

4-Nitroanilin

MAK-Begründung, Nachtrag

A. Hartwig^{1,*}

MAK Commission^{2,*}

¹ *Vorsitzende der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe, Deutschland*

² *Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn, Deutschland*

* E-Mail: A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Keywords

Methämoglobin,
Hämangiosarkome, Fertilität,
Entwicklungstoxizität,
Genotoxizität, Kanzerogenität,
Toxizität, Gefahrstoff,
sensibilisierende Wirkung,
Hautresorption,
keimzellmutagene Wirkung

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated 4-nitroaniline [100-01-6] considering all toxicological end points. Available publications are described in detail. The critical effect of 4-nitroaniline is methaemoglobin formation in humans and animals. 4-Nitroaniline induces mutations in bacteria and is clastogenic to mammalian cells, although not in vivo. Long-term animal studies did not demonstrate that the germ cells are reached. Compared with other aromatic amino and nitro compounds, 4-nitroaniline has a much lower genotoxic potential in vitro and in vivo. Therefore, an assignment to a Germ Cell Mutagenicity Category is not necessary. The substance is not carcinogenic in Sprague Dawley rats up to doses of 9.9 mg/kg body weight and day, which are toxic to the spleen. In male B6C3F1 mice, however, incidences of haemangiosarcomas in the liver and of haemangiomas or haemangiosarcomas (combined) at all sites were increased. Thus, a carcinogenic potential of 4-nitroaniline is likely. This is also supported by its structural similarity with other carcinogenic aromatic amino and nitro compounds as well as its genotoxicity in vitro. 4-Nitroaniline is therefore assigned to Carcinogen Category 3 B. As the substance is genotoxic in vitro, a maximum concentration at the work place (MAK value) cannot be derived. Prenatal toxicity studies found lower foetal body weights in rats at 85 mg/kg body weight and day, but no developmental toxicity in rabbits up to the highest dose tested of 125 mg/kg body weight and day. Clinical data in humans did not describe a discrete contact sensitizing effect for 4-nitroaniline. Also, animal studies performed with low concentrations did not provide explicit evidence of a contact sensitizing potential. In spite of the suspected contact sensitizing effect, the substance is not designated with an "Sh" notation. For lack of data, the "Sa" designation is not applied. Dermal absorption is higher than the systemically tolerable amount calculated after oral administration in rats. Hence, the "H" designation is retained.

Citation Note:

Hartwig A, MAK Commission.
4-Nitroanilin. MAK-Begründung,
Nachtrag. MAK Collect
Occup Health Saf.
2020 Mai;5(1):Doc005.
DOI: [10.34865/mb10001d5_1](https://doi.org/10.34865/mb10001d5_1)

Manuskript abgeschlossen:
28 Apr 2019

Publikationsdatum:
11 Mai 2020

License: This article is distributed
under the terms of the Creative
Commons 4.0 International
License. See license information
at <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



MAK-Wert	–
Spitzenbegrenzung	–
Hautresorption (1958)	H
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung (2019)	Kategorie 3 B
Fruchtschädigende Wirkung	–
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert	–

4-Nitroanilin wurde 1999 in die damalige Verdachtskategorie 3 für krebserzeugende Arbeitsstoffe eingestuft (Greim 1999). Im Jahre 2000 wurde der Stoff als Kandidat für die Kategorie 5 angesehen. Da jedoch quantitative und vergleichende Daten zur Risikoabschätzung fehlten, konnte kein MAK-Wert abgeleitet werden, und die Substanz wurde in Kategorie 3A eingestuft (Greim 2000).

Mit diesem Nachtrag erfolgt eine Reevaluierung der Einstufung der kanzerogenen Wirkung von 4-Nitroanilin. Da die Keimzellmutagenität bisher nicht bewertet ist, wird dies im vorliegenden Nachtrag vorgenommen. Zudem erfolgt die Aktualisierung der Bewertung der sensibilisierenden Wirkung.

Allgemeiner Wirkungscharakter

4-Nitroanilin ist ein starker Methämoglobin-Bildner bei Menschen. Die Methämoglobin-Bildung ist auch bei Ratten und Mäusen zu beobachten.

Bei männlichen B6C3F1-Mäusen führt 4-Nitroanilin nach Schlundsondengabe bei 100 mg/kg KG und Tag zu Hämangiosarkomen. Dabei sind die Inzidenzen aller Hämangiosarkome statistisch nicht signifikant erhöht im Vergleich zu den mitlaufenden Kontrollen, jedoch deutlich im Vergleich zu historischen Kontrollen. Bei Sprague-Dawley-Ratten wirkt 4-Nitroanilin trotz dosisabhängiger Milzeffekte nicht kanzerogen.

Wie für Nitroaromaten typisch ergeben sich mit 4-Nitroanilin bei der Genotoxizität in bakteriellen Mutagenitätstests heterogene Ergebnisse. Nach Zusatz von Flavinmononukleotid, das zur Nitroreduktion zugeführt worden ist, lässt sich ein mutagenes Potenzial mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems erkennen. Bei CD1-Mäusen zeigt die Substanz nach intraperitonealer Gabe keine Klastogenität.

In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie mit Schlundsondengabe an Sprague-Dawley-Ratten werden ab 85 mg/kg KG und Tag erniedrigte Fetengewichte beobachtet. Bei massiver Maternaltoxizität treten bei 250 mg/kg KG und Tag eine erhöhte Anzahl der Resorptionen pro Muttertier sowie nicht näher beschriebene Fehlbildungen des Schwanzes, des Urogenitalsystems und der Rippen auf. Bei Neuseeländer-Kaninchen kommt es in einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie mit Schlundsondengabe auch bei maternaltoxischen Dosen von bis zu 125 mg/kg KG und Tag nicht zu teratogenen Effekten.

Über eine durch 4-Nitroanilin beim Menschen induzierte Kontaktallergie wurde bisher nicht berichtet, obwohl die Substanz bei Personen mit bestehender Sensibilisierung gegen p-Phenylendiamin im Epikutantest zu positiven Reaktionen führen kann. Die fraglich validen Ergebnisse aus experimentellen Untersuchungen am Tier und das Ergebnis einer In-vitro-Untersuchung deuten nicht auf ein ausgeprägtes kontaktsensibilisierendes Potenzial hin.

Wirkungsmechanismus

Auf der Basis einer Analyse von Chemikalien, die in NTP-Studien bei männlichen B6C3F1-Mäusen vermehrt zu Hämangiosarkomen führten, wird ein Zusammenhang zwischen der Kupfer-Zell-Pigmentierung und der Entstehung von Hämangiosarkomen in der Leber festgestellt. Die Hämosiderose, die auf den hämolytischen Effekt der Chemikalien zurückgeht, wird auch bei den weiblichen Mäusen ohne erhöhte Tumor-Inzidenzen beobachtet. Der Grund für die geschlechtsspezifische Empfindlichkeit für Chemikalien-induzierte Hämangiosarkome ist jedoch nicht bekannt. Die erhöhte Empfindlichkeit könnte auf eine Hormon-bezogene, reduzierte antioxidative Abwehrkapazität durch die Modulation der Aktivität antioxidativer Enzyme zurückzuführen sein (Nyska et al. 2004). Denkbar ist auch, dass die Hämangiosarkome indirekt über die Methämoglobinbildung entstehen könnten.

Toxikokinetik und Metabolismus

4-Nitroanilin wird inhalativ, oral und dermal gut aufgenommen. Zur inhalativen Aufnahme liegen keine Untersuchungen zur Toxikokinetik vor. Aus der vierwöchigen Inhalationsstudie an Ratten leitet sich jedoch ebenfalls eine gute inhalative Aufnahme ab (Greim 1999). Bei Ratten liegt die Aufnahme nach einmaliger oraler Gabe bei 75 bis 81 % und bei Affen nach dermalen Gabe bei 100 % (BUA 1987; Greim 1999).

