

*The MAK Collection for Occupational Health and Safety*

## Diethylbenzol (alle Isomere)

### MAK-Begründung

A. Hartwig<sup>1,\*</sup>, MAK Commission<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> Vorsitz der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

<sup>2</sup> Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

\* E-Mail: A. Hartwig ([andrea.hartwig@kit.edu](mailto:andrea.hartwig@kit.edu)), MAK Commission ([arbeitsstoffkommission@dfg.de](mailto:arbeitsstoffkommission@dfg.de))

**Keywords:** Diethylbenzol; MAK-Wert; maximale Arbeitsplatzkonzentration; Toxizität; Spitzenbegrenzung; Entwicklungstoxizität; Entwicklungsneurotoxizität; Hautresorption

**Citation Note:** Hartwig A, MAK Commission. Diethylbenzol (alle Isomere). MAK-Begründung. MAK Collect Occup Health Saf [Original-Ausgabe. Weinheim: Wiley-VCH; 2018 Jul;3(3):1290-1320]. Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2026. [https://doi.org/10.34865/mb13501ismd0065\\_w](https://doi.org/10.34865/mb13501ismd0065_w)

**Neuveröffentlichung (Online):** 06 Mrz 2026

Vormals erschienen bei Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb13501ismd0065>

**Manuskript abgeschlossen:** 22 Mrz 2017

**Erstveröffentlichung (Online):** 26 Jul 2018

*Zur Vermeidung von Interessenkonflikten hat die Kommission Regelungen und Maßnahmen etabliert.*



Dieses Werk ist lizenziert unter einer  
Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz.

# Diethylbenzene (all isomers)<sup>1)</sup>

## [Diethylbenzol (alle Isomere)]

### MAK Value Documentation in German language

A. Hartwig<sup>1,\*</sup>, MAK Commission<sup>2,\*</sup>

DOI: 10.1002/3527600418.mb13501ismd0065

#### Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has evaluated diethylbenzene as mixture of isomers [25340-17-4], as well as the individual isomers 1,2-diethylbenzene [135-01-3], 1,3-diethylbenzene [141-93-5] and 1,4-diethylbenzene [105-05-5] considering all toxicological endpoints. Available publications and unpublished studies are described in detail. 1,2-Diethylbenzene is the most toxic of the isomers, the critical effect being peripheral neurotoxicity which is due to a gamma-diketone formed metabolically. In subchronic inhalation and oral studies in rats with diethylbenzene mixtures containing 1,2-diethylbenzene, subclinical neurotoxicity is observed at all concentrations and doses used. From these studies a maximum concentration at the workplace (MAK value) of 1 ml/m<sup>3</sup> is set for 1,2-diethylbenzene. For a diethylbenzene mixture containing 10% 1,2-diethylbenzene, the critical effect in rats is leuco- and lymphopenia. A MAK value of 5 ml/m<sup>3</sup> is set for diethylbenzene mixtures and the MAK value for 1,2-diethylbenzene has to be observed additionally. In rats, critical endpoints for 1,3-diethylbenzene are increased liver and thyroid weight and for 1,4-diethylbenzene altered clinical chemical parameters and increased kidney weight. A MAK value of 5 ml/m<sup>3</sup> for both isomers is derived.

Since systemic effects are critical, Peak Limitation Category II is designated for all isomers. As peripheral neurotoxicity is a cumulative effect, an excursion factor of 8 is set for 1,2-diethylbenzene. The default excursion factor of 2 for systemically acting substances is set for diethylbenzene mixtures as well as 1,3-diethylbenzene and 1,4-diethylbenzene as their half-lives are not known. Thus, the allowable peak exposures are lower than those of other alkyl benzenes and also prevent from irritation.

By analogy with acrylamide it is deduced that rats exposed in utero to 1,2-diethylbenzene are not more susceptible to peripheral neurotoxicity than adult animals. The oral NOAEL for developmental toxicity of 1,2-diethylbenzene in rats is scaled to a concentration of 17 ml/m<sup>3</sup> at the workplace. Therefore, damage to the embryo or foetus is unlikely when the MAK value is observed and 1,2-diethylbenzene is assigned to Pregnancy Risk Group C. The oral NOAEL for developmental toxicity of a diethylbenzene mixture in rats is scaled to a concentration of 94 ml/m<sup>3</sup> at the workplace. Developmental toxicity studies with 1,3-diethylbenzene and 1,4-diethylbenzene are lacking, however, these isomers are contained in the diethylbenzene mixture to about 60% and 30%, respectively. Therefore, damage to the embryo or foetus is unlikely when the MAK value is observed and diethylbenzene mixtures as well as 1,3-diethylbenzene and 1,4-diethylbenzene are assigned to Pregnancy Risk Group C.

Diethylbenzenes are not genotoxic in vitro and in vivo. In a carcinogenicity study dermal application of a diethylbenzene mixture induced a single squamous carcinoma in mice, which is judged not sufficient for classification as a carcinogen. According to skin absorption models, percutaneous absorption can contribute significantly to systemic toxicity and all diethylbenzene isomers are designated with an "H" notation. Limited data show no sensitization.

#### Keywords

Diethylbenzole; DEB; o-Diethylbenzol; m-Diethylbenzol; p-Diethylbenzol; 1,2-Diethylbenzol; 1,3-Diethylbenzol; 1,4-Diethylbenzol; Wirkungsmechanismus; Toxikokinetik; Metabolismus; (sub)akute Toxizität; (sub)chronische Toxizität; Reizwirkung; allergene Wirkung; Reproduktionstoxizität; Fertilität; Entwicklungstoxizität; Genotoxizität; Kanzerogenität; Spitzenbegrenzung; fruchtschädigende Wirkung; krebserzeugende Wirkung; keimzellmutagene Wirkung; Hautresorption; sensibilisierende Wirkung; Arbeitsstoff; maximale Arbeitsplatzkonzentration; MAK-Wert; Toxizität; Gefahrstoff; periphere Neurotoxizität; Axonopathie

#### Author Information

<sup>1</sup> Vorsitzende der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

<sup>2</sup> Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

\* Email: A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

1) In addition to the MAK value for the mixture, the MAK value for 1,2-diethylbenzene has to be observed.

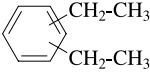
# Diethylbenzol (alle Isomere)

|                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>MAK-Wert (2017)</b>                  | <b>Diethylbenzol-Isomerengemisch<sup>1)</sup></b><br><b>und 1,3-, 1,4-Diethylbenzol:</b><br><b>5 ml/m<sup>3</sup> (ppm) <math>\triangleq</math> 28 mg/m<sup>3</sup></b><br><br><b>1,2-Diethylbenzol:</b><br><b>1 ml/m<sup>3</sup> (ppm) <math>\triangleq</math> 5,6 mg/m<sup>3</sup></b> |
| <b>Spitzenbegrenzung (2017)</b>         | <b>Diethylbenzol-Isomerengemisch</b><br><b>und 1,3-, 1,4-Diethylbenzol:</b><br><b>Kategorie II, Überschreitungsfaktor 2</b><br><br><b>1,2-Diethylbenzol:</b><br><b>Kategorie II, Überschreitungsfaktor 8</b>                                                                             |
| <b>Hautresorption (2017)</b>            | <b>H</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Sensibilisierende Wirkung</b>        | –                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>Krebserzeugende Wirkung</b>          | –                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>Fruchtschädigende Wirkung (2017)</b> | <b>Diethylbenzol-Isomerengemisch</b><br><b>und alle Isomere: Gruppe C</b>                                                                                                                                                                                                                |
| <b>Keimzellmutagene Wirkung</b>         | –                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>BAT-Wert</b>                         | –                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>Synonyma</b>                         | DEB<br>o-Diethylbenzol<br>m-Diethylbenzol<br>p-Diethylbenzol                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Chemische Bezeichnung</b>            | 1,2-Diethylbenzol<br>1,3-Diethylbenzol<br>1,4-Diethylbenzol                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>CAS-Nr.</b>                          | 1,2-DEB: 135-01-3<br>1,3-DEB: 141-93-5<br>1,4-DEB: 105-05-5<br>DEB-Isomerengemisch: 25340-17-4                                                                                                                                                                                           |

---

1) Neben dem MAK-Wert für das Gemisch ist auch der MAK-Wert für 1,2-Diethylbenzol einzuhalten.

## 1292 MAK Value Documentations

|                                                                                |                                                                                                                                                                                                                            |
|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Formel                                                                         | <br>$C_{10}H_{14}$                                                                                                                        |
| Molmasse                                                                       | 134,22 g/mol                                                                                                                                                                                                               |
| Schmelzpunkt                                                                   | 1,2-DEB: -31,2 °C (SRC 2016)<br>1,3-DEB: -83,9 °C (SRC 2016)<br>1,4-DEB: -42,8 °C (SRC 2016)                                                                                                                               |
| Siedepunkt bei 1013 hPa                                                        | 1,2-DEB: 184 °C (SRC 2016)<br>1,3-DEB: 181,1 °C (SRC 2016)<br>1,4-DEB: 183,7 °C (ECHA 2016 a)                                                                                                                              |
| Dichte bei 20 °C                                                               | 1,2-DEB: 0,880 g/cm <sup>3</sup> (Mayfield 1996)<br>1,3-DEB: 0,860 g/cm <sup>3</sup> (Mayfield 1996)<br>1,4-DEB: 0,866 g/cm <sup>3</sup> (ECHA 2016 a)<br>DEB-Isomerengemisch: 0,865 g/cm <sup>3</sup> (ber.; ECHA 2016 b) |
| Dampfdruck bei 25 °C                                                           | 1,2-DEB: 1,4 hPa (SRC 2016)<br>1,3-DEB: 1,5 hPa (SRC 2016)<br>1,4-DEB: 1,4 hPa (SRC 2016)                                                                                                                                  |
| log K <sub>ow</sub>                                                            | 1,2-DEB: 3,72 (SRC 2016)<br>1,3-DEB: 4,57 (SRC 2016)<br>1,4-DEB: 4,58 (SRC 2016); 4,06 bei 25 °C (ECHA 2016 a)                                                                                                             |
| Löslichkeit in Wasser bei 20 °C                                                | 1,2-DEB: 71,1 mg/l (SRC 2016)<br>1,3-DEB: 24 mg/l (SRC 2016)<br>1,4-DEB: 24,8 mg/l (SRC 2016)                                                                                                                              |
| <b>1 ml/m<sup>3</sup> (ppm) <math>\triangleq</math> 5,569 mg/m<sup>3</sup></b> | <b>1 mg/m<sup>3</sup> <math>\triangleq</math> 0,18 ml/m<sup>3</sup> (ppm)</b>                                                                                                                                              |

Diethylbenzol ist ein Nebenprodukt bei der Synthese von Ethylbenzol aus Ethylen und Benzol. Es kann auch durch Disproportionierung aus Ethylbenzol hergestellt werden und fällt hauptsächlich als Mischung der drei Stellungsisomere an. Das prozentuale Verhältnis der 1,2-, 1,3- und 1,4-Isomere ist 5 : 65 : 30 (NLM 2016). 1,4-Diethylbenzol kann durch Gasphasenalkylierung von Ethylbenzol mit Ethylen gezielt produziert werden (NLM 2016; OECD 1994).

Aus Diethylbenzol wird vor allem Divinylbenzol hergestellt, das ein Zwischenprodukt bei der Produktion von synthetischem Gummi und Kunstharzen ist. Weniger als 5 % werden als Hitzetransferflüssigkeit verwendet (Gagnaire und Boucard 2014; Payan et al. 1999). 1,2-Diethylbenzol kann dehydriert und zu Naphthalin zyklisiert werden. 1,3-Diethylbenzol kann zu Ethylvinylbenzol umgesetzt werden (NLM 2016). 1,4-Diethylbenzol wird als Lösungsmittel in geschlossenen Systemen verwendet (NLM 2016; OECD 1994), um damit p-Xylol im Parex-Prozess zu desorbieren (NLM 2016).

Im Militärtreibstoff Jet Fuel JP8 beträgt die durchschnittliche Konzentration der drei Isomere 500 bis 1500 mg/l (Mayfield 1996). 1,3- und 1,4-Diethylbenzol sind im Treibstoff JP-5 zu 0,61 bzw. 0,77 Gewichts-% enthalten, und 1,2-Diethylbenzol wurde im Treibstoff Jet Fuel A in Konzentrationen bis zu 0,41 Gewichts-% nachgewiesen (ATSDR 2016). 1,2-Diethylbenzol ist in hochoctanigem Benzin zu 0,1 % enthalten (NLM 2016).

Die Begründung basiert teilweise auf den öffentlich verfügbaren REACH-Registrierungsdaten zu 1,4-Diethylbenzol (ECHA 2016 a) und zu Diethylbenzol-Isomerengemischen (ECHA 2016 b). 1,2- und 1,3-Diethylbenzol sind Stand 2017 vorregistriert. In den toxikologischen Studien aus den 1950er Jahren wurden Gemische mit einem vermutlich herstellungsbedingten hohen Anteil an 1,2-Diethylbenzol von 25 % verwendet. Dies entspricht nicht mehr den Spezifikationen gegenwärtig verwendeter Diethylbenzol-Isomerengemische (ECHA 2016 b). In Gemischen, die in Studien aus den 1990er Jahren verwendet wurden, betrug der Gehalt von 1,2-Diethylbenzol 6 bis 10 % (Gagnaire et al. 1990, 1992 a; Monsanto 1992, 1993).

## **1 Allgemeiner Wirkungscharakter**

1,2-Diethylbenzol wirkt im Gegensatz zu den anderen beiden Isomeren über einen ZNS-depressiven Effekt hinaus auch peripher neurotoxisch, wie von n-Hexan bekannt, da aus 1,2-Diethylbenzol im Metabolismus ein proteinreaktives gamma-Diketon, das 1,2-Diacetylbenzol, gebildet wird. Hauptmetaboliten sind jedoch die beiden Glucuronide des stereoisomeren 1-(2'-Ethylphenyl)ethanol. Bei subchronischer Inhalation eines Diethylbenzol-Isomerengemisches wird bei Ratten ab 110 ml/m<sup>3</sup> eine Leuko- und Lymphopenie beobachtet. Ab 496 ml/m<sup>3</sup> kommt es zu Verringerungen der Nervenleitgeschwindigkeit und der Amplituden der Aktionspotentiale als empfindlichste neurotoxische Effekte, die auf das enthaltene 1,2-Diethylbenzol (die LOAEC von 496 ml/m<sup>3</sup> entspricht etwa 30 ml 1,2-Diethylbenzol/m<sup>3</sup>) zurückzuführen sind. Bei höheren Konzentrationen werden an Ratten histopathologische Schäden an motorischen Axonen festgestellt sowie Körpergewichtsbeeinträchtigung und klinische Symptome der Nervenschädigung wie Gangstörungen bis hin zur Lähmung der Beine.

