

N,N-Dimethyl-p-toluidin

MAK-Begründung

A. Hartwig^{1,*}

MAK Commission^{2,*}

¹ *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*

² *Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn*

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

Keywords

N,N-Dimethyl-p-toluidin;
Kanzerogenität; Hautresorption;
Keimzellmutagenität; Reiz-
wirkung; Metabolismus;
Toxizität; Methämoglobinämie;
Leber

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has evaluated N,N-dimethyl-p-toluidine [99-97-8] considering all toxicological end points. N,N-Dimethyl-p-toluidine led to an increased incidence of liver adenomas and carcinomas in mice at 6 mg/kg body weight and day and in rats at 60 mg/kg body weight and day in a chronic gavage study. Additional tumours were observed in male rats in the transitional epithelium of the nose and in female rats in the lungs and the forestomach. On the basis of these effects, N,N-dimethyl-p-toluidine has been classified in Carcinogen Category 2. N,N-Dimethyl-p-toluidine induces mutagenic, aneugenic and clastogenic effects in vitro. In vivo, N,N-dimethyl-p-toluidine was found to cause DNA damage in the livers of rats and mice. As studies for germ cell mutagenicity are not available, N,N-dimethyl-p-toluidine has been classified in Germ Cell Mutagenicity Category 3B. According to skin absorption models, percutaneous absorption is expected to contribute significantly to systemic toxicity. Therefore, N,N-dimethyl-p-toluidine has been designated with “H”. A sensitizing potential is not expected from the data available.

Citation Note:

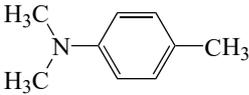
Hartwig A, MAK Commission.
N,N-Dimethyl-p-toluidin. MAK-
Begründung. MAK Collect Occup
Health Saf. 2022 Jun;7(2):Doc025.
[https://doi.org/10.34865/
mb9997d7_2or](https://doi.org/10.34865/mb9997d7_2or)

Manuskript abgeschlossen:
24 Feb 2021

Publikationsdatum:
29 Jun 2022

Lizenz: Dieses Werk ist
lizenziert unter einer [Creative
Commons Namensnennung 4.0
International Lizenz](#).



MAK-Wert	–
Spitzenbegrenzung	–
Hautresorption (2021)	H
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung (2021)	Kategorie 2
Fruchtschädigende Wirkung	–
Keimzellmutagene Wirkung (2021)	Kategorie 3 B
BAT-Wert	–
Synonyma	4-(Dimethylamino)toluol 4-Methyl-N,N-dimethylanilin
Chemische Bezeichnung (IUPAC-Name)	N,N,4-Trimethylanilin
CAS-Nr.	99-97-8
Formel	
	C ₉ H ₁₃ N
Molmasse	135,21 g/mol
Schmelzpunkt	–15 °C (ECHA 2020)
Siedepunkt bei 1013 hPa	211 °C (ECHA 2020)
Dichte bei 20 °C	0,94 g/cm ³ (ECHA 2020)
Dampfdruck bei 25 °C	0,237 hPa (NLM 2022)
log K _{OW}	2,81 (k. w. A.); 1,729 (35 °C, pH 5,6); 2,61 (Raumtemp., pH > 7) (ECHA 2020)
Löslichkeit bei 25 °C	0,455 g/l Wasser (ECHA 2020)
1 ml/m³ (ppm) ≙ 5,61 mg/m³	1 mg/m³ ≙ 0,178 ml/m³ (ppm)

Hinweis: Der Stoff kann gleichzeitig als Dampf und Aerosol vorliegen.

N,N-Dimethyl-p-toluidin findet Verwendung als Initiator und Beschleuniger bei Polymerisationsmaterial im dentalen Bereich oder bei Knochenzement. Es wird zur Vernetzung bei Methylmethacrylaten eingesetzt. Zudem ist es ein Bestandteil von Klebstoff und künstlichen Fingernägeln und tritt als Zwischenprodukt bei der Herstellung von Farbstoffen und Pestiziden auf (IARC 2018).

Dentale Kunstharze enthalten 0,2–1,5 Gew.-% Initiatoren relativ zum Monomer. Das durch Licht aktivierte Campherchinon zersetzt sich und bildet ein Radikal, das durch N,N-Dimethyl-p-toluidin stabilisiert wird. Mithilfe dieser Initiatoren wird die Polymerisationsreaktion gestartet (Masuki et al. 2007; Noda et al. 2007).

N,N-Dimethyl-p-toluidin ist in allen kommerziell verwendeten Knochenzementen in Konzentrationen von 0,7–2,6 % vorhanden (NTP 1999).

Es werden 100–1000 t N,N-Dimethyl-p-toluidin pro Jahr in der EU produziert oder in diese eingeführt. N,N-Dimethyl-p-toluidin ist vom Registranten nicht als kanzerogen eingestuft („data conclusive but not sufficient for classification“) (ECHA 2020). Vom Committee for Risk Assessment wurde die Klassifizierung Carc 1 B festgesetzt (RAC 2021).

Eine Schätzung von NIOSH ergab, dass etwa 67720 Beschäftigte in den USA potentiell gegen N,N-Dimethyl-p-toluidin exponiert sind (NCBI 2020).

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

N,N-Dimethyl-p-toluidin zeigt eine kanzerogene Wirkung nach zweijähriger Schlundsondengabe an Ratten und Mäuse. Neben Lebertumoren bei beiden Spezies sind im Übergangsepithel der Nase von männlichen Ratten und in der Lunge und dem Vormagen weiblicher Ratten Adenome und Karzinome aufgetreten.

Bereits nach fünf Tagen treten im Übergangsepithel der Nase bei männlichen Ratten nach oraler Verabreichung von 60 mg/kg KG und Tag Hyperplasien auf. Erhöhte Methämoglobin-Werte, Effekte in der Milz, Leber und Niere werden bei den Ratten nach zweijähriger Schlundsondengabe ab 6 mg/kg KG und Tag beobachtet, während Mäuse bei dieser Dosis Lebereffekte und nur die weiblichen Mäuse Hyperplasien und Metaplasien in der Nase zeigen.

N,N-Dimethyl-p-toluidin wirkt beim Kaninchen reizend an Haut und Augen.

In vitro werden in Säugerzellen aneugene, klastogene und mutagene Wirkungen beobachtet. Erhöhte DNA-Strangbruchraten in der Leber treten nach oraler N,N-Dimethyl-p-toluidin-Gabe an Ratten und nach intraperitonealer Gabe an Mäuse auf.

Es liegen nur wenige positive Befunde zur kontaktsensibilisierenden Wirkung von N,N-Dimethyl-p-toluidin beim Menschen vor. Zur atemwegssensibilisierenden Wirkung sind keine Befunde vorhanden.

Zur fruchtschädigenden Wirkung gibt es keine ausreichenden Daten.

2 Wirkungsmechanismus

N,N-Dimethyl-p-toluidin zeigt eine für aromatische Aminoverbindungen typische toxische Wirkung mit Methämoglobin-Bildung, einer schwachen Genotoxizität und dem Auftreten von Lebertumoren.

2.1 Methämoglobin-Bildung

Methämoglobin-Bildung ist ein früh eintretendes Ereignis nach N,N-Dimethyl-p-toluidin-Gabe und viele weitere Wirkungen, wie Anämie oder Milzeffekte, treten als Folge der Methämoglobin-Bildung auf.

Die versehentliche Aufnahme von N,N-Dimethyl-p-toluidin führte bei Kindern zu Methämoglobin-Bildung ([Abschnitt 4.1](#)). Die oxidative Wirkung wird dabei auf den mutmaßlichen Metaboliten p-Methylphenylhydroxylamin zurückgeführt (Dunnick et al. 2014). Bei Ratten traten in einer Schlundsondenstudie bereits ab der niedrigsten Dosis von 6 mg/kg KG und Tag statistisch signifikant erhöhte Methämoglobin-Werte nach 86 Tagen auf. Mäuse zeigten erst bei einer dreimonatigen Gabe von 30 mg/kg KG und Tag einen Methämoglobin-Anstieg. Dies ist auf die stärkere Entgiftung durch die höhere Methämoglobin-Reduktase-Aktivität dieser Spezies zurückzuführen ([Abschnitt 5.2.2](#); NTP 2012).

Der Oxidationsmetabolit Phenylhydroxylamin des N,N-Dimethylanilins ist einer der potentesten Methämoglobin-Bildner (Kao et al. 1997). Auch bei Anilin ist der Metabolit Phenylhydroxylamin verantwortlich für die Methämoglobin-Bildung (Greim 2007). Beim N,N-Dimethyl-p-toluidin wäre der entsprechende Metabolit das p-Methylphenylhydroxylamin. Daher ist davon auszugehen, dass die Metabolisierung des N,N-Dimethyl-p-toluidins über p-Methylphenylhydroxylamin als reaktive Zwischenverbindung verläuft, obwohl es im Urin nicht detektiert werden konnte (IARC 2018; Kim et al. 2007).

Bei In-vitro-Versuchen mit 0,1 mM N,N-Dimethyl-p-toluidin oder seinen Metaboliten p-Methylnitrosobenzol und p-Methylphenylhydroxylamin trat an isolierten Erythrozyten nach einer Stunde nur bei den Metaboliten eine Methämoglobin-Bildung von 38,2 % bzw. 55,9 % auf. Auch Anilin zeigte unter diesen Bedingungen keine Methämoglobin-Bildung und seine Metaboliten Nitrosobenzol mit 13,7 % und Phenylhydroxylamin mit 48,4 % etwas niedrigere Werte als die entsprechenden N,N-Dimethyl-p-toluidin-Metaboliten (Potter et al. 1988).

2.2 Reaktive Sauerstoffspezies (ROS)

Die bei Ratten beobachtete makrozytische, hypochrome und regenerative Anämie nach oraler N,N-Dimethyl-p-toluidin-Gabe wird durch oxidativen Stress erklärt, der das Hämoglobin schädigt. Durch die verstärkte Methämoglobin-Bildung entstehen irreversible Hämichrome, die in Form von Heinz-Innenkörperchen präzipitieren. Dadurch kommt es zu einer verminderten Deformierbarkeit der Erythrozyten, einem erhöhten Abbau der geschädigten Erythrozyten in der Milz und damit zu einer Abnahme von Erythrozyten. Die geschädigten Erythrozyten setzen redoxaktives Eisen frei, das dann wiederum über verschiedene Prozesse zur Zunahme von ROS-Bildung führen kann. Dieser Mechanismus ist für Anilin und Nitroaromaten bereits bekannt. In Mäusen ist der Effekt aufgrund der höheren Methämoglobin-Reduktase-Aktivität oder einer geringeren Metabolisierungsrate nicht so stark ausgeprägt (Dunnick et al. 2014; Greim 2007).

In der humanen oralen Keratinozytenzelllinie OKF6/TERT2 wurden nach Inkubation mit 1 oder 2 mmol N,N-Dimethyl-p-toluidin mithilfe des oxidationssensitiven Farbstoffes 2,7-Dichlorfluoresceindiacetat statistisch signifikant erhöhte ROS gemessen. Die Zugabe von 5 mM Glutathion (GSH) reduzierte die Menge an ROS deutlich (Volk et al. 2014).

Mithilfe des oxidationssensitiven Farbstoffes 2,7-Dichlorfluorescein konnten ROS in der humanen Darmzelllinie Caco-2 nach Inkubation mit 1 oder 2 mM N,N-Dimethyl-p-toluidin gezeigt werden. Der Anstieg an ROS nach N,N-Dimethyl-p-toluidin-Zugabe war im Vergleich zur Kontrolle gering, aber nicht statistisch signifikant erhöht (Wessels et al. 2015).

Nach N,N-Dimethyl-p-toluidin-Gabe waren Transkripte des Nrf2-Signalweges im Übergangsepithel der Nase hochreguliert. Der Transkriptionsfaktor Nrf2 bewirkt nach Bindung an ARE („antioxidative responsive element“) die Transkription verschiedener antioxidativ wirksamer Enzyme und gilt als Sensor für oxidativen Stress, da ROS den Nrf2-Signalweg induzieren können. Zudem traten nach fünftägiger Schlundsondengabe von 60 mg/kg KG an Ratten bereits Effekte in der Nase, aber noch kein Anstieg an Methämoglobin auf. Dies wird von den Autoren durch einen niedrigen Gehalt an antioxidativ wirksamen Mukosubstanzen in der Nasenhöhle erklärt, der sie empfindlich gegenüber einer N,N-Dimethyl-p-toluidin-induzierten oxidativen Schädigung macht (siehe Abschnitt 5.2.2; Dunnick et al. 2014). Da N,N-Dimethyl-p-toluidin systemisch über das Blut wirkt, ist ungeklärt, ob es den Mukus erreicht. Zudem sind im Übergangsepithel keine intraepithelialen Mukosubstanzen vorhanden (Harkema et al. 2006). Die Erklärung der Autoren, dass der niedrige Gehalt an antioxidativ wirksamen Mukosubstanzen im Übergangsepithel für die bereits nach fünf Tagen aufgetretenen Effekte verantwortlich ist, trifft daher nicht zu.

Das Verhältnis GSH/Glutathiondisulfid (GSSG) sowie die absoluten Gehalte an GSH und GSSG wurden durch 1 mM N,N-Dimethyl-p-toluidin in isolierten Monozyten nur geringfügig verändert. Damit zeigte N,N-Dimethyl-p-toluidin keinen Einfluss auf die GSH-Redox-Balance in Monozyten. Bei 1 mM N,N-Dimethyl-p-toluidin begann in vitro eine statistisch signifikante Succinatdehydrogenase-Hemmung, die sich konzentrationsabhängig steigerte (Noda et al. 2007). N,N-Dimethyl-p-toluidin wird vermutlich in Monozyten nicht metabolisch aktiviert, so dass hier auch keine Reaktion zu erwarten war.

2.3 Genotoxizität

Trotz aneugener und klastogener Wirkungen in einigen In-vitro-Genotoxizitätstests und einem positiven TK^{+/-}-Test, in dem die mutagene Wirkung aber möglicherweise auf Chromosomenaberrationen basierte, zeigte N,N-Dimethyl-p-toluidin auch nach metabolischer Aktivierung keine Mutagenität im bakteriellen Salmonella-typhimurium-Test. Die negativen Ergebnisse im Salmonella-typhimurium-Test könnten auf die hohe Reaktivität der Metaboliten zurückgeführt werden, die vor Erreichen der DNA abreagiert sind. Ein Test mit E. coli WP2 uvrA pKM101, welcher nach

OECD-Prüfrichtlinie 471 als Indikator für eine genotoxische Wirkung über ROS empfohlen wird, verlief negativ ([Abschnitt 5.6.1](#)).

Strukturanaloge Verbindungen, wie o- und p-Toluidin, zeigten auch keine deutliche Mutagenität im Salmonella-typhimurium-Test. Die von o- und p-Toluidin abgeleiteten Hydroxylamine und Nitrosometaboliten sind jedoch in diesem Testsystem positiv. Daraus wird geschlossen, dass das mutagene Potential dieser Verbindungen nur entsteht, wenn die N-Hydroxylierung und eine anschließende O-Acetylierung zu einer ausreichenden Menge an Metaboliten führt (Gupta et al. 1987; Neumann 2003).

Aufgrund der beobachteten Methämoglobin-Bildung ist das Auftreten der reaktiven Zwischenverbindung p-Methylphenylhydroxylamin wahrscheinlich. Diese kann zu einem reaktiven Chinoniminmethid weiterreagieren, das als Elektrophil DNA-Addukte bilden kann ([Abschnitt 3.2](#); IARC 2018; Stepan et al. 2011).

In situ erzeugte N-Acyloxyarylamine (aus Methyl-, Dimethyl- und Ethylanilinen) reagierten mit dG-Nukleotiden und ergaben ein Arylamin-C8-dG-Addukt (siehe [Abbildung 1](#)). Die DNA-Addukte wurden mithilfe der FAB-Massenspektrometrie, UV-Spektrometrie und H-NMR charakterisiert (Marques et al. 1997).

