

# TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNGEN

**ISBN 0937-4248**

# Imidazol

**Nr. 203**

CAS-Nr. 288-32-4



**BG Chemie**  
Berufsgenossenschaft der  
chemischen Industrie

ISSN 0937-4248

Die Erstellung der TOXIKOLOGISCHEN BEWERTUNGEN ist nach bestmöglicher Sorgfalt erfolgt, jedoch ist eine Haftung bei fehlerhaften Angaben oder Bewertungen ausgeschlossen.

© Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie, Heidelberg

Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung, vorbehalten. Nachdrucke - auch auszugsweise - nur mit ausdrücklicher Genehmigung der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie.

Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie  
Postfach 10 14 80, 69004 Heidelberg  
Telefon: 06221 523 (0) 400  
E-Mail: [ToxikologischeBewertungen@bgchemie.de](mailto:ToxikologischeBewertungen@bgchemie.de)  
Internet: [www.bgchemie.de/toxikologischebewertungen](http://www.bgchemie.de/toxikologischebewertungen)

# Imidazol

## Imidazole

### 1 Zusammenfassung und Bewertung

Imidazol wird nach einmaliger oraler Verabreichung von Mensch und Ratte unterschiedlich schnell eliminiert. Die Plasmahalbwertszeit beträgt für den Menschen ca. zwischen 1,7 und 3 Stunden, während sie für die Ratte offenbar länger ist. Innerhalb der ersten 24 Stunden nach intravenöser Applikation von [2-<sup>14</sup>C]-Imidazol sind von der Ratte mit dem Urin 14,0 ± 2 % der Radioaktivität als unverändertes Imidazol, 38,7 ± 0,7 % als Hydantoin, 31,0 ± 1,2 als Hydantoinsäure und 4,0 ± 0,4 % als nicht in ihrer Struktur aufgeklärte weitere Metaboliten ausgeschieden worden. 24 Stunden nach der Applikation ist die Restaktivität im Körper überwiegend in der Leber und den Nieren lokalisiert gewesen.

Imidazol ist aufgrund der vorliegenden Untersuchungen zur akuten Toxizität nach oraler Aufnahme gesundheitsschädlich (LD<sub>50</sub> Ratte oral zwischen 220 und ca. 970 mg/kg Körpergewicht). Im akuten bzw. subakuten Versuch werden bei verschiedenen Zufuhrwegen an Vergiftungssymptomen Speichelfluss, Opisthotonus, verringerte Futteraufnahme, erhöhter arterieller Blutdruck, Vasodilatation, Gleichgewichtsstörungen, Apathie, beschleunigte Atmung, Dyskinesie, verringerte Motilität, Beeinflussung der Enzymaktivität in der Leber, tonisch-klonische Krämpfe, Tremor und Seitenlage beschrieben.

Die Verabreichung von 62,5, 125, 250 oder 500 mg Imidazol/kg Körpergewicht/Tag per Magensonde an Ratten über 28 Tage hat bei den weiblichen Tieren ab 125 mg/kg Körpergewicht zu einem verminderten Hämoglobingehalt und ab 250 mg/kg Körpergewicht zu einem verminderten Hämatokrit- und Erythrozytengehalt des Blutes geführt, während dies bei den männlichen Tieren erst ab der obersten Dosierung von 500 mg Imidazol/kg Körpergewicht beobachtet worden ist. Ab 250 mg/kg Körpergewicht ist weiterhin starker Speichelfluss (ab 500 mg/kg mit Blutbeimengungen nach dem 15. Versuchstag), unruhiges Verhalten, Hypothermie der Extremitäten und gesträubtes Fell festgestellt worden. Bei der makroskopischen Untersuchung hat sich ab 125 mg/kg Körpergewicht bei den meisten männlichen

und ab 500 mg/kg bei den meisten weiblichen Tieren eine Hepatomegalie gezeigt, die kein histopathologisches Korrelat fand. Effekte an der Niere (ab 125 mg/kg Körpergewicht erhöhte Nierengewichte und rasterartige Zeichnung der Nierenoberfläche; ab 500 mg/kg Körpergewicht erhöhte Kreatinin- und Glutamat-Pyruvat-Transaminase-Werte) sind nur bei den männlichen Tieren aufgetreten und dürften als speziesspezifische Veränderungen der männlichen Ratten angesehen werden, für die keine Relevanz für den Menschen besteht. Der no observed adverse effect level (NOAEL) hat in dieser 28-Tage-Studie oral an der Ratte bei 62,5 mg/kg Körpergewicht gelegen.

In einer 90-Tage-Studie ist Imidazol Wistar-Ratten in Dosierungen von 0 (Kontrolle), 20, 60 oder 180 mg/kg Körpergewicht/Tag per Schlundsonde verabreicht worden. Die klinische Befundung, Augenuntersuchungen, klinisch-chemischen/hämatologischen Untersuchungen, Organgewichtsbestimmung sowie die makro- und mikropathologischen Untersuchungen sind gemäß der OECD-Richtlinie Nr. 408 durchgeführt worden. Zusätzlich sind das Verhalten (FOB - Functional Observational Battery) und die motorische Aktivität geprüft worden. Bei weiblichen Tieren sind außerdem der Östruszyklus und bei männlichen Ratten die Spermienzahl in Hoden und Nebenhoden sowie deren Beweglichkeit und Morphologie untersucht worden. Es sind keine substanzbedingten Todesfälle und keine Abweichungen von Körpergewicht, Körpergewichtsentwicklung, Futterverbrauch und Futtereffizienz im Vergleich zur Kontrolle beobachtet worden. Das gilt auch für die Untersuchungen der Augen, des Verhaltens (FOB), der motorischen Aktivität, des Östruszyklus und der Spermien. Lediglich in der obersten Dosisgruppe von 180 mg/kg Körpergewicht/Tag sind substanzbedingte, statistisch signifikante Befunde erhoben worden, die die Niere und die Leber als Zielorgan identifiziert haben. Klinisch-chemisch ist im Serum eine Erniedrigung von Chlorid und Globulin bei beiden Geschlechtern gemessen worden. Bei der Harnanalyse ist die Zahl der Übergangsepithelien im Harnsediment bei beiden Geschlechtern erhöht gewesen. Die relativen Lebergewichte sind bei männlichen Tieren um 7,5 %, bei weiblichen Tieren um 2,5 % erhöht gewesen. Als histopathologisches Korrelat ist eine minimale bis leichte zentrilobuläre Hypertrophie bei 9/10 männlichen und 2/10 weiblichen Tieren der obersten Dosierung befundet worden. Bei männlichen Ratten ist das Nierengewicht um 9,1 % erhöht gewesen. Histopathologisch ist in der höchsten Dosisgruppe bei allen männlichen Tieren eine leichte bis

mäßige diffuse Akkumulation von  $\alpha_2$ -Mikroglobulin beobachtet worden, die auch spezifisch mittels Antikörpernachweis bestätigt worden ist. Der NOAEL beträgt 60 mg/kg Körpergewicht/Tag und ist somit mit der 28-Tage-Studie an Ratten bei gleichem Zufuhrweg vergleichbar.

Imidazol wirkt beim Kaninchen an der Haut und am Auge stark reizend bis ätzend. Auch in in vitro-Testen zur schleimhautreizenden Wirkung ist Imidazol überwiegend als stark reizend bewertet worden.

Imidazol erweist sich in Untersuchungen zur Erfassung von Mutationen in Salmonella/Mikrosomen-Testen mit und ohne metabolische Aktivierung als nicht mutagen. Auch im UDS-Test an Rattenhepatozyten, im Fluktuationstest an Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli und Citrobacter freundii sowie im Spot-Test an Bacillus subtilis sind keine mutagenen Effekte beobachtet worden. Ein Mikrokerntest mit oraler Applikation an Mäuse ist ebenfalls negativ, sodass Imidazol sowohl in vitro als auch in vivo nicht genotoxisch gewirkt hat.

Im Methylnitrosoharnstoff-induzierten Mammakarzinommodell der weiblichen Sprague-Dawley-Ratte hat Imidazol, 70 mg/kg Körpergewicht/Tag ab dem 7. Tag des Versuches bis zum Ende der Studie am 187. Tag mit dem Futter verabreicht, nicht zu dem erwarteten protektiven Effekt geführt. Abhängig vom Fettgehalt der Diäten (3 oder 20 %) hat Imidazol einen leichten tumor erhöhenden Effekt ausgeübt, der signifikant war, wenn Imidazol zusammen mit der Diät verabreicht wurde, deren Fettgehalt 20 % betrug. Die Aussagekraft der Studie ist allerdings begrenzt, da keine Kontrollgruppe mitgeführt wurde, der eine Standarddiät (mit ca. 12 % Fettgehalt) verabreicht wurde. Im Mäusefibroblasten-Transformationstest hat Imidazol keine malignen Transformationen verursacht.

In einer Untersuchung auf fruchtschädigende Wirkung, die der OECD-Richtlinie Nr. 414 entspricht, ist Imidazol vom Tag 6 bis 19 der Trächtigkeit in Dosierungen von 0 (Kontrolle), 20, 60 oder 180 mg/kg Körpergewicht/Tag mit der Schlundsonde an Wistar-Ratten verabreicht worden. Bei den Muttertieren sind in der obersten Dosierung von 180 mg/kg Körpergewicht die folgenden sowohl statistisch als auch biologisch signifikanten Befunde erhoben worden. Bei 6/25 Ratten ist zwischen Tag 15 und 19 der Trächtigkeit vorübergehender Speichelfluss kurz nach der Sondierung über etwa 15 Minuten aufgetreten. Dieser ist vermutlich auf den Geschmack und

die Reizwirkung auf den oberen Verdauungstrakt zurückzuführen. Der Futtermittelverzehr ist zu Beginn der Dosierung (Tag 6 bis 8) reduziert gewesen. Zu diesem Zeitpunkt war auch der Körpergewichtszuwachs beeinträchtigt. Dessen spätere Verminderung (Tag 17 bis 20) muss auch unter dem Aspekt erniedrigter Fetengewichte und erhöhter Resorptionen bei dieser Dosierung bewertet werden. Sowohl das Körpergewicht als auch das korrigierte Körpergewicht ist in allen Dosisgruppen mit der Kontrolle vergleichbar gewesen. Ein Muttertier hat eine Vaginalblutung am Tag 20 der Trächtigkeit aufgewiesen. Als signifikante Veränderungen bei der Sektion sind ein erniedrigtes Uterusgewicht und ein erhöhter Postimplantationsverlust infolge der Spätresorptionen beobachtet worden. Bei 3 Muttertieren sind eine komplette Resorption am Ende der Behandlungsperiode und keine lebenden Feten festgestellt worden. Die Zahl der lebenden Feten/Wurf ist reduziert gewesen. Das Plazentengewicht ist erhöht, das der Feten dagegen erniedrigt gewesen. Außerdem ist die Zahl der externen Missbildungen (Anasarka und Gaumenspalten) erhöht gewesen. Bei der Untersuchung der inneren Organe sind eine missgebildete Niere sowie als Variation erweiterte Nierenbecken und erweiterte Ureter festgestellt worden. Auch ist die Anzahl an skelettalen Missbildungen (verkürzte Scapula, gebogener Radius und Ulna, geteiltes bzw. fehlpositioniertes Brustbein) und der skelettalen Variationen (vorwiegend verzögerte Ossifikation) erhöht gewesen. Der no observed adverse effect level (NOAEL) hat sowohl für Muttertiere als auch bezüglich Embryo-/Fetotoxizität bei 60 mg/kg Körpergewicht/Tag gelegen, wobei die beobachteten Missbildungen sich nicht durch die Toxizität von Imidazol auf die Muttertiere erklären lassen. In einer früheren orientierenden Studie haben sich bei der Ratte nach einmaliger oraler Verabreichung von 240 mg Imidazol/kg Körpergewicht am 12. oder 13. Trächtigkeitstag keine Hinweise auf eine teratogene Wirkung ergeben. In einer in vitro-Studie sind bei Ratten- und bei Mäuseembryonen nach Inkubation in einem mit Imidazol angereichertem Kulturmedium Missbildungen festgestellt worden. Allerdings wird die Aussagekraft der Studie durch die geringe Anzahl der eingesetzten Embryonen (6 bis 10 pro Konzentration), von denen in den einzelnen Konzentrationen auch noch 20 bis 83,3 % verendet, stark eingeschränkt. In einer nur als orientierend zu bewertenden Studie sind bei männlichen Ratten nach Injektion (keine weiteren Angaben) von  $\geq$  ca. 20 mg Imidazol/kg Körpergewicht Testosteron und luteinisierendes Hormon reduziert gewesen, woraufhin die Autoren vermutet haben, dass Imidazol möglicherweise die männliche Fertilität beeinträchtigen

könnte. In einer oralen 90-Tage-Studie an Wistar-Ratten sind aber keine histopathologischen Veränderungen an männlichen und weiblichen Geschlechtsorganen festgestellt worden. Dabei haben die Dosierungen 20 bis 180 mg/kg Körpergewicht/Tag betragen. Auch sind keine Veränderungen an den Spermien (Zahl im Hoden/Nebenhoden, deren Beweglichkeit sowie morphologische Veränderungen) und im Östruszyklus beobachtet worden.

In einer 90-Tage-Studie an Wistar-Ratten mit Dosierungen von maximal 180 mg/kg Körpergewicht/Tag per Schlundsonde sind keine substanzbedingten Verhaltensänderungen im Rahmen der Untersuchungen der Functional Observational Battery (FOB) bzw. der motorischen Aktivität beobachtet worden. Zudem sind bei der histopathologischen Untersuchung des Gehirns, des Rückenmarks sowie des peripheren Nervensystems keine substanzbedingten Befunde erhoben worden. Auf Gehirnzellen von Rattenfeten hat Imidazol in vitro keinen degenerativen Effekt ausgeübt.

Imidazol besitzt beim Tier eine analgetische, antiphlogistische, leicht antipyretische und vasodilatatorische Wirkung. Außerdem hemmt Imidazol die Thrombozytenaggregation über den Mechanismus der Hemmung von Thromboxan-Synthetasen, Prostaglandinen, Leukotrienen und Thrombin. In Rattenhepatozyten verursacht Imidazol in stark Kalzium-haltigem Medium eine erhöhte hepatozelluläre mitotische Aktivität, in menschlichen epidermalen Keratinozytenkulturen den gegenteiligen Effekt. Ex vivo bewirkt Imidazol eine Kontraktion der glatten Muskulatur der isolierten Meerschweinchentrachea bzw. des Meerschweinchen- und Kaninchendarms, der Rattenpfortader und des Ratten- und Meerschweinchenuterus. Imidazol wirkt enzyminduzierend an Rattenlebermikrosomen in vitro und in vivo und vermag die Entwicklung der bakteriellen Darmflora im Dünndarmefluat der Ratte zu hemmen und damit die Inaktivierung von Pankreasenzymen zu verzögern. Durch den enzyminduzierenden Effekt von Imidazol in der Leber kann es in vivo offenbar zu einem erhöhten Abbau von Geschlechtshormonen kommen.

Nach intramuskulärer oder intravenöser Applikation von 100 bis 250 mg Imidazol an Wöchnerinnen ist keine Wirkung auf den puerperalen Uterus beobachtet worden. Bei 29 mit der Produktion von Imidazol beschäftigten Personen sind innerhalb von 6½ Jahren 3 Fälle von Hautreizungen nach Verspritzen von Imidazol auf die Haut bei Probenahmen, Produktwechseln oder Abfüllvorgängen aufgetreten. Sensibilisierungen oder andere durch



Imidazol verursachte Erkrankungen sind nicht beobachtet worden. Nach Mitteilung des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken sind keine Fälle von Hautsensibilisierungen durch Imidazol in den dermatologischen Kliniken bekannt geworden.

Die Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft (MAK-Kommission) hat Imidazol in der MAK- und BAT-Werte-Liste 2005 auf Anregung der BG Chemie in den „Gelben Seiten“ zur Aufstellung eines MAK-Wertes aufgeführt.

