

2-Nitrotoluol

[88-72-2]

Nachtrag 2002

MAK-Wert	–
Spitzenbegrenzung	–
Hautresorption (1958)	H
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung (1993)	Kategorie 2
Fruchtschädigende Wirkung	–
Keimzellmutagene Wirkung (2002)	Kategorie 3 B

2-Nitrotoluol wurde aufgrund der in einer subchronischen Fütterungsstudie an F344-Ratten aufgetretenen Mesotheliome der Tunica vaginalis des Nebenhodens bei gleichzeitigem Vorliegen eines genotoxischen Potentials in die Kanzerogenitäts-Kategorie 2 eingestuft (siehe Begründung 1993). Inzwischen liegen Ergebnisse einer chronischen Kanzerogenesestudie an F344-Ratten und B6C3F1-Mäusen nach Verabreichung von 2-Nitrotoluol mit dem Futter vor (NTP 2002). Im nachfolgenden Text werden diese Studie sowie weitere Publikationen dargestellt und bewertet.

Allgemeiner Wirkungscharakter

2-Nitrotoluol wird oral, über die Lunge und in geringem Maße auch über die Haut resorbiert.

Der Stoffwechsel von 2-Nitrotoluol verläuft vor allem über eine Oxidation der Methylgruppe. Nach anschließender Glukuronidierung kommt es zum Übergang in die Gallenflüssigkeit. In der Darmflora erfolgt die Hydrolyse des Glukuronids, gefolgt von einer Nitroreduktion und anschließenden Rückresorption aus dem Darm als o-Aminobenzylalkohol. Dieser kann über die Konjugation mit Glutathion direkt entgiftet und mit dem Urin ausgeschieden werden. Alternativen hierzu sind die Sulfatierung der Alkoholgruppe sowie die intermediäre Bildung des 2-Hydroxymethylphenylhydroxylamins und dessen anschließende Sulfatierung. Die beiden letztgenannten Wege stellen eine Aktivierung zu reaktiven Metaboliten dar, die an zelluläre Makromoleküle binden (vgl. Begründung 1993). Diese metabolische Aktivierung ist bei Ratten geschlechtsspezifisch und bei männlichen Tieren wesentlich stärker ausgeprägt als bei weiblichen. 2-Nitrotoluol führt vornehmlich zu zentral-nervösen Effekten, zu Schädigungen des hämatopoetischen Systems und zur Methämoglobinbildung. 2-Nitrotoluol ist nicht haut- oder augenreizend. Nach wiederholter oraler Verabreichung kommt es zu Schädigungen von Leber, Milz, Nieren, Hoden, Nebenhoden, Prostata, Lunge (Ratte) und Nasenepithel (Maus).

2 2-Nitrotoluol

2-Nitrotoluol ist bei wiederholter Aufnahme fertilitätsschädigend. Bei männlichen Ratten zeigen sich Hodendegenerationen, verringerte Spermienbeweglichkeit und Spermienzahl und bei weiblichen Tieren Zyklusverlängerungen. Maternaltoxische Dosierungen verursachen Postimplantationsverluste und bei den überlebenden Jungtieren eine verzögerte körperliche Entwicklung.

2-Nitrotoluol ist in Bakterien nicht mutagen und in Eukaryontenzellen klastogen. 2-Nitrotoluol induziert in vitro und in vivo DNA-Reparatursynthese. Nach i.p. Gabe ist die Anzahl der Mikronuklei im Knochenmark von Ratten und Mäusen nicht erhöht. In peripheren Erythrozyten induziert 2-Nitrotoluol nach 13-wöchiger Verabreichung bei männlichen Mäusen eine signifikant erhöhte Anzahl an Mikronuklei.

Kurz- und Langzeitstudien bestätigen die kanzerogene Wirkung von 2-Nitrotoluol. In einer chronischen Fütterungsstudie an Ratten und Mäusen treten neben den bereits bekannten malignen Mesotheliomen auch erhöhte Häufigkeiten von subkutanen Hautneoplasien, Fibroadenomen der Brustdrüse und Tumoren der Leber und der Lunge (Ratte) sowie von Hämangiosarkomen in Mesenterium, Skelettmuskel und Subkutis, Dickdarm-Karzinomen (Caecum) (männliche Mäuse) und Adenomen und Karzinomen in der Leber (weibliche Mäuse) auf.

Toxikokinetik und Metabolismus

In einer Studie an F344-Ratten und B6C3F1-Mäusen, in der 2-Nitrotoluol zwei Jahre lang mit dem Futter verabreicht wurde, wurden im Urin der Tiere die drei 2-Nitrotoluol-Metaboliten 2-Nitrobenzoesäure, 2-Nitrobenzylmercaptursäure und 2-Aminobenzoessäure bestimmt und hinsichtlich ihrer Abhängigkeit von der Expositionskonzentration untersucht. Bei Ratten war das Verhältnis von 2-Nitrobenzoesäure–Kreatinin und 2-Nitrobenzylmercaptursäure–Kreatinin linear korreliert mit der jeweiligen Expositionskonzentration; das Verhältnis von 2-Aminobenzoessäure–Kreatinin wies keine derartige Korrelation auf. Bei Mäusen war das Verhältnis von 2-Nitrobenzoesäure–Kreatinin linear korreliert, die Konzentrationen von 2-Nitrobenzylmercaptursäure und 2-Aminobenzoessäure lagen jedoch meistens unterhalb der Bestimmungsgrenze (NTP 2002).

Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

Subakute, subchronische und chronische Toxizität

Im Rahmen einer vergleichenden Studie zur Immuntoxizität von 3-Nitrotoluol und 2-Nitrotoluol erhielten 40 weibliche B6C3F1-Mäuse über einen Zeitraum von 14 Tagen mit der Schlundsonde tägliche Gaben von 600 mg 2-Nitrotoluol/kg KG, gelöst in Maisöl. Als Kontrolltiere dienten 52 weibliche B6C3F1-Mäuse, die nur Maisöl erhielten. Bei den 2-Nitrotoluol-behandelten Tieren kam es zu einer Erhöhung des Milzgewichtes ($p < 0,05$). Makroskopische oder histologische Organveränderungen traten nicht auf. Die hämatologischen Untersuchungen zeigten, dass die Anzahl der Retikulozyten erhöht ($p < 0,05$) und die Zahl der polymorphkernigen Leukozyten erniedrigt war. Die chemische Untersuchung des Serums blieb ohne auffälligen Befund. Im Kno-

chenmark führte 2-Nitrotoluol zu einer verringerten DNA-Synthese und in der Milz war die Zahl der T-Zellen um 22% verringert. Die IgG- und die IgM-vermittelte Immunreaktion auf Schafserythrozyten blieb unbeeinflusst. 2-Nitrotoluol hatte keinen Einfluss auf die Stimulierung der Milzzellen durch Mitogene; die Aktivität der Phosphodiesterase der peritonealen Makrophagen wurde jedoch gehemmt. Verschiedene andere Immunotoxizitätstests verliefen mit 2-Nitrotoluol negativ. Die Phagozytose von Hühner-Erythrozyten durch Makrophagen des Peritoneums und die Aktivität der NK-Zellen (natürliche Killerzellen) wurde durch die 2-Nitrotoluol-Behandlung erhöht; die Resistenz der Tiere gegenüber Infektionen mit *Listeria monocytogenes* verringerte sich jedoch durch 2-Nitrotoluol. Insgesamt folgern die Autoren aus ihrer Studie, dass die 2-Nitrotoluol-Behandlung zu deutlichen Effekten auf die Milz führt (Burns et al. 1994).

In einer 28-Tage-Studie mit intragastraler Gabe von 2-Nitrotoluol in Dosierungen von 0; 3,6; 18; 90 bzw. 450 mg/kg KG wurden jeweils 6 Wistar-Ratten pro Geschlecht und Dosis eingesetzt. Je eine zusätzliche Kontrollgruppe sowie eine Gruppe mit 450 mg 2-Nitrotoluol/kg KG wurden nach der 28-tägigen Behandlungszeit noch für 2 Wochen nachbeobachtet. Ab 90 mg/kg KG waren Erythrozytenzahl, Hämoglobingehalt, Hämatokritwert und Gesamtserumprotein erniedrigt und in der Milz kam es zu Hämosiderinablagerung, Kongestion und extramedullärer Hämatopoese. Bei 450 mg/kg KG traten in der Leber Hepatozytenschwellungen und Gallengangsproliferationen auf. Die nach einer Applikation von 450 mg 2-Nitrotoluol/kg KG aufgetretenen Symptome waren nach einer 2-wöchigen Erholungszeit abgeschwächt oder nicht mehr feststellbar (Kaneko et al. 1993). Die Daten dieser Studie sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Ein NOAEL kann aus dieser Studie nicht abgeleitet werden, da Angaben zum Versuchsaufbau sowie zur Inzidenz und Ausprägung der Effekte fehlen.

Männliche und weibliche CD-Ratten (k. w. A.) erhielten täglich 0, 50, 150 oder 450 mg 2-Nitrotoluol/kg KG, ca. 10 Wochen lang, mit der Schlundsonde. Es zeigten sich ab 50 mg/kg KG Speichelfluss und erhöhte relative Lebergewichte, ab 150 mg/kg KG verringerte Körpergewichtsentwicklungen aufgrund einer verminderten Futteraufnahme sowie veränderte Nieren-, Milz-, Nebenhoden- und Prostatagewichte sowie histopathologische Veränderungen an Hoden, Nebenhoden und Prostata. Bei 450 mg/kg KG starben 3 von 12 weiblichen Tieren. Die Befunde sind in Tabelle 2 dargestellt (vgl. auch Reproduktionstoxizität) (OECD 1994).

