Stoffmonographie für 3-(4-Methylbenzyliden)-kampfer (4-MBC) – HBM-Werte für die Summe der Metaboliten 3-(4-Carboxybenzyliden)-kampfer (3-4CBC) und 3-(4-Carboxybenzyliden)-6-Hydroxykampfer (3-4CBHC) im Urin von Erwachsenen und Kindern

Stellungnahme der Kommission „Human-Biomonitoring“ des Umweltbundesamtes

1 Einleitung

Die Substanz 3-(4-Methylbenzyliden)-kampfer (4-MBC, CAS-Nr. 36861-47-9 sowie 38102-62-4, EINECS-Nr. 253-242-6) wird als UV-Filter in kosmetischen Produkten verwendet, in erster Linie Sonnenschutzcremes. Sie darf gemäß der Liste zugelassener UV-Filter in Anhang VI der Verordnung (EG) Nr. 1223/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 30. November 2009 über kosmetische Mittel [1] in einer Höchstkonzentration von 4 % in kosmetischen Erzeugnissen enthalten sein. Nach Angaben des SCCP (Scientific Committee on Consumer Products) [2] wird 4-MBC nur in Sonnenschutzmitteln verwendet, nicht aber in Lippenpflegemitteln. 4-MBC gilt als „Low Production Volume Chemical“ (LPVC), d. h. die Substanz wird in der EU mit einer Tonnage von 10 bis 1000 pro Jahr und Hersteller/Importeur hergestellt oder importiert.

Die vorliegende Bewertung basiert in erster Linie auf den Stellungnahmen des

SCCP sowie auf den zur Verfügung gestellten Originalstudien. Im Original ausgewertete Studien wurden im Literaturverzeichnis mit einem * versehen.

2 Physikochemische Eigenschaften

Bei Raumtemperatur liegt 4-MBC als weiße Kristalle vor und besitzt einen schwachen kampferartigen Geruch.

Die wichtigsten physikochemischen Daten für 4-MBC sind in **Tab. 1** zusammengestellt.

3 Allgemeines toxikologisches Profil

3.1 Toxikokinetik

Untersuchungen zum Metabolismus und zur Toxikokinetik von 4-MBC sind an Ratten und Menschen durchgeführt worden. Für Ratten liegen sowohl Befunde nach oraler als auch dermalen Applikation vor, für den Menschen nur nach

dermalen Applikation der Testsubstanz. Außerdem liegen Angaben zur *in-vitro*-Permeation von 4-MBC in der Haut von Schweinen und Mäusen vor.

3.1.1 In-vitro-Befunde

In einer zusammenfassend berichteten Studie nach OECD-Richtlinienentwurf 428 [4] wurde die Permeation von 4-MBC durch Schweinehaut *in vitro* gemessen [2, 5]. Untersucht wurde eine „typische“ Sonnencremeformulierung

Tab. 1 Physikochemische Daten zu 4-MBC [3]

Endpunkt	Wert
Summenformel	C ₁₈ H ₂₂ O
Molmasse	254,37 g/Mol
Beschaffenheit bei Raumtemperatur	Fest, kristallin, weiß, mit schwachem, kampferartigen Geruch
Schmelzpunkt	66–69 °C
Verteilungskoeffizient log K _{ow}	5,14
Wasserlöslichkeit	1,3 mg/l (bei 20 °C)

Tab. 2 Übersicht zu den Metabolismusstudien mit 4-MBC; Metaboliten in Plasma, Urin, Fäzes					
Spezies, Stamm, Anzahl/Dosis	Route, Expositionszeit, Testdauer	Dosis [mg/kg KG], Löse-mittel	AUC pro ml/h	Urinsammeldauer, % der Dosis im Urin	Ref.
Ratte, Sprague-Dawley, 3 M, 3 W	Oral, Schlundsonde, 96 h	Einmalig 0, 25, 250, Maiskeimöl	3-4CBC (= Σ) bei 25 mg/kg KG: M: 0,2 μ mol, W: 0,7 μ mol bei 250 mg/kg KG: M + W: 3,5 μ mol	96 h, 3-4CBHC 25 mg/kg KG: M: 2,3; W: 4,8 250 mg/kg KG M: 8,6; W: 12	[7]
Ratte, Wistar, 3 M, 3 W	Dermal, 24 h, okklusiv, Analysen bis zum Zeitpunkt 96 h	Einmalig 0, 400, 2000, ölige Bestandteile einer Sonnencreme	400 mg/kg KG: 4-MBC M: 12 nmol, W: 11 nmol 3-4CBC M: 494 nmol, W: 984 nmol 3-4CBHC M: 120 nmol, W: 5,9 nmol	–	[8]
Ratte, Wistar, 3 M, 3 W	Dermal, semi-okklusiv, 6 h/Tag, 90 Tage	Pro Tag 0, 100, 400, 2000	400 mg/kg: Σ Tag 1 M: 249 nmol, W: 546 nmol Σ Tag 90 M: 1149 nmol, W: 2573 nmol		[9]
Mensch, 3 M, 3 W	Dermal, 12 h, dann Dusche, Analysen bis zum Zeitpunkt 96 h	Einmalig 22, Sonnencreme	4-MBC M: 3,9 nmol, W: 1,9 nmol 3-4CBHC M: 2,7 nmol, W: 1,6 nmol 3-4CBC M: 5,8 nmol, W: 3,0 nmol	96 h 3-4CBHC M: 0,4; W: 0,3 3-4CBC M: 0,1; W: 0,07	[8]

M: Männchen, W: Weibchen, AUC: Area Under Curve, 3-4CBC: 3-(4-Carboxybenzyliden)-Kampfer, 3-4CBHC: 3-(4-Carboxybenzyliden)-Hydroxykampfer-Isomere (überwiegend 3-(4-Carboxybenzyliden)-6-Hydroxykampfer), Hauptmetabolit jeweils **fettgedruckt**.

mit 4 % 4-MBC. Eingesetzt wurden ungekochte, etwa 3–4 mm dicke Stücke aus der Rückenhaut weiblicher Schweine. Gemessen wurde die Permeation in 8 Experimenten (jeweils an 3 Hautstücken) bei einer Temperatur von 32 °C gegen eine wässrige Rezeptorflüssigkeit aus 0,9 % Natriumchlorid mit 1 % Rinderserumalbumin und 0,02 % Gentamycinsulfat. Im Mittel wurden von 178 μ g/cm² aufgetragener Testsubstanz 91,8 % wiedergefunden, überwiegend abwischbar an der Oberfläche, daneben in der Hornhaut, in sehr viel geringerer Menge in der Epidermis und der Dermis. In der Rezeptorflüssigkeit konnte kein 4-MBC nachgewiesen werden (Nachweisgrenze: ca. 30 ng/ml, Quantifizierungsgrenze: ca. 100 ng/ml). Als mittlere dermale Absorption wurde vom SCCP [2] der Wert von 1,96 μ g/

cm² – die Summe der Menge in Epidermis und Dermis – angenommen.

In einer *In-vitro*-Untersuchung mit Haut von Babymäusen wurde ermittelt, dass innerhalb von 24 h 1,15 % der aufgetragenen Testsubstanz (100 % = 4,4 mg/cm² in Ethanol oder Lotion) in die Rezeptorflüssigkeit übertraten [6].

3.1.2 Untersuchungen an Ratten

In einer toxikokinetischen Studie mit *oral*er Verabreichung erhielten je 3 männliche und weibliche Sprague-Dawley-Ratten per Schlundsonde einmalig Dosen von 25 oder 250 mg 4-MBC/kg KG, gelöst in Maiskeimöl [3, 7]. Untersucht wurden die Metabolisierung von 4-MBC sowie über 96 h die Kinetik von 4-MBC und seinen Metaboliten im Blut sowie deren Ausscheidung mit dem Urin. Bei den Kontrolltieren konnten weder 4-MBC noch

dessen Metaboliten nachgewiesen werden. Als Metaboliten von 4-MBC wurden folgende Stoffe identifiziert: 3-(4-Carboxybenzyliden)-Kampfer (3-4CBC) sowie insgesamt vier isomere 3-(4-Carboxybenzyliden)-Hydroxykampfer, die sich durch die Stellung der Hydroxylgruppe im Kampfergerüst unterschieden. Als Hauptmetaboliten traten 3-4CBC und 3-4-Carboxybenzyliden)-6-Hydroxykampfer (3-4CBHC) auf (■ Abb. 2, ■ Tab. 2).

Bei 4-MBC und 3-4CBC wurde der Spitzenwert im Blutplasma binnen 8–10 h erreicht. Dabei war die Spitzenkonzentration von 3-4CBC wesentlich (Faktor 2000) höher als die von 4-MBC und fiel danach, einer Kinetik 1. Ordnung folgend, mit einer Halbwertszeit von 15 h ab. Die Konzentration an 3-4CBHC im Blutplasma blieb bei beiden verab-

Bekanntmachung des Umweltbundesamtes

Stoffmonographie für 3-(4-Methylbenzyliden)-kampfer (4-MBC) – HBM-Werte für die Summe der Metaboliten 3-(4-Carboxybenzyliden)-kampfer (3-4CBC) und 3-(4-Carboxybenzyliden)-6-Hydroxykampfer (3-4CBHC) im Urin von Erwachsenen und Kindern. Stellungnahme der Kommission „Human-Biomonitoring“ des Umweltbundesamtes

Zusammenfassung

Die Substanz 3-(4-Methylbenzyliden)-kampfer (4-MBC, CAS-Nr. 36861-47-9 sowie 38102-62-4) wird als UV-Filter in kosmetischen Produkten verwendet, in erster Linie Sonnenschutzcremes. Für die Substanz liegen nationale sowie europäische Bewertungen, insbesondere des Scientific Committee on Consumer Products (SCCP) vor. Das SCCP leitete keinen TDI ab, sondern verwendete für eine MoS-Betrachtung einen NOEL von 25 mg/

(kg KG · d), basierend auf Schilddrüsen-Effekten bei Ratten in einer subchronischen Studie mit oraler Verabreichung von 4-MBC. Aufgrund neuerer Studien geht die HBM-Kommission jedoch von niedrigeren NOEL-Werten aus, so dass sich insgesamt eine tolerierbare Tagesdosis von 0,01 mg/kg KG ergibt. Für den Metaboliten 3-(4-Carboxybenzyliden)-kampfer (3-4CBC) wurden von der HBM-Kommission HBM-I-Werte von 0,09 mg/l

Urin für Erwachsene und 0,06 mg/l Urin für Kinder festgelegt. Für den Metaboliten 3-(4-Carboxybenzyliden)-6-Hydroxykampfer (3-4CBHC) betragen die abgeleiteten HBM-I-Werte 0,38 mg/l Urin für Erwachsene und 0,25 mg/l Urin für Kinder. Der HBM-I-Wert für die Summe der Metaboliten 3-4CBC und 3-4CBHC beträgt somit nach Rundung für Erwachsene 0,5 mg/l Urin und für Kinder 0,3 mg/l Urin.

Monograph for 3-(4-methylbenzylidene)camphor (4-MBC) - HBM values for the sum of metabolites 3-(4-carboxybenzylidene)camphor (3-4CBC) and 3-(4-carboxybenzylidene)-6-hydroxycamphor (3-4 CBHC) in the urine of adults and children. Statement of the HBM Commission of the German Federal Environment Agency

Abstract

The substance 3-(4-methylbenzylidene)camphor (4-MBC, CAS-No. 36861-47-9 as well as 38102-62-4) is used as UV-filter in cosmetics, mainly in sunscreen lotions. National as well as European evaluations are available for the substance, especially from the Scientific Committee on Consumer Products (SCCP). The SCCP did not derive a TDI-value, but used for a MoS assessment a NO-

EL of 25 mg/(kg bw · d) based on effects on the thyroid gland of rats in a subchronic study with oral administration. Newer studies, however, indicate lower NOEL values, leading to tolerable daily intakes of 0,01 mg/kg bw. The HBM Commission established for the metabolite 3-(4-carboxybenzylidene)camphor (3-4CBC) HBM-I values of 0,09 mg/l urine for adults and 0,06 mg/l urine for

children. HBM-I values for the metabolite 3-(4-carboxybenzylidene)-6-hydroxycamphor (3-4CBHC) were set at 0,38 mg/l urine for adults and 0,25 mg/l urine for children. The rounded HBM-I value for the sum of metabolites 3-4CBC und 3-4CBHC is accordingly 0,5 mg/l urine for adults and 0,3 mg/l urine for children.

reichten 4-MBC-Dosen unter der Nachweisgrenze. Im Urin dagegen wurde als Hauptmetabolit 3-4CBHC ermittelt, wobei angenommen wird, dass dessen Bildung extrahepatisch erfolgt. Die übrigen 3-(4-Carboxybenzyliden)-Hydroxykampfer-Isomere und 3-4CBC traten nur in geringer Konzentration im Urin auf. Bei den Weibchen war die Ausscheidung von 3-4CBHC im Urin höher als bei den Männchen. Bei der höheren Dosis war bei den Männchen die Konzentration an 3-4CBHC im Urin nach 14 h am höchsten und fiel dann ab; bei Weibchen verlief die Ausscheidung langsamer und zeigte zwischen 14 bis etwa 38 h nach Verabreichen eine Plateauphase. Bei der niedrigeren verabreichten Dosis von 25 mg/kg KG traten die höchsten Konzentrationen im Urin 24 h nach der Verabreichung auf. Insgesamt spielte die Ausscheidung mit

dem Urin für die Elimination von 4-MBC aber nur eine geringe Rolle: Bei Männchen und Weibchen wurden im Mittel nur 2,3 % bzw. 4,8 % der niedrigeren und 8,6 % bzw. 12 % der höheren Dosis als Metaboliten von 4-MBC im Urin wiedergefunden (■ **Tab. 2** und ■ **Tab. 3**). Der größte Teil der zugeführten Dosis wurde vielmehr in den Fäzes in Form von 3-4CBC sowie, in geringerer Menge, 3-4CBHC und 4-MBC wiedergefunden. Von der zugeführten Dosis (250 mg/kg KG) wurden beim Männchen 52 % in den Fäzes wiedergefunden, beim Weibchen lag der Anteil bei 44 %. Der tatsächliche Anteil dürfte noch erheblich höher liegen, da in den Fäzes auch Glucuronidkonjugate nachgewiesen, jedoch nicht vollständig extrahiert und quantifiziert werden konnten. Es wird vermutet, dass die Glucuronide der Metaboliten aufgrund ihrer Molmas-

se von 460–476 Dalton bei der Ratte über die Galle ausgeschieden werden und damit einem enterohepatischen Kreislauf unterliegen. Die in der Studie eingesetzten analytischen Methoden ergaben keine Hinweise auf die Anwesenheit von Sulfat- oder Glycinkonjugaten im Urin oder in den Fäzes.

