

RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU

Centrum voor Stoffen en Risicobeoordeling

AD-HOC ADVIES

Betreft: N-methyl-2-pyrrolidon (CAS-nummer 872-50-4):
afleiding voorlopige humaan-toxicologische MTR t.b.v afleiding voor-
lopige EBVC_{humaan}

Probleem: Lokale bodemverontreiniging te Arnhem, 12-02-1999

Opdrachtgever: RIVM/IEM (Jan Kliet - vraag van Inspectie Milieuhygiene Oost).

Datum binnenkomst: 08-04-1999

Datum advies: 11-05-1999

TOXIS-nummer: 6671 (filenaam: 06671a00.doc)

Advies opgesteld door:

A.J. Baars (behandelaar/beoordelaar) & P.J.C.M. Janssen (toetser)

1. Afleiding voorlopige humaan-toxicologische MTR

N-methyl-2-pyrrolidon (NMP), synoniem: 1-methyl-2-pyrrolidon. Formule: $C_4H_6(CH_3)NO$, MW 99,1. CAS-nummer: 872-50-4. Smeltpunt $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$, kookpunt $202\text{ }^{\circ}\text{C}$. NMP is een kleurloze tot lichtgele hygroscopische vloeistof met een flauwe amine-achtige geur, goed mengbaar met water en oplosbaar in de meeste organische oplosmiddelen. Het wordt gebruikt als oplosmiddel en in de fabricage van verven, cosmetica, bestrijdingsmiddelen en geneesmiddelen. Conversiefactoren: $1\text{ ppm} = 4,12\text{ mg/m}^3$; $1\text{ mg/m}^3 = 0,24\text{ ppm}$.

Eerder advies betreffende NMP werd uitgebracht door RIVM/ACT d.d. 21-03-1989 [Janssen & Knaap, 1989] en integraal overgenomen in het rapport n.a.v. een onderzoek naar de emissies van een spuitbussen vervaardigend bedrijf te Veenendaal [Kliest et al., 1989]. Vastgesteld werd dat de stof niet carcinogeen of mutageen is, dat de geurdrempel niet bekend is, en dat in een chronische inhalatoire studie met ratten nog een marginaal effect werd gezien bij 40 mg/m^3 . Er werd geen TDI afgeleid.

De dampspanning van NMP wordt door verschillende auteurs verschillend opgegeven: 39 Pa bij $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en 45 Pa bij $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ [HSDB, 1999], 70 Pa bij $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ [Chemiekaarten, 1998], en 133 Pa bij $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ [Janssen & Knaap, 1989]. De classificatie is derhalve: *vluchtig tot zeer vluchtig*, zodat naast een orale ook een inhalatoire TDI wordt afgeleid.

De Nederlandse MAC-waarde voor NMP is 80 mg/m^3 (20 ppm) [MAC, 1997]. Ook volgens recente gegevens is geen geurdrempel bekend.

In ratten en mensen wordt NMP snel geabsorbeerd na orale, inhalatoire, en dermale opname. Ook de verdeling en eliminatieprocessen verlopen snel: in ratten wordt 80-90% van de dosis binnen 24 uur via de urine uitgescheiden. De stof wordt gemetaboliseerd via hydrolyse, primair via 5-OH-NMP [Åkesson and Paulsson, 1997; Åkesson and Jönsson, 1997].

1.1. Carcinogeniteit en genotoxiciteit

In een 2 jaar durende uitgebreide inhalatiestudie werden 120 ratten per sexe en per dosis blootgesteld aan 0, 40 of $400\text{ mg NMP per m}^3$; de blootstelling vond plaats gedurende 5 uur/dag en 6 dagen/week. De incidentie van verkleurde natte perinea was verhoogd bij beide testconcentraties, en bij de hoogste blootstelling produceerden beide sexen donker gekleurde urine. Bij mannelijke dieren van de 400 mg/m^3 dosisgroep werd enige groeivertraging (6 %) alsmede toenames van de hematocrietwaarden, alkalische fosfatase en urine-volume waargenomen. Bij de mannelijke dieren van beide blootstellingsgroepen was na 12 en 18 maanden de incidentie van chronische progressieve nefropathie enigszins verhoogd. De tumorincidentie in de behandelde groepen was niet verhoogd [Lee et al., 1987]. Gelet op de zeer marginale en reversibele effecten bij de laagste blootstelling en de aard en omvang van de effecten bij de hoogste blootstelling kan uit deze studie geconcludeerd worden tot een NOAEL van 40 mg NMP per m^3 .

