

# Xylidin, Isomere (2,3-Xylidin, 2,5-Xylidin, 3,4-Xylidin, 3,5-Xylidin)

## MAK-Begründung, Nachtrag

A. Hartwig<sup>1,\*</sup>

MAK Commission<sup>2,\*</sup>

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

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

### Keywords

2,3-Xylidin, 2,5-Xylidin,  
3,4-Xylidin, 3,5-Xylidin,  
Kanzerogenität,  
keimzellmutagene Wirkung,  
Hautresorption, Methämoglobin,  
Toxizität

## Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated the xylidine isomers 2,3-, 2,5-, 3,4- and 3,5-xylidine [87-59-2, 95-78-3, 95-64-7, 108-69-0] considering all toxicological end points. The critical effects are methaemoglobinaemia, anaemia and effects on the spleen, liver and kidneys.

A carcinogenicity study was performed with only 2,5-xylidine. Although the study is of limited validity, the angiosarcomas observed in male mice and fibromas and fibrosarcomas in rats are tumours typical for aromatic amines. Therefore, a carcinogenic potential is assumed and 2,3-, 2,5-, 3,4- and 3,5-xylidine are classified in Carcinogen Category 3 B for suspected carcinogens.

All four isomers are genotoxic both in vitro with metabolic activation and in somatic cells in vivo. However, these findings are not quite consistent, this is typical for aromatic amines. Therefore, 2,3-, 2,5-, 3,4- and 3,5-xylidine are classified in Category 3 B for germ cell mutagenicity. A maximum concentration at the workplace (MAK value) is not derived because of the suspected mutagenicity.

There are only limited data for percutaneous absorption, but as the systemic toxicity of these four isomers is high and they are suspected mutagens and carcinogens, the designation with “H” is retained.

Studies of the sensitization potential are not available.

### Citation Note:

Hartwig A, MAK Commission. Xylidin, Isomere (2,3-Xylidin, 2,5-Xylidin, 3,4-Xylidin, 3,5-Xylidin). MAK-Begründung, Nachtrag. MAK Collect Occup Health Saf. 2020 Jul;5(2):Doc033. DOI: [10.34865/mb8759ismd5\\_2ad](https://doi.org/10.34865/mb8759ismd5_2ad)

Manuskript abgeschlossen:  
12 Apr 2019

Publikationsdatum:  
31 Jul 2020

License: This article is distributed under the terms of the Creative Commons 4.0 International License. See license information at <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



<b>MAK-Wert</b>	–
<b>Spitzenbegrenzung</b>	–
<b>Hautresorption (1966)</b>	<b>H</b>
<b>Sensibilisierende Wirkung</b>	–
<b>Krebserzeugende Wirkung (2019)</b>	<b>Kategorie 3 B</b>
<b>Fruchtschädigende Wirkung</b>	–
<b>Keimzellmutagene Wirkung (2019)</b>	<b>Kategorie 3 B</b>
<b>BAT-Wert</b>	–
Schmelzpunkt	2,3-Xylidin: –15 °C (NLM 2020 a) 2,5-Xylidin: 15,5 °C (NLM 2020 b) 3,4-Xylidin: 51 °C (NLM 2020 c) 3,5-Xylidin: 9,8 °C (NLM 2020 d)
Siedepunkt	2,3-Xylidin: 221,5 °C (NLM 2020 a) 2,5-Xylidin: 214 °C (NLM 2020 b) 3,4-Xylidin: 228 °C (NLM 2020 c) 3,5-Xylidin: 220,5 °C (NLM 2020 d)
Dichte bei 20 °C	2,3-Xylidin: 0,99 g/cm <sup>3</sup> (IFA 2019 a) 2,5-Xylidin: 0,98 g/cm <sup>3</sup> (IFA 2019 b) 3,4-Xylidin: 1,07 g/cm <sup>3</sup> (IFA 2019 c) 3,5-Xylidin: 0,97 g/cm <sup>3</sup> (IFA 2019 d)
Dampfdruck	2,3-Xylidin: 0,1 hPa bei 25 °C (NLM 2020 a) 2,5-Xylidin: 0,2 hPa bei 20 °C (NLM 2020 b) 3,4-Xylidin: 0,04 hPa bei 25 °C (NLM 2020 c) 3,5-Xylidin: 0,2 hPa bei 25 °C (ber.; NLM 2020 d)
Wasserlöslichkeit	2,3-Xylidin: k. A. (ECHA 2018 a) 2,5-Xylidin: < 0,1 mg/l (ECHA 2019) 3,4-Xylidin: < 0,1 mg/l (ECHA 2018 b) 3,5-Xylidin: 4,8 g/l (ECHA 2018 c)

Hinweis: Die Stoffe können gleichzeitig als Dampf und Aerosol vorliegen.

Mit diesem Nachtrag erfolgt eine Reevaluierung der Kanzerogenitäts-Einstufung der Xylidin-Isomere 2,3-Xylidin, 2,5-Xylidin, 3,4-Xylidin und 3,5-Xylidin. 2,4-Xylidin und 2,6-Xylidin wurden im Jahr 1998 in die Kategorie 2 für krebserzeugende Arbeitsstoffe eingestuft. Diese beiden Xylidine sind nicht Gegenstand des vorliegenden Nachtrages.

Seit der Begründung „Xylidin (Isomeren)“ von 1998 (Greim 1998) und dem Nachtrag aus dem Jahr 2000 (Greim 2000) wurden neue Studien zur Methämoglobin-Bildung, zum Wirkungsmechanismus, zur subakuten Toxizität und zur Genotoxizität veröffentlicht sowie eine Fall-Kontroll-Studie an Patienten mit Blasenkrebs.

## 1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Die Zielorgane von 2,3-, 2,5-, 3,4- und 3,5-Xylidin sind Blut, Milz, Leber und Niere. Alle vier Isomere bilden Methämoglobin, wobei sich 3,5-Xylidin als stärkster Methämoglobin-Bildner der vier Isomere erwiesen hat (Greim 1998, 2000). Sowohl zur Genotoxizität *in vitro* als auch *in vivo* ergibt sich keine einheitliche Datenlage: Mutagenitätstests mit *Salmonella-typhimurium*-Stämmen zeigen positive wie auch negative Ergebnisse. Mutagenität an Säugerzellen ist nur für 3,5-Xylidin nachgewiesen. Eine klastogene Wirkung *in vitro* zeigen zwei der vier Isomere. *In vivo* sind alle vier Isomere positiv im Comet-Assay, der Mikronukleustest ist negativ. Bei 3,5-Xylidin wird DNA-Bindung beobachtet. An der MutaMaus<sup>®</sup> ruft nur 2,5-Xylidin Mutationen im nasalen Gewebe hervor, nicht jedoch 3,5-Xylidin. Insgesamt besteht deshalb der Verdacht auf eine genotoxische Wirkung. Für eine Bewertung geeignete Human-Daten zur Kanzerogenität liegen nicht vor. Die Studien zur Kanzerogenität bei Mäusen und Ratten sind älter, geben jedoch Hinweise darauf, dass 2,5-Xylidin die für diese Substanzklasse typischen Tumoren, Blutgefäßtumoren, Fibrome und Fibrosarkome, verursacht. Zusammen mit der unklaren Genotoxizität sowie dem Wirkungsmechanismus und der Struktur besteht daher der Verdacht auf ein kanzerogenes Potenzial der vier Isomere.

3,5-Xylidin wirkt an Haut und Auge nicht reizend. Die 24-stündige okklusive Applikation von 2,3-Xylidin führt zu starker Hautreizung, OECD-Prüfrichtlinien-konforme Untersuchungen liegen für dieses Isomer allerdings nicht vor. Es gibt weiterhin keine Untersuchungen zur sensibilisierenden Wirkung der Xylidine. Auch Untersuchungen zur Reproduktionstoxizität fehlen, allerdings kann aus einer Studie zum Thymidin-Einbau in testikuläre DNA auf eine Erreichbarkeit der Hoden männlicher Mäuse für 2,5- und 3,5-Xylidin geschlossen werden.

## 2 Wirkungsmechanismus

Alle vier Isomere erzeugen Methämoglobin, allerdings in unterschiedlich starker Ausprägung. Der Hämoglobin-Bindungsindex (Adduktkonzentration [mmol/mol Hb] pro Dosis [mmol/kg KG]) für 3,4-Xylidin liegt bei 0,7, für 2,5-Xylidin bei 7,3 und für 3,5-Xylidin bei 14,0 (Greim 2003). Die Methämoglobinbildung geht auf die Kooxidation der im Stoffwechsel entstehenden N-Hydroxyderivate und Oxyhämoglobin zurück (Greim 1998).

In zwei Publikationen werden mögliche Reaktionswege und Metaboliten für 3,5-Xylidin postuliert, die aber vermutlich für alle Isomere gelten können (Chao et al. 2012; Skipper et al. 2010). Demnach gibt es verschiedene Metabolismus-Wege, die zur Genotoxizität der Xylidine beitragen können:

**N-Hydroxylierung:** Xylidine werden über Cytochrom P450 (CYP) zum N-Hydroxylamin oxidiert, welches, katalysiert durch Acyl- oder Sulfotransferasen, einen instabilen N-O-Ester bildet. Das daraus entstehende hochreaktive Nitrenium-Ion kann DNA-Addukte bilden.

Nach intraperitonealer Gabe von radioaktiv markiertem 3,5- oder 2,6-Xylidin in einer Dosis von 100 µg/kg KG an C57Bl/6-Mäuse konnte DNA-Bindung in der Leber und der Blase nachgewiesen werden. Die DNA-Bindung war nach Exposition gegen 3,5-Xylidin höher als nach Exposition gegen 2,6-Xylidin: Die kovalenten Bindungsindices in Blase und Leber betragen 21 bzw. 84 für 3,5-Xylidin sowie 5 bzw. 14 für 2,6-Xylidin. DNA-Addukte wurden in dieser Studie jedoch nicht identifiziert (Skipper et al. 2006).