Tab. 1. Ergebnisse einer 28-Tage-Studie an Wistar-Ratten nach oraler Applikation (Kaneko et al. 1993)

Dosis [mg/kg KG]	Effekte
50*	Erythrozytenzahl, Hämoglobingehalt, Hämatokritwert und Gesamtserumprotein erniedrigt; Milz: Hämosiderinablagerung, Kongestion und extramedullärer Hämatopoese
450*	Leber: Hepatozytenschwellungen und Gallengangsproliferationen
450* und 2-wöchige Erholungszeit	Symptome abgeschwächt oder verschwunden

* keine Angaben bei welchem Geschlecht diese Effekte beobachtet wurden

4 2-Nitrotoluol

Tab. 2. Ergebnisse einer 10-Wochen-Studie an CD-Ratten nach oraler Applikation (OECD 1994)

Dosis [mg/kg KG]	Effekte
50	Speichelfluss dosisabhängig erhöht (♂, ♀); relatives Lebergewicht erhöht (♀)
150	verminderte Futteraufnahme (♂; bei ♀ vom 1.–13. Tag pp); verringerte KG-Zunahme (♂); relatives Lebergewicht erhöht (♂); relatives Nieren- und Milzgewicht erhöht (♂, ♀); erniedrigte Nebenhoden- und Prostatagewichte; histopathologische Veränderungen an Hoden, Nebenhoden, Samenblasen und Prostata
450	Mortalität 3/12 ♀; braungefärbtes und feuchtes Fell (♂, ♀); verringerte KG-Zunahme während der Trächtigkeit; verringertes Hodengewicht; marginal erhöhtes Herz- und Lungengewicht (♂, ♀); vermindertes Thymusgewicht u. erhöhtes Hypophysengewicht (♀)

Zwei Jahre lang erhielten je 60 F344-Ratten Futter mit einem Gehalt von 0, 625, 1250 oder 2000 mg 2-Nitrotoluol/kg, entsprechend einer mittleren täglichen 2-Nitrotoluol-Aufnahme von ca. 25, 50 oder 90 mg/kg KG für die männlichen und ca. 30, 60 oder 100 mg/kg KG für die weiblichen Ratten. In einem gleichzeitig durchgeführten Stop-Exposure-Experiment bekamen zusätzlich je 70 männliche F344-Ratten pro Dosisgruppe über einen Zeitraum von 14 Wochen 2000 oder 5000 mg 2-Nitrotoluol/kg Futter, entsprechend einer mittleren täglichen 2-Nitrotoluol-Aufnahme von ca. 125 oder 315 mg/kg KG, und diese Tiere wurden anschließend bis zum Ende der Hauptstudie gehalten. Als Kontrolle dienten 70 männliche (für Hauptstudie und Stop-Exposure-Studie) und 60 weibliche Tiere. Jeweils 10 männliche Tiere der Kontroll- und der beiden Stop-Exposure-Dosisgruppen wurden nach 14 Wochen getötet und einer Zwischensektion unterzogen.

2-Nitrotoluol beeinflusste die Futteraufnahme nicht. Bei den männlichen Tieren kam es dosisabhängig ab 625 mg 2-Nitrotoluol/kg Futter zu zellulären Infiltrationen in die Leber. Das mittlere Körpergewicht aller männlichen exponierten Tiere war ab 1250 mg/kg Futter und das der weiblichen Tieren bei 2000 mg/kg erniedrigt. In der Stop-Exposure-Untersuchung an männlichen Ratten war bei 5000 mg/kg Futter das Lebergewicht signifikant nach 14 Wochen erhöht. Die Mortalität war bei den 2-Nitrotoluol-behandelten Tieren dosisabhängig erhöht, besonders bei den männlichen Ratten. In den höchsten Dosisgruppen der Haupt- und der Stop-Exposure-Studie starben alle männlichen Tiere (NTP 2002; vgl. auch Abschn. Kanzerogenität).

In einer 2-Jahres-Studie erhielten B6C3F1-Mäuse, je 60 pro Geschlecht und Dosisgruppe, über einen Zeitraum von 105 Wochen Futter mit einem Gehalt von 0, 1250, 2500 oder 5000 mg 2-Nitrotoluol/kg, entsprechend einer mittleren täglichen 2-Nitrotoluol-Aufnahme von ca. 165, 360 oder 700 mg/kg KG für die männlichen und ca. 150, 320 oder 710 mg/kg KG für die weiblichen Mäuse. Ab 1250 mg/kg Futter traten bei männlichen Mäusen Nekrosen der Leber auf; Pigmentierungen der Nierentubuli und Degenerationen des olfaktorischen Nasenepithels zeigten sich bei allen behandelten Mäusen. Ab 2500 mg/kg Futter war das mittlere Körpergewicht bei allen behandelten Tieren erniedrigt. In der 5000-mg/kg-Futter-Gruppe war die Futteraufnahme nur bei den männlichen Tieren verringert. Bei den weiblichen Tieren wurden neben den Leber-

nekrosen auch Vakuolisierungen der Hepatozyten nachgewiesen. Die Mortalität war bei den behandelten Tieren, besonders bei den männlichen Tieren, stark erhöht. Ab der mittleren Dosisgruppe starben alle männlichen Tiere (NTP 2002; vgl. auch Abschn. Kanzerogenität).

