

Die BG RCI ist seit 2010 Rechtsnachfolger der BG Chemie

TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNGEN

ISBN 0937-4248

TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNG

Ausgabe 06/00

ISSN 0937-4248

Acetessig- säureethylester

Nr. 246

CAS-Nr. 141-97-9



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: praevention@bgchemie.de
Internet: www.bgchemie.de

Acetessigsäureethylester

Acetoacetic acid ethyl ester

1 Zusammenfassung und Bewertung

Zur Toxikokinetik und zum Metabolismus von Acetessigsäureethylester sind kaum Daten vorhanden. Es kann angenommen werden, daß der Ester vom Körper aufgenommen, dort durch Esterasen zu einem erheblichen Teil in Acetessigsäure und Ethanol gespalten und schließlich zu CO₂ und Wasser verstoffwechselt wird. Toxische Wirkungen sollten, wenn überhaupt, vom ungespaltenen Ester oder von sehr hohen Dosen des Stoffes ausgehen, da die bei der Ester-Spaltung entstehenden Ethanol-Mengen bei mäßiger Exposition mit Acetessigsäureethylester weit unterhalb des toxischen Bereiches für Ethanol liegen und Acetessigsäure als natürliches Zwischenprodukt des normalen Fettsäureabbaus als toxisch nicht relevant angesehen werden kann.

So ist Acetessigsäureethylester auch beim Tier nach einmaliger oraler, dermaler und inhalativer Verabreichung wenig toxisch (LD₅₀ Ratte oral 3980 bis 12000 mg/kg Körpergewicht; LD₅₀ Maus oral 3200 bis 6400 mg/kg Körpergewicht; LD₅₀ Kaninchen dermal > 10300 mg/kg Körpergewicht; LD₅₀ Meerschweinchen dermal > 20 ml/kg Körpergewicht; LC₅₀ Ratte (6 Stunden) > 1129 ppm (entsprechend 5995 mg/m³)). Spezifische Vergiftungssymptome wurden nicht beobachtet.

Nach 4wöchiger oraler Zufuhr an Ratten bewirkt Acetessigsäureethylester bis zur höchsten geprüften Dosis von 1000 mg/kg Körpergewicht in zwei Versuchen keine behandlungsbedingten Effekte.

In Abhängigkeit von der Expositionsdauer und der Dosierung wirkt Acetessigsäureethylester an der Haut nicht bis leicht reizend und am Auge leicht reizend. Es werden keine sensibilisierenden Wirkungen der Substanz an der Haut von Meerschweinchen und Mensch berichtet, allerdings liegen nur unzureichend dokumentierte und ein wenig aussagekräftiger Befund vor.

Im Salmonella/Mikrosomen-Test ist Acetessigsäureethylester nicht mutagen. In vitro konnte in einer methodisch eingeschränkten Untersuchung

keine chromosomenschädigende Wirkung nachgewiesen werden. Dagegen liegen in zwei Prüfungen mit *Escherichia coli* zwei sich widersprechende Befunde zur genmutagenen Wirkung vor. Auch in zwei DNA-Reparaturtesten mit *Bacillus subtilis* sind widersprüchliche Befunde zur DNA-schädigenden Wirkung des Acetessigsäureethylesters gefunden worden. Bei *Saccharomyces cerevisiae* induziert Acetessigsäureethylester keine mitotischen Rekombinationen. Die vorliegenden Untersuchungen sprechen für kein relevantes genotoxisches Potential der Verbindung.

Summary and assessment

The available data on the toxicokinetics and metabolism of acetoacetic acid ethyl ester are scanty. It is assumed, however, that the ester is absorbed by the body, then hydrolysed to a considerable extent by esterases to acetoacetic acid and ethanol and finally metabolised to CO₂ and water. Toxic effects are likely to be due to the uncleaved ester, if anything, or to very high doses of the substance, as the amounts of ethanol resulting from ester hydrolysis under conditions of moderate exposure to acetoacetic acid ethyl ester are far below the toxic levels for ethanol. Acetoacetic acid is a natural intermediate of normal fatty acid catabolism and therefore cannot be considered to be of toxicological relevance.

Hence, acetoacetic acid ethyl ester is of low toxicity in animals following single oral, dermal and inhalation administration (LD₅₀ rat oral 3980 to 12000 mg/kg body weight; LD₅₀ mouse oral 3200 to 6400 mg/kg body weight; LD₅₀ rabbit dermal > 10300 mg/kg body weight; LD₅₀ guinea pig dermal > 20 ml/kg body weight; LC₅₀ rat (6 hours) > 1129 ppm (equivalent to 5995 mg/m³)). No specific signs of toxicity were observed.

In two studies in rats, 4-week oral administration of acetoacetic acid ethyl ester caused no treatment-related effects up to the highest test dose of 1000 mg/kg body weight.

Depending on the duration of exposure and dosage, acetoacetic acid ethyl ester is not irritant to slightly irritating to the skin, and slightly irritating to the eye. There are no reports of sensitising effects of the substance on the skin of guinea pigs and humans. The available findings, however, are insufficiently documented, and in one case the result is of little significance.

In the Salmonella/microsome assay, acetoacetic acid ethyl ester is not mutagenic. In an in vitro study, which had methodological limitations, no chromosome-damaging potential was detected. In contrast, two tests in Escherichia coli have given contradictory results with respect to the mutagenic potential of the substance. Two DNA repair tests using Bacillus subtilis have also produced contradictory findings as regards the DNA-damaging potential of acetoacetic acid ethyl ester. In Saccharomyces cerevisiae, acetoacetic acid ethyl ester fails to induce mitotic recombinations. The studies conducted so far support the assessment that acetoacetic acid ethyl ester is devoid of any relevant genotoxic potential.

