

# TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNGEN

**ISBN 0937-4248**

**TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNG**

**Ausgabe 06/00**

ISSN 0937-4248

# **Benzonitril**

**Nr. 260**

CAS-Nr. 100-47-0



**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](mailto:praevention@bgchemie.de)  
Internet: [www.bgchemie.de](http://www.bgchemie.de)

# Benzonitril

## Benzonitrile

### 1 Zusammenfassung und Bewertung

Nach oraler Gabe von Benzonitril an Kaninchen werden innerhalb von 48 Stunden ca. 60 % der verabreichten Dosis als Oxidationsprodukte (m- und p-Hydroxybenzonitril sowie Benzoessäure) bzw. Schwefelsäure-, Glukuronsäure- und Glutathionkonjugate mit dem Harn ausgeschieden. Etwa 5 bis 6 % liegen als Mercaptursäure vor.

Akut erweist sich Benzonitril nach oraler und dermaler Applikation als gesundheitsschädlich (LD<sub>50</sub> Ratte oral 690 bis 1500 mg/kg Körpergewicht; LD<sub>50</sub> Ratte dermal 1200 mg/kg Körpergewicht). In Inhalations-Risiko-Testen über bis zu 8 Stunden ist nach Exposition gegenüber der gesättigten Atmosphäre kein Tier verendet.

Bei wiederholter oraler Zufuhr von Benzonitril über 2 Wochen kommt es bei Ratten nach Dosen von 1000 mg/kg Körpergewicht zu Schädigungen von Vormagen und Nieren, während bei Mäusen nach 600 mg/kg Körpergewicht Leberschädigungen festgestellt werden. Die wiederholte, täglich 6stündige Inhalation einer analytisch kontrollierten Konzentration von 97 ppm Benzonitril, entsprechend ca. 410 mg/m<sup>3</sup>, über einen Zeitraum von 2 Wochen wird von Katzen, Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten symptomlos vertragen.

Benzonitril wirkt an der Kaninchenhaut bzw. am Kaninchenauge leicht reizend.

Im 90-Tage-Versuch an Ratten mit oraler Applikation von Benzonitril in Dosen bis zu 300 mg/kg Körpergewicht haben die weiblichen Ratten in der oberen Dosis herabgesetzte Griffstärke und eine verzögerte Reaktion auf thermische Reize gezeigt. Bei den männlichen Ratten sind ab einer Dosis von 75 mg/kg Körpergewicht die relativen Nierengewichte erhöht gewesen. Histopathologisch sind in den Nieren dosisabhängig eine hyalintropfige Degeneration und eine Dilatation der Tubuli festgestellt worden. Bei den weiblichen Ratten, die 150 und 300 mg/kg Körpergewicht erhalten haben, sind die Nierenveränderungen durch Vakuolisierung der Tubuluszellen gekenn-

zeichnet gewesen. Als no effect level sind für männliche Ratten 37,5 mg/kg Körpergewicht und für weibliche Ratten 75 mg/kg Körpergewicht angegeben worden. In einer analog durchgeführten Studie an Mäusen mit Benzonitril in Dosen bis zu 600 mg/kg Körpergewicht ist es in der hohen Dosis bei weiblichen Mäusen zu einer signifikant verzögerten Schreckreaktion auf akustische Reize gekommen. Ab einer Dosis von 75 mg/kg Körpergewicht sind das absolute und relative Lebergewicht erhöht gewesen. Histopathologische Veränderungen haben sich in der Leber ab 300 mg/kg Körpergewicht ergeben (zentrilobuläre Hypertrophie, Vermehrung der Kupfer-Sternzellen, Mineralisation und Zellnekrosen) und in der Niere ab 150 mg/kg Körpergewicht (Tubulusdilataion). Als maximal verträgliche Dosis sind 37,5 mg/kg Körpergewicht angegeben worden.

Benzonitril wirkt mit und ohne metabolische Aktivierung weder im Salmonella/Mikrosomen-Test an den Salmonella typhimurium-Stämmen TA 97, TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538, im Mutagenitätstest an Escherichia coli WP2uvrA oder im Maus-Lymphoma-Test an der Zelllinie L5178YTK+/- genmutagen, noch im Schwester-Chromatid-Austausch-Test an CHO-Zellen des Chinesischen Hamsters DNA-schädigend. Eine Chromosomenfehlverteilung bei Saccharomyces cerevisiae D61.M ist nur mit einer zusätzlichen Kältebehandlung induzierbar gewesen; unter Standardbedingungen hat Benzonitril keine Aneuploidie bei den Hefezellen verursacht. Im Chromosomenaberrationstest in vitro an CHO-Zellen des Chinesischen Hamsters induziert Benzonitril mit metabolischer Aktivierung in der hohen Konzentration von ca. 1500 µg/ml eine Erhöhung der Aberrationsraten, während sich in diesem Testsystem ohne metabolische Aktivierung und auch in vivo im Mikronukleustest an der Maus nach subchronischer Applikation von bis zu 600 mg/kg Körpergewicht keine Hinweise auf ein chromosomenmutagenes Potential von Benzonitril ergeben.

Beim Menschen sind nach Kontakt der Haut und Schleimhaut mit Benzonitril Reizeffekte beobachtet worden. Im Maximierungstest und nach anderen Untersuchungen bzw. Beobachtungen ergeben sich keine Hinweise auf sensibilisierende Eigenschaften beim Menschen.

## **Summary and assessment**

*On oral administration of benzonitrile to rabbits, approx. 60% of the dose is excreted in the urine within 48 hours as oxidation products (m- and p-hydroxybenzonitrile as well as benzoic acid) and as the sulfate, glucuronide and glutathione conjugates. Approximately between 5 and 6% is recovered as mercapturic acid.*

*Acute oral administration and acute dermal application of benzonitrile has proved harmful (LD<sub>50</sub> rat oral 690 to 1500 mg/kg body weight; LD<sub>50</sub> rat dermal 1200 mg/kg body weight). In inhalation hazard tests lasting up to 8 hours, no animals died after exposure to a benzonitrile-saturated atmosphere.*

*Following repeated oral administration of benzonitrile for 2 weeks, doses of 1000 mg/kg body weight have been found to cause damage to the forestomach and the kidneys in rats, whereas in mice liver damage has been observed after 600 mg/kg body weight. Repeated, 6-hour daily inhalation of an analytically verified benzonitrile concentration of 97 ppm, equivalent to approx. 410 mg/m<sup>3</sup>, for a period of 2 weeks is tolerated without symptoms by cats, rabbits, guinea pigs and rats.*

*Benzonitrile has a slightly irritant effect on rabbit skin and the rabbit eye.*

*In the 90-day study in rats receiving oral doses of benzonitrile at levels of up to 300 mg/kg body weight, female rats exposed to the top dose showed reduced grip strength and a delayed reaction to thermal stimuli. In the male rats, the relative kidney weights were increased at doses of 75 mg/kg body weight and above. Histopathological examination of the kidneys revealed dose-dependent hyaline droplet degeneration and dilatation of the tubules. The female rats receiving 150 and 300 mg/kg body weight showed kidney changes that were characterised by vacuolation of the tubular cells. The no effect level for male and female rats is reported as 37.5 mg/kg body weight and 75 mg/kg body weight, respectively. In an analogous study conducted in mice treated with benzonitrile doses of up to 600 mg/kg body weight, female mice were found to exhibit a statistically significant increase in acoustic startle response latency at the high dose. Starting at a dose level of 75 mg/kg body weight, the absolute and relative liver weights were increased. Histopathological changes of the liver (centrilobular hypertrophy, proliferation of Kupffer cells, mineralisation and cellular necrosis) were found at 300*

*mg/kg body weight and above, and the kidneys exhibited changes (tubular dilatation) starting at 150 mg/kg body weight. The maximum tolerated dose is reported as 37.5 mg/kg body weight.*

*Benzonitrile is devoid of mutagenicity, with and without metabolic activation, both in the Salmonella/microsome assay using Salmonella typhimurium strains TA 97, TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538, in the mutagenicity assay using Escherichia coli WP2uvrA and in the mouse lymphoma assay using cell line L5178YTK+/-, and it does not cause DNA damage in the sister chromatid exchange assay in Chinese hamster CHO cells. Malsegregation of the chromosomes in Saccharomyces cerevisiae D61.M can only be induced by means of cold treatment; under standard conditions, benzonitrile failed to cause aneuploidy in these yeast cells. In the in-vitro chromosome aberration test in Chinese hamster CHO cells, benzonitrile induces an increase in the aberration rates at the high concentration of approx. 1500 µg/ml in the presence of metabolic activation. In the absence of metabolic activation, however, there is no evidence from this test system or the in-vivo mouse micronucleus test to demonstrate that benzonitrile has a chromosomal mutagenicity potential following subchronic administration of doses of up to 600 mg/kg body weight.*

