurden vor allem Tumoren in der Milz, aber bei der Maus auch in der Leber gefunden. Die genauen Angaben sind im Anhang in Anlage 10 zusammengefasst. Weiterhin sind Phaeochromozytome des Nebennierenmarks beobachtet worden. Aufgrund der ausgeprägten Speziesunterschiede zwischen Nagern und Mensch in der Spontaninzidenz werden diese für eine Einstufung von pCA nicht herangezogen (siehe auch Kapitel 8). Sie sind nicht relevant für die Bewertung der Bedingungen am Arbeitsplatz.

Als Grundlage für die Bewertung der Arbeitsplatzsituation unter Berücksichtigung systemischer Effekte dient die 2-Jahres-Kanzerogenitätsstudie an F344-Ratten (50 Tiere/Geschlecht und Dosisgruppe; 5d/w, 103 w) und Mäusen (NTP, 1989).

Tabelle 5: Ausgewählte bewertungsrelevante kanzerogene Endpunkte der Ratte (NTP, 1989)

Tumoren (Ratte)		0 mg/kg/d	2 mg/kg/d	6 mg/kg/d	18 mg/kg/d
Fibrosarkome (1)	♂	0/49	1/50	2/50	17/50
	♀	0/50	0/50	1/50	0/50
Osteosarkome (2)	♂	0/49	0/50	1/50	19/50
	♀	0/50	0/50	0/50	1/50
Hämangiosarkome (3)	♂	0/49	0/50	0/50	4/50
(1), (2) oder (3)	♂	0/49	1/50 (2 %)	3/50 (6%)	38/50 (76%)
	♀	0/50	0/50	0/50	1/50

Aufgrund der höheren Empfindlichkeit der Ratten und der klaren Befunde hinsichtlich einer systemisch-toxischen wie auch kanzerogenen Wirkung vor allem bei den männlichen Tieren werden diese für die Bewertung herangezogen. Als nicht-kanzerogener Endpunkt wurde die Fibrose als Hinweis eines verstärkten Zelluntergangs gewertet. Dies kann auf einem erhöhten Zerfall von Erythrozyten und einer zusätzlichen Ansammlung von freiem Eisen in Form von Hämosiderin beruhen.

Als kanzerogener Endpunkt werden die Tumoren in der Milz zu Bewertung herangezogen. Die Ergebnisse der NCI-Fütterungsstudie (1979) unterstützen die Aussagen der NTP-Studie. Die Daten werden aber aufgrund des unzureichenden Versuchsdesigns (ungenau Dosierung) zur Berechnung nicht herangezogen.

Die Lebertumoren bei der B6C3F1 Maus werden nicht für die Grenzwertableitung herangezogen, da die Datenlage für eine quantitative Aussage zu große Unsicherheiten aufweist (vgl. Kapitel 8).

#### A. Benchmark-Berechnung

Entsprechend der Methodik in der TRGS 910 ist die Berechnung einer BMD10 vorrangig durchzuführen.

Vor der Berechnung erfolgte eine Umrechnung der eingesetzten Konzentration von pCA-HCl in pCA.

2 mg pCA-HCl/ kg KG/d	≡ 1,56 mg pCA/ kg /d	(Hinweis: 5d/w)
6 mg pCA-HCl/ kg KG/d	≡ 4,67 mg pCA/kg /d	(Hinweis: 5d/w)
18 mg pCA-HCl/ kg KG/d	≡ 14,00 mg pCA/kg /d	(Hinweis: 5d/w)

Die Benchmarkmodellierung (EFSA Software) für die Milztumoren der männlichen Ratte ergab als ungewichtetes Mittel der drei akzeptierten Modelle (logistic, probit, LVM:Expon,m3-) eine BMD10 von 5,8 mg/kg/d (Berechnung vgl. Anlage 11).

Der BMD<sub>10</sub>-Wert gilt als Startpunkt für weitere Betrachtungen.

Unter Verwendung der Beziehung zur Umrechnung von der oralen Dosis in eine Luftkonzentration (mg/m<sup>3</sup>) unter Berücksichtigung des speziesspezifischen Korrekturwertes von 4 (scaling faktor) wird eine Konzentration von 10,15 mg/m<sup>3</sup> ≡ 1,92 ppm abgeleitet (bei Berücksichtigung von 70 kg KG und Atemvolumen von 10 m<sup>3</sup>/8h).

Unter Berücksichtigung der Expositionszeit am Arbeitsplatz (48 Wochen zu 52 Wochen, lebenslangen Exposition unter Annahme einer 40-jährigen Arbeitsexposition bei 75 Jahren Lebenszeit) ergibt sich folgende humanäquivalente Konzentration.

$$10,15 \text{ mg/m}^3 \times 52/48 \times 75/40 = 20,6 \text{ mg/m}^3 \text{ (Point of departure POD)} \equiv 3,9 \text{ ppm}$$

Darüber hinaus wurden BMD01-Berechnungen nach Multistage Modelling sowie Probit Model durchgeführt (Berechnungen und dazugehörige Abbildung 1 und 2 Anlage 11)

#### **Extrapolation auf niedrigerer Risikohöhe**

Zur Überprüfung der quantitativen Auswirkungen wird eine Extrapolation nach verschiedenen Methoden durchgeführt (A: Lineare Extrapolation, B: Schwellenwertabschätzung, C: Extrapolation mit Knickfunktion).

#### **A) Lineare Extrapolation**

Bei linearer Extrapolation ergeben sich ausgehend von der Benchmark-Berechnung nach dem Multistage-Cancer-Model für kanzerogene Effekte durch pCA auf Toleranzrisiko und Akzeptanzrisiko folgenden Werte:

	Multistage-Cancer-Model	Probit Model
Toleranzrisiko (4:1000)	0,55 mg/m <sup>3</sup> ≙ 0,1 ppm	0,78 mg/m <sup>3</sup> ≙ 0,15 ppm
Akzeptanzrisiko (4:10000)	0,055 mg/m <sup>3</sup> ≙ 0,01 ppm	0,078 mg/m <sup>3</sup> ≙ 0,015 ppm
Akzeptanzrisiko (4:100000)	0,0055 mg/m <sup>3</sup> ≙ 0,001 ppm	0,0078 mg/m <sup>3</sup> ≙ 0,0015 ppm

Der Ansatz wurde nicht weiter verfolgt, da aufgrund der Kenntnisse über den sekundär-gentoxischen Mechanismus und die Annahme einer Verstärkerreaktion durch die nichtkanzerogene Effekte das Vorgehen als zu konservativ erscheint.

### B) Extrapolation bei angenommenem Schwellenphänomen

Laut Kapitel 5.3 des Leitfadens kann bei einer Wirkschwelle für kanzerogene Effekte mittels des erweiterten Schwellenwertkonzepts mit zusätzlichem Extrapolationsfaktor oder über das Benchmarkverfahren abgeleitet werden. Im Standardfall wird ein Faktor 10 unterhalb der Wirkschwelle für nichtkanzerogene Endpunkte unterstellt. Das entspräche bei der Extrapolation aus dem AGW-analogen Wert einem Wert von 0,03 mg/m<sup>3</sup>; ein Abweichen vom Default erscheint jedoch berechtigt, da Vorläufereffekte (Fibrosen in der Milz der Ratte sowie Hämatoxizität) auf eine höher liegende Schwelle hindeuten und die Datenlage ausreichend aussagekräftig ist.

Übersicht:

	Luftkonzentration (70 kg/10m <sup>3</sup> /d, 52/47 Wochen; 75/40 Jahre/Scaling Faktor 4)	Kommentar
KanzSchwelle (Ansatz 1)	1,2 mg/m <sup>3</sup> (3,42x70/10*52/48*75/40)/(4*10)= 1,215 mg/m <sup>3</sup>	BMD01/10 (aus Ablesung: Abbildung 2 in Anlage 11: BMD01= 3,42 mg/kg x d)
KanzSchwelle (Ansatz 2)	0,4 mg/m <sup>3</sup> (1,15x70/10*52/48*75/40)/(4*10)= 0,408 mg/m <sup>3</sup>	BMD01/10 (aus Ablesung: Abbildung 1 in Anlage 11: BMD01= 1,15 mg/kg x d)
KanzSchwelle (Ansatz 3)	0,2 mg/m <sup>3</sup> (aus AGW-analog- Ansatz 1, siehe 9.2.1)	Aus Vorläufereffekt: AGW-analog ohne zusätzlichen Sicherheitsfaktor, weil konservativ
KanzSchwelle (Ansatz 4)	0,3 mg/m <sup>3</sup> (aus AGW-analog- Ansatz 2, siehe 9.2.2)	Aus Vorläufereffekt Fibrose, siehe AGW-analog, ohne zusätzlichen Sicherheitsfaktor, weil bereits konservativ

### C) Berücksichtigung der Knickfunktion:

Da nicht völlig auszuschließen ist, dass die Gentoxizität bei der krebserzeugenden Wirkung eine Rolle spielen könne, wird eine Berechnung unter Berücksichtigung der Knickfunktion nach Leitfaden durchgeführt.

Mechanistisch wird die Knickstelle beim BMDL05 von 0,95 mg/kg KG/Tag (bezogen auf Fibrose als Vorläufereffekt) angesetzt. Der entsprechende AGW-analoge Wert liegt bei 0,33 mg/m<sup>3</sup> = 0,063 ppm und das Risiko aus der linearen Extrapolation würde unterhalb dieses Wertes um eine Faktor 10 sinken.

Bei einem AGW\* von 0,3 mg/m<sup>3</sup> entspricht das einem Risiko von kleiner als 4:10000. Die Konservativität der AGW-Ableitung wird damit hinreichend bestätigt.

## Übersicht:

	Luftkonzentration (70 kg/10m <sup>3</sup> /d, 52/47 Wochen; 75/40 Jahre/Scaling Faktor 4)	Kommentar
1,7 Promille = 0,0017 = 1,7*10 <sup>-3</sup>	0,95 mg/kg x d; 0,3325 mg/m <sup>3</sup> (Umrechnung und Extrapolation: x 70/10/ (4scal x 5 variabel)	Knickpunkt; Exzess-Risiko bei linearer Extrapolation
1,7 x 10 <sup>-4</sup> (1 Größenordnung reduziert)	0,3325 mg/m <sup>3</sup>	Setzung: Risiko am Knickpunkt
4:1000	1,1 mg/m <sup>3</sup>	Toleranzrisiko bei Knickfunktion
4:10000	0,37 mg/m <sup>3</sup>	Akzept 4:10000
4:100000	0,08 mg/m <sup>3</sup>	Akzept 4:100000
1:10000	0,2 mg/m <sup>3</sup> (Berechnung mit LOAEL 1,56 mg/kg x d ; x 70/10; /4 scal x 5 variabel x 3 LOAEC/NAEC)= 0,182 mg/m <sup>3</sup> )	

## 9.4 Risikoquantifizierungen und OEL anderer Organisationen

### MAK

Die MAK-Kommission der DFG stufte pCA als krebserzeugenden Arbeitsstoff der Kategorie 2 ein („Stoffe, die als krebserzeugend für den Menschen anzusehen sind, weil durch hinreichende Ergebnisse aus Langzeit-Tierversuchen oder Hinweise aus Tierversuchen und epidemiologischen Untersuchungen davon auszugehen ist, dass sie einen Beitrag zum Krebsrisiko leisten. Andernfalls können Daten aus Tierversuchen durch Informationen zum Wirkungsmechanismus aus in-vitro- und Kurzzeit-Tierversuchen gestützt werden.“). Ein Grenzwert wurde nicht abgeleitet. Die Einstufung erfolgte auf der Grundlage der Kanzerogenitätsstudien von NCI (1979) und NTP (1989) und den hier gefundenen Gefäßtumoren in der Milz bei männlichen Ratten und den Tumoren in der Leber männlicher Mäuse. Die histopathologischen Veränderungen bei den weiblichen Tieren wurden als Vorstufen der Tumorentwicklung gewertet. Ergebnisse der genotoxischen Untersuchungen wurden hier als uneinheitlich mit einem Verweis auf ein genotoxisches Potential bewertet. Die Gefahr der Hautresorption wurde bei der Einstufung durch die Kennzeichnung von pCA mit „H“ gekennzeichnet. In dem Nachtrag (2009) zur MAK-Begründung wurde pCA auf Grundlage von tierexperimentellen Untersuchungen als kontaktsensibilisierend mit „Sh“-Stoff markiert. (MAK 1990, 2009)

### EU SCOEL (*The Scientific Committee on Occupational Exposure Limits*)

Hier liegt zurzeit keine Bewertung für pCA vor.

Allerdings wurde 2015 die Bewertung zum Wirkmechanismus von Anilin konkretisiert. Unter der Berücksichtigung, dass Anilin einen vergleichbaren Wirkmechanismus wie pCA aufweist, ist die Argumentation der Bewertung auch für pCA zu diskutieren. So wird für Anilin argumentiert, dass die Entwicklung von Tumoren mit der Erythrozyten-Toxizität verbunden ist. Die Bildung von MetHb- und Heinz-Körpern bewirkt die histopathologischen Veränderungen in der Milz, die zu einem Erythrozytenabbau führen. Die Wiederholung dieser toxischen Effekte spielen demnach eine entscheidende Rolle für die Entwicklung von Tumoren. Demzufolge ist bei Abwesenheit eines erhöhten Erythrozytenabbaus kein erhöhtes Tumorrisiko anzunehmen. In der SCOEL-Begründung sind Untersuchungen wie die von Mellert et al. (2004) und CIIT (1982) angeführt, die die Annahme bestätigen, dass Anilin-Expositionen frühe Effekte bei hämatologischen Parametern verursachen können und die dadurch verursachte hämolytische Anämie entzündliche Reaktionen in der Milz und Störungen im Eisenmetabolismus, in Folge dessen es zu Karzinogenität bei Ratten kommen kann. Es ist daher plausibel anzunehmen, dass die chronische Splenotoxizität und die nachfolgende Karzinogenität ein sekundärer Prozess nach einem verstärkten Abbau von Erythrozyten aufgrund der anilininduzierten Methämoglobinämie ist. Daraus folgt, dass die Vermeidung einer übermäßigen Methämoglobinämie gegen die Karzinogenese in der Milz schützt.

Dementsprechend kann die experimentelle Karzinogenität von Anilin vernünftigerweise mit einem definierten schwellenbezogenen Prozess verknüpft werden. Nach den Vorgaben von SCOEL zur Ableitung von OELs für Karzinogene und Mutagene (Bolt und Huici-Montagud 2008) wurde Anilin in die Gruppe C (Karzinogene mit einer praktischen Schwelle) eingestuft.

IARC (*International Research Agency on Cancer der WHO*)

Auf der Grundlage der tierexperimentellen Langzeitstudien von NCI (1979) und NTP (1989) stuft IARC pCA als „possibly cancerogenic to humans (Group 2B)“ ein. In diesem Zusammenhang wird auf die Bildung von Hämangiosarkomen in verschiedenen Organen männlicher und weiblicher Mäuse nach Gabe mit dem Futter und die Hämangiosarkome in Milz und Leber und hepatozelluläre Adenome und Karzinome sowie Sarkome in der Milz bei männlichen Ratten verwiesen. Weiterhin wurden die positiven Ergebnisse der Untersuchungen zur Genotoxizität bei der Einstufung berücksichtigt (IARC-Monograph 57, 1993).

ATSDR (*Agency for Toxic Substances and Disease*)

hier liegt zurzeit keine Bewertung vor

OSHA (*US Occupational Safety & Health Administration*)

hier liegt zurzeit keine Bewertung vor

OEHHA (*California Office of Environmental Health Hazard Assessment*)

Auf der Grundlage der vorliegenden Langzeitstudien von NCI (1979) und NTP (1989) und unter Verwendung eines linearisierten Multi-Stage-Modells wurde ein humanes Krebspotential auf der Grundlage der Tumoren der Milz in der männlichen Ratte und der Hämangiosarkome in Leber und Milz in der männlichen Maus, definiert als tägliche Aufnahme, abgeschätzt. Es wurde ein NSRL („No Significant Risk Level“) für pCA-HCl von 1.9 µg pCA-HCl/d und für pCA ein Wert von 1.5 µg pCA/d kalkuliert.

ACGIH (*American Conference of Governmental Industrial Hygienists*)

hier liegt zurzeit keine Bewertung vor

Tabelle 6: weitere Grenzwerte anderer Länder: übernommen von DGUV GESTIS Stoffdatenbank und RTECS (2015)

Land	8h-Wert Grenzwert		Kurzzeitwert	
	Österreich (2007)	0,012 ppm	0,1 mg/m <sup>3</sup>	0,048 ppm
Ungarn		0,2 mg/m <sup>3</sup>		0,8 mg/m <sup>3</sup>
Polen				10 mg/m <sup>3</sup>
Schweiz (2011)	0,012 ppm	0,1 mg/m <sup>3</sup> *		
Russland (2003)		0,2 mg/m <sup>3</sup>		0,6 mg/m <sup>3</sup>

\* inhalierbares Aerosol

Vom IFA (*Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung*) liegt eine Risikoabschätzung ohne Risiko-Wirkungs-Beziehung-Betrachtung vor (DGUV IFA, 2011)

Hier wurden die Risiken wie folgt benannt:

Unit-Risk (pro µg/m <sup>3</sup> ):	1,6 x 10 <sup>-5</sup> bis 2,9 x 10 <sup>-5</sup>
Spezifisches Arbeitsplatzrisiko (pro µg/m <sup>3</sup> ):	2,9 x 10 <sup>-6</sup> bis 5,2 x 10 <sup>-6</sup>
Konzentrationsschätzung Risiko 4:1000 (in µg/m <sup>3</sup> ):	800 bis 1400
Konzentrationsschätzung Risiko 4:10000 (in µg/m <sup>3</sup> ):	80 bis 140
Konzentrationsschätzung Risiko 4:100000 (in µg/m <sup>3</sup> ):	8 bis 14

Die Berechnungen basieren auch hier auf tierexperimentellen Daten und erfolgten unter Verwendung älterer „Unit-Risk“-Schätzungen der US EPA.

Weitere Informationen liegen nicht vor.

## 9.5 Schlussfolgerung

### **9.5.1 Zusammenfassung der Datenlage, Datenbewertung, Begründung der Auswahl von Studien und Ableitungslogistik**

Es liegen keine für die Ableitung eines AGW verwendbaren Humanstudien mit pCA vor. Daher erfolgt die Bewertung der nicht-karzinogenen und karzinogenen Effekte anhand von Tierversuchsdaten (siehe Anhang).

Zur Betrachtung von Kinetik und Metabolismus wurden Studien an Ratten, Mäusen, Hunden, Katzen und Affen ausgewertet (Anhang, Anlage 3 und 4). Nach oraler, dermal oder perkutaner Aufnahme oder Inhalation wird pCA schnell und nahezu vollständig resorbiert und metabolisiert. Hauptmetaboliten von pCA sind 2-Amino-5-Chlorphenylsulfat und 2-Amino-5-Chlorphenol. Die angenommenen Metabolisierungswege von pCA sind mit denen von Anilin vergleichbar. Aufgrund der Struktur der Verbindung und einer damit verbundenen höheren Bioverfügbarkeit ist eine größere Wirkstärke zu berücksichtigen. Das zeigt sich zum Beispiel auch in einem um das 26-fache höheren Hb-Bindungsindex.

pCA-bedingter Sauerstoffmangel führte zu neurotoxischen Wirkungen wie Lähmungserscheinungen. Diese Effekte treten sekundär nach exzessiver substanz-bedingter Hämolyse auf. Sie sind Anzeichen für eine regenerative Anämie (NTP 1989, zitiert in WHO CICADS 48, 2003).

Im Vordergrund der Bewertung der Toxizität von pCA steht die akut toxische Wirkung, die auf der starken Bindungsaffinität zu Hämoglobin beruht. In Folge kann es zu Zyanose und nachfolgend zu Veränderungen hämatologischer Parameter und damit verbunden zu Schädigungen des blutbildenden Systems kommen. Weiterhin sind Hämosiderinablagerungen in Milz, Leber und Nieren, Hämatopoese in Milz und Leber, Kongestion in der Milz bei Maus und Ratte, verbunden mit deren Gewichtszunahme bei der Maus beobachtet worden. Bei den Untersuchungen erwies sich die Katze als besonders empfindliche Spezies in Bezug auf hämatotoxische Wirkungen.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zur Genotoxizität weisen auf ein genotoxisches Potential hin. Die Effekt-Level für positive Effekte in *in vivo* Studien zur Genotoxizität liegen jedoch deutlich höher als die Effekt-Level für Methämoglobinämie und entsprechende Sekundäreffekte. Die Ergebnisse der genotoxischen Daten stimmen in ihrer Tendenz mit den Untersuchungen zur Genotoxizität von Anilin überein.

Untersuchungen zur karzinogenen Wirkung von pCA beim Menschen liegen nicht vor.

Zur Bestimmung der Karzinogenität bei Tieren liegen u. a. Untersuchungen an F344-Ratten und B6C3F1-Mäusen im Rahmen des NTP (1989) vor. Vor allem bei den männlichen Tieren wurde eine erhöhte Tumorzinzidenz in Milz und Leber nach Verabreichung von pCA-Hydrochlorid per Gavage über einen Zeitraum von 2 Jahren (5d/w) festgestellt. Bei den weiblichen Tieren wurden vermehrt Vorstufen der Tumorentwicklung beobachtet.

Da pCA Methämoglobinämie, beruhend auf metabolischer N-Oxidation, hervorruft, wurde vermutet, dass die erhöhte Inzidenz an Milztumoren auf diese hämatotoxische Wirkung zurückgeführt werden kann (NTP, 1989+1998 zitiert in Calif. OEHHA 2010).

Die Ergebnisse hinsichtlich der Art der beobachteten Tumoren sind vergleichbar mit den Befunden nach Exposition gegenüber Anilin (CIIT, 1982, MAK, 2002, SCOEL, No. 153, 2010 und 2015). Es wird angenommen, dass die karzinogene Wirkung sowohl bei Anilin als auch bei pCA als sekundärer Effekt eine Folge des Erythrozyten-Abbaus, dadurch verursachten oxidativen Stress und der Schädigung vorrangig der Milz ist. Daher sind zur Bewertung der toxischen Effekte von pCA auch die Effekte nach Anilin-Exposition vergleichend herangezogen worden. Es ist beim Vergleich zu berücksichtigen, dass die verwendete kleinste Anilin-Dosis um den Faktor 5 höher ist als die verwendeten pCA-Dosen. Für Anilin wurde ein AGW von 2 ppm ( $\equiv 7,7 \text{ mg/m}^3$ ) auf der Grundlage von Humandaten (Käfferlein et al., 2014) verabschiedet.

Für pCA erfolgte die Bewertung der nicht-karzinogenen und karzinogenen Effekte (Inzidenzen für Milztumore (Fibrosarkome, Osteosarkome, Hämangiosarkome) anhand der 2-Jahres-Studien an F344 Ratten und B6C3F1-Mäusen (Verabreichung von pCA-HCl per Gavage, NTP, 1989; publiziert auch von Chhabra et al. (1990, 1991).



Für die Bewertung der Kanzerogenität wurde für Milztumoren bei männlichen Ratten bei der Ableitung der Risikozahlen eine Benchmark-Dose-Modellierung mit dem Multistage -Modell für BMD<sub>10</sub> und eine mit dem Probit-Modell zugrunde gelegt (BMDS Version 2.6; US EPA, 2015). Da die Studien mit pCA·HCl durchgeführt wurden, sind die Konzentrationswerte für pCA herausgerechnet worden.

