

Benzylbuthylphthalat (BBP)
(CAS-Nr.: 85-68-7)

Vorbemerkung:

Diese Stellungnahme beruht im wesentlichen auf dem Risk Assessment Draft Report (RAR) vom 15.12.2000 [1]. Die in den Tabellen aufgeführten Zitate sind überwiegend dem RAR entnommen.

Stoffwechsel:

BBP wird im Säugerstoffwechsel durch Enzyme der Darmflora (Esterasen) bevorzugt zum Monobutylphthalat hydrolysiert unter Bildung von Benzylalkohol; es entstehen jedoch auch geringere Mengen an Benzylphthalat und n-Butanol. Im Urin beträgt das Verhältnis von Monobutylphthalat zu Monobenzylphthalat ca. 3 : 1. BBP wird gut über die Haut resorbiert.

Im Urin von 289 untersuchten Probanden (Referenzbevölkerung in USA) wurden u.a. die folgenden Phthalsäure-Monoester-Gehalte gemessen (geometrisches Mittel) [2]:

Monobutylphthalat	41,5 ng/ml Urin	36,9 µg/g Creatinin
Monobenzylphthalat	22,6 ng/ml Urin	20,2 µg/g Creatinin.

Genotoxizität:

Tabelle 1: Daten zur Genotoxizität von BBP

Study design	Results	Reference
In vitro, prokaryotes and lower eukaryotes		
Salmonella typhimurium Strain TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538; S9 +/-; 0.1, 1.0, 5.0, 10.0 µl BBP/plate	Negative	Monsanto, 1976b.
Salmonella typhimurium Strain TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538; S9 +/-; 0.001, 0.01, 0.1, 1.0, 5.0, 10.0 µl BBP/plate	Negative	Monsanto 1976c.
Salmonella typhimurium Strain TA98, TA100, TA1535 and TA1537; S9 +/-; 100, 333, 1000, 3333 and 10,000 µgBBP/plate.	Negative	NTP, 1997.
E. Coli; 30 mg/plate; mutation test.	Negative	Omori, 1976, orgianl data Kurata, 1975.

Study design	Results	Reference
In vitro, prokaryotes and lower eukaryotes		
B. Subtilis; 30 mg/plate; repair test.	Negative	Omori, 1976, original data Kurata, 1975.
Saccharomyces cerevisiae Strain D4, S9 +/-; 0.1, 1.0, 5.0, 10.0 µl BBP/plate; mutation test.	Negative	Monsanto 1976b.
In vitro, Mammalian cells		
Mouse lymphoma cells L5178Y TK; S9 +/-; 0.08, 0.16, 0.32, 0.65, 1.25, 2.5 or 5.0 µl BBP/ml, insoluble at 1.25, 2.5 and 5.0 µl/ml. Mutation test	Negative	Monsanto, 1977d.
Mouse lymphoma cells L5178Y TK; S9 +/-; 5, 10, 20, 30, 40, 60 nl BBP/ml. Mutation test.	Negative	NTP, 1997.
Chinese hamster ovary (CHO) cell; S9 +/-; Up to 1250 µg BBP/ml; CA and SCE assay.	Negative or ambiguous	Galloway, 1987.
Syrian hamster embryo cells; 25, 50, 100, 150, 250 µg BBP/ml in the 7 days study, 1,2 5,10 and 20 µg BBP/ml in the 24 hours study, precipitation at conc. ≥ 25 µg BBP/ml. Cell transformation test.	Negative in the 24 hours study; positive at 2.5 and 10 µg/ml in the 7 days study.	Le Boeuf, 1996.
BALB/3T3 cells; 10, 20, 40, 80, 160 nl BBP/ml. Transformation test.	Negative	Monsanto, 1985.
In vivo		
Drosophila melanogaster; 250, 10,000 and 50,000 ppm BBP in feed; sex-linked recessive lethal mutation.	Negative	Valencia, 1985.
Mouse bone marrow; 1250, 2500 and 5000 mg BBP/kg bw i.p; SCE and CA assay.	SCE weak positive after 23 and 42 h, CA positive at 17 h at highest dose, negative all doses at 36 h.	NTP, 1997.
Pregnant AP rats, 183 µg/kg bw/day via drinking water for 44 days (1000 µg/l), bone marrow micronucleus assay	Negative	Ashby et al., 1997
B6C3F1 mice, CD-1 mice; 400-600, 1280-1840, 3200-4560 mg BBP/kg bw, s.c.; dominant lethal mutations.	No increase in foetal deaths.	Bishop, 1987.

In vitro:

BBP zeigt in bakteriellen Mutagenitätstesten sowie an Hefezellen keine mutagene Wirkung. Von den durchgeführten Tests an Säugerzellen in vitro waren zwei Maus-Lymphom-Tests und ein Zelltransformationstest negativ. In einem anderen Zelltransformationstest an Embryozellen des Chinesischen Hamsters führte die 7-tägige Inkubation mit BBP-Konzentrationen von 2-10 µg/ml zu einer statistisch signifikant erhöhten Transformationsfrequenz; die 24-stündige Inkubation mit 25-250 µg/ml blieb ohne Effekt. Allerdings kam es bei BBP-Konzentrationen von ≥ 25 µg/ml zur Bildung von Präzipitaten. Ein SCE-Test an CHO-Zellen erbrachte ohne Zusatz von S9-Mix einen positiven Trend bei der SCE-Rate/ Zelle; der

Wiederholungsversuch ohne S9-Mix sowie ein Test mit Zusatz von S9-Mix verliefen jedoch negativ. Ebenfalls negativ war das Ergebnis eines Chromosomenaberrationstests an CHO-Zellen sowohl mit als auch ohne Zusatz von S9-Mix.

In vivo:

Im SLRL-Test an *Drosophila melanogaster* (500 ppm BBP Injektion bzw. max. 50.000 ppm BBP im Futter) sowie im Dominant-Letal-Test an CD-1 bzw. an B6C3F₁-Mäusen (insgesamt dreimalige s.c.-Applikation von je 400-600, 1280-1840 bzw. von 3200-4560 mg/kg KGW/Tag bei den Männchen am 1., 5. und 10. Versuchstag) war BBP inaktiv.

Im Rahmen eines zytogenetischen Tests in vivo erhielten männliche Mäuse eine einmalige i.p.-Injektion von 1250; 2500 bzw. 5000 mg BBP (gelöst in Maisöl)/kg KGW. Beim Aufarbeitungszeitpunkt von 23 Std. nach der Applikation kam es zu einem positiven Trend hinsichtlich der Zahl der SCEs in den Knochenmarkszellen im Vergleich zur Vehikel-Kontrolle, sofern das Ergebnis bei der höchsten Dosis ignoriert wurde (negativer Ausreisser). Beim Aufarbeitungszeitpunkt von 42 Std. ergab sich ebenfalls ein schwacher positiver Trend bei der Anzahl der SCEs. Ein positiver Trend ergab sich auch in den 2 durchgeführten Chromosomenaberrationstesten beim Aufarbeitungszeitpunkt von 17 Std. nach Applikation; jeweils bei der höchsten eingesetzten Dosis (5000 mg/kg KGW) war das Ergebnis signifikant im Vergleich zur Kontrolle. Im einzigen Test mit einem Aufarbeitungszeitpunkt von 36 Std. ergab sich ein negatives Resultat. Ebenfalls negativ verlief ein Mikronucleus-Test in vivo an trächtigen AP-Ratten nach 44-tägiger Behandlung mit BBP-haltigem Trinkwasser (1 mg/l).

