

Die BG RCI ist seit 2010 Rechtsnachfolger der BG Chemie

TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNGEN

ISBN 0937-4248

TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNG

Ausgabe 11/00

ISSN 0937-4248

Carbamid- säurebutylester

Nr. 273

CAS-Nr. 592-35-8



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

Carbaminsäurebutylester

Carbamic acid butyl ester

In der homologen Reihe der aliphatischen Ester der Carbaminsäure nimmt Carbaminsäureethylester (Urethan; CAS-Nr. 51-79-6) mit seinen ausgeprägten mutagenen und kanzerogenen Wirkungen eine deutliche Sonderstellung ein. Carbaminsäureethylester ist daher in der Europäischen Union in die Kategorie 2 der krebserzeugenden Stoffe eingestuft worden und sollte als krebserzeugend für den Menschen angesehen werden. Die Sonderstellung wird durch die nur beim Carbaminsäureethylester mögliche Ausbildung einer Vinyl-Verbindung und der daraus entstehenden Epoxid-Verbindung erklärt. Obgleich für Nr. 273 Carbaminsäurebutylester nur wenige Untersuchungen zum Metabolismus vorliegen, kann mit großer Sicherheit ausgeschlossen werden, daß eine vergleichbare Aktivierung zu einem mutagen oder kanzerogen wirksamen Metaboliten stattfindet.

1 Zusammenfassung und Bewertung

Carbaminsäurebutylester wird im Tierversuch nach oraler bzw. intravenöser Applikation unabhängig vom Verabreichungsweg zu 30 bis 35 % der verabreichten Dosis innerhalb von 24 Stunden über den Harn, zu weniger als 1 % über die Faeces und zu 61 bis 64 % als CO₂ über die Atemluft ausgeschieden. Nach intravenöser Verabreichung beträgt die Plasmaeliminationshalbwertszeit 0,96 Stunden. Bei Ratten ist nach intraperitonealer Applikation als Metabolit im Harn N-Hydroxycarbaminsäurebutylester nachgewiesen worden.

Aufgrund der vorliegenden Untersuchung zur akuten Toxizität erweist sich Carbaminsäurebutylester nach oraler Verabreichung bei der Ratte als gesundheitsschädlich (LD₅₀ Ratte oral 690 mg/kg Körpergewicht). Nach akuter intraperitonealer Verabreichung liegt die LD₅₀ für Mäuse zwischen 200 und 400 mg/kg Körpergewicht und nach akuter subkutaner Gabe bei 540 mg/kg Körpergewicht. An klinischen Symptomen sind nach oraler Applikation neben unspezifischen Vergiftungssymptomen eine Beeinträchtigung der Atmung und des Bewegungsablaufes sowie eine Verminderung der Reflexe beobachtet worden.

An der Kaninchenhaut wirkt Carbamidsäurebutylester nicht reizend, am Kaninchenauge stark reizend.

Es ist berichtet worden, daß Carbamidsäurebutylester in einem Maximierungstest nach Magnusson und Kligman beim Meerschweinchen hautsensibilisierend gewirkt hat. Die Studie ist allerdings nur unzureichend dokumentiert und läßt eine abschließende Bewertung der hautsensibilisierenden Wirkung daher nicht zu. Die Substanzgruppe der Carbamate steht nicht im Verdacht, hautsensibilisierend zu wirken.

In vitro haben sich im Salmonella/Mikrosomen-Test an *Salmonella typhimurium* und *Escherichia coli* ohne und mit metabolischer Aktivierung keine Hinweise auf mutagene Eigenschaften von Carbamidsäurebutylester ergeben. Zwei Genmutationsteste an *Escherichia coli* (Resistenz gegen Bakteriophagen T, Rückmutation von Streptomycin-Abhängigkeit zu -Unabhängigkeit) haben ein negatives bzw. schwach positives Ergebnis gezeigt. In vivo kann nach akuter intraperitonealer Verabreichung von Carbamidsäurebutylester an Mäuse nur eine vorübergehende geringe Bindung an DNA aus Leber, Nieren bzw. Lungen, aber keine Bindung an DNA aus Dermis und Epidermis nachgewiesen werden. Nach den vorliegenden Untersuchungen ist ein gentoxisches Potential von Carbamidsäurebutylester nicht ableitbar.

Die vorliegenden Untersuchungen zum kanzerogenen Potential von Carbamidsäurebutylester bei Mäusen mit oraler, intraperitonealer und subkutaner Applikation entsprechen hinsichtlich Versuchsaufbau, Umfang und Dokumentation nicht den heutigen Anforderungen. In diesen Studien ist parallel auch Carbamidsäureethylester (Urethan) geprüft worden. In allen Untersuchungen sind die Tumorinzidenzen durch Applikation von Carbamidsäureethylester signifikant erhöht worden, während es durch Applikation von Carbamidsäurebutylester nicht zu einer erhöhten Tumorinzidenz gekommen ist. Lediglich in einer ebenfalls nicht validen Studie an weiblichen Mäusen ist nach intraperitonealer Injektion eine erhöhte Inzidenz an Mammatumoren beschrieben worden. Insgesamt kann ein kanzerogenes Potential mit den vorliegenden nicht validen Studien nicht ausgeschlossen werden. Die Substanz scheint aber kein wesentliches kanzerogenes Potential zu besitzen.

In einer orientierenden Untersuchung zur Embryotoxizität und Teratogenität am Syrischen Hamster hat Carbamidsäurebutylester nach einmaliger intraperitonealer Verabreichung am 8. Trächtigkeitstag zu keinem Anstieg der Inzidenz äußerlicher und skelettaler Mißbildungen geführt. Aufgrund der zu geringen Tierzahl, des unüblichen Applikationsweges sowie des unüblichen Auswertungstages kann diese Studie nicht zur Bewertung herangezogen werden.

Within the homologue series of aliphatic esters of carbamic acid, carbamic acid ethyl ester (urethane; CAS No. 51-79-6) with its marked mutagenic and carcinogenic effects clearly occupies a special position. Carbamic acid ethyl ester has therefore been placed in category 2 of carcinogenic compounds in the European Union and should be regarded as carcinogenic to humans. The explanation for its special position is that carbamic acid ethyl ester is the only compound of this type that is capable of forming a vinyl compound and, subsequently, an epoxide. Although only few studies are available on the metabolism of carbamic acid butyl ester, it can be excluded with a high degree of certainty that the chemical undergoes similar activation to yield mutagenic or carcinogenic metabolites.

Summary and assessment

In animal studies with oral or intravenous administration, 30 to 35% of the administered dose of carbamic acid butyl ester was excreted in urine, less than 1% in faeces and 61 to 64% as CO₂ in the exhaled air within 24 hours following administration, independently of the route of administration. After intravenous administration, the half-life of elimination from plasma was 0.96 hours. In rats, the metabolite N-hydroxycarbamic acid butyl ester has been detected in urine after intraperitoneal administration.

Based on the available acute toxicity study in rats, carbamic acid butyl ester is found to be harmful upon oral administration (LD₅₀ rat oral 690 mg/kg body weight). Following acute intraperitoneal injection, the LD₅₀ for mice is between 200 and 400 mg/kg body weight, while it is 540 mg/kg body weight following acute subcutaneous injection. In addition to unspecific signs of intoxication, the clinical signs observed after oral administration include difficulty in breathing, motor disturbances and reduced reflexes.

In the rabbit, carbamic acid butyl ester is not irritating to the skin, while it is severely irritating to the eye.

There are reports that carbamic acid butyl ester had a sensitising effect on the guinea pig skin in a Magnusson and Kligman maximisation test. However, the study is inadequate with respect to documentation and therefore can not serve as a basis for final evaluation of the chemical's skin-sensitising potential. The carbamate class of substances is not suspected of causing skin sensitisation.

In vitro, the Salmonella/microsome assay on Salmonella typhimurium and Escherichia coli gives no indications in the absence or presence of metabolic activation that carbamic acid butyl ester has mutagenic properties. Two gene mutation tests on Escherichia coli (resistance to bacteriophage T, reversion from streptomycin dependence to independence) have given a negative and a weakly positive result. In vivo, acute intraperitoneal injection of carbamic acid butyl ester into mice resulted in only transient, low binding to DNA from liver, kidneys and lungs, whereas no binding was detected in DNA from the dermis and epidermis. On the basis of existing studies, it is not possible to deduce a genotoxic potential for carbamic acid butyl ester.

The studies conducted so far to investigate the carcinogenic potential of carbamic acid butyl ester in mice after oral, intraperitoneal and subcutaneous administration do not meet current requirements with respect to experimental setup, scope and documentation. In those studies, carbamic acid ethyl ester (urethane) was also investigated in parallel. In all studies, tumour incidence rates were significantly increased by administration of carbamic acid ethyl ester, whereas treatment with carbamic acid butyl ester did not increase tumour incidence. Only in the case of one study conducted in female mice, which again was not valid, was intraperitoneal injection reported to have caused an increase in mammary tumour incidence. The overall conclusion is that a carcinogenic potential can not be excluded on the basis of the existing invalid studies. However, the chemical does not appear to have a relevant carcinogenic potential.