## 2 Stoffname

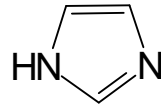
2.1	Gebrauchsname	Imidazol
2.2	IUPAC-Name	1H-Imidazol
2.3	CAS-Nr.	288-32-4
2.4	EINECS-Nr.	206-019-2

## 3 Synonyme, Trivial- und Handelsnamen

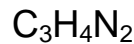
1,3-Diaza-2,4-cyclopentadiene  
1,3-Diazole  
N,N'-1,2-Ethendiylmethanimidamid  
N,N'-1,2-Ethenediyl-methanimidamide  
Formamidine, N,N'-vinylene  
Glyoxalin  
Glyoxaline  
Imidazole  
1H-Imidazole  
Imutex  
Methanimidamide, N,N'-1,2-ethenediyl-  
Miazole  
Pyrro(b)monazole  
N,N'-Vinylenformamidin

## 4 Struktur- und Summenformel

4.1 Strukturformel



4.2 Summenformel



## 5 Physikalisch-chemische Eigenschaften

5.1	Molekularmasse, g/mol	68,08	
5.2	Schmelzpunkt, °C	88 - 90 90 - 91 90,5	(EC, 2000) (Falbe und Regitz, 1997) (Lide und Frederikse, 1997)
5.3	Siedepunkt, °C	ca. 136 (bei 13 hPa) 256 257 268	(EC, 2000) (Ebel et al., 2002) (Lide und Frederikse, 1997) (EC, 2000)
5.4	Dampfdruck, hPa	0,003 (bei 20 °C)	(EC, 2000)
5.5	Dichte, g/cm <sup>3</sup>	1,0303 (bei 101 °C) 1,0257 (bei 110 °C)	(Lide und Frederikse, 1997) (Ebel et al., 2002)
5.6	Löslichkeit in Wasser	633 g/l (bei 20 °C) 241 g/100 g (bei 20 °C)	(EC, 2000) (Ebel et al., 2002)
5.7	Löslichkeit in organischen Lösemitteln	in Alkohol, Chloroform, Ether und Pyridin gut, in Benzol wenig löslich	(Falbe und Regitz, 1997)
5.8	Löslichkeit in Fett	Verteilungskoeffizient log P <sub>ow</sub> : -1,319 (berechnet) Verteilungskoeffizient log P <sub>ow</sub> : -0,02 (gemessen)	(EC, 2000) (EC, 2000)
5.9	pH-Wert	10,5 (bei 67 g/l H <sub>2</sub> O, 20 °C)	(EC, 2000)
5.10	Umrechnungsfaktor	1 ml/m <sup>3</sup> (ppm) $\triangleq$ 2,83 mg/m <sup>3</sup> 1 mg/m <sup>3</sup> $\triangleq$ 0,35 ml/m <sup>3</sup> (ppm) (bei 1013 hPa und 25 °C)	

## **6 Herstellung, Produktionsmenge und Verwendung**

### **6.1 Herstellung**

Aus Glyoxal, Formaldehyd und Ammoniak im geschlossenen System bei einem Druck von 1 bar und einer Temperatur von ca. 100 °C (BASF, 1996; Ebel et al., 2002).

### **6.2 Hergestellte oder eingeführte Menge**

> 1000 t/Jahr (VCI, 1988).

### **6.3 Verwendung**

Zwischenprodukt zur Herstellung von Pflanzenschutzmitteln, Fotochemikalien, Farben, Ionenaustauschern, Pharmazeutika, 1-Vinylimidazol und Cyanethylimidazol sowie als Katalysator bzw. Härter z. B. von Polyurethanschäumen und Epoxidharzen und nucleophiler Katalysator für Silylierungen und Acylierungen (BASF, 1996; Ebel et al., 2002; Falbe und Regitz, 1997).

## **7 Experimentelle Befunde**

### **7.1 Toxikokinetik und Metabolismus**

Nach einmaliger oraler Verabreichung von 0,24 mmol Imidazol/kg Körpergewicht (entsprechend 16,3 mg/kg Körpergewicht) wurde bei Wistar-Ratten (2 Monate alt, n = 4 bis 5) nach 6 und 12 Stunden ein Imidazol-Plasmaspiegel von 8,9 µg/ml, nach 24 Stunden von 6,1 µg/ml und nach 48 Stunden von 2,0 µg/ml erhoben. 96 Stunden nach der Verabreichung konnte Imidazol im Plasma nicht mehr nachgewiesen werden. Die Nachweisgrenze betrug 0,02 mmol/l (entsprechend 1,36 µg/ml; Pagella et al., 1983).

Männliche Wistar-Ratten (180 bis 200 g), die einmalig intravenös mit 3 µmol (150 µCi) [2-<sup>14</sup>C]-Imidazol behandelt worden waren, schieden innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Applikation mit dem Urin 14,0 ± 2 % der Radioaktivität als unverändertes Imidazol, 38,7 ± 0,7 % als Hydantoin, 31,0 ± 1,2 % als Hydantoinsäure und 4,0 ± 0,4 % als nicht in ihrer Struktur

aufgeklärte weitere Metaboliten aus. Eine Vorbehandlung mit dem Zytochrom P450-Hemmer SKF525-A erhöhte die Ausscheidung des unmetabolisierten Imidazols bei gleichzeitiger Reduzierung von Hydantoin und Hydantoinsäure, während eine Vorbehandlung mit den Zytochrom P450-Induktoren 3-Methylcholanthren und Phenobarbital keinen wesentlichen Einfluss auf die mit dem Urin ausgeschiedenen Metaboliten hatte. Die Restaktivität, angegeben als nmol Äquivalente bezogen auf Imidazol/g Gewebe bzw. ml Körperflüssigkeit, war 24 Stunden nach der Applikation insbesondere in der Leber (ca. 0,35 nmol/g), in den Nieren (ca. 0,12 nmol/g) und im Aortagewebe (ca. 0,1 nmol/g) lokalisiert. Die Radioaktivitätswerte in Plasma, Blut, Herz, Lungen, Gehirn, Muskel, Haut und Knorpelgewebe lagen jeweils unter ca. 0,03 nmol/g bzw. ml. Im Fettgewebe war keine Radioaktivität nachweisbar. Genauere Untersuchungen der im Aortagewebe gebundenen Radioaktivität ergaben, dass die Bindung im Wesentlichen an Elastin erfolgte und dass diese durch die Vorbehandlung mit SKF525-A verstärkt und durch 3-Methylcholanthren sowie Phenobarbital nicht beeinflusst wurde. In *in vitro*-Untersuchungen war die an das Elastin des Aortengewebes gebundene Radioaktivität von Kupferascorbat-katalysierten Reaktionen abhängig (Ohta et al., 1996, 1998).

Das Salz Imidazol-2-hydroxybenzoat besteht aus je 1 mol Imidazol und 2-Hydroxybenzoesäure (Salicylsäure) und besitzt ein weites Spektrum antientzündlicher Wirkungen. Als eine der beiden Komponenten erwies sich Imidazol in der Gelenkflüssigkeit vom Rind als freier Radikalfänger (Puig-Parellada und Planas, 1978). In einer Studie von Pagella et al. (1984) sollte deswegen die Penetration der beiden Komponenten - Imidazol und Salicylat - nach oraler Gabe des Salzes an männliche Sprague-Dawley-Ratten (1 mmol/kg Körpergewicht) in das Pleuraexsudat bzw. nach intravenöser Verabreichung an männliche Neuseeland-Kaninchen (0,5 mmol/kg Körpergewicht) in das Kniegelenkexsudat untersucht werden. Die Entzündungen wurden im Brustraum durch eine intrapleurale Carrageenin-Injektion und im Kniegelenk durch die Implantation eines Urat-Baumwollkugelchens in das Kniegelenk hervorgerufen. Bei der Ratte wurden 2, 4, 8, 16 und 24 Stunden nach der oralen Verabreichung Serum- und Pleuraproben entnommen und auf den Gehalt an Imidazol und Salicylat untersucht. Beide Komponenten drangen schnell in die Entzündungsherde ein, wobei das kinetische Verhalten von Imidazol mit einer Diffusion ohne spezifische Lokalisierung, d. h. in entzündete und nicht entzündete Flüssigkeiten hinein, sich vom Sa-

licylat unterschied, das sich vorzugsweise in den entzündlichen Flüssigkeiten anreicherte, wo es länger als Imidazol verblieb. Die maximale Konzentration von Imidazol im Serum und in den Exsudaten war mit 0,43 und 0,45 mmol/l (Pleura) bzw. 0,34 mmol/l (Kniegelenk) nach 2 Stunden erreicht. Die Halbwertszeit betrug 4 Stunden. Nach 16 Stunden war Imidazol weder im Serum noch in den Exsudaten nachweisbar (Pagella et al., 1984).

Die Verabreichung von 750 mg Imidazol-2-hydroxybenzoat als Tablette bzw. als Zäpfchen führte bei 10 Probanden (4 Männer, 6 Frauen) zu maximalen Plasmakonzentrationen von  $3,4 \pm 0,26$  bzw.  $2,78 \pm 0,25$   $\mu\text{g}$  Imidazol/ml. Die maximalen Plasmakonzentrationen wurden nach  $86,3 \pm 10,9$  Minuten (Tablette) bzw.  $75,2 \pm 5,4$  Minuten (Zäpfchen) beobachtet. Die Plasmaeliminationshalbwertszeit betrug  $1,70 \pm 0,19$  Stunden (Tablette) bzw.  $1,78 \pm 0,26$  Stunden (Zäpfchen). Plasmaproben wurden vor der Verabreichung sowie 30, 60, 90, 120, 240, 360 und 480 Minuten nach der Verabreichung gewonnen (Nosedá et al., 1988).

Das pharmakokinetische Profil nach einmaliger und mehrmaliger oraler Applikation in Tabletten- oder Tropfenform, die Proteinbindung, die relative Bioverfügbarkeit und der Metabolismus von Imidazol als Hauptkomponente der nicht steroidalen antiinflammatorischen Substanz Imidazol-2-hydroxybenzoat wurde an männlichen Probanden untersucht. 18 gesunde männliche Probanden (18 bis 25 Jahre)/Gruppe mit Idealkörpergewicht (innerhalb 20 %), die vor und nach Verabreichung der Substanz einer eingehenden medizinischen, biochemischen und hämatologischen Untersuchung unterzogen wurden, erhielten einmal morgens eine 750 mg-Tablette (enthielt 750 mg Imidazol-2-hydroxybenzoat) oder einmal 40 Tropfen (enthielten insgesamt 400 mg Imidazol-2-hydroxybenzoat) verabreicht. In der Studie mit wiederholter Gabe erhielten die Probanden 48 Stunden danach dreimal eine Tablette oder dreimal 40 Tropfen/Tag für 2 weitere Tage. Am 4. Versuchstag wurde nur die morgendliche Dosis verabreicht. Es wurden sehr zahlreich Blut- und Urinproben genommen und umfangreiche Laborteste durchgeführt. Die maximale Konzentration ( $C_{\text{max}}$ ) von Imidazol nach einmaliger und mehrmaliger Verabreichung in Abhängigkeit von der Verabreichungsform (Tablette oder Tropfen) sowie die Zeit, nach der die maximale Konzentration erreicht wurde ( $T_{\text{max}}$ ), und die Plasmahalbwertszeit sind in Tabelle 1 dargestellt.

**Tabelle 1. Zusammenfassung von pharmakokinetischen Parametern (Plasmaspiegel und Standardabweichung) von Imidazol nach einmaliger oder mehrmaliger Verabreichung von Imidazol-2-hydroxybenzoat in Tabletten- oder Tropfenform**

	Einmalige Verabreichung		Mehrmalige Verabreichung	
	Tabletten	Tropfen	Tabletten	Tropfen
$C_{\max}^1$	3,59 ± 0,96	3,3 ± 1,22	A 2,87 ± 0,84 B 3,11 ± 0,78	A 2,67 ± 1,22 B 2,30 ± 0,61
$T_{\max}^2$	0,79 ± 0,54	0,71 ± 0,59	A 1,04 ± 0,50 B 0,68 ± 0,51	A 0,96 ± 0,67 B 0,51 ± 0,52
$T_{1/2}^3$	2,98 ± 1,13	2,48 ± 1,19	A 2,85 ± 1,25 B 1,86 ± 0,78	A 3,47 ± 2,64 B 2,12 ± 0,91
<sup>1</sup> µg Imidazol/ml Plasma <sup>2</sup> Zeit, nach der $C_{\max}$ erreicht wurde, in Stunden <sup>3</sup> Plasmahalbwertszeit, in Stunden A erste Dosis B 10. (letzte) Dosis				

Aus den in Tabelle 1 dargestellten Parametern wird deutlich, dass die maximalen Plasmakonzentrationen nach einmaliger und mehrmaliger Verabreichung in Tabletten- und Tropfenform rasch erreicht wurden und somit eine schnelle Absorption erfolgte. Nach Erreichen der maximalen Plasmakonzentration sanken die Plasmaspiegel sehr schnell. Die Plasmahalbwertszeit war für beide galenischen Formulierungen ähnlich und Anzeichen einer Akkumulation waren nicht sichtbar. Die ursprünglich verabreichte Substanz Imidazol-2-hydroxybenzoat, das organische Salz von Imidazol und Salicylsäure, konnte weder im Plasma noch im Urin als Monosubstanz festgestellt werden, sondern lediglich Imidazol und Salicylsäure. Die Elimination von Imidazol über die Niere erfolgte ca. zu 10 bis 15 %, sodass die Autoren annahmen, dass die hauptsächlichliche Ausscheidung extrarenal (z. B. über den enterohepatischen Kreislauf) erfolgt. Die Proteinbindung von Imidazol betrug 5 bis 15 %. Die Metaboliten Hydantoin und Hydantoin-säure waren unter der Bestimmungsgrenze, da keine radioaktive Markierung durchgeführt wurde. Wegen der Abnahme der Plasmahalbwertszeit nach mehrmaliger Applikation wurde von den Autoren ein enzyminduzierender Effekt von Imidazol angenommen. Die relative Bioverfügbarkeit von Imidazol wurde nach einmaliger Verabreichung mit 138 % und nach mehrmaliger mit 113 % berechnet (Kuemmerle et al., 1986).

## 7.2 Akute und subakute Toxizität

Nach einmaliger Applikation von Imidazol wurden LD<sub>50</sub>-Werte für

Ratte	oral	zwischen 220 und ca. 970 mg/kg Körpergewicht
Maus	oral	zwischen 880 und 1880 mg/kg Körpergewicht
Meerschweinchen	oral	760 mg/kg Körpergewicht
Ratte	intraperitoneal	620 mg/kg Körpergewicht
Maus	intraperitoneal	zwischen 300 und 620 mg/kg Körpergewicht
Maus	intravenös	475 (männlich) und 507 (weiblich) mg/kg Körpergewicht
Ratte	subkutan	627 mg/kg Körpergewicht
Maus	subkutan	zwischen 560 und 817 mg/kg Körpergewicht

ermittelt, sodass die Substanz als gesundheitsschädlich anzusehen ist (hierzu siehe auch Tabelle 2).

Anfang Tabelle 2

Tabelle 2. Akute Toxizität von Imidazol						
Tierart/ Stamm	Zahl der Tiere/ Dosis	Ge- schlecht	Applikations- weg	Nachbe- obachtungs- zeitraum (Tage)	LD <sub>50</sub> (95 % Ver- trauensbereich, mg/kg Körperge- wicht)	Literatur
Ratte	k.A.	k.A.	oral	k.A.	ca. 970	BASF, 1956
Ratte	k.A.	k.A.	oral	k.A.	220	Anonym, 1993
Maus	k.A.	k.A.	oral	k.A.	880	Italfarmaco, 1983
Maus (Swiss)	k.A.	weiblich	oral	7	1191 (1070 – 1327)	Pagella et al., 1983
Maus (Swiss)	k.A.	männlich	oral	7	1321 (1183 – 1476)	Pagella et al., 1983
Maus	10	männlich	oral	k.A.	1880 ± 45	Nishie et al., 1969
Meer- schweinchen	k.A.	k.A.	oral	k.A.	760	Anonym, 1993
k.A.	k.A.	k.A.	oral	k.A.	1000 – 1500	Anonym, 1966
Ratte (Wistar)	k.A.	männlich	intraperitoneal	3	620 (496 – 775)	Ferrari, 1985
Maus	10	männlich	intraperitoneal	7	300 – 500	Doull et al., 1962
Maus	k.A.	k.A.	intraperitoneal	k.A.	ca. 520	BASF, 1956
Maus	10	männlich	intraperitoneal	k.A.	610 ± 7,4	Nishie et al., 1969

Tabelle 2. Akute Toxizität von Imidazol						
Tierart/ Stamm	Zahl der Tiere/ Dosis	Ge- schlecht	Applikations- weg	Nachbe- obachtungs- zeitraum (Tage)	LD <sub>50</sub> (95 % Ver- trauensbereich, mg/kg Körperge- wicht)	Literatur
Maus (Swiss)	k.A.	männlich	intraperitoneal	3	580 (464 – 725)	Ferrari, 1985
Maus (Swiss)	k.A.	männlich	intravenös	7	475 (457 – 493)	Pagella et al., 1983
Maus (Swiss)	k.A.	weiblich	intravenös	7	507 (472 – 544)	Pagella et al., 1983
Ratte (Wistar)	k.A.	k.A.	subkutan	k.A.	627 (586 – 681)	Angelakos und Loew, 1957
Maus	k.A.	k.A.	subkutan	k.A.	ca. 560	BASF, 1956
Maus (Swiss)	k.A.	k.A.	subkutan	k.A.	817 (681 – 953)	Angelakos und Loew, 1957
Hund	k.A.	k.A.	subkutan	k.A.	28	Anonym, 1993
k.A. keine Angaben						

Ende Tabelle 2

An Symptomen wurden bei Maus und Ratte nach oraler, intraperitonealer, intravenöser bzw. subkutaner Applikation Speichelfluss, Opisthotonus, verringerte Futteraufnahme, Gleichgewichtsstörungen, Dyskinesie, verringerte Motilität, Apathie, Dyspnoe, tonisch-klonische Krämpfe, Tremor und Seitenlage beobachtet (BASF, 1956; Bergner et al., 1969; Ferrari, 1985; Ferrari und Baggio, 1985 a, b; Ferrari et al., 1986; Nishie et al., 1969; Pagella et al., 1983; Roussinov et al., 1976).