Kanzerogenität:

BBP ist ein Peroxisomen-Proliferator bei männlichen und weiblichen Ratten. In einer 21-Tage-Fütterungsstudie ergab sich für die Ratte ein NOAEL von 0,6 % BBP im Futter, entsprechend einer Tagesdosis von ca. 639 mg BBP/kg KGW. Insgesamt ist BBP bezüglich der peroxisomenproliferativen Aktivität etwas schwächer wirksam im Vergleich zu DEHP.

In einer Studie an weiblichen SD-Ratten wurde der Einfluss von BBP auf die DMBA-induzierte Tumorbildung in der Brustdrüse (Untersuchungszeitpunkt: 15 Wochen nach der DMBA-Gabe) sowie auf die DMBA-DNA-Adduktbildung untersucht. Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

BBP-Behandl.	DMBA-Behandl.	Effekte
5 x 100 mg/kg KGW/Tag i.p.	1 x 31 mg/kg i.g.	DMBA-DNA-Addukte ↓
5 x 500 mg/kg KGW/Tag i.p.	1 x 31 mg/kg i.g.	DMBA-DNA-Addukte ↓↓
7 x 100 mg/kg KGW/Tag i.g.	1 x 31 mg/kg i.g.	DMBA-DNA-Addukte ↓
7 x 500 mg/kg KGW/Tag i.g.	1 x 31 mg/kg i.g.	DMBA-DNA-Addukte ↓↓ EROD-Aktivität/Leber ↑
7 x Maisöl (Vehikel)/Tag i.g.	1 x 31 mg/kg i.g.	82,1 % Mammatumoren
7 x 250 mg/kg KGW/Tag i.g.	1 x 31 mg/kg i.g.	51,9 % Mammatumoren
7 x 500 mg/kg KGW/Tag i.g.	1 x 31 mg/kg i.g.	51,9 % Mammatumoren

Es zeigt sich somit in dieser Studie, dass die Vorbehandlung mit BBP zu einer deutlich verminderten DMBA-DNA-Adduktbildung im Brustdrüsenepithel und auch zu einer verringerten Mammatumorratenrate führt, möglicherweise bedingt durch eine Inhibition des DMBA-Stoffwechsels durch BBP.

Es liegen Langzeit-Fütterungsstudien mit BBP an F344-Ratten und an B6C3F₁-Mäusen vor.

Im Rahmen einer älteren NTP-Kanzerogenesestudie erhielten Ratten und Mäuse über einen Zeitraum von 2 Jahren Futter mit einem BBP-Gehalt von 0; 6.000 bzw. 12.000 ppm, entsprechend einer BBP-Aufnahme von 360 bzw. 720 mg/kg KGW/Tag für Ratten und 840 bzw. 1680 mg/kg KGW/Tag für Mäuse.

Bei den mit BBP behandelten weiblichen Ratten war das mittlere Körpergewicht über die gesamte Behandlungszeit niedriger als in der Kontrolle. Nach der 14. Behandlungswoche verendete eine steigende Anzahl der männlichen Ratten aufgrund von inneren Blutungen mit unbekannter Kausalität. Schließlich wurden alle überlebenden männlichen Ratten in der 29.-30. Woche getötet. Somit konnte in dieser Studie die kanzerogene Wirkung von BBP an männlichen Ratten nicht beurteilt werden. Bei den weiblichen Ratten der hohen Dosisgruppe (12.000 ppm) war die Inzidenz an mononukleärer Leukämie statistisch signifikant erhöht (18/50; 36 %) sowohl gegenüber der Simultan-Kontrolle (7/49; 14 %) als auch gegenüber den historischen Kontrolldaten des Labors (77/399; 19 %). Die Leukämie war begleitet von einer Vergrößerung der Milz und oftmals auch der Leber. Gleichzeitig war die Inzidenz von Fibroadenomen der Brustdrüse gegenüber der Kontrolle erniedrigt.

Tabelle 2: Leukämien bei der weiblichen Ratte nach chronischer Gabe von BBP

Dosisgruppen	Inzidenz / Mononukleäre Leukämie
Simultan-Kontrolle	6 / 49 (12 %)
Historische Kontrolle	77 / 399 (19 %; Bereich: 12 % bis 24 %)
6.000 ppm	6/49 (12 %)
12.000 ppm	17/50 (34 %)*
*) P = 0,011 (zu Simultan-Kontrolle) / P = 0,08 (zu Historische Kontrolle)	

Bei den Mäusen beiderlei Geschlechts war ebenfalls das mittlere Körpergewicht erniedrigt im Vergleich zur Kontrolle. Die Tumorzinzenzen unterschieden sich nicht von den Kontrolldaten.

Im Rahmen einer neueren NTP-Kanzerogenesestudie wurde der Langzeit-Fütterungsversuch an Ratten beiderlei Geschlechts wiederholt. Als Dosierungen wurden gewählt:

3.000; 6.000 bzw. 12.000 ppm entsprechend 120; 240; 500 mg/kg KGW/Tag /
Männchen

6.000; 12.000 bzw. 24.000 ppm entsprechend 300; 600; 1.200 mg/kg KGW/Tag /
Weibchen.

Die Überlebensraten der behandelten Tiere entsprachen den Kontrollwerten. Das mittlere Körpergewicht war bei beiden Geschlechtern jeweils bei der höchsten Dosis nahezu während des gesamten Studienzeitraums erniedrigt im Vergleich zur Kontrolle. Die wichtigsten nicht-neoplastischen und neoplastischen Veränderungen sind in der Tabelle 3 zusammengestellt. Die Inzidenz an Mononukleärer Leukämie lag bei beiden Geschlechtern jeweils im Bereich der Kontrollwerte.

Tabelle 3: Pathologische Veränderungen bei der Ratte nach chronischer Gabe von BBP

Dosisgruppen	Geschl.	Befund	Inzidenz
Kontrolle	männl.	Pankreas/fokale Hyperplasie	4/50 (8 %)
3.000 ppm			7/49 (14 %)
6.000 ppm			9/50 (18 %)
12.000 ppm			12/50 (24 %)
Kontrolle	männl.	Pankr./Acinarzell-Adenom	3/50 (6 %)
3.000 ppm			2/49 (4 %)
6.000 ppm			3/50 (6 %)
12.000 ppm			10/50 (20 %)*
Kontrolle	weibl.	Pankreas/Acinarzell-Adenom	0/50 (0 %)
6.000 ppm			0/50 (0 %)
12.000 ppm			0/50 (0 %)
24.000 ppm			2/50 (4 %)
Kontrolle	weibl.	Harnblase/Übergangsepith.-Hyperplasie	4/50 (8 %)
6.000 ppm			0/50 (0 %)
12.000 ppm			1/50 (2 %)
24.000 ppm			10/50 (20 %)
Kontrolle	weibl.	Harnblase/Übergangsepith.-Papillom	1/50 (2 %)
6.000 ppm			0/50 (0 %)
12.000 ppm			0/50 (0 %)
24.000 ppm			2/50 (4 %)
*) in dieser Dosisgruppe trat außerdem 1 Acinarzell-Karzinom auf			

Im Rahmen einer weiteren NTP-Studie wurde der Einfluss der Futter-Restriktion auf die BBP-bedingte Tumorbildung untersucht. Dazu erhielten je 50 F344N-Ratten pro Geschlecht und Dosisgruppe Futter mit einem BBP-Gehalt von 0 (Kontrolle) oder 12.000 ppm (Männchen) bzw. 24.000 ppm (Weibchen). Bei den ad libitum gefütterten, jedoch nicht bei den der Futterrestriktion unterworfenen, Männchen kam es zu Hyperplasien, Adenomen und Karzinomen der Acinarzellen des Pankreas. Bei den Weibchen traten in allen Behandlungsgruppen Hyperplasien des Übergangsepithels der Harnblase auf und bei Futter-Reduktion ausserdem nur nach 32 Behandlungsmonaten Blasenpapillome oder Blasenkarzinome bei 6/50 Tieren (12 %; Kontrolle: 1/49; 2 %).