In an exploratory embryotoxicity and teratogenicity study in the Syrian hamster, single intraperitoneal administration of carbamic acid butyl ester on day 8 of gestation did not lead to an increase in the incidence of external or skeletal malformations. Due to the insufficient number of animals, the unusual route of administration and the unusual day of foetal examination, the study can not be used for the purpose of evaluation.

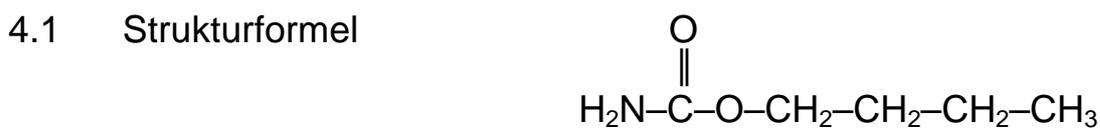
2 Stoffname

2.1	Gebrauchsname	Carbaminsäurebutylester
2.2	IUPAC-Name	Carbaminsäurebutylester
2.3	CAS-Nr.	592-35-8
2.4	EINECS-Nr.	209-751-0

3 Synonyme, Trivial- und Handelsnamen

AI3-28289
n-Butylcarbamate
Butyl carbamate
n-Butyl carbamate
Butylurethan
n-Butylurethan
Carbamic acid, butyl ester
Carbaminsäure-butylester
Carbaminsäure-n-butylester
Carbaminsäurebutylester
Carbaminsäure, butyl-ester

4 Struktur- und Summenformel



5 Physikalisch-chemische Eigenschaften

5.1	Molekularmasse, g/mol	117,15	
5.2	Schmelzpunkt, °C	51	(Hoechst, 1988 a)
		53	(Lide und Frederikse, 1996)
		54	(Fuks und Hartemink, 1973; Jäger et al., 1986)

5.3	Siedepunkt, °C	108 (bei 14 hPa) (Lide und Frederikse, 1996) 113 (bei 24 hPa) (Hoechst, 1988 a) 204 (bei 1013 hPa) (Jäger et al., 1986) 204 (Zersetzung) (Lide und Frederikse, 1996)
5.4	Dampfdruck, hPa	keine Information vorhanden
5.5	Dichte, g/cm ³	0,972 (bei 52 °C) (Hoechst, 1988 a)
5.6	Löslichkeit in Wasser	1 g/l (bei 20 °C) (Hoechst, 1991) 25,8 g/l (bei 37 °C) (Houston et al., 1974)
5.7	Löslichkeit in organischen Lösemitteln	löslich in Alkoholen, Estern und Ketonen (Hoechst, 1988 a) sehr gut löslich in Ethanol, gering löslich in Chloroform (Lide und Frederikse, 1996)
5.8	Löslichkeit in Fett	in Fett gut löslich (Hoechst, 1988 a) Verteilungskoeffizient n-Octanol/Wasser, log P _{ow} : 0,85 (gemessen) (Houston et al., 1974) log P _{ow} : 0,88 (berechnet) (EC, 1996)
5.9	pH-Wert	-
5.10	Umrechnungsfaktor	1 ml/m ³ (ppm) \triangleq 4,79 mg/m ³ 1 mg/m ³ \triangleq 0,209 ml/m ³ (ppm) (bei 1013 hPa und 25 °C)

6 Herstellung, Produktionsmenge und Verwendung

6.1 Herstellung

Durch Alkohololyse von Carbamoylchloriden; durch Aminolyse von Chlorformiaten; Reaktion von Harnstoff oder -nitrat mit Alkoholen in Gegenwart von Schwermetallen; Reaktion von Alkoholen mit Isocyanaten; Transamidierung von einfachen Carbamaten mit höheren Aminen; Umesterung niedriger Alkylcarbamate mit höheren Alkoholen; Aminolyse von Dialkylcarbonaten; Umlagerung von ω -Alkoxyalkyl- und ω -Phenoxyalkylcarbamoylchloriden (Jäger et al., 1986).

6.2 Hergestellte oder eingeführte Menge

> 1000 t/Jahr (VCI, 1988).

6.3 Verwendung

Zwischenprodukt zur Herstellung von Kunstharzen (Hoechst, 1991).

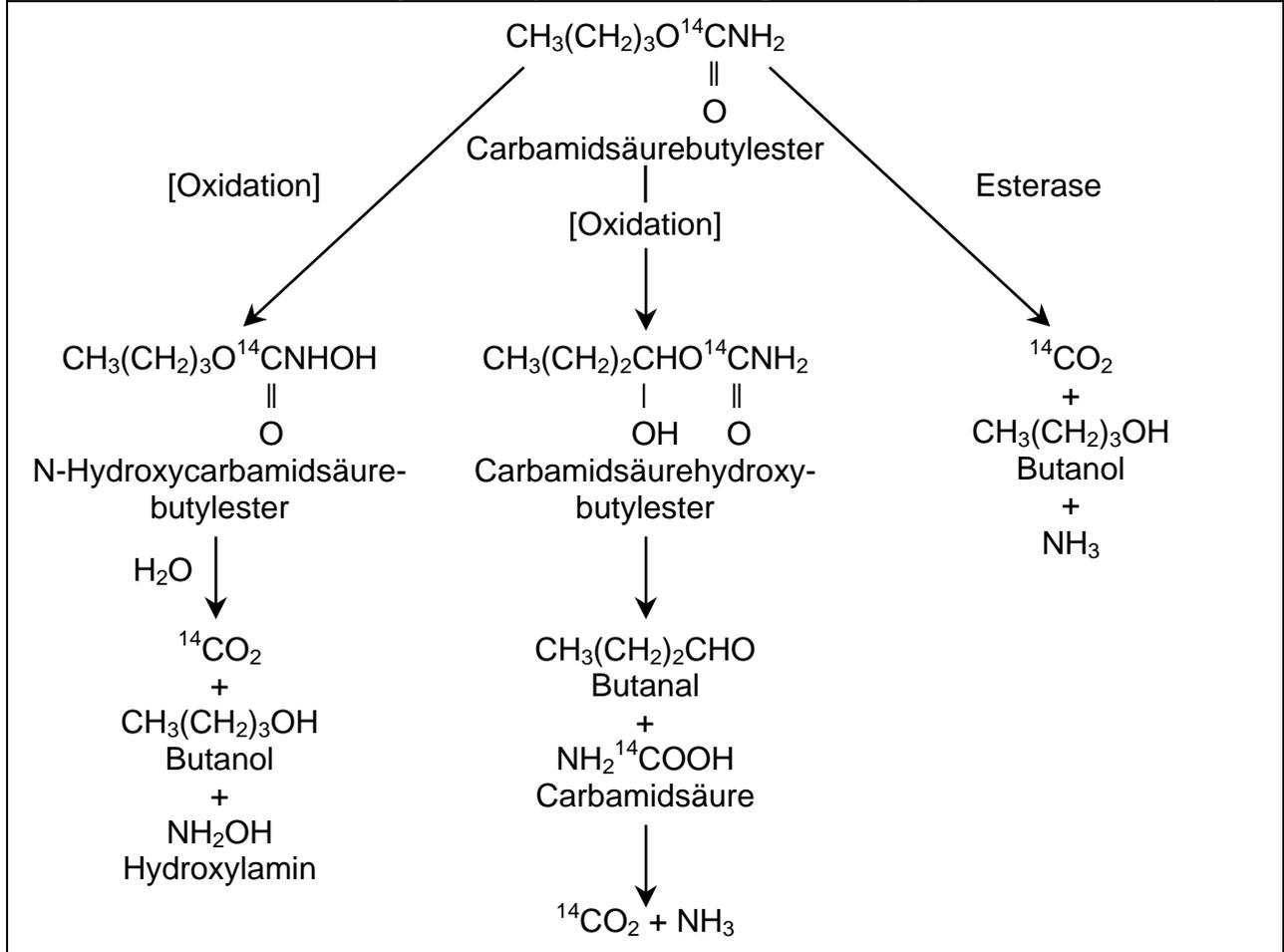
7 Experimentelle Befunde

7.1 Toxikokinetik und Metabolismus

In vivo

Männliche Wistar-Ratten (Stamm Porton; 300 g schwer) erhielten 5 µmol ¹⁴C-markierten Carbamidsäurebutylester/kg Körpergewicht (entsprechend ca. 0,6 mg/kg Körpergewicht) in physiologischer Kochsalzlösung einmalig intravenös bzw. oral (per Sonde in den Zwölffingerdarm) appliziert. Innerhalb von 24 Stunden nach der intravenösen bzw. oralen Verabreichung wurden 29,9 bzw. 34,6 % der verabreichten Radioaktivität über den Harn, weniger als 1 % über die Faeces und 64,2 bzw. 60,8 % als CO₂ über die Atemluft ausgeschieden. Weniger als 5 % der über den Harn ausgeschiedenen Radioaktivität wurde als unveränderte Testsubstanz ausgeschieden. Im Harn und im Plasma wurden mindestens zwei polare Metaboliten (Oxidationsprodukte; keine weiteren Angaben) nachgewiesen. Nach intravenöser Verabreichung wurde eine Plasmaeliminationshalbwertszeit für Carbamidsäurebutylester von 0,96 Stunden und ein Plasmaverteilungsvolumen von 583 ml/kg Körpergewicht ermittelt. Angenommene Stoffwechselwege sind in Abbildung 1 dargestellt (Sargent et al., 1982 a).