Vierundzwanzig Stunden nach der Applikation von 4 µg 4-Nitroanilin/cm² in Aceton auf isolierte menschliche Haut *in vitro* bzw. auf die rasierte Abdominalhaut von Affen wurden – unter Berücksichtigung des verdunsteten Anteils – *in vitro* 34,5 % und *in vivo* 100 % resorbiert. Das Maximum der Resorption lag jeweils innerhalb der ersten zwei Stunden (Greim 1999).

In einer *In-vitro*-Studie wurden 200 µl einer ¹⁴C-Nitroanilin-Lösung mit einer Konzentration von 0,8 mg/ml in Wasser (Sättigungskonzentration) 10 Minuten, eine Stunde und 24 Stunden lang auf Humanhaut (200 bis 500 µm; 63,6 mm²) in Bronaugh-Durchflusszellen aufgetragen. Die Konzentration in der Rezeptorflüssigkeit (Hanks Balanced Salt Solution mit 6 % Polyethoxylat) wurde während der 24-stündigen Exposition mehrfach und bei den kürzeren Expositionen nur am Ende gemessen. Aus diesen Werten und der Menge an Radioaktivität in den verschiedenen Hautschichten am Ende jeder Exposition wurde eine Permeabilitätskonstante von 0,00881 cm/h berechnet. Nach der 24-stündigen Applikation wurden zwischen 43 und 71 % der applizierten Dosis resorbiert. Bei 10-minütiger Exposition waren es etwa 1 % und bei der einstündigen Applikation 2,7 bis 5,5 %. Die Resorptionsraten betragen bei 10-minütiger Exposition 14,4 µg/cm² und Stunde und bei einstündiger Exposition 9,35 µg/cm² und Stunde (In Vitro Technologies 2005). Bei einstündiger Exposition von 2000 cm² Haut (Fläche von Händen und Unterarmen) gegen eine gesättigte wässrige Lösung ergibt sich daraus eine Aufnahme von 18,7 mg 4-Nitroanilin.

4-Nitroanilin wird rasch in alle Gewebe verteilt.

Die Metabolisierung (siehe Abbildung 1) von oral oder intraperitoneal verabreichten 5 mg ¹⁴C-4-Nitroanilin/Ratte (ca. 20 mg/kg KG unter der Annahme eines Körpergewichts von 250 mg) bei männlichen Albino-Ratten erfolgte hauptsächlich durch C-Oxidation – wahrscheinlich über ein Epoxid – zum 2-Hydroxy-4-nitroanilin (43 % der Radioaktivität im Urin). Durch Reduktion der Nitrogruppe wurde 1,4-Diaminobenzol (p-Phenylendiamin) gebildet (26 % der Radioaktivität im Urin). Ein Anteil von 14 % des verabreichten ¹⁴C-4-Nitroanilins im Urin wurde nicht metabolisiert. Unabhängig von der Applikationsform wurden etwa 80 % der Radioaktivität im 24-Stunden-Urin und nur geringe Mengen nach 48 bzw. 72 Stunden gefunden. Die Ausscheidung mit den Faeces blieb unter 1 %. Nicht hydrolysiertes Urin enthielt etwa 2 % freies 4-Nitroanilin (Greim 1999; Maté et al. 1967). Auch die N-Oxidation der Aminogruppe zum 4-Nitrophenylhydroxylamin wurde nachgewiesen; dieser Metabolit wird hauptsächlich für die Methämoglobin-Bildung verantwortlich gemacht (Greim 1999). Nach *In-vitro*-Inkubation wurde auch N-Acetyl-4-nitroanilin gefunden (Greim 1999; Maté et al. 1967).

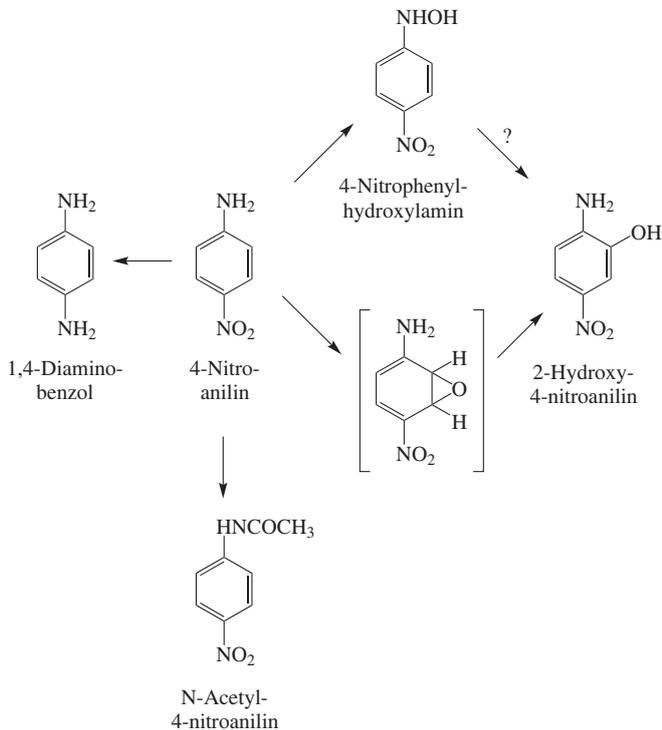


Abb. 1 Metabolisierungsschema von 4-Nitroanilin (nach BUA 1987)

Die Metaboliten wurden schnell und überwiegend renal ausgeschieden.

So wurden zwei Stunden nach einmaliger oraler Verabreichung von 0,28 oder 13,8 mg ¹⁴C-4-Nitroanilin/kg KG an männliche F344-Ratten 75 bis 81 % der verabreichten Radioaktivität mit dem Urin, 13 % mit den Faeces ausgeschieden. In dieser Studie ergaben Untersuchungen zur biliären Ausscheidung an männlichen Gallengang-kanülierten Ratten, dass nach intravenöser Gabe von 10 µmol ¹⁴C-4-Nitroanilin/kg KG (1,38 mg/kg KG) innerhalb von vier Stunden nach der Applikation etwa 19 % der verabreichten Radioaktivität biliär ausgeschieden wurde, was für einen enterohepatischen Kreislauf spricht. Die Halbwertszeit der Radioaktivität bezogen auf den gesamten Körper lag bei einer Stunde. Mit dem Zwei-Kompartimenten-Modell ließen sich für die Elimination aus dem Blut Halbwertszeiten von 0,8 bzw. 16,6 Stunden errechnen (Chopade und Matthews 1984; Greim 1999).

Quantitative Angaben zu den Metaboliten im Blut liegen nicht vor.

Erfahrungen beim Menschen

In der Begründung 1999 (Greim 1999) wird ausführlich über die Methämoglobin-Bildung berichtet.

Seit der Begründung aus dem Jahr 1999 (Greim 1999) gibt es keine neuen Daten zu anderen Endpunkten als zur allergenen Wirkung beim Menschen.

Allergene Wirkung

Es liegen nur wenige neue, seit der Begründung 1999 (Greim 1999) veröffentlichte Epikutantestbefunde mit 4-Nitroanilin vor, jedoch weiterhin keine Befunde zur atemwegsensibilisierenden Wirkung.

