

Diepoxybutan

[1464-53-5]

Keimzellmutagene Wirkung (2002)

Kategorie 2

Diepoxybutan wurde bisher nicht als Arbeitstoff behandelt und ist dementsprechend in der MAK- und BAT-Werte-Liste nicht aufgeführt. Es wird in kleinen Mengen hauptsächlich für Forschungszwecke produziert und wurde als Vernetzungsmittel von Textilien und bei der Herstellung von Kunststoffen vorgeschlagen (IARC 1999). Beachtung findet es vor allem als einer der reaktionsfähigen Metaboliten von 1,3-Butadien. Im Nachtrag Butadien von 1998 wird der Nachweis von N-(2,3,4-Trihydroxybutyl)valin als Spaltprodukt des Hämoglobin-Addukts im Blut von Butadien-exponierten Arbeitern als Hinweis für eine mögliche Belastung durch den Metaboliten Diepoxybutan angesehen (siehe Nachtrag Butadien 1998). Auch in der jüngst erschienenen IARC-Monographie wird Diepoxybutan zusammen mit Butadien abgehandelt, da es einen wichtigen Butadien-Metaboliten darstellt (IARC 1999). Diepoxybutan wird dort in die Kanzerogenitätskategorie 2 A eingestuft. Eine Begründung zur Einstufung nach Gefahrstoffverordnung zu Diepoxybutan wurde im Bundesarbeitsblatt veröffentlicht (AGS 1997).

Metabolismus und Verteilung

Für die Bewertung als Keimzellmutagen spielt die systemische Verfügbarkeit der reaktionsfähigen Verbindung und damit die mögliche Exposition der Zielorgane eine Rolle. Nach oraler Aufnahme ist die systemische Verfügbarkeit von Diepoxybutan wahrscheinlich nur sehr gering, da es zum überwiegenden Teil im sauren Milieu des Magens sehr schnell hydrolysiert wird. Dieser Effekt wurde an einer Reihe von Epoxiden demonstriert (Ross et al. 1982).

Gelangt Diepoxybutan durch Inhalation oder als Butadienmetabolit in den Organismus, dann ist es genügend stabil, um mit dem Blutfluss alle Gewebe erreichen zu können. Bei der Ratte beträgt die Halbwertszeit im Blut nach i.v. Applikation von 523 µmol Diepoxybutan/kg KG 14 min (Valentine et al. 1997). Nach inhalativer Exposition gegenüber 62,5; 625 oder 1250 ml Butadien/m³ (223; 2230 oder 4460 mg/m³) über 6 Stunden wurden bei Mäusen als Steady-state im Blut 0,65; 1,9 bzw. 2,5 µmol Diepoxybutan/l bestimmt (Himmelstein et al. 1994, 1995). Diepoxybutan konnte nach Inhalation von 62,5 ml Butadien/m³ über den Zeitraum von 4 Stunden in allen untersuchten Geweben bei der männlichen Maus, aber auch in verschiedenen Geweben der Ratte nachgewiesen werden (Thornton-Manning et al. 1995). Resorbiertes Diepoxybutan verteilt sich in alle Gewebe, wobei ein Verteilungskoeffizient von 1 für die Gewebe:Blut-Verhältnisse abgeschätzt wurde (Csanády et al. 1996). Man kann davon ausgehen, dass Diepoxybutan auch die Keimzellen erreicht.

2 Diepoxybutan

Genotoxizität

In vitro

Diepoxybutan ist in fast allen In-vitro-Testsystemen mutagen. Seine Wirksamkeit wird darauf zurückgeführt, dass es zwei funktionelle Gruppen enthält, die zu DNA-DNA- und DNA-Protein-Vernetzungen führen können. Es wird metabolisch durch die mikrosomale Epoxid-Hydrolase und die zytosolische Glutathion-S-Transferase inaktiviert. Durch Bestimmung der kinetischen Konstanten beider Enzyme in Lebermikrosomen bzw. Leberzellzytosol mit Diepoxybutan als Substrat konnte gezeigt werden, dass die Reaktion der Hydrolase beim Menschen schneller ist als bei Ratte und Maus, während die Aktivität der Glutathion-S-Transferase bei Ratte und Maus deutlich höher ist als beim Menschen (Boogard und Bond 1996; Boogard et al. 1996).

In vivo

Wesentliche Daten zu den genotoxischen Eigenschaften von Diepoxybutan als einem Metaboliten von 1,3-Butadien sind in einem Bericht über ein Forschungsprogramm der Europäischen Union (Adler und Pacchierotti 1998) sowie in der IARC-Monographie (IARC 1999) enthalten. Die wichtigsten Ergebnisse von Untersuchungen zur mutagenen Wirkung von Diepoxybutan in somatischen Zellen und Keimzellen in vivo werden im Folgenden beschrieben.