Abbildung 1. Angenommene Stoffwechselwege von Carbamidsäurebutylester (in Anlehnung an Sargent et al., 1982 a)



Weibliche Ratten (Körpergewicht ca. 200 g) erhielten 300 bzw. 400 mg Carbamidsäurebutylester/kg Körpergewicht einmalig intraperitoneal verabreicht. Der Harn wurde während der ersten 2 Tage nach der Verabreichung gesammelt (Sammelperiode jeweils 24 Stunden) und die über den Harn ausgeschiedene Menge an unveränderter Testsubstanz (Wiederfindungsrate im Harn 65 %) bzw. des Metaboliten N-Hydroxycarbamidsäurebutylester (Wiederfindungsrate im Harn ca. 100 %) bestimmt. Während der ersten und zweiten 24 Stunden nach der Verabreichung wurden jeweils zwischen 0,8 und 1,1 % der verabreichten Dosis als unveränderte Testsubstanz und zwischen 0,06 und 0,09 % als N-Hydroxycarbamidsäurebutylester über den Harn ausgeschieden (keine weiteren Angaben; Boyland und Nery, 1965).

Die Resorption von Carbamidsäurebutylester wurde an 4 männlichen Porton-Ratten (200 bis 250 g schwer) nach Verabreichung (per Kanüle) von ca. 13 mg [^{14}C -carbonyl]-Carbamidsäurebutylester/kg Körpergewicht in den

Dickdarm (Colon) in situ untersucht. Das Futter wurde 20 Stunden vor der Verabreichung abgesetzt. Die Resorptionsratenkonstante ($K_a=(\ln 2)/t_{1/2}$; $0,0574 \pm 0,0028 \text{ Minuten}^{-1}$) wurde aus der Halbwertszeit der Abnahme der Testsubstanzkonzentration im Dickdarmlumen, die ca. 12 Minuten betrug, ermittelt. 20 Minuten nach der Verabreichung fanden sich 0,89 % der verabreichten Dosis in der Darmwand (Wood et al., 1978).

Bei nicht von Futter und Wasser abgesetzten Ratten wurde in einer in situ-Studie zur Resorption von Carbamidsäurebutylester über den Darm eine Resorptionsratenkonstante ($K_a=(\ln 2)/t_{1/2}$) von 0,186 bzw. 0,175 Minuten^{-1} bei einer Ausgangskonzentration von 0,1 mM (entsprechend 11,7 $\mu\text{g/ml}$) bzw. 10 mM (entsprechend 1171,5 $\mu\text{g/ml}$) Testsubstanz im Darmlumen ermittelt, die aus einer Halbwertszeit von ca. 4 Minuten für die Abnahme der Testsubstanzkonzentration im Darmlumen kalkuliert wurde. 30 Minuten nach der Verabreichung fanden sich 0,94 % der verabreichten Dosis in der Darmwand (Wood et al., 1979).

In einer weiteren in situ-Studie zur Resorption von Carbamidsäurebutylester über den Magen bzw. Darm an nicht von Futter und Wasser abgesetzten männlichen Ratten (Stamm Porton; Gewicht 190 bis 210 g) wurde bei einer Ausgangskonzentration von 10 $\mu\text{mol/ml}$ (entsprechend 1171,5 $\mu\text{g/ml}$) im Magen eine Resorptionsratenkonstante ($K_a=(\ln 2)/t_{1/2}$) von 0,0077 und im Darm eine solche von 0,175 Minuten^{-1} ermittelt, die aus den Halbwertszeiten von ca. 90 bzw. 4 Minuten für die Abnahme der Testsubstanzkonzentration im Magen- bzw. Darmlumen berechnet wurde. Die Resorption über den Magen bzw. Darm verlief pH-unabhängig (Houston et al., 1974).

Bei weiblichen Wistar-Ratten (3 bzw. 4 Tiere/Konzentration; 180 bis 230 g schwer) wurde in situ nach intravesikaler Verabreichung von 0,5, 5,0 bzw. 50 μmol [^{14}C]-Carbamidsäurebutylester/kg Körpergewicht (entsprechend ca. 0,06, 0,6 bzw. 6 mg/kg Körpergewicht) in die Harnblase eine Halbwertszeit von $9,9 \pm 2,2$, $10,8 \pm 0,2$ bzw. $11,1 \pm 1,7$ Minuten für die Abnahme der Testsubstanzkonzentration in der Harnblase ermittelt. Die Resorption von Carbamidsäurebutylester über die Harnblase erfolgte passiv durch Diffusion. Bereits ca. 3 Minuten nach intravesikaler Verabreichung von 5,0 $\mu\text{mol/kg}$ konnte ca. 1 nmol Carbamidsäurebutylester-Äquivalent/ml im Plasma nachgewiesen werden, nach 17 Minuten betrug der Carbamidsäurebutylester-Äquivalent-Spiegel im Plasma ca. 3,5 nmol/ml und ab ca. 32 bis 150 Minuten nach der Applikation war der Carbamidsäurebutylester-Äqui-

valent-Plasmaspiegel maximal (ca. 4 bis 5 nmol/ml; ermittelt aus graphischer Darstellung). 30 Minuten nach Applikation von 5,0 µmol/kg fanden sich $0,64 \pm 0,37$ % der verabreichten Dosis gebunden in der Harnblasenwand (Bridges et al., 1979; Sargent et al., 1979).

In vitro

Bei einer in vitro-Studie zur Resorption von Carbamidsäurebutylester (10, 25 bzw. 50 mM) über den Darm am isolierten Ileum von männlichen Porton-Ratten wurden konzentrationsunabhängig 6,6 % der eingesetzten Konzentration/cm² Ileum/Stunde resorbiert und innerhalb einer Stunde 1,27 % der eingesetzten Konzentration/cm² Ileum gebunden. Metaboliten wurden nicht nachgewiesen, die Wiederfindungsrate für Carbamidsäurebutylester betrug durchschnittlich $95 \pm 3,45$ % (Houston et al., 1974).

Carbamidsäurebutylester bindet in vitro an Cytochrom P-450 in Lebermikrosomen von Phenobarbital-induzierten männlichen Wistar-Ratten. Nach einer Inkubationszeit von einer Stunde bei 37 °C konnten als Metaboliten das nicht konjugierte ω-1-Hydroxylierungsprodukt und in geringer Menge CO₂ nachgewiesen werden (Sargent et al., 1982 b).

Nach einstündiger Inkubation isolierter Rattenhepatozyten mit radioaktiv markiertem Carbamidsäurebutylester konnte eine kovalente Bindung der Metaboliten in den Hepatozyten nicht nachgewiesen werden (keine weiteren Angaben; Sargent et al., 1982 a).

7.2 Akute und subakute Toxizität

Die Prüfung der akuten oralen Toxizität von Carbamidsäurebutylester an Wistar-Ratten gemäß OECD-Richtlinie Nr. 401 ergab eine LD₅₀ von 690 mg/kg Körpergewicht für weibliche Tiere. Bei den männlichen Tieren wurde nur eine Dosierung (500 mg/kg Körpergewicht) getestet; diese Dosierung wirkte nicht letal. Männliche und weibliche Tiere zeigten neben unspezifischen Vergiftungssymptomen eine Beeinträchtigung der Atmung und des Bewegungsablaufes sowie verminderte bzw. aufgehobene Stell- und Pfotenkneifreflexe. Zusätzlich wurden bei den weiblichen Tieren vereinzelt Diarrhoe, Spreizhaltung der Beine, klarer Tränenfluß und blutverkrustete Schnauzen beobachtet. Alle Symptome waren innerhalb von 8 Tagen nach

der Verabreichung reversibel. Die Körpergewichtsentwicklung der die 14tägige Nachbeobachtungsperiode überlebenden Tiere verlief normal. Todesfälle traten bis zum 5. Tag nach der Verabreichung auf. Die Sektion der gestorbenen Tiere ergab makroskopische Befunde an der Milz (starke Verkleinerung), der Lunge (dunkle Fleckung), dem Magen-Darm-Trakt (gefüllt mit Testsubstanz sowie hellgelber bis rotbrauner Flüssigkeit, Nachweis von Blut) und der Blase (prall gefüllt mit dunkler Flüssigkeit, Nachweis von Blut). Die am Ende der Nachbeobachtungsperiode getöteten Tiere waren frei von makroskopisch sichtbaren Veränderungen (Hoechst, 1988 a).

Für Mäuse (Carworth Farms CFW) wurde eine LD₅₀ von 400 mg/kg Körpergewicht nach akuter intraperitonealer Verabreichung von Carbamidsäurebutylester ermittelt. Die Nachbeobachtungsperiode betrug 10 Tage. Carbamidsäurebutylester besaß eine anästhesierende bis narkotische Wirkung (bei 400 mg/kg Körpergewicht für ca. 2 Stunden, bei 200 mg/kg Körpergewicht für ca. ½ Stunde Narkose und bei 100 mg/kg Körpergewicht leichter Koordinationsverlust; Skipper et al., 1948).

In einer weiteren Studie zur Überprüfung der akuten intraperitonealen Toxizität von Carbamidsäurebutylester an CF₁-Mäusen (Carworth Farms) lag die approximative LD₅₀ zwischen 200 und 300 mg/kg Körpergewicht, wenn als Lösungsmittel Propylenglykol verwendet wurde, und bei > 1000 mg/kg Körpergewicht, wenn als Lösungsmittel Wasser verwendet wurde (Nachbeobachtungsperiode 7 Tage; keine weiteren Angaben; Doull et al., 1962).