In vitro konnten vier verschiedene DNA-Addukte identifiziert werden. Kalbsthymus-DNA wurde mit N-AcO-3,5-Xylidin versetzt, einem Metaboliten, der nach einer Phase-II-Konjugation aus dem N-Hydroxylamin entsteht und als Zwischenstufe ebenfalls ein Nitrenium-Ion bildet. Identifiziert wurden zwei Addukte aus der Reaktion mit Desoxyadenosin (4-(Desoxyadenosin-N6-yl)-3,5-dimethylanilin und N-(Desoxyadenosin-8-yl)-3,5-dimethylanilin) sowie jeweils ein Addukt aus der Reaktion mit Desoxycytidin (N-(Desoxycytidin-5-yl)-3,5-dimethylanilin) und Desoxyguanosin (N-(Desoxyguanosin-5-yl)-3,5-dimethylanilin) (Cui et al. 2007). In vitro konnten ebenfalls Desoxyguanosin-C8-Addukte mit den N-(Acyloxy)-Derivaten aller Xylidin-Isomere gebildet werden (Marques et al. 1996, 1997). Zudem wurde ein Zusammenhang zwischen dem Substitutionsmuster und der Stabilität des Nitrenium-Ions (Sabbioni 1992) bzw. der Mutagenität (Marques et al. 1997) gefunden: Die Bildungs-Enthalpie für Nitrenium-Ionen ist bei para-substituierten Alkylanilinen geringer als bei meta-substituierten Alkylanilinen. Daraus kann geschlossen werden, dass para-substituierte Isomere eine größere Fähigkeit zur Bildung von Addukten haben und dementsprechend auch eine stärkere mutagene Wirkung besitzen. Tests mit N-Hydroxyarylaminen und Salmonella typhimurium TA100 ohne metabolische Aktivierung zeigten eine schwache mutagene Antwort mit dem zweifach meta-substituierten Isomer (N-Hydroxy-3,5-dimethylanilin). Eine Alkylgruppe in para-Stellung erhöhte die mutagene Wirkung. Es wird vermutet, dass die para-substituierten Alkylaniline aufgrund der größeren Stabilität und einer daraus resultierenden längeren Halbwertszeit des Nitrenium-Ions effektiver Addukte bilden können. Eine Substitution in ortho-Stellung verstärkt ebenfalls die mutagene Reaktion, dies sogar in einem Ausmaß, dass sich N-Hydroxy-2,6-dimethylanilin als das N-Hydroxyalkylanilin mit der stärksten Mutagenität erwiesen hat. Da dies jedoch nicht mit einer erhöhten DNA-Adduktbildung einhergeht, folgern die Autoren, dass die Addukte aus ortho-substituierten Alkylanilinen im Vergleich mit denen von para- oder meta-substituierten Alkylanilinen eine höhere intrinsische Mutagenität besitzen (Marques et al. 1997).

**Ring-Hydroxylierung:** Eine weitere Möglichkeit ist die Metabolisierung zu einem Aminophenol. Das Aminophenol kann direkt durch Oxidation gebildet werden, ebenfalls unter Beteiligung von CYP. Aber auch das Nitrenium-Ion und das N-Hydroxylamin können sich zum Aminophenol umlagern („Bamberger Umlagerung“). Aus dem Aminophenol bildet sich durch spontane oder durch Peroxidase-katalysierte Oxidation ein Chinonimin. Dieses ist aufgrund seiner elektrophilen Eigenschaften sehr reaktiv und zum Redoxcycling und damit zur Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) fähig. Das Chinonimin von 2,6-Xylidin induziert Schwesterchromatidaustausche (SCE). Protein-Addukte mit Chinoniminen konnten nachgewiesen werden, über die Bildung von DNA-Addukten mit Chinoniminen wurde bisher noch nicht berichtet (Skipper et al. 2010). Die aus der Reaktion von Chinoniminen mit Proteinen entstandenen Produkte können über die Bildung von ROS indirekt mutagen wirken.

Für die Ring- und N-Hydroxy-Metaboliten von 3,5- und 2,6-Xylidin konnte die Bildung von ROS sowie die Entstehung von DNA-Strangbrüchen in AS52-Zellen nachgewiesen werden. Dies deutet darauf hin, dass Chinonimine auch im Wirkungsmechanismus der Xylidine eine entscheidende Rolle spielen (Chao et al. 2012).

Bei Zugabe von S9-Mix oder Verwendung von metabolisch aktiven Zellen zeigte sich, dass am Ring hydroxyliertes 3,5-Xylidin stärker zytotoxisch und bei niedrigeren Konzentrationen mutagen in CHO-Zellen war als das entsprechende N-Hydroxylamin. Beide Hydroxyderivate waren stärker zytotoxisch als unmetabolisiertes Xylidin. Die Autoren schließen daraus, dass für die Mutagenität der Xylidine die ROS wichtiger sind als die DNA-Addukte (Chao et al. 2012).

2,6- und 3,5-Xylidin sowie die entsprechenden N-Hydroxyderivate und Aminophenole wurden an Zelllinien, die entweder ohne Fähigkeit zur Nukleotid-Exzisionsreparatur (NER-defizient, AA8 CHO-Zellen) oder NER-profizient sind untersucht (UV5-Zellen). Keine der Zelllinien exprimiert Phase-I- oder Phase-II-Enzyme. Die Zellen wurden mit 50 µM bis 1 mM 2,6- und 3,5-Xylidin oder mit den entsprechenden N-Hydroxy- und Aminophenol-Metaboliten (5–500 µM) behandelt. Nach 24 Stunden wurden Zytotoxizität (Trypanblau) und Mutagenität (8-Azaadenin-Selektion) untersucht. 2,6- und 3,5-Xylidin sowie die entsprechenden N-Hydroxy- und Aminophenol-Metaboliten wirkten ohne metabolische Aktivierung durch S9-Mix zwar zytotoxisch, aber nicht mutagen. In den NER-defizienten Zellen war die Zytotoxizität höher als in den Zellen, die zur NER fähig sind. Dies deutet darauf hin, dass auch noch andere Produkte, die in diesem Test nicht mutagen sind, durch DNA-Schädigung zur Toxizität beitragen.

2,6- und 3,5-Xylidin waren zytotoxisch und mutagen in CHO-Zellen, die Maus-CYP1A2-Gene exprimieren sowie humane Aryl-Sulfotransferase- oder N-Acetyltransferase (NAT)-Gene. NER-Defizienz erhöhte die Zytotoxizität und Mutagenität. Die Autoren schließen daraus, dass Alkylaniline für eine mutagene Wirkung erst durch Phase-I- und Phase-II-Enzyme metabolisiert werden müssen (Skipper et al. 2010).

### 3 Toxikokinetik und Metabolismus

Zur inhalativen Aufnahme liegen keine Daten vor. Die Xylidine werden nach oraler Aufnahme gut aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert (Greim 1998).

Zur Aufnahme über die Haut liegen keine Studien vor. Die dermale LD<sub>50</sub> von 2,3-Xylidin am Meerschweinchen liegt zwischen 500 und 1000 mg/kg KG (Eastman Kodak Co 1994), so dass von einer Aufnahme bei Hautkontakt auszugehen ist. Es kam jedoch auch zu einer starken Hautreizung, durch die die Aufnahme erhöht werden kann.

Methämoglobinbildung mit dem strukturanalogen 2,4-Xylidin wurde bei Katzen und Hunden nach dermalen Applikation beobachtet (Greim 1998).

Für eine gesättigte wässrige Lösung von 3,5-Xylidin (logK<sub>OW</sub> ca. 2; Greim 1998) berechnen sich mit den Modellen von Fiserova-Bergerova et al. (1990) und dem Algorithmus des IH SkinPerm-Modells (Tibaldi et al. 2014) Fluxe von 706 bzw. 54 µg/cm<sup>2</sup> und Stunde. Unter der Annahme einer einstündigen Exposition von 2000 cm<sup>2</sup> Hautoberfläche (Fläche von Händen und Unterarmen) würde dies Aufnahmemengen von 1412 bzw. 108 mg entsprechen. Für 2,3-Xylidin fehlen Daten zur Wasserlöslichkeit, um die Hautaufnahme berechnen zu können. Da die Wasserlöslichkeit für die anderen Xylidin-Isomere unter 0,1 mg/l beträgt, ist deren Aufnahme über die Haut nach den Modellen vernachlässigbar.

**2,5-Xylidin:** Männlichen Osborne-Mendel Ratten wurde acht Tage lang eine tägliche Dosis von 200 mg 2,5-Xylidin/kg KG per Schlundsonde verabreicht. Die Substanz wurde entweder unverändert oder als Metabolit mit dem Urin ausgeschieden. Als Hauptmetabolit wurde 4-Hydroxy-2,5-xylidin gefunden, in geringeren Konzentrationen 2-Amino-4-methylbenzoesäure und 3-Amino-4-methylbenzoesäure (Greim 1998; OECD 2012).

**3,4-Xylidin:** Als Konjugate wurden bei der Ratte 4-Acetamido-2-methylbenzoesäure, 2-Amino-4,5-dimethylphenylsulfat und 4-Amino-2-methylbenzoesäure als Glucuronid identifiziert (Greim 1998).

**3,5-Xylidin:** Männliche C57BL/6-Mäuse bekamen intraperitoneal 100 µg [<sup>14</sup>C]-3,5-Xylidin/kg KG verabreicht. Ca. 45 % der Radioaktivität wurde im 25-Stunden-Sammelurin wiedergefunden. Allerdings gehen die Autoren davon aus, dass die Menge eher unterschätzt wurde, da es schwierig war, derart kleine Urinmengen zu sammeln. Die Plasma-Clearance von 3,5-Xylidin verlief biphasisch, mit einer langsameren Clearance zu späteren Zeitpunkten, was auf eine Bindung von Metaboliten mit Gewebe hinweist. Da die früheste Plasma-Probe nach zwei Stunden entnommen wurde, kann mit den Daten keine vollständige Resorptionsphase dargestellt werden. Sowohl in der Blase als auch in der Leber wurde DNA-Bindung gefunden. Die Halbwertszeit für deren Clearance aus der Blase betrug 15 Stunden, aus der Leber 21 Stunden (Skipper et al. 2006).

### 4 Erfahrungen beim Menschen

Zur einmaligen und wiederholten Exposition, Reproduktionstoxizität, Genotoxizität und allergenen Wirkung liegen keine oder keine neuen Daten vor.