1,3-Diethylbenzol bewirkt bei vierwöchiger Schlundsondenapplikation von 1000 mg/kg KG und Tag an Ratten eine Zunahme der Lebergewichte mit zentrilobulärer Hypertrophie vermutlich aufgrund einer Induktion metabolisierender Enzyme der Leber. Dadurch werden Schilddrüsenhormone beeinflusst und das Schilddrüsengewicht erhöht. Bei männlichen Ratten kommt es zu alpha2u-Protein-Ablagerungen im Nierenepithel.

1,4-Diethylbenzol führt in einer Screening-Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 422 bei männlichen Ratten ab 150 mg/kg KG und Tag zu Veränderungen der Blut-Harnstoff-Stickstoff-Werte, der Alanin-Aminotransferase, der gamma-Glutamyltranspeptidase und zu erhöhtem Nierengewicht.

Die Diethylbenzol-Isomere sind hautreizend, aber nicht augenreizend.

Es liegen keine Hinweise auf eine haut- oder atemwegssensibilisierende Wirkung der Diethylbenzol-Isomere vor.

Für 1,2-Diethylbenzol ist ab 15 mg/kg KG an Ratten eine durch verringerte Futteraufnahme bedingte Verminderung der Maternal- und Fetengewichte, aber bis 35 mg/kg KG und Tag keine spezifische entwicklungstoxische Wirkung festzustellen. Ein Diethylbenzol-Isomerengemisch ist bei Ratten ab 100 mg/kg KG und Tag maternaltoxisch, bei 200 mg/kg KG und Tag ist dadurch bei den Feten das Körpergewicht verringert, es tritt aber keine spezifische entwicklungstoxische Wirkung auf. 1,4-Diethylbenzol beeinträchtigt bis 750 mg/kg KG und Tag die Fertilität von Ratten nicht.

Genotoxizität ist in vitro in Salmonella-Mutagenitätstests, in HPRT-Tests und in Chromosomenaberrationstests mit 1,4-Diethylbenzol und Diethylbenzol-Isomerengemischen nicht beobachtet worden. Im Mikronukleustest mit intraperitonealer Gabe an Mäuse ist ein Diethylbenzol-Isomerengemisch nicht klastogen. Bei epikutaner lebenslanger Applikation einer Diethylbenzol-Isomerenmischung an Mäuse ist ein Plattenepithelkarzinom an der Applikationsstelle aufgetreten.

## **2 Wirkungsmechanismus**

Die neurotoxische Wirkung von 1,2-Diethylbenzol beruht vermutlich auf der Reaktion des neurotoxischen gamma-Diketonmetaboliten 1,2-Diacetylbenzol (Gagnaire et al. 1991) mit epsilon-Amino- oder Sulfhydrylgruppen von Neuroproteinen des Zytoskeletts in Axonen. Dies führt zu Segregation von Zytoskelettelementen mit einer Clustierung von Mikrotubuli und Organellen sowie zu einer Anreicherung von fehlorientierten Neurofilamenten im proximalen Teil des Axons durch Quervernetzung. Dadurch schwellen die Axone an und es kommt zu verringerter Nervenleitgeschwindigkeit und zu verminderten Amplituden des sensorischen Aktionspotentials. Als spätere Folge tritt Demyelinisierung der Nervenfasern auf. Der Mechanismus entspricht dem von 2,5-Hexandion, dem gamma-Diketon von n-Hexan. Die Ursache der elektrophysiologischen Befunde ist noch nicht aufgeklärt. Nach weiteren Untersuchungen erhöht oder verringert 1,2-Diacetylbenzol die Expression von 22 Proteinen im lumbosacralen Rückenmark, darunter Proteindisulfidomerase, die an der Faltung von Proteinen beteiligt ist, und Gelsolin, einem Regulator des Auf- und Abbaus von Actinfilamenten, deren Expression vermindert wird (Tshala-Katumbay et al. 2005, 2008).

1,2-Diacetylbenzol ist 1000-mal so proteinreaktiv wie 2,5-Hexandion. Es reagiert besonders mit Lysin und Glycin und bildet purpur-blaue Chromophore. Lysin-reiche Untereinheiten von Neurofilament-Proteinen sind dadurch empfindlicher als Lysin-arme (Kim et al. 2002).

Die Motorproteine Kinesin und Dynein, das Zytoskelettprotein NF-M und das Mikrotubulus-assoziierte Tau-Protein aus Ischiasserven und Rückenmark von Ratten bildeten in vitro mit 1,2-Diacetylbenzol Addukte in unterschiedlichem Ausmaß. Nach Gabe von 20 mg 1,2-Diacetylbenzol/kg KG an männliche Sprague-Dawley-Ratten war NF-M im Ischiasserv um 75 % reduziert, im Rückenmark um 13 %, Kinesin um 75 % im Ischiasserv und um 10 % im Rückenmark, Dynein um 57 % im Ischiasserv und um 16 % im Rückenmark, Tau-Protein um 21 % im Ischiasserv und um 8 % im Rückenmark (Sabri et al. 2007).

1,2-Diacetylbenzol, nicht aber 1,3-Diacetylbenzol, führte zu oxidativem Stress (nachgewiesen mit dem Fluoreszenzfarbstoff 2',7'-Dichlorfluoresceindiacetat), Zy-

totoxizität und Apoptose an der humanen Neuroblastomzelllinie SHSY5Y. Durch Gabe von Glutathion oder N-Acetylcystein konnten der oxidative Stress und die zytotoxische Wirkung verhindert werden (Kim et al. 2008).

Das morphologische Bild der durch gamma-Diketone verursachten Axonopathie ähnelt dem von Frühstadien der amyotrophen Lateralsklerose (Llorens 2013).

Die neurotoxische Wirkung von 1,2-Diethylbenzol ist etwa 5-mal so stark wie die von 2,5-Hexandion (Gagnaire et al. 1990). Dabei ist zu beachten, dass 1,2-Diethylbenzol vermutlich nur zu einem sehr geringen Teil zum neurotoxischen Metaboliten 1,2-Diacetylbenzol metabolisiert wird.

Ratten (Kim et al. 2001) erwiesen sich als empfindlicher für die neurotoxische Wirkung von 1,2-Diacetylbenzol als Mäuse (Tshala-Katumbay et al. 2005). Meerschweinchen reagierten nicht empfindlich auf 1,2-Diethylbenzol, welches bei dieser Spezies auch nicht zur Blaufärbung von Geweben führte. Quantitative Angaben fehlen jedoch (Gagnaire et al. 1990). Die Gründe für diese Unterschiede sind nicht bekannt. Erfahrungen beim Menschen liegen nicht vor. Aus den umfangreichen Erfahrungen mit n-Hexan ist bekannt, dass der Mensch 2,4-Hexandion bildet und dagegen empfindlich ist (Begründung „n-Hexan“ 1983). Deshalb ist auch eine neurotoxische Wirkung von 1,2-Diethylbenzol bzw. 1,2-Diacetylbenzol beim Menschen zu erwarten.

### **3 Toxikokinetik und Metabolismus**

#### **3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung**

Daten zur inhalativen Resorption liegen nicht vor. Im REACH-Dossier wird zur Berechnung des DNEL für 1,4-Diethylbenzol eine inhalative Resorption von 30 % angenommen (ECHA 2016 a). Dieser Wert ist jedoch aus dem Dossier nicht nachvollziehbar. Das strukturähnliche Ethylbenzol wird beim Menschen zu ca. 50 bis 64 % im Atemtrakt resorbiert (Nachtrag „Ethylbenzol“ 2012). Daher wird für Diethylbenzole eine inhalative Resorption von 60 % angenommen.

Die orale Resorption von radioaktiv markiertem 1,2-Diethylbenzol, das in Dosen von 1 oder 100 mg/kg KG männlichen Sprague-Dawley-Ratten einmal per Schlundsonde appliziert wurde, beträgt 90 %, da an gallengangskanülierten Ratten 10 % der Dosis in den Faeces gefunden wurde. Etwa 55 % unterliegen einem enterohepatischen Kreislauf und werden letztlich mit dem Urin ausgeschieden. Bei nicht kanülierten Ratten wurden 65 bis 75 % der applizierten Dosis von 1 oder 100 mg/kg KG im Urin gefunden, 17 bis 23 % in den Faeces, jeweils 2 bis 3 % wurden abgeatmet oder verblieben im Körper. Die Ausscheidung verlief auch nach intravenöser Gabe von 1 mg/kg KG ähnlich. Innerhalb von 24 Stunden wurden 90 % der insgesamt nach 168 Stunden ausgeschiedenen Radioaktivität in Urin, Faeces und Atemluft gefunden (Payan et al. 1999).

Bei intraperitonealer Applikation von 100 bis 120 mg 1,2-Diethylbenzol/kg KG an männliche F344-Ratten wurde die höchste Konzentration im Blut mit ca. 15 µM (etwa 0,1 % der verabreichten Dosis) 2 Stunden p.a. erreicht und nahm danach schnell ab. Die Konzentration im Urin war in der ersten Sammelphase bis 12 Stunden p. a. am höchsten und nahm dann schnell ab. Insgesamt wurden in 48 Stunden

0,06 µmol unverändert ausgeschieden. Im Gehirn betrug die Höchstkonzentration 2 Stunden p. a. 17,4 µM. Dagegen war der Metabolit 1,2-Diacetylbenzol relativ konstant bis 24 Stunden p. a. im Blut mit der höchsten Konzentration nach 12 Stunden (ca. 3,7 µM) nachweisbar. Im Urin wurde die höchste Konzentration 24 Stunden p. a. erreicht und nahm nur geringfügig im Lauf der weiteren 24 Stunden ab. Insgesamt wurden innerhalb von 48 Stunden 0,13 µmol 1,2-Diacetylbenzol ausgeschieden. Im Gehirn konnte kein 1,2-Diacetylbenzol nachgewiesen werden (Thrall et al. 2007).

Nach intravenöser Applikation von 20 mg radioaktiv markiertem 1,2-Diethylbenzol/kg KG an männliche Sprague-Dawley-Ratten wurde per Ganzkörperautoradiographie nachgewiesen, dass sich 5 Minuten p. a. die höchste Radioaktivität in der Nasenhöhle und in den Nieren befand. Im Intestinaltrakt wurde nennenswerte Radioaktivität nachgewiesen, was die schnelle biliäre Exkretion belegt. Die Konzentrationen in Gehirn und Rückenmark waren geringer als die im Plasma. Sowohl nach einer Stunde als auch nach 4 Stunden waren die Konzentrationen in der Nasenhöhle 10-mal so hoch wie im Plasma und in der Leber. Nach 4 Stunden waren die Konzentrationen 1,4- bis 10-mal so hoch wie nach 24 Stunden, so dass von einer guten Exkretion auszugehen ist. Nach intravenöser Applikation von 1 mg radioaktiv markiertem 1,2-Diethylbenzol/kg KG an Ratten nahmen die <sup>14</sup>C-Gehalte in verschiedenen Gewebekomponenten biexponentiell ab. Die terminalen Halbwertszeiten betrugen 558 Minuten in der Nase, 719 Minuten in den Nieren, 945 Minuten in den Testes, 1101 Minuten im Gehirn, 1406 Minuten im Plasma, 1591 Minuten in der Leber, 3282 Minuten im Blut, 11 315 Minuten im braunen Fett und 49 348 Minuten in der Lunge. Die initialen Halbwertszeiten lagen für alle Gewebe außer Fett, Lunge und Intestinaltrakt unter einer Stunde. Die Halbwertszeiten von unverändertem 1,2-Diethylbenzol und 1-(2'-Ethylphenyl)-ethanol im Plasma waren 5 und 11 Minuten. Im Gehirn waren die entsprechenden Halbwertszeiten 10,7 bzw. 16,7 Minuten. Die Konzentration von unverändertem 1,2-Diethylbenzol war in Blutzellen 10-mal so hoch wie im Plasma. Die Halbwertszeit im Vollblut und in den Blutzellen betrug 14 Minuten. 1,2-Diethylbenzol wurde durch Blutzellen nicht und durch Gehirn-S9-Mix kaum metabolisiert. Dagegen wurde es durch Leber- und Lungen-S9-Mix schnell metabolisiert (Payan et al. 2008).

Ratten erhielten am 18. Trächtigkeitstag eine orale Dosis von 25 mg radioaktiv markiertem 1,2-Diethylbenzol/kg KG. Die höchsten Radioaktivitätsgehalte wurden bei den Muttertieren in der Leber und den Nieren zum ersten Probenahmezeitpunkt eine Stunde p. a. nachgewiesen. 24 Stunden später betrugen sie noch 31 bis 49 % und 48 Stunden p. a. 15 bis 26 %. Die Radioaktivität in den Feten war bis 24 Stunden p. a. relativ konstant und nahm dann ab. Die Radioaktivität in der Plazenta, den Feten und der Amnionflüssigkeit betrug 0,35; 0,35 bzw. 0,09 % der applizierten Dosis. Die Gehalte im Plasma der Muttertiere waren in den ersten 48 Stunden p. a. etwa 2- bis 4-mal so hoch wie in den Feten. Die Gehalte in der Plazenta waren stets höher als in den Feten, so dass der Transfer in die Feten über die Plazenta limitiert wurde (Saillenfait et al. 1999).

Für eine gesättigte wässrige Lösung von **1,2-Diethylbenzol** berechnen sich mit den Modellen von Fiserova-Bergerova et al. (1990), Guy und Potts (1993) sowie Wilschut et al. (1995) Flüsse von 444; 8,6 bzw. 3,9 µg/cm<sup>2</sup> und Stunde. Unter der Annahme einer einstündigen Exposition von 2000 cm<sup>2</sup> Hautoberfläche würde dies Aufnahmemengen von 888; 17,2 bzw. 7,8 mg entsprechen.



Die entsprechenden Werte betragen für **1,3-Diethylbenzol** 2124; 23,2 und 5,5 mg und für **1,4-Diethylbenzol** 2246; 24,3 und 5,7 mg.

### **3.2 Metabolismus**

Bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten wurde die Metabolisierung von 1,2-Diethylbenzol zu 1,2-Diacetylbenzol nach oraler Gabe von 165 mg 1,2-Diethylbenzol/kg KG und Tag an 4 Tagen pro Woche qualitativ nachgewiesen (Gagnaire et al. 1991). Weitere Metaboliten von 1,2-Diethylbenzol sind 1-(2'-Ethylphenyl)ethanol, 2,3-Diethylphenol und 3,4-Diethylphenol (Payan et al. 1999).

Nach oraler Gabe von radioaktiv markiertem 1,2-Diethylbenzol an männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden die beiden Glucuronide des stereoisomeren 1-(2'-Ethylphenyl)ethanol als Hauptmetaboliten im Urin und der Galle (ca. 57 und 79 % der Radioaktivität in beiden Medien, ca. 40 % der applizierten Dosis im Urin) identifiziert. Weniger als 10 % der Radioaktivität in Urin und Galle waren neutrale Metaboliten und die Muttersubstanz wurde nur in geringen Mengen gefunden. 1,2-Diacetylbenzol konnte nur in Spuren in Urin, Faeces und Galle nachgewiesen werden, was die Autoren auf die Reaktion mit Aminogruppen im Körper zurückführten (Payan et al. 1999). Da 2 bis 3 % der Dosis im Körper gefunden wurde, könnte man zumindest einen Teil dieser Menge der Metabolisierung zu 1,2-Diacetylbenzol zuschreiben. Insgesamt ist das Ausmaß der Metabolisierung von 1,2-Diethylbenzol zu 1,2-Diacetylbenzol unklar, könnte aber unter 3 % liegen.