Nach subkutaner Verabreichung traten zusätzlich nekrotische Herde an der Injektionsstelle auf (BASF, 1956).

Wurde einem Kaninchen (1670 g schwer) 3 mal innerhalb von 40 Minuten 250 mg Imidazol (entsprechend ca. 150 mg/kg Körpergewicht) subkutan verabreicht, so war das Tier eine Stunde nach der ersten Applikation bzw. 10 Minuten nach der letzten Applikation nach kurz dauernder Schreckhaftigkeit und Symptomen von Schwäche nach der 2. und 3. Applikation wieder vollkommen normal. Im Harn der nächsten 24 Stunden war reichlich Imidazol nachzuweisen (keine weiteren Angaben; Auvermann, 1918).

Wurde einer Katze (1900 g schwer) einmal 250 mg Imidazol (entsprechend 132 mg/kg Körpergewicht) subkutan verabreicht, so traten Würgen, Leckbewegungen, beschleunigte Atmung, Salivation, Erbrechen, Zittern, Temperaturerniedrigung, Schwäche und innerhalb von einigen Tagen Gewichtsverlust auf 1500 g auf. Das Tier verendete nach 7 Tagen. Erhielt eine weitere Katze (1500 g schwer) einmal 250 mg Imidazol (entsprechend 167 mg/kg Körpergewicht) subkutan verabreicht, so wurden eine geringe



Mydriasis, unregelmäßige Atmung, Dyspnoe, Erbrechen, Schwäche und Temperaturabnahme beobachtet. Am folgenden Tag war das Tier symptomfrei (keine weiteren Angaben; Auvermann, 1918).

Sprague-Dawley-Ratten erhielten 62,5, 125, 250 oder 500 mg Imidazol/kg Körpergewicht/Tag als wässrige Lösung 5 mal wöchentlich, 28 Tage lang per Schlundsonde verabreicht. Der Reinheitsgrad betrug 99 %. Pro Konzentration und Geschlecht wurden 10 Tiere eingesetzt, weitere 10 Tiere/Geschlecht dienten als Kontrolle. Untersucht wurden Verhalten und klinische Symptome, Mortalität, Futteraufnahme und Körpergewichtsentwicklung, hämatologische (Hämoglobingehalt, Hämatokritwert, MCV (mittleres Erythrozyteneinzelvolumen), MCHC (mittlere Hämoglobinkonzentration des Einzelerythrozyten), Erythrozyten- und Leukozytenzahl, Differenzialblutbild) und biochemische ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{CO}_2$ , Phosphat, Glukose, Harnstoff, Gesamteiweiß, Gesamtlipide, Gesamtbilirubin, Kreatinin, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, alkalische Phosphatase) Parameter und Harn (pH, Eiweiß, Glukose, Urobilinogen, Sediment). Am Ende des Versuches erfolgten die makroskopische Beurteilung sowie die histopathologische Untersuchung von Gehirn, Hypophyse, Herz, Lungen, Schilddrüse, Leber, Nieren, Nebennieren, Milz, Magen, Dünn- und Dickdarm, Pankreas, mesenterialen Lymphknoten, Harnblase, Hoden und Ovarien. Ab 250 mg Imidazol/kg Körpergewicht kam es zu geringgradigem bis starkem Speichelfluss (ab 16. Versuchstag), 500 mg/kg Körpergewicht bewirkten unruhiges Verhalten, Hypothermie der Extremitäten, gesträubtes Fell und starken Speichelfluss mit Blutbeimengungen ab dem 15. Versuchstag bei einzelnen Tieren. Futteraufnahme und Körpergewichtsentwicklung der männlichen Tiere lagen im Bereich der Kontrollgruppe, in der hohen Dosierung lag die Körpergewichtszunahme während des gesamten Versuches ca. 5 % unter den Werten der Kontrollgruppe. Ab 125 mg/kg Körpergewicht wurden bei den weiblichen Tieren in der 2. bzw. 4. Versuchswoche eine signifikant erhöhte Futteraufnahme und Körpergewichtsentwicklung beobachtet. Es traten keine Todesfälle auf. Bei den weiblichen Tieren lagen nach 4 Versuchswochen der Hämoglobinwert ab 125 mg/kg Körpergewicht, der Hämatokritwert und die Zahl der Erythrozyten ab 250 mg/kg signifikant unterhalb des normalen Streubereiches, bei den männlichen Tieren kam es nur in der hohen Dosierung zu substanzbedingten, signifikant erniedrigten Hämoglobin- und Hämatokritwerten. Die Kreatinin- und die Glutamat-Pyruvat-Transaminase-Werte lagen bei den männlichen Tieren in der hohen Dosisgruppe signifi-

kant über den Kontrollwerten. Die makro-pathologische Untersuchung ließ bei den männlichen Tieren ab 125 mg/kg Körpergewicht und bei den weiblichen Tieren in der hohen Dosierung von 500 mg/kg Körpergewicht eine Hepatomegalie bei 5 bis 10 von den pro Dosierung und Geschlecht eingesetzten 10 Tieren erkennen sowie bei den männlichen Tieren ab 125 mg/kg Körpergewicht eine rasterartige Zeichnung der Nierenoberfläche. Diese Befunde fanden auch Ausdruck in den signifikant erhöhten relativen Lebergewichten bei den männlichen und weiblichen Tieren ab 125 mg/kg Körpergewicht sowie Nierengewichten (männliche Tiere ab 250 mg/kg Körpergewicht) und in den signifikant erhöhten absoluten Leber- und Nierengewichten bei den weiblichen Tieren ab 125 mg/kg Körpergewicht. Außerdem war das absolute Herzgewicht bei den weiblichen Tieren ab 125 mg/kg Körpergewicht und das relative Herzgewicht nur in der höchsten Dosisgruppe von 500 mg/kg Körpergewicht signifikant erhöht. Das absolute Nebennierengewicht war bei den weiblichen Tieren nur in der 125 mg/kg Körpergewicht-Gruppe und das absolute Nebennierengewicht bei den männlichen Tieren nur in der 500 mg/kg Körpergewicht-Gruppe signifikant erhöht. Die histopathologische Untersuchung war allerdings ohne auffälligen Befund (BASF, 1976). Der no observed adverse effect level betrug in diesem Versuch 62,5 mg/kg Körpergewicht/Tag.

### **7.3 Haut- und Schleimhautverträglichkeit**

Die Prüfung der Hautreizwirkung erfolgte mit Imidazol roh (Reinheitsgrad ca. 95 %) und Imidazol technisch rein (Reinheitsgrad ca. 100 %) an der Rückenhaut weißer Kaninchen bei 5-, 15- bzw. 60-minütiger Einwirkungszeit. Beide Imidazol-Proben wurden in Form eines mit Aqua dest. angeriebenen, ca. 80-prozentigen wässrigen Breies bzw. als 50-prozentige wässrige Lösung (pH ca. 7 bzw. 10) verabreicht. Nach der Applikation wurden die Hautstellen zunächst mit unverdünntem Polyethylenglykol 400, anschließend mit einer 50-prozentigen wässrigen Polyethylenglykol 400-Lösung abgewaschen. Nach einer Einwirkungszeit von 5 Minuten trat keine primäre Hautreizung auf. Nach Applikationszeiten von 15 bzw. 60 Minuten kam es durch den wässrigen Brei zu fleckigen entzündlichen Rötungen mit leichter Schwellung und nachfolgender Ausbildung von braun pigmentierten Schuppen bzw. Krusten sowie Blutaustritten, die zum Teil unter Narbenbildung abheilten. Die 50-prozentigen, auf pH 7 bzw. 10 eingestellten

wässrigen Lösungen führten nach 15- und 60-minütiger Einwirkung nur zu einer vorübergehenden, angedeuteten Rötung, die innerhalb weniger Stunden abklang. Zwischen Imidazol roh und Imidazol technisch rein konnte in diesen Untersuchungen kein grundlegender Unterschied festgestellt werden (BASF, 1956).

Im Patch-Test wirkte auf die geschorene Rückenhaut von Kaninchen (weiße Wiener) ein mit 0,5 ml einer 80-prozentigen wässrigen Imidazol-Zubereitung beschicktes Testläppchen (2 cm x 2 cm) für 1 bzw. 4 Stunden ein („Ätztest“). Nach Entfernung des Läppchens wurde die behandelte Hautstelle mit Polyethylenglykol 400 und anschließend mit einem Gemisch mit Wasser (1 : 1) abgewaschen. Nach 1-stündiger Einwirkung traten bei den 4 eingesetzten Kaninchen (ein männliches und 3 weibliche) leichte Hautrötungen auf. An den beiden nachfolgenden Versuchstagen wurden leichte Rötungen und leichte Ödeme beobachtet. Am 8. Tag der Nachbeobachtungsperiode hatten sich die Ödeme vollständig zurückgebildet. Als Residualerscheinungen traten neben Schuppenbildung fleckige, oberflächliche Nekrosen auf. Direkt im Anschluss an die 4-stündige Einwirkung traten bei den 2 eingesetzten Kaninchen eine starke übergreifende Rötung und ein starkes Ödem auf. 24 Stunden nach der Applikation wurden eine weiche Nekrose und ein deutliches Ödem beobachtet. Am Ende der 8-tägigen Nachbeobachtungsperiode waren noch ein leichtes Ödem und eine Nekrose mit pergament- bis lederartiger Konsistenz zu erkennen. Resorptive Vergiftungssymptome wurden nach 1- bzw. 4-stündiger Einwirkungszeit nicht beobachtet. Imidazol wurde nach den Ergebnissen mit 4-stündiger Einwirkung als ätzend bezeichnet (BASF, 1979 a).

In einem weiteren Patch-Test wirkte ein mit ca. 0,5 ml 80-prozentiger wässriger Imidazol-Zubereitung getränktes Testläppchen (ca. 2,5 cm x 2,5 cm) für 24 Stunden auf die intakte bzw. skarifizierte Rückenhaut von 3 weißen Kaninchen ein. 24 Stunden nach der Applikation waren an der intakten bzw. skarifizierten Haut weiche Nekrosen und deutlich erkennbare Ödeme sichtbar. Innerhalb der 8-tägigen Nachbeobachtungsperiode erlangten die Nekrosen eine pergamentartige Konsistenz, die Ausprägung der Ödeme blieb nahezu unverändert. Resorptive Vergiftungssymptome wurden nicht beobachtet. Aus den Befundungen 24 und 72 Stunden nach Versuchsbeginn ergab sich ein primärer Reizwert von ca. 5,6 bei einem möglichen Maximalwert von 8,0 (BASF, 1979 b). Nach diesen Ergebnissen muss Imidazol an der Haut als stark reizend bis ätzend beurteilt werden.

Die Prüfung der Augenreizwirkung erfolgte mit Imidazol roh (Reinheitsgrad ca. 95 %) und Imidazol technisch rein (Reinheitsgrad ca. 100 %). Dazu wurde von beiden Produkten jeweils ca. 0,1 g Imidazol in kristalliner Form bzw. ein Tropfen einer 50-prozentigen wässrigen Imidazol-Lösung (pH ca. 7 bzw. 10) in den Konjunktivalsack des Kaninchenauges eingebracht und vorsichtig über die Augenfläche verteilt. Kristallines Imidazol bewirkte eine starke Rötung und Schwellung der Bindehaut sowie eine deutliche diffuse Hornhauttrübung. Die akuten entzündlichen Erscheinungen klangen innerhalb von 10 bis 12 Tagen ohne bleibende Schäden ab. Die durch die 50-prozentige, auf ca. pH 10 eingestellte wässrige Lösung hervorgerufene Reizung glich praktisch derjenigen, die durch die pulverförmige Substanz ausgelöst wurde, während die 50-prozentige wässrige Lösung mit einem pH-Wert von ca. 7 deutlich weniger reizte (leichte Rötung und Ödeme). Zwischen Imidazol roh und Imidazol technisch rein bestand kein Unterschied. In diesen Untersuchungen wirkte Imidazol am Auge stark reizend (BASF, 1956).

In einer weiteren Prüfung zur Augenreizwirkung erhielten 3 Kaninchen (weiße Wiener, 2 männliche, ein weibliches) ca. 0,1 ml (Schüttvolumen) Imidazol in den Bindehautsack des rechten Auges appliziert. 24 Stunden nach Substanzapplikation waren am Auge eine deutliche Hornhauttrübung und eine leichte Entzündung der Regenbogenhaut sichtbar. Die Bindehaut war deutlich gerötet und wies bei vermehrter Tränensekretion ein gut erkennbares Ödem auf. Als Ausdruck einer irreversiblen Gewebeschädigung ließen sich nach 24 Stunden eine graue, nach 8 Tagen eine weiße Verfärbung der Nickhaut, eine Narbenbildung am Augenlid und nach 8 Tagen Haarausfall im Bereich der Augenlider erkennen. Die Symptome waren nach 8 Tagen nicht abgeklungen. Aus den Befunden 24, 48 und 72 Stunden nach Versuchsbeginn ergab sich auf der Draize-Bewertungsskala ein durchschnittlicher Reizwert von 57,4 von maximal 110 Punkten (BASF, 1979 c). Imidazol wirkte somit stark augenreizend bis ätzend.

Imidazol wurde als Referenzsubstanz zur Validierung von alternativen in vitro-Testmethoden zur Beurteilung der Schleimhautreizwirkung nach den Richtlinien 84/449/EWG und 91/325/EWG und den französischen Prüfrichtlinien von 1984 und 1991 an 3 Kaninchen auf seine schleimhautreizende Wirkung in vivo untersucht. Den Tieren wurden jeweils 100 mg des kristallinen Stoffes, der eine Reinheit von 99 % hatte, in den Bindehautsack eines Auges appliziert. Eine Stunde nach der Applikation wurden die Augen mit

0,9-prozentiger NaCl-Lösung gespült. Befundungen erfolgten nach einer Stunde sowie 1, 2, 3, 4, 7 und 14 Tagen. Corneale Läsionen wurden mit Hilfe von Fluorescein-Lösung sichtbar gemacht. Die Behandlung führte zu Hornhauttrübungen bis zur temporären vollständigen Opazität, deutlichen Entzündungsreaktionen der Iris und Veränderungen der Konjunktiva mit sehr starker diffuser Rötung sowie deutlicher bis sehr starker Schwellung und ausgeprägtem Augenausfluss. Bis 7 Tage nach der Applikation waren die Befunde nicht und bis 14 Tage nach der Applikation nur teilweise reversibel. Eine Befundung nach 21 Tagen wurde nicht vorgenommen. Als mittlerer Reizindex nach 3 Tagen, dem Befundungstermin, an dem die stärksten Reizeffekte festgestellt wurden, wurde ein Wert von 59,3 bei einem maximal möglichen Reizindex von 110 errechnet und Imidazol als stark reizend bewertet. Die mittleren Reizindices nach einem Tag bzw. 14 Tagen betragen 48 bzw. 43 (Balls et al., 1995; ECETOC, 1998; Gautheron et al., 1994 a, b; Gilleron et al., 1996). Anmerkung: Gautheron et al. (1994 b) geben als mittleren Reizindex nach 3 Tagen 54,3 an.

Die mit Imidazol durchgeführten alternativen in vitro-Teste zur schleimhautreizenden Wirkung sind in der folgenden Tabelle 3 zusammengefasst. In der Mehrzahl der Prüfungen ist Imidazol, wie auch in den in vivo-Untersuchungen, als stark reizend beurteilt worden (siehe Tabelle 3).