*In humans, skin and mucous membrane contact with benzonitrile have been observed to cause irritation. In the maximisation test and according to other studies and observations, there is no evidence of a sensitising potential in humans.*

## 2 Stoffname

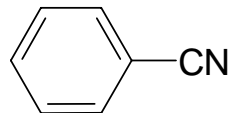
2.1	Gebrauchsname	Benzonitril
2.2	IUPAC-Name	Benzonitril
2.3	CAS-Nr.	100-47-0
2.4	EINECS-Nr.	202-855-7

## 3 Synonyme, Trivial- und Handelsnamen

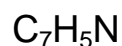
Benzene carbonitrile  
Benzene, cyano-  
Benzenenitrile  
Benzoic acid nitrile  
Benzonitrile  
Cyanobenzene  
Phenylcyanid  
Phenyl cyanide

## 4 Struktur- und Summenformel

4.1 Strukturformel



4.2 Summenformel



## 5 Physikalisch-chemische Eigenschaften

5.1	Molekularmasse	103,12	
5.2	Schmelzpunkt, °C	- 12,7	(Lide und Frederikse, 1996)
		- 12,75	(Budavari et al., 1989)
		- 13	(EC, 1996)
		- 13,8	(Maki und Suzuki, 1985)



5.3	Siedepunkt, °C	<p>28,2 (bei 1,333 hPa)  69,2 (bei 13,33 hPa)  123,5 (bei 133,3 hPa)  190,7 (bei 1013 hPa)  (Budavari et al., 1989)</p> <p>191,1 (Lide und Frederikse, 1996;  Maki und Suzuki, 1985)</p>
5.4	Dampfdruck, hPa	<p>&lt; 1 (bei 20 °C) (EC, 1996)  0,93 (bei 25 °C)  (MacEwen und Vernot, 1974)</p> <p>13,7 (bei 70 °C)  22,7 (bei 79 °C)  45,3 (bei 94 °C) (Maki und Suzuki, 1985)</p> <p>1,10 (bei 25 °C)  4,96 (bei 50 °C)  18,0 (bei 75 °C)  54,1 (bei 100 °C)  140 (bei 125 °C)  322 (bei 150 °C)  (Lide und Frederikse, 1996)</p>
5.5	Dichte, g/cm <sup>3</sup>	<p>1,0093 (bei 15 °C)  (Lide und Frederikse, 1996)</p> <p>1,0052 (bei 20 °C)  (Maki und Suzuki, 1985)</p>
5.6	Löslichkeit in Wasser	<p>wenig löslich in kaltem Wasser  (Budavari et al., 1989)</p> <p>wenig löslich (Lide und Frederikse, 1996)</p> <p>4,33 g/l (bei 25 °C)  (McGowan et al., 1966)</p> <p>1 % (bei 100 °C) (Budavari et al., 1989;  Maki und Suzuki, 1985)</p>
5.7	Löslichkeit in organischen Lösemitteln	<p>gut löslich in Aceton, mischbar mit Ethanol und Diethylether  (Lide und Frederikse, 1996)</p> <p>mischbar mit den gebräuchlichen organischen Lösemitteln (Budavari et al., 1989;  Maki und Suzuki, 1985)</p>

5.8	Löslichkeit in Fett	Verteilungskoeffizient n-Octanol/Wasser, log P <sub>ow</sub> : 1,5 (gemessen) (RCC NOTOX, 1988)
5.9	pH-Wert	-
5.10	Umrechnungsfaktor	1 ml/m <sup>3</sup> (ppm) $\triangleq$ 4,21 mg/m <sup>3</sup> 1 mg/m <sup>3</sup> $\triangleq$ 0,24 ml/m <sup>3</sup> (ppm) (bei 1013 hPa und 25 °C)

## 6 Herstellung, Produktionsmenge und Verwendung

### 6.1 Herstellung

Durch katalytische Hochtemperatur-Gasphasen-Oxidation von Toluol in Gegenwart von Ammoniak oder durch katalytische Umsetzung von Benzoesäure und Ammoniak (Maki und Suzuki, 1985).

### 6.2 Hergestellte oder eingeführte Menge

> 1000 t/Jahr in der Europäischen Union (EG, 1993).

### 6.3 Verwendung

Zur Herstellung von Benzylamin, Benzoguanamin und Benzoguanaminharzen; Zwischenprodukt für die Herstellung von Pestiziden, Pharmazeutika und Farbstoffen; Verwendung als Lösungsmittel (Maki und Suzuki, 1985).

## 7 Experimentelle Befunde

### 7.1 Toxikokinetik und Metabolismus

Nach einmaliger oraler Verabreichung von 145 mg Benzonitril/kg Körpergewicht an 2 Kaninchen wurden innerhalb von 2 Tagen nach der Applikation ca. 60 % der applizierten Dosis als Sulfat- bzw. Glukuronsäurekonjugate hydroxylierter Verbindungen mit dem Urin ausgeschieden (23 bzw. 27 % als Sulfatkonjugate, 38 bzw. 28 % als Glukuronsäurekonjugat). Weitere ca.

5 % der applizierten Dosis wurden im Urin in Form von Mercaptursäuren analysiert. Ferner nahmen die Autoren an, daß Benzoessäure ein Metabolit von Benzonitril ist und bestätigten dies in Folgeversuchen (siehe unten). Auch im 2 bis 4 Tage nach der Applikation gesammelten Urin wurden noch Benzonitril-Metaboliten analysiert, aber nicht quantifiziert. In Folgeversuchen wurde die Metabolitenausscheidung genauer untersucht. Das Maximum der Metabolitenausscheidung lag zwischen dem 2. und 3. Tag nach einer oraler Applikation von Benzonitril (keine genaueren Angaben). Zur genaueren Bestimmung der Mercaptursäure-Bildung erhielten 3 weibliche Kaninchen einmal oral 200 mg Benzonitril/kg Körpergewicht. Sie schieden innerhalb von 6 Tagen 5,2 bis 5,7 % der applizierten Dosis in Form von Mercaptursäuren aus. Die Autoren diskutierten, daß es sich möglicherweise um die Mercaptursäure von 4-Hydroxybenzonitril (von den Autoren als p-Cyanophenylmercaptursäure bezeichnet) handelt, konnten die Struktur aber nicht sicher bestätigen. Im über 2 Tagen gesammelten Urin von 5 weiteren Kaninchen, die zusammen insgesamt 4 g Benzonitril erhalten hatten, analysierten die Autoren ca. 10 % der applizierten Dosis als Benzoessäure, die teilweise als Glycin- bzw. Glukuronsäurederivat vorlag. Im über 4 Tagen gesammelten Urin von 6 Kaninchen, die zusammen 2,8 g Benzonitril oral erhalten hatten, wurden 4- und 3-Hydroxybenzonitril (von den Autoren als p- bzw. m-Cyanophenol bezeichnet) analysiert, wovon 4-Hydroxybenzonitril den größeren Anteil hatte. Daneben haben sich noch Hinweise auf die Bildung eines Dihydroxybenzonitril (Cyanocatechol) ergeben. Die Hydroxybenzonitrile lagen teilweise als Sulfatkonjugate vor. 2-Hydroxybenzonitril (o-Cyanophenol) konnten die Autoren im Urin der Kaninchen nicht nachweisen. Eine metabolische Freisetzung von Thiocyanaten, wie sie bei aliphatischen Nitrilen zu beobachten ist, konnte von den Autoren ausgeschlossen werden (keine weiteren Angaben; Smith und Williams, 1950).

Eine metabolische Freisetzung von Cyanat aus Benzonitril hatte bereits Hunt (1904) für unwahrscheinlich gehalten, da in Versuchen an Mäusen Blausäureantidote keinen protektiven Einfluß auf die akute Toxizität von Benzonitril hatten (Hunt, 1904).