Die Kinetik nach einmaliger *derma-*ler Exposition wurde an Wistar-Ratten untersucht [3, 8]. Bei je 3 männlichen und weiblichen, 9–13 Wochen alten Tieren wurde 4-MBC in einer Konzentration von 4 oder 20 % in 10 g/kg KG öli-ger Salbengrundlage (entsprechend applizierter Körperdosen von 400 bzw. 2000 mg 4-MBC/kg KG) auf 36 cm² rasierte Rücken- und Halshaut aufgetragen. Die behandelte Fläche wurde 24 h abgedeckt, dann wurde verbliebenes Testmaterial sorgfältig abgewischt. Untersucht wur-

Abb. 1 ▲ Strukturformel von 3-(4-Methylbenzyliden)-kampfer (4-MBC)

den Blutproben, die den Tieren nach 0,5; 1; 3; 6; 24; 48; 72 und 96 h entnommen wurden. Bei unbehandelten Kontrolltieren konnten weder 4-MBC noch dessen Metaboliten nachgewiesen werden. Im Blut der behandelten Tiere wurden dosisabhängig 4-MBC und, in höherer Konzentration als die Ausgangssubstanz selbst, die beiden Metaboliten 3-4CBC und 3-4CBHC nachgewiesen. Die Konzentration von 4-MBC im Blutplasma erreichte bei beiden Wirkstoff-Applikationen nach etwa 6 h ihren Höchstwert, war auch nach 24 h noch praktisch unverändert und fiel im weiteren Verlauf langsam ab. 96 h nach Auftragen war bei der niedrigeren Dosis kein 4-MBC mehr im Blut nachweisbar. Geschlechtsspezifische Unterschiede zeigten sich für 4-MBC weder hinsichtlich der Spitzenkonzentration noch der AUC. Die Spitzenkonzentrationen beider Metaboliten waren weit höher als die von 4-MBC, und beide Metaboliten konnten auch am Ende der Untersuchung (96 h nach Auftragen) noch nachgewiesen werden. Als Hauptmetabolit wurde in beiden Geschlechtern 3-4CBC identifiziert. Für diesen Metaboliten waren die Spitzenkonzentrationen bei beiden Geschlechtern ähnlich, während im Falle des 3-4CBHC etwa 20fach höhere Spitzenwerte bei Männchen im Vergleich zu Weibchen gemessen wurden. Die AUC war bei beiden Konzentrationen im Falle von 3-4CBHC bei Männchen 20fach höher als bei Weibchen, im Falle des 3-4CBC hingegen betrug die AUC bei Männchen nur die Hälfte der AUC, die für Weibchen ermittelt wurde.

Im Rahmen einer subchronischen Toxizitätsstudie mit dermalen Exposition von Ratten (siehe Kapitel 3.5) wurden die Konzentrationen von 4-MBC und der beiden Hauptmetaboliten 3-4CBC und 3-4CBHC im Blutplasma am ersten

und letzten Tag der Exposition gegenüber 100 bzw. 400 mg/(kg KG · d) jeweils 0,5; 1; 2; 4; 8 und 24 h nach Applikation bestimmt [2, 3, 9]. Die Konzentration von 4-MBC im Blutplasma erreichte 8 h nach Applikation bei beiden Geschlechtern ihren Höchstwert. Bei der Applikation von 100 mg/(kg KG · d) war die Konzentration von 4-MBC im Plasma von Ratten, die bereits 90 d behandelt worden waren, in den ersten 2 Stunden höher, nach 8 h aber erheblich niedriger als bei den Untersuchungen am ersten Tag der Applikation. Hingegen waren die Konzentrationen der beiden Metaboliten 3-4CBC und 3-4CBHC im Plasma von Ratten nach 90 d Behandlung bei allen Messpunkten erheblich höher als bei Messungen am ersten Tag. Diese Unterschiede traten auch bei Tieren auf, die mit 400 mg/(kg KG · d) behandelt worden waren, und werden als klarer Hinweis auf eine Induktion des Metabolismus von 4-MBC bei wiederholter Exposition gesehen [2].

3.1.3 Untersuchungen am Menschen

Nach Auftragen von 1 g einer Öl-in-Wasser-Emulsion mit 5 % ^{14}C -markiertem 4-MBC auf 200 cm² Hautfläche am Unterarm von 6 männlichen Probanden und Abwaschen mit Wasser und Seife nach 6 h konnte nur ein geringer Teil der eingesetzten ^{14}C -Aktivität wiedergefunden werden [10, 11]. Die geringe Wiederfindungsrate wurde auf die geringe Wasserlöslichkeit von 4-MBC zurückgeführt. Aus der Radioaktivität, die binnen 3 Tagen im Urin und 4 Tagen in den Fäzes gefunden wurde, wurde auf eine perkutane Absorption von 0,9 % geschlossen. Nach Auswertung des SCCNFP [11] legen die Daten allerdings eine Absorption von 1,9 % nahe. In einem ähnlichen Versuch mit 4 Probanden lag die Wiederfindungsrate nach Abwaschen der Haut mit einem Xylol-Ether-Gemisch bei etwa 90 % [11, 12]. Durch „tape stripping“ konnten mit den ersten beiden Malen 62,5 und 27,6 % der eingesetzten Radioaktivität von der Haut entfernt werden, danach wurden deutlich geringere Mengen gefunden. Aus der ^{14}C -Ausscheidung mit dem Urin und den Fäzes über 3 Tage wurde auf eine Absorptionsquote von 0,53 % (Bereich: 0,29–

0,74 %) geschlossen. Für eine gemeinsame Auswertung beider Tests wurde eine Absorptionsquote von 0,75 % angegeben [11, 13]. Eine neuere Untersuchung mit „tape stripping“ der Haut 30 min nach Auftragen einer Creme mit 1 % 4-MBC erbrachte ähnliche Ergebnisse: 57–65,3 % der aufgetragenen Menge verblieb auf der Hautoberfläche, während 21,2–25,1 % in das Stratum corneum vordrangen, überwiegend in die oberen Lagen der Hornhaut [14].

In einer Untersuchung zur Wirkung von 4-MBC und anderen UV-Filtern auf die Spiegel von Sexualhormonen im Blut (siehe Kapitel 3.5) [15] wurde auch die Konzentration von 4-MBC im Blut und Urin bestimmt (keine Angaben zur Bestimmungsmethode). Im Blutplasma wurde der Maximalwert (20 ng/ml) bei Männern und Frauen nach 3–4 h erreicht. Bei Männern war die Konzentration von 4-MBC im Blutplasma nach 96 h höher als nach 24 h (keine Angaben für Frauen). Im Morgenurin wurden 24 h nach dem ersten Auftragen der Testsubstanzen bei Männern und Frauen 7 bzw. 5 ng 4-MBC/ml ermittelt; die nach 96 h ermittelten Werte waren von diesen nicht signifikant verschieden.

In einer toxikokinetischen Studie an Probanden [3, 8] wurde der zeitliche Verlauf der Konzentration von 4-MBC und Metaboliten im Blutplasma und Urin nach einmaliger dermalen Applikation bestimmt. Bei je 3 gesunden Männern und Frauen (Alter 20–34, Nichtraucher, keine Alkohol- oder Medikamenteneinnahme 2 Tage vor und während der Studie) wurde eine Standardsonnencreme mit 4 % 4-MBC auf 90 % der Körperoberfläche aufgetragen (2 mg 4-MBC/cm², entsprechend 20–25 mg/kg KG). Nach 12 h Exposition duschten die Probanden. Die Konzentration von 4-MBC und Metaboliten im Blutplasma wurde 0,5; 1; 2; 4; 8; 12; 24; 36; 48; 60; 72; 84 und 96 h nach Auftragen der Testsubstanz bestimmt; im Urin nach 0; 8; 16; 24; 32; 40; 48; 56; 64; 72; 80; 88 und 96 h. Zu Beginn der Untersuchung waren weder 4-MBC noch dessen Metaboliten im Blutplasma oder Urin nachweisbar. Im Blutplasma erreichte die Konzentration von 4-MBC nach 6 h ihren Maximalwert und fiel nach 36 h (Männer) bzw. 24 h (Frauen) unter die Nach-

Abb. 2 ▲ Metabolisierung von 4-MBC, Hauptmetaboliten sind *kursiv* hervorgehoben ([8], modifiziert)

weissgrenze. Die Elimination aus dem Blutplasma folgte einer Kinetik 1. Ordnung mit einer Halbwertszeit von 9 h bei Männern; bei Frauen konnte dieser Wert mangels ausreichender Daten nicht exakt berechnet werden, war aber ähnlich. Die Konzentration an 3-4CBHC erreichte nach 24 h ihren höchsten Wert und fiel danach mit einer Halbwertszeit von 31 h (Männer) bzw. 20 h (Frauen) ab. Ähnliche Ergebnisse ergaben sich auch für den Metaboliten 3-4CBC (Peak binnen 12 h, HWZ der Elimination 23–26 h). Spitzenwert und AUC waren für 4-MBC und beide Metaboliten bei Männern fast doppelt so hoch wie bei Frauen. Die Ursachen für die beobachteten Unterschiede in den Spitzenwerten der Konzentrationen im Plasma und der AUC zwischen Männern und Frauen sind nicht klar. Die Autoren weisen aber darauf hin, dass solche geschlechtsspezifischen Unterschiede in den Plasmaspiegeln auch nach dermalen

Applikation anderer lipophiler Substanzen beobachtet wurden und möglicherweise mit einer unterschiedlichen Absorption und Verteilung ins Fettgewebe in Zusammenhang stehen.

Im Urin konnte 4-MBC in keinem Fall nachgewiesen werden. 3-4CBC tritt im Urin im Wesentlichen in unkonjugierter Form auf, während 3-4CBHC in erster Linie als Glucuronsäurekonjugat vorliegt. Für beide Metaboliten werden die höchsten Konzentrationen im Urin 16–24 h nach Applikation erreicht; auch nach 96 h waren beide im Urin noch nachweisbar. Die durchschnittliche Konzentration von 3-4CBHC und dessen AUC waren etwa 4fach höher als die für 3-4CBC. Auch hier waren Spitzenwert und AUC für beide Metaboliten bei Männern deutlich höher als bei Frauen. Insgesamt wurde nur ein geringer Teil der dermal applizierten Dosis an 4-MBC im Urin (in Form der Metaboliten) ausgeschieden: 0,3–0,4 % als

3-4CBHC und 0,07–0,10 % als 3-4CBC. Den Grund für die niedrigen Konzentrationen im Blutplasma und die geringe Elimination mit dem Urin sehen die Autoren [8] in einer niedrigen Absorption von 4-MBC durch die Haut. Eine Elimination über die Galle und damit die Fäzes wird als unwahrscheinlich angesehen, da die Glucuronide beider 4-MBC-Metaboliten Molmassen unter der dafür erforderlichen Schwelle von 500 Dalton aufweisen.

3.2 Akute Toxizität

Die akute Toxizität von 4-MBC ist sehr gering. Bei mehreren Arten von Versuchstieren (Ratte, Maus, Hund) wurden nach oraler, dermalen und intraperitonealer Verabreichung durchweg LD₅₀-Werte von 5000 mg/kg KG ermittelt [2, 3, 11].

In einer Studie zur akuten dermalen Toxizität gemäß OECD-Richtlinie 402 [16] hatten 400 sowie 2000 mg 4-MBC/kg KG · d, aufgetragen auf 36 cm² Rückenfläche als 4 bzw. 20%ige Formulierung in Salbe, weder lokal reizende noch systemisch-toxische Wirkungen [3]. Bestimmt wurde in dieser Untersuchung auch der Gehalt an 4-MBC und seinen beiden Hauptmetaboliten im Blut. Die entsprechenden Daten sind in Kapitel 3.1 zusammengefasst.

3.3 Haut- und Schleimhautreizung

Nach Angaben in der zusammenfassenden Bewertung des SCCNFP [11] und SCCP [2] hat 4-MBC im Tierversuch bei Kaninchen weder haut- noch augenreizende Wirkungen. Auch bei Tests an Probanden zeigte sich nach Auftragen auf die intakte oder oberflächlich verletzte Haut keine hautreizende Wirkung [2, 3].

