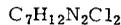
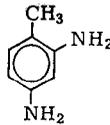


2,4-Toluyldiamin

| | |
|---------------------------------------|--|
| MAK | vgl. Abschn. III A 2), MAK-Werte-Liste 1985 |
| Datum der letzten Festsetzung: | 1985 |
| Synonyma: | 2,4-Diaminotoluol 1-Methyl-2,4-Diaminobenzol |

Chemische Bezeichnung: 2,4-Toluyldiamin

Formel:



| | |
|--------------------------|------------|
| Molekulargewicht: | 122,16 |
| Schmelzpunkt: | 99 °C |
| Siedepunkt: | 283–285 °C |

1 ml/m³ (ppm) = 5,06 mg/m³ **1 mg/m³ = 0,197 ml/m³ (ppm)**

Allgemeiner Wirkungscharakter

2,4-Toluyldiamin (TDA) ist akut mäßig toxisch (vgl. Tab. 1) und nur leicht reizend an Haut und Schleimhäuten (siehe Kapitel Hauttoxizität). Es wird gut durch die Haut resorbiert und hat eine schwache sensibilisierende Wirkung (siehe Kapitel Sensibilisierungstests).

Nach subchronischer und chronischer Exposition ist das Zielorgan vor allem die Leber. Dort entstehen im Tierversuch bei Ratten und Mäusen nach chronischer Fütterung Zellschädigungen (Degeneration, Zirrhose) und Karzinome, z. T. mit Metastasen in den Lymphknoten. TDA ist ein schwacher Methämoglobinbildner.

In vielen Kurzzeittests ist die Substanz mutagen.

Untersuchungen zur reproduktionstoxikologischen Wirkung des reinen TDA sind bisher weder an Versuchstieren durchgeführt, noch für den Menschen bekannt geworden. Die nur bei Mischexposition (TDA/Dinitrotoluol) durchgeführten Feldstudien am Menschen (s. Seite 3) lassen keine eindeutigen Schlüsse zu.

Angaben zur Pharmakokinetik

Aufnahme, Abbau und Ausscheidung

Nach oraler oder intraperitonealer Aufnahme wird TDA schnell vom Körper resorbiert und hauptsächlich über die Nieren ausgeschieden. Innerhalb der ersten Stunde nach i. p.-Injektion von 0,66 mg/kg KG 2,4-(Methyl-¹⁴C)-Toluylendiamin bei Mäusen erschienen etwa 50% der radioaktiven Markierung im Urin wieder. Etwa 2 Stunden nach der Applikation verschob sich die Ausscheidung zu den Faeces, wo innerhalb von 24 Stunden 22% der Radioaktivität auftraten. In der abgeatmeten Luft fanden sich nur 1,25%. Die im Organismus verbleibende Radioaktivität befand sich vorwiegend in Leber, Niere und Blut, wobei die Halbwertszeit der Eliminierung entsprechend 11,7; 9,1 und 12,6 Stunden betrug [1]. Nach topischer Applikation von 4 µg/cm² Haut ¹⁴C-TDA lag das Maximum der ¹⁴C-Harnausscheidung beim Menschen zwischen der 4. und 8. Stunde und beim Affen zwischen der 8. und 12. Stunde nach Beginn der Applikation [2].

Mäuse eliminieren TDA schneller als Ratten. Die Ausscheidung ist bei ihnen nach 2 Tagen, bei Ratten nach 6 Tagen praktisch vollständig, woraus sich nach Meinung der Autoren die unterschiedliche Toxizität für beide Spezies erklären könnte [1, 3, 4]. Untersuchungen der Exkremente von Ratten, Kaninchen und Meerschweinchen nach einmaliger oraler Zufuhr von 50 mg/kg KG TDA zeigten, daß nur etwa 0,1 bis 1,3% der zugeführten Menge unverändert ausgeschieden werden. Die Substanz wird hauptsächlich zu Aminophenolen abgebaut. Hauptprodukt dabei ist 5-Hydroxy-2,4-diaminotoluol. Als Konjugate werden acetylierte (hauptsächlich die Aminogruppe in 4-Stellung) und glucuronidierte Produkte gefunden [4–6]. Nach subkutaner Injektion von 5,54 mg TDA erschienen beim Menschen innerhalb von 48 Stunden 47,6% der Substanz als N,N'-Diacetylderivate im Urin wieder [7].