Tabelle 4: Pathologische Veränderungen bei der Ratte nach chronischer Gabe von BBP mit und ohne Futter-Reduktion (FR)

Dosisgruppen	Geschl.	Befund	Inzidenz
Kontrolle ad lib.	männl.	Pankreas/fokale Hyperplasie	4/50 (8 %)
Kontr. weight-match.	männl.	Pankreas/fokale Hyperplasie	2/50 (4 %)
12.000 ppm ad lib.	männl.	Pankreas/fokale Hyperplasie	12/50 (24 %)
Kontrolle ad lib.	männl.	Pankreas/Acinarzell-Adenom	3/50 (6 %)
Kontr. weight-match.	männl.	Pankreas/Acinarzell-Adenom	0/50 (0 %)*
12.000 ppm ad lib.	männl.	Pankreas/Acinarzell-Adenom	10/50 (20 %)*
Kontrolle FR/2 Y	männl.	Pankreas/Acinarzell-Adenom	0/50 (0 %)
12.000 ppm FR/2 Y	männl.	Pankreas/Acinarzell-Adenom	0/50 (0 %)
Kontrolle FR/30 M.	männl.	Pankreas/Acinarzell-Adenom	0/50 (0 %)
12.000 ppm FR/30 M.	männl.	Pankreas/Acinarzell-Adenom	3/49 (6 %)
Kontrolle ad lib.	weibl.	Harnblase/Hyperplasie	4/50 (8 %)
Kontr. weight-match.	weibl.	Harnblase/Hyperplasie	0/50 (0 %)
24.000 ppm ad lib.	weibl.	Harnblase/Hyperplasie	10/50 (20 %)
Kontrolle FR/2 Y	weibl.	Harnblase/Hyperplasie	0/50 (0 %)
24.000 ppm FR/2 Y	weibl.	Harnblase/Hyperplasie	14/50 (28 %)
Kontrolle FR/32 M.	weibl.	Harnblase/Hyperplasie	0/49 (0 %)
24.000 ppm FR/32 M.	weibl.	Harnblase/Hyperplasie	16/50 (32 %)
Kontrolle ad lib.	weibl.	Harnblase/Papillome	1/50 (2 %)
Kontr. weight-match	weibl.	Harnblase/Papillome	0/50 (0 %)
24.000 ppm ad lib.	weibl.	Harnblase/Papillome	2/50 (4 %)
Kontrolle FR/2 Y	weibl.	Harnblase/Papillome	0/50 (0 %)
24.000 ppm FR/2 Y	weibl.	Harnblase/Papillome	2/50 (4 %)
Kontrolle FR/32 M.	weibl.	Harnblase/Papillome	1/49 (2 %)
24.000 ppm FR/32 M.	weibl.	Harnblase/Papillome	2/50 (4 %)**
*) in dieser Dosisgruppe trat ausserdem 1 Acinarzell-Karzinom auf			
**) in dieser Dosisgruppe traten außerdem 4 Harnblasen-Karzinome auf			
Y: Jahre, M: Monate			

Reproduktionstoxizität/Fertilitätsminderung:

Benzylbutylphthalat (BBP) wurde bezüglich dieses Endpunktes bisher nur an Ratten untersucht (siehe Tabelle 5). Nach kontinuierlicher Zufuhr über das Futter kommt es ab einer Körperdosis von ca. 1250 mg/kg KGW/Tag zu Veränderungen an Hoden, Nebenhoden und Prostata (Organgewichtsverringering; histopathologische Veränderungen). Bei Gavage-Applikation von BBP treten bereits ab 480 mg/kg KGW/Tag Hodenveränderungen auf.

Tabelle 5: Daten zur Fertilitätsminderung durch BBP

STUDY DESIGN	EFFECT LEVEL	CRITICAL EFFECT	REFERENCE
Fisher 344 rats male 14 days; Administration in diet; 0.625, 1.25, 2.5 and 5% (312, 625, 1250 and 2500 mg/kg bw/day)	NOAEL: 625 mg/kg bw/day for effects on reproductive organs LOAEL: 312 mg/kg/day for effects on liver and kidney	At doses =1250 mg/kg bw/day body, thymus, testes, epididymis and prostate weight decrease, histopathologic changes in testes, prostate and seminal vesicle with the presence of immature sperm and necrosis in tubular epithelium, increased levels of LH and FSH. At 2500 mg/kg bw/day decreased progesterone levels, general toxicosis.	Agrawal et al., 1985
Cpb-WU male rats, 4 weeks of age; Administration of BBP by gavage 28 days; 3/group; 0, 270, 350, 450, 580, 750, 970, 1250, 1600, 2100 mg/kg bw/day	NOAEL for reproductive effects: 750 mg bw/kg/day NOAEL for effects on liver: 580 mg/kg bw/day	Liver weight increase from 750 mg/kg bw/day. A dose related decrease in testis weight from 750 mg/kg bw/day, however, statistically significant from 1250 mg/kg bw/day. Severe testicular atrophy from 970 mg/kg bw/day.	Piersma et al., 1999.
Fisher 344 rats; 15/male/group; 10 weeks; Administration in diet; 300, 2800 and 25,000 ppm (20, 200 and 2200 mg/kg bw/day)	NOAEL: 300 ppm (20 mg/kg bw/day) for sperm effects. NOAEL: 2800 ppm (200 mg/kg bw/day) for fertility	At doses = 200 mg/kg bw/day decreased epididymal spermatozoal concentration. At 2200 mg/kg bw/day alterations in haematological values, decreased body, prostate and testes weight, degeneration in seminiferous tubules, no pregnancy after mating.	NTP, 1997
Fisher-344 male rats; 15 male/group; 26 weeks; Administration in diet; 0, 2800, 8300, and 25,000 ppm (0, 180, 550, 1660 mg/kg bw/day.)	NOAEL: 8300 ppm (550 mg/kg bw/day) for fertility and sperm effects.	Fertility; At 25,000 ppm decreased fertility, testis, epididymis weight, and epididymal spermatozoa conc. Degenerative changes in testis and epididymis.	NTP. 1997.
RIVM-bred WU-rats; 10/sex/group; 14 days prior to and throughout mating; gastric intubation; 250, 500 and 1000 mg/kg bw/day	NOEL 250 mg/kg bw/day based on reduced pup weight at 500 mg/kg bw/day; NOAEL 500 mg/kg bw/day	At 1000 mg/kg bw/day decreased body weight, pregnancy rate, live pups, pups weight, and epididymis weight, testicular degeneration. At 500 mg/kg bw/day slightly reduced pup weight.	Piersma et al., 1995
Wistar rats; Administration in diet over one generation producing two litters; 0.2, 0.4 and 0.8 % BBP	NOAEL parental: 0.4 % (206 mg/kg bw/day male and 217 mg/kg/day female) based on increased liver and kidney weight. NOAEL reproduc- tive performance and develop- mental effects:	At 0.8 % reduced body weight gain and food intake in dams. Slight increase in absolute and relative liver weight in female.	Monsanto , 1993