3.4 Sensibilisierung

Das hautsensibilisierende Potential wurde bei Meerschweinchen getestet. Bei der eingesetzten Konzentration von 3 % (Suspension in Wasser mit 0,5 % Carboxymethylcellulose) bzw. 0,3 % (in Erdnussöl) ergaben sich nach zweiwöchiger Induktion auf rasierter Haut einer Körperflanke und Testung auf der anderen Flanke keine Hinweise auf eine hautsensibilisierende

Tab. 3 Ausscheidung von 4-MBC mit dem Urin und den Fäzes

	Völkel [7]				Schauer [8]		Kukowetz [10]	Kukowetz [12]
Route	Oral				Dermal		Dermal	Dermal
Spezies	Ratte				Mensch		Mensch	Mensch
Expositionsbedingungen	Oral per Schlundsonde in Maiskeimöl				4% in Öl-in-Wasser-Emulsion, 2 mg/cm ² , 90% der Körperoberfläche		5% in Öl-in-Wasser-Emulsion, ¹⁴ C markiert, 1 g/200 cm ² , nicht okklusiv	
Expositionsdauer	–				12 h		6 h	
Expositionsbeendigung	–				Dusche		Abwaschen mit Wasser und Seife	Spatel für überflüssige Creme, 5 × Aceton, 5 × tape stripping nach 6 h und 5 d
Urinsammlung [d]	4				4		3	3
Fäzes-Sammlung [d]	4				–		4	3
Dosis (mg/kg KG/d)	25	250			20–25		≈ 0,7	
	3M	3W	3M	3W	3M	3W	6M	4M
Tape stripping entfernbar (% Dosis)	–							90
Urin (% d. Dosis)	2,3	4,8	8,6	12	0,5	0,37	0,76	0,63
Fäzes (% d. Dosis)	n.b.	n.b.	> 52	> 44	n.b.	n.b.	0,14	0,11
Gesamt (% d. Dosis)	n.b.	n.b.	> 61	> 56	n.b.	n.b.	0,9	0,74
Wiederfindung gesamt (% der Dosis)			61	56			55%	> 90%
Anteil im Urin von Gesamtmenge absorbiert (%)	> 14		< 21				84	85

de Wirkung. Dinitrochlorbenzol als Positivkontrolle zeigte die erwartete sensibilisierende Wirkung [11].

In einer anderen Untersuchung auf photosensibilisierende Wirkung wurde auf die Haut von Meerschweinchen 4-MBC, gelöst in Ethanol, Erdnussöl und Seifenlösung (drei nacheinander erfolgende Behandlungen), aufgetragen und jeweils mit UV-Licht bestrahlt. Dabei zeigten die mit UV-Licht behandelten Tiere unabhängig von einer vorherigen Behandlung mit 4-MBC im Vergleich zu nicht so behandelten Tieren eine nur leichte Hautreaktion. Es ergaben sich somit keine Hinweise auf eine photosensibilisierende Wirkung von 4-MBC [11].

In einer Untersuchung an Probanden (5 Männer, 25 Frauen) wurde 4-MBC als 5%ige Lösung in Öl (15% Isopropylmyristat + 85% flüssiges Paraffin) oder in Wasser-in-Öl- oder Öl-in-Wasser-Emulsion dreimal wöchentlich drei Wochen lang auf die Rückenhaut aufgetragen. Eine Testung 8–10 Tage nach der letzten Exposition an einem zuvor unbehandelten Hautareal erbrachte keine Hinweise auf eine Sensibilisierung [11].

In einem Test an Probanden auf Photosensibilisierung, der entsprechend der

oben genannten Untersuchung an Meerschweinchen ausgeführt wurde, fanden sich nach Applikation von 4-MBC in Ethanol, flüssigem Paraffin und Seifenlösung keine Anzeichen einer photosensibilisierenden Wirkung. Auch eine weitere Testung an Probanden mit 4-MBC, aufgetragen in einer Lotion (keine näheren Angaben), erbrachte keinen Hinweis auf eine derartige Wirkung [11].

Zusammengefasst ergeben die vorliegenden Daten keine Hinweise auf ein hautsensibilisierendes Potential von 4-MBC.

3.5 Toxizität bei wiederholter Verabreichung

Es liegen Ergebnisse zu tierexperimentellen Untersuchungen mit subakuter Exposition von Ratten und Hunden sowie mit subchronischer Exposition von Ratten vor. Außerdem gibt es einige human-toxikologische Daten aus Studien an Probanden.

3.5.1 Untersuchungen an Ratten

Studien mit oraler Verabreichung

In einer Studie mit subakuter oraler Exposition über vier Wochen erhiel-

ten Ratten (Stamm: Wi-AF/Han, je 10 Tiere/Geschlecht und Dosis) 1000 mg 4-MBC/(kg KG · d) (Handelsname: Eusolex 6300) in Erdnussöl per Schlundsonde verabreicht [11, 17]. Eine weitere Gruppe erhielt als positive Kontrolle 20 mg/(kg KG · d) Propylthiouracil, von den zwei unbehandelten Kontrollgruppen erhielt eine Gruppe eine reduzierte Futtermenge, die der Futteraufnahme der mit 4-MBC behandelten Tiere entsprach. Unmittelbar nach der Verabreichung zeigten die mit 4-MBC behandelten Tiere Ruhelosigkeit, vermehrten Speichelfluss und Fellputzen. Die mit 4-MBC behandelten Tiere nahmen im Vergleich zur Kontrolle weniger Futter zu sich, tranken mehr und nahmen weniger stark an Gewicht zu. Im Serum fanden sich in beiden Geschlechtern signifikant erhöhte Spiegel an Triiodthyronin (T3) und verminderte Spiegel an Thyroxin (T4). Die Schilddrüse war vergrößert, ihr Gewicht erhöht, und sie zeigte im mikroskopischen Bild eine leichte bis merkliche Stimulierung des Drüsengewebes. Bei den anderen Organen traten sowohl erhöhte (Nebenniere, Leber, nur Weibchen: Niere) wie verminderte Organgewichte (Prostata, Thymus) bzw. -größen auf.

Tab. 4 Wirkungen von 4-MBC nach wiederholter Verabreichung an Ratten

Spezies, Stamm, Geschlecht ^a , Anzahl ^b	Dauer	Applizierte Dosis [mg/(kg KG · d)]	NOAEL [mg/(kg KG · d)]	Effekte bei Dosis (mg/(kg KG · d))/Anmerkungen	Zitat
Ratte, Wi-AF/Han, M/W, 10/10	28 d (4 Wochen)	0; 1000; Schlundsonde	–	1000: Ruhelosigkeit; Speichelfluss ↑; Gewichtszunahme ↓; Serum: T4 ↓, T3 ↑; Organgewicht: Schilddrüse ↑, Nebenniere ↑, Leber ↑, Niere (nur W) ↑, Prostata ↓, Thymus ↓	[11, 17]
Ratte, Wi-AF/Han, M/W, 10/10	17 d	0; 30; 300; Schlundsonde	–	≥ 30: Ruhelosigkeit; Speichelfluss ↑; W: Schilddrüse Gewicht ↑ u. Hypertrophie; M: Gewicht Prostata ↓ 300, zusätzlich zu oben: Serum TSH ↑; W: Gewicht Thymus ↓; M: Schilddrüse Gewicht ↑; Gewicht Nebenniere ↓	[11, 18]
Ratte, Wi-AF/Han, M/W, 20/20	90 d (13 Wochen)	0; 25; 50; 125; 312; oral; Futter	–	≥ 25: M: T4 ↑ (10 %); W: T4 ↑ (22 %); ALAT, Lebergewicht ↑; PCV, Hb, RBC ↓ ≥ 50: M: PCV, Retikulozyten, T3, TSH ↑; Schilddrüse: Hyperplasie/Hypertrophie; W: T3, T4, TSH, Cholesterin ↑; Lebergewicht ↑; Schilddrüse: Hyperplasie/Hypertrophie; PCV, Hb, RBC ↓ ≥ 125: M: Gewicht der Schilddrüse ↑; Hb, RBC, TG ↓; W: ALAT ↑; Gewichtszunahme und Albumin ↓ ≥ 312: M: Wasseraufnahme, Kreatinin, Protein, Harnstoff, T4, Milzgewicht ↑; Gewicht von Prostata und Nebenniere ↓; W: Futteraufnahme, Gewicht der Hypophyse ↓	[11, 19]
Ratte, Wistar, M/W, 3/3	13 Wochen	0; 100; 400; 2000; dermal Täglich 6 h, Semi-okklusiv	100	400: W: partielle Thromboplastinzeit, Blutglukose, Bilirubin ↓; ALAT-Aktivität, Cl ⁻ , T3 ↑; M: Kreatinin, K ⁺ , T4, TSH ↑; Cholesterin ↓ 2000: schwere Hautschäden (Abbruch dieses Teils der Studie nach 15 d)	[3, 9]

^(a) M: Männchen; W: Weibchen.^(b) Anzahl Männchen/Weibchen je Dosisgruppe; ALAT: Alanin-Aminotransferase (= GPT: Glutamat-Pyruvat-Transaminase).

In einer weiteren subakuten Studie erhielten Ratten (Stamm: Wi-AF/Han, je 10 Tiere/Geschlecht und Dosis) über einen Zeitraum von 17 Tagen 4-MBC in Erdnussöl per Schlundsonde in Dosen von 0, 30 oder 300 mg/(kg KG · d) [11, 18]. Auch in dieser Untersuchung traten bei den mit 4-MBC behandelten Tieren nach der Verabreichung Ruhelosigkeit, vermehrter Speichelfluss und Fellputzen auf. Bei der niedrigeren Dosis war das relative Gewicht der Prostata erniedrigt und nur bei den Weibchen das der Schilddrüse erhöht. Histologisch zeigte sich in der Schilddrüse eine Hypertrophie des Follikel-epithels, deren Inzidenz dosisabhängig zunahm. Bei der höheren Dosis führte 4-MBC außerdem zu erhöhten TSH-Werten im Serum, und zu einer makroskopisch erkennbaren Vergrößerung der Schilddrüse und zu einer Entfärbung der Nierenrinde sowie zu einem verminderten relativen Thymus- (nur Weibchen) Nebennierengewicht (nur Männchen).

Hämatologische und klinisch-chemische Parameter wurden nicht untersucht.

In einer subchronischen Untersuchung an Ratten (Stamm: Wi-AF/Han) erhielten je 20 Männchen und Weibchen über einen Zeitraum von 13 Wochen mit dem Futter 4-MBC (Handelsname: Eusolex 6300) in Dosen von 0, 50, 125 oder 312 mg/(kg KG · d) [11, 19]. Je 10 Tiere pro Dosis und Geschlecht wurden sofort, die anderen erst einen Monat nach Ende der Exposition untersucht. In einer nachgeschalteten Untersuchung mit identischem Versuchsprotokoll erhielten die Tiere 0 oder 25 mg 4-MBC/(kg KG · d). Im ersten Teil der Studie wurden bei allen Dosen dosisabhängig eine Zunahme des relativen Schilddrüsen Gewichts, Veränderungen der Schilddrüsenfunktion (erhöhte Konzentration im Serum an T3 und TSH sowie, ohne klare Dosisabhängigkeit, auch von T4) sowie Hypertrophie und -plasie des Schilddrüsenepithels beobachtet (■ Tab. 4). Ab 50 mg/(kg KG · d) traten hämatologische und klinisch-chemische Veränderungen auf (erhöht: Cholesterin bei Weibchen sowie Packed Cell volume (PCV) und Retikulozytenzahl bei Männchen, vermindert: Konzentration an Hämoglobin und roten Blutkörperchen bei Weibchen), außerdem trat erhöhtes relatives Lebergewicht (W) auf. In der höchsten Dosis war dann auch das relative oder absolute Gewicht anderer Organe verändert (erhöht: Thymus und Milz (M), erniedrigt: Prostata, Nebenniere (M), Hypophyse (W)), wobei sich die letztgenannten Veränderungen bis auf das erhöhte Thymusgewicht am Ende der expositionsfreien Nachbeobachtungsperiode als reversibel erwiesen. Dabei waren Veränderungen der Schilddrüse sowie das erhöhte PCV und der verminderte Albumingehalt im Serum zumindest in einem Geschlecht auch noch einen Monat nach Ende der Exposition nachweisbar. Im zweiten Teil der Studie waren der T4-Spiegel im Serum bei beiden Geschlechtern leicht erhöht, außerdem nur bei den Weibchen PCV, Hämoglobin und

Tab. 5 Toxikologische Untersuchungen mit Probanden

4-MBC Dosis, Formulierung, Expositionsdauer, Anzahl Probanden	Untersuchte Parameter	Effekte	Kommentar	Zitat
9 mg/kg KG gesamt, 5% in Sonnenschutzlotion (Eusolex 6300), Öl-in-Wasser bzw. Wasser-in-Öl, 2× aufgetragen mit 3 h Abstand, nach 6 h 5 Min. Dusche mit Duschgel, 2M, 2W	T3, T4 gesamt, T3-Aufnahme, TSH	T3 meist ↑ nach der 2. Applikation, T4 wenig Veränderung, leicht ↑/starke Schwankung von TSH bei W	Autoren werten Befunde als möglicherweise behandlungsbedingt, keine Kontrollen mit Sonnenschutzmittel ohne 4-MBC	[22]
9 mg/kg KG gesamt, 5% in Sonnenschutzlotion (Eusolex 6300), 2× aufgetragen mit 3 h Abstand, nach 6 h 5 Min. Dusche mit Duschgel, Gleiche Versuchspersonen auch mit Lotion ohne 4-MBC behandelt, 5 M, 4 W	TSH basal und nach Stimulation, T3, T4-Aufnahme, freies T4, Prolactin, LH	Kurzzeitige starke Variation der Hormonspiegel nach Applikation, auch bei den Kontrollen, insgesamt starke Schwankungen von Messung zu Messung	Autoren werten Befunde als nicht relevant	[23]
6% 4-MBC (Eusolex®), 2× 5 g/Tag entsprechend 9 mg/kg KG, aufgetragen mit 2 h Abstand, insg. 6h Exposition, dann 5 Min. Dusche mit Duschgel, Exposition an 14 aufeinander folgenden Tagen, je 12 M und W behandelt und Kontrolle	TSH, freies T3, T4, Thyroxinbindendes Globulin im Serum morgens vor der Behandlung, Schilddrüsengröße mit Ultraschall, Hämatologische, klinisch-chemische und Urinparameter	Schilddrüsenvolumen statistisch signifikant ↓, Hautausschläge bei 2 mit 4-MBC behandelten Personen, bei 1 Person deswegen Studienabbruch, 1 Person mit Durchfall (vgl. Teratogenitätsstudie mit Kaninchen [26])	Schilddrüsenvolumen nicht als klinisch relevant angesehen wegen Messungenauigkeit. Da nur morgens vor der Behandlung Blut abgenommen wurde, war die Variabilität während des Tages, die in den beiden anderen Studien gesehen wurde, nicht nachweisbar	[24]

T3: 3,3',5'-Triiod-L-Thyronin; T4: 3,3',5',5'-Tetraiod-L-Thyronin (Thyroxin); TSH: Thyreoidea stimulierendes Hormon (Thyreotropin); LH: luteinisierendes Hormon.