Mit der Aminophenolausscheidung im Urin korreliert der Methämoglobingehalt im Blut, wobei das Maximum bei 6 bis 8 Stunden nach der Applikation liegt. Es ist bisher unklar, ob der toxische Effekt von TDA auf der Methämoglobinbildung oder auf anderen Einwirkungen beruht [5, 8].

Bindungsstudien

Die einmalige i. p.-Injektion von 100 mg/kg KG TDA bei Ratten verursachte irreversible Bindung der Substanz an Leber- und Nierenproteine und an die ribosomale RNA der Leber. In vitro führte die Inkubation von 2,4-(Methyl-³H)-Toluylendiamin mit Rattenlebermikrosomen im Beisein von NADPH zur irreversiblen Bindung von TDA an mikrosomale Proteine. Weder in vivo noch in vitro konnten in dieser Studie irreversible Interaktionen mit DNA beobachtet werden [9].

Erfahrungen beim Menschen

Bis heute sind weder Fall-Studien bekannt noch epidemiologische Untersuchungen durchgeführt worden, die es gestatten, eine klare Wirkungsbeziehung zwischen TDA-Exposition und Befund abzuleiten. In retrospektiven Untersuchungen, die von vermehrten Blasentumoren bei Arbeitern mit Farbstoffumgang, z. B. Färbern, oder von vermehr-

von ringmarkiertem ^{14}C -TDA-Dihydrochlorid ($4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ Haut), in Aceton gelöst, wurde beim Menschen (Unterarm) eine Hautresorptionsrate von $23,7 \pm 16,1\%$ und beim Affen (Abdomen) eine Rate von $53,8 \pm 15,4\%$ verzeichnet [2].

Subchronische und chronische Toxizität

Die Fütterung von TDA (Dosis nicht angegeben) über 100 Tage an Ratten führte zu zirrhotischen Veränderungen der Leber und präkanzerösen Wucherungen an den Gallengangsepithelien. Bei Beendigung der Exposition nach 60 Tagen kam es innerhalb von 20 Tagen zur Rückbildung der Veränderungen in der Leber [24, 25]. Subkutane Injektionen von TDA (Dosis nicht angegeben) über 40 Tage bei Ratten führten hauptsächlich zu inter- und intraazinösen Gallengangswucherungen [24, 25].

In einer anderen Studie traten nach einmal wöchentlicher subkutaner Injektion von 25 bzw. 8,33 mg/kg KG TDA über 2 Jahre bei Ratten (Sprague-Dawley) beiderlei Geschlechts Schädigungen der Leber (Zirrhose und Degeneration der Leberzellen) auf. Bei der hohen Dosis betrug die Inzidenz 16/60, bei der niedrigen 7/60 und bei der Kontrolle 4/60 [19].

Sensibilisierungstests

In einem Sensibilisierungstest wurde TDA an 10 Meerschweinchen geprüft. Dazu wurden eine intradermale Induktion durch ein Gemisch von Freund'schem Adjuvans und 0,5%igem TDA (in flüssigem Paraffin) und eine Woche später eine topische Induktion durch okklusive Applikation einer 50%igen Lösung TDA an derselben Stelle vorgenommen. 2 Wochen nach der Induktionsperiode erfolgte eine 24stündige Applikation von 25%iger TDA-Lösung und noch eine Woche später von 5%iger TDA-Lösung. Während in der Induktionsperiode keine Hautreizung sichtbar wurde, traten nach dem ersten Auslösevorgang bei allen 10 Tieren leichte bis mäßige Erytheme und Ödeme und nach dem zweiten Auslösevorgang bei 5 Tieren eine verzögerte Kontakt-Überempfindlichkeit auf [26].