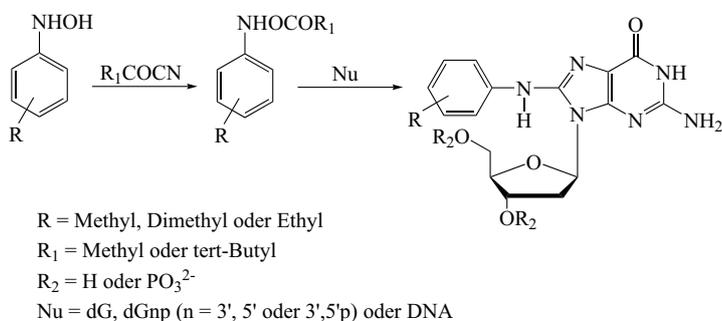


Abb. 1 Synthese von Arylamin-DNA-Addukten (nach Marques et al. 1997)

Aufgrund der ähnlichen Struktur von N,N-Dimethyl-p-toluidin und N-Acyloxyarylaminen kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Aufnahme von N,N-Dimethyl-p-toluidin zu Metaboliten führt, die eine DNA-Addukt-Bildung bewirken können, welche wiederum für eine genotoxische Wirkung verantwortlich ist.

2.4 Kanzerogenität

Den bei Ratten in der 2-Jahre-Schlundsondenstudie beobachteten Leberkarzinomen in der 60-mg/kg-Gruppe gehen Effekte in der Leber voraus, die bereits bei niedrigeren Dosen auftreten. Die nach Gabe von 6 oder 20 mg/kg KG und Tag beobachteten Anstiege an eosinophilen Foci, Hyperplasien, Hypertrophien und Fibrosen in der Leber sind prä-neoplastische Vorstufen ([Abschnitt 5.7](#); NTP 2012).

In der Leber wurden in einer Transkriptomanalyse charakteristische Gentranskriptionsmuster einer Zellantwort auf oxidative Schäden und Leberschädigungen nach fünftägiger oraler N,N-Dimethyl-p-toluidin-Gabe gefunden (Dunnick et al. 2017).

Die Übergangsepithelzellen der Nase wiesen nach fünftägiger oraler Gabe von N,N-Dimethyl-p-toluidin an Ratten ein charakteristisches Gentranskriptionsmuster auf, das für die Zellantwort auf oxidative Schäden, vermehrte Zellproliferation und Abnahme der Apoptosesignale steht (Dunnick et al. 2016).

In der Lunge von Mäusen wurden in der 2-Jahre-Schlundsondenstudie Hyperplasien, aber auch bereits statistisch signifikant erhöht Adenome, beobachtet. Die im nasalen Epithel aufgetretenen Degenerationen, Hyperplasien und Metaplasien bis hin zu Adenomen und Karzinomen wurden auch nach oraler Gabe von Nitroaromaten und Acetaminophen beobachtet. Dies wird auf eine durch Cytochrom-P450 2E1, 2A5 und 2G1 vermittelte metabolische Akti-

vierung im nasalen Epithel zurückgeführt (Genter et al. 1998; NTP 2012). Eine stärkere kanzerogene Wirkung in der Lunge ist nach inhalativer Exposition, aufgrund der reizenden Wirkung von N,N-Dimethyl-p-toluidin, zu erwarten.

Im Vormagen trat bei den weiblichen Mäusen eine erhöhte Inzidenz an Plattenepithel-Papillomen ab der niedrigsten Dosis von 6 mg/kg KG auf. Diese Papillome werden von den Autoren auf die Verabreichung per Schlundsonde zurückgeführt. Da die Tiere der Vehikelkontrollgruppe Maiskeimöl auch per Schlundsonde erhielten, jedoch nur bei einem Tier ein Vormagenpapillom auftrat, sind die Papillome wahrscheinlich eher auf eine Reizwirkung der Substanz mit einer lokal sehr hohen Konzentration direkt nach der Gabe zurückzuführen und nicht durch mechanische Verletzungen begründet (Abschnitt 5.3.1, 5.3.2; NTP 2012). Papillome im Vormagen von Nagern werden als nicht humanrelevant bewertet, wenn sie als isolierter Effekt auftreten. Sie können jedoch als zusätzlicher Beleg für eine kanzerogene Wirkung gewertet werden, wenn in weiteren Organen Tumoren beobachtet wurden (Laube et al. 2019).

Da Mäuse nach oraler N,N-Dimethyl-p-toluidin-Gabe neoplastische Veränderungen in der Lunge und Leber zeigten, kann die kanzerogene Wirkung von N,N-Dimethyl-p-toluidin nicht ausschließlich auf eine ROS-Bildung zurückgeführt werden, die nach Methämoglobin-Bildung durch geschädigte Erythrozyten in der Milz von Ratten als kanzerogener Effekt des Anilins identifiziert wurde (Greim 2007). Obwohl bei Mäusen eine höhere Methämoglobin-Reduktase-Aktivität vorliegt und deshalb weniger ROS entstehen, traten in der Kanzerogenitätsstudie im Vergleich zu den Ratten bei niedrigeren Dosen Adenome und Karzinome auf. Auch dies weist neben einer oxidativen Schädigung auf einen weiteren Mechanismus der Tumorentstehung hin.

3 Toxikokinetik und Metabolismus

3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

Nach der Verabreichung einer einmaligen oralen Dosis von 2,5; 25 oder 250 mg ¹⁴C-markiertem N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG (Emulsion in 10 % wässrigem Rizinusölethoxylat) an je vier männliche F344-Ratten pro Dosisgruppe wurden innerhalb von 24 Stunden mit dem Urin 90,8 %; 87,7 % bzw. 69,6 % und mit den Faeces 3,4 %; 9,3 % bzw. 1,8 % der applizierten Radioaktivität ausgeschieden. Nur unwesentliche Mengen wurden als CO₂ und < 1 % als organische Verbindungen abgeatmet. Im Körper inklusive des Gastrointestinaltraktes fanden sich 24 Stunden nach Gabe von 2,5 oder 25 mg/kg KG 4,2 % der applizierten Radioaktivität. Die orale Gabe von 250 mg/kg KG führte jedoch zu einer Wiederfindung von 18,3 % im Körper, davon allein 12,3 % im Gastrointestinaltrakt, was auf eine unvollständige Resorption nach 24 Stunden hinweist. Nach oraler Gabe von 25 mg/kg KG zeigten männliche und weibliche F344-Ratten eine ähnliche Aufnahme und Ausscheidung. Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung nach intravenöser Gabe oder nach oraler Gabe von ¹⁴C-markiertem N,N-Dimethyl-p-toluidin in Maiskeimöl an männliche Ratten unterschieden sich nicht. Die Wiederfindung der Radioaktivität betrug in den Dosisgruppen 2,5 und 25 mg/kg KG ca. 100 % und in der hohen Dosisgruppe ca. 90 %. Die Verteilungskoeffizienten Gewebe:Blut betrug 24 Stunden nach der 2,5-mg/kg-Gabe > 5 für Leber und Niere. Der Harnblase:Blut-Koeffizient lag nach Gabe von 250 mg/kg KG in wässriger Lösung mit ca. 15 sehr hoch. Männliche B6C3F1-Mäuse zeigten eine ähnliche Ausscheidung nach Applikation von 2,5 oder 25 mg/kg KG wie die Ratten. Jedoch waren die Mäuse nach Gabe von 250 mg/kg KG nach 24 Stunden moribund mit Nierenschäden, Ödemen in der Lunge und Veränderungen des Gastrointestinaltraktes. Von der Gesamtradioaktivität befanden sich 21,9 % im Gastrointestinaltrakt und ca. 10 % im restlichen Körper. Bei dieser hohen Dosis wurden 23,8 % der Radioaktivität mit dem Urin und 8,0 % mit den Faeces ausgeschieden. In Harnblase und Niere waren die Konzentrationen 100fach so hoch wie bei 25 mg/kg KG, und damit überproportional höher. Die Wiederfindung der Radioaktivität betrug bei den Mäusen in den Dosisgruppen 2,5 und 25 mg/kg KG 85–100 % und in der hohen Dosisgruppe 65 %. Die Gabe von 25 mg/kg KG an Mäuse führte zu Gewebe:Blut-Verteilungskoeffizienten von > 5 bei der Leber, ca. 5 bei der Niere, 8 bei der Harnblase, 11 bei der Lunge und 7 beim Fettgewebe (Dix et al. 2007). Die akute Toxizität der Substanz beeinträchtigte die erhaltenen Daten nach Schlundsondengabe von 250 mg/kg KG an Ratten, da hier bereits Futter- und Wasseraufnahme reduziert waren.

Erkenntnisse zur dermalen Resorption von N,N-Dimethyl-p-toluidin liegen nicht vor. Das IH SkinPerm-Modell nach Tibaldi et al. (2014) berechnet für eine einstündige Exposition von 2000 cm² Hautfläche gegen eine gesättigte wässrige Lösung des Stoffes eine Gesamtaufnahme von 33 mg. Eine Abschätzung nach Fiserova-Bergerova et al. (1990) ergibt eine erheblich höhere Resorption von 481 mg. Strukturell verwandte aromatische Amine, die aufgrund ihrer systemischen Toxizität mit „H“ markiert wurden, werden nach Modellrechnungen in einer ähnlichen Größenordnung resorbiert (2,4-Xylidin: 65 mg nach IH SkinPerm, 706 mg nach Fiserova-Bergerova et al. (1990); p-Toluidin: 75 mg nach IH SkinPerm, 683 mg nach Fiserova-Bergerova et al. (1990)). Demnach ist eine relevante transdermale Resorbierbarkeit des N,N-Dimethyl-p-toluidins zu erwarten.

3.2 Metabolismus

Nach Gabe einer einzelnen oralen Dosis von 2,5–250 mg ¹⁴C-N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG (in 10%igem wässrigem Rizinusölethoxylat) an männliche F344-Ratten wurden die Metaboliten im Urin mittels HPLC aufgetrennt. Es wurden neben der Ausgangssubstanz als Hauptmetabolit p-(N-Acetylhydroxyamino)hippursäure und als weitere Metaboliten N-Methyl-p-toluidin und N,N-Dimethyl-p-toluidin-N-oxid identifiziert. Das daraus abgeleitete Metabolismusschema wird in [Abbildung 2](#) gezeigt. Der für die Methämoglobin-Bildung verantwortliche Metabolit p-Methylphenylhydroxylamin konnte im Urin männlicher Ratten nicht identifiziert werden. Der Hauptmetabolit p-(N-Acetylhydroxyamino)hippursäure ist jedoch das Glycin-Konjugat des N-Acetyl-p-methylphenylhydroxylamins. Es ist daher anzunehmen, dass p-Methylphenylhydroxylamin in vivo als reaktives Zwischenprodukt aus N,N-Dimethyl-p-toluidin gebildet wird ([Abschnitt 2](#); IARC 2018; Kim et al. 2007).

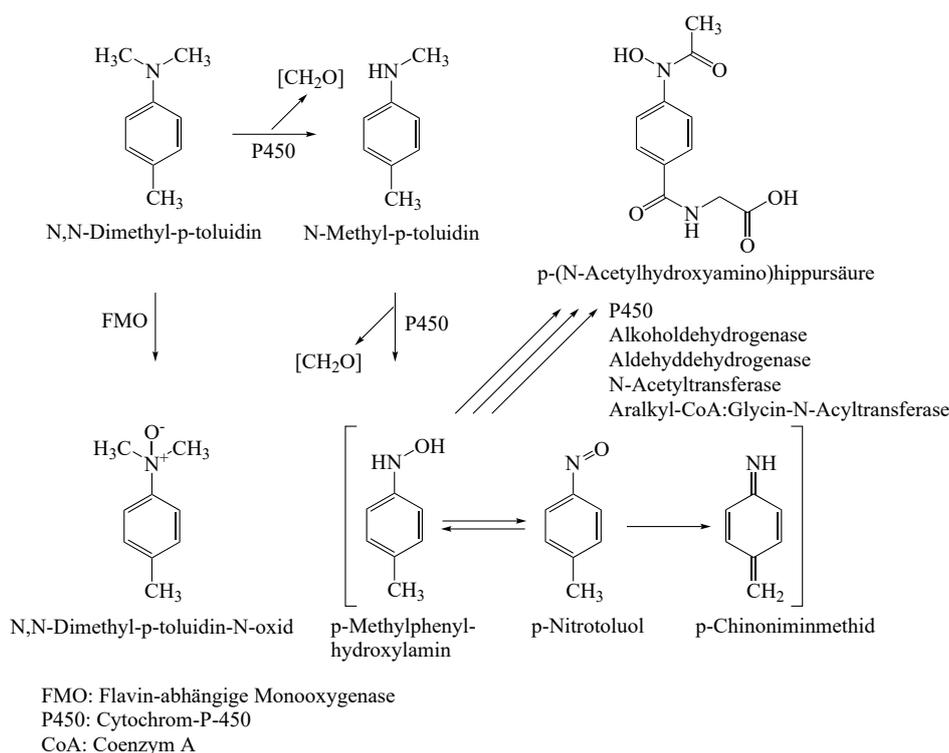


Abb. 2 Erweitertes Metabolismusschema des N,N-Dimethyl-p-toluidins (nach IARC 2018)

Vergleichende Versuche mit humanen und tierischen Lebermikrosomen zeigten bei der analogen Verbindung Dimethylanilin, dass beim Menschen der N-Oxidierung die größere Bedeutung zukommt, während in tierischen Mikrosomen die N-Demethylierung im Vordergrund steht. Die Bildung des N-Oxid-Metaboliten in der Rattenleber wurde durch eine Flavin-Monoxygenase und nicht durch Cytochrom-P450 katalysiert (Henschler 1990).

Die N-De-methylierung und die N-Oxidation sind Cytochrom-P450 vermittelte Metabolisierungswege des N,N-Dimethyl-p-toluidins, wobei die Dealkylierung deutlich favorisiert wird. Eine durch Cytochrom-P450 2B1 katalysierte Dealkylierung ([Abbildung 2](#)) von N,N-Dimethyl-p-toluidin erfolgte in vitro mit $39,8 \pm 3,1$ nmol/min/nmol Cytochrom-P450 deutlich schneller als die Oxidation am Stickstoff mit $0,097 \pm 0,017$ nmol/min/nmol Cytochrom-P450; das Verhältnis betrug 400:1 (Seto und Guengerich 1993). Die N-Oxidation des N,N-Dimethyl-p-toluidins wird daher eher durch die Flavin-Monooxygenase katalysiert (Kim et al. 2007; Seto und Guengerich 1993).

Die reaktive Hydroxylamin-Zwischenverbindung kann weiter zu einem Arylamin umgesetzt werden, das verantwortlich für eine DNA-Addukt-Bildung sein könnte ([Abschnitt 2.3](#)).

4 Erfahrungen beim Menschen

4.1 Einmalige Exposition

Eine versehentliche Aufnahme von ca. 30 ml eines Klebers für künstliche Fingernägel, der eine unbekannte Menge N,N-Dimethyl-p-toluidin enthielt, führte bei einem fünf Monate alten Jungen nach einer Stunde zu einem Methämoglobin-Gehalt von 11 %. Nach Gabe von Methylenblau und Sauerstoff erholte sich das Kind (IARC 2018; Kao et al. 1997).

Ein 16 Monate altes Mädchen nahm 15 ml eines Fingernagelklebers, der N,N-Dimethyl-p-toluidin enthielt (80 % Aceton, 20 % Ethylmethacrylat-Monomer (98 % mit einem 2%igen Gehalt an N,N-Dimethyl-p-toluidin = 60 mg)) auf. Sie entwickelte nach zweieinhalb Stunden eine Zyanose mit einem 43%igen Methämoglobin-Gehalt. Nach Gabe von Methylenblau (1 mg/kg KG) erholte sich das Kind (Potter et al. 1988). Vermutlich ist die Berechnung der von den Autoren angegebenen Dosis von 6 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG falsch.

4.2 Wiederholte Exposition

Hierzu liegen keine Daten vor.

4.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Hierzu liegen keine Daten vor.

4.4 Allergene Wirkung

4.4.1 Hautsensibilisierende Wirkung

Erfahrungen zur sensibilisierenden Wirkung von N,N-Dimethyl-p-toluidin liegen vor allem hinsichtlich der Verwendung als Polymerisationsbeschleuniger für Dental- und Knochenprothesen aus Acrylat- oder Methacrylat-haltigen Materialien vor. Die berufliche Exposition gegen N,N-Dimethyl-p-toluidin, z. B. als Bestandteil derartiger (Meth-)Acrylat-Zubereitungen, wird nur in sehr wenigen Berichten als Ursache eines allergischen Kontaktekzems vermutet. Der überwiegende Teil positiver Epikutantestreaktionen steht im Zusammenhang mit Unverträglichkeitsreaktionen auf (Dental-)Implantate ([Tabelle 1](#)).

