

# Alkılanilinlerin Toksik Etkileri

Received : 11.03.2014  
Revised : 05.01.2015  
Accepted : 18.02.2015

**Pınar Erkekoğlu\***

## Giriş

Son yıllarda yapılan çalışmaların sonuçları dünya genelinde erkeklerde en sık görülen 10 kanser türünün insidans sıralamasında akciğer ve bronş kanserini ilk sırada, prostat kanseri ikinci sırada, mesane kanseri ise üçüncü sırada olarak belirtmektedir. Bu kanserleri kolorektal kanserler ve mide kanserleri takip etmektedir<sup>1</sup>. Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa Birliği'nde mesane kanseri en sık görülen dördüncü kanser tipidir; erkeklerde görülen kanserlerin yaklaşık %7'sini oluşturmaktadır. Diğer taraftan dünya genelinde ölüm oranlarına bakıldığında, erkeklerde en sık ölüme neden olan kanser türleri akciğer, mide ve karaciğer; kadınlarda ise meme, akciğer ve mide kanserleridir. Ülkemizde ise en sık ölüme neden olan kanser türleri erkeklerde sırasıyla trakea, bronş ve akciğer kanserleri, mide kanseri, lösemi, mesane kanseri, kolon ve rektum kanserleri; kadınlarda ise meme kanseri, mide kanseri ve lenfomalarıdır<sup>1</sup>.

## Mesane kanserinin risk faktörleri

Mesleksel olarak kimyasal maddelere temas pek çok kanser tipinin ortaya çıkmasında en önemli nedenlerden biri olarak kabul edilmektedir. Mesleksel temas sonucu ortaya çıkabilecek kanserlerin başında akciğer kanseri gelmektedir; bunu deri kanseri, mesane kanseri ve lösemi izlemektedir<sup>2</sup>. Mesane kanseri, başta boya işçileri olmak üzere sanayinin pek çok kolunda çalışan işçilerde ortaya çıkabilecek bir kanser tipidir. Mesane kanserine ağırlıklı olarak  $\beta$ -naftilamin, anilin boyaları, alkılanilinler ve benzinin neden olabileceği bildirilmiş, 1940'lı yıllarda özellikle boya işçilerinde ortaya çıkan mesane tümörleri için "anilin tümörleri" terimi kullanılmıştır.

\* Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara  
° Yazışma yapılacak yazar: E-mail: erkekp@yahoo.com

Aromatik aminlere, özellikle 2-naftilamin, 4-aminobifenil (4-ABP) ve ben-zidine maruz kalınan, aralarında lastik ve boya sanayisinin de bulunduğu endüstrilerde çalışan işçilerde mesane kanseri riskinin arttığı bildirilmiştir<sup>3</sup>. 4-ABP, IARC tarafından Grup I (bilinen insan karsinojeni) olarak sınıflandırılmıştır<sup>4</sup>. 1970'lerde benzidin maruziyeti sonucu boya işçilerinin %50'sinden fazlasında mesane kanseri geliştiği gözlenmiştir<sup>5</sup>. Ayrıca deri, sanayinde ve petrol rafinerisinde çalışanların, boyacıların ve kuaförlerin de bu kimyasal-lara yüksek miktarda maruz kaldığı bilinmektedir<sup>4</sup>. Kronik saç boyası kulla-nımının kadınlarda mesane kanseri riski ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir<sup>3</sup>.

Mesane kanseri açısından en büyük risk faktörü sigara kullanımındır. Si-gara dumanının mesane kanseri insidansını arttırdığı ve bu kanserin ortaya çıkma sürecini kısalttığına dair pek çok çalışma bulunmaktadır. Epidemi-yolojik çalışmalar sonucunda, mesane kanseri riskinin sigara içenlerde, si-gara içmeyenlere oranla 1.5-3 kat fazla olduğu bulunmuş, tüketilen sigara sayısına ve sigara kullanım süresine bağlı olarak da kanser riskinin arttığı gözlenmiştir<sup>4</sup>. Günde 40 ve daha fazla sayıda sigara içenlerde mesane kan-seri riski 2 kat artmaktadır<sup>6</sup>. Sigara içiminin bırakılmasının mesane kanseri riskini azalttığı ve bu azalan riskin de bağımlılık süresiyle orantılı olduğu sonucuna ulaşılmıştır<sup>7</sup>. Riskin büyük ölçüde sigara dumanında bulunan, benzidin, 4-ABP, naftilamin, 4-kloro-o-toluidinin ve alkilanilinlerin de ara-larında bulunduğu aromatik aminlere bağlı olabileceği belirtilmiştir<sup>4</sup>. Ayrıca filtrelenmiş sigara içmenin mesane kanseri riskini azaltmadığı bildirilmiştir<sup>7</sup>.

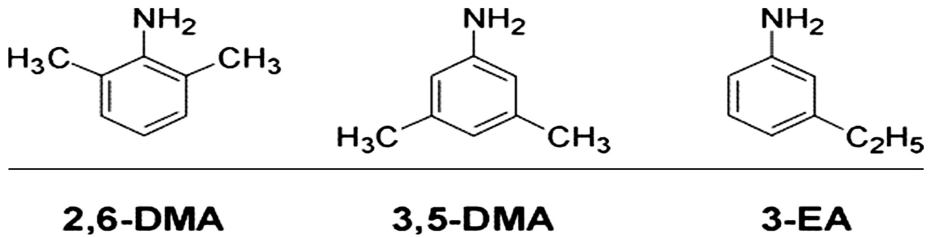
Sigara kullanımının sanayileşmiş toplumlarda görülen mesane kanserleri-nin erkeklerdeki yeni vakaların yüzde 66'sından, kadınlardaki ise yüzde 30'un-dan sorumlu olabileceği belirtilmektedir<sup>6</sup>. Diğer bir deyişle, sigara kullanımı ile mesane kanseri arasındaki ilişki her iki cins için de söz konusudur; ancak erkekler açısından riskin daha yüksek olduğu bildirilmektedir<sup>4</sup>. Sigara içmeye bağlı olarak mesane kanseri gelişme riski açısından kadın ve erkekler arasında ciddi farklılıklar olduğu belirtilmiştir ve sigara içen kadınlarda erkeklere oranla 3-aminobifenil-hemoglobin (3-ABP-hemoglobin) ve 4-aminobifenil-hemoglobin (4-ABP-hemoglobin) katım ürünleri daha yüksek bulunmuştur<sup>7</sup>.