Reproduktionstoxikologische Studien

sind bisher nicht bekannt geworden.

Untersuchungen zur mutagenen Wirkung

Im Ames-Test verursachte TDA oder sein Hydrochlorid an *S. typhimurium* TA 1538 und TA 98 nach mikrosomaler Aktivierung Frameshift-Mutationen [27–31]. Die Zugabe von Wasserstoffsuperoxid verstärkte die mutagene Aktivität erheblich [31].

Auch der Urin von Ratten, die mit TDA behandelt worden waren (nähere Angaben nicht bekannt), löste in *S. typhimurium* TA 1538 Rückmutationen aus [32].

In *S. typhimurium* TA 100 und TA 1535 zeigte sich TDA nicht mutagen [29–31], ebenso im Stamm TA 98 ohne metabolische Aktivierung [33].

Widersprüchlich sind die Angaben zur Mutagenität von TDA in *E. coli*. Eine Studie fand positive Resultate in *E. coli* WP 2 und *E. coli* WP 100, wenn die Substanz vor der Applikation mit H_2O_2 vermischt wurde [34], eine andere Studie konnte nach Applikation von 1, 10 bzw. 100 $\mu\text{g/ml}$ TDA keine mutagene Aktivität in *E. coli* 343/113 nachweisen [35].

In Säugetierzellen wurden Punktmutationen am tk-locus von Mauslymphomzellen (LS178Y) und an Ovarialzellen des chinesischen Hamsters (AT3-2) gefunden [36]. TDA induziert zudem „unscheduled DNA-synthesis“ an Rattenhepatozyten, sowohl nach direkter Inkubation mit der Primärkultur [37] als auch im „in-vivo-in-vitro-assay“, bei dem der Kultivierung der Hepatozyten eine i.p.-Injektion von 150 mg/kg TDA der F-344-Ratten vorausging [38, 39]. In Sekundär-Embryozellkulturen des Syrischen Goldhamsters führte TDA unter Verwendung zweier verschiedener Methoden zu morphologischen Zelltransformationen [29, 40–42] und in primären Embryozellkulturen der gleichen Tierart steigert TDA die durch Affen-Adeno-Virus (SA7) hervorgerufenen Transformationen [41].

In Knochenmarkzellen induzierte die i.p.-Injektion von 9 bzw. 18 mg/kg KG TDA bei männlichen Mäusen Schwester-Chromatid-Austausch [43]. Die Inkubation von menschlichen Fibroblasten mit 100 μM TDA führte bei metabolischer Aktivierung durch Mikro-somen aus Schafsamenblasen (1 mg/ml) und Arachidonsäure (100 μM) zu Strangbrüchen der DNA. Bei Inhibierung der Prostaglandinsynthetase war der Effekt deutlich verringert [44].

In zwei verschiedenen Studien an *Drosophila melanogaster* zeigte sich TDA mutagen. Die 3tägige Fütterung von 5,9 bzw. 15,2 mmol an 1–2 Tage alte Männchen führte bei nachfolgender Paarung zur Induktion geschlechtsgebundener rezessiv letaler Mutationen, wobei besonders die Spermatiden und Spermatozyten betroffen waren [45]. Ebenso verursachte die einmalige Injektion von 5–20 mmol TDA bei erwachsenen Männchen Mutationen in der Spermatogenese [46].

Negativ fielen Tests auf vermehrte Spermienkopf-Abnormitäten [47, 48] und auf dominante Letalität [47] an männlichen Mäusen aus. In einer anderen Studie zeigte die Untersuchung des Testikulargewebes von Mäusen 3 Stunden nach i.p.-Injektion von 100–375 mg/kg KG TDA jedoch eine dosisabhängige Inhibierung der DNA-Synthese [49].