Anfang Tabelle 3

<b>Tabelle 3. Wirkung von Imidazol in in vitro-Testsystemen zur schleimhautreizenden Wirkung</b>			
<b>Testsystem</b>	<b>Untersuchte Parameter, Befund</b>	<b>Beurteilung</b>	<b>Literatur</b>
Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Assay, Interlabor-Versuch mit 12 teilnehmenden Instituten, Inkubation der Rindercorneae für 10 Minuten in einer 20-prozentigen Testsubstanzformulierung	Messung der Corneatrübung und der Permeabilität der Cornea für Fluorescein; mittlerer Reizindex der 12 Institute 87,9 bei einer Spanne von 62 bis 140; Bewertung als stark reizend bei einem Index $\geq 55,1$	stark reizend	Gautheron et al., 1994 b
Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Assay, Inkubation der Rindercorneae für 4 Stunden in einer 20-prozentigen Testsubstanzformulierung	Messung der Corneatrübung und der Permeabilität der Cornea für Fluorescein; mittlere Reizindices in zwei unabhängigen Testreihen 120,7 bzw. 111,3; Bewertung als stark reizend bei einem Index $\geq 55,1$	stark reizend	Harbell und Curren, 1998
Maus-Cornea-Permeabilitätstest, Applikation der unverdünnten Testsubstanz für eine Minute auf die Mauscornea	Messung der Permeabilität der Cornea für den fluoreszierenden Farbstoff Sulforhodamin B; Reizindex 10 bei einem maximal möglichen Reizindex von 10	Reizindex von 10 (maximal möglicher Reizindex)	Maurice und Brooks, 1995

Tabelle 3. Wirkung von Imidazol in in vitro-Testsystemen zur schleimhautreizenden Wirkung			
Testsystem	Untersuchte Parameter, Befund	Beurteilung	Literatur
Madin-Darby-Canine-Kidney-(MDCK) cells-Permeabilitätstest, Inkubation der Hundenierenzellmonolayer für 15 Minuten mit verschiedenen Testkonzentrationen	Bestimmung der Substanzkonzentrationen, die zu einer 20- bzw. 50-prozentigen Permeabilität des Hundenierenzellmonolayers für Fluorescein führt; eine Konzentration von 52,0 mg/ml führte zu einer 50-prozentigen Permeabilität (FL-50-Wert von 52); Bewertung als stark reizend bei FL-50-Werten $\leq 100$	stark reizend	Gautheron et al., 1994 a
Hen's egg test - Chorioallantoin Membrane (HET-CAM-TSA) Assay, Applikation der kristallinen Testsubstanz für 20 Sekunden auf einen durch einen Teflonring räumlich begrenzten Teil der Chorioallantoinmembran des 10 Tage bebrüteten Hühnereis, zwei unabhängige Studien	standardisierte zeitabhängige mikroskopische Beurteilung der mit der Testsubstanz in Kontakt gekommenen Chorioallantoinmembran im Vergleich zu unbehandelten Arealen der Membran, Berechnung eines Reizindex von $187 \pm 0,9$ bzw. $19,43 \pm 0,49$ ; Bewertung als reizend (keine Differenzierung zwischen mäßig, stark und extrem) bei Indices von 5,0 bis 21,0	reizend	Gilleron et al., 1996, 1997
Neutral Red Uptake Assay, Interlabor-Versuch mit 4 teilnehmenden Instituten, Inkubation von Maus Balb/c 3T3, Klon A31-Zellen in bis zu 1-prozentigen Testsubstanzformulierungen für 24 Stunden	Messung der Neutralrotaufnahme der als Monolayer kultivierten Zellen und Bestimmung eines $NR_{50}$ -Wertes (Konzentration, die eine 50-prozentige Reduzierung der Neutralrotaufnahme gegenüber der Kontrolle bewirkt) mit anschließender Extrapolation auf einen Draize-Index im Bereich von 0 bis 110; extrapolierter mittlerer Draize-Index der 4 Institute 15,83 bei einer Spanne von 12,94 bis 18,43	Reizindex von 15,83 bei einem maximal möglichen Reizindex von 110	Brantom et al., 1997; Jones et al., 1999

Ende Tabelle 3

## 7.4 Sensibilisierende Wirkung

Keine Information vorhanden.

## 7.5 Subchronische und chronische Toxizität

In einer Studie mit Schlundsondierung erhielten Wistar-Ratten Imidazol (Reinheit 99,8 %) über 90 Tage in Dosierungen von 0 (Vehikelkontrolle Wasser), 20, 60 oder 180 mg/kg Körpergewicht/Tag verabreicht. Die klinische Befundung, Augenuntersuchungen, klinisch-chemischen/hämatologischen Untersuchungen, Organgewichtsbestimmung sowie die makro- und mikropathologischen Untersuchungen entsprachen denen der OECD-Richtlinie Nr. 408. Zusätzlich wurden das Verhalten (FOB - Functional Observational Battery) sowie die motorische Aktivität geprüft. Bei weiblichen Tieren wurde der Östruszyklus und bei männlichen Ratten wurden die An-

zahl der Spermien in Hoden und Nebenhoden sowie deren Beweglichkeit und Morphologie untersucht. Es wurden keine substanzbedingten Todesfälle beobachtet und Körpergewicht, Körpergewichtsentwicklung, Futterverbrauch und Futtereffizienz waren ebenso unbeeinflusst. Das gilt auch für die Ergebnisse der Untersuchungen der Augen, des Verhaltens (FOB) und der motorischen Aktivität sowie des Östruszyklus und der Spermien. Lediglich bei Gabe von 180 mg/kg Körpergewicht/Tag wurden substanzbedingte Befunde erhoben, welche die Niere und die Leber als Zielorgan identifizierten. Hier kam es bei den Untersuchungen zur klinischen Chemie zur signifikanten Erniedrigung der Chlorid- und Serumglobulin-Werte in beiden Geschlechtern. Bei weiblichen Tieren waren zusätzlich das Gesamtprotein und das Albumin erniedrigt. Bei der Harnanalyse war die Zahl der Übergangsepithelzellen im Harnsediment bei beiden Geschlechtern signifikant erhöht. Andere Befunde bezüglich klinischer Chemie/Hämatologie wurden nicht beobachtet. Die relativen Lebergewichte waren bei männlichen Tieren um 7,5 %, bei weiblichen Tieren um 2,5 % signifikant erhöht. Als histopathologisches Korrelat zeigte sich eine minimale bis leichte zentrilobuläre Hypertrophie bei 9/10 männlichen und 2/10 weiblichen Tieren der obersten Dosierung. Bei männlichen Ratten war das Nierengewicht signifikant um 9,1 % erhöht. Histopathologisch wurde bei allen männlichen Tieren eine leichte bis mäßige diffuse Akkumulation von  $\alpha$ 2u-Mikroglobulin in den Epithelien und Lumina der proximalen Tubuli im Nierenkortex beobachtet. Dies wurde sowohl anhand der Mallory-Heidenhain-Färbung (unspezifisch) als auch spezifisch mit Antikörpernachweis diagnostiziert. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die 90-tägige Verabreichung von Imidazol an Ratten mittels Schlundsonde lediglich in der obersten Dosierung geringe substanzbedingte Befunde hervorrief, welche Leber und Niere als Zielorgane identifizierten. Der NOAEL betrug 60 mg/kg Körpergewicht/Tag und ist somit mit der 28-Tage-Studie an Ratten bei selbem Zufuhrweg vergleichbar (BASF, 2002 a).

## **7.6 Gentoxizität**

### **7.6.1 In vitro**

Imidazol (99,9 % rein) wurde im Standard-Plattentest und im Präinkubationstest ohne und mit metabolischer Aktivierung durch mit Aroclor 1254 induziertem Leber-S9-Mix an den *Salmonella typhimurium*-Stämmen

TA 98, TA 100, TA 1535 und TA 1537 auf seine mutagenen Eigenschaften untersucht (nach OECD-Richtlinie Nr. 471). In dem untersuchten Konzentrationsbereich von 20 bis 5000 µg/Platte zeigte sich keine bakteriotoxische und keine mutagene Wirkung (BASF, 1992).

Imidazol wurde im direkten Plattentest an den Salmonella typhimurium-Stämmen TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537 sowie TA 1538 bzw. an Escherichia coli WP/2Hcr<sup>-</sup> auf mutagene Eigenschaften überprüft. Die Konzentrationen betragen 10 bis 2000 µg Imidazol/Platte. Eine bakteriotoxische Wirkung wurde nicht beobachtet. Die Studie wurde nur ohne metabolische Aktivierung durchgeführt. Es ergab sich kein Anhalt für eine mutagene Wirkung (Momii et al., 1979).

An den Salmonella typhimurium-Stämmen TA 1535 bzw. TA 1537 erwies sich Imidazol (Reinheitsgrad 99 %) in Konzentrationen von 34,1 bzw. 68,1 µg/Platte ohne und mit metabolischer Aktivierung (S9-Mix aus mit Natriumphobarbital und β-Naphthoflavon induzierter Rattenleber) im Plattentest mit Vorinkubation als nicht mutagen. Eine bakteriotoxische Wirkung wurde nicht beobachtet (Gatehouse und Wedd, 1983).

Im Salmonella/Mikrosomen-Test an den Salmonella typhimurium-Stämmen TA 97, TA 98, TA 100 und TA 102 zeigte Imidazol (> 99 % rein) in zwei unabhängigen Experimenten ohne und mit metabolischer Aktivierung durch mit β-Naphthoflavon- und Phenobarbital- oder Aroclor 1254-induziertem Rattenleber-S9-Mix keine mutagene Wirksamkeit. In dem untersuchten Konzentrationsbereich von 0,625 bis 10,0 mg/Platte wurde auch keine Bakteriotoxizität beobachtet. Auch die ebenfalls untersuchten Metaboliten von Imidazol, Hydantoin und N-Acetyl-Imidazol, zeigten keine mutagene Wirksamkeit (Forster et al., 1992).

Imidazol wurde in Japan in verschiedenen gekochten Fleischgerichten als Produkt der Maillard-Reaktion (nicht enzymatische Bräunung) festgestellt. Ebenfalls konnten die drei so genannten IQ-Typ-Mutagene IQ (2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]chinolin), MeIQx (2-Amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]chinoxalin) und MeIQ (2-Amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]chinolin) im Saft gekochten Schweinefleisches nachgewiesen werden. Um zu untersuchen, ob Maillard-Reaktionsprodukte an der Bildung der IQ-Typ-Mutagene beteiligt sind, wurde die Gentoxizität des Saftes gekochten Schweinefleisches nach Aufbereitung ohne und mit Zusatz von Imidazol im Salmonella typhimu-



rium-Stamm TA 98 im Platteninkorporationstest mit Zugabe von Aroclor 1254-induziertem Rattenleber-S9-Mix untersucht. Während sich der Fleischsaft als mutagen erwies ( $704 \pm 109$  Revertanten/Platte), vermochte die Zugabe von Imidazol ( $126 \mu\text{M}$ ) die Anzahl der Revertanten/Platte signifikant zu vermindern ( $142 \pm 34$  Revertanten/Platte; keine Angaben über das Mitführen einer Kontrollgruppe; Lee et al., 1995).

In einem UDS-Test an primären Rattenhepatozyten wurde Imidazol (> 99 % rein) in drei unabhängigen Experimenten bis in den toxischen Konzentrationsbereich hinein (höchste Konzentration) untersucht (0,25 bis 4,00 mg/ml) und bewirkte keine Induktion einer erhöhten DNA-Reparaturrate (Forster et al., 1992).

Im Fluktuationstest an *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* K12 · Hfr Hayes und *Citrobacter freundii* ergaben sich ebenfalls keine Anhaltspunkte für mutagene Eigenschaften. Als Indikator diente die Streptomycin-Resistenz. An *Klebsiella pneumoniae* wurde Imidazol in einer Konzentration von 20 mmol/l (entsprechend 1,36 mg/ml) überprüft (keine weiteren Angaben; Voogd, 1975; Voogd et al., 1979).

Auch im Spot-Test an *Bacillus subtilis* H 17 (Rec<sup>+</sup>) und M 45 (Rec<sup>-</sup>) ergaben sich keine Hinweise auf mutagene Eigenschaften bei Konzentrationen von 10 bis 1000  $\mu\text{g}$  Imidazol/Filterplättchen (Momii et al., 1979).

### 7.6.2 In vivo

In einem Mikrokerntest nach der OECD-Richtlinie Nr. 474 wurde je 5 weiblichen und 5 männlichen NMRI-Mäusen/Gruppe Imidazol (Imidazolhydrochlorid, 99,5 % rein) in den Dosierungen von 500, 1000 oder 2000 mg/kg Körpergewicht einmal oral per Schlundsonde verabreicht. Nach 24 Stunden bzw. in der hohen Dosisgruppe nach 16, 24 oder 48 Stunden wurden je 1000 polychromatische Erythrozyten/Tier nach Präparation aus dem Knochenmark der Femura auf das Vorhandensein von Mikrokernen untersucht und die Ergebnisse mit einer Negativkontrolle und zwei Positivkontrollgruppen (Cyclophosphamid, Vincristin) verglichen. Die Anzahl an mikrokernhaltigen polychromatischen Erythrozyten war in keiner der Dosis- und Präparationsgruppen erhöht. Auch wurde keine Veränderung des Verhältnisses von polychromatischen zu normochromatischen Erythrozyten und somit keine Hemmung der Erythropoese beobachtet. Somit zeigte Imidazol in

dieser Untersuchung keine chromosomenschädigenden Effekte und keine Spindelgiftwirkung (BASF, 1993).

## 7.7 Kanzerogenität

Die antikanzerogene bzw. chemopräventive Wirkung von Imidazol (> 99 % rein) als Thromboxan-Synthetase-Inhibitor wurde anhand der chemisch induzierten Mammakarzinomentwicklung an der Ratte untersucht. 7 Tage nach einmaliger subkutaner Injektion von 40 mg N-Methyl-N-nitrosoharnstoff/kg Körpergewicht an weibliche Sprague-Dawley-Ratten erhielten die Tiere Imidazol (1000 mg/kg Diät, entsprechend ca. 70 mg/kg Körpergewicht/Tag) in ihrem Futter bis zum Ende der Studie verabreicht (Studien-dauer 187 Tage). Imidazol hatte keinen präventiven Effekt auf die Bildung der Mammatumoren, woraus die Autoren schlossen, dass die chemische Inhibition der Thromboxan-Synthetase kein sinnvoller Mechanismus in der Chemoprävention von Brustkrebs ist. Im Gegensatz dazu führte die Imidazol-Verabreichung, abhängig vom Fettgehalt der Diät (3 oder 20 %), zu einer Erhöhung der Mammakarzinominzidenz von 78 auf 92 % in der Niedrigfett-Diät und signifikant auf 96 % in der Hochfett-Diät. Dabei wurden für die Bewertung lediglich histologisch als maligne beurteilte Mammakarzinome, nicht aber die in dieser Studie nur selten beobachteten benignen Mammatumoren (< 0,2 Tumoren/Ratte in allen Gruppen) herangezogen. Auch die Tumortalenzzeit war in den mit Imidazol behandelten Gruppen erniedrigt und die Anzahl der Tumoren/Ratte erhöht (in der Niedrigfett-Diät um 30 %; nicht signifikant; siehe Tabelle 4). Das Körpergewicht war in beiden Diätgruppen durch die Imidazol-Verabreichung signifikant vermindert. Die tumorbedingte Mortalität wurde nicht beeinflusst, auch zeigte sich keine organspezifische Toxizität von Imidazol bei der Sektion.

Anfang Tabelle 4

Tabelle 4. Einfluss von Imidazol auf die MNH-induzierte Mammakarzinomentwicklung								
Gruppe	Anzahl der eingesetzten Tiere	MNH-Dosis (mg/kg Körpergewicht)	Fettgehalt der Diät (%)	Imidazol-Dosis (mg/kg Diät <sup>3</sup> )	Karzinominzidenz (%)	Tumortalenzzeit (T <sub>50</sub> , Tage)	Anzahl der Karzinome/Ratte	Körpergewicht (g)
1	20	0	3	0	0		0	298 ± 10
2	10	0	3	1000	0		0	295 ± 6
3	20	0	20	0	0		0	297 ± 10
4	10	40	20	1000	0		0	280 ± 7
5	50	40	3	0	78	120	2,16	292 ± 5

Tabelle 4. Einfluss von Imidazol auf die MNH-induzierte Mammarkarzinomentwicklung								
Gruppe	Anzahl der eingesetzten Tiere	MNH-Dosis (mg/kg Körpergewicht)	Fettgehalt der Diät (%)	Imidazol-Dosis (mg/kg Diät <sup>3</sup> )	Karzinominzidenz (%)	Tumoraltenzzeit (T <sub>50</sub> , Tage)	Anzahl der Karzino-me/Ratte	Körpergewicht (g)
6	25	40	3	1000	92	99	2,77	277 ± 5 <sup>1</sup>
7	50	40	20	0	78	98	2,67	287 ± 5
8	25	40	20	1000	96 <sup>1</sup>	75	2,69	269 ± 4 <sup>2</sup>
MNH	N-Methyl-N-nitrosoharnstoff							
<sup>1</sup>	p < 0,05 gegenüber der entsprechenden Kontrollgruppe							
<sup>2</sup>	p < 0,01 gegenüber der entsprechenden Kontrollgruppe							
<sup>3</sup>	entsprechend ca. 70 mg/kg Körpergewicht/Tag							

Ende Tabelle 4

Demnach übte Imidazol in diesem Methylnitrosoharnstoff-induzierten Mammarkarzinommodell der weiblichen Sprague-Dawley-Ratte einen leichten tumor erhöhenden Effekt aus, der signifikant war, wenn Imidazol zusammen mit einer Diät verabreicht wurde, deren Fettgehalt 20 % betrug (McCormick et al., 1989). Die Aussagekraft der Studie ist begrenzt, da keine Kontrollgruppe mitgeführt wurde, der eine Standarddiät (mit ca. 12 % Fettgehalt) verabreicht wurde.

Im M2-C3H-Mäusefibroblasten-Transformationstest verursachte Imidazol (> 99 % rein) im Konzentrationsbereich von 100 bis 4000 µg/ml keine malignen Transformationen (Forster et al., 1992).

