

NITROBENCENO

DOCUMENTACIÓN TOXICOLÓGICA PARA EL ESTABLECIMIENTO DEL LÍMITE DE EXPOSICIÓN PROFESIONAL DEL NITROBENCENO

DLEP 51

2010

VLA-ED®: 0,2 ppm (1,0 mg/m³)

VLA-EC®: –

Notación: Vía dérmica

Sinónimos: –

Nº CAS: 98-95-3

Nº EINECS: 202-716-0

Nº CE: 609-003-00-7

PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Líquido aceitoso, amarillo pálido, de olor característico a almendra amarga.

Factor de conversión

(20 °C, 101 kPa): 1 ppm = 5mg/m³

Peso molecular: 123,11

Fórmula molecular: C₆H₅NO₂

Solubilidad: Poco soluble en agua, soluble en etanol, benceno, acetona, éter y aceites

Punto de fusión: 5,7 °C

Punto de ebullición: 210,8 °C (760 torr)

Presión de vapor: 20 Pa a 20 °C

Densidad: –

Límite de explosividad: inferior 1,8% y superior 40% (volumen en aire)

Umbral de olor: –

USOS MÁS FRECUENTES

El nitrobenzeno se emplea en la industria química como intermedio para la producción de anilina, bencidina y otros productos derivados de la anilina. El nitrobenzeno se utiliza también para producir aceites lubricantes como aquellos usados en motores y en maquinarias. Una pequeña cantidad de nitrobenzeno

se usa en la fabricación de colorantes, medicamentos, pesticidas y goma sintética.

INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

La toxicidad del nitrobenzeno para seres humanos y animales se conoce desde hace casi un siglo (Beauchamp *et al.*, 1982). Las principales vías de entrada del

nitrobenceno al organismo son la vía inhalatoria y la vía dérmica. Se ha descrito su toxicidad hematológica, neurológica y hepática tanto en seres humanos como en animales de laboratorio. La administración por vía oral de nitrobenceno a ratas, en una sola dosis (aprox. 200 mg/kg de peso corporal) provocó metahemoglobinemia (Goldstein *et al.*, 1984), mientras que dosis mayores por vía oral (aprox. 500 mg/kg de peso corporal) causaron encefalopatía caracterizada por hemorragias y malacia del tallo cerebral y del cerebelo (Morgan *et al.*, 1985). La exposición de ratas y ratones, por vía inhalatoria, a distintas dosis de nitrobenceno (10-25 ppm/2 semanas, 5-10 ppm/13 semanas) causó metahemoglobinemia y encefalopatía, así como lesiones adicionales de hígado, riñón, médula y testículos (Hamm, 1984; Medinsky y Irons, 1985).

Metabolismo y cinética

Cuando el nitrobenceno pasa a la sangre, oxida el hierro presente en la hemoglobina transformándola en metahemoglobina. Esto disminuye la capacidad de la sangre para transportar oxígeno. Por eso el principal síntoma de la exposición a esta sustancia es la metahemoglobinemia.

El nitrobenceno se transforma en primer lugar en nitrosobenceno (Mason, 1979; Uehleke, 1963, 1964). En un paso posterior, el nitrosobenceno se transforma en el hígado en fenilhidroxilamina; este proceso puede tener lugar en los eritrocitos. La reacción inversa (de fenilhidroxilamina a nitrosobenceno) en los eritrocitos se produce por una reacción acoplada donde se forma metahemoglobina a partir de hemoglobina (Uehleke, 1963). En seres humanos y animales, el metabolismo del nitrobenceno se prolonga mucho más que el metabolismo de la anilina; ambos conducen, sin embargo, a niveles similares de metahemoglobina (Albrecht y Neumann, 1985; DFG, 1995). La mayor parte del nitrobenceno absorbido por el

ser humano se metaboliza finalmente en p-nitrofenol y p-aminofenol (Ikeda y Kita, 1964).