Im Mikronukleustest bei Ratten, die zwei Dosen von je 200 mg/kg KG TDA im Abstand von 24 Stunden durch orale Zufuhr erhalten hatten, war die Substanz negativ [16]. Andere Autoren fanden nach einmaliger i.p.-Injektion von 4,1 mmol/kg (= 500 mg/kg) KG TDA [18, 30] bei Ratten eine erhöhte Fragmentierung der DNA in der Leber.

Tests auf krebserzeugende Wirkung

Im Zusammenhang mit der Frage nach dem krebserzeugenden Risiko des Haarefärbens wurden entsprechende Formulierungen, die TDA als Aminkomponente und Wasserstoffsuperoxid als Oxidationsmittel enthielten, oder TDA allein mit Wasserstoffsuperoxid und/oder Wasser, durch wiederholtes Auftragen auf die Mäuse- und Rattenhaut getestet. Dabei wurden keine Tumoren beobachtet [50–52].

TDA wurde in Langzeit-Fütterungsversuchen und Subkutantests an Ratte und Maus überprüft (s. Tab. 2). Nach oraler Applikation werden vor allem die verschiedenen

| Tumoren: | | 1000 ppm | 500 ppm | 0 |
|-----------------|---|----------|---------|-------|
| Leberkarzinome: | m | 4/17, | 0/22, | 1/18, |
| | w | 3/17, | 1/19, | 0/22, |
| Gefäßtumoren: | m | 4/17, | 0/22, | 1/18, |
| | w | 4/17, | 5/19, | 4/22. |

Autor: NCI-Studie 1979 [55],
Reuber, M. D. 1979 [58]

Stoff: Toluyldiamin

Spezies: Maus, B6C3F₁, je 50 m + 50 w, Kontr. 20 m + 20 w

Applikat.: Futter

Dosis: 200, 100, 0 ppm

Dauer: 101 Wo, † 101 Wo

Toxizität: verzögerte Körpergewichtszunahme: hochdos. m um 19%, w um 40%, niedrigdos. w um 27%, Überlebende am Ende der Studie: hochdos. m 86%, w 78%, niedrigdos. m 90%, w 80%, Kontrolle 75%, vorzeitige Mortalität der exponierten Tiere bedingt durch hepatotoxische Läsionen

| Tumoren: | | 200 ppm | 100 ppm | 0 |
|---|---|---------|---------|-------|
| Leberkarzinome: | m | 14/48, | 17/50, | 5/20, |
| | w | 18/44, | 13/46, | 0/18, |
| Leberneoplasien: | m | 17/48, | 22/50, | 5/20, |
| | w | 32/44, | 21/46, | 0/18, |
| Leberhyperplasien: | m | 26/48, | 4/50, | 0/20, |
| | w | 5/44, | 18/46, | 0/18, |
| Hyperplastische Noduli: | m | 3/48, | 5/50, | 0/20, |
| | w | 14/44, | 8/46, | 0/18, |
| Lymphome: | w | 11/46, | 29/47, | 2/19, |
| Schilddrüsentumoren (Adenome u. Karzinome): | w | 0/44, | 3/44, | 0/17. |

Begründung der Einstufung

Unabhängig von einer Beurteilung des Haarfärbeprozesses muß TDA als im Tierversuch krebserzeugend angesehen werden. Die zahlreichen Kurzzeitteste belegen ein gentoxisches Potential. Bei Ratten und Mäusen beiderlei Geschlechts ist die Entstehung von Lebertumoren signifikant erhöht; außerdem werden Mammatumoren, Lymphome und nach subkutaner Injektion Sarkome an der Injektionsstelle beobachtet. TDA wird in die Gruppe III A2) eingestuft.