Daly et al. bestätigten 1968 in in vivo-Versuchen an der männlichen Ratte und in in vitro-Versuchen mit Kaninchenlebermikrosomen die Biotransformation von Benzonitril zu Hydroxybenzonitril. Die Ratten wurden mit 100 mg <sup>2</sup>H-Benzonitril/kg Körpergewicht intraperitoneal behandelt und der Urin anschließend über 48 Stunden gesammelt. Ohne genauere Quantifizierung

wurden 4-Hydroxybenzonnitril und geringere Mengen von 3- und 2-Hydroxybenzonnitril im Urin analysiert. Nach Inkubation (eine Stunde bei 37 °C und pH 8) der Lebermikrosomen mit 50 µmol <sup>2</sup>H-Benzonnitril waren Spuren von 4- und 2-Hydroxybenzonnitril im Inkubationsmedium nachweisbar (Daly et al., 1968).

Mit der Bildung von Mercaptursäuren in Einklang stehen die Versuchsergebnisse von Kutsenko und Shilov (1991), die nach intraperitonealer Applikation von Benzonnitril bei der Ratte eine Abnahme der Glutathiongehalte in der Leber festgestellt haben.

Männliche Ratten erhielten 6,8 mg Benzonnitril/kg Körpergewicht einmalig intraperitoneal verabreicht. 0,25, 3, 8 bzw. 24 Stunden nach der Verabreichung wurden bei jeweils 6 Tieren/Sektionszeitpunkt der Glutathiongehalt in Leber und Gehirn sowie die Cytochromoxidase-Aktivität im Gehirn ermittelt. Der Glutathiongehalt in der Leber war 3 und 8 Stunden nach der Verabreichung signifikant verringert und lag nach 24 Stunden wieder im Bereich der Kontrolle. Der Glutathiongehalt und die Cytochromoxidase-Aktivität im Gehirn lagen zu allen Sektionszeitpunkten im Bereich der Kontrolle (keine weiteren Angaben; Kutsenko und Shilov, 1991).

## 7.2 Akute und subakute Toxizität

### **Akute Toxizität**

Nach einmaliger oraler, dermaler, subkutaner, intraperitonealer bzw. intravenöser Verabreichung von Benzonnitril wurden die nachfolgenden LD<sub>50</sub>-Werte ermittelt (siehe Tabelle 1). Benzonnitril ist nach den vorliegenden Daten als gesundheitsschädlich bei akuter oraler und dermaler Applikation zu bewerten.

Anfang Tabelle 1

<b>Tabelle 1. Akute Toxizität (LD<sub>50</sub>) von Benzonnitril</b>				
Tierart	Geschlecht	Applikationsweg	LD <sub>50</sub> -Wert bzw. Befund (mg/kg Körpergewicht)	Literatur
Ratte	männlich/ weiblich	oral	690	TNO, 1978 a
Ratte	männlich	oral	720	Carpenter, 1974

<b>Tabelle 1. Akute Toxizität (LD<sub>50</sub>) von Benzotrifluorid</b>				
Tierart	Geschlecht	Applikationsweg	LD <sub>50</sub> -Wert bzw. Befund (mg/kg Körpergewicht)	Literatur
Ratte	keine Angaben	oral	800, approximativer LD <sub>50</sub> -Wert	Zeller et al., 1969
Ratte	keine Angaben	oral	840	Moreno, 1977
Ratte	keine Angaben	oral	1000	Calo, 1974
Ratte	männlich/ weiblich	oral	1131 - 1501	Cheav und Foussard-Blanpin, 1990
Ratte	männlich	oral	1500 ± 200	Agaev, 1975; Agaev et al., 1977
Maus	keine Angaben	oral	971	Tanii und Hashimoto, 1984
Maus	keine Angaben	oral	1240	Cheav et al., 1983
Maus	männlich/ weiblich	oral	1081 - 1242	Cheav und Foussard-Blanpin, 1990
Maus	keine Angaben	oral	1400	Agaev, 1975
Kaninchen	keine Angaben	oral	800 letal, 400 vertragen	Zeller et al., 1969
Katze	keine Angaben	oral	800 letal, 400 vertragen	Zeller et al., 1969
Ratte	keine Angaben	dermal (keine weiteren Angaben)	1200	Calo, 1974
Ratte	keine Angaben	dermal (1 Stunde) dermal (15 Minuten)	ca. 2000 letal ca. 2000 vertragen	Zeller et al., 1969
Kaninchen	keine Angaben	dermal (keine weiteren Angaben)	1250	Moreno, 1977
Kaninchen	keine Angaben	dermal (okklusiv, 24 Stunden)	ca. 1500 letal, 200 vertragen	Zeller et al., 1969
Kaninchen	keine Angaben	subkutan	200 letal	Verbrugge, 1899
Ratte	männlich/ weiblich	intraperitoneal	740 - 781	Cheav und Foussard-Blanpin, 1990
Maus	keine Angaben	intraperitoneal	400, approximativer LD <sub>50</sub> -Wert	Zeller et al., 1969
Maus	männlich/ weiblich	intraperitoneal	861 - 901	Cheav und Foussard-Blanpin, 1990
Kaninchen	keine Angaben	intravenös	430 letal	Cheav und Foussard-Blanpin, 1990

Ende Tabelle 1

Bei Mäusen, Ratten und Kaninchen wurden an Vergiftungserscheinungen unregelmäßige und erschwerte Atmung, Somnolenz, Zittern, Krämpfe, Parese, Paralyse, Atonie, Erlöschen von Reflexen (z. B. Schmerz- und Aufrichtreflex), Ptose und Prostration beobachtet. Makroskopisch waren keine substanzbedingten Veränderungen erkennbar. Die histopathologische Untersuchung ergab Kongestion in den Lungen mit Ödembildung und intraalveolären Hämorrhagien sowie eine dosisunabhängige Degeneration der zentrilobulären Hepatozyten (Cheav und Foussard-Blanpin, 1990; TNO, 1978 a; Verbrugge, 1899; Zeller et al., 1969).

Die akute inhalative Toxizität von Benzonitril ist in der folgenden Tabelle 2 dargestellt. Benzonitril ist nach diesen Befunden inhalativ als gering toxisch zu bewerten.

Anfang Tabelle 2

<b>Tabelle 2. Akute Inhalationstoxizität von Benzonitril</b>			
Tierart	Geschlecht	Befunde	Literatur
Ratte	keine Angaben	800 mg/m <sup>3</sup> , 4 Stunden; nicht letal (keine weiteren Angaben)	Calo, 1974
Ratte	männlich	ca. 3790 mg/m <sup>3</sup> , 4 Stunden (Nominalkonzentration); Mortalität: 0/6 Tiere; gehemmte Körpergewichtsentwicklung bei 5 von 6 Tieren; Nachbeobachtungszeit 14 Tage	MacEwen und Vernot, 1974; Vernot et al., 1977
Ratte	keine Angaben	ca. 4000 mg/m <sup>3</sup> , 4 Stunden (gesättigte Atmosphäre); nicht letal (keine weiteren Angaben)	Carpenter, 1974
Ratte	keine Angaben	ca. 4000 mg/m <sup>3</sup> , 8 Stunden (gesättigte Atmosphäre); nicht letal (keine weiteren Angaben)	Carpenter, 1974
Ratte	keine Angaben	8000 mg/m <sup>3</sup> , 4 Stunden; 3 von 10 Tieren starben (keine weiteren Angaben)	Calo, 1974
Ratte	keine Angaben	LC <sub>50</sub> = 38600 mg/m <sup>3</sup> (keine Angabe zur Expositionsdauer)	AgaeV, 1975
Ratte	keine Angaben	im Inhalations-Risiko-Test bei 4stündiger Exposition gegenüber einem mit den bei 20 °C flüchtigen Anteilen von Benzonitril gesättigten Luftstrom starb keines der Tiere; Nachbeobachtungszeit 7 Tage	Zeller et al., 1969
Maus	männlich	2950 mg/m <sup>3</sup> , 4 Stunden (analytische Konzentration); Mortalität 10/10 Tiere; Nachbeobachtungszeit 14 Tage	MacEwen und Vernot, 1974

<b>Tabelle 2. Akute Inhalationstoxizität von Benzonitril</b>			
Tierart	Geschlecht	Befunde	Literatur
Maus	männlich	3750 mg/m <sup>3</sup> , 2 Stunden (analytische Konzentration); Mortalität 1/7 Tiere; Nachbeobachtungszeit 14 Tage	MacEwen und Vernot, 1974
Maus	keine Angaben	LC <sub>50</sub> = 6000 mg/m <sup>3</sup> (keine Angabe zur Expositionsdauer)	Agaev, 1975

Ende Tabelle 2

Bei Ratten und Mäusen traten an Vergiftungssymptomen nach Inhalation erschwerte Atmung, Ataxie, Prostration, Sedierung und Narkose auf (MacEwen und Vernot, 1974; Zeller et al., 1969). Die makroskopische Untersuchung ergab bei Ratte und Maus keine substanzbedingten Veränderungen. Histopathologisch zeigten sich bei der Maus Kongestion in den Lungen (mit Emphysem) und in der Leber (mit sinusoidaler Dilatation) und bei der Ratte multifokale Bereiche lymphoider Hyperplasie mit Schaumzellenansammlung in den Lungen (MacEwen und Vernot, 1974).