Der Wirkmechanismus von pCA ist vergleichbar mit anderen monozyklischen aromatischen Amino-Verbindungen wie Anilin. Unterschiede sind vor allem im Hinblick auf die Wirkstärke erkennbar. Aus vergleichenden Untersuchungen zur Bewertung der Bindungsaffinität von aromatischen Aminen an Hämoglobin ist erkennbar, dass die Hämoglobin-Bindungsindizes (HBI), die als Korrelat für die Bioverfügbarkeit biologisch wirksamer Metabolite dienen, in Abhängigkeit von der Struktur der Verbindung unterschiedlich ausgeprägt sind (Sabbioni 1994). In der Literatur wird für pCA ein HBI von 569 und für Anilin eine HBI von 22 angegeben (Neumann, 2003; Sabbioni 1994). Die Werte unterscheiden sich um den Faktor 26 und verdeutlichen den Einfluss der Stereoisometrie auf die Wirkstärke.

Hinweis: Dieser Zusammenhang spiegelt sich auch in den Grenzwerten wider. So beträgt der AGW für Anilin 7,7 mg/m<sup>3</sup> (2ppm) und ist damit ca. um den Faktor 26 höher als ein AGW\*-Wert für pCA von 0,3 mg/m<sup>3</sup>.

Untersuchungen zum Wirkmechanismus von Anilin und pCA zeigen, dass die Entwicklung von Tumoren mit der Erythrozyten-Toxizität einher geht. Durch die Bildung von MethHb- und Heinz-Körpern kommt es zu histopathologischen Veränderungen in der Milz, die zu einem Erythrozytenabbau führen. Das dadurch freigesetzte Eisen verursacht eine Eisenüberladung in der Milz, die wiederum oxidativen Stress, erzwungene Zellproliferation, Entzündungen und Fibrosen zur Folge hat. Die Wiederholung dieser toxischen Effekte ist Voraussetzung für die Entwicklung der beobachteten Tumoren. Die Entwicklung von Tumoren ist demnach im Kontext der Erythrozyten-Toxizität zu sehen. Demnach ist bei histopathologischen Veränderungen, die zu einem erhöhten Erythrozytenabbau führen, ein erhöhtes Tumorrisiko zu erwarten. Im Zusammenhang mit den Betrachtungen zu pCA sind vergleichbare Untersuchungen zu Anilin aus der SCOEL-Begründung zu berücksichtigen, die die Annahme unterstützen, dass Anilin-bedingte Effekte, die zur Veränderung bei hämatologischen Parametern und dadurch verursachter hämolytischer Anämie führen, entzündliche Reaktionen in der Milz und Störungen im Eisenmetabolismus auslösen können, die dann Tumoren verursachen. Es ist daher plausibel, anzunehmen, dass die chronische Splenotoxizität und nachfolgend auftretende Karzinogenität als sekundärer Prozess nach einem verstärkten Abbau von Erythrozyten aufgrund einer pCA-induzierten Methämoglobinämie anzusehen ist. Demnach würde die Vermeidung einer übermäßigen Methämoglobinämie, die wiederum von der Wirkstärke des Stoffes abhängt und die durch den HBI dargestellt werden kann, vor Tumorbildung in der Milz schützen.

**Es ist daher in der Gesamtschau der verfügbaren Daten möglich, auch für die Karzinogenität von pCA einen schwellenbezogenen Prozess anzunehmen. Der AGW wird auf der Grundlage eines signifikanten Anstiegs an Fibrosen in der Milz bei männlichen Ratten bzw. Hämatotoxizität abgeleitet.**

**Als Ausgangspunkt für die AGW-Betrachtung wurde eine Dosis von 2 mg pCA-HCl/kg (entsprechend 1,56 mg pCA/kg) aus der Langzeitstudie verwendet. Es wird ein Wert von 0,3 mg/m<sup>3</sup> entsprechend 0,06 ppm aus dem BMDLo5 als belastbarsten Startpunkt als AGW abgeleitet.**

### 9.5.2 Ergebnistafel

	Konzentration
AGW*	0,3 mg/m <sup>3</sup> ; 0,06 ppm

Übersicht	Luftkonzentration	Kommentar
AGW-analog (Ansatz 1)	0,2 mg/m <sup>3</sup> (1,56x70/10/(4*3*5)) = 0,182 mg/m <sup>3</sup>	NTP (1989); Hämatotoxizität; Basis: LOAEL 1,56 mg/kg x d

AGW-analog (Ansatz 2)	0,3 mg/m <sup>3</sup> (0,95x70/10/(4*5)) = 0,33 mg/m <sup>3</sup>	NTP (1989); Fibrose, Basis: BMDL05 0,95 mg/kg x d
KanzSchwelle (Ansatz 1)	1,2 mg/m <sup>3</sup> (3,42x70/10*52/48*75/40)/(4*10)= 1,215 mg/m <sup>3</sup>	BMD01/10 (aus Ableitung: Abbil- dung 2 in Anhang 11: BMD01= 3,42 mg/kg x d)
KanzSchwelle (Ansatz 2)	0,4 mg/m <sup>3</sup> (1,15x70/10*52/48*75/40)/(4*10)= 0,408 mg/m <sup>3</sup>	BMD01/10 (aus Ableitung: Abbil- dung 1 in Anhang 11: BMD01= 1,15 mg/kg x d)
KanzSchwelle (Ansatz 3)	0,2 mg/m <sup>3</sup> (aus AGW-analog- Ansatz 1, siehe oben)	Aus Vorläufereffekt: AGW-analog ohne zusätzlichen Sicherheitsfak- tor, weil bereits konservativ
KanzSchwelle (Ansatz 4)	0,3 mg/m <sup>3</sup> (aus AGW-analog- Ansatz 2, siehe oben)	Aus Vorläufereffekt Fibrose, siehe AGW-analog, ohne zusätzlichen Sicherheitsfaktor, weil bereits konservativ
<b>AGW* (abgeleitet aus dem be- lastbarsten POD: BMDL05; Ansatz 2 und 4)</b>	<b>0,3 mg/m<sup>3</sup></b>	
<b>Nur zum Vergleich</b>		
Risiko bei AGW* (0,3mg/m <sup>3</sup> ), wenn doch eine Knickfunktion korrekt wäre	< 4:10000	Bestätigt hinreichende Konservati- vität (aus Berechnung oben)

Der AGW für nichtkanzerogene Wirkungen liegt unterhalb des POD für die kanzerogene Wirkung. Wie auch Anilin hat pCA eine kanzerogene Wirkung vor allem bei männlichen Ratten, die sich im Vergleich zu den weiblichen Tieren als bedeutend sensitiver hinsichtlich der Ausbildung von Tumoren in der Milz zeigten. Bei Studien mit Mäusen wurde keine Ausbildung von Milztumoren beobachtet. Nichtkanzerogene Wirkungen wie eine Hämatotoxizität, verbunden mit der Vermehrung von Heinz-Körpern, die verstärkte Bildung von MetHb, die Schädigung von Erythrozyten und die damit verbundene Schädigung von Organen, insbesondere der Milz, ist bei Anilin und pCA vergleichbar.

Zusammenfassend sprechen folgende Fakten für die Ableitung eines AGW:

- das Zielorgan (Milz) ist typisch für hämatotoxisch wirkende Stoffe
- die signifikante Ausbildung von Tumoren ist nur auf hohe Dosen beschränkt (steile Dosis-Wirkungsreaktion)
- für eine tumorigene Wirkung ist ein hohes Maß an langanhaltender Milz-Toxizität erforderlich.
- Die Milztoxizität scheint sekundär zu einer vorangehenden Hämatotoxizität zu sein, die durch hämatologische Parameter diagnostiziert werden kann (und ohnehin verhindert werden soll).
- Anilin-verwandte Hämatotoxizität führt zu einer Eisenüberladung in der Milz, die zu oxidativem Stress, erzwungener Zellproliferation, Entzündungen und Fibrosen führen kann. Bei einer starken Ausprägung können diese Effekte bei Ratten zu Tumoranfälligkeit führen. Die höhere Anfälligkeit der männlichen Ratte ist dabei typisch für einen Eisen-vermittelten Mechanismus.
- Es wird kein primärer genotoxischer Mechanismus für die Milz-Tumorigenität bei Ratten angenommen.

Aufgrund der ähnlichen Wirkmechanismen von monozyklischen aromatischen Aminoverbindungen, speziell im Hinblick auf die Vergleichbarkeit der Effekte von Anilin und pCA, ist es möglich, die maximal tolerierte Konzentration am Arbeitsplatz nicht nach Endpunkt Krebs, sondern an den nicht-krebserzeugenden Wirkungen zu orientieren.

#### **Kurzzeitwert/Überschreitungsfaktor:**

Eine Reizwirkung am Menschen und im Tier ist nicht hinreichend valide dokumentiert. Der AGW bezieht sich auf systemische Effekte, so dass eine Zuordnung zu **Kurzzeitkategorie II erfolgt**. Es wird Der Basis-**Überschreitungsfaktor von 2** entsprechend den Vorgaben für Kategorie II, Resorptiv

wirksame Stoffe, der TRGS 900 vorgeschlagen. Dies ist stimmig mit der Datenlage zu Anilin; auch Anilin ist in der TRGS 900 in II(2) zugeordnet.

### 9.5.3 Diskussion

Die Ableitung eines AGW erfolgte auf Basis der nicht-kanzerogenen Befunde in der Milz männlicher Ratten (NTP (1989)). Die Langzeitstudie von NTP 1989 ist ausreichend valide, um hier als Grundlage für die Bewertung der Kanzerogenität verwendet zu werden

Die Unsicherheiten in der Risikoabschätzung ergeben sich daraus, dass aufgrund der Applikationsart zusätzliche Annahmen zur Resorption getroffen werden mussten. Das schließt auch die Unsicherheiten bei der Umrechnung von oraler Dosis in eine inhalative Dosis mit ein.

Bei der Betrachtung der neoplastischen Veränderungen und Tumoren traten neben den Tumoren in der Milz bei der Ratte auch verstärkt Phaeochromozytome in der Leber auf. Diese sind als nicht relevant für den Menschen und der Situation am Arbeitsplatz zu sehen.

Die Lebetumoren bei der B6C3F1 Maus werde nicht für die Grenzwertableitung herangezogen, da die Datenlage für eine quantitative Aussage zu große Unsicherheiten aufweist.

Für die Ableitung nicht-kanzerogener Effekte wurde die Bildung von Fibrosen in der Milz herangezogen und die Hämatotoxizität berücksichtigt.

Unter der Maßgabe, dass die Bildung der Fibrosen eine Folge der pCA-Exposition ist, wurde daher dieser Endpunkt gewählt. Die Bildung von Fibrosen wird als Vorläufer einer krebserzeugenden Wirkung angesehen. Ob diese Fibrosen als Folgen einer unspezifischen Zytotoxizität zum Beispiel durch Überlastung der Milz durch vermehrten Erythrozyten-Abbau einzuordnen sind, oder ob spezifische biochemische Mechanismen ursächlich für die Bildung sind, ist derzeit nicht bewertbar. Es wird vermutet, dass die damit verbundene Schädigung der genannten Organe eine ursächliche Randbedingung für die Entstehung der Tumoren ist (siehe Kapitel 8). So ist auch die verstärkte Bildung von Fibrosen in der weiblichen Ratte zu deuten. Die Befunde hier werden als Hinweise einer möglichen (späteren) Tumorbildung angesehen.

Der für pCA vorgeschlagene AGW ist um den Faktor 26 bzw. 38 geringer als der AGW für Anilin. Dieser Abstand ist stimmig mit den um den Faktor 26 höheren Hb-Bindungsindex von pCA.

### 9.5.4 Andere Endpunkte

#### - Reproduktionstoxizität

Die vorliegenden Daten zur Reproduktionstoxizität sprechen nicht für eine Beeinträchtigung der Fertilität bei Säugern. Die Untersuchungen an Nicht-Säugern weisen jedoch auf embryo-toxische und fetotoxische Effekte sowie ein teratogenes Potential in diesen Modellen hin. Da der humane Wirkmechanismus einer Methämoglobinbildung mit nachfolgender systemischer Hypoxie auch für diese Tiermodelle angenommen werden kann, sind frucht-schädigende Effekte beim Menschen beim gegenwärtigen Stand der Daten nicht auszuschließen. Eine Quantifizierung des Risikos für den Menschen ist aus den vorliegenden Studien nicht möglich.

Aufgrund der fehlenden Daten erfolgt **keine Zuordnung in eine Schwangerschaftskategorie.**

#### - Neurotoxizität

Auf Basis der gegenwärtigen Datenlage muss von einer akuten und chronischen neurotoxischen Wirkung von pCA nach Hochdosisexposition im Tierversuch ausgegangen werden. Es ist davon auszugehen, dass bei Einhaltung des AGW die hämatologischen Parameter nicht so beeinflusst werden, dass eine neurotoxische Wirkung zu erwarten ist.

### 9.5.5 Perkutane Aufnahme und Hautsensibilisierung

Angaben zur Hautresorption von pCA beim Menschen liegen nicht vor. In den Fallstudien wird auf Mischexpositionen verwiesen. Es liegen ältere Daten zur Festlegung von LD50-Werten vor, die eine Resorption von pCA über die Haut begründen (BUA, 1995). Nach Expositionen gegenüber 3200 mg/kg KG - ca. 200 mg/kg KG wird von Symptomen wie Übererregung, Zittern, Krämpfe, Atemnot und Zyanose berichtet. Daher erfolgt die **Markierung mit H**.

In Untersuchungen zur hautsensibilisierenden Wirkung erwies sich pCA als mäßig sensibilisierend. An der Maus wurde mit einem Local Lymph Node Assay eine kontaktsensibilisierende Wirkung nachgewiesen. Daher wurde pCA von der MAK Kommission 2009 als „Sh“ markiert. Diese Einstufung erfolgte auch innerhalb der EU EG Nr. 1272/2008 (CLP; 31.12.2008, Anhang 1, Tabelle 3-1; H317).

Daher erfolgt die **Markierung mit Sh**.

### 9.5.6 Möglichkeiten des Biomonitoring

Bei hautgängigen Stoffen ist Biological Monitoring (BM) ein geeignetes Instrument zur Expositionsabschätzung am Arbeitsplatz.

Die Analyse von pCA und pCA-Metaboliten in Urinproben lassen Aussagen zur pCA-Belastung am Arbeitsplatz zu. Eine Berücksichtigung des Raucherstatus ist nicht erforderlich, da diese Verbindungen bisher nicht im Tabakrauch nachgewiesen wurden. Es ist zu berücksichtigen, dass die Untersuchung aromatischer Amine im Urin als Kurzzeitparameter z. B. für die für vorangegangene Schicht ( $t_{1/2}$  im Bereich von Stunden) heranzuziehen ist (Pizon et al, 2009; Shen et al., 2011).

Blutuntersuchungen hinsichtlich der MetHb-Konzentration ermöglichen eine Aussage zu einer Belastung mit aromatischen Aminen am Arbeitsplatz über einen längerfristigen Zeitraum. Begründet wird das auch damit, dass die Lebenszeit von Erythrozyten ca. 120 Tage beträgt. Dieser Parameter kann daher als Langzeitparameter für die mittlere Belastung der letzten 4 Monate herangezogen werden. Allerdings ist hier zu berücksichtigen, dass die Erythrozytenanzahl sehr starken interindividuellen und geschlechtsspezifischen Variationen unterliegt (z. B. Menstruationszyklus).

Aromatische Nitro- oder Amino-Verbindungen werden im Anhang Teil 1 (1) der ArbMedVV aufgeführt. Die Veranlassung bzw. das Angebot arbeitsmedizinischer Vorsorgeuntersuchungen ist durch den Arbeitgeber geregelt (§ 4 Abs. 1 bzw. § 5 Abs. 1 ArbMedVV).

Grenzwerte für das Biomonitoring von pCA liegen derzeit nicht vor.

## 10. Literatur

AGS (1997): 4-Chloranilin. Begründungen zur Bewertung von Stoffen, Tätigkeiten und Verfahren als krebserzeugend, erbgutverändernd oder fortpflanzungsgefährdend. <http://www.baua.de/de/Themen-von-A-Z/Gefahrstoffe/TRGS/Begrundungen-905-906.html>

Aikawa K, Satoh T, Kobayashi K, Kitagawa H (1978): Glutathione depletion by aniline analogs in vitro associated with liver microsomal cytochrome P-450. *Jpn J Pharmacol.* 28(5):699-705.

Argese E, Bettioli C, Agnoli F, Zamboni A, Mazzola M, Ghirardini AV (2001): Assessment of chloroaniline toxicity by the submitochondrial particle assay. *Environ Toxicol Chem.* (4):826-32.

ArbMedVV, 2008, <http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/arbmedvv/gesamt.pdf>

Barfield W, Burlinson B (2015): p-Chloroaniline, t-butylhydroquinone, and methyl carbamate: Rat in vivo comet test, *JaCVAM trial phase 4.2. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 786-788:98-103.

Bayer AG (1984): p-Chloroanilin, Untersuchungen zur akuten oralen Toxizität an der Katze. Einfluß auf Met-Hämoglobingehalt und Zahl der Heinz-Innenkörper im peripheren Blut. Leverkusen, Bayer AG (unveröff. Report) [zit. in BUA, 1995].

Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe (BUA) der Gesellschaft Deutscher Chemiker (1995): p-Chloroaniline, BUA-Stoffbericht 153

BG RCI: Toxikologische Bewertungen 1994: p-Chloranilin. <http://www.bgrci.de/fachwissen-portal/themenspektrum/verkehrsmittel/toxikologischesdatensetze/stoffliste-toxikologische-bewertungen>

Bingham E, Cohn B, Powell CH (2001). *Patty's Toxicology Volumes 1-9 5th ed.* John Wiley & Sons. New York, N.Y. (2001), p. V4 p.1003( subchronische Studie); aus Toxnet

Birner G, Neumann HG (1988): Biomonitoring of aromatic amines. II: Hemoglobin binding of some monocyclic aromatic amines. *Archives of Toxicology* 62:110-115.

BMDS Version 2.6; US EPA, 2015, <http://www2.epa.gov/bmds>

Braunbeck T, Storch V, Bresch H (1990): Species-specific reaction of liver ultrastructure in Zebrafish (*Brachydanio rerio*) and trout (*Salmo gairdneri*) after prolonged exposure to 4-chloroaniline. *Arch Environ Contam Toxicol.* 19(3):405-18.

Brennan RJ, Schiestl RH (1999): The aromatic amine carcinogens o-toluidine and o-anisidine induce free radicals and intrachromosomal recombination in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat Res* 430(1):37-45.

Bresch H, Beck H, Ehlermann D, Schlaszus H, Urbanek M (1990): A long-term toxicity test comprising reproduction and growth of zebrafish with 4-chloroaniline. *Arch Environ Contam Toxicol.* 19(3):419-27.

Burkhardt-Holm P, Oulmi Y, Schroeder A, Storch V, Braunbeck T (1999): Toxicity of 4-chloroaniline in early life stages of zebrafish (*Danio rerio*): II. Cytopathology and regeneration of liver and gills after prolonged exposure to waterborne 4-chloroaniline. *Arch Environ Contam Toxicol* 37(1):85-102.

Bus JS, Popp JA (1987): Perspectives on the mechanism of action of the splenic toxicity of aniline and structurally-related compounds. *Food Chem Toxicol.* 25(8):619-26.

California Office of Environmental Health Hazard Assessment (2010): List of Chemicals Known to the State to Cause Cancer or Reproductive Toxicity. Feb 5, 2010: No significant risk levels (NSRLS) for proposition 65 carcinogens: p-Chloroaniline (CAS No. 106-47-8) and p-Chloroaniline hydrochloride (CAS No. 20265-96-7) [http://www.oehha.ca.gov/Prop65/CRNR\\_notices/pdf\\_zip/021810nsrl\\_summary.pdf](http://www.oehha.ca.gov/Prop65/CRNR_notices/pdf_zip/021810nsrl_summary.pdf)

ChemIDplus: <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/106-47-8>

Chhabra RS, Gerken DK, Wilson FD, Peters AC (1986): p-Chloroaniline subchronic toxicity studies in rats and mice. *Toxicology Letters* 31:244 (Abstract P17-17).

Chhabra RS, Thompson M, Elwell MR, Gerken DK (1990): Toxicity of p-chloroaniline in rats and mice. *Food and Chemical Toxicology* 28(10):717-722 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2276700>

Chhabra RS, Huff JE, Haseman JK, Elwell MR, Peters AC (1991): Carcinogenicity of p-chloroaniline in rats and mice. *Food and Chemical Toxicology* 29(2):119-124. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2010141>

CIIT (1982) 104-week chronic toxicity study in rats. Aniline hydrochloride. Final report, Project No 2010-101. Hazleton Laboratories America, Vienna, VA, USA, CIIT, Research Triangle Park, NC, USA

Cserhati T. (1984): Determination of the Lipophilicity of Some Aniline Derivatives by Reversed-Phase Thin-Layer Chromatography. The Effect of the Organic Phase in the Eluent, *Chromatographia* Vol. 18, No. 6, June 1984: 318 - 320

DGUV GESTIS, [http://limitvalue.ifa.dguv.de/WebForm\\_ueliste2.aspx](http://limitvalue.ifa.dguv.de/WebForm_ueliste2.aspx)

DGUV IFA (2011), Risikoabschätzung ohne Risiko-Wirkungs-Beziehung-Betrachtung [http://www.dguv.de/medien/ifa/de/fac/erb/risikoabschaetzung/risikoabschaetzung\\_download.pdf](http://www.dguv.de/medien/ifa/de/fac/erb/risikoabschaetzung/risikoabschaetzung_download.pdf)

Dial LD, Anestis DK, Kennedy SR, Rankin GO (1998): Tissue distribution, subcellular localization and covalent binding of 2-chloroaniline and 4-chloroaniline in Fischer 344 rats. *Toxicology* 131(2-3):109-119.

Dumpert K (1987): Embryotoxic Effects of Environmental Chemicals: Tests with the South African Clawed Toad (*Xenopus laevis*). *ECOTOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL SAFETY* 13: 324-338.

Du Pont (1981): Benzenamine, 4-chloro, inhalation median lethal concentration (LC50). Wilmington, DE, Du Pont (Report No. 14050; NTIS/OTS 84003A) [zit. in BUA, 1995].

Du Pont (1982): Benzenamine, 4-chloro, subacute inhalation study of p-chloroaniline in rats. Wilmington, DE, Du Pont (Report No. 14050; NTIS/OTS 84003A) [zit. in BUA, 1995].

Ehlhardt WJ1, Howbert JJ (1991): Metabolism and disposition of p-chloroaniline in rat, mouse, and monkey. *Drug Metab Dispos.* 19(2):366-9.

European Union (EU) (2002): EU risk assessment report aniline, CAS-No. 62-53-3. Final draft of 13.02.2002. Ispra, European Chemicals Bureau.

Goodman DG, Ward JM, Reichardt WD (1984): Splenic fibrosis and sarcomas in F344 rats fed diets containing aniline hydrochloride, p-chloroaniline, azobenzene, o-toluidine hydrochloride, 4,4'-sulfonyldianiline, or D & C red No. 9. *J Natl Cancer Inst.* 73(1):265-73.

Graf U, Hall CB, van Schaik N (1990): On the use of excision repair defective cells in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 16:225-237.

Greim, H. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten: p-Chloranilin. VCH, Weinheim (1990)

[Greim H<sup>1</sup>](#), [Hartwig A](#), [Reuter U](#), [Richter-Reichhelm HB](#), [Thielmann HW](#) (2009): Chemically induced pheochromocytomas in rats: mechanisms and relevance for human risk assessment. [Crit Rev Toxicol.](#) 2009;39(8):695-718. doi: 10.1080/10408440903190861.

Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment, Chapter R.8, ECHA (2008)

International Agency for Research on Cancer (IARC) (1993): IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans: Volume No 57: Occupational exposures of hairdressers and barbers and personal use of hair colourants; some hair dyes, cosmetic colourants, industrial dyestuffs and aromatic amines. Lyon, France. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol57/index.php>

International Agency for Research on Cancer (IARC) (1993): IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Geneva: World Health Organization, International Agency for Research on

Cancer, 1972-PRESENT. (Multivolume work). Available at: <http://monographs.iarc.fr/index.php>, p. V57 312 (1993)]

Integrated Risk Information System (IRIS), EPA: p-Chloroaniline (CASRN 106-47-8)  
<http://www.epa.gov/iris/subst/0320.htm>

International Programme on Chemical Safety (IPCS) (1994) Assessing human health risks of chemicals. Derivation of guidance values for health-based exposure limits. Geneva, World Health Organization,

International Programme on Chemical Safety (IPSC) (2005): Concise International Chemical Assessment Document 48: 4-Chloroaniline (2003) Available from, as of December 6, 2005:  
<http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad48.htm>

Jenkins FP, Robinson JA, Gellatly JBM, Salmond GWA (1972): The No-effect Dose of Aniline in Human Subjects and a Comparison of Aniline Toxicity in Man and the Rat. *Food Cosmet Toxicol.* 10(5):671-9.

Jones CR, Sepai O, Liu YY, Yan H, Sabbioni G (2007): Urinary metabolites and health effects in workers exposed chronically to chloronitrobenzene. *Biomarkers.* 12(1):1-20.

Jones CR, Sabbioni G (2003): Identification of DNA Adducts Using HPLC/MS/MS Following In Vitro and In Vivo Experiments with Arylamines and Nitroarenes. *Chem. Res. Toxicol.* 2003, 16, 1251-1263

Kacmár P, Pisl J, Mikula I (1995): The effect of p-chloroaniline on leucocytes of sheep peripheral blood under the migration-inhibition test conditions. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 17(3):577-84.

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

Khamuev GD (1967): The maximum possible concentration of p-chloroaniline and m-chloroaniline in water bodies. *Gigiena i Sanitariya*, 32:15–21.

Khan MF, Wu X, Kaphalia, BS, Boor PJ, Ansari GAS (1997): Acute hematopoietic toxicity of aniline in rats. *Tox Letters* 92:31–37.

Kimbrough RD (1980): Human health effects of selected pesticides, chloroaniline derivatives. *J Environ Sci Health B.* 15(6):977-92.

Kirkland D, Kasper P, Martus H-J, Müller L, van Benthem J, Madia F, Corvif R (2016): Updated recommended lists of genotoxic and non-genotoxic chemicals for assessment of the performance of new or improved genotoxicity tests. *Mutation Research* 795 (2016) 7–30

Kolb G, Becker N, Scheller A, Zugmeier G, Pralle H, Wahrendorf J, Havemann K (1993): Increased risk of acute myelogenous leukemia (AML) and chronic myelogenous leukemia (CML) in a county of Hessen, Germany. *Soz Präventivmed* 38: 190 – 195.

Kondrashov VA (1969): On the toxic action of chloraniline and aniline fumes on the organism through the intact skin exposed to them. *Gigiena Truda i Professional'nye Zabolevaniya*, 13:29–32.

Levina MM, Kurando TB, Belyakov AA, Smirnova VG, Odlyzhko SL (1966): Questions of occupational hygiene and the status of employee health in the production of monuron. *Gigiena Truda i Professional'nye Zabolevaniya* 11:54–56.

Lewalter J, Korallus U (2003): Blood protein conjugates and acetylation of aromatic amines; *Int Arch Occup Environ Health* 56:179-196 and *Updating in the Field of Biotic and Abiotic Systems.* - 12 H 6: 589-593.

MAK Begründung 1990 und Nachtrag 2009 p-Chloroaniline:  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mb10647e0003/pdf> und  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mb10647d0046/pdf>

MAK Begründung 1983 und Nachtrag 2007 Anilin:

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mb6253d0018/pdf> und

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mb6253d0042/pdf>

MAK 2010: Phäochromozytome: Mechanismen und Relevanz für die Bewertung beim Menschen.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mbphaeod0049/pdf>

Maronpot RR, Shimkin M, Witschi B, Smith H P, Cline LH, Strain JM (1986): A Mouse Pulmonary Tumor Test Results for Chemicals Previously Tested in the National Cancer Institute Carcinogenicity Tests 1, JNCI, VOL. 76, NO.6.

McLean S, Starmer GA, Thomas J (1969): Methaemoglobin formation by aromatic amines. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 21:441–450.

Mellert W, Deckardt K, Gembardt C, Zwirner-Baier I, Jäckh R, van Ravenzwaay B (2004) Aniline: early indicators of toxicity in male rats and their relevance to spleen carcinogenicity. *Hum Exp Toxicol* 23: 379 – 389

Messmer AS, Nickel CH, Bareiss D (2015): P-Chloroaniline Poisoning Causing: Methemoglobinemia: A Case Report and Review of the Literature. *Emergency Medicine Volume 2015*, Article ID 208732, 4 pages

Miyata R, Nohmi T, Yoshikawa K, Ishidate M Jr (1981): Metabolic activation of p-nitrotoluene and trichloroethylene by rat-liver S9 or mouse-liver S9 fractions in *Salmonella typhimurium* strains. *Eisei Shikenjo Hokoku*. 99:60-5. [Article in Japanese]

Moser V.C., McDaniel, K.M. and Phillips, P.M. (1991). Rat Strain and Stock Comparisons Using a Functional Observational Battery: Baseline Values and Effects of Amitraz. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 108, 267-283.

National Cancer Institute (1979). Bioassay of p-chloroaniline for possible carcinogenicity (CAS No. 106-47-8). NCI technical report NCI-CG-TR-189. U.S. Department Of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, National Institutes of Health. [http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt\\_rpts/tr189.pdf](http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr189.pdf)

National Toxicology Program (NTP) (1989): Toxicology & Carcinogenesis Studies of para-Chloroaniline hydrochloride in F344/N Rats and B6C3F1 Mice Technical Report Series No. 351 (1989) NIH Publication No. 89-2806 U.S. Department of Health and Human Services, National Toxicology Program, National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, NC 27709

National Toxicology Program (NTP), Chhabra, RS (1998): NTP Technical Report on Comparative Toxicity Studies of o-, m-, and p-Chloroaniline (CAS Nos. 95-51-2; 108-42-9; and 106-47-8) Administered by Gavage to F344/N Rats and B6C3F1 Mice. Toxicity Report Series No. 43:1-F20. [http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/st\\_rpts/tox043.pdf](http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/st_rpts/tox043.pdf)

NTP, NTP website at <http://tools.niehs.nih.gov/cebs3/ui>.

Netherlands.Rijswijk [Health Council of the Netherlands] (1998): P-Chloroaniline: Evaluation of the carcinogenicity and genotoxicity: Report of the Dutch Expert Committee on Occupational Standards, a committee of the health council of the Netherlands, to the Minister and State Secretary of Social Affairs and Employment. ISBN: 9055492302, 9789055492305

Neumann HG (2003): Monozyklische aromatische Amino- und Nitroverbindungen: Vergleichende Betrachtungen zur Toxizität, Genotoxizität und Kanzerogenität als Beitrag zu ihrer Einstufung in eine Kanzerogenitäts-Kategorie. The MAK Collection for Occupational Health and Safety.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mb0maryverd0037/pdf>

Nomura A (1975): Studies on sulfhemoglobin formation by various drugs. *Folia Pharmacologica Japonica* 71:351–365.

Nyska A, Haseman JK, Kohen R, Maronpot RR. (2004): [Association of liver hemangiosarcoma and secondary iron overload in B6C3F1 mice--the National Toxicology Program experience.](#)

*Toxicol Pathol.* 2004 Mar-Apr;32(2):222-8.



Golly I, Hlavica P (1985): N-Oxidation of 4-chloroaniline by prostaglandin synthase Redox cycling of radical intermediate(s). *Biochem. J.* 260: 803-809

Greim H, Hartwig A, Reuter U, Richter-Reichhelm HB, Thielmann HW (2009): Chemically induced pheochromocytomas in rats: mechanisms and relevance for human risk assessment. *Crit Rev Toxicol.* 39(8):695-718.

OECD (1997): Technical Guideline for the testing of Chemicals 424: Neurotoxicity Study in Rodents.  
<http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9742401e.pdf?expires=1434278631&id=id&accname=guest&checksum=CBA770444E89808C3121F839E1B3B0F6>

Ogawa T, Hirose Y, Yatome C (1991): Effects of Monochlorophenols and p-Chloroaniline on Nucleic Acid Synthesis in Microbial Growth Process. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 47(1):8-14.

Okazaki Y, Yamashita K, Ishii H, Sudo M, Tsuchitani M (2003): Potential of neurotoxicity after a single oral dose of 4-bromo-, 4-chloro-, 4-fluoro- or 4-iodoaniline in rats. *J Appl Toxicol.* 23(5):315-22.

Oulmi Y, Braunbeck T (1996): Toxicity of 4-chloroaniline in early life-stages of zebrafish (*Brachydanio rerio*): I. cytopathology of liver and kidney after microinjection. *Arch Environ Contam Toxicol.* 30(3):390-402.

Ozaki K, Haseman JK, Hailey JR, Marenpot RR, Nyska A (2002): Association of adrenal pheochromocytoma and lung pathology in inhalation studies with particulate compounds in the male F344 rat – the National Toxicology Program experience. *Toxicol Pathol* 30: 263 – 270

Pacséri I, Magos L, Batskor IA (1958): Threshold and toxic limits of some amino and nitro compounds. *Archives of Industrial Health* 18:1–8.

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

Perry DF, Carter DE, Sipes IG (1981): Distribution and excretion of <sup>14</sup>C-parachloroaniline in the rat. *Toxicologist*, 1:4.

Pienta RJ, Kawalek JC (1981): Transformation of hamster embryo cells by aromatic amines. *National Cancer Institute Monographs* 58:243–251.

Pienta RJ, Poiley JA, Leberherz WB III (1977): Morphological transformation of early passage golden Syrian hamster embryo cells derived from cryopreserved primary cultures as a reliable in vitro bioassay for identifying diverse carcinogens. *International Journal of Cancer* 19:642–655.

Pizon AF, Schwartz AR, Shum LM, Rittenberger JC, Lower DR, Giannoutsos S, Virji MA, Krasowski MD (2009): Toxicology laboratory analysis and human exposure to p-chloroaniline. *Clin Toxicol (Phila)*. 47(2):132-6.

Prasad I (1970): Mutagenic effects of the herbicide 3',4'-dichloropropionanilide and its degradation products. *Canadian Journal of Microbiology*, 16:369.372.

Rankin GO, Yang DJ, Cressey-Veneziano K, Casto S, Wang RT Brown PI (1986): In Vivo and in Vitro Nephrotoxicity of Aniline and its Monochlorophenyl Derivatives in the Fischer Rat; *Toxicology* 38:269 –283.

Rankin GO, Valentovic MA, Beers KW, Nicoll DW, Ball JG, Anestis DK, , Brown PI, Hubbard JL (1993): Renal and hepatic toxicity of monochloroacetanilides in the Fischer Rat 344. *Toxicology* 79:181–193.

Rankin GO, Beers KW, Nicoll DW, Anestis DK, Hong SK, Hubbard JL, Ball JG, Valentovic MA, Brown PI (1996): Nephrotoxic potential of 2-amino-5-chlorophenol and 4-amino-3-chlorophenol in Fischer 344 rats: comparisons with 2- and 4-chloroaniline and 2- and 4-aminophenol. *Toxicology* 108(1–2):109–123.

Rosenkranz HS, Poirier LA (1979): Evaluation of the mutagenicity of DNA-modifying activity of carcinogens and noncarcinogens in microbial systems. *Journal of the National Cancer Institute*, 62(4):873. 891

- Sabbioni G, Jones CR (2002): Biomonitoring of arylamines and nitroarenes. *Biomarkers* 7(5):347-421.
- Scott AI, Eccleston E (1967): Investigations of the general toxic and haematological effects of para-chloraniline in several species. *Proceedings of the European Society for the Study of Drug Toxicity* 8:195-204.
- Shen Y, Qi I, Qin J, Zhang h, Qiao, j, Chen Y, Mao L (2011): Development of a new open-tubular capillary electrochromatography method for in vitro monitoring of toxic aromatic amines distribution in rat blood. *J. Sep. Sci.*, 3538 – 3545.
- Stevens LE, Durrwachter JR, Helton DO (1986): Analysis of chlorhexidine sorption in soft contact lenses by catalytic oxidation of [<sup>14</sup>C] chlorhexidine and by liquid chromatography. *J Pharm Sci.* 75(1):83-6.
- Smith MR, Damani LA, Disley LG, Gorrod JW, Marsden JT, Patterson LH, Rhenius ST (1978): Ferrihaemoglobin formation by N-oxidation products of certain compounds in the rabbit. In: Gorrod JW, ed. *Biological oxidation of nitrogen*. Amsterdam, Elsevier, pp. 363-368.
- Talaska G (2003): Aromatic amines and human urinary bladder cancer: exposure sources and epidemiology. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 21(1):29-43.
- Topham JC. (1980): The detection of carcinogen-induced sperm head abnormalities in mice. *Mutat Res.* 69(1):149-55.
- Traul KA, Takayama K, Kachevsky V, Hink RJ, Wolff JS (1981): A rapid *in vitro* assay for carcinogenicity of chemical substances in mammalian cells utilizing an attachment-independence endpoint. *Journal of Applied Toxicology* 1:190-195.
- Uno, Y; H. Kojima, T. Omori, R. Corvi, M. Honma, L.M. Schechtman, R.R. Tice, C. Beevers, M. De Boeck, B. Burlinson, C.A. Hobbs, S. Kitamoto, A.R. Kraynak, J. McNamee, Y. Nakagawa, K. Pant, U. Plappert-Helbig, C. Priestley, H. Takasawa, K. Wada, U. Wirtzner, N. Asano, P. Escobar, D. Lovell, T. Morita, M. Nakajima, Y. Ohno, M. Hayashi (2015), JaCVAM-organized international validation study of the in vivo rodent alkaline comet assay for detection of genotoxic carcinogens: II. Summary of definitive validation study results, *Mutat. Res.* 786-788 (2015) 45-76.
- US Environmental Protection Agency (EPA) (1990): *Textile dye weighing monitoring study*. Washington, DC, US EPA Office of Toxic Substances (EPA 560/5-90-009).  
<http://joomla.eos.net/~ungers/Textile%20Dye%20Weighing%20Monitoring%20Study%20EPA%20560-5-90-009.pdf>
- Valentovic MA, Ball JG, Anestis D, Rankin GO (1993): Investigation of 4-chloroaniline toxicity in Fischer 344 (F344) rats. *Toxicologist* 13(1):208.
- Van der Bijl P, Gelderblom WC, Thiel PG (1984): On the mutagenicity of parachloroaniline, a breakdown product of chlorhexidine. *J Dent Assoc S Afr.* 39(8):535-7.
- Van der Vorst MM, Tamminga P, Wijburg FA, Schutgens RB (1990): Severe methaemoglobinaemia due to para-chloroaniline intoxication in premature neonates. *Eur J Pediatr.* 150(1):73.
- Ward JM, Reznik G, Garner FM (1980): Proliferative lesions of the spleen in male F344 rats fed diets containing P-chloroaniline. *Vet Pathol.* 17(2):200-5.
- Watanabe T, Ishihara N, Ikeda M (1976): Toxicity of and biological monitoring for 1,3-diamino-2,4,6-trinitrobenzene and other nitro-amino derivatives of benzene and chlorobenzene. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 37:157-168.
- World Health Organization (2003): Concise International Chemical Assessment Document 48: 4-Chloroaniline. <http://whqlibdoc.who.int/publications/2003/9241530480.pdf>
- Williams GM, Laspia MF, Dunkel VC (1982): Reliability of the hepazite primary culture/ DNA repair test in testing of coded carcinogens and noncarcinogens. *Mutation research*, 97:359 – 370.

Yamazaki K, Suzuki M, Kano H, Umeda Y, Matsumoto M, Asakura M, Nagano K, Arito H, Fukushima S (2009): Oral Carcinogenicity and Toxicity of 2-amino-4-chlorophenol in rats. *J. Occup Health* 51: 249 – 260.

Yoshida M, Yoshikawa H, Goto H, Hara I (1989): Evaluation of the nephrotoxicity of aromatic nitro-amino compounds by urinary enzyme activities. *J Toxicol Sci.* 14(4):257-68.

Yoshida T, Hirata M, Tabuchi T, Miyajima K (1991): Identification of urinary metabolites in a patient of acute poisoning by p-chloroaniline. *Japanese Journal of Industrial Health.* 33:501–508. [Article in Japanese]

Yoshida T, Hirata M, Tabuchi T, Miyajima K (1992a): Excretion of p-chloroaniline metabolites into urine. *Japanese Journal of Industrial Health* 34:3–9. [Article in Japanese]

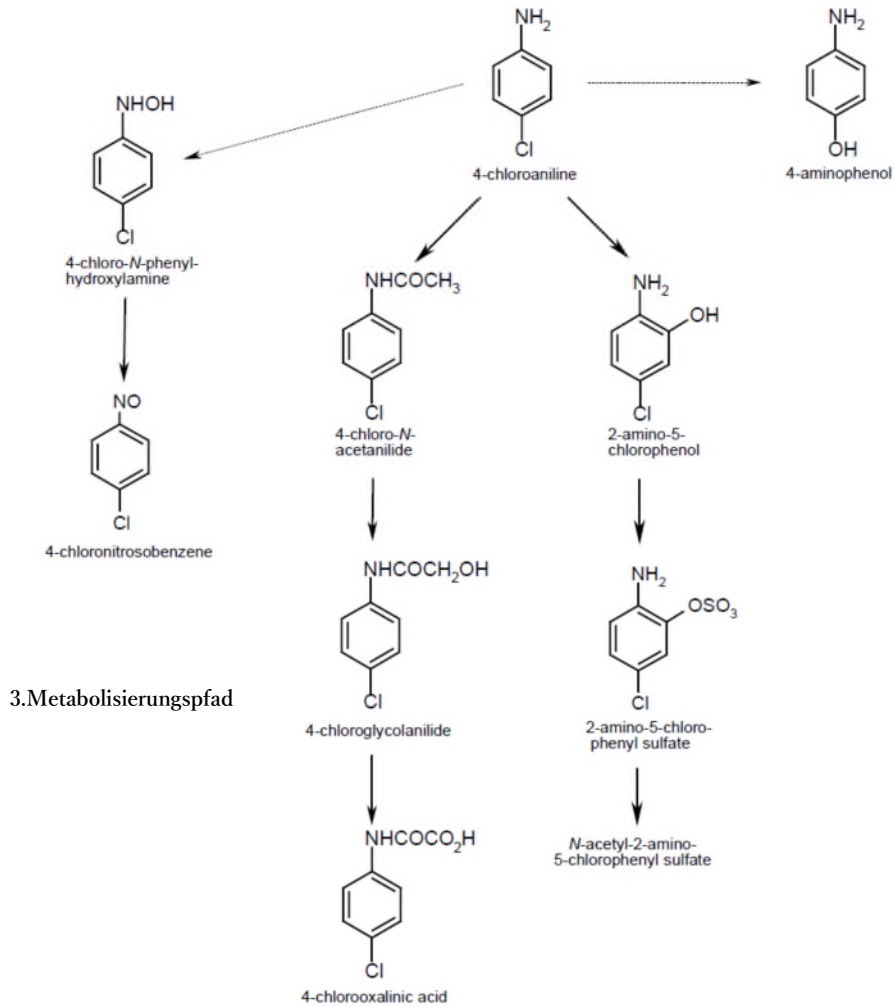
Yoshida T, Hirata M, Tabuchi T, Miyajima K, Andoh K (1992b): Amounts of urinary metabolites of p-chloroaniline and their half lives in a patient with acute poisoning. *Japanese Journal of Industrial Health* 34:126–130. [Article in Japanese]

Zvezdaj VI (1970): Die Toxikologie von isomeren (para- und meta-) Chloranilinen und die experimentelle Begründung der maximal zulässigen Konzentrationen dieser Verbindungen in der Luft von Arbeitsräumen. *Farmakologiya i Toksikologiya (Kiev)*, 5:145–148.

Zwirner-Baier I, Deckart K, Jäckh R, Neumann H-G (2003) Biomonitoring of aromatic amines VI: determination of hemoglobin adducts after feeding aniline hydrochloride in the diet of rats for 4 weeks. *Arch Toxicol* 77: 672–677

**Anhang**  
**Schemata, Detailberechnungen und Detailtabellen**

Anlage 1 Fließschema der Hauptmetabolisierungspfade von pCA nach WHO, CICADS 48, 2003 - Anhang 1

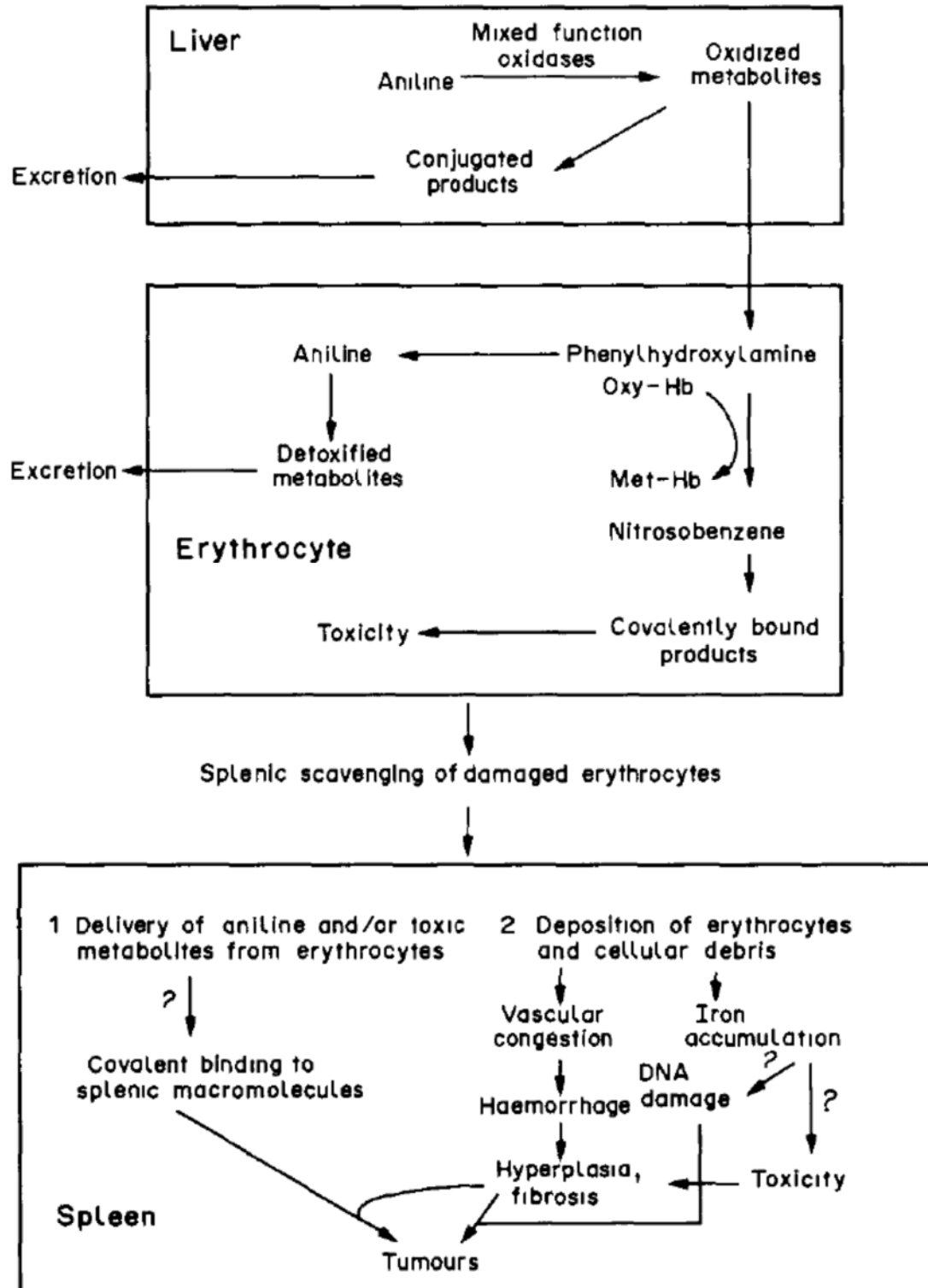


3. Metabolisierungspfad

2. Metabolisierungspfad

1. Metabolisierungspfad

Anlage 2 Vorschlag eines Mechanismus-Schemas zur direkten Milz-Toxizität von Anilin und strukturverwandten Verbindungen (Bus und Popp, 1987)



