

2,2'-Bioxiran (1,3-Butadiendiepoxyd)

(CAS-Nr.: 1464-53-5)

Neben dem hier primär betrachteten Butadiendiepoxyd-Isomerengemisch (CAS-Nr. 1464-53-5) liegt Butadiendiepoxyd in mehreren isomeren Formen vor, die im Prinzip alle das gleiche toxikologische Wirkpotential besitzen und daher alle in gleicher Weise eingestuft werden sollten: dl-1,3-Butadiendiepoxyd (CAS-Nr.: 298-18-0), d-1,3-Butadiendiepoxyd (CAS-Nr.: 30419-67-1), l-1,3-Butadiendiepoxyd (CAS-Nr.: 30031-64-2) und meso-1,3-Butadien-diepoxyd (CAS-Nr.: 564-00-1).

Butadiendiepoxyd (BDDE) ist ein direkt wirkendes Alkylans; es wirkt ätzend an Haut und Auge [1].

Genotoxizität:

BDDE zeigt eine dosisabhängige mutagene Wirkung im Ames-Test an den *S.typhimurium*-Stämmen TA 100 und TA 1535 sowie im Test an L 5178 Y Maus-Lymphom-Zellen jeweils sowohl mit als auch ohne Zusatz von S9-Mix. [1] Bei *S. typhimurium* TA 1535-Stämmen mit Expression der Glutathion-S-Transferase 5-5 (Theta-Typ GST/Ratte) bzw. der Human-Glutathion-S-Transferase 1-1 (Theta-Typ) ist die Mutationsrate nach Inkubation mit BDDE deutlich erhöht [2]. Ebenfalls positiv verlief ein Test auf mitotische Rekombination an Hefe [3]. Während im Chromosomenaberrationstest an Rattenleberzellen bei einer BDDE-Konzentration von 0,1 µg/ml bereits Effekte auftraten, ergaben sich im Test an Humanlymphozyten bei dieser einzigen getesteten Konzentration keine Hinweise auf chromosomenschädigende Wirkungen [1]. Im UDS-Test in vitro führte BDDE im Konzentrationsbereich von 0,086-86 µg/ml an Hamsterhepatozyten zu einem schwachen Effekt; an Rattenhepatozyten verlief der Test negativ [1]. Die in vitro-Behandlung mit BDDE führte bei Humanlymphozyten zu einer erhöhten Rate an Schwesterchromatid-Austauschen [4,5]. Die 24-stündige Inkubation von Human-Lymphoblastoid-Zellen (TK6-Zellen) mit BDDE (1,3-5,2 µM) hatte ab einer Konzentration von 1,3 µM (0,112 µg/ml) Mutationen im HGPRT- und im TK-Locus zur Folge [6].

Die Inkubation von 36 mg isolierter Kalbsthymus-DNA mit 4,7 mmol BDDE (404 mg, 18 Std. 37°C) führte zu 3 verschiedenen Hauptaddukten am N⁷ des Guanins [7].

Im Host-mediated assay an Swiss-Webster-Mäusen führte die einmalige i.m.-Injektion von 444 mg BDDE/kg KGW zu einer statistisch signifikant erhöhten Mutationsrate im Indikator-Organismus *S. typhimurium* TA 1530 und nach oraler Gabe von 56 mg/kg KGW im Indikator-Organismus *S. cerevisiae* D3 [8]. Die i.p.-Injektion von 3x 7, 14 oder 21 mg BDDE/kg KGW/ Tag hatte bei B6C3F1-Mäusen Mutationen am HGPRT-Locus von T-Zellen der Milz zur Folge [9]. Bei Maus und Chinesischem Hamster führte die 2-stündige Head-only-Exposition gegenüber 160 bzw. 320 mg BDDE (Aerosol)/m³ sowie die einmalige i.p.-Injektion von maximal

68 mg BDDE/kg KGW zu einer statistisch signifikant erhöhten Rate an Chromosomenaberrationen und an Schwesterchromatid-Austauschen im Knochenmark [1]. Ebenfalls positiv verlief ein Mikronucleus-Test an Ratte und Maus mit einmaliger i.p.-Gabe von maximal 30 mg BDDE/kg KGW (erhöhte Rate an Mikronuclei in den Milzzellen und in Spermatozyten) [1] sowie ein weiterer Mikronucleus-Test an der Maus mit einmaliger i.p.-Injektion von 4,5-36 mg BDDE/kg KGW (ab 9 mg/kg KGW dosisabhängig erhöhte Mikronuclei-Rate im Knochenmark) [10].