STUDY DESIGN	EFFECT LEVEL	CRITICAL EFFECT	REFERENCE
	0.8 % (418 mg/kg bw/day male and 446 mg/kg bw/day female). Based on reduced reproductive performance.		
Sprague-Dawley rats; 6 male/group; 14 days; gastric intubation; 160, 480 and 1600 mg/kg bw/day	NOEL: 160 mg/kg bw/day	At 480 mg/kg bw/day histopathologic changes in testis in one of three rats examined, at 1600 mg/kg bw/day decreased testes weight with testicular atrophy.	Lake et al., 1978
Wistar rats and Sprague-Dawley rats; 6/male/group; 14 days; gastric intubation; 480 and 1600 mg/kg bw/day	NOAEL Wistar rat: 480 mg/kg bw/day LOAEL Sprague-Dawley rats: 480 mg/kg bw/day	At 480 mg/kg bw/day testicular atrophy in one Sprague-Dawley rat. At 1600 mg/kg bw/day decreased testes weight with testicular atrophy in all rats. Sprague-Dawley rats were more severe affected than Wistar rats.	Lake et al., 1978
2-Generation-Study: Sprague-Dawley rats; 25/sex/group; Application via gavage in corn oil; 20; 100 and 500 mg/kg bw/day; F ₀ -males: 12 weeks before mating until necropsy; F ₀ -females: 2 weeks before mating until necropsy after pnd 21; F ₁ -animals: pnd 22 until necropsy at pnd 21 after delivery of F ₂ -pups	NOAELs for reproductive toxicity: F ₀ -animals: 20 mg/kg bw/day F ₁ -animals: 20 mg/kg bw/day	Findings in F₀-animals: At 100 mg/kg/day and above: salivation; females: kidney weight ↑ males: serum-FSH ↑ At 500 mg/kg/day: males: body weight gain ↓; kidney and liver weight ↑; serum testosterone ↓; females: ovary weight ↓ Findings in F₁-animals: At 100 mg/kg/day and above: Birth weight of pups significantly ↓; At 500 mg/kg/day: males: anogenital distance ↓; preputial separation delayed. After puberty: serum testosterone ↓; atrophy of seminiferous tubules with decreased number of germ cells; increased incidence in interstitial edemas; decreased number of sperm in epididymis; females: anogenital distance ↑. Findings in F₂-animals at pnd 21: At 500 mg/kg/day: Lower body weight of pups during lactation period (not significant)	Nagao et al., 2000
Sprague-Dawley rats; 6/male/group; 4 days; gastric intubation; 800 and 1600 mg/kg bw/day of BBP, 855 mg/kg bw/day of MbuP and 985 mg/kg bw/day of MbeP		At doses = 800 (BBP), 855 (MbuP) and 985 (MBeP) mg/kg bw/day reduced testes weight and testicular atrophy.	Lake et al., 1978

STUDY DESIGN	EFFECT LEVEL	CRITICAL EFFECT	REFERENCE
Sprague-Dawley rats; 5-10/sex/group; 4 weeks; Administration in diet; 500, 1000, 1500 2000, 3000 and 4000 mg/kg bw/day	NOAEL: 1000 mg/kg bw/day	At doses =1500 mg/kg bw/day body weight decrease. From 1500 mg/kg bw/day testicular atrophy. From 2000 mg/kg/day stiffness while walking and bleeding around nares.	Hammond et al., 1987
Sprague-Dawley rats; 10/sex/group; 3 month; Administration in diet; 2500 – 20,000 ppm (corresp. To approx. 188, 375, 750, 1125, 1500 mg/kg bw/day)	NOAEL female: 375 mg/kg bw/day OAEL male: 750 mg/kg bw/day	At doses =750 mg/kg bw/day kidney and liver weight increase in females, at doses = 1125 mg/kg bw/day liver weight increase in males.	Hammond et al., 1987
Wistar rats; 10/sex/group; 3 month; Administration in diet; 2500 – 12,000 ppm (corresp. To approx. 151, 381, 960 mg/kg bw/day)	NOAEL male and female: 151 mg/kg bw/day	At doses = 381 mg/kg bw/day kidney weight increase, urinary pH decrease. At 960 mg/kg bw/day body weight decrease, liver weight increase, slight anaemia, and histopathologic changes in liver and pancreas.	Hammond et al., 1987

In einer erst kürzlich publizierten 2-Generationen-Studie an Sprague-Dawley-Ratten mit Gavage-Applikation von BBP ergab sich ein NOEL von 20 mg/kg KGW/Tag für Elterntiere und Nachkommen; ab 100 mg/kg KGW/Tag traten erste Vergiftungssymptome auf (Speichelfluss, erhöhtes Nierengewicht/F₀-Weibchen, Serum-FSH-Spiegel erhöht/F₀-Männchen, Geburtsgewicht der F₁-Jungtiere signifikant erniedrigt). Bei 500 mg/kg KGW/Tag waren außerdem bei den F₀-Männchen die KGW-Zunahme und der Serum-Testosteronspiegel erniedrigt und das Leber- und Nierengewicht erhöht und bei den F₀-Weibchen das Ovargewicht erniedrigt. Bei den F₁-Jungtieren war bei beiden Geschlechtern der Anogenital-Abstand verändert und bei den Männchen waren außerdem die Ablösung des Präputiums verzögert, der Serum-Testosteron-Spiegel und die Anzahl der Spermien im Nebenhoden erniedrigt. Weiterhin traten Hodenschädigungen auf (Atrophie der Samentubuli, interstitielle Ödeme). Die Fertilität der Tiere war jedoch nicht beeinträchtigt (siehe Tabelle 6) [5].

Tabelle 6: Effekte bei der Ratte nach Gavage-Gabe von BBP (Nagao et al. 2000; [5])

Kontrolle	F0-Eltern	1/25 M mit Hoden- und Nebenhodenatrophie und mit histologischem Korrelat
20 mg/kg KGW/d	F0-Eltern	NOAEL (1/25 M mit Hoden- und Nebenhodenatrophie; kein histologischer Befund)
20 mg/kg KGW/d	F1-Jungtiere	NOAEL
100 mg/kg KGW/d	F0-Eltern	vermehrter Speichelfluss (18/25 M; 10/25 W) W: absolutes u. relatives Nierengewicht ↑ (7-8 %) M: Serum-FSH ↑ (197+55; Kontr.: 161+50)
100 mg/kg KGW/d	F1-Jungtiere	signifikant erniedrigtes Geburtsgewicht (8 %)
500 mg/kg KGW/d	F0-Eltern	vermehrter Speichelfluss bei allen Tieren M: KGW-Zunahme ↓ (8 %); Serum-FSH ↑ (192±33; Kontr.: 161±50 ng/ml), Serum-Testosteron ↓ (1,9±1,1; Kontr.: 3,5±1,6 ng/ml), M: erhöhtes Leber- (abs. 11 %/rel. 20 %) und Nierengewicht (abs. 7 %/rel. 14 %) W: Nierengewicht ↑ (abs. 7 %/rel. 7 %), Ovargewicht ↓ (abs. 11 %/rel. 11 %)
500 mg/kg KGW/d	F1-Jungtiere	signifikant erniedrigtes Geburtsgewicht (8 %) M: verringerter Anogenitalabstand; verzögerte Ablösung des Präputiums (ca. 1 Tag); W: vergrößerter Anogenitalabstand
	F1-Eltern	M: KGW ↓ (12 %), Serum-Testosteron ↓ (3,7±3,3; Kontr.: 6,6±2,9 ng/ml), rel. Nierengewicht ↑ (18 %), abs. Hodengewicht ↓ (12 %), Atrophie der Samenleiter im Hoden (6/10), verringerter Spermiengehalt in Samenleitern (4/10) und Nebenhoden (5/10), interstitielles Ödem (4/10)
	F2-Jungtiere	ohne Effekt