Somazellen

Negativ verlief der Versuch, HPRT-Mutationen in Lymphozyten der Milz bei Mäusen und Ratten nachzuweisen. Diepoxybutan war dabei mit dem Trinkwasser verabreicht worden (0,3 oder 1 mmol/l über 30 Tage; Tates et al. 1998). Es ist allerdings davon auszugehen, dass oral verabreichtes Diepoxybutan kaum systemisch zur Verfügung steht, da es zum überwiegenden Teil im sauren Milieu des Magens sehr schnell hydrolysiert wird. Das verbliebene Diepoxid wird nach seiner Aufnahme in die Pfortader bei der ersten Leberpassage einer metabolischen „First-pass“-Elimination unterworfen.

Diepoxybutan war in Knochenmarkszellen von Mäusen klastogen. Vierundzwanzig Stunden nach einmaligen i.p. Injektionen von 0; 4,5; 9,0; 18,0 oder 36 mg/kg KG waren ab 9,0 mg/kg KG die Zahl der Mikronuklei in polychromatischen Erythrozyten männlicher und weiblicher Mäuse signifikant erhöht. Die Dosis-Wirkungsbeziehung war linear (Adler et al. 1995).

Mikronuklei wurden auch in peripheren Retikulozyten 48 Stunden nach i.p. Injektion von 0,17 oder 0,35 mmol Diepoxybutan/kg KG (14,6 oder 30,1 mg/kg KG) bei der Maus statistisch signifikant nachgewiesen (Russo et al. 1997).

Die klastogene Wirkung von Diepoxybutan in der Milz wurde in einem Mikronukleus-Versuch bei der Ratte mit den Dosierungen 0, 20, 30, 3×10 oder 40 mg Diepoxybutan/kg KG und bei der Maus mit den Dosierungen 0, 15 oder 30 mg/kg KG geprüft. Die niedrigste wirksame i.p. Dosis war einen Tag nach der Behandlung bei der Maus 15, bei der Ratte 30 mg/kg KG (Xiao und Tates 1995).

Nach der i.p. Behandlung von CD-1-Mäusen mit 0, 15 oder 30 mg Diepoxybutan/kg KG und nach der i.p. Behandlung von Sprague-Dawley-Ratten mit 0, 25 oder 50 mg Diepoxybutan/kg KG wurden im Knochenmark Mikronuklei nachgewiesen. Tests auf

DNA-Einzelstrangbrüche mittels Comet-Assay im Knochenmark beider Spezies mit den obengenannten Dosierungen waren ebenfalls positiv (Anderson et al. 1997).

Keimzellen

Diepoxybutan war in männlichen Keimzellen von Mäusen klastogen. Es wurden folgende Untersuchungen gemacht: Chromosomenaberrationen in der ersten Furchungsteilung nach der Behandlung männlicher Mäuse mit 17, 26, 34, 43 oder 52 mg Diepoxybutan/kg KG und zytogenetische Untersuchungen nach der Verpaarung der männlichen Mäuse mit hormonell stimulierten weiblichen Mäusen 7, 14, 21 oder 28 Tage nach der Behandlung. Die Befruchtungsrate der weiblichen Tiere war am 7. Tag nach Behandlung der männlichen Tiere mit einer Dosis von 43 und 52 mg/kg KG reduziert, die Rate der unbefruchteten Eizellen war schon bei 34 mg/kg KG erhöht. Eine signifikant erhöhte Häufigkeit von Embryonen mit strukturellen Chromosomenaberrationen wurde schon bei der niedrigsten Dosis von 17 mg/kg KG beobachtet. Die Dosis-Wirkungskurve bildete zwischen 26 und 34 mg/kg KG ein Plateau, das auf die zytotoxische Wirkung zurückgeführt wird. Bei einer Dosis von 26 mg/kg KG waren die Chromosomenaberrationen nur in Embryonen erhöht, die durch Befruchtung mit exponierten Spermatozoen (Paarungstag 7) gebildet wurden, während die Embryonen aus exponierten Spermatiden (14. und 21. Paarungstag) oder exponierten Spermatozyten (28. Paarungstag) keine klastogenen Effekte zeigten. Die Mehrzahl der Chromosomenaberrationen war dem Chromosomen-Typ (Isochromatidbrüche und dizentrische Chromosomen) zuzuordnen (Adler et al. 1995).