In einer Fall-Kontroll-Studie wurden 298 Patienten mit Blasenkrebs untersucht. Als Kontrolle dienten 308 Personen, die, wenn möglich, in Bezug auf Alter, Geschlecht, ethnischer Herkunft und Nachbarschaft auf die Patienten abgestimmt wurden. Mit Hilfe von persönlichen Interviews wurden Informationen über Rauchverhalten und andere Risikofaktoren für Blasenkrebs gesammelt, zudem wurden am Ende des Interviews Blutproben genommen

und die Arylamin-Hämoglobin-Addukt-Werte bestimmt. Gemessen wurden u. a. 2,3-, 2,5-, 3,4- und 3,5-Xylidin-Hämoglobin-Addukte. Mittels Kovarianzanalyse und Regressionsanalysen wurde der Zusammenhang zwischen den Arylamin-Hämoglobin-Addukten und Blasenkrebs untersucht. Bei Rauchern waren die Arylamin-Hämoglobin-Addukt-Konzentrationen höher als bei Nichtrauchern (Ausnahme 2,6-Xylidin), und die Hämoglobin-Addukt-Werte aller Arylamine waren bei den Patienten mit Blasenkrebs höher als bei den Kontrollpersonen. Unter Einberechnung von Confoundern, wie Rauchverhalten zur Zeit der Probennahme, waren die Hämoglobin-Addukte mit 3,5-Xylidin statistisch signifikant mit dem Risiko für Blasenkrebs assoziiert. Der Zusammenhang zwischen 3,5-Xylidin und Blasenkrebs blieb auch statistisch signifikant, wenn nur Nichtraucher (zum Zeitpunkt der Probennahme) berücksichtigt wurden (Relatives Risiko 2,7; 95%-Konfidenzintervall 1,2–6,0) (Gan et al. 2004). Da in der Studie keine Expositionskonzentrationen erhoben wurden, ist sie für die Bewertung der Kanzerogenität der Xylidine nicht geeignet.

## 5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

### 5.1 Akute Toxizität

#### 5.1.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen keine Daten vor.

#### 5.1.2 Orale Aufnahme

In Tabelle 1 sind die oralen LD<sub>50</sub>-Werte der vier Xylidin-Isomere für männliche SD-Ratten und CF-1-Mäuse zusammengestellt (BUA 1995). Eine Beschreibung der Symptome fehlt.

**Tab. 1** Orale LD<sub>50</sub>-Werte von Xylidinen bei Ratten und Mäusen (mg/kg KG (95%-Vertrauensbereich))

Tierart	2,3-Xylidin	2,5-Xylidin	3,4-Xylidin	3,5-Xylidin
Ratte	930 (630–1380)	1300 (940–2140)	810 (590–1120)	710 (470–1070)
Maus	1070 (730–1590)	840 (470–1490)	710 (520–960)	420 (280–640)

Bei jeweils 3 SD-Ratten wurde der Methämoglobin-Gehalt vor und ein, zwei, vier und sechs Stunden nach der Gabe von 4,8 mmol 2,3-, 2,5-, 3,4- oder 3,5-Xylidin/kg KG gemessen. Zu allen gemessenen Zeitpunkten konnte nur für 3,5-Xylidin ein von der Kontrolle (Methämoglobin-Gehalt vor der Exposition) statistisch signifikanter Unterschied gefunden werden. Der höchste Methämoglobin-Gehalt von  $31,3 \pm 1,5$  % wurde sechs Stunden nach der Applikation erreicht. Die Methämoglobin-Gehalte durch die anderen drei Isomere blieben zu jedem Zeitpunkt unter 3 %. Die Autoren gehen davon aus, dass für 2,3-, 3,4- und 2,5-Xylidin der NOAEL bei 4,8 mmol/kg KG (580 mg/kg KG) liegt (Cauchon und Krishnan 1997).

Ebenfalls an Gruppen von jeweils drei Ratten wurde die Methämoglobin-Bildung nach peroraler Verabreichung einmaliger Dosen von 0,24; 0,48; 0,72; 0,96; 1,2; 1,8; 2,4 oder 4,8 mmol 3,5-Xylidin/kg KG in Maiskeimöl untersucht. Blutproben aus der Schwanzvene wurden vor und 0,25 bis 56 Stunden nach der Exposition entnommen und die Methämoglobin-Gehalte gemessen. Es wurde ein NOAEL von 0,96 mmol/kg KG (116 mg/kg) bestimmt und ein LOAEL von 1,2 mmol/kg KG (145 mg/kg) (Greim 1998; Shardonofsky und Krishnan 1997).

#### 5.1.3 Dermale Aufnahme

Die LD<sub>50</sub> liegt beim Meerschweinchen nach 24 Stunden langer okklusiver Applikation von 2,3-Xylidin zwischen 500 und 1000 mg/kg KG (Eastman Kodak Co 1994).



#### 5.1.4 Intravenöse Aufnahme

Nach intravenöser Gabe von einmalig 30 mg 2,3-, 2,5-, 3,4- oder 3,5-Xylidin/kg KG an jeweils fünf adulte Katzen wurde die Methämoglobin-Konzentration in den ersten fünf Stunden nach der Exposition im Blut gemessen. Bei den mit 3,5-Xylidin behandelten Tieren wurde die höchste Methämoglobin-Konzentration mit  $46,5\% \pm 3,9\%$  gemessen. Die maximalen Methämoglobin-Konzentrationen in den ersten fünf Stunden nach der Exposition gegen die restlichen drei Isomere betragen  $36,3\% \pm 7,1\%$  (2,5-Xylidin),  $20,2\% \pm 5,4\%$  (2,3-Xylidin) und  $18,0\% \pm 3,4\%$  (3,4-Xylidin) (BUA 1995).

Gruppen von jeweils drei Sprague-Dawley-Ratten erhielten einmalig intravenös 0,06; 0,12; 0,24; 0,48 oder 0,60 mmol 3,5-Xylidin/kg KG (Reinheit 99 %, gelöst in Emulphor, Methanol und Kochsalz (1:1:4)). Blutproben aus der Schwanzvene wurden vor und 0,25 bis 6 Stunden nach der Exposition entnommen und die Methämoglobin-Gehalte gemessen. Es wurde eine positive Dosis-Wirkungs-Beziehung gefunden, mit dem höchsten Gehalt von 28,9 % Methämoglobin bei der höchsten getesteten Dosis von 0,60 mmol/kg KG. Als NOAEL wurde 0,06 mmol 3,5-Xylidin/kg KG (7,3 mg/kg KG) angesehen, als LOAEL 0,12 mmol/kg KG (14,5 mg/kg KG) (Greim 1998; Shardonofsky und Krishnan 1997).

#### 5.1.5 In vitro

In In-vitro-Studien an Ratten-Erythrozyten mit einem Zwei-Kompartiment-Dialyse-System verursachten alle vier Xylidin-Isomere die Bildung von Methämoglobin bei einer Konzentration von 1 mM mit metabolischer Aktivierung durch Rattenleber-S9-Mix (Dauer der Inkubation: 0,5; 1; 2; 3 und 4 Stunden). Die einstündige Inkubation mit 3,5-Xylidin verursachte mit  $24,8 \pm 84\%$  die höchste Methämoglobin-Konzentration (2,3-Xylidin:  $10,95 \pm 1,43\%$ , 2,5-Xylidin:  $21,36 \pm 7,44\%$ , 3,4-Xylidin:  $17,05 \pm 2,61\%$ , k. A. zur Kontrolle). Auch bei der Betrachtung der Methämoglobinbildung über die Zeit zeigt sich, dass 3,5-Xylidin die stärksten Effekte hervorruft. Die  $AUC_{\text{metHb}}$  (Fläche unter der Methämoglobin-Konzentrations-Zeit-Kurve) für 3,5-Xylidin beträgt 60,75, die der anderen Isomere sind 45,33 (2,3-Xylidin), 49,43 (2,5-Xylidin) und 56,83 (3,4-Xylidin). Ohne metabolische Aktivierung blieb die Methämoglobin-Konzentration bei allen Isomeren nach einstündiger Inkubation unter 3 %. Die Ergebnisse zeigen, dass Xylidin-Isomere nur nach metabolischer Aktivierung Methämoglobin bilden können. Bei einer niedrigeren Xylidin-Konzentration von 0,3 mM lag nach zwei Stunden Inkubationszeit die Methämoglobin-Bildung für 3,5-Xylidin bei  $19,56 \pm 2,22\%$ , während die anderen Isomere deutlich darunter lagen (2,3-Xylidin:  $4,83 \pm 0,72\%$ , 2,5-Xylidin:  $5,94 \pm 0,61\%$ , 3,4-Xylidin:  $7,15 \pm 0,19\%$ , Kontrolle:  $3,90 \pm 0,10\%$ ). Nach einstündiger Inkubation mit 0,06 mM Xylidinen betrug die Methämoglobin-Bildung bei 3,5-Xylidin noch  $9,64 \pm 0,51\%$  (2,3-Xylidin:  $3,59 \pm 0,42\%$ , 2,5-Xylidin:  $3,10 \pm 0,27\%$ ; 3,4-Xylidin:  $5,84 \pm 37\%$ , Kontrolle:  $2,90 \pm 0,27\%$ ). Nach zweistündiger Inkubationszeit war bei allen Xylidinen nur noch eine geringe Methämoglobin-Bildung zu beobachten (3,5-Xylidin:  $4,53 \pm 0,47\%$ , 2,3-Xylidin:  $4,11 \pm 1,20$ , 2,5-Xylidin:  $2,90 \pm 0,32\%$ , 3,4-Xylidin:  $3,34 \pm 0,23\%$ , Kontrolle:  $2,56 \pm 0,13\%$ ) (Cauchon und Krishnan 1997).

## 5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

In der Begründung aus dem Jahr 1998 (Greim 1998) und im Nachtrag aus dem Jahr 2000 (Greim 2000) wurden die subakute, subchronische und chronische Toxizität bereits ausführlich beschrieben. In diesem Nachtrag werden daher nur neu hinzugekommene Daten ergänzt.