Im Dominant-Letal-Test an Swiss-Mäusen führte die i.p.-Injektion von 17 mg BDDE/kg KGW nur zu einer nicht signifikanten Erhöhung der Präimplantationsverluste (64% der trächtigen Tiere mit früher fetaler Mortalität im Vergleich zu 55% bei der Kontrolle) [1].

In einem weiteren Dominant-Letal-Test erhielten männliche Mäuse eine einmalige i.p.-Gabe von 18; 36 bzw. 54 mg/kg KGW. Bei der höchsten Dosis führte die allgemeine Toxizität und die Spermatozoen-Zytotoxizität von BDDE während der ersten 8 Paarungstage zu einer stark reduzierten Anzahl trächtiger Weibchen und infolgedessen zu einer deutlich verringerten Zahl der Implantationen, so dass eine Auswertung bezüglich dominant-letal Mutationen nicht möglich war. Während der Paarungstage 9-12 (Targetzellen: späte Spermatiden) wurde jedoch ein signifikanter dominant-letal Effekt beobachtet. Bei den beiden niedrigeren Dosierungen (18 bzw. 36 mg/kg KGW) war der dominant-letale Effekt beschränkt auf die Spermatozoen [10].

Zur Untersuchung einer clastogenen Wirkung auf die Keimzellen erhielten männliche Mäuse eine einmalige i.p.-Injektion von 17-52 mg BDDE/kg KGW und wurden anschließend zu verschiedenen Zeitpunkten mit unbehandelten Weibchen verpaart. Die beiden höchsten Dosierungen (43 und 52 mg/kg KGW) führten zu toxischen Symptomen, die ihrerseits das Paarungsverhalten der Männchen stark beeinträchtigten. Demzufolge waren nach Paarung mit Männchen dieser beiden Dosisgruppen am 7. Tag nur 13 bzw. 20% der Weibchen befruchtet. Bei der Dosis von 34 mg/kg KGW lag die Befruchtungsrate der Weibchen am 7. Tag bei 61,5%, aber 20,5% der bei diesen Weibchen untersuchten Oozyten waren nicht befruchtet. Bei der Untersuchung der Zygoten wurde festgestellt, dass die Chromosomenaberrationsrate bei der Verpaarung der behandelten Männchen nur zum Zeitpunkt 7 Tage nach der BDDE-Behandlung, nicht jedoch nach 14, 21 oder 28 Tagen, signifikant erhöht war. Dies zeigt, dass lediglich die frühen Spermatozoen, nicht jedoch die Spermatiden und Spermatozyten, gegenüber einer BDDE-Behandlung empfindlich sind [10].

Kanzerogenität:

Es liegen 2 Kanzerogenesestudien mit dermalen BDDE-Applikation (dl-Form und meso-Form separat getestet) an je 30 männlichen (100 mg einer 10%igen Lösung in Aceton/Pinselung, ca. 400 mg BDDE/kg KGW/Applikation, 3x wöchentlich über die gesamte Lebenszeit; durchschnittliche Dosis: ca. 170 mg/kg KGW/Tag) bzw. weiblichen Swiss-Mäusen (100 mg einer 3%igen bzw. einer 10%igen Lösung in Aceton, ca. 120 bzw. 400 mg BDDE/kg KGW/Applikation, 3x wöchentlich über die gesamte Lebenszeit; durchschnittliche Dosis: ca. 51 bzw. 170 mg/kg KGW/Tag) vor. Beide Isomere zeigten eine hautschädigende Wirkung und führten bei 170 mg/kg

KGW/Tag zu einer signifikant verkürzten Überlebenszeit der Tiere aufgrund von starker Toxizität. Die Tumorzinzenzen sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt [1,11,12]. Aufgrund der bei den Männchen der 170 mg/kg/Tag-Gruppe extrem verkürzten mittleren Überlebenszeit sind die Tumorzinzenzen für diese Gruppe nicht auswertbar.