Das (R)-Enantiomer von 1-(2'-Ethylphenyl)ethanol wurde aus 1,2-Diethylbenzol in vitro mit Ratten-Leber-S9 oder Mikrosomen schneller als das (S)-Enantiomer gebildet, und in vivo war das Verhältnis zum (S)-Enantiomer bei Ratten 1,2 : 1. Dagegen wurde das (S)-Enantiomer in vitro und in vivo im Plasma 4-mal so schnell glucuronidiert und bevorzugt renal ausgeschieden (Payan et al. 2001).

## **4 Erfahrungen beim Menschen**

Hierzu liegen keine Daten vor. Es liegen auch keine klinischen Befunde zur haut- oder atemwegssensibilisierenden Wirkung der Diethylbenzole vor.

## **5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen**

### **5.1 Akute Toxizität**

#### **5.1.1 Inhalative Aufnahme**

Die 4-Stunden LC<sub>50</sub> von **1,4-Diethylbenzol** liegt für Crj:CD(SD)-Ratten über der Limittest-Konzentration von 5000 mg/m<sup>3</sup>. Die Substanz wurde über die Nase als Aerosol gegeben. Keines der Tiere starb, es traten Dyspnoe, Ataxie und Tremor auf. Die makroskopische Untersuchung war unauffällig (ECHA 2016 a).

Für ein **Diethylbenzol-Isomerengemisch** (25 % 1,2-Diethylbenzol; 40 % 1,3-Diethylbenzol; 35 % 1,4-Diethylbenzol) war die 7-Stunden- $LC_{50} > 2100 \text{ ml/m}^3$ . Es kam zu nasaler Reizung, Benommenheit und Gewichtsverlust. Bei der Sektion wurden eine Blaufärbung aller Gewebe und Sekrete und mäßige Nierenbefunde sowie sehr leichte Leberbefunde (k. w. A.) beobachtet (ECHA 2016 b).

### 5.1.2 Orale Aufnahme

Die orale  $LD_{50}$  von **1,4-Diethylbenzol** lag für Crj:CD(SD)-Ratten über der Limit-test-Dosis von 2000 mg/kg KG. Keines der Tiere starb, die spontane motorische Aktivität war verringert, die makroskopische Untersuchung unauffällig (ECHA 2016 a).

Die orale  $LD_{50}$  eines **Diethylbenzol-Isomerengemisches** (k. A. zur Zusammensetzung) für Sprague-Dawley-Ratten betrug 2050 mg/kg KG. In weiteren Studien wurde für ein anderes Diethylbenzol-Isomerengemisch (k. A. zur Zusammensetzung) für weibliche Sprague-Dawley-Ratten eine  $LD_{50}$  im Bereich von 2520 bis 5000 mg/kg KG und für männliche F344-Ratten eine  $LD_{50} > 2000 \text{ mg/kg KG}$  angegeben (ECHA 2016 b).

Für weibliche weiße Ratten war die orale  $LD_{50}$  eines Diethylbenzol-Isomerengemisches (25 % 1,2-Diethylbenzol; 40 % 1,3-Diethylbenzol; 35 % 1,4-Diethylbenzol) 1200 mg/kg KG (Wolf et al. 1956).

### 5.1.3 Dermale Aufnahme

Die dermale  $LD_{50}$  eines Diethylbenzol-Isomerengemisches (k. A. zur Zusammensetzung) betrug in einer Untersuchung nach OECD-Prüfrichtlinie 402 an zwei Neuseeländer-Kaninchen mehr als 2000 mg/kg KG. Zur Wirkung auf die Haut wurden keine Angaben gemacht (ECHA 2016 b).

Die dermale  $LD_{50}$  eines Diethylbenzol-Isomerengemisches (k. A. zur Zusammensetzung) betrug nach 24-stündiger okklusiver Applikation auf die Haut von zehn Neuseeländer-Kaninchen mehr als 5000 mg/kg KG. Es kam bei einem Tier zu Fissuren an der exponierten Hautstelle und bei allen zu verringerter Futteraufnahme und Gewichtsverlust oder stagnierendem Gewicht, gemessen am 7. Tag nach Exposition (ECHA 2016 b).

### 5.1.4 Intraperitoneale Aufnahme

Eine intraperitoneale Dosis von 200 mg **1,2-Diethylbenzol**/kg KG verursachte eine mit der Zeit zunehmende Nekrose im olfaktorischen Epithel und in den Bowman'schen Drüsen von Ratten. Einen Monat nach Applikation waren die Läsionen weitgehend reversibel. Die Gabe von 40 mg **1,2-Diacetylbenzol**/kg KG verursachte die gleichen Wirkungen, nicht jedoch die Gabe von **1,3-Diethylbenzol** oder **1,4-Diethylbenzol**. Die Vorbehandlung der Ratten mit 5-Phenyl-1-pentin, einem Inhibitor von CYP2F2 und CYP2E1, verhinderte die Effekte. Vermutlich werden diese Läsionen durch die oxidative Metabolisierung von 1,2-Diethylbenzol zu 1,2-Diacetyl-

benzol im olfaktorischen Epithel verursacht und stellen somit einen systemischen Effekt dar. Die Autoren weisen darauf hin, dass in der Studie von Payan et al. (2008) nach intravenöser Gabe von radioaktiv markiertem 1,2-Diethylbenzol in der Nasenhöhle die 10-fachen Radioaktivitäts-Konzentrationen gefunden wurden wie im Plasma oder der Leber (Gagnaire und Boucard 2014). Solche nasalen Schäden wurden in der einzigen Inhalationsstudie mit wiederholter Exposition mit einem **Diethylbenzol-Isomerengemisch**, das 1,2-Diethylbenzol enthielt und in der die Nase untersucht wurde (Monsanto 1993; siehe Abschnitt 5.2.1), nicht gefunden. Die intraperitoneale Dosis von 200 mg 1,2-Diethylbenzol/kg KG würde für eine sechsstündige inhalative Exposition mit einem Atemvolumen von 0,8 l/min/kg KG, bei 100%iger intraperitonealer und 60%iger inhalativer Resorption 1160 mg/m<sup>3</sup> entsprechen, während in der Inhalationsstudie die 1,2-Diethylbenzol-Konzentration nur 25 ml/m<sup>3</sup> (140 mg/m<sup>3</sup>) betrug. Damit war die Konzentration möglicherweise zu gering, um diese nasalen Schäden hervorzurufen.

## **5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität**

### **5.2.1 Inhalative Aufnahme**

In einer unveröffentlichten Studie aus dem Jahr 1958 wurden verschiedene Spezies gegen ein **Diethylbenzol-Isomerengemisch** (25 % 1,2-Diethylbenzol; 40 % 1,3-Diethylbenzol; 35 % 1,4-Diethylbenzol) in einer Konzentration von 100 ml/m<sup>3</sup> in einem Zeitraum von 183 Tagen 127- bis 130-mal für jeweils 7 Stunden exponiert. Es wurden 20 männliche und 20 weibliche Ratten, 10 männliche und weibliche Meerschweinchen, 3 männliche und weibliche Kaninchen und 2 weibliche Affen eingesetzt. Gleich große Kontrollgruppen wurden gegen Luft schein- bzw. gar nicht exponiert. Es traten Leber- und Nierenbefunde bei den weiblichen Ratten auf. Die Gewebe und der Urin der exponierten Tiere waren blau bzw. grün verfärbt. Die hämatologische Untersuchung der Ratten und eines Affen erbrachte keinen adversen Befund. In einer weiteren Studie wurden 5 männliche und 5 weibliche Ratten, ein Kaninchen und 2 Meerschweinchen innerhalb von 7 Tagen 4-mal für 7 Stunden pro Tag gegen 600 ml/m<sup>3</sup> exponiert. Weitere 5 männliche und 5 weibliche Ratten wurden 3-mal innerhalb von 6 Tagen gegen 200 ml/m<sup>3</sup> exponiert. Bei diesen Tieren war die Körpergewichtszunahme verringert und der Allgemeinzustand vermindert (k.w.A.; ECHA 2016 b). Bei den höher exponierten Tieren kann wegen der kurzen Expositionsdauer keine definitive Aussage getroffen werden. Dies gilt wegen des eingeschränkten Umfangs der histopathologischen Untersuchung auch für die Ableitung einer diesbezüglichen NOAEC für die chronisch exponierten Tiere. Zumindest wurden bei mehreren Spezies bei 25 ml **1,2-Diethylbenzol**/m<sup>3</sup> keine klinischen Zeichen einer neurotoxischen Wirkung beobachtet.

Gruppen von 10 männlichen und 10 weiblichen Sprague-Dawley-Ratten wurden gegen ein **Diethylbenzol-Isomerengemisch** (10,0 % 1,2-Diethylbenzol; 57,9 % 1,3-Diethylbenzol; 29,4 % 1,4-Diethylbenzol; 0,6 % sec-Butylbenzol; < 0,1 % Isopropylbenzol) in Konzentrationen von 0, 190, 610 oder 1400 mg/m<sup>3</sup> (34, 110, 252 ml/m<sup>3</sup>) 6 Stunden pro Tag an 5 Tagen pro Woche, 13 Wochen lang Ganzkörper-exponiert. Die Exposition mit den beiden höheren Konzentrationen erfolgte durch Versprühen

in die Expositions-Kammer. Die Konzentrationen in der Kammer wurden mittels Durchleiten durch Acetonitril und HPLC-Analyse gemessen, also als Summe von Dampf und Aerosol. Ein etwaiger Aerosolanteil wurde nicht separat bestimmt. Die Durchführung erfolgte nach EPA-Prüfrichtlinie T26-16 und umfasste hämatologische, klinisch-chemische und ophthalmologische Untersuchungen, Gewichtsbestimmungen von Nebennieren, Gehirn, Herz, Nieren, Leber, Milz und Testes sowie die Histopathologie von 37 Organen/Geweben inklusive Nasentubinalien, Rückenmark und Ischiasnerv bei Kontrolltieren und den Tieren der höchsten Konzentrationsgruppe. Lungen, Leber und Nieren wurden von allen Tieren untersucht. Ab  $190 \text{ mg/m}^3$  waren die relativen Lebergewichte der männlichen Tiere leicht, aber ohne Konzentrationsabhängigkeit erhöht, so dass dies nicht als substanzbedingt gewertet wurde. Ab  $610 \text{ mg/m}^3$  waren bei den männlichen Tieren die Leukozytenzahl um ca. 26 bis 29 % und die Lymphozytenzahl um 20 bis 30 % konzentrationsabhängig verringert. Der Phosphorgehalt war bei weiblichen Tieren erhöht. Gehirne und Harnblasen der männlichen und weiblichen Tiere waren blaugrau gefärbt. Bei  $1400 \text{ mg/m}^3$  zeigten sich bei beiden Geschlechtern verminderte Körpergewichtszunahme und Blauverfärbung der meisten Gewebe, inklusive des Serums. Bei den weiblichen Tieren waren die Aktivitäten der Alanin- und Aspartat-Aminotransferase sowie der Kreatinkinase verringert und bei den männlichen Tieren Kalium- und Phosphorwerte erhöht. Das relative Nierengewicht der männlichen Tiere war leicht erhöht. Es traten keine neurotoxischen Wirkungen oder adverse histopathologische Befunde auf. Die NOAEC für das **Diethylbenzol-Isomerengemisch** lag bei  $34 \text{ ml/m}^3$  ( $190 \text{ mg/m}^3$ ). Bei der LOAEC von  $110 \text{ ml/m}^3$  waren Lympho- und Leukozytenzahlen verringert (Monsanto 1993). Da das Diethylbenzol-Isomerengemisch selbst bei der höchsten eingesetzten Konzentration keine neurotoxischen Effekte hervorrief, beträgt die NOAEC für klinische neurotoxische Wirkungen durch **1,2-Diethylbenzol** auch in dieser Studie  $25 \text{ ml/m}^3$  (10 % von  $252 \text{ ml/m}^3$ ).

Gruppen von 12 männlichen, 9 Wochen alten Sprague-Dawley-Ratten wurden gegen ein **Diethylbenzol-Isomerengemisch** (6 % 1,2-Diethylbenzol, 66 % 1,3-Diethylbenzol, 28 % 1,4-Diethylbenzol) in Konzentrationen von 0, 496, 680 oder  $869 \text{ ml/m}^3$  6 Stunden pro Tag an 5 Tagen pro Woche, 18 Wochen lang Ganzkörper-exponiert und über einen Zeitraum von 6 Wochen nachbeobachtet. Zehn Tiere dienten als Kontrolle. Bei diesen Tieren wurden Nervenleitgeschwindigkeiten und Aktionspotentiale gemessen. In einem zweiten Experiment wurden Gruppen von 15 männlichen, 19 Wochen alten Sprague-Dawley-Ratten gegen 0, 646 oder  $834 \text{ ml/m}^3$  6 Stunden pro Tag an 5 Tagen pro Woche, 18 Wochen lang Ganzkörper-exponiert und 7 Wochen lang nachbeobachtet. Bei diesen Tieren wurden die Latenzen der akustisch evozierten Hirnstammopotentiale (brainstem auditory evoked potentials, BAEP) mittels implantierter Elektroden gemessen. Die Körpergewichtszunahme war bei allen gegen Diethylbenzol exponierten Tieren verringert und die Haut blau verfärbt. Die Tiere des ersten Experiments wiesen keine klinischen Zeichen von Neurotoxizität auf. Die motorischen und sensorischen Nervenleitgeschwindigkeiten des Schwanznervs und die Amplituden des sensorischen Aktionspotentials waren bei allen exponierten Tieren zeit- und konzentrationsabhängig verringert und nicht vollständig reversibel. Die elektrophysiologischen Wirkungen traten somit bei geringeren Konzentrationen auf als die adversen klinischen Effekte, was zu erwarten

war. Die Tiere des zweiten Experiments wiesen zum Teil Gangstörungen auf und ein Tier der 834-ml/m<sup>3</sup>-Gruppe Paralyse der Hinterbeine. Zwei Tiere in dieser Gruppe starben. Damit waren die 19 Wochen alten Ratten empfindlicher als die 9 Wochen alten. Bei 646 und 834 ml/m<sup>3</sup> waren die BAEP-Latenzen der fünf Wellenformen und die Interpeak-Differenzen (I-V) signifikant verlängert. Bei 834 ml/m<sup>3</sup> war die Amplitude der N2P2-Komponente signifikant verringert (Gagnaire et al. 1992 a). Damit liegt die LOAEC bezüglich der Nervenleitgeschwindigkeiten und Amplituden der Aktionspotentiale bei 30 ml **1,2-Diethylbenzol**/m<sup>3</sup> (6 % von 496 ml/m<sup>3</sup>) und bezüglich klinischer Neurotoxizität bei 39 ml/m<sup>3</sup> (6 % von 646 ml/m<sup>3</sup>). Jüngere Tiere waren bezüglich der klinischen Neurotoxizität mit einer NOAEC von 52 ml/m<sup>3</sup> (6 % von 869 ml/m<sup>3</sup>) weniger empfindlich.