In een aantal Ames testen (8 verschillende *Salmonella typhimurium* stammen, met en zonder metabolische activering middels Aroclor-geïnduceerde rattelever S-9 mix) met 6 log-lineaire doses van 0,01 tot $1000\text{ }\mu\text{mol/plaat}$ waren alleen het aantal revertanten in testen met de base-paar substitutie stammen TA102 (alle doseringen) en TA104 (0,01, 1 en $10\text{ }\mu\text{mol/plaat}$) (beiden testen zonder S9) significant groter dan in de controles. Er was geen dosis-respons relatie, en de verhoging was minder dan tweemaal de achtergrondwaarde. In pre-incubatietesten was NMP in de hoogste dosering cytotoxisch [Wells et al., 1988, samengevat in IUCLID, 1999]. In combinatie met een mengsel van ethylacetaat en propionitril was NMP een sterke inducer van mitotisch chromosoomverlies in *Saccharomyces cerevisiae* D61.M [Zimmermann et al., 1988, samengevat in IUCLID, 1999]. NMP alleen induceerde slechts chromosoomverlies na koude-schok [Mayer et al., 1987, samengevat in IUCLID, 1999], maar

niet na continue incubatie bij 20 °C [Zimmermann et al., 1989, samengevat in IUCLID, 1999]. Een muizen-lymphomatest, een micronucleustest (beenmerg muizen), en een dominant-lethaalttest waren negatief, evenals een genmutatietest met CHO cellen (HPRT locus), een *in vivo* chromosoom-aberratietest in hamsters, en een UDS test met primaire rattenhepatocyten [EMEA/CVMP, 1998]. Conclusie: NMP is niet carcinogeen, en heeft slechts een zeer zwakke mutagene potentie.

1.1. Toxiciteitsstudies

Acute toxiciteitsstudies geven aan dat NMP matig toxisch is. De orale LD₅₀ varieert in ratten, muizen, cavia's, en konijnen van 3100 tot 7900 mg/kg lg. De dermale LD₅₀ varieert in ratten en konijnen van 2500 tot 7000 mg/kg lg. Na toediening per injectie (sc, ip en iv) varieert de LD₅₀ in ratten en muizen van 2000 tot 4400 mg/kg lg. De LC₅₀ voor ratten bedraagt 3100-8800 mg/m³ bij blootstelling gedurende 4 uur [IUCLID, 1999].

In een 28 dagen inhalatiestudie met ratten blootgesteld aan 0, 100, 500 en 1000 mg NMP/m³ (whole-body, 6 uur/dag, 5 dagen/week) werd bij alle concentraties dosis-afhankelijk lethargie en onregelmatige ademhaling waargenomen. Tevens werden apathie, verlaagd lichaamsgewicht en verminderde toename van het lichaamsgewicht, en irritatie van de neusslijmvliezen gevonden; in overlevende dieren waren de effecten reversibel. In de hoogste dosering trad excessieve sterfte op; necropsie toonde hypoplasie van het beenmerg en atrofie/necrose van de lymfoïde weefsels in thymus, milt en lymfeklieren [Lee et al., 1987]. De LOAEL in deze studie bedroeg 100 mg NMP per m³.

In een tweetal 28-dagen orale studies met ratten en muizen kregen de dieren NMP via het voer (ratten en muizen) dan wel per intubatie (ratten), overeenkomend met doseringen van 130-4060 mg/kg lg/dag. Dosisafhankelijk werden afnemende lichaamsgewichten gezien in mannetjesratten vanaf 514 mg/kg lg/dag, en toename van lever- en niergewicht en afname van het lymfocytengetal vanaf 1028 mg/kg lg/dag. In vrouwtjesratten werden afnemende lichaamsgewichten en klinisch-chemische afwijkingen geconstateerd vanaf 2268 mg/kg lg/dag. Bij 2060 mg/kg lg/dag werden tevens afnemend testegewicht en histologische afwijkingen in de testes waargenomen, alsmede meer algemene effecten zoals tremor, rusteloosheid, opgezette vacht en defensieve reacties. In mannetjesmuizen werden vanaf 2130 en in vrouwtjesmuizen bij 4060 mg/kg lg/dag microscopisch renale afwijkingen geconstateerd [BASF, 1978, Malek et al., 1997, samengevat in IUCLID, 1999]. Uit deze studies kan geconcludeerd worden tot een NOAEL voor de rat van 257 mg NMP per kg lg per dag.