Eine kommerziell verfügbare 2%ige Zubereitung von N,N-Dimethyl-p-toluidin in Vaseline ist beispielsweise Bestandteil der DKG-Testreihe „Knochenzementbestandteile“. Für diese Testzubereitung ergaben sich aus der Testung von 9238 Patienten im Informationsverbund Dermatologischer Kliniken (IVDK) ein Reaktionsindex (definiert als der Quotient: $(a-d-i) / (a+d+i)$; mit: a = Anzahl allergischer Reaktionen, d = Anzahl fraglicher Reaktionen, i = Anzahl irritativer Reaktionen (Brasch und Henseler 1992)) von $-0,73$ und ein Positivity Ratio (definiert als der Prozentsatz einfach positiver Reaktionen an der Gesamtheit der positiven Reaktionen (Geier et al. 2003)) von 100 % (IVDK 2017). Daher ist die

Testung mit dieser Zubereitung als problematisch anzusehen, und einfach positive Reaktionen sind möglicherweise auch als falsch positiv zu interpretieren.

In mehreren Untersuchungen aus anderen europäischen sowie aus nichteuropäischen Ländern wurden hingegen auch 5%ige Zubereitungen eingesetzt (Tabelle 1). In den Jahren von 1987 bis 1990 und 1991 bis 1994 wurden in der Hautklinik der Universität von Helsinki insgesamt 479 Patienten mit Symptomen an der Mundschleimhaut im Epikutantest mit Komponenten von Dentalmaterialien getestet. Hierbei wurde im ersten Zeitraum auch eine 5%ige Zubereitung von N,N-Dimethyl-p-toluidin in Vaseline eingesetzt, wobei keine positiven Reaktionen festgestellt wurden. Es ist jedoch nicht ersichtlich, wie viele der Patienten mit dieser Zubereitung getestet wurden. Angaben zu eventuellen fraglichen oder irritativen Reaktionen fehlen ebenfalls (Alanko et al. 1996).

In einer Übersicht der im Finnish Register of Occupational Diseases zwischen 2005 und 2016 dokumentierten Befunde bei Beschäftigten des Gesundheitswesens wird ohne nähere Angaben über einen Fall von Kontaktdermatitis durch N,N-Dimethyl-p-toluidin bei 67 untersuchten Beschäftigten aus dem Krankenpflegebereich berichtet. Bei den weiteren 197 untersuchten Beschäftigten aus dem medizinischen Bereich (davon 69 aus dem zahnmedizinischen Bereich) wurde offenbar keine Reaktion beobachtet (Aalto-Korte et al. 2021).

Tab. 1 Berichte über Epikutantestreaktionen auf N,N-Dimethyl-p-toluidin bei Patienten mit Verdacht auf Kontaktallergie

getestete Personen	Testsubstanz, Konzentration (Vehikel)	Ergebnis	Kontakt / Bemerkungen	Literatur
Fallberichte				
60-jähriger Tischler mit vorzeitiger Lockerung einer Hüftprothese	n. a.	positiv (palpables Erythem nach 48 und 96 h)	keine Hauterscheinungen bei beruflicher Exposition gegen zahlreiche Kleber	Haddad et al. 1995
ein Beschäftigter aus dem zahnmedizinischen Bereich	2% (Vaseline)	positiv (k. w. A.)	Patient mit Dermatitis 4 Wochen nach Beginn der Exposition gegen Dentalmaterialien	Rai et al. 2014
ein Student der Zahnmedizin mit vesikulo-bullösen Veränderungen an den Fingerkuppen	n. a.	positiv (k. w. A.)	auch positive Reaktion auf eine von dem Studenten verarbeitete Monomer-Flüssigkeit (k. w. A.)	Santosh et al. 1999
62-jährige Hausfrau mit diffuser Rötung und Missempfindung an der Mundschleimhaut nach Einsatz einer neuen Zahnprothese	1% (Vaseline)	1+ und 2+ (nach 48 bzw. 72 h)	Abheilung der Veränderungen nachdem die Prothese nicht länger getragen wurde	Tosti et al. 1990
79-jährige Frau mit Missempfindung (Schmerz, Brennen) an der Zunge einige Monate nach Einsatz einer neuen Zahnprothese	5% (Vaseline)	2+ (nach 48 und 72 h)	auch 2+-Reaktion auf Geschabsel der Prothese; bei 139 weiteren getesteten Patienten (k. w. A.) keine Reaktion auf 5% N,N-Dimethyl-p-toluidin; Abheilung der Veränderungen nach Prothesen-Karenz	Verschueren und Bruynzeel 1991
Ergebnisse von Epikutantests an größeren Kollektiven				
22 Patienten mit „burning mouth syndrome“	5% (Vaseline)	3 von 22 positiv (k. w. A.)	Testzeitraum n. a.; 20 der 22 Patienten mit vollständiger oder partieller Zahnprothese	Dutrée-Meulenberg et al. 1992
38 Patienten mit Endoprothesen-Unverträglichkeit	n. a.	0 von 38 positiv	Testzeitraum n. a.	Eben et al. 2010
725 Patienten	2% (Vaseline)	1 von 725 positiv (k. w. A.)	Testzeitraum: 8/1992 bis 7/1994; außerdem 10 × fragliche und 1 × irritative Reaktion; Kollektivüberschneidung mit Richter und Geier (1996)	Gebhardt und Geier 1996
40 Zahntechniker	2% (Vaseline)	0 von 40 positiv	Testzeitraum: 1/1990 bis 7/1993	Gebhardt et al. 1996

Tab.1 (Fortsetzung)

getestete Personen	Testsubstanz, Konzentration (Vehikel)	Ergebnis	Kontakt / Bemerkungen	Literatur
66 Patienten mit geplante Hüftprotheseneinsatz, 14 Patienten mit stabiler Hüftprothese und 50 Patienten mit Hüftprothesen-Lockerung	2% (Vaseline)	1 von 66, 0 von 14 und 2 von 50 positiv (k. w. A.)	Testzeitraum: 1/2001 bis 5/2004	Granchi et al. 2006
15 Patienten mit vorzeitiger Lockerung einer Hüftprothese, 55 Patienten mit Hüftgelenkersatz	0,5% (n. a.)	7 von 15, 0 von 55 positiv (k. w. A.)	Testzeitraum n. a.	Haddad et al. 1996
53 Beschäftigte aus dem zahnmedizinischen Bereich mit anamnestischen Hinweisen auf Dermatitis der Hände	2% (Vaseline)	1 von 53 positiv (1+, nach 96 h)	Reaktion bei einer 42-jährigen Kieferorthopädin; keine Angabe zur Relevanz der Reaktion	Hill et al. 1998
43 Patienten	2% (Vaseline)	1 von 43 positiv (k. w. A.)	Testzeitraum: 1981 bis 1988; Reaktion wurde nicht als relevant erachtet; Testung mit Bestandteilen von Kunststoffen und Klebern	Holness und Nethercott 1997
9238 Patienten	2% (Vaseline)	9 von 9238 positiv (1+ nach 72 h)	Testzeitraum: 1997 bis 2016; außerdem 46 × fragile und 11 × irritative Reaktionen; bei den 9 Patienten durchschnittlich 6 positive Reaktionen auf verschiedene Allergene	IVDK 2017
53 Patienten mit „burning mouth syndrome“ und Zahnprothesen	30% (Olivenöl)	1 von 53 positiv (2+ nach 48 oder 72 h)	positive Reaktion bei 1 Patient mit vollständiger Oberkiefer-Zahnprothese; keine Reaktion auf die Testzubereitung bei 20 Kontrollpersonen	Kaaber et al. 1979
143 Patienten	5% (Vaseline)	0 von 143 positiv	Testung über einen Zeitraum von 3 Jahren mit Bestandteilen von Kunststoffen und Klebern; mglw. Kollektivüberschneidung mit Kanerva et al. (1999)	Kanerva et al. 1997
309 Patienten	5% (Vaseline)	0 von 309 positiv	Testzeitraum: 1991 bis 1996; Testung mit Bestandteilen von Kunststoffen und Klebern; außerdem 1 × irritative Reaktion; mglw. Kollektivüberschneidung mit Kanerva et al. (1997)	Kanerva et al. 1999
79 Zahnmediziner und 46 zahnmedizinische Assistenten	5% (Vaseline)	0 von 125 positiv	Testzeitraum: 1990 bis 2000	Kiec-Swierczyńska und Krecisz 2002
150 Zahntechniker in der Ausbildung	5% (Vaseline)	9 von 150 positiv (k. w. A.)	bei 37 und 22 Getesteten positive Reaktion auf 2% Formaldehyd bzw. 5% N,N-Bis(2-hydroxyethyl)-p-toluidin (jeweils in Vaseline)	Lyapina et al. 2019
756 Patienten	2% (Vaseline)	1 von 756 positiv (k. w. A.)	Testzeitraum: 1/1990 bis 7/1993; Kollektivüberschneidung mit Gebhardt und Geier (1996)	Richter und Geier 1996
35 Zahntechniker mit beruflich bedingter Dermatitis der Hände	2% (Vaseline)	1 von 35 positiv (k. w. A.)	Testzeitraum: 2/1993 bis 6/1994; positive Reaktion bei 1 von insgesamt 55 getesteten Beschäftigten; Relevanz unklar	Rustemeyer und Frosch 1996
33 Patienten mit lichenoiden Veränderungen der Mundschleimhaut	2% (Vaseline)	1 von 33 positiv (k. w. A.)	Testzeitraum: 2009 bis 2012	Şahin et al. 2016
30 Patienten mit Veränderungen an der Mundschleimhaut oder den Lippen	n. a.	0 von 30 positiv	Testzeitraum 1/1990 bis 7/1998	Santosh et al. 1999
444 Patienten	5% (Vaseline)	0 von 444	Testzeitraum: 2002 bis 2007; bei 1,6% der Patienten irritative Reaktion; Testung mit Bestandteilen von Kunststoffen und Klebern	Shmidt et al. 2010

Tab.1 (Fortsetzung)

getestete Personen	Testsubstanz, Konzentration (Vehikel)	Ergebnis	Kontakt / Bemerkungen	Literatur
115 Patienten mit lichenoiden Veränderungen der Mundschleimhaut	2% (Vaseline)	2 von 115 positiv (k. w. A.)	Testzeitraum: 11/2007 bis 6/2014	Suter und Warnakulasuriya 2016
113 Patienten mit Endoprothesen-Unverträglichkeit	2% (Vaseline)	0 von 113 positiv	Testzeitraum n. a.	Thomas et al. 2008
250 Patienten mit Verdacht auf Allergie gegen Knochen-Implantate	2% (Vaseline)	0 von 250 positiv	Testzeitraum: 8/2010 bis 9/2013	Thomas et al. 2015

k. w. A.: keine weiteren Angaben; mglw.: möglicherweise; n. a.: nicht angegeben

4.4.2 Atemwegssensibilisierende Wirkung

Hierzu liegen keine Daten vor.

4.5 Reproduktionstoxizität

Hierzu liegen keine Daten vor.

4.6 Genotoxizität

Hierzu liegen keine Daten vor.

4.7 Kanzerogenität

Hierzu liegen keine Daten vor.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

5.1.1 Inhalative Aufnahme

Nach vierstündiger Exposition gegen 0, 300, 999, 1730 oder 5270 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/m³ als Aerosole mit MMAD von 0,23–0,57 µm wurden bei je fünf männlichen und weiblichen Sprague-Dawley-Ratten bereits bei 300 mg/m³ rot verkrustete Nasen und Nasenausfluss beobachtet. Alle Tiere der höchsten Konzentrationsgruppe verendeten sowie 60 % der gegen 1730 mg/m³ exponierten Tiere. Aus den Daten wurde eine LC₅₀ von 1400 mg/m³ kalkuliert. Bei den Tieren, die gegen 1730 mg/m³ exponiert waren, traten Hypoaktivität, Bewusstlosigkeit, Dyspnoe oder schnelles Atmen und erhöhter Speichelfluss auf. Nasenausfluss und Dyspnoe wurde bereits bei den Tieren, die gegen 300 mg/m³ exponiert waren, beobachtet (ChemFirst Inc. 1997).

5.1.2 Orale Aufnahme

Der LD₅₀-Wert für die Maus betrug 139 mg/kg KG. Bei der Ratte ergab sich ein LD₅₀-Wert von 980 mg/kg KG (ECHA 2020).

Je fünf männliche und weibliche Sprague-Dawley-Ratten erhielten einmalig 0, 1250, 1800 oder 2500 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG. Nach zwei bis drei Tagen betrug die Mortalität der männlichen Tiere 1/5, 5/5 bzw. 5/5 und die der

weiblichen Tiere 1/5, 0/5 bzw. 5/5. Die LD₅₀ betrug für männliche Ratten 1300 mg/kg KG, für weibliche Ratten 1950 mg/kg KG und für beide Geschlechter zusammen 1650 mg/kg KG. Als weitere Effekte wurden Hypoaktivität, gekrümmte Haltung und vermehrte Speichelbildung beobachtet (DuPont Haskell Global Centers for Health and Environmental Sciences 2009).

Die einmalige orale Gabe an je vier männliche F344-Ratten und männliche B6C3F1-Mäuse von 0; 2,5; 25 oder 250 mg ¹⁴C-N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG, das in Wasser oder in Maiskeimöl gelöst war, führte nur bei der höchsten Dosisgruppe zu Effekten. Die Ratten zeigten eine eingeschränkte Aktivität, Piloarrektion, häufigen Lidschluss, gekrümmte Haltung sowie eine eingeschränkte Futter- und Wasseraufnahme. Es traten keine weiteren klinischen Auffälligkeiten nach 24 Stunden auf. Bei den Mäusen wurde sechs Stunden nach der Gabe neben einer eingeschränkten Aktivität und einer reduzierten Futter- und Wasseraufnahme auch mühsames Atmen beobachtet. Nach zwölf Stunden waren die Tiere teilnahmslos und atmeten keuchend. Ein Tier verendete und die weiteren waren nach 24 Stunden moribund. Die histopathologische Untersuchung der Mäuse ergab helle Flecken auf der Leberoberfläche, aber keine weiteren Lebereffekte, geblähter Gastrointestinaltrakt und leichte Ödeme in der Lunge. In der Niere zeigten sich Ansammlungen von eiweißhaltigem Material, erweiterte Tubuli und vereinzelt Vakuolisierungen des tubulären Epithels. Die Gehalte an Methämoglobin wurden nicht gemessen. Im Urin der behandelten Mäuse wurden bereits ab 2,5 mg/kg KG nach 12–24 Stunden eine deutliche Verfärbung, erhöhte Bilirubin-Werte sowie Blut beobachtet, was auf Nierentoxizität hinweist (Dix et al. 2007).

Eine Schlundsondengabe von 0, 600 oder 1200 mg/kg KG an je fünf männliche und weibliche Sprague-Dawley-Ratten führte nach sechs Stunden bei der niedrigeren Dosis zu einem Methämoglobin-Gehalt von 12–13 % bei beiden Geschlechtern. Nach Gabe von 1200 mg/kg KG wurden 30 % Methämoglobin bei den männlichen und 13 % Methämoglobin bei den weiblichen Tieren gemessen. Eine siebentägige Nachbeobachtung zeigte ein Absinken des Methämoglobin-Gehaltes auf den Kontrollwert (DuPont Haskell Global Centers for Health and Environmental Sciences 2009).

5.1.3 Dermale Aufnahme

Bei Kaninchen liegt die LD₅₀ nach dermalen Aufnahme über 2000 mg/kg KG (US EPA 2009).

5.1.4 Intraperitoneale und intravenöse Aufnahme

Die LD₅₀ von Mäusen nach intraperitonealer Gabe betrug 212 mg/kg KG (NTP 1999).

Nach intravenöser Gabe in die Schwanzvene von männlichen SPF-NMR₁-Mäusen ergab sich ein LD₅₀-Wert von 76 mg/kg KG (Liso et al. 1997).

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

5.2.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.2.2 Orale Aufnahme

Die ausführlichen Daten der nachfolgend beschriebenen Studien sind in [Tabelle 2](#) dargestellt.

Eine fünfmalige Schlundsondengabe von 0, 1, 6, 20, 60 oder 120 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag an je fünf männliche F344/N-Ratten führte ab einer Dosis von 20 mg/kg KG und Tag zu einer Abnahme des Körpergewichtes. In den beiden höchsten Dosisgruppen kam es zu Hyperplasien des nasalen Übergangsepithels, zu Degenerationen und Nekrosen im olfaktorischen Epithel in der Nasenhöhle sowie einem Anstieg des relativen Lebergewichtes. Es wurde kein Einfluss auf die Methämoglobin-Gehalte beobachtet. Veränderungen in den Gewebeproben des nasalen Übergangsepithels der höchsten Dosisgruppe waren Karyomegalie, zusammengedrückte Zellkerne und Verlust der basalen Polarität der Kerne. Untersuchungen des Transkriptom des nasalen Gewebes ergaben, dass im nasalen

Übergangsepithel oxidative Schäden vorliegen. Lebergewebeproben zeigten ab einer Dosis von 20 mg/kg KG und Tag minimale Läsionen (verstärktes Auftreten von Apoptose) und ab 60 mg/kg KG und Tag gering erhöhte Mitoseraten. Die transkriptomischen Veränderungen in der Leber deuten auch auf oxidative Schäden hin ([Abschnitt 2.4](#); [Dunnick et al. 2016, 2017](#)).