## 7.8 Reproduktionstoxizität

In einer Untersuchung auf fruchtschädigende Wirkung, die der OECD-Richtlinie Nr. 414 entspricht, wurde Wistar-Ratten Imidazol (Reinheit 99,8 %) vom Tag 6 bis 19 der Trächtigkeit mit der Schlundsonde verabreicht. Die Dosierungen betragen 0 (Vehikelkontrolle Wasser), 20, 60 oder 180 mg/kg Körpergewicht/Tag. Während der Studie wurden die Muttertiere auf klinische Befunde beobachtet sowie Körpergewicht und Futterverzehr und nach der Sektion das korrigierte Körpergewicht gemessen. Bei der Sektion wurden die Muttertiere auf makroskopische Veränderungen untersucht und die Zahl der Gelbkörper im Ovar, die Konzeptionsrate, die Anzahl der lebenden Feten und der Prä- und Postimplantationsverlust bestimmt. Die Feten wurden gewogen, ihr Geschlecht wurde bestimmt und sie wurden makroskopisch auf äußere Veränderungen untersucht. Bei der einen Hälfte der Feten wurden nach Fixierung die inneren Organe untersucht, während bei der anderen Hälfte das Skelett einschließlich der Knor-

pel nach Fixierung und Färbung befundet wurde. Bei den Muttertieren wurden in der obersten Dosierung von 180 mg/kg Körpergewicht die folgenden statistisch signifikanten Befunde erhoben. Bei 6/25 Ratten wurde zwischen Tag 15 und 19 der Trächtigkeit vorübergehender Speichelfluss kurz nach der Sondierung über etwa 15 Minuten beobachtet. Dieser ist vermutlich auf den Geschmack und die Reizwirkung auf den oberen Verdauungstrakt zurückzuführen. Der Futterverzehr war zu Beginn der Dosierung (Tag 6 bis 8) um 13 % reduziert. Zu diesem Zeitpunkt war auch der Körpergewichtszuwachs (-45 %) beeinträchtigt. Dessen spätere Verminderung (Tag 17 bis 20; -34 %) muss auch unter dem Aspekt erniedrigter Fetengewichte und erhöhter Resorptionen bei dieser Dosierung bewertet werden. Sowohl das Körpergewicht als auch das korrigierte Körpergewicht waren in allen Dosisgruppen mit der Kontrolle vergleichbar. Ein Muttertier wies eine Vaginalblutung am Tag 20 der Trächtigkeit auf. Bei der Sektion wurden ein erniedrigtes Uterusgewicht (26 % unter dem Kontrollkollektiv) sowie ein erhöhter Postimplantationsverlust (43 % gegenüber 8 % in der Kontrolle) infolge der Spätresorptionen festgestellt. 3 der 24 Muttertiere wiesen eine komplette Resorption am Ende der Behandlungsperiode auf und hatten keine lebenden Feten. Die Zahl der lebenden Feten pro Wurf war reduziert. Die Geschlechtsverteilung der Feten war mit der Kontrolle vergleichbar, jedoch war das Plazentengewicht bei 180 mg/kg Körpergewicht/Tag gegenüber der Kontrolle um 22 % erhöht, das Gewicht der Feten dagegen um 14 % erniedrigt. Die Zahl der externen Missbildungen (Anasarka und Gaumenspalten) war mit 13/132 Feten (10 %) in 7/21 Würfen (33 %) gegenüber der Kontrolle (9 bzw. 0 %) erhöht. Bei der Untersuchung der inneren Organe wurden eine missgebildete Niere sowie als Variation erweiterte Nierenbecken und erweiterte Ureter (27,1 % gegenüber 6,4 % in der Kontrolle; statistisch signifikant) festgestellt. Skelettale Missbildungen wurden in 7/73 Feten (9,6 %) und 5/21 Würfen (24 %) beobachtet. Die entsprechenden Kontrollwerte lagen bei 7,8 bzw. 1,1 %. Es handelte sich um verkürzte Scapula, gebogener Radius und Ulna sowie geteiltes bzw. fehlpositioniertes Sternum. Zudem war die Anzahl der skelettalen Variationen (vorwiegend verzögerte Ossifikation, 98,4 gegenüber 91,1 % in der Kontrolle) statistisch signifikant erhöht und lag auch außerhalb der historischen Kontrollinzidenz des Labors. Eine Dosierung von 60 mg/kg Körpergewicht und Tag verursachte lediglich eine geringere Körpergewichtszunahme am Tag 8 bis 10 der Trächtigkeit, was nicht als toxischer Effekt gewertet wurde. Weitere Befunde wurden nicht beobachtet. Somit lag der no observed adverse effect level

(NOAEL) sowohl für Muttertiere als auch bezüglich Embryo-/Fetotoxizität bei 60 mg/kg Körpergewicht/Tag, wobei die beobachteten Missbildungen sich nicht durch die Toxizität von Imidazol auf die Muttertiere erklären lassen (BASF, 2002 b).

6 trächtige Wistar-Ratten erhielten am 12. oder 13. Trächtigkeitstag (keine weiteren Angaben) einmalig 240 mg Imidazol/kg Körpergewicht oral per Magensonde verabreicht. Die Dosierung lag im maximal verträglichen Bereich (keine weiteren Angaben). Die Laparotomie fand am 22. Trächtigkeitstag statt.  $\frac{2}{3}$  der Feten wurden für die Skelett- und  $\frac{1}{3}$  für die Weichteiluntersuchung verwendet. Es standen 70 lebende Feten von 6 Würfen zur Verfügung. Das Gewicht sowie die Körperlänge der Feten, das Verhältnis von toten zu lebenden Feten und die Anzahl der Resorptionen und Corpora lutea blieben unbeeinflusst. Es ergaben sich keine Hinweise für substanzbedingte Missbildungen bzw. Variationen/Retardierungen (Ruddick et al., 1976).

In einem in vitro-Versuch zur reproduktionstoxischen Wirkung von Imidazol wurden am 10. Gestationstag explantierte Rattenembryonen (Sprague-Dawley-CD) und am 8. Gestationstag explantierte Mäuseembryonen (CD-1) für 48 Stunden in Rattenserum mit 0 (Kontrollen), 30 bzw. 60 µg Imidazol/ml kultiviert. Von den Rattenembryonen verendeten 0/8 (Kontrolle), 2/10 bzw. 3/8 und von den Mäuseembryonen 0/6 (Kontrolle), 2/6 bzw. 5/6. Bei den überlebenden Embryonen der Kontrollgruppen kam es zu keinen Missbildungen. Von den überlebenden mit Imidazol behandelten Rattenembryonen hatten 5/8 bzw. 4/5 und von den Mäuseembryonen 2/4 bzw. 1/1 Missbildungen (verkleinertes Gehirn, klare Blasen in der kaudalen Region des Embryos sowie Veränderungen im Bereich der Kiefer und der Nase; keine weiteren Angaben). Ferner war bei den Rattenembryonen in beiden Gruppen die Scheitel-Rumpf-Länge reduziert. Somitenzahl und Dottersackdurchmesser blieben durch die Behandlung mit Imidazol unbeeinflusst (Daston et al., 1989).

Die Injektion (keine weiteren Angaben) von Imidazol führte bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten ab einer Dosis von ca. 300 µmol (ca. 20 mg)/kg Körpergewicht zu einer dosisabhängigen Reduzierung der Testosteronkonzentrationen im Serum und in der interstitiellen testikulären Flüssigkeit, der Konzentration an luteinisierendem Hormon im Serum und der Menge an interstitieller testikulärer Flüssigkeit. Die parallel geprüften Imidazol-Derivate 1- und 4-Methylimidazol sowie das Imidazol-Fungizid Ketokonazol hatten

auf molarer Basis eine stärker ausgeprägte Wirkung als die Stammverbindung Imidazol. 2-Methylimidazol war geringer wirksam. Von den Autoren wurde vermutet, dass Imidazole die männliche Fertilität beeinträchtigen könnten (Adams et al., 1998).

In einer oralen 90-Tage-Studie an Wistar-Ratten mit Dosierungen von 20 bis 180 mg/kg Körpergewicht/Tag wurden keine histopathologischen Veränderungen an männlichen und weiblichen Geschlechtsorganen festgestellt (siehe Kapitel 7.5). Auch wurden keine Veränderungen an den Spermien (Zahl im Hoden/Nebenhoden, deren Beweglichkeit sowie morphologische Veränderungen) und im Östruszyklus beobachtet (BASF, 2002 a).

Der Einfluss von Imidazol auf das Sexualverhalten männlicher Mäuse wurde anhand von Verhaltenstesten mit weiblichen Tieren an Gruppen von je 12 bis 13 männlichen ICR-Mäusen untersucht. 30 Minuten vor der Untersuchung erhielten die Tiere 37,5, 75, 150 oder 300 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal verabreicht. Ab Dosen von 150 mg/kg verursachte Imidazol eine Dämpfung des Sexualverhaltens, was im Gegensatz zu der Beobachtung eines stimulierenden Effektes bei männlichen Ratten steht, wie von Ferrari et al. (1986) berichtet (Mayerhofer et al., 1990).

## **7.9 Wirkungen auf das Immunsystem**

Keine Information vorhanden.

## **7.10 Neurotoxizität**

In einer oralen 90-Tage-Studie an Wistar-Ratten (siehe Kapitel 7.5) wurden keine substanzbedingten Veränderungen im Rahmen der Untersuchungen des Verhaltens (Functional Observational Battery (FOB)) und der motorischen Aktivität beobachtet. Die Dosierungen betragen 0 (Vehikelkontrolle Wasser), 20, 60 oder 180 mg/kg Körpergewicht/Tag per Schlundsonde. Zudem wurden das Gehirn, das Rückenmark sowie das periphere Nervensystem histopathologisch untersucht (Kontrolle und oberste Dosierung), wobei keine substanzbedingten Befunde erhoben wurden (BASF, 2002 a).

Wurden neuronale und nicht neuronale Gehirnzellen, die Rattenfeten am 19. Tag p.c. entnommen und kultiviert worden waren, mit Imidazol in vitro inkubiert, so hatte Imidazol keine degenerative Wirkung auf diese Gehirnzellen (Khera und Whalen, 1988).

## 7.11 Sonstige Wirkungen

Imidazol besaß beim Tier eine analgetische, antiphlogistische sowie leicht antipyretische und vasodilatatorische Wirkung. Außerdem hemmte Imidazol die Thrombozytenaggregation (Italfarmaco, 1983; Pagella et al., 1983; Puig-Parellada et al., 1971, 1973; Roy et al., 1988). Die pharmakodynamische Wirkung von Imidazol beruhte wahrscheinlich auf einer Hemmung der Thromboxan A<sub>2</sub>-Synthetase. Dies führte zu verringerten Thromboxan A<sub>2</sub>-Spiegeln und einer Verlagerung des Cyclooxygenase-Stoffwechsels, zu erhöhten PGE<sub>2</sub>- (Prostaglandin E<sub>2</sub>), PGD<sub>2</sub>-, PGF<sub>2α</sub>- sowie Prostacyclin-Spiegeln (Cook et al., 1980; Engineer et al., 1978; Gordon et al., 1981; Italfarmaco, 1983; Moncada et al., 1977; Needleman et al., 1977; Pagella et al., 1983; Roy et al., 1988; Strand et al., 1981).

Der ED<sub>50</sub>-Wert für die Hemmung der TXA<sub>2</sub>-Synthetase (Thromboxan A<sub>2</sub>-Synthetase) lag in vitro bei 29,3 µg/ml. Für Acetylsalicylsäure wurde unter den selben Bedingungen ein ED<sub>50</sub>-Wert von 16,2 µg/ml ermittelt (Pagella et al., 1983).

In einer weiteren Untersuchung lag der ED<sub>50</sub>-Wert für eine Hemmung der TXA<sub>2</sub>-Synthetase bei 22 µg/ml (Moncada et al., 1977).

Imidazol (100 µg/ml) hemmte die Lipopolysaccharid-stimulierte TXB<sub>2</sub>- (Thromboxan B<sub>2</sub>) Produktion um 85,4 % (von 6,38 auf 0,93 ng/ml) in vitro (Bestimmung mit Radioimmun-Assay). Der PGE<sub>2</sub>- (Prostaglandin E<sub>2</sub>) Spiegel in Imidazol-behandelten Makrophagen betrug 8,3 ± 7,8 ng/ml und war im Vergleich zur Lipopolysaccharid-behandelten Kontrolle (10,6 ± 2,2 ng/ml) erniedrigt, während der LTB<sub>4</sub>- (Leukotrien B<sub>4</sub>) Spiegel mit 431 pg/ml im Vergleich zur Kontrolle (567 pg/ml) durch die Imidazol-Behandlung geringfügiger erniedrigt war. Die PC- (Prokoagulant) Aktivität in alveolären Makrophagen, die durch Broncholavage von weißen Neuseeland-Kaninchen gewonnen wurden, wurde durch Behandlung mit Imidazol (100 µg/ml) eine Stunde vor einer Endotoxin-Inkubation (10 ng Lipopolysaccharid von *Escherichia coli*/ml) nicht signifikant beeinflusst (Williams et al., 1993).

Imidazol (30 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal), das die Thromboxan-Biosynthese hemmt, hemmte bei männlichen Wistar-Ratten (keine Angaben über die Anzahl der eingesetzten Tiere), denen mit bakteriellem Endotoxin (Lipopolysaccharid B von *Salmonella enteritidis*, 5 mg/kg Körpergewicht intravenös) eine Endotoxikose beigefügt worden war, die Freisetzung

des Neuropeptids „Calcitonin gene-related peptide“ (CGRP), das bei hämorrhagischem oder septischem Schock im Plasma erhöht gefunden wird, nicht. Die Autoren schlossen daraus, dass Thromboxan nicht involviert ist bei der Endotoxin-induzierten CGRP-Erhöhung bei septischem Schock (Wang et al., 1992, 1995).

Die ED<sub>50</sub> für die Hemmung der durch Arachidonsäure induzierten Thrombozytenaggregation betrug für Imidazol in vitro 55,2 µg/ml, für Acetylsalicylsäure 21,6 µg/ml (Pagella et al., 1983).

Imidazol hemmte in vitro in Konzentrationen von 21,1 bis 24,5 mg/ml die durch Thrombin induzierte Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin (Shulman, 1953).

Wurden neonatale primäre Rattenhepatozyten in stark Kalzium-haltigem Medium mit Imidazol inkubiert, so wurde eine erhöhte hepatozelluläre mitotische Aktivität über einen vermehrten Übergang in die S-Phase beobachtet (Marigo et al., 1985; Romano et al., 1988).

Wurde Imidazol in einer Konzentration von  $1 \times 10^{-3}$  M an menschliche epidermale Keratinozytenkulturen verabreicht, so wurde die Mitoserate um 41 % ( $15,2 \pm 1,5$  im Vergleich zu  $25,8 \pm 1,0$  bei der Kontrolle) gesenkt, nicht aber nach Inkubation mit  $1 \times 10^{-4}$  M ( $25,2 \pm 3,4$  im Vergleich zu  $25,8 \pm 1,0$ ). Da Imidazol die zyklische AMP-Phosphodiesterase-Aktivität in vitro stimuliert mit konsekutiver Verminderung der zyklischen AMP, wäre eher eine Erhöhung der Mitoserate zu erwarten gewesen, sodass die Autoren keine Erklärung für die beobachtete Inhibition fanden (Harper und Flaxman, 1975).

50 mg Imidazol/kg Körpergewicht, intraperitoneal verabreicht, vervierfachte bei der Katze in der A. cerebri media den Spiegel des stabilen Metabolisierungsproduktes von Prostacyclin, 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> und den Prostaglandin-E<sub>2</sub>-Spiegel (Roy et al., 1988).

Die analgetische Wirkung von Imidazol wurde im Writhing-Test an Mäusen überprüft. Die ED<sub>50</sub>-Werte für Imidazol nach intraperitonealer Verabreichung betragen in Abhängigkeit von der Auslösesubstanz (Arachidonsäure, Bradykinin, Phenyl-p-benzochinon bzw. Essigsäure) 23 bis 120 mg/kg Körpergewicht. Die ED<sub>50</sub>-Werte für Acetylsalicylsäure lagen unter den selben Versuchsbedingungen zwischen 19 und 90 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal (Pagella et al., 1983; Puig-Parellada et al., 1973).



Die antiphlogistische Wirkung von Imidazol wurde an Ratten mittels eines Carrageenin-induzierten Pfotenödems überprüft. Je nach Verabreichung (oral bzw. intraperitoneal) wurden für Imidazol ED<sub>50</sub>-Werte > 316 bzw. 330 mg/kg Körpergewicht ermittelt. Der ED<sub>50</sub>-Wert für Acetylsalicylsäure lag unter den selben Versuchsbedingungen nach oraler Verabreichung bei 131 mg/kg Körpergewicht, nach intraperitonealer Verabreichung bei 390 mg/kg Körpergewicht (Pagella et al., 1983; Puig-Parellada et al., 1973).