### *Alkilanilinler*

Monosiklik aromatik aminler (MAA'ler) çevrede yaygın olarak bulunan kimyasallardır. MAA'ler genelde azo boyalarından türevlenirler ve tekstiller, içecekler, yiyecekler, farmasötikler, kozmetikler, plastikler, kağıtlar, deri, baskı mürekkepleri, boyalar, vernikler, laklar ve odun boyları gibi ürün-lerin içinde bulunurlar. Eğer azo boylarına içecek veya yiyecek aracılıklı maruziyet söz konusuysa, aromatik aminler intestinal mikroorganizmalar tarafından azoredüktazlarla veya da düşük oranda da intestinal enzimlerle oluşturulur. Ayrıca azo boylarının tekstil, boya üretim endüstrileri tarafın-dan nehirlerle verilmesi sonucu da MAA'ler çevreye verilebilirler<sup>8-10</sup>.

MAA'ler tek bir aromatik halka taşır ve bu halkaya bağlı en az bir amin bulunur. Bu yapı aromatik aminlerin en basit yapısıdır. Ancak moleküler yapıdaki ufak değişiklikler bileşiklerin başta mutajenite olmak üzere toksisite-lerinde oldukça büyük değişikliklere neden olabilir<sup>11</sup>. Bu bileşiklerin prototipi olarak "anilin" gösterilebilir. Aniline alkil gruplarının farklı pozisyonlardan bağlanması sonucu "alkilanilin" adı verilen bileşikler oluşur<sup>12</sup>. Arilaminlerin özellikle 4-ABP'nin ve polisiklik aromatik aminlerin toksik etkileri üzerine birçok çalışma bulunmakla birlikte, alkilanilinler üzerine yapılmış detaylı toksikolojik çalışmalar bulunmamaktadır<sup>13</sup>.

Alkilanilinlerin kimyasal yapıları Şekil 1'de verilmiştir.



**Şekil 1**

Alkilanilinlerin kimyasal yapıları

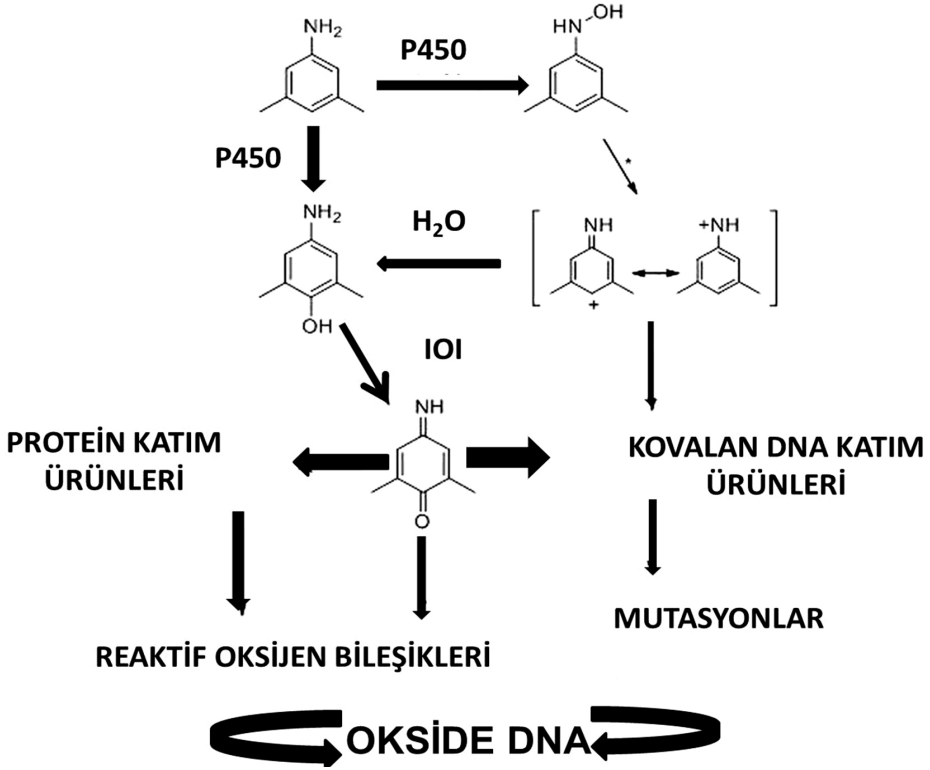
### *Alkilanilinlere maruziyetin değerlendirilmesi*

Alkilanilinlere değişik kaynaklardan ömür boyu maruziyet söz konusudur. Bu bileşiklerden 2-etilanilin (2-EA), 3-etilanilin (3-EA), 2,6-dimetilanilin (2,6-DMA) ve 3,5-dimetilanilin (3,5-DMA)'e insan maruziyetinin yüksek olduğu bilinmektedir<sup>14</sup>. Alkilanilinlerin önemli bir bölümü çeşitli boyaların sentezinde kullanılmaktadır. Buna ek olarak, tarımsal kimyasalların, farmasötiklerin ve fotografik kimyasalların sentezinde ara ürün olarak da kullanımları mevcuttur. Alkilanilinlerin çoğunun üretimi sınırlıdır<sup>13</sup>. Ancak, 2-etil-6-etilanilin (2E6EA) ve 2-metil-6-etilanilin (2M6EA), bir herbisit olan klorasetanilidin sentezinde kullanılırlar. Diğer taraftan daha önce de belirtildiği gibi sigara dumanında gerek aromatik aminler, gerekse MAA'ler yüksek oranda bulunmaktadır ve sigara dumanı aracılığı ile bu bileşiklere yüksek miktarda maruziyet söz konusu olabilmektedir<sup>9</sup>. 2-EA, 3-EA ve 3,5-DMA'nın hemoglobin katım ürünlerinin sigara içenlerde içmeyenlere oranla daha yüksek olduğu bulunmuş ve oluşan katım ürünlerinin mesane kanseri için bağımsız bir biyogösterge olabileceği belirtilmiştir<sup>15</sup>. Ayrıca birçok nitro ve azo bileşiğinin vücutta MAA'lere metabolize olabildikleri belirtilmiştir<sup>3</sup>.