In einer 14-Wochen-Schlundsondenstudie erhielten je 20 männliche und weibliche F344/N-Ratten an fünf Tagen in der Woche 0; 62,5; 125; 250; 500 oder 1000 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag (99,8 %) in Maiskeimöl gelöst. Die Hälfte der Tiere wurde nach 25 Tagen hämatologisch untersucht. Die Tiere der höchsten Dosisgruppe und ein männliches Tier aus der 500-mg/kg-Gruppe verendeten innerhalb der ersten drei Tage. Ab 62,5 mg/kg KG und Tag wurde eine statistisch signifikante Abnahme des Körpergewichtes beobachtet. Bei allen Tieren traten makrozytische, hypochrome und regenerative Anämien, Methämoglobinämie und verstärkte Heinz-Innenkörperchen ab der niedrigsten Dosis auf. Die Effekte verstärkten sich dosisabhängig und wurden auch bereits nach 25 Tagen beobachtet. In den höheren Dosierungen kam es zu Cyanose. Die hämatologischen Effekte führten ab der niedrigsten Dosis zu Läsionen in Milz (Hämatopoese, Hämosiderin-Ablagerungen, Kongestion und Fibrosen) und Knochenmark (Hyperplasien). Die Alaninaminotransferase- (ALT) und die Sorbit-Dehydrogenase(DH)-Aktivität waren ab der niedrigsten Dosis statistisch signifikant erhöht, jedoch nur am 25. Tag, nicht am Ende der subchronischen Studie. Die histopathologische Untersuchung ergab ab der niedrigsten Dosis erhöhte Lebergewichte, Degenerationen des olfaktorischen Epithels und Metaplasien im respiratorischen Epithel. Ab einer Dosis von 125 mg/kg KG und Tag traten hepatozelluläre Hypertrophien, Hyperplasien der Bowmanschen Drüsen und Hyperplasien im respiratorischen Epithel auf. Metaplasien im olfaktorischen Epithel waren ab einer Dosis von 250 mg/kg KG und Tag statistisch signifikant häufiger. Erhöhte Gallensäurewerte im Serum ab 250 mg/kg KG und Tag weisen auf Leberschäden und Cholestase hin ([Dunnick et al. 2014](#); [NTP 2012](#)).

In einer 2-Jahre-Karzinogenitätsstudie erhielten je 60 männliche und weibliche F344/N-Ratten 0, 6, 20 oder 60 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag an fünf Tagen in der Woche mit der Schlundsonde. Die Reinheit betrug 99,8 %. Je zehn Tiere wurden drei Monate (86 Tage) nach Beginn der Applikation hämatologisch untersucht. Bei den weiblichen Tieren waren Heinz-Innenkörperchen bereits bei 6 mg/kg KG und Tag statistisch signifikant erhöht, dies steigerte sich dosisabhängig. Ab 20 mg/kg KG und Tag waren die Methämoglobin-Werte erhöht und ab 60 mg/kg KG und Tag nahm das Körpergewicht leicht ab. Bei der höchsten Dosisgruppe war eine erhöhte Mortalität mit dem Auftreten von Tumoren assoziiert und in der Nasenhöhle traten neben neoplastischen Veränderungen Hyperplasien des olfaktorischen, respiratorischen und des Übergangsepithels auf ([Abschnitt 5.7.2](#); [Dunnick et al. 2014](#); [NTP 2012](#)). Es erfolgte keine hämatologische Untersuchung nach dem Ende der zweijährigen oralen Gabe, obwohl ein klares Auftreten von Anämie nach drei Monaten beobachtet worden war.

In einer 14-Wochen-Schlundsondenstudie erhielten je zehn männliche und weibliche B6C3F1-Mäuse 0, 15, 30, 60, 125 oder 250 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag in Maiskeimöl gelöst an fünf Tagen in der Woche. Die Reinheit betrug 99,8 %. Neun männliche und alle weiblichen Tiere der höchsten Dosisgruppe verendeten in den ersten zehn Tagen. Drei männliche und zwei weibliche Tiere der 125-mg/kg-Gruppe verendeten vor Studienabschluss. Ab 125 mg/kg KG und Tag wurde eine Abnahme des Körpergewichtes beobachtet. Die hämatologische Untersuchung ergab geringe Abnahmen des Hämatokrit-Wertes und der Erythrozytenanzahl, die jedoch nicht dosisabhängig waren. Die Methämoglobin-Werte stiegen minimal ab 30 mg/kg KG und Tag von 2,1 % (Kontrolle) auf 2,8 % und dann bei den höheren Dosen auf 3,1 % und 4,0 % bei den männlichen Tieren und von 2,1 % (Kontrolle) auf 2,6 %, 3,4 % und 3,88 % bei den weiblichen Tieren an. Statistisch signifikant erhöhte Heinz-Innenkörperchen wurden bei den weiblichen Tieren ab 60 mg/kg KG und Tag und bei den männlichen ab 125 mg/kg KG und Tag beobachtet. Das Lebergewicht der Mäuse nahm ab der niedrigsten Dosis dosisabhängig und statistisch signifikant zu. In der 125-mg/kg-Dosisgruppe traten Degenerationen und Nekrosen des olfaktorischen Epithels und Hyperplasien der Bowmanschen Drüsen sowie Degenerationen des bronchialen Epithels in der Lunge auf. Effekte bei der höchsten Dosisgruppe waren Fetteinlagerungen und Nekrosen in der Leber, chronisch aktive Entzündungen der Nase sowie Nekrosen und Atrophien in den Lymphdrüsen, der Milz und dem Thymus. Die Effekte bei der höchsten Dosisgruppe führen die Autoren auf Stress und eine unspezifische Toxizität zurück ([Dunnick et al. 2014](#); [NTP 2012](#)).

In einer 2-Jahre-Kanzerogenitätsstudie erhielten je 50 männliche und weibliche B6C3F1-Mäuse 0, 6, 20 oder 60 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag an fünf Tagen in der Woche mit der Schlundsonde. Die Reinheit betrug 99,8%. Bereits in der niedrigsten Dosisgruppe wurden Lebereffekte beobachtet. Ab 20 mg/kg KG und Tag traten Effekte in der Lunge, der Nase und dem Vormagen auf. Das Körpergewicht nahm bei der höchsten Dosisgruppe ab. Hämatologische Untersuchungen wurden nicht durchgeführt (Dunnick et al. 2014; NTP 2012).

Tab. 2 Wirkung von N,N-Dimethyl-p-toluidin nach wiederholter oraler Verabreichung

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Dosis	Befunde	Literatur
Ratte, F344, 5 ♂	5 Tage, 0, 1, 6, 20, 60, 120 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, in Maiskeimöl	ab 20 mg/kg KG: KG ↓, <u>Leber:</u> Apoptoserate ↑; ab 60 mg/kg KG: <u>Leber:</u> Mitoserate ↑, <u>Nase:</u> Übergangsepithel Hyperplasien (4/5); 120 mg/kg KG: <u>Leber:</u> rel. Gew. ↑*; <u>Nase:</u> olf. Epithel Nekrose (4/5), Degeneration (1/5)	Dunnick et al. 2016, 2017
Ratte, F344, je 10 ♂, ♀	25 Tage, 0; 62,5; 125; 250; 500; 1000 mg/kg KG u. Tag, 5 d/Wo, Schlundsonde, in Maiskeimöl, nur hämatologische Untersuchung	0 mg/kg KG: MetHb: ♂: 2,4%, ♀: 2,7%; 62,5 mg/kg KG: MetHb ♂: 6,7%, ♀: 6,4%; ab 62,5 mg/kg KG: KG ↓*; Anämie, Methämoglobinämie, Hämatokritwert ↓**, Hämoglobin ↓**, Erythrozyten ↓**, Retikulozyten ↑**, ALT ↑*, Sorbit-DH ↑*; 125 mg/kg KG: MetHb ♂: 12,44%, ♀: 12,8%; ab 125 mg/kg KG: Heinz-Innenkörperchen ↑**; 250 mg/kg KG: MetHb ♂: 16,6%, ♀: 16,0%; 500 mg/kg KG: MetHb ♂: 14,75%, ♀: 15,5%; 1000 mg/kg KG: Mortalität ♂ u. ♀: 10/10 (nach 3 Tagen)	Dunnick et al. 2014; NTP 2012

Tab.2 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Dosis	Befunde	Literatur
Ratte, F344, je 10 ♂, ♀	14 Wochen, nach 88 Tagen MetHb bestimmt; 0; 62,5; 125; 250; 500; 1000 mg/kg KG u. Tag, 5 d/Wo, Schlundsonde, in Maiskeimöl	0 mg/kg KG: <u>Blut:</u> MetHb ♂: 2,44 %, ♀: 2,88 %; 62,5 mg/kg KG: <u>Blut:</u> MetHb ♂: 10,1 %, ♀: 11,2 %; ab 62,5 mg/kg KG: KG ↓*, <u>Blut:</u> Anämie, Methämoglobinämie, Hämatokritwert ↓**, Heinz-Innenkörperchen ↑**, Erythrozyten ↓**, Retikulozyten ↑**, <u>Milz:</u> Hämatopoese ↑, Hämosiderin-Ablagerungen ↑, ♂: Kongestion ↑, <u>Knochenmark:</u> Hyperplasien*, Hämatopoese ↑, <u>Nase:</u> olf. Epithel: Degeneration*, ♂: resp. Epithel: Metaplasien**, <u>Leber:</u> rel. Gew. ↑** (♂: 30 %, ♀: 45 %), <u>Niere:</u> Pigmentierung*, rel. Gew. ↑**, <u>Testis:</u> rel. Gew. ↑**, <u>Herz:</u> rel. Gew. ↑**, 125 mg/kg KG: MetHb ♂: 15,5 %, ♀: 17,2 %; ab 125 mg/kg KG: <u>Blut:</u> Serum: ♂: Gallensäure ↑*, <u>Milz:</u> Kongestion u. Kapselfibrose**, ♂: Hypertrophie**, <u>Nase:</u> olf. Epithel: Degeneration**, resp. Epithel: Hyperplasien**, ♀: resp. Epithel: Metaplasien**, <u>Leber:</u> Gew. ↑** (♂: 44 %, ♀: ca. 64 %), Hypertrophie**, <u>Niere:</u> ♂: Nekrose u. Mineralisierung**, ♀: Nephropathie**, 250 mg/kg KG: MetHb ♂: 18,2 %, ♀: 19,7 %; ab 250 mg/kg KG: <u>Blut:</u> Serum: ♂: Gallensäure ↑**, <u>Milz:</u> Kongestion u. Kapselfibrose, Hypertrophien**, <u>Nase:</u> resp. Epithel: Hyperplasien**, olf. Epithel: Metaplasien**, <u>Leber:</u> Gew. ↑** (♂: 57 %, ♀: 89 %), ♀: Nekrosen, <u>Niere:</u> Nekrosen; 500 mg/kg KG: Mortalität ♂: 1/10, <u>Blut:</u> MetHb ♂: 17,7 %, ♀: 16,0 %, Serum: ♀: Gallensäure ↑**, <u>Leber:</u> Gew. ↑** (♂: ca. 70 %, ♀: ca. 123 %), Hypertrophie; 1000 mg/kg KG: Mortalität ♂ u. ♀: 10/10 (nach 3 Tagen)	Dunnick et al. 2014; NTP 2012
Ratte, F344, je 10 ♂, ♀	86 Tage, 0, 6, 20, 60 mg/kg KG u. Tag, 5 d/Wo, Schlundsonde, in Maiskeimöl, nur hämatologische Untersuchung	0 mg/kg KG: MetHb ♂: 4,7 %, ♀: 5,1 %; 6 mg/kg KG: LOAEL MetHb ♂: 5,6%*, ♀: 5,6 %, ♀: Heinz-Innenkörperchen ↑* (0,3 %); 20 mg/kg KG: MetHb ♂: 7,9%***, ♀: 8,4%***, Heinz-Innenkörperchen ↑** (♂: 0,7 %, ♀: 0,9 %); ab 20 mg/kg KG: Hämatokritwert ↑**, Erythrozyten ↓**, Retikulozyten ↑**, 60 mg/kg KG: MetHb ♂: 17,4%***, ♀: 17,1%***, Heinz-Innenkörperchen ↑** (♂: 3,7 %, ♀: 3,8 %)	Dunnick et al. 2014; NTP 2012

Tab.2 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Dosis	Befunde	Literatur
Ratte, F344, je 50 ♂, ♀	104 Wochen, 0, 6, 20, 60 mg/kg KG u. Tag, 5 d/Wo, Schlundsonde, in Maiskeimöl, keine hämatologische Untersuchung	ab 6 mg/kg KG: LOAEL <u>Milz</u> : Hämatopoese ↑*, ♀: Kongestion u. Hypertrophie, ♂: Atrophie*, <u>Leber</u> : ♀: Gallengangshyperplasien*, ♂: eosinophile Foci ↑*, <u>Niere</u> : ♀: Nephropathie*, ♂: Pigmentierung*, <u>Nase</u> : Drüsen resp. Epithel: Metaplasien*, ♂: Hyperplasien**, resp. Epithel: ♂: Hyperplasien**; ab 20 mg/kg KG: ♀: Hyperaktivität, <u>Leber</u> : Hypertrophie* (6/50), Gallengangsfibrosen**, ♀: eosinophile Foci ↑*, <u>Vormagen</u> : ♂: Hyperplasien u. Ulcus, <u>Knochenmark</u> : ♂: Hyperplasien*, <u>Lymphknoten</u> : ♂: histiozytäre Infiltrate*, <u>Nase</u> : Drüsen Übergangsepithel: Hyperplasien*, ♂: Dilatationen*, resp. Epithel: ♀: Dilatationen**, Hyperplasien**; 60 mg/kg KG: KG ↓, Mortalität ↑ (durch Tumoren), Hyperaktivität, ♀: Hautblässe, <u>Milz</u> : Kongestion**, Hypertrophie**, Kapselbibrose**, Atrophie**, <u>Leber</u> : Hypertrophie ↑** (♂: 31/50, ♀: 22/49), zystische Degeneration**, ♀: Nekrosen*, <u>Nase</u> : Läsionen olf. u. resp. Epithel*, <u>Niere</u> : ♀: Pigmentierung*, <u>Vormagen</u> : ♂: Entzündung*, <u>Knochenmark</u> : Hyperplasien**	Dunnick et al. 2014; NTP 2012
Maus, B6C3F1, je 10 ♂, ♀	14 Wochen, 0, 15, 30, 60, 125, 250 mg/ kg KG u. Tag, 5 d/Wo, Schlundsonde, in Maiskeimöl	0 mg/kg KG: <u>Blut</u> : MetHb: ♂: 2,0%, ♀: 2,1%; ab 15 mg/kg KG: <u>Leber</u> : Gew. ↑** (♂: 25,6%, ♀: 15,4%), Vakuolisierung*; ab 30 mg/kg KG: <u>Blut</u> : MetHb ↑: ♂: 2,8%**; ♀: 2,6%**; ab 60 mg/kg KG: <u>Blut</u> : ♀: Heinz-Innenkörperchen ↑** (0,2%), <u>Nase</u> : ♀: olf. Epithel: Degenerationen*; 125 mg/kg KG: <u>Blut</u> : Heinz-Innenkörperchen ↑ ♂: 0,5%**; ♀: 0,5%**; Retikulozyten ♂: ↑*, <u>Nase</u> : Hyperplasien**, olf. Epithel: Degenerationen**, Metaplasien**, <u>Lunge</u> : bronchiales Epithel: Degenerationen* u. Regenerationen*, peribronchiales Epithel: chron. Entzündungen*, rel. Gew. ↑**, ♀: histiozytäre Infiltrate*, <u>Thymus</u> : Nekrosen*; 250 mg/kg KG: Mortalität ♂: 9/10, ♀: 10/10 (innerhalb von 10 Tagen)	Dunnick et al. 2014; NTP 2012

Tab.2 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Dosis	Befunde	Literatur
Maus, B6C3F1, je 50 ♂, ♀	104 Wochen, 0, 6, 20, 60 mg/kg KG u. Tag, 5 d/Wo, Schlundsonde, in Maiskeimöl, keine hämatologische Untersuchung erfolgt	ab 6 mg/kg KG: <u>Leber:</u> Hypertrophie**, Nekrose*, <u>Milz:</u> ♂: Atrophie (11/50) nicht dosisabhängig, <u>Knochenmark:</u> ♀: Hyperplasien* nicht dosisabhängig, <u>Nase:</u> ♀: Hyperplasien olf. Epithel**, Metaplasien*; ab 20 mg/kg KG: <u>Milz:</u> ♂: Atrophie* (11/49), <u>Leber:</u> eosinophile Foci ↑*, <u>Lunge:</u> ♀: Hyperplasien alveoläres Epithel*, <u>Vormagen:</u> ♀: Hyperplasien**, <u>Nase:</u> ♀: Läsionen olf. u. resp. Epithel*; 60 mg/kg KG: ♀: KG ↓ (>10%), Mortalität ↑*, <u>Leber:</u> ♀: Fetteinlagerungen**, Nekrosen**, <u>Lunge:</u> alveoläre Infiltrate (Histiozyten)*, ♀: Regeneration* (bronchiales Epithel u. Bronchien), <u>Vormagen:</u> ♀: Entzündungen u. Plattenepithelpapillome**, <u>Nase:</u> ♂: Läsionen olf. u. resp. Epithel, <u>Milz:</u> ♀: Atrophie der roten Pulpa*, <u>Lymphknoten:</u> Atrophie**	Dunnick et al. 2014; NTP 2012

*p < 0,05; **p < 0,01

ALT: Alaninaminotransferase; Gew.: Gewicht; MetHb: Methämoglobin; olf.: olfaktorisch; resp.: respiratorisch; Sorbit-DH: Sorbitdehydrogenase

Fazit: Bereits ab der niedrigsten Dosis von 6 mg/kg KG und Tag treten bei der Ratte nach 86 Tagen statistisch signifikant erhöhte Methämoglobin-Werte und Heinz-Innenkörperchen sowie nach zweijähriger Gabe Effekte in Milz, Leber und Nieren auf. In der Nase werden Metaplasien und Hyperplasien beobachtet. Auch nach einer nur fünftägigen Gabe von 60 mg/kg KG und Tag treten Hyperplasien am Übergangsepithel der Nase auf. Alle Effekte verstärken sich dosisabhängig. Bei höheren Dosen werden zudem Effekte auf Knochenmark, Lymphknoten und Vormagen beobachtet.