Reproduktionstoxizität

Fertilität

In einer orientierenden 1-Generationen-Studie erhielten männliche und weibliche CD-Ratten täglich ca. 10 Wochen lang (2 Wochen vor der Paarung, 2 Wochen Paarungszeit, 20 Tage Trächtigkeit, 21 Tage post partum) mit der Schlundsonde 0, 50, 150 oder 450 mg 2-Nitrotoluol/kg KG. Applikationen von ≥ 150 mg 2-Nitrotoluol/kg KG schädigten Hoden, Nebenhoden, Samenblasen und Prostata bei gleichzeitiger systemischer Toxizität (vgl. Tabelle 2). In der 450-mg/kg-Gruppe waren bei den 3 am 1.–2. Tag post partum verendeten Muttertieren tote Implantate im Uterus nachweisbar (OECD 1994).

Entwicklungstoxizität

In der gleichen Studie kam es dosisabhängig ab 50 mg/kg KG zu einer verzögerten Körpergewichtsentwicklung bei den Jungtieren ab dem 4. oder 8. Tag post partum. Als Anzeichen einer gleichzeitigen maternalen Toxizität wurden vermehrter Speichelfluss und ein erhöhtes relatives Lebergewicht gewertet (OECD 1994).

Genotoxizität

In vitro

2-Nitrotoluol war im Salmonella-Mutagenitätstest mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems nicht mutagen. Nur in Gegenwart von Norharman und S9-Mix wurde eine erhöhte Mutationshäufigkeit in *S. typhimurium* TA98, nicht aber in TA100, beobachtet. In CHO-Zellen steigerte 2-Nitrotoluol die Häufigkeit von Schwesterchromatidaustauschen. In CHO- und CHL-Zellen wurde keine Erhöhung der Chromosomen-Aberrationshäufigkeit gefunden. In Hepatozyten und Spermatozyten verursachte 2-Nitrotoluol im UDS-Test keine Erhöhung der DNA-Reparatursynthese (siehe Begründung 1993). In einer neueren Untersuchung wurde jedoch in primären Rattenhepatozyten ab 10 µg 2-Nitrotoluol/ml eine signifikant erhöhte DNA-Reparatursynthese nachgewiesen (Parton et al. 1995). Auch in Humanlymphozyten war die Chromosomen-Aberrationshäufigkeit ab 0,685 µg/ml dosisabhängig und signifikant erhöht (Huang et al. 1995).

6 2-Nitrotoluol

Tab. 3. Ergebnisse der Mikronukleus-Tests (NTP 2002)

Spezies	Zellen	Applikation	Zeitpunkt der Zellentnahme	Ergebnis
Ratte ♂	KM	i.p. 1×625 – 2500 mg/kg KG	24 + 48 h	–
Maus ♂	KM	i.p. 3×100 – 400 mg/kg KG	24 h	–
Maus ♂	PBE	oral, 13 w 625–10 000 mg/kg Futter (ca. 75–1420 mg/kg KG)	13 w	+*
Maus ♀	PBE	oral, 13 w 625–10 000 mg/kg Futter (ca. 75–1420 mg/kg KG)	13 w	–

KM = Knochenmark, PBE = normochromatische Erythrozyten des peripheren Blutes, * p 0,025

In vivo

Somazellen

Orale Gabe von 2-Nitrotoluol verursachte in Hepatozyten von männlichen, nicht jedoch von weiblichen Ratten, eine signifikant erhöhte DNA-Reparatursynthese. In der Leber wurde die kovalente Bindung reaktiver Metaboliten, wie sulfatierte 2-Aminobenzyl-Derivate, an DNA und Proteine auch bei männlichen Ratten nachgewiesen. Die Unterschiede der genotoxischen Wirkung bei männlichen und weiblichen Ratten wurde mit einem unterschiedlichen geschlechtsspezifischen Metabolismus erklärt (siehe Begründung 1993).

Bei männlichen Ratten und Mäusen wurden durch einmalige i.p. Applikation von 2-Nitrotoluol in polychromatischen Erythrozyten des Knochenmarks keine Mikronuklei induziert. Nach 13-wöchiger Verabreichung von 2-Nitrotoluol mit dem Futter war in normochromatischen Erythrozyten des peripheren Blutes nur in der höchsten Dosisgruppe (ca. 1420 mg/kg KG) und nur bei männlichen Mäusen die Anzahl der Mikronuklei signifikant erhöht (siehe Tabelle 3) (NTP 2002). An diesem Mikronukleus-Test nach 13-wöchiger 2-Nitrotoluol-Behandlung ist jedoch ungewöhnlich, dass normochromatische statt polychromatische Erythrozyten des peripheren Blutes ausgewertet wurden.