Die antipyretische Wirkung von Imidazol wurde an Ratten mittels eines Bierhefe-induzierten Fiebers überprüft. Imidazol wirkte bis zu einer Dosierung von 200 mg/kg Körpergewicht oral nur leicht fiebersenkend (maximal 26 %). Der ED<sub>50</sub>-Wert für Acetylsalicylsäure lag unter den selben Bedingungen bei 100,5 mg/kg Körpergewicht (Pagella et al., 1983).

Wurden einem isolierten graviden Meerschweinchenuterus 6 mg Imidazol zugesetzt, reagierte er mit Kontraktionen, die sich nach weiterer Zugabe von 10 mg Imidazol 6 Minuten später verstärkten. Wurden anschließend 10 mg Papaverin zugesetzt, kam es zur Erschlaffung des zuvor sich kräftig kontrahierenden Uterus. Derselbe Effekt wurde am puerperalen Meerschweinchenuterus erzielt. Dieselbe erregende Wirkung auf die glatte Muskulatur wurde auch am isolierten Kaninchendarm beobachtet (keine weiteren Angaben; Auvermann, 1918).

Imidazol bewirkte ex vivo eine Kontraktion der glatten Muskulatur der isolierten Meerschweinchentrachea bzw. des -ileums, der Rattenpfortader sowie des Rattenuterus. Die Konzentrationen betragen 1 bis 3,7 µM (entsprechend 0,068 bis 0,252 µg/ml). Weiterhin wurde die durch Histamin ausgelöste Kontraktion der Meerschweinchentrachea bzw. des -ileums und die durch cAMP hervorgerufene Kontraktion des Rattenuterus durch Imidazol signifikant verstärkt, ebenso die durch PGE<sub>1</sub> (Prostaglandin E1), PGE<sub>2</sub> bzw. PGE<sub>2α</sub> ausgelöste Kontraktion der isolierten Kaninchenaorta (Arunlakshana et al., 1954; Creese und Denborough, 1982; Enero, 1979; Singh und Sharma, 1984; Suzuki et al., 1982).

Eine 1-stündige suprarenale Infusion (in die Aorta) von 50 µmol (entsprechend 3,41 mg) Imidazol/kg Körpergewicht/Minute führte bei Sprague-Dawley-Ratten (n = 7) zu einer um 4,35 ml/Minute signifikant erhöhten renalen Plasmaflussrate bzw. zu einem um 12 mmHg signifikant erhöhten arteriellen Blutdruck in den Nierengefäßen. Die Autoren führten dies auf eine

durch Imidazol hervorgerufene Gefäßdilataion zurück. Die Natrium-Exkretion, glomeruläre Filtrationsrate sowie der systemische Blutdruck waren nicht beeinflusst. Als Kontrolle wurden 5 Tiere mit Ringerlösung infundiert (Richardson und Kunau, 1978).

Die intravenöse Verabreichung von 50 µmol (entsprechend 3,41 mg) Imidazol/kg Körpergewicht/Minute (keine Angaben zur Applikationsdauer) führte bei anästhesierten Ratten, die mit normalen bzw. hohen Natrium-Gaben über das Futter (keine weiteren Angaben) vorbehandelt worden waren, unter beiden Versuchsbedingungen zu einer signifikant erhöhten Natrium-Ausscheidung. Ursächlich war hierfür wahrscheinlich das signifikant erhöhte Harnvolumen. Zusätzlich war in beiden Gruppen der arterielle Blutdruck signifikant erhöht. Natrium-Konzentrationen im Plasma, glomeruläre Filtrationsrate und renaler Plasmafluss blieben unbeeinflusst (Baylis, 1980).

Erhielt ein Kaninchen (1900 g schwer) einmalig 20 mg Imidazol (entsprechend 10,5 mg/kg Körpergewicht) intravenös verabreicht, so wurde ein sofortiges Ansteigen des Blutdruckes ohne Änderung der Pulsfrequenz gemessen, das auch längere Zeit bestehen blieb. Die Atmung wurde ebenfalls aufgezeichnet und zeigte keine Änderungen. Bei Dosierungen ab 50 mg Imidazol sank die Pulsfrequenz sehr stark, während der Blutdruck sogar etwas anstieg (keine weiteren Angaben; Auvermann, 1918).

Imidazol verminderte zentrogene Arrhythmien, die durch intracerebroventrikuläre Mikroinjektionen von Natriumglutamat oder Kaliumchlorid verursacht wurden, wenn es ebenfalls in die lateralen zerebralen Ventrikel von anästhesierten Ratten eingebracht wurde. Hingegen vermochte Imidazol kardiale Arrhythmien zu verursachen, wenn es anästhesierten Ratten schnell intravenös verabreicht wurde. Es hatte auch keine Schutzwirkung gegen intravenöse Kaliumchlorid-induzierte kardiale Arrhythmien (Cuparencu et al., 1986).

Imidazol bewirkte, wenn es intraperitoneal in einer Dosis von 5,87 mmol/kg 4 Stunden vor dem nachfolgenden Experiment am isolierten Langedorff-perfundierten Herzen weiblichen und männlichen Meerschweinchen (250 bis 420 g schwer) verabreicht wurde, eine Verstärkung der Kaliumchlorid-, Kalziumchlorid- oder Quabain-induzierten kardialen Arrhythmien, ventrikuläres Herzflimmern und Herzstillstände. Imidazol wirkte also nicht wie bei zerebraler Verabreichung antiarrhythmisch, sondern hatte einen proarrhythmogenen Effekt am Herzen (Filippelli et al., 1994).

Imidazol senkte an isolierten Meerschweinchenherzen die Schwelle des durch Elektrostimulation hervorgerufenen Herzflimmerns signifikant (Cuparencu et al., 1992).

In einer älteren Studie mit intravenöser Verabreichung von Imidazol an Meerschweinchen hatte Imidazol einen protektiven Effekt gegen die durch intravenöse Quabain-Verabreichung bewirkten kardialen Arrhythmien (Puig Muset et al., 1972).

Imidazol wurde an isolierten Herzen von männlichen Hartley-Meerschweinchen, denen per Platinelektroden elektrolysebedingte Ischämien beigebracht wurden, auf seine protektive Wirkung untersucht. Imidazol vermochte die elektrolysebedingten ischämischen Herzschädigungen nicht zu vermindern (Bullough et al., 1993).

Die intraperitoneale Verabreichung von 50 mg Imidazol/kg Körpergewicht, 30 Minuten vor der intratrachealen Applikation von Bleomycin (10 U/kg Körpergewicht), reduzierte bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten die durch Bleomycin induzierten Lungenschäden, konnte die Entwicklung einer interstitiellen Fibrose aber nicht verhindern (Dussaubat et al., 1995).

An kultivierten C6-Astrozytomzellen von Ratten wurde anhand von Trypanblau-Färbung die Zytotoxizität ( $LD_{50}$ ) von Imidazol nach einer Stunde und 4 Tagen untersucht. Die  $LD_{50}$  nach einer Stunde Einwirkungszeit betrug 0,005 M, nach 4 Tagen 0,0009 M (Mokrasch, 1990).

Imidazol induzierte bei Ratte, Maus und Kaninchen nach intraperitonealer Verabreichung von 200 mg/kg Körpergewicht/Tag über 4 Tage einen 2- bis 4fach erhöhten Zytochrom P-450-Gehalt der Leber, nicht aber beim Hamster. Dieser induzierende Effekt ließ sich auch *in vitro* nachweisen. Die Induktion war *in vivo* und *in vitro* durch eine erhöhte aromatische und aliphatische Hydroxylierung, Desalkylierung sowie Hydrolyse-Aktivität gekennzeichnet. Zusätzlich wurden Konjugationsreaktionen mit Glukuronsäure erhöht. Eine weitere Monooxygenase wurde dagegen offenbar gehemmt. Intraperitoneale Dosen von 100 bzw. 200 mg/kg Körpergewicht führten bei Maus und Ratte zu einer verlängerten Pento- bzw. Hexobarbital-Schlafzeit, subkutane Dosierungen von 313 bzw. 340 mg/kg Körpergewicht bei der Ratte zu einer Potenzierung der Histamin-Mortalität durch Hemmung der Histaminase- (Diaminoxidase-) Aktivität. Die Hemmung wurde wahrscheinlich durch eine Bindung von Imidazol an das Hämeisenatom verursacht

(Angelakos und Loew, 1955, 1957; Butcher und Sutherland, 1962; Hajek et al., 1982; Hajek und Novak, 1982; Hoffman et al., 1989; Kaul und Novak, 1984; Kline et al., 1988 b; Koop et al., 1985; Lake et al., 1982; Miki und Yoshida, 1972; Montefiori und Kline, 1981; Olcott und Lukton, 1961; Reinke et al., 1985; Ritter und Franklin, 1987; Rowland et al., 1980; Workman et al., 1983; Zeller, 1941).

Imidazol, an 3 aufeinander folgenden Tagen männlichen Sprague-Dawley-Ratten in einer Dosis von 250 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal appliziert, erhöhte die Menge des durch Ethanol induzierten Zytochrom P-450j um ca. den Faktor 2, ohne die Menge der korrespondierenden mRNA zu erhöhen. Ferner hemmte Imidazol in vitro in Rattenhepatozyten den Abbau von Zytochrom P-450j (Eliasson et al., 1988).

Männliche B6-Mäuse erhielten 200 mg Imidazol/kg Körpergewicht/Tag intraperitoneal für 2 Tage verabreicht. Die Lebermikrosomen wurden danach auf ihren Gehalt an Zytochrom P-450 und dessen molekulare Aktivität untersucht. Im Vergleich zu strukturverwandten Enzyminduktoren (z. B. Pyrazol) war Imidazol von mittlerer Effizienz (Hahnemann et al., 1989).

Um zu untersuchen, ob außer dem Zytochrom P-450 2E1, das durch Imidazol beim Kaninchen induziert wird, auch die Aktivität des Zytochrom P-450 2E2 ansteigt, wurden neugeborene Kaninchen, in denen ersteres Enzym nicht vorhanden ist, am 8. Lebenstag mit 400 mg/kg Körpergewicht/Tag intraperitoneal für 4 Tage (von Tag 8 bis 11) behandelt. An Tag 12 wurden die Lebermikrosomen untersucht. Der Gesamtgehalt der Lebermikrosomen an Zytochrom P-450 war 3fach erhöht, Zytochrom b<sub>5</sub> und NADPH-P-450 waren unverändert im Vergleich zu den Kontrollen. Zytochrom P-450 2E2 war 3fach, 1A1 > 10fach und 1A2 > 2fach erhöht, während die entsprechenden mRNA-Level nicht erhöht waren. Die Autoren diskutierten, dass diese Enzyme möglicherweise eine Rolle bei der mikrosomalen Metabolisierung von bestimmten Kanzerogenen spielen könnten (Ding et al., 1992).

Wurde Imidazol mit Lebermikrosomen inkubiert, die aus mit Aceton vorbehandelten männlichen Sprague-Dawley-Ratten gewonnen wurden, so induzierte Imidazol das Enzym P-450 2E1 (ein P450-Isoenzym). Das Ausmaß der Enzyminduktion durch Imidazol im Vergleich zu anderen untersuchten heterozyklischen Substanzen wurde an der Hemmung der Hydroxylierung

von 4-Nitrophenol durch das Enzym P-450 2E1 zu 4-Nitrocatechol gemessen. Die Autoren diskutierten einen nicht kompetitiven Mechanismus der beobachteten Hemmung der Substratumsetzung durch Imidazol (Hargreaves et al., 1994).

Die in vitro-Inkubation von Lebermikrosomen männlicher Ratten mit [<sup>14</sup>C]-Furan in Gegenwart von NADPH führte zur kovalenten Inkorporierung der aus dem Furan erhaltenen Radioaktivität in dem mikrosomalen Protein. Wurden den F344-Ratten 200 mg Imidazol/kg Körpergewicht/Tag für 4 Tage intraperitoneal verabreicht, so war die Bindung des [<sup>14</sup>C]-Furans an das mikrosomale Protein signifikant (4- bis 5fach) erhöht (Parmar und Burka, 1993).

An Lebermikrosomen von männlichen Wistar-Ratten wurde der in vitro-Effekt von Imidazol (3 mmol) auf die katalytische Aktivität der Zytochrom P-450IIB1- und P-450IA1-Enzymsysteme anhand der Oxidationsrate von NADPH überprüft. Die Metabolisierungsrate wurde bei Zytochrom P-450IA1 stärker durch Imidazol induziert als bei Zytochrom P-450IIB1 (Yang et al., 1993).

Die aus dem Dünndarm von weißen Ratten durch Auswaschung gewonnenen Pankreasenzyme wurden in vitro nach einer Kinetik 1. Ordnung abgebaut (Lipase,  $\alpha$ -Amylase, Trypsin, Chymotrypsin, Elastase, Carboxypeptidase B). Diese Inaktivierung der Enzyme wurde zum Teil auf die bakterielle Aktivität der Mikroflora und -fauna des Dünndarms zurückgeführt. Sowohl die Zufuhr verschiedener Antibiotika als auch von Imidazol (0,1 M) als Puffer mit einem pH von 7,4 vermochten nach eintägiger Inkubation die Entwicklung der Darmflora zu hemmen und die Halbwertszeiten der Pankreasenzyme zu verlängern (Khayat und Christophe, 1969).

200 mg Imidazol/kg Körpergewicht/Tag, für 3 Tage intraperitoneal an je 3 männliche Sprague-Dawley-Ratten verabreicht, führten zu keiner Erhöhung des mikrosomalen Epoxid-Hydroxylase-Protein-Levels in den Lebermikrosomen, während der hepatische mikrosomale Epoxid-Hydroxylase-mRNA-Level marginal (2fach) erhöht war. Die mRNA-Level der Glutathion-S-Transferase- (GSH) Isoenzyme Ya, Yb1, Yc1 und Yc2 waren 2- bis 3fach und das Isoenzym GSH Yb2 minimal erhöht (Kim et al., 1994; Kim und Cho, 1996).

Wurden 50 mg Imidazol/kg Körpergewicht/Tag eine Woche lang intraperitoneal an weibliche weiße Ratten verabreicht, so wurde die Ascorbinsäure-

Ausscheidung im Urin um 7,58 % signifikant reduziert. Eine einmalige Dosis von 100 mg Imidazol/kg Körpergewicht, intraperitoneal appliziert, führte zu einer 27,9-prozentigen signifikanten Reduktion der Ascorbinsäure-Ausscheidung. Diese Reduktion blieb bei einer weiteren Behandlung der Tiere mit Imidazol über eine Woche mit der selben Dosierung gleich. 1 bis 2 Tage nach der Behandlung normalisierte sich die Ascorbinsäure-Ausscheidung, sodass der Imidazol-Effekt reversibel war (Ascorbinsäure wird als Metabolit aus Glukose und Galaktose über den Glukuronsäure-Metabolismusweg gebildet und im Urin ausgeschieden; Satyanarayana et al., 1988).

Wurde die Hep G2-Zelllinie für 24 Stunden mit Imidazol inkubiert, so verursachte eine Konzentration von 45 mM eine 50-prozentige Abnahme des Zellproteins (PI50-Wert als Maß der Zytotoxizität; Dierickx, 1989).

Imidazol vermochte die katalytische Aktivität der Serin-Protease Plasmin in vitro zu erhöhen (Mhashilkar et al., 1993).

Wurden proliferierende B16/C3-Melanomzellkulturen mit Androgenen (Testosteron, Epitestosteron,  $5\alpha$ -Dihydrotestosteron), Östradiol, Östriol oder Imidazol (10 mM) behandelt, so war lediglich das Imidazol ein potenter Induktor des Enzyms Tyrosinase (involviert in die Melanogenese). Diese Induktion wurde durch zusätzliche Behandlung mit den oben genannten Androgenen und Follikelhormonen gehemmt (keine weiteren Angaben; Kline et al., 1988 a, b).

Imidazol in Konzentrationen von 1 bis 100  $\mu\text{g/ml}$  hatte keinen Einfluss auf die Differenzierung von embryonalen Mauskarzinom-F9-Zellen. Als Maß für die Zelldifferenzierung wurde das Markerprotein Plasminogen Aktivator P nach 24-stündiger Inkubation der Zellen gemessen (Tanaka et al., 1995).

Die Verabreichung von 200 mg Imidazol/kg Körpergewicht intraperitoneal hemmte die Glukoseresorption nach oraler Verabreichung bei Ratten signifikant. Es wurden jeweils 10 Ratten/Dosis- und Kontrollgruppe eingesetzt (Tizabi et al., 1977).