2 Stoffname

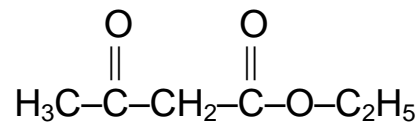
2.1	Gebrauchsname	Acetessigsäureethylester
2.2	IUPAC-Name	3-Oxobutansäureethylester
2.3	CAS-Nr.	141-97-9
2.4	EINECS-Nr.	205-516-1

3 Synonyme, Trivial- und Handelsnamen

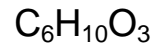
Acetessigester
Acetoacetic acid ethyl ester
Acetoacetic ester
Acetylessigsäureethylester
Active acetyl acetate
Active acetylacetate
Butanoic acid, 3-oxo-, ethyl ester
Diacetic ester
EAA
1-Ethoxybutane-1,3-dione
Ethylacetacetat
Ethylacetoacetat
Ethyl acetoacetate
Ethyl acetonecarboxylate
Ethylacetylacetat
Ethyl acetyl acetate
Ethyl acetylacetate
Ethyl acetyl acetonate
Ethyl β -ketobutyrate
Ethyl 3-oxobutanoate
Ethyl 3-oxobutyrate
 β -Ketobuttersäureethylester
3-Oxobutanoic acid ethyl ester

4 Struktur- und Summenformel

4.1 Strukturformel



4.2 Summenformel



5 Physikalisch-chemische Eigenschaften

5.1	Molekularmasse, g/mol	130,14	
5.2	Schmelzpunkt, °C	- 44 bis - 39 - 45	(Hoechst, 1994) (Lide und Frederikse, 1996)
5.3	Siedepunkt, °C	178 - 187 (bei 1013 hPa) 180,8	(Hoechst, 1994) (Lide und Frederikse, 1996)
5.4	Dampfdruck, hPa	1 (bei 20 °C)	(Hoechst, 1994)
5.5	Dichte, g/cm ³	1,0368 (bei 10 °C) 1,0325 (bei 15 °C) 0,9958 (bei 50 °C)	(Lide und Frederikse, 1996) (Hoechst, 1994)
5.6	Löslichkeit in Wasser	125 g/l (bei 16 °C)	(Hoechst, 1994)
5.7	Löslichkeit in organischen Lösemitteln	löslich in Benzol, mischbar mit Ethanol und Diethylether	(Lide und Frederikse, 1996)
5.8	Löslichkeit in Fett	Verteilungskoeffizient n-Octanol/Wasser log P _{ow} : - 0,25 (gemessen)	(Hoechst, 1994)
5.9	pH-Wert	4 (110 g/l bei 20 °C)	(Hoechst, 1991)
5.10	Umrechnungsfaktor	1 ml/m ³ (ppm) \triangleq 5,31 mg/m ³ 1 mg/m ³ \triangleq 0,19 ml/m ³ (ppm) (bei 1013 hPa und 25 °C)	

6 Herstellung, Produktionsmenge und Verwendung

6.1 Herstellung

Alkoholyse von Diketen mit Ethanol (Riemenschneider, 1987).

6.2 Hergestellte oder eingeführte Menge

> 1000 t/Jahr (VCI, 1988).

6.3 Verwendung

Zur Herstellung von Farbstoffen, Pflanzenschutzmitteln, Pharmazeutika, Stabilisatoren, Fotochemikalien; als Bestandteil von Lacken und als Lösemittel; Zusatz in Duftstoffen (Riemenschneider, 1987).

7 Experimentelle Befunde

7.1 Toxikokinetik und Metabolismus

Verwertbare Daten zur Toxikokinetik und zum Metabolismus von Acetessigsäureethylester sind kaum vorhanden. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Stoffes und die vorliegenden tierexperimentellen Befunde weisen darauf hin, daß er bioverfügbar ist. Quantitative Befunde zur Aufnahme und Verteilung im Organismus und zur Ausscheidung von Acetessigsäureethylester liegen nicht vor.

Auch zum Metabolismus von Acetessigsäureethylester können nur Vermutungen angestellt werden. Es ist anzunehmen, daß der Ester, sobald er in den Körper gelangt, durch Esterasen in Acetessigsäure und Ethanol gespalten wird, doch ist über das Ausmaß und die Geschwindigkeit dieser Spaltung nichts bekannt. Acetessigsäure ist ein natürliches Zwischenprodukt des Fettsäureabbaus und wird im Organismus vorwiegend zu CO₂ und Wasser abgebaut. Daneben kann auch β -Hydroxybuttersäure und Aceton gebildet werden. Ethanol wird ebenfalls zu CO₂ und Wasser im Organismus abgebaut.