## Anlage 3

## Tabelle zu Tierstudien zu Kinetik und Metabolismus (Absorption, Verteilung, Exkretion)

Spezies, Stamm, Geschlecht Anzahl der Tiere	Exposition	Konzentration	Zeit nach Exposition	% Methämoglobin nach pCA-Gabe	Bemerkungen	Referenz
<b>Absorption - Methämoglobin-Bildung nach einmaliger Gabe von pCA</b>						
Maus, n.g.	i.p.	63.8 mg/kg KG (0.5 mmol/kg KG)	10 min 30 min 90 min 150 min 96 h	61.5 65.7 36.7 9.3 3.6	Sulfhämoglobin Bildung: sign. erhöht (4.2–6.9%) in der Zeit von 24–96 h	Nomura (1975)*
Wistar Ratte, ♀	oral, Gavage	76.5 mg/kg KG (0.6 mmol/kg KG)	15 min 60 min 120 min 7 h	26 49.0 45 25		Birner & Neumann (1988)*
Wistar Ratte, n.g.	oral	13 mg/kg KG 40 mg/kg KG 89 mg/kg KG 133 mg/kg KG	60–90 min (alle)	3.2 14.9 36.8 59.2	Zyanose ab 40 mg/kg KG; Methämoglobinbildung reversibel 18–48 h nach Exposition	Scott & Eccleston (1967)*
Wistar Ratte, n.g.	dermal	13–40 mg/kg KG	60–90 min (alle)	Vergleichbar mit oralen Gabe		
Wistar Ratte, ♂	i.p.	1.28 mg/kg KG (0.01 mmol/kg KG)	5 h	10.0	Keine Information zum Zeitpunkt der max. Reaktion	Watanabe et al. (1976)*
Wistar Ratte, ♂	i.p.	128 mg/kg KG (1 mmol/kg KG)	n.g.	4.9	Methämoglobin -Gehalt der unbehandelten Kontrollgruppe: 1.1%	Yoshida et al. (1989)*
New Zealand White Kaninchen, ♂	i.v.	3.2 mg/kg KG (0.025)	10 min (max.)	3		Smith et al. (1978)*
Katze, n.g.	oral	8.0 mg/kg KG (0.0625 mmol/kg KG)	1 h 2 h 5 h 8 h	17.1 33.1 57.8 47.8		McLean et al. (1969)*
Katze, ♂	oral, Gavage	10 mg/kg KG 50 mg/kg KG 100 mg/kg KG	3 h (max.) n.g. n.g.	28 >70 >70	Heinz Körper: 10 mg/kg KG: max. 39% nach 7h; higher doses up to 100%; Mortalität: 50 mg/kg KG 1/2, 100 mg/kg KG 1/1	Bayer AG (1984)*
Beagle Hund, n.g.	oral	10 mg/kg KG		11–12	Methämoglobinämie und Zyanose nach 1–2 h	Scott & Eccleston (1967)*
Affe, n.g.	oral	54 mg/kg KG		13.6	Methämoglobinämie und Zyanose nach 1–2 h	Scott & Eccleston (1967)*
<b>Absorption / Verteilung</b>						
Rhesus-Affe, ♂, 2	Intragastral (Nasensonde)	20 mg [ <sup>14</sup> C]- pCA/kg KG als Hydrochlorid; Reinheit:> 98 %	0, 5min, 10 min, 30 min, 1h, 2h, 4h, 8h, 12h, 24 h		<ul style="list-style-type: none"> <li>Bestimmung der Radioaktivität im venösen Gesamtblut</li> <li>Maximum nach 1 h (ca.160µM-Äquivalente) im Plasma</li> <li>Anreicherung der Radioaktivität innerhalb von 24h in Erythrozyten</li> <li>Halbwertszeit von pCA: 1 h</li> <li>Hauptmetabolite im Blut: nach 1 h: 4-Chloracetanilid (26 %) 2-Amino-5-chlorphenylsulfat (27 %); (pCA-Gehalt: 6 %) nach 24 h: 4-Chloracetanilid (90 %)</li> </ul>	Ehlhardt u. Howbert (1991)*
C3H Maus, ♀, 6	Intragastral (Gavage –	20 mg [ <sup>14</sup> C]- pCA/kg KG als	24h, 48 h, 72 h, 96 h		<ul style="list-style-type: none"> <li>Untersuchung von Harn und Faeces auf Radioaktivität</li> </ul>	Ehlhardt u. How-

Spezies, Stamm, Geschlecht Anzahl der Tiere	Exposition	Konzentration	Zeit nach Exposition	% Methämoglobin nach pCA-Gabe	Bemerkungen	Referenz
F344 Ratte, ♂, 3 Rhesus-Affe, ♂, 2	Maus, Ratte; Nasensonde-Affe)	Hydrochlorid; Reinheit:> 98 %			<ul style="list-style-type: none"> <li>· Harnausscheidung: Maus: 80% nach 24 h; 83,4% nach 72 h Ratte: 87% nach 24 h; 89,9% nach 72 h Affe: 55% in 24 h; nach 48h:71 %; nach 96 h: 81 %</li> <li>· Ausscheidung über Faeces: Maus: nach 96 h: 5,2 % Ratte: nach 96 h: 8,3 % Affe: nach 96 h: 1,2 %</li> <li>· Metaboliten: Maus: 2-Amino-5-chlorphenylsulfat (49 %); 4-Chloroxalsäureanilid: 6.6 %; unbekannte Verbindungen: 22 %; pCA: 1,7 %; Gesamtausscheidung: 80 % nach 24 h Ratte: 2-Amino-5-chlorphenylsulfat (54 %); 4-Chloroxalsäureanilid: 11 %; unbekannte Verbindungen: 11 %; Gesamtausscheidung: 88 % nach 24 h Affe: 2-Amino-5-chlorphenylsulfat (36 %); 4-Chloroxalsäureanilid: 1 %; unbekannte Verbindungen: 11 %; Gesamtausscheidung: 56 % nach 24 h</li> </ul>	bert (1991)*
F-344 Ratten	Oral (Gavage)	Einmalig 0,3, 3, 30 mg [ <sup>14</sup> C]-pCA/kg KG	24 h, 7 d		<ul style="list-style-type: none"> <li>· Untersuchung von Harn und Faeces auf Radioaktivität</li> <li>· Harnausscheidung: Ausscheidung nach 24 h: Harn: 81%; Faeces: 10 % nach 7 d: Harn: 87%; Faeces: 11 %</li> <li>· Radioaktivität in Erythrozyten: nach 7 d: 0.9 – 2.3 %</li> <li>· Radioaktivität im Gewebe.: nach 7 d: &lt; 1 %</li> </ul>	Perry et al. (1981); NTP (1989)*
F-344 Ratten	Intravenös (i.v.)	Einmalig 3 mg [ <sup>14</sup> C]- pCA /kg KG	10 min, 2 h, 12 h, 48 h, 72h, 7d		<ul style="list-style-type: none"> <li>· Untersuchung der Akkumulation in den Erythrozyten anhand des Erythrozyten-Plasma-Verhältnisses hinsichtlich der Verteilung der Radioaktivität; nach 2 h: 2:1; nach 12 h: 20:1, nach 48 h: 74:1</li> <li>· Verteilung im Organismus nach 15 min (% der Dosis): Leber: 8%; Muskelgewebe: 34%; Fettgewebe: 14%; Haut: 12%; Blut: 7%; Dünndarm: 3%; Nieren: 3%; Reduzierung der Konzentration im Gewebe auf weniger als 0.5% nach 72 h</li> <li>· Elimination aus dem Gewebe: 2-phasig; 1. Stufe: Initial-Halbwertzeit: &lt; 10 min; 2. Stufe: Terminale Halbwertzeit: 3 -4h; nach 7 d: Radio-</li> </ul>	Perry et al. (1981); NTP (1989)*

Spezies, Stamm, Geschlecht Anzahl der Tiere	Exposition	Konzentration	Zeit nach Exposition	% Methämoglobin nach pCA-Gabe	Bemerkungen	Referenz
					aktivität nur noch in den Erythrozyten: 0.85 – 2,3% · Vergleichbare Ergebnisse bei Versuchen an Hunden nach einmaliger intravenöse Gabe von 3 mg <sup>[14C]</sup> -pCA/kg KG	
F-344 Ratten, ♂, 4 Tiere/Gruppe	i.p.	0.5; 1.0 mmol <sup>[14C]</sup> - pCA /kg KG	3 h, 24 h		<ul style="list-style-type: none"> <li>· Bestimmung der Radioaktivität; t &gt; in Leber, Niere, Milz</li> <li>· 0.5 mmol-Dosis – nach 3h: Leber: 11.04 µmol/g Gewebe (94% der Gesamtdosis); Nierenmark: 9.05 µmol/g Gewebe; Milz: 4.19 µmol/g Gewebe; Plasma: 5.91 µmol/g; Erythr.:4.77 µmol/g</li> <li>· 1 mmol-Dosis – nach 3h: Leber: 18.19 µmol/g Gewebe (85% der Gesamtdosis); Nierenmark: 16.61 µmol/g Gewebe; Milz: 6.26 mol/g Gewebe; Plasma: 11.92 µmol/g; Erythr.:3.19 µmol/g</li> <li>· 1 mmol-Dosis – nach 24h: Leber: 14.91 µmol/g Gewebe (70.45% der Gesamtdosis); Nierenmark: 25.55 µmol/g Gewebe (3.16%); Milz: 16.7 mol/g Gewebe (2.63%); Plasma: 14.86 µmol/g; Erythr.:6.87 µmol/g</li> <li>· Radioaktivität in kovalenten Bindungen von mikrosomalen und zytosolischen Proteinen an Nieren- und Leber nachweisbar; geringer Einfluss von Zeit und Dosis</li> </ul>	Dial et al (1998)*

\* zitiert in WHO, CICADS 48, 2003



## Anlage 4 Tabelle zu tierexperimentelle Daten – akute Toxizität – einmalige Dosis

Spezies	Exposition	Dosis	Effekte <sup>a</sup>	Bemerkungen	Referenz
Ratte (CrI:CD) (♂)	Inhalation (Kopf) 4-h Exposition, Nachbeobachtung nach 14 d	1690, 1810, 1920, 2101, 2380, 2660 mg/m <sup>3</sup> ; pCA Dampf/Aerosol-Gemisch: lungengängige Fraction 57–95%	<ul style="list-style-type: none"> <li>Alle Konz.: Zyanose und Lethargie für 24 h; Gewichtsverlust: 7-23%; Hornhauttrübung 14 d; Mortalität: LC<sub>50</sub> 2340 mg/m<sup>3</sup> (2200–2570 mg/m<sup>3</sup>)</li> </ul>	Andere Effekte wurden nicht spezifiziert	Du Pont (1981)
Fischer 344 Ratte (♂)	i.p.	51.2, 128, 191 mg/kg KG (0.4, 1, 1.5 mmol/kg KG)	<ul style="list-style-type: none"> <li>ab 128 mg/kg KG: Nahrungs- und Wasseraufnahme ↓ ab 1. Tag nach Verabreichung; Hämaturie, Proteinurie</li> <li>191 mg/kg KG: BUN ↑; Histopathologie: hypertrophe Veränderung der Tubuluszellen, lysosomale Granula ↑</li> </ul>	Urinmenge: keine einheitlichen Effekte (↓ und↑), mögl. Korrelation zur H <sub>2</sub> O-Aufnahme; Nierenschäden: Effekt von pCA > Anilin	Rankin et al. (1986)
Fischer 344 Ratte (♂)	i.p.; Nachbeobachtung nach 48 h	191 mg/kg KG (1.5 mmol/kg KG)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Urin: Menge sign. ↓ ab Tag 0 und 1;</li> <li>Proteinausscheidung im Urin sign. ↓; BUN sign ↑</li> <li>keine Veränderungen der Nierengewichte</li> <li>Nieren-Morphologie: proximale Tubuli vergrößert u. gefüllt mit farblosen Globula, distale Tubuli - weniger Zytoplasma; kortikale Kapillaren mit Erythrozyten gefüllt</li> </ul>	Fast keine Nahrungs- u. Wasseraufnahme am 1 und 2. Tag	Rankin et al. (1996)
Fischer 344 Ratte (♂)	i.p.	128, 191 mg/kg KG (1–1.5 mmol/kg KG)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dosis-abhängige Erhöhung von ALT, BUN</li> </ul>	Beeinträchtigung der Nieren-u. Leberfunktionen innerhalb von 24h	Valentovic et al. (1993)
Fischer 344 Ratte (♂)	i.p.	128 mg/kg KG (1 mmol/kg KG)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Urin: Menge sign. ↑, Kreatinin ohne Effekt, NAG und γ-GTP sign. ↑</li> <li>Plasma: kein Effekt von Harnstoff-Stickstoff</li> <li>Histopathologie: Nierentubuli leichte Schwellung der Epithelzellen (1/5)</li> </ul>		Yoshida et al. (1989)

ALT: Alanin-Aminotransferase;

BUN: blood urea nitrogen (Blut-Harnstoff-Stickstoff);

γ-GTP: γ-Glutamyltranspeptidase;

NAG: N-Acetyl-β-D-Glucosaminidase

Anlage 5 Tabelle zu tierexperimentellen Daten – subakute, subchronische und chronische Wirkung von pCA und pCA · HCl (Studien mit oraler Applikation) – nicht-karzinogene Endpunkte

Spezies, Geschlecht, Anzahl der Tiere	Expositions-dauer	Applikation, Dosis/d	Effekte	Referenz
Ratte (F 344/N) 5♂; 5♀/Gruppe	16 d, 5 d/w, 12 Gaben insgesamt	Gavage (als pCA-HCl in H <sub>2</sub> O) 0, 25, 50, 100, 200, 400 mg/kg KG	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Zyanose bei allen dosierten Tieren</li> <li>· ab 25 mg/kg KG: verlangsamte Atmung, Milzvergrößerung</li> <li>· 100 mg/kg KG: KG ↓ (♂: 19%, ♀: 5%); sinusoidale Kongestion der Milz; Hämosiderinablagerungen in den Tubulepithelzellen der Nierenrinden bei ♂</li> <li>· ab 200 mg/kg KG: Lethargie, Überlebensrate ↓ innerhalb von 5 d (0/5)</li> </ul>	NTP (1989); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003
Ratte (F 344/N) 5♂, 5♀/Gruppe	4 w, 2 w Nach- beobach- tung	Oral 0, 7, 15, 30, 70, 150 mg/kg KG <sup>b</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· KG: ↑ bei allen Dosisgr. (♂&gt;♀), Ausnahme 70 mg/kg KG: ♀ ↓; keine Mortalität</li> <li>· ab 70 mg/kg KG: vergrößerte Milz, Hämosiderin in der Niere mit Plaquetbildung</li> </ul>	NCI (1979); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003
Ratte (F 344/N) 10♂; 10♀/ Gruppe	13 w, 5 d/w, 64– 65 Dosen insgesamt	Gavage (pCA-HCl in H <sub>2</sub> O) 0, 5, 10, 20, 40, 80 mg/kg KG	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Keine Mortalität, außer 80 mg/kg KG: 9/10 ♀ (ungeklärte Ursache);</li> <li>· KG: keine Effekte, außer 80 mg/kg KG: KG ↓ für ♂ (–16%) Zyanose bei hohen verabreichten Dosen (nicht weiter spezifiziert)</li> <li>· ab 5 mg/kg KG: Milz-Gewicht dosisabhängig sign. ↑; Hämosiderinablagerungen in Nieren und Milz, Milz-Kongestion und Hämatopoese;</li> <li>· Hämatokrit, Hämoglobin, Erythrozyten sign. ↓; Methämoglobin sign. ↑; bei ♀: Leukozyten und Lymphozyten sign. ↑</li> <li>· ab 10–20 mg/kg KG: Hämosiderin und Hämatopoese in Leber; Anzahl von segmentkernigen neutrophilen Granulozyten, mittl. Erythrozyteneinzelvolumen, Erythrozyten mit Kern sign. ↑;</li> <li>· 40 mg/kg KG: ♂: sign. ↑ von Leukozyten u. Lymphozyten</li> <li>· 80 mg/kg KG: ♂: Hirn- u. Lungengewichte sign. ↓; ♀: Herz- u. Nierengewicht sign. ↑</li> <li>· <b>Kein NOAEL ableitbar!</b></li> </ul>	Chhabra et al. (1986, 1990); NTP (1989); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003
Ratte (Wistar) 10♂ and 10♀/Gruppe	täglich über 3 m	oral; 0, 8, 20, 50 mg/kg KG	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Zyanose</li> <li>· 8 und 20 mg/kg KG: keine Effekte</li> <li>· 50 mg/kg KG: ↑: Heinz Körper (&gt;20 /100 Erythrozyten), Retikulozyten (&gt;2%); extramedulläre Erythropoese in Milz, Leber und Lunge (gering); Hyperplasie des Knochenmark; Hämosiderin in Leber, Milz u. Nieren (gering)</li> </ul>	Scott & Eccleston (1967); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003
Albino Ratte n.g.	3 m	Gavage (pCA in Sonnenblumenöl); 37 mg/kg KG	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Zyanose</li> <li>· Erythrozyten sign. ↓ (p&lt;0.02 – 0.001)</li> <li>· Hämoglobin sign. ↓ (p&lt;0.01 – 0.001)</li> <li>· Methämoglobin, Retikulozyten, polychromatische Normoblasten sign. ↑</li> </ul>	Khamue v (1967); zit. u. a. in MAK 1990,

Spezies, Geschlecht, Anzahl der Tiere	Expositions-dauer	Applikation, Dosis/d	Effekte	Referenz
			<ul style="list-style-type: none"> <li>Urobilin im Urin sign. ↑ (p&lt;0.05 – 0.001)</li> <li>Milzgewicht sign. ↑(p&lt;0.02 – 0.001)</li> <li>dystrophische Veränderungen in Leber und Nieren</li> </ul>	BUA 1995, WHO 2003
Ratte (F 344/N) 50♂, 50♀/Dosis-Gruppe; 20♂; 20♀ / Kontrollgruppe	78 w, 24 w Nachbeobachtung	Oral 0, 15, 30 mg/kg KG <sup>c</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ab 15 mg/kg KG: nicht-neoplastische Proliferation und fibrotische Milzkapsel, parenchymale Läsionen</li> </ul>	NCI (1979); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003
Ratte (F 344/N) 50 ♂; 50 ♀ /Gruppe	103 w, 5 d/w	Gavage (als pCA-HCl in H <sub>2</sub> O) 0, 2, 6, 18 mg/kg KG	<ul style="list-style-type: none"> <li>KG: 4–6% ↓; Überlebensrate in Dosis-Gruppen &gt; neg. Kontrollgruppe</li> <li>zeitabhängige hämatologische Veränderungen in Blutproben</li> </ul>	NTP (1989); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003
			nach 26 w: <ul style="list-style-type: none"> <li>Leichte bis moderate Vern MAK 1990, ab 2 mg/kg KG: mittleres ZellvolumenBUAMeth mg/kg KG vorh.</li> <li>ab 6 mg/kg KG: Hittleres Zellvolumen-BUA 199matokritit mittlerer HKG: Hittleres Zellab 18 mg/kg KG: kernhaltige Erythrozyten 99matokritrenchymale Läsionennoese in Mi</li> </ul>	
			nach 52 w <ul style="list-style-type: none"> <li>Minimale bis leichte Verige Erythroab 2 mg/kg KG: Retikulozytenzahlhroab 6 mg/kg KG: Retikulozytenzahlhrozyten 99matokritopoese; , der segmentierten Neutrophilen, der kernhaltigen Erythrozyten, <b>Meths, der se</b>;eths, der segmentieab 18 mg/kg KG:entierten Neutrophil</li> </ul>	
			nach 78 w <ul style="list-style-type: none"> <li>Leichte bis moderate Ver Neutrophilab 2 mg/kg KG:derate Ver Neutrophile<b>Meth mg/kg KG:ab 6 mg/kg KG::derate Vmoglobin, Hilab 2 mg/kg KG:derate Ver der Leukozyten, mittleres Zellvolumen, kernhaltige Erythrozyten, mittlerer Hlobin, Hilab 2 mg</b></li> </ul>	
			nach 103 w Exposition folgten 11Hilab 2 mg <ul style="list-style-type: none"> <li>nur minimale Verition folgt</li> </ul>	
			Daten nach Autopsie in der 103 w <ul style="list-style-type: none"> <li>Ab 2 mg/kg KG: psie in der 103</li> <li>Ab 6 mg/kg KG: p: MilzfibrosenwExtremitkg KG: G:derate Ver der Leukozyten, mittleres Zellvolumen, kernhaltige Erythrozyten, se; , der segmentierten Neutrophilen, der kernhaltigen Erythrozyten, u. Nieren % nach 72 hf nitrogen. Amsterhenmark: Oberschenkel Hyperplasiesien, Hilab Neutrophilen, der kernhaltigen Erythrozyten, ger a neoplastische Ver Fibrosen. f MeAnhang 10.</li> </ul>	
Maus	Gavage	· Zyanose: kein Level angegeben		NTP (1989); zit. u. a. in MAK 1990, BUA