### **Subakute Toxizität**

Je 5 männliche und 5 weibliche Fischer-344-Ratten erhielten täglich, formuliert in Maiskeimöl, 0 (Kontrollen), 11, 33, 100, 300 bzw. 1000 mg Benzonitril/kg Körpergewicht mittels Schlundsonde über einen Zeitraum von 2 Wochen. Nach 1000 mg/kg Körpergewicht zeigten alle Tiere Vergiftungsercheinungen, wie Ataxie, Verlust der motorischen Kontrolle sowie Speichelfluß, und verendeten innerhalb von 5 Tagen. Niedrigere Dosen ( $\leq 300$  mg/kg Körpergewicht) wurden überlebt. 300 mg/kg Körpergewicht führten zu Speichel-, Tränen- und Nasenfluß. Bei den weiblichen Ratten waren die Symptome vereinzelt bis herab zur untersten geprüften Dosis von 11 mg/kg Körpergewicht zu beobachten. Makroskopisch ergaben sich bei den tödlich vergifteten Ratten der höchsten Dosisgruppe hauptsächlich Schädigungen des Vormagens, die sich histopathologisch als akute entzündliche Veränderungen mit Akanthose, Hyperkeratose, Schleimhauterosionen und Ulzerationen erwiesen und 9 dieser 10 Ratten wiesen eine vakuolige Degeneration der proximalen Tubuli contorti auf. Die niedrigen Dosierungen bewirkten keine Nierenschädigungen (NTP, 1994).

Bei 5 männlichen und 5 weiblichen Wistar-Ratten ( $180 \pm 10$  g), die Benzonitril (in Olivenöl) in einer Dosierung von nur 40 mg/kg Körpergewicht/Tag

oral per Schlundsonde über 4 Wochen erhielten, traten keine substanzbedingten Veränderungen (Verhalten, Körpergewichtsentwicklung, makroskopische Untersuchung) auf. Als Kontrollgruppe dienten 5 unbehandelte Tiere/Geschlecht bzw. 5 Tiere/Geschlecht, die Olivenöl erhielten (keine weiteren Angaben; Cheav und Foussard-Blanpin, 1990).

Je 5 männliche und 5 weibliche B6C3F1-Mäuse erhielten 0 (Kontrollen), 22, 66, 200, 600 bzw. 2000 mg Benzonitril/kg Körpergewicht, formuliert in Maiskeimöl, oral mittels Schlundsonde über einen Zeitraum von 2 Wochen. Die höchste Dosis war für alle Tiere innerhalb von 2 Tagen letal, nachdem die Mäuse vorher Tremor, Hypoaktivität, Prostration und Ataxie gezeigt hatten. Die niedrigeren Dosen bewirkten keine Todesfälle, 600 mg/kg Körpergewicht jedoch ebenfalls Hypoaktivität und Ataxie. Histopathologisch ergaben sich in der 600 mg/kg-Gruppe bei beiden Geschlechtern Veränderungen in der Leber mit Karyomegalie und Nekrosen der Hepatozyten. Für die Dosierungen  $\leq 200$  mg/kg Körpergewicht wurden keine Befunde berichtet (NTP, 1994).

Je 2 Katzen, Kaninchen und Meerschweinchen sowie 2 männliche und 2 weibliche Ratten und 5 männliche und 5 weibliche Mäuse inhalierten an 3 aufeinanderfolgenden Tagen täglich 6 Stunden lang eine Benzonitril-Konzentration von nominal 460 ppm, entsprechend  $1937 \text{ mg/m}^3$  (dynamische Versuchsanordnung). Die Nachbeobachtungszeit betrug 14 bis 21 Tage. Die Katzen zeigten während und nach der ersten Inhalation keine Symptome, entwickelten aber im Verlauf der folgenden Expositionen Gleichgewichtsstörungen und Schreckhaftigkeit. Außerdem waren bei beiden Tieren Pupillenerweiterung, Freßunlust und Gewichtsabnahme zu beobachten. Eine Katze verendete 7 Tage nach der Exposition (eitriges Pleuropneumonie, Perikarditis fibrinosa). Das überlebende Tier war nach 5 Tagen symptomfrei. Die Kaninchen und die Meerschweinchen wiesen keine Symptome auf. Eine der 4 Ratten verendete nach der dritten Exposition (Halsabszeß). Die anderen Ratten blieben symptomlos. Die Mäuse wiesen vorübergehend Apathie, Gleichgewichtsstörungen, Seitenlage (ein Tier) und Narkose auf. 6 Mäuse verendeten nach der 2. und 2 Mäuse nach der 3. Exposition. Die Sektion dieser Tiere ergab in 5 Fällen Atelektasen in den Lungen und ausgeprägte Läppchenzeichnung der Leber. Bei 2 weiteren Tieren wurde eine erhebliche Fettinfiltration der Leber festgestellt (BASF, 1961).



Ein weiterer Inhalationsversuch wurde mit einer analytisch kontrollierten Benzotrinitril-Konzentration von 97 ppm, entsprechend 408 mg/m<sup>3</sup>, durchgeführt. Je 2 Katzen, Kaninchen und Meerschweinchen, 2 männliche und 2 weibliche Ratten sowie 5 männliche und 5 weibliche Mäuse inhalierten diese Konzentration täglich 6 Stunden lang 5mal wöchentlich über einen Zeitraum von 2 Wochen. Die Nachbeobachtungszeit betrug 14 bis 21 Tage. Mit Ausnahme von 2 Mäusen, die nach der 2. bzw. 9. Exposition ohne äußerlich erkennbare Symptome verendeten, überlebten alle Tiere symptomlos. Die Sektion der verendeten Mäuse bzw. der am Ende der Nachbeobachtungszeit getöteten Ratten und Mäuse ergab keine auffälligen Befunde (BASF, 1961).

Nach wiederholter intraperitonealer Verabreichung von 30 mg Benzotrinitril/kg Körpergewicht an je 5 männliche und 5 weibliche Wistar-Ratten (180 ± 10 g) über 4 Wochen verendeten 3 Tiere zwischen dem 19. und 22. Versuchstag. Die makroskopische Untersuchung aller Ratten bei Versuchsende ergab Kongestion in der Milz, nekrotische Pankreatitis, bilaterale hämorrhagische Nekrose der Nierenrinde und einen Lungenabszeß. Als Kontrollgruppe dienten je 5 Ratten, die das Formulierungsmittel Olivenöl erhielten (keine weiteren Angaben; Cheav und Foussard-Blanpin, 1990).

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

Die primäre Hautreizwirkung von Benzotrinitril wurde im okklusiven Patch-Test (Methode nach Draize) an der intakten bzw. skarifizierten Haut von jeweils 6 Neuseeland-Kaninchen geprüft. Das Applikationsvolumen betrug 0,5 ml und die Einwirkungszeit 24 Stunden. Die Ablesung erfolgte unmittelbar nach Entfernen des Patches sowie nach weiteren 48 Stunden. An der intakten Haut führte Benzotrinitril zu einem sehr leichten Erythem bei 2 der 6 Kaninchen (primärer Reizindex 0,3 bzw. 0,2 bei einem maximalen Reizindex von 8); an der skarifizierten Haut waren sehr leichte Erytheme bei 5 der 6 Kaninchen und ein sehr leichtes Ödem bei einem der 6 Kaninchen zu beobachten. Die primären Reizindices an der skarifizierten Haut betragen 1,3 bzw. 1,0 bei einem maximalen Reizindex von 8. Benzotrinitril wurde aufgrund dieser Befunde als sehr leicht hautreizend beurteilt (TNO, 1978 b).