### *Alkilanilinlerin biyotransformasyonu*

Aromatik aminler biyolojik membranlardan, deriden, gastrointestinal sistemden ve solunum sisteminden iyi absorbe olurlar. Tütün dumanındaki aromatik aminler inhalasyonla vücuda alınırlar<sup>3</sup>. Polisiklik aromatik aminlerde sitokrom P450 (CYP450) enzimleriyle amin grubunun oksidasyonun gerçekleştiği, takiben esterifikasyon ile N-hidroksilamin olduğu, sonrasında ise N-O bağının heterolizi ile rekatif nitrenyum iyonunun olduğu ve bu iyonun DNA bazlarına kovalent olarak bağlanarak olası karsinojenik genetik hasara neden olduğu belirlenmiştir<sup>16,17</sup>. Benzer şekilde memelilerde, alkilanilinler ve diğer MAA'lerin CYP450 enzimleriyle N-oksidasyona uğradıkları, takiben ise N-hidroksilamin bileşiklerinin olduğu bildirilmiştir. Takiben bu bileşikler glutatyon ile konjugasyonu edilir ve atılır<sup>12</sup>.

Bu yapıların açıl esterlerinin de *in vitro* olarak DNA bazlarıyla kovalent katım ürünlerinin oluşturduğu gösterilmiştir<sup>18-23</sup>. Yapılan bir çalışmada, ana amin yapısının hayvanlara uygulanması sonucu benzer katım ürünlerinin oluşmadığı belirlenmiştir. Ancak hayvanlarda nitrenyum iyonunun ortaya çıkması, başka mekanizmaların da toksisitelerinde etkin olabileceğini düşündürmüştür<sup>21</sup>. Kinetik çalışmalar oluşan nitrenyum iyonlarının stabilitesinin uzamış konjugasyonla ve temel benzen halkasına elektronegatif substitüentlerin katımıyla arttığını işaret eder yöndedir<sup>24</sup>. MAA'ler tarafından oluşturulan nitrenyum iyonlarının difüzyon hızları sulu ortamda düşüktür ve bu durum onların hücresel nükleofillerle reaksiyona girme yeteneklerini azaltır. Bu olaylar monosiklik nitrenyum iyonlarının DNA katım ürünü oluşturmalarını engellemez; ancak oluşum oranları polisiklik nitrenyum iyonlarının oluşumuna göre daha azdır. Ancak, 2,6-DMA'dan türetilen nitrenyum iyonlarının sulu ortamda da oluşabildikleri gösterilmiştir. Hidroksilasyonu takiben oluşan ana metabolit bir aminofenol yapısındadır. Bu yapının elektrofilik özelliği az olmasına karşın DNA'ya atak yapabileceği belirtilmiştir. Ancak eğer yapı iki elektron alırsa kinoniminlere okside olabilir. Bu durumda elektrofilik hale geçebilir ve Michael katım reaksiyonlarına ve keto ve imino karbon merkezlerinde nükleofilik katıma açık hale gelirler<sup>25,26</sup>. p-benzokinonun okside p-aminofenollere yapısal olarak benzediği ve DNA katım ürünleri oluşturabildiği bilinmektedir ve bu da p-aminofenollerin benzer özellikte olabileceklerini işaret etmektedir. Bu durumda p-aminofenoller ile oluşabilecek reaksiyonlar sonucu mutajenezis ve karsinogenezis ortaya çıkabilir. Ancak kinoniminlerle *in vivo* olarak oluşan DNA katım ürünlerine dair literatürde yeteri kadar veri bulunmamaktadır<sup>27</sup>. Bu bileşiklerin biyotransformasyonları ve mutajenez yolları Şekil 2'te gösterilmiştir<sup>28</sup>.



Şekil 2

Alkil anilinlerin biyotransformasyonları ve mutajenez yolları

### Bazı önemli alkil anilin türevleri

#### 2,6-dimetilanilin

2,6-dimetilanilin boya sanayiinde sıklıkla kullanılmaktadır. Lokal anestetik ve/veya antiaritmik olarak kullanılan lidokain ve ripovakain gibi bazı ilaçların sentezinde 2,6-DMA'dan yararlanılır ve *in vivo* ve *in vitro* ortamda lidokainin ana metaboliti 2,6-DMA'dır<sup>14</sup>. Lidokain kullanan kişilerde 2,6-DMA-hemoglobin katım ürünü düzeyinde artış olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, 2,6-DMA veterinerlikte kullanılan sakinleştirici ilaç, ksilazinin, ve bir pestisit olan metalaksilin de ana metabolitidir<sup>29</sup>.

Dermal olarak 2,6-DMA'ya temas sonrası iritan ve hassaslaştırıcı etki görülebilir. Gözlere teması sonucu da iritan etkisi olabilir. Tekrarlayan ve uzun süreli maruziyet sonucu kan, böbrek, karaciğer ve kalbe toksik etkileri olabilir<sup>30</sup>. Uzun süreli inhalasyonu sonucu akciğerlerde irritasyon ve hasara yol açabilir. Buharının solunması sonucu uyanıklıkta azalma, refleks kaybı,

koordinasyon bozukluğu, vertigo ve narkoz görülebilir. Oral LD<sub>50</sub> değeri farelerde 707 mg/kg, sıçanlarda ise 840 mg/kg'dır<sup>31</sup>.