Männliche und weibliche Mäuse zeigen bei der niedrigsten Dosis von 6 mg/kg KG und Tag in einer 2-Jahre-Schlundsondenstudie Lebereffekte und die weiblichen Tiere Hyperplasien und Metaplasien in der Nase. Die bei dieser Dosis beobachteten geringen Effekte in der Milz und im Knochenmark sind jedoch nicht dosisabhängig. Bei höheren Dosen treten Hyperplasien in der Lunge und im Vormagen bei den weiblichen Tieren auf. Die männlichen Mäuse weisen substanzbedingte Wirkungen in der Nase und der Lunge erst bei der höchsten Dosis auf.

Der LOAEL beträgt damit 6 mg/kg KG und Tag bei Ratten und Mäusen. Ein NOAEL wurde nicht erhalten.

5.2.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

5.3.1 Haut

Ein Erythem (Grad 1–2 von 3) wurde bei allen sechs Weißen Neuseeländer-Kaninchen, denen 0,5 ml unverdünntes N,N-Dimethyl-p-toluidin auf die rasierte Haut aufgetragen wurde, am Studienende nach 14 Tagen beobachtet (DuPont Haskell Global Centers for Health and Environmental Sciences 2009). Weitere Angaben zur Applikationsform und zur Applikationsdauer fehlen.

In einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 404 wurde N,N-Dimethyl-p-toluidin vier Stunden lang unverdünnt semi-okklusiv auf die geschorene intakte Haut von drei weiblichen Weißen Neuseeländer-Kaninchen appliziert. Nur bei einem Kaninchen zeigten sich 24 Stunden nach Applikationsende Erytheme (Grad 1–2 von 3 nach Draize), die nach

72 Stunden nicht mehr sichtbar waren. Die individuellen durchschnittlichen Werte für Erytheme nach 24, 48 und 72 Stunden lagen bei zwei Tieren bei 0,33, und bei einem Tier bei 1,0. Ödeme traten nur bei einem Tier bis maximal 24 Stunden nach Applikation auf, mit einem individuellen Wert von 0,33 (ECHA 2020). Im Registrierungsdossier ist unter dem Eintrag „type of coverage“ zwar „okklusiv“ angegeben, anhand der Beschreibung der Versuchsdurchführung ist jedoch davon auszugehen, dass die Applikationsform „semi-okklusiv“ war.

In dem In-vitro-Modell „dermal irritation“ (nach OECD-Prüfrichtlinie 435) zeigte N,N-Dimethyl-p-toluidin keine ätzende Wirkung (Wert 0,6 von 5) (ChemFirst Inc. 1998). Das Modell ist von der OECD akzeptiert, um ätzende Stoffe zu identifizieren.

5.3.2 Auge

Unverdünntes N,N-Dimethyl-p-toluidin (0,1 ml) wurde in das rechte Auge von neun Weißen Neuseeländer-Kaninchen appliziert. Das linke Auge der Tiere wurde als Kontrolle angesehen. Die Substanz wurde bei drei Tieren nach 30 Sekunden wieder ausgewaschen. Ein Tier dieser Gruppe zeigte eine starke Bindehautrötung (Grad 3 von 3) nach einer Stunde. Bei den anderen Tieren wurde das Auge nicht gewaschen. Bei einem dieser Tiere wurde ebenfalls eine schwere Bindehautrötung (Grad 3 von 3) nach 24 und 48 Stunden beobachtet. Alle beobachteten Effekte waren innerhalb von sieben Tagen reversibel (k. w. A.; DuPont Haskell Global Centers for Health and Environmental Sciences 2009).

Die Applikation von 0,1 ml unverdünntem N,N-Dimethyl-p-toluidin in das rechte Auge nach OECD-Prüfrichtlinie 405 wirkte bei drei weiblichen Weißen Neuseeländer-Kaninchen (nach einer Stunde gewaschen) nach 24 Stunden nur an der Bindehaut minimal reizend (Wert 0,67 von 3 nach Draize; individuelle Werte: $3 \times 0,67$ nach 24, 48 und 72 Stunden). Bei einem Tier wurde Chemosis mit einem individuellen Wert von 0,33 (24, 48 und 72 Stunden) beobachtet. Die Wirkungen waren 72 Stunden nach der Behandlung abgeklungen (ECHA 2020).

Ein In-vitro-Modell („ocular irritation“) (nach OECD-Prüfrichtlinie 496) ergab eine minimale bis leichte augenreizende Wirkung des N,N-Dimethyl-p-toluidins (Wert 13,2 von 80) (ChemFirst Inc. 1998). Das Modell ist von der OECD akzeptiert, um stark reizende oder nicht reizende Stoffe zu identifizieren.

5.3.3 Fazit

N,N-Dimethyl-p-toluidin ruft in Studien, die nach OECD-Prüfrichtlinie 404 bzw. 405 durchgeführt wurden, leichte, reversible Reizeffekte an Haut und Augen von Kaninchen hervor, die jedoch nicht zu einer Einstufung nach CLP-Kriterien führen.

5.4 Allergene Wirkung

Es liegen keine bewertungsrelevanten Untersuchungen vor.

In einem modifizierten Bühlertest wurden für die Induktion 50 % N,N-Dimethyl-p-toluidin in Mineralöl und für die Auslösung 10 % in Mineralöl eingesetzt. Nach Aussagen der Autoren zeigten 60 % der Tiere der Testgruppe eine Hautreaktion und lagen damit deutlich über der Anzahl in der Kontrollgruppe, die nur die Auslösekonzentration erhalten hatte (k. w. A.; DuPont Haskell Global Centers for Health and Environmental Sciences 2009). Die Reinheit der Testsubstanz ist nicht angegeben, ebenso fehlen die Anzahl der Tiere pro Gruppe und die Einzeltierdaten. Den Autoren zufolge haben die Tiere der Testgruppe „im Vergleich zu der Kontrollgruppe deutlich häufiger reagiert“, demnach haben offenbar auch einige Tiere der Kontrollgruppe Hautreaktionen gezeigt. Wegen der fehlenden Angaben und unklarer Befunde kann diese Untersuchung nicht für die Bewertung der hautsensibilisierenden Wirkung von N,N-Dimethyl-p-toluidin herangezogen werden.

5.5 Reproduktionstoxizität

5.5.1 Fertilität

Generationenstudien und Studien zur Untersuchung der Fertilität sind nicht durchgeführt worden.

Im Folgenden sind die Informationen zu den Reproduktionsorganen aus den 14- und 104-Wochen-Studien dargestellt.

In einer 14-Wochen-Schlundsondenstudie erhielten je zehn männliche und weibliche B6C3F1-Mäuse 0, 15, 30, 60, 125 oder 250 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag in Maiskeimöl gelöst an fünf Tagen in der Woche. Es wurden keine Effekte auf den Östrogenspiegel der weiblichen Tiere und das Gewicht der Reproduktionsorgane beobachtet. Die Bestimmungen der Spermienparameter ergaben auch keinen Effekt (ECHA 2020; NTP 2012).

In der 104-wöchigen-Schlundsondenstudie an B6C3F1-Mäusen traten bis zur höchsten Dosis von 60 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag keine Effekte an den Reproduktionsorganen auf (Dunnick et al. 2014; NTP 2012).

In einer weiteren 14-Wochen-Schlundsondenstudie erhielten je zehn männliche und weibliche F344/N-Ratten 0; 62,5; 125; 250; 500 oder 1000 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag in Maiskeimöl gelöst an fünf Tagen in der Woche. Bei den Tieren der beiden höchsten Dosisgruppen wurden aufgrund der hohen Sterblichkeitsrate oder des moribunden Zustandes keine Daten erhoben. In den Dosisgruppen 125 und 250 mg/kg KG nahm der Anteil an weiblichen Tieren mit regulärem Östruszyklus ab und die durchschnittliche Länge des Östruszyklus war bei den Tieren verlängert. Eine geringe, nicht statistisch signifikante Abnahme der Spermienanzahl wurde ab 125 mg/kg KG und Tag beobachtet. Die Spermienbeweglichkeit war unverändert. Eine Abnahme des absoluten, nicht jedoch des relativen Gewichtes von Hoden und Nebenhoden trat bei den Tieren der 250-mg/kg-Gruppe auf (Abschnitt 5.2.2; ECHA 2020; NTP 2012).

Bei F344-Ratten kam es nach 104-wöchiger Schlundsondengabe bis zur höchsten Dosis von 60 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag nicht zu histologischen Effekten an den Reproduktionsorganen. Ab 60 mg/kg KG und Tag waren die relativen Testisgewichte statistisch signifikant erhöht (Dunnick et al. 2014; NTP 2012).

5.5.2 Entwicklungstoxizität

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.6 Genotoxizität

5.6.1 In vitro

Die genauen Daten der nachfolgend beschriebenen In-vitro-Genotoxizitätstests sind in [Tabelle 3](#) dargestellt.

Ein Genmutationstest mit *E. coli* WP2 uvrA zeigte ein negatives Ergebnis (NTP 2012).

Bei den *Salmonella*-typhimurium-Stämmen TA97, TA98, TA100 und TA1535 wirkte N,N-Dimethyl-p-toluidin sowohl ohne als auch mit Zusatz metabolischer Aktivierung nicht mutagen (NTP 2012).

Die *Salmonella*-typhimurium-Stämme TA100 und TA104 zeigten im Spotttest eine nicht eindeutige Genotoxizität mit einer geringen Erhöhung der Revertanzahl auf 20–100 nach Inkubation mit 3000 µg N,N-Dimethyl-p-toluidin/Platte, während bei dieser Konzentration beim *Salmonella*-typhimurium-Stamm TA98 keine Genmutation beobachtet wurde und beim *Salmonella*-typhimurium-Stamm TA97 bereits Zytotoxizität auftrat. Die *Salmonella*-typhimurium-Stämme TA97, TA98, TA100 und TA104 zeigten jedoch keine Mutagenität im Platteninkorporationstest bei 0, 50, 250, 500, 2500 oder 5000 µg N,N-Dimethyl-p-toluidin/Platte mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung an (Miller et al. 1986).

Mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung war N,N-Dimethyl-p-toluidin in den *Salmonella*-typhimurium-Stämmen TA98, TA100, TA1535, T1537 und TA1538 nicht mutagen (Seifried et al. 2006). Die Revertanzahlen sind in dieser Studie nicht angegeben.

In einem weiteren Genmutationstest mit den Salmonella-typhimurium-Stämmen TA97, TA98 und TA100 zeigten 1–100 µg N,N-Dimethyl-p-toluidin/Platte keine Mutagenität. Die Reinheit des N,N-Dimethyl-p-toluidins betrug 99 % (Taningher et al. 1993).

Keine Mutagenität trat bei bis zu 5000 µg N,N-Dimethyl-p-toluidin/Platte mit den Salmonella-typhimurium-Stämmen TA98, TA100, TA1537 und TA1538 ohne als auch mit Zusatz metabolischer Aktivierung auf (US EPA 2009). Die Revertanzahlen sind nicht angegeben.

Humane Adenokarzinom-Darmzellen (Caco-2-Zellen) dienen als In-vitro-Modell des intestinalen Epithels. Mithilfe des Oxidations-sensitiven Farbstoffes 2,7-Dichlorfluorescein konnten ROS in Caco-2-Zellen nach Inkubation mit 1 oder 2 mM N,N-Dimethyl-p-toluidin gezeigt werden. Der Anstieg an ROS war jedoch nicht statistisch signifikant erhöht. Eine 2,5-molare Konzentration an N,N-Dimethyl-p-toluidin wies keinen Einfluss auf die Viabilität der Zellen auf. In einem modifizierten Comet-Assay führte 2,5 mM N,N-Dimethyl-p-toluidin nach Inkubation mit 8-Hydroxydesoxyguanin-DNA-Glykosylase 1 (hOGG1) in Caco-2-Zellen zu statistisch signifikant erhöhten DNA-Schäden und Strangbrüchen, die nach oxidativem Stress entstehen. Ohne Zusatz von hOGG1 wurde nur eine gering erhöhte Bildung von DNA-Schäden detektiert, die nicht statistisch signifikant war (Wessels et al. 2015).

Im Mikronukleustest mit V79-Zellen des Chinesischen Hamsters kam es zur Induktion von Mikronuklei nach 48 Stunden ab einer Inkubationskonzentration von 0,9 mM N,N-Dimethyl-p-toluidin. Die Anfärbung der Mikronuklei mit CREST-Antikörpern zeigte sowohl einen statistisch signifikanten Anstieg der CREST-positiven (ab 0,9 mM) als auch der CREST-negativen Mikronuklei (bei 12 mM). Damit liegen hier klastogene und aneugene Effekte vor. Die Zytotoxizität wurde mithilfe der Koloniebildung untersucht und ergab bei der höchsten getesteten Dosis noch eine Koloniebildung > 10 % (k. w. A.; Taningher et al. 1993). Der mitotische Index wurde untersucht. Es ist jedoch aus den Daten nicht ersichtlich, ob dosisabhängige statistisch signifikante Veränderungen auftraten.

Im TK^{+/-}-Mutationstest nach OECD-Prüfrichtlinie 490 trat bei Maus-Lymphomzellen nach Inkubation ab 0,031 µl N,N-Dimethyl-p-toluidin/ml mit metabolischer Aktivierung eine Zunahme an Kolonien auf, wobei das relative Gesamtwachstum (RTG) bei 12–15 % lag (Seifried et al. 2006). Bei der Auswertung wurde nicht zwischen großen und kleinen Kolonien unterschieden, so kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob es zu mutagenen oder klastogenen Schäden kam.