Zahl der roten Blutkörperchen erniedrigt, die ALAT und das Lebergewicht erhöht. Histologische Veränderungen der Schilddrüse wurden nicht festgestellt. Sämtliche Veränderungen bei der niedrigsten Dosis wurden von den Autoren der Studie als biologisch nicht bedeutsam angesehen und daher ein NOAEL von 25 mg/(kg KG · d) vorgeschlagen.

Studien mit dermalen Verabreichung

In einer gemäß OECD-Richtlinie 411 [20] durchgeführten subchronischen Studie wurden Wistar-Ratten für einen Zeitraum von 13 Wochen mit Sonnencremeformulierungen behandelt, die 0, 1, 4 oder 20% 4-MBC enthielten [3, 9]. Die Grundlage der Cremes bestand aus mehreren lipophilen Komponenten. Jeweils 10 g/(kg KG · d) dieser Zubereitungen wurden einmal täglich bei je 3 Männchen und Weibchen pro Dosis auf eine rasierte Hautfläche von 25 cm² aufgetragen, wo sie unter semi-okklusiven Bedingungen 6 h verblieben, bevor die Reste abgewischt wurden. Die aufgetragenen Mengen entsprachen 4-MBC-Dosen von 0, 100, 400 bzw. 2000 mg/(kg KG · d).

Die Behandlung mit der höchsten Dosis musste nach 15 Tagen wegen schwerer lokaler Schädigungen der Haut mit Bil-

dung von Ödemen, Wunden und Nekrosen abgebrochen werden. Leichtere Hautveränderungen wurden auch in der nur mit Cremegrundlage behandelten Kontrolle und dosisabhängig zunehmend in den Gruppen gefunden, die mit 4-MBC behandelt wurden. In der Gruppe mit der niedrigsten Dosis war die Zahl der basophilen Granulozyten im Blut vermindert, wobei dieser Befund nicht als substanzbedingt betrachtet wurde. Bei der mittleren Dosis waren bei Weibchen die partielle Thromboplastinzeit sowie Blutglukose- und Bilirubingehalt im Blut erniedrigt, ALAT-Aktivität und Chloridkonzentration erhöht. Bei den Männchen waren Kreatinin- und Kaliumgehalt im Blut erhöht und der Cholesterinspiegel erniedrigt. Alle diese Veränderungen wurden als nicht substanzbedingt oder zu geringfügig angesehen, um toxikologisch relevant zu sein. T4- und TSH-Spiegel waren bei den Männchen, T3 bei den Weibchen leicht erhöht, auch diese Veränderungen wurden von den Studienautoren als nicht substanzbedingt bewertet. Nach Auffassung des SCCP [3] sollte für Risikobetrachtungen jedoch der NOEL von 100 mg/(kg KG · d) herangezogen werden, da die geringfügigen Veränderun-

gen der Schilddrüsenhormonwerte, die bei der nächst höheren Dosis auftraten, mit dem wesentlichen Wirkprofil von 4-MBC in Zusammenhang stehen.

Zusammenfassend ergibt sich aus diesen Untersuchungen als kritischer Effekt die Wirkung von 4-MBC auf die Schilddrüse, die in allen vorliegenden Untersuchungen auftrat. Beobachtet wurden neben einer Hyperplasie und Hypertrophie dieses Organs Veränderungen der Konzentration von Schilddrüsenhormonen bzw. von TSH im Blut. Veränderungen des Thyroxinspiegels wurden in einer Studie mit subchronischer oraler Verabreichung bereits bei der niedrigsten untersuchten Dosis von 25 mg/(kg KG · d) beschrieben, diese wurden aber wegen des geringen Ausmaßes von den Autoren der Studie und auch vom SCCP [2] noch nicht als advers bewertet.

3.5.2 Untersuchungen an Hunden

Studien mit oraler Verabreichung

Über einen Zeitraum von 14 Tagen erhielten Beagle (je ein etwa 9 Monate altes Männchen und Weibchen) 4-MBC zwei Stunden vor der Fütterung mit der Schlundsonde (keine näheren Angaben) [11, 21]. Am ersten Tag erhielten die Tiere

eine Dosis von 20 mg/(kg KG · d), in den nächsten drei Tagen wurde die Dosis über 100 und 500 auf 2500 mg/(kg KG · d) gesteigert; vom 5.–14. Tag wurden den Tieren dann jeweils 500 mg/(kg KG · d) verabreicht. Körpergewicht, Futteraufnahme, EKG und Blutdruck wurden als unbeeinflusst beschrieben. Hämatologisch zeigte sich bei dem Rüden beim Vergleich der Werte eine Woche vor Studienbeginn mit denen in der 2. Woche der Untersuchung ein Trend zur Verminderung der Zahl von Erythrozyten, der Hämoglobinemenge und des Erythrozytenvolumens. Die am fünften Tag vor Behandlungsbeginn sowie am Tag 1–4 und Tag 11 jeweils vor und zwei Stunden nach der Verabreichung von 4-MBC bestimmten Serumspiegel an T3, T4 und TSH zeigten nach Angaben der Autoren keine behandlungsbedingten Effekte. Referenzbereiche oder Angaben zu circadianen Schwankungen wurden nicht vorgelegt. Die vorliegenden Werte zeigen allerdings, dass die Spiegel an T3 und T4 nach Verabreichung stets höher sind als davor und über den Versuchszeitraum allmählich ansteigen. TSH erreichte nur am Ende der Versuchsperiode nachweisbare Serumspiegel. Histopathologisch zeigte sich bei dem männlichen Tier eine minimale Aktivierung des Follikel epithels der Schilddrüse. Angesichts der Variabilität, die dieser Parameter bei Hunden dieses Stamms aufweist, sehen die Autoren die toxikologische Relevanz dieses Befunds als fraglich an [21].

Das SCCNFP [11] berichtet weitere Befunde nach subakuter Exposition von je zwei männlichen und weiblichen Beagle. Die auf demselben Wege wie in der oben genannten Studie verabreichten Dosen an 4-MBC betrugen 0 mg/(kg KG · d) am Tag 1, 20 mg/(kg KG · d) am Tag 4, 100 mg/(kg KG · d) am Tag 8 und 500 mg/(kg KG · d) an den Tagen 11–21. Körpergewicht, Futterkonsum, EKG und Blutdruck waren wie in der vorherigen Untersuchung unbeeinflusst, hämatologisch und klinisch-chemisch zeigten sich im Vergleich zu den Werten vor der Studie keine sehr auffälligen Veränderungen („no very obvious changes“). Behandlungsbedingte pathologische Veränderungen wurden nicht beobachtet. Die Daten zu T3, T4 und TSH (bestimmt am

5. Tag vor sowie dem 1.–4. und 11. Tag nach Behandlungsbeginn, jeweils vor und 2, 4, 6 und 24 h nach Verabreichung) sind nach Angaben des SCCNFP [11] unvollständig zusammengefasst. Aus Abbildungen geht hervor, dass die Spiegel von T3 und T4 im Serum nach der Exposition durchweg höher als zuvor und 24 Stunden später waren. Die circadiane Variation scheint aber nach Behandlung mit bis zu 500 mg/(kg KG · d) mit der ohne 4-MBC-Verabreichung vergleichbar gewesen zu sein.

3.5.3 Untersuchungen am Menschen

In einer Pilotstudie wurden bei je zwei Männern und Frauen Veränderungen der TSH, T3- und T4-Spiegel nach dermalen Applikation von 4-MBC untersucht [11, 22]. Verwendet wurde 5 % 4-MBC in Wasser-in-Öl-Emulsion sowie in Öl-in-Wasser-Emulsion. Jeweils 3 g der betreffenden Emulsion wurden für jeweils 3 h bei jeweils einem Mann und einer Frau ohne Bedeckung auf 500 cm² Bauchhaut und ebenso auf die Rückenhaut aufgetragen, danach wurde die Behandlung wiederholt, und nach weiteren 3 h wurden Reste der Applikation durch Duschen entfernt. Die Konzentrationen der genannten Hormone im Blut wurden 0, 3, 4, 6, 12, 24 und 48 h nach Beginn der Studie ermittelt. Der TSH-Spiegel lag bei den Männern durchweg unter der Nachweisgrenze, der T4-Spiegel zeigte keine nennenswerten Veränderungen. Bei einer Frau (behandelt mit der Öl-in-Wasser-Emulsion) fiel der TSH-Spiegel anfänglich ab, stieg nach 24 h auf 156 % des Anfangswertes und sank dann wieder etwas ab. Der T3-Spiegel war nach 12 h erhöht (127 %) und sank dann wieder ab, der T4-Spiegel wurde praktisch nicht beeinflusst. Bei der anderen Frau stieg der TSH-Spiegel schon nach 3 h und stärker an (270 %). Das Maximum war nach 12 h mit 369 % erreicht, darauf folgte ein langsamer Abfall. Beim T3 zeigte sich kaum eine Änderung, aber der T4-Spiegel stieg nach 24 h an (220 %) und fiel dann leicht unter das Ausgangsniveau ab (81 % nach 48 h).

In einer weiteren Studie wurde die Reaktion von Probanden auf TRH (Thy-

reotropin Releasing Hormon) getestet [11, 23]. 5 Männer und 4 Frauen erhielten binnen der dreiwöchigen Untersuchungsdauer in zufälliger zeitlicher Abfolge in einer Woche Salbe mit 5 % 4-MBC, in den anderen beiden Salbe ohne 4-MBC. Aufgetragen wurden an einem Tag der Woche jeweils 2 × 6 g, verteilt auf 2 Anwendungen, auf eine Hautfläche von 1200 cm² ohne Abdeckung. 24 h nach Auftragen wurde TRH gegeben. Die Reaktion auf TRH entsprach der Erwartung (Anstieg des TSH-Spiegels im Blut nach 4 h, Abfall unter den Ausgangswert nach 48 h). Die Spiegel an T3 und T4 waren 48 h nach der Behandlung mit 4-MBC signifikant, aber nur leicht erniedrigt.

In einer Doppelblindstudie erhielten gesunde Probanden (12 Männer und 12 Frauen) zweimal am Tag 14 Tage lang eine Wasser-in-Öl-Emulsion mit 6 % 4-MBC [11, 24]. Aufgetragen wurden jeweils 2,5 g Salbe auf die Bauch- und die Rückenhaut ohne anschließende Abdeckung. Die gesamte exponierte Hautfläche betrug 1200 cm², die verabreichte Dosis an 4-MBC betrug 600 mg/(Person · d). 4 h nach Auftragen der Nachmittagsdosis entsprechend 6 h Gesamtexpositionsdauer wurde die Emulsion durch Duschen entfernt. Eine Kontrollgruppe erhielt Emulsion ohne Wirkstoff. Zwei Probanden der Verumgruppe beendeten die Untersuchung vorzeitig (einer wegen Diarrhoe, einer wegen Hautausschlag). Untersucht wurden vor sowie am Tag 4, 7, 12, 14, 16 und 21 der Studie die mit der Schilddrüsenfunktion zusammenhängenden Parameter TSH, T4, T3 und T4-bindendes Globulin, außerdem per Ultraschall das Volumen der Schilddrüse vor und nach dem Behandlungszeitraum. Daneben wurden hämatologische, klinisch-chemische und Urinstandardparameter erfasst. Keiner der Parameter für die Schilddrüsenfunktion zeigte eine signifikante Veränderung. Das Volumen der Schilddrüse war in der Verumgruppe minimal vermindert (–1,7 %), in der Kontrollgruppe minimal erhöht (3,1 %), beide Werte liegen im Bereich der Messunsicherheit der Methode (10–20 %).

In zwei weiteren Untersuchungen wurden Veränderungen der Spiegel verschiedener Sexual- bzw. Schilddrüsen-

hormone im Blut untersucht [15, 25]. Dazu trugen 32 Probanden (15 Männer, Alter 23–29; 17 postmenopausale Frauen, Alter 54–86) zunächst 4 Tage lang nur Testsubstanzfreie Cremegrundlage auf. In der zweiten Woche trugen sie dann 4 Tage lang eine Creme mit je 10 % 4-MBC, Benzophenon-3 und Ethylhexyl-Methoxyzimtsäureester auf. Aufgetragen wurden 2 mg Creme/cm² auf die gesamte Körperoberfläche (ca. 40 g/2 m²). In der Untersuchung zu Sexualhormonen wurden im Fall von follikelstimulierendem Hormon (FSH) und luteinisierendem Hormon (LH) keine Veränderungen festgestellt. Im Fall von Testosteron und (nur bei Männern) von Östradiol und Inhibin B zeigten sich minimale Unterschiede zwischen den beiden Testwochen, die jedoch nicht auf die Exposition zurückgeführt wurden [15]. In der zweiten Untersuchung zeigten sich zwischen den beiden Wochen signifikante, aber minimale Veränderungen der Spiegel an freiem T4, freiem und Gesamt-T3 sowie Gesamt-T4 (nur bei Frauen) und Thyroxin bindendem Globulin (nur bei Männern). Für TSH zeigten sich keine Veränderungen. Die genannten Unterschiede wurden nicht auf die Exposition gegenüber den Sonnencremes zurückgeführt und zumindest einige von ihnen als Zufallsbefunde gewertet [25].