Keimzellen

Ein nicht validierter Dominant-Letal-Test mit der Moskito-Art *Culex fatigans*, in dem behandelte männliche mit unbehandelten weiblichen Moskitos gepaart wurden, war negativ (siehe Begründung 1993).

Kanzerogenität

Kurzzeitstudien

Je 10 männliche F344-Ratten erhielten 0 oder 5000 mg 2-Nitrotoluol/kg Futter (entsprechend ca. 375 mg 2-Nitrotoluol/kg KG und Tag) über einen Zeitraum von 13 bzw. 26 Wochen. Eine weitere Gruppe von 10 männlichen Tieren bekam für 13 Wochen 5000 mg 2-Nitrotoluol/kg Futter, gefolgt von einer 13-wöchigen Fütterung ohne 2-Nitrotoluol (Stop-Exposition). Nach 13 bzw. 26 Wochen wurden die Tiere getötet und die Lebern immunhistochemisch gefärbt zum Nachweis von plazentaler Glutathion-S-Transferase (PGST) als Marker für Leberpräneoplasien. Die 2-Nitrotoluol-Behandlung führte in allen Gruppen zu PGST-positiven Leberfoci. Nach 26-wöchiger kontinuierlicher 2-Nitrotoluol-Gabe waren mehr und größere PGST-Leberfoci vorhanden als nach 13-wöchiger Gabe. Im Stop-Expositions-Experiment waren nach 26 Wochen zwar weniger PGST-positive Leberfoci vorhanden als nach 13- oder 26-wöchiger kontinuierlicher 2-Nitrotoluol-Gabe, aber die noch vorhandenen Foci waren größer als nach 13- oder 26-wöchiger kontinuierlicher 2-Nitrotoluol-Gabe im Futter. Die Tatsache, dass einige Leberfoci persistierten und trotz Absetzens der 2-Nitrotoluol-Behandlung sogar an Größe zunahmen, wurde von den Autoren als Indiz für eine leberkanzerogene Wirkung von 2-Nitrotoluol bei der Ratte gewertet (Ton et al. 1995).

Langzeitstudien

Die Verabreichung von 2-Nitrotoluol im Futter, 105 Wochen lang, verursachte bei männlichen F344-Ratten erhöhte Inzidenzen von malignen Mesotheliomen, subkutanen Hautneoplasien, Fibroadenomen der Brustdrüse sowie Lebertumoren. Bei weiblichen Ratten waren ebenfalls die Inzidenzen der subkutanen Neoplasien und der Fibroadenome der Brustdrüse erhöht (NTP 2002). Die Ergebnisse dieser Studie sind in Tabelle 4 dargestellt.

In einer zusätzlichen Untersuchung wurden je 70 männliche Ratten nach einer 14-wöchigen Applikation von 2000 oder 5000 mg 2-Nitrotoluol/kg Futter (ca. 360 oder 700 mg/kg KG) bis zum Ende der Hauptstudie nachbeobachtet (NTP 2002). Die daraus resultierenden Befunde, die in Tabelle 5 zusammengefasst sind, zeigen, dass bereits eine 14-wöchige Applikation eine ähnlich kanzerogene Wirkung hervorruft, wie eine 105-wöchige. Nur bei den Tieren dieser Stop-Exposure-Untersuchung wurde eine signifikant erhöhte Inzidenz der bronchio-alveolären Adenome oder Karzinome beobachtet.

Bei männlichen und weiblichen B6C3F1-Mäusen führte die 105-wöchige Applikation von 2-Nitrotoluol im Futter zu erhöhten Inzidenzen von Hämangiosarkomen sowie von Caecumkarzinomen und nur bei weiblichen Mäusen auch von Lebertumoren (NTP 2002). Die Ergebnisse dieser Untersuchung finden sich in Tabelle 6.

In einer vergleichenden Untersuchung der Hämangiosarkome aus 2-Nitrotoluol-behandelten und aus Kontrolltieren wurde festgestellt, dass es nur nach einer 2-Nitrotoluol-Behandlung zu einer Akkumulation von p53-Protein und β -Catenin im Tumorgewebe kommt, bei gleichzeitigem Auftreten von spezifischen DNA-Mutationen in den entsprechenden Genen (NTP 2002).

