

# Verstoffwechslung aromatischer Amine

## Neue Erkenntnisse zur metabolischen Dephenylierung von *N*-Phenyl-2-Naphthylamin zum humankanzerogenen 2-Naphthylamin



Tobias Weiß, Hermann M. Bolt, Gerhard Schlüter, Stephan Koslitz, Dirk Taeger, Peter Welge, Thomas Brüning

*N*-Phenyl-2-Naphthylamin (P2NA) wurde bis in die 1980er Jahre bei der Herstellung von Gummiprodukten als Alterungsschutzmittel eingesetzt. Insbesondere in den 1950er und 1960er Jahren war P2NA herstellungsbedingt nicht unerheblich mit dem humankanzerogenen aromatischen Amin 2-Naphthylamin (2NA) verunreinigt (IFA 2011). Darüber hinaus steht das P2NA in Verdacht, selbst kanzerogen zu wirken, indem es im Organismus in Teilen zum 2NA verstoffwechselt wird. Auf Basis eines Tiermodells untersuchte das IPA neue qualitative wie quantitative Erkenntnisse zur Verstoffwechslung von P2NA.

Berufliche Expositionen gegenüber P2NA bestanden in Deutschland im Wesentlichen im Bereich der Gummiindustrie bis in die 1980er Jahre. Dort wurde P2NA dem Rohgummi im Bereich der sogenannten Mischerei als Alterungsschutzmittel zugesetzt. Arbeitnehmer in der Mischerei aber auch aus anderen Bereichen einer Gummifabrik waren daher gegenüber P2NA-haltigen Stäuben exponiert. Während jedoch 2NA bekanntermaßen gut hautgängig ist, legen *In-vitro*-Experimente an humaner Haut nahe, dass P2NA nicht dermal aufgenommen wird (Lüersen et al. 2005; 2006). Vor diesem Hintergrund wurde bislang davon ausgegangen, dass berufliche Expositionen an entsprechenden Arbeitsplätzen im Wesentlichen durch die 2NA-Verunreinigung des P2NA geprägt war (Erhard 2000).

### Bisherige Erkenntnisse zum Metabolismus von P2NA

Untersuchungen am Menschen und an verschiedenen Säugetierarten zeigten, dass nach P2NA-Exposition 2NA mit dem Urin ausgeschieden wird. Die im Urin gemessenen Konzentrationen lagen deutlich höher, als aus der 2NA-Verunreinigung zu erwarten gewesen wäre. Es wurde daher geschlussfolgert, dass P2NA nach Aufnahme in den Körper zu einem geringen Anteil zum humankanzerogenen 2NA dephenyliert wird. Allerdings wurden weitere wichtige Metaboliten des 2NA, wie zum Beispiel das *N*-Hydroxy-2-Naphthylamin und sein *N*-Glucuronid oder das 2-Amino-1-Naphthylsulfat bislang nicht im Urin gefunden (Deichmann & Radomski 1969). Zudem erlaubten *In-vitro*-Untersuchungen mit Lebermikro-

rosomen zum Mechanismus der metabolischen Dephenylierung (Anderson et al. 1982) den möglichen Rückschluss, dass zentrale Schritte der 2NA-Freisetzung extrahepatisch ablaufen könnten, da in solchen Inkubationen weder 2NA selbst noch sein Hauptmetabolit 2-Amino-1-Naphthol gefunden werden konnte. Andererseits bestand aber auch die Möglichkeit, dass die zur damaligen Zeit zur Verfügung stehenden analytischen Methoden die gesuchten Metaboliten nicht hinreichend spezifisch oder sensitiv erfassen konnten. Es ist daher bislang unklar, inwieweit das 2NA aus der Dephenylierung von P2NA einer weiteren metabolischen Aktivierung zu kanzerogenen 2NA-Metaboliten zugänglich ist und somit nennenswert zum Krebsgeschehen beitragen kann (Übersicht bei Weiss et al. 2007).

### Tiermodell schafft Klarheit

Auf Basis eines Tiermodells mit Ratten wurde daher unter Verwendung moderner analytischer Methoden am IPA geprüft, ob das im Metabolismus freigesetzte 2NA systemisch für den kanzerogenen Stoffwechselfeld verfügbar ist und gegebenenfalls zu welchem quantitativen Anteil P2NA zu 2NA dephenyliert wird. Hierzu wurden männlichen und weiblichen Ratten verschiedene Dosen an P2NA beziehungsweise 2NA per Schlundsonde verabreicht. Im Blut der Tiere wurde die Konzentration an 2NA-Hämoglobinaddukten hochspezifisch mittels GC-MS/MS-NCI und bei einem Teil der Tiere die 2NA-Konzentration in 24h Sammelurinen mittels GC-MS/MS-EI

gemessen. Da die Hämoglobinaddukte im gleichen Stoffwechsel-  
pfad wie die kanzerogenen Metabolite aromatischer Amine gebildet  
werden (► Abbildung 1), erlaubt der Vergleich ihrer Konzentrationen  
nach P2NA- und 2NA-Gabe einen quantitativen Rückschluss auf die  
effektive 2NA-Dosis nach Exposition gegenüber P2NA.