El nitrosobenceno, que se forma como paso intermedio en el metabolismo del nitrobenceno, es químicamente reactivo y puede reaccionar con la glutatona y los grupos SH de las proteínas que contienen cisteína para formar un conjugado de glutatona o un conjugado de proteína (Eyer, 1979, 1985; Albrecht y Neumann, 1985). Por lo tanto, el nitrosobenceno intermedio generado en los eritrocitos conduce a la conjugación de la hemoglobina (Neumann, 1984). Esta reacción adicional puede usarse para la monitorización biológica (DFG, 1995). El conjugado de hemoglobina de la anilina se puede detectar tras la exposición, incluso cuando ya se han eliminado completamente el nitrobenceno y sus metabolitos. Al contrario que en la determinación de la metahemoglobina, los resultados de la determinación de este conjugado son prácticamente independientes del tiempo de muestreo (Bolt *et al.*, 1985).

Toxicidad en seres humanos

Tras la absorción de nitrobenceno, transcurrido un cierto periodo de latencia, se produce la cianosis debida a la formación de metahemoglobina. En general, se ha determinado que un valor de metahemoglobina de hasta un 5% puede ser tolerable (Bolt *et al.*, 1985).

La intoxicación crónica puede producir hemolisis, daños hepáticos y, en casos excepcionales, también eflorescencias cutáneas (Myslak *et al.*, 1971; Wirth y Gloxhuber, 1981; Beauchamp *et al.*, 1982). La dosis letal mínima determinada para seres humanos fue de 35 mg/kg (Sax, 1984). La producción de metahemoglobina puede provocar la formación de cuerpos de Heinz en los eritrocitos.

En personas expuestas de forma crónica al nitrobenceno, los síntomas clásicos y

característicos son: fatiga, falta de apetito, molestias estomacales de tipo general, debilidad, mareos, depresión y, en una etapa posterior, anemia, fallos de la función hepática, cuerpos de Heinz, fallos de la función renal.

Genotoxicidad y carcinogénesis

No se han encontrado correlaciones claras en los efectos sobre la reproducción observados con relación al nitrobenzeno (Hatekeyama *et al.*, 1971; Beauchamp *et al.*, 1982; IARC, 1996).

En ensayos de Ames con líneas de *Salmonelle typhimurium*, no se pudo detectar ninguna actividad mutagénica significativa del nitrobenzeno (Chiu *et al.*, 1978; Beauchamp *et al.*, 1982). El IARC, tras evaluar los datos de los efectos genéticos del nitrobenzeno en sistemas experimentales, llegó a la conclusión de que el nitrobenzeno no era genotóxico sobre bacterias y células de mamífero *in vitro*, y que estaba inactivo en mamíferos *in vivo*.

Se expuso a grupos de 70 ratones macho y 70 hembra de la línea B6C3F1, de 63 días de edad, a concentraciones, vía inhalatoria, de 0, 5, 25 o 50 ppm [0, 25, 125 o 250 mg/m³] de nitrobenzeno (> 99,8% de pureza) durante 6 horas al día y durante cinco días a la semana, 24 meses. Los pesos corporales de los ratones macho sometidos a la dosis más alta eran aproximadamente un 5-8% menores que los pesos de los animales de control, a lo largo de todo el ensayo. La probabilidad de supervivencia tras 24 meses fue del 60% para machos y del 45% para hembras, y no se vio afectada por la exposición al nitrobenzeno, si exceptuamos que las hembras sometidas a la dosis media presentaban una mejor tasa de supervivencia que los controles (70%). La incidencia de neoplasmas alveolares y bronquiales aumentó en los machos sometidos a ensayo (adenomas y carcinomas alveolares-bronquiales: 9/68 en controles, 21/67 a la