Seit dem letzten Nachtrag 2000 (Greim 2000) wurden orale 28-Tage-Studien an CRJ:CD (SD)-Ratten mit 2,3-, 2,5-, 3,4- und 3,5-Xylidin durchgeführt. Die Studienberichte liegen auf Japanisch vor, mit englischen Tabellen und, mit Ausnahme von 2,5-Xylidin, mit englischer Zusammenfassung (MHLW 2018 a, b, c, d). Alle vier Studien wurden nach der OECD-Prüfrichtlinie 407 in unterschiedlichen Prüfeinrichtungen und mit zusätzlichen Tieren, die 14 Tage lang nachbeobachtet wurden, durchgeführt. 2,3-, 2,5- und 3,5-Xylidin führten bei männlichen und weiblichen Ratten zu einer Erhöhung des Methämoglobingehalts im Blut, bei 3,4-Xylidin wurde der Methämoglobingehalt nicht untersucht. Zu einer Zunahme der Retikulozyten, Abnahme der Erythrozyten und des Hämoglobingehaltes sowie zu Ver-

änderungen weiterer Blutparameter kam es ab 60 mg/kg KG und Tag mit 2,3-Xylidin und 3,5-Xylidin, ab 250 mg/kg KG und Tag mit 3,4-Xylidin und bei 300 mg/kg KG und Tag mit 2,5-Xylidin. Verstärkte Hämosiderin-Ablagerungen in Leber und Milz als Sekundäreffekt der Hämolyse konnten ab 60 mg/kg KG und Tag mit 3,5-Xylidin sowie mit 3,4- und 2,5-Xylidin bei der jeweils höchsten getesteten Dosis von 250 bzw. 300 mg/kg KG und Tag beobachtet werden. Bei 3,5-Xylidin wurden zudem Ablagerungen in der Niere berichtet. Weibliche Ratten, die 2,3-Xylidin erhielten, zeigten bereits bei 12 mg/kg KG und Tag verstärkte Hämosiderin-Ablagerungen in der Milz, bei den männlichen Ratten trat dieser Effekt erst ab 60 mg/kg KG und Tag auf. Jeweils bei den höchsten getesteten Dosen aller vier Isomere wurden eine Erhöhung des spezifischen Urin-Gewichts, eine Zunahme des Urinvolumens und eine Veränderung des pH-Wertes sowie der Proteinzusammensetzung im Urin beobachtet. Zumeist bei den männlichen Tieren konnten in der Niere hyaline Tröpfchen oder Zylinder festgestellt werden: bei 2,3- und 3,4-Xylidin ab 60 mg/kg KG und Tag sowie bei 3,5-Xylidin bei 360 mg/kg KG und Tag. In den höchsten Dosisgruppen traten bei allen Isomeren außer bei 3,4-Xylidin erhöhte Nierengewichte und Nekrosen auf. Mit 2,3- und 3,5-Xylidin wurden bei 60 bzw. 50 mg/kg KG und Tag leichte Gewichtserhöhungen oder Vergrößerungen der Leber gefunden. Eine Erhöhung des absoluten oder relativen Lebergewichts trat bei allen vier Isomeren in der höchsten Dosisgruppe von 250 bzw. 360 mg/kg KG auf, ebenso eine Hypertrophie der Leberzellen. Effekte auf die Milz, wie eine Erhöhung des relativen und absoluten Gewichts und Kongestion, wurden bei der höchsten Dosierung (250 bis 360 mg/kg KG) beobachtet. Für 2,3-Xylidin wurde von den Autoren für die männlichen Ratten aufgrund von hämatologischen Effekten sowie Wirkungen auf Leber, Nieren, Knochenmark und Milz ab 60 mg/kg KG ein NOAEL von 12 mg/kg KG und Tag abgeleitet. Bei den weiblichen Ratten traten bei 12 mg/kg KG und Tag Hämosiderin-Ablagerungen in der roten Pulpa der Milz in verstärktem Maß auf, so dass 12 mg/kg KG als LOAEL bewertet wurde. Der NOAEL für die weiblichen und männlichen Ratten für 2,5-Xylidin lag bei 12 mg/kg KG und Tag, basierend auf hämatologischen Effekten und Wirkungen auf die Nieren und den Vormagen bei 60 mg/kg KG und Tag. Für 3,4- und 3,5-Xylidin wurde jeweils ein NOAEL von 10 mg/kg KG und Tag abgeleitet. Bei der nächsthöheren Dosis von 50 mg 3,4-Xylidin/kg KG und Tag kam es zu hyalinen Tröpfchen in den Nieren der männlichen Tiere und zu Lebervergrößerung bei den weiblichen Tieren. Bei 60 mg 3,5-Xylidin/kg KG traten hämatologische Effekte sowie deren Folgewirkungen auf Knochenmark, Leber und Milz auf (Tabelle 2; MHLW 2018 a, b, c, d; OECD 2012).



**Tab. 2** Orale 28-Tage-Studien an CRJ:CD (SD)-Ratten zu 2,3-, 2,5-, 3,4- und 3,5-Xylidin

Substanz Exposition Anzahl pro Gruppe	Befunde	Literatur
<b>2,3-Xylidin</b> 0, 12, 60, 300 mg/kg KG und Tag in Olivenöl, Schlundsonde, 7 d/Wo je 6 ♂ u. ♀, 14 d Nachbeobachtung: zusätzlich je 6 ♂ u. ♀ bei 0, 60, 300 mg/kg KG und Tag	<b>12 mg/kg KG:</b> ♂: NOAEL; <b>ab 12 mg/kg KG:</b> <u>Milz:</u> ♀: Hämosiderin-Ablagerungen (5/6 Schweregrad 3, Kontrolle: 6/6 Schweregrad 2); <b>ab 60 mg/kg KG:</b> <u>Blut:</u> ♂ u. ♀: Hb ↓; ♀: Erythrozyten, Hämatokrit ↓, MetHb ↑, <u>Leber:</u> ♂: rel. Gew. 10% ↑, <u>Milz:</u> ♂: Hämosiderin-Ablagerungen, <u>Nieren:</u> ♂: hyaline Zylinder, <u>Knochenmark:</u> ♂ u. ♀: Hämatopoese ↑; <b>300 mg/kg KG:</b> Ein ♂ am 27. Tag gestorben (Herz: Adhäsion an Lunge; Lunge: Adhäsion an Herz u. andere Lungenlappen, gerötete Lunge, Milzvergrößerung); ♂ u. ♀: Wasseraufnahme ↑; ♀: KG- Zunahme ↓, <u>Biochemie:</u> ♂ u. ♀: Gesamt-Bilirubin, BUN ↑; ♂: γ-GTP, indirektes Bilirubin, Kalium ↑; ♀: ALT, Gesamt-Cholesterin, Phospholipide ↑, <u>Blut:</u> ♂ u. ♀: MCV, MCH, Retikulozyten, Leukozyten ↑; ♂: Hämatokrit, Erythrozyten, MCHC ↓, MetHb ↑, <u>Urin:</u> ♂ u. ♀: Volumen ↑, spez. Gew. ↓, <u>Milz:</u> ♂ u. ♀: abs. u. rel. Gew. ↑, extramedulläre Hämatopoese ↑; ♂: Kongestion, <u>Nieren:</u> ♂ u. ♀: abs. u. rel. Gew. ↑, papilläre Nekrose, Erweiterung der renalen Tubuli, zelluläre Infiltration; ♂: Basophilie der renalen Tubuli, Mineralisierung der inneren Medulla, hohes Auftreten von eosinophilen Körperchen im Epithel der Tubuli; ♀: hyaline Zylinder, <u>Leber:</u> ♀: rel. Gew. ↑; ♂ u. ♀: Hypertrophie der zentrilobulären Hepatozyten, Gallengangspro- liferation, Hämosiderin-Ablagerungen in Kupferzellen, extramedulläre Hämatopoese, <u>Nachbeobachtung:</u> Rückgang der Befunde, außer bei Nieren	MHLW 2018 a
<b>2,5-Xylidin</b> 0, 12, 60, 300 mg/kg KG und Tag in Maiskeimöl, Schlundsonde, 7 d/Wo je 6 ♂ u. ♀, 14 d Nachbeobachtung: zusätzlich je 6 ♂ u. ♀ bei 0 und 300 mg/kg KG und Tag	<b>12 mg/kg KG:</b> NOAEL; <b>ab 60 mg/kg KG:</b> <u>Blut:</u> ♀: Prothrombinzeit ↑, <u>Biochemie:</u> ♂: Protein-Fraktion verändert, Glukose ↓, <u>Vormagen:</u> ♂ u. ♀: Plattenepithel-Hyperplasie, Hyperkeratose; ♂: Verdickung der fokalen Mucosa, <u>Nieren:</u> ♂: eosinophile Körperchen im Epithel des proximalen Tubulus; <b>300 mg/kg KG:</b> ♂ u. ♀: taumelnder Gang, Tränenfluss, Wasseraufnahme ↑; ♂: KG-Zunahme ↓, Futtermittelaufnahme ↓ (bei ♀ nur an Tag 5 und 7), <u>Urin:</u> ♂ u. ♀: Volumen ↑, spez. Gew. ↓, Proteingehalt ↓; ♂: pH-Wert ↓, <u>Blut:</u> ♂ u. ♀: Erythrozyten, Hämatokrit, Hb ↓, MetHb, Retikulozyten ↑; ♂: MCHC ↓, segmentierte Neutrophile ↑, Lymphozyten ↓, <u>Biochemie:</u> ♂ u. ♀: Gesamt-Bilirubin ↑; ♂: anorg. Phosphor ↑; ♀: Protein-Fraktion verändert, <u>Vormagen:</u> ♀: Verdickung der fokalen Mucosa, <u>Nieren:</u> ♂ u. ♀: Verfärbung der Papilla, rel. Gew. ↑, Ödeme, Nekrosen, zelluläre Infiltration, Regeneration, Mineralisation; ♂: Dilatation, <u>Leber:</u> ♂ u. ♀: rel. Gew. ↑, zentrilobuläre Hypertrophie, <u>Milz:</u> ♂ u. ♀: rel. Gew. ↑, Kongestion, Hämosiderin-Ablagerungen, <u>Herz:</u> ♂: abs. Gew. ↓, <u>Gehirn:</u> ♂: abs. u. rel. Gew. ↑, <u>Hypophyse:</u> ♂: abs. Gew. ↓, <u>Testes:</u> rel. Gew. ↑, <u>Prostata:</u> abs. Gew. ↓, <u>Samenbläschen:</u> abs. Gew. ↓, <u>Nachbeobachtung:</u> Effekte zum Teil reversibel	MHLW 2018 b