Literatur

1. Unger, P. D., A. J. Salerno, W. C. Ness, M. A. Friedman: *J. Toxicol. environm. Hlth* 6, 107 (1980)
2. Marzulli, F. N., D. M. Anjo, H. I. Maibach: *Food Cosmet. Toxicol.* 19, 743 (1981)
3. Grantham, P. H., L. Mohan, T. Benjamin, J. R. Miller, E. K. Weisburger: *J. environm. Path. Toxicol.* 3, 149 (1980)

4. Glinskun, T., T. Benjamin, P. H. Grantham, E. K. Weisburger, P. P. Roller: *Xenobiotica* 5, 475 (1975)
5. Waring, R. H., A. E. Pheasant: *Xenobiotica* 6, 257 (1976)
6. Glinskun, T., T. Benjamin, P. H. Grantham, N. L. Lewis, E. K. Weisburger: *Biochem. Pharmacol.* 25, 95 (1976)
7. Kiese, M., E. Rauscher: *Toxicol. appl. Pharmacol.* 13, 325 (1968)
8. Weisbrod, D., U. Stephan: *Z. ges. Hyg.* 29, 395 (1983)
9. Aune, T., S. D. Nelson, E. Dyling: *Chem.-Biol. Interact.* 25, 23 (1979)
10. "IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans", Vol. 27, Appendix 1, p. 307, Lyon, France 1982
11. "IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans", Vol. 16, p. 29, Lyon, France 1982
12. Ahrenholz, S. H.: NIOSH Report HE 79-113-728, National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati, Ohio, USA., 1980
13. Hamill, P. V., E. Steinberg, R. J. Levine, L. J. Rodriguez-Rigau, S. Lemeshow, J. S. Avrunin: *J. occup. Med.* 24, 985 (1982)
14. Kynoch, S. R., G. K. Lloyd: "Acute oral toxicity to rats of 2,4-Diaminotoluene", Huntingdon Research Centre, Huntingdon, Cambridgeshire, Great Britain, 1976
15. Hess, L., H. Müller: *Z. exp. Path. Ther.* 17, 59 (1915)
16. Hossack, D. J. N., J. C. Richardson: "Micronucleus Test on 2,4-Diaminotoluene", Huntingdon Research Centre, Huntingdon, Cambridgeshire, Great Britain, 1977
17. Weisburger, E. K., A. B. Russfield, F. Homburger, J. H. Weisburger, E. Boger, C. G. Van Dongen, K. C. Chu: *J. environm. Path. Toxicol.* 2, 325 (1978)
18. Russo, P., D. Vecchio, C. Balbi, S. Parodi, L. Santi: *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* 57, 131 (1981)
19. Steinhoff, D., J. Dycka: Unveröffentl. Untersuchungen, Bayer AG, D-5600 Wuppertal, 1981
20. Dent, J. G., M. E. Graichen: *Carcinogenesis* 3, 733 (1982)
21. Kynoch, S. R., M. P. Liggett: "Irritant effects of 2,4-Diaminotoluene on rabbit skin", Huntingdon Research Centre, Huntingdon, Cambridgeshire, Great Britain, 1976
22. Kynoch, S. R., M. P. Liggett: "Irritant effects of 2,4-Diaminotoluene on rabbit eye mucosa", Huntingdon Research Centre, Huntingdon, Cambridgeshire, Great Britain, 1976
23. Hruby, R.: *Food Cosmet. Toxicol.* 15, 595 (1977)
24. Nagata, J.: *Gann* 38, 199 (1944)
25. Nagata, J.: *Gann* 38, 312 (1944)
26. Kynoch, S. R., P. H. Elliott: "Screening test for delayed contact hypersensitivity with 1-methyl-2,4-diaminobenzene in the albino guinea-pig", Huntingdon Research Centre, Huntingdon, Cambridgeshire, Great Britain, 1977
27. Ames, B. N., H. O. Kammern, E. Yamasaki: *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* 72, 2423 (1975)
28. McCann, J., E. Choi, E. Yamasaki, B. N. Ames: *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* 72, 5135 (1975)
29. Pienta, R. J., M. J. Shah, W. B. Leberherz, A. W. Andrews: *Cancer Lett.* 3, 45 (1977)
30. Parodi, S., M. Taningher, P. Russo, M. Pala, M. Tamaro, C. Monti-Bragadin: *Carcinogenesis* 2, 1317 (1981)
31. Venitt, S., C. E. Searle: *INSERM* 52, 263 (1976)
32. Cinkotai, K. I., C. C. Jones, J. C. Topham, P. A. Watkins: Abstracts 2nd International Conference on Environmental Mutagenesis, Edinburgh, Great Britain, July 11-15th, 1977
33. Mori, M. A., T. Miyahara, K. Taniguchi, K. Hasegawa, H. Kozuka, M. Miyagoshi, T. Nagayama: *Toxicol. Lett.* 13, 1 (1982)
34. Nishioka, H.: Meeting on the Environmental Mutagenic Society of Japan, Kyoto, 27th Sept. 1975
35. Müller, U.: „Prüfung des Farbstoffes 1-Methyl-2,4-diaminobenzol auf Mutagenität im Bakterientest“, Batelle-Institute e. V., D-6000 Frankfurt/M. 1976
36. Coppinger, W. H., S. A. Brennan, J. U. Carrer, E. D. Thompson: *Mutat. Res.* 135, 115 (1984)
37. Bermudez, E., D. Tillery, B. E. Butterworth: *Environm. Mutagen.* 1, 391 (1979)
38. Mirsalis, J. C., C. K. Tyson, B. E. Butterworth: *Environm. Mutagen.* 4, 553 (1982)
39. Mirsalis, J. C., C. K. Tyson, B. E. Butterworth: *Environm. Mutagen.* 4, 339 (1982)
40. Pienta, R. J., J. A. Poiley, W. B. Leberherz: *Int. J. Cancer* 19, 642 (1977)