In einer Untersuchung wurden zehn Patienten getestet, die bei vorherigen Testungen eine positive Reaktion auf Dispersionsorange 1 oder Dispersionsgelb 3 gezeigt hatten, epikutan auch mit p-Phenylendiamin und drei p-Phenylendiamin-Derivaten sowie den jeweils zwei Produkten, die bei reduktiver Spaltung der Azogruppe der Dispersionsfarbstoffe entstehen. Alle Substanzen wurden in mindestens drei Verdünnungsstufen untersucht; Ablesungen erfolgten am vierten und siebten Tag. Bei zwei der Patienten waren die initialen Reaktionen auf die Farbstoffe nicht reproduzierbar und sie zeigten keine Reaktion auf 4-Nitroanilin. Von den übrigen acht Patienten reagierten fünf auch positiv auf eine 0,43%ige Zubereitung von 4-Nitroanilin in Vaseline (einmal einfach, dreimal zweifach und einmal dreifach positiv). Vier der fünf Personen entwickelten im Rahmen der umfangreichen Testung deutlich positive Reaktionen (zumeist 3+) auf mindestens sieben der etwa 20 bis 40 getesteten Testzubereitungen. Auf 0,043 % 4-Nitroanilin traten bei zwei der fünf Personen eine fragliche und bei einem Getesteten eine einfach positive Reaktion auf (Malinauskiene et al. 2012).

In einer anderen Untersuchung wurden 4-Nitroanilin und 4,4'-Azodianilin als potentielle Oxidationsprodukte von p-Phenylendiamin epikutan bei 14 Personen getestet, bei denen im Vorfeld eine positive Epikutantestreaktion auf p-Phenylendiamin registriert worden war. Bei 13 Personen war die Reaktion auf p-Phenylendiamin reproduzierbar. Von diesen zeigte jeweils eine Person eine einfach positive Reaktion auf eine 0,013%- bzw. 0,0013%ige Zubereitung von 4-Nitroanilin und eine Person eine zweifach positive Reaktion (zudem zweifach positive Reaktion auf 0,01 % p-Phenylendiamin) auf eine 0,13%ige Zubereitung in Aceton. Zwei weitere Personen reagierten einfach positiv auf eine 1%ige Zubereitung von 4-Nitroanilin in Ethanol/Aceton (2 : 3). Auf die höchste Testkonzentration reagierte keine von 15 Kontrollpersonen, die zuvor keine Reaktion auf p-Phenylendiamin gezeigt hatten (Young et al. 2016).

Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

Subakute, subchronische und chronische Toxizität

Neue Daten zu 4-Nitroanilin liegen nicht vor, abgesehen von einer oralen Studie mit einem Gemisch, das diesen Stoff enthält.

Orale Aufnahme

Je 20 männlichen und weiblichen Sprague-Dawley-Ratten wurde ein Gemisch aus 4-Aminophenol: p-Nitrophenol: 4-Nitroanilin (1 : 3,5 : 6) in den Dosierungen 0, 5, 25 oder 50 mg/kg KG und Tag per Schlundsonde vier Wochen lang verabreicht. Die Reinheit aller Substanzen war von analytischem Grad. Keines der Tiere starb. Ab 25 mg/kg KG und Tag traten am Versuchsende folgende Effekte auf: eine reduzierte Körpergewichtszunahme, erhöhte Methämoglobin-Werte, erniedrigte Erythrozytenzahl und Hämoglobinwerte, erhöhte Leukozyten- und Retikulozytenzahl sowie histopathologische Veränderungen in Leber, Nieren, Milz, Cerebellum und hämatopoetischem System (Wang et al. 2010). Die Einzelsubstanzen wurden nicht untersucht.

Allergene Wirkung

In einem Maximierungstest führte 4-Nitroanilin zu keinem als positiv zu wertendem Ergebnis, jedoch wurde die Substanz nur in geringen Konzentrationen eingesetzt. Zur intradermalen und zur topischen Induktionsbehandlung diente eine 0,5%ige Zubereitung in Propylenglykol und zur Auslösebehandlung eine 1%ige bzw. eine 0,25%ige Zubereitung von 4-Nitroanilin. Als Vehikel für die topischen Behandlungen wurde wahrscheinlich Aceton verwendet, und vor der topischen Induktionsbehandlung erfolgte eine offene Applikation von 10 % Natriumdodecylsulfat in Dimethylacetamid/Aceton/Ethanol (4 : 3 : 3). Bei der Auslösebehandlung zeigten sich Reaktionen bei fünf der 24 mit 4-Nitroanilin vorbehandelten Tiere und bei zwei der 12 Kontrolltiere (Malinauskiene et al. 2013).

Weitere Angaben zu neueren experimentellen Untersuchungen am Tier liegen nicht vor.

In einer In-vitro-Untersuchung unter Verwendung von Cokulturen aus humanen Keratinozyten und peripheren Blutmonozyten als Surrogat für dendritische Zellen wurde mit 4-Nitroanilin ein negativer Befund erhoben. Die Zellen wurden in Serum-freiem Medium unter Zusatz von 100 ng Interleukin-4, 100 ng GM-CSF (Granulozyten-Makrophagen-Kolonie stimulierender Faktor) und 10 ng TGF- β (Transforming Growth Factor β) pro ml kultiviert. Nach 48-stündiger Inkubation mit bis zu 200 μ mol 4-Nitroanilin/l wurde keine gesteigerte CD86-Expression und keine Zytotoxizität festgestellt. p-Phenylendiamin führte bei 42 μ mol/l zu einem halbmaximalen Anstieg der CD86-Expression (Sonnenburg et al. 2012).

Reproduktionstoxizität

Neue Daten liegen zu diesem Endpunkt nicht vor.

Fertilität

In einer 2-Generationenstudie an Sprague-Dawley-Ratten kam es bis zur höchsten Dosis von 9 mg 4-Nitroanilin/kg KG und Tag, verabreicht per Schlundsonde, nicht zu Effekten auf die Fertilität oder auf die Nachkommen (Greim 1999; Nair et al. 1990).

Entwicklungstoxizität

In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie, ähnlich der OECD-Prüfrichtlinie 414 (jedoch ohne ausführliche tabellarische Aufzählung aller einzelnen Fehlbildungen), erhielten je 24 Sprague-Dawley-Ratten vom 6. bis zum 19. Gestationstag 0, 25, 85 oder 250 mg 4-Nitroanilin/kg KG und Tag mit der Schlundsonde verabreicht. Am 20. Gestationstag wurden die Feten nach Schnittentbindung untersucht. Ab 85 mg/kg KG und Tag trat Maternaltoxizität in Form von blasser Augenfarbe, dunkel gefärbtem Harn und Verfärbungen im Anogenitalbereich auf. Bei den Muttertieren wurden keine Todesfälle beobachtet. Bei 250 mg/kg KG und Tag kam es bei zwei Muttertieren nach der Applikation zu Krämpfen. Während der Behandlung war die Körpergewichtsentwicklung der Muttertiere bei dieser Dosis verzögert. Ab 85 mg/kg und Tag waren die Fetengewichte erniedrigt und bei 250 mg/kg KG und Tag war die Anzahl der Resorptionen pro Muttertier erhöht. Bei 250 mg/kg KG und Tag kam es zu Fehlbildungen, hauptsächlich des Schwanzes (49/273 Feten $\hat{=}$ 17,9 %; 10/22 Würfen $\hat{=}$ 45,5 %), des Urogenitalsystems (15/131 Feten $\hat{=}$ 11,5 %; 5/22 Würfen $\hat{=}$ 22,7 %) und der Rippen (50/142 Feten $\hat{=}$ 35,2 %; 14/22 Würfen $\hat{=}$ 63,6 %). Die Häufigkeit von Feten mit Variationen am Skelett war ebenfalls erhöht (Greim 1999; Nair et al. 1985). Die Fehlbildungen des Schwanzes sind nicht näher beschrieben. Die Beschreibung der Fehlbildungen des Urogenitalsystems umfasst neben Fehlbildungen der Niere (fehlend, klein oder verformt, von denen nach heutigen Maßstäben nur fehlende Nieren eine Fehlbildung sind) auch Fehlbildungen des Uterus und des Reproduktionstraktes, die ebenfalls nicht weiter erläutert werden. Die Fehlbildungen der Rippen werden als abgewinkelte, gewellte oder fusionierte Rippen beschrieben (nach heutigen Maßstäben sind fusionierte Rippen eine Fehlbildung und gewellte Rippen eine Variation). Die einzelnen Fehlbildungen sind nicht weiter aufgeschlüsselt. Damit ist das Ausmaß der Fehlbildungen unklar.