Tab. 3 Genotoxizität von N,N-Dimethyl-p-toluidin in vitro

Endpunkt	Testsystem	Konzentrationsbereich	wirksame Konzentration	Zytotoxizität	Ergebnis		Literatur
					-m. A.	+m. A.	
Genmutation	E. coli WP2 uvrA pKM101	50–1500 µg/Platte		500 µg/Platte	–	–	NTP 2012
	S. typhimurium TA100	10–1000 µg/Platte		333/500 µg/Platte	–	– ^{a)}	NTP 2012 (insgesamt 10 Tests)
	S. typhimurium TA1535	10–1000 µg/Platte		500 µg/Platte	–	– ^{a)}	NTP 2012 (insgesamt 8 Tests)
	S. typhimurium TA97	0,33–1000 µg/Platte		500 µg/Platte	–	– ^{a)}	NTP 2012 (insgesamt 9 Tests)
	S. typhimurium TA98	10–1000 µg/Platte		333 µg/Platte	–	– ^{a)}	NTP 2012 (insgesamt 10 Tests)
	S. typhimurium TA97 (Spottest)	3000 µg/Platte		3000 µg/Platte	zyto-toxisch	zyto-toxisch	Miller et al. 1986
	S. typhimurium TA98 (Spottest)	3000 µg/Platte			–	–	

Tab. 3 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konzentrationsbereich	wirksame Konzentration	Zytotoxizität	Ergebnis		Literatur
					-m. A.	+m. A.	
	S. typhimurium TA100 (Spottest)	3000 µg/Platte			(+)	(+)	
	S. typhimurium TA104 (Spottest)	3000 µg/Platte			-	(+)	
	S. typhimurium TA97, TA98, TA100, TA104 (Platteninkorporationstest)	50–5000 µg/Platte			-	-	
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 (Platteninkorporationstest)	3–333 µg/Platte			-	-	Seifried et al. 2006
	S. typhimurium TA97, TA98, TA100	1–100 µg/Platte		100 µg/Platte	-	- ^{a)}	Taningher et al. 1993
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1537, TA1538 (Platteninkorporationstest)	bis 5000 µg/Platte		1000 µg/Platte	-	-	US EPA 2009
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1537, TA1538	bis 100 µg/Platte		100 µg/Platte	-	-	
DNA-Schäden mittels Comet-Assay	Caco-2	2,5 mM	2,5 mM	-	(+) nicht stat. sign.	n. g.	Wessels et al. 2015
DNA-Schäden mittels Comet-Assay (modifiziert: hOGG1)	Caco-2	2,5 mM	2,5 mM	-	+*	n. g.	
Mikro-nukleustest (modifiziert: 3–4 Zellzyklen)	V79-Zellen	0,3–1,2 mM	0,9 mM		+**	n. g.	Taningher et al. 1993
Mikronukleustest, CREST positiv	V79-Zellen	0,3–1,2 mM	0,9 mM		+**	n. g.	
Mikronukleustest, CREST negativ (CA)	V79-Zellen	0,3–1,2 mM	1,2 mM		+**	n. g.	
TK [±] -Test	L5178Y-Mauslymphomzellen	0,005–0,31 µl/ml	0,031 µg/ml	0,037 µg/ml	(+)	+	Seifried et al. 2006, 2008

^{a)} metabolische Aktivierung; S9-Mix aus Ratten- oder Hamsterleber

*p < 0,05; **p < 0,001 (Cochrane-Armitage-Trendtest)

CA: Chromosomenaberrationen; CREST: Kinetochor-Proteine; DMPT: N,N-Dimethyl-p-toluidin; hOGG1: 8-Hydroxydesoxyguanin-DNA-Glykosylase 1; n. g.: nicht getestet; stat. sign.: statistisch signifikant

Gemische

Ein Supercoiled-Plasmid-basierter Genotoxizitätstest machte nach Inkubation mit einem Campherchinon/N,N-Dimethyl-p-toluidin-Gemisch eine erhöhte Rate an Einzelstrangbrüchen sichtbar (Lee et al. 2007; Winter et al. 2005). Ein Gemisch aus Methylacrylat, N,N-Dimethyl-p-toluidin und Hydrochinon erhöhte die Häufigkeit an Mikronuklei in humanen Lymphozyten statistisch signifikant (Bigatti et al. 1994) ebenso wie ein Gemisch aus Campherchinon und N,N-Dimethyl-p-toluidin in CHO-Zellen (Li et al. 2008) und ein Gemisch aus 9-Fluorenon und N,N-Dimethyl-p-toluidin

in CHO-Zellen (Li et al. 2007). Campherchinon und N,N-Dimethyl-p-toluidin werden gemeinsam als Initiatoren der Polymerisationsreaktion eingesetzt, die über eine Radikalbildung verläuft. Die hier beobachteten DNA-Schädigungen sind durch die zu erwartende Radikalbildung zu erklären. Diese Studien sind nicht geeignet, um N,N-Dimethyl-p-toluidin als Einzelsubstanz zu bewerten.

5.6.2 In vivo

Ein Test auf Induktion von DNA-Strangbrüchen mittels alkalischer Elution zeigte bei je vier männlichen Sprague-Dawley-Ratten sechs Stunden nach einer oralen Gabe von 8 mmol N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG (1081,7 mg/kg KG) und nach intraperitonealer Gabe von 4 (drei Tiere) oder 8 mmol/kg KG (sechs Tiere) (540,8 oder 1081,7 mg/kg KG) nach zwei Stunden in der Leber eine statistisch signifikant erhöhte Elutionsrate und damit erhöhte DNA-Strangbrüche. Nach 24 Stunden wurde kein Effekt mehr beobachtet. Die Kontrollgruppe umfasste je zwei Tiere und in die Signifikanzberechnung wurde die gepoolte Kontrolle einbezogen. Männliche BALB/c-Mäuse erhielten intraperitoneal 0, 1 oder 2 mmol N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG (0; 135,2 oder 270,4 mg/kg KG). Während sich zwei Stunden nach der Gabe keine Effekte zeigten, trat 24 Stunden später bereits bei einer Gabe von 1 mmol/kg KG eine geringe, jedoch statistisch signifikant erhöhte Bildung von DNA-Strangbrüchen in der Leber auf. Die Reinheit des N,N-Dimethyl-p-toluidins betrug 99 %. Die Dosierungen wurden anhand von LD₅₀-Werten festgelegt, wobei für N,N-Dimethyl-p-toluidin nach intraperitonealer Gabe nur der Wert für die Maus vorlag, dieser beträgt 212 mg/kg KG (ca. 1,6 mmol/kg KG) (Taningher et al. 1993). Die LD₅₀ nach oraler Gabe beträgt für männliche Ratten 1300 mg/kg KG (ca. 9,6 mmol/kg KG) (Abschnitt 5.1.2; DuPont Haskell Global Centers for Health and Environmental Sciences 2009).

Eine viertägige Schlundsondengabe an je sechs Sprague-Dawley-Ratten von 0 oder 60 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag in Maiskeimöl führte in der Leber der behandelten Tiere zu einem statistisch signifikanten Anstieg des prozentualen DNA-Anteils im Schweif im Comet-Assay mit $p = 0,024$ im Student t-Test (NTP 2012).

Je fünf männliche B6C3F1/N-Mäuse erhielten 0, 30, 60 oder 75 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag in Maiskeimöl per Schlundsonde an vier aufeinander folgenden Tagen. Im Comet-Assay wurden vier Stunden nach der letzten Gabe in den Leukozyten des Blutes und in der Leber keine signifikant erhöhten DNA-Schäden (% Tail-DNA) beobachtet. Ein Test auf Erhöhung der Mikronukleushäufigkeit im peripheren Blut, das auch vier Stunden nach der letzten Gabe entnommen wurde, verlief negativ. Die Anzahl an Retikulozyten blieb unverändert (NTP 2012).

Nach 90-tägiger Schlundsondengabe von 0, 15, 30, 60 oder 125 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag (7 d/Wo) an je fünf männliche und weibliche B6C3F1-Mäuse war die Häufigkeit an Mikronuklei im peripheren Blut bei den männlichen Tieren ab 60 mg/kg KG und Tag leicht, aber nicht statistisch signifikant, erhöht. In dieser Studie war die Anzahl an Retikulozyten im zirkulierenden Blut unverändert (NTP 2012). Es ist somit nicht abschätzbar, ob die Substanz das Knochenmark erreicht hat.

5.6.3 Fazit

In den bakteriellen Genotoxizitätstests wurden keine Mutationen beobachtet. Hingegen ergab sich im TK^{+/-}-Test in Mauslymphomzellen ein positives Ergebnis. N,N-Dimethyl-p-toluidin verursachte in vitro aneugene und klastogene Wirkungen im Mikronukleustest. Das Auftreten von ROS ist verantwortlich für die DNA-Schäden im hOGG1-modifizierten Comet-Assay. Bei Ratten konnten in der Leber vermehrt DNA-Strangbrüche im Comet-Assay und mittels der alkalischen Elution gezeigt werden. Bei Mäusen wurden nach intraperitonealer Gabe vermehrt DNA-Strangbrüche in der Leber mit dem alkalischen Elutionstest beobachtet. Nach oraler Gabe traten jedoch im Comet-Assay in der Leber und im peripheren Blut keine Strangbrüche auf. Im peripheren Blut von Mäusen wurden nach 4- oder 90-tägiger oraler Gabe keine statistisch signifikant erhöhten Anzahlen an Mikronuklei und bis zur höchsten getesteten Dosis von 125 mg/kg KG und Tag auch keine zytotoxische Wirkung auf das Knochenmark beobachtet, sodass in dieser Studie die Aufnahme von N,N-Dimethyl-p-toluidin in das Zielorgan nicht gezeigt werden konnte. In einer weiteren 90-Tage-Studie mit oraler Gabe kam es bei den männlichen Mäusen der höchsten Dosisgruppe zu einer statistisch signifikanten Erhöhung der Retikulozyten-Anzahl im zirkulierenden Blut. In der 2-Jahre-Kanzerogenitätsstudie wiesen die weiblichen Tiere ab 6 mg/kg KG und Tag eine Hyperplasie des Knochenmarks auf, was auf eine sekundäre Reaktion der

Methämoglobinämie und den damit einhergehenden oxidativen Stress zurückzuführen und weniger mit einer zytotoxischen Wirkung auf das Knochenmark zu erklären ist.

5.7 Kanzerogenität

5.7.1 Kurzzeitstudien

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.7.2 Langzeitstudien

In einer Lebenszeitstudie erhielten je 28 Ratten der Stämme BDI, BDII und W mit dem Futter 0 oder 7 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/Tier und Tag (ca. 21 mg/kg KG und Tag, KG angegeben mit 300 g) bis zum Erreichen einer Gesamtdosis von 5 g/Tier. Es wurden keine Tumoren beobachtet. Die Lebenserwartung und die Körpergewichtsentwicklung der behandelten Tiere zeigte keine Abweichung von der der Kontrolltiere (Druckrey et al. 1954). Die Studie entspricht nicht heutigen Richtlinien und wird deshalb nicht zur Bewertung herangezogen.

In einer 2-Jahre-Studie erhielten je 50 männliche und weibliche F344/N-Ratten mit der Schlundsonde 0, 6, 20 oder 60 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag an fünf Tagen in der Woche. N,N-Dimethyl-p-toluidin mit einer Reinheit von 99,8% wurde in Maiskeimöl gelöst gegeben. Die Vehikelkontrolle erhielt nur Maiskeimöl per Schlundsonde. Bei der höchsten Dosisgruppe traten statistisch signifikant erhöhte Inzidenzen an hepatozellulären Karzinomen bei beiden Geschlechtern auf. Bei den männlichen Tieren wurden in der Nase statistisch signifikant erhöht Adenome und Karzinome des Übergangsepithels in der höchsten Dosisgruppe beobachtet. Ein Adenom trat in den Bowmanschen Drüsen des olfaktorischen Epithels auf, was von den Autoren als ungewöhnlich bezeichnet wird. Die genauen Daten sind in [Tabelle 4](#) dargestellt und nicht kanzerogene Effekte im [Abschnitt 5.2.2](#) (NTP 2012).

Je 50 männliche und weibliche B6C3F1-Mäuse erhielten mit der Schlundsonde 0, 6, 20 oder 60 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag an fünf Tagen in der Woche in einer 2-Jahre-Kanzerogenitätsstudie. N,N-Dimethyl-p-toluidin mit einer Reinheit von 99,8% wurde in Maiskeimöl gelöst gegeben. Die Vehikelkontrolle erhielt nur Maiskeimöl per Schlundsonde. Statistisch signifikant erhöhte Inzidenzen an hepatozellulären Karzinomen wurden in der Leber bei den weiblichen Tieren bereits ab der niedrigsten Dosis und bei den männlichen Tieren der höchsten Dosisgruppe gefunden. Im Vormagen traten bei den weiblichen Tieren Plattenepithel-Papillome ab der niedrigsten Dosis auf. Diese werden von den Autoren auf die Schlundsondengabe zurückgeführt. Ab 20 mg/kg KG und Tag wurden bei den weiblichen Mäusen erhöhte Inzidenzen an bronchioalveolären Adenomen und Karzinomen beobachtet. Es trat jedoch nur je ein Karzinom pro Dosisgruppe auf. Die genauen Daten zur Kanzerogenität sind in [Tabelle 4](#) und die nicht kanzerogenen Befunde im [Abschnitt 5.2.2](#) dargestellt (NTP 2012). Die bereits bei den niedrigen Dosen signifikant höhere Zunahme an Leberkarzinomen der weiblichen B6C3F1-Mäuse ist mit den vorliegenden Daten zum Metabolismus nicht zu erklären. Die weiblichen Mäuse zeigen hier, im Gegensatz zu vielen anderen Substanzen, eine höhere Empfindlichkeit als die männlichen Mäuse. Die Plattenepithelpapillome im Vormagen könnten auch aufgrund einer substanzspezifischen Wirkung aufgetreten sein, da N,N-Dimethyl-p-toluidin auch in anderen Organen Metaplasien auslöste. Sie sind damit möglicherweise nicht ausschließlich auf eine reizende Wirkung der Substanz bei lokal sehr hohen Konzentrationen zurückzuführen.

Tab. 4 Studien zur Kanzerogenität von N,N-Dimethyl-p-toluidin

Autor:	NTP 2012				
Stoff:	N,N-Dimethyl-p-toluidin (> 99 % rein)				
Spezies:	Ratte , F344/N, je 50 ♂, ♀				
Applikation:	oral, Schlundsonde				
Dosis:	0, 6, 20, 60 mg/kg KG und Tag				
Dauer:	2 Jahre, 5 Tage/Woche				
Toxizität:	ab 6 mg/kg KG und Tag: <u>Leber</u> : ♀: Gallengangshyperplasien, ♂: eosinophile Foci ↑, <u>Milz</u> : Hämatopoese ↑, ♀: Kongestion u. Hypertrophie, <u>Nase</u> : respiratorisches Epithel: Metaplasien, ♂: Hyperplasien, <u>Niere</u> : ♀: Nephropathie, ♂: Pigmentierung; ab 20 mg/kg KG und Tag: <u>Vormagen</u> : ♂: Hyperplasien u. Plattenepithelpapillome, <u>Knochenmark</u> : ♂: Hyperplasien, <u>Lymphknoten</u> : ♂: histiozytäre Infiltrate (Abschnitt 5.2.2)				
Dosis (mg/kg KG)					
		0	6	20	60
Überlebende	♂	37/50 (74 %)	37/50 (74 %)	31/50 (62 %)	21/50 (42 %)*
	♀	33/50 (66 %)	42/50 (84 %)	33/50 (66 %)	23/50 (46 %)
Tumoren und Präneoplasien					
Leber:					
hepatozelluläre Karzinome	♂	0/50	0/50	1/50 (2 %)	6/50 (12 %)* ^{a)}
	♀	0/50	0/50	0/50	4/49 (8 %)* ^{b)}
hepatozelluläre Adenome und Karzinome	♂	0/50	0/50	2/50 (4 %)	6/50 (12 %)*
	♀	0/50	1/50 (2 %)	1/50 (2 %)	7/49 (14 %)*
Nase:					
Adenome Übergangsepithel	♂	0/50	3/49 (6 %)	2/50 (4 %)	11/49 (22 %)*
	♀	0/50	1/49 (2 %)	0/50	2/49 (4 %)
Karzinom Übergangsepithel	♂	0/50	0/49	0/50	2/49 (4 %)
Adenome und Karzinome Übergangsepithel	♂	0/50	3/49 (6 %)	2/50 (4 %)	13/49 (27 %)*
Schilddrüse:					
follikuläre Adenome	♂	1/50 (2 %)	0/49	1/50 (2 %)	3/49 (6 %)
	♀	1/50 (2 %)	1/47 (2 %)	2/47 (4 %)	0/45
follikuläre Adenome und Karzinome	♂	1/50 (2 %)	2/49 (4 %)	2/50 (4 %)	4/49 (8 %)
Uterus:					
stromale Polypen	♀	3/50 (6 %)	9/50 (18 %)	4/50 (8 %)	8/50 (16 %)
*p ≤ 0,05					
^{a)} Gesamtrate, Poly-3-Test p = 0,009					
^{b)} Gesamtrate, Poly-3-Test p = 0,041					
Autor:	NTP 2012				
Stoff:	N,N-Dimethyl-p-toluidin (> 99 % rein)				
Spezies:	Maus , B6C3F1, je 50 ♂, ♀				
Applikation:	oral, Schlundsonde				
Dosis:	0, 6, 20, 60 mg/kg KG und Tag				
Dauer:	2 Jahre, 5 Tage/Woche				