41. Greene, E. J., M. A. Friedman: *Mutat. Res.* 79, 363 (1980)
42. Pienta, R. J., J. C. Kawalek: *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 58, 243 (1981)
43. Parodi, S., A. Zunino, L. Ottagio, M. De Ferrari, L. Santi: *Mutat. Res.* 108, 225 (1983)
44. Nordenskjöld, M., B. Andersson, A. Rahimtula, P. Moldeus: *Mutat. Res.* 127, 107 (1984)
45. Blijleven, W. G. H.: *Mutat. Res.* 48, 181 (1977)
46. Fahmy, M. J., O. G. Fahmy: *Mutat. Res.* 56, 31 (1977)
47. Soares, E. R., L. F. Lock: *Environm. Mutagen.* 2, 111 (1980)
48. Topham, J. C.: *Mutat. Res.* 74, 379 (1980)
49. Greene, E. J., A. J. Salerno, M. A. Friedman: *Mutat. Res.* 91, 75 (1981)
50. Kinkel, H. J., S. Holzmann: *Food Cosmet. Toxicol.* 11, 641 (1973)
51. Burnett, C., B. Lamman, R. Giovacchini, G. Wolcott, R. Scala, M. Keplinger: *Food Cosmet. Toxicol.* 13, 353 (1975)
52. Giles, A. L., Jr., C. W. Chung, C. Kommineni: *J. Toxicol. environm. Hlth* 1, 433 (1976)
53. Sontag, J. M.: *J. nat. Cancer Inst.* 66, 591 (1981)
54. Ito, N., Y. Hiasa, Y. Konishi, M. Marugami: *Cancer Res.* 29, 1137 (1969)
55. National Cancer Institute: "Bioassay of 2,4-diaminotoluene for possible carcinogenicity", NCI carcinogenesis technical report series No. 162, DHWE Publication No. (NIH) 79-1718, Springfield, Va., USA, 1979
56. Cardy, R. H.: *J. nat. Cancer Inst.* 62, 1107 (1979)
57. Umeda, M.: *Gann* 46, 597 (1955)
58. Reuber, M. D.: *Gann* 70, 453 (1979)

abgeschlossen am 29. 5. 1985