Die genotoxische Wirkung von Diepoxybutan wurde auch in Maus-Oozyten geprüft. Hormonell stimulierte weibliche Mäuse erhielten 26 oder 52 mg/kg KG der Substanz i.p. verabreicht und wurden mit unbehandelten männlichen Mäusen verpaart. Die Oozyten wurden etwa 1,5 Tage vor der Ovulation exponiert. Analysiert wurden die Chromosomenaberrationen in der Metaphase von Einzell-Embryonen in der ersten Furchungsteilung. Sie waren dosisabhängig erhöht. Die Hälfte der Veränderungen betraf Brüche und Austausche vom Chromatid-Typ. Unter den Chromosomentyp-Aberrationen überwogen Doppelfragmente die Chromosomen-Austausche (Tiveron et al. 1997). Mikronuklei wurden auch in frühen Spermatiden nach i.p. Injektion von 0,17 oder 0,35 mmol Diepoxybutan/kg KG (14,6 oder 30,1 mg/kg KG) bei der Maus bestimmt. Sie waren in den Keimzellen nach einer Behandlung von Zellen in der prämeiotischen S-Phase erhöht. Der Effekt war deutlich schwächer bei behandelten späten Spermatozyten kurz vor der meiotischen Teilung (Russo et al. 1997).

Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei der Ratte erhalten. Die Häufigkeit von Mikronuklei war in Spermatiden vor allem nach Behandlung der meiotischen S-Phase, 18 Tage nach der i.p. Behandlung mit 186 nmol Diepoxybutan/kg KG (16 mg/kg KG) erhöht. Spätere Stadien der meiotischen Prophase waren weniger empfindlich. Die Mikronuklei in Spermatiden waren auch nach Behandlung von Stammzell-Spermatogonien, 50 Tage nach der Behandlung, geringfügig vermehrt (Lähdetie et al. 1997).

Die klastogene Wirkung von Diepoxybutan in Spermatozyten wurde in einem weiteren Versuch bei Ratte und Maus geprüft. Die niedrigste wirksame i.p. Dosis bei der Maus war 15, bei der Ratte 30 mg/kg KG. Die Mikronuklei wurden in diesem Fall bei Spermatozyten in verschiedenen Stadien der meiotischen Prophase (Präleptotän, Zygotän, Diplotän, Diakinese) gefunden (Xiao und Tate 1995).

4 Diepoxybutan

Im Dominant-Letaltest mit den Dosierungen von 18, 36 oder 54 mg/kg KG entsprach die Wirkung den zytogenetischen Beobachtungen an den Embryonen (s.o.). Bei der höchsten Dosis von 54 mg/kg KG war die Zytotoxizität in den ersten 8 Paarungstagen so ausgeprägt und die Zahl der Implantate so reduziert, dass keine signifikanten Dominant-Letal-Effekte beobachtet werden konnten. Dagegen waren die toten Implantate signifikant erhöht, wenn exponierte späte Spermatiden in den Paarungstagen 9–12 zur Befruchtung kamen. Bei den niedrigeren Dosen 18 und 36 mg Diepoxybutan/kg KG waren die Dominant-Letal-Effekte auf exponierte Spermatozoen beschränkt. Die Chromosomenaberrationen in den Embryonen korrelierten gut mit den Dominant-Letalmutationen, wodurch der chromosomale Ursprung der Dominant-Letalmutationen bestätigt wurde. Außerdem entsprach der klastogene Effekt in somatischen Zellen demjenigen in den Keimzellen der Mäuse (Adler et al. 1995).

Nach der i.p. Behandlung von CD-1-Mäusen mit 0, 15 oder 30 mg Diepoxybutan/kg KG und der i.p. Behandlung von Sprague-Dawley-Ratten mit 0, 25 oder 50 mg Diepoxybutan/kg KG wurden keine DNA-Einzelstrangbrüche mittels Comet-Assay in den Testes nachgewiesen (Anderson et al. 1997).

Bewertung

Diepoxybutan ist ein stark wirksames bifunktionelles Alkylans, das in vitro und in vivo mit DNA reagiert. Es lässt sich im Blut von Butadien-exponierten Versuchstieren nachweisen und erreicht alle Gewebe, also auch die Keimzellen. Bei der Ratte wurde eine Eliminationshalbwertszeit von 14 Minuten nach i.v. Gabe bestimmt. Diepoxybutan ist in fast allen Testsystemen in vitro und in vivo mutagen. Es erzeugt in vivo DNA-Addukte sowie Mikronuklei in somatischen Zellen von Ratte und Maus. In Keimzellen der Maus induziert Diepoxybutan Mikronuklei, Chromosomenaberrationen, die zu Dominant-Letalmutationen führen können, sowie direkt nachgewiesene Dominant-Letalmutationen. Die letzteren Befunde führen zur Einstufung von Diepoxybutan in Kategorie 2 für Keimzellmutagene.