8 2-Nitrotoluol

Tab. 4. Ergebnisse der NTP-Studie zur kanzerogenen Wirkung an Ratten (NTP 2002)

Substanz	2-Nitrotoluol (Reinheit > 99%)					
Spezies:	F344/N-Ratten					
Tierzahl	je 60 ♂, ♀					
Applikation:	mit dem Futter					
Dosis:	0; 625; 1250 bzw. 2000 mg/kg Futter ♂ ca. 25; 50; 90 mg/kg KG ♀ ca. 30; 60; 100 mg/kg KG					
Dauer:	105 Wochen					
Toxizität:	ab 625 ppm: (♂) Mortalität ↑, (♂, ♀) zelluläre Infiltration der Leber ↑ ab 1250 ppm: (♀) Mortalität ↑, (♂) Körpergewichtszunahme ↓ 2000 ppm: (♀) Körpergewichtszunahme ↓, Tod aller ♂					
Hauptstudie	2-Nitrotoluol [mg/kg Futter]					
		0	625	1250	2000	
überlebende Tiere	♂	39/60 (60%)	18/60 (30%)*	3/60 (5%)*	0/60 (0%)*	
	♀	47/60 (78%)	47/60 (78%)	39/60 (65%)	33/60 (55%)	
Leber						
Foci	♂	7/60 (12%)	18/60 (30%)*	29/60 (48%)*	24/60 (40%)*	
eosinophile	♀	5/60 (8%)	12/60 (20%)*	25/60 (42%)*	32/60 (53%)*	
basophile	♀	51/60 (85%)	56/60 (93%)*	60/60 (100%)*	54/60 (90%)	
klarzellige	♂	29/60 (48%)	29/60 (48%)	34/60 (57%)	31/60 (52%)	
	♀	16/60 (27%)	30/60 (50%)*	28/60 (47%)*	33/60 (55%)*	
gemischtzellige	♂	5/60 (8%)	7/60 (12%)	12/60 (20%)*	6/60 (10%)	
	♀	6/60 (10%)	9/60 (15%)	11/60 (18%)	28/60 (47%)*	
hepatozell. Adenome	♂	2/60 (3%)	3/60 (5%)	3/60 (5%)	7/60 (12%) ^{oo}	
hepatozell. Adenome oder Karzinome	♂	3/60 (3%)	3/60 (5%)	3/60 (5%)	8/60 (13%) ^{ooo}	
Cholangiokarzinome	♂	0/60 (0%)	0/60 (0%)	0/60 (0%)	3/60 (5%)	
Lunge						
Hyperplasien des alveolären Epithels	♂	2/60 (3%)	8/60 (13%)*	3/60 (5%)	7/60 (12%)*	
	♀	6/60 (10%)	14/60 (23%)*	16/60 (27%)*	9/60 (15%)	
bronchio-alveoläre Adenome	♂	1/60 (2%)	5/60 (8%)	1/60 (5%)	2/60 (3%)	
bronchio-alveoläre Adenome oder Karzinome	♂	2/60 (3%)	5/60 (8%)	1/60 (5%)	2/60 (3%)	
Brustdrüse						
Hyperplasien	♀	14/60 (23%)	36/60 (60%)*	30/60 (50%)*	19/60 (32%)	
Fibroadenome	♂	0/60 (0%)	7/60 (12%) ^o	10/60 (17%)*	2/60 (3%)	
	♀	23/60 (38%)	47/60 (78%)*	52/60 (87%)*	56/60 (93%)*	

Tab. 4. (Fortsetzung)

Haut						
Lipome	♂	0/60 (0%)	4/60 (7%)***	13/60 (22%)***	13/60 (22%)***	
Fibrome	♂	5/60 (8%)	46/60 (77%)**	52/60 (87%)**	59/60 (98%)**	
	♀	3/60 (5%)	3/60 (5%)	18/60 (39%)**	19/60 (32%)**	
Fibrosarkome	♂	0/60 (0%)	7/60 (12%)*	17/60 (28%)**	20/60 (33%)**	
	♀	0/60 (0%)	0/60 (0%)	3/60 (5%)***	3/60 (5%)***	
Fibrome oder Fibrosarkome	♂	5/60 (8%)	47/60 (78%)***	55/60 (92%)***	59/60 (98%)***	
	♀	3/60 (5%)	3/60 (5%)	21/60 (35%)***	22/60 (37%)***	
Knochenmark						
Hyperplasien	♂	2/60 (3%)	25/60 (42%)**	43/60 (72%)**	45/60 (75%)**	
	♀	2/60 (3%)	7/60 (12%)	15/60 (25%)**	24/60 (40%)**	
Milz						
hämatopoetische Zellproliferation	♂	7/60 (12%)	33/60 (55%)**	38/60 (63%)**	47/60 (75%)**	
	♀	22/60 (37%)	38/59 (64%)**	48/60 (80%)**	48/59 (80%)**	
Mesothel						
Mesotheliome	♂	2/60 (3%)	20/60 (33%)***	29/60 (48%)***	40/60 (66%)***	
Unterkiefer-Lymphknoten						
lymphoide Hyperplasien	♀	3/60 (5%)	5/60 (8%)	6/60 (10%)	15/60 (25%)**	

*) p = 0,05, **) p = 0,01, ***) p < 0,001, °) p = 0,004, °°) p = 0,006, °°°) p = 0,007