2,6-dimetilanilin IARC tarafından "Grup IIB karsinojen (insanlarda olası karsinojen)" olarak sınıflandırılmıştır; ancak karsinojenik etkisinin mekanizması henüz tam bilinmemektedir. Ancak CYP450 enzim sistemi ile N-oksidasyona uğramalarını takiben oluşan ve N-hidroksilamin türevi olan N-(2,6-dimetilfenil)hidroksilamin (DMHA) metabolitinin bir reaktif nitrenyum bileşiğine dönüştüğü ve bu bileşiğin DNA ve diğer makromoleküllerle reaksiyona girerek DNA hasarına neden olduğu belirtilmiştir<sup>14</sup>. Bu bileşiğin su ile reaksiyonu sonucu 3,5-dimetilaminofenol (3,5-DMAP)'e ve sonra da 3,5-DMAP'un ileri oksidasyon ürünü olan toksik iminokinona dönüştüğü bildirilmiştir. DMHA, 4-amino-3,5-dimetilfenol (3,5-DMAP) ile izomerdir<sup>14</sup>.

Sıçanlarda ve köpeklerde yapılan *in vivo* metabolizma çalışmalarında 3,5-DMAP ve konjugatlarının idrardaki ana 2,6-DMA metabolitleri olduğunu belirlenmiştir. Aminofenol, aromatik halkanın para konumundan oksidasyonla doğrudan da oluşabilir. 3,5-DMAP'nin bir diğer kaynağı hidroksilamindir. 3,5-DMAP, güçlü elektrofilik türler olan iminokinon ve kinona nonenzimatik oksidasyon ile metabolize edilir ve böylece potansiyel genotoksik özellik kazanır<sup>14</sup>. Yapılan çalışmalarda 3,5-DMAP'in mutajenik, genotoksik özellikte olduğu ve oksidatif strese neden olabileceği bildirilmiştir. Diğer taraftan, 2,6-DMA'nın metabolitlerinin hemoglobin katım ürünleri oluşturup oluşturmadığına dair çalışmalar devam etmektedir<sup>32</sup>.

### 3,5-dimetilanilin

Bu bileşik azo boyalarının, farmasötiklerin, ilaçların antioksidanların ve antiozonantların üretiminde, gazolin ve deterjan sanayiinde, odun prezeratiflerinin ve tekstiller için ıslatma ajanlarının üretiminde, ayrıca özel lak ve metal komplekslerin üretiminde kullanılmaktadır. Oral LD<sub>50</sub> değeri fare için 421 mg/kg, sıçan için 707 mg/kg'dır<sup>33</sup>.

Diğer aromatik aminler gibi 3,5-DMA da CYP450 aracılıklı N-hidroksilasyon ile metabolik transformasyona uğrar. Sentetik N-hidroksi-3,5-DMA'nın doğrudan etkili mutajen olduğuna dair veriler mevcuttur ve bu veriler N-hidroksilasyon basamağının biyoaktif edici basamak olduğu hipotezini desteklemektedir. Deney hayvanlarında 3,5-DMA'nın DNA'yı bağlama kapasitesi olduğu gösterilmiştir, ancak oluşan katım ürünlerinin yapılarına ilişkin yeterli bilgi bulunmamaktadır<sup>34</sup>.

3,5-DMA farklı sigaralar kullanılarak yapılan 2 çalışmada sigara dumanında 9.5 ng/sigara ve 3.11 ng/sigara olarak bulunmuştur<sup>35,36</sup>. Diğer taraftan yer altı sularında da 3,5-DMA'nın varlığı belirlenmiştir<sup>37,38</sup>.

Hayvanlarda yapılan çalışmalarda 3,5-DMA'nın 4.8 mmol/g'lık tek bir oral doz uygulaması Sprague-Dawley sıçanlarda belirgin bir şekilde methemoglo-

binemiyi indüklememiştir<sup>39</sup>. Diğer bir çalışmada ise sıçanlara 0.06, 0.12, 0.24, 0.48, or 0.60 mmol 3,5-DMA/kg vücut ağırlığı i.v. veya 0.24, 0.48, 0.72, 0.96, 1.2, 1.8, 2.4, or 4.8 mmol/kg oral 3,5-DMA uygulaması takiben doz bağımlı bir şekilde i.v. uygulama ile  $28.90 \pm 0.34\%$ , oral uygulama ile  $32.67 \pm 2.14\%$ 'e dek methemoglobinemi olduğu belirlenmiştir<sup>40</sup>. Oral olarak subkronik 3,5-DMA'ya maruz kalan sıçanlarda eritrosit hemolizi, böbrek (nadiren pailla nekrozu) ve karaciğer hasarı (nadiren masif karaciğer nekrozu) görülmüştür<sup>41</sup>. Dişi sıçanlarda yapılan bir çalışmada 3,5-DMA, 3-EA ve 2-EA'nın hemoglobin bağlama indeksleri (HBI, mmol bileşik/mol hemoglobin)/(mmol bileşik/kg vücut ağırlığı) ölçülmüş ve sırasıyla 3,5-DMA (14.0 HBI) > 3-EA (12.7 HBI) > 4-etilamin (4-EA) (5.8) > 2-EA (5.1 HBI) olarak bulunmuştur<sup>42</sup>. İtalya'da sigara içenler üzerinde yapılan bir çalışmada 3-EA ve 3,5-DMA hemoglobin katım ürünlerinin sigara içme ile belirgin bir ilişkisinin olmadığı belirtilmiştir (sigara içmeyenlerde: 102 pg/g hemoglobin; sarı tütün içenlerde 115 pg/g hemoglobin ve siyah tütün içenlerde 129 pg/g hemoglobin)<sup>43</sup>.

Düzenli olarak saç boyası kullanan kadınlarda 3,5-DMA-hemoglobin katım ürünü düzeylerinin artış gösterdiği bulunmuştur. Diğer alkilanilinler ile saç boyası kullanımı ve hemoglobin bileşik seviyeleri arasında anlamlı ilişkiler gösterilmemiştir<sup>44</sup>. 3,5-DMA hemoglobin katım ürünlerinin kalıcı saç boyası kullanan kişilerde kullanmayanlara oranla anlamlı derecede yüksek olduğu, ayrıca bu katım ürünlerinin kadınlarda daha yüksek miktarda bulunduğu belirtilmiştir<sup>44</sup>. Ayrıca insanlarda 3,5-DMA'ya maruziyet sonrasında akciğer fibroblastlarının hücre membranlarında orta derecede hasar olduğu belirlenmiştir<sup>41</sup>.