dosis baja, 21/65 a la dosis media y 23/66 a la dosis alta; $p < 0,05$, prueba de tendencia Cochran-Armitage). La incidencia de hiperplasia alveolar-bronquial aumentó también en machos con dosis medias y altas y en hembras con dosis medias. La incidencia de adenomas de células foliculares de tiroides aumentó entre los machos tratados (0/65 en controles, 4/65 a la dosis baja, 1/65 a la dosis media, 7/64 a la dosis alta; $p < 0,05$ de prueba de tendencia) mientras que la incidencia de hiperplasia de células foliculares de tiroides aumentó entre las hembras de dosis medias y altas. La incidencia de adenomas hepatocelulares aumentó en las hembras tratadas (6/51 en controles, 5/61 a la dosis baja, 5/64 a la dosis media, 13/62 a la dosis alta; $p < 0,05$ de prueba de tendencia), si bien no aumentó la incidencia combinada de adenomas hepatocelulares y carcinomas (7/51, 7/61, 7/64, 14/62, respectivamente). Se detectaron adenocarcinomas de glándula mamaria en 5/60 ($p < 0,05$) de las hembras de dosis alta, en comparación con 0/48 en los controles (Cattley *et al.*, 1994).

Por otra parte, se expuso a grupos de 70 ratas macho y 70 hembra Fischer 344, de 62 días de edad, a concentraciones, vía inhalatoria, de 0, 1, 5, o 25 ppm [0, 5, 25 o 125 mg/m³] de nitrobenzeno (> 99,8% de pureza) durante 6 horas al día y durante cinco días a la semana, 24 meses. Se sacrificaron grupos de 10 ratas por sexo y grupo para una evaluación intermedia a los 15 meses. Los pesos corporales de los machos de dosis alta eran ligeramente inferiores a los pesos de los animales de control durante el estudio. La probabilidad de supervivencia a los 24 meses fue del 75% para los machos y del 80% para las hembras, sin que se viera afectada por la exposición al nitrobenzeno. Se detectaron aumentos en la incidencia de focos eosinofílicos hepáticos en los machos sometidos a dosis medias y altas, y en las hembras con dosis altas, así como en los casos de neoplasmas hepatocelulares.

res tanto en machos tratados (adenomas y carcinomas: 1/69 en controles, 4/69 a la dosis baja, 5/70 a la dosis media, 16/70 a la dosis alta; $p < 0,05$, prueba de tendencia Cochran-Armitage) como en hembras tratadas (0/70 en controles, 2/66 a la dosis baja, 0/66 a la dosis media, 4/70 a la dosis alta; $p < 0,05$, prueba de tendencia). La mayoría de estos tumores eran benignos. Se observó en los machos una tendencia positiva de aumento con la exposición en la hiperplasia de células foliculares de tiroides, y aumentó también la incidencia de adenomas y adenocarcinomas de células foliculares de tiroides en los machos expuestos (2/69 en controles, 1/69 a la dosis baja, 5/70 a la dosis media, 8/70 a la dosis alta; $p < 0,05$, prueba de tendencia). La incidencia de pólipos estromales de endometrio aumentó en las hembras expuestas (11/69 en controles, 17/65 a la dosis baja, 15/65 a la dosis media, 25/69 a la dosis alta; $p < 0,05$); también aumentaron los casos de adenomas de células tubulares renales en machos expuestos (0/69 en controles, 0/68 a la dosis baja, 0/70 a la dosis media, 5/70 a la dosis alta; $p < 0,05$, prueba exacta de Fisher), y se produjo un carcinoma de células tubulares renales en un macho expuesto a dosis altas. Se constató un aumento en la gravedad de las patologías nefrológicas entre los machos y hembras expuestos (Cattley *et al.*, 1994).

Por otro lado, se expuso a grupos de 70 ratas macho Charles River CD, de 62 días de edad, a concentraciones, vía inhalatoria, de 0, 1, 5, o 25 ppm [0, 5, 25 o 125 mg/m³] de nitrobenzeno (>99,8% de pureza) durante 6 horas al día y durante cinco días a la semana, 24 meses. Se sacrificaron grupos de 10 ratas por sexo y grupo para una evaluación intermedia a los 15 meses. Los pesos corporales y la supervivencia no se vieron afectados por la exposición al nitrobenzeno durante el estudio. La incidencia de neoplasmas hepatocelulares aumentó en los grupos sometidos a exposición (adenomas y car-

cinomas: 2/63 en controles, 1/67 a la dosis baja, 4/70 a la dosis media, 9/65 a la dosis alta; $p < 0,05$, prueba de tendencia Cochran-Armitage). La incidencia de *spongiosis hepatitis* aumentó en las ratas sometidas a dosis altas, mientras que los casos de hepatocitomegalia centrilobular aumentaron en los grupos de dosis media y alta. La incidencia de pigmentación de células de Kupffer aumentó en todos los grupos tratados (Cattley *et al.*, 1994, 1995).