In einer Studie an männlichen Ratten, die 24 Stunden vor der ersten Applikation und während der ganzen Untersuchung kein Futter erhielten, wurde nach oraler Gabe von 4,2, 8,4 bzw. 33,7 g Acetessigsäureethylester/m² Körperoberfläche (entsprechend 0,66, 1,31 bzw. 5,26 g/kg Körpergewicht bei einer Körperoberfläche von 312 cm² und einem Gewicht der Ratten von 200 g) über 4 bis 6 Tage mit der Schlundsonde in zwei Dosen täglich die erhöhte Ausscheidung von Acetonkörpern im Urin als Maß für die Aufnah-

me und Verstoffwechslung des Esters gemessen. Bei der hohen Dosis von 5,26 g/kg Körpergewicht betrug die Erhöhung der Ketonkörper etwa 12 % der verabreichten Menge an Acetessigsäureethylester, beginnend vom 1. Tag der Applikation über 4 Tage. Die Gabe von 1,31 g/kg Körpergewicht bewirkte einen Anstieg der Ketonkörperausscheidung im Urin entsprechend 14 % des verabreichten Acetessigsäureethylesters am 2. Tag der Applikation, der sich bis zu 21 % am 5. Tag steigerte. Die Dosis von 0,66 g/kg Körpergewicht ergab keinen Effekt gegenüber der Kontrolle. Wurde statt des Esters der Acetessigsäure deren Natriumsalz in äquimolarer Menge eingesetzt, so war die Erhöhung der Ausscheidung der Ketonkörper doppelt so hoch wie beim Ester. Die Autoren folgerten aus ihren Befunden, daß Acetessigsäureethylester nach oraler Verabreichung vom Körper aufgenommen und dem normalen Stoffwechsel zugeführt wird, da die bei fastenden Tieren bestehende Ketonurie erheblich verstärkt wurde. Nach ihrer Aussage erfolgte keine Ausscheidung von Acetessigsäure, sondern 80 bis 85 % der gefundenen Ketonkörper wurden β -Hydroxybuttersäure zugeordnet (Deuel et al., 1936).

Nach intraduodenaler Verabreichung von $3\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetessigsäureethylester an männliche Kaninchen (ca. 2 kg), die durch Injektion von 3,6 ml einer 5prozentigen wäßrigen Lösung von Alloxanmonohydrat/kg Körpergewicht in die Ohrvene diabetisch gemacht worden waren und eine Gallenfistel gelegt bekamen, wurden innerhalb von 24 Stunden 2,7 % der verabreichten Radioaktivität als Acetonkörper in der Galle gefunden im Vergleich zu 1,5 % bei den Kontrolltieren. 90 % dieser Radioaktivität wurden während der ersten 6 Stunden nach der Applikation gemessen. Der Maximalwert trat bereits eine Stunde nach der Applikation auf (keine weiteren Angaben; Asagoe et al., 1968).

7.2 Akute und subakute Toxizität

Nach einmaliger oraler bzw. dermaler Verabreichung wurden folgende LD_{50} -Werte ermittelt.

Tabelle 1. Daten zur akuten Toxizität von Acetessigsäureethylester			
Spezies	Zufuhrweg	LD ₅₀ (mg/kg Körpergewicht)	Literatur
Ratte	oral	3980	Smyth et al., 1949
Ratte (4 ♂, 4 ♀)	oral	> 3200	Eastman Kodak, 1982
Ratte (♂)	oral	12300	Bio-Toxicology, 1975
Ratte (♀)	oral	10800	Bio-Toxicology, 1975
Maus (♂)	oral	3200 bis 6400	Eastman Kodak, 1989
Kaninchen	dermal	> 10300	Smyth et al., 1949
Kaninchen	dermal	> 5000	Moreno, 1973
Kaninchen	dermal	> 10000	SIDS, 1990
Meerschweinchen	dermal	> 20 ml/kg Körpergewicht (<u>△</u> ca. 20000 mg/kg Körpergewicht)	Eastman Kodak, 1982
Ratte	inhalativ (6 Stunden)	> 1129 ppm (<u>△</u> > 5995 mg/m ³)	SIDS, 1990

Im Inhalations-Risiko-Test war Acetessigsäureethylester bei der Ratte (n = 6) bei 8stündiger Exposition nicht letal (keine weiteren Angaben; Smyth et al., 1949).

Vergiftungssymptome wurden nur in Einzelfällen berichtet. In einer Untersuchung zur akuten oralen Toxizität von Acetessigsäureethylester mit 5 männlichen und 5 weiblichen Ratten/Dosisgruppe wurde bei einer Dosis von 2000 und 4000 mg/kg Körpergewicht eine mäßige Diarrhoe und bei 8000 mg/kg Körpergewicht eine mäßige bis schwere Diarrhoe und Lethargie beobachtet. Bei einer Dosis von 10000 mg/kg Körpergewicht starben 1 von 5 männliche und 2 von 5 weibliche Tiere. Alle Tiere zeigten unregelmäßige und beschleunigte Atmung, schwere Diarrhoe, Lethargie und struppiges Fell. Bei einer Dosis von 16000 mg/kg Körpergewicht starben alle Tiere innerhalb von 30 Minuten (Bio-Toxicology, 1975).

An 2 männlichen Mäusen, die oral mit 6400 mg Acetessigsäureethylester/kg Körpergewicht behandelt worden waren, beobachtete man schwere Ataxie, Schwäche, Atemnot und Krämpfe (Eastman Kodak, 1989).

In einer Untersuchung zur subakuten Toxizität über 16 Tage wurden Gruppen von 5 Ratten an 5 Tagen/Woche insgesamt 12mal 100 bzw. 1000 mg

Acetessigsäureethylester/kg Körpergewicht unverdünnt mit der Schlundsonde verabreicht. Es wurden keine Veränderungen bei der Futteraufnahme, der Körpergewichtszunahme, der makroskopischen und mikroskopischen Befunderhebung, den Organgewichten und den hämatologischen sowie den klinisch-chemischen Parametern beobachtet (keine weiteren Angaben; Eastman Kodak, 1982).