Tumortyp	Tumorzinzenzen (Zahl der Mäuse mit Tumoren [1,11,12])*				
	Aceton-Kontrolle			51 mg/kg/d	170 mg/kg/d
	männl.	weibl.	weibl.	männl.	weibl.
<u>dl-BDDE:</u>					
Hautpapillom	8/90 (9%)	0/60 (0%)	10/30 (33%)	2/30 (7%)	1/30 (3%)
Hautkarzinom	0/90 (0%)	0/60 (0%)	6/30 (20%)	1/30 (3%)	0/30 (0%)
mittl. Überlebenszeit	235 d	447 d	475 d	78 d	165 d
<u>meso-BDDE:</u>					
Hautpapillom	8/90 (9%)	0/60 (0%)	1/30 (3%)	6/30 (20%)	5/30 (17%)
Hautkarzinom	0/90 (0%)	0/60 (0%)	0/30 (0%)	4/30 (13%)	4/30 (13%)
mittl. Überlebenszeit -	235 d	447 d	491 d	154 d	357 d

 *) keine Angaben zur Signifikanz der Tumorzinzenzen

Weiterhin wurde ein Tumor-Initiations-Test mit BDDE an je 20 weiblichen Swiss-Mäusen durchgeführt [12]. Dabei erhielten die Tiere eine einmalige dermale Applikation von 1 mg dl-BDDE bzw. meso-BDDE (gelöst in Aceton) als Initiator und beginnend nach 14 Tagen dreimal wöchentlich je 100 mg einer 0,0025%igen Crotonöl-Lösung in Aceton dermal appliziert zur Promotion. Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt. Insgesamt können diese Resultate nur als vager Hinweis auf eine mögliche schwache tumorinitiierende Wirkung von BDDE gewertet werden, zumal Angaben zu historischen Kontrolldaten mit Crotonöl-Applikation fehlen.

Tumortyp	Tumorinzidenzen (Zahl der weiblichen Mäuse mit Tumoren [12])*			
	Aceton	Crotonöl	BDDE	BDDE+ Crotonöl
<u>dl-BDDE:</u>				
Hautpapillom	0/60 (0%)	1/20 (5%)	0/20 (0%)	1/20 (5%)
Hautkarzinom	0/60 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	1/20 (5%)
mittl. Überlebenszeit -	447 d	439 d	358 d	354 d
<u>meso-BDDE:</u>				
Hautpapillom	0/60 (0%)	1/20 (5%)	0/20 (0%)	4/20 (20%)
Hautkarzinom	0/60 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)
mittl. Überlebenszeit -	447 d	439 d	322 d	398 d

 *) keine Angaben zur Signifikanz der Tumorinzidenzen

Beim Vergleich der in den beiden Tabellen dargestellten Versuche an Swiss-Mäusen mit dermalen Applikation fällt auf, dass die mit den beiden verschiedenen BDDE-Isomeren erhaltenen Ergebnisse nicht konsistent sind: So ist in der Kanzerogenese studie die dl-Form stärker wirksam, im Initiations-Test dagegen die meso-Form. Die Aussagekraft der Initiationsstudie ist dadurch weiter eingeschränkt.

Im Lungentumor-Induktionstest an männlichen und weiblichen Strain A-Mäusen erwies sich die i.p.-Injektion von l-BDDE (3x wöchentlich, 4 Wochen; Tötung in der 39. Woche) in Wasser als stärker kanzerogen als die Lösung in Tricaprylin (siehe Tabelle); Angaben zur Signifikanz der Tumorinzidenzen fehlen. In der Tabelle werden zusätzlich maximale theoretische Tumorinzidenzen unter Einbeziehung der vorzeitig verendeten Tiere angegeben [13].