In een 90-dagen orale studie met ratten kregen de dieren NMP toegediend via het voer, overeenkomend met doseringen van 169-1344 mg/kg lg/dag. Afnemende lichaamsgewichten werden gezien vanaf 433 (mannetjes) en 1344 (vrouwtjes) mg/kg lg/dag. In de hoogste dosering werden tevens verhoogd levergewicht (vrouwtjes) en verhoogd niergewicht (beide sexen) gezien. Neurologische gedragstesten toonde afwijkingen in mannetjes vanaf 433 mg/kg lg/dag. (Du Pont de Nemours, 1995, samengevat in IUCLID, 1999). De NOAEL in deze studie bedroeg 169 mg NMP per kg lg per dag.

In een 90-dagen inhalatoire studie met ratten werden de dieren blootgesteld (head-only) aan 500-3000 mg NMP per m³ (6 uur/dag, 5 dagen/week). Geelgekleurde urine werd bij alle doseringen gezien, irritatie van het neusslijmvlies bij 1000 mg/m³, en klinische symptomen alsmede irritatie van de ademhalingswegen bij 3000 mg/m³. Tevens waren bij mannetjes de lichaamsgewichten significant verlaagd en werden bloedafwijkingen geconstateerd [BASF, 1994, samengevat in IUCLID, 1999]. De NOAEL in deze studie bedroeg 500 mg NMP per m³.

In een 90-dagen orale studie met honden die via het voer NMP kregen toegediend in doseringen van 0, 25, 79 of 250 mg/kg lg/dag werd in de hoogste dosering groeivertraging waargenomen, terwijl bij 79 en 250 mg/kg lg/dag een dosis-gerelateerde toename in het aantal bloedplaatjes gepaard aan een toegenomen incidentie van megakaryocyten in het sternale merg werd gevonden. Bij mannetjes werd tevens een afname van serum cholesterol gezien [Becci et al., 1983]. De NOAEL in deze studie bedroeg 25 mg NMP per kg lg per dag.

De resultaten van een 2-jaar durende inhalatiestudie met ratten werden reeds hierboven vermeld (paragraaf 1.1).

In verschillende orale, dermale en inhalatoire reproductietoxiciteitstesten (inclusief embryotoxiciteits- en teratogeniteitsstudies) waarin de doseringen varieerden van ca. 40-2650 mg NMP/kg lg per dag respectievelijk ca. 40-1000 mg NMP per m³, werden embryotoxische en teratogene effecten waargenomen in ratten, muizen en konijnen, waarbij niet altijd maternale toxische effecten werden gezien. NOAEL's varieerden van 332 (oraal rat), 237 (dermaal rat), 630 (ip muis) tot 1060 (oraal muis) mg/kg lg, en 500 mg/m³ (inhalatoir konijn) [EPA, 1988, 1989, BASF, 1991, 1993, samengevat in IUCLID, 1999; Becci et al., 1982]. De laagste NOAEL werd gerapporteerd in een volgens GLP uitgevoerde studie met ratten die gedurende de dagen 6-15 van de dracht oraal 40, 125 of 400 mg NMP per kg lg kregen toegediend; bij de hoogste dosering werd maternale groeivertraging, gereduceerde foetale gewichten, en toegenomen foetale dwerggroei waargenomen. De NOAEL (maternaal zowel als foetaal) bedroeg 125 mg/kg lg/dag [EPA, 1988, samengevat in IUCLID, 1999].

In proefdieren is NMP in geringe mate huid-irriterend en matig oog-irriterend. Er zijn geen aanwijzingen voor sensibilisatie gevonden. In studies met humane vrijwilligers werden vergelijkbare effecten waargenomen [IUCLID, 1999]. NMP penetreert gemakkelijk de huid [Midgley et al., 1992].

Er zijn geen gegevens betreffende immunotoxiciteit gevonden.

1.1. Humane effecten

De literatuur beschrijft een geval van een 23-jaar oude analiste die gedurende de eerste 20 weken van de zwangerschap beroepsmatig was blootgesteld aan NMP. De blootstelling vond plaats bij kamertemperatuur, met een piek in week 16. Gedurende de vier volgende dagen trad malaise, hoofdpijn en nausea op. Onderzoek van de foetus in week 14 toonde geen afwijkingen, maar in week 25 werd vertraagde ontwikkeling geconstateerd en in week 31 werd de foetus dood geboren, hetgeen op deze leeftijd ongewoon is. De dermale opname werd belangrijker ingeschat dan de inhalatoire, het niveau van de blootstelling is echter onbekend [Solomon et al., 1996].