Bewertung

2-Nitrotoluol hat sich auch in neueren Studien als genotoxisch und als kanzerogen bei Ratte und Maus erwiesen. Damit bestätigt sich die im Jahre 1993 getroffene Entscheidung, 2-Nitrotoluol als krebserzeugend im Tierversuch in die Kanzerogenitäts-Kategorie 2 der MAK- und BAT-Werte-Liste einzustufen. Ein NOEL für die genotoxische und kanzerogene Wirkung von 2-Nitrotoluol kann aus den vorliegenden Daten nicht abgeleitet werden. Daher bleibt 2-Nitrotoluol in der Kanzerogenitäts-Kategorie 2. 2-Nitrotoluol verursacht bei Ratten bereits in niedrigen Dosierungen Schädigungen der Reproduktionsorgane sowie Störungen der postnatalen Entwicklung. Eine Zuordnung in eine der Schwangerschaftsgruppen entfällt, da kein MAK-Wert ableitbar ist.

Valide Untersuchungen zur keimzellmutagenen Wirkung von 2-Nitrotoluol liegen nicht vor. Aufgrund der genotoxischen Wirkung in Spermazellen, der Bildung des genotoxischen und systemisch wirksamen 2-Hydroxymethylphenylhydroxylamins und der Schädigungen der Hoden und Nebenhoden erfolgt eine Einstufung von 2-Nitrotoluol in die Kategorie 3 B für Keimzellmutagene.

Wegen fehlender Daten wird 2-Nitrotoluol nicht mit „S“ markiert.

Zur Bewertung der Hautresorption von 2-Nitrotoluol liegen nur wenige Daten vor. Das besser untersuchte strukturanaloge Nitrobenzol ist mit „H“ markiert. Da der Dampf-

10 2-Nitrotoluol

Tab. 5. Ergebnisse der Stop-Exposure-Untersuchung an männlichen Ratten (NTP 2002)

Substanz	2-Nitrotoluol (Reinheit > 99%)		
Spezies:	F344/N-Ratten		
Tierzahl	je 70 ♂		
Applikation:	mit dem Futter		
Dosis:	2000 oder 5000 mg/kg Futter ca. 125 oder 315 mg/kg KG		
Dauer:	Stop-Exposure: 14 Wochen Applikation, 91 Wochen Nachbeobachtungszeit		
Toxizität:	bei 5000 mg/kg Futter: (♂) Lebergewicht signifikant ↑ bei Zwischensekretion nach 14 Wochen		
	2-Nitrotoluol [mg/kg Futter]		
	0	2000	5000
überlebende Tiere	39/60 (60%)	11/60 (18%)*	0/60 (%)***
Leber			
Foci			
eosinophile	7/60 (12%)	15/60 (25%)*	13/60 (22%)*
gemischtzellige	5/60 (8%)	12/60 (20%)*	8/60 (13%)*
hepatozell. Adenome	2/60 (3%)	3/60 (5%)	4/60 (7%)*
hepatozell. Adenome oder Karzinome	3/60 (5%)	3/60 (5%)*	6/60 (13%) ^{oooo}
Lunge			
Hyperplasien des alveolären Epithels	2/60 (3%)	15/60 (25%)*	29/60 (48%)*
bronchio-alveoläre Adenome	1/60 (2%)	2/60 (3%)	8/60 (13%)*
bronchio-alveoläre Adenome oder Karzinome	1/60 (2%)	2/60 (3%)	8/60 (13%)*
Haut			
Lipome	0/60 (0%)	10/60 (17%)*	23/60 (20%)*
Fibrome	5/60 (8%)	45/60 (75%)*	52/60 (87%)*
Fibrosarkome	0/60 (0%)	8/60 (13%)*	12/60 (20%)*
Fibrome oder Fibrosarkome	5/60 (8%)	45/60 (78%)*	53/60 (88%)*
Brustdrüse			
Fibroadenome	0/60 (0%)	13/60 (22%)*	20/60 (33%)*
Mesothel			
Mesotheliome	2/60 (3%)	44/60 (73%)*	54/60 (90%)*
Knochenmark			
Hyperplasien	2/60 (3%)	15/60 (25%)*	44/60 (40%)*
Milz			
hämatopoetische Zellproliferation	7/60 (12%)	48/60 (80%)*	48/60 (80%)*

*) p 0,05, **) p 0,01, ***) p < 0,001, ^{oooo}) p = 0,029

Tab. 6. Ergebnisse der NTP-Studie zur kanzerogenen Wirkung an Mäusen (NTP 2002)