Zur Prüfung der subakuten Toxizität von Acetessigsäureethylester bekamen Gruppen von je 16 männlichen und 16 weiblichen Sprague-Dawley-Ratten (zu Versuchsbeginn etwa 21 Tage alt) 0 (Kontrollen), 100, 300 oder 1000 mg/kg Körpergewicht an 28 oder 29 aufeinanderfolgenden Tagen mit dem Futter als Mikrokapseln verabreicht (berechnet aus dem Futterverbrauch und dem Körpergewicht der Tiere und der Acetessigsäureethylester-Analyse des Futters). Futterverbrauch und Körpergewichtsentwicklung blieben unbeeinflusst. Während der letzten Behandlungswoche wurde von allen Tieren der Urin gesammelt und umfassend untersucht. Am 28. oder 29. Tag der Behandlung wurden die Tiere getötet. Es wurden Blutproben für die hämatologischen Untersuchungen (Hämoglobin, Blutbild, Gerinnungszeit) und die ausführliche Serumanalyse gesammelt. Nach der Sektion wurden die Gewichte von Gehirn, Herz, Zäkum, Nieren, Nebennieren, Gonaden, Milz und Leber bestimmt. Diese Organe und weitere 31 Gewebe wurden in Formalin aufbewahrt und in der Kontrollgruppe und der 1000 mg/kg-Gruppe histopathologisch untersucht. Bei den männlichen Tieren der 1000 mg/kg-Gruppe kam es zu einer Erhöhung der Zäkumgewichte, der histopathologische Befund war jedoch normal. Alle untersuchten hämatologischen und klinisch-chemischen Parameter und die Urinanalysen lagen im Normbereich. Histopathologisch ergaben sich eine erhöhte Inzidenz von „Nephrocalcinosis“ bei den weiblichen Ratten der 1000 mg/kg-Gruppe und Proteinzyylinder in der Harnblase bei den männlichen Ratten der 1000 mg/kg-Gruppe, doch wurden diese Befunde nicht als behandlungsbedingt angesehen. Zusätzliche Teste (Verdünnungs- und Konzentrationsversuche) erbrachten keine Hinweise auf eine Störung der Nierenfunktion. Insgesamt wurden die erhobenen Befunde als toxikologisch irrelevant bewertet (BIBRA, 1988; Cook et al., 1992).

In einer weiteren subakuten Untersuchung gemäß der OECD-Richtlinie Nr. 407 erhielten Gruppen von je 5 männlichen und 5 weiblichen Sprague-Dawley-Ratten (bei Versuchsbeginn 172 bis 198 bzw. 142 bis 174 g) 4 Wochen lang täglich 0 (Kontrollen), 50, 225 oder 1000 mg Acetessigsäure-

ethylester (Reinheitsgrad 99,6 %)/kg Körpergewicht mittels Schlundsonde. Weitere Gruppen von je 5 männlichen und 5 weiblichen Ratten in der Kontrolle und der oberen Dosisgruppe wurden 14 Tage lang nachbeobachtet. Wiederum zeigten selbst die Ratten der oberen Dosisgruppe von 1000 mg/kg Körpergewicht (dem von der OECD empfohlenen oberen Limit) keine substanzbezogenen Befunde (Hazleton, 1991).

7.3 Haut- und Schleimhautverträglichkeit

Studien zur Hautverträglichkeit

In einer Hautreizprüfung gemäß der OECD-Richtlinie Nr. 404 erhielten 3 Albino-Neuseeland-Kaninchen 0,5 ml Acetessigsäureethylester auf die einen Tag vor Versuchsbeginn geschorene, intakte Haut im dorsalen bis lateralen Bereich des Rumpfes semiokklusiv. Die Einwirkungszeit betrug 4 Stunden. Die Beurteilung der Haut 0,5, 1, 24, 48 und 72 Stunden nach Entfernen des Patches ergab keine Hinweise auf eine Reizung (Reizindex 0 bei einem maximalen Reizindex von 8; Hoechst, 1983 a).

Die Applikation eines mit 0,5 ml Acetessigsäureethylester beschickten Läppchens für 24 Stunden auf die geschorene Rückenhaut von 5 Kaninchen führte zu einer leichten Hyperämie (Smyth et al., 1949).

510 mg Acetessigsäureethylester bewirkten im offenen Epikutan-Test beim Kaninchen eine leichte Reizung (keine weiteren Angaben; Union Carbide, 1969).

Bei der Verabreichung von Acetessigsäureethylester auf die intakte oder aufgerauhte Haut des Kaninchens mit einem Okklusionsverband für 24 Stunden wurde keine Reizung beobachtet (keine weiteren Angaben; Moreno, 1973).

Wurde bei 3 Meerschweinchen Acetessigsäureethylester auf das enthaarte Abdomen mit einem Okklusivverband für 24 Stunden aufgebracht, zeigte sich eine leichte Reizung. Bei der täglichen offenen Applikation von Acetessigsäureethylester auf die geschorene Rückenhaut von 5 Meerschweinchen über 10 Tage zeigte sich zu Beginn eine sehr geringe Bläschenbildung, die sich während der gesamten Behandlung nur geringfügig verschlimmerte (keine weiteren Angaben; Eastman Kodak, 1982).