### *2-etilanilin*

2-etilanilin (2-EA) ABD'de yılda 500-5000 ton miktarlarda üretilen ve üretim miktarı 1996'dan itibaren her yıl katlanarak artan bir maddedir. Amerikan Çevre Koruma Ajansı (EPA)'na göre 2-EA üretimi 1990'a dek 10000-500000 pound arasında değişirken, bu rakam 1994'de artmaya başlamış, 2002'ye dek artarak 1-10 milyon pounda ulaşmıştır. Bu da özellikle işyeri temaslarının artışını beraberinde getirmiştir. İşyerlerinde özellikle inhalasyon ve dermal yollarla temas söz konusu olmaktadır. 2-EA azo boyaları, ilaçlar ve diğer farmasötikler, antiozonantlar, gazolin katkı maddeleri, deterjanlar, pestisitler, odun prezervatifi (koruyucular, koruyucu maddeler diye değiştirilebilir) ve özel laklar gibi endüstrinin pekçok alanında yer alan bir alkilanilindir. Ayrıca iletken polimerlerin üretiminde reaktan olarak kullanılmaktadır. Endüstriyel bölgelerde bulunan sularda ve sigara katranında da 2-EA'nın varlığı belirlenmiştir<sup>41</sup>.

2-EA'nın sıçanlarda oral LD<sub>50</sub> değeri 1000 mg/kg olarak bulunmuştur. 2-EA'ya oral olarak maruz kalan sıçanlarda ve i.v. olarak maruz kalan tavşanlarda uyku hali, dalakta kan akımı bozukluğu, akciğerlerde, toraks ve solunum yollarında siyanoz, solunum hızı ve kapasitesinde azalma, güçsüzlük, koordinasyon bozukluğu, kollaps ve koma görülmüştür<sup>41</sup>.

### 3-etilanilin

3-EA'e çevresel maruziyetin sigara dumanı ile söz konusu olabileceği bildirilmiştir<sup>29</sup>. Diğer aromatik aminlerde olduğu gibi, 3-EA'nin de CYP450 enzimi ile metabolize olduğu bildirilmiştir<sup>41</sup>. İnsanlarda oral olarak 3-EA'ya maruziyet sonucu gastrointestinal iritasyon, bulantı, kusma ve diyare gözlenebilir. İnhalasyon yoluyla maruziyet sonucu ise, solunum yolu iritasyonu ve pulmoner ödem ortaya çıkabilir. Deriyle temas sonucu iritasyon, dermatit ve ekstremitelerde siyanoz görülebilir. Göz teması ile iritasyon, kimyasal konjonktivit ve korneal hasar görülebilir. Kronik temas sonucu methemoglobinemi ortaya çıkabilir ve buna bağlı olarak güçsüzlük, nefes darlığı, siyanoz, baş ağrısı, baş dönmesi, kalp atımında hızlanma, bilinç kaybı ve korneal hasar görülebilir. Ayrıca yüksek doz maruziyetle böbrek ve karaciğer hasarı ve ölüm ortaya çıkabilir<sup>41</sup>.

### *Alkılanilinlerin Toksik Etkileri*

Alkılanilinlerin ve diğer MAA'lerin farklı tiplerinin toksisiteleri üzerine az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar alkılanilinlerin mutasyon, genotoksikite ve karsinogenezise neden olabileceğini işaret eder niteliktedir.

### *Mutajenite*

3,5-DMA metabolitlerinin 2,6-DMA'den daha toksik olduğu bildirilmiştir. Bu bileşiklerin mutajeniteleri test edildiğinde, 3,5-DMA'nın N-hidroksi ve aminofenol türevlerinin mutajenik olduğu; aynı dozlarda 2,6-DMA türevlerinin ise mutajenik özellik göstermediği belirtilmiştir. Ayrıca bu bileşiklerin N-hidroksi türevlerinin sitotoksik ve mutajenik aktivitelerinin olduğu da gösterilmiştir<sup>12</sup>. 3,5-DMA'nın doğrudan mutajenik ve genotoksik etkileri ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Ancak, yapılan bir çalışmada *Salmonella typhimurium*'un çeşitli suşlarında metabolik aktivasyon varlığında veya yokluğunda, 3,5-DMA'nın mutajenik aktivitesinin olmadığı bildirilmiştir. Ancak, başka bir çalışmada da aynı test kullanılarak metabolik aktivasyon varlığında mutajenik aktivitesinin olduğu gözlenmiştir<sup>12</sup>.

Alkılanilinlerin üç farklı mekanizma ile mutajenezise neden oldukları belirtilebilir<sup>28</sup>:

1. Kovalan DNA katım ürünleri oluşturma: Doğrudan mutasyona neden olur.
2. Protein katım ürünleri oluşturma: Reaktif oksijen bileşikleri (ROS)'nin oluşmasına neden olarak mutasyonlara yol açabilir.
3. ROS oluşturma: Okside DNA bazlarının oluşmasına neden olarak dolaylı olarak mutasyonlara neden olur.

Alkılanilinlerin metabolitleri olan aminofenollerin kinonimin yapısına okside oldukları, bu yapının DNA katım ürünlerinin oluşmasına veya DNA bazlarında mutajenik hasarlara neden olabileceği belirtilmiştir<sup>28</sup>. p-aminofenol