Am empfindlichsten war die Wirkung auf die Amplituden der sensorischen Aktionspotentiale (ASAP; Abnahme um 16 %, 13 % bzw. 26 % im Vergleich zur Kontrolle bei 496, 680 und 869 ml/m<sup>3</sup>) bzw. auf die Latenz der 5. Komponente der BAEP (Zunahme um 2,9 % bzw. 9,4 % im Vergleich zur Kontrolle bei 646 und 834 ml/m<sup>3</sup>). Eine Abschätzung der NAEC als ein Drittel der LOAEC von 496 ml/m<sup>3</sup> (= 165 ml/m<sup>3</sup>) würde bei linearer Extrapolation der obigen Konzentrations-Wirkungs-Beziehung einer 4,4%igen Verminderung der ASAP entsprechen. Die relative Standardabweichung des Mittelwertes der ASAP der Kontrolltiere (208 ± 25 µV) ist mit 12 % höher, so dass das Aktionspotential bei der NAEC innerhalb der Standardabweichung der Kontrollen liegt. Die Latenzzeit der 5. Komponente des BAEP würde bei linearer Extrapolation der obigen Konzentrations-Wirkungs-Beziehung bei der abgeschätzten NAEC von 165 ml/m<sup>3</sup> um 1,4 % zunehmen. Aus den Daten der Publikation kann nicht berechnet werden, ob diese Zunahme noch innerhalb der Standardabweichung der Kontrollen liegt, da nur der Standardfehler angegeben ist. Bezogen auf den 1,2-Diethylbenzol-Gehalt kann damit eine NAEC von 10 ml **1,2-Diethylbenzol**/m<sup>3</sup> (6 % von 165 ml/m<sup>3</sup>) angenommen werden.

**Fazit:** Bei inhalativer Exposition ist die empfindlichste Wirkung des **Diethylbenzol-Isomerengemisches** die Verringerung von Leuko- und Lymphozyten bei 110 ml/m<sup>3</sup> mit einer NOAEC von 34 ml/m<sup>3</sup>. Für das neurotoxische **1,2-Diethylbenzol** ist die LOAEC 30 ml/m<sup>3</sup> für die Beeinträchtigung von Aktionspotentialen peripherer Nerven mit einer abgeschätzten NAEC von 10 ml/m<sup>3</sup>.

### **5.2.2 Orale Aufnahme**

Gruppen von 15 männlichen Sprague-Dawley-Ratten erhielten 0, 75 oder 100 mg **1,2-Diethylbenzol**/kg KG per Schlundsonde an 4 Tagen pro Woche, 8 Wochen lang und wurden über einen Zeitraum von 8 Wochen nachbeobachtet. Die Tiere wiesen eine Abnahme des Körpergewichts, Blauverfärbungen von Haut und Urin sowie Gangstörungen bis zur Paralyse der Hinterbeine auf. Zwei Tiere starben bei 100 mg/kg KG. Die Latenzen der fünf Wellenformen des BAEP waren signifikant verlängert, die Amplituden verringert und blieben es auch nach der achtwöchigen Erholungsphase. Die Interpeak-Latenz (I-V) nahm ebenfalls dosis- und zeitabhängig zu. Deutlichere Ergebnisse wurden nach intraperitonealer Gabe von 10 oder 15 mg **1,2-Diacetylbenzol**/kg KG und Tag nach dem gleichen Schema erhalten. Durch die verlängerten Latenzen der BAEP nach akustischer Auslösung wirkt 1,2-Diethylben-

zol bzw. sein Metabolit 1,2-Diacetylbenzol zentralnervös auf den Hörvorgang, es könnte jedoch auch eine periphere cochleare Dysfunktion zu diesen Effekten beitragen (Gagnaire et al. 1992 b).

In einem Test nach OECD-Prüfrichtlinie 407, erweitert um die Erfassung endokriner Effekte, erhielten 5 männliche und 5 weibliche, acht Wochen alte CrI:CD (SD)-Ratten pro Dosis 28 Tage lang 0, 25, 150 oder 1000 mg **1,3-Diethylbenzol**/kg KG und Tag. Weitere 5 männliche und 5 weibliche Kontroll- und Hochdosistiere wurden 14 Tage lang nachbeobachtet. Ab 25 mg/kg KG und Tag waren die Retikulozyten der männlichen Tiere ohne Dosisabhängigkeit vermehrt. Die T4-Konzentrationen waren dosisabhängig erhöht. Ab 150 mg/kg KG und Tag war das Gesamtcholesterin bei den weiblichen Tieren um 28 % angestiegen. Bei den männlichen Tieren kam es zu alpha2u-Protein-Ablagerungen im Nierenepithel, was nicht humanrelevant ist. Ein weibliches Tier hatte Hämosiderinablagerungen in der Milz bei 150 mg/kg KG und Tag, zwei weibliche Ratten bei 1000 mg/kg KG und Tag und vier weibliche Ratten am Ende der Nachbeobachtungszeit. Das Körpergewicht der männlichen Tiere war bei 1000 mg/kg KG und Tag signifikant um 4 % verringert. Das relative Lebergewicht war um 38 %, das relative Nierengewicht um 10 % erhöht. Bei den weiblichen Tieren war das relative Lebergewicht um 35 % erhöht und das der Schilddrüse um 36 %. Alle Effekte waren nach einer 14-tägigen Erholungsphase reversibel. Bei 1000 mg/kg KG und Tag waren die Retikulozytenwerte der weiblichen Tiere sowie deren Konzentrationen von Gesamtprotein, Albumin und Schilddrüsen-stimulierendem Hormon (TSH) im Blut erhöht, die Aktivität der Cholinesterase und die T3-Werte verringert. Bei fünf männlichen und vier weiblichen Tieren wurde Hypertrophie der zentrilobulären Hepatozyten und bei je einem Tier erhöhte extrameduläre Hämatopoese festgestellt. Ein männliches Tier zeigte Hyperplasie des follikulären Epithels der Schilddrüse. Die Autoren geben einen NOAEL von 150 mg 1,3-Diethylbenzol/kg KG und Tag an (Yamasaki et al. 2012).

Die empfindlichsten Effekte ab 25 mg/kg KG und Tag waren bei den männlichen Tieren die erhöhte Retikulozytenzahl, wobei aufgrund der fehlenden Dosisabhängigkeit eine substanzabhängige Wirkung fraglich ist, und die erhöhten T4-Werte. Eine Wirkung auf die Schilddrüse ist plausibel, da die Tiere der höchsten Dosisgruppe deutlich erhöhte Lebergewichte und zentrilobuläre Hypertrophie aufwiesen, was auf eine Enzyminduktion hindeutet, wodurch sekundär die Schilddrüsenhormone über verstärkte Glucuronidierung abgebaut werden. Diese Leberzellhypertrophie trat aber nur bei 1000 mg/kg KG und Tag auf. In dieser Gruppe waren auch die TSH-Werte bei den männlichen Tieren numerisch und bei den weiblichen Tieren statistisch signifikant erhöht. Die erhöhten T4-Werte bei den niedrigeren Dosen sind aber nicht plausibel. In derselben Publikation wurde noch eine Studie mit einer zweiten Substanz mit gleich alten Kontrolltieren beschrieben. In dieser Kontrollgruppe lag der T4-Wert 25 % höher und damit so hoch wie der T4-Wert bei 25 mg 1,3-Diethylbenzol/kg KG und Tag. Somit ist anzunehmen, dass der Kontrollwert der Studie mit 1,3-Diethylbenzol zu niedrig war. Ab 150 mg/kg KG und Tag wurden bei den weiblichen Ratten Hämosiderinablagerungen in der Milz und vermehrtes Gesamtcholesterin beobachtet. Die Autoren diskutieren diese Befunde nicht. Diese Effekte zeigten sich bei den männlichen Tieren bis 1000 mg/kg KG und Tag nicht. Ein eindeutiger LOAEL war 1000 mg/kg KG und Tag. Die orale Dosis von 150 mg/kg

KG und Tag würde für eine sechsstündige inhalative Exposition etwa 780 mg/m<sup>3</sup> (140 ml/m<sup>3</sup>) entsprechen (Atemvolumen 0,8 l/min/kg KG, orale Resorption 90 %, inhalative Resorption 60 %). In der 13-Wochen-Inhalationsstudie mit einem **Diethylbenzol-Isomerengemisch** wurden bei 146 ml 1,3-Diethylbenzol/m<sup>3</sup> (58 % von 252 ml/m<sup>3</sup>) jedoch keine Effekte auf Milz und Cholesterin gesehen. Deshalb wird 150 mg 1,3-Diethylbenzol/kg KG und Tag als NOAEL betrachtet.

In einem Screeningtest aus Japan (Zusammenfassung und Tabellen in Englisch) aus dem Jahr 1993, ähnlich der OECD-Prüfrichtlinie 422, erhielten je 12 Sprague-Dawley-Ratten pro Geschlecht und Dosis täglich 0, 30, 150 oder 750 mg **1,4-Diethylbenzol**/kg KG per Schlundsonde. Die männlichen Tiere wurden 44 Tage lang, davon 14 Tage vor der Verpaarung exponiert, die weiblichen insgesamt bis zu 52 Tage, davon 14 Tage vor der Verpaarung und bis zum 3. Laktationstag. Klinisch-chemische und hämatologische Untersuchungen wurden nur an den männlichen Tieren durchgeführt. Ab 150 mg/kg KG und Tag waren bei den männlichen Tieren die Blut-Harnstoff-Stickstoffwerte (0, 30, 150, 750 mg/kg KG: 120, 125, 136, 138 mg/l, evtl. Hinweis auf eingeschränkte Nierenfunktion), die Alanin-Aminotransferase (17, 18, 23, 25 U/l; Adversität in der geringen Ausprägung unklar) und die relativen Nierengewichte (0,641; 0,678; 0,715; 0,737 %, es wurde nicht auf alpha2u-Ablagerungen in der Niere geprüft) signifikant erhöht. Die gamma-Glutamyltranspeptidase war verringert (2,9; 3,0; 2,2; 2,1 U/l; Bedeutung unklar). Bei 750 mg/kg KG und Tag waren bei den männlichen Tieren Gesamtprotein, Albumin, Kreatinin und Gesamtbilirubin im Blut sowie ab dem 28. Tag die Futteraufnahme erhöht. Die Blut-Glucosekonzentration war vermindert. Die Leber war braun verfärbt und vergrößert, die Leberzellen geschwollen. Bei dieser Dosis war die Körpergewichtszunahme verringert (♂: -10 %; ♀: -16 % während Gestation) und das Lebergewicht erhöht (♂: 18 % absolut; 24 % relativ; ♀: 18 % absolut; 21 % relativ). Die hämatologischen Parameter der männlichen Tiere unterschieden sich zum Teil schon ab der niedrigsten Dosisgruppe signifikant von der Kontrolle, aber ohne Dosisabhängigkeit bzw. Adversität. Aufgrund der veränderten klinisch-chemischen Parameter betrug der NOAEL 30 mg/kg KG und Tag für die männlichen und wegen der verringerten Körpergewichtszunahme 150 mg/kg KG und Tag für die weiblichen Ratten (ECHA 2016 a; MHW 1993 a).

Ein **Diethylbenzol-Isomerengemisch** (7 % 1,2-Diethylbenzol, 58 % 1,3-Diethylbenzol, 35 % 1,4-Diethylbenzol) sowie 1,2-Diethylbenzol, 1,3-Diethylbenzol oder 1,4-Diethylbenzol, jeweils separat, wurden Gruppen von 12 männlichen Sprague-Dawley-Ratten per Schlundsonde verabreicht. Die Mischung wurde in Dosen von 0, 500 oder 750 mg/kg KG und Tag an 5 Tagen pro Woche, 10 Wochen lang gegeben. **1,2-Diethylbenzol** wurde in einer Dosis von 100 mg/kg KG und Tag an 4 Tagen pro Woche, 8 Wochen lang, sowie **1,3-Diethylbenzol** und **1,4-Diethylbenzol** in einer Dosis von jeweils 500 mg/kg KG und Tag an 5 Tagen pro Woche, 8 Wochen lang appliziert. Jeweils 10 Kontrolltiere erhielten das Vehikel Olivenöl. Alle Tiere, die das Isomerengemisch erhalten hatten, wiesen ab dem dritten Tag eine Blauverfärbung der Haut und des Urins auf. In beiden Dosisgruppen starben jeweils zwei Tiere, und die Körpergewichtsentwicklung war in der Hochdosisgruppe verzögert. Alle behandelten Ratten wiesen Hinterbeinschwäche, Gangstörungen und vereinzelt komplette Lähmung der Hinterbeine auf. Die motorischen und sensorischen Nervenleit-

geschwindigkeiten des Schwanznervs und die Amplituden des sensorischen Aktionspotentials waren ab der vierten Woche zeit- und dosisabhängig verringert. Die Ratten, die 1,2-Diethylbenzol erhalten hatten, zeigten dieselben klinischen Symptome und Beeinträchtigungen bei den elektrophysiologischen Messungen. Diese waren ab der ersten oder zweiten Woche verschlechtert, besserten sich aber in der achtwöchigen Nachbeobachtungsphase. Da das Aktionspotential stärker vermindert war als die Nervenleitgeschwindigkeiten, folgerten die Autoren, dass es sich um eine Axonopathie und nicht um eine Myelinopathie handelt. Das 1,3- und 1,4-Isomer verursachten weder neurotoxische Wirkungen noch systemische Toxizität, außer einer vorübergehenden Verzögerung der Körpergewichtszunahme durch 1,4-Diethylbenzol. Die Autoren weisen darauf hin, dass 1,2-Diethylbenzol bei Meerschweinchen nicht zu einer Blaufärbung der Gewebe und des Urins führte und auch nicht neurotoxisch war (k. w. A.). Daher wurde angenommen, dass 1,2-Diethylbenzol nicht selbst neurotoxisch ist, sondern ein Metabolit für die Blaufärbung und Neurotoxizität verantwortlich ist (Gagnaire et al. 1990).