Es liegt das Ergebnis einer weiteren erst kürzlich durchgeführten Zwei-Generationen-Studie mit BBP an Sprague-Dawley-Ratten vor [6]. Dabei erhielten je 30 Tiere pro Geschlecht und Dosis Futter mit einem BBP-Gehalt von 0; 750; 3750 bzw. 11250 ppm (entsprechend ca. 50; 250 bzw. 750 mg/kg KGW/Tag) über einen Zeitraum von 10 Wochen. Anschließend wurden die Tiere innerhalb der jeweiligen Dosisgruppe über einen Zeitraum von 2 Wochen miteinander verpaart mit anschließender Weiterbehandlung mit BBP im Futter. Die F₀-Männchen wurden zum Zeitpunkt des Werfens der F₁-Nachkommen getötet und untersucht. Beim Absetzen der F₁-Jungtiere am 21. Postnataltag wurden die F₀-Weibchen und ca. 3 F₁-Jungtiere pro Geschlecht und Dosis getötet. 30 F₁-Jungtiere pro Geschlecht und Dosis wurden ausgewählt als Elterntiere für die F₂-Generation und erhielten BBP im Futter in den o.g. Dosierungen zunächst für 10 Wochen, dann für weitere 2 Wochen während der Paarungszeit und wurden schließlich weiterbehandelt bis zum Absetzen der F₂-Jungtiere. Die F₁-Männchen wurden nach dem Werfen der F₂-Jungtiere und die F₁-Weibchen nach dem Absetzen der F₂-Jungtiere getötet. Gleichzeitig wurden ca. 3 F₂-Jungtiere pro Geschlecht und Dosisgruppe getötet. Die Befunde sind in der nachfolgenden Tabelle 7 zusammengestellt.

Tabelle 7: Effekte bei der Ratte nach Gabe von BBP im Futter (Tyl et al. 2001; [6])

Dosis	Generation	Effekte
750 ppm (50 mg/kg/Tag)	F0-Eltern	ohne Effekte vertragen (NOEL/system. Tox)
	F1-Jungtiere	ohne Effekte; NOEL (Reprotox)
	F1-Eltern	ohne Effekte
	F2-Jungtiere	ohne Effekte; NOEL (Reprotox)
3750 ppm (250 mg/kg/Tag)	F0-Eltern	M: abs. Nierengewicht erhöht W: absolutes u. relatives Nierengewicht erhöht
	F1-Jungtiere	verkürzter Anogenital-Abstand bei männlichen Jungtieren; NOAEL (Reprotox)
	F1-Eltern	ohne Effekte; NOAEL (system. Tox/Reprotox)
11250 ppm (750 mg/kg/Tag)	F2-Jungtiere	verkürzter Anogenital-Abstand bei männlichen Jungtieren NOAEL (Reprotox)
	F0-Eltern	Reprotox: ohne reprotox.-Effekte; NOAEL (Reprotox) Systemische Toxizität: erhöhtes absolutes u. relatives Leber- (ca. 15 %) und Nierengewicht (ca. 10 %); histopathologisch veränderte Hepatozyten (10/11 M; 9/10 W) Weibchen: verringertes KGW (3 %), verminderte KGW- Zunahme; vermindertes absolutes u. relatives Ovar (13 %/20 %) u. Uterusgewicht (20 %/17 %)
	F1-Jungtiere	verkürzter Anogenital-Abstand bei männlichen Jungtieren; verringertes KGW während der Laktation; verzögerter Eintritt der Pubertät (Vaginalöffnung um 3 Tage und Ablösung des Präputiums um 4 Tage verspätet); Brustwarzen und Areolen noch vorhanden bei 19,23 % bzw. 32,3 % der männlichen Jungtiere vor dem Absetzen; erhöhte Inzidenz an Missbildungen des männlichen Reproduktionssystems am pnd 21 (25/76 M mit verkleinerten oder fehlenden Hoden bzw. Nebenhoden oder mit Hodenhochstand)
	F1-Eltern	Systemische Toxizität: verringertes KGW (M 9 %/W 6 %), verminderte KGW-Zunahme; erhöhtes absolutes u. relatives Lebergewicht (M: 5 %/16 %; W: 0,3 %/6 %); histopathologische Leberschädigungen (5/9 W). Reprotox: Erniedrigung von Paarungsindex (30 %), Fertilitätsindex (19 %) u. Trächtigkeitsindex (15 %); Verminderung von Implantationszahl (25 %), Zahl der Jungtiere pro Wurf und der lebenden Jungtiere pro Wurf am pnd 0 (20 %); verminderte epididymale Spermienmotilität; vermehrt makroskopische und histopathologische Schädigungen an Hoden und Nebenhoden (16/30); verminderte Organgewichte von Hoden (abs. 20 %/rel. 13 %), Nebenhoden (abs. 11 %/rel. 4 %) Prostata (abs. 25 %/ rel. 18 %) u. Samenvesikeln (abs. 18 /rel. 12 %)
F2-Jungtiere	verkürzter Anogenital-Abstand bei männlichen Jungtieren; verringertes KGW während der Laktation; verzögerter Eintritt der Pubertät; Brustwarzen und Areolen noch vorhanden bei 16,46 % bzw. 72,15 % der männlichen Jungtiere vor dem Absetzen; erhöhte Inzidenz (13/54) an Männchen mit diversen pathologischen Veränderungen an Nebenhoden und Samenvesikeln am pnd 21	

Zusammenfassend lässt sich aufgrund dieser Ergebnisse feststellen, dass fertilitätsmindernde Effekte nur bei der höchsten, bereits parental systemisch-toxisch wirkenden Dosis (750 mg/kg KGW/Tag) und erst ab der F₁-Generation auftreten.

Dies deutet darauf hin, dass eine Exposition in utero erforderlich ist, um diese Effekte hervorzurufen. Ebenfalls erst ab der F₁-Generation kommt es zur Agenese oder zu Missbildungen am männlichen Reproduktionssystem sowie zu signifikant verkürztem Anogenitalabstand und zu fehlender Rückbildung von Brustwarzen und Areolen bei den Männchen aufgrund einer offenbar antiandrogenen Wirkung von BBP.