Nach 2NA-Gabe schieden die Ratten innerhalb von 24 Stunden  
circa 0,6 Prozent der applizierten Dosis unverändert wieder als  
2NA mit dem Urin aus. Nach P2NA-Gabe lagen die im Urin gemessenen  
2NA-Konzentrationen im gleichen Bereich, wie er für ver-  
schiedene Spezies in der Literatur berichtet wurde (0,002 - 0,005%  
der applizierten Dosis innerhalb 48 Stunden). Dabei schieden in  
Übereinstimmung mit der Literatur weibliche Tiere höhere Men-  
gen an 2NA aus.

Erstmals konnte durch unsere Untersuchungen gezeigt werden,  
dass Hämoglobinaddukte des 2NA dosisabhängig sowohl nach  
2NA-Gabe wie auch nach P2NA-Gabe auftreten. Um gleiche Ad-  
duktkonzentrationen hervorzurufen, waren im Vergleich zum 2NA  
jedoch etwa 100-200fach höhere Dosen an P2NA notwendig. Dabei  
wiesen wiederum die weiblichen Tiere höhere Adduktspiegel auf.

Führt man die Ergebnisse aus den Urinuntersuchungen und die  
Ergebnisse der Adduktbestimmungen zusammen, so zeigt sich  
als zentrales Ergebnis, dass etwa 0,5-1 Prozent einer P2NA-Dosis  
zum 2NA dephenyliert werden, wovon wiederum etwa 0,6 Prozent

als 2NA mit dem Urin ausgeschieden werden, sodass sich letzt-  
lich 0,002-0,005 Prozent einer applizierten P2NA Dosis als 2NA  
im Urin wiederfinden..

**Prüfung der Kanzerogenitätseinstufung von P2NA geboten**

Anhand der Ergebnisse der IPA-Studie kann erstmals belegt wer-  
den, dass das durch Dephenylierung aus P2NA entstandene 2NA  
tatsächlich einer weiteren Verstoffwechslung zu den kanzeroge-  
nen 2NA-Metaboliten zugänglich ist. Der Nachweis von 2NA-Hb-  
Addukten nach P2NA-Gabe stellt einen indirekten Beweis für die  
Bildung der Metaboliten *N*-Hydroxy-2-Naphthylamin und 2-Nitro-  
sonaphthalin dar, da diese als Zwischenstufen für die Entstehung  
entsprechender Hämoglobin-Addukte notwendig sind (Abbildung  
1; Weiss et al. 2013). Das erhaltene quantitative Ergebnis hat zudem  
unter der Maßgabe vergleichbarer Verhältnisse zwischen Ratte und  
Mensch unmittelbare Auswirkungen auf die retrospektive Expo-  
sitionsabschätzung im Rahmen von Berufskrankheiten-Feststel-  
lungsverfahren der BK 1301. So ist aufgrund der Ergebnisse dieser  
Studie davon auszugehen, dass Arbeitnehmer in der Gummiindus-  
trie letztlich einer höheren Dosis an 2NA ausgesetzt waren als bis-  
lang angenommen. Dabei trug nicht nur die 2NA-Verunreinigung  
aus dem P2NA wesentlich zum erhöhten Harnblasenkrebsrisiko  
von Gummiarbeitern bei, sondern auch die Exposition gegenüber  
P2NA selbst. Aufgrund der unterschiedlichen Hautpenetrations-  
eigenschaften von 2NA und P2NA sowie dem sukzessiven Rück-  
gang der 2NA-Verunreinigung im P2NA nahm dabei die Relevanz  
der dermalen Exposition aber auch das Harnblasenkrebsrisiko im  
Laufe der Zeit ab, während der relative Einfluss der inhalativen Ex-  
position zunahm. Die hier vorgestellten Ergebnisse sind bereits in  
den BK-Report „Aromatische Amine – Eine Arbeitshilfe in Berufs-  
krankheiten-Feststellungsverfahren“ eingeflossen (IFA 2011). Vor  
dem Hintergrund des Nachweises der Stoffwechselfkaskade zu den  
2NA-Hämoglobin-Addukten sollte darüber hinaus die derzeitige  
Kanzerogenitätseinstufung des P2NA (aktuell Kategorie 3B; DFG  
2012) überprüft werden.