En base a los ensayos biológicos publicados por Cattley *et al.* (1994), IARC (1996) determinó que existían "pruebas suficientes, en animales de laboratorio, de la carcinogénesis del nitrobenzeno". Sin embargo, las evidencias en seres humanos de la carcinogénesis del nitrobenzeno se consideraron insuficientes (IARC, 1996).

RECOMENDACIÓN

La toxicología del nitrobenzeno resulta muy compleja y afecta a un número anormalmente elevado de órganos diana de toxicidad (incluyendo apéndice nasal, médula, hígado, riñón, pulmón, eritrocitos). La formación de metahemoglobina en seres humanos y en animales de laboratorio tras la exposición por inhalación, por vía oral o percutánea al nitrobenzeno ha quedado demostrada adecuadamente. La metahemoglobinemía se considera un efecto grave sobre la salud en seres humanos y animales de laboratorio. Antiguamente, y por analogía con los niveles tolerables de COHb en personas expuestas a monóxido de carbono, se consideraba tolerable un nivel máximo de metahemoglobina del 5% (DFG, 1995); el correspondiente nivel máximo de captación de hemoglobina se ha evaluado en 100 µg de anilina, liberada por hidrólisis ácida de hemoglobina aislada por litro de plasma completo (DFG, 1996). La exposición al nitrobenzeno ha provocado metahemoglobinemia en los ensayos de inhalación en animales a

5 ppm (Hamm, 1984; Cattley *et al.*, 1995) y en seres humanos a 6 ppm (Pasceri *et al.*, 1958). En general se ha considerado que una concentración en aire de 1 ppm es el NOAEL para la formación de metahemoglobina (Henderson *et al.*, 1943; Salmova *et al.*, 1963; ACGIH, 1996). En consecuencia, los valores de límite profesional para el nitrobenceno se han fijado en 1 ppm en la mayoría de países, basándose en una evaluación previa del ACGIH (1996) en EE.UU.

En 1995, Cattley *et al.* publicaron los resultados de ensayos biológicos durante dos años con exposiciones por inhalación (6 horas/día; 5 días/semana) de nitrobenceno en dos líneas de ratas (F344, CD; 0, 1, 5, 25 ppm) y en una línea de ratones (B6C3F1; 0, 5, 25, 50 ppm). Se detectó carcinogénesis por nitrobenceno en múltiples zonas, y las tasas de tumoración aumentaron con las concentraciones de exposición, a partir de 5 ppm (*v.s.*). Sin embargo, las pruebas de genotoxicidad con nitrobenceno *in vitro* (Ensayo de Ames; UDS con hepatocitos humanos *in vitro*) e *in vivo* (UDS, hepatocitos de rata; SCE y aberraciones cromosómicas en linfocitos de ratas expuestas) se evaluaron como negativas (IARC, 1996). Todo ello apunta a que el nitrobenceno es un carcinógeno experimental, pero con un mecanismo de acción no genotóxico.