1.1. Evaluatie en afleiding voorlopige richtwaarde (voorlopige MTR)

Belangrijkste NOAEL's en LOAL's:

Inhalatoir:	NOAEL 2 jaar rat: 40 mg/m ³ , 6 uur/dag, 5 dagen/week [Lee et al., 1987] NOAEL 90 dagen rat: 500 mg/m ³ , 6 uur/dag, 5 dagen/week [BASF, 1994] LOAEL 28 dagen rat: 100 mg/m ³ , 6 uur/dag, 5 dagen/week [Lee et al., 1987] NOAEL reprotox konijn: 500 mg/m ³ [BASF, 1991, 1993]
Oraal:	NOAEL 28 dagen rat: 257 mg/kg lg/dag [BASF, 1978] NOAEL 90 dagen rat: 169 mg/kg lg/dag [Du Pont de Nemours, 1995] NOAEL 90 dagen hond: 25 mg/kg lg/dag [Becci et al., 1983] NOAEL reprotox rat: 125 mg/kg lg/dag [EPA, 1988]
Dermaal:	NOAEL reprotox rat: 237 mg/kg lg/dag [Becci et al., 1982]

Op basis van de bovenvermelde gegevens kan uit de 90-dagen studie met honden een overall orale NOAEL worden afgeleid van 25 mg/kg lg/dag [Becci et al., 1983].

Deze orale NOAEL leidt, gebruikmakend van een onzekerheidsfactor van 100, tot een voorlopige MTR oraal van 0,25 mg/kg lg/dag.

Uit de inhalatoire studies kan een overall NOAEL van 40 mg/m³ (2-jaar-studie rat, 6 uur/dag, 5 dagen/week) [Lee et al., 1987] worden afgeleid. Deze inhalatoire waarde wordt omgerekend naar continue blootstelling en bedraagt dan $6/24 \times 5/7 \times 40 = 7,1 \text{ mg/m}^3$. Gebruikmakend van een onzekerheidsfactor van 100 leidt dit tot een voorlopige MTR inhalatoir van 71 µg/m³.

3. Gebruikte literatuur

Åkesson B, Jönsson BAG, 1997.

Major metabolic pathway for N-methyl-2-pyrrolidone in humans.

Drug Metab Dispos 25, 267-269.

Åkesson B, Paulsson K, 1997.

Experimental exposure of male volunteers to N-methyl-2-pyrrolidone (NMP): acute effects and pharmacokinetics of NMP in plasma and urine.

Occupat Environm Med 54, 236-240.

BASF, 1978.

Evaluation of the toxicity of N-methylpyrrolidone in the rat by the 4 week oral intubation test.

XXV/436.

as summarised in IUCLID, 1999.

BASF, 1991.

Range-finding study for the maternal inhalation toxicity of N-methylpyrrolidone in pregnant rabbits.

Project no. 21RO544/90049.

as summarised in IUCLID, 1999.

BASF, 1993.

Study of the prenatal toxicity of N-methylpyrrolidone in rabbits after inhalation of vapor-aerosol mixtures.

Project no. 41RO544/90100.

as summarised in IUCLID, 1999.

BASF, 1994.

Study on the inhalation toxicity of N-methylpyrrolidone as liquid aerosol in rats, 90 days test.

Project no. 50IO544/90061.

as summarised in IUCLID, 1999.

Becci PJ, Knickerbocker ML, Reagan EL, Parent RA, Llewellyn WB, 1982.

Teratogenicity study of N-methylpyrrolidone after dermal application to Sprague-Dawley rats.

Fund Appl Toxicol 2, 73-76.

Becci PJ, Gephart LA, Koschier FJ, Johnson WD, Burnette LW, 1983.

Subchronic feeding study in Beagle dogs on N-methylpyrrolidone.

J Appl Toxicol 3, 83-86.

Chemiekaarten, 1998.

Gegevens voor het veilig werken met chemicaliën.

NIA/TNO/VNCI, 13de editie.

Samson Tjeenk Willink, Alphen a/d Rijn.