Spezies, Geschlecht, Anzahl der Tiere	Expositions-dauer	Applikation, Dosis/d	Effekte	Referenz
(B6C3F1) 5 s; 5 s (B6C3F116 d, 5 d/w, 12 Dosen ins- gesamt	(als pCA- HCl in H <sub>2</sub> O) 0, 25, 50, 100, 200, 400 mg/kg KG	<ul style="list-style-type: none"> <li>keine Effekte hinsichtlich KG</li> <li>ab 25 mg/kg KG: nsichtlich KG Geb 25 mg/kg KG: nsichtlich KG/5; 5 mg/kg KG: nsichtlich KG</li> <li>100 mg/kg KG: H nsichtlich KG Kupferzellen (Leber), Kongestion der Milz KG</li> </ul>	1995, WHO 2003	
B6C3F1 Maus 5 ♂; 5 ♀/Gruppe	4 w, 2 w Nach- beobach- tung	Oral; 0, 38, 82, 180, 380, 820, 1200, 1800, 2600 mg/kg KG <sup>d</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>KG: leicht erhöht ↑ in allen Dosen</li> <li>Mortalität: 1200 mg/kg KG, 5/5 (♂ u. ♀); 2600 mg/kg KG, 4/5 ♂</li> <li>Vergrößerte Milz: 1800 mg/kg KG, 5/5 ♂; 2600 mg/kg KG, 5/5 ♀</li> </ul>	NCI (1979); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003
B6C3F1 Maus 10 ♂; 10 ♀/Gruppe	13 w, 5 d/w, 66– 67 Dosen gesamt	Gavage (als pCA-HCl in H <sub>2</sub> O) 0, 7.5, 15, 30, 60, 120 mg/kg KG	<ul style="list-style-type: none"> <li>verringerte Überlebensrate ↓ (7/10–10/10)</li> <li>Pneumonie (durch Sendavirus Infektion)</li> <li>keine Effekte beim KG, Ausnahme Milzgewicht war dosisabhängig erhöht</li> <li>ab 7.5 mg/kg KG: ♂ Milzgewicht ↑; Milz-Hämatopoese; ♀: Hämatokrit sign. ↓, ♂ Methämoglobin sign. ↑</li> <li>ab 15 mg/kg KG: Hämatokrit, Erythrozyten sign. ↓; Methämoglobin, mittlere Hämoglobin-Gehalt sign. ↑</li> <li>ab 30 mg/kg KG: ♂: Herzgewicht ↑, Leber: Hämosiderose, ♀: Milz-Gewicht ↑; mittlere Hämoglobin-Gehalt sign. ↑</li> <li>ab 30 und 120 mg/kg KG: Heinz Körper, Polychromasie, Poikilozytose</li> <li>Ab 60 mg/kg KG: ♂: Lungen-Gewicht ↑; ♀: Leber- u. Nieren-Hämosiderose; mittlere Hämoglobin-Gehalt sign. ↑</li> <li>120 mg/kg KG: ♂: Nieren-Hämosiderose</li> </ul>	Chhabra et al. (1986, 1990); NTP (1989); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003
B6C3F1 Maus 50♂/ 50♀/ Dosisgr.; 20♂/ 20♀/ Kontrollgr.	78 w, 13 w Nach- beobach- tung	Oral 0, 380, 750 mg/kg KG <sup>d</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Moderate bis schwere Hämosiderose der Milz, Leber, Nieren</li> </ul>	NCI (1979); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003
B6C3F1 Maus 50♂ ; 50♀ /Gr.	103 w, 5 d/w	Gavage (als pCA-HCl in H <sub>2</sub> O) 0, 3, 10, 30 mg/kg KG	<ul style="list-style-type: none"> <li>KG: bis zu 5% ↓ im Vergleich zur Kontrollgr.</li> <li>Überlebensrate: sign. ↓ für 10 mg/kg KG ♂; keine klinischen Hinweise auf Intoxikation</li> <li>ab 3 mg/kg KG: ♀: Hämatopoese in Leber ↑</li> <li>30 mg/kg KG: Hämosiderose in der Leber (♂: 50/50; ♀: 46/50) und Nieren (♀: 38/49)</li> <li>für neoplastische Veränderungen, s. Anhang 10.</li> </ul>	NTP (1989); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003
Meer- schweinchen n.g.	7m	Gavage (in Sonnenblumenöl) 0, 0.05, 0.5, 5 mg/kg KG	<ul style="list-style-type: none"> <li>ab 0.5 mg/kg KG: dystrophische Veränderungen von Leber und Nieren</li> <li>keine weiteren histologischen Effekte</li> </ul>	Khamuev (1967);

Spezies, Geschlecht, Anzahl der Tiere	Expositions-dauer	Applikation, Dosis/d	Effekte	Referenz
			(Information aus dem review).	zit. in MAK 1990; zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003
Hund (Beagle) 4♂, 4♀/Gr.	d/3m	Oral 0, 5, 1, 10, 15 mg/kg KG	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Dosisabhängige Verringerung des Hb-Werts und der Erythrozytenanzahl sowie Anstieg der Heizkörper und der Retikulozyten</li> <li>· histopathologische Veränderungen bei allen dosierten Tieren wie extramedulläre Hämatopoese in Milz und Leber</li> <li>· Hyperplasie des Knochenmarks</li> <li>· Zerstörung der Erythrozyten in Milz und Leber</li> <li>· Hämosiderinablagerungen in der Leber; Verringerung der Überlebensrate bei 15 mg/kg KG</li> <li>· <b>NOAEL &lt; 5 mg/kg KG</b></li> </ul>	Scott & Eccleston (1967); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995

Anlage 6 Tabelle zu tierexperimentellen Daten – Inhalationsstudien zur subakute, subchronische und chronische Wirkung von pCA und pCA-HCl

Spezies, Geschlecht, Anzahl der Tiere	Expositions-dauer	Applikation, Dosis/d	Effekte	Referenz
Ratte (CrI:CD) 16 ♂/ Gruppe	2 w, 5 d/w, 6 h/d, 2 w Nach- beobachtung	0, 12, 53, 120 mg/m <sup>3</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ab 12 mg/m<sup>3</sup>: Hämatologie: rote Blutzellen reduziert ↓, Methämoglobingehalt ↑, sek. Anämie- reversibel</li> <li>Histologie: Milz: extramedulläre Hämatopoese mit Hämosiderinablagerungen</li> <li>ab 53 mg/m<sup>3</sup>: leichte bis mäßige Zyanose</li> <li>ab 120 mg/m<sup>3</sup>: KG ↓ ; Rasselgeräusche bei der Atmung; irreversible Hornhauttrübung und Alopezie (keine weiteren Informationen z. B. zur Durchführung der Exposition)</li> </ul>	Du Pont (1982); zit. u. a. in BUA 1995, WHO 2003
Ratte (k. w. A.) 19/ Gruppe	4 m, 6 d/w, 4 h/d, 1 m Nach- beobachtung	0, 1.0, 9.5 mg/m <sup>3</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ab 1.0 mg/m<sup>3</sup>: nach 4 m: starke Aggressivität; leichte Anämie Hämatologie: Hämoglobin (10.23g%, Kontrolle 12.1g%, p&lt;0.001%), Erythrozyten 6.1 Mio./µl, p&lt;0.05) sign. ↓ , irreversibel nach 1m Nachbeob. (keine weiteren Informationen z. B. zur Durchführung der Exposition od. Effekten bei hohen Konz.)</li> <li>NOEL &lt; 1 mg/m<sup>3</sup></li> </ul>	Kondrashov (1969b); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003
Ratte (k. w. A.)	3 m, 6x/w	0.15 mg/m <sup>3</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ständige Überprüfung der Expositionskonz.; keine Veränderungen v. Organgewicht u. KG</li> <li>0.15 mg/kg KG: keine Veränderungen von Parametern</li> <li>1.5 mg/m<sup>3</sup>: Methämoglobinämie 4% (Kontrollgr. 1.2%) nach 2 m; keine Effekte</li> <li>15 mg/m<sup>3</sup>: Methämoglobin ↑ (nach 3 m max. 22%); nach 6 m: Hämoglobin ↓, Retikulozytose (10%) und Heinz Körper (15%) ↑ , Urobilin-Körper im Urin: bis 0.75 mg (Kontrolle: 0.1 mg) keine Störung d. Leberfunktion; zeitw. Störung v. bedingten Reflexen (k. w. A.)</li> <li>(keine weiteren Informationen z. B. zur Durchführung der Exposition)</li> </ul>	Zvezdaj (1970); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003
	6vezdaj (10, 1.5, 15 mg/m <sup>3</sup>		<ul style="list-style-type: none"> <li>keine Störung d. Leberfunktion; zeitw. Störung v. bedingten Reflexen (k. w. A.)</li> <li>(keine weiteren Informationen z. B. zur Durchführung der Exposition)</li> </ul>	
Katze (k.5 mg/m z8/ Gruppe	4/ Gruppew, 4ruppe 1 4ruppe- beobachtung	0, 1.04, 6.9 mg/m <sup>3</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1.04 mg/m<sup>3</sup>: ab 2 m: sign./mit. u. inz Keobachtung 5,3%, 3m: 9%, 4m: 11.7% (p&lt;0.01), reversibel nach 1 m Nachbeobachtung</li> <li>6.9 mg/m<sup>3</sup>: 9 mg/m: sign./mit. u. inz K.01), reversibel nach 1 m Nachbeobachtung d. Leberfunktion; zeitw. Steobachtungr im Urin: bis 0.75 mg (Kontrolle: 0.1 mg) keine Stversibel nach 1m NaKondrashov (1969b); zit. u. a. in MAK 1990, BUA 1995, WHO 2003</li> </ul>	

## Anlage 7 Tabelle zu weiteren Endpunkten in den Tierstudien: Neurotoxizität

Tierart (Stamm)	Applikations-art	Dosis/ Expositions-dauer	Beobachtete Effekte	Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfassung	Referenz																																																																																																
Ratte, Sprague Dawley (Crj:CD(SD)IG S), je 9 ♂ in Dosisgruppe und Kontrolle	oral: gavage	Einzeldosis 300 mg/kg pCA oder Olivenöl (Kontrollgruppe), Nachbeobachtung über 15 d, Tötung von 3 Tieren an Tag 10 und 6 Tieren an Tag 16	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>0mg/kg</th> <th>300 mg/kg</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Überlebensrate</td> <td>9/9</td> <td>9/9</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Klinische Befunde</td> </tr> <tr> <td>Zyanose</td> <td>0/9</td> <td>9/9 (Tag 1-4)</td> </tr> <tr> <td>unregelmäßige Atmung</td> <td>0/9</td> <td>7/9 (Tag 1)</td> </tr> <tr> <td>verminderte Aktivität</td> <td>0/9</td> <td>6/9 (Tag 1) 3/9 (Tag 2)</td> </tr> <tr> <td>Lähmung Hinterfüße</td> <td>0/9</td> <td>2-5/9 (Tag 7-10)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>0/6</td> <td>2-4/6 (Tag 11-16)</td> </tr> <tr> <td>Gangabnormalitäten</td> <td>0/9</td> <td>4/9 (Tag 9)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>0/6</td> <td>1/6 (Tag 15)</td> </tr> <tr> <td>beeinträchtigt Rück-ziehreflex</td> <td>0/9</td> <td>2/9 (Tag 9)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>0/6</td> <td>1/6 (Tag 15)</td> </tr> <tr> <td>beeinträchtigt Stellreflex</td> <td>0/9</td> <td>0/9 (Tag 9)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>0/6</td> <td>0/6 (Tag 15)</td> </tr> <tr> <td>Häufigkeit des Aufrichtens</td> <td>3,6</td> <td>0,4*# (Tag 9)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>0,2#</td> <td>0,2#(Tag 15)</td> </tr> <tr> <td>Greifkraft, Vorderfüße</td> <td>325,0#</td> <td>235,8* (Tag 9)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>368,1#</td> <td>327,9# (Tag 15)</td> </tr> <tr> <td>Greifkraft, Hinterfüße</td> <td>118,0</td> <td>53,4* (Tag 9)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>196,3#</td> <td>145,9# (Tag 15)</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Histopathologische Befunde</td> </tr> <tr> <td>Hirn, schwammige Veränderung:</td> <td>0/9</td> <td>1/3 (Tag 10), 4/6 (Tag 16)</td> </tr> <tr> <td>    Tegmentum</td> <td>0/9</td> <td>1/3 (Tag 10), 5/6 (Tag 16)</td> </tr> <tr> <td>    Kleinhirnseitenstrang</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Rückenmark, schwammige Veränderung, <i>Substantia alba</i></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>    cervical</td> <td>0/9</td> <td>2/3 (Tag 10), 6/6 (Tag 16)</td> </tr> <tr> <td>    thoracal</td> <td>0/9</td> <td>2/3 (Tag 10), 6/6 (Tag 16)</td> </tr> <tr> <td>    lumbar</td> <td>0/9</td> <td>1/3 (Tag 10), 4/6 (Tag 16)</td> </tr> <tr> <td>Periphere Nerven, Degeneration von Nervenfasern:</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>    Spinalnerven</td> <td>0/9</td> <td>2/3 (Tag 10), 6/6 (Tag 16)</td> </tr> <tr> <td>    Trigeminus</td> <td>0/9</td> <td>2/3 (Tag 10), 6/6 (Tag 16)</td> </tr> <tr> <td>    Ischiasnerv</td> <td>0/9</td> <td>0/3 (Tag 10), 1/6 (Tag 16)</td> </tr> </tbody> </table>		0mg/kg	300 mg/kg	Überlebensrate	9/9	9/9	Klinische Befunde			Zyanose	0/9	9/9 (Tag 1-4)	unregelmäßige Atmung	0/9	7/9 (Tag 1)	verminderte Aktivität	0/9	6/9 (Tag 1) 3/9 (Tag 2)	Lähmung Hinterfüße	0/9	2-5/9 (Tag 7-10)		0/6	2-4/6 (Tag 11-16)	Gangabnormalitäten	0/9	4/9 (Tag 9)		0/6	1/6 (Tag 15)	beeinträchtigt Rück-ziehreflex	0/9	2/9 (Tag 9)		0/6	1/6 (Tag 15)	beeinträchtigt Stellreflex	0/9	0/9 (Tag 9)		0/6	0/6 (Tag 15)	Häufigkeit des Aufrichtens	3,6	0,4*# (Tag 9)		0,2#	0,2#(Tag 15)	Greifkraft, Vorderfüße	325,0#	235,8* (Tag 9)		368,1#	327,9# (Tag 15)	Greifkraft, Hinterfüße	118,0	53,4* (Tag 9)		196,3#	145,9# (Tag 15)	Histopathologische Befunde			Hirn, schwammige Veränderung:	0/9	1/3 (Tag 10), 4/6 (Tag 16)	Tegmentum	0/9	1/3 (Tag 10), 5/6 (Tag 16)	Kleinhirnseitenstrang			Rückenmark, schwammige Veränderung, <i>Substantia alba</i>			cervical	0/9	2/3 (Tag 10), 6/6 (Tag 16)	thoracal	0/9	2/3 (Tag 10), 6/6 (Tag 16)	lumbar	0/9	1/3 (Tag 10), 4/6 (Tag 16)	Periphere Nerven, Degeneration von Nervenfasern:			Spinalnerven	0/9	2/3 (Tag 10), 6/6 (Tag 16)	Trigeminus	0/9	2/3 (Tag 10), 6/6 (Tag 16)	Ischiasnerv	0/9	0/3 (Tag 10), 1/6 (Tag 16)	<p>pCA (98% Reinheitsgrad) suspendiert in Olivenöl</p> <p>Bewertung der akuten und verzögert einsetzenden neurotoxischen Effekte einer Einzeldosis pCA</p> <p>Nach transienten akuten Intoxikationssymptomen, Ausbildung von funktionellen Defiziten mit Rückbildungstendenz und Ausbildung fortschreitender histopathologischer degenerativer Befunde in Hirn, Rückenmark und peripheren Nerven.</p>	Okazaki et al. 2003 (Original-Publikation)
				0mg/kg	300 mg/kg																																																																																																
			Überlebensrate	9/9	9/9																																																																																																
			Klinische Befunde																																																																																																		
			Zyanose	0/9	9/9 (Tag 1-4)																																																																																																
			unregelmäßige Atmung	0/9	7/9 (Tag 1)																																																																																																
			verminderte Aktivität	0/9	6/9 (Tag 1) 3/9 (Tag 2)																																																																																																
			Lähmung Hinterfüße	0/9	2-5/9 (Tag 7-10)																																																																																																
				0/6	2-4/6 (Tag 11-16)																																																																																																
			Gangabnormalitäten	0/9	4/9 (Tag 9)																																																																																																
				0/6	1/6 (Tag 15)																																																																																																
			beeinträchtigt Rück-ziehreflex	0/9	2/9 (Tag 9)																																																																																																
				0/6	1/6 (Tag 15)																																																																																																
			beeinträchtigt Stellreflex	0/9	0/9 (Tag 9)																																																																																																
				0/6	0/6 (Tag 15)																																																																																																
			Häufigkeit des Aufrichtens	3,6	0,4*# (Tag 9)																																																																																																
				0,2#	0,2#(Tag 15)																																																																																																
			Greifkraft, Vorderfüße	325,0#	235,8* (Tag 9)																																																																																																
				368,1#	327,9# (Tag 15)																																																																																																
			Greifkraft, Hinterfüße	118,0	53,4* (Tag 9)																																																																																																
				196,3#	145,9# (Tag 15)																																																																																																
Histopathologische Befunde																																																																																																					
Hirn, schwammige Veränderung:	0/9	1/3 (Tag 10), 4/6 (Tag 16)																																																																																																			
Tegmentum	0/9	1/3 (Tag 10), 5/6 (Tag 16)																																																																																																			
Kleinhirnseitenstrang																																																																																																					
Rückenmark, schwammige Veränderung, <i>Substantia alba</i>																																																																																																					
cervical	0/9	2/3 (Tag 10), 6/6 (Tag 16)																																																																																																			
thoracal	0/9	2/3 (Tag 10), 6/6 (Tag 16)																																																																																																			
lumbar	0/9	1/3 (Tag 10), 4/6 (Tag 16)																																																																																																			
Periphere Nerven, Degeneration von Nervenfasern:																																																																																																					
Spinalnerven	0/9	2/3 (Tag 10), 6/6 (Tag 16)																																																																																																			
Trigeminus	0/9	2/3 (Tag 10), 6/6 (Tag 16)																																																																																																			
Ischiasnerv	0/9	0/3 (Tag 10), 1/6 (Tag 16)																																																																																																			
<p>* p&lt;0,05 vs. Kontrollwert des jeweiligen Tages; # p&lt;0,05 vs. Ausgangswert der jeweiligen Gruppe 2 Tage vor Versuchsbeginn Inzidenzen angegeben als betroffene Tiere/untersuchte Tiere</p>																																																																																																					

## Anlage 8 Tabelle zu weiteren Endpunkten in den Tierstudien: Reproduktionstoxikologie

Tierart (Stamm)	Applikationsart	Dosis/ Expositions-dauer	Neoplastische Veränderungen und nicht-neoplastische Läsionen der Reproduktionsorgane und der sie kontrollierenden endokrinen Drüsen				Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfassung	Referenz			
Ratte, F 344, je 50 ♂ u. 50 ♀, Kontrolle: 20 ♂ und 20 ♀	oral: über Futter	0, 250, 500 ppm; 72 Wo plus 24 Wo Nachbeobachtung, Sektion nach 102 Wo		102 Wo	0 ppm	250 ppm	500 ppm	<p>Verabreichung von technischem pCA mit Reinheitsbestimmung mittels Schmelzpunktanalyse, Dünnschicht- u. Gaschromatographie und Infrarotanalyse ohne weitere Angaben;</p> <p>Besonderheiten: nur 8 Std Lichtzyklus pro Tag, Verwendung von Trinkwasser pH 2.5, Haltung der Tiere in Versuchsräumen mit weiteren potentiellen Kanzerogenen, Futtermittelaufnahme dokumentiert aber nicht angegeben</p> <p>verminderte Gewichtszunahme der ♀ 500ppm-Gruppe gegenüber Kontrollgruppe; Überlebensrate der ♂ im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt; keine weiteren klinischen Befunde in Versuchsverlauf beobachtet.</p> <p>Keine statistisch signifikanten expositions-bedingten histologischen Befunde in den Reproduktionsorganen, der Nebenniere oder der Hypophyse.</p>	NCI No. 189 (1979) (Original-Publikation); zitiert in MAK, 1990		
			Überlebensrate nach 102 Wo								
				♂	18/20 (90%)	46/50 (92%)	38/50 (76%)				
				♀	18/20 (90%)	49/50 (98%)	45/50 (90%)				
			Neoplastische Veränderungen								
			Hypophyse: chromophobe Adenome	♂	1/17 4/18	1/44 17/50	3/43 13/45				
			Nebenniere: kortikales Adenom	♂	0/19	1/46	0/49				
			Präputialdrüse: Adenom (k.w.S.)	♂	0/20	0/50	1/50				
			Testes: Interstitialzell-Tumor	♂	19/20	49/50	43/49				
			Mamma: Fibroadenom	♀	1/20	3/50	1/50				
			Klitoraldrüse: Karzinom (k.w.S.)	♀	0/20	0/50	1/50				
			Uterus: Polypen des endometrialen Stromas	♀	1/20	4/50	6/50				
			Nicht-neoplastische Läsionen								
			Hypophyse: Hyperplasie	♂	1/17 1/18	0/44 0/50	1/43 0/50				
			Zysten	♂	1/18	3/50	1/45				
			Hämosiderosis	♂	0/18	1/50	0/45				
			Angiektasis	♂	2/18	0/50	0/45				
			Nebenniere: Hämorrhagische Zysten	♂	0/19 0/20	1/46 0/50	2/49 1/49				
			Lipoidosis	♂	0/19	0/46	1/49				
			Hyperplasie, Kortex	♂	0/19	0/46	1/49				
	♂	0/20	1/50	0/49							
Hyperplasie, Medulla	♂	1/19	0/46	3/49							
	♂	0/20	2/50	0/49							
Kapsel, fokale Fibrose	♂	0/20	0/50	1/49							
Prostata: akute Entzündung	♂	0/15	0/31	1/34							



Tierart (Stamm)	Applikationsart	Dosis/ Expositions-dauer	Neoplastische Veränderungen und nicht-neoplastische Läsionen der Reproduktionsorgane und der sie kontrollierenden endokrinen Drüsen					Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfassung	Referenz
			Samenbläschen: Atrophie	♂	0/20	0/50	1/50		
			Mamma: Zyste (k.w.S.)	♀	0/20	1/50	0/50		
			Uterus:						
			Hydrometra		0/20	1/50	2/50		
			Zyste (k.w.S.)		0/20	0/50	1/50		
			Ovarien: Zysten	♀	0/20	2/49	0/50		
			Paraovarielle Zysten	♀	2/20	2/49	2/50		
			Inzidenzen angegeben als betroffene Tiere/untersuchte Tiere						
Maus, B6C3F <sub>1</sub> , je 50 ♂ u. 50 ♀, Kontrolle: 20 ♂ und 20 ♀	oral: über Futter	0, 2500, 5000 ppm; 78 Wo plus 13 Wo Nachbeobachtung, Sektion nach 91 Wo		102 Wo	0 ppm	2500 ppm	5000 ppm		
			Überlebensrate nach 91 Wo						
				♂	18/20 (90%)	44/50 (88%)	44/50 (88%)		
				♀	20/20 (100%)	41/50 (82%)	39/50 (78%)		
			Neoplastische Veränderungen						
			Uterus:	♀					
			Sarkom (k.w.S.)		1/18	0/49	1/42		
			Adenom (k.w.S.)		0/18	0/35	1/42		
			Ovarien: Granulosa-Zell-Karzinom	♀	0/17	1/48	0/37		
			Prostata: Adenokarzinom (k.w.S.)	♂	1/18	0/35	0/34		
			Nicht-neoplastische Läsionen						
			Testes: entzündliche, lymphozytäre Infiltrate	♂	1/19	0/47	0/49		
			Uterus:	♀					
			Dilatation (k.w.S.)		0/18	1/49	1/42		
			Pyometra		1/18	8/49	4/42		
			Abzeß		0/18	1/49	0/42		
			Entzündung		0/18	3/49	1/42		
			Endometriale Hyperplasie		4/18	13/49	14/42		
			Cervix uteri: Entzündung	♀	0/18	0/49	1/42		
			Ovarien:	♀					
			Zysten		1/17	6/48	3/37		
			Abzeß		0/17	5/48	0/37		
			Amyloidosis		0/17	1/48	0/37		
								Verabreichung von technischem pCA mit Reinheitsbestimmung mittels Schmelzpunktanalyse, Dünnschicht- u. Gaschromatographie und Infrarotanalyse ohne weitere Angaben;	NCI No. 189 (1979) (Original-Publikation); zitiert in MAK, 1990
								Besonderheiten: nur 8 Std Lichtzyklus pro Tag, Verwendung von Trinkwasser pH 2.5, Haltung der Tiere in Versuchsräumen mit weiteren potentiellen Kanzerogenen, Futteraufnahme dokumentiert aber nicht angegeben	
								verminderte Körpergewichtszunahme bei beiden Geschlechtern um 17- 30% im Vergleich zur Kontrollgruppe; Überlebensrate der ♀ im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt; keine weiteren klinischen Befunde in Versuchsverlauf beobachtet.	
								Keine statistisch signifikanten expositions-bedingten histologischen Befunde in den Reproduktionsorganen, der Nebenniere oder der Hypophyse.	