Die akute Hautreizwirkung von Benzotrinitril wurde an der geschorenen Rückenhaut weißer Kaninchen im Läppchentest geprüft, wobei die mit der

Testsubstanz beschickten Läppchen (ca. 2,5 cm x 2,5 cm) einmal für 15 Minuten bzw. 20 Stunden auf die intakte Haut einwirkten. Nach der Applikation über 15 Minuten wurde die behandelte Hautpartie zunächst mit unverdünntem Polyethylenglykol 400 und anschließend mit einer 50prozentigen wässrigen Polyethylenglykol-Lösung abgewaschen. Nach 20stündiger Einwirkung wurde die Haut nicht abgewaschen. Die Befundung erfolgte bei Abnahme der Läppchen sowie nach 1, 3 und 8 Tagen. Benzonitril wirkte sowohl bei 15minütiger als auch bei 20stündiger Einwirkung leicht hautreizend (Zeller et al., 1969).

In einem okklusiven Patch-Test (24 Stunden Einwirkungszeit) an der intakten bzw. skarifizierten Kaninchenhaut wirkte unverdünntes Benzonitril reizend (keine weiteren Angaben; Moreno, 1977).

Zur Prüfung der akuten Augenreizwirkung wurde 6 Neuseeland-Kaninchen 0,1 ml Benzonitril in den Bindehautsack eines Auges instilliert (FDA-Methode). Das andere Auge diente unbehandelt als Kontrolle. Die Befunderhebung erfolgte 24, 48 und 72 Stunden sowie 7 Tage nach der Instillation. Nach 24, 48 bzw. 72 Stunden war eine Rötung der Bindehaut bei 6, 4 bzw. 4 der 6 Tiere zu beobachten (Reizindex 1 bei einem maximalen Reizindex von 3). Bei 2 der 6 Tiere trat 24 Stunden nach der Instillation Chemosis auf (Reizindex 1 bei einem maximalen Reizindex von 4). Cornea und Iris blieben ohne Befund. Die leichte Reizung der Bindehaut war nach 7 Tagen vollständig abgeklungen. Nach den Kriterien der FDA war Benzonitril nach diesen Befunden als nicht reizend zu beurteilen (TNO, 1978 b).

Die Instillation von Benzonitril in den Bindehautsack des Kaninchenauges (keine Angabe zur Tierzahl) führte zu einer geringfügigen Gefäßinjektion. Das Applikationsvolumen betrug 50 µl. Die Befunderhebung erfolgte 10 Minuten, 1 und 24 Stunden sowie 3 und 8 Tage nach der Instillation (keine Angaben zur Reversibilität; Zeller et al., 1969). Benzonitril erwies sich in diesem Versuch somit als leicht reizend.

#### **7.4 Sensibilisierende Wirkung**

Keine Information vorhanden.

## 7.5 Subchronische und chronische Toxizität

Zur Prüfung der subchronischen Toxizität von Benzonitril erhielten je 10 männliche und 10 weibliche Fischer-344-Ratten täglich 0 (Kontrollen), 19, 37,5, 75, 150 bzw. 300 mg/kg Körpergewicht, formuliert in Maiskeimöl, mittels Schlundsonde über einen Zeitraum von 13 Wochen. Es traten keine Todesfälle auf. Bei den Ratten beiderlei Geschlechts wurde nach 150 und 300 mg/kg Körpergewicht Hyperaktivität sowie Aggressivität beobachtet. Die weiblichen Tiere der 300 mg/kg-Gruppe zeigten nach 7 und 13 Wochen eine herabgesetzte Griffstärke der Hinterextremitäten und eine verzögerte Reaktion auf thermische Reize. Die Körpergewichtszunahme der männlichen und weiblichen Tiere dieser Dosisgruppe war nach 13 Wochen um 10,6 bzw. 6,7 % gegenüber der Kontrolle verringert. Bei Versuchsende wiesen die männlichen Ratten ab einer Dosis von 75 mg/kg Körpergewicht signifikant erhöhte absolute und relative Nierengewichte auf. Histopathologisch ergaben sich in den Nieren bei den männlichen Tieren ab 75 mg/kg Körpergewicht eine hyalintropfige Degeneration und Erweiterung der Tubuli, die dosisabhängig waren und gemäß den Autoren der „Kohlenwasserstoff-Nephropathie“ ähnelten. Bei den weiblichen Tieren der beiden oberen Dosisgruppen waren die Nierenveränderungen gekennzeichnet durch vakuolige Degeneration der Rindentubuli mit anisokaryotischen Zellen. Der no effect level für eine Nephropathie betrug für männliche Ratten 37,5 mg/kg Körpergewicht und für weibliche Ratten 75 mg/kg Körpergewicht (keine weiteren Angaben; NTP, 1994). Eine mögliche  $\alpha_{2u}$ -Globulin-Nephropathie bei den männlichen Ratten wurde nicht diskutiert.

Die subchronische Toxizität von Benzonitril wurde weiterhin an je 10 männlichen und 10 weiblichen B6C3F1-Mäusen geprüft. Sie erhielten täglich 0 (Kontrollen), 37,5, 75, 150, 300 bzw. 600 mg/kg Körpergewicht, formuliert in Maiskeimöl, mittels Schlundsonde über einen Zeitraum von 13 Wochen. Es traten keine substanzbedingten Todesfälle auf. Beide Geschlechter der 300 und 600 mg/kg-Gruppen zeigten Hypoaktivität und Ataxie. In der 600 mg/kg-Gruppe kam es bei den weiblichen Mäusen überdies zu einer signifikant verzögerten Schreckreaktion auf akustische Reize. Der Körpergewichtszuwachs war bei den Mäusen der 600 mg/kg-Dosisgruppe mit 21,5 % (männliche Tiere) bzw. 14,6 % (weibliche Tiere) gegenüber den Kontrollen erhöht. Bei Versuchsende ergaben sich bei beiden Geschlechtern ab einer Dosis von 75 mg/kg Körpergewicht signifikant erhöhte absolute und relative Lebergewichte. Bei den weiblichen Mäusen der 37,5 mg/kg-

Gruppe war nur das absolute Lebergewicht erhöht. Die histopathologische Untersuchung ergab bei den männlichen Mäusen der 300 und 600 mg/kg-Gruppen sowie bei den weiblichen Mäusen der 600 mg/kg-Gruppe zentrilobuläre Hypertrophie der Leberzellen, Vermehrung der Kupffer-Sternzellen, Mineralisation und Zellnekrosen. Die Nieren der männlichen Mäuse der drei oberen Dosisgruppen und der weiblichen Mäuse der beiden oberen Dosisgruppen wiesen dosisabhängig eine Dilatation der Tubuli des inneren Cortex auf. Als maximal verträgliche Dosis wurden für männliche und weibliche Mäuse 37,5 mg/kg Körpergewicht angegeben (keine weiteren Angaben; NTP, 1994).

Die inhalative Exposition von männlichen Ratten (160 bis 180 g) gegenüber  $70 \pm 10$  mg Benzotrinitril/m<sup>3</sup> Luft für 4 Stunden/Tag an 5 Tagen/Woche über 4,5 Monate führte nach 3 bzw. 4 Monaten zu einer signifikanten Verringerung der Erythrozytenzahl und des Hämoglobingehaltes; die Leukozytenzahl, die Hippursäureexkretion und die Cytochromoxidase-Aktivität in Leber, Niere und Herz waren im Vergleich zur Kontrolle signifikant erhöht. Die Autoren leiteten aus diesen Ergebnissen einen Arbeitsplatzgrenzwert von 1 mg/m<sup>3</sup> ab (Agaev et al., 1977). Aufgrund der unzureichenden Dokumentation von Versuchsdurchführung und -ergebnissen ist diese Studie zur Bewertung der systemischen Wirkung von Benzotrinitril nach wiederholter inhalativer Applikation nicht geeignet.

## **7.6 Gentoxizität**

### **7.6.1 In vitro**

#### ***Genmutagene Wirkung***

Im Salmonella/Mikrosomen-Test (Standard-Platteninkorporationstest) an den Salmonella typhimurium-Stämmen TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537 und TA 1538 ergaben sich ohne und mit metabolischer Aktivierung (S9-Mix aus mit Aroclor 1254 induzierter Rattenleber) keine Hinweise auf eine mutagene Wirkung von Benzotrinitril (Reinheitsgrad 98,56 %). Es wurden Konzentrationen von 8 bis 5000 µg/Platte (3 Platten/Konzentration) eingesetzt. Der Versuch wurde in einem unabhängigen Ansatz wiederholt. Bis zur höchsten geprüften Konzentration wurde keine Bakteriotoxizität beobachtet (Microtest, 1988).