Nach akuter subkutaner Verabreichung von Carbamidsäurebutylester an männliche Hall-Mäuse (Körpergewicht 25 ± 1 g) wurde eine LD₅₀ von 540 mg/kg Körpergewicht ermittelt. Die Nachbeobachtungsperiode betrug 24 Stunden. Carbamidsäurebutylester führte zu einer kurzen Narkose (ca. 2 Stunden) bei den Mäusen (Pound, 1967).

7.3 Haut- und Schleimhautverträglichkeit

Zur Prüfung der Hautverträglichkeit erhielten 3 Neuseeland-Kaninchen (2,9 bis 3,3 kg schwer) gemäß der OECD-Richtlinie Nr. 404 500 mg Carbamidsäurebutylester (angeteigt mit 0,18 ml Polyethylenglykol 400) im dorsalen Bereich des Rumpfes auf eine enthaarte intakte Fläche von ca. 25 cm² semiokklusiv appliziert. Der Reinheitsgrad der Testsubstanz betrug ca. 94 % (Verunreinigungen: 5,5 % Dibutylcarbonat, 0,6 % n-Butanol). Die Einwirk-

zeit betrug 4 Stunden. Nach der Exposition wurde die noch verbliebene Testsubstanz vorsichtig mit lauwarmem Leitungswasser von der Haut entfernt. Die Beurteilung erfolgte 30 bis 60 Minuten sowie 24, 48 und 72 Stunden nach Entfernen des Pflasterverbandes. 30 Minuten bis 24 Stunden nach Entfernen des Patches zeigte ein Tier ein sehr leichtes Erythem, 48 Stunden nach der Patch-Entfernung waren alle Tiere frei von Reizerscheinungen. Aufgrund dieser Befunde wurde die Substanz als nicht reizend an der Haut beurteilt (Hoechst, 1988 b).

3 Neuseeland-Kaninchen (2,1 bis 3,3 kg schwer) wurden zur Prüfung der Schleimhautverträglichkeit gemäß der OECD-Richtlinie Nr. 405 jeweils 100 mg Carbamidsäurebutylester in den Bindehautsack des linken Auges einmalig appliziert. Das unbehandelte Auge diente jeweils als Kontrolle. Die Beurteilung der Augen erfolgte 1, 24, 48 und 72 Stunden sowie 7 Tage nach der Applikation. Nach 24 und 72 Stunden sowie 7 Tagen wurde zusätzlich die Cornea untersucht. 1 bis 72 Stunden nach der Applikation war die Iris aller Tiere gerötet. Eine Stunde bis 7 Tage nach der Applikation zeigten die Bindehäute der Tiere leichte Schwellungen bis Schwellungen mit mehr als halbgeschlossenen Lidern sowie eine deutliche Hyperämie einiger Blutgefäße bis zu einem diffusen, kräftigen Rot. Die Cornea der Tiere zeigte diffuse Opazitätsbereiche bis perlmuttartige Bereiche. Die Reizerscheinungen wurden von einem klaren bzw. weiß-schleimigem Ausfluß begleitet. 24 bis 72 Stunden nach der Applikation waren die Bindehäute der Tiere zeitweise weiß verfärbt und zeigten Blutungen. 7 Tage nach der Applikation wurde bei allen Tieren eine beginnende bzw. fortgeschrittene Vaskularisation beobachtet. Aufgrund dieser Befunde wurde die Substanz als stark reizend am Auge bewertet (Hoechst, 1988 c).

7.4 Sensibilisierende Wirkung

Die Prüfung auf eine mögliche sensibilisierende Wirkung von Carbamidsäurebutylester erfolgte an 20 weiblichen Hartley-Meerschweinchen im Maximierungstest nach Magnusson und Kligman. Die intradermale Induktion erfolgte mit einer 5prozentigen Testsubstanzzubereitung in Ethanol, die dermale Induktion mit einer 25prozentigen Testsubstanzzubereitung in Ethanol (70 %). Die Auslösung erfolgte 14 Tage nach der dermalen Induktion mit einer 0,2- bzw. 1prozentigen Testsubstanzzubereitung in Ethanol (70 %) perkutan auf der geschorenen linken Flanke bei jeweils 10 Tie-

ren/Konzentration (keine Angaben zu mitgeführten Kontrolltieren). Die für die Auslösung eingesetzten Konzentrationen lagen dabei unterhalb der in einem Vorversuch als minimal reizend eingestuften Grenzkonzentration von 2 %. 24 bzw. 48 Stunden nach der Patch-Entfernung wurde, unabhängig von der Auslösekonzentration, ein Sensibilisierungsgrad von 3 bzw. 2 in einer 5stufigen Skala ermittelt (keine Angaben zur Anzahl reagierender Tiere und zur Definition der Sensibilisierungsgrade; Matsushita et al., 1977).

7.5 Subchronische und chronische Toxizität

Keine Information vorhanden.

7.6 Genotoxizität

7.6.1 In vitro

Carbaminsäurebutylester wurde im Salmonella/Mikrosomen-Test (Standard-Platteninkorporationstest) an den Salmonella typhimurium-Stämmen TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537 und TA 1538 sowie an Escherichia coli WP2uvrA ohne und mit metabolischer Aktivierung (S9-Mix aus mit Aroclor 1254 induzierter Rattenleber) in Konzentrationen von 4 bis 10000 µg/Platte auf mögliche mutagene Eigenschaften geprüft. Der Reinheitsgrad der Testsubstanz betrug ca. 94 % (Verunreinigungen: 5,5 % Dibutylcarbonat, 0,6 % n-Butanol). Pro Konzentration wurden 3 Platten eingesetzt. Der Test wurde in einer unabhängigen Versuchsdurchführung mit Konzentrationen von 4 bis 5000 µg/Platte wiederholt. Carbaminsäurebutylester wirkte in Konzentrationen bis 10000 µg/Platte nicht bakteriotoxisch. Es ergaben sich weder mit noch ohne metabolische Aktivierung Hinweise auf mutagene Eigenschaften (Hoechst, 1988 d).

Im Spot- bzw. Fluktuationstest an Escherichia coli WP2uvrA ohne metabolische Aktivierung ergaben sich ebenfalls keine Hinweise auf mutagene Eigenschaften von Carbaminsäurebutylester (keine Angaben zum Reinheitsgrad). Es wurden Konzentrationen von 5 bis 10 mg/Platte (Spotttest) bzw. 0,6 mg/ml (Fluktuationstest) eingesetzt. Der parallel untersuchte Carbaminsäureethylester (keine Angaben zum Reinheitsgrad) erwies sich ebenfalls als negativ (Pai et al., 1978, 1985).

Auch in einem Genmutationstest (Resistenz gegen Bakteriophagen T) an *Escherichia coli* B ergaben sich keine Hinweise auf mutagene Eigenschaften von Carbamidsäurebutylester (keine Angaben zum Reinheitsgrad). Die Substanz wurde in einer Konzentration von 0,8 oder 0,9 % (unterschiedliche Angaben in beiden Publikationen) eingesetzt bei einer Inkubationszeit von 0,6 bis 2,5 Stunden in 5 unabhängigen Versuchsdurchführungen. Parallel wurde Carbamidsäureethylester (keine Angaben zum Reinheitsgrad) in einer Konzentration von 5 % bei Inkubationszeiten von 0,5 bis 2,5 Stunden untersucht, der sich als positiv erwies (keine weiteren Angaben; Latarjet et al., 1949; Latarget et al., 1988).

In einer Studie an den Streptomycin-abhängigen *Escherichia coli*-Stämmen B/Sd-4/1,3,4,5 und B/Sd-4/3,4 (Rückmutation von Streptomycin-Abhängigkeit zu Streptomycin-Unabhängigkeit) wirkte Carbamidsäurebutylester (keine Angaben zum Reinheitsgrad) in Konzentrationen von 0,5 bis 0,8 % nach Interpretation der Autoren schwach mutagen. Die Inkubationszeit betrug 3 bzw. 3,5 Stunden, der bakteriotoxische Bereich wurde erfaßt (Überlebensrate bei 0,5 % 86 %, bei 0,8 % 4,9 % der Negativkontrolle). Carbamidsäureethylester (keine Angaben zum Reinheitsgrad) erwies sich dagegen in Konzentrationen von 3,5 bis 7 % bei Inkubationszeiten von 3 bis 4,5 Stunden als positiv (Demerec et al., 1951).