In einer Screening-Studie an je 50 CD1-Mäusen, die vom 7. bis zum 14. Gestationstag 0 oder 1200 mg 4-Nitroanilin/kg KG und Tag, in Maiskeimöl gelöst, erhalten hatten, kam es zu massiver Maternaltoxizität in Form von Krämpfen und vermehrten Todesfällen (21 von 50). Von den überlebenden Tieren waren 16 trächtig, sechs nicht trächtig und bei sieben hatte trotz Befruchtung keine Implantation stattgefunden. Elf von 16 Muttertieren warfen lebende Nachkommen, vier Muttertiere wiesen nur tote Nachkommen auf. Bei den Nachkommen eines Wurfs wurden Fehlbildungen an allen Gliedmaßen in Form von Ektromelien (Reduktion oder Fehlen des körpernen Teils der Gliedmaßen) festgestellt. Die Zahl der lebenden Nachkommen pro Wurf, das Körpergewicht der Nachkommen und die Überlebensfähigkeit während der ersten drei Tage waren im Vergleich zur Kontrolle signifikant erniedrigt. Bei einem der 14 Muttertiere, die nicht warfen, fanden sich Resorptionen im Uterus (Greim 1999; Hardin et al. 1987; NIOSH 1983). Aufgrund der hohen Mortalität bei den Muttertieren ist die Studie nicht zur Bewertung der entwicklungsstoxischen Wirkung geeignet.

In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie, ähnlich der OECD-Prüfrichtlinie 414 (jedoch ohne ausführliche tabellarische Aufzählung aller einzelnen Fehlbildungen), erhielten je 18 Neuseeländer-Kaninchen vom 7. bis zum 19. Gestationstag 0, 15, 75 oder 125 mg 4-Nitroanilin/kg KG und Tag mit der Schlundsonde verabreicht. Die Untersuchung der Feten erfolgte am 30. Gestationstag nach Schnittentbindung. Bei 125 mg/kg KG und Tag starben sieben Muttertiere (k. w. A.). Ab 15 mg/kg KG und Tag traten bei den Muttertieren gelbliche Verfärbungen im Genitalbereich und ab 75 mg/kg KG und Tag grau verfärbte Augen auf. Die intrauterine Entwicklung verlief ohne auffällige Befunde. Teratogene Effekte wurden in keiner Dosisgruppe festgestellt (Greim 1999; Nair et al. 1985).

Genotoxizität

Neue Daten zur Genotoxizität liegen, abgesehen von einem Mikronukleus-Test an CD1-Mäusen (Monsanto Company 1989) seit der Begründung 1999 (Greim 1999) nicht vor.

In vitro

Zur Bewertung der Keimzellmutagenität von 4-Nitroanilin werden die Studien, die bereits in der Begründung 1999 (Greim 1999) dargestellt sind, hier nochmals zusammengefasst.

In mehreren Salmonella-Mutagenitätstests erwies sich 4-Nitroanilin an den Stämmen TA98 und TA1538 mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems als mutagen, dagegen nicht an den Stämmen TA100, TA1535, TA1537, TA98NR und TA1538NR. In *Bacillus subtilis* löste der Stoff vermehrt DNA-Reparatur aus. In Säugetier-Testsystemen wurden ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems positive Ergebnisse im TK^{+/-}-Test, in CHO-Zellen und menschlichen Lymphozyten Chromosomenaberrationen und in CHO-Zellen in geringem Maße Schwesterchromatidaustausche induziert. In Ratten-Hepatozyten war jedoch keine DNA-Reparatur zu beobachten. Unter Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems erzeugte 4-Nitroanilin keine Mutationen, jedoch Chromosomenaberrationen und Schwesterchromatidaustausche (Greim 1999).

In einem modifizierten Genmutationstest mit Präinkubation führte der Zusatz von Flavinmononukleotid, das zur Nitroreduktion zugeführt wurde, zu einer Verstärkung der mutagenen Wirkung von 4-Nitroanilin an den Salmonella-typhimurium-Stämmen TA98 und TA100. Der Zusatz des metabolischen Aktivierungssystems aus Hamsterleber und Flavinmononukleotid hatte ab 0,1 µM mutagene Effekte zur Folge mit einer maximalen Erhöhung der Revertanzahl um das 11-Fache, im Vergleich zum Aktivierungssystem aus Ratten war der Effekt stärker (Dellarco und Prival 1989).

Die nicht in der Begründung 1999 (Greim 1999) und nicht im BUA-Bericht (BUA 1987) aufgeführte Untersuchung zur In-vitro-Genotoxizität von 4-Nitroanilin (Dellarco und Prival 1989) sowie die positiven Studien aus der Begründung 1999 (Greim 1999) sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tab. 1 In-vitro-Studien zur Genotoxizität von 4-Nitroanilin

Endpunkt	Testsystem	Konzentration	Zytotoxizität [µg/Platte]	Ergebnis		Bemerkung	Literatur
				-m. A.	+m. A.		
Genmutation (Präinkubation)	S. typhimurium TA98	0; 0,1; 0,3; 1,0; 3,0; 10,0 µmol/Platte; Vehikel: p-Dioxan; Reinheit: 99 %	-	n. d.	+ FMN (zur Erleichterung der Nitroreduktion): + m. A. aus Hamsterleber: + ab 0,1 µmol/Platte (max. Revertanzahl 11-fach); + m. A. aus Ratte: + ab 1,0 µmol/Platte	Zusatz von m. A. aus Hamster im Vgl. zu Zusatz von m. A. aus Ratte: Verstärkung der mutagenen Wirkung	Dellarco und Prival 1989
			-	n. d.	- FMN: + m. A. aus Hamsterleber: + ab 0,1 µmol/Platte		
	S. typhimurium TA100	s. oben	k. w. A.	n. d.	+	k. A.	
SCE	CHO-Zellen	- m. A.: 1. Test: 0; 0,5; 1,6; 5; 16; 50; 160 µg/ml; 2. Test: 0, 50, 100, 200 µg/ml; + m. A.: 1. Test: 0, 16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/ml; 2. Test: 0, 160, 500, 1000 µg/ml; 3. Test: 0, 250, 500, 750, 1000 µg/ml; Vehikel: DMSO; Reinheit: > 99 %	- m. A.: bei 200 µg/ml; + m. A.: bei 1000 µg/ml	+	nicht eindeutig ab 160 µg/ml		Greim 1999; NTP 1993
CA	Humanlymphozyten	0; 0,005; 0,01; 0,05; 0,10 µmol/ml; Vehikel: DMSO; Reinheit: k. A.	k. A.	+	n. d. widersprüchliche Angaben: ab 0,005 µmol/ml (0,7 µg/ml) (Huang et al. 1995); effektive Dosis: 5 µmol/ml (690 µg/ml) (Huang et al. 1996)	Gaps nicht in Gesamtzahl der CA eingeschlossen	Greim 1999; Huang et al. 1995, 1996

Tab. 1 (Fortsetzung)