Die Autoren

Prof. Dr. Thomas Brüning, Stephan Koslitz,  
Dr. Dirk Taeger, Dr. Tobias Weiß, Peter Welge  
IPA

Prof. Dr. Hermann M. Bolt  
Leibniz-Institut für Arbeitsforschung an der TU Dortmund (IfAdo)  
Prof. Dr. Gerhard Schlüter  
Wuppertal

Beitrag als PDF

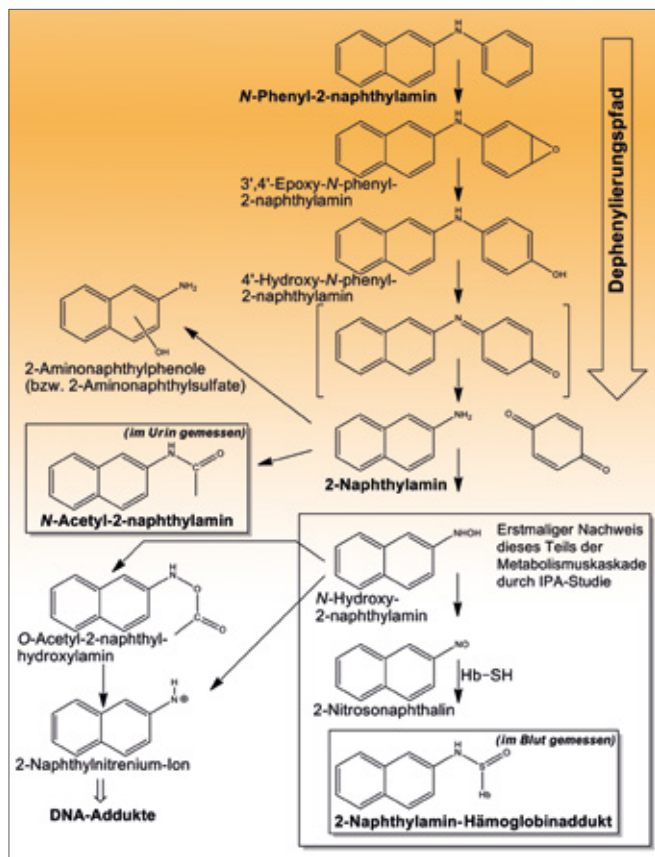


Abb. 1: Metabolismus des P2NA

Eine ausführliche Literaturliste sowie den Artikel im PDF-  
format finden Sie im Internet unter:  
[www.ipa-dguv.de](http://www.ipa-dguv.de) Webcode: 589824

### Literatur

1. Anderson MM, Mitchum RK, Beland FA. Hepatic microsomal metabolism and macromolecular binding of the antioxidant, *N*-phenyl-2-naphthylamine. *Xenobiotica* 1982; 12: 31-43
2. Deichmann WB, Radomski JL. Carcinogenicity and metabolism of aromatic amines in the dog. 1969 *J Natl Cancer Inst.* 43: 263-269
3. Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), MAK- und BAT-Werteliste 2012, Verlag Wiley-VCH, Weinheim (2012)
4. Ehrhard H: Blasenkrebs durch aromatische Amine in der Gummiindustrie –Hinweise zur Exposition. Persönliche Mitteilung 2000
5. IFA. BK-Report 2/2011 „Aromatische Amine“ Eine Arbeitshilfe in Berufskrankheiten-Ermittlungsverfahren. 2. aktualisierte Auflage des BK-Reports 1/2009, Juli 2011
6. Kummer R, and Tordoir, W.F. Phenyl-betanaphthylamine (PBNA), another carcinogenic agent? *T soc Geneesk.* 53:415-419 (1975)
7. Moore RM, Woolf BS, Stein HP, Thomas AW, Finklea JF. Metabolic precursors of a known human carcinogen. *Science* 1977; 195:344
8. Weiss T, Brüning T, Bolt HM. Dephenylation of the rubber chemical *N*-phenyl-2-naphthylamine to carcinogenic 2-naphthylamine: a classical problem revisited. *Crit Rev Toxicol* 2007; 37: 553-566
9. Weiss, T, Bolt HM, Schlüter G, Koslitz S, Taeger D, Welge P, Brüning T. Metabolic dephenylation of the rubber antioxidant *N*-phenyl-2-naphthylamine to carcinogenic 2-naphthylamine in rats. *Arch. Toxicol* 2013. Epub ahead of print.