Da in dieser Studie 1,2-Diethylbenzol sowohl allein als auch in der Mischung mit den beiden anderen Isomeren getestet wurde, wird nachfolgend abgeschätzt, ob dessen Neurotoxizität durch die zwei nicht-neurotoxischen Isomere beeinflusst wird: Die Dosis von 1,2-Diethylbenzol bei Gabe der Mischung betrug 7 % von 750 mg/kg KG und Tag und damit 262,5 mg/kg KG und Woche. Die wöchentliche Dosis von 1,2-Diethylbenzol bei alleiniger Gabe war 400 mg/kg KG. Aus den höheren Geradensteigungen für die Endpunkte motorische und sensorische Nervenleitgeschwindigkeiten (MCV, SCV) und Amplitude des sensorischen Aktionspotentials (ASAP) in den Abbildungen der Publikation bei Gabe von 1,2-Diethylbenzol lässt sich folgern, dass die Gabe von 400 mg 1,2-Diethylbenzol/kg KG und Woche wie zu erwarten stärker wirkt als die Gabe von 262,5 mg 1,2-Diethylbenzol/kg KG und Woche in der Diethylbenzol-Mischung. Es lässt sich also keine Verstärkung der neurotoxischen Effekte durch die beiden anderen Isomere feststellen. Andererseits ist der Unterschied zwischen den Effektstärken (Geradensteigungen) auch kein Hinweis auf eine wesentliche Verminderung der Neurotoxizität von 1,2-Diethylbenzol durch die beiden anderen Diethylbenzol-Isomere. Aus dem Gehalt an **1,2-Diethylbenzol** in der Mischung lässt sich ein LOAEL von 35 mg/kg KG und Tag (7 % von 500 mg/kg KG) für dessen klinische und elektrophysiologisch nachweisbare neurotoxische Wirkung berechnen. Ein NOAEL wurde nicht erhalten. Außerdem zeigen die Abbildungen, dass die Effekte zeitabhängig zunehmen und nach 8 Wochen noch kein Plateau erreicht ist.

**Fazit:** Auch bei oraler Gabe eines **Diethylbenzol-Isomerengemisches** waren die klinischen und elektrophysiologisch nachweisbaren neurotoxischen Wirkungen, verursacht durch das enthaltene 1,2-Diethylbenzol, die empfindlichsten Effekte mit einem LOAEL von 35 mg **1,2-Diethylbenzol**/kg KG und Tag. Ein NOAEL wurde nicht erhalten. Daher wird 1/3 des LOAEL, also 12 mg/kg KG und Tag, als NAEL angenommen.

**1,3-Diethylbenzol** bewirkte bei Schlundsondenapplikation von 1000 mg/kg KG an Ratten eine Zunahme der Lebergewichte mit zentrilobulärer Hypertrophie, vermutlich aufgrund einer Induktion metabolisierender Enzyme der Leber. Dadurch



werden Schilddrüsenhormone beeinflusst und das Schilddrüsengewicht erhöht. Der NOAEL betrug 150 mg/kg KG und Tag.

**1,4-Diethylbenzol** führte in einer Screening-Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 422 bei männlichen Ratten ab 150 mg/kg KG und Tag zu Veränderungen der Blut-Harnstoff-Stickstoff-Werte, der Alanin-Aminotransferase, der gamma-Glutamyl-transpeptidase und zu erhöhtem Nierengewicht. Der NOAEL betrug 30 mg/kg KG und Tag.

### **5.2.3 Dermale Aufnahme**

In der Kanzerogenitätsstudie (Abschnitt 5.7) mit 3-mal wöchentlicher dermaler Applikation von 25 µl eines Diethylbenzol-Isomerengemisches an Mäuse war die Überlebenszeit und die Inzidenz systemischer Tumoren im Vergleich zu Kontrolltieren nicht verändert.

## **5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute**

### **5.3.1 Haut**

In einer In-vitro-Studie mit humaner rekonstruierter Epidermis nach OECD-Prüfrichtlinie 439 war **1,4-Diethylbenzol** zytotoxisch und reduzierte die Zellebensfähigkeit auf 12,2 % des Negativkontrollwerts. Die Positivkontrolle 5%iges Natriumdodecylsulfat ergab eine Zellebensfähigkeit von 2,3 %. Damit erwies sich 1,4-Diethylbenzol als hautreizend (ECHA 2016 a).

Auch im Local Lymph Node Assay an der Maus war 1,4-Diethylbenzol hautreizend (Abschnitt 5.4.1).

Ein **Diethylbenzol-Isomerengemisch** (25 % 1,2-Diethylbenzol; 40 % 1,3-Diethylbenzol; 35 % 1,4-Diethylbenzol) war mäßig hautreizend und verursachte bei wiederholter Applikation (10- bis 20-mal innerhalb von 4 Wochen) auf die Haut von Kaninchen Exfoliation (Wolf et al. 1956).

Im Hautreizungstest nach aktueller OECD-Prüfrichtlinie 404 erwiesen sich 0,5 ml eines Diethylbenzol-Isomerengemisches, 4 Stunden semiokklusiv auf die Haut von 3 Neuseeländer-Kaninchen appliziert, mit einem primären Reizindex von 5,2 von 8 als stark hautreizend (ECHA 2016 b).

Im Hautreizungstest nach aktueller und vorheriger OECD-Prüfrichtlinie 404 erwiesen sich 0,5 ml eines Diethylbenzol-Isomerengemisches, 4 Stunden semiokklusiv und 24 Stunden okklusiv auf die Haut von 6 Neuseeländer-Kaninchen appliziert, mit einem primären Reizindex von 3 von 8 für die 24-Stunden-Exposition als mäßig hautreizend. Dabei kam es zu oberflächlicher und subepidermaler Nekrose bei 2 Tieren. Nach 4-stündiger Applikation wurden mäßige bis starke Erytheme bei allen 6 Tieren hervorgerufen, die bei 5 Tieren nach 14 Tagen reversibel waren (ECHA 2016 b). Die Gründe für die schwächere Hautreizwirkung in diesem 4-Stunden-Test im Vergleich zu dem oben beschriebenen sind nicht bekannt.

Insgesamt sind die Diethylbenzol-Isomere im REACH-Registrierungsdossier nach dem globalen harmonisierten System (GHS) als hautreizend eingestuft worden (ECHA 2016 b).

### 5.3.2 Auge

Im HET-CAM-Test an Hühnereiern ergab **1,4-Diethylbenzol** einen Reizwert von 10,0. Dieser war so hoch wie der von 1%igem Natriumdodecylsulfat, das als Positivkontrolle verwendet wurde. Damit wird mit diesem Test für 1,4-Diethylbenzol eine starke Augenreizwirkung vorhergesagt (ECHA 2016 a). Der HET-CAM-Test ist jedoch von der OECD nicht als valider Ersatz für einen Test auf Augenreizwirkung anerkannt.

Zwei Tropfen eines **Diethylbenzol-Isomerengemisches** (25 % 1,2-Diethylbenzol; 40 % 1,3-Diethylbenzol; 35 % 1,4-Diethylbenzol), appliziert auf ein Kaninchenauge, verursachte eine leichte Reizung der Bindehäute, aber keine Hornhautschäden (Wolf et al. 1956).

Im Augenreizungstest nach EPA OPP-Prüfrichtlinie 81-4 erwies sich 0,1 ml eines Diethylbenzol-Isomerengemisches bei 24-stündiger Applikation an den Augen von Neuseeländer-Kaninchen als leicht und reversibel reizend. Die Durchschnittswerte für alle 6 Tiere nach 24, 48 und 72 Stunden betrugen 1,3 für Bindehauterytheme, 0 für Iritis und 0 für Korneaeffekte. Das Gemisch ist damit nicht als augenreizend einzustufen (ECHA 2016 b).

Insgesamt sind in den REACH-Registrierungsdossiers die **Diethylbenzol-Isomere** nach GHS nicht als augenreizend eingestuft (ECHA 2016 b), **1,4-Diethylbenzol** jedoch als „verursacht schwere Augenschäden“ (ECHA 2016 a) klassifiziert worden.

## 5.4 Allergene Wirkung

### 5.4.1 Hautsensibilisierende Wirkung

**1,4-Diethylbenzol** (Reinheit 99,3 %) wurde in einem modifizierten Local Lymph Node Assay (IMDS, Integrated Model for the Identification of Skin Reactions) an weiblichen NMRI-Mäusen in 1%-, 10%-, 25%- und 50%iger Verdünnung in Aceton/Olivenöl (3:1) sowie als unverdünnte Substanz getestet. In Abweichung von der OECD-Prüfrichtlinie 429 wurde nicht die Zellproliferation gemessen, sondern die Lymphknotenzellzahl und das Lymphknotengewicht als Maß für Sensibilisierung sowie das Ohrgewicht und die Ohrdicke als Maß für Reizwirkung bestimmt. Die Positivkontrolle Hexylzimtaldehyd erhöhte die Lymphknotenzellzahl auf mehr als das 1,4-Fache der Kontrolle, was das Abschneidekriterium für einen sensibilisierenden Stoff in diesem Test darstellt. Die 1%ige und die 10%ige Verdünnung von 1,4-Diethylbenzol führten zu keiner Erhöhung der Zellzahl und des Gewichts der Lymphknoten sowie des Gewichts und der Dicke der Ohren. Diese Parameter waren bei den anderen Konzentrationen signifikant erhöht. Die Lymphknotenzellzahl nahm um das 1,4-; 1,94- und 1,91-Fache und das Lymphknotengewicht um das 1,19-; 1,58- und 1,87-Fache der Kontrolle zu. Die Ohrdicke war bei den 5 Testkonzentrationen nicht konsistent und betrug mit zunehmender Testkonzentration das 1,09-; 1,02-; 1,03-; 1,02- und 1,13-Fache der Kontrolle. Da jedoch das Ohrgewicht bei den drei höchsten Konzentrationen mehr als das 1,1-Fache der Kontrolle betrug (1,10-; 1,12- und 1,19-fach) und damit das Kriterium eines reizenden Stoffs erfüllte, wurde die

erhöhte Lymphknotenzellzahl durch die gleichzeitige Reizwirkung nicht als Hinweis auf eine Sensibilisierungsfähigkeit der Substanz angesehen (ECHA 2016 a).

Für ein „**Polyethylbenzol**“-Gemisch mit der CAS-Nr. 25340-17-4 wurden in einem Bühler-Test negative Befunde erhoben. Zur Induktion wurde eine 10%ige Zubereitung des Gemisches in Ethanol verwendet. Bei der 2 Wochen nach 3-maliger Induktionsbehandlung vorgenommenen Auslösebehandlung reagierte keines der 20 weiblichen Hartley-Meerschweinchen auf eine 5%ige Zubereitung des Gemisches in Aceton (ECHA 2016 b).

#### **5.4.2 Atemwegssensibilisierende Wirkung**

Hierzu liegen keine Daten vor.

### **5.5 Reproduktionstoxizität**

#### **5.5.1 Fertilität**

In einem Screeningtest aus dem Jahr 1993, ähnlich der OECD-Prüfrichtlinie 422, erhielten je 12 Sprague-Dawley-Ratten pro Geschlecht und Dosis täglich 0, 30, 150 oder 750 mg **1,4-Diethylbenzol**/kg KG per Schlundsonde. Die männlichen Tiere wurden 44 Tage lang, davon 14 Tage vor der Verpaarung, exponiert, die weiblichen 14 Tage vor der Verpaarung bis zum 3. Laktationstag. Es traten keine Wirkungen auf die Verpaarung, die Fertilität, den Östruszyklus und die Geburt auf (siehe Abschnitt 5.2.2; ECHA 2016 a; MHW 1993 a).

#### **5.5.2 Entwicklungstoxizität**

In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie nach OECD-Prüfrichtlinie 414 erhielten 22 bis 26 Sprague-Dawley-Ratten täglich vom 6. bis zum 20. Trächtigkeitstag 0, 5, 15, 25 oder 35 mg **1,2-Diethylbenzol**/kg KG per Schlundsonde (Vehikel: Maiskeimöl). Die Untersuchung der Feten erfolgte am 21. Trächtigkeitstag. Ab 15 mg/kg KG waren Körpergewichtsentwicklung (6. bis 21. Trächtigkeitstag minus Gewicht des graviden Uterus: 15, 25, 35 mg/kg KG: 25,5 %; 37,3 %; 49,0 %) und Futteraufnahme der Muttertiere (6. bis 21. Trächtigkeitstag: 15, 25, 35 mg/kg KG: 7,9 %; 12,4 %; 15,5 %) sowie die Fetengewichte pro Wurf (15, 25, 35 mg/kg KG: 5,6 %; 8,5 %; 10,6 %) dosisabhängig signifikant verringert. Bis zur höchsten Dosis von 35 mg/kg KG und Tag traten bei den Feten weder erhöhte Mortalität, noch erhöhte Inzidenzen von Missbildungen oder Variationen auf. Ab 15 mg/kg KG waren plazentale Gewebe blau gefärbt (k. A., ob Haut oder Organe der Feten verfärbt waren). Nach Ansicht der Autoren lag der NOAEL für Entwicklungstoxizität und Maternaltoxizität bei 5 mg **1,2-Diethylbenzol**/kg KG (Saillenfait et al. 1999). Die erniedrigten Fetengewichte pro Wurf wiesen eine starke Korrelation mit der verringerten Futteraufnahme bzw. der Körpergewichtsentwicklung der Muttertiere auf. Da keine weiteren Effekte auf die Feten beobachtet wurden, beträgt der NOAEL für Entwicklungstoxizität nach Ansicht der Kommission 35 mg/kg KG und Tag.

Im unter Abschnitt 5.5.1 beschriebenen Screeningtest mit **1,4-Diethylbenzol** traten bis zur Dosis von 750 mg/kg KG für die Muttertiere bei deren Feten keine äußerlichen Missbildungen und keine Wirkungen auf die Körpergewichte bis zum 4. Laktationstag auf (siehe Abschnitt 5.2.2; ECHA 2016 a; MHW 1993 a).

Je 25 Sprague-Dawley-Ratten erhielten in einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie ähnlich der OECD-Prüfrichtlinie 414 täglich vom 6. bis zum 15. Trächtigkeitstag ein **Diethylbenzol-Isomeregemisch** (10,0 % 1,2-Diethylbenzol; 57,9 % 1,3-Diethylbenzol; 29,4 % 1,4-Diethylbenzol; 0,6 % sec-Butylbenzol; < 0,1 % Isopropylbenzol) in Dosierungen von 0, 20, 100 oder 200 mg/kg KG per Schlundsonde (Vehikel: Maiskeimöl). Die Untersuchung der Feten erfolgte am 20. Trächtigkeitstag. Ab 100 mg/kg KG waren Körpergewichtsentwicklung (6. bis 9. Trächtigkeitstag: Kontrolle:  $5,0 \pm 5,4$  g; 100 mg/kg KG:  $0,0 \pm 6,9$  g; 200 mg/kg KG:  $-7 \pm 10,4$  g) und Futteraufnahme der Muttertiere (6. bis 9. Trächtigkeitstag: Kontrolle:  $60,0 \pm 7,8$  g/kg KG und Tag; 100 mg/kg KG:  $52,0 \pm 9,0$  g/kg KG und Tag; 200 mg/kg KG:  $44,0 \pm 11,4$  g/kg KG und Tag) verringert und die Fruchtblase dosisabhängig grünblau verfärbt. Bei 200 mg/kg KG war das durchschnittliche Fetengewicht im Vergleich zu den Tieren der Kontrollgruppe um 6 % erniedrigt. Es kam bei den Muttertieren zu keinen klinischen Befunden und bei den Feten bis zur höchsten Dosis von 200 mg/kg KG nicht zu erhöhter Mortalität oder erhöhten Inzidenzen von Missbildungen oder Variationen. Der NOAEL für Maternaltoxizität liegt bei 20 mg/kg KG und Tag (Monsanto 1992). Aus der Studie wird ein NOAEL für Entwicklungstoxizität von 200 mg/kg KG und Tag abgeleitet, da das nur marginal erniedrigte Fetengewicht wegen der verminderten maternalen Futteraufnahme nicht bewertungsrelevant ist und keine spezifischen entwicklungstoxischen Effekte beobachtet wurden, insbesondere keine Teratogenität.