7.6.2 In vivo

Männliche Crackenbush-Mäuse erhielten 10 mg Carbamidsäurebutylester (¹⁴C-markiert in der C₁-Position der Alkylgruppe; 6 µCi)/Tier einmalig intraperitoneal verabreicht. Dies entsprach einer Dosierung von ca. 333 mg/kg Körpergewicht, bei einem durchschnittlichen Körpergewicht von ca. 30 g. Zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Verabreichung (nach 3, 6, 9, 12 bzw. 24 Stunden) wurde bei jeweils 8 Tieren/Aufbereitungszeitpunkt die DNA mit einer modifizierten Phenol-Methode aus Lungen, Leber und Nieren extrahiert und die DNA-Bindung von Carbamidsäurebutylester mit Hilfe von Radioaktivitätsmessungen ermittelt. An der DNA aus Leber, Nieren bzw. Lungen konnte nur eine vorübergehende geringe Bindung von Carbamidsäurebutylester nachgewiesen werden, die 3 Stunden nach der Verabreichung maximal war (Leber bzw. Nieren: ca. 10 bzw. 6,6 dpm/mg DNA; Lungen: Aktivität nicht angegeben). Nach 9 bis 12 Stunden war nur noch eine minimale bis keine DNA-Bindung mehr nachweisbar. Analog da-

zu wurden 1-¹⁴C-, 2-¹⁴C- und Carbonyl-¹⁴C-Carbamidsäureethylester untersucht. Ein Radioaktivitätsmaximum in der Leber wurde nach 12 Stunden für 1-¹⁴C- und 2-¹⁴C-Carbamidsäureethylester gefunden (328 ± 24 dpm/mg DNA bzw. 267 ± 24 dpm/mg DNA), während bei Carbonyl-¹⁴C-Carbamidsäureethylester nach 12 Stunden nur 26 ± 2 dpm/mg DNA festgestellt werden konnten. Auch nach 24 Stunden konnte bei 1-¹⁴C- und 2-¹⁴C-Carbamidsäureethylester noch Radioaktivität nachgewiesen werden. Carbamidsäureethylester band also im signifikanten Ausmaß an die Leber-DNA, wobei der Carbonylkohlenstoff an der DNA-Bindung nicht beteiligt war (Lawson und Pound, 1973).

In einer weiteren Studie zur Überprüfung der Bindung von Carbamidsäurebutylester an DNA erhielten männliche Crackenbush-Mäuse 10 mg Carbamidsäurebutylester (¹⁴C-markiert in der C₁-Position der Alkylgruppe; 6 µCi)/Tier (entsprechend ca. 308 mg/kg Körpergewicht, bei einem durchschnittlichen Körpergewicht von 33 g) einmalig intraperitoneal verabreicht. 3, 6, 12 bzw. 24 Stunden nach der Verabreichung wurde bei jeweils 6 Tieren/Aufbereitungszeitpunkt die DNA aus der Dermis und Epidermis extrahiert. Eine DNA-Bindung von Carbamidsäurebutylester konnte mit Hilfe der Radioaktivitätsmessung nicht nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu kam es bei dem vergleichend untersuchten Ethylester zu einer maximalen Bindung nach 12 Stunden, wobei die Bindung in der Dermis größer war als in der Epidermis (Dermis 490 µmol/g DNA, Epidermis 164 µmol/g DNA). Bei Vorbehandlung mit Crotonöl (einmalig topisch 0,25 ml einer 0,15prozentigen Lösung in Aceton) 16 Stunden vor der intraperitonealen Verabreichung von Carbamidsäurebutylester wurde eine vorübergehende DNA-Bindung nachgewiesen. Die spezifische Aktivität der DNA betrug 12 Stunden nach der Verabreichung von Carbamidsäurebutylester in der Epidermis bzw. Dermis 228 bzw. 210 µmol/g DNA und nach 24 Stunden 95 bzw. 75 µmol/g DNA. Die dermale Vorbehandlung mit Crotonöl bewirkte bei der intraperitonealen Applikation des Carbamidsäureethylesters eine doppelt so hohe Bindung in der Dermis als bei nicht vorbehandelten Tieren (887 µmol/g DNA), in der Epidermis war die Bindung 5mal so hoch wie bei den nicht vorbehandelten Tieren (842 µmol/g DNA; Pound und Lawson, 1976).

1000 mg Carbamidsäurebutylester/kg Körpergewicht, intraperitoneal an männliche Wistar-Ratten (250 bis 300 g schwer) verabreicht, hemmten die Aktivität der Mg²⁺-abhängigen RNA-Polymerase in Zellkernen, die eine Stunde nach Applikation aus dem Lungengewebe isoliert wurden, nicht.

Der vergleichend untersuchte Carbamidsäureethylester dagegen hemmte die Aktivität der Mg^{2+} -abhängigen RNA-Polymerase um ca. 50 %, wobei eine Stunde nach der Applikation ein Maximum erreicht wurde. 20 Stunden nach Applikation lag die Aktivität der Mg^{2+} -abhängigen RNA-Polymerase wieder im Normalbereich. Die $Mn^{2+}+(NH_4)_2SO_4$ -abhängige RNA-Polymerase wurde durch Carbamidsäureethylester nicht beeinflusst (Eker, 1975).

7.7 Kanzerogenität

Männliche und weibliche Swiss-Mäuse (3 Monate alt; 50 Tiere/Gruppe) erhielten 0,2 % Carbamidsäurebutylester, 0,01 % Carbamidsäureethylester oder 0,2 % Carbamidsäurebutylester plus 0,01 % Carbamidsäureethylester im Trinkwasser über 16 Wochen verabreicht. Eine größere Anzahl von Tieren starb während des Versuches, die aufgrund von Autolyse nicht ausgewertet werden konnten (keine weiteren Angaben). Bei der Sektion der überlebenden Tiere am Ende einer 8wöchigen behandlungsfreien Nachbeobachtungsperiode wiesen in der Carbamidsäurebutylester-Gruppe 11/24 Tieren Lungentumoren (durchschnittlich ein Tumor/tumortragendem Tier) auf, in der Carbamidsäureethylester-Gruppe 18/18 Tieren (durchschnittlich 19 Tumoren/tumortragendem Tier) und in der Carbamidsäurebutylester plus Carbamidsäureethylester-Gruppe 52/63 Tieren (durchschnittlich 6,3 Tumoren/tumortragendem Tier). 1 bis 2 Tumoren/Tier entsprachen nach den Autoren der spontanen Tumorrates (keine weiteren Angaben, insbesondere zu nicht behandelten Kontrolltieren, systemischen Effekten oder histopathologischen Befunden; Lespagnol et al., 1969).

In einem Screening-Test an männlichen Mäusen (Strain A/He; 7 bis 9 Wochen alt; 23 bis 25 g schwer; 16 oder 32 Tiere/Gruppe) führte die intraperitoneale Verabreichung von 5 mg Carbamidsäurebutylester/Tier, formuliert in Tricaprylin, 3mal pro Woche über 4 Wochen (Gesamtdosis 60 mg/Tier) nicht zu einer Erhöhung der Tumorzinzidenz in der Lunge im Vergleich zur Formulierungsmittelkontrolle am Ende einer 20wöchigen Nachbeobachtungsperiode. In der Carbamidsäurebutylester-Gruppe entwickelten 14 % der Tiere Lungentumoren, in der mit Tricaprylin behandelten Kontrolle 25 %, in den Kontrolltieren, die Wasser erhielten, 19 % und in unbehandelten Kontrolltieren 7 %. Nach Applikation des vergleichend untersuchten Carbamidsäureethylesters dagegen wiesen 100 % der Tiere Lungentumoren auf. Während des Versuches starben in der Carbamidsäurebutylester-

Gruppe 2/16 Tieren, in der Carbamidsäureethylester-Gruppe 4/16 Tieren und in den Kontrollgruppen 1/32, 4/32 bzw. 1/32 Tieren (keine weiteren Angaben, insbesondere zu systemischen Effekten oder weiteren histopathologischen Befunden; Shimkin et al., 1969).

Nach intraperitonealer Verabreichung von 0,25 mg Carbamidsäurebutylester in Tricaprylin/g Körpergewicht an männliche und weibliche Mäuse (Strain A; 10 bis 12 Wochen alt; keine Angaben zum Gewicht der Tiere) einmal pro Woche über 13 Wochen und einer Nachbeobachtungsperiode von 2 bis 3 Wochen wiesen 4 von 33 Tieren (12 %) Lungentumoren auf (Kontrolle 17 %). Die durchschnittliche Anzahl von Tumoren/Tier betrug 0,12 (Kontrollen 0,18). Dosen von 0,5 und 0,375 mg/g Körpergewicht riefen eine rasche und tiefe Narkose hervor und etwa 40 % der Mäuse starben innerhalb von 2 Stunden (keine weiteren Angaben). Nach Applikation des vergleichend untersuchten Carbamidsäureethylesters (0,5 mg/g Körpergewicht) zeigten alle 102 behandelten Tiere (100 %) Tumoren. Die durchschnittliche Anzahl von Tumoren betrug 76,9 (keine weiteren Angaben; Larsen, 1947).