tek başına nonkarsinojenik olarak değerlendirilmiş; ancak substitüe aminofenollerin genotoksisite ile dolaylı olarak ilişkili olduğu bildirilmiştir<sup>45,46</sup>. Ayrıca aromatik amin halkasına alkil gruplarının bağlanması biyolojik aktivitenin belirlenmesinde önemli olabileceği bildirilmiştir. Kinonimin yapısının hücredeki bir veya birkaç proteinle etkileşip protein katım ürünleri de oluşturabileceği belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada sıçanlara dimetil ve etilmetilaminofenollerin uygulanmasında sonra hayvanların karaciğerlerinde bu ürünlerin tiyoeter ürünlerinin olduğu belirlenmiştir<sup>47</sup>. Diğer taraftan aminofenollere ve iminokinonlara yapısal olarak benzeyen hidrokinon/benzokinonlar ile yapılan çalışmalar da bu olayı desteklemektedir<sup>48</sup>. Kinonların direkt olarak tiyol katımıyla proteinlerle etkileştiği bilinmektedir. Ayrıca glutatyonla yoğun bir şekilde reaksiyona girerek (glutatyon-S-il)hidrokinon (TGHQ) gibi multi-glutatyon-S-il katım ürünleri oluştururlar<sup>49</sup>. Hidrokinon yapısı nefrotoksiktir ve multi-glutatyon-S-yl katım ürünlerinin birçok farklı genetik etkileri vardır<sup>50-54</sup>. Aynı şekilde kinoniminler glutatyonla tiyoeter katım ürünleri oluştururlar ve bu nedenle benzer genotoksik etkilerinin olabileceği beklenebilir<sup>47,55,56</sup>. Benzokinonların tiyoeter katım ürünleri etkin bir şekilde ROS üretilmesine neden olurlar ve bu da oluşan protein katım ürünlerinin genotoksik cevap oluşturmasının altında yatan nedenlerden biri olabilir<sup>57</sup>. TGHQ yapısı hidroksil radikaliyle indüklenen mutasyonlara benzer bir şekilde insan ve bakteri hücrelerinde birçok farklı mutasyona neden olabilir<sup>58</sup>. Dolaylı DNA hasarına ek olarak bu bileşiğin karsinogenezis ile ilişkilendirilen farklı genlerin ekspresyonlarını etkilediği belirtilmektedir<sup>28</sup>.

Chao ve ark.'nın Chinese hamster yumurtalık (CHO) hücreleri kullanarak yaptığı *in vitro* çalışmalarla 2,6-DMA'nın metaboliti olan 3,5-diaminofenolün sitotoksik olduğu ve mutasyon sıklığını arttırdığı belirlenmiştir. Bu bileşiğin neden olduğu mutasyonlar tek baz mutasyonları (transversiyonlar: G:C → T:A; G:C → C:G; A:T → T:A, A:T → C:G; transisyonlar: G:C → A:T; A:T → G:C), insersiyonlar, delesyonlar (tek baz çifti delesyonu) olarak bildirilmiştir<sup>28,29</sup>.

3,5-DMA, metabolik aktivasyon varlığında *Salmonella typhimurium* TA97, TA98, TA100, TA1535 ve TA1537 suşları kullanılarak yapılan Ames testinde negatif sonuç verirken, *Bacillus subtilis* Rec-assay'de zayıf mutajenik aktivite göstermiştir<sup>59-61</sup>. Chinese hamster akciğer hücreleri kullanılarak yapılan bir çalışmada ise 3,5-DMA'nın kromozomal aberasyonları indüklediği belirlenmiştir<sup>62</sup>. Farelerde yapılan bir çalışmada ise 100 mg/kg 3,5-DMA'nın i.p. uygulamasının testiküler DNA sentezini inhibe etmediği belirlenmiştir<sup>63</sup>.

### Genotoksisite

Alkılanilinlerin genotoksisitesi hakkında sınırlı sayıda araştırma vardır<sup>12</sup>. Alkılanilinlerin Faz I ve Faz II ksenobiyotik metabolize edici enzimler tarafından biyoaktivasyona uğradığı ve metabolitlerinin önemli genotoksik etkilerinin olabileceği ifade edilmiştir<sup>12,13</sup>. *In vivo* olarak N-hidroksilaminlerin genotoksik

olabilecekleri belirtilmiştir<sup>12</sup>. 2,6-DMA ve 3,5-DMA'nın DNA ile etkileştikleri ve kovalan modifikasyonlara neden olduklarına dair bazı veriler mevcuttur<sup>28</sup>. Bazı sübstitüe aminofenollerin ise, dolaylı olarak genotoksisiteye neden olabilecekleri bildirilmektedir<sup>28</sup>. 3-EA'nın genotoksisitesine dair veriler sınırlıdır<sup>64</sup>.

### *Alkilanilinler ve kanser*

Bu bileşiklerden 2,6-DMA, 3,5-DMA ve 3-EA'nın mesane kanseri ile yakından ilişkili olabilecekleri belirtilmiştir. Bu ilişkinin, mesane tümörlerine neden olduğu bildirilen 4-ABP'den de daha yüksek oranda olduğu ifade edilmektedir<sup>29,64</sup>. Yapılan çalışmalarda, 2,6-DMA'nın sıçanlarda karsinojen olduğu bildirilmiştir<sup>29,64</sup>. Alkilanilinlerin kemiricilerde mesane kanseri, karaciğer kanseri, subkutan doku kanseri ve nasal kavite kanserlerine neden olabileceği belirtilmektedir<sup>13</sup>.

Karsinojenik bağlanma indeksi (CBI) uygulanan dozda birim DNA ile oluşan katım ürünü miktarının birim vücut ağırlığına bölünmesiyle ve ilgili bir faktör ile çarpılmasıyla elde edilen değerdir<sup>65</sup>. Lutz'a göre CBI 0.1'den az ise madde karsinojen olmayan, 1-10 arasında ise zayıf karsinojen, 100'e yakın veya 100'lü değerler ise orta derecede karsinojen olarak sınıflandırılabilir<sup>65</sup>. 2,6-DMA, 3,5-DMA ve 3-EA'nın farelerde CBI'lerinin değerlendirildiği bir çalışmada, CBI'ları sırasıyla: 2,6-DMA için 5 ve 14, 3,5-DMA için 21 ve 84 ve 3-EA için 5 ve 7 olarak belirlenmiştir. Bu durumda 2,6-DMA ve 3-EA zayıf karsinojen, 3,5-DMA ise orta derecede karsinojen olarak sınıflandırılmıştır. Diğer taraftan her 3 maddenin de oluşturduğu DNA katım ürünleri en fazla miktarda mesanede oluşmuştur. En çok katım ürünü ise ilginç olarak 3-EA tarafından oluşturulmuştur. Ayrıca bu alkilanilinler mesaneden sonra sırasıyla en çok böbrek, karaciğer, kolon ve akciğerde de katım ürünlerinin oluşmasına neden olmuşlardır<sup>66</sup>. Farklı MAA'lere maruziyet sonucu beklenmedik çoklu sinerjizmaların oluşabileceği belirtilmektedir<sup>12</sup>.