Die in dieser Studie ab 100 mg Diethylbenzol-Isomeregemisch/kg KG und Tag (entspricht 10 mg 1,2-Diethylbenzol/kg KG und Tag) beobachtete grünblaue Verfärbung der Fruchtblase steht in Übereinstimmung mit der blauen Färbung der plazentalen Gewebe in der pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie an Ratten mit 1,2-Diethylbenzol ab 15 mg/kg KG und Tag (Saillenfait et al. 1999). Die blaue Verfärbung wird durch den Metaboliten 1,2-Diacetylbenzol von 1,2-Diethylbenzol verursacht. 1,2-Diacetylbenzol reagiert besonders mit Lysin und Glycin und bildet purpurblaue Chromophore (Kim et al. 2002).

In einer Dosisfindungsstudie mit je sechs Tieren, die 0, 20, 50, 100, 150 oder 200 mg Diethylbenzol-Isomeregemisch/kg KG erhielten, war die Körpergewichtsentwicklung der Muttertiere bis 50 mg/kg KG nicht beeinträchtigt, die Fetengewichte waren bei 200 mg/kg KG vermindert. Externe Missbildungen wurden nicht gefunden (Monsanto 1991).

## 5.6 Genotoxizität

### 5.6.1 In vitro

Im Präinkubationstest zeigte **1,4-Diethylbenzol** an *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 und *E. coli* WP2uvrA bis zur zytotoxischen Konzentration von 78 µg/Platte mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung keine mutagene Wirkung. Die Positivkontrollen waren wirksam (ECHA 2016 a; MHW 1993 b).

Im Präinkubationstest zeigte ein **Diethylbenzol-Isomerengemisch** (k.A. zur Zusammensetzung) an *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 und TA1537 bis zur zytotoxischen Konzentration von 50 µg/Platte mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung keine mutagene Wirkung. Positivkontrollen wurden verwendet, jedoch deren Ergebnis nicht berichtet (ECHA 2016 b).

Im Platteninkorporationstest zeigte ein **Diethylbenzol-Isomerengemisch** (k.A. zur Zusammensetzung) an *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 und TA1538 bis zur zytotoxischen Konzentration von 50 µg/Platte mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung keine mutagene Wirkung. Die Positivkontrollen waren wirksam (ECHA 2016 b).

Ein Chromosomenaberrationstest an Lungenzellen des Chinesischen Hamsters verlief mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung bis zur Konzentration von 1,3 mg **1,4-Diethylbenzol**/ml bei sechsständiger Inkubation mit negativem Ergebnis. Nur ohne Zusatz metabolischer Aktivierung wurde Zytotoxizität beobachtet. Mit metabolischer Aktivierung entsprach die höchste Konzentration der Limitdosis von 10 mM (1,34 mg/ml). Auch bei 24- oder 48-stündiger Inkubation ohne Zusatz metabolischer Aktivierung waren die Ergebnisse bis zur zytotoxischen Konzentration von 0,11 mg 1,4-Diethylbenzol/ml negativ. Mit Zusatz metabolischer Aktivierung wurde nicht getestet. Die Positivkontrollen Mitomycin C und Cyclophosphamid waren wirksam (ECHA 2016 a; MHW 1993 c).

Im Chromosomenaberrationstest an CHO-Zellen war ein **Diethylbenzol-Isomerengemisch** (k.A. zur Zusammensetzung) bis zur zytotoxischen Konzentration von 75 µg/Platte mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung nicht klastogen. Die Positivkontrollen waren wirksam (ECHA 2016 b).

Bis zur zytotoxischen Konzentration von 100 µg/ml war **1,4-Diethylbenzol** mit und ohne Zusatz von metabolischer Aktivierung im HPRT-Test an V79-Fibroblasten nach OECD-Prüfrichtlinie 476 nicht mutagen. Die Positivkontrollen waren wirksam (ECHA 2016 a).

Bis zur zytotoxischen Konzentration von 100 µg/ml war ein **Diethylbenzol-Isomerengemisch** (k.A. zur Zusammensetzung) mit und ohne Zusatz von metabolischer Aktivierung im HPRT-Test, ähnlich der OECD-Prüfrichtlinie 476, an CHO-Zellen nicht mutagen. Die Positivkontrollen waren wirksam (ECHA 2016 b).

## 5.6.2 In vivo

In einem Mikronukleustest von 1991 nach OECD-Prüfrichtlinie 474 erhielten Gruppen von 18 männlichen und 18 weiblichen CD1-Mäusen je Dosis 0, 1000, 2000 oder 4000 mg/kg KG eines **Diethylbenzol-Isomerengemisches** (k.A. zur Zusammensetzung) intraperitoneal. Ab 2000 mg/kg KG kam es zu Mortalität. Das Knochenmark der Tiere wurde 24, 48 und 72 Stunden p.a. untersucht, wobei keine erhöhte Häufigkeit von Mikronuklei in den 1000 untersuchten polychromatischen Erythrozyten pro Tier gefunden wurde. Das PCE/NCE-Verhältnis zeigte bei den weiblichen Tieren der Hochdosisgruppe nach 48 Stunden Zytotoxizität an. Die Positivkontrolle Cyclophosphamid war wirksam (ECHA 2016 b).

### 5.7 Kanzerogenität

Bei Applikation von 25 µl eines **Diethylbenzol-Isomerengemisches** (k. A. zur Zusammensetzung im Originalbericht, Produkt der Dow Chemical Company, laut ECHA (2016 b): 25 % 1,2-; 40 % 1,3-; 35 % 1,4-Diethylbenzol) als 10%ige Lösung in Aceton auf die Rückenhaut von 40 männlichen C3H/HeJ-Mäusen, 3-mal pro Woche über die Lebenszeit der Tiere, trat ein Plattenepithelzellkarzinom an der Applikationsstelle auf. Die Behandlung führte außerdem bei 7 Mäusen zu epidermaler Hyperplasie und bei einer Maus zu papillärer Hyperplasie. Weiterhin traten Hautläsionen wie Hyperkeratose (23/39), Verkrustung der Hautoberfläche (5/39), epidermale Nekrose (1/39), ulzerative Dermatitis (4/39), Dermatitis (6/39) und dermale Fibrose (5/39) auf. Die Kontrolltiere erhielten Aceton, und es wurde ein Fibrosarkom und ein Lymphosarkom und 4 Hautläsionen (wie oben) beobachtet. Die Überlebenszeit von behandelten (502 Tage) und Kontrolltieren (499 Tage) sowie die Inzidenz systemischer Tumoren unterschieden sich nicht signifikant. Da in der historischen Aceton-Kontrolle von 604 männlichen C3H/HeJ-Mäusen kein Plattenepithelzellkarzinom auftrat, wurde das Plattenepithelzellkarzinom bei dem behandelten Tier als substanzbedingt interpretiert. In einer 10-tägigen Vorstudie, in der die Mäuse täglich 25 µl Diethylbenzol-Isomerengemisch unverdünnt, 50%ig oder 10%ig in Aceton erhielten, erwies sich die 10%ige Lösung als ausreichend nicht-irritierend und untoxisch für eine Kanzerogenitätsstudie (Dow Chemical Company 1983). Im REACH-Registrierungsdossier wurde auf die hautreizende Wirkung von Diethylbenzolen hingewiesen, die Hautreizung bei wiederholter Applikation als Tumorursache angeführt und die in diesem Versuch beobachtete tumorigene Wirkung deshalb als nicht humanrelevant bewertet (ECHA 2016 b).

## 6 Bewertung

Kritische Effekte bei Sprague-Dawley-Ratten sind für ein Diethylbenzol-Isomerengemisch die Abnahme von weißen Blutzellen, für 1,2-Diethylbenzol die periphere Neurotoxizität, für 1,3-Diethylbenzol Erhöhungen von Leber- und Schilddrüsen-gewicht sowie von TSH und für 1,4-Diethylbenzol Zunahmen von Blut-Harnstoff-Stickstoff-Werten, Alanin-Aminotransferase, Nierengewicht und Abnahme von gamma-Glutamyltranspeptidase.

### MAK-Wert.

#### 1. Diethylbenzol-Isomerengemisch

In einer unveröffentlichten 13-Wochen-Studie (Monsanto 1993) an Ratten mit einem **Diethylbenzol-Isomerengemisch** (10,0 % 1,2-Diethylbenzol; 57,9 % 1,3-Diethylbenzol; 29,4 % 1,4-Diethylbenzol; 0,6 % sec-Butylbenzol; < 0,1 % Isopropylbenzol) wurden bei 252 ml/m<sup>3</sup> keine adversen Wirkungen auf den Atemtrakt festgestellt. Die NOAEC für den kritischen systemischen Effekt, die Abnahme von weißen Blutzellen, betrug 34 ml/m<sup>3</sup> und die LOAEC 110 ml/m<sup>3</sup>, so dass die systemische Wirkung deutlich im Vordergrund steht. Der Blut:Luft-Verteilungskoeffizient, berechnet nach

Buist et al. (2012), ist für die Isomere 80 bis 120, deshalb muss das höhere Atemvolumen am Arbeitsplatz im Vergleich zu den tierexperimentellen Bedingungen berücksichtigt werden (siehe MAK- und BAT-Werte-Liste, Abschnitt I b und I c). Die NOAEC entspricht **4,25 ml/m<sup>3</sup>** für den Menschen am Arbeitsplatz (Tabelle 1).

Für ein Diethylbenzol-Isomerengemisch wird daher 5 ml/m<sup>3</sup> als MAK-Wert festgelegt. Bei einem Gehalt an 1,2-Diethylbenzol von ca. 10 % entsprechen 5 ml Diethylbenzol-Isomerengemisch/m<sup>3</sup> etwa 0,5 ml 1,2-Diethylbenzol/m<sup>3</sup>. Es ist darauf zu achten, dass der MAK-Wert für 1,2-Diethylbenzol von 1 ml/m<sup>3</sup> (siehe unten) eingehalten wird.

## **2. Einzelne Isomere**

Für n-Hexan ist eine Verstärkung der neurotoxischen Wirkung durch gleichzeitige Exposition gegen Methylethylketon bekannt (Norberg und Arlien-Søborg 2000), vermutlich durch eine Hemmung der Phase-II-Metabolisierung von 2,5-Hexandion (Yu et al. 2002). Eine wesentliche Hemmung oder Verstärkung der neurotoxischen Effekte von 1,2-Diethylbenzol durch die beiden anderen Isomere in der Diethylbenzol-Mischung ließ sich bei oraler Gabe nicht feststellen (siehe Abschnitt 5.2.2; Gagnaire et al. 1990). Die drei Isomere haben einen sehr ähnlichen Dampfdruck, so dass anzunehmen ist, dass das Isomerenverhältnis in der Luft dem in der Flüssigkeit entsprechen wird und auch die oralen und inhalativen Studien mit Diethylbenzol-Isomerengemischen zur Ableitung von Grenzwerten für die Einzelstoffe verwendet werden können.

### **1,2-Diethylbenzol**

Die Stärke der neurotoxischen Wirkung von 1,2-Diethylbenzol hängt von der Metabolisierung zu 1,2-Diacetylbenzol bzw. dessen Weitermetabolisierung und Ausscheidung, also von der inneren Belastung ab. Diese ist weder für die Ratte noch für den Menschen bekannt, so dass über eventuell unterschiedliche Speziesempfindlichkeiten keine quantitative Aussage getroffen werden kann. Zumindest klinische Zeichen von Neurotoxizität traten nach chronischer Exposition gegen 100 ml/m<sup>3</sup> eines **Diethylbenzol-Isomerengemisches** (25 ml 1,2-Diethylbenzol/m<sup>3</sup>) an mehreren Spezies nicht auf (ECHA 2016 b). Es gibt Hinweise, dass Meerschweinchen keine neurotoxischen Wirkungen mit 1,2-Diethylbenzol zeigen (Gagnaire et al. 1990) und Ratten empfindlicher als Mäuse gegen 1,2-Diacetylbenzol reagieren (Tshala-Katumbay et al. 2005). Menschen sind aber, wie für n-Hexan nachgewiesen, grundsätzlich empfindlich gegen die neurotoxische Wirkung von gamma-Diketonen. Daher werden die Versuchsdaten an Ratten wie üblich (1:2) auf den Menschen übertragen.