Dosisgruppe [mg/kg KGW/w]	Vehikel Wasser		Vehikel Tricaprylin	
	Inzidenz	Mortalität	Inzidenz	Mortalität
0	107/339 (32%) [36%]	21/360 (6%)	37/108 (34%) [41%]	12/120 (10%)
0,140	6/28 (21%) [27%]	2/30 (7%)		
0,250			12/30 (40%)	0/30
0,560	12/30 (40%)	0/30		
1,000			13/30 (43%)	0/30
2,250	17/31 (55%) [69%]	14/45 (31%)		
4,000			11/25 (44%) [53%]	5/30 (17%)
9,000	18/28 (64%) [67%]	2/30 (7%)		
16,000	21/27 (78%) [80%]	3/30 (10%)	12/24 (50%) [60%]	6/30 (20%)

[] maximale theoretische Tumorinzidenz unter Einbeziehung vorzeitig verendeter Tiere

Die subkutane Injektion von 0,1 bzw. 1,1 mg dl-BDDE (ca. 5 bzw. 55 mg/kg KGW/Woche) in 0,05 ml Tricaprylin, 1x wöchentlich für 84 Wochen (589 Tage), führte bei weiblichen Swiss-Mäusen zur Bildung von malignen Karzinomen an der Einstichstelle (siehe nachfolgende Tabelle); Angaben zur Signifikanz der Tumorinzidenzen fehlen [14].

Tumortyp	Tumorinzidenzen (Zahl der Mäuse mit Tumoren [14])		
	Vehikel-Kontrolle	5 mg/kg/w	55 mg/kg/w
Fibrosarkom	0/110	5/50 (10%)	5/30 (17%)
Adenokarzinom	0/110	2/50 (4%)	0/30
maligne Tumoren	0/110	7/50 (14%)	5/30 (17%)

Von den gleichen Autoren wurde auch eine entsprechende Studie an weiblichen Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt. Dabei traten nach 1x wöchentlicher s.c.-Injektion von 1 bzw. 2 mg dl-BDDE in 0,1 ml Tricaprylin (ca. 4 bzw. 8 mg/kg KGW/w; Versuchszeit 550 Tage = 79 Wochen) ebenfalls maligne Tumoren an der Einstichstelle auf; Angaben zur Signifikanz der Tumorinzidenzen fehlen (siehe Tabelle) [14].

Tumortyp	Tumorinzidenzen (Zahl der Ratten mit Tumoren [14])		
	Vehikel-Kontrolle	4 mg/kg/w	8 mg/kg/w
Fibrosarkom	0/50	9/50 (18%)	k.A.
Adenokarzinom	1/50 (2%)	1/50 (2%)	k.A.
maligne Tumoren	1/50 (2%)	10/50 (20%)	7/20 (35%)*

*) nicht näher spezifizierte maligne Tumoren an der Einstichstelle nach 1 Jahr Behandlungszeit (Befunderhebung in laufender Studie)
k.A.: keine Angaben

Es liegen noch weitere ältere Kanzerogenesestudien vor, die den heutigen Anforderungen allerdings nicht genügen und daher nur als ergänzende Hinweise gewertet werden können.

20 männliche Mäuse erhielten über einen Zeitraum von 3 Monaten an 5 Tagen/Woche dermale Applikationen von je 1 Tropfen einer 10%igen BDDE-Lösung in Erdnussöl (insgesamt 66 Applikationen; ca. 5 mg/Tier/Tag bzw. ca. 200 mg/kg KGW/Tag). Alle Tiere, die bei Versuchsbeginn geschlechtsreif waren, starben innerhalb von 8 Monaten. Bei keinem der Tiere wurden Tumoren festgestellt, aber bei einem Tier wurde in den Hodenkanälchen ein völliger Verlust der Spermatogenese beobachtet [15].

In einem weiteren Versuch erhielten 20 männliche Mäuse zweimal wöchentlich 2 Tropfen einer 25%igen BDDE-Lösung in Aceton für 3 Wochen, gefolgt von zweimal 2 Tropfen einer 12,5%igen Lösung in der 4. Woche (durchschnittlich ca. 40 mg/Tier/Woche bzw. ca. 230 mg/kg KGW/Tag). Alle Tiere starben innerhalb von 11 Monaten nach Versuchsbeginn; keines der Tiere wies Tumoren auf [15].