**Tab. 2** (Fortsetzung)

Substanz Exposition Anzahl pro Gruppe	Befunde	Literatur
<b>3,4-Xylidin</b> 0, 10, 50, 250 mg/kg KG und Tag in Maiskeimöl, Schlundsonde, 7 d/Wo je 5 ♂ u. ♀, 14 d Nachbeobachtung: zusätzlich je 5 ♂ u. ♀ bei 0 und 250 mg/kg KG und Tag	<b>10 mg/kg KG: NOAEL;</b> <b>ab 10 mg/kg KG:</b> Blut: ♂: neutrophile Leukozyten ↑, Lymphozyten ↓ (nur bei 10 und 50 mg/kg KG, keine Dosisabhängigkeit), MetHb wurde nicht untersucht; <b>ab 50 mg/kg KG:</b> Blut: ♂: Prothrombinzeit ↓ (nur bei 50 mg/kg KG), ♀: Gesamt-Cholesterin ↑, Leber: ♀: vergrößert (1/5), Nieren: ♂: hyaline Tröpfchen (4/5); <b>250 mg/kg KG:</b> ♂ u. ♀: Speichelfluss; ♂: KG ↓, KG-Zunahme ↓, Blut: ♂ u. ♀: Hämatokrit, Hb, Erythrozyten ↓, Retikulozyten, ALT, Gesamt-Bilirubin, PLT ↑; ♀: neutrophile Leukozyten ↓, Lymphozyten ↑; ♂: Leukozyten, Gesamt-Cholesterin, Albumin, Albumin/Globulin, Kalium ↑, γ-GTP ↓; ♀: Glucose, Calcium ↑, Chlorid ↓, Urin: ♂ u. ♀: Volumen ↑, pH, Harnsediment ↓; ♀: spez. Gew. ↓, Leber: ♂ u. ♀: abs. u. rel. Gew. ↑, vergrößert (♂ 2/5; ♀ 5/5), Hypertrophie, Pigmentablagerung (vermutl. Hämosiderin); ♂: Einzelzell-Nekrose; ♂: schwarze Verfärbung (3/5), Milz: ♂ u. ♀: abs. u. rel. Gew. ↑, schwarze Verfärbung (♂ 5/5; ♀ 4/5), vergrößert (♂ 2/5; ♀ 3/5), Kongestion, Pigmentablagerungen (vermutl. Hämosiderin), Hämatopoese ↑ Nebenniere: ♀: rel. Gew. ↓, Testes: ♂: rel. Gew. ↑, Knochenmark: Hämatopoese ↑, Nieren: ♂: hyaline Tröpfchen; Nachbeobachtung: Änderungen bis auf Pigmentdeposition nicht vollständig reversibel	MHLW 2018 c
<b>3,5-Xylidin</b> 0, 10, 60, 360 mg/kg KG und Tag in Maiskeimöl, Schlundsonde, 7 d/Wo je 6 ♂ u. ♀, 14 d Nachbeobachtung: zusätzlich je 6 ♂ u. ♀ bei 0 und 360 mg/kg KG und Tag	<b>10 mg/kg KG: NOAEL;</b> <b>ab 60 mg/kg KG:</b> Blut: ♂ u. ♀: Hb ↓, Retikulozyten ↑; ♀: Erythrozyten, MCV, MCHC ↓, ALT ↑; ♂: Hämatokrit ↓, Milz: ♂ u. ♀: abs. Gew. ↑, extramedulläre Hämatopoese, Hämosiderin-Ablagerung in roter Pulpa, Leber: ♂ u. ♀: Hämosiderin Ablagerung, Knochenmark: ♂: Sternum u. Femur Hämatopoese ↑; <b>360 mg/kg KG:</b> ♂ u. ♀: Zyanose, Erblassen, Speichelfluss, taumelnder Gang, abs. KG, Futteraufnahme ↓ (nicht an jedem Tag); ♀: Ophthalmopathie, Urin: ♂ u. ♀: Volumen, Natrium, Chlorid ↑, osmotischer Druck, spez. Gew., pH ↓; ♀: Kalium ↑, Blut: ♂ u. ♀: MCH, MetHb ↑; ♂: Erythrozyten, MCHC ↓, MCV, Verhältnis neutrophiler Leukozyten ↑; ♀: Gesamt-Leukozyten ↑, Hämatokrit, aPTT ↓, Biochemie: ♂ u. ♀: Bilirubin, AST, Phospholipide, anorganisches Phosphat ↑; ♂: ALT ↑, Glucose, Kalium, Chlorid ↓; ♀: Gesamt-Cholesterin, Calcium ↑, Milz: ♂ u. ♀: vergrößert (bei allen untersuchten Tieren), rel. Gew. ↑, Schilddrüse: ♂ u. ♀: abs. u. rel. Gew. ↑, Hypertrophie, Leber: ♂ u. ♀: rel. Gew. ↑ (♂: nur rel. Gew.), Hypertrophie, extramedulläre Hämatopoese, Nieren: ♂ u. ♀: rel. Gew. ↑ (abs. nur ♀), schwarz-braune Verfärbung, Hämosiderin-Ablagerung; ♂: hyaline Tröpfchen; ♀: Nekrose, Testes: abs. u. rel. Gew. ↑, Herz: ♂: rel. Gew. ↑, Gehirn: ♂: rel. Gew. ↑; Nachbeobachtung: Papilläre Nekrosen und Hämosiderin-Ablagerungen waren nicht reversibel	MHLW 2018 d

abs: absolutes; aPTT: aktivierte partielle Prothrombinzeit; ALT: Alanin-Aminotransferase; AST: Aspartat-Aminotransferase; BUN: Blut-Harnstoff-Stickstoff; Gew: Gewicht; GTP: Glutamyl-Transpeptidase; Hb: Hämoglobin; MCH: mittleres korpuskuläres Hämoglobin; MCHC: mittlere korpuskuläre Hb-Konzentration; MCV: mittleres korpuskuläres Volumen; MetHb: Methämoglobin; PLT: Thrombozyten; rel: relatives; spez: spezifisches

An je fünf männlichen und weiblichen Ratten sowie an je einem männlichen und weiblichen Beagle-Hund pro Dosisgruppe wurden im Jahr 1971 die Effekte von 2,5-Xylidin auf die Leber und die Nieren untersucht. Die Ratten waren vier Wochen lang täglich gegen Dosen von 0, 20, 100 oder 500 mg/kg KG und Tag exponiert (Schlundsondengabe). Nach zwei Wochen wurde die höchste Dosis auf 700 mg/kg KG und Tag erhöht. In der höchsten Dosisgruppe trat bei den männlichen Tieren eine reduzierte Körpergewichtsentwicklung auf. Bei den weiblichen Ratten der höchsten Dosisgruppe wurden erniedrigte Hämatokritwerte und Hämoglobinkonzentrationen beobachtet sowie eine „vergrößerte Leber“ (k. w. A.) und eine erhöhte Ornithincarbamyltransferase-Aktivität. Ein Tier starb am 25. Versuchstag. Der NOAEL lag bei 100 mg/kg KG und Tag (BUA 1995; OECD 2012). Die Hunde bekamen vier Wochen lang tägliche Dosen von 0, 2, 10 oder 50 mg/kg KG und Tag oral verabreicht. Ab 10 mg/kg KG und Tag kam es zu Erbrechen sowie zu einer mittelgradigen Steatose beim männlichen Hund dieser Dosisgruppe. Bei 50 mg/kg KG und Tag zeigte sich bei beiden Tieren eine Gewichtsreduktion und ein schlechter Allgemeinzustand. Beim männlichen Hund traten schwere Steatose, Hypoproteinämie, Hyperbilirubinämie sowie ein generalisierter Ikterus auf. Beim weiblichen Tier wurde eine geringgradige Steatose beobachtet. Der NOAEL lag bei 2 mg/kg KG. Die Studie wurde allerdings nicht nach heutigen Prüfrichtlinien durchgeführt und aufgrund der fehlenden Statistik (Ratten) und der geringen Tierzahl (Hunde) als eingeschränkt valide bewertet (BUA 1995).

## 5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

### 5.3.1 Haut

**2,3-Xylidin:** Bei der Bestimmung der dermalen LD<sub>50</sub> wurde nach einer 24-stündigen okklusiven Exposition gegen 500 bis 1000 mg 2,3-Xylidin/kg KG bei Meerschweinchen eine starke Hautreizung beobachtet (k. w. A.; Eastman Kodak Co 1994). Die 24-stündige okklusive Applikation entspricht nicht der nach OECD-Prüfrichtlinie 404 geforderten vierstündigen semiokklusiven Applikation.

**2,5- und 3,4-Xylidin:** Hierzu liegen keine Daten vor.

**3,5-Xylidin:** Die semiokklusive Applikation von 0,5 ml über vier Stunden nach OECD-Prüfrichtlinie 404 wirkte beim Weißen-Neuseeländer-Kaninchen (k. w. A.) nicht hautreizend (ECHA 2018 c; BUA 1995).

### 5.3.2 Auge

**2,3-, 2,5- und 3,4-Xylidin:** Hierzu liegen keine Daten vor.

**3,5-Xylidin:** Beim Weißen-Neuseeländer-Kaninchen (k. w. A.) traten eine Stunde bis 72 Stunden nach der Applikation von 0,1 ml unverdünntem 3,5-Xylidin (Reinheit 98 %; OECD-Prüfrichtlinie 405) sowohl eine leichte Trübung der Hornhaut wie auch eine leichte Rötung der Bindehaut auf, die nach sieben Tagen abgeklungen waren (BUA 1995; ECHA 2018 c). Nach den CLP-Kriterien gilt der Stoff damit nicht als augenreizend.

## 5.4 Allergene Wirkung

Hierzu liegen keine Befunde vor.

## 5.5 Reproduktionstoxizität

Hierzu liegen keine Daten vor.

## 5.6 Genotoxizität

### 5.6.1 In vitro

Zu allen Xylidin-Isomeren gibt es zahlreiche bakterielle Mutagenitätstests mit den *Salmonella*-typhimurium-Stämmen TA97, TA98, TA100 und TA1537. Diese wurden bereits ausführlich in der Begründung von 1998 (Greim 1998) und im Nachtrag von 2000 (Greim 2000) sowie im BUA-Stoffbericht (BUA 1995) beschrieben. Trotz nicht ganz einheitlicher Ergebnisse lässt sich daraus ableiten, dass alle Xylidin-Isomere nach metabolischer Aktivierung in den oben genannten *Salmonella*-typhimurium-Stämmen mutagen wirken. Seit der letzten Begründung wurde ein bakterieller Mutagenitätstest an **2,3-Xylidin** (Reinheit 99,7 %) mit den Stämmen TA98, TA100, TA1535 und TA1537 sowie dem Bakterienstamm *Escherichia coli* WP2 uvrA nach OECD-Prüfrichtlinie 471 und 472 veröffentlicht (MHLW 2018 a). Hierbei zeigte sich eine mutagene Wirkung nur im Stamm TA100 mit metabolischer Aktivierung (S9, Rattenleber) ab 625 µg/Platte mit einer Verdopplung der Revertanzahl, wobei Zytotoxizität ab 1250 µg/Platte auftrat. Die Negativ- und Positivkontrollen zeigten die erwarteten Ergebnisse (ECHA 2018 a; MHLW 2018 a; OECD 2012). Damit stehen die Ergebnisse dieser Studie im Einklang mit den oben bereits erwähnten Studien. Die in erster Linie im *Salmonella*-Stamm TA100 induzierten Rückmutationen weisen auf Basenpaarsubstitutionen hin.