End- punkt	Testsystem	Konzentration	Zytotoxizität [µg/Platte]	Ergebnis		Bemerkung	Literatur
				-m. A.	+m. A.		
CA	CHO-Zellen	0, 173, 345, 690, 1035 µg/ml; Vehikel: DMSO; Reinheit: ≥ 99 %	TC ₅₀ 345 ± 18 µg/ml	+	n. d.	vorwiegend dizentrische Chromosomen; Gaps nicht in Gesamtzahl der CA eingeschlossen	Chung et al. 1996; Greim 1999
CA	CHO-Zellen	- m. A.: 0, 50, 160, 500, 1600 µg/ml; + m. A.: 0, 160, 500, 1600, 5000 µg/ml; Zeit: 14 h; Vehikel: DMSO; Reinheit: > 99 %	-	+	+	Gaps nicht in Gesamtzahl der CA eingeschlossen, vorwiegend einfache CA (Brüche u. terminale Deletionen)	Greim 1999; NTP 1993
CA	CHO-Zellen	- m. A.: 1. Test: 0, 16, 50, 160, 500 µg/ml (12 h); 2. Test: 0, 100, 200, 400, 600, 800, 1200 µg/ml (12,8 h); + m. A.: 1. Test: 0, 16, 50, 160, 500, 1600 µg/ml (12 h); 2. Test: 0, 200, 400, 600, 800, 1200 µg/ml (12 h); 3. Test: 0, 400, 600, 800, 1200 µg/ml (15 h); 4. Test: 0, 400, 600, 800, 1000 µg/ml (12,5 h); 5. Test: 0, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1600, 2000 µg/ml (22 h); Vehikel: DMSO; Reinheit: > 99 %	- m. A.: bei 1200 µg/ml, + m. A.: bei 1200 µg/ml	-	+	Gaps nicht in Gesamtzahl der CA eingeschlossen, vorwiegend einfache CA (Brüche u. terminale Deletionen)	Greim 1999; NTP 1993

Tab. 1 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konzentration	Zytotoxizität [µg/Platte]	Ergebnis		Bemerkung	Literatur
				-m. A.	+m. A.		
Mutation	L5178Y-Zellen, TK ^{+/+} -Test	- m. A.: 1. Test: 0, 16, 32, 63, 125, 250, 500, 1000 µg/ml; 2. Test: 0, 16, 32, 63, 125, 250, 500 µg/ml; 3. Test: 0, 50, 100, 200, 300, 400 µg/ml; + m. A.: 0, 25, 50, 100, 200, 300, 500 µg/ml; Vehikel: Aceton; Reinheit: > 99 %	- m. A.: ab 400 µg/ml	+	-	- m. A.: Präzipitation ab 500 µg/ml; + m. A.: Präzipitation ab 300 µg/ml; keine Unterscheidung zwischen großen u. kleinen Kolonien, nicht zu entscheiden, ob Mutagenität od. Klastogenität im Vordergrund steht	Greim 1999; NTP 1993

CA: Chromosomenaberrationen; DMSO: Dimethylsulfoxid; FMN: Flavinmononukleotid; k. (w.) A.: keine (weiteren) Angabe; m. A.: metabolisches Aktivierungssystem; n. d.: nicht durchgeführt; TC₅₀: für 50 % der Zellen toxisch; SCE: Schwesterchromatidaustausch

Von den zwei Metaboliten des 4-Nitroanilins 1,4-Benzoldiamin (p-Phenylendiamin, Henschler 1992) und 2-Amino-5-nitrophenol ist bekannt, dass sie in vitro mutagen in Bakterien wirken (NTP 1988).

In vivo

Somazellen

In der bereits in der Begründung von 1999 (Greim 1999) zitierten Publikation wurde in den Hepatozyten von F344-Ratten keine Induktion von DNA-Reparatur festgestellt (Mirsalis et al. 1983). Die Studie ist jedoch nur eine Zusammenfassung und beinhaltet keine Dosisangaben.

In einem Mikronukleus-Test an männlichen und weiblichen CD1-Mäusen (je 5 Tiere/Gruppe und Geschlecht, höchste Dosis: je 6 Tiere) mit der zweimaligen i.p. Gabe von 0, 80, 400 oder 800 mg 4-Nitroanilin/kg KG (Reinheit: 99 %, Vehikel: Maiskeimöl) wurden bis zur höchsten Dosis keine Mikronuklei in polychromatischen Erythrozyten induziert. Bei den männlichen Tieren war bei der höchsten Dosis von 800 mg/kg KG nach 48 Stunden das Verhältnis von polychromatischen zu normochromatischen Erythrozyten erniedrigt; ein Tier starb bei dieser Dosis. Das Verhältnis von polychromatischen zu normochromatischen Erythrozyten war bei den weiblichen Tieren bei 800 mg/kg KG nach 24 und 48 Stunden nicht erniedrigt, jedoch trat ab der niedrigsten Dosis Toxizität in Form von Reaktions- und Teilnahmslosigkeit auf. Die Positivkontrolle Cyclophosphamid zeigte ein funktionierendes Testsystem an (Monsanto Company 1989).

Keimzellen

In drei Tests auf X-chromosomale rezessive Letalmutationen (SLRL) an Drosophila wurden negative Ergebnisse erzielt (BUA 1987; NTP 1993; US EPA 2009).

Ein „Sperm-Head Abnormality“-Test an BALB/c-Mäusen führte bis zu einer Dosis von 500 mg 4-Nitroanilin/kg KG und Tag, fünf Tage lang i.p. verabreicht, nicht zu einem Anstieg von Spermienkopfanomalien (BUA 1987). Veränderungen der Spermienmorphologie sind keine zuverlässigen Indikatoren von Mutationen, die Relevanz der Effekte bezüglich der Keimzellmutagenität ist zweifelhaft (ICPEMC 1983; Salamone 1988; Wild 1984), und die Ergebnisse lassen sich nur als zytotoxische Wirkung interpretieren.

Kanzerogenität

Es liegen keine neuen Daten vor.

In einer Kanzerogenitätsstudie des NTP erhielten je 70 männliche und weibliche B6C3F1-Mäuse pro Dosisgruppe bis zu 103 Wochen lang, an fünf Tagen pro Woche 0, 3, 30 oder 100 mg 4-Nitroanilin/kg KG und Tag in Maiskeimöl mit der Schlundsonde verabreicht. Ab 3 mg/kg KG und Tag traten erhöhte Inzidenzen von Hyperplasie im Knochenmark der männlichen Tiere und von Pigmentierung der Milz bei den weiblichen Tieren auf. Ab 30 mg/kg KG und Tag kamen Methämoglobin-Bildung sowie histologische Veränderungen an Milz, Leber und Knochenmark (Milzstauungen, Hämatopoese in der Milz, Hämosiderin-Akkumulation in der Milz, Kupffer-Zell-Pigmentierung in der Leber) hinzu. Bei den männlichen Tieren waren die Inzidenzen von Hämangiosarkomen in der Leber bei 0, 3, 30, 100 mg/kg KG und Tag 0/50; 1/50 (2 %); 2/50 (4 %) bzw. 4/50 (8 %) und die von Hämangiosarkomen und Hämangiomen aller Lokalisationen bei 0, 3, 30, 100 mg/kg KG und Tag 5/50 (10 %), 3/50 (6 %), 4/50 (8 %) bzw. 10/50 (20 %) und damit bei der höchsten Dosis leicht, jedoch aufgrund einer nachträglichen Berechnung mit dem Fisher-Exact-Test ($p = 0,06$) nicht signifikant erhöht. Sie lagen aber höher als die in diesem NTP-Bericht angegebenen historischen Kontrolldaten (Hämangiosarkome in der Leber: 15/699; Mittelwert \pm Standardabweichung: $2,1 \pm 2,1\%$; Bereich: 0–6 %; Hämangiosarkome und Hämangiome aller Lokalisationen: 46/700; $6,6 \pm 3,6\%$; 0–12 %). Bei den weiblichen Tieren zeigten sich keine erhöhten Tumor-Inzidenzen. NTP bewertete das Ergebnis an den männlichen Mäusen in diesem Versuch als nicht eindeutig (Greim 1999; NTP 1993).