Eine Abnahme der NOAEC für klinische Neurotoxizität durch 1,2-Diethylbenzol ergibt sich aus der 13-Wochen-Studie (25 ml/m<sup>3</sup>, höchste Konzentration) im Vergleich zur chronischen Studie (25 ml/m<sup>3</sup>) nicht. Die LOAEC für klinische Neurotoxizität nach 18 Wochen ist 39 ml/m<sup>3</sup>. Eine Kumulation der Effekte mit der Expositionszeit ist aber wegen der schlechten Reversibilität der Befunde trotzdem nicht auszuschließen. Auch mit dem besser untersuchten n-Hexan liegen keine Studien mit einer Expositionsdauer von mehr als einem halben Jahr vor, in denen elektrophysiologische Messungen durchgeführt wurden. Bei Ratten beträgt die NOAEC

**Tab. 1** Überblick über die für die Ableitung des MAK-Werts relevanten Studien an Ratten

| Stoff<br>Literatur                                                                      | Dauer, Konzentration/<br>Dosis                                                          | LOAEC/L                                                                                                                                                                         | NOAEC/L                                                                                                                                                                                               | entsprechende<br>Luftkonzentration am<br>Arbeitsplatz (ml/m <sup>3</sup> ) <sup>a)</sup> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| DEB-Gemisch<br>25 % 1,2-DEB<br>40 % 1,3-DEB<br>35 % 1,4-DEB<br>ECHA 2016 b              | 183 d, 7 h/d, 5 d/Wo,<br>100 ml/m <sup>3</sup>                                          | –                                                                                                                                                                               | > 100 ml/m <sup>3</sup> (klin. Neurotox) =<br>25 ml 1,2-DEB/m <sup>3</sup>                                                                                                                            |                                                                                          |
| DEB-Gemisch<br>10 % 1,2-DEB<br>58 % 1,3-DEB<br>29 % 1,4-DEB<br>Monsanto 1993            | 13 Wo, 6 h/d, 5 d/Wo,<br>34, 110, 252 ml/m <sup>3</sup>                                 | 110 ml/m <sup>3</sup> (Leukozytenzahl)<br>–                                                                                                                                     | <b>34 ml/m<sup>3</sup></b><br>> 252 ml/m <sup>3</sup> (klin. Neurotox) =<br><b>25 ml 1,2-DEB/m<sup>3</sup></b>                                                                                        | 4,25 <sup>b)</sup><br>3,1 <sup>b)</sup> für 1,2-DEB                                      |
| DEB-Gemisch<br>6 % 1,2-DEB<br>66 % 1,3-DEB<br>28 % 1,4-DEB<br>Gagnaire et al.<br>1992 a | 18 Wo, 6 h/d, 5 d/Wo,<br>496, 680, 869 ml/m <sup>3</sup><br><b>Alter 9 Wo</b>           | 496 ml/m <sup>3</sup> (Nervenleitgeschw.,<br>Aktionspotential) =<br>30 ml 1,2-DEB/m <sup>3</sup><br>–                                                                           | – (elektrophysiol. Neurotox.)<br>NAEC =<br><b>10 ml 1,2-DEB/m<sup>3</sup></b><br>> 869 ml/m <sup>3</sup> (klin. Neurotox) =<br>52 ml 1,2-DEB/m <sup>3</sup><br>– (elektrophysiol. u. klin. Neurotox.) | 1,25 <sup>b)</sup> für 1,2-DEB                                                           |
| DEB-Gemisch<br>7 % 1,2-DEB<br>58 % 1,3-DEB<br>35 % 1,4-DEB<br>Gagnaire et al. 1990      | 646, 834 ml/m <sup>3</sup><br><b>Alter 19 Wo</b><br>10 Wo, 5 d/Wo,<br>500, 750 mg/kg KG | 646 ml/m <sup>3</sup> (BAEP, klin Neurotox) =<br>39 ml 1,2-DEB/m <sup>3</sup><br>500 mg/kg KG (Nervenleitgeschw.,<br>Aktionspotential, klin. Neurotox) =<br>35 mg 1,2-DEB/kg KG | – (elektrophysiol. u. klin. Neurotox.)<br>NAEC =<br><b>12 mg 1,2-DEB/kg KG</b>                                                                                                                        | 1,4 <sup>b)</sup> für 1,2-DEB                                                            |



Tab. 1 (Fortsetzung)

| Stoff<br>Literatur              | Dauer, Konzentration/<br>Dosis                  | LOAEC/L                                                                            | NOAEC/L             | entsprechende<br>Luftkonzentration am<br>Arbeitsplatz (ml/m <sup>3</sup> ) <sup>a)</sup> |
|---------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1,3-DEB<br>Yamasaki et al. 2012 | 28 d, 7 d/Wo, 25, 150, 1000 mg/kg KG            | 1000 mg/kg KG (Lebergew., Leberhy-<br>pertrophie, TSH, rel. Schilddrüsen-<br>gew.) | <b>150 mg/kg KG</b> | 8,3 <sup>d)</sup>                                                                        |
| 1,4-DEB<br>MHW 1993 a           | ♂: 44 d, ♀: 52 d, 7 d/Wo, 30, 150, 750 mg/kg KG | 150 mg/kg KG (♂: BUN, ALAT,<br>Nierengew., GGT)                                    | <b>30 mg/kg KG</b>  | 2,5 <sup>e)</sup> (aus NOAEL)<br>4,2 <sup>e)</sup> (aus LOAEL/3)                         |

<sup>a)</sup>: inklusive Zeitextrapolation (1:2) und Übertragung Daten Tierversuch auf Mensch (1:2)

<sup>b)</sup>: Berücksichtigung des erhöhten Atemvolumens (1:2)

<sup>c)</sup>: 1:4 (kinetischer Unterschied Ratte-Mensch)  $\times$  70 kg / 10 m<sup>3</sup>  $\times$  0,9 (orale Resorption Tier) / 0,6 (inhalative Resorption Mensch)

<sup>d)</sup>: 1:4  $\times$  70 kg / 10 m<sup>3</sup>  $\times$  0,9 (orale Resorption Tier) / 0,6 (inhalative Resorption Mensch)  $\times$  7 (7 Tage/Woche Tier) / 5 (5 Tage/Woche Mensch)  $\times$  1:3 (zusätzliche Zeitextrapolation wegen subakuter Exposition)

<sup>e)</sup>: NOAEL oder LOAEL/3  $\times$  1:4  $\times$  70 kg / 10 m<sup>3</sup>  $\times$  0,9 (orale Resorption Tier) / 0,6 (inhalative Resorption Mensch)  $\times$  7 (7 Tage/Woche Tier) / 5 (5 Tage/Woche Mensch)  $\times$  1:2 (zusätzliche Zeitextrapolation wegen subakuter bis subchronischer Exposition)

nach 8 Wochen 200 ml/m<sup>3</sup> und nach 16 bis 24 Wochen 100 ml/m<sup>3</sup> (Nachtrag „n-Hexan“ 1997). Damit gibt es einen Hinweis auf ein Absinken der NOAEC mit zunehmender Expositionsdauer, und Ähnliches wird auch für 1,2-Diethylbenzol angenommen.

In der 13-Wochen-Inhalationsstudie mit einem **Diethylbenzol-Isomerengemisch** war die NOAEC für klinische neurotoxische Effekte bezogen auf den Anteil von 1,2-Diethylbenzol etwa 25 ml 1,2-Diethylbenzol/m<sup>3</sup> (höchste getestete Konzentration) (Monsanto 1993). Die aus der NOAEC berechnete Konzentration von 1,2-Diethylbenzol am Arbeitsplatz beträgt **3,1 ml/m<sup>3</sup>** (Tabelle 1).

In der 18-Wochen-Inhalationsstudie mit einem **Diethylbenzol-Isomerengemisch** war die LOAEC 30 ml 1,2-Diethylbenzol/m<sup>3</sup> für Nervenleitgeschwindigkeit und Amplitude des Aktionspotentials (Gagnaire et al. 1992 a). Die NAEC kann als ein Drittel der LOAEC abgeschätzt werden (siehe Abschnitt 5.2.1). Eine Konzentration am Arbeitsplatz lässt sich aus der NAEC mit **1,25 ml/m<sup>3</sup>** errechnen (Tabelle 1).

In der oralen 10-Wochen-Studie mit einem **Diethylbenzol-Isomerengemisch** betrug der LOAEL 35 mg 1,2-Diethylbenzol/kg KG für klinische Neurotoxizität, Nervenleitgeschwindigkeit und Amplitude des Aktionspotentials (Gagnaire et al. 1990). Ein NAEL kann als ein Drittel des LOAEL abgeschätzt werden. Aus dem NAEL lässt sich eine Konzentration am Arbeitsplatz von **1,4 ml/m<sup>3</sup>** berechnen (Tabelle 1).

Aus allen 3 Studien werden also sehr ähnliche Grenzwerte abgeleitet. Ein MAK-Wert von 1 ml 1,2-Diethylbenzol/m<sup>3</sup> wird deshalb festgesetzt. Er sollte auch vor subklinischen Effekten auf Nervenleitgeschwindigkeiten und Aktionspotentiale schützen.

### 1,3- und 1,4-Diethylbenzol

In der 4-Wochen-Studie mit **1,3-Diethylbenzol** betrug der LOAEL 1000 mg/kg KG für erhöhtes relatives Lebergewicht, relatives Schilddrüsen-gewicht und TSH, mit einem NOAEL von 150 mg/kg KG (Yamasaki et al. 2012). Die Konzentration am Arbeitsplatz berechnet sich daraus zu **8,3 ml/m<sup>3</sup>** (Tabelle 1).

In der Screening-Studie mit **1,4-Diethylbenzol** war der LOAEL 150 mg/kg KG (klinisch-chemische Befunde bei männlichen Tieren, die 44 Tage exponiert waren, daher Zeitextrapolation insgesamt 1:4) und der NOAEL 30 mg/kg KG und Tag (ECHA 2016 a; MHW 1993 a). Daraus lässt sich eine Konzentration am Arbeitsplatz von **2,5 ml/m<sup>3</sup>** berechnen (Tabelle 1).

Für diesen Stoff ist der deutliche Abstand des NOAEL zum LOAEL von 150 mg/kg KG zu beachten, so dass der wahre NAEL auch höher sein könnte. Die gleiche Rechnung mit einem NAEL von 50 mg/kg KG (LOAEL/3) führt zu einer Arbeitsplatz-Konzentration von **4,2 ml/m<sup>3</sup>** (Tabelle 1).

Ein signifikanter Wirkstärkeunterschied zwischen 1,3- und 1,4-Diethylbenzol kann aus den Daten nicht entnommen werden. Wegen der längeren Expositions-dauer und da die Inhalation eher einer Arbeitsplatzexposition entspricht als die Applikation per Schlundsonde, wird auf Basis der 13-Wochen-Inhalationsstudie mit dem Diethylbenzol-Isomerengemisch ein MAK-Wert von 5 ml/m<sup>3</sup> auch für die beiden Isomere 1,3- und 1,4-Diethylbenzol festgesetzt.

Die systemische Wirkung steht deutlich im Vordergrund (Monsanto 1993), so dass eine sensorische Reizwirkung der einzelnen Isomere bei bis zu 5 ml/m<sup>3</sup> nicht zu erwarten ist.

**Spitzenbegrenzung.** Wegen der kritischen systemischen Wirkung werden alle Diethylbenzol-Isomere der Kurzzeitwert-Kategorie II zugeordnet.

### **1,2-Diethylbenzol**

Für 1,2-Diethylbenzol wird ein Überschreitungsfaktor von 8 festgelegt, da die periphere neurotoxische Wirkung so wie bei n-Hexan (Überschreitungsfaktor 8) kumulativ ist und nicht von den Expositionsspitzen abhängt.

### **Diethylbenzol-Isomerengemisch, 1,3- und 1,4-Diethylbenzol**

Für diese Isomere wird der Basisüberschreitungsfaktor von 2 festgesetzt, da keine Halbwertszeiten für 1,3-Diethylbenzol und 1,4-Diethylbenzol vorliegen.

Da bei 252 ml/m<sup>3</sup> keine adversen Wirkungen auf den Atemtrakt von Ratten festgestellt wurden (Monsanto 1993), ist auch bei den zulässigen Kurzzeit-Konzentrationen von 8 bzw. 10 ml/m<sup>3</sup> nicht mit Reizwirkungen zu rechnen.

### **Fruchtschädigende Wirkung.**

### **1,2-Diethylbenzol**

In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie nach OECD-Prüfrichtlinie 414 an Ratten waren ab 15 mg **1,2-Diethylbenzol**/kg KG Körpergewichtsentwicklung und Futteraufnahme der Muttertiere sowie die Fetengewichte dosisabhängig signifikant verringert (Saillenfait et al. 1999). Der NOAEL für Entwicklungstoxizität beträgt 35 mg/kg KG und Tag, da abgesehen von dem mit der erniedrigten maternalen Futteraufnahme korrelierten erniedrigten Fetengewicht, keine weiteren Effekte auf die Feten beobachtet wurden. Zur toxikokinetischen Übertragung dieses NOAEL in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen der Ratte und dem Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturfaktor (1:4), die orale Resorption von 90 %, das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen (10 m<sup>3</sup>) des Menschen sowie die 60%ige inhalative Resorption. Damit errechnet sich eine entsprechende Konzentration von 92 mg/m<sup>3</sup> (17 ml/m<sup>3</sup>). Das entspricht einem 17-fachen Abstand zum MAK-Wert von 1 ml 1,2-Diethylbenzol/m<sup>3</sup>.

Damit wäre die Zuordnung zur Schwangerschaftsgruppe C möglich.

Da der kritische Effekt für die MAK-Wert-Ableitung von 1,2-Diethylbenzol die periphere Neurotoxizität ist, ist eine Aussage über die Entwicklungsneurotoxizität zu treffen.

Zur vergleichenden Betrachtung der Empfindlichkeit für periphere Neurotoxizität In-utero-exponierter Tiere und nur im Erwachsenenalter exponierter Tiere liegen zu 1,2-Diethylbenzol keine Daten vor. Daher wird Acrylamid als Vergleichssubstanz herangezogen. Beide Substanzen führen zu peripherer Axoneuropathie, haben als Angriffspunkt das Axon und als vermuteten Mechanismus die Bindung an Sulfhydrylgruppen von Neurofilamenten gemeinsam. Acrylamid führt zusätzlich zu Schäden am zentralen Nervensystem und ist daher als Worst-Case zu betrachten. Aus einer 2-Generationenstudie an Ratten mit der Gabe von Acrylamid mit dem Trinkwasser (Tyl et al. 2000) lässt sich für die männlichen Nachkommen ein LOAEL für die Endpunkte Kopfschiefelage und Fußspreizung von 5 mg/kg KG

und Tag (NOAEL 0,5 mg/kg KG und Tag) und für die männlichen adulten Tiere ein entsprechender LOAEL von 0,5 mg/kg KG und Tag (kein NOAEL, da niedrigste Dosis 0,5 mg/kg KG und Tag) ableiten. Aus dem Vergleich der Effektdosen ergibt sich, dass die Nachkommen für die klinischen Symptome der peripheren Neurotoxizität um den Faktor 10 unempfindlicher sind als adulte Tiere. Ein Vergleich der histopathologischen Veränderungen peripherer Nerven von Nachkommen aus der 2-Generationenstudie und adulten Ratten nach Trinkwassergabe ergibt Folgendes: In der 2-Generationenstudie wiesen 6/6 männlichen und 0/3 weiblichen Nachkommen bei 5 mg/kg KG und Tag Fragmentierungen oder Schwellungen von Axonen peripherer Nerven in minimaler bis milder Ausprägung auf (Tyl et al. 2000). Nach 93-tägiger Exposition im Erwachsenenalter wurden bei 5 mg/kg KG und Tag bei 9/10 männlichen und 6/10 weiblichen Tieren Degenerationen von peripheren Nerven des Schweregrades fraglich bis sehr leicht und bei 1 mg/kg KG und Tag keine auffälligen Veränderungen festgestellt (Burek et al. 1980). Auch bezüglich histologischer Veränderungen von peripheren Nerven reagieren die Nachkommen nicht empfindlicher als adulte Ratten.

Aus den Daten zu Acrylamid ergibt sich, dass in-utero-exponierte Ratten nicht empfindlicher für periphere neurotoxische Effekte sind als adulte Tiere. Dies wird aufgrund des Worst-Case von Acrylamid auch für 1,2-Diethylbenzol angenommen. Aufgrund der nicht zu erwartenden peripheren neurotoxischen Effekte für in-utero-exponierte Tiere wird zusammen mit dem ausreichend großen 17-fachen Abstand der berechneten NOAEC für Entwicklungstoxizität zum MAK-Wert von 1 ml/m<sup>3</sup> 1,2-Diethylbenzol der Schwangerschaftsgruppe C zugeordnet.