Reproduktionstoxizität/Entwicklungsschädigung:

BBP führt bei Ratte und Maus nach Behandlung in utero zu Störungen der fetalen Entwicklung und zu Missbildungen besonders bei den männlichen Feten. Bei Verabreichung von BBP über das Futter kommt es bei der Ratte ab einer Dosis von 645 mg/kg KGW/Tag zu einer verringerten Körpergewichtszunahme der Feten und ab 974 mg/kg KGW/Tag zu Missbildungen. Bei der Maus scheint die Dosis-Wirkungs-Beziehung ähnlich wie bei der Ratte zu sein: Bei Verabreichung von ≥ 910 mg/kg KGW/Tag mit dem Futter traten pränatale Mortalität und Missbildungen auf; der NOAEL lag bei der nächstniedrigen gestesteten Dosis von 182 mg/kg KGW/Tag. Bei intragastraler Verabreichung von BBP an die trächtigen Ratten treten bereits ab 270 mg/kg KGW/Tag fetale Effekte auf. Die maternale Toxizität ist nicht besonders stark ausgeprägt und äussert sich in verminderter KGW-Zunahme und erhöhtem Lebergewicht. BBP besitzt zwar keine östrogene Wirkung, wirkt aber antiandrogen in vitro und in vivo (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8: Daten zur entwicklungsschädigenden Wirkung von BBP

STUDY DESIGN	EFFECT LEVEL	CRITICAL EFFECT	REFERENCE
BBP			
Swiss DC-1 mice and Sprague-Dawley rats; 27-30/group; Administration in diet on gd 6-15; 0.1, 0.5, and 1.25 % mice (182, 910, 2330 mg/kg/day mice) and 0.5, 1.25 and 2.0 % rats (419, 1102 and 1641 mg/kg/day rats)	NOAEL mice maternal 182 mg/kg bw/day and NOAEL offspring 182 mg/kg/day NOAEL rat maternal and offspring 419 mg/kg/day	Mice: At 910 mg/kg/day a slight reduction in dam weight gain (15 %), no reduction in adjusted body weight gain, prenatal mortality and malformed fetuses at doses \geq 910 mg/kg/day.. Rat: At 1102 mg/kg/day reduced dam weight gain. At 1641 mg/kg/day reduced dam and fetal weight gain, and increased resorption and malformations.	NTP, 1990 (mice). NTP, 1989 (rats).
Cpb-WU pregnant rats; Administration of BBP by gavage gd 6-15 or 6-20; 0, 270, 350, 450, 580, 750, 970, 1250, 1600 or 2100 mg/kg/day; 25/group in the 0, 450, 750 and 1250 mg/kg/day dose group, 10/group in the 270, 350, 580, 970, 1600 and 2100 mg/kg/day dose group	NOAEL maternal 450 mg/kg/day (exp. gd 6-20) and 580 mg/kg/day (exp. gd 6-15) LOAEL offspring 270 mg/kg/day (exp. gd 6-20) and 350 mg/kg/day (exp. 6-15)	Maternal; increased liver weight at 580 mg/kg/day (exp. gd 6-20) and at 750 mg/kg/day (exp. gd 6-15). Offspring; decreased relative testis weight at 270 mg/kg/day (exp. gd 6-20). Effects on testicular migration at 580 mg/kg/day (more pronounced after long exp.), reduced fetal weight from 350 mg/kg/day (exp. gd 6-20) and from 450 mg/kg/day (exp. gd 6-15).	Piersma et al., 1999
Pregnant SD rats (no information conc. number) administration by gavage; corn oil or 750 mg/kg/day from gd 14 through postnatal day 3.		Maternal toxicity: no information. Offspring; 84 % showed malformation in the testis, epididymis, accessory reproductive organs and external genitalia. Reduced anogenital distance at day 2 of age, and males with areolas at day 13 of age.	Ostby et al., 2000 (only abstract available)
Wistar rats; Administration in diet on day 0-20 of pregnancy; 0.25, 0.5, 1.0 and 2.0 % (185, 375, 654 and 974 mg/kg bw/day).	NOAEL maternal: 375 mg/kg bw/day NOAEL offspring: 654 mg/kg bw/day	At doses = 375 mg/kg bw/day reduced body weight gain and at doses \geq 654 mg/kg/day reduced adjusted weight gain in dams. At 645 mg/kg /day reduced body weight in foetus. At 974 mg/kg bw/day complete resorption.	Ema et al., 1990
Wistar rats; Administration in diet on day 0-20 of pregnancy; 2 % (974 mg/kg/day): Pairfeed pregnant rats.		At 974 mg/kg/day complete resorption and reduced body weight and adjusted body weight gain in dams. Pair fed rats showed the same reduction in body weight gain. No other effects in pairfeed pregnant rats.	Ema et al., 1991
Wistar rats: Gastric intubation on day 7-15 of pregnancy;	LOAEL maternal: 500 mg/kg bw/day NOAEL offspring:	At 500 mg/kg/day reduced food consumption in dams. At 750 mg/kg/day reduced food	Ema et al., 1992a

STUDY DESIGN	EFFECT LEVEL	CRITICAL EFFECT	REFERENCE
BBP			
500, 750 and 1000 mg/kg/day.	500 mg/kg bw/day	consumption and body weight gain in dams, complete resorption in some dams, decreased foetal weight, malformations. At 1000 mg/kg/day reduced adjusted body weight gain, high maternal mortality, complete resorption in all dams.	
Wistar rats; Administration in diet on day 0-20, 0-7, 7-16 and 16-20 of pregnancy; 2% in the diet (974 mg/kg bw/day); Pairfeed pregnant rats.		Postimplantation loss was increased after exposure on day 0-20, 0-7, 7-16. Teratogenicity was reported after exposure on day-16-20. No effects in pairfeed pregnant rats.	Ema et al., 1992b
Wistar rats; Administration through diet on day 0-20, 0-11 and 11-20 of pregnancy; 2 % in the diet (974 mg/kg bw/day); Pairfeed pregnant rats.		Reduced body weight gain and adjusted body weight gain in dams in all groups . Complete resorption after exposure on day 0-20, 0-11. Teratogenic effects after exposure on day 11-20. No effects in pairfeed pregnant rats.	Ema et al., 1992c
Wistar rats; Administration once daily by gastric intubation on days 7-9, 10-12 and 13-15 of pregnancy; 600, 750 and 1000 mg/kg bw/day.	NOAEL offspring: 600 mg/kg bw/day	At doses = 750 mg/kg bw/day on day 7-9 or at 1000 mg/kg bw/day on day 10-12 foetus weight decrease. At 1000 mg/kg on exposure day 10-12 litters totally resorbed was increased. At doses = 750 mg/kg bw/day on exposure day 7-9 and 13-15 increased malformations.	Ema et al., 1993a
Wistar rats; Administration in diet on day 0 through sacrifice on day 7,9 or 11 of pregnancy; 2 % (974 mg/kg bw/day); Pair fed pregnant rats.		Increased postimplantation loss in rats killed on day 11. Regardless of day of sacrifice the ovarian and uterine weights and plasma progesteron levels were decreased in BBP treated rats. No effects in pairfeed pregnant rats.	Ema et al., 1994a
Wistar rats; 10-14 pregnant rats/groups, 11-13 pseudopregnant rats/group; Gastric intubation on day 0-8 of pregnancy; 250, 500, 750 and 1000 mg/kg bw/day.	LOAEL maternal: 250 mg/kg bw/day NOAEL offspring: 250 mg/kg bw/day	At doses \geq 250 mg/kg bw/day decreased maternal body weight gain. At doses = 500 mg/kg bw/day decreased foetal body weight. At \geq 750 mg/kg bw/day decrease in implantations per rat. At doses = 500 mg/kg bw/day decreased uterine growth and serum progesterone levels in pseudopregnant rats. No effects on adjusted body weight gain.	Ema et al., 1998a