In einem anderen Salmonella/Mikrosomen-Test, der auch als Standard-Platteninkorporationstest durchgeführt wurde, wirkte Benzotrilon in den Konzentrationen von 33 bis 3333 µg/Platte an den Salmonella typhimurium-Stämmen TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537 und TA 1538 ohne und mit metabolischer Aktivierung (S9-Mix aus mit Aroclor 1254 induzierter Ratten- oder Hamsterleber) ebenfalls nicht mutagen (keine weiteren Angaben; NCI, 1984).

Auch im Salmonella/Mikrosomen-Test mit Präinkubation an den Salmonella typhimurium-Stämmen TA 97, TA 98, TA 100 und TA 1535 ergaben sich ohne und mit metabolischer Aktivierung (S9-Mix aus mit Aroclor 1254 induzierter Ratten- oder Hamsterleber) im gleichen Konzentrationsbereich keine Anzeichen für eine mutagene Wirkung von Benzotrilon (Reinheitsgrad 99 %; Zeiger et al., 1988).

In einem weiteren Präinkubationstest am Salmonella typhimurium-Stamm TA 1535 wirkten 500 bis 7500 µg Benzotrilon/Platte nicht mutagen. Der Test wurde nur ohne metabolische Aktivierung durchgeführt (keine weiteren Angaben; NCI, 1984).

Benzotrilon (99prozentig) wurde weiterhin an den Salmonella typhimurium-Stämmen TA 98, TA 100, TA 1535 und TA 1537 sowie an Escherichia coli WP2uvrA auf mutagene Wirkung untersucht. Die Prüfung erfolgte mit der Präinkubationsmethode ohne und mit metabolischer Aktivierung (S9-Mix aus mit Phenobarbital und 5,6-Benzoflavon induzierter Rattenleber). Die eingesetzten Konzentrationen (in DMSO) betragen 20 bis 5000 µg/Platte. Ab einer Konzentration von 625 µg/Platte wurde Bakteriotoxizität beobachtet. Auch in diesem Versuch ergaben sich keine Hinweise auf eine mutagene Wirkung von Benzotrilon (JETOC, 1996).

Benzotrilon wurde im Maus-Lymphoma-Test an der Zelllinie L5178YTK+/- auf mutagene Wirkung geprüft. Die Untersuchungen erfolgten ohne und mit metabolischer Aktivierung (S9-Mix aus mit Aroclor 1254 induzierter Rattenleber). Ohne metabolische Aktivierung betragen die Konzentrationen (in DMSO) 0,5 bis 1,07 µl/ml und mit metabolischer Aktivierung 0,39 bis 0,80 µl/ml. Die Überlebensraten lagen ohne Aktivierung bei 71 bis 11 % und mit Aktivierung bei 104 bis 39 %. Benzotrilon bewirkte in diesem Versuch keine signifikanten Erhöhungen der Mutationsraten (Microbiological Associates, 1982; NCI, 1984).

### ***DNA-schädigende Wirkung***

Benzonitril (gelöst in DMSO) bewirkte an CHO-Zellen des Chinesischen Hamsters ohne und mit metabolischer Aktivierung (S9-Mix aus mit Aroclor 1254 induzierter Rattenleber) keine Erhöhung der Schwester-Chromatid-Austauschrate. Die Konzentrationen betragen 5 bis 166,7 µg/ml. 166,7 µg/ml waren zytotoxisch (NTP, 1988 a, 1995).

### ***Chromosomenschädigende Wirkung***

Weiterhin wurde Benzonitril an CHO-Zellen des Chinesischen Hamsters auf seine chromosomenschädigende Wirkung untersucht. Die Konzentrationen betragen ohne metabolische Aktivierung 200 bis 1500 µg/ml und mit metabolischer Aktivierung (S9-Mix aus mit Aroclor 1254 induzierter Rattenleber) 200 bis 3000 µg/ml. Ohne metabolische Aktivierung waren keine erhöhten Häufigkeiten von Chromosomenaberrationen zu verzeichnen. Mit metabolischer Aktivierung kam es bei 1500 µg/ml zu Chromosomenaberrationen (Zellen mit Aberrationen insgesamt 72 %, einfache Aberrationen 64 %, komplexe Aberrationen 8 %; DMSO-Kontrollen 3, 1,5 bzw. 1,5 %). Ohne Aktivierung waren 1500 µg/ml und mit Aktivierung 3000 µg/ml zytotoxisch. Bei einem Wiederholungsexperiment mit metabolischer Aktivierung und eingesetzten Konzentrationen von 1005 bis 1993 µg/ml konnte das stark positive Ergebnis des ersten Versuches bei einer Konzentration von 1495 µg/ml nicht in der selben Größenordnung bestätigt werden. Es ergaben sich insgesamt 11 % Zellen mit Aberrationen, 3 % mit einfachen und 9 % mit komplexen Aberrationen (DMSO-Kontrollen 3, 1 bzw. 2 %). 1993 µg/ml wirkten zytotoxisch (NTP, 1988 a, 1995).

### ***Chromosomenfehlverteilungen***

In einer Untersuchung zu Chromosomenverlusten an *Saccharomyces cerevisiae* D61.M führte Benzonitril (Reinheitsgrad 99 %) in Konzentrationen bis 2190 µg/ml unter Standardbedingungen (Inkubation über 16 Stunden bei 30 °C) nicht zu Chromosomenverlusten. Eine Modifikation der Versuchsbedingungen (Unterbrechung der Inkubation bei 30 °C nach 4 Stunden durch eine Kältebehandlung für 16 Stunden bei 0 °C zwecks Optimierung der Induktion von Aneuploidie) führte zu einer signifikant erhöhten Frequenz an Chromosomenverlusten. Die Autoren vermuteten, daß Benzo-

nitril durch Interaktion mit dem Spindelapparat diese Aneuploidie induziert (Whittaker et al., 1990).

### **7.6.2 In vivo**

Bei je 9 bis 10 männlichen bzw. 7 bis 10 weiblichen B6C3F1-Mäusen/Dosis aus dem subchronischen Sondierungsversuch über 13 Wochen (siehe Kapitel 7.5) wurde bei Versuchsende ein Mikronukleustest durchgeführt. Bis zur höchsten Dosis (600 mg/kg Körpergewicht/Tag) war keine signifikante Erhöhung der mikronukleihaltigen polychromatischen Erythrozyten zu verzeichnen (keine weiteren Angaben; NTP, 1995). Das Ergebnis dieses Mikrokerntestes am Ende eines 90-Tage-Inhalationsversuches ist gemäß OECD-Richtlinie Nr. 474 (1995) als relevant zu betrachten, da in der 90-Tage-Studie bei weiblichen Mäusen der untersten geprüften Konzentration von 37,5 mg/m<sup>3</sup> und bei den männlichen Mäusen ab 75 mg/m<sup>3</sup> systemisch-toxische Effekte beobachtet wurden und die Mäuse bis zur Tötung (Zeitpunkt der Gewinnung der Blutaussstriche) mit Benzonitril behandelt worden waren.

### **7.7 Kanzerogenität**

Keine Information vorhanden.

### **7.8 Reproduktionstoxizität**

Benzonitril hatte keinen nachteiligen Einfluß auf die Spermienmorphologie und die Vaginalzytologie (keine weiteren Angaben; NTP, 1988 b).

### **7.9 Wirkungen auf das Immunsystem**

Keine Information vorhanden.