### Diethylbenzol-Isomerengemisch

Für ein Diethylbenzol-Isomerengemisch (10,0 % 1,2-Diethylbenzol; 57,9 % 1,3-Diethylbenzol; 29,4 % 1,4-Diethylbenzol) waren in einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie an Ratten ab 100 mg/kg KG Körpergewichtsentwicklung und Futteraufnahme der Muttertiere reduziert (Monsanto 1992). Bei 200 mg/kg KG war das durchschnittliche Körpergewicht der Feten im Vergleich zur Kontrolle nur marginal verringert. Bis zur höchsten Dosis von 200 mg/kg KG traten keine spezifischen entwicklungstoxischen Wirkungen auf, insbesondere keine Teratogenität. Der NOAEL für Entwicklungstoxizität von 200 mg/kg KG entspricht nach toxikokinetischer Umrechnung (s. o.) einer Konzentration von 526 mg/m<sup>3</sup> (94 ml/m<sup>3</sup>), die etwa das 20-Fache des MAK-Werts von 5 ml/m<sup>3</sup> beträgt. Da der Abstand ausreichend ist, und die Neurotoxizität nicht der kritische Endpunkt für das Gemisch ist, erfolgt für das Gemisch eine Zuordnung zu Schwangerschaftsgruppe C.

### 1,3- und 1,4-Diethylbenzol

Für die Isomere 1,3- und 1,4-Diethylbenzol liegen keine Entwicklungstoxizitätsstudien vor. Jedoch ergaben sich in der Studie mit dem Diethylbenzol-Isomerengemisch, das 57,9 % 1,3-Diethylbenzol und 29,4 % 1,4-Diethylbenzol enthält, bis zur höchsten, bereits maternaltoxischen Dosis von 200 mg/kg KG keine spezifischen entwicklungstoxischen Effekte. Für 1,3-Diethylbenzol ist der Abstand der umgerechneten Luftkonzentration zum MAK-Wert ausreichend. Für 1,4-Diethylbenzol ist die umgerechnete Luftkonzentration (28 ml/m<sup>3</sup>) zwar nur 6-mal so hoch wie der

MAK-Wert, aber da selbst bei dieser maternal-toxischen Dosis nur marginale Fetotoxizität auftrat, werden beide Isomere der Schwangerschaftsgruppe C zugeordnet.

**Krebserzeugende Wirkung.** Bei epikutaner Applikation eines Diethylbenzol-Isomerengemisches an männliche Mäuse kam es bei einem von 40 Tieren zu einem Plattenepithelzellkarzinom, das wegen seiner Seltenheit bei Negativkontrollen als substanzbedingt angesehen wurde. Gleichzeitig traten auch Hautschädigungen auf, und die Diethylbenzole sind akut hautreizend. Da die Diethylbenzole nicht genotoxisch sind, ist eine Promotion spontan initiiertter Zellen als Ursache zu vermuten. Da es sich jedoch nur um ein Tier handelte, und da es bei irritativen Effekten an der Haut der Tiere im Bereich der Basalmembran und der darunterliegenden Epidermis zu indirekten kanzerogenen Wirkungen aufgrund der Verletzung kommen kann, werden Diethylbenzole nicht in eine Kategorie für Kanzerogene eingestuft.

**Keimzellmutagene Wirkung.** Diethylbenzole sind nicht genotoxisch in vitro und in vivo. Deshalb erfolgt keine entsprechende Einstufung.

**Hautresorption.** Da keine In-vitro- und In-vivo-Daten vorliegen, wird die Bewertung der Hautresorption anhand der mathematischen Modelle vorgenommen. Das Modell von Fiserova-Bergerova et al. (1990) ergibt für andere untersuchte Alkylaromaten eine bessere Übereinstimmung mit deren In-vivo-Daten, so dass es für diese Stoffgruppe zugrunde gelegt wird. Für den Menschen lässt sich aus Modellrechnungen (Abschnitt 3.1) eine dermale Aufnahme von maximal 888 bis 2200 mg bei Exposition gegen eine gesättigte wässrige Lösung der Diethylbenzol-Isomere unter der Annahme einer einstündigen Exposition von 2000 cm<sup>2</sup> Hautoberfläche abschätzen.

Damit liegt die berechnete, über die Haut aufgenommene Menge deutlich über den bei Exposition in Höhe des MAK-Werts inhalativ aufgenommen Mengen von 33,6 mg für 1,2-Diethylbenzol und 168 mg für 1,3- und 1,4-Diethylbenzol, jeweils unter Berücksichtigung von 10 m<sup>3</sup> Atemvolumen und 60 % inhalativer Resorption. Die Diethylbenzole werden daher mit „H“ markiert.

**Sensibilisierende Wirkung.** Es liegen keine klinischen oder eindeutig positiven experimentellen Befunde vor, mit denen eine hautsensibilisierende Wirkung von Diethylbenzolen zu begründen ist. Befunde zur atemwegssensibilisierenden Wirkung liegen ebenfalls nicht vor, so dass die Diethylbenzole weder mit „Sh“ noch mit „Sa“ markiert werden.

## **7 Literatur**

- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2016) Draft toxicological profile for JP-5, JP-8, and Jet A fuels. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA, USA, <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp121.pdf>
- Buist HE, de Wit-Bos L, Bouwman T, Vaes WHJ (2012) Predicting blood:air partition coefficients using basic physicochemical properties. Regul Toxicol Pharmacol 62: 23–28

## 1318 MAK Value Documentations

- Burek JD, Albee RR, Beyer JE, Bell TJ, Carreon RM, Morden DC, Wade CE, Hermann EA, Gorzinski SJ (1980) Subchronic toxicity of acrylamide administered to rats in the drinking water followed by up to 144 days of recovery. *J Environ Pathol Toxicol* 4: 157–182
- Dow Chemical Company (1983) Dermal carcinogenesis study in male C3H/HeJ mice, Bushy Run Research Center, 06.01.1983, Dow Chemical Company, Midland, MI, USA, NTIS/OTS0539270, NTIS, Alexandria, VA, USA
- ECHA (European Chemicals Agency) (2016 a) Information on registered substances. Dataset on 1,4-diethylbenzene (CAS Number 105-05-5), joint submission, first publication 17.05.2013, last modification 30.01.2016, <http://echa.europa.eu/web/guest/information-on-chemicals>
- ECHA (2016 b) Information on registered substances. Dataset on diethylbenzene (CAS Number 25340-17-4), joint submission, first publication 17.03.2011, last modification 27.12.2015, <http://echa.europa.eu/web/guest/information-on-chemicals>
- Fiserova-Bergerova V, Pierce JT, Droz PO (1990) Dermal absorption potential of industrial chemicals: criteria for skin notation. *Am J Ind Med* 17: 617–635
- Gagnaire F, Boucard S (2014) Olfactory mucosal necrosis in rats following acute intraperitoneal administration of 1,2-diethylbenzene, 1,2-diacetylbenzene and 2,5-hexanedione. *Neurotoxicology* 41: 9–19
- Gagnaire F, Marignac B, de Ceaurriz J (1990) Diethylbenzene-induced sensorimotor neuropathy in rats. *J Appl Toxicol* 10: 105–112
- Gagnaire F, Enslinger A, Marignac B, De Ceaurriz J (1991) Possible involvement of 1,2-diacetylbenzene in diethylbenzene-induced neuropathy in rats. *J Appl Toxicol* 11: 261–268
- Gagnaire F, Becker MN, Marignac B, Bonnet P, De Ceaurriz J (1992 a) Diethylbenzene inhalation-induced electrophysiological deficits in peripheral nerves and changes in brainstem auditory evoked potentials in rats. *J Appl Toxicol* 12: 335–342
- Gagnaire F, Becker MN, De Ceaurriz J (1992 b) Alteration of brainstem auditory evoked potentials in diethylbenzene and diacetylbenzene-treated rats. *J Appl Toxicol* 12: 343–350
- Guy RH, Potts RO (1993) Penetration of industrial chemicals across the skin: a predictive model. *Am J Ind Med* 23: 711–719
- Kim MS, Sabri MI, Miller VH, Kayton RJ, Dixon DA, Spencer PS (2001) 1,2-Diacetylbenzene, the neurotoxic metabolite of a chromogenic aromatic solvent, induces proximal axonopathy. *Toxicol Appl Pharmacol* 177: 121–131
- Kim MS, Hashemi SB, Spencer PS, Sabri M (2002) Amino acid and protein targets of 1,2-diacetylbenzene, a potent aromatic gamma-diketone that induces proximal neurofilamentous axonopathy. *Toxicol Appl Pharmacol* 183: 55–65
- Kim MS, Kim MK, Kim KS, Chung JH, Kim SJ, Kim JH, Kim JR, Lee J, Yu BP, Chung HY (2008) Cytotoxicity of 1,2-diacetylbenzene in human neuroblastoma SHSY5Y cells is mediated by oxidative stress. *Toxicology* 243: 216–223
- Llorens J (2013) Toxic neurofilamentous axonopathies – accumulation of neurofilaments and axonal degeneration. *J Intern Med* 273: 478–489
- Mayfield HT (1996) JP-8 composition and variability, May 1996, Final Technical Report for Period August 1994 - February 1995, AL/EQ-T-1996-0006, Armstrong Laboratory, Air Force Materiel Command Tyndall Air Force Base, FL, USA, <http://www.dtic.mil/dtic/tr/fulltext/u2/a317177.pdf>
- MHW (Japan Ministry of Health Labor and Welfare) (1993 a) 1,4-Diethylbenzene, combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (jpn), [http://dra4.nihs.go.jp/mhlw\\_data/home/pdf/PDF105-05-5d.pdf](http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/pdf/PDF105-05-5d.pdf)

- MHW (1993 b) 1,4-Diethylbenzene, bacterial reverse mutation test (jpn), [http://dra4.nihs.go.jp/mhlw\\_data/home/pdf/PDF105-05-5e.pdf](http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/pdf/PDF105-05-5e.pdf)
- MHW (1993 c) 1,4-Diethylbenzene, in vitro mammalian chromosome aberration test (jpn), [http://dra4.nihs.go.jp/mhlw\\_data/home/pdf/PDF105-05-5f.pdf](http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/pdf/PDF105-05-5f.pdf)
- Monsanto (1991) Range-finding teratology study in rats. Springborn Laboratories, Inc., Spencerville, OH, USA, Studiennummer: SLS 3044.227, Monsanto, St. Louis, MT, USA, unveröffentlicht
- Monsanto (1992) Teratology study in rats. Springborn Laboratories, Inc., Spencerville, OH, USA, Studiennummer: SLS 3044.228, Monsanto, St. Louis, MT, USA, unveröffentlicht
- Monsanto (1993) Three-month inhalation study in Sprague Dawley rats. Report No MSL-12570, Environmental Health Laboratory, Newstead, St. Louis, MT, USA, Studiennummer: 91130, Monsanto, St. Louis, MT, USA, unveröffentlicht
- NLM (National Library of Medicine) (2016) Diethylbenzene. Hazardous Substances Data Bank, <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>
- Noraberg J, Arlien-Søborg P (2000) Neurotoxic interactions of industrially used ketones. *Neurotoxicology* 21: 409–418
- OECD (Organisation of Economic Co-operation and Development) (1994) 1,4-Diethylbenzene, CAS Nr. 105-05-5, OECD SIDS Initial Assessment Report, UNEP (United Nations Environment Programme), Genf, <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/Diethylebenzene.pdf>
- Payan JP, Beydon D, Cossec B, Ensminger A, Fabry JP, Ferrari E (1999) Toxicokinetics of 1,2-diethylbenzene in male Sprague-Dawley rats – part 1: excretion and metabolism of [(14)C]1,2-diethylbenzene. *Drug Metab Dispos* 27: 1470–1478
- Payan JP, Cossec B, Beydon D, Fabry JP, Ferrari E (2001) Toxicokinetics and metabolism of 1,2-diethylbenzene in male Sprague Dawley rats – part 2: evidence for in vitro and in vivo stereoselectivity of 1,2-diethylbenzene metabolism. *Drug Metab Dispos* 29: 868–876
- Payan JP, Binet S, Beydon D, Ferrari E (2008) Bio-distribution study of 1,2-diethylbenzene and its main metabolites by whole-body autoradiography and tissue homogenates. *Arch Toxicol* 82: 591–600
- Sabri MI, Hashemi SB, Lasarev MR, Spencer PS (2007) Axonopathy-inducing 1,2-diacetylbenzene forms adducts with motor and cytoskeletal proteins required for axonal transport. *Neurochem Res* 32: 2152–2159
- Saillenfait AM, Payan JP, Langonné I, Gallissot F, Sabaté JP, Beydon D, Fabry JP (1999) Assessment of the developmental toxicity and placental transfer of 1,2-diethylbenzene in rats. *Food Chem Toxicol* 37: 1089–1096
- SRC (Syracuse Research Corporation) (2016) 1,2-Diethylbenzene, 1,3-diethylbenzene, 1,4 diethylbenzene, PhysProp database, <http://esc.srcinc.com/fatepointer/search.asp>
- Thrall KD, Gies RA, Cartmell AM, Wu H, Soelberg JJ, Klein JA (2007) A liquid chromatographic-mass spectrometric method to evaluate the distribution kinetics of 1,2-diethylbenzene and its metabolite 1,2-diacetylbenzene in the F344 male rat. *J Toxicol Environ Health A* 70: 67–72
- Tshala-Katumbay DD, Palmer VS, Kayton RJ, Sabri MI, Spencer PS (2005) A new murine model of giant proximal axonopathy. *Acta Neuropathol* 109: 405–410
- Tshala-Katumbay DD, Monterroso V, Kayton R, Lasarev M, Sabri M, Spencer P (2008) Probing mechanisms of axonopathy. Part I: Protein targets of 1,2-diacetylbenzene, the neurotoxic metabolite of aromatic solvent 1,2-diethylbenzene. *Toxicol Sci* 105: 134–141

## 1320 MAK Value Documentations

- Tyl RW, Friedman MA, Losco PE, Fisher LC, Johnson KA, Strother DE, Wolf CH (2000) Rat two-generation reproduction and dominant lethal study of acrylamide in drinking water. *Reprod Toxicol* 14: 385–401
- Wilschut A, ten Berge WF, Robinson PJ, McKone TE (1995) Estimating skin permeation. The validation of five mathematical skin permeation models. *Chemosphere* 30: 1275–1296
- Wolf MA, Rowe VK, McCollister RL, Hollingsworth RL, Oyen F (1956) Toxicological studies of certain alkylated benzenes and benzene. *Am Med Assoc Arch Ind Health* 14: 387–398
- Yamasaki K, Ishii S, Kikuno T, Minobe Y (2012) Endocrine-mediated effects of two benzene related compounds, 1-chloro-4-(chloromethyl)benzene and 1,3-diethyl benzene, based on subacute oral toxicity studies using rats. *Food Chem Toxicol* 50: 2635–2642
- Yu RC, Hattis D, Landaw EM, Froines JR (2002) Toxicokinetic interaction of 2,5-hexanedione and methyl ethyl ketone. *Arch Toxicol* 75: 643–652

abgeschlossen am 22.03.2017