Zusammenfassend (■ Tab. 5) lassen die wenigen Untersuchungen am Menschen, in denen durchweg eine dermale Exposition gegenüber 4-MBC, z. T. im Gemisch mit anderen Sonnenschutzmitteln, erfolgte, keine eindeutig substanzbedingten Wirkungen auf die Schilddrüse bzw. Schilddrüsen- und andere Hormone erkennen. Andere Endpunkte wurden in diesen Studien nicht untersucht.

3.6 Gentoxizität

Zur genotoxischen Wirkung von 4-MBC liegen nur wenige und ausschließlich *in-vitro*-Daten vor.

3.6.1 In vitro

Im Ames-Test mit *Salmonella typhimurium* war 4-MBC ohne und mit exogenem metabolisierendem System nicht mutagen [11, 27]. In einer anderen Untersu-

chung hatte 4-MBC bei gleichzeitiger Einwirkung von UV-A-/UV-B-Licht auf die *Salmonella-typhimurium*-Stämme TA 102 und TA 1537 sowie auf *Escherichia coli* WP2 keine photomutagene Wirkung [11, 28].

In einem nach OECD-Richtlinie [29] durchgeführten Test auf Chromosomenaberrationen wurden V79-Zellen vom Chinesischen Hamster in An- und Abwesenheit von exogenem metabolisierendem System (S 9-Mix) 7, 18 oder 28 Stunden mit 4-MBC behandelt. Bei der höchsten, bereits zytotoxischen Konzentration (36 µg/ml) fand sich in Anwesenheit von S9-Mix nach 7 und nach 28 Stunden ein Anstieg des Prozentsatzes an Aberrationen. Bei nicht-zytotoxischen Konzentrationen fanden sich keine konsistenten Hinweise auf klastogene Effekte. Das Testergebnis wurde insgesamt als „negativ“ (nicht gentoxisch) bewertet [11, 30]. In einer anderen Untersuchung an Ovarzellen des Chinesischen Hamsters (CHO-K5) zeigte 4-MBC bei gleichzeitiger Einwirkung von UV-A-/UV-B-Licht keine photoklastogene Wirkung [11, 31].

3.6.2 In vivo

Zu gentoxischen Wirkungen von 4-MBC *in vivo* liegen keine Angaben vor.

3.7 Kanzerogenität

Zu kanzerogenen Wirkungen von 4-MBC liegen keine Angaben vor.

3.8 Wirkung auf die Reproduktion und die Entwicklung

3.8.1 Reproduktionstoxizität

In einer 1-Generationenstudie an Ratten (Wistar, Stamm: Wi-AF/Han) erhielten die weiblichen F0-Tiere 28 Tage vor der Verpaarung, während der Verpaarungszeit sowie der Gestations- und Laktationsperiode mit der Schlundsonde einmal täglich 4-MBC in Hydroxypropylmethylcellulose (0,25 %) in Dosen von 0; 12, 5; 25 oder 50 mg/(kg KG · d). Die zur Verpaarung eingesetzten Männchen wurden nicht mit 4-MBC behandelt. Etwa die Hälfte der F1-Tiere wurde bis zum 55. Tag nach der Geburt aufgezogen, die anderen F1-Tiere mit der Entwöhnung

getötet und makroskopisch untersucht [11, 32]. Bei den F0-Weibchen waren Gewichtsentwicklung und Futteraufnahme unter 4-MBC-Exposition unverändert, die Wasseraufnahme bei allen 4-MBC-Dosen zumindest während der Phase vor der Verpaarung erhöht. Außerdem war bei den F0-Weibchen das Gewicht der Organe (auch der Schilddrüse) nicht beeinflusst. Der am 21. Tag vor der Verpaarung (d. h. nach bereits 7 Tagen Behandlung mit 4-MBC) und bei der Entwöhnung erhobene Hormonstatus der F0-Tiere (T3, T4, TSH, FSH, LH, Östradiol, Testosteron) war durch 4-MBC nicht signifikant beeinflusst. In der Gruppe mit der höchsten 4-MBC-Dosis waren der T3- und der Prolaktin-Spiegel im Serum am 21. Tag vor der Verpaarung und der TSH-Spiegel zum Zeitpunkt der Entwöhnung leicht erhöht, bei der mittleren Dosis galt dies nur für das Prolaktin. Alle Veränderungen lagen noch im Bereich der Kontrollen und wurden als interindividuelle Variabilität betrachtet. Hinweise auf eine Beeinträchtigung der Reproduktion der F0-Weibchen ergaben sich nicht (gemessen an Östruszyklus, Fertilitätsindex, Paarungserfolg, Gestationsdauer, Postimplantationsverlusten, Wurfgröße, postnataler Mortalität). Auch bei den F1-Nachkommen fanden sich keine Hinweise auf Entwicklungsstörungen (Geburtsgewicht, Nekropsie, Histologie der Geschlechtsorgane bei Entwöhnung, Entwicklungsindikatoren, Geschlechterverhältnis der Würfe, Verhaltenstest). Bei den männlichen Nachkommen aus der Gruppe mit der höchsten 4-MBC-Dosis waren die am 55. Tag nach der Geburt bestimmten T3- und TSH-Spiegel erniedrigt; dies wurde mit der interindividuellen Variabilität dieser Hormonspiegel in Zusammenhang gebracht. Dosisabhängig und ab der mittleren Dosis signifikant vermindert war der FSH-Spiegel im Serum bei den männlichen Nachkommen. LH-, Östradiol- und Testosteronspiegel ließen keine Veränderungen erkennen. Wegen des unveränderten LH-Spiegels, fehlender histopathologischer Veränderungen der Sexualorgane und fehlender entwicklungstoxischer Wirkungen wurden die erniedrigten FSH-Spiegel von den Autoren der Studie eher mit einer gewis-

sen Variabilität des Zeitpunkts in Verbindung gebracht, zu dem die Pubertät einsetzt, als mit einem östrogenen Effekt von 4-MBC. Werden die Effekte als substanzbedingt und advers angesehen, so ergibt sich aus dieser Studie ein NOAEL von 12,5 mg/(kg KG · d) und ein LOAEL von 25 mg/(kg KG · d).

In einer Untersuchung auf uterotrophe Aktivität verschiedener UV-Filtersubstanzen wurden weibliche Long-Evans-Ratten ab dem 21. Tag nach der Geburt 4 Tage lang mit dem Futter 4-MBC-exponiert [33]. Ein dosisabhängig erhöhtes Uterusgewicht war ab einer Dosis von 119 mg/(kg KG · d) nachweisbar, nicht aber bei 66 mg/(kg KG · d). Von derselben Arbeitsgruppe wurden 3 Wochen alte weibliche Nacktratten (Nu ICO: OFA hr/hr) 6 Tage lang zweimal/Tag für jeweils 15 sec bis zu den Schultern in 30°C warmes Olivenöl mit 4-MBC (0; 2,5; 5; 7,5 %) getaucht und anschließend binnen 30 min zweimal mit der Lösung vorsichtig abgebürstet. Bei den Tieren trat eine dosisabhängige, ab 5 % 4-MBC signifikante Erhöhung des Uterusgewichts auf. Die Befunde wurden von den Autoren als Hinweis auf eine östrogene Wirkung von 4-MBC gewertet, wurden aber vom SCCNFP wegen verschiedener methodischer Mängel, insbesondere der Art der dermalen Exposition, als ungeeignet für eine Risikobewertung angesehen [3].

Durrer et al. [34] untersuchten an Long-Evans-Ratten Wirkungen von 4-MBC auf die Geschlechtsorgane und das Einsetzen der Pubertät. Die mit dem Futter verabreichten 4-MBC-Mengen (0; 0,01; 0,1; 0,33; 0,66 g/kg Futter) entsprachen durchschnittlichen zugeführten Körperdosen von 0; 0,7; 7; 24 bzw. 47 mg/(kg KG · d). Männliche und weibliche Tiere wurden ab 10 Wochen vor der Verpaarung exponiert, die Weibchen anschließend weiter während Trächtigkeit und Laktation und die Nachkommen bis zum Erwachsenwerden. Wurfgröße und Geschlechterverhältnis wurden am 2. Tag post partum adjustiert. 4-MBC führte dosisabhängig ab 7 mg/(kg KG · d) (niedrigste Konzentration nicht untersucht) bei den männlichen Nachkommen zu einer um 0,5–3 d verzögerten präputialen Separation, was als verzögertes Einsetzen der Pubertät gewertet wird. Das

Einsetzen der Pubertät bei den Weibchen wurde nicht beeinflusst, die Tiere wiesen zum Eintritt der Pubertät jedoch ein signifikant, aber nur wenig (ca. 5 %) vermindertes Körpergewicht auf. Ab 7 mg/(kg KG · d), nicht aber bei 0,7 mg/(kg KG · d) war bei 12 Wochen alten männlichen Nachkommen das Gewicht der ventralen Prostata leicht vermindert und das absolute Hodengewicht leicht erhöht; Nebenhoden- und Samenblasengewicht waren unverändert (bis auf das relative Nebenhodengewicht bei Exposition mit 47 mg 4-MBC/(kg KG · d). Hinweise auf eine veränderte Genexpression in der Prostata fanden sich bereits bei der niedrigsten Testkonzentration. Die Autoren leiten aus ihren Befunden einen LOAEL von 7 mg/(kg KG · d) für „klassische“ und von 0,7 mg/(kg KG · d) für „molekulare“ Endpunkte ab [34, 35]. In einer weiteren Untersuchung derselben Arbeitsgruppe [36] und mit demselben Expositionsprotokoll war bei männlichen F1-Tieren, die am Tag 1 nach der Geburt untersucht wurden, das Volumen der Prostata und der akzessorischen Geschlechtsdrüsen bei 7 mg/(kg KG · d) (LOAEL) vergrößert.

In einer neuroendokrinen Untersuchung, wiederum mit demselben Expositionsprotokoll, fanden Maerkel et al. [37] ab der niedrigsten eingesetzten 4-MBC-Konzentration von 7 mg/(kg KG · d) in adulten Tieren der F1-Generation geschlechtsabhängige Veränderungen in bestimmten Hirnregionen hinsichtlich der Expression bestimmter Gene (mRNA-Spiegel für ER-alpha, PR, PPE und IGF-1) und deren Ansprechbarkeit gegenüber Östrogen. Ab der niedrigsten Konzentration war außerdem dosisabhängig das relative Gewicht der Schilddrüse bei adulten F1-Männchen signifikant erhöht. Ab 24 mg/(kg KG · d) waren dosisabhängig relatives und absolutes Gewicht der Schilddrüse in beiden Geschlechtern erhöht, ab 24 mg/(kg KG · d) war zudem der Serumspiegel von T3 bei F1 Weibchen dosisabhängig erhöht, bei Männchen war keine klare Dosisabhängigkeit erkennbar. TSH im Serum stieg dosisabhängig leicht an, der Effekt war jedoch nur bei F1 Weibchen bei 47 mg/(kg KG · d) signifikant. T4 im Serum war bei allen Konzentrationen erhöht, jedoch nicht signifikant

und nicht dosisabhängig¹ [38]. Eine weitere derartige Studie untersuchte an weiblichen adulten Long-Evans-Ratten der F1-Generation die Wirkungen von 4-MBC auf Sexualverhalten, Östruszyklus und Genexpression in bestimmten Hirnregionen [39]. Der Östruszyklus wurde durch 4-MBC nicht beeinflusst. Das weibliche Paarungsverhalten wurde jedoch bereits bei 7 mg/(kg KG · d) beeinträchtigt.

Darüber hinaus liegen Ergebnisse weiterer Untersuchungen vor, in denen hormonelle Wirkungen von 4-MBC nach Verabreichung an Ratten beobachtet wurden. Dabei lagen die verabreichten Dosen jedoch erheblich über denen der oben beschriebenen Untersuchungen. So stellten Seidlová-Wuttke et al. [40, 41] fest, dass eine tägliche Dosis von 59,3 mg/Tier bei ovariectomierten Ratten die Gewichtszunahme, den Umfang des Fettdepots sowie den Leptin- und Triglyceridspiegel im Serum reduziert, die LH-Konzentration im Serum erhöht, die antiosteoporotische Wirkung im Knochen stimuliert und die Menge C-terminaler Abbauprodukte von Kollagen-1a1 im Serum erhöht. In einer weiteren Studie an ovariectomierten Ratten wurden bei ähnlich hohen Dosen ein erhöhter TSH- und ein erniedrigter T4-Spiegel sowie ein uneinheitlicher, nicht dosisabhängiger Effekt auf den T3-Spiegel festgestellt [42]. Subkutane Verabreichung von 2–20 mg/(kg KG · d) an weibliche Ratten stimulierte die Freisetzung von FSH, LH und GnRH [43]; die subkutane Verabreichung von 20–500 mg/(kg KG · d) an trächtige Ratten beeinflusste das Hodengewicht sowie die Gonadotropinfreisetzung aus dem Hypothalamus [44, 45]. In einer anderen Untersuchung zeigte 4-MBC nach einmaliger oraler Gabe von 500 bzw. 800 mg/kg KG oder subkutaner Gabe von 500 bzw. 1000 mg/kg KG bei unreifen Ratten

¹ Dass in dieser Studie deutlichere Effekte auf den T3-Spiegel bei den Weibchen als bei den Männchen festgestellt wurden, könnte mit den offenbar geschlechtsspezifisch unterschiedlich hohen Plasmaspiegeln des 4-MBC-Metaboliten 3-(4-Carboxybenzyliden)-kammer zusammenhängen: Nach einmaliger oraler Verabreichung von 25 mg 4-MBC/kg KG an adulte Ratten erreichte die AUC im Plasma bei weiblichen Tieren mehr als das Dreifache des Werts, der bei den Männchen gemessen wurde [38].