No obstante, los mecanismos toxicológicos subyacentes al desarrollo de tumores experimentales no se conocen del todo. A excepción del riñón, los tumores observados en animales expuestos a nitrobenceno suelen mostrar una incidencia de fondo notable en los animales de control. Esto viene a confirmar la hipótesis de que el aumento en la incidencia de tumores viene determinada por mecanismos no genotóxicos. Existen pruebas de que el riñón es un órgano diana de toxicidad para el nitrobenceno, que provoca cambios renales degenerativos tanto en ratones como en ratas. Parece probable por tanto

que el único carcinoma renal observado en el grupo de exposición más alta de ratas macho F344 surgiera en condiciones de citotoxicidad crónica. El aumento en la incidencia de tumores de tiroides en ratones y ratas se considera una consecuencia indirecta de la hipertrofia de hígado, con las correspondientes perturbaciones en el metabolismo de la hormona tiroidea. Este mecanismo tumoral en la tiroides de roedores es bien conocido y tiene poca relevancia en cuanto a la salud en seres humanos. Aunque se detectó una elevada incidencia de adenomas y carcinomas alveolares-bronquiales en los ratones expuestos a nitrobenceno, también se observó una alta incidencia de fondo de estos tumores en los ratones de control, y los tumores pulmonares de ratón parecen ser específicos de la especie.

En base a estas salvedades y a los datos de Cattley *et al.* (1995) que demuestran oncogénesis experimental por inhalación repetida y a largo plazo de 5 ppm de nitrobenceno, y presentan efectos mínimos sobre la salud tales como deposición pigmentaria en el epitelio nasal para exposiciones a 1 ppm, se deberá situar el Límite de Exposición Profesional (LEP) en términos de salud muy por debajo de 1 ppm de nitrobenceno.

Con estos antecedentes, se recomienda un VLA[®]-ED de 0,2 ppm (1 mg/m³) para el nitrobenceno. No se establece un VLA[®]-EC.

El potencial del nitrobenceno para la penetración cutánea ha quedado suficientemente establecido; los posibles escenarios de exposición (BUA 1991) apuntan a una proporción de 1/3 para absorción cutánea y de 2/3 para la penetración por inhalación, bajo condiciones de exposición (niveles en aire) de 1 ppm de nitrobenceno, que hasta el momento eran admitidas en numerosos países. Esto demuestra la necesidad de clasificación del nitrobenceno como compuesto con penetración cutánea y se recomienda la notación "vía dérmica".

BIBLIOGRAFÍA

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienist: Nitrobenzen: In: Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. 7th edition, 2001.

Albrecht, W., Neumann, H.G.: Biomonitoring of aniline and nitrobenzene. Hemoglobin binding in rats and analysis of adducts, Arch. Toxicol. 57:1-5 (1985).

Beauchamp, R. O., Irons, R. D., Rickert, D.E., Couch, D. B., Hamm, T. E.: A critical review of the literature on nitrobenzene toxicity. CRC Crit. Rev. Toxicol. 11:33-84 (1982).

Bolt, H. M., Neumann, H.G., Lewalter, J.: Zur Problematik von ABT-Werten für aromatische Amine. Arbmed. Sozmed. Präventivmed. 20:197-201.

BUA (Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe der Gesellschaft Deutscher Chemiker) Nitrobenzol. BUA Stoffbericht 59 VCH, Weinheim (1991).

Cattley, R.C., Everitt, J.I., Gross, E.A., Moss, O.R., Hamm, T.E., Popp, J.A.: Carcinogenicity and toxicity of inhaled nitrobenzene in B6C3F1 mice and F344 and CD rats. Fundam. Appl. Toxicol. 22: 328-340 (1994).

Cattley, R.C., Everitt, J.I., Gross, E.A., Moss, O.R., Hamm, T.E., Popp, J.A.: Erratum Fundam. Appl. Toxicol. 25:195 (1995).

Chiu, C. W., Lee, L.H., Wang, C. Y., Bryan, G.T.: Mutagenicity of some commercially available nitro compounds for *Salmonella typhimurium*. Mutat. Res. 58:11-22 (1978).

Dorigan, J., Hushon, J.: Air pollution Assessment of Nitrobenzene. Mitre Technical Report 7228, US EPA, Dept of Commerce, National Technical Information Service, PB-257776 (1976).

Eyer, P.: Reactions of Nitrobenzene with reduced Glutathione. Chem. Biol. Interact. 24:227-239 (1979).