### **7.10 Neurotoxizität**

Männliche Swiss-Mäuse (10 Tiere/Dosisgruppe) erhielten 240, 480 bzw. 720 mg Benzonitril (in Olivenöl)/kg Körpergewicht einmal mittels Schlund-

sonde. In der hohen Dosisgruppe war die Spontanmotilität signifikant verringert. Die motorische und exploratorische Aktivität war in allen 3 Dosisgruppen verringert. Die neuromotorische Koordination (Drehstabtest) war ab 240 mg/kg Körpergewicht dosisabhängig verringert. In der hohen Dosisgruppe war die Körpertemperatur signifikant reduziert. 30 Minuten nach der Verabreichung trat in der niedrigen, mittleren bzw. hohen Dosisgruppe bei 30, 40 bzw. 70 % der Tiere Katalepsie auf. In der niedrigen und mittleren Dosisgruppe wurde nach 30 und 60 Minuten Hyperästhesie beobachtet und in der hohen Dosisgruppe Analgesie. Die Autoren hielten es aufgrund dieser Ergebnisse und anderer Befunde für möglich, daß Benzonitril die Wirkung der catecholaminergen Neurotransmitter beeinflusst (Cheav et al., 1990).

Benzonitril wurde zusammen mit 5 substituierten Benzonitrilen auf seine antikonvulsive Wirkung gegenüber Pentetrazol an Mäusen untersucht. Nach 200 mg/kg Körpergewicht (Zufuhrweg nicht angegeben) traten bei 4 von 10 Mäusen Krämpfe auf und 2 von 10 Mäusen verendeten. 300 mg/kg Körpergewicht unterdrückten bei 7 von 10 Mäusen die Krämpfe und alle Tiere überlebten (keine weiteren Angaben; Cheav et al., 1983).

### **7.11 Sonstige Wirkungen**

3 bis 4 männliche C57B1/6-Mäuse (18 bis 23 g) erhielten einmal 15 bzw. 60 mg Benzonitril/kg Körpergewicht in Dimethylsulfoxid intraperitoneal. 24 Stunden später wurde die olfaktorische Schleimhaut histologisch untersucht. Im Gegensatz zum Herbizid Dichlobenil (2,6-Dichlorbenzonitril) wurden histologisch keine Schädigungen des olfaktorischen Epithels festgestellt (Eriksson et al., 1992).

Der oxidative Metabolismus in isolierten braunen Fettgewebezellen von Hamstern war bei 5minütiger Inkubation mit 1 mM Benzonitril (entsprechend 103,12 µg/ml Phosphatpufferlösung) bei 37 °C im Vergleich zur Kontrolle um 50 bis 59 % gehemmt (Testparameter Sauerstoffverbrauch; Curvall et al., 1984).

Die 30minütige Inkubation von embryonalen Humanlungenfibroblasten mit 25 mM Benzonitril (entsprechend 2578 µg/ml Tris-Pufferlösung) bei 37 °C führte im Vergleich zur Kontrolle zu einer Schädigung der Zellmembran um



30 bis 39 % (Testparameter Freisetzung des Zytoplasmamarkers [<sup>3</sup>H]-Uridin; Curvall et al., 1984).

## **8 Erfahrungen beim Menschen**

Die Kontamination der Haut und der Kleidung eines Arbeiters mit Benzotrilon führte trotz sofortiger gründlicher Reinigung der betroffenen Hautpartien mit Wasser zu Bewußtlosigkeit; ein Kleidungswechsel war zu diesem Zeitpunkt noch nicht erfolgt. Nach einem Reinigungsbad kam der Arbeiter kurzzeitig wieder zu Bewußtsein, litt jedoch unter starker Atemnot. Es traten tonische Krämpfe der Arm- und Gesichtsmuskulatur auf, die nach Verabreichung von Luminal und Natriumthiosulfat abklungen. Trotz Sauerstoffbeatmung hielt die Bewußtlosigkeit 75 Minuten an. Der Arbeiter war am folgenden Tag beschwerdefrei. Mehrere Jahre nach dem Unfall traten bei diesem Arbeiter erneut Zustände mit anfallsweiser Bewußtlosigkeit auf. Differentialdiagnostisch wurde ein Pickwick-Syndrom (kardiopulmonales Syndrom bei Adipositas) vermutet. Ein Zusammenhang mit der Benzotrilon-Einwirkung war daher nicht mit Sicherheit zu unterstellen (Zeller et al., 1969).

In weiteren 7 Fällen wurde nach Kontakt der Haut bzw. Schleimhaut mit Benzotrilon nach unterschiedlichen Latenzperioden (oftmals einige Stunden) eine Reizung der Haut in Form von Rötung und nachfolgender Blasenbildung beobachtet. Da die Hautveränderungen teilweise ausgedehnt bzw. tiefgreifend waren, betrug die durchschnittliche Abheilungsdauer 10 bis 14 Tage (keine weiteren Angaben; Zeller et al., 1969).

Es wurde über einen Arbeiter berichtet, der ein Erythem mit schuppender oberflächlicher Hautablösung an der Streckseite beider Unterarme aufwies, nachdem ihm Benzotrilon über die Handschuhe gelaufen war (keine weiteren Angaben; BASF, 1994).

In einem Beobachtungszeitraum von 13 Jahren und 8 Monaten sind bei in der Produktion von Benzotrilon Beschäftigten keine Hautreizungen und Hautschädigungen, keine Blutbildveränderungen, keine Allergien oder sonstige Erkrankungen festgestellt worden, die mit dem Umgang mit Benzotrilon in Zusammenhang zu bringen gewesen wären. Es besteht eine Geruchsbelästigung, die nach kurzer Tätigkeit toleriert und nicht mehr wahrgenommen wird. Im Bereich der Nasenschleimhaut konnten keine Reizungen festgestellt werden (keine weiteren Angaben; SKW, 1994).

In einem okklusiven Patch-Test am Menschen war nach 48stündiger Einwirkung einer 2prozentigen Benzotrilon-Zubereitung in gelber Vaseline eine Hautreizung nicht zu beobachten (keine weiteren Angaben; Epstein, 1977).

Bei 35 Probanden ergaben sich im Maximierungstest keine Hinweise auf sensibilisierende Eigenschaften von Benzotrilon. Auch ein weiterer Test an 27 Probanden ergab keine Hinweise auf sensibilisierende Eigenschaften. Benzotrilon wurde als 2prozentige Zubereitung in gelber Vaseline appliziert (keine weiteren Angaben; Epstein, 1977).

6 Patienten einer Hautklinik waren gegen die Gummiteile ihrer Unterwäsche allergisch, nachdem diese mit Hypochlorit gebleicht worden war. Hypochlorit hatte Reaktionsprodukte mit dem in den Gummiteilen enthaltenen Accelerator Zinkdibenzylthiocarbamat gebildet. Unter diesen Reaktionsprodukten wurde gaschromatographisch und massenspektrometrisch u. a. auch Benzotrilon nachgewiesen. 25 Freiwillige erhielten 10mal 48 Stunden lang 0,1 ml der Reaktionsmischung auf den Vorderarm (Induktionsphase) und nach einer Pause von 2 Wochen einmal 48 Stunden lang (Auslösebehandlung). 14 der 25 Personen reagierten auf das Reaktionsgemisch und die gleichen Personen auch auf die Komponente N,N-Dibenzylcarbonylchlorid (8,2 % des Gemisches) positiv. 7 Personen wurden mit der Komponente Benzotrilon (0,5 % des Gemisches) getestet und zeigten keine allergische Reaktion. Die Applikation erfolgte 0,01prozentig in Ether (Jordan und Bourlas, 1975).

## **9 Grenzwerte**

Keine Information vorhanden.

## **10 Arbeitsmedizinische Empfehlungen**

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

## Literatur

AgaeV, F.B.

Toxic characteristics of benzonitrile

Azerb. Med. Zh., 52, 60 - 64 (1975)

zitiert in: Chem. Abstr., 85, 41685a (1976)

AgaeV, F.B., Alekperov, I.I., Pavlova, L.P.

Characteristics of the reaction of animals of different age groups to a single-time and chronic action of benzonitrile (englische Übersetzung aus dem Russischen)

Gig. Tr. Prof. Zabol., Heft 3, 40 - 42 (1977)

BASF AG, Gewerbehygienisch-Pharmakologisches Institut

Bericht über die toxikologische Prüfung von Benzonitril rein

unveröffentlichter Bericht Nr. X/119 (1961)

BASF AG, Werksärztlicher Dienst

schriftliche Mitteilung an die Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie vom 11.11.1994

Budavari, S., O'Neil, M.J., Smith, A., Heckelman, P.E. (eds.)

The Merck index

11th ed., p. 171

Merck & Co., Inc., Rahway, N.J., USA (1989)

Calo, C.J.

Personal communication, unpublished data

Velsicol Chemical Corporation, Chicago, Illinois (1974)

zitiert in: MacEwen und Vernot (1974)

CCRIS (Chemical Carcinogenesis Research Information Service)

produced by NCI (National Cancer Institute) (1993)

Carpenter, C.P.