Substanz	2-Nitrotoluol (Reinheit > 99%)				
Spezies:	B6C3F1-Maus				
Tierzahl	je 60 ♂ und ♀ pro Gruppe				
Applikation:	mit dem Futter				
Dosis:	0; 1250, 2500 oder 5000 mg/kg Futter ♂ ca. 165, 360 oder 700 mg/kg KG ♀ ca. 150, 320 oder 710 mg/kg KG				
Dauer:	105 Wochen				
Toxizität:	ab 1250 mg/kg Futter (♂) Körpergewichtszunahme ↓, (♂) dosisabh. Nekrosen in Leber ↑, (♂, ♀) Pigmentierung der Nierentubuli ↑, (♂, ♀) Degeneration des olfaktorischen Epithels der Nase ↑ ab 2500 mg/kg Futter: (♀) Körpergewichtszunahme ↓ bei 5000 mg/kg Futter: (♀) Nekrosen der Leber ↑ u. Vakuolisierung der Hepatozyten ↑				
Hauptstudie	2-Nitrotoluol [mg/kg Futter]				
		0	1250	2500	5000
überlebende Tiere	♂	52/60 (87%)	34/60 (57%)*	0/60 (0%)*	0/60 (0%)*
	♀	52/60 (87%)	46/60 (77%)	47/60 (78%)	5/60 (8%)*
Leber					
Foci eosinophile	♂	3/60 (5%)	14/59 (24%)*	1/57 (2%)	1/60 (2%)
	♀	2/60 (3%)	3/59 (5%)	6/59 (10%)	28/60 (53%)*
basophile	♂	0/60 (0%)	6/59 (10%)*	4/57 (7%)*	0/60 (0%)
	♀	1/60 (2%)	6/59 (10%)*	2/59 (3%)	6/60 (10%)*
hepatozell. Adenome	♀	7/60 (12%)	5/59 (8%)	19/59 (32%)*	29/60 (48%)*
hepatozell. Karzinome	♀	2/60 (3%)	4/59 (7%)	6/59 (10%)	16/60 (26%)*
hepatozell. Adenome oder Karzinome	♂	9/60 (15%)	9/59 (15%)	24/59 (41%)*	39/60 (65%)*
Dickdarm					
Caecum-Karzinome	♂	0/60 (0%)	12/60 (20%)*	9/60 (15%)*	0/60 (0%)
	♀	0/60 (0%)	1/60 (2%)	4/60 (7%)	6/60 (10%)
Hämangiosarkome (in Mesenterium, Skelettmuskel und subkutaner Haut)	♂	4/60 (7%)	17/60 (28%)*	55/60 (92%)*	60/60 (100%)*
	♀	0/60 (0%)	2/60 (3%)	3/60 (5%)	50/60 (83%)*

*) p 0,05, **) p 0,01, ***) p < 0,001

druck bei 20°C, die Wasserlöslichkeit bei 20°C und der log P_{ow} bei beiden Stoffen sehr ähnlich sind (Nitrobenzol: 0,26 hPa; 2 g/l; 1,86; 2-Nitrotoluol: 0,16–0,26 hPa; 0,437 g/l; 2,3; [ECB 2000]), ist für 2-Nitrotoluol eine ähnlich gute Hautpenetration zu erwarten. 2-Nitrotoluol bleibt daher ebenfalls mit „H“ markiert.

Literatur

- Burns LA, White Jr. KL, McCay JA, Fuchs BA, Stern M, Brown RD, Musgrove DL, Holsapple MP, Luster MI, Bradley SG, Munson AE (1994) Immunotoxicity of mononitrotoluenes in female B6C3F1 mice: II. Meta-nitrotoluene. *Drug Chem Toxicol* 17: 359–399
- ECB (European Chemicals Bureau) (2000) IUCLID Datasheet, 2-Nitrotoluene, ECB, Ispra, Italien, 18.02.2000
- Huang Q, Wang L, Han S (1995) The genotoxicity of substituted nitrobenzenes and the quantitative structure-activity relationship studies. *Chemosphere* 30: 915–923
- Kaneko T, Shimo T, Yasuhara K, Hirose A, Ogawa Y, Suzuki S, Nakaji Y, Kurokawa Y (1993) Twenty-eight-day repeated dose toxicity test of o-nitrotoluene in Wistar rats. *J Toxicol* 18: 422 (Abstract P-230)
- NTP (National Toxicology Program) (2002) Toxicology and carcinogenesis studies of o-nitrotoluene (CAS NO. 88-72-2) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed studies). NTP Technical Report 504, NIH Publication No. 01-4438, Research Triangle Park, NC, USA
- Parton JW, Yount DJ, Garriott ML (1995) Improved sensitivity of the unscheduled DNA synthesis assay in primary rat hepatocytes following culture in serum-free defined media. *Environ Mol Mutagen* 26: 147–154
- OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) (1994) Ortho-Nitrotoluene (ONT). Unveröffentlichter Bericht BFS 59/931307, Huntingdon Research Centre, UK; in SIDS-Dossier on the OECD HPV chemical 2-Nitrotoluene (2NT), CAS No 88-72-2, 30.09.1994, OECD, Paris
- Ton TT, Elwell MR, Morris RW, Maronpot RR (1995) Development and persistence of placental glutathione-S-transferase-positive foci in livers of male F344 rats exposed to o-nitrotoluene. *Cancer Lett* 95: 167–173

abgeschlossen am 28.02.2002