Tab. 6 Endokrine Wirkungen in Untersuchungen mit Ratten ohne molekulare Endpunkte

Studie	Kieser [19]	Marburger [32]	Durrer*[34]	Bertl [9]
Studientyp	Subchronisch	1-Generationenstudie	1-Generationenstudie	Subchronisch
Besonderheiten		Nur W behandelt, ab 4 Wochen vor der Verpaarung	Ab 10 Wochen vor der Verpaarung, spezielle Endpunkte	
Spezies	Ratte	Ratte	Ratte	Ratte
Route	Oral, Futter	Oral, Schlundsonde	Oral, Futter	Dermal
Parameter**	Effekt (↑,↓), ggf. Generation, betroffenes Geschlecht (M/W), LOEL in mg/kg KG/Tag; ggf. Zeitpunkt			
T3	↑, M/W, 50	↓, F1, M, 50, Tag 55	↑, F1, W, 24	↑ W, 400
T4	↑, M/W, 25	–	–	↑ M, 400
TSH	↑, M***/W, 50	↓, F1, M, 50, Tag 55	↑, F1, W, 47	↑ M, 400
Schilddrüsen-gewicht	↑, M/W, 125	–	↑, F1, M, 7, rel. ↑, F1, M/W, 24, abs.	–
FSH		↓, F1, M, 25, Tag 55		
LH		–		
Östradiol		–	–	
Ovargewicht		↑, F1, W, 50 abs, 25 rel.		
Uterusgewicht		↓, F1, W, 50 abs, rel		
Paarungsverhalten W		–	↓, F1, W, 7	
Körpergewicht bei Öffnung Vagina			↓, F1, W, 7	
Anogenitalabstand		↑, F1, M, 50 ↑, F1, W, 25		
Testosteron		–		
Prostatagewicht	↓, M, 312	–	↓, F1, M, 7, abs, rel	
Prostatavolumen			↑, F1, M, 7, Tag 1	
Testisgewicht	–	–	↑, F1, M, 7, abs.; 47, rel.	
Epididymis-gewicht	–	↑, F1, M, 12,5 abs.	↓, F1, M, 47, rel.	
Gewicht Samenbläschen		↑, F1, M, 25 abs., rel.	–	
Präputiums-Sepa-ration		–	↓, F1, M, 7	
Futtermaufnahme	↓, W, 312	–		
Trinkwasserverbrauch	↑, M, 312	↑, F0, W, alle Dosen, vor Verpaarung		
KG		↑, F1, M, 25; W, 50	Pubertätsbeginn: –, F1, M ↓, F1, W Adulte F1: –	

*eine Studie mit verschiedenen Auswertungen [34–37, 39], hier zusammengefasst.

**↓: erniedrigt oder verzögert, ↑: erhöht; M: männliche Ratten, W: weibliche Ratten; LOEL: für Effekt in mg/kg KG.

***nicht signifikant.

–: untersucht, kein Effekt; Feld leer: nicht untersucht bzw. keine Angaben.

Wirkung, wie etwa 17-β-Östradiol, und die Wirkungsmechanismen sind unterschiedlich [2].

3.8.2 Entwicklungstoxizität

Bewertungsrelevante Angaben zur Wirkung von 4-MBC auf die embryonale Entwicklung liegen für Kaninchen und Ratten vor.

In einer Untersuchung an Kaninchen erhielten je drei Weibchen vom 6.–10. Tag der Gestation per Schlundsonde 0, 25, 50 oder 100 mg 4-MBC/kg KG · d) in Erdnussöl. Alle Tiere litten zu Anfang unter Durchfällen, und die Zahl der Nachkommen war in allen Gruppen ungewöhnlich niedrig. Hinweise auf embryotoxische oder teratogene Wirkungen von 4-MBC fanden sich nicht [11, 26].

In einer Untersuchung an weiblichen Wistar-Ratten erhielten die Tiere vom 6.–16. Tag der Gestation mit der Schlundsonde 0, 10, 30 oder 100 mg/(kg KG · d) 4-MBC in Erdnussöl [11, 47]. Die Muttertiere unter der höchsten Dosis nahmen weniger an Gewicht zu als die Tiere der anderen Gruppen, die Autopsie erbrachte im Übrigen keine Auffälligkeiten. Die Foeten aus der Gruppe mit der höchsten Dosis wogen weniger als die aus den anderen Gruppen. Bei der mittleren und höchsten Dosis war die Verknöcherung des Brustbeins bei beiden Geschlechtern verzögert, außerdem nahm die Zahl der Foeten mit rudimentären Rippen im Lumbalbereich dosisabhängig zu. Bei den Männchen mit der höchsten Dosis war auch die Verknöcherung der Extremitätenknochen verzögert. Hinweise auf teratogene Wirkungen ergaben sich nicht. Als NOAEL ergibt sich aus dieser Studie ein Wert von 10 mg/(kg KG · d).

4 Bewertung der toxikologischen Untersuchungen – endokrine Effekte

In den toxikologischen Untersuchungen zeigten sich immer wieder Effekte auf das endokrine System. Für einen besseren Überblick sind die Untersuchungen an Ratten in **Tab. 6** zusammengestellt. Dabei sind alle Effekte aufgeführt, die mit ihrem LOEL statistisch signifi-

uterotrope Aktivität [46]. Diese Untersuchungen bestätigen, dass 4-MBC östrogene Wirkungen ausüben kann. Die

Potenz von 4-MBC ist nach Bewertung des SCCP jedoch viel geringer als die von Kontrollsubstanzen mit bekannter

kant waren, unabhängig davon, ob sie dosisabhängig waren und von den Autoren der jeweiligen Studie als advers angesehen wurden. Da es sich um endokrine Effekte handelt, besteht die Möglichkeit, dass sie einer nicht linearen Dosis-Wirkungs-Beziehung unterliegen, wie sie immerhin bei 12 bis 24 % aller Studien mit endokrin wirksamen Verbindungen vorkommt [48], d. h. auch wenn die Effekte nicht dosisabhängig sind, könnten sie relevant sein. In allen Studien treten möglicherweise endokrin bedingte Effekte auf, wie Veränderungen der T3, T4, TSH oder FSH-Spiegel, Veränderungen der Gewichte von Ovar, Uterus, Epididymis, Testis, Prostata und Samenbläschen. Weitere Parameter mit Effekt waren der Anogenitalabstand, der Zeitpunkt der Präputiums-Separation und das Paarungsverhalten der weiblichen Ratten. Die Effekte traten aber nicht durchgängig bei allen Studien auf, z. T. sind sie auch gegenläufig. Insbesondere in der 1-Generationenstudie von Marburger [32] sind die Effekte nicht dosisabhängig, und die Autoren kommen zu dem Schluss, dass sie nicht substanzbedingt sind. Die erhöhten Gewichte der Ovarien werden nach den histopathologischen Untersuchungen als Präparationsartefakte durch unsauberes Präparieren der Organe gewertet. Die Hormonwerte wiesen insbesondere bei den behandelten Tieren große Schwankungen auf, bei einzelnen Tieren waren die Werte stark erhöht. Die Messungen sind somit nicht geeignet endokrine Wirkungen zu bestätigen oder zu widerlegen. In der 1-Generationenstudie von Durrer et al., Faass et al., Hofkamp et al., Maerkel et al., Schlumpf et al. [34–37, 39] wurden auch molekulare Parameter (m-RNA, Protein-Werte) untersucht. Die Werte für den Androgen-Rezeptor, den Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktor und den ER- α und - β in der ventralen Prostata waren bereits bei 0,7 mg/kg KG/Tag erniedrigt. Die Adversität dieser Effekte kann jedoch aufgrund mangelnder Erfahrung mit diesen Parametern nicht beurteilt werden. Die Effekte bei 7 mg/kg KG/Tag beziehen sich dagegen auch auf in toxikologischen Untersuchungen übliche und empfindliche Parameter. So sind veränderte Prostatagewichte gute Indikatoren für endokrine Effekte [49]. Dar-

über hinaus sind der Zeitpunkt der Präputiums-Separation, Körpergewicht zum Zeitpunkt der Öffnung der Vagina, Prostata- und Testisgewichte dosisabhängig verändert. Es werden nur Effekte bei der F1-Generation berichtet, was der Auswertung von Schulz et al. [50] entspricht, dass allgemein die F1-Generation empfindlicher ist als die Elterngeneration. Zudem wird ein LOAEL von 7 mg/kg KG/Tag durch die anderen Studien trotz aller Widersprüche unterstützt und daher auch für die Richtwertableitung herangezogen.

Bemerkenswert ist, dass T3 und T4 teilweise erhöht waren, während geringe Effekte auf die TSH-Spiegel zu verzeichnen waren. Das entspricht nicht dem häufig beobachteten Spektrum von Schilddrüseneffekten, bei denen in der Ratte durch Induktion der Glucuronidierung die T3 und T4-Spiegel sinken und dann durch einen Rückkoppelungsmechanismus TSH erhöht wird.

In den Untersuchungen an Probanden zeigte sich ein ähnlich inkonsistentes Bild. Die Beurteilung der Werte für die Schilddrüsenhormone ist dadurch erschwert, dass sie hohe interindividuelle Schwankungen aufweisen [22–24]. Oft sind sie unmittelbar nach Auftragen der Sonnencreme auch bei den Kontrollen deutlich erhöht [23]. Die Studie von Pickford-Knowles [24] mit wiederholter Anwendung von 4-MBC-haltiger Emulsion wird in der Tabelle zur Richtwertableitung (■ Tab. 7) mit aufgeführt, um nach Anwendung der Extrapolationsfaktoren einen Vergleich mit den Tierversuchen zu ermöglichen. In dieser Studie ist neben Befunden an der Schilddrüse bei einem Probanden Durchfall aufgetreten (■ Tab. 7), was von den Autoren der Studie nicht als behandlungsbedingt gewertet wurde. Da aber auch bei den Kaninchen in der Teratogenitätsstudie Durchfälle aufgetreten sind, bekommt dieser Befund jedoch mehr Bedeutung.

5 Ableitung von HBM-Werten

Die HBM-Kommission hat in ihrem Grundsatzpapier [51] mögliche Ableitungswege für HBM-Werte skizziert und die Voraussetzungen zur Ableitung von HBM-Werten aus tierexperimentellen Studien formuliert.

5.1 Voraussetzung 1: Vorliegen eines anerkannten TDI/ADI oder einer geeigneten Schlüsselstudie zur Toxizität

Für 4-MBC liegt bislang kein international oder national anerkannter Wert für eine tolerable tägliche Aufnahmemenge (TDI) vor.

Für die HBM-Wert-Ableitung wurden deshalb die Studien an Ratten mit wiederholter oraler Verabreichung von Kieser [19], zur Reproduktion (1-Generationenstudie) von einer Schweizer Arbeitsgruppe [34–37, 39] mit Untersuchung diverser Endpunkte sowie die Studie an Ratten mit wiederholter dermalen Verabreichung [9] in Betracht gezogen. Zudem wurde zur Berücksichtigung einer weiteren Spezies eine Teratogenitätsstudie an Kaninchen [26] und schließlich eine Studie mit wiederholter dermalen Applikation am Menschen [24] berücksichtigt. Die verwendeten Extrapolationsfaktoren und die abgeleiteten tolerablen täglichen Dosen sind in ■ Tab. 7 zusammengestellt. Effekte auf Schilddrüsenparameter treten bei fast allen Untersuchungen auf. Da sowohl orale als auch dermale Studien ausgewertet wurden, wurde die tolerable tägliche Dosis für die systemisch verfügbare Dosis, d. h. unter Berücksichtigung der Absorption über die verschiedenen Aufnahmewege bestimmt.

Die Studien von Kieser [19] und Gleich [26] führen zu einem Wert in der Größenordnung von 0,1 mg/kg KG/Tag für die systemisch tolerierbare Dosis von 4-MBC. Um den Faktor 10 niedrigere Werte werden auf Basis der Arbeiten von Bertl [9], der Schweizer Gruppe [34–37, 39] und auch bei Auswertung der Untersuchung von Pickford-Knowles [24] am Menschen erhalten. Da die Ergebnisse der 1-Generationenstudie an Ratten als valide angesehen werden, wird die hierauf basierende systemisch tolerierbare Dosis von gerundet 0,01 mg/kg KG/Tag von der HBM-Kommission als Ausgangspunkt für die weitere HBM-Wert-Ableitung verwendet (siehe Kap. 6).