**2,5-Xylidin** induzierte DNA-Reparatur in Rattenhepatozyten (Greim 1998).

In Chromosomen-Aberrationstests wurden 2,3-, 3,4- und 3,5-Xylidin (Reinheit 99,7–99,9 %) nach OECD-Prüfrichtlinie 473 in Lungenzellen des Chinesischen Hamsters (CHL/IU) getestet (MHLW 2018 a, c, d; OECD 2012). Bei einer Konzentration von 0,6 mg **2,3-Xylidin**/ml zeigte sich mit metabolischer Aktivierung kein statistisch signifikanter Unterschied zur Kontrolle, 18,8 % der Zellen zeigten Aberrationen (ohne Gaps) im Vergleich zu keinen Aberrationen bei der Lösungsmittelkontrolle. Die Zytotoxizität bei 0,6 mg/ml lag bei 70 % und war damit sehr hoch (ECHA 2018 a; MHLW 2018 a). In einer weiteren Studie induzierte **2,3-Xylidin** an CHL/IU-Zellen nach 6-stündiger Behandlung mit metabolischer Aktivierung bei der höchsten getesteten Dosis von 0,6 mg/ml Chromosomenaberrationen, auch hier war die Zytotoxizität mit mehr als 50 % sehr hoch (Kusakabe et al. 2002). **3,4-Xylidin** induzierte weder Klastogenität noch Polyploidie. Getestet wurden Dosen von 0; 0,24; 0,47 oder 0,94 mg/ml (kurzzeitige Behandlung, mit und ohne metabolische Aktivierung) und von 0; 0,11; 0,23 oder 0,45 mg/ml (kontinuierliche Behandlung, ohne metabolische Aktivierung). Zytotoxizität trat ab 0,3 mg/ml (kontinuierliche Behandlung ohne und kurzzeitige Behandlung mit metabolischer Aktivierung) bzw. 0,6 mg/ml (kurzzeitige Behandlung ohne metabolische Aktivierung) auf (MHLW 2018 c; OECD 2012). In der oben bereits genannten Studie von Kusakabe et al. (2002) wurden bei einer Exposition gegen **3,4-Xylidin** keine Chromosomenaberrationen beobachtet. Die höchste getestete Dosis wurde so gewählt, dass 50 % oder mehr Zytotoxizität induziert wurden (Kusakabe et al. 2002). **3,5-Xylidin** induzierte ohne metabolische Aktivierung bei der höchsten Konzentration von 900 µg/ml bei 12 % der Zellen Klastogenität (Chromatidbrüche, Chromatidaustausch und Chromosomenbrüche; ohne Gaps) im Vergleich zu 0,5 % der Zellen der Lösungsmittelkontrolle. Mit metabolischer Aktivierung zeigten sich bei 22,5 % der Zellen im Vergleich zu 1 % der Zellen der Lösungsmittelkontrolle Chromosomenaberrationen (Chromatidbrüche, Chromatidaustausch und Chromosomenbrüche; ohne Gaps) (ECHA 2018 c; MHLW 2018 d; OECD 2012). Die Berichte sind in japanischer Sprache verfasst, nur die Zusammenfassung sowie einige Tabellen und Abbildungen stehen in englischer Sprache zur Verfügung.

**3,5-Xylidin** verursachte in CHO-AS52-Zellen mit transfiziertem bakteriellen *gpt*-Gen Basenpaarsubstitutionen mit metabolischer Aktivierung (54 %; Kontrolle 48 %; Unterschied nicht statistisch signifikant). Die meisten Mutationen traten als A:T zu G:C-Transitionen (20 % der gesamten Anzahl an Mutationen; statistisch signifikant im Vergleich mit der Kontrolle) auf. Ab 100 µmol/Platte war das Zellwachstum eingeschränkt (100 µmol/Platte um 20 %, 300 µmol/Platte um 35 %) (Chao et al. 2012).

### 5.6.2 In vivo

An 13 männliche C57BL/6-Mäusen wurde einmalig ca. 100 µg radioaktiv markiertes **3,5-Xylidin**/kg KG intraperitoneal verabreicht und nach 2, 4, 8, 16 und 24 Stunden die DNA aus Blase, Leber, Niere, Kolon, Lunge und Pankreas

isoliert und die Radioaktivität bestimmt. Die Autoren schließen aus den Ergebnissen, dass 3,5-Xylidin in vivo zu elektrophilen Intermediaten metabolisiert wird, die an die DNA binden und in Blase und Leber Addukte bilden. Die Strukturen der gebildeten Addukte oder die Metaboliten, aus denen die Addukte gebildet wurden, wurden nicht bestimmt (Skipper et al. 2006).

Jeweils drei männlichen ddY-Mäusen/Gruppe wurde einmalig 0 oder 200 mg 2,3-, 2,5-, 3,4- oder 3,5-Xylidin/kg KG per Gavage verabreicht. Die Tiere wurden drei oder 24 Stunden nach der Dosisgabe getötet, Knochenmark, Leber, Niere und Lunge entfernt und die Gewebe für den Comet-Assay präpariert. Zur Auswertung wurden 500 zufällig ausgewählte Zellen pro Probe untersucht. Drei Stunden nach der Exposition war für alle getesteten Xylidin-Isomere die Anzahl der geschädigten Zellen mit Schweifbildung und starker Migration und die Anzahl der Zellen mit erhöhter Fragmentierung in der Niere und der Lunge erhöht. In der Leber wurden vermehrt Zellen mit einer beginnenden Schweifbildung oder Schweifbildung und starker Migration gefunden, ebenfalls bei allen verabreichten Xylidinen. Nur nach Exposition gegen 3,4- und 3,5-Xylidin war die Anzahl an Zellen mit leichter Schweifbildung und Zellen mit Schweifbildung und starker Migration im Knochenmark erhöht. Nach der Exposition gegen 2,3- und 2,5-Xylidin traten die stärksten Effekte in der Niere auf, gegen 2,5-Xylidin ebenso in der Leber. Weniger stark ausgeprägt waren die Effekte in der Lunge nach der Behandlung mit 3,4- und 3,5-Xylidin. Bei den nach 24 Stunden entnommenen Organen konnte keine DNA-Schädigung festgestellt werden (Kohara et al. 2018).

In einem Genmutations-Test wurde je fünf männlichen MutaMäusen® einmal wöchentlich vier Wochen lang 100 mg 2,5- oder 3,5-Xylidin/kg KG per Schlundsonde verabreicht. Sieben Tage nach der letzten Dosisgabe wurden Knochenmark, Leber und der gesamte Bereich der Nasenhöhle entnommen. Im nasalen Gewebe der mit 2,5-Xylidin behandelten Mäuse war die Mutationshäufigkeit der *lacZ*- und *cII*-Gene statistisch signifikant erhöht. Bei den mit 3,5-Xylidin behandelten Mäusen konnten keine statistisch signifikanten Effekte in der Nasenhöhle beobachtet werden. In der Leber wurden weder mit 2,5- noch mit 3,5-Xylidin Effekte auf die Mutationshäufigkeit gefunden. Im Knochenmark der mit 2,5-Xylidin behandelten Mäuse wurde ebenfalls eine Erhöhung der Mutationshäufigkeit beobachtet. Allerdings war eine Signifikanz-Bestimmung nicht möglich, da vier Tiere der Kontrollgruppe nicht ausgewertet werden konnten (Gesamtanzahl der Kolonien weniger als 100 000). Eine Sequenzanalyse der durch 2,5-Xylidin verursachten Mutationen am *cII*-Gen ergab eine statistisch signifikant vermehrte Anzahl an Transitionen (GC → AT; AT → GC) und Transversionen (GC → TA) (Kohara et al. 2018).

Für einen Mikronukleus-Test wurden den gleichen ddY-Mäusen, die im oben bereits beschriebenen Comet-Assay verwendet wurden, Zellen aus dem Knochenmark entnommen und untersucht. Es wurde bei keinem der getesteten Xylidin-Isomere eine erhöhte Häufigkeit von polychromatischen Erythrozyten mit Mikronuklei beobachtet. Das Verhältnis von polychromatischen zu normochromatischen Erythrozyten betrug  $1,1 \pm 0,0$  (Kontrolle);  $0,8 \pm 0,2$  (2,3-Xylidin);  $1,1 \pm 0,4$  (2,5-Xylidin);  $1,1 \pm 0,1$  (3,4-Xylidin) und  $0,9 \pm 0,2$  (3,5-Xylidin) und war damit unverändert (Kohara et al. 2018).

In einer Studie erhielten je fünf männliche MutaMäuse® einmalig oral 100 mg 2,5- oder 3,5-Xylidin/kg KG mit der Schlundsonde, und 48 Stunden nach der Exposition wurden Blutproben aus der Schwanzvene entnommen. Bei den Tieren handelte es sich um die gleichen Tiere, die im oben beschriebenen Genmutationstest exponiert waren, die Blutproben wurden nach der ersten der vier Dosisgaben entnommen und auf Retikulozyten mit Mikronuklei getestet. Jeweils 1000 Retikulozyten pro Tier wurden untersucht. Im peripheren Blut der exponierten Tiere war die Häufigkeit der Retikulozyten mit Mikronuklei nicht erhöht (Kohara et al. 2018).

**Erreichbarkeit der Keimzellen:** Zur Untersuchung der Wirkung von 2,3-, 2,5-, 3,4- und 3,5-Xylidin auf den Thymidin-Einbau in die Hoden-DNA männlicher Mäuse (k.w.A. zum Stamm) wurden 200 mg 2,3- oder 2,5-Xylidin/kg KG einmalig oral verabreicht. 3,4- oder 3,5-Xylidin wurden in einer Dosis von 100 mg/kg KG einmalig intraperitoneal verabreicht. 2,5- und 3,5-Xylidin führten zu einem statistisch signifikant verminderten Thymidin-Einbau, während sich bei 2,3- und 3,4-Xylidin keine Effekte zeigten (BUA 1995; Seiler 1977). Eine Erreichbarkeit der Hoden kann daher für 2,5- und 3,5-Xylidin angenommen werden.