30 weibliche C₃H-Mäuse (8 bis 10 Wochen alt; ca. 18 g schwer) erhielten 6,595 mg Carbamidsäurebutylester/Tier/Tag, 5 mg Carbamidsäureethylester/Tier/Tag oder eine Kombination von 5 mg Carbamidsäureethylester und 6,595 mg Carbamidsäurebutylester an 6 aufeinanderfolgenden Tagen intraperitoneal verabreicht. Die Nachbeobachtungsperiode betrug 51 Wochen. Eine Gruppe von 30 unbehandelten weiblichen Tieren diente als Kontrolle. Die kurze Zeit nach Beendigung der Verabreichung gestorbenen Tiere in den Substanzgruppen bzw. in der Kontrollgruppe wurden für die Versuchsauswertung nicht herangezogen (keine weiteren Angaben). Die Inzidenz an Mammatumoren in den Substanzgruppen war signifikant erhöht (Carbamidsäureethylester 12 von 24 Tieren (50 %); Carbamidsäurebutylester 16 von 27 Tieren (59,2 %); Carbamidsäureethyl- plus -butylester 17 von 24 Tieren (70,8 %); Kontrolle 8 von 22 Tieren (36,3 %)). Nach den Autoren hatte die gleichzeitige Gabe von Carbamidsäureethylester und Carbamidsäurebutylester einen additiven Effekt. In der Carbamidsäurebutylester-Gruppe wiesen 24,9 % der Tiere mit Mammatumoren Metastasen in der Lunge auf, in der Carbamidsäureethylester-Gruppe 58,3 % und in der Carbamidsäureethylester plus Carbamidsäurebutylester-Gruppe 23,5 % (Kontrolle 12,5 %; keine Angaben zu systemischen Effekten oder histopathologischen Befunden; Garcia und Guerrero, 1969).

2-Stufen-Experimente

Je 30 weibliche Swiss-Mäuse (8 Wochen alt; 20 bis 28 g schwer) erhielten Gesamtdosen von 1,17 oder 5,85 mg Carbamidsäurebutylester, 0,89 mg Carbamidsäureethylester, 0,89 mg Carbamidsäureethylester plus 1,17 mg Carbamidsäurebutylester oder 0,89 mg Carbamidsäureethylester plus 5,85 mg Carbamidsäurebutylester/g Körpergewicht wiederholt fraktioniert intra-peritoneal verabreicht (keine Angabe zur Anzahl der Applikationen). Im Anschluß an die Initiation erfolgte die Promotion durch Applikation von 0,5prozentigem Crotonöl (in Aceton) zweimal pro Woche auf die geschorene Haut (interskapulär) für 45 Wochen. Die Tiere einer Kontrollgruppe erhielten Crotonöl über 45 Wochen dermal verabreicht. Nach 40 Wochen wiesen in der 1,17 mg Carbamidsäurebutylester-Gruppe 5 von 30 Tieren, in der 5,85 mg Carbamidsäurebutylester-Gruppe 2 von 28 Tieren, in der 0,89 mg Carbamidsäureethylester-Gruppe 13 von 30 Tieren, in der 0,89 mg Carbamidsäureethylester plus 1,17 mg -butylester-Gruppe 7 von 30 Tieren und in der 0,89 mg Carbamidsäureethylester plus 5,85 mg -butylester-Gruppe 3 von 23 Tieren Hautpapillome im Bereich der Interskapulärregion auf (Kontrolle 1 von 29 Tieren). Nach einer Versuchsdauer von 58 bis 60 Wochen wurden die Tiere getötet und die Haut mikroskopisch untersucht. In den drei Gruppen, die Carbamidsäureethylester erhielten, erwies sich je ein Tumor als Plattenepithelkarzinom (keine weiteren Angaben; Garcia, 1963).

40 männliche Hall-Mäuse erhielten 10 mg Carbamidsäurebutylester/Tier oder 25 mg Carbamidsäureethylester/Tier einmalig subkutan appliziert. 18 Stunden vor der Applikation wurde die rechte Rückenhälfte der Tiere mit 25prozentiger Essigsäure in Aceton behandelt. Ab 2 Wochen nach Verabreichung der Testsubstanz erfolgte die Promotion mit 0,25 ml 0,075prozentigem Crotonöl (in Aceton)/Tier einmal pro Woche 24mal innerhalb von 26 Wochen dermal auf den Rücken. Eine Kontrollgruppe (80 Tiere) wurde mit Crotonöl behandelt. Die Inzidenz an Hauttumoren war im Vergleich zur Kontrolle signifikant erhöht. In der Carbamidsäurebutylester-Gruppe wiesen 3 von 15 überlebenden Tieren insgesamt 5 Hauttumoren auf, in der Carbamidsäureethylester-Gruppe 16 von 30 überlebenden Tieren insgesamt 55 Hauttumoren (Kontrolle: 2 von 41 überlebenden Tieren trugen insgesamt 3 Hauttumoren). Bei einmaliger subkutaner Verabreichung von Carbamidsäurebutylester ohne Promotion mit Crotonöl konnte bei Versuchsende nach 26 Wochen keine signifikante Erhöhung der Tumorzinzidenz beobachtet werden. Nach subkutaner Applikation von Carbamidsäu-

reethylester entwickelte ein Tier ein Papillom an dem mit Essigsäure vorbehandelten Hautareal (keine weiteren Angaben, insbesondere zu systemischen Effekten und histopathologischen Befunden; Pound, 1967).

Gruppen von 40 männlichen Hall-Mäusen (zu Versuchsbeginn ca. 26 g schwer) wurden einmalig subkutan 25 mg Carbamidsäureethylester bzw. 25 mg Carbamidsäureethylester zusammen mit 5, 10 oder 15 mg Carbamidsäurebutylester/Tier verabreicht. Beginnend 7 Tage nach der Injektion wurde den Tieren einmal wöchentlich für 20 Wochen (5 mg Carbamidsäurebutylester-Gruppe) 0,25 ml Crotonöl (0,5 % in Aceton) bzw. 28 Wochen 0,25 ml Crotonöl (0,075 % in Aceton) auf die Rückenhaut aufgetragen. Nach 22 bzw. 36 Wochen wurden die Tiere auf Hauttumoren untersucht. Bei den Tieren, die Carbamidsäureethylester zusammen mit Carbamidsäurebutylester erhalten hatten, wurde keine erhöhte Inzidenz an Hauttumoren festgestellt im Vergleich zu den Tieren, denen nur Carbamidsäureethylester verabfolgt wurde (Gruppen mit 25 mg Carbamidsäureethylester 7/38, 19/34 bzw. 19/33 mit insgesamt 10, 42 bzw. 43 Tumoren; Gruppe mit 25 mg Carbamidsäureethylester plus 5 mg Carbamidsäurebutylester 8/33 mit insgesamt 13 Tumoren; Gruppe mit 25 mg Carbamidsäureethylester plus 10 mg Carbamidsäurebutylester 5/9 mit insgesamt 8 Tumoren). Alle Tiere, die 25 mg Carbamidsäureethylester plus 15 mg Carbamidsäurebutylester erhalten hatten, starben innerhalb von 24 Stunden. Von den über die 40. Versuchswoche hinaus überlebenden 9 Tieren der Gruppe, die 25 mg Carbamidsäureethylester plus 10 mg Carbamidsäurebutylester erhalten hatte, wiesen 6 Mäuse insgesamt 10 Hauttumoren, 4 Mäuse insgesamt 9 Lungenadenome, eine Maus einen Lebertumor (Hämangiosarkom) und 2 Mäuse Leukämien auf. In der Gruppe, die 25 mg Carbamidsäureethylester allein erhalten hatte, wurden von 33 Mäusen bei 16 Tieren 24 Hauttumoren, bei 15 Mäusen 41 Lungenadenome, bei 4 Tieren Lebertumoren und bei 4 Tieren Leukosen festgestellt (keine weiteren Angaben, insbesondere zu systemischen Effekten und weiteren histopathologischen Befunden; Pound, 1972).

In einer weiteren Studie an männlichen Hall-Mäusen (Gewicht ca. 25 g; Alter ca. 7 Wochen) erhielten je 30 Tiere zur Initiation 3,4 mÄquivalente Carbamidsäurebutylester/kg Körpergewicht oder 5,6 mÄquivalente Carbamidsäureethylester/kg Körpergewicht ohne Vorbehandlung mit Crotonöl bzw. 18 Stunden nach einer Vorbehandlung mit Crotonöl (einmalige dermale Applikation von 0,25 ml Crotonöl (0,075prozentig in Aceton)) einmalig intraperitoneal verabreicht. Ab 3 Wochen nach der Initiation erfolgte die Promo-

tion auf der geschorenen Rücken­haut durch dermale Applikation von 0,24 ml 0,075prozentigem Crotonöl (in Aceton)/Tier einmal pro Woche für 18 Wochen und daran anschließend mit 0,24 ml 0,15prozentigem Crotonöl (in Aceton) einmal pro Woche bis zur 32. Woche. Eine Gruppe, bestehend aus 90 Tieren, diente unbehandelt als Kontrolle. Der Versuch wurde 78 Wochen nach der Testsubstan­zgabe beendet. Die Inzidenzen an Hauttumoren, Hepatomen, Leberhämangiomen, Lungenadenomen bzw. Leukämien sind in Tabelle 1 dargestellt. Unabhängig von der Vorbehandlung mit Crotonöl zeigten die Mäuse nach Applikation von Carbamidsäurebutylester keine erhöhten Tumorin­zidenzen von Hauttumoren, Lungenadenomen und Leukämien. Die Erhöhung der Inzidenz hepatozellulärer Tumoren bei Vorbehandlung mit Crotonöl wurde von den Autoren als zweifelhaft signifikant angesehen. Die Applikation von Carbamidsäureethylester dagegen erhöhte die Inzidenzen aller untersuchten Tumorarten statistisch signifikant, unabhängig davon, ob die Tiere mit Crotonöl vorbehandelt wurden oder nicht (Pound und Lawson, 1976).