In einer 2-Jahre-Kanzerogenitätsstudie an Sprague-Dawley-Ratten erhielten je 60 männliche und weibliche Tiere pro Dosisgruppe an sieben Tagen pro Woche eine Gabe von 0; 0,25; 1,5 oder 9,9 mg 4-Nitroanilin/kg KG und Tag in Maiskeimöl mit der Schlundsonde. Ab 0,25 mg/kg KG und Tag traten Pigmentierungen der Milz und ab 1,5 mg/kg KG und Tag erhöhte Methämoglobin-Konzentrationen und Milzgewichte auf. Die Tumor-Inzidenzen bei den behandelten Tieren waren im Vergleich zu denen der Kontrollen nicht erhöht (Greim 1999; Nair et al. 1990).

Bewertung

Kritische Effekte sind die Methämoglobin-Bildung bei Mensch und Tier sowie der Verdacht auf eine kanzerogene Wirkung aufgrund der bei männlichen B6C3F1-Mäusen induzierten Hämangiosarkome und der genotoxischen Wirkung *in vitro*.

Krebserzeugende Wirkung. Bei Sprague-Dawley-Ratten wirkt 4-Nitroanilin trotz dosisabhängiger Effekte an der Milz ab 0,25 mg/kg KG und Tag bis 9,9 mg/kg KG und Tag, gegeben mit der Schlundsonde, nicht kanzerogen (Greim 1999; Nair et al. 1990). Hingegen führt die Substanz bei männlichen B6C3F1-Mäusen nach Schlundsondengabe bei 100 mg/kg KG und Tag zu Hämangiosarkomen, deren Inzidenzen im Vergleich zu den mitlaufenden Kontrollen statistisch nicht signifikant erhöht, jedoch im Vergleich zu historischen Kontrollen deutlich erhöht sind (Greim 1999; NTP 1993). Damit ist auch in Anbetracht der genotoxischen Wirkung *in vitro* ein Verdacht auf eine kanzerogene Wirkung gegeben.

Ein Vergleich der monozyklischen aromatischen Amino- und Nitroverbindungen ergibt, dass bei der Organotropie der entstehenden Tumoren ein gemeinsames Grundmuster erkennbar ist. Im Vordergrund stehen bei Ratte und Maus die Blutgefäßtumoren. Die Hämangiosarkome können auf die Milz konzentriert sein, treten aber auch an anderer Stelle auf (Greim 2003 b). Damit ergibt sich auch aufgrund der Struktur für 4-Nitroanilin ein Verdacht auf eine kanzerogene Wirkung.

4-Nitroanilin wirkt in Bakterien mutagen und verursacht in Säugerzellen *in vitro* Chromosomenaberrationen. Der negative *In-vivo*-Mikronukleustest an Mäusen (Monsanto Company 1989) entkräftet die *In-vitro*-Genotoxizität nicht vollständig, da dieser Test nur die Klastogenität untersucht. Mutagenitätstests *in vivo* sind nicht durchgeführt worden. Eine Untersuchung zum Metabolismus ergibt die Bildung von mindestens neun Metaboliten (BUA 1987; Chopade und Matthews 1984), von denen zwei, 1,4-Benzoldiamin (p-Phenylendiamin, Kanzerogenitätskategorie 3B, Henschler 1992) und 2-Amino-5-nitrophenol, ebenfalls *in vitro* genotoxisch sind. In einer Untersuchung des

24-Stunden-Urins nach einmaliger oraler oder i.p. Gabe von ca. 20 mg/kg KG und Tag an Ratten wurden nach saurer Hydrolyse 26 % der Radioaktivität als p-Phenylendiamin und 43 % als 2-Amino-5-nitrophenol gefunden (Greim 1999; Maté et al. 1967). Damit könnten zumindest zwei genotoxische Metaboliten systemisch verfügbar sein.

Insgesamt bleibt der Verdacht auf eine kanzerogene Wirkung, basierend auf den Hämangiosarkomen bei männlichen B6C3F1-Mäusen, des Strukturverdacht und der Genotoxizität in vitro, bestehen. Somit wird die Substanz in die Kategorie 3B für krebserzeugende Arbeitsstoffe eingestuft.

MAK-Wert und Spitzenbegrenzung. Aufgrund des Verdachts auf eine kanzerogene Wirkung und der genotoxischen Wirkung in vitro wird kein MAK-Wert abgeleitet. Die Spitzenbegrenzung entfällt damit.

Fruchtschädigende Wirkung. Da kein MAK-Wert abgeleitet wird, entfällt die Zuordnung zu einer Schwangerschaftsgruppe.

In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie mit Schlundsondengabe an Sprague-Dawley-Ratten werden ab 85 mg/kg KG und Tag erniedrigte Fetengewichte beobachtet. Bei massiver Maternaltoxizität (verzögerte Körpergewichtsentwicklung, Krämpfe) bei 250 mg/kg KG und Tag ist die Anzahl der Resorptionen pro Muttertier erhöht. Zudem treten bei dieser Dosis Fehlbildungen des Schwanzes, des Urogenitalsystems und der Rippen auf, wobei diese nicht weiter einzeln aufgeschlüsselt sind (Greim 1999; Nair et al. 1985) und teilweise auch nach heutigen Maßstäben nicht mehr als Fehlbildung sondern als Variation oder weder als Fehlbildung noch als Variation angesehen werden.

Bei Neuseeländer-Kaninchen kommt es in einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie mit Schlundsondengabe auch bei maternaltoxischen Dosen von bis zu 125 mg/kg KG und Tag nicht zu teratogenen Effekten (Greim 1999; Nair et al. 1985).

Die Effekte bei den Ratten treten möglicherweise als Folge einer Anämie auf.

Keimzellmutagene Wirkung. 4-Nitroanilin wirkt in vitro genotoxisch, aber in bakteriellen Mutagenitätstests ergeben sich heterogene Ergebnisse. Damit verhält sich die Substanz wie ein typischer Nitroaromat. Bakterielle Mutagenitätstests in vitro sind nicht geeignet, das genotoxische Potenzial der monozyklischen aromatischen Amino- und Nitroverbindungen ausreichend zu ermitteln (Greim 2003 b). Nach Zusatz von Flavinmononukleotid zeigt 4-Nitroanilin ein mutagenes Potenzial mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems (Dellarco und Prival 1989).

Die Substanz führt in vitro in Säugetierzellen zu klastogenen und in Bakterien zu mutagenen Effekten (Greim 1999). Daher entkräftet der negative In-vivo-Mikronukleustest an Mäusen (Monsanto Company 1989) die In-vitro-Genotoxizität nicht vollständig. Mutagenitätstests sind im Tierversuch nicht durchgeführt worden. Aus den Langzeitstudien an Ratten (Greim 1999; Nair et al. 1990) und Mäusen (Greim 1999; NTP 1993) ergeben sich keine Hinweise darauf, dass 4-Nitroanilin zu den Reproduktionsorganen, d. h. zu den Keimzellen, gelangen kann.

Eine Auswertung der in der MAK- und BAT-Werte-Liste aufgeführten monozyklischen aromatischen Amino- und Nitroverbindungen, deren keimzellmutagene Wirkung bewertet worden ist, zeigt (siehe Tabelle 2), dass vier Verbindungen in eine Kategorie für Keimzellmutagene eingestuft sind. o-Toluidin und 4-Chlor-o-toluidin sind beide in die Kategorie 3A für Keimzellmutagene und in die Kategorie 1 für kanzerogene Arbeitsstoffe eingestuft, die Stoffe 2-Nitrotoluol und 2,4,6-Trinitrotoluol in die Kategorie 3B für Keimzellmutagene und in die Kategorie 2 für kanzerogene Arbeitsstoffe. Bei diesen vier Verbindungen sind die deutliche kanzerogene Wirkung beim Menschen oder im Tierexperiment, die deutliche genotoxische Wirkung in vivo sowie die Erreichbarkeit der Keimzellen nachgewiesen bzw. starke Hinweise darauf vorhanden.