Eyer, P.: Reactions of nitrosoarenes with sulphhydryl groups: Reaction mechanism and biological significance. In: Gorrod/Damani (eds.): Biological Oxidation of Nitrogen in Organic Molecules. Ellis Horwood, Chichester (1985), pp. 386-399.

DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft: Nitrobenzene. In: H. Greim, G. Lehnert, Biological Exposure Values for Occupational Toxicants and Carcinogens, Critical Evaluation of BAT Values, Volume 2, pp.77-82 (1995).

DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft: Nitrobenzol. In: H. Greim, D. Henschler, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten, 27. Lieferung. VCH Verlag Weinheim (1998).

Goldstein, R.S., Chisan, J.P., Sherrill, J.M., Hamm, T.E.: Influence of dietary pectin on intestinal microflora metabolism and toxicity of nitrobenzene. Toxicol. Appl. Pharmacol. 75:547-553 (1984).

Hamm, T.E.: Ninety-Day Inhalation Toxicity Study of Nitrobenzene in F33 Rats, CD Rats and B6C3F1 Mice. Final Study Report. CIIT, Research Triangle Park, USA (1984).

Hatakeyama, S., Kovacs, K., Jeghiayan, E. and Blaschek, I. A.: Aniline-induced changes in the corpora lutea of rats. Am. J. Obst. Gynecol. 109 (1971), 469-473.

Henderson, Y. and Haggard, H. W.: Noxious gases, p. 228. Reinhold Corp. New York, NY. (1943).

IARC, International Agency for Research on Cancer: 'Nitrobenzene'. In: IARC Monographs on the Evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol.65, pp. 380-408 (1996).

Ikeda, M. and Kita, A.: Excretion of p-nitrophenol and p-aminophenol in the urine of a patient exposed to nitrobenzene. Br J. Ind. Med. 21: 210-213. (1964).

Mason, R. P.: Free radical metabolites of foreign compounds and their toxicological significance. In: Hodgson/Ben/Philpot

(eds.): Reviews in Biochemical Toxicology. Elsevier, New York (1979) pp. 151-200.

Medinsky, M. A. and Irons, R. D.: Sex, strain and species differences in response of rodents to nitrobenzene vapors. In: The toxicity of nitroaromatic compounds (D. E. Rickert, ed.), pp. 35-51. Hemisphere Publishing, New York, NY (1985).

Morgan, K. T., Gross, E. A., Lyght, O. and Bond, J. A.: 'Morphologic and biochemical studies of a nitrobenzene-induced encephalopathy in rats'. Neurotoxicology 6: 105-111 (1985).

Myslak, Z., Piotrowski, J., K. and Mussialowicz, E.: Acute nitrobenzene poisoning. A case report with data on urinary excretion of p-nitrophenol and p-aminophenol. Arch. Toxicol. 28: 208-213 (1971).

Neumann, H. G.: Analysis of hemoglobin as a dose monitor for alkylating and arylating agents. Arch. Toxicol. 56: 1-6 (1984).

Pasceri, L., Magos, L. and Batskor, A. (1958) 'Threshold and toxic limits of some

amino and nitro compounds'. Arch. Ind. Health. 18: 1-8.

Piotrowski, J. : 'Further investigations on the evaluation of exposure to nitrobenzene'. Br. J. Ind. Med. 24: 60-65. (1967)

Sax, N. 1.: Dangerous properties of industrial materials. Sixth ed. Van Nostrand Reinhold, New York, p. 2010. (1984)

Seeger, R. and Neumann, H. G.: Nitrobenzol. Dt. Apoth. Z. 126 597-598. (1986)

Uehleke, H.: Nitrosobenzol und Phenylhydroxylamin als Zwischenstoffe der biologischen Reduktion von Nitrobenzol. Naturwissenschaften 50: 335-336. (1963)

Uehleke, H.: Nitrosobenzol im Blut von Katzen nach Verabreichung von Nitrobenzol. Arch. Exp. Path. Pharmacol. 247: 412-418. (1964)

Wirth, W. and Gloxhuber, C. Toxikologie. 3rd ed. Thieme Verlag, Stuttgart pp. 231-232. (1981)