Tierart (Stamm)	Applikationsart	Dosis/ Expositions-dauer	Neoplastische Veränderungen und nicht-neoplastische Läsionen der Reproduktionsorgane und der sie kontrollierenden endokrinen Drüsen					Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfassung	Referenz			
			Inzidenzen angegeben als betroffene Tiere/untersuchte Tiere									
Ratte, F 344/F je 50 ♂ u. 50 ♀, Kontrolle: 49 ♂ und 50 ♀	oral: Gavage	0, 2, 6, 18mg/kg, 5d/Wo; 103 Wo; Tötung nach 104 Wo			0mg/kg	2mg/kg	6mg/kg	18mg/kg	pCA-HCl (>99%, pCA in HCl-Lsg.) Dosisberechnung als pCA,  KG-Zunahme vergleichbar zu Kontrollen; Überlebensrate nicht eingeschränkt; Zyanose in mittlerer (♂) und hoher (♂,♀) Dosis beobachtet.  Keine statistisch signifikanten expositionsbedingten histologischen Befunde in den Reproduktionsorganen, der Nebenniere oder der Hypophyse. Die Inzidenzen von medullären Phaeochromozytomen der Nebennieren (♂) und von Leydigzell-Tumoren der Hoden lagen im Schwankungsbereich der historischen Kontrolldaten des Labores.	NTP (1989); TR No. 351 (Original-Publikation); zitiert in MAK, 1990		
			Überlebensrate	♂	18/49 36%	32/50 65%	32/50 65%	21/50 40%				
				♀	27/50 54%	39/50 78%	36/50 72%	37/50 74%				
			Neoplastische Veränderungen									
			Nebennieren:									
			Adenom, Kortex	♂	1/49	0/49	0/49	0/49				
				♀	0/50	1/50	0/50	0/50				
			Adenokarzinom (Metastase, Uterus)	♀	1/50	0/50	0/50	0/50				
			Phaeochromozytom, Me-dulla	♂	14/49	14/48	15/48	26/48*				
				♀	2/5	3/50	1/50	6/50 (n.s.)				
			Hypophyse:									
			Adenom, pars dist. /inter-media	♂	21/48	13/50	12/50	11/46				
				♀	21/50	13/50	17/50	23/50				
			Karzinom, pars dist.	♀	0/50	0/50	0/50	1/50				
			Nebenhoden:									
Mesotheliom	♂	1/49	2/50	1/50	1/50							
Präputialdrüse:												
Adenokarzinom	♂	0/46	0/50	0/50	1/50							
Adenom		1/46	7/50	4/50	(n.s.) 2/50 (n.s.)							
Testes:												
Mesotheliom	♂	1/49	3/50	1/50	2/50							
Interstitialzell-Tumor		36/49	44/50	44/50	46/50*							
Klitoraldrüse: Adenom												
	♀	1/45	1/50	1/50	4/48 (n.s.)							
Ovarien:												
Granulosa/Theca-Zellen-Tumor (benign)	♀	0/50	2/50	0/50	0/50							
Adenokarzinom (Metastase, Uterus)		1/50	0/50	0/50	0/50							
Uterus:												
Adenokarzinom	♀	1/50	1/50	0/50	1/50							
Fibrom		0/50	0/50	0/50	1/50							
Polypen, stromal		5/50	6/50	7/50	6/50							

Tierart (Stamm)	Applikationsart	Dosis/ Expositionsdauer	Neoplastische Veränderungen und nicht-neoplastische Läsionen der Reproduktionsorgane und der sie kontrollierenden endokrinen Drüsen					Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfassung	Referenz	
			Vagina: Polyp	♀	0/50	0/50	0/50	1/50		
			Mamma:							
			Adenom	+	1/49	1/50	0/50	3/50 (n.s.)		
			Fibroadenome	+	1/32	2/50	3/50	3/50 (n.s.)		
				+	8/49	10/50	13/50 <sup>(ns)</sup>	6/50		
			Sarkom (Metastase, Haut)	+	1/49	0/50	0/50	0/50		
			Nicht-neoplastische Läsione							
			Nebennieren:							
			Fettige Degeneration, Kor	+	10/49	10/49	10/49	16/49		
			tex	+	4/50	10/50	9/50	11/50		
			Hämatozyste, Kortex	+	0/49	0/49	0/49	1/49		
			Hyperplasie, Kortex	+	17/49	13/49	19/49	17/49		
				+	13/50	23/50	18/50	20/50		
			Hyperplasie, Medulla	+	15/49	21/48	15/48	17/48		
				+	4/50	4/50	7/50	24/50		
			Hypertrophie, Kortex	+	1/49	1/49	0/49	0/49		
				+	1/50	2/50	0/50	0/50		
			Nekrose, Kortex	+	2/49	1/49	1/49	0/49		
				+	3/50	0/50	0/50	0/50		
			Zyste, Kortex	+	0/50	1/50	0/50	0/50		
			Zyste, Medulla	+	0/49	0/48	1/48	0/48		
			Mineralisierung, Medulla	+	1/49	0/48	0/48	0/48		
			Angiektase, Kortex	+	2/50	0/50	1/50	0/50		
			Hypophyse:							
			Zyste (versch. Lokalisat.)	+	3/47	0/18	0/19	2/46		
				+	2/50	3/33	7/35	12/50		
				+	0/50	0/33	0/35	1/50		
			Zystische Degeneration	+	0/47	2/18	1/19	0/46		
			Angiektase , pars dist./ interm.	+	2/50	1/33	0/35	0/50		
			Hyperplasie	+	11/47	2/18	2/19	13/46		
				+	17/50	18/33	9/35	18/50		
				+	0/47	0/18	1/19	0/46		
			Blutung, akut	+	0/50	0/33	1/35	0/50		
			atypische Zellen	+	0/50	0/18	0/35	1/50		
			chron. Entzündung							

Tierart (Stamm)	Applikations- art	Dosis/ Expositions- dauer	Neoplastische Veränderungen und nicht-neoplastische Läsionen der Reproduktionsorgane und der sie kontrollierenden endokrinen Drü- sen					Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfassung	Referenz		
			Nebenhoden: Atrophie	♂	1/49	0/20	0/26	0/50			
Penis: Kongretion	♂			1							
Präputialdrüse: Hyperplasie chron., aktive Entzün- dung	♂	2/46 45/46	0/12 6/12	1/15 7/15	3/48 43/48						
Prostata: Abzeß chron., aktive Entzün- dung	♂	0/49 32/49	0/6 4/6	0/13 11/13	1/48 29/48						
Samenbläschen: chron., aktive Entzündung	♂	3/36	0/3	0/5	0/23						
Hoden: Interstitialzellen, Hyper- plasie Samenkanäle, Atrophie	♂	26/49 33/49	29/46 44/46	23/50 39/50	25/50 46/50						
Klitoraldrüse: Hyperplasie chron., aktive Entzün- dung Dilatation des Gan es	♀	2/45 8/45 0/45	1/5 1/5 0/5	1/11 1/11 1/11	5/48 7/48 0/48						
Ovarien: Zysten	♀	4/50	0/15	4/15	4/49						
Uterus: Dilatation chron. Hämorrhagie chron., aktive Entzün- dung endometriale Hyperpla- sie	♀	2/50 0/50 0/50 9/50	2/14 0/14 1/14 1/14	5/20 0/20 1/20 3/20	6/50 1/50 1/50 8/50						
Mamma: zyst. Hyper- plasie	♀	34/49	11/17	17/22	48/50						
Leukämische Infiltrate in Reproduktionsorganen und endokrinen Drüsen sowie Metastasen von Milztumoren wurden hier nicht aufgeführt, * Die Inzidenzen liegen innerhalb der Schwankungsbreite der histori- schen Kontrolldaten Inzidenzen angegeben als betroffene Tiere/untersuchte Tiere											
Maus,	oral: Gavage	0, 3, 10, 30mg/kg,						pCA-HCl (>99%, pCA in HCl-Lsg.)			NTP (1989); TR

Tierart (Stamm)	Applikationsart	Dosis/ Expositions-dauer	Neoplastische Veränderungen und nicht-neoplastische Läsionen der Reproduktionsorgane und der sie kontrollierenden endokrinen Drüsen					Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfassung	Referenz		
B6C3F <sub>1</sub> , je 50 ♂ u. 50 ♀, Kontrolle: 50 ♂ und 50 ♀		5d/Wo, 103 Wo; Tötung nach 104 Wo						Dosisberechnung als pCA  KG-Zunahme vergleichbar zu Kontrollen; Überlebensrate bei ♂ signifikant geringer als bei Kontrollen; keine weiteren klinischen Befunde in Versuchsverlauf beobachtet.  Keine statistisch signifikanten expositions-bedingten histologischen Befunde in den Reproduktionsorganen, der Nebenniere oder der Hypophyse.	No. 351 (Original-Publikation); zitiert in MAK, 1990		
			Überlebensrate	♂	0mg/k g 43/50 86%	3mg/k g 36/50 72%	10mg/ kg 29/50 58%			30mg/k g 35/50 70%	
				♀	39/50 78%	42/50 84%	44/50 88%			41/50 82%	
			Neoplastische Veränderungen								
			Nebennieren:								
			Adenom, Kapsel	♂	0/49	0/49	0/50			2/50	
				♀	2/50	0/50	0/50			0/49	
			Fibrosarkom, Kortex (Metastase, Haut)	♂	0/49	0/49	0/50			1/50	
			Phaeochromozytom, Medulla	♀	2/50	0/50	1/50			0/49	
			Hypophyse:								
			Adenom (pars dist.)	♀	3/46	1/50	2/50			3/42 (n.s.)	
			Testes:								
			Adenom, Interstitialzellen	♂	1/49	0/49	0/50			0/50	
			Ovarien:								
			Cystadenom	♀	1/50	0/50	0/50			1/47	
Fibrosarkom (Metastase, Haut)		0/50	0/50	0/50	1/47						
Granulosazell-Tumor, benign		1/50	0/50	0/50	0/47						
Adenom, Follicle		1/50	0/50	0/50	0/47						
Uterus:											
Hämangion	♀	1/50	0/50	0/50	0/48						
Polypen		1/50	1/50	1/50	1/48						
Mamma:											
Adenokarzinom	♀	0/38	1/50	0/50	0/44						
Adenom	♀	0/38	1/50	0/50	0/44						
Nicht-neoplastische Läsionen											
Nebennieren:											
Hyperplasie, Kapsel	♂	46/49	2/5	4/7	45/50						
	♀	49/50	2/5	3/4	49/49						
Hyperplasie, Kortex	♂	11/49	0/5	0/7	6/50						
	♀	2/50	0/5	0/4	1/49						
Hyperplasie, Medulla	♂	1/49	0/5	0/7	0/50						

Tierart (Stamm)	Applikationsart	Dosis/ Expositions-dauer	Neoplastische Veränderungen und nicht-neoplastische Läsionen der Reproduktionsorgane und der sie kontrollierenden endokrinen Drüsen				Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfassung	Referenz
			Hypertrophie, Kortex	♀ 1/50 14/49 3/50	0/5 0/5 0/5	0/4 0/7 0/4	0/49 10/50 3/49	
			Nekrose, akut, Kortex	♂ 1/49	0/5	0/7	0/50	
			Zysten, Kapsel	♂ 1/50	0/5	0/4	0/49	
			Zysten, Kortex	♂ 0/49	0/5	0/7	2/50	
			Vakuolisierung (zyto-plas-mat., fokal), Kortex	♂ 0/49	0/5	0/7	1/50	
			Fettige Degeneration, Kortex	♀ 0/50	0/5	0/4	3/49	
			Hypophyse: Zysten (pars dist.)	♂ 1/40 4/46	0/4 0/5	0/4 0/6	3/41 1/42	
			Hyperplasie (pars dist.)	♂ 0/40 7/46	0/4 0/5	0/4 1/6	1/41 6/42	
			Nebenhoden: Lymphozytäre Infiltrate chron. Entzündung	♂ 0/49 0/49	0/5 0/5	0/7 0/7	2/49 5/49	
			Penis: Kongregation chron. Entzündung	♂  	 1 1			
			Präputialdrüse: Atrophie chron. Entzündung Dilatation Gang	♂ 2/2 1/2 1/2	0/3 2/3 1/3	1/5 3/5 3/5	1/5 1/5 0/5	
			Prostata: akute Entzündung chron. Entzündung epitheliale Hyperplasie	♂ 0/48 0/48 0/48	0/4 1/4 0/4	0/7 0/7 0/7	1/50 1/50 1/50	
			Hoden: epitheliale Degeneration	♂ 0/49	0/5	0/7	1/50	
			Ovarien: Angiektase Zysten chron. Entzündung	♀ 1/50 16/50 0/50	0/14 8/14 0/14	1/17 16/17 0/17	2/47 17/47 2/47	
			Uterus: chron. Entzündung Hyperplasie, Endometrium	♀ 0/50 45/50	1/38 35/38	0/42 41/42	2/48 43/48	

Tierart (Stamm)	Applikationsart	Dosis/ Expositions-dauer	Neoplastische Veränderungen und nicht-neoplastische Läsionen der Reproduktionsorgane und der sie kontrollierenden endokrinen Drüsen	Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfassung	Referenz																								
			<table border="1"> <tr> <td>Metaplasie, Mukosa</td> <td></td> <td>0/50</td> <td>0/38</td> <td>0/42</td> <td>0/48</td> </tr> <tr> <td>Angiektase (Myo-/ Endo-metrium)</td> <td></td> <td>2/50</td> <td>0/38</td> <td>0/42</td> <td>1/48</td> </tr> <tr> <td>Mamma:</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Hyperplasie, zystisch</td> <td>♀</td> <td>0/38</td> <td>0/5</td> <td>2/3</td> <td>0/44</td> </tr> </table> <p>Leukämische Infiltrate/Lymphome in Reproduktionsorganen und endokrinen Drüsen sowie Metastasen von Milztumoren wurden hier nicht aufgeführt. Inzidenzen angegeben als betroffene Tiere/untersuchte Tiere</p>	Metaplasie, Mukosa		0/50	0/38	0/42	0/48	Angiektase (Myo-/ Endo-metrium)		2/50	0/38	0/42	1/48	Mamma:						Hyperplasie, zystisch	♀	0/38	0/5	2/3	0/44		
Metaplasie, Mukosa		0/50	0/38	0/42	0/48																								
Angiektase (Myo-/ Endo-metrium)		2/50	0/38	0/42	1/48																								
Mamma:																													
Hyperplasie, zystisch	♀	0/38	0/5	2/3	0/44																								
Maus, (CBA♂xBAL B/c♀)F1 5 ♂ pro Dosis pro Substanz plus Negativ- und Positivkontrolle	Intraperitoneale Injektion	2-CA: 20; 50; 100; 250; 500 mg/kg/d 3-CA: 25; 50; 100; 200; 400 mg/kg/d 2,4-CA: 25; 50; 100; 250; 500 mg/kg/d über 5 d, Tötung 5 Wo. nach letzter Dosis	<table border="1"> <tr> <td>2-CA (mg/kg/d)</td> <td>20</td> <td>50</td> <td>100</td> <td>250</td> <td>500</td> </tr> <tr> <td>3-CA</td> <td>5</td> <td>50</td> <td>100</td> <td>200</td> <td>400*</td> </tr> <tr> <td>2,4-CA</td> <td>25</td> <td>50</td> <td>100</td> <td>250</td> <td>500*</td> </tr> <tr> <td>Positivkontrolle: CP</td> <td colspan="5">20 mg/kg/d: 2-3 % Spermienfehlbildungen</td> </tr> </table> <p>* letale Dosis</p>	2-CA (mg/kg/d)	20	50	100	250	500	3-CA	5	50	100	200	400*	2,4-CA	25	50	100	250	500*	Positivkontrolle: CP	20 mg/kg/d: 2-3 % Spermienfehlbildungen					Keine Angaben über Reinheitsgrad der Substanzen, Verwendung von Negativkontrolle (Maisöl) und Positivkontrolle (20 mg/kg/d Cyclophosphamid-monohydrat) Untersuchung von 250 Spermien pro Tier auf abnormale Morphologie  Keine der 3 untersuchten Substanzen zeigte eine erhöhte Fehlbildungsrate der Spermienköpfe.	Topham 1980 (Original-Publikation)
2-CA (mg/kg/d)	20	50	100	250	500																								
3-CA	5	50	100	200	400*																								
2,4-CA	25	50	100	250	500*																								
Positivkontrolle: CP	20 mg/kg/d: 2-3 % Spermienfehlbildungen																												
Tierart (Stamm)	Applikationsart	Dosis/ Expositions-dauer	Beobachtete Effekte	Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfassung	Referenz																								
Krallenfrosch <i>Xenopus laevis</i> (Elterntiere heterogener Herkunft) 2 Testbasins per Dosis mit 20 Eiern/Embryonen; Reduktion auf 10 Tiere pro Testbasin nach Abschluß der Embryonalentwicklung	Hälterungswasser	0; 0,001; 0,01; 0,1; 1; 10; 100 ppm 90 d ab Eiablage	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>0 ppm</td> <td>0,001 ppm</td> <td>0,01 ppm</td> <td>0,1 ppm</td> <td>1 ppm</td> <td>10 ppm</td> <td>100 ppm</td> </tr> <tr> <td>Überlebensrate (Embryonalentwicklung)</td> <td></td> <td>68%</td> <td colspan="3">85-100% (k.w.S.)</td> <td colspan="2">0</td> </tr> <tr> <td>Entwicklungsverzögerung der Larven</td> <td></td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>x</td> <td>xx</td> <td>-----</td> </tr> </table>		0 ppm	0,001 ppm	0,01 ppm	0,1 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm	Überlebensrate (Embryonalentwicklung)		68%	85-100% (k.w.S.)			0		Entwicklungsverzögerung der Larven		0	0	0	x	xx	-----	Besonderheiten: Elterntiere heterogener Herkunft: 6 Paare Wildfänge unbekanntes Alters, 1 Nachzuchtpaar; keine Angaben zur Reinheit des pCA Wasserwechsel 1x/Woche  Keine Beobachtung von Fehlbildungen oder Verhaltensauffälligkeiten im Zeitraum von 90d., 100% Mortalität der Embryonen bei 100 ppm in den ersten 3 Wochen, nach Abschluß der Entwicklung zum Frosch nach 13 Wo in Kontrolle noch Larvenstadien bei 1 und 10 ppm.	Dumpert 1987 (Original-Publikation)
	0 ppm	0,001 ppm	0,01 ppm	0,1 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm																						
Überlebensrate (Embryonalentwicklung)		68%	85-100% (k.w.S.)			0																							
Entwicklungsverzögerung der Larven		0	0	0	x	xx	-----																						
Zebrafisch	Hälterungswasser	0; 0,05; 0,5; 5; 25; 50		pCA 99% Reinheit	Burkhardt-Holm																								

Tierart (Stamm)	Applikationsart	Dosis/ Expositions-dauer	Neoplastische Veränderungen und nicht-neoplastische Läsionen der Reproduktionsorgane und der sie kontrollierenden endokrinen Drüsen							Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfassung	Referenz		
<i>Danio rerio</i> , 15 Eier/Dosis in Triplikates	wasser	mg/l 4 d Exposition plus 12 d Nachbeobachtung		0 mg/l	0,0 5 mg /l	0,5 mg/l	5 mg/l	25 mg/l	50 mg/l	tgl. Wechsel der Testlösung  Beobachtete Fehlbildungen: Wirbelsäulenfehlbildungen (0,5 und 5 mg/l), ab 25 mg/l zusätzlich Ödeme im Rumpfbereich, abnormale Pig- mentierung von Augen und Rumpf, Fehlen von Augen und Maul	et al. 1999 (Original- Publikation)		
			Schlupfrate			100% aber beschleu- schleu- nigt	100% aber Ver- zögert	75 %					
			Überlebensrate 4d 16d	93% 90%		kein Effekt			36% 0%				
			Fehlbildungen	0%		3%	100%	41 %, nach 4d	100%				
Unvollständige Angabe aller Befunde pro Dosisgruppe													
Zebrafisch <i>Danio rerio</i> ,	Hälterungs- wasser	0; 0,04; 0,2; 1 mg/l über 3 Generationen (F0, F1, F2) Anzucht der F1 Gene- ration nach 22 Wo Exposition der F0 Generation		0 mg/l	0,04 mg/l	0,2 mg/l	1 mg/l					pCA, > 99% Reinheit wöchentliche Kontrolle der Expositi- onskonzentration  F0 Generation: Kein Einfluß auf Eierablage, Befruchtung, Verhalten, Erscheinung, Gewicht oder Mortali- tät der Elterngeneration  In F1 und F2 Generation wurden Eiablage und Befruchtungsrate 2x jeweils in Gruppen von 10♀/17♂ bestimmt  In F1 und F2 Generation wurden keine Effekte auf die embryonale Entwicklung oder die Mortalität im weiteren Lebensverlauf. Demgegen- über ist das Körpergewicht bei 0,04 und 0,2 mg/l Umgebungskonzentra- tion signifikant in beiden Geschlech- tern erhöht, nicht aber in der Höchst- dosis. Die Eiablage ist in beiden Generationen in allen Dosisgruppen	Bresch et al. 1990 (Original- Publikation)
			F1 Generation										
			Befruchtungsrate (%)	78	75	74	76						
			Schlupfrate (%)	90	90	90	90						
			Überlebensrate (%) 45d	71	76	83	69						
			90d	69	74	82	68						
			Gewicht nach 19 Wo (g) ♀ ♂	0,71 0,43	0,80* 0,53*	0,89* 0,51*	0,75 0,42						
			Eiablage (n) pro Gruppe a b	856 1027	431* 433*	524* 503*	326* 187*						
			Befruchtungsrate (%) a b	65 71	64 59	58 74	44* 33*						
			F2 Generation										
			Befruchtung rate (%)	81	69	96	76						
			Schlupfrate (%)	90	90	90	90						
			Überlebensrate (%) 45d	69	90	72	66						



Tierart (Stamm)	Applikationsart	Dosis/ Expositionsdauer	Neoplastische Veränderungen und nicht-neoplastische Läsionen der Reproduktionsorgane und der sie kontrollierenden endokrinen Drüsen					Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfassung	Referenz
			90d	68	88	72	66	reduziert und die Befruchtungsrate in der Hochdosisgruppe in beiden Generationen.	
			Gewicht nach 32 Wo (g)						
			♀	0,64	0,81*	0,79*	0,63		
			♂	0,42	0,54*	0,46*	0,42		
			Eiablage (n) pro Gruppe						
			a	979	510*	601*	300*		
			b	1085	548*	591*	98*		
			Befruchtungsrate (%) a	76	65	65	55*		