Kaninchen (keine Angaben über die Anzahl der Tiere/Gruppe), die für eine kontinuierliche Urinsammlung intraurethral kanüliert wurden, wurden entweder mit Phenobarbital (25 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal für 4 Tage) oder mit Imidazol (100 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal, einmalige Applikation) behandelt und erhielten danach 40 mg/kg Körpergewicht Tol-

butamid oral verabreicht. Eine Kontrollgruppe erhielt allein das Blutzucker senkende Diabetesmittel Tolbutamid. Blut- und Urinproben wurden nach 0, 1, 2, 4, 8, 12, 18 und 24 Stunden untersucht, wobei im Blut Tolbutamid und im Urin Tolbutamid und seine Metaboliten bestimmt wurden. Während Phenobarbital durch Enzyminduktion die Halbwertszeit von Tolbutamid verkürzte und die renale Elimination erhöhte und verschnellte, bewirkte Imidazol durch Hemmung der hepatischen mikrosomalen Enzyme eine Verlängerung der Halbwertszeit und eine Verminderung und Verlangsamung der renalen Ausscheidung von Tolbutamid (Visweswaram et al., 1993).

Imidazol, in einer Dosierung von 150 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal appliziert, führte bei Wistar-Ratten alters- und geschlechtsabhängig zu „Schütteln“. Die männlichen Tiere waren von dieser Verhaltensänderung wesentlich stärker betroffen als die weiblichen. Nahm man bei den weiblichen Tieren eine Ovariectomie vor, so war nach Imidazol-Gabe kein Geschlechtsunterschied mehr festzustellen. Bei den in den Versuchen eingesetzten Tieren war die Verhaltensänderung bei den jungen Tieren am wenigsten ausgeprägt und am stärksten bei den 11 bis 18 Wochen alten Tieren (Ferrari et al., 1986).

Wurde Imidazol an Ratten, Mäuse und Hühner intraperitoneal verabreicht, wurden Verhaltensänderungen beobachtet. So inhibierte Imidazol die durch N-n-Propylnorapomorphin oder BHT-920 hervorgerufene Peniserektion sowie das Strecken und Gähnen bei Ratten. Auch die durch Apomorphin induzierte Hypothermie wurde inhibiert. Imidazol steigerte die durch „Schock“ hervorgerufene Aggressivität bei Ratten und wirkte als Antagonist zu Klonidin-induziertem Schlaf bei Hühnern. Die Autoren diskutieren Imidazol als Antidepressivum (Ferrari, 1985).

Es wurde vermutet, dass die durch Imidazol ausgelöste zentralnervöse Wirkung beim Tier unter anderem durch eine präsynaptische  $\alpha_2$ - bzw. Dopamin-Blockade verursacht werden könnte (Ferrari, 1985; Ferrari et al., 1986).

## **8 Erfahrungen beim Menschen**

Zur Toxikokinetik und zum Metabolismus von Imidazol beim Menschen siehe Kapitel 7.1 (Nosedá et al., 1988; Kuemmerle et al., 1986).

Nach Mitteilung des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) sind bis 1996 weder aus den Kliniken noch aus der Literatur Hautsensibilisierungen durch Imidazol beim Menschen bekannt (IVDK, 1996).

In einem Produktionsbetrieb, in dem ein Kontakt gegenüber Imidazol nur bei Probenahmen, Produktwechsel und Abfüllvorgängen möglich war, wurden innerhalb der letzten 6½ Jahre 29 Personen im Rahmen der regulären Überwachungsuntersuchungen und sonstiger Untersuchungsanlässe in der werksärztlichen Abteilung untersucht. Befristete oder dauernde gesundheitliche Beeinträchtigungen im Zusammenhang mit der Imidazol-Exposition wurden nicht festgestellt. Fälle von Hautsensibilisierungen wurden nicht registriert. Hinsichtlich akuter Einwirkungen und Unfällen nach Imidazol-Exposition konnten der Ambulanzdatenbank von 1989 bis 06/1996 nur drei leichtere Fälle von Hautreizung entnommen werden, in denen das Produkt auf die Haut spritzte oder tropfte (BASF, 1996).

Wurden 100 bis 250 mg Imidazol intramuskulär oder intravenös an Wöchnerinnen (keine Angaben zur Anzahl der untersuchten Frauen) verabreicht, war keine Wirkung auf den puerperalen Uterus zu erkennen (keine weiteren Angaben; Auvermann, 1918).

## **9 Einstufungen und Grenzwerte**

Die Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft (MAK-Kommission) hat Imidazol in der MAK- und BAT-Werte-Liste 2005 auf Anregung der BG Chemie in den „Gelben Seiten“ zur Aufstellung eines MAK-Wertes aufgeführt (DFG, 2005).

## **10 Arbeitsmedizinische Empfehlungen**

Allgemeine arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen in Anlehnung an die BG-Vorschrift „Arbeitsmedizinische Vorsorge“ (BGV A4) unter Beachtung der stark reizenden bis ätzenden Wirkung.



## Literatur

- Adams, M.L., Meyer, E.R., Cicero, T.J.  
Imidazoles suppress rat testosterone secretion and testicular interstitial fluid formation in vivo  
Biol. Repro., 59, 248 - 254 (1998)
- Anonym  
Pesticide Chemicals Official Compendium  
Association of the American Pesticide Control Officials, Inc., p. 608 - 609 (1966)
- Anonym  
Przegląd Epidemiologiczny, 67, 296 (1993)  
zitiert in: EC (2000) und RTECS (2001)
- Angelakos, E.T., Loew, E.R.  
Histaminase inhibitors and histamine toxicity in mice and rats  
Am. J. Physiol., 183, 593 (1955)
- Angelakos, E.T., Loew, E.R.  
Histamine toxicity in mice and rats following treatment with histaminase inhibitors  
J. Pharmacol. Exp. Ther., 119, 444 - 451 (1957)
- Arunlakshana, O., Mongar, J.L., Schild, H.O.  
Potentiation of pharmacological effects of histamine by histaminase inhibitors  
J. Physiol., 123, 32 - 54 (1954)
- Auvermann, H.  
Zur Kenntnis der Wirkungen des Imidazols  
Arch. Exp. Pathol. Pharmacol., 84, 155 - 175 (1918)
- Balls, M., Botham, P.A., Bruner, L.H., Spielmann, H.  
The EC/HO international validation study on alternatives to the Draize eye irritation test  
Toxicol. in Vitro, 9, 871 - 929 (1995)
- BASF AG, Gewerbehygienisch-Pharmakologisches Institut  
Bericht über die biologische Prüfung von Imidazol  
unveröffentlichter Bericht IV/621-622 (1956)
- BASF AG, Gewerbehygiene und Toxikologie  
Bericht über die Prüfung von Imidazol im 28-Tage Sondierungsversuch an der Ratte  
unveröffentlichter Bericht (1976)
- BASF AG, Gewerbehygiene und Toxikologie  
Bericht über die Prüfung auf Ätzwirkung von 1. Imidazol im 1-Stunden-Test, 2. Imidazol im 4-Stunden-Test am Kaninchen  
unveröffentlichter Bericht (1979 a)
- BASF AG, Gewerbehygiene und Toxikologie  
Bericht über die Prüfung der primären Hautreizwirkung von Imidazol an der Rückenhaut weißer Kaninchen  
unveröffentlichter Bericht (1979 b)

BASF AG, Gewerbehygiene und Toxikologie  
Bericht über die Prüfung auf primäre Reizwirkung von Imidazol am Auge weißer Kaninchen  
unveröffentlichter Bericht (1979 c)

BASF AG, Abteilung Toxikologie  
Report on the study of Imidazol (ZST test substance No.: 91/186) in the Ames test  
(Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test - standard plate test and preincubation test)  
unveröffentlichter Bericht, Project No. 40M0186/914161 (1992)  
auf Empfehlung der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie

BASF AG, Abteilung Toxikologie  
Cytogenetic study in vivo of Imidazolhydrochlorid in mice, micronucleus test, single oral administration  
unveröffentlichter Bericht, Project No. 26M0501/914323 (1993)  
auf Empfehlung der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie

BASF AG  
schriftliche Mitteilung an die Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie vom  
02.10.1996

BASF AG, Experimental Toxicology and Ecology  
Imidazol - Subchronic toxicity study in Wistar rats, administration by gavage for 3 months  
unveröffentlichter Bericht No. 51S0694/00123 (2002 a)

BASF AG, Experimental Toxicology and Ecology  
Imidazol - Prenatal developmental toxicity study in Wistar rats, oral administration (gavage)  
unveröffentlichter Bericht 30R0694/00130 (2002 b)

Baylis, C.  
Effect of imidazole on renal sodium excretion in the rat  
J. Physiol., 301, 26 (1980)

Bergner, H., Görsch, R., Pritze, P.  
Prüfung neuer Nichtprotein-Stickstoffverbindungen hinsichtlich ihrer Toxizität bei Ratten  
Arch. Tierernähr., 19, 421 - 432 (1969)

Brantom, P.G., Bruner, L.H., Chamberlain, M., de Silva, O., Dupuis, J., Earl, L.K., Lovell, D.P., Pape, W.J.W., Uttley, M., Bagley, D.M., Baker, F.W., Bracher, M., Courtellemont, P., Declercq, L., Freeman, S., Steiling, W., Walker, A.P., Carr, G.J., Dami, N., Thomas, G., Harbell, J., Jones, P.A., Pfannenbecker, U., Southee, J.A., Tcheng, M., Argembeaux, H., Castelli, D., Clothier, R., Esdaile, D.J., Itigaki, H., Jung, K., Kasai, Y., Kojima, H., Kristen, U., Larnicol, M., Lewis, R.W., Marenus, K., Moreno, O., Peterson, A., Rasmussen, E.S., Robles, C., Stern, M.  
A summary report of the COLIPA international validation study on alternatives to the Draize rabbit eye irritation test  
Toxicol. in Vitro, 11, 141 - 179 (1997)

Bullough, D.A., Potter, S., Fox, M.H., Zhang, C., Metzner, E.K., Mullane, K.M.  
Acadesine prevents oxidant-induced damage in the isolated guinea pig heart  
J. Pharmacol. Exp. Ther., 266 (2), 666 - 672 (1993)

- Butcher, R.W., Sutherland, E.W.  
Adenosine 3',5'-phosphate in biological materials. I. Purification and properties of cyclic 3',5'-nucleotide phosphodiesterase and use of this enzyme to characterize adenosine 3',5'-phosphate in human urine  
J. Biol. Chem., 237, 1244 - 1250 (1962)
- Cook, J.A., Wise, W.C., Halushka, P.V.  
Elevated thromboxane levels in the rat during endotoxic shock. Protective effects of imidazole, 13-azaprostanoic acid, or essential fatty acid deficiency  
J. Clin. Invest., 65, 227 - 230 (1980)
- Creese, B.R., Denborough, M.A.  
The effects of imidazole on contractility and cyclic AMP levels of guinea-pig tracheal smooth muscle  
Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 9, 145 - 155 (1982)
- Cuparencu, B., Safta, L., Sandor, V., Fabian, A., Horak, J., Marmo, E.  
Central antiarrhythmic effects of imidazole in anesthetized rats  
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 51, 53 - 58 (1986)
- Cuparencu, B., Tomus, C., Sabau, M.A., Filippelli, A., Matera, M.G., Costantino, M., Lampa, E.  
Effects of imidazole perfusion on the ventricular fibrillation threshold of the isolated guinea pig heart  
Curr. Ther. Res., 51 (3), 322 - 333 (1992)
- Daston, G.P., Yonker, J.E., Powers, J.F., Heitmeyer, S.A.  
Difference in teratogenic potency of ethylenethiourea in rats and mice: relative contribution of embryonic and maternal factors  
Teratology, 40, 555 - 566 (1989)
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft, Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe)  
MAK- und BAT-Werte Liste 2005  
Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim (2005)
- Dierickx, P.J.  
Cytotoxicity testing of 114 compounds by the determination of the protein content in HEP G2 cell cultures  
Toxicol. in Vitro, 3 (3), 189 - 193 (1989)
- Ding, X., Peng, H.M., Pernecky, S.J., Davis, C.J., Coon, M.J.  
Induction of P-450 cytochromes 2E2, 1A1, and 1A2 by imidazole in neonatal rabbits  
Drug Metab. Dispos., 20 (6), 792 - 796 (1992)
- Doull, J., Plzak, V., Brois, S.J.  
A survey of compounds for radiation protection  
Armed Services Technical Information Agency, Arlington, Virginia, NTIS Report AD 277-689, p. 1 - 3, 87 (1962)
- Dussaubat, N., Capetillo, M., Lathrop, M.E., Mendoza, R., Oyarzun, M.  
The effects of imidazole on pulmonary damage induced by bleomycin  
Biol. Res., 28, 261 - 266 (1995)

Ebel, K., Koehler, H., Gamer, A.O., Jäckh, R.  
Imidazole and derivatives  
in: Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry  
6<sup>th</sup> ed.  
Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim (2002)

EC (European Commission), European Chemicals Bureau, Joint Research Centre,  
Ispra, Italien  
IUCLID-Datensatz Imidazole  
angelegt am 11.02.2000

ECETOC (European Chemical Industry and Toxicology Centre)  
Eye irritation: reference chemicals data bank (second edition)  
Technical Report No. 48 (2), 1 - 236 (1998)

Eliasson, E., Johansson, I., Ingelman-Sundberg, M.  
Ligand-dependent maintenance of ethanol-inducible cytochrome P-450 in primary rat  
hepatocyte cell cultures  
Biochem. Biophys. Res. Comm., 150, 436 - 443 (1988)

Enero, M.A.  
Effect of drugs on the force of spontaneous mechanical activity in rat portal vein  
Acta Physiol. Latinoam., 29, 101 - 106 (1979)

Engineer, D.M., Jose, P.J., Piper, P.J., Tippins, J.R.  
Modulation of slow-reacting substance of anaphylaxis and histamine release by prosta-  
cyclin and thromboxanes  
J. Physiol., 281, 42P (1978)

Falbe, J., Regitz, M. (Hrsg.)  
Römpp-Lexikon Chemie  
9. Aufl., S. 1882  
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York (1997)

Ferrari, F.  
Behavioural pharmacology of imidazole, a potential antidepressant agent  
Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., 277, 303 - 312 (1985)

Ferrari, F., Baggio, G.  
Influence of imidazole on behavioral effects induced by dopaminergic agonists in rats  
Life Sci., 36, 1397 - 1405 (1985 a)

Ferrari, F., Baggio, G.  
Influence of cimetidine, ranitidine and imidazole on the behavioral effects of (±)  
N-n-propylnorapomorphine in male rats  
Psychopharmacology, 85, 197 - 200 (1985 b)

Ferrari, F., Ferrari, P., Baggio, G., Mangiafico, V.  
Antagonism of imidazole-induced shaking in the rat: a behavioural tool predictive of an-  
tidyskinetic activity?  
Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., 283, 209 - 221 (1986)

- Filippelli, A., Cuparencu, B., Berrino, L., Tomus, C., Rossi, F.  
The influence of imidazole administration on arrhythmias induced by potassium chloride, calcium chloride, and ouabain in isolated guinea pig hearts  
*Curr. Ther. Res.*, 55 (1), 43 - 50 (1994)
- Forster, R., Blowers, S.D., Cinelli, S., Marquardt, H., Westendorf, J.  
Mutagenicity testing of imidazole and related compounds  
*Mutat. Res.*, 298, 71 - 79 (1992)
- Gatehouse, D., Wedd, D.  
The bacterial mutagenicity of three naturally occurring indoles after reaction with nitrous acid  
*Mutat. Res.*, 124, 35 - 51 (1983)
- Gautheron, P., Duprat, P., Hollander, C.F.  
Investigations of the MDCK permeability assay as an in vitro test of ocular irritancy  
*In Vitro Toxicol.*, 7, 33 - 43 (1994 a)
- Gautheron, P., Giroux, J., Cottin, M., Audegond, L., Morilla, A., Mayordomo-Blanco, L., Tortajada, A., Haynes, G., Vericat, J.A., Pirovano, R., Gillio Tos, E., Hagemann, C., Vanparys, P., Deknudt, G., Jacobs, G., Prinsen, M., Kalweit, S., Spielmann, H.  
Interlaboratory assessment of the bovine corneal opacity and permeability (BCOP) assay  
*Toxicol. in Vitro*, 8 (3), 381 - 392 (1994 b)
- Gilleron, L., Coecke, S., Sysmans, M., Hansen, E., van Oproy, S., Marzin, D., van Cau-  
teren, H., Vanparys, P.  
Evaluation of a modified HET-CAM assay as a screening test for eye irritancy  
*Toxicol. in Vitro*, 10, 431 - 446 (1996)
- Gilleron, L., Coecke, S., Sysmans, M., Hansen, E., van Oproy, S., Marzin, D., van Cau-  
teren, H., Vanparys, P.  
Evaluation of the HET-CAM-TSA method as an alternative to the Draize eye irritation  
test  
*Toxicol. in Vitro*, 11, 641 - 644 (1997)
- Gordon, D., Nouri, A.M.E., Thomas, R.U.  
Selective inhibition of thromboxane biosynthesis in human blood mononuclear cells and  
the effects on mitogen-stimulated lymphocyte proliferation  
*Br. J. Pharmacol.*, 74, 469 - 475 (1981)
- Hahnemann, B., Kühn, B., Heubel, F., Legrum, W.  
Selective induction of the coumarin hydroxylase by N-containing heteroaromatic com-  
pounds  
*Arch. Toxicol., Suppl.* 13, 297 - 301 (1989)
- Hajek, K.K., Novak, R.F.  
Spectral and metabolic properties of liver microsomes from imidazole-pretreated rabbits  
*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 108, 664 - 672 (1982)
- Hajek, K.K., Cook, N.I., Novak, R.F.  
Mechanism of inhibition of microsomal drug metabolism by imidazole  
*J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 223, 97 - 104 (1982)