STUDY DESIGN	EFFECT LEVEL	CRITICAL EFFECT	REFERENCE
BBP			
Wistar rats; 9-16 pregnant rats/group; Administration by gavage on gd 11,12 and 13, killed on gd 20; 0, 250, 1000, 1500 and 2000 mg/kg/day.		At doses \geq 1000 mg/kg/day maternal toxicity. Decreased foetal weight at doses \geq 1500 mg/kg/day, gross anomalies at 1500 and 2000 mg/kg/day; skeletal anomalies at 1000 mg/kg/day. A tendency to increased maternal metallothionein at 2000 mg/kg/day. No measurements of plasma and tissue zinc concentrations.	Keen, 1998, Draft
Wistar rats; 26-34 female/group; exposure 2 weeks before mating, through gestation, and 22 days post partum; Administration in drinking water; 1mg/L (0.125 mg/kg bw/day first day - 0.370 mg/kg bw/day before weaning).		Small reduction in absolute and relative testes weight, reduced daily sperm production	Sharpe et al., 1995
Alpk:ApfSD (AP-rats) 19 female/group; exposure through gestation and up to post natal day 90; Administration in drinking water; 1 mg/L (0.186 mg/kg bw/day).		No critical effects in pups on testicular weights and testicular sperm counts.	Ashby et al., 1997
Wistar rats (28 female/group); exposure through gestation and up to post natal day 21; Administration in drinking water, 100, 1000 and 3000 μ g/L (0.01-0.022, 0.115-0.229 and 0.340-0.674 mg/kg bw/d).		No effects on pups regarding the reproductive system. No maternal toxicity. High incidence in pup-mortality in control and BBP exposed pups.	TNO, 1998a
Wistar rats (28 females/group) exposure through gestation and up to post natal day 7; Administration in drinking water, 1000 and 3000 μ g/L (0.115 and 0.28 mg/kg bw/day		No effects on pups regarding the reproductive system. No maternal toxicity. High incidence of pup-mortality in control and BBP exposed pups.	TNO, 1998b.

STUDY DESIGN	EFFECT LEVEL	CRITICAL EFFECT	REFERENCE
BBP			
Sprague-Dawley-rats (19 females/controls and 13 females/BBP; BBP administered as suspension in corn oil via gavage in doses of 0 and 750 mg/kg bw/day from gd 14 to pnd 3	maternal effects: no overt toxicity	1/13 litters did not survive until pnd 2; 1/13 litters without any male pups; decreased pup weight, reduced ano- genital distance in male pups, reduction in testis weight, female-like areolas and nipples in 70 % of male infants, 84 % of male offsprings with malformations	Gray et al., 2000; [4]
Harlan Cpb WU-rats (10 females/group, exposure from g.d. 6 to 15 or from g.d. 6 to 20, respect. administration of BBP suspended in corn oil via gavage in doses of 0; 270; 350; 450; 580; 750; 970; 1250; 1600 or 2100 mg/kg bw/day	NOAEL maternal 350 mg/kg bw/day Benchmark Dose/ fetal: 95 mg/kg bw/day (for 1% increase in abnormal testis location)	Maternal effects: liver and kidney weights increased, liver enzymes in serum increased, extramedullary hematopoiesis increased fetal effects: resorptions, reduced fetal weight, skeletal anomalies, reduced testis weight, increased incidence of retarded testicular descent	Piersma et al., 2000 [3]
Wistar rats (28 females/ group), exposure through pre-mating (2 weeks), mating (3 weeks), gestation and lactation (3 weeks). Administration in drinking water, 1 and 3 ppm (0.12-0.24 and 0.35 to 0.8 mg/kg/bw/ day); in diet 1 and 3 ppm (0.09-0.16 and 0.28-0.49 mg/kg bw/day).		No effects on pups regarding the reproductive system. No maternal toxicity. No increase in pup-mortality in control animals compared to historical data or in BBP exposed pups.	Bayer, 1998
Wistar rats (16 females/ group), gavage application of 250; 500 or 1000 mg/kg bw/d from gd 15 to gd 17	NOAEL maternal: 250 mg/kg bw/d NOAEL offspring: Males: 250 mg/kg bw/day Females: 500 mg/kg bw/day	At doses = 500 mg/kg bw/day reduced food consumption and weight gain in dams; 1000 mg/kg bw/d: decreased number of live fetuses/litter Fetal effects/Males: 250 mg/kg: undescendet testes 3/105 500 mg/kg: undescendet testes 54/111, increased transabdominal testicular ascent; anogenital distance signif. reduced; 1000 mg/kg: undescendet testes 97/108, increased transabdominal testicular ascent; anogenital distance signif. reduced (female-like) ; reduced bw of live fetuses Fetal effects/Females: 1000	Ema & Miyawaki 2002

STUDY DESIGN	EFFECT LEVEL	CRITICAL EFFECT	REFERENCE
BBP			
		mg/kg:reduced bw of live fetuses	

Dibutylphthalat (DBP):			
SD rats; DBP; Gastric intubation on pregnancy day 12-21; 500 mg/kg bw/day.		At gd 16-21 DBP caused leydig cell hyperplasia ; at gd 21 testes atrophy was apparent; decreased testicular testosterone levels at gd 18 and 21; reproductive tract malformations	Mylchreest et al., 2002

BBP metabolites: MBuP und MBeP			
Wistar rats; MBuP; Gastric intubation on pregnancy day 7-15; 250, 500 and 625 mg/kg bw/day.	NOAEL maternal: 250 mg/kg bw/day NOAEL offspring: 250 mg/kg bw/day	At doses = 500 mg/kg bw/day reduced food consumption and weight gain in dams, increased resorption, dead foetus and postimplantation loss per litter. Increased malformations.	Ema et al., 1995a
Wistar rats; MBeP; Gastric intubation on pregnancy day 7-15; 250, 313, 375, 438 and 500 mg/kg bw/day.	LOAEL maternal: 250 mg/kg bw/day NOAEL offspring: 250 mg/kg bw/day	At doses = 250 mg/kg bw/day reduced food consumption. From 313 mg/kg/ day reduced weight gain, at 500 mg/kg/ day reduced adjusted weight gain and maternal toxicity. At doses = 313 mg/ kg bw/day malformations. At doses = 438 mg/kg bw/day embryotoxic effects.	Ema et al., 1996

Fazit:

Genotoxizität:

Benzylbutylphthalat (BBP) zeigt in diversen in vitro-Testen keine genotoxische Aktivität; der positive Trend in einem SCE-Test an CHO-Zellen in Abwesenheit von S9-Mix ist aufgrund des negativ verlaufenen Wiederholungsversuchs und des ebenfalls negativen SCE-Tests mit S9-Mix als nicht reproduzierbarer Zufallsbefund zu werten. Die Relevanz des positiven Zelltransformationstests an SHE-Zellen mit 7-tägiger Inkubationszeit ist unklar angesichts des negativen Tests an BALB/3T3-Zellen.

Unter in vivo-Bedingungen zeigt BBP lediglich bei sehr hoher i.p.-Dosierung einen sehr schwachen Effekt (SCE-Rate und CA-Rate leicht erhöht, nicht statistisch signifikant). Ein Mikronucleus-Test an trächtigen AP-Ratten verlief negativ.

Insgesamt sind die Befunde für eine Einstufung gemäß den EG-Einstufungskriterien nicht ausreichend (M: -).