Studien zur Schleimhautverträglichkeit

Zur Prüfung der Augenreizwirkung gemäß der OECD-Prüfrichtlinie Nr. 405 erhielten 3 Albino-Neuseeland-Kaninchen einmalig je 0,1 ml Acetessigsäureethylester in den Bindehautsack des linken Auges. Das unbehandelte Auge diente jeweils als Kontrolle. 24 Stunden nach der Applikation wurden die Augen gespült. Die Beurteilung erfolgte 1, 24, 48 bzw. 72 Stunden nach der Applikation. 1 bzw. 24 Stunden nach der Applikation waren die Konjunktiven leicht bis deutlich geschwollen sowie leicht bis diffus karmesinrot gefärbt. Bei einem Tier trat Sekretion auf. Zusätzlich zeigte sich bei 1/3 Tieren 24 sowie 48 Stunden nach der Applikation eine Rötung der Iris. 72 Stunden nach der Applikation war die Reizung abgeklungen. Die Beurteilung der Cornea im Fluorescein-Test 24 sowie 72 Stunden nach der Applikation ergab keine pathologischen Befunde (Hoechst, 1983 b). Somit erwies sich die Substanz als leicht reizend am Auge.

Ebenfalls beim Kaninchen führte die Applikation von 0,1 ml Acetessigsäureethylester in den Bindehautsack des Auges bei 2 von 3 Tieren zu einer mäßigen Reizung und bei einem Tier zu einer starken Reizung. Bei diesem Tier war die Cornea nach einer Stunde gerötet und nach 24 Stunden trübe. Das Auge normalisierte sich nach 2 Wochen (Eastman Kodak, 1982).

In einer weiteren Untersuchung führten 100 mg Acetessigsäureethylester am Kaninchenauge innerhalb von 24 Stunden zu einer mäßigen Reizung (keine weiteren Angaben; Marhold, 1986).

In einem anderen, nicht den heutigen Prüfrichtlinien entsprechenden Versuch bewirkten 0,1 ml Acetessigsäureethylester am Kaninchenauge schwere Schäden (keine weiteren Angaben; Carpenter und Smyth, 1946). Die Bewertung des Befundes ist mit Vorbehalt zu sehen.

Eine in vitro-Untersuchung mit präparierter Cornea des Rinderauges führte zu vergleichbaren Ergebnissen. Die Cornea wurde vom Auge abpräpariert und in einen Halter eingespannt, der es erlaubte, das Gewebe von unten im Medium zu halten und von oben der Prüfsubstanz zu exponieren. Acetessigsäureethylester wurde in reiner, unverdünnter Form verwendet. Nach 10 Minuten Inkubation in horizontaler Position wurde die Prüfsubstanz entfernt und die Corneaoberfläche mit Medium gewaschen. Gemessen wurde die Trübung der Cornea sowie die Durchlässigkeit des Gewebes für eine unverdünnte Fluorescein-Lösung als Maß für die Augenschädigung. Acet-

essigsäureethylester zeigte in diesem Test eine mäßige Augenreizung. In einem parallel durchgeführten in vivo-Test, bei dem die Prüfsubstanz in das Auge eingebracht wurde und die Tiere bis zu 21 Tage beobachtet wurden, ergab Acetessigsäureethylester ebenfalls eine mäßige Augenreizung, die nach 7 Tagen vollständig reversibel war (Gautheron et al., 1994).

Auch ein modifizierter HET-CAM-Test in vitro, in dem Acetessigsäureethylester auf die freigelegte Chorio-Allantorismembran der 10 Tage bebrüteten Hühnereier unverdünnt aufgetragen wurde und die Hämorrhagien, die Lyse oder die Koagulationen in der Membran gemessen wurden, zeigte ein den Befunden von Gautheron et al. (1994) entsprechendes Ergebnis (Gilleron et al., 1996).

7.4 Sensibilisierende Wirkung

Acetessigsäureethylester erwies sich im Maximierungstest nach Magnusson/Kligman an der Meerschweinchenhaut bei 10/10 Tieren als nicht sensibilisierend (keine weiteren Angaben; Eastman Kodak, 1982).

In einer weiteren, 1981 durchgeführten Untersuchung zur hautsensibilisierenden Wirkung von Acetessigsäureethylester wurde die heute nicht mehr gebräuchliche „Fußballen-Methode“ an Meerschweinchen angewendet. In einem Vorversuch mit 5 weiblichen Tieren, die vorher mit Freund's Adjuvans behandelt worden waren, wurden bei der topischen Auftragung einer 1prozentigen Lösung der Testsubstanz in Aceton, Dioxan und Meerschweinchenfett (7 : 2 : 1) nach 24 und 48 Stunden Beobachtungszeit Zeichen von Entzündung einschließlich leichter bis mäßiger Ödeme gesehen. Die Konzentration für die Auslösung im Hauptversuch wurde auf 0,1 % der Testsubstanz im oben genannten Vehikel festgelegt. Es erhielten 19 Meerschweinchen 0,05 ml Freund's Adjuvans ohne Acetessigsäureethylester (Kontrolle) und 10 weitere Tiere 0,05 ml Freund's Adjuvans mit 1 % Acetessigsäureethylester einmalig in den Fußballen appliziert. 7 Tage später wurden alle Tiere mit 0,3 ml der 0,1prozentigen Lösung der Testsubstanz behandelt. Sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Versuchsgruppe zeigten sich leichte Hautreaktionen, die jedoch nicht unterschiedlich waren. Es wurde daher angenommen, daß Acetessigsäureethylester keine hautsensibilisierende Wirkung besitzt (Eastman Kodak, 1997).

7.5 Subchronische und chronische Toxizität

Keine Information vorhanden.