Personal communication, unpublished data

Chemical Hygiene Foundation, Carnegie-Mellon University, Pitts., Pa. (1974)

zitiert in: MacEwen und Vernot (1974)

Cheav, S.L., Foussard-Blanpin, O.

Etude comparée de la toxicité de dérivés cyanés et/ou amides aromatiques

Ann. Pharm. Fr., 48, 23 - 31 (1990)

Cheav, S.L., Kirkiacharian, S., Pieri, F.

Sur la toxico-pharmacologie de dérivés du benzonitrile et de leurs analogues structuraux

Ann. Pharm. Fr., 41, 391 - 394 (1983)

Cheav, S.L., Chalfoun-Mounayar, A., Chahine, R., Foussard-Blanpin, O.

Effets pharmacologiques du benzonitrile sur le système nerveux central

Ann. Pharm. Fr., 48, 209 - 218 (1990)

- Curvall, M., Enzell, C.R., Pettersson, B.  
An evaluation of the utility of four in vitro short term tests for predicting the cytotoxicity of individual compounds derived from tobacco smoke  
Cell Biol. Toxicol., 1, 173 - 193 (1984)
- Daly, J., Jerina, D., Witkop, B.  
Migration of deuterium during hydroxylation of aromatic substrates by liver microsomes.  
I. Influence of ring substituents  
Arch. Biochem. Biophys., 128, 517 - 527 (1968)
- EC (European Commission)  
Existing Chemicals Bureau, Joint Research Centre, Ispra, Italien  
IUCLID-Datensatz benzonitrile  
CD-ROM, ed. I (1996)
- EG (Europäische Gemeinschaft)  
Verordnung (EWG) Nr. 793/93 des Rates vom 23. März 1993 zur Bewertung und Kontrolle der Umweltrisiken chemischer Altstoffe, Anhang 1  
Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaft Nr. L84 vom 05.04.1993
- Epstein, W.L.  
Report to RIFM, 4 March and 16 May (1977)  
zitiert in: Opdyke (1979)
- Eriksson, C., Brandt, I., Brittebo, E.  
Tissue-binding and toxicity of compounds structurally related to the herbicide dichlobenil in the mouse olfactory mucosa  
Food Chem. Toxicol., 30, 871 - 877 (1992)
- Hunt, R.  
Zur Kenntniss der Toxikologie einiger Nitrile und deren Antidote  
Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., XII, 447 - 495 (1904)
- JETOC (Japan Chemical Industry Ecology-Toxicology & Information Center, Japan)  
Mutagenicity test data of existing chemical substances based on the toxicity investigation system of the industrial safety and health law (1996)
- Jordan, W.P., jr., Bourlas, M.C.  
Allergic contact dermatitis to underwear elastic  
Arch. Dermatol., 111, 593 - 595 (1975)
- Kutsenko, S.A., Shilov, V.V.  
Dynamics of cytochrome oxidase activity and glutathione content in tissues of rats intoxicated with potassium cyanide and nitriles  
Vopr. Med. Khim., 37, 72 - 74 (1991)
- Lide, D.R., Frederikse, H.P.R. (eds.)  
CRC Handbook of chemistry and physics  
77th ed., p. 3-76  
CRC Press, Boca Raton, New York, London, Tokyo (1996)

MacEwen, J.D., Vernot, E.H.  
Toxic hazards research unit annual technical report: 1974  
Bericht Nr. AMRL-TR-74-78, p. 77 - 80, 181 - 188 (1974)  
Aerospace Medical Research Laboratory, Wright Patterson Air Force Base, Ohio  
NTIS/AD-A011 559

Maki, T., Suzuki, Y.  
Benzoic acid and derivatives  
in: Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry  
5th ed., vol. A3, p. 555, 559, 562, 567 - 569  
VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim (1985)

McGowan, J.C., Atkinson, P.N., Ruddle, L.H.  
The physical toxicity of chemicals. V. Interaction terms for solubilities and partition coefficients  
J. Appl. Chem., 16, 99 - 102 (1966)

Microbiological Associates, Bethesda, Maryland, USA  
Mouse lymphoma mutagenesis assay with #19528 (ML-NCI #24)  
unveröffentlichter Bericht, Contract No. N01-CP-15739 (1982)  
im Auftrag des National Cancer Institute, USA

Microtest Research Ltd., Heslington, UK  
Study to determine the ability of benzonitrile to induce mutation in five histidine-requiring strains of Salmonella typhimurium (according to OECD guideline 471)  
unveröffentlichter Bericht, Study No. STG 2/S (1988)  
im Auftrag der SKW Trostberg AG

Moreno, O.M.  
Report to RIFM, 7 February (1977)  
zitiert in: Opdyke (1979)

NCI (National Cancer Institute)  
Short term test program sponsored by the division of cancer etiology (1984)  
zitiert in: CCRIS (1993)

NTP (National Toxicology Program)  
Chemical test results for cytogenetic effect in Chinese hamster ovary cells  
Fiscal Year 1988 Annual Plan, p. 87 (1988 a)

NTP (National Toxicology Program)  
Sperm morphology and vaginal cytology evaluation, 1987 results  
Fiscal Year 1988 Annual Plan, p. 185 (1988 b)

NTP (National Toxicology Program)  
schriftliche Mitteilung an die Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie vom  
15.11.1994

NTP (National Toxicology Program)  
schriftliche Mitteilung an die Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie vom  
27.02.1995

- Opdyke, D.L.J.  
Fragrance raw materials monographs  
Benzonitrile  
Food Cosmet. Toxicol., 17, 723 - 725 (1979)
- RCC NOTOX (Research and Consulting Company b.v., The Netherlands)  
Determination of the partition coefficient of benzonitrile  
unveröffentlichter Bericht, Study No. 0914/C605 (1988)  
im Auftrag der SKW Trostberg AG
- SKW Trostberg AG, Produktsicherheit/Toxikologie  
schriftliche Mitteilung an die Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie vom  
18.11.1994
- Smith, J.N., Williams, R.T.  
Studies in detoxication. 31. The isolation of m- and p-cyanophenols as metabolites of  
cyanobenzene (benzonitrile) and the problem of the orientation of hydroxyl groups for-  
med in vivo  
Biochem. J., 46, 243 - 248 (1950)
- Tanii, H., Hashimoto, K.  
Studies on the mechanism of acute toxicity of nitriles in mice  
Arch. Toxicol., 55, 47 - 54 (1984)
- TNO (Central Institute for Nutrition and Food Research, Zeist, The Netherlands)  
Determination of the acute oral toxicity of benzonitril in rats  
unveröffentlichter Bericht (1978 a)  
im Auftrag der SKW Trostberg AG
- TNO (Central Institute for Nutrition and Food Research, Zeist, The Netherlands)  
Primary skin and eye irritation tests with benzonitril in albino rabbits  
unveröffentlichter Bericht (1978 b)  
im Auftrag der SKW Trostberg AG
- Verbrugge, R.  
Toxicité des mononitriles gras et aromatiques et action antitoxique de l'hyposulfite de  
soude vis à vis de ces mononitriles  
Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., 5, 12, 162 - 197 (1899)
- Vernot, E.H., MacEwen, J.D., Haun, C.C., Kinkead, E.R.  
Acute toxicity and skin corrosion data for some organic and inorganic compounds and  
aqueous solutions  
Toxicol. Appl. Pharmacol., 42, 417 - 423 (1977)
- Whittaker, S.G., Zimmermann, F.K., Dicus, B., Piegorsch, W.W., Resnick, M.A., Fogel, S.  
Detection of induced mitotic chromosome loss in *Saccharomyces cerevisiae* - an interla-  
boratory assessment of 12 chemicals  
Mutat. Res., 241, 225 - 242 (1990)
- Zeiger, E., Anderson, B., Haworth, S., Lawlor, T., Mortelmans, K.  
Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals  
Environ. Mol. Mutagen., 11, Suppl. 12, 1 - 158 (1988)

Zeller, H., Hofmann, H.T., Thiess, A.M., Hey, W.  
Zur Toxizität der Nitrile (Tierexperimentelle Untersuchungsergebnisse und werksärztliche Erfahrungen in 15 Jahren)  
Zentralbl. Arbeitsmed. Arbeitsschutz, 19, 225 - 238 (1969)