## 5.7 Kanzerogenität

Bereits in der Begründung aus dem Jahr 1998 (Greim 1998) ist eine Kanzerogenitätsstudie an männlichen Charles-River-SD-Ratten und männlichen und weiblichen HAM/ICR-Mäusen beschrieben. Die Ratten bekamen 5 Monate lang 0, 300 oder 600 mg 2,5-Xylidin/kg KG und Tag per Futter (6000 bzw. 12 000 mg/kg Futter × Umrechnungsfaktor 0,05 (chronisch) nach EFSA (2012)). Danach wurde für weitere 13 Monate wegen aufgetretener Toxizität die Dosis um die Hälfte reduziert. Bei den Ratten traten erhöhte Häufigkeiten von subkutanen Fibromen und Fibrosarkomen sowohl in der hohen Dosisgruppe (9/17; 53 %), als auch in der niedrigen Dosisgruppe (7/17; 41 %) auf, die nur im Vergleich mit einer kombinierten Kontrolle aus 5 zeitlich versetzten Kontrollgruppen (18/111; 16 %) statistisch signifikant waren, nicht jedoch im Vergleich mit der simultan mitgeführten Kontrolle (8/17; 47 %). Die männlichen und weiblichen Mäuse erhielten 18 Monate lang 0, 900 oder 1800 mg 2,5-Xylidin/kg KG (6000 bzw. 12 000 mg/kg Futter × Umrechnungsfaktor 0,15 (chronisch) nach EFSA (2012)) mit dem Futter. Bei den männlichen Mäusen traten in der hohen (7/19; 37 %) und niedrigen (5/18; 28 %) Dosisgruppe erhöhte Inzidenzen von Gefäßtumoren auf, die nur im Vergleich mit der zeitlich versetzten Kontrolle (5/99; 5 %) statistisch signifikant waren (mitgeführte Kontrolle 2/16; 13 %). Bei den weiblichen Mäusen wurde nur in der niedrigen Dosisgruppe eine im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen statistisch signifikant erhöhte Anzahl an Hepatomen gefunden (5/16; 31 %; hohe Dosisgruppe: 2/20; 10 %; simultane Kontrolle: 0/13; zeitlich versetzte Kontrolle: 1/102; 1 %; Weisburger et al. 1978). Die Ergebnisse dieser Studie sind allerdings nur bedingt aussagekräftig, da u. a. die verwendete geringe Anzahl von Tieren in den Dosis- und Kontrollgruppen nicht dem Vorgehen nach der OECD-Prüfrichtlinie entspricht.

Untersuchungen zur Kanzerogenität von 2,3-, 3,4- und 3,5-Xylidin liegen nicht vor.

## 6 Bewertung

Alle vier Xylidin-Isomere verursachen die Bildung von Methämoglobin, erniedrigen den Hämoglobingehalt und sind toxisch an Leber, Nieren und Milz (siehe auch Greim 1998). Dies wird durch die seit der letzten Begründung neu hinzugekommenen 28-Tage-Studien an Ratten bestätigt.

**Kanzerogene Wirkung.** In vitro und in vivo zeigen alle vier Xylidin-Isomere nach metabolischer Aktivierung, trotz der für die Substanzklasse typischen nicht ganz einheitlichen Ergebnisse, genotoxische Eigenschaften. Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus lassen vermuten, dass durch die Metabolisierung der Xylidine u. a. hochreaktive Nitrenium-Ionen und Chinonimine entstehen können, die zur DNA-Adduktbildung bzw. mittels Redox-cycling zur Bildung von ROS fähig sind.

Valide Untersuchungen zur Kanzerogenität am Menschen liegen nicht vor. Ein Vergleich der monozyklischen aromatischen Aminoverbindungen ergibt, dass bei der Organotropie der entstehenden Tumoren ein gemeinsames Grundmuster erkennbar ist. Im Vordergrund stehen bei Ratte und Maus Blutgefäßtumoren. Auch werden vielfach Fibrome und Fibrosarkome beobachtet (Greim 2003). Tierversuchsdaten zur Kanzerogenität liegen nur für 2,5-Xylidin vor. Dieses induziert bei weiblichen CD1-Mäusen Hepatome in der niedrigen, nicht jedoch in der hohen Dosisgruppe. Eine Dosis-Wirkungs-Beziehung lässt sich nicht erkennen. Die Inzidenzen der bei männlichen Mäusen aufgetretenen Gefäßtumoren sowie die der bei Ratten beobachteten Fibrome und Fibrosarkome sind zur zeitlich versetzten Kontrolle statistisch signifikant erhöht, nicht jedoch im Vergleich mit der simultan mitgeführten Versuchskontrolle. Statistisch signifikant erhöhte Tumorinzidenzen treten somit nur bei einer Spezies und in einem Geschlecht auf. Die Studie ist allerdings nur bedingt aussagekräftig, da u. a. die geringe Anzahl von Tieren in den Dosis- und Kontrollgruppen nicht dem Vorgehen nach der OECD-Prüfrichtlinie entspricht.

Die aufgetretenen Tumoren entsprechen jedoch dem oben erwähnten Grundmuster bei monozyklischen aromatischen Aminoverbindungen, so dass ein substanzbedingter Effekt nicht ausgeschlossen werden kann. Ein Zusammenhang zwischen der Entstehung der aufgetretenen Tumoren und den Mechanismen, die zur Bildung von Methämoglobin beitragen, ist anzunehmen. Höchstwahrscheinlich haben die in diesen Untersuchungen verwendeten sehr hohen Dosen ebenfalls durch ihre toxische Wirkung zur Tumorentstehung beigetragen.



Insgesamt ergeben sich aus den Tierversuchsdaten zusammen mit den Erkenntnissen über den Wirkungsmechanismus sowie aufgrund der Zugehörigkeit zur Substanzklasse der aromatischen Amine Anhaltspunkte für eine krebserzeugende Wirkung. 2,3-, 2,5-, 3,4- und 3,5-Xylidin werden in die Kanzerogenitäts-Kategorie 3 B eingestuft.

**Keimzellmutagene Wirkung.** In vitro wirken 2,3-, 2,5-, 3,4- und 3,5-Xylidin mit metabolischer Aktivierung mutagen in Bakterien. 3,5-Xylidin ist auch in Säugerzellen mutagen, zu den anderen Xylidinen liegen keine Mutagenitätstests an Säugerzellen vor. 2,3- und 3,5-Xylidin erweisen sich als klastogen. Zu 2,5-Xylidin liegt keine entsprechende Untersuchung vor, bei 3,4-Xylidin zeigt sich keine klastogene Wirkung.

In vivo ist die DNA-Bindung in Blase und Leber von C57BL/6-Mäusen nachgewiesen, allerdings sind deren Strukturen unbekannt. Im Comet-Assay rufen alle vier Xylidin-Isomere DNA-Schäden an Lunge, Niere und Leber bei der Maus hervor, bei 3,4- und 3,5-Xylidin zudem im Knochenmark. Der Mikronukleus-Test im Knochenmark verläuft bei allen vier Xylidinen negativ, 2,5- und 3,5-Xylidin verursachen auch im peripheren Blut keine Mikronuklei, ein entsprechender Test liegt für die beiden anderen Isomere nicht vor. 2,5-Xylidin, nicht jedoch 3,5-Xylidin, verursacht bei der MutaMaus<sup>®</sup> Mutationen im nasalen Gewebe.

2,5- und 3,5-Xylidin hemmen die DNA-Synthese in den Hoden von Mäusen, eine Erreichbarkeit der Keimzellen ist daher anzunehmen.

Studien an Keimzellen liegen nicht vor.

Insgesamt ergibt sich aus den vorliegenden Ergebnissen ein Verdacht auf eine mutagene Wirkung in Keimzellen und 2,3-, 2,5-, 3,4- und 3,5-Xylidin werden in die Kategorie 3 B für Keimzellmutagene eingestuft.

**MAK-Wert.** Die in den 28-Tage-Studien erhaltenen NOAEL für Ratten entsprechen sich in etwa: 2,3-Xylidin: 12 mg/kg KG und Tag für männliche Tiere (LOAEL für weibliche Tiere); 2,5-Xylidin: 12 mg/kg KG und Tag für männliche und weibliche Tiere; 3,4-Xylidin und 3,5-Xylidin: 10 mg/kg KG und Tag für männliche und weibliche Tiere. Da ein Verdacht auf eine genotoxische Wirkung der Xylidin-Isomere sowohl in vitro als auch in vivo gegeben ist, kann kein MAK-Wert abgeleitet werden.

**Hautresorption.** Untersuchungen zur Aufnahme über die Haut liegen nicht vor. Die mathematischen Modelle liefern für 3,5-Xylidin eine hohe dermale Aufnahme von bis zu 1412 mg, für die anderen Isomere ist sie zu vernachlässigen oder mangels Daten nicht zu berechnen. Für 2,3-Xylidin liegt die dermale LD<sub>50</sub> beim Meerschweinchen zwischen 500 und 1000 mg/kg KG. Methämoglobinbildung mit dem strukturanalogen 2,4-Xylidin wurde bei Katzen und Hunden nach dermalen Applikation beobachtet (Greim 1998). Die systemische Toxizität ist mit einem LOAEL/NOAEL für die Xylidin-Isomere im Bereich von 10 mg/kg KG und Tag hoch, und es besteht der Verdacht auf eine kanzerogene und mutagene Wirkung. Deshalb bleiben die Xylidin-Isomere trotz der ungenügenden Datenlage zur Aufnahme über die Haut mit „H“ markiert.

**Sensibilisierende Wirkung.** Zur sensibilisierenden Wirkung der Xylidine liegen weiterhin keine Befunde beim Menschen und keine Ergebnisse aus experimentellen Untersuchungen am Tier oder aus In-vitro-Untersuchungen vor. Obwohl die strukturelle Ähnlichkeit mit einigen Amin-substituierten monozyklischen Aromaten mit gering ausgeprägtem kontaktsensibilisierenden Potenzial, zum Beispiel Anilin oder p-Toluidin, auch die Xylidine hinsichtlich einer möglichen kontaktsensibilisierenden Wirkung verdächtig erscheinen lässt, werden die Substanzen wegen fehlender Daten weiterhin weder mit „Sh“ noch mit „Sa“ markiert.