10 männliche und 4 weibliche Albino-Ratten erhielten zweimal wöchentlich i.p.-Injektionen von je 20 mg BDDE/kg KGW (als 0,4%ige Lösung in Erdnussöl) für 6-7 Wochen (13 Applikationen), gefolgt von einer Dosis von 10 mg/kg KGW zweimal wöchentlich für weitere 6 Wochen (12 Applikationen). Die durchschnittliche Dosis betrug 30 mg/kg KGW/Woche bzw. ca. 4 mg/kg KGW/Tag. 18 Monate nach Versuchsbeginn waren alle Tiere verendet, viele davon starben bereits in einem

frühen Versuchsstadium. Bei 1 männlichen Tier, das nach 13 Monaten verendet war, wurden multiple Tumoren festgestellt: ein großes Sarkom in der Bauchhöhle, ein Chondrosarkom, das die unteren linken Rippen umhüllte, in einem Hoden Sarkome und im anderen Hoden ein nicht näher identifizierter epithelialer Tumor. Die restlichen 13 Tiere wiesen keine Tumoren auf [15].

Es wurde auch eine orale Kanzerogenesestudie an weiblichen Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt. Dazu erhielten 5 Tiere 1x wöchentlich 5 mg dl-BDDE in 0,5 ml Tricaprylin mit der Magensonde (ca. 20 mg/kg KGW/Woche; Versuchsdauer 363 Tage = 52 Wochen). Weder bei den Tieren der Vehikel-Kontrolle noch bei den mit BDDE behandelten Tieren traten Tumoren auf. Aufgrund der sehr geringen Tierzahl und der zu kurzen Versuchsdauer ist das Ergebnis jedoch nicht bewertbar [14].

In einer weiteren älteren Studie wird kurz über die Entstehung von Sarkomen bei Ratten nach BDDE-Behandlung berichtet (keine näheren Angaben) [16].

BDDE war positiv im Zelltransformationstest in vitro an Balb/3T3-Mauszellen, an Embryozellen des Chinesischen Hamsters sowie an virusinfizierten Rattenembryo-Zellen (jeweils ohne Zusatz von S9-Mix) [1]. Ebenfalls positiv verlief ein Zelltransformationstest bei 10 µM BDDE (0,86 µg/ml) ohne Zusatz von S9-Mix an einer permanenten epithelialen Zelllinie des Syrischen Hamsters [17,18].

Reproduktionstoxizität:

In einer erst kürzlich publizierten Studie wurde der Einfluss von BDDE auf die Spermatogenese bei der Maus untersucht. Dazu erhielten männliche B6C3F1-Mäuse eine einmalige i.p.-Injektion von 8,5-78 mg/kg KGW und wurden nach 7, 14, 21, 28 bzw. 35 Tagen getötet. Nach 7, 21 und 28 Tagen wurde eine dosisabhängige Verringerung der tetraploiden Zellen sowie der runden und länglichen Spermatiden beobachtet, was auf eine zytotoxische Wirkung von BDDE auf das in der Differenzierung befindliche Spermatogonien-Kompartiment hinweist. Die für die 50%ige Abnahme der Anzahl der differenzierenden Spermatogonien erforderliche BDDE-Dosis wurde mit 55 mg/kg KGW extrapoliert. Stammzellen waren nicht betroffen. Bei der histologischen Untersuchung der Samenkanälchen wurde ein Verschwinden der Spermatiden sowie eine Reduzierung des sekundären Spermatozytenlayers festgestellt. Außerdem traten nach BDDE-Behandlung stark vermehrt Spermien mit veränderter Chromatindichte auf [19].

In verschiedenen Testsystemen mit i.p.-Gabe wurde an Mäusen wiederholt eine zytotoxische Wirkung von BDDE an den Spermatozoen beobachtet.

In einer älteren Kanzerogenesestudie trat bei 1/20 Mäusen nach dermalen Applikation (ca. 5 mg/Tier --> ca. 200 mg/kg KGW/Tag, 5x/Woche, 13 Wochen) ein völliger Verlust der Spermatogenese in den Hodenkanälchen auf [15].