Tabelle 1. Tumorin­zidenzen nach einmaliger intraperitonealer Applikation von Carbamidsäurebutylester bzw. Carbamidsäureethylester ohne und mit Vorbehandlung mit Crotonöl (0,075prozentig in Aceton) nach 78 Wochen

Carbamidsäureester	Vorbe­hand­lung	Anzahl der unter­suchten Mäuse	Anzahl der Mäuse mit					
			Haut­tumoren	Hepa­to­men	Leber­hämangiomen	Hepato­men und Hämangiomen	Lungen­adenomen	Leuk­ämien
Carbamidsäurebutylester	ohne	26	2 (7,7 %)	2 (7,7 %)	1 (3,8 %)	1 (3,8 %)	5 (19 %)	2 (7,7 %)
Carbamidsäurebutylester	mit Crotonöl	27	3 (11 %)	3 (11 %)	3 (11 %)	1 (3,7 %)	6 (22 %)	2 (7,4 %)
Carbamidsäureethylester	ohne	22	8 (36,4 %)	6 (27,3 %)	7 (31,8 %)	2 (9 %)	13 (59 %)	6 (27,3 %)
Carbamidsäureethylester	mit Crotonöl	24	10 (41,7 %)	6 (25 %)	6 (25 %)	3 (12,5 %)	18 (75 %)	5 (20,8 %)
Kontrollen	-	79	10 (12,7 %)	4 (5 %)	3 (3,8 %)	0	15 (19 %)	7 (8,9 %)

Sämtliche vorliegenden Untersuchungen zum kanzerogenen Potential bei Mäusen entsprechen hinsichtlich Versuchsaufbau, Umfang und Dokumentation nicht den heutigen Anforderungen. In diesen Studien wurde parallel auch Carbamidsäureethylester (Urethan) geprüft, ein Stoff, der in der Europäischen Union in die Kategorie 2 der krebserzeugenden Stoffe (Stoffe, die

als krebserzeugend für den Menschen angesehen werden sollten) eingestuft ist (GefStoffV, 1997). In allen Untersuchungen wurden die Tumorzinzen durch Applikation von Carbamidsäureethylester signifikant erhöht, während bei der Applikation von Carbamidsäurebutylester nur eine erhöhte Inzidenz von Mammatumoren zu verzeichnen war.

7.8 Reproduktionstoxizität

Trächtige Syrische Hamster (2 bis 3 Tiere/Gruppe) erhielten ca. 129, 246 bzw. 492 mg Carbamidsäurebutylester/kg Körpergewicht am 8. Trächtigkeitstag einmalig intraperitoneal verabreicht. Eine Kontrollgruppe, bestehend aus 19 trächtigen Tieren, erhielt physiologische Kochsalzlösung. In der niedrigen bzw. mittleren Dosisgruppe starb kein Tier (0/2 bzw. 0/3 trächtigen Tieren), in der hohen Dosisgruppe starben 2 der 3 eingesetzten trächtigen Tiere. Bei der Sektion am 13. Trächtigkeitstag lag die Zahl der Implantationen/Muttertier in allen 3 Dosisgruppen im Bereich der Kontrolle. Die Embryomortalität (prozentualer Anteil toter bzw. resorbierter Feten/Muttertier) betrug 12,5, 10,8 bzw. 100 % in der niedrigen, mittleren bzw. hohen Dosisgruppe (Kontrolle 11,1 %). Bei den lebenden Feten der niedrigen bzw. mittleren Dosisgruppe waren keine äußerlichen und skelettalen Mißbildungen zu beobachten (DiPaolo und Elis, 1967). Aufgrund der zu geringen Tierzahl, des unüblichen Applikationsweges sowie des unüblichen Auswertungstages ist diese Studie zur Bewertung des embryotoxischen und teratogenen Potentials von Carbamidsäurebutylester nicht geeignet.

7.9 Wirkungen auf das Immunsystem

Keine Information vorhanden.

7.10 Neurotoxizität

Keine Information vorhanden.

7.11 Sonstige Wirkungen

Bei der „deer“-Maus (*Peromyscus maniculatus*) wurde nach oraler Verabreichung von Carbamidsäurebutylester eine LD₅₀ von 1213 mg/kg Körper-

gewicht/Tag ermittelt. Die LD_{fr} entsprach der innerhalb der 3tägigen Versuchsdauer über das Futter aufgenommenen Dosis, die nicht bei mehr als 50 % der Tiere letal wirkte (Schafer und Bowles, 1985).

Carbaminsäurebutylester hat in vitro unabhängig von der Versuchstemperatur (10 bzw. 37 °C) an Rinderserumalbumin gebunden (ca. 4 bis 6 Bindungsstellen/Albuminmolekül; Brown et al., 1982).

Carbaminsäurebutylester dissoziierte bei 37 °C Isosafrol-Metaboliten-Cytochrom P-450-Komplexe in Lebermikrosomen von Ratten, die intraperitoneal mit Isosafrol vorbehandelt waren (150 mg/kg Körpergewicht täglich an 3 aufeinanderfolgenden Tagen). Die eingesetzte Protein-Konzentration betrug 2 mg/ml, die Carbaminsäurebutylester-Konzentration 1,0 mM. Die Bindungsspektren wurden bei einer Wellenlänge von 438 nm gemessen (Dickins et al., 1979).

Carbaminsäurebutylester führte bei *Bacillus subtilis* 168i⁻ in einer Konzentration von 8,5 mg/ml (Inkubationszeit 18 Stunden bei 37 °C) zu einer vollständigen Wachstumshemmung als Resultat einer verlängerten lag-Phase (von einer Stunde auf 3 Stunden) sowie einer verlängerten Generationszeit (von 30 bis 45 Minuten auf 60 bis 75 Minuten; De Giovanni-Donnelly et al., 1967).

Leberschnitte (100 mg/Ansatz) weiblicher gescheckter und H-Stamm-Ratten und männlicher H-Stamm-Ratten (6 bis 8 Wochen alt) wurden mit 0,5 µmol N-Hydroxyurethan und 10 µmol Carbaminsäurebutylester/g Lebergewebe 45 Minuten lang inkubiert. Danach wurde der N-Hydroxyurethan-Gehalt bestimmt. Der Abbau von N-Hydroxyurethan wurde durch Inkubation mit Carbaminsäurebutylester gehemmt. Bei den weiblichen gescheckten Ratten betrug die Menge des abgebauten N-Hydroxyurethan 0,36 µmol/g Lebergewebe (Kontrollen 1,5 µmol/g), bei den weiblichen H-Stamm-Ratten 1,6 µmol/g (Kontrollen 2,5 µmol/g) und bei den männlichen H-Stamm-Ratten 2,3 µmol/g (Kontrollen 2,5 µmol/g). Nach Ansicht des Autors erwies sich die Hemmung des N-Hydroxyurethan-Abbaues als stammspezifisch (Nery, 1968).

6 männliche Sprague-Dawley-Ratten (125 bis 175 g schwer) wurden teilhepatektomiert. 6 Stunden nach der Operation wurden 3 Tieren 200 mg Carbaminsäurebutylester/kg Körpergewicht in Propylenglykol gelöst injiziert, 3 weiteren das Lösungsmittel (Kontrollen). Um die RNA zu markieren wurde

³H-markierte Orotsäure in physiologischer Kochsalzlösung in die Pfortader in einer Dosis von 600 µCi/kg Körpergewicht ($22,2 \times 10^6$ Bq/kg Körpergewicht) injiziert. 18 Stunden nach der Operation wurden die Tiere getötet und die RNA-Synthese in Leberzellkernen bestimmt. Die RNA-Synthese war durch Gabe von Carbamidsäurebutylester nicht beeinträchtigt (Glazer, 1973).

Um eine mögliche Hemmwirkung von Carbamidsäurebutylester auf das Tumorstadium zu prüfen, wurden weiblichen Swiss-Mäusen (18 bis 22 g schwer) Sarkoma-180-Tumorstücke (ca. 1,5 mm) subkutan in die Axillarregion implantiert. 24 Stunden nach der Tumorimplantation wurde den Tieren Carbamidsäurebutylester, gelöst in Propylenglykol, in einer Dosis von 250 mg/kg Körpergewicht/Tag an 7 aufeinanderfolgenden Tagen intraperitoneal injiziert. 2 der 5 eingesetzten Tiere starben. 500 mg/kg Körpergewicht hatten sich in Vorversuchen als toxisch erwiesen. Das Wachstum der Tumoren wurde durch Wiegen der Mäuse vor der Tumorimplantation sowie am Therapieende kontrolliert. Carbamidsäurebutylester hemmte unter diesen Versuchsbedingungen das Tumorstadium nicht (keine weiteren Angaben; Stock et al., 1960).

8 Erfahrungen beim Menschen

Bei Produktion und beim Umgang mit Carbamidsäurebutylester sind bisher keine sensibilisierenden Wirkungen bekannt geworden (Hoechst, 1997).

Nach Mitteilung des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) ist Carbamidsäurebutylester im Allergen-katalog des IVDK nicht enthalten und nicht getestet worden (IVDK, 1998).

9 Einstufungen und Grenzwerte

Keine Information vorhanden.

10 Arbeitsmedizinische Empfehlungen

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

Literatur

Boyland, E., Nery, R.