- Harbell, J.W., Curren, R.D.  
The bovine corneal opacity and permeability assay: observations on assay performance  
*In Vitro Mol. Toxicol.*, 11, 337 - 341 (1998)
- Hargreaves, M.B., Jones, B.C., Smith, D.A., Gescher, A.  
Inhibition of p-nitrophenol hydroxylase in rat liver microsomes by small aromatic and heterocyclic molecules  
*Drug Metab. Dispos.*, 22 (5), 806 - 810 (1994)
- Harper, R.A., Flaxman, B.A.  
Effect of pharmacologic agents on human keratinocyte mitosis in vitro. III. Inhibition by histamine and methylated analogs  
*J. Investigat. Dermatol.*, 65, 400 - 403 (1975)
- Hoffman, J., Konopka, K., Buckhorn, C., Koop, D.R., Waskell, L.  
Ethanol-inducible cytochrome P450 in rabbits metabolizes enflurane  
*Br. J. Anaesth.*, 63, 103 - 108 (1989)
- Italfarmaco, S.p.A.  
Pharmazeutische Mittel mit antiphlogistischer, antipyretischer und analgetischer Wirkung  
Patentschrift DE 30 46 325 C2 (1983)
- IVDK (Informationsverbund Dermatologischer Kliniken, Zentrale Göttingen)  
schriftliche Mitteilung an den Werksärztlichen Dienst der BASF AG vom 13.06.1996
- Jones, P.A., Bracher, M., Marenus, K., Kojima, H.  
Performance of the neutral red uptake assay in the COLIPA international validation study on the alternatives to the rabbit eye irritation test  
*Toxicol. in Vitro*, 13, 325 - 333 (1999)
- Kaul, K.L., Novak, R.F.  
Induction of rabbit hepatic microsomal cytochrome P-450 by imidazole: enhanced metabolic activity and altered substrate specificity  
*Arch. Biochem. Biophys.*, 235, 470 - 481 (1984)
- Khayat, M.H., Christophe, J.  
In vitro inactivation of pancreatic enzymes in washings of the rat small intestine  
*Am. J. Physiol.*, 217 (4), 923 - 929 (1969)
- Khera, K.S., Whalen, C.  
Detection of neuroteratogens with an in vitro cytotoxicity assay using primary monolayers cultured from dissociated foetal rat brains  
*Toxicol. in Vitro*, 2 (4), 257 - 273 (1988)
- Kim, S.G., Cho, M.K.  
Expression of glutathione S-transferase Ya, Yb1, Yb2, Yc1 and Yc2 and microsomal epoxide hydrolase genes by thiazole, benzothiazole and benzothiadiazole  
*Biochem. Pharmacol.*, 52, 1831 - 1841 (1996)
- Kim, S.G., Jung, K.H., Yang, W.K., Kim, N.D.  
Differential expression of microsomal epoxide hydrolase gene byazole heterocycles in rats  
*Biochem. Pharmacol.*, 48 (1), 111 - 120 (1994)

- Kline, E.L., Carland, K.C., Warren, J.T., jr., Smith, T.J.  
Effect of testosterone on imidazole-induced tyrosinase expression in B16 melanoma cell culture  
*Cancer Res.*, 48, 3586 - 3590 (1988 a)
- Kline, E.L., Smith, T.J., Carland, K.A., Blackmon, B.  
Inhibition of imidazole-induced tyrosinase activity by estradiol and estriol in cultured B16/C3 melanoma cells  
*J. Cell. Physiol.*, 134, 497 - 502 (1988 b)
- Koop, D.R., Crump, B.L., Nordblom, G.D., Coon, M.J.  
Immunochemical evidence for induction of the alcohol-oxidizing cytochrome P-450 of rabbit liver microsomes by diverse agents: ethanol, imidazole, trichloroethylene, acetone, pyrazole, and isoniazid  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 4065 - 4069 (1985)
- Kuemmerle, H.P., Dominguez-Gil, A., Koepcke, K., Hitzenberger, G.  
Pharmacokinetic profile of imidazole 2-hydroxybenzoate, a novel nonsteroidal antiinflammatory agent  
*Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, 24 (11), 581 - 597 (1986)
- Lake, B.G., Collins, M.A., Harris, R.A., Phillips, J.C., Cottrell, R.C., Gangolli, S.D.  
Studies on the metabolism of dimethylnitrosamine in vitro by rat-liver preparations. I. Comparison with mixed-function oxidase enzymes  
*Xenobiotica*, 12, 435 - 445 (1982)
- Lee, H., Lin, M.Y., Hao, N.J.  
Effects of Maillard reaction products on mutagen formation in boiled pork juice  
*Mutagen.*, 10 (3), 179 - 183 (1995)
- Lide, D.R., Frederikse, H.P.R. (eds.)  
CRC Handbook of chemistry and physics  
77<sup>th</sup> ed., p. 3-197  
CRC Press, Boca Raton, New York, London, Tokyo (1997)
- Marigo, A., Andreis, P.G., Romano, F., Cavatton, G., Armato, U.  
Primary cultures of neonatal rat liver as an assay system to identify compounds belonging to the tumor promoters class  
*Dev. Biol. Stand.*, 60, 371 - 391 (1985)
- Maurice, D.M., Brooks, D.  
The permeability of the mouse cornea as a test for acute ocular toxicity  
*In Vitro Toxicol.*, 8, 113 - 120 (1995)
- Mayerhofer, D., Bain, P., Bartke, A.  
Effects of yohimbine and imidazole on sexual behavior of the male mouse  
*Neuroendocrinol. Lett.*, 12 (2), 69 - 77 (1990)
- McCormick, D.L., Spicer, A.M., Hollister, J.L.  
Differential effects of tranlylcypromine and imidazole on mammary carcinogenesis in rats fed low and high fat diets  
*Cancer Res.*, 49, 3168 - 3172 (1989)

- Mhashilkar, A.M., Viswanatha, T., Chibber, B.A.K., Castellino, F.J.  
Breaching the conformational integrity of the catalytic triad of the serine protease plasmin: localized disruption of a side chain of His-603 strongly inhibits the amidolytic activity of human plasmin  
Proc. Natl. Acad. Sci., 90, 5374 - 5377 (1993)
- Miki, N., Yoshida, H.  
Purification and properties of cyclic AMP phosphodiesterase from rat brain  
Biochim. Biophys. Acta, 268, 166 - 174 (1972)
- Mokrasch, L.C.  
Organic cations substituted for sodium are toxic to cultured rat glioma cells  
Mol. Cell. Biochem., 92, 85 - 89 (1990)
- Momii, A., Funai, K., Shingu, H., Sugimoto, T.  
Toxicological studies on econazole nitrate. IX. Mutagenicity tests with several bacterial strains  
Iyakuin Kenkyu, 10, 351 - 357 (1979)
- Moncada, S., Bunting, S., Mullane, K., Thorogood, P., Vane, J.R., Raz, A., Needleman, P.  
Imidazole: a selective inhibitor of thromboxane synthetase  
Prostaglandins, 13, 611 - 618 (1977)
- Montefiori, D.C., Kline, E.L.  
Regulation of cell division and of tyrosinase in B16 melanoma cells by imidazole: a possible role for the concept of metabolite gene regulation in mammalian cells  
J. Cell. Physiol., 106, 283 - 291 (1981)
- Needleman, P., Raz, A., Ferrendelli, J.A., Minkes, M.  
Application of imidazole as a selective inhibitor of thromboxane synthetase in human platelets  
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 1716 - 1720 (1977)
- Nishie, K., Waiss, A.C., jr., Keyl, A.C.  
Toxicity of methylimidazoles  
Toxicol. Appl. Pharmacol., 14, 301 - 307 (1969)
- Noseda, G., Fragiaco, C., Peruzzi, M., Cremonesi, P., China, B.  
Comparative absorption kinetics of imidazole and salicylic acid in volunteers after administration of ITF 182 tablets and suppositories  
Int. J. Clin. Pharmacol. Res., 8 (3), 169 - 173 (1988)
- Ohta, K., Yamaguchi, J.I., Akimoto, M., Fukushima, K., Suwa, T., Awazu, S.  
Retention mechanism of imidazoles in connective tissue. I. Binding to elastin  
Drug Metab. Dispos., 24, 1291 - 1297 (1996)
- Ohta, K., Akimoto, M., Kohno, Y., Fukushima, K., Suwa, T., Awazu, S.  
Retention mechanism of imidazoles in connective tissue. II. Activation of imidazoles in cupro-ascorbate system for irreversible binding formation with aortic tissue in vitro  
Biol. Pharm. Bull., 21, 308 - 310 (1998)
- Olcott, H.S., Lukton, A.  
Hemichrome and hemochrome formation with anserine, carnosine and related compounds  
Arch. Biochem. Biophys., 93, 666 - 669 (1961)



- Pagella, P.G., Bellavite, O., Agozzino, S., Dona, G.C., Cremonesi, P., De Santis, F.  
Pharmacological studies of imidazole 2-hydroxybenzoate (ITF 182), an antiinflammatory compound with an action on thromboxane A<sub>2</sub> production  
*Arzneim.-Forsch.*, 33, 716 - 726 (1983)
- Pagella, P.G., Agozzino, S., Bellavite, O., Donà, G.C., Galimberti, G., Cremonesi, P.  
Penetration of imidazole 2-hydroxybenzoate (ITF 182) into experimentally inflamed pleural and knee joint exudates  
*Arzneim.-Forsch.*, 34 (2), 208 - 210 (1984)
- Parmar, D., Burka, L.T.  
Studies on the interaction of furan with hepatic cytochrome P-450  
*J. Biochem. Toxicol.*, 8 (1), 1 - 9 (1993)
- Puig Muset, P., Puig Parellada, P., Martin-Esteve, J.  
Biochemical and pharmacological aspects of imidazole  
JIMS, Barcelona (1972)  
zitiert in: Cook et al. (1980)
- Puig-Parellada, P., Planas, J.M.  
Synovial fluid degradation induced by free radicals. In vitro action of several free radical scavengers and anti-inflammatory drugs  
*Biochem. Pharmacol.*, 27, 535 - 537 (1978)
- Puig Parellada, P., Parés Avila, R., Puig Muset, P.  
Imidazole, calcium and analgesia  
*Pharmacol. Res. Cummun.*, 3, 207 - 213 (1971)
- Puig-Parellada, P., Garcia-Gasulla, G., Puig-Muset, P.  
Pharmacological properties of imidazole. I. Analgesic and anti-inflammatory actions  
*Pharmacology*, 10, 161 - 168 (1973)
- Reinke, L.A., Sexter, S.H., Rikans, L.E.  
Comparison of ethanol and imidazole pretreatments on hepatic monooxygenase activities in the rat  
*Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 47, 97 - 106 (1985)
- Richardson, J.M., Kunau, R.T.  
Effect of imidazole (IM) on renal plasma flow and urinary sodium excretion  
*Kidney Int.*, 14, 776 (1978)
- Ritter, J.K., Franklin, M.R.  
Induction of hepatic oxidative and conjugative drug metabolism in the hamster by N-substituted imidazoles  
*Toxicol. Lett.*, 36, 51 - 59 (1987)
- Romano, F., Menapace, L., Armato, U.  
Inhibitors of ADP-ribosyl transferase suppress the mitogenic actions exerted by tumour promoters, but not those evoked by peptide mitogens, in primary neonatal rat hepatocytes  
*Carcinogenesis*, 9 (12), 2147 - 2154 (1988)
- Roussinov, K.S., Lazarova, M., Atanassova-Shopova, S.  
Experimental study of the effects of imidazol, papaverine and histamine on convulsive-seizure reactivity  
*Acta Physiol. Pharmacol. Bulg.*, 2, 78 - 87 (1976)

- Rowland, I.R., Lake, B.G., Phillips, J.C., Gangolli, S.D.  
Substrates and inhibitors of hepatic amine oxidase inhibit dimethylnitrosamine-induced mutagenesis in *Salmonella typhimurium*  
*Mutat. Res.*, 72, 63 - 72 (1980)
- Roy, M.W., Dempsey, R.J., Cowen, D.E., Donaldson, D.L., Young, A.B.  
Thromboxane synthetase inhibition with imidazole increases blood flow in ischemic penumbra  
*Neurosurgery*, 22, 317 - 323 (1988)
- RTECS (Registry of Toxic Effects of Chemical Substances)  
Imidazole, RTECS Number NI3325000  
produced by NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) (2001)
- Ruddick, J.A., Newsome, W.H., Nash, L.  
Correlation of teratogenicity and molecular structure: ethylenethiourea and related compounds  
*Teratology*, 13, 263 - 266 (1976)
- Satyanarayana, S., Suneeta, T., Visweswaram, D.  
Comparative study of imidazole and SKF 525-A on the urinary excretion of ascorbic acid in rats  
*Indian J. Pharm. Sci.*, 52 - 55, Jan. - Feb. (1988)
- Shulman, S.  
The effects of certain ions and neutral molecules on the conversion of fibrinogen to fibrin  
*Discuss. of the Faraday Soc.*, 13, 109 - 115 (1953)
- Singh, M., Sharma, P.L.  
Effect of phosphodiesterase regulators and catecholamines on motility of isolated pregnant rat uterus  
*Indian J. Exp. Biol.*, 22, 645 - 648 (1984)
- Strand, J.C., Edwards, B.S., Anderson, M.E., Romero, J.C., Knox, F.G.  
Effect of imidazole on renal function in unilateral ureteral-obstructed rat kidneys  
*Am. J. Physiol.*, 240, F508 - F514 (1981)
- Suzuki, Y., Ishida, Y., Hester, R.K., Shibata, S.  
Imidazole-induced potentiation of the contractile response to various agonists in vascular smooth muscle  
*Eur. J. Pharmacol.*, 83, 223 - 231 (1982)
- Tanaka, T., Muto, N., Itoh, N., Dota, A., Nishina, Y., Inada, A., Tanaka, K.  
Induction of differentiation of embryonal carcinoma F9 cells by iron chelators  
*Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.*, 90, 211 - 220 (1995)
- Tizabi, Y., Woodbury, C.M., Ramey, E.R., Penhos, J.C.  
Effect of imidazole on glucose tolerance and cAMP (39845)  
*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 155, 532 - 534 (1977)
- VCI (Verband der chemischen Industrie)  
VCI-Altstoffliste  
Chemische Industrie, Sonderdruck aus Heft 4 (1988)

- Visweswaram, D., Satyanarayana, S., Krishnaiah, Y.S.R.  
Kinetics of drug action and interactions  
Recent Trends Biotechnol., Proc. Ninth Natl. Conv. Chem. Eng. Int. Symp. "Importance Biotechnol. Com.", p. 103 - 105 (1993)
- Voogd, C.E.  
Nitroimidazoles, a new class of mutagenic agents  
Mutat. Res., 29, 240 (1975)
- Voogd, C.E., van der Stel, J.J., Jacobs, J.J.J.A.A.  
The mutagenic action of nitroimidazoles. IV. A comparison of the mutagenic action of several nitroimidazoles and some imidazoles  
Mutat. Res., 66, 207 - 221 (1979)
- Wang, X., Han, C., Yang, L., Chen, M., Fiscus, R.R.  
Ibuprofen, indomethacin, and high-dose aspirin, but not low-dose aspirin or imidazole, inhibit CGRP elevations in plasma during endotoxemia  
Ann. NY Acad. Sci., 657, 502 - 504 (1992)
- Wang, X., Han, C., Jones, S.B., Yang, L., Fiscus, R.R.  
Calcitonin gene-related peptide release in endotoxemia may be mediated by prostaglandins  
Shock, 3 (1), 34 - 39 (1995)
- Williams, J.G., Garcia, I., Maier, R.V.  
Prostaglandin E<sub>2</sub> mediates lipopolysaccharide-induced macrophage procoagulant activity by a cyclic adenosine monophosphate-dependent pathway  
Surgery, 114 (2), 314 - 323 (1993)
- Workman, P., Twentyman, P.R., Lee, F.Y.F., Walton, M.I.  
Drug metabolism and chemosensitization. Nitroimidazoles as inhibitors of drug metabolism  
Biochem. Pharmacol., 32, 857 - 864 (1983)
- Yang, M., Wang, L., Xie, G., Liu, Y.  
Effects of intermediate metabolites of 37 xenobiotics on the catalytic activities of reconstituted cytochrome P-450IIB1 and P-450IA1 enzyme systems  
Biomed. Environ. Sci., 6, 8 - 26 (1993)
- Zeller, E.A.  
Zur Kenntnis der Mono- und Diamin-oxydase. 10. Mitteilung über den enzymatischen Abbau von Polyaminen  
Helv. Chim. Acta, 24, 539 - 548 (1941)