In Dominant-Letal-Testen und in anderen Testsystemen mit i.p.-Applikation wurde bei Mäusen wiederholt eine zytotoxische Wirkung von BDDE auf die Spermatozoen festgestellt.

Sensibilisierung:

Zur Frage der sensibilisierenden Wirkung liegen keine Daten vor.

Fazit:

Genotoxizität:

Butadiendiepoxid ist ein Alkylans und wirkt daher direkt mutagen in vitro und in vivo. Es liegen ein positiver Dominant-Letal-Test mit i.p.-Applikation und ein positiver Mikronucleus-Test vor, in dem nach i.p.-Gabe eine clastogene Wirkung im Knochenmark und auch in den Spermatozyten von Ratte und Maus nachgewiesen wurde, sowie Ergebnisse aus mehreren Testsystemen mit i.p.-Gabe, die eine genotoxische Wirkung von BDDE auf die Spermatozoen belegen. Gemäß den EU-Einstufungskriterien erfolgt daher eine Einstufung als mutagen Kategorie 2 (M: 2).

Kanzerogenität:

Butadiendiepoxid führt nach dermalen Applikation bei Mäusen beiderlei Geschlechts zu einer deutlich erhöhten Inzidenz an gutartigen und bösartigen Tumoren der Haut, möglicherweise wesentlich bedingt durch die lokal reizende Wirkung der Substanz. Kanzerogen wirkt BDDE bei der Maus auch nach subkutaner und nach i.p.-Applikation. Bei der Ratte konnte ebenfalls eine lokal-kanzerogene Wirkung nach subkutaner Gabe nachgewiesen werden, wie sie für reaktive Substanzen auch zu erwarten ist. Angesichts der lokal-kanzerogenen Wirkung bei Ratte und Maus, der deutlichen genotoxischen Wirkung der Substanz auch in vivo, der positiven Resultate in Zelltransformationstesten sowie wegen der Struktur analogie zum 1,2-Epoxybutan erfolgt gemäß den EU-Einstufungskriterien eine Einstufung als krebserzeugend Kategorie 2 (K: 2).

Reproduktionstoxizität/Fertilität:

In verschiedenen Testsystemen mit i.p.-Gabe wurden an Mäusen wiederholt zytotoxische und clastogene Wirkungen von BDDE an den Spermatozoen festgestellt. Da bisher die fertilitätsmindernde Wirkung nur nach der für die Situation am Arbeitsplatz nicht relevanten i.p.-Gabe klar gezeigt werden konnte, erfolgt gemäß den EU-Einstufungskriterien eine Einstufung in die Kategorie 3 (R_F:3)

Reproduktionstoxizität/Entwicklung:

Aufgrund fehlender Daten ist gemäß den EU-Einstufungskriterien keine Einstufung möglich (R_E: -).

Sensibilisierung:

Aufgrund fehlender Daten ist gemäß den EU-Einstufungskriterien keine Einstufung möglich.

Literatur:

- [1] EU-Einstufungsdossier zu 1,2:3,4-Diepoxybutan (1995)
- [2] Thier, R., Pemble, S.E., Kramer, H., Taylor, J.B., Guengerich, F.P., Ketterer, B.: Human glutathione S-transferase T1-1 enhances mutagenicity of 1,2-dibromoethane, dibromomethane and 1,2,3,4-diepoxybutane in *Salmonella typhimurium*. *Carcinogenesis* 17, 163-166 (1996)
- [3] Zaborowska, D., Swietlinska, Z., Zuk, J.: Induction of mitotic recombination by UV and diepoxybutane and its enhancement by hydroxyurea in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat. Res.* 120, 21-26 (1983)
- [4] Kelsey, K.T., Wiencke, J.K., Ward, J., Bechtold, W., Fajen, J.: Sister-chromatid exchanges, glutathione S-transferase theta deletion and cytogenetic sensitivity to diepoxybutane in lymphocytes from butadiene monomer production workers. *Mutat. Res.* 335, 267-273 (1995)
- [5] Obe, G., Kalweit, S., Nowak, C., Ali-Osman, F.: Liquid holding experiments with human peripheral lymphocytes. I. Effects of liquid holding on sister chromatid exchanges induced by trenimon, diepoxybutane, bleomycin and X-rays. *Biol. Zbl.* 101, 97-113 (1982)
- [6] Cochrane, J.E., Skopek, T.R.: Mutagenicity of butadiene and its epoxide metabolites: I. Mutagenic potential of 1,2-epoxybutene, 1,2,3,4-diepoxybutane and 3,4-epoxy-1,2-butanediol in cultured human lymphoblasts. *Carcinogenesis* 15, 713-717 (1994)
- [7] Tretyakova, N.Yu., Lin, Y.P., Swenberg, J.A.: Formation of butadiene mono- and diepoxide DNA-adducts in calf thymus DNA. *Fund. Appl. Toxicol.* 30 (No. 1 part 2), 236 (Abstract No. 1211) (1996)
- [8] Simmon, V.F., Rosenkranz, H.S., Zeiger, E., Poirier, L.A.: Mutagenic activity of chemical carcinogens and related compounds in the intraperitoneal host-mediated assay. *J. Natl. Cancer Inst.* 62, 911-918 (1979)
- [9] Cochrane, J.E., Skopek, T.R.: Mutagenicity of butadiene and its epoxide metabolites: II. Mutational spectra of butadiene, 1,2-epoxybutene and diepoxybutane at the hprt locus in splenic T cells from exposed B6C3F1 mice. *Carcinogenesis* 15, 719-723 (1994)
- [10] Adler, I.-D., Kliesch, U., Tiveron, C., Pacchierotti, F.: Clastogenicity of diepoxybutane in bone marrow cells and male germ cells of mice. *Mutagenesis* 10, 535-541 (1995)
- [11] Van Duuren, B.L., Nelson, N., Orris, L., Palmes, E.D., Schmitt, F.L.: Carcinogenicity of epoxides, lactones, and peroxy compounds. *J. Natl. Cancer Inst.* 31, 41-55 (1963)
- [12] Van Duuren, B.L., Orris, L., Nelson, N.: Carcinogenicity of epoxides, lactones, and peroxy compounds. Part II. *J. Natl. Cancer Inst.* 35, 707-717 (1965)
- [13] Shimkin, M.B., Weisburger, J.H., Weisburger, E.K., Gubareff, N., Suntzeff, V.: Bio-assay of 29 alkylating chemicals by the pulmonary-tumor response in strain A mice. *J. Natl. Cancer Inst.* 36, 915-935 (1966)

- [14] Van Duuren, B.L., Langseth, L., Orris, L., Teebor, G., Nelson, N., Kuschner, M.: Carcinogenicity of epoxides, lactones, and peroxy compounds. IV. Tumor response in epithelial and connective tissue in mice and rats. *J. Natl. Cancer Inst.* 37, 825-838 (1966)
- [15] Hendry, J.A., Homer, R.F., Rose, F.L., Walpole, A.L.: Cytotoxic agents: II, Bis-epoxides and related compounds. *Brit. J. Pharmacol.* 6, 235-255 (1951)
- [16] Koller, P.: Dicentric chromosomes in a rat tumour induced by an aromatic nitrogen mustard. *Heredity* 6 (Suppl.), 181 (1953); zitiert in: Walpole, A.L.: Carcinogenic action of alkylating agents. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 68, 750-761 (1958).
- [17] Nowak, C., Gleier, K., Meckert, C., Richter-Reichhelm, H.-B.: Etablierung eines neuen in vitro-Zelltransformationstests. *Bundesgesundhbl.* 36, 431-434 (1993)
- [18] Lichtenberg, G., Nowak, C., Gleier, K., Meckert, C., Richter-Reichhelm, H.-B.: Anchorage independent colony growth of fetal hamster lung epithelial cells after treatment with diepoxybutane. *Toxicol. Lett.* 75, 193-199 (1995)
- [19] Spano, M., Bartoleschi, C., Cordelli, E., Leter, G., Segre, L., Mantovani, A., Fazzi, P., Pacchierotti, F.: Flow cytometric and histological assessment of 1,2:3,4-diepoxybutane toxicity on mouse spermatogenesis. *J. Toxicol. Environ. Health* 47, 423-441 (1996).