Tab. 4 (Fortsetzung)

		Dosis (mg/kg KG)			
		0	6	20	60
Toxizität:		ab 6 mg/kg KG und Tag: <u>Leber:</u> Hypertrophie, Nekrose, <u>Nase:</u> ♀: Hyperplasien, Metaplasien; ab 20 mg/kg KG und Tag: <u>Lunge:</u> ♀: Hyperplasien alveoläres Epithel, <u>Vormagen:</u> ♀: Hyperplasien (Abschnitt 5.2.2)			
Überlebende	♂	34/50 (68 %)	36/50 (72 %)	31/50 (62 %)	36/50 (72 %)
	♀	43/50 (86 %)	40/50 (80 %)	39/50 (78 %)	32/50 (64 %)
Tumoren und Präneoplasien					
Leber:					
hepatozelluläre Adenome, multiple	♂	17/50 (34 %)	19/50 (38 %)	27/50 (54 %)*	26/50 (52 %)*
	♀	2/50 (4 %)	6/50 (12 %)	29/50 (58 %)**	35/50 (70 %)**
hepatozelluläre Adenome	♂	29/50 (58 %)	34/50 (68 %)	37/50 (74 %)	36/50 (72 %)
	♀	17/50 (34 %)	19/50 (38 %)	37/50 (74 %)**	44/50 (88 %)**
hepatozelluläre Karzinome	♂	22/50 (44 %)	25/50 (50 %)	30/50 (60 %)	36/50 (72 %)*
	♀	6/50 (12 %)	13/50 (26 %)*	18/50 (36 %)**	31/50 (62 %)**
Hepatoblastome	♂	1/50 (2 %)	5/50 (10 %)	10/50 (20 %)*	8/50 (16 %)*
	♀	0/50	1/50 (2 %)	0/50	4/50 (8 %)*
Lunge:					
bronchioalveoläre Adenome	♀	2/50 (4 %)	4/50 (8 %)	8/50 (16 %)*	12/50 (24 %)*
bronchioalveoläre Adenome und Karzinome	♀	2/50 (4 %)	5/50 (10 %)	9/50 (18 %)*	13/50 (26 %)*
Vormagen:		1/50 (2 %)	1/50 (2 %)	0/50	3/50 (6 %)
Plattenepithelzell-Papillome	♂	1/50 (2 %)	5/50 (10 %)	6/50 (12 %)*	7/50 (14 %)*
	♀	1/50 (2 %)	6/50 (12 %)	6/50 (12 %)*	7/50 (14 %)*
Plattenepithelzell-Papillome oder Karzinome	♀				

*p ≤ 0,05

Fazit: Nach zweijähriger Schlundsondengabe von 60 mg/kg KG und Tag wurden bei weiblichen und männlichen Ratten statistisch signifikant erhöhte Inzidenzen an Leberkarzinomen und -adenomen beobachtet. Bei dieser Dosis traten bei männlichen Ratten statistisch signifikant erhöhte Inzidenzen an Tumoren im Übergangsepithel der Nase auf.

Bei weiblichen Mäusen wurden statistisch signifikant erhöhte Inzidenzen an Leberkarzinomen bereits nach zweijähriger Schlundsondengabe von 6 mg N,N-Dimethyl-p-toluidin/kg KG und Tag beobachtet, bei den männlichen Mäusen erst ab 60 mg/kg KG und Tag. Ein statistisch signifikanter Anstieg an Hepatoblastomen zeigte sich bei männlichen Mäusen ab einer Dosis von 20 mg/kg KG und Tag und bei den weiblichen Mäusen ab 60 mg/kg KG und Tag. Multiple hepatozelluläre Adenome in der Leber waren bei beiden Geschlechtern ab 20 mg/kg KG und Tag statistisch signifikant erhöht. Ab 20 mg/kg KG und Tag traten bei weiblichen Mäusen statistisch signifikant erhöhte Inzidenzen an Adenomen (und einzelne Karzinome) in der Lunge sowie Plattenepithelpapillome im Vormagen auf.

5.8 Sonstige Wirkungen

Humane Zahnfleisch-Fibroblasten (HGF) zeigten nach 24-stündiger Inkubation ab 500 µM N,N-Dimethyl-p-toluidin signifikant verringerte Proliferation mit einem Zellzyklus-Arrest in der G₀/G₁-Phase, der sich dosisabhängig verstärkte. Anfärbungen mit Propidiumiodid und Annexin-V wiesen darauf hin, dass die Zellen ab 1 mM N,N-Dimethyl-p-toluidin nekrotisch, aber kaum apoptotisch waren (Masuki et al. 2007).

Verschiedene Knochenzemente wurden chromatographisch (HPLC) getrennt und die N,N-Dimethyl-p-toluidin-enthaltenden Eluate nach 15, 60 oder 360 Minuten zu Zytotoxizitäts-Messungen verwendet. Die N,N-Dimethyl-p-toluidin-enthaltenden Eluate verursachten nach 24-stündiger Inkubation eine Inhibierung der Proliferation der humanen Osteoblasten-Zelllinie MG63 mit einer negativen Korrelation zwischen der N,N-Dimethyl-p-toluidin-Konzentration

und der prozentualen Anzahl an Zellen in der S-Phase (Stea et al. 1997). Die Eluate enthielten nicht ausschließlich N,N-Dimethyl-p-toluidin.

Nach Inkubation mit 0–8 mmol N,N-Dimethyl-p-toluidin kam es bei THP1-Monozyten zu einer Hemmung der Succinatdehydrogenase ab 1 mmol. Die GSH- und GSSG-Gehalte waren ab dieser N,N-Dimethyl-p-toluidin-Konzentration nach vier Stunden geringfügig erhöht. N,N-Dimethyl-p-toluidin hemmte die Lipopolysaccharid-induzierte NFκB-Transaktivierung in Monozyten, während N,N-Dimethyl-p-toluidin allein die NFκB-Transaktivierung erhöhte (Noda et al. 2007).

In polymorphkernigen Leukozyten bewirkte N,N-Dimethyl-p-toluidin eine konzentrationsabhängige Zunahme der Zytotoxizität, die als Lysiervermögen im Verhältnis zu Triton X 100 bestimmt wurde. Die minimale Inhibitionskonzentration an Bakterien betrug 185 mM (Liso et al. 1997). N,N-Dimethyl-p-toluidin war für polymorphkernige Leukozyten aus Ratten konzentrationsabhängig zytotoxisch, bestimmt anhand der Freisetzung von Lactatdehydrogenase (Liso et al. 1997).

Mit metabolischer Aktivierung besaß N,N-Dimethyl-p-toluidin eine Östrogen-Antagonist-Aktivität in einem Reporter-Gen-Assay („yeast two-hybrid assay“) (Nomura et al. 2003).

Kultivierte humane orale Keratinozyten OKF6/TERT2 zeigten nach 24- oder 48-stündiger Inkubation mit 0,1–2,5 mmol N,N-Dimethyl-p-toluidin keine erhöhte Zytotoxizität. Die durch Campherchinon induzierte erhöhte Apoptoserate wurde durch N,N-Dimethyl-p-toluidin nicht beeinflusst (Volk et al. 2014).

6 Bewertung

Kritische Effekte sind Methämoglobinämie bei Mensch und Tier, sowie Anämie und Lebertoxizität bei Nagern. Eine kanzerogene Wirkung ist bei Ratten und Mäusen aufgetreten.

Krebserzeugende Wirkung. Weibliche B6C3F1-Mäuse zeigten in einer 2-Jahre-Schlundsondenstudie bereits ab 6 mg/kg KG und Tag statistisch signifikant erhöhte Inzidenzen an Karzinomen in der Leber. Nach Gabe von 20 mg/kg KG und Tag trat eine statistisch signifikant erhöhte Inzidenz an Hepatoblastomen bei der männlichen Maus sowie an Adenomen (und Karzinomen) in der Lunge der weiblichen Maus auf. Hepatoblastome sind auch bei der B6C3F1-Maus mit hoher Lebertumor-Spontanzidenz seltene Tumoren mit einer niedrigen Inzidenz von 4% in den historischen Kontrolldaten (NTP 2012) und weisen daher auf eine kanzerogene Wirkung hin.

Nach zweijähriger Schlundsondengabe von 60 mg/kg KG und Tag wurden bei F344-Ratten statistisch signifikant erhöhte Inzidenzen an Adenomen und Karzinomen in der Leber beobachtet. Auch im Übergangsepithel der Nase zeigten sich in dieser Dosisgruppe bei den männlichen Ratten Adenome und Karzinome. Neoplasien im Übergangsepithel der Nase traten in den historischen Kontrolldaten von NTP-Studien nicht auf (NTP 2012) und sind damit als eine substanzbedingte kanzerogene Wirkung zu bewerten.

Im Vormagen der weiblichen Mäuse entstanden Plattenepithelzell-Papillome, die auf eine Reizwirkung der Substanz durch die lokale hohe Konzentration nach Schlundsondengabe zurückzuführen sein könnten.

Es besteht der Verdacht, dass die Aufnahme von N,N-Dimethyl-p-toluidin zu Metaboliten führt, die eine DNA-Addukt-Bildung bewirken können, die neben den ROS für eine genotoxische Wirkung verantwortlich sein könnten (Marques et al. 1997).

Da Tumoren in verschiedenen Spezies (Ratte, Maus), bei beiden Geschlechtern und in verschiedenen Organen beobachtet wurden, wird N,N-Dimethyl-p-toluidin in die Kanzerogenitäts-Kategorie 2 eingestuft.

MAK-Wert und Spitzenbegrenzung. Aus den vorliegenden Tierstudien kann keine NOAEC für die kanzerogene Wirkung abgeleitet werden. Eine genotoxische Wirkung ist nachgewiesen und wird für die kanzerogene Wirkung mitverantwortlich gemacht.

Ein MAK-Wert wird daher nicht abgeleitet. Damit entfällt eine Spitzenbegrenzung.

Fruchtschädigende Wirkung. Es liegen keine Daten zur Entwicklungstoxizität vor. Da kein MAK-Wert aufgestellt wird, entfällt die Zuordnung zu einer Schwangerschaftsgruppe.

Keimzellmutagene Wirkung. N,N-Dimethyl-p-toluidin zeigte in vitro in Säugerzellen DNA-schädigende Wirkungen in einem modifizierten Comet-Assay und aneugene und klastogene Wirkungen im Mikronukleustest. In den bakteriellen Genotoxizitätstests wurden keine Mutationen beobachtet, jedoch in einem TK^{+/-}-Test. Bei Ratten und Mäusen konnten in der Leber erhöhte DNA-Strangbruchraten mittels der alkalischen Elution gezeigt werden. Im Comet-Assay wurden nach oraler Gabe bei den Ratten statistisch signifikant erhöhte DNA-Strangbruchraten in der Leber beobachtet, nicht jedoch bei Mäusen. Im peripheren Blut von Mäusen trat nach 4- oder 90-tägiger oraler Behandlung keine signifikant erhöhte Häufigkeit an Mikronuklei auf, wobei unklar ist, ob das Knochenmark erreicht wurde. Studien an Keimzellen liegen nicht vor. Die bei Ratten und Mäusen vermehrt aufgetretenen DNA-Strangbrüche sind nicht durch weitere Studien widerlegt, so dass N,N-Dimethyl-p-toluidin in die Verdachtskategorie 3B eingestuft wird.

Hautresorption. Daten zur Hautresorbierbarkeit des N,N-Dimethyl-p-toluidins liegen nicht vor. Modellrechnungen lassen jedoch eine relevante transdermale Aufnahme erwarten, so dass der Stoff aufgrund seiner Einstufung als genotoxisches Kanzerogen der Kategorie 2 mit „H“ markiert wird.

Sensibilisierende Wirkung. Es liegen nur wenige Befunde zur kontaktsensibilisierenden Wirkung von N,N-Dimethyl-p-toluidin vor. Diese zeigen, dass N,N-Dimethyl-p-toluidin keine ausgeprägte kontaktallergene Wirkung zukommt. Befunde zur atemwegssensibilisierenden Wirkung sind nicht vorhanden. N,N-Dimethyl-p-toluidin wird daher weder mit „Sh“ noch mit „Sa“ markiert.

Anmerkungen

Interessenkonflikte

Die in der Kommission etablierten Regelungen und Maßnahmen zur Vermeidung von Interessenkonflikten (www.dfg.de/mak/interessenkonflikte) stellen sicher, dass die Inhalte und Schlussfolgerungen der Publikation ausschließlich wissenschaftliche Aspekte berücksichtigen.

Literatur

- Aalto-Korte K, Koskela K, Pesonen M (2021) Allergic contact dermatitis and other occupational skin diseases in health care workers in the Finnish Register of Occupational Diseases in 2005–2016. *Contact Dermatitis* 84(4): 217–223. <https://doi.org/10.1111/cod.13753>
- Alanko K, Kanerva L, Jolanki R, Kannas L, Estlander T (1996) Oral mucosal diseases investigated by patch testing with a dental screening series. *Contact Dermatitis* 34(4): 263–267. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1996.tb02197.x>
- Bigatti MP, Lamberti L, Rizzi FP, Cannas M, Allasia G (1994) In vitro micronucleus induction by polymethyl methacrylate bone cement in cultured human lymphocytes. *Mutat Res* 321(3): 133–137. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(94\)90037-x](https://doi.org/10.1016/0165-1218(94)90037-x)
- Brasch J, Henseler T (1992) The reaction index: a parameter to assess the quality of patch test preparations. *Contact Dermatitis* 27(3): 203–204. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1992.tb05267.x>
- ChemFirst Inc. (1997) Initial submission: Letter from ChemFirst Inc to USEPA Re: Acute inhalation toxicity study of N,N-dimethyl-p-toluidine. W/ attachments & cover letter dated 01/22/1997. NTIS/OTS0573706, EPA/OTS Doc-86980000172S. Alexandria, VA: NTIS. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0573706.xhtml>, abgerufen am 10 Jan 2020