The metabolism of urethane and related compounds

Biochem. J., 94, 198 - 208 (1965)

Bridges, J.W., Sargent, N.S.E., Upshall, D.G.

Rapid absorption from the urinary bladder of a series of n-alkyl carbamates: a route for the recirculation of drugs

Br. J. Pharmacol., 66, 283 - 289 (1979)

Brown, N.A., Wilson, A.G.E., Bridges, J.W.

Chain length dependency of fatty acid and carbamate binding to serum albumin

Biochem. Pharmacol., 31, 4019 - 4029 (1982)

Demerec, M., Bertani, G., Flint, J.

A survey of chemicals for mutagenic action on E. coli

Am. Naturalist, 85, 119 - 136 (1951)

Dickins, M., Elcombe, C.R., Moloney, S.J., Netter, K.J., Bridges, J.W.

Further studies on the dissociation of the isosafrole metabolite-cytochrome P-450 complex

Biochem. Pharmacol., 28, 231 - 238 (1979)

DiPaolo, J.A., Elis, J.

The comparison of teratogenic and carcinogenic effects of some carbamate compounds

Cancer Res., 27, 1696 - 1701 (1967)

Doull, J., Plzak, V., Brois, S.J.

A survey of compounds for radiation protection

NTIS AD 277-689, pp. 1 - 3, 37, 108 (1962)

EC (European Commission), Existing Chemicals Bureau, Joint Research Centre, Ispra, Italien

IUCLID-Datensatz Butyl carbamate

CD-ROM, ed. I (1996)

Eker, P.

Effects of the carcinogen urethane on nuclear RNA polymerase activities

Eur. J. Cancer, 11, 493 - 497 (1975)

Fuks, R., Hartemink, M.A.

The acid-catalysed reaction of cyanogen chloride with aliphatic alcohols. A general synthesis of aliphatic carbamates

Bull. Soc. Chim. Belg., 82, 23 - 30 (1973)

Garcia, H.

Inhibition of tumorigenic action of urethane by butyl carbamate

Biologica, 34, 11 - 13 (1963)

Garcia, H., Guerrero, A.

Mouse mammary carcinogenesis by ethyl and butyl carbamates

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 132, 422 - 425 (1969)

GefStoffV (Gefahrstoffverordnung)
11. Aufl., S. 629
Carl Heymanns Verlag (1997)

Giovanni-Donnelly, De, R., Kolbye, S.M., DiPaolo, J.A.
The effect of carbamates on *Bacillus subtilis*
Mutat. Res., 4, 543 - 551 (1967)

Glazer, R.I.
Inhibition of the synthesis of nuclear RNA by urethan in regenerating liver
Biochem. Biophys. Res. Commun., 53 (3), 780 - 786 (1973)

Hoechst AG, Pharma Forschung Toxikologie und Pathologie
Butylurethan - Prüfung der akuten oralen Toxizität an der Wistar-Ratte
unveröffentlichter Bericht Nr. 88.0386 (1988 a)

Hoechst AG, Pharma Forschung Toxikologie und Pathologie
Butylurethan - Prüfung auf Hautreizung am Kaninchen
unveröffentlichter Bericht Nr. 88.0167 (1988 b)

Hoechst AG, Pharma Forschung Toxikologie und Pathologie
Butylurethan - Prüfung auf Augenreizung am Kaninchen
unveröffentlichter Bericht Nr. 88.0240 (1988 c)

Hoechst AG, Pharma Research Toxicology and Pathology
Butylurethan - Study of the mutagenic potential in strains of *Salmonella typhimurium*
(Ames test) and *Escherichia coli*
unveröffentlichter Bericht Nr. 88.0682 (1988 d)

Hoechst AG
AIDA-Grunddatensatz Carbamic acid, butyl ester (1991)

Hoechst AG, Werksärztliche Abteilung
schriftliche Mitteilung an die Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie vom
17.11.1997

Houston, J.B., Upshall, D.G., Bridges, J.W.
A re-evaluation of the importance of partition coefficients in the gastrointestinal absorption of nutrients
J. Pharmacol. Exp. Ther., 189, 244 - 254 (1974)

IVDK (Informationsverbund Dermatologischer Kliniken)
schriftliche Mitteilung an die Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie vom
28.03.1998

Jäger, P., Rentzea, C.N., Kieczka, H.
Carbamates and carbamoyl chlorides
in: Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry
5th ed., vol. A5, pp. 51 - 53, 56 - 58
VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim (1986)

Larsen, C.D.
Evaluation of the carcinogenicity of a series of esters of carbamic acid
J. Natl. Cancer Inst., 8, 99 - 101 (1947)

Latarget, R., Buu-Hoi, N.P., Elias, C.A.
Induction d'une mutation spécifique chez une bactérie par des cancérigènes hydrosolubles
Cancer J., 2, 23 - 29 (1988)

Latarjet, R., Elias, C., Buu-Hoi, N.P.
Production d'une mutation bactérienne par des cancérigènes hydrosolubles
C.R. Soc. Biol., 143, 776 - 778 (1949)

Lawson, T.A., Pound, A.W.
The interaction of carbon-14-labelled alkyl carbamates, labelled in the alkyl and carbonyl positions, with DNA in vivo
Chem. Biol. Interact., 6, 99 - 105 (1973)

Lespagnol, A., Adenis, L., Cazin, J.C., Driessens, J.
L'adénome pulmonaire de la souris Swiss recevant de l'uréthane. VI. Action du carbamate de butyle et d'isoamyle
C.R. Soc. Biol., 163, 2145 - 2147 (1969)

Lide, D.R., Frederikse, H.P.R. (eds.)
CRC Handbook of chemistry and physics
77th ed., p. 3-109
CRC Press, Boca Raton, New York, London, Tokyo (1996)

Matsushita, T., Yoshioka, M., Aoyama, K., Arimatsu, Y., Nomura, S.
Experimental study on contact dermatitis caused by fungicides benomyl and thiophanate-methyl
Ind. Health, 15, 141 - 147 (1977)

Nery, R.
Some aspects of the metabolism of urethane and N-hydroxyurethane in rodents
Biochem. J., 106, 1 - 13 (1968)

Pai, V., Bloomfield, S.F., Jones, J., Gorrod, J.W.
Mutagenicity testing of nitrogenous compounds and their N-oxidised products using trp⁺ reversion in *E. coli*
Biol. Oxid. Nitrogen., 375 - 382 (1978)

Pai, V., Bloomfield, S.F., Gorrod, J.W.
Mutagenicity of N-hydroxylamines and N-hydroxycarbamates towards strains of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*
Mutat. Res., 151, 201 - 207 (1985)

Pound, A.W.
The initiation of skin tumours in mice by homologues and N-substituted derivatives of ethyl carbamate
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 45, 507 - 516 (1967)

Pound, A.W.
Tumour formation in mice by urethane administered with related carbamates
Br. J. Cancer, 26, 216 - 225 (1972)

Pound, A.W., Lawson, T.A.
Carcinogenesis by carbamic acid esters and their binding to DNA
Cancer Res., 36, 1101 - 1107 (1976)

- Sargent, N.S.E., Upshall, D.G., Bridges, J.W.
Absorption of drugs from the urinary bladder
Biochem. Soc. Trans., 7, 129 - 130 (1979)
- Sargent, N.S.E., Wood, S.G., Upshall, D.G., Bridges, J.W.
The relationship between chemical structure and the in vivo metabolism of an homologous series of n-alkyl carbamates
J. Pharm. Pharmacol., 34, 367 - 372 (1982 a)
- Sargent, N.S.E., Upshall, D.G., Bridges, J.W.
The relationship between binding to cytochrome P-450 and metabolism of n-alkyl carbamates in isolated rat hepatocytes
Biochem. Pharmacol., 31, 1309 - 1313 (1982 b)
- Schafer, E.W., jr., Bowles, W.A., jr.
Acute oral toxicity and repellency of 933 chemicals to house and deer mice
Arch. Environ. Contam. Toxicol., 14, 111 - 129 (1985)
- Shimkin, M.B., Wieder, R., McDonough, M., Fishbein, L., Swern, D.
Lung tumor response in strain A mice as a quantitative bioassay of carcinogenic activity of some carbamates and aziridines
Cancer Res., 29, 2184 - 2190 (1969)
- Skipper, H.E., Bryan, C.E., Riser, W.H., jr., Welty, M., Stelzenmuller, A.
Carbamates in the chemotherapy of leukemia. II. The relationship between chemical structure, leukopenic action, and acute toxicity of a group of urethan derivatives
J. Natl. Cancer Inst., 9, 77 - 88 (1948)
- Stock, C.C., Clarke, D.A., Philips, F.S., Barclay, R.K.
Sarcoma 180 screening data
Cancer Res., 20 (3), 1 - 172 (1960)
- VCI (Verband der chemischen Industrie)
VCI-Altstoffliste
Chemische Industrie, Sonderdruck aus Heft 4 (1988)
- Wood, S.G., Upshall, D.G., Bridges, J.W.
The absorption of aliphatic carbamates from the rat colon
J. Pharm. Pharmacol., 30, 638 - 641 (1978)
- Wood, S.G., Upshall, D.G., Bridges, J.W.
Further consideration of the existence of an optimal partition coefficient for intestinal absorption of foreign compounds
J. Pharm. Pharmacol., 31, 192 - 193 (1979)