### *Monosiklik aromatik aminler ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar*

Los Angeles'da yaşayan 298 mesane kanseri hastasından ve 308 sağlıklı kişiden toplanan plazma örneklerinde, 9 alkilanilin (2,3-dimethylaniline [2,3-DMA], 2,4-DMA, 2,5-DMA, 2,6-DMA, 3,4-DMA, 3,5-DMA, 2-ethylaniline [2-EA], 3-EA, 4-EA) ile oluşan hemoglobın katım ürünleri incelenmiştir. Sonuç olarak sigara içenlerde içmeyenlere oranla 2,6-DMA dışında tüm diğer alkil anilinler ile oluşan hemoglobın katım ürünlerinin yüksek olduğu ve hastalarda kontrol grubuna göre oluşan katım ürünü miktarının fazla olduğu belirlenmiştir (her iki durum için de  $p < 0.01$ ). Ayrıca, 2,6-DMA, 3,5-DMA, ve 3-EA'nın oluşturduğu hemoglobın katım ürünleri sigara içiminden bağımsız olarak mesane kanseri hastalarında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak alkılanilin maruziyetinin sigara içmeyen bireylerde de mesane kanseriyle kuvvetli bir şekilde korele olduğu belirtilmiştir<sup>29</sup>.

Spesifik aromatik amin-DNA katım ürünleri, mesane kanseri olan ve sigara içenlerin epitel hücrelerinde daha yüksek seviyelerde bulunmuştur<sup>3</sup>. Yapılan bir çalışmada, 2,6-DMA, 3,5-DMA ve 3-EA'nin oluşturduğu hemoglobin katım ürünleri ve mesane kanseri insidansı arasında güçlü pozitif bir ilişki olduğu bulunmuştur<sup>64</sup>. Diğer taraftan, mesane kanserine çok halkalı aromatik aminlerin de neden olabileceği belirtilmektedir. Bu aminlerin biyotransformasyonu sonucu oluşan elektrofilik formlarının mesaneyi hedeflediği bildirilmiştir<sup>12</sup>.

### Sonuç

Aromatik aminler son zamanlarda üzerinde en çok araştırma yapılan kimyasal gruplardan birini oluşturmaktadır. Alkılanilinler ise, aromatik aminlerin bir alt sınıfı olan kimyasal bir grubudur. Alkılanilinlerin başlıca toksik etkileri genotoksisite, mutajenite ve karsinojenitedir. Bu bileşiklerin karsinojenitesinde primer hedeflerinin mesane olduğu bilinmektedir. Alkılanilinler arasında en önemli bileşikler 2,6-DMA, 3,5-DMA, 2-EA ve 3-EA'dir ve en toksik olanlarının ise 2,6-DMA ve 3,5-DMA olduğu düşünülmektedir.

Alkılanilinlere birçok kaynaktan maruziyet söz konusudur. En önemli maruziyet kaynakları sigara dumanıdır. Bunun dışında alkılanilinlere inhalasyon veya dermal yolla mesleki maruziyet (boya, deri, petrol sanayileri; kuaförlük) de söz konusudur. Diğer taraftan, bu saç boyalarını kullanan kadınlarda görülen mesane kanserinde artışlar da mevcuttur.

Alkılanilinler biyolojik membranlardan iyi derecede absorbe olmaktadır ve biyoaktivasyonları sonucu oluşan N-hidroksilamin yapısındaki metabolitlerinin DNA ile reaksiyona girerek DNA hasarına neden olduğu ve mesane kanserine neden olabileceği belirlenmiştir. Birçok araştırmacı grup tarafından bu bileşiklerle ilgili çalışmalar devam ettirilmektedir<sup>67,68</sup>; ancak bilhassa genotoksik özellikleri ve karsinojenik etkileriyle ilgili daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır. Diğer taraftan, özellikle, risk altında olan meslek grupları bilinçlendirilmeli ve ilgili maruziyeti minimuma indirmek adına, gerekli önlemlerin işverenler tarafından alınması sağlanmalıdır.

## Özet

Mesane kanseri erkeklerde en yaygın görülen üçüncü kanserdir. Pekçok bileşiğe maruziyet mesane kanseri ile ilişkilendirilmektedir ve alkilanilinler bu tip kansere en çok neden olabileceği düşünülen kimyasallardır. İnsanlar alkilanilinlere sigara içme ve kalıcı saç boyaları ile sürekli olarak maruz kalmaktadır. İnsanlarda alkilanilin maruziyeti hemoglobinin katım ürünlerinin varlığı ile belirlenmektedir. Hemoglobinin katım ürünlerinin oluşumunun kemiricilerde mesane kanseri ve de karaciğer, nazal kavite ve subkütan doku kanserlerine neden olduğundan şüphelenilmektedir. Bunun yanında, alkilanilinlerin *in vivo* olarak DNA katım ürünlerinin oluşmasına neden oldukları ve DNA katım ürünü oluşumunun metabolik aktivasyonun yan ürünü olarak ortaya çıktığı belirtilmektedir. Bu bileşiklerin ve metabolitlerinin (özellikle 3,5-aminofenol) mutajenik ve genotoksik etkilerinin olduğu gösterilmiştir. 3,5-dimetilanilininin diğer alkilanilinler içinde en yüksek karsinojenik bağlanma indeksine sahiptir ve kemirgenlerde orta derecede karsinojen olarak sınıflandırılmaktadır. Bu derlemede farklı alkilanilinler ve bunların toksik etkilerinden bahsedilecektir.