Tab. 7 Ableitung einer tolerablen täglichen Aufnahme von 4-MBC					
Stoff	4-MBC				
Autor, Jahr	Kieser, 1984 [19]	Bertl, 2005 [9]	Durrer, 2007 [34]	Gleich, 1984 [26]	Pickford-Knowles, 1995 [24]
Spezies	Ratte	Ratte	Ratte	Kaninchen	Mensch
von GD				6	
bis GD				10	
Dauer (Tage)	90	90 plus 28 (Erholung)	≈ 120	5	14
Route	Oral, Futter	Dermal	Oral, Futter	Oral, Schlundsonde	Dermal
Studientyp	Subchronisch	Subchronisch	1-Generationenstudie	Teratogenitätsstudie	Subakut
Effekt bei LOAEL	M, W: T4 ↑, W: ALAT, Lebergewicht ↑, PCV, Hb, RBC ↓	M: Kreatinin, K ⁺ , T4, TSH ↑, Cholesterin ↓ W: Thromboplastinzeit, Glucose, Bilirubin ↓, ALAT, Cl ⁻ , T3 ↑	M, F1: rel. Schilddrüsen-gew. ↑ Pubertät verzögert, Prostata-gewicht ↓, Prostata-volumen ↑, W, F1: Paarungsverhalten ↓	Durchfall bei Be-handlungsbeginn, Zahl Nachkommen ↓	Schilddrüsenvolu-men ↓, Hautausschlä-ge, Durchfall
LOAEL(mg/kg KG)	25	400	7	25	9
NOAEL (mg/kg KG)	Kein NOAEL	100	0,7	Kein NOAEL	Kein NOAEL, Effekte beim LOAEL schwach ausgeprägt
Extrapolation LOAEL-NOAEL	3			3	1
Absorption %	60 [7, 8]	8 [7, 8] (siehe auch Kap. 5.2.5)	60 [7, 8]	60 (wie Ratte)	0,9 [10]
POD systemisch	5,0	8	0,42	5,0	0,08
Extrapolation Zeit					
Subakut-subchronisch	–	–	–	–	3
Subchronisch-chronisch	2	2	2	1	2
Extrapolation Inter-Spezies					
Toxikokinetik	1	4	1	3	–
Toxikodynamik	2,5	2,5	2,5	2,5	–
Extrapolation Intra-Spezies	10	10	10	10	1
Kommentar					Intraspeziesfaktor re-duziert, da Effekte bei einzelnen Probanden, allerdings jung und gesund
Systemisch tolerierbare Dosis(mg/kg KG/d)	0,10	0,04	0,0084	0,067	0,014

5.2 Voraussetzung 2: kinetische Basisdaten

5.2.1 Metabolismus, Vergleich Ratte-Mensch

Der Metabolismus bei Ratte und Mensch weist einige Ähnlichkeiten auf: Bei der Ratte (orale Applikation) und dem Menschen (dermale Applikation) ist der Hauptmetabolit im Plasma 3-(4-Carboxybenzyliden)-kampfer (3-4CBC) und im Urin der weiter hydroxylierte 3-(4-Carboxybenzyliden)-6-Hydroxy-kampfer (3-4CBHC) [7, 8]. Beim Menschen beträgt das Verhältnis 3-4CBHC zu

3-4CBC im Urin 4:1 [8]. In den Fäzes finden sich zusätzlich die Glucuronide dieser beiden Verbindungen, sowie 4-MBC selbst.

Allerdings ist der Anteil der Ausscheidung in den Fäzes und im Urin sehr unterschiedlich bei beiden Spezies (■ Tab. 3). Bei der Ratte beträgt der Anteil der im Urin ausgeschiedenen Menge 21 % [7], beim Menschen dagegen 84 % [10, 12]. Dies ist plausibel, weil beim Menschen die Schwelle für die biliäre Ausscheidung etwa bei einem Molekulargewicht von 500 Da, bei der Ratte dagegen bei 400 Da

liegt [52]. Das Molekulargewicht der beiden Glucuronide beträgt 460 bzw. 476 Da.

5.2.2 Kritischer Metabolit

Das Metabolitenspektrum bei männlichen und weiblichen Ratten ist unterschiedlich. Da aber keine gravierenden Unterschiede in der Toxizität zwischen den Geschlechtern beobachtet wurden (■ Tab. 4), deutet dies auf eine ähnliche Toxizität der Metaboliten hin.

5.2.3 Akkumulation

In den Toxikokinetik-Untersuchungen zur dermalen subchronischen Studie an

Tab. 8 Berechnung HBM-I-Wert 4-MBC

	Einheit	Referenz			
TDI systemisch	mg/kg KG/d	0,01			
Anteil im Urin ausgeschieden (Mensch)	%	[12]	80		
Substanz		Ausgangssubstanz	Metabolit 1	Metabolit 2	Summe der Metaboliten
		4-MBC	3-4CBC	3-4CBHC	
Molekulargewicht 4-MBC u. Metaboliten	g/mol	254,4	284,4	300,4	
Molekulargewicht Glucuronide			460,0	476,0	
Anteil Metaboliten im Urin (Mensch)	%	[8]	20	80	
TDI systemisch entsprechende Menge im Urin	mmol/kg KG/d	0,000031			
	mg/kg KG/d		0,00179	0,00756	0,00935
Urinvolumen Erwachsene	l/kg KG/d	0,02			
Urinvolumen Kinder	l/kg KG/d	0,03			
Tolerierbare Konzentration im Urin, Erwachsene	mg/l		0,09	0,38	0,47
Tolerierbare Konzentration im Urin, Kinder	mg/l		0,06	0,25	0,31

Tab. 9 HBM-I-Werte für die Metaboliten von 4-MBC

	HBM-I in mg/l Urin		
	3-4CBC	3-4CBHC	Summe der beiden Metaboliten
Erwachsene	0,09	0,38	0,47 (gerundet: 0,5)
Kinder	0,06	0,25	0,31 (gerundet: 0,3)

Ratten von Bertl [3, 9] zeigte sich, dass die Plasmawerte nach 90 Tagen das 4-fache des Wertes vom ersten Tag betragen. Dies weist auf eine Akkumulation von 4-MBC im Organismus hin.

5.2.4 Orale Absorption Ratte

Der oral absorbierte Anteil bei Ratten lässt sich anhand der Untersuchungen von Völkel et al., [7] nicht genau bestimmen. Im Urin werden abhängig von Dosis und Geschlecht bis zu 12 % der Dosis ausgeschieden, in den Fäzes maximal 52 % der Dosis. In den Fäzes wurden hauptsächlich 3-4CBC und in wesentlich geringeren Mengen 3-4CBHC und 4-MBC nachgewiesen, die Anteile aber nicht quantifiziert. Die Gesamt-Wiederfindungsrate betrug nur maximal 61 % der Dosis (■ Tab. 3). Die Autoren vermuten, dass sie die Metaboliten in den Fäzes unvollständig erfasst haben. Außerdem besteht die Möglichkeit, dass die absorbierte Substanz innerhalb des Untersuchungszeitraums von 96 h z. B. aufgrund eines enterohepatischen Kreislaufs nicht vollständig ausgeschieden wurde. Im Rah-

men einer konservativen Abschätzung wird eine Absorption von 60 % der Dosis entsprechend der maximal ausgeschiedenen Menge an Metaboliten angenommen.

5.2.5 Dermale Absorption Ratte

An Ratten wurde die Ausscheidung im Urin nur in einer oralen [7], aber nicht in einer dermalen Studie untersucht. Die dermale Absorption bei der Ratte lässt sich aus dem Verhältnis der AUC aus den Studien von Völkel et al. [7] und Schauer et al. [8] und linearer Dosisextrapolation folgendermaßen ableiten:

Dermale Absorption = ΣAUC dermale Studie / ΣAUC orale Studie * Dosis oral (mg/kg KG/Tag) / Dosis dermal (mg/kg KG/Tag) * Absorption oral.

Sie beträgt 7–9 % bei männlichen bzw. weiblichen Ratten bei einer oralen Absorption von 60 % (s. o.). Als durchschnittlicher Wert werden 8 % angenommen.

5.2.6 Dermale Absorption Mensch

Zur Ausscheidung im Urin wurden beim Menschen in verschiedenen Untersuchungen [8, 10, 12] übereinstimmende Ergebnisse gefunden (■ Tab. 3). Im Urin können maximal 0,76 % der Dosis, in den Fäzes maximal 0,14 % der Dosis nachgewiesen werden. Somit beträgt der Anteil des systemisch verfügbaren 4-MBC, der beim Menschen im Urin ausgeschieden wird, 84 %. Dieser Wert wurde im Sinne einer konservativen Abschätzung abgerundet auf 80 %. Aus den Untersuchungen von Kukowetz [12] geht hervor, dass

bei Abwaschen der Haut nur mit Wasser und Seife noch 4-MBC in der Hautoberfläche verbleibt, das dann möglicherweise auch nach dem Abwaschen noch aufgenommen werden könnte.

Zur Exposition der Allgemeinbevölkerung liegen kaum Daten vor. Schlumpf et al. [53] berichten Daten zur Konzentration von 4-MBC in Muttermilch und eine daraus resultierende mögliche Aufnahme von 4-MBC bei Säuglingen.

5.3 Voraussetzung 3: Analytik

Zur Bestimmung der Konzentration der beiden Hauptmetaboliten 3-(4-Carboxybenzyliden)-6-Hydroxykampfer (3-4CBHC) und 3-(4-Carboxybenzyliden)-kampfer (3-4CBC) im Urin des Menschen stehen analytische Verfahren zur Verfügung (BMUB-VCI, Publikation in Vorbereitung). Die Urinprobe wird zunächst mit β -Glucuronidase vorbehandelt, um die Metaboliten aus den Glucuronidkonjugaten freizusetzen. Nach weiteren Behandlungsschritten erfolgt die analytische Bestimmung durch Flüssigchromatographie in Verbindung mit Massenspektrometrie (LC-MS/MS). Die Bestimmungsgrenze liegt für 3-4CBHC im Urin bei 1 μ g/l und für 3-4CBC im Urin bei 1,5 μ g/l.

5.4 HBM-Wert-Ableitung

Die Berechnungen zur Ableitung eines HBM-I-Wertes finden sich in ■ Tab. 8. Ausgangspunkt ist die tolerierbare systemische tägliche Dosis (TDI systemisch)

Abkürzungen	
4-MBC	3-(4-Methylbenzyliden)-kampfer
3-4CBC	3-(4-Carboxybenzyliden)-kampfer
3-4CBHC	3-(4-Carboxybenzyliden)-6-Hydroxykampfer
ALAT	Alaninaminotransferase
AUC	Area Under Curve
Da	Dalton, atomare Masseneinheit
ER-alpha	Estrogen-Rezeptor alpha
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
MoS	Margin of Safety
PCV	Packed Cell Volume (Hämatokrit)
PPE	Präproenkephalin
PR	Progesteronrezeptor
SCCNFP	Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-food Products Intended for Consumers
T3	3,3',5'-Triiod-L-Thyroxin
T4	3,3',5,5'-Tetraiod-L-Thyroxin (Thyroxin)
TBG	Thyroxin bindendes Globulin
TRH	Thyreotropin Releasing Hormon
TSH	Thyreidea stimulierendes Hormon (Thyreotropin)

von 0,01 mg/kg KG/d, von der auf die tolerierbare Urinkonzentration umgerechnet wird. Beim Menschen werden etwa 80 % des systemisch verfügbaren Anteils im Urin ausgeschieden, wobei 80 % auf den Hauptmetaboliten 3-4CBHC und 20 % auf 3-4CBC entfallen. Bei einem Molekulargewicht der beiden Metaboliten von 300,4 und 284,4 resultiert hieraus eine dem TDI systemisch entsprechende Menge von 7,6 µg 3-4CBHC bzw. 1,8 µg 3-4CBC pro kg KG und Tag im Urin. Bei einem Urinvolumen von 0,02 l/kg KG/Tag für Erwachsene und von 0,03 l/kg KG/Tag für Kinder entspricht dies den in **Tab. 8** abgeleiteten und in **Tab. 9** als Übersicht dargestellten HBM-I-Werten. Abhängig von der Praktikabilität in der Analytik sollte entschieden werden, ob der HBM-I-Wert für die einzel-

nen Metaboliten oder die Summe der Metaboliten verwendet wird.

Danksagung. Die HBM-Kommission dankt Dr. Jens-Uwe Voss (Müllheim), Dr. Oliver Licht und Dr. Inge Mangelsdorf (beide Hannover) für die Erstellung des Textentwurfes, PD Dr. Wolfgang Völkel (München), Petra Apel (Berlin) und Prof. Dr. Jürgen Angerer (Bochum) für die ergänzenden Beiträge, sowie Angela Lehmann (Berlin) für die Unterstützung bei der redaktionellen Bearbeitung.

Quellenverzeichnis. *kompletter Studienbericht ausgewertet.

Literatur

- Europäische Union (2009) Amtsblatt der Europäischen Union Nr. L 342/59 Verordnung (EG) Nr. 1223/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 30. November 2009 über kosmetische Mittel
- Scientific Committee on Consumer Products (SCCP) (2008) Opinion on 4-Methylbenzylidene Camphor (4-MBC). COLIPA no. S60. Adopted at 16th plenary of 24 June. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_141.pdf
- Scientific Committee on Consumer Products (SCCP) (2006) Opinion on 4-Methylbenzylidene Camphor (4-MBC). COLIPA no. S60. SCCP/1042/06. Adopted at 9th plenary meeting of 10 October. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_075.pdf
- OECD (2004) Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 Health Effects Test No. 428: Skin Absorption. In Vitro Method ISBN: 9789264071087. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-428-skin-absorption-in-vitro-method_9789264071087-en
- Diembeck W, Duesing J (2004) Dermal absorption and penetration of 4-Methylbenzylidene Camphor – Summary of eight internal reports. Beiersdorf AG internal report, dated 05/05/2004. * In: Scientific Committee on Consumer Products (SCCP) (2008) OPINION ON 4-Methylbenzylidene camphor (4-MBC) COLIPA n° S60. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_141.pdf
- Klinubol P, Asawanonda P, Wanichwecharungrang SP (2008) Transdermal penetration of UV filters. Skin Pharmacol Physio 21(1):23–29. <http://www.karger.com/Article/Abstract/109085>
- Völkel W, Colnot T, Schauer UM, Broschard TH, Dekant W (2006) Toxicokinetics and biotransformation of 3-(4-methylbenzylidene)camphor in rats after oral administration. Toxicol Appl Pharmacol 216(2):331–338. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X0600189X>
- Schauer UM, Völkel W, Heusener A, Colnot T, Broschard TH, von Landenberg F, Dekant W (2006) Kinetics of 3-(4-methylbenzylidene)camphor in rats and humans after dermal application. Toxicol Appl Pharmacol 216(2):339–346. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X06001906>
- Bertl E (2005) EUSOLEX 6300 (4-MBC):13-Week Dermal Toxicity Study in the Rat followed by a 4-Week Recovery Period. RCC Study No. A19045. Merck KGaA Darmstadt. * Bertl E 90-Day dermal toxicity study in the Wistar rat. Toxicology, RCC Ltd, Ittingen, 2005. In: Scientific Committee on Consumer Products (SCCP) (2006) Opinion on 4-Methylbenzylidene Camphor (4-MBC). COLIPA no. S60. SCCP/1042/06. Adopted at 9th plenary meeting of 10 October. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_075.pdf
- Kukowetz WR (1982) Report on the percutaneous absorption of Eusolex 6300 in man. Unpublished report. Institute for Pharmacodynamics and Toxicology, Univ. Graz. * In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
- Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-food Products intended for Consumers (SCCNFP) (2004) Opinion concerning 4-Methylbenzylidene Camphor. COLIPA no. S60. Adopted by the SCCNFP during the 28th plenary meeting of 25 May. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
- Kukowetz WR (1984) Report on the percutaneous absorption of Eusolex 6300 and TC 802 in man. Unpublished report. Institute for Pharmacodynamics and Toxicology, A-University of Graz. * In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
- Pabst J (1984) Study of percutaneous absorption of Eusolex 6300. report n° 7/8/84. Institute of Toxicology. E. Merck, Darmstadt. * In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
- Scalia S, Tursilli R, Iannuccelli V (2007) Complexation of the sunscreen agent, 4-methylbenzylidene camphor with cyclodextrins: Effect on photostability and human stratum corneum penetration. J Pharm Biomed Anal 44(1):29–34. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708507000374>
- Janjua NR, Mogensen B, Andersson AM, Petersen JH, Henriksen M, Skakkebaek NE, Wulf HC (2004) Systemic absorption of the sunscreens benzophenone-3, octylmethoxycinnamate, and 3-(4-methylbenzylidene) camphor after whole-body topical application and reproductive hormone levels in humans. J Invest Dermatol 123(1):57–61. <http://www.nature.com/jid/journal/v123/n1/full/5602391a.html>
- OECD (1987) Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 Health Effects Test No. 402: Acute Dermal Toxicity ISBN: 9789264070585. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-402-acute-dermal-toxicity_9789264070585-en