Tab. 2 In der MAK- und BAT-Werte-Liste aufgeführte Amino- und Nitroaromaten mit Bewertung der keimzellmutagenen Wirkung

Stoff	KMut Kat	Kanz Kat	Strukturformel	In-vivo-Genotoxizität	Erreichbarkeit der Keimzellen	Literatur
mit einer Einstufung als Keimzellmutagen						
o-Toluidin	3A	1		Mikronuklei: periphere Erythrozyten, Ratte; kovalente DNA-Bindung: Leberzellen, Ratte; Schwesterchromatidaustausche: Knochenmark, Mäuse	Degenerationen Hodenkanälchen, Ratte	Greim 2007 d
4-Chlor-o-toluidin	3A	1		Fellfleckentest (Somazellen), Maus	plazentagängig, daher vermutlich Erreichen der Keimzellen	Greim 2003 a
2-Nitrotoluol	3B	2		Mikronuklei: periphere Erythrozyten, Maus	Schäden an Hoden u. Nebenhoden, Ratte	Greim 2002
2,4,6-Trinitrotoluol	3B	2		Klastogenität, Mensch	Hodeneffekte, Ratte, evtl. sek. Effekt	Greim 2008
ohne eine Einstufung als Keimzellmutagen						
Anilin	-	4		Dominant-Letal-Test, Ratte, neg.; Mikronuklei: Knochenmark, Ratte, 2 Tests pos., 1 Test neg.; Chromosomenaberrationen, Knochenmark, Ratte, 1 Test pos., 1 Test neg.	keine Hodeneffekte in Langzeitstudien, Ratten	Greim 2007 a
N-Methylanilin	-	3B		keine Untersuchungen; Analogie Anilin	k. A.	Hartwig und MAK Commission 2017 b
3-Nitrotoluol	-	3B		kovalente Bindung Makromoleküle: Leber, Ratte; UDS: Hepatozyten, Ratten, neg.; Analogie 4-Nitrotoluol	Hodendegenerationen, Ratte	Greim 2007 b
4-Nitrotoluol	-	3B		kovalente Bindung Makromoleküle: Leber, Ratte; UDS: Hepatozyten, Ratten, neg.; Mikronuklei: Ratte, Maus, neg.	Hodenatrophien u. Hodendegenerationen, Ratte	Greim 2007 c
Nitrobenzol	-	4		klastogene Wirkung (Mikronuklei, Comet-Test), Leber, Nieren, Schilddrüse, Ratte, bei toxischen Dosierungen; Chromosomenaberrationen, Knochenmark, Ratte, neg.; SCE, Knochenmark, Ratte, neg.; UDS, Leber, Ratte, neg.	Hodenatrophien, Ratte	Hartwig und MAK Commission 2017 a
4-Nitroanilin	-	3B		Mikronuklei: Maus, neg.; SLRL, Drosophila, neg.	keine Hodeneffekte in Langzeitstudien, Ratte u. Maus, Spermiomorphologie-Test negativ	

Bei 4-Nitroanilin hingegen sind die kanzerogene Wirkung im Tierexperiment und die In-vivo-Genotoxizität weniger deutlich ausgeprägt. Aus Langzeitstudien an Ratte und Maus und aus dem Spermienmorphologie-Test ergibt sich kein Verdacht auf Effekte auf die Reproduktionsorgane. Somit liegen keine Hinweise vor, dass der Stoff die Keimzellen erreicht. Auf dieser Datenbasis wird 4-Nitroanilin nicht in eine Kategorie für Keimzellmutagene eingestuft.

Hautresorption. Für den Menschen lässt sich aus einer In-vitro-Studie eine maximale dermale Aufnahme von 18,7 mg bei Exposition gegen eine gesättigte wässrige Lösung unter Standardbedingungen (2000 cm² Hautoberfläche, eine Stunde Exposition) abschätzen. Der LOAEL in einer 2-Jahre-Studie beträgt 0,25 mg/kg KG und Tag nach oraler Gabe bei Ratten. Zur toxikokinetischen Übertragung dieser Dosis als systemischen LOAEL auf den Menschen werden berücksichtigt: der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen der Ratte und dem Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturwert (1 : 4), die experimentelle orale Resorption von 100 %, die tägliche Exposition der Tiere im Vergleich zur fünftägigen Exposition pro Woche am Arbeitsplatz (7 : 5), das Körpergewicht (70 kg) des Menschen, und die Übertragung der Daten des Tierversuchs auf den Menschen (1 : 2). Damit errechnet sich eine Menge von 3 mg, bei der noch Effekte zu erwarten sind. Daher ist die systemisch tolerable Menge kleiner als 3 mg. Die Aufnahme über die Haut ist damit höher als die systemisch tolerable Menge, und der Stoff bleibt weiterhin mit „H“ markiert.

Sensibilisierende Wirkung. Auch zwei neue Untersuchungen zeigen, dass bei Patienten mit bestehender Sensibilisierung gegen (disubstituierte) aromatische Aminoverbindungen Reaktionen auf 4-Nitroanilin auftreten können. Da Angaben zu einer vorangehenden Exposition fehlen, ist eine eigenständige kontaktsensibilisierende Wirkung von 4-Nitroanilin beim Menschen nicht zweifelsfrei nachgewiesen. Aus den mit relativ geringen Konzentrationen durchgeführten experimentellen Untersuchungen am Tier ergeben sich keine eindeutigen Hinweise auf ein kontaktsensibilisierendes Potenzial, und das Ergebnis einer In-vitro-Untersuchung war negativ. 4-Nitroanilin wird daher trotz des Verdachtes auf eine kontaktsensibilisierende Wirkung weiterhin nicht mit „Sh“ markiert. Untersuchungen zur Atemwegssensibilisierung liegen weiterhin nicht vor, so dass keine Markierung mit „Sa“ erfolgt.

Literatur

- BUA (Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe der Gesellschaft Deutscher Chemiker) (1987) p-Nitroanilin (4-Nitrobenzolamin), Bericht Nr. 19. Hirzel, Stuttgart
- Chopade HM, Matthews HB (1984) Disposition and metabolism of p-nitroaniline in the male F-344 rat. *Fundam Appl Toxicol* 4: 485–493. DOI: [10.1016/0272-0590\(84\)90207-0](https://doi.org/10.1016/0272-0590(84)90207-0)
- Chung K-T, Murdock CA, Zhou Y, Stevens Jr SE, Li Y-S, Wie C-I, Fernando SY, Chou MW (1996) Effects of the nitro-group on the mutagenicity and toxicity of some benzamines. *Environ Mol Mutagen* 27: 67–74. DOI: [10.1002/\(SICI\)1098-2280\(1996\)27:1%3C67::AID-EM9%3E3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2280(1996)27:1%3C67::AID-EM9%3E3.0.CO;2-B)
- Dellarco VL, Prival MJ (1989) Mutagenicity of nitro compounds in Salmonella typhimurium in the presence of flavin mononucleotide in a preincubation assay. *Environ Mol Mutagen* 13: 116–127. DOI: [10.1002/em.2850130206](https://doi.org/10.1002/em.2850130206)
- Greim H (Hrsg) (1999) 4-Nitroanilin. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 28. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb10001d0028](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb10001d0028)
- Greim H (Hrsg) (2000) 4-Nitroanilin. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 30. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb10001d0030](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb10001d0030)
- Greim H (Hrsg) (2002) 2-Nitrotoluol. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 34. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb8872d0034](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb8872d0034)
- Greim H (Hrsg) (2003 a) 4-Chlor-o-toluidin. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 36. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb9569d0036](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb9569d0036)
- Greim H (Hrsg) (2003 b) Monozyklische aromatische Amino-Nitroverbindungen. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 37. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb0maryverd0037](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb0maryverd0037)
- Greim H (Hrsg) (2007 a) Anilin. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 42. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb6253d0042](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb6253d0042)