Du Pont de Nemours & Company, 1995.

Subchronic oral toxicity: 90 days feeding and neurotoxicity study in rats with N-methylpyrrolidone.

Medical research project no. 9737-001.

as summarised in IUCLID, 1999.

EMEA/CVMP, 1998.

European agency for the evaluation of medical products, Committee for veterinary medical products.

1-Methyl-2-pyrrolidone - summary report.

EMEA/MRL/493/98, London, UK; September 1998.

EPA, 1988.

Environmental Protection Agency (USA):

- Letter from Ciba-Geigy Corp. to USEPA regarding initial information on studies demonstration embryo-

- lethality in both the mouse and rat with N-methylpyrrolidone; NITS: OTS0513411, EPA doc. ID 88-880000001.
- Developmental toxicity study in rats with N-methylpyrrolidone; NITS: OTS0539109, EPA doc. ID 88-920001848.
as summarised in IUCLID, 1999.
- EPA, 1989.
Environmental Protection Agency (USA):
Evaluation of developmental toxicity on N-methylpyrrolidone with attachment and cover letter dated 052588;
NITS: OTS0513411-1, EPA doc. ID 89-880000180.
as summarised in IUCLID, 1999.
- HSDB, 1998.
Hazardous substances data bank.
National Library of Medicine, Bethesda, MD, USA.
- IUCLID, 1999.
International uniform chemical information database.
European Chemicals Bureau, Ispra, Italy.
- Janssen PJCM, Knaap AGAC, 1989.
Advies inzake N-methylpyrrolidon.
Adviescentrum Toxicologie, RIVM, Bilthoven; 21 maart 1989.
- Kliest JJG, Janssen PJCM, Bloemen HJTh, Brinkman FJJ, Knaap AGAC, 1989.
Evaluatie van de emissies van de Boxal-vestiging te Veenendaal.
RIVM rapport 748704011, Bilthoven; juli 1989.
- Lee KP, Chromey NC, Culik R, Barnes JR, Schneider PW, 1987.
Toxicity of N-methyl-2-pyrrolidone (NMP): teratogenic, subchronic and two-year inhalation studies.
Fund Appl Toxicol 9, 222-235.
- MAC, 1997.
Nationale MAC-lijst 1997-1998.
Ministerie van Sociale Zaken & Werkgelegenheid.
SDU uitgevers, Den Haag.
- Malek DE, Malley LA, Slone TW, Elliot GS, Kennedy GL, Mellert W, Deckardt C, Hildebrand B, Murphy SR, Bower DB, Wright GA, 1997.
Repeated dose toxicity (28 days) in rats and mice with N-methylpyrrolidone (NMP).
Drug Chem Tox 20, 63-67.
as summarised in IUCLID, 1999.
- Mayer VW, Goin CJ, Taylor-Mayer RE, 1987.
Aneuploidy induction in *Saccharomyces cerevisiae* by two solvent compounds, 1-methyl-2-pyrrolidone and 2-pyrrolidinone.
Environm Molec Mutagenesis 11, 31-40.
as summarised in IUCLID, 1999.
- Midgley I, Hood AJ, Chassead LF, Brindley CJ, Baughman S, Allan G, 1992.
Percutaneous absorption of co-administered N-methyl-2-[¹⁴C]pyrrolidone and 2-[¹⁴C]pyrrolidinone in the rat.
Food Chem Toxicol 30, 57-64.
- Solomon GM, Morse EP, Garbo MJ, Milton DK, 1996.
Stillbirth after occupational exposure to N-methyl-2-pyrrolidone.
J Occupat Environm Med 38, 705-713.
- Wells D, Thomas H, Digenis GA, 1988.

Mutagenicity and cytotoxicity of N-methyl-2-pyrrolidone and 4-(methylamino)butanoic acid in the Salmonella microsome assay.
J Appl Toxicol 8, 135-139.
as summarised in IUCLID, 1999.

Zimmermann FK, Holzwarth ULI, Scheel I, Resnick MA, 1988.
Aprotic polar solvents that affect brain tubulin aggregation in vitro induce aneuploidy in yeast cells growing at low temperatures.
Mutation Res 201, 431-442.
as summarised in IUCLID, 1999.

Zimmermann FK, Scheel I, Resnick MA, 1989.
Induction of chromosome loss by mixtures of organic solvents including neurotoxins.
Mutation Res 224, 287-303.
as summarised in IUCLID, 1999.