7.6 Genotoxizität

7.6.1 In vitro

Acetessigsäureethylester (100 % rein) wurde im Salmonella/Mikrosomen-Test an den Salmonella typhimurium-Stämmen TA 92, TA 94, TA 98, TA 100, TA 1535 und TA 1537 in Konzentrationen bis 25000 µg/Platte auf mutagene Eigenschaften geprüft. Die Versuche (Präinkubationstest) wurden ohne und mit metabolischer Aktivierung (S9-Mix aus mit Kanechlor KC-400 induzierter Rattenleber) durchgeführt. Die hohen Konzentrationen wirkten nicht bakteriotoxisch. Pro Konzentration und Stamm wurden 2 Platten eingesetzt. Eine mutagene Eigenschaft wurde nicht nachgewiesen (Ishidate et al., 1984).

In einem zusätzlichen Salmonella/Mikrosomen-Test an den Salmonella typhimurium-Stämmen TA 97 und TA 102 wurde Acetessigsäureethylester auf mutagene Eigenschaften untersucht. Auch dieser Test wurde als Präinkubationstest ohne und mit Zusatz von S9-Mix aus mit Aroclor 1254 induzierter Rattenleber durchgeführt. Es wurden Konzentrationen von 0, 100, 500, 1000, 5000 und 10000 µg Acetessigsäureethylester/Platte getestet mit dem Ergebnis, daß in keinem Fall die Zahl der Revertanten gegenüber der Kontrolle erhöht war (Fujita und Sasaki, 1987).

Im Rahmen einer Publikation der japanischen chemischen Industrie wird noch ein weiterer Salmonella/Mikrosomen-Test (Präinkubationstest) beschrieben, der mit Acetessigsäureethylester durchgeführt wurde. Verwendet wurden die Stämme TA 98, TA 1535, TA 1537 und TA 1538 und S9-Mix aus mit Phenobarbital und 5,6-Benzoflavon induzierten Rattenlebern. Konzentrationen von 20 bis 5000 µg Acetessigsäureethylester/Platte führten zu keinen mutagenen Effekten (JETOC, 1996).

Ein weiterer Salmonella/Mikrosomen-Test wurde als Standard-Platteninkorporationstest an den Stämmen TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538 und TA 98 ohne und mit metabolischer Aktivierung (S9-Mix aus mit Aroclor 1254 induzierter Rattenleber) durchgeführt. Der Reinheitsgrad des Acetessigsäureethylesters betrug mehr als 99 % (Gewichtsprozent), die 6 Kon-

zentrationen lagen zwischen 4 und 5000 µg/Platte. Eine bakteriotoxische Wirkung war auch bei 5000 µg/Platte nicht vorhanden. Acetessigsäureethylester erwies sich in diesem Versuch nicht als mutagen (Hoechst, 1988).

Acetessigsäureethylester zeigte gentoxische Eigenschaften im direkten Plattentest an *Escherichia coli* WP2uvrA (trp-) ab einer Konzentration von 200 µg/Platte. In diesem Versuch betrug die Konzentrationen 25 bis 1600 µg/Platte. Der mutagene Effekt war linear konzentrationsabhängig. Es wurden drei Paralleluntersuchungen durchgeführt (keine weiteren Angaben; Yoo, 1986).

Dagegen erwies sich Acetessigsäureethylester (Reinheitsgrad > 99 %) in einem anderen Test an *Escherichia coli* WP2uvrA ohne und mit metabolischer Aktivierung (S9-Mix aus mit Aroclor 1254 induzierter Rattenleber) als negativ. Die Konzentrationen lagen zwischen 4 und 5000 µg/Platte. Eine bakteriotoxische Wirkung wurde auch bei 5000 µg/Platte nicht erreicht (Hoechst, 1988).

Bei einem DNA-Reparaturtest mit *Bacillus subtilis*, Stamm M (rec-) und M (rec+), wurde beim Einsatz von 20 µg Acetessigsäureethylester/Platte keinerlei Effekt gefunden (keine weiteren Angaben; Oda et al., 1978).

In einer weiteren Studie zur DNA-Reparatur mit *Bacillus subtilis*, Stamm M45 (rec-) und M27 (rec+), ergab sich ein positives Ergebnis. Die Acetessigsäureethylester-Konzentration betrug hier 20 µl/Platte (entsprechend 20,6 µg/Platte). Auch hier sind nähere Umstände der Testdurchführung der Veröffentlichung nicht zu entnehmen (Yoo, 1986).

In einer in vitro-Studie zur Erfassung von Chromosomenschäden an Lungenfibroblasten des Chinesischen Hamsters (Zelllinie CHL) führte Acetessigsäureethylester (100 % rein) nicht zu erhöhter Aberrations- bzw. Polyploidierate. Die eingesetzte Konzentration von 2000 µg/ml stellte die höchste nicht zytotoxische Dosis dar. Die Zellen wurden 24 und 48 Stunden nach Beginn der Behandlung untersucht. Der Versuch wurde ohne metabolische Aktivierung durchgeführt und es wurden nur 100 Metaphasen/Konzentration ausgewertet, was die Aussagekraft der Ergebnisse einschränkt (Ishidate et al., 1984).

Bei *Saccharomyces cerevisiae* D61.M erhöhte Acetessigsäureethylester (99prozentig) in zwei unabhängigen Versuchen die mitotische Rekombina-

tion nicht. Die eingesetzten Konzentrationen von 2550 bis 20000 µg/ml umfaßten den Bereich von schwacher Wachstumshemmung bis zu 100prozentiger Zytotoxizität. Die Untersuchung wurde ohne metabolische Aktivierung durchgeführt (Zimmermann et al., 1989).