\* P <= 0,05 vs. Kontrolle

k.w.S. – keine weitere Spezifikation

(n.s.) – statistisch nicht signifikant

## Anlage 9 1. Tabelle zu weiteren Endpunkten in den Studien: Mutagenität – in vitro

Testsystem	Strangindikator	Methode	Endpunkt	Metabolische Aktivierung	Dosis	Behandlungsdauer	Ergebnis	Referenz
Aspergillus nidulans		Standardplatte		ohne	200µg/ml		Positiv	Prasa et al. 1970
E. coli	TA 1535, TA 1538	Pol A Test		ohne/ mit	5µg/ml		Positiv	Rosenkranz et al., 1979
Mouse Lymphoma	L5178Y (TK <sup>+</sup> /TK <sup>-</sup> )	Suspension/ Platte		ohne	0.509 – 2.54 mmol/l		Positiv	Wangenheim et al. 1988
Ames Salmonella ty-phimurium	TA98	Standardplatte		ohne	1 - 1000µg/Platte (LM: DMSO)		Negativ	Rashid et al., 1987
Ames Salmonella ty-phimurium	TA100	Standardplatte		ohne	1 - 1000µg/Platte (LM: DMSO)		Negativ	Rashid et al., 1987
Ames Salmonella ty-phimurium	TA98	Standardplatte		Ratte, Leber, S-9, AROCLOR 1254	1 - 1000µg/Platte (LM: DMSO)		Negativ	Rashid et al., 1987
Ames Salmonella ty-phimurium	TA100	Standardplatte		Ratte, Leber, S-9, AROCLOR 1254	1 – 1000µg/Platte (LM: DMSO)		Negativ	Rashid et al., 1987
E. coli	WP2 UVRA	Fluktuationstest		ohne	0.075 – 0.3 mmol (LM: EtOH)		Negativ	Pai et al., 1985
Ames Salmonella ty-phimurium	TA98	Standardplatte		ohne	5-1000µg/ Platte (LM: EtOH)		Negativ	Pai et al., 1985
Ames Salmonella ty-phimurium	TA100	Standardplatte		ohne	5-1000µg/ Platte (LM: EtOH)		Negativ	Pai et al., 1985
Ames Salmonella ty-phimurium	TA1535	Standardplatte		ohne	5-1000µg/ Platte (LM: EtOH)		Negativ	Pai et al., 1985
E. coli	WP2 UVRA(P)	Standardplatte		ohne	5-1000µg/ Platte (LM: EtOH)		Negativ	Pai et al., 1985
E. coli	WP2 UVRA	Standardplatte		ohne	5-1000µg/ Platte (LM: EtOH)		Negativ	Pai et al., 1985
Ames Salmonella ty-phimurium	TA98	Spot-Test		ohne	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella ty-phimurium	TA98	Spot-Test		Ratte, Leber, S-9, Na-Phenobarbital	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella ty-phimurium	TA98	Spot-Test		Ratte, Leber, S-9, AROCLOR 1254	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella ty-phimurium	TA100	Spot-Test		ohne	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella ty-phimurium	TA100	Spot-Test		Ratte, Leber, S-9, Na-Phenobarbital	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984

Testsystem	Strangindikator	Methode	Endpunkt	Metabolische Aktivierung	Dosis	Behandlungsdauer	Ergebnis	Referenz
Ames Salmonella typhimurium	TA100	Spot-Test		Ratte, Leber, S-9, AROCLOR 1254	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1535	Spot-Test		ohne	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1535	Spot-Test		Ratte, Leber, S-9, Na-Phenobarbital	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1535	Spot-Test		Ratte, Leber, S-9, AROCLOR 1254	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1537	Spot-Test		ohne	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1537	Spot-Test		Ratte, Leber, S-9, Na-Phenobarbital	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1537	Spot-Test		Ratte, Leber, S-9, AROCLOR 1254	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1538	Spot-Test		ohne	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1538	Spot-Test		Ratte, Leber, S-9, Na-Phenobarbital	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1538	Spot-Test		Ratte, Leber, S-9, AROCLOR 1254	10-50µg/ml (LM: MeOH)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA100	Standard-Platte		ohne	0.1-5mg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA100	Standard-Platte		Ratte, Leber, S-9, Na-Phenobarbital	0.1-5mg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA100	Standard-Platte		Ratte, Leber, S-9, AROCLOR 1254	0.1-5mg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1535	Standard-Platte		ohne	0.1-5mg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1535	Standard-Platte		Ratte, Leber, S-9, Na-Phenobarbital	0.1-5mg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1535	Standard-Platte		Ratte, Leber, S-9, AROCLOR 1254	0.1-5mg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1537	Standard-Platte		ohne	0.1-5mg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1537	Standard-Platte		Ratte, Leber, S-9, Na-Phenobarbital	0.1-5mg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1537	Standard-Platte		Ratte, Leber, S-9, AROCLOR 1254	0.1-5mg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1538	Standard-Platte		ohne	0.1-5mg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984

Testsystem	Strangindikator	Methode	Endpunkt	Metabolische Aktivierung	Dosis	Behandlungsdauer	Ergebnis	Referenz
Ames Salmonella typhimurium	TA1538	Standard-Platte		Ratte, Leber, S-9, Na-Phenobarbital	0.1–5mg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA1538	Standard-Platte		Ratte, Leber, S-9, AROCLOR 1254	0.1–5mg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA98	Standard-Platte		ohne	0.1–5mg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA98	Standard-Platte		Ratte, Leber, S-9, Na-Phenobarbital	0.1–5mg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	Van der Bijl et al., 1984
Ames Salmonella typhimurium	TA98	Standard-Platte		Ratte, Leber, S-9, AROCLOR 1254	0.1–5mg/ Platte (LM: DMSO)		Positiv	Van der Bijl et al., 1984
Mouse Lymphoma	L5178Y(TK <sup>+</sup> /TK <sup>-</sup> )	Suspension/ Platte		ohne	63.9-500µg/ml (LM: DMSO)		Positiv	Mitchell et al., 1988
Mouse Lymphoma	L5178Y(TK <sup>+</sup> /TK <sup>-</sup> )	Suspension/ Platte		Ratte, Leber, S-9, Aroclor 1254	15.7-60µg/ml (LM: DMSO)		Positiv	Mitchell et al., 1988
Mouse Lymphoma	L5178Y(TK <sup>+</sup> /TK <sup>-</sup> )	Suspension/ Platte		ohne	30-300µg/ml (LM: DMSO)		Nicht eindeutig (frühere Bewertung positive)	Seifried HE et al., 2006
Mouse Lymphoma	L5178Y(TK <sup>+</sup> /TK <sup>-</sup> )	Suspension/ Platte		Ratte, Leber, S-9, Aroclor 1254	30-300µg/ml (LM: DMSO)		Nicht eindeutig (frühere Bewertung ergebnislos)	Seifried HE et al., 2006
Ames Salmonella typhimurium	TA98	Standard-Platte		ohne	33–10000µg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	NCI, E. Zaika
Ames Salmonella typhimurium	TA100	Standard-Platte		ohne	33–10000µg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	NCI, E. Zaika
Ames Salmonella typhimurium	TA98	Standard-Platte		Ratte, Leber, S-9, Aroclor 1254	33–10000µg/ Platte (LM: DMSO)		Positiv	NCI, E. Zaika
Ames Salmonella typhimurium	TA98	Standard-Platte		Hamster, Leber, S-9, Aroclor 1254	33–10000µg/ Platte (LM: DMSO)		Positiv	NCI, E. Zaika
Ames Salmonella typhimurium	TA100	Standard-Platte		Ratte, Leber, S-9, Aroclor 1254	33–10000µg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	NCI, E. Zaika
Ames Salmonella typhimurium	TA100	Standard-Platte		Hamster, Leber, S-9, Aroclor 1254	33–10000µg/ Platte (LM: DMSO)		Negativ	NCI, E. Zaika
Mouse Lymphoma	L5178Y(TK <sup>+</sup> /TK <sup>-</sup> )	Suspension/ Platte		ohne	50-300µg/ml (LM: DMSO)		Positiv	NCI, E. Zaika
Mouse Lymphoma	L5178Y(TK <sup>+</sup> /TK <sup>-</sup> )	Suspension/ Platte		Ratte, Leber, S-9, Aroclor 1254	30-100µg/ml (LM: DMSO)		Positiv	NCI, E. Zaika
CHO Zellen			In - vitro Chromo-	ohne	bis 500 µg/ml (LM: DMSO)	>14 ; Nachbehandlung: 2h mit Colcemid	Negativ	Anderson BE et al., 1990

Testsystem	Strangindikator	Methode	Endpunkt	Metabolische Aktivierung	Dosis	Behandlungsdauer	Ergebnis	Referenz
			somenaberration					
CHO Zellen			In - vitro Chromosomenaberration	Ratte, Leber, S-9, Aroclor 1254	Bis 900 µg/ml (LM: DMSO)	>14h; Nachbehandlung: 2h mit Colcemid	Positiv	Anderson BE et al., 1990
CHO Zellen			In - vitro Schwesterchromatidaustausch	ohne	bis 16,7 µg/ml (LM: DMSO)	29 h; Nachbehandlung: 2h mit Colcemid	Positiv	Anderson BE et al., 1990
CHO Zellen			In - vitro Schwesterchromatidaustausch	Ratte, Leber, S-9, Aroclor 1254	bis 900 µg/ml (LM: DMSO)	29 h; Nachbehandlung: 2h mit Colcemid	Positiv	Anderson BE et al., 1990
CHO Zellen			In - vitro Schestwerchromatidaustausch	ohne	bis 16,7 µg/ml (LM: DMSO)	> 29h; Nachbehandlung: 2h mit Colcemid	Positiv	Anderson BE et al., 1990
CHO Zellen			In - vitro Schwesterchromatidaustausch	Ratte, Leber, S-9, Aroclor 1254	bis 900 µg/ml (LM: DMSO)	>29 h; Nachbehandlung: 2h mit Colcemid	Positiv	Anderson BE et al., 1990
CHO Zellen			In - vitro Chromosomenaberration	ohne	bis 500µg/ml (LM: DMSO)	10-14h; Nachbehandlung: 2h mit Colcemid	Positiv	Anderson BE et al., 1990
CHO Zellen			In - vitro Chromosomenaberration	Ratte, Leber, S-9, Aroclor 1254	bis 600 µg/ml (LM: DMSO)	>14h; Nachbehandlung: 2h mit Colcemid	Negativ	Anderson BE et al., 1990
CHO Zellen			In - vitro Chromosomenaberration	ohne	bis 500µg/ml (LM: DMSO)	>14h; Nachbehandlung: 2h mit Colcemid	Positiv	Anderson BE et al., 1990
CHO Zellen			In - vitro Chromosomenaberration	Ratte, Leber, S-9, Aroclor 1254	bis 600 µg/ml (LM: DMSO)	>14h; Nachbehandlung: 2h mit Colcemid	Negativ	Anderson BE et al., 1990
CHO Zellen			In - vitro Schwesterchromatidaustausch	ohne	bis 160 µg/ml (LM: DMSO)	29 h; Nachbehandlung: 2h mit Colcemid	Positiv	Anderson BE et al., 1990
CHO Zellen			In - vitro Schwesterchromatidaustausch	Ratte, Leber, S-9, Aroclor 1254	bis 600 µg/ml (LM: DMSO)	29 h; Nachbehandlung: 2h mit Colcemid	Negativ	Anderson BE et al., 1990
CHL/TU Zellen			In - vitro Mikrokerntest	Ratte, Leber, S-9, Phenobarbital und 5,6-Benzoflavon	1.3 – 38 µg/ml (LM: DMSO)	6 h; 42 h Nachbehandlung	Negativ	Matsushima T et al., 1999

## Anlage 9 2. Tabelle zu weiteren Endpunkten in den Studien: Mutagenität – in vivo

Test-System	Testsubstanz	Endpunkt	Dosisbereich (Anzahl der Dosis-Gruppe)	Effektive Konzentration	zytotoxische Konzentration	Ergebnis	Referenz
Sprague-Dawley Ratte, ♂, Leber und Drüsenmagen	pCA, pos. Kontrolle: EMS, neg. Kontrolle: Maisöl, über 3 Tage	DNA-Schäden, Comet-Assay in vivo	0, 37.5, 75, 150 mg/kg/d, pos. Kontrolle EMS (200 mg/kg/d), 5♂/Gr.	75 mg/kg/d in Leber und Magen	Keine histopathologischen Veränderungen bei 150 mg/kg/d in Leber oder Drüsenmagen	positiv	Barfield & Burlinson, 2015
B6C3F1-Mäuse (Gavage)	pCA in phosphatgepufferter NaCl-Lösung per Gavage	Chromosomenaberration, Mikrokern-Test	0, 25, 50, 100, 200 od. 300 mg pCA/kg KG, 3 x in 24 h	300 mg/kg KG	24 h nach der letzten Behandlung: sign. ↑ der Mikrokerne (p <0.001)	positiv	zitiert in WHO CI-CADS 48, 2003
CFLP Mäusen (♀,♂), orale Gabe (Gavage)	pCA als Suspension in Tragant	Chromosomenaberration, Mikrokern-Test	180 mg pCA/kg KG (max. verträgliche Dosis)		keine signifikante Erhöhung der Mikrokerne im Femurknochenmark im Zeitbereich von 24 bis 72 h	negativ	BUA Stoffbericht 153,1995, zitiert in WHO CI-CADS 48, 2003
<i>Drosophila melanogaster</i> -Larven	Verfütterung von pCA über 6 h	Punktmutationen, Chromosomenbrüchen und mitotischen Rekombinationen, somatischen Mutations- und Rekombinationstest (SMART)	7,84 mmol pCA/l (=1mg/l über 6 h)		Zunahme von Einzel- und Doppelspots an Flügeln	positiv	Graf et al., 1990, zitiert in WHO CI-CADS Dokument Nr. 48, 2003

Anlage 10 Tabelle Tierstudien zur Kanzerogenität von pCA

Spezies Geschlecht Anzahl der Tiere	Applikati- onsart	Dosis/ Expositi- onsdauer	Tumorinzidenz / Cancer-bezogene Ergebnisse					Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfas- sung	Referenz
Ratte, F 344, je 50 ♂ u. 50 ♀, Kontrolle: 20 ♂ und 20 ♀	oral (über Futter)	0, 250, 500 ppm; 78 Wo, 24 Wo Nach- beobachtung, Tö- tung nach 102 Wo	102 Wo	0 ppm	250 ppm	500 ppm		<ul style="list-style-type: none"> <li>· Verabreichung von technischem pCA ohne nähe- re Angaben</li> <li>· leicht verminderte Gewichtszunahme der ♀- 500ppm-Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe</li> <li>· Überlebensrate der männlichen Tiere in der obe- ren Dosisgruppe im Vergleich zur Kontrollgrup- pe erniedrigt</li> <li>· keine eindeutige kanzerogene Wirkung aber er- höhte Anzahl an Tumoren männlicher Ratten in der Milz</li> <li>· Hämosiderinablagerungen in Milz, Leber und Niere als Folge des verstärkten Erythrozytenab- baus;</li> <li>· keine genaue Konzentrationsangabe bezüglich der pCA-Aufnahme aus dem Versuchsdesign möglich</li> </ul>	NCI (1979); zitiert in MAK 1990, BUA- Stoffbericht 153 (1995)
Überlebensrate nach 102 Wo									
♂	18/20 (90%)	46/50 (92%)	38/50 (76%)						
♀	18/20 (90%)	49/50 (98%)	45/50 (90%)						
Tumoren (Fibrome, Fibro-, Osteo-, Hämangiosarkome der Milz)									
♂	0/20	0/49	10/49	0/360 (hist. Kontrolle)					
♀	0/20	1/48	1/50						
Maus, B6C3F <sub>1</sub> , je 50 ♂ u. 50 ♀, Kontrolle: 20 ♂ und 20 ♀	oral (über Futter)	0, 2500 ppm, 5000 ppm; 78 Wo, 13 Wo Nachbeobachtung, Tötung nach 91 Wo	91. Wo	0 ppm	2500ppm	5000ppm		<ul style="list-style-type: none"> <li>· Verabreichung von technischem pCA ohne nähe- re Angaben</li> <li>· verminderte Körpergewichtszunahme bei beiden Geschlechtern um 17- 30% im Vergleich zur Kontrollgruppe</li> <li>· Überlebensrate der ♀ im Vergleich zur Kontroll- gruppe erniedrigt</li> <li>· keine eindeutige kanzerogene Wirkung, aber erhöhte Inzidenzen an Hämangiomen und Hämangiosarkomen</li> <li>· Hämosiderinablagerungen in Milz, Leber und Niere als Folge verstärkten Erythrozytenabbaus</li> <li>· keine genaue Konzentrationsangabe bezüglich der pCA-Aufnahme aus dem Versuchsdesign möglich</li> <li>· die Studie wird aufgrund der nicht nachvollzieh- baren Tierverluste als nicht valide genug einge- stuft und nicht zur weiteren Bewertung herange- zogen</li> </ul>	NCI (1979); zitiert in MAK 1990, BUA- Stoffbericht 153 (1995)
Überlebensrate nach 91 Wo									
♂	18/20 (90%)	44/50 (88%)	44/50 (88%)						
♀	20/20 (100%)	41/50 (82%)	39/50 * (78%)						
Tumoren: endotheliale Neoplasien (Hämangiome, Hämangiosar- kome (Milz, Leber u. a. Organen)									
♂	2/20	10/50	14/50	8/262 (hist. Kontrolle)					
♀	0/18	3/49	8/42	7/260 (hist. Kontrolle)					
* 8 ♀ der Hochdosisgruppe im Verlauf der Studie als „missing“ dokumentiert, Berechnung der Überlebensrate daher inkorrekt, Angabe müsste sein 39/42 (93%)									

Spezies Geschlecht Anzahl der Tiere	Applikati- onsart	Dosis/ Expositi- onsdauer	Tumorinzidenz / Cancer-bezogene Ergebnisse					Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfas- sung	Referenz			
Ratte, F 344, je 50 ♂ u. 50 ♀, Kontrolle: 49 ♂ und 50 ♀	oral (über Gavage)	0, 2, 6, 18mg/kg, 5d/Wo; 103 Wo; Tötung 104. Wo	Überlebens- rate	♂	0 mg/kg	2 mg/kg	6 mg/kg	18 mg/kg	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Verabreichung von pCA-HCl (99,1% )</li> <li>· KG-Zunahme mit den Kontrollen vergleichbar;</li> <li>· Überlebensrate gegenüber Kontrolle erhöht;</li> <li>· pCA-HCl eindeutig kanzerogen an ♂ Ratten (erhöhte Anzahl von Sarkomen in der Milz; Phaeochromozytome bei ♂ werden ebenfalls mit der pCA Gabe in Verbindung gebracht)</li> </ul>	NTP (1989); TR No. 351; Chhabra et al. 1991; zitiert in MAK 1990, BUA- Stoffbericht 153 (1995)		
				♀	0 mg/kg	2 mg/kg	6 mg/kg	18 mg/kg				
					18/49 36%	32/50 65%	32/50 65%	20/50 40%				
				0	39/50 78%	36/50 72%	37/50 74%					
				50 eb								
				54 %								
			Tumoren und nicht-neoplastische Veränderungen									
			Milz									
			Fibrosen	♂	3/49	11/50	12/50	41/50				
				♀	/50	2/50	3/50	42/50				
			Fett-Zell- Metaplasie	♂	0/49	0/50	0/50	24/50				
				♀	0/50	0/50	0/50	11/50				
			Fibrosar- kome (1)	♂	0/49	1/50	2/50	17/50				
				♀	0/50	0/50	1/50	0/50				
			Osteosar- kome (2)	♂	0/49	0/50	1/50	19/50				
				♀	0/50	0/50	0/50	1/50				
			Hämangio- sarkome (3)	♂	0/49	0/50	0/50	4/50				
			(1), (2) oder (3)	♂	0/49	1/50	3/50	38/50				
				♀	0/50	0/50	0/50	1/50				
			Nebennierenmark									
Medulläre Hyperplasie	♂	15/49	21/48	15/48	17/49							
	♀	4/50	4/50	7/50	24/50							
Benigne Phaeochro- mozytome	♂	13/49	14/48	14/48	25/49							
	♀	2/50	3/50	1/50	6/50							
Maligne Phaeochro- mozytome	♂	1/49	0/48	1/48	1/49							
Hämatopoietisches System												
Mononuklä- re Leukämie	♂	21/49 (43%)	3/50 (6%)	2/50 (4%)	3/50 (6%)							
	♀	10/50	2/50	1/50 (2%)	1/50							



Spezies Geschlecht Anzahl der Tiere	Applikati- onsart	Dosis/ Expositi- onsdauer	Tumorinzidenz / Cancer-bezogene Ergebnisse				Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfas- sung	Referenz		
					(20%)	(4%)		(2%)		
Maus, B6C3F <sub>1</sub> , je 50 ♂ u. 50 ♀, Kontrolle: 50 ♂ und 50 ♀	oral (Gavage)	0, 3, 10, 30mg/kg, 5d/Wo, 103 Wo; Tötung 104. Wo			0 mg/kg KG	3mg/k g KG	10 mg/kg KG	30 mg/kg KG	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Verabreichung von pCA-HCl (99,1% )</li> <li>· KG-Zunahme gegenüber Kontrollen unverändert;</li> <li>· Überlebensrate bei ♂ in mittlerer Dosis signifi- kant geringer als bei den Kontrollen</li> </ul>	NTP (1989); TR No. 351; Chhabra et al. 1991; zitiert in MAK 1990, BUA- Stoffbericht 153 (1995)
Überle- bensrate	♂	43/50 86%	36/50 72%	29/50 58%	35/50 70%					
	♀039/50 78%	42/50 84%	44/50 88%	41/50 82%						
Tumoren										
Milz										
Häman- giosar- kome	♂	3/50	2/50	0/50	5/50					
Maligne Lym- phome	♂	10/50 (20%)	3/49 (6%)	9/50 (18%)	3/50 (6%)					
	♀	19/50 (38%)	12/50 (24%)	5/50 (10%)	10/50 (20%)					
Leber										
Hepato- zelluläre Adeno- me	♂	9/50	15/49	10/50	4/50					
Hepato- zelluläre Karzi- nome	♂	3/50	7/49	11/50	17/50					
Hepato- zelluläre Adeno- me und Karzi- nome ges.	♂	12/50	22/49	21/50	21/50					
davon in Lunge metasta- sierte	♂	1/50	1/49	2/50	9/50					

Spezies Geschlecht Anzahl der Tiere	Applikati- onsart	Dosis/ Expositi- onsdauer	Tumorinzidenz / Cancer-bezogene Ergebnisse					Bemerkungen/ Beobachtungen/ Zusammenfas- sung	Referenz	
			Karzi- nome							
			Häman- giosar- kome	♂	2/50	2/50	1/50	6/50		

# Benchmark Dose Modeling: Report

According European Food Safety Authority method

## Data description

The endpoint to be analyzed is: spleen tumors in male rats.

Data used for analysis:

dose..mg.kg..	Spleen tumors	N
0.00	0	49
1.56	1	50
4.67	3	50
14.00	40	50

*Information pertaining to this endpoint.*

## Selection of the BMR

The BMD (benchmark dose) is defined as the dose that corresponds with an extra risk of 10% compared with the background risk. The BMR (benchmark response) is the estimated risk corresponding with the BMD of interest.

*The rationale behind the choice made should be described.*

A 90% confidence interval around the BMD will be estimated, the lower bound is reported by BMDL and the upper bound by BMDU.

## Software used

Results are obtained using the EFSA web-tool for BMD analysis

- Fitting benchmark dose models is based on the R-package [PROAST](#), version 65.7.
- Averaging results from multiple fitted benchmark dose models is based on the methodology in [Wheeler and Bailer \(2008\)](#).