Literatur

- Adler I-D, Pacchierotti F (Hrsg.) (1998) Multi-endpoint analysis of genetic damage induced by 1,3-butadiene and its major metabolites. *Mutat Res* 397 (special issue): 1–118
- Adler I-D, Kliesch U, Tiveron C, Pacchierotti F (1995) Clastogenicity of diepoxybutane in bone marrow cells and male germ cells of mice. *Mutagenesis* 10: 535–541
- AGS (Ausschuss für Gefahrstoffe) (1997) 1,2,3,4-Diepoxybutan (1,3-Butadiendiepoxid) (Cas-Nr.: 1464-53-5). *Bundesarbeitsblatt* 11: 47–50
- Anderson D, Dobrzynka MM, Jackson LI, Yu TW, Brinkworth MH (1997) Somatic and germ cell effects in rats and mice after treatment with 1,3-butadiene and its metabolites, 1,2-epoxybutene and 1,2,3,4-diepoxybutane. *Mutat Res* 391: 233–242
- Boogard PJ, Bond J (1996) The role of hydrolysis in the detoxification of 1,2:3,4-diepoxybutane by human, rat and mouse liver and lung in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 141: 617–627
- Boogard PJ, Summer S C-J, Bond JA (1996) Glutathione conjugation of 1,2:3,4-diepoxybutane in human liver and rat and mouse liver and lung in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 136: 307–316
- Csanády GA, Kreuzer PE, Baur C, Filser JG (1996) A physiological toxicokinetic model for 1,3-butadiene in rodents and man: blood concentrations of 1,3-butadiene, its metabolically formed epoxides, and of haemoglobin adducts – relevance of glutathione depletion. *Toxicology* 113: 300–305

- Himmelstein MW, Turner MJ, Asgharian B, Bond JA (1994) Comparison of blood concentrations of 1,3-butadiene and butadiene epoxides in mice and rats exposed to 1,3-butadiene. *Carcinogenesis* 15: 1479–1486
- Himmelstein MW, Asgharian B, Bond JA (1995) High concentrations of butadiene epoxides in livers and lungs of mice compared to rats exposed to 1,3-butadiene. *Toxicol Appl Pharmacol* 132: 281–288
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (1999) IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide, IARC Lyon 71: 109–226
- Lähdetie J, Peltonen K, Sjöblom T (1997) Germ cell mutagenicity of three metabolites of 1,3-butadiene in the rat: induction of spermatid micronuclei by butadiene mono-, di-, and diol-epoxides in vivo. *Environ Mol Mutagen* 29: 230–239
- Ross AM, Pohl TM, Piazza K, Thomas M, Fox B, Whalen DL (1982) Vinyl epoxide hydrolysis reaction. *J Am Chem Soc* 104: 1658–1665
- Russo A, Nogara C, Renzi L, Tommasi AM (1997) Micronucleus induction in germ and somatic cells of the mouse after exposure to the butadiene metabolites diepoxybutane and epoxybutene. *Mutat Res* 390: 129–139
- Tates AD, van Dam FJ, van Teylingen CMM, de Zwart FA, Zwinderman AH (1998) Comparison of induction of hprt mutations by 1,3-butadiene and/or its metabolites 1,1,2-epoxybutene and 1,2,3,4-diepoxybutane in lymphocytes from spleen of adult male mice and rats in vivo. *Mutat Res* 397: 21–36
- Tiveron C, Ranaldi R, Bassani B, Pacchierotti F (1997) Induction and transmission of chromosome aberrations in mouse oocytes after treatment with butadiene diepoxide. *Environ Mol Mutagen* 30: 403–409
- Thornton-Manning JR, Dahl AR, Bechtold WE, Griffith WC Jr, Henderson RF (1995) Disposition of butadiene monoepoxide and butadiene diepoxide in various tissues of rats and mice following a low level inhalation exposure to 1,3-butadiene. *Carcinogenesis* 16: 1723–1731
- Valentine JL, Boogard PJ, Sweeny LM, Turner MJ, Bond JA, Medinsky MA (1997) Disposition of butadiene epoxides in Sprague-Dawley rats. *Chem Biol Interact* 104: 103–115
- Xiao Y, Tate AD (1995) Clastogenic effects of 1,3-butadiene and its metabolites 1,2-epoxybutene and 1,2,3,4-diepoxybutane in splenocytes and germ cells of rats and mice in vivo. *Environ Mol Mutagen* 26: 97–108

abgeschlossen am 18.09.2001