7.6.2 In vivo

Keine Information vorhanden.

7.7 Kanzerogenität

Keine Information vorhanden.

7.8 Reproduktionstoxizität

Keine Information vorhanden.

7.9 Wirkungen auf das Immunsystem

Keine Information vorhanden.

7.10 Neurotoxizität

Keine Information vorhanden.

7.11 Sonstige Wirkungen

Je 3, etwa 2 Wochen alte Wistar-Ratten (28 bis 39 g) inhalierten 4 bzw. 8 Wochen lang (ohne Angaben zur Dauer der täglichen Exposition) $7,8 \times 10^{-8}$ M Acetessigsäureethylester (entsprechend ca. 10 µg, ohne Angabe, ob pro l oder m³, vermutlich aber pro l). Danach wurden die Bulbi olfactorii lichtmikroskopisch und elektronenmikroskopisch untersucht. Es ergab sich ein spezifisches Degenerationsmuster der Mitralzellen des Bulbus olfactorius. Nach vergleichender Untersuchung von insgesamt 44 „Geruchsstoffen“ erwies sich dieser Befund als konzentrationsunabhängig und ist etwa mit dem durch Heptanol, Cyclohexanol, Cyclohexanon, Menthol

oder Naphthalin vergleichbar (Pinching und Døving, 1974). Die Bedeutung dieser Befunde ist unklar.

5 männliche Wistar-Ratten wurden vom Tag ihrer Geburt an permanent 32 bis 33 Tage lang gegenüber einer Acetessigsäureethylester-Atmosphäre exponiert (Ganzkörperexposition, ohne Konzentrationsangaben). Dabei kam es zur Verringerung des Durchmessers und der Schichtdicke der Glomeruli olfactorii sowie zu einer signifikanten Erhöhung ihrer Dichte (keine weiteren Angaben; Royet et al., 1989).

Bei der narkotisierten Katze mit geöffnetem Thorax und Zwangsbeatmung ließen sich nach intravenöser bzw. intraarterieller Verabreichung von 100 bis 200 mg Acetessigsäureethylester/Tier (entsprechend etwa 33 bis 67 mg/kg Körpergewicht) Dyspnoe und Blutdruckabfall beobachten (Barer und Nüsser, 1958).

In einer in vitro-Studie unter Verwendung einer Franz-Diffusionszelle steigerte Acetessigsäureethylester als Träger für Indomethacin dessen Permeation durch die Rattenhaut gegenüber Wasser nur geringfügig um das ca. 5fache im Vergleich zum Essigsäureethylester, der eine Steigerung um das 1500fache bewirkte (Catz und Friend, 1989).

8 Erfahrungen beim Menschen

Die Applikation von Acetessigsäureethylester in einer Konzentration von 8 % in Vaseline ergab bei 26 Probanden weder im 48-Stunden-Patch-Test (okklusiv) eine hautreizende Wirkung noch im Maximierungstest nach Kligman einen Hinweis auf sensibilisierende Eigenschaften (keine weiteren Angaben; Epstein, 1973).

9 Grenzwerte

Die Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft (MAK-Kommission) wird die Möglichkeit der Aufstellung eines MAK-Wertes überprüfen.

10 Arbeitsmedizinische Empfehlungen

Allgemeine arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen in Anlehnung an die BG-Vorschrift „Arbeitsmedizinische Vorsorge“ (BGV A4, bisherige VBG 100).

Literatur

- Asagoe, Y., Nakamoto, S., Kitamuro, F., Shima, M.
Studies on the metabolism of acetone bodies in diabetic rabbits
Yonago Acta Med., 12, 69 - 74 (1968)
- Barer, G.R., Nüsser, E.
Cardiac output during excitation of chemoreflexes in the cat
Br. J. Pharmacol., 13, 372 - 377 (1958)
- BIBRA (The British Industrial Biological Research Association, Carshalton, Surrey, UK)
A 28-day feeding study with ethyl acetoacetate in rats
unveröffentlichter Bericht Nr. 621/1/88 (1988)
im Auftrag der International Organisation of the Flavor Industry, Genf, Schweiz
- Bio-Toxicology Laboratories, Inc.
Acute oral toxicity assay - ethyl acetoacetate
unveröffentlichter Bericht (1975)
im Auftrag von Lonza Ltd.
- Carpenter, C.P., Smyth, H.F., jr.
Chemical burns of the rabbit cornea
Am. J. Ophthalmol., 29, 1363 - 1372 (1946)
- Catz, P., Friend, D.R.
Alkyl esters as skin permeation enhancers for indomethacin
Int. J. Pharm., 55, 17 - 23 (1989)
- Cook, W.M., Purchase, R., Ford, G.P., Creasy, D.M., Brantom, P.G., Gangolli, S.D.
A 28-day feeding study with ethyl acetoacetate in rats
Food Chem. Toxicol., 30 (7), 567 - 573 (1992)
- Deuel, H.J., jr., Hallman, L.F., Butts, J.S., Murray, S.
Studies on ketosis. VIII. Quantitative studies on the oxidation of the ethyl esters of the fatty acids
J. Biol. Chem., 116, 621 - 639 (1936)
- Eastman Kodak Company, Health, Safety and Human Factors Laboratory, Rochester, USA
Basic toxicity of ethyl acetoacetate
unveröffentlichter Bericht Nr. TX-82-10 (1982)
- Eastman Kodak Company, Kingsport, USA
schriftliche Mitteilung an Eastman Chemical International A.G., Schweiz, vom 26.04.1989
- Eastman Kodak Company, Toxicological Sciences Laboratory, Health and Environment Laboratories, Rochester, USA
Ethyl acetoacetate - skin sensitization study (footpad method) in the guinea pig
Bericht Nr. TX-97-290 (1997)
im Auftrag der Eastman Chemical Company, Kingsport, USA
- Epstein, W.L.
Report to RIFM dated 17 July 1973
zitiert in: Opdyke (1974)

Fujita, H., Sasaki, M.