## Specification of deviations from default assumptions

### General assumptions

*Please motivate in detail assumptions made when deviating from the recommended defaults (e.g. gamma distributional assumption instead of log-normal, heteroscedasticity instead of homoscedasticity).*

### Dose-response models

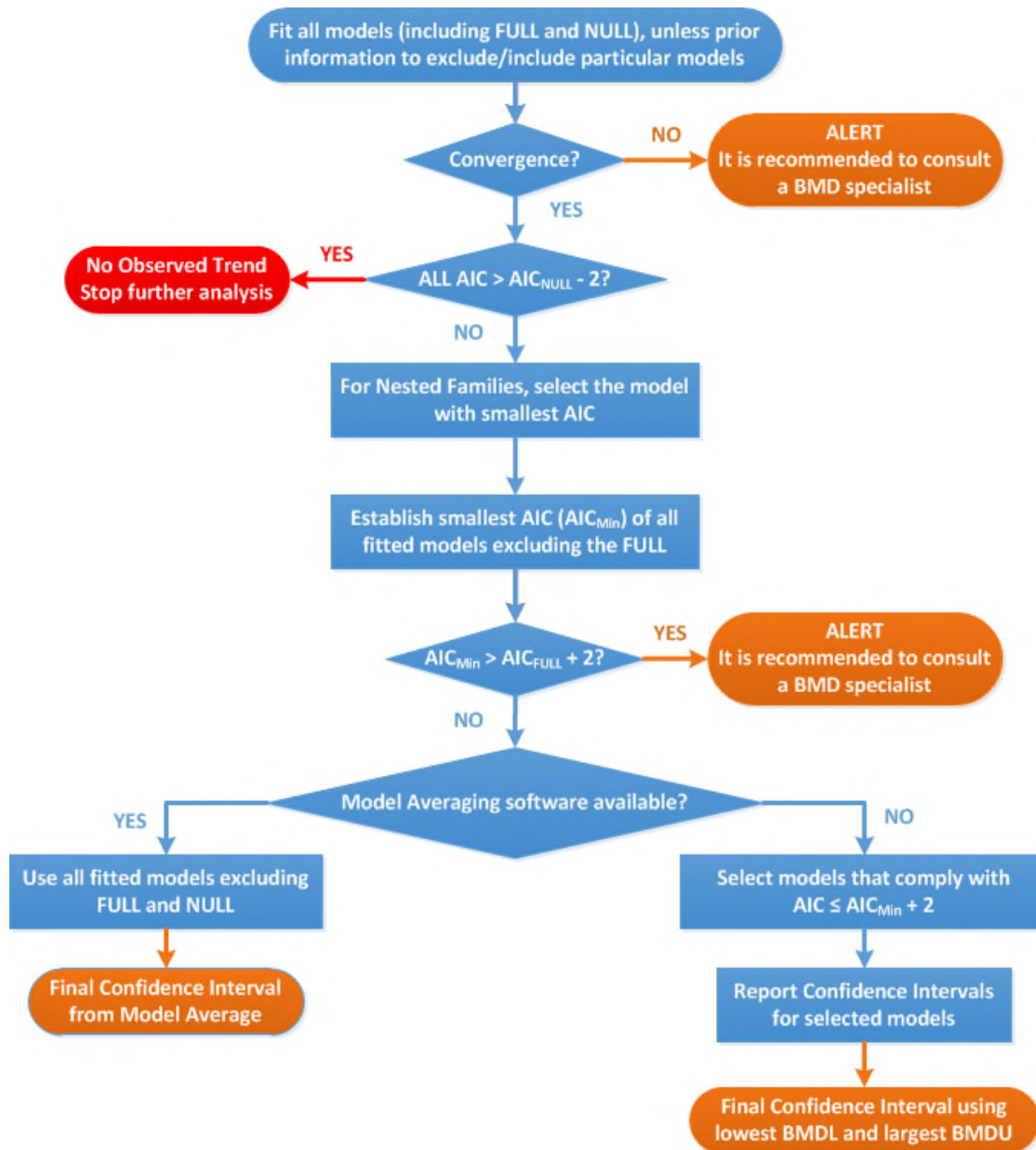
*Other models than the recommended ones that were fitted should be listed, with the respective description of reasons to include them.*

Default set of fitted models:

Model	Number of parameters	Formula
Null	1	$y = a$
Full	no. of groups	$y = \text{group mean}$
Logistic	2	$y = \frac{1}{1 + \exp(-a - bx)}$
Probit	2	$y = \text{pnorm}((x - a) \cdot b)$
Log-logistic	3	$y = a + \frac{1 - a}{1 + \exp\left(c \cdot \log\left(\frac{b}{x}\right)\right)}$
Log-probit	3	$y = a + (1 - a) \cdot \text{pnorm}\left(c \cdot \log\left(\frac{x}{b}\right)\right)$
Weibull	3	$y = a + (1 - a) \left(1 - \exp\left(-\left(\frac{x}{b}\right)^c\right)\right)$
Gamma	3	$y = \text{pgamma}(bx; c)$
Two-stage	3	$y = a + (1 - a) \left(1 - \exp\left(-\frac{x}{b} - c \left(\frac{x}{b}\right)^2\right)\right)$

### Procedure for selection of BMDL

*Description of any deviation from the procedure described in the flow chart to obtain the final BMD confidence interval (e.g. using AIC - 5 instead of AIC - 2 for model selection).*



Flowchart for selection of BMDL

## Results

### Response variable: effect

#### Fitted Models

model	No.par	loglik	AIC	accepted	BMDL	BMDU	BMD	conv
null	1	-105.13	212.26		NA	NA	NA	NA

full	4	-41.27	90.54		NA	NA	NA	NA
two.stage	3	-43.37	92.74	no	NA	NA	3.84	no
log.logist	3	-41.92	89.84	no	NA	NA	5.57	yes
Weibull	3	-41.86	89.72	no	NA	NA	5.64	yes
log.prob	3	-41.96	89.92	no	NA	NA	5.47	yes
gamma	3	-41.94	89.88	no	NA	NA	5.58	yes
logistic	2	-41.68	87.36	yes	4.97	7.51	6.19	yes
probit	2	-41.61	87.22	yes	4.54	6.76	5.62	yes
LVM: Expon. m3-	3	-41.61	89.22	yes	3.94	9.01	5.57	yes
LVM: Hill m3-	3	-41.70	89.40	no	NA	NA	5.56	yes

## Estimated Model Parameters

### two.stage

estimate for a- : 1e-06

estimate for BMD- : 3.845

estimate for c : 1e+12

### log.logist

estimate for a- : 0.009152

estimate for BMD- : 5.569

estimate for c : 3.869

### Weibull

estimate for a- : 0.007477

estimate for BMD- : 5.64

estimate for c : 2.99

### log.prob

estimate for a- : 0.01007

estimate for BMD- : 5.475

estimate for c : 2.253

### gamma

estimate for a- : 0.009701

estimate for BMD- : 5.583

estimate for cc : 5.965

### logistic

estimate for a- : -4.92

estimate for BMD- : 6.191

### **probit**

estimate for a- : -2.67

estimate for BMD- : 5.62

### **EXP**

estimate for a- : 1.964

estimate for CED- : 5.574

estimate for d- : 0.9786

estimate for th : 0

estimate for sigma : 0.25

### **HILL**

estimate for a- : 1.908

estimate for CED- : 5.562

estimate for d- : 1.337

estimate for th : 0

estimate for sigma : 0.25

## **Weights for Model Averaging**

two.stage	log.logist	Weibull	log.prob	gamma	logistic	probit	EXP	HILL
0.02	0.07	0.08	0.07	0.07	0.25	0.26	0.1	0.09

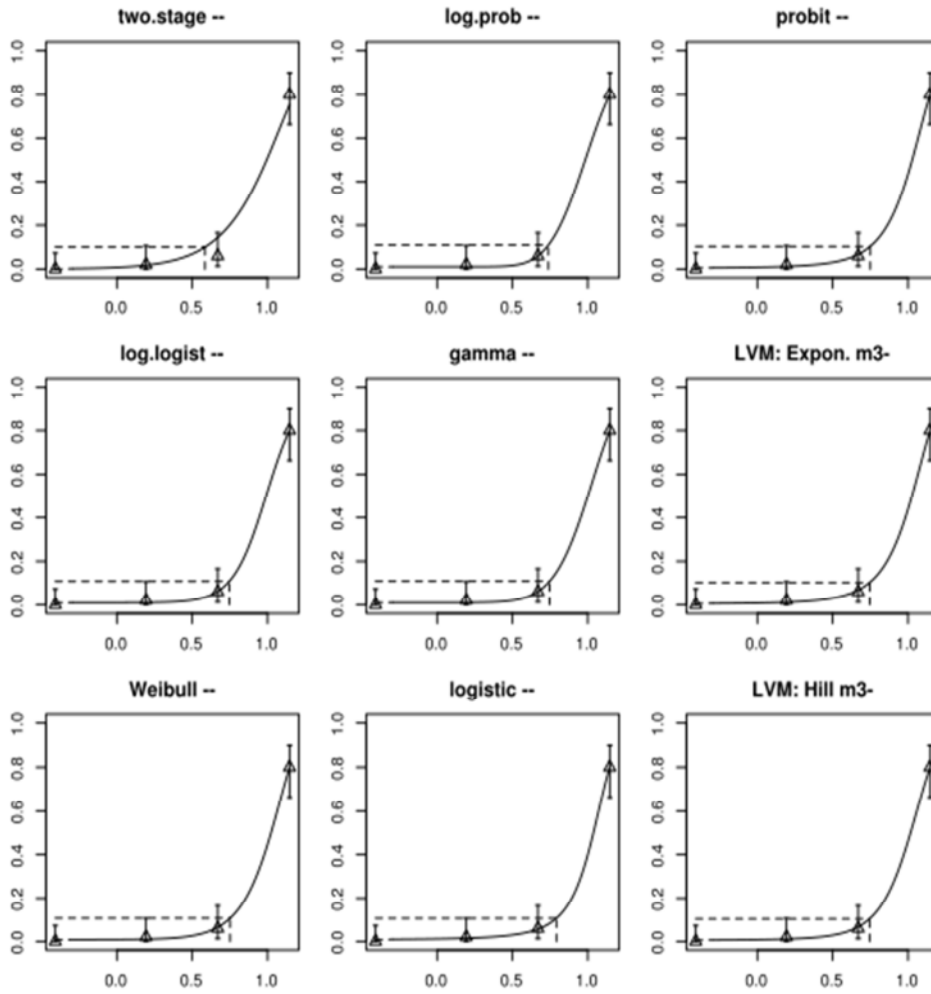
## **Final BMD Values**

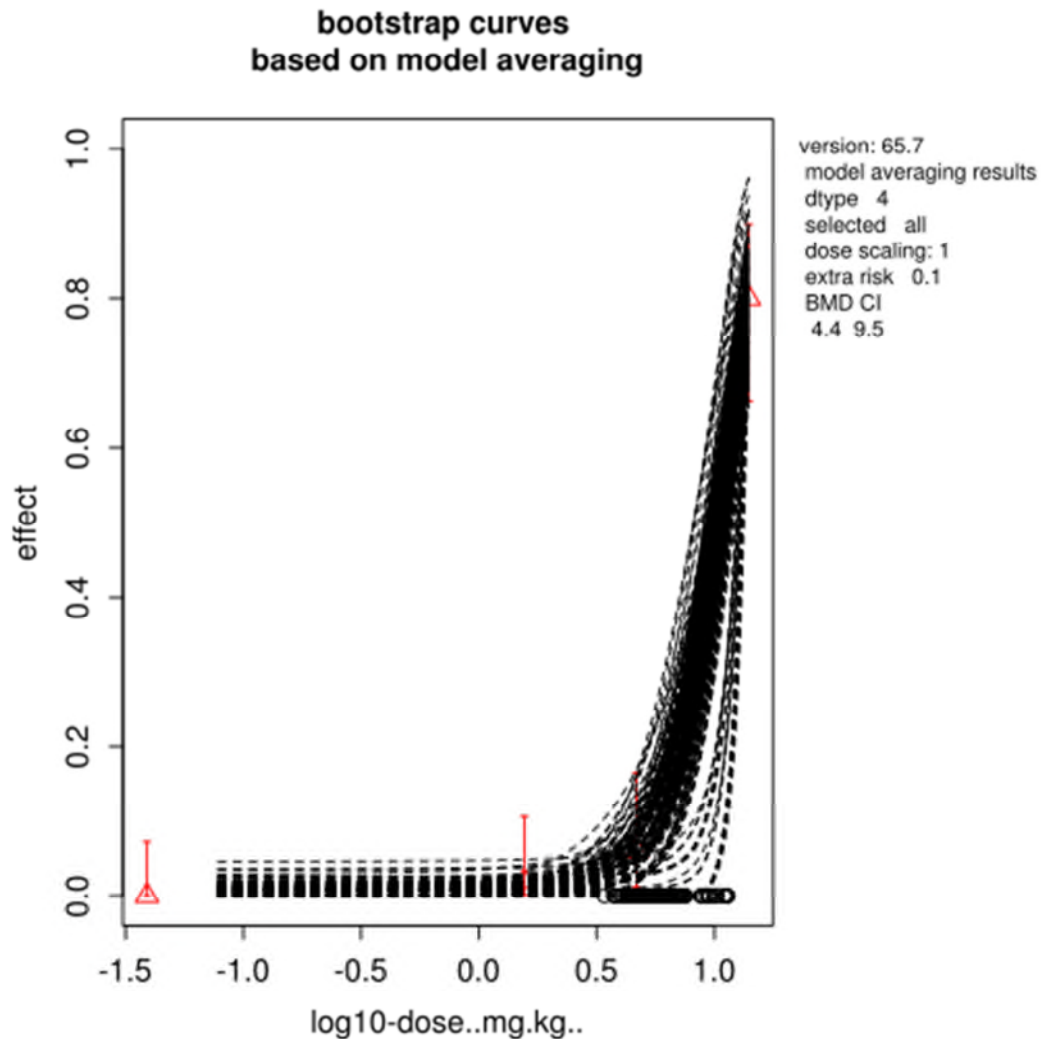
BMDL	BMDU
4.4	9.52

Confidence intervals for the BMD are based on 200 generated data sets.

## Visualization







## Advanced Plots

No results available: If needed, please create advanced plots in the application.

## Conclusions

*The section should discuss the results for the different endpoints and the rationale to decide on the critical one on which the assessment will be based.*

- *Discuss if there were any alerts, and if so, how they were dealt with.*
- *Discuss any particular circumstances, if relevant for the final outcome of the BMD confidence interval.*

*The BMD confidence interval of the critical endpoint (and the BMDL selected as reference point) should be reported and discussed.*

**Weitere Berechnungen:**

Multistage - Modellierung der Benchmark-Dosis für 10 % p-Chloranilin anhand der Ergebnisse für die männliche F344-Ratte nach NTP (1989), bezüglich der Fibrosen in der Milz

```
=====
Multistage Model. (Version: 3.4; Date: 05/02/2014)
Input Data File: C:/BMDS/BMDS2704/Data/mst_Dax_Setting.(d)
Gnuplot Plotting File: C:/BMDS/BMDS2704/Data/mst_Dax_Setting.plt
Mon Apr 23 22:51:44 2018
=====
```

BMDS\_Model\_Run

The form of the probability function is:

$$P[\text{response}] = \text{background} + (1-\text{background}) * [1 - \text{EXP}(-\text{beta1} * \text{dose}^1 - \text{beta2} * \text{dose}^2)]$$

The parameter betas are restricted to be positive

Dependent variable = Col4  
Independent variable = Dose

Total number of observations = 4  
Total number of records with missing values = 0  
Total number of parameters in model = 3  
Total number of specified parameters = 0  
Degree of polynomial = 2

Maximum number of iterations = 500  
Relative Function Convergence has been set to: 1e-008  
Parameter Convergence has been set to: 1e-008

Default Initial Parameter Values

Background = 0  
Beta(1) = 0  
Beta(2) = 0.00835657

Asymptotic Correlation Matrix of Parameter Estimates

( \*\*\* The model parameter(s) -Background -Beta(1) have been estimated at a boundary point, or have been specified by the user, and do not appear in the correlation matrix )

	Beta(2)
Beta(2)	1

Parameter Estimates

Variable	Estimate	Std. Err.	Lower Conf. Limit	Upper Conf. Limit
Background	0	NA		
Beta(1)	0	NA		
Beta(2)	0.00712785	0.00115512	0.00486386	0.00939185

95.0% Wald Confidence Interval

NA - Indicates that this parameter has hit a bound implied by some inequality constraint and thus has no standard error.

## Analysis of Deviance Table

Model	Log(likelihood)	# Param's	Deviance	Test d.f.	P-value
Full model	-41.2705	4			
Fitted model	-43.369	1	4.19707	3	0.241
Reduced model	-105.132	1	127.724	3	<.0001
AIC:	88.738				

## Goodness of Fit

Dose	Est._Prob.	Expected	Observed	Size	Scaled Residual
0.0000	0.0000	0.000	0.000	49.000	0.000
1.5600	0.0172	0.860	1.000	50.000	0.152
4.6700	0.1440	7.199	3.000	50.000	-1.691
14.0000	0.7527	37.634	40.000	50.000	0.776

Chi^2 = 3.49      d.f. = 3      P-value = 0.3227

## Benchmark Dose Computation

Specified effect = 0.1  
 Risk Type = Extra risk  
 Confidence level = 0.95  
 BMD = 3.84467  
 BMDL = 3.19632

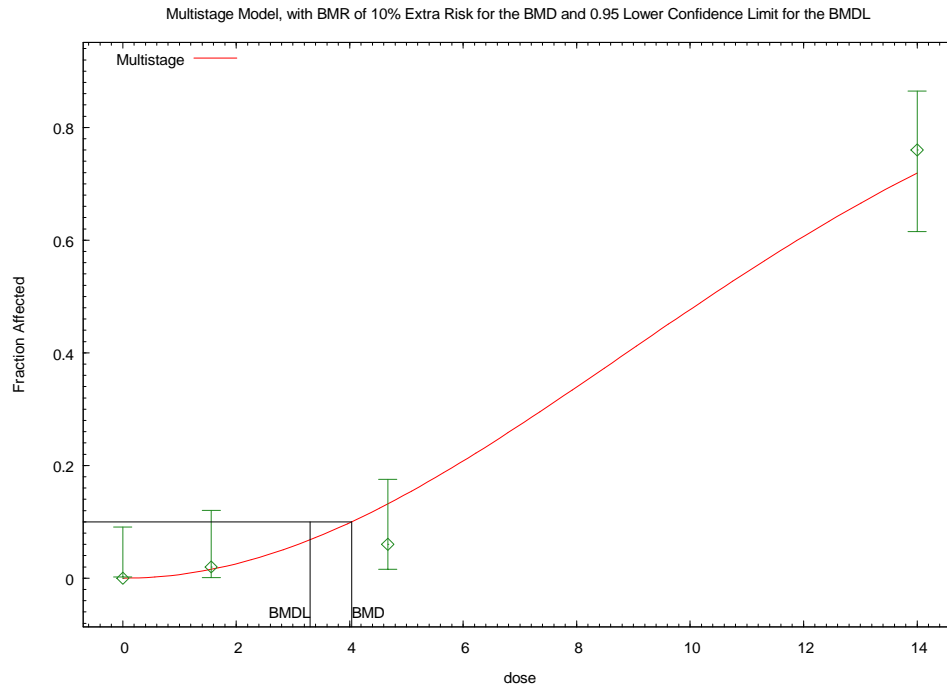


Abbildung 1: Multistage-Modellierung der Benchmark-Dosis für 1 % p-Chloranilin, Endpunkt  
chisquare = 3.49  
d.f. = 3  
p-Wert = 0.3227  
AIC: 88.738

Probit - Modellierung der Benchmark-Dosis für 1 % p-Chloranilin anhand der Ergebnisse für die männliche F344-Ratte nach NTP (1989), bezüglich der Fibrosen in der Milz

```

=====
Probit Model. (Version: 3.4; Date: 5/21/2017)
Input Data File: C:/BMDS/BMDS2704/Data/SessionFiles/lnp_Dax_Setting.(d)
Gnuplot Plotting File:
C:/BMDS/BMDS2704/Data/SessionFiles/lnp_Dax_Setting.plt
Mon Apr 30 20:40:44 2018
=====

```

BMDS\_Model\_Run

The form of the probability function is:

$$P[\text{response}] = \text{Background} + (1 - \text{Background}) * \text{CumNorm}(\text{Intercept} + \text{Slope} * \text{Log}(\text{Dose})),$$

where CumNorm(.) is the cumulative normal distribution function

Dependent variable = Col4  
 Independent variable = Dose  
 Slope parameter is not restricted

Total number of observations = 4  
 Total number of records with missing values = 0  
 Maximum number of iterations = 500  
 Relative Function Convergence has been set to: 1e-008  
 Parameter Convergence has been set to: 1e-008

User has chosen the log transformed model

Default Initial (and Specified) Parameter Values

background =	0
intercept =	-2.9567
slope =	1.31964

Asymptotic Correlation Matrix of Parameter Estimates

	background	intercept	slope
background	1	-0.25	0.22
intercept	-0.25	1	-0.98
slope	0.22	-0.98	1

Parameter Estimates

Variable	Estimate	Std. Err.	95.0% Wald Confidence Interval	
Conf. Limit			Lower	Upper
background	0.0100739	0.0100608	-0.00964487	
intercept	-5.11257	0.866284	-6.81045	-
slope	2.25337	0.360485	1.54683	

Analysis of Deviance Table

Model	Log(likelihood)	# Param's	Deviance	Test d.f.	P-value
Full model	-41.2705	4			
Fitted model	-41.9576	3	1.37427	1	0.2411
Reduced model	-105.132	1	127.724	3	<.0001

AIC: 89.9152

Goodness of Fit

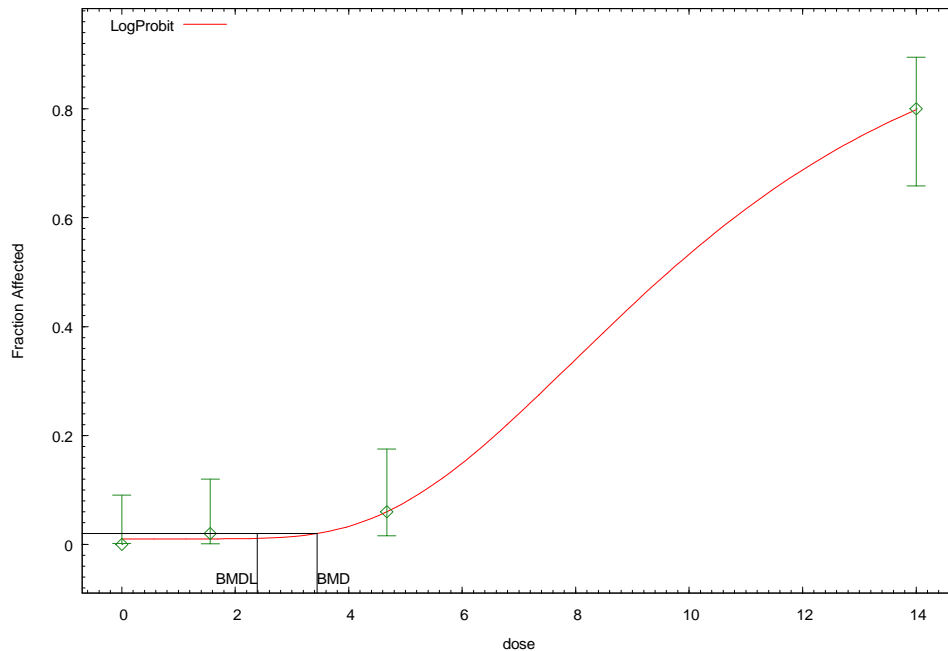
Dose	Est._Prob.	Expected	Observed	Size	Scaled Residual
0.0000	0.0101	0.494	0.000	49.000	-0.706
1.5600	0.0101	0.505	1.000	50.000	0.701
4.6700	0.0601	3.005	3.000	50.000	-0.003
14.0000	0.8000	39.998	40.000	50.000	0.001

Chi<sup>2</sup> = 0.99      d.f. = 1      P-value = 0.3198

Benchmark Dose Computation

Specified effect = 0.1  
 Risk Type = Extra risk  
 Confidence level = 0.95  
 BMD = 5.47465  
 BMDL = 4.33494  
 BMDU = 7.48948

LogProbit Model, with BMR of 1% Extra Risk for the BMD and 0.95 Lower Confidence Limit for the BMDL



16:16 05/07 2018

Abbildung 2: Probit-Modellierung der Benchmark-Dosis für 1 % p-Chloranilin, Endpunkt  
 chisquare = 0.99  
 d.f. = 1  
 P-value = 0.3198  
 AIC: 89.9152