*Anahtar Kelimeler:* alkilanilin, monosiklik aromatik amin, 3-etilanilin, 2-etilanilin, 2,6-dimetilanilin, 3,5-dimetilanilin

## Summary

### Toxic Effects of Alkylanilines

Bladder cancer is the third most common cancer in the world. Exposure to several compounds is related to bladder cancer occurrence and alkylanilines are the most anticipated chemicals that may cause this type of cancer. Humans are ubiquitously exposed to alkylanilines from cigarette smoking and use of permanent hair dyes. Exposure has been documented in humans based on hemoglobin adducts. Hemoglobin adduct formation was suspected to lead bladder cancer as well as cancers of liver, nasal cavity and subcutaneous tissue in rodents. Besides, alkylanilines were shown to cause DNA adducts *in vivo* and DNA adduct formation is a byproduct of metabolic activation. These compounds and their metabolites (particularly 3,5-dimethylaminophenol) were also demonstrated to have mutagenic and genotoxic effects. 3,5-dimethylaniline was shown to have the highest carcinogenic binding index (CBI) among other alkylanilines in mice and was classified as a moderate carcinogen in rodents. This review will focus on different alkylanilines and their toxic effects.

*Key Words:* alkylaniline, monocyclic aromatic amine, 3-ethylaniline, 2,ethylaniline, 2,6-dimethylaniline, 3,5-dimethylaniline

## KAYNAKLAR

1. Yardım, N., Mollahaliloğlu, S., Başara, B.B., "Türkiye'de Kanser Durumu ve Uluslararası Göstergeler İle Uyumunun Değerlendirmesi", Tuncer, A.M. (Ed.) Türkiye'de Kanser Kontrolü, Ankara. (2009), 51.
2. Bilir N. "Mesleksel Kanserler" Tuncer, A.M. (Ed.) Türkiye'de Kanser Kontrolü, Ankara. (2009), 181.
3. Dünya Sağlık Örgütü, "Dünya Kanser Raporu". Lyon: Dünya Sağlık Örgütü, (2008), 444.
4. 4-aminobiphenyl. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100F/mono100F-6.pdf>. (07/03/2014).
5. Talaska, G.: Aromatic amines and human urinary bladder cancer: Exposure sources and epidemiology. *J Environ Sci Health Part C—Environ Carcinogenesis Ecotoxicol Rev* 21, 29 (2003).
6. Bilir, N., "Tütün ve Kanser İlişkisi, Ülkemiz Açısından Önemi" Tuncer, A.M. (Ed.) Türkiye'de Kanser Kontrolü, Ankara. (2009), 171.
7. Castelao, J. E., Yuan, J. M., Skipper, P. L., Tannenbaum, S. R., Gago-Dominguez, M., Crowder J. S., Ross, R. K., Yu, M. C.: Gender- and smoking-related bladder cancer risk. *J Natl Cancer Inst*, 93, 538 (2001)
8. Chung, K.T., Fulk, G.E., Egan, M.: Reduction of azo dyes by intestinal anaerobes. *Appl Environ Microbiol*, 35, 558 (1978)
9. Chung, K.T., Cerniglia, C.E.: Mutagenicity of azo dyes: structure-activity relationships. *Mutat Res*, 277, 201 (1992)
10. Chung, K.T., Murdock, C.A., Zhou, Y., Stevens, S.E. Jr., Li, Y.S., Wei, C.I., Fernando, S.Y., Chou, M.W.: Effects of the nitro-group on the mutagenicity and toxicity of some benzamines. *Environ Mol Mutagen*, 27, 67 (1996)
11. Chung, K.T., Kirkovsky, L., Kirkovsky, A., Purcell, W.P.: Review of mutagenicity of monocyclic aromatic amines: quantitative structure-activity relationships. *Mutat Res*, 387, 1 (1997)
12. Skipper, P.L., Kim, M.Y., Sun, H.L.P., Wogan, G. N., Tannenbaum, S.R.: Monocyclic aromatic amines as potential human carcinogens: old is new again. *Carcinogenesis*, 31, 50 (2010)
13. Auerbach, S. S.: NTP Research Concept: Alkylanilines NTP Board of Scientific Counselors Meeting- July 23-24 2009. [http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/About\\_NTP/BSC/2009/July/Draft\\_ResConcept/alkylanilines.pdf](http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/About_NTP/BSC/2009/July/Draft_ResConcept/alkylanilines.pdf) (07/03/2014)
14. Gan, J., Skipper, P.L., Tannenbaum, S.R.: Oxidation of 2,6-Dimethylaniline by recombinant human cytochrome P450 and human liver microsomes. *Chem Res Toxicol*, 14, 67 (2001)
15. Envirometal Protection Agency (EPA). 2-ethylaniline; 3-ethylaniline; 3,5-dimethylaniline. <http://www.epa.gov/hpv/pubs/summaries/ringsact/c16251tl.pdf>. (07/03/2014)
16. Kadlubar, F.F., Fu, P.P., Jung, H., Shaikh, A.U., Beland, F.A.: The metabolic N-oxidation of carcinogenic arylamines in relation to nitrogen charge density and oxidation potential. *Environ Health Perspect*, 87, 233 (1990)
17. Kadlubar, F.F.: DNA adducts of carcinogenic aromatic amines. *IARC Sci Publ*, 125, 199, (1994)
18. Cui, L., Sun, H.L., Wishnok, J.S., Tannenbaum, S.R., Skipper, P.L.: Identification of adducts formed by reaction of N-acetoxy-3,5-dimethylaniline with DNA. *Chem Res Toxicol*, 20, 1730 (2007)
19. Famulok, M., Boche, G.: Formation of N-(deoxyguanosin-8-yl) aniline in the in vitro reaction of N-acetoxyaniline with deoxyguanosine and DNA. *Ange Chem Int Ed Engl*, 28, 468 (1989).
20. Gonçalves, L.L., Beland, F.A., Marques, M.M.: Synthesis, characterization, and comparative 32P-postlabeling efficiencies of 2,6-dimethylaniline-DNA adducts. *Chem Res Toxicol*, 14, 165 (2001)

21. Jones, C.R., Sabbioni, G.: Identification of DNA adducts using HPLC/MS/MS following in vitro and in vivo experiments with arylamines and nitroarenes. *Chem Res Toxicol*, 16, 1251 (2003)
22. Marques, M.M., Mourato, L.L., Santos, M.A., Beland, F.A.: Synthesis, characterization, and conformational analysis of DNA adducts from methylated anilines present in tobacco smoke. *Chem Res Toxicol*, 9, 99 (1996)