## Literatur

BUA (Beratergremium für Altstoffe der Gesellschaft Deutscher Chemiker) (1995) Xylidine, BUA-Stoffbericht 161. Hirzel, Stuttgart

Cauchon D, Krishnan K (1997) In vitro and in vivo evaluations of the methaemoglobinaemic potential of xylidine isomers in the rat. J Appl Toxicol 17: 397–404. DOI: [10.1002/\(sici\)1099-1263\(199711/12\)17:6<397::aid-jat458>3.0.co;2-v](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-1263(199711/12)17:6<397::aid-jat458>3.0.co;2-v)

Chao M-W, Kim MY, Ye W, Ge J, Trudel LJ, Belanger CL, Skipper PL, Engelward BP, Tannenbaum SR, Wogan GN (2012) Genotoxicity of 2,6- and 3,5-dimethylaniline in cultured mammalian cells: the role of reactive oxygen species. Toxicol Sci 130: 48–59. DOI: [10.1093/toxsci/kfs229](https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs229)

- Cui L, Sun HL, Wishnok JS, Tannenbaum SR, Skipper PL (2007) Identification of adducts formed by reaction of N-acetoxy-3,5-dimethylaniline with DNA. *Chem Res Toxicol* 20: 1730–1736. DOI: [10.1021/tx700306c](https://doi.org/10.1021/tx700306c)
- Eastman Kodak Co (1994) Letter from Eastman Kodak to USEPA. Re: Chemicals listed in the '83 list of chemicals selected for review by TSCA ITC. NTIS/OTS0001156, DOC ID: FYI-OTS-0794-1156. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0001156.xhtml>, abgerufen am 21 Feb 2019
- ECHA (European Chemicals Agency) (2018 a) Information on registered substances. Dataset on 2,3-xylidine (CAS Number 87-59-2), joint submission, first publication 28 Nov 2011, last modification 13 Nov 2018. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/11559/4/5>, abgerufen am 25 Feb 2019
- ECHA (European Chemicals Agency) (2018 b) Information on registered substances. Dataset on 3,4-xylidine (CAS Number 95-64-7), joint submission, first publication 14 Jul 2012, last modification 13 Nov 2018. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/10998>, abgerufen am 25 Feb 2019
- ECHA (European Chemicals Agency) (2018 c) Information on registered substances. Dataset on 3,5-xylidine (CAS Number 108-69-0), joint submission, first publication 14 Jul 2012, last modification 14 Nov 2018. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/12529>, abgerufen am 25 Feb 2019
- ECHA (European Chemicals Agency) (2019) Information on registered substances. Dataset on 2,5-xylidine (CAS Number 95-78-3), joint submission, first publication 05 Dec 2012, last modification 05 Feb 2019. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/10861>, abgerufen am 25 Feb 2019
- EFSA (European Food Safety Authority) (2012) Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data. *EFSA J* 10: 2579. DOI: [10.2903/j.efsa.2012.2579](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2579)
- 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. DOI: [10.1002/ajim.4700170507](https://doi.org/10.1002/ajim.4700170507)
- Gan J, Skipper PL, Gago-Dominguez M, Arakawa K, Ross RK, Yu MC, Tannenbaum SR (2004) Alkylaniline-hemoglobin adducts and risk of non-smoking-related bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 96: 1425–1431. DOI: [10.1093/jnci/djh274](https://doi.org/10.1093/jnci/djh274)
- Greim H (Hrsg) (1998) Xylidin (Isomeren). In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 27. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb130073ismd0027](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb130073ismd0027)
- Greim H (Hrsg) (2000) Xylidin (Isomeren). In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 30. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb130073ismd0030](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb130073ismd0030)
- Greim H (Hrsg) (2003) Monozyklische aromatische Amino- und Nitroverbindungen. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 37. Lieferung, Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb0maryverd0037](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb0maryverd0037)
- IFA (Institut für Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung) (2019 a) 2,3-Xylidin. GESTIS-Stoffdatenbank. [http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=id&id=038780&t=document-frameset.htm\\$3.0\\$p=](http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=id&id=038780&t=document-frameset.htm$3.0$p=), abgerufen am 29 Apr 2019
- IFA (Institut für Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung) (2019 b) 2,5-Xylidin. GESTIS-Stoffdatenbank. [http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=id&id=016320&t=document-frameset.htm\\$3.0\\$p=](http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=id&id=016320&t=document-frameset.htm$3.0$p=), abgerufen am 29 Apr 2019
- IFA (Institut für Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung) (2019 c) 3,4-Xylidin. GESTIS-Stoffdatenbank. [http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=id&id=510776&t=document-frameset.htm\\$3.0\\$p=](http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=id&id=510776&t=document-frameset.htm$3.0$p=), abgerufen am 29 Apr 2019
- IFA (Institut für Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung) (2019 d) 3,5-Xylidin. GESTIS-Stoffdatenbank. [http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=id&id=017890&t=document-frameset.htm\\$3.0\\$p=](http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=id&id=017890&t=document-frameset.htm$3.0$p=), abgerufen am 29 Apr 2019
- Kohara A, Matsumoto M, Hirose A, Hayashi M, Honma M, Suzuki T (2018) Mutagenic properties of dimethylaniline isomers in mice as evaluated by comet, micronucleus and transgenic mutation assays. *Genes Environ* 40: 18. DOI: [10.1186/s41021-018-0106-3](https://doi.org/10.1186/s41021-018-0106-3)
- Kusakabe H, Yamakage K, Wakuri S, Sasaki K, Nakagawa Y, Watanabe M, Hayashi M, Sofuni T, Ono H, Tanaka N (2002) Relevance of chemical structure and cytotoxicity to the induction of chromosome aberrations based on the testing results of 98 high production volume industrial chemicals. *Mutat Res* 517: 187–198. DOI: [10.1016/s1383-5718\(02\)00062-1](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(02)00062-1)
- Marques MM, Mourato LL, Santos MA, Beland FA (1996) Synthesis, characterization, and conformational analysis of DNA adducts from methylated anilines present in tobacco smoke. *Chem Res Toxicol* 9: 99–108. DOI: [10.1021/tx950044z](https://doi.org/10.1021/tx950044z)
- Marques MM, Mourato LL, Amorim MT, Santos MA, Melchior WB Jr, Beland FA (1997) Effect of substitution site upon the oxidation potentials of alkylanilines, the mutagenicities of N-hydroxyalkylanilines, and the conformations of alkylaniline-DNA adducts. *Chem Res Toxicol* 10: 1266–1274. DOI: [10.1021/tx970104w](https://doi.org/10.1021/tx970104w)
- MHLW (Japan Ministry of Health, Labour, and Welfare) (2018 a) Japan Existing Chemical Database (JECDB), 2,3-Dimethylaniline. [http://dra4.nihs.go.jp/mhlw\\_data/jsp/ResultPageENG.jsp?condition\\_item=cas&condition\\_keyword=87-59-2&condition\\_type=](http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/jsp/ResultPageENG.jsp?condition_item=cas&condition_keyword=87-59-2&condition_type=), abgerufen am 08 Mai 2018

- MHLW (Japan Ministry of Health, Labour, and Welfare) (2018 b) Japan Existing Chemical Database (JECDB), 2,5-Dimethylaniline. [http://dra4.nihs.go.jp/mhlw\\_data/jsp/ResultPageENG.jsp?condition\\_item=cas&condition\\_keyword=95-78-3&condition\\_type=\\*](http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/jsp/ResultPageENG.jsp?condition_item=cas&condition_keyword=95-78-3&condition_type=*), abgerufen am 24 Jan 2018
- MHLW (Japan Ministry of Health, Labour, and Welfare) (2018 c) Japan Existing Chemical Database (JECDB), 3,4-Dimethylaniline. [http://dra4.nihs.go.jp/mhlw\\_data/jsp/ResultPageENG.jsp?condition\\_item=cas&condition\\_keyword=95-64-7&condition\\_type=\\*](http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/jsp/ResultPageENG.jsp?condition_item=cas&condition_keyword=95-64-7&condition_type=*), abgerufen am 07 Mrz 2018
- MHLW (Japan Ministry of Health, Labour, and Welfare) (2018 d) Japan Existing Chemical Database (JECDB), 3,5-Dimethylaniline. [http://dra4.nihs.go.jp/mhlw\\_data/jsp/ResultPageENG.jsp?condition\\_item=cas&condition\\_keyword=108-69-0&condition\\_type=\\*](http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/jsp/ResultPageENG.jsp?condition_item=cas&condition_keyword=108-69-0&condition_type=*), abgerufen am 07 Mrz 2018
- NLM (National Library of Medicine) (2020 a) 2,3-Xylidine. ChemIDplus Data Bank. <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/87-59-2>, abgerufen am 22 Mai 2020
- NLM (National Library of Medicine) (2020 b) 2,5-Xylidine. ChemIDplus Data Bank. <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/95-78-3>, abgerufen am 22 Mai 2020
- NLM (National Library of Medicine) (2020 c) 3,4-Xylidine. ChemIDplus Data Bank. <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/95-64-7>, abgerufen am 22 Mai 2020
- NLM (National Library of Medicine) (2020 d) 3,5-Xylidine. ChemIDplus Data Bank. <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/108-69-0>, abgerufen am 22 Mai 2020
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (2012) Dimethylaniline category. SIDS Initial Assessment Report. OECD, Paris. <https://hvpchemicals.oecd.org/ui/handler.axd?id=a95aa7fa-7ab9-4bb0-9d0d-458ee66a3c97>, abgerufen am 24 Jan 2018
- Sabbioni G (1992) Hemoglobin binding of monocyclic aromatic amines: molecular dosimetry and quantitative structure activity relationships for the N-oxidation. *Chem Biol Interact* 81: 91–117. DOI: [10.1016/0009-2797\(92\)90029-k](https://doi.org/10.1016/0009-2797(92)90029-k)
- Seiler JP (1977) Inhibition of testicular DNA synthesis by chemical mutagens and carcinogens. Preliminary results in the validation of a novel short term test. *Mutat Res* 46: 305–310. DOI: [10.1016/0165-1161\(77\)90007-3](https://doi.org/10.1016/0165-1161(77)90007-3)
- Shardonofsky S, Krishnan K (1997) Characterization of methemoglobinemia induced by 3,5-xylidine in rats. *J Toxicol Environ Health* 50: 595–604. DOI: [10.1080/15287399709532057](https://doi.org/10.1080/15287399709532057)
- Skipper PL, Trudel LJ, Kensler TW, Groopman JD, Egner PA, Liberman RG, Wogan GN, Tannenbaum SR (2006) DNA adduct formation by 2,6-dimethyl-, 3,5-dimethyl-, and 3-ethylaniline in vivo in mice. *Chem Res Toxicol* 19: 1086–1090. DOI: [10.1021/tx060082q](https://doi.org/10.1021/tx060082q)
- Skipper PL, Kim MY, Sun HL, Wogan GN, Tannenbaum SR (2010) Monocyclic aromatic amines as potential human carcinogens: old is new again. *Carcinogenesis* 31: 50–58. DOI: [10.1093/carcin/bgp267](https://doi.org/10.1093/carcin/bgp267)
- Tibaldi R, ten Berge W, Drolet D (2014) Dermal absorption of chemicals: estimation by IH SkinPerm. *J Occup Environ Hyg* 11: 19–31. DOI: [10.1080/15459624.2013.831983](https://doi.org/10.1080/15459624.2013.831983)
- Weisburger EK, Russfield AB, Homburger F, Weisburger JH, Boger E, Van Dongen CG, Chu KC (1978) Testing of twenty-one environmental aromatic amines or derivatives for long-term toxicity or carcinogenicity. *J Environ Pathol Toxicol* 2: 325–356