Kanzerogenität:

Benzylbutylphthalat (BBP) wurde in chronischen Fütterungsstudien an Ratte und Maus untersucht.

In der älteren NTP-Studie führte die Verabreichung von 12.000 ppm im Futter bei weiblichen Ratten zu einer signifikant erhöhten Inzidenz an mononukleärer Leukämie. In der neueren NTP-Studie lag die Inzidenz für diesen Tumortyp jedoch bei beiden Geschlechtern im Bereich der Simultan-Kontrolle trotz der höheren Dosierung, so dass dem Befund in der älteren Studie keine Bedeutung zukommt. Die in der neueren NTP-Studie festgestellte erhöhte Inzidenz an gutartigen Pankreas-Tumoren bei männlichen Ratten war im 2-Jahres-Versuch unter Futter-Restriktion nicht reproduzierbar. Bei weiblichen Ratten war die Inzidenz an Pankreasadenomen nur marginal erhöht; dieser Befund war unter Futter-Restriktion ebenfalls nicht reproduzierbar. Sowohl in der neueren NTP-Langzeitstudie als auch unter Futter-Restriktion war bei weiblichen Ratten die Inzidenz an Papillomen des Übergangsepithels der Harnblase marginal erhöht. Weiterhin traten nach 32-monatiger BBP-Behandlung unter Futter-Restriktion vermehrt Harnblasenkarzinome auf. Da diese Tumoren sich jedoch erst jenseits des üblichen Studienzeitraums von 2 Jahren entwickelten, sollten sie nicht als Basis für eine Einstufung als kanzerogen herangezogen werden.

Bezüglich der peroxisomenproliferativen Wirkung ist festzustellen, dass BBP schwächer wirksam ist als DEHP und daher eine Relevanz dieser Wirkung für den Menschen nicht in Betracht kommt (vgl. Einstufungsbegründung zu DEHP).

Insgesamt erscheinen diese Befunde unter Berücksichtigung der fehlenden Genotoxizität der Substanz gemäß den EG-Einstufungskriterien als nicht ausreichend für eine Einstufung von BBP (C: -).

Reproduktionstoxizität/Fertilitätsminderung:

Bei Applikation mit dem Futter zeigt BBP in den meisten Studien erst oberhalb der Limit-Dosis von 1.000 mg/kg KGW/Tag Effekte an Hoden, Nebenhoden und Prostata der Ratte, die eine Beeinträchtigung der Fortpflanzungsfähigkeit zur Folge haben könnten; bei Schlundsonden-Gabe treten derartige Effekte bereits ab ca. 480 mg/kg KGW/Tag auf.

Im Rahmen einer erst kürzlich publizierten 2-Generationen-Studie mit Gavage-Applikation führte die Dosis von 500 mg/kg KGW/Tag zu deutlichen Hodeneffekten bei den F₁-Männchen bei gleichzeitiger deutlicher parentaler systemischer Toxizität (erhöhtes Leber- u. Nierengewicht), die Fertilität der Tiere war jedoch nicht beeinträchtigt.

In einer weiteren neuen 2-Generationen-Studie an der Ratte kam es bei einer Dosis von 11.250 ppm im Futter (ca. 750 mg/kg KGW/Tag) ebenfalls zu deutlichen Hodeneffekten bei den Nachkommen bei gleichzeitiger ausgeprägter parentaler systemischer Toxizität (verzögerte KGW-Zunahme; Leberschädigungen). Gleichzeitig waren auch einige Fertilitätsparameter in der F₁-Generation bei der Produktion der F₂-Generation deutlich beeinträchtigt. Untersuchungen an einer 2. Spezies fehlen.

Insgesamt liegen damit zum einen Belege für eine fertilitätsmindernde Wirkung von BBP im 2-Generationsversuch bei der Ratte auch bei Dosierungen unterhalb der Limit-Dosis vor, die allerdings bei den Elterntieren bereits eine deutliche systemische Toxizität hervorriefen. Diese fertilitätsmindernde Wirkung steht jedoch zweifelsfrei im kausalen Zusammenhang mit den durch BBP bei den männlichen F₁-Tieren hervorgerufenen Missbildungen der Reproduktionsorgane, die ihrerseits jedoch nur nach Beginn der Exposition bereits in utero zur Ausprägung gelangen.

Zum anderen führt BBP bei erwachsenen männlichen Ratten zu toxischen Effekten an den Reproduktionsorganen, die als Indiz für eine mögliche Beeinträchtigung der Fertilität zu werten und die daher aus Vorsorgegründen bei der Einstufung zu berücksichtigen sind.

Aufgrund der Würdigung der teratogenen Wirkung von BBP durch eine Einstufung in die Kat. 2/Entwicklungsschädigung ist die im 2-Generationen-Versuch beobachtete Minderung der Fertilität als direkte Konsequenz der aufgetretenen Missbildungen bereits ausreichend berücksichtigt. Für die in verschiedenen Studien an erwachsenen Ratten beobachteten toxischen Effekte an den männlichen Reproduktionsorganen erscheint gemäß den EG-Einstufungskriterien eine Einstufung als fertilitätsmindernd Kategorie 3 (R_F: 3) angemessen.

Reproduktionstoxizität/Entwicklungsschädigung:

BBP führt bei Ratte und Maus zu Störungen der fetalen Entwicklung und zu Missbildungen (u.a. der männlichen Reproduktionsorgane bei der Ratte). Diese Effekte treten auch bei Verabreichung mit dem Futter an die trächtigen Tiere bereits unterhalb der Limit-Dosis auf. Daher erfolgt gemäß den EG-Einstufungskriterien eine Einstufung in als entwicklungsschädigend Kategorie 2 (R_E: 2).

Literatur:

- [1] Norwegian Pollution Control Agency: Risk Assessment Report Benzylbutylphthalate. Part „Human Health“. Draft of December 2000
- [2] Blount, B.C. et al.: Levels of seven urinary phthalate metabolites in a human reference population. Environ. Health Perspect. 108, 979-982 (2000)
- [3] Piersma, A.H. et al.: Developmental toxicity of butyl benzyl phthalate in the rat using a multiple dose study design. Reproductive Toxicology 14, 417-425 (2000)

- [4] Gray, L.E. et al.: Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicol. Sci.* 58, 350-365 (2000)
- [5] Nagao, T., Ohta, R., Marumo, H., Shindo, T., Yoshimura, S., Ono, H.: Effect of butyl benzyl phthalate in Sprague-Dawley rats after gavage administration: a two-generation reproductive study. *Reprod. Toxicol.* 14, 513-532 (2000)
- [6] Tyl, R.W., Myers, C.B., Marr, M.C.: Two-generation reproductive toxicity evaluation of butyl benzyl phthalate administered in the feed to CD^R (Sprague-Dawley) rats. Unveröffentlichter Bericht im Auftrag von ECPI (Teil I von III), RTI Project No. 65C-07269-200, RTI Protocol No. RTI-761 (2001)
- [7] Ema, M., Miyawaki, E.: Effects on development of the reproductive system in male offspring of rats given butyl benzyl phthalate during late pregnancy. *Reproduct. Toxicol.* 16, 71-76 (2002)
- [8] Mylchreest, E., Sar, M., Wallace, D.G., Foster, P.M.D.: Fetal testosterone insufficiency and abnormal proliferation of Leydig cells and gonocytes in rats exposed to di(n-butyl) phthalate. *Reproduct. Toxicol.* 16, 19-28 (2002).

Stand: Oktober 2002