17. Kieser H, Simane Z, v. Eberstein M (1983a) Report n° 4/16/83. Eusolex 6300: Orientierende Prüfung auf subakute Toxizitätswirkung bei 4-wöchiger oraler Behandlung an Ratten. Institute of Toxicology, E. Merck, Darmstadt.* In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
18. Kieser H, Simane Z, v. Eberstein M, v. Schilling B (1983b) Report n° 4/17/83. Eusolex 6300: Prüfung auf orientierende subakute Toxizität (17 Tage) an Ratten bei oraler Applikation. Institute of Toxicology, E. Merck, Darmstadt.* In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
19. Kieser H, Metallinos A, Simane Z et al (1984) Report n° 4/26/84. Eusolex 6300: Prüfung auf subchronische Toxizität im 3-Monate-Fütterungsversuch an Ratten mit einmonatiger behandlungsfreier Nachbeobachtungsperiode. Institute of Toxicology, E. Merck, Darmstadt. (In SCCNFP (2004) wird als Autor dieser Studie A. Hofmann genannt.)* [Hofmann A. Report n° 4/26/84. Eusolex 6300: Prüfung auf subchronische Toxizität im 3-Monate-Fütterungsversuch an Ratten mit einmonatiger behandlungsfreier Nachbeobachtungsperiode. Institute of Toxicology, E. Merck, Darmstadt, 1984. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf]
20. OECD (1981) Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 Health Effects Test No. 411: Sub-chronic Dermal Toxicity: 90-day Study ISBN: 9789264070769. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-411-subchronic-dermal-toxicity-90-day-study_9789264070769-en
21. Schmitt M, Jacobs M (2003) EMD 23614 (Art.105385) – Toxicology Study Report (Repeated Dose Toxicity). EMD 23 614 (Art. 105385) – Oral tolerability study in beagle dogs. Institute of Toxicology, Merck KGaA, Darmstadt.* In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
22. Sourgens H, Kemper FH (1981) Report on the endocrine-pharmacological study of the function of the thyroid after cutaneous application of Eusolex 6300 in man. Unpublished report. Institute Pharm. and Tox. Univ Münster.* In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
23. Ungethüm W (1984) Study of the function of the thyroid and hypophyseal TRH response after topical application of Eusolex 6300 in healthy subjects. Report n° 7/2/84. Institute of Toxicology, E. Merck, Darmstadt.* In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
24. Pickford-Knowles R (1995) Report of a study to examine the effects upon the thyroid of multiple topical doses of Eusolex 6300 in parallel groups of adult healthy volunteers. Report n° EMD 36 453-003 (RD 43/20792). E. Merck, Darmstadt.* In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
25. Janjua NR, Kongshoj B, Petersen JH, Wulf HC (2007) Sunscreens and thyroid function in humans after short-term whole-body topical application: a single-blinded study. *Br J Dermatol* 156(5):1080–1082. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2133.2007.07803.x/abstract>
26. Gleich J (1984) Eusolex 6300: Orienting tests for embryotoxicity on rabbits after oral administration. Institute of Toxicology, E. Merck, Darmstadt.* In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
27. Kramer P-J, Hofmann A (1980) Trial in vitro for mutagenic potential in bacteria with and without addition of a metabolizing system. Report n° 4/56/80. Institute of Toxicology, E. Merck, Darmstadt.* In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
28. Utesch D (1993) Eusolex 6300 In vitro assessment for photomutagenicity in bacteria. Experiment T 13704. E. Merck, Darmstadt.* In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
29. OECD (2014) Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 Health Effects Test No. 473: In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration Test ISBN:9789264224223. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-473-in-vitro-mammalian-chromosomal-aberration-test_9789264224223-en?sessionid=2u9i6986vj1q4.x-oecd-live-03
30. Heidemann A, Miltenburger HG (1986) Eusolex 6300: Chromosome aberrations in cells of Chinese hamster cell line V79. Report LMP 166. LMP Darmstadt.* In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
31. Chetelat A (1993) Evaluation of the photoclastogenic potential of Ro 81-5567/000, (Parsol 5000): chromosome analysis in CHO cells exposed concomitantly to the test substance and simulated sunlight. Study n° 078 M 92. Hoffmann-La Roche, CH-Basel.* In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
32. Marburger A, Knappe C, Rösener S, Czasch S (2004) Eusolex 6300 (4-MBC): Reproduction Toxicity Study in the Han Wistar Rat; RCC Study No. 844555.* In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
33. Schlumpf M, Cotton B, Conscience M, Haller V, Steinmann B, Lichtensteiger W (2001) In vitro and in vivo estrogenicity of UV screens. *Environ Health Perspect* 109(3):239–244. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1240241/pdf/ehp0109-000239.pdf>
34. Durrer S, Ehnes C, Fuetsch M, Maerkel K, Schlumpf M, Lichtensteiger W (2007) Estrogen sensitivity of target genes and expression of nuclear receptor co-regulators in rat prostate after pre- and postnatal exposure to the ultraviolet filter 4-methylbenzylidene camphor. *Environ Health Perspect* 115(Suppl 1):42–50. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2174398/pdf/ehp0115s1-000042.pdf>
35. Schlumpf M, Durrer S, Faass O, Ehnes C, Fuetsch M, Gaille C, Henseler M, Hofkamp L, Maerkel K, Reolon S, Timms B, Tresguerres JAF, Lichtensteiger W (2008) Developmental toxicity of UV filters and environmental exposure: a review. *Int J Androl* 31(2):144–151. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2605.2007.00856.x/abstract?sessionid=B81B3933E9BADF10E037A3441BB61107.f04t03>
36. Hofkamp L, Bradley S, Tresguerres JAF, Lichtensteiger W, Schlumpf M, Timms B (2008) Region-specific growth effects in the developing rat prostate following fetal exposure to estrogenic ultraviolet filters. *Environ Health Perspect* 116(7):867–872. doi:10.1289/ehp.10983. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2453153/pdf/ehp0116-000867.pdf>
37. Maerkel K, Durrer S, Henseler M, Schlumpf M, Lichtensteiger W (2007) Sexually dimorphic gene regulation in brain as a target for endocrine disruptors: developmental exposure of rats to 4-methylbenzylidene camphor. *Toxicol Appl Pharmacol* 218(2):152–165. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X06004066>

38. Broschard T, von Landenberg F (2005) Overall risk assessment: Toxicokinetic-based Margin of Safety for the Use of 3-(4-Methylbenzylidene)camphor (4-MBC) in Sunscreen Formulations. Merck KGaA, Darmstadt, Germany In: Scientific Committee on Consumer Products (SCCP) (2006) Opinion on 4-Methylbenzylidene Camphor (4-MBC). COLIPA no. S60. SCCP/1042/06. Adopted at 9th plenary meeting of 10 October. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_075.pdf
39. Faass O, Schlumpf M, Reolon S, Henseler M, Maerker K, Durrer S, Lichtensteiger W (2009) Female sexual behavior, estrous cycle and gene expression in sexually dimorphic brain regions after pre- and postnatal exposure to endocrine active UV filters. *Neurotoxicology* 30(2):249–260. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0161813X08002441>
40. Seidlová-Wuttke D, Jarry H, Christoffel J, Rimoldi G, Wuttke W (2006a) Comparison of effects of estradiol (E2) with those of octylmethoxycinnamate (OMC) and 4-methylbenzylidene camphor (4-MBC) – 2 filters of UV light – on several uterine, vaginal and bone parameters. *Toxicol Appl Pharmacol* 210(3):246–254. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X05002206>
41. Seidlová-Wuttke D, Christoffel J, Rimoldi G, Jarry H, Wuttke W (2006b) Comparison of effects of estradiol with those of octylmethoxycinnamate and 4-methylbenzylidene camphor on fat tissue, lipids and pituitary hormones. *Toxicol Appl Pharmacol* 214(1):1–7. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X05006368>
42. Schmutzler C, Hamann I, Hofmann PJ, Kovacs G, Stemmler L, Mentrup B, Schomburg L, Ambrügger P, Grüters A, Seidlová-Wuttke D, Jarry H, Wuttke W, Köhrle J (2004) Endocrine active compounds affect thyrotropin and thyroid hormone levels in serum as well as endpoints of thyroid hormone action in liver, heart and kidney. *Toxicology* 205(1–2):95–102. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300483X04003695>
43. Carou ME, Ponzo OJ, Cardozo Gutierrez RP, Szwarcfarb B, Deguiz ML, Reynoso R, Carbone S, Moguilevsky JA, Scacchi P (2008) Low dose 4-MBC effect on neuroendocrine regulation of reproductive axis in adult male rats. *Environ Toxicol Pharmacol* 26(2):222–224. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668908000604>
44. Carou ME, Deguiz ML, Reynoso R, Szwarcfarb B, Carbone S, Moguilevsky JA, Scacchi P, Ponzo OJ (2009) Impact of the UV-B filter 4-(Methylbenzylidene)-camphor (4-MBC) during prenatal development in the neuroendocrine regulation of gonadal axis in male and female adult rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol* 27(3):410–414. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668909000088>
45. Carou ME, Szwarcfarb B, Deguiz ML, Reynoso R, Carbone S, Moguilevsky JA, Scacchi P, Ponzo OJ (2009) Impact of 4-methylbenzylidene-camphor (4-MBC) during embryonic and fetal development in the neuroendocrine regulation of testicular axis in prepubertal and peripubertal male rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 117(9):449–454. <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/issue/10.1055/s-002-20510>
46. Tinwell H, Lefevre PA, Moffat GJ, Burns A, Odum J, Spurway TD, Orphanides G, Ashby J (2002) Confirmation of uterotrophic activity of 3-(4-methylbenzylidene)camphor in the immature rat. *Environ Health Perspect* 110(5):533–536. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1240844/pdf/ehp0110-000533.pdf>
47. Gleich J, Jacobs M, Unkelbach HD (1988) Eusolex 6300: Teratogenicity study with oral administration in rats. Report 4/43/88, ZPD-n° 53, E. Merck, Darmstadt.* In: THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS (SCCNFP) (2004) OPINION CONCERNING 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR COLIPA n° S60 Adopted SCCNFP/0779/04. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out282_en.pdf
48. Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, Heindel JJ, Jacobs DR, Lee D-H, Myers JP, Shioda T, Soto AM, vom Saal FS, Welshons WV, Zoeller RT (2013) Regulatory decisions on endocrine disrupting chemicals should be based on the principles of endocrinology. *Reprod Toxicol* 38:1–15. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0890623813000191>
49. Mangelsdorf I, Buschmann J, Orthen B (2003) Some aspects relating to the evaluation of the effects of chemicals on male fertility. *Regul Toxicol Pharmacol* 37(3):356–369. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0273230003000266>
50. Schulz F, Batke M, Mangelsdorf I, Pohlentz-Michel C, Simetska N, Lewin G (2014) Sensitivity of different generations and developmental stages in studies on reproductive toxicity. *Toxicol Lett* 226(2):245–255. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378427414000654>
51. Kommission Human-Biomonitoring des Umweltbundesamtes (2014) Grundsatzpapier zur Ableitung von HBM-Werten. Stellungnahme der Kommission Human-Biomonitoring des Umweltbundesamtes. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 57(1):138–147. <http://link.springer.com/article/10.1007/s00103-013-1867-2>
52. Tephly TR, Burchell B (1990) UDP-glucuronosyltransferases: a family of detoxifying enzymes. *Trends Pharmacol Sci* 11(7):276–279. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/01656147/11/7>
53. Schlumpf M, Kypke K, Wittassek M, Angerer J, Mascher H, Mascher D, Vökt C, Birchler M, Lichtensteiger W (2010) Exposure patterns of UV filters, fragrances, parabens, phthalates, organochlor pesticides, PBDEs, and PCBs in human milk: correlation of UV filters with use of cosmetics. *Chemosphere* 81(10):1171–1183. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004565351001132X>

Hier steht eine Anzeige.

Springer