- ChemFirst Inc. (1998) Utilization of the irritation assay system to evaluate six samples provided by First Mississippi Corporation, with cover letter dated 07/24/1998. NTIS/OTS0559507, EPA/OTS Doc-86980000172S. Alexandria, VA: NTIS. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0559507.xhtml>, abgerufen am 10 Jan 2020
- Dix KJ, Ghanbari K, Hedtke-Weber BM (2007) Disposition of [¹⁴C]N,N-dimethyl-p-toluidine in F344 rats and B6C3F1 mice. *J Toxicol Environ Health A* 70(10): 789–798. <https://doi.org/10.1080/15287390701206291>
- Druckrey H, Schmahl D, Reiter A (1954) Fehlen einer kanzerogenen Wirkung bei den drei N-Dimethyltoluidinen an Ratten. *Arzneimittelforschung* 4(6): 365–366
- Dunnick JK, Brix A, Sanders JM, Travlos GS (2014) N,N-Dimethyl-p-toluidine, a component in dental materials, causes hematologic toxic and carcinogenic responses in rodent model systems. *Toxicol Pathol* 42(3): 603–615. <https://doi.org/10.1177/0192623313489604>
- Dunnick JK, Merrick BA, Brix A, Morgan DL, Gerrish K, Wang Y, Flake G, Foley J, Shockley KR (2016) Molecular changes in the nasal cavity after N,N-dimethyl-p-toluidine exposure. *Toxicol Pathol* 44(6): 835–847. <https://doi.org/10.1177/0192623316637708>
- Dunnick JK, Shockley KR, Morgan DL, Brix A, Travlos GS, Gerrish K, Sanders JM, Ton TV, Pandiri AR (2017) Hepatic transcriptomic alterations for N,N-dimethyl-p-toluidine (DMPT) and p-toluidine after 5-day exposure in rats. *Arch Toxicol* 91(4): 1685–1696. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1831-7>
- DuPont Haskell Global Centers for Health and Environmental Sciences (2009) N,N-Dimethyl-p-toluidine CAS # 99-97-8. NTIS/OTS0602772. Alexandria, VA: NTIS. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0602772.xhtml>, abgerufen am 10 Jan 2020
- Dutrée-Meulenberg ROGM, Koziel MMA, van Joost T (1992) Burning mouth syndrome: a possible etiologic role for local contact hypersensitivity. *J Am Acad Dermatol* 26(6): 935–940. [https://doi.org/10.1016/0190-9622\(92\)70136-4](https://doi.org/10.1016/0190-9622(92)70136-4)
- Eben R, Dietrich K-A, Nerz C, Schneider S, Schuh A, Banke JJ, Mazoochian F, Thomas P (2010) Kontaktallergieraten gegen Metalle und Knochenzementbestandteile bei Patienten mit Endoprothesenunverträglichkeit. *Dtsch Med Wochenschr* 135(28–29): 1418–1422. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1262426>
- ECHA (European Chemicals Agency) (2020) N,N-Dimethyl-p-toluidine (CAS number 99-97-8). Registration dossier. Joint submission, first publication 05 Dec 2012, last modification 28 Nov 2019. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/8746>, abgerufen am 18 Okt 2017
- Fiserova-Bergerova V, Pierce JT, Droz PO (1990) Dermal absorption potential of industrial chemicals: criteria for skin notation. *Am J Ind Med* 17(5): 617–635. <https://doi.org/10.1002/ajim.4700170507>
- Gebhardt M, Geier J (1996) Evaluation of patch test results with denture material series. *Contact Dermatitis* 34(3): 191–195. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1996.tb02172.x>
- Gebhardt M, Geier J, Welker D (1996) Kontaktallergie auf Prothesenkunststoffe und Differentialdiagnostik der Prothesenintoleranz. Eine Studie der DKG und des IVDK – Online DZZ. *Dtsch Zahnärztl Z* 51(7): 395–398
- Geier J, Uter W, Lessmann H, Schnuch A (2003) The positivity ratio – another parameter to assess the diagnostic quality of a patch test preparation. *Contact Dermatitis* 48(5): 280–282. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0536.2003.00033.x>
- Genter MB, Liang H-C, Gu J, Ding X, Negishi M, McKinnon RA, Nebert DW (1998) Role of CYP2A5 and 2G1 in acetaminophen metabolism and toxicity in the olfactory mucosa of the Cyp1a2(–/–) mouse. *Biochem Pharmacol* 55(11): 1819–1826. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(98\)00004-5](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(98)00004-5)
- Granchi D, Cenni E, Trisolino G, Giunti A, Baldini N (2006) Sensitivity to implant materials in patients undergoing total hip replacement. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 77(2): 257–264. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30445>
- Greim H, Hrsg (2007) Anilin. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 42. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb6253d0042>
- Gupta RL, Gupta AK, Pathak DP, Juneja TR (1987) Mutagenic studies of ortho-toluidine and its potential metabolites. *Indian J Exp Biol* 25(9): 618–622
- Haddad FS, Levell NJ, Dowd PM, Cobb AG, Bentley G (1995) Cement hypersensitivity: a cause of aseptic loosening? *J Bone Joint Surg Br* 77(2): 329–330. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.77B2.7706360>
- Haddad FS, Cobb AG, Bentley G, Levell NJ, Dowd PM (1996) Hypersensitivity in aseptic loosening of total hip replacements. The role of constituents of bone cement. *J Bone Joint Surg Br* 78(4): 546–549. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.78B4.0780546>
- Harkema JR, Carey SA, Wagner JG (2006) The nose revisited: a brief review of the comparative structure, function, and toxicologic pathology of the nasal epithelium. *Toxicol Pathol* 34(3): 252–269. <https://doi.org/10.1080/01926230600713475>
- Henschler D, Hrsg (1990) N,N-Dimethylanilin. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 16. Lieferung. Weinheim: VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb12169d0016>
- Hill JG, Grimwood RE, Hermes CB, Marks JG Jr (1998) Prevalence of occupationally related hand dermatitis in dental workers. *J Am Dent Assoc* 129(2): 212–217. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1998.0180>
- Holness DL, Nethercott JR (1997) Results of patch testing with a special series of rubber allergens. *Contact Dermatitis* 36(4): 207–211. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1997.tb00271.x>

- IARC (International Agency for Research on Cancer) (2018) N,N-Dimethyl-p-toluidine. In: Some industrial chemicals. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Band 115. Lyon: IARC Press. S. 171–187. https://publications.iarc.fr/_publications/media/download/5409/5f12a3cfc6a2291b8dca418b2d322642ccb8f0fc.pdf, abgerufen am 06 Jan 2020
- IVDK (Informationsverbund Dermatologischer Kliniken) (2017) Auswertung der zwischen 1997 und 2016 dokumentierten Daten. 2017, Göttingen: IVDK, unveröffentlicht
- Kaaber S, Thulin H, Nielsen E (1979) Skin sensitivity to denture base materials in the burning mouth syndrome. *Contact Dermatitis* 5(2): 90–96. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1979.tb04805.x>
- Kanerva L, Jolanki R, Estlander T (1997) Allergic and irritant patch test reactions to plastic and glue allergens. *Contact Dermatitis* 37(6): 301–302. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1997.tb02474.x>
- Kanerva L, Jolanki R, Alanko K, Estlander T (1999) Patch-test reactions to plastic and glue allergens. *Acta Derm Venereol* 79(4): 296–300. <https://doi.org/10.1080/000155599750010706>
- Kao L, Leikin JB, Crockett M, Burda A (1997) Methemoglobinemia from artificial fingernail solution. *JAMA* 278(7): 549–550. <https://doi.org/10.1001/jama.1997.03550070041034>
- Kiec-Swierczyńska M, Krecisz B (2002) Allergic contact dermatitis in dentists and dental nurses. *Exog Dermatol* 1(1): 27–31. <https://doi.org/10.1159/000047988>
- Kim N-C, Ghanbari K, Kracko DA, Weber WM, McDonald JD, Dix KJ (2007) Identification of urinary metabolites of orally administered N,N-dimethyl-p-toluidine in male F344 rats. *J Toxicol Environ Health A* 70(10): 781–788. <https://doi.org/10.1080/15287390701206176>
- Laube B, Michaelsen S, Meischner V, Hartwig A, Epe B, Schwarz M (2019) Classification or non-classification of substances with positive tumor findings in animal studies: Guidance by the German MAK commission. *Regul Toxicol Pharmacol* 108: 104444. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2019.104444>
- Lee S, Pagoria D, Raigrodski A, Geurtsen W (2007) Effects of combinations of ROS scavengers on oxidative DNA damage caused by visible-light-activated camphorquinone/N,N-dimethyl-p-toluidine. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 83(2): 391–399. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30808>
- Li Y-C, Huang F-M, Lee S-S, Lin R-H, Chang Y-C (2007) Protective effects of antioxidants on micronuclei induced by camphorquinone/N,N-dimethyl-p-toluidine employing in vitro mammalian test system. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 82(1): 23–28. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30700>
- Li Y-C, Huang F-M, Lee S-S, Lin R-H, Chou M-Y, Chang Y-C (2008) Protective effects of antioxidants on micronuclei induced by irradiated 9-fluorenone/N,N-dimethyl-p-toluidine in CHO cells. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 84(1): 58–63. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30843>
- Liso PA, Vázquez B, Reuelta M, Hernáez ML, Rotger R, San Román J (1997) Analysis of the leaching and toxicity of new amine activators for the curing of acrylic bone cements and composites. *Biomaterials* 18(1): 15–20. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(96\)00082-8](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(96)00082-8)
- Lyapina M, Kundurjiev T, Lyubomirova K, Stanev E, Savova Z (2019) Contact sensitization to methacrylic monomers among dental technician students in relation to duration of educational exposure. *J IMAB* 25(2): 2526–2531. <https://doi.org/10.5272/jimab.2019252.2526>
- Marques MM, Mourato LLG, Amorim MT, Santos MA, Melchior WB, 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(11): 1266–1274. <https://doi.org/10.1021/tx970104w>
- Masuki K, Nomura Y, Bhawal UK, Sawajiri M, Hirata I, Nahara Y, Okazaki M (2007) Apoptotic and necrotic influence of dental resin polymerization initiators in human gingival fibroblast cultures. *Dent Mater J* 26(6): 861–869. <https://doi.org/10.4012/dmj.26.861>
- Miller EG, Washington VH, Bowles WH, Zimmermann ER (1986) Mutagenic potential of some chemical components of dental materials. *Dent Mater* 2(4): 163–165. [https://doi.org/10.1016/s0109-5641\(86\)80028-8](https://doi.org/10.1016/s0109-5641(86)80028-8)
- NCBI (National Center for Biotechnology Information) (2020) Dimethyl-4-toluidine. PubChem annotation record. Source: HSDB. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/8202>, abgerufen am 13 Jan 2020
- Neumann H-G, Hrsg (2003) Monozyklische aromatische Amino- und Nitroverbindungen: Vergleichende Betrachtungen zur Toxizität, Genotoxizität und Kanzerogenität als Beitrag zu ihrer Einstufung in eine Kanzerogenitäts-Kategorie. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 37. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb0maryverd0037>
- NLM (National Library of Medicine) (2022) Dimethyl-4-toluidine. ChemIDplus Data Bank. <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/name/dimethyl-4-toluidine>, abgerufen am 08 Apr 2022
- Noda M, Wataha JC, Kachi H, Lewis JB, Messer RL, Sano H (2007) Radicals produced by blue-light-resin interactions alter the redox status of THP1 human monocytes. *J Biomed Mater Res A* 83(1): 123–129. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.31222>
- Nomura Y, Ishibashi H, Miyahara M, Shinohara R, Shiraishi F, Arizono K (2003) Effects of dental resin metabolites on estrogenic activity in vitro. *J Mater Sci Mater Med* 14(4): 307–310. <https://doi.org/10.1023/a:1022923713892>
- NTP (National Toxicology Program) (1999) Summary of data for chemical selection, N,N-Dimethyl-p-toluidine, 99-97-8. Research Triangle Park, NC: NTP. https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/chem_background/exsumpdf/dmpt_508.pdf, abgerufen am 03 Mrz 2016

- NTP (National Toxicology Program) (2012) NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of N,N-dimethyl-p-toluidine (CAS No. 99-97-8) in F344/N rats and B6C3F1/N mice (gavage studies). TR 579. Research Triangle Park, NC: NTP. https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr579_508.pdf, abgerufen am 10 Jan 2020
- Potter JL, Krill CE Jr, Neal D, Kofron WG (1988) Methemoglobinemia due to ingestion of N,N-dimethyl-p-toluidine, a component used in the fabrication of artificial fingernails. *Ann Emerg Med* 17(10): 1098–1100. [https://doi.org/10.1016/s0196-0644\(88\)80455-4](https://doi.org/10.1016/s0196-0644(88)80455-4)
- RAC (Committee for Risk Assessment) (2021) Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of N,N-dimethyl-p-toluidine. CLH-O-0000007005-83-01/F. Helsinki: ECHA. <https://echa.europa.eu/documents/10162/76a9ceee-7d12-6dc1-88c3-7247f327e8a3>, abgerufen am 10 Mai 2022
- Rai R, Dinakar D, Kurian SS, Bindoo YA (2014) Investigation of contact allergy to dental materials by patch testing. *Indian Dermatol Online J* 5(3): 282–286
- Richter G, Geier J (1996) Dentalwerkstoffe – Problemsubstanzen in der allergologischen Diagnostik? Teil I: Analyse der Testergebnisse bei Patienten mit Mundschleimhaut/Dentalwerkstoff-Problemen. *Hautarzt* 47(11): 839–843. <https://doi.org/10.1007/s001050050517>
- Rustemeyer T, Frosch PJ (1996) Occupational skin diseases in dental laboratory technicians. (I). Clinical picture and causative factors. *Contact Dermatitis* 34(2): 125–133. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1996.tb02144.x>
- Şahin EB, Çetinözman F, Avcu N, Karaduman A (2016) Evaluation of patients with oral lichenoid lesions by dental patch testing and results of removal of the dental restoration material. *Arch Turk Dermatol Venerol*. <https://doi.org/10.4274/turkderm.86836>
- Santosh V, Ranjith K, Shenoj SD, Sachin V, Balachandran C (1999) Results of patch testing with dental materials. *Contact Dermatitis* 40(1): 50–51. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1999.tb05980.x>
- Seifried HE, Seifried RM, Clarke JJ, Junghans TB, San RHC (2006) A compilation of two decades of mutagenicity test results with the Ames Salmonella typhimurium and L5178Y mouse lymphoma cell mutation assays. *Chem Res Toxicol* 19(5): 627–644. <https://doi.org/10.1021/tx0503552>
- Seifried HE, Seifried RM, Clarke JJ, Junghans TB, San RHC (2008) Erratum to: „A compilation of two decades of mutagenicity test results with the Ames Salmonella typhimurium and L5178Y mouse lymphoma cell mutation assays, *Chem Res Toxicol* 19(5):627–644“. *Chem Res Toxicol* 21(2): 554–555. <https://doi.org/10.1021/tx800011s>
- Seto Y, Guengerich FP (1993) Partitioning between N-dealkylation and N-oxygenation in the oxidation of N,N-dialkylarylamines catalyzed by cytochrome P450 2B1. *J Biol Chem* 268(14): 9986–9997
- Shmidt E, Farmer SA, Davis MDP (2010) Patch-testing with plastics and glues series allergens. *Dermatitis* 21(5): 269–274. <https://doi.org/10.2310/6620.2010.10024>
- Stea S, Granchi D, Zolezzi C, Ciapetti G, Visentin M, Cavedagna D, Pizzoferrato A (1997) High-performance liquid chromatography assay of N,N-dimethyl-p-toluidine released from bone cements: evidence for toxicity. *Biomaterials* 18(3): 243–246. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(96\)00121-4](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(96)00121-4)
- Stepan AF, Walker DP, Bauman J, Price DA, Baillie TA, Kalgutkar AS, Aleo MD (2011) Structural alert/reactive metabolite concept as applied in medicinal chemistry to mitigate the risk of idiosyncratic drug toxicity: a perspective based on the critical examination of trends in the top 200 drugs marketed in the United States. *Chem Res Toxicol* 24(9): 1345–1410. <https://doi.org/10.1021/tx200168d>
- Suter VGA, Warnakulasuriya S (2016) The role of patch testing in the management of oral lichenoid reactions. *J Oral Pathol Med* 45(1): 48–57. <https://doi.org/10.1111/jop.12328>
- Taningher M, Pasquini R, Bonatti S (1993) Genotoxicity analysis of N,N-dimethylaniline and N,N-dimethyl-p-toluidine. *Environ Mol Mutagen* 21(4): 349–356. <https://doi.org/10.1002/em.2850210406>
- Thomas P, Schuh A, Eben R, Thomsen M (2008) Allergie auf Knochenzementbestandteile. *Orthopäde* 37(2): 117–120. <https://doi.org/10.1007/s00132-008-1195-7>
- Thomas B, Kulichova D, Wolf R, Summer B, Mahler V, Thomas P (2015) High frequency of contact allergy to implant and bone cement components, in particular gentamicin, in cemented arthroplasty with complications: usefulness of late patch test reading. *Contact Dermatitis* 73(6): 343–349. <https://doi.org/10.1111/cod.12465>
- Tibaldi R, ten Berge W, Drolet D (2014) Dermal absorption of chemicals: estimation by IH SkinPerm. *J Occup Environ Hyg* 11(1): 19–31. <https://doi.org/10.1080/15459624.2013.831983>
- Tosti A, Bardazzi F, Piancastelli E, Brasile GP (1990) Contact stomatitis due to N,N-dimethyl-para-toluidine. *Contact Dermatitis* 22(2): 113. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1990.tb01533.x>
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2009) Screening-level hazard characterization – Monocyclic aromatic amines category. Hazard Characterization Document. Washington, DC: US EPA. <https://nepis.epa.gov/Exec/Query/PDF.cgi/P1013BBW.PDF?Dockey=P1013BBW.PDF>, abgerufen am 11 Jan 2020
- Verschueren GLA, Bruynzeel DP (1991) Allergy to N,N-dimethyl-p-toluidine in dental materials. *Contact Dermatitis* 24(2): 149. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1991.tb01680.x>
- Volk J, Leyhausen G, Wessels M, Geurtsen W (2014) Reduced glutathione prevents camphorquinone-induced apoptosis in human oral keratinocytes. *Dent Mater* 30(2): 215–226. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.11.008>

- Wessels M, Rimkus J, Leyhausen G, Volk J, Geurtsen W (2015) Genotoxic effects of camphorquinone and DMT on human oral and intestinal cells. *Dent Mater* 31(10): 1159–1168. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2015.06.007>
- Winter K, Pagoria D, Geurtsen W (2005) The effect of antioxidants on oxidative DNA damage induced by visible-light-irradiated camphorquinone/*N,N*-dimethyl-*p*-toluidine. *Biomaterials* 26(26): 5321–5329. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.01.068>