Mutagenicity test of food additives with *Salmonella typhimurium* TA 97 and TA 102(II)
Ann. Rep. Tokyo Metr. Res. Lab. P.H., 38, 423 - 430 (1987)

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, 381 - 392 (1994)

Gilleron, L., Coecke, S., Sysmans, M., Hansen, E., Van Oproy, S., Marzin, D., Van Cauteren, H., Vanparys, P.

Evaluation of a modified HET-CAM assay as a screening test for eye irritancy

Toxicol. in Vitro, 10, 431 - 446 (1996)

Hazleton (Hazleton France)

Ethyl acetoacetate (P0010) - 4 week oral (gavage) toxicity study in the rat followed by a 2 week treatment-free period

unveröffentlichter Bericht Nr. 790 (1991)

im Auftrag der Lonza AG, Basel

Hoechst AG, Pharma Forschung Toxikologie

Acetessigsäureethylester - Prüfung auf akute dermale Reizwirkung/Ätzwirkung am Kaninchen

unveröffentlichter Bericht Nr. 83.0409 (1983 a)

Hoechst AG, Pharma Forschung Toxikologie

Acetessigsäureethylester - Prüfung auf akute Reizwirkung/Ätzwirkung am Auge beim Kaninchen

unveröffentlichter Bericht Nr. 83.0410 (1983 b)

Hoechst AG, Pharma Research Toxicology and Pathology

Acetessigsäureethylester - Study of the mutagenic potential in strains of *Salmonella typhimurium* (Ames test) and *Escherichia coli*

unveröffentlichter Bericht Nr. 88.0512 (1988)

Hoechst AG

AIDA-Grunddatensatz butanoic acid, 3-oxo-, ethyl ester (9CI) (1991)

Hoechst AG

EUCLID Datensatz ethyl acetoacetate (1994)

Ishidate, M., jr., Sofuni, T., Yoshikawa, K., Hayashi, M., Nohmi, T., Sawada, M., Matsuoka, A.

Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan

Food Chem. Toxicol., 22, 623 - 636 (1984)

JETOC (Japan Chemical Industry Ecology-Toxicology & Information Center)

Mutagenicity test data of existing chemical substances based on the toxicity investigation system of the industrial safety and health law

JETOC (1996)

Lide, D.R., Frederikse, H.P.R. (eds.)
CRC Handbook of chemistry and physics
77th ed., p. 3-99
CRC Press, Boca Raton, New York, London, Tokyo (1996)

Marhold, J.V.
Prehled Prumyslove Toxikol. Org. Latky, p. 729
Avicenum, zdravotnicke nakladatelstvi, Praha (1986)

Moreno, O.M.
Report to RIFM dated 18 May 1973
zitiert in: Opdyke (1974)

Oda, Y., Hamano, Y., Inoue, K., Yamamoto, H., Niihara, T., Kunita, N.
Mutagenicity of food flavours in bacteria (1st report)
Osaka-Fu Koshu Eisei Hokoku, Shokuhin Eisei Hen, 9, 177 - 181 (1978)

Opdyke, D.L.J.
Fragrance raw material monographs, ethyl acetoacetate
Food Cosmet. Toxicol., 12, 703 - 736 (1974)

Pinching, A.J., Døving, K.B.
Selective degeneration in the rat olfactory bulb following exposure to different odours
Brain Res., 82, 195 - 204 (1974)

Riemenschneider, W.
Esters, organic
in: Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry
5th ed., vol. A9, p. 565 - 585
VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim (1987)

Royet, J.P., Jourdan, F., Ploye, H., Souchier, C.
Morphometric modifications associated with early sensory experience in the rat olfactory bulb: II. Stereological study of the population of olfactory glomeruli
J. Comp. Neurol., 289, 594 - 609 (1989)

RTECS (Registry of Toxic Effects of Chemical Substances)
Acetoacetic acid, ethyl ester, RTECS Number AK 5250000
produced by NIOSH (National Institute of Occupational Safety and Health) (1997)

SIDS Profile (Screening Information Data Set)
Ethyl acetoacetate (4th revision)
OECD High Production Volume Chemicals Program (1990)

Smyth, H.F., jr., Carpenter, C.P., Weil, C.S.
Range-finding toxicity data, list III
J. Ind. Hyg. Toxicol., 31, 60 - 62 (1949)

Union Carbide
Union Carbide Data Sheet (3/12/69) (1969)
zitiert in: RTECS (1997)

VCI (Verband der chemischen Industrie)
VCI-Altstoffliste
Chemische Industrie, Sonderdruck aus Heft 4 (1988)

Yoo, Y.S.
Mutagenic and antimutagenic activities of flavoring agents used in foodstuffs
J. Osaka City Med. Cent., 34, 267 - 288 (1986)

Zimmermann, F.K., Scheel, I., Resnick, M.A.
Induction of chromosome loss by mixtures of organic solvents including neurotoxins
Mutat. Res., 224, 287 - 303 (1989)