- Greim H (Hrsg) (2007 b) 3-Nitrotoluol. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, 42. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb9908d0042](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb9908d0042)
- Greim H (Hrsg) (2007 c) 4-Nitrotoluol. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, 42. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb9999d0042](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb9999d0042)
- Greim H (Hrsg) (2007 d) o-Toluidin. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, 43. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb9553d0043](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb9553d0043)
- Greim H (Hrsg) (2008) 2,4,6-Trinitrotoluol (und Isomeren in techn. Gemischen). In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, 45. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb11896d0045](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb11896d0045)
- Hardin BD, Schuler RL, Burg JR, Booth GM, Hazelden KP, MacKenzie KM, Piccirillo VJ, Smith KN (1987) Evaluation of 60 chemicals in a preliminary developmental toxicity test. *Teratog Carcinog Mutagen* 7: 29–48. DOI: [10.1002/tcm.1770070106](https://doi.org/10.1002/tcm.1770070106)
- Hartwig A, MAK Commission (2017 a) Nitrobenzol. *MAK Collect Occup Health Saf* 2: 729–776. DOI: [10.1002/3527600418.mb9895d0063](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb9895d0063)
- Hartwig A, MAK Commission (2017 b) N-Methylanilin. *MAK Collect Occup Health Saf* 2: 642–666. DOI: [10.1002/3527600418.mb10061d0063](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb10061d0063)
- Henschler D (Hrsg) (1992) p-Phenylendiamin. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, 18. Lieferung. VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb10650d0018](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb10650d0018)
- Huang Q, Wang L, Han S (1995) The genotoxicity of substituted nitrobenzenes and the quantitative structure-activity relationship studies. *Chemosphere* 30: 915–923. DOI: [10.1016/0045-653\(94\)00450-9](https://doi.org/10.1016/0045-653(94)00450-9)
- Huang QG, Kong LR, Liu YB, Wang LS (1996) Relationships between molecular structure and chromosomal aberrations in in vitro human lymphocytes induced by substituted nitrobenzenes. *Bull Environ Contam Toxicol* 57: 349–353. DOI: [10.1007/s001289900197](https://doi.org/10.1007/s001289900197)
- ICPEMC (International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens) (1983) Committee 1 Final Report: Screening strategy for chemicals that are potential germ-cell mutagens in mammals. *Mutat Res* 114: 117–177
- In Vitro Technologies (2005) Human percutaneous absorption and cutaneous disposition of [14C]-nitroaniline in vitro. In Vitro Technologies, Baltimore, MD. <https://www.regulations.gov/contentStreamer?documentId=EPA-HQ-OPPT-2003-0006-0320&contenttype=pdf>, abgerufen am 05 Mrz 2018
- Malinauskiene L, Zimerson E, Bruze M, Ryberg K, Isaksson M (2012) Patch testing with the textile dyes Disperse Orange 1 and Disperse Yellow 3 and some of their potential metabolites, and simultaneous reactions to para-amino compounds. *Contact Dermatitis* 67: 130–140. DOI: [10.1111/j.1600-0536.2012.02080.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.2012.02080.x)
- Malinauskiene L, Zimerson E, Bruze M, Ryberg K, Isaksson M (2013) Sensitizing capacity of Disperse Orange 1 and its potential metabolites from azo reduction and their cross-reactivity pattern. *Contact Dermatitis* 69: 40–48. DOI: [10.1111/cod.12078](https://doi.org/10.1111/cod.12078)
- Maté C, Ryan AJ, Wright SE (1967) Metabolism of some 4-nitroaniline derivatives in the rat. *Food Cosmet Toxicol* 5: 657–663. DOI: [s0015-6264\(67\)83217-6](https://doi.org/10.1016/0272-0590(90)90045-1)
- Mirsalis J, Tyson K, Beck J, Loh F, Steinmetz K, Contereras C, Austere L, Martin S, Spalding J (1983) Induction of unscheduled DNA-synthesis (UDS) in hepatocytes following in vitro and in vivo treatment. *Environ Mutagen* 5: 482
- Monsanto Company (1989) Micronucleus assay with p-nitroaniline (final report). NTIS/OTS0532109, EPA/OTS Doc ID 40-8976499. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/>, abgerufen am 14 Feb 2018
- Nair RS, Johannsen FR, Schroeder RE (1985) Evaluation of teratogenic potential of paranitroaniline and para-nitrochlorobenzene in rats and rabbits. In: Rickett DE (Hrsg) *Toxicity of nitroaromatic compounds*. Hemisphere Publishing Corporation, New York, NY, 61–85
- Nair RS, Auletta CS, Schroeder RE, Johannsen FR (1990) Chronic toxicity, oncogenic potential, and reproductive toxicity of p-nitroaniline in rats. *Fundam Appl Toxicol* 15: 607–621. DOI: [10.1016/0272-0590\(90\)90045-1](https://doi.org/10.1016/0272-0590(90)90045-1)
- NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) (1983) Screening of priority chemicals for reproductive hazards. NTIS/OTS04830240. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/>, abgerufen am 06 Mai 2019
- NTP (National Toxicology Program) (1988) NTP toxicology and carcinogenesis studies of 2-amino-5-nitrophenol (CAS no 121-88-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). NTP TR 334. National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr334.pdf, abgerufen am 06 Mai 2019
- NTP (National Toxicology Program) (1993) NTP toxicology and carcinogenesis studies of p-nitroaniline (CAS no 100-01-6) in B6C3F1 mice (gavage studies). NTP TR 418. National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr418.pdf, abgerufen am 09 Feb 2018
- 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* 32: 222–228. DOI: [10.1080/019262330403200201](https://doi.org/10.1080/019262330403200201)

- Salamone MF (1988) Summary report on the performance of the sperm assays. In: Ashby J, deSerres FJ, Shelby MD, Margolin BH, Ishidate Jr M, Becking GC (Hrsg) Evaluation of short-term tests for carcinogens, report of the International Programme on Chemical Safety's collaborative study on in vivo assays, Bd 2. Cambridge University Press, Cambridge, 2.229–2.234
- Sonnenburg A, Ahuja V, Schreiner M, Platzek T, Stahlmann R (2012) Assessment of the sensitizing potential of textile disperse dyes and some of their metabolites by the loose-fit coculture-based sensitization assay (LCSA). Arch Toxicol 86: 733–740. DOI: [10.1007/s00204-012-0811-9](https://doi.org/10.1007/s00204-012-0811-9)
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2009) Provisional peer reviewed toxicity values for 4-nitroaniline (CASRN 100-01-6). US EPA, Cincinnati, OH. <https://cfpub.epa.gov/ncea/pprtv/documents/Nitroaniline4.pdf>, abgerufen am 09 Feb 2018
- Wang G, Zhang X, Yao C, Tian M (2010) Four-week oral toxicity study of three metabolites of nitrobenzene in rats. Drug Chem Toxicol 33: 238–243. DOI: [10.3109/01480540903414156](https://doi.org/10.3109/01480540903414156)
- Wild D (1984) The sperm morphology test, a rapid in vivo test for germinal mutations. In: Baß R, Glocklin V, Grosdanoff P, Henschler D, Kilbey B, Müller D, Neubert D (Hrsg) Critical evaluation of mutagenicity tests, bga-Schriften 3/84. MMV Medizin Verlag, München, 299–306
- Young E, Zimerson E, Bruze M, Svedman C (2016) Two sensitizing oxidation products of p-phenylenediamine patch tested in patients allergic to p-phenylenediamine. Contact Dermatitis 74: 76–82. DOI: [10.1111/cod.12488](https://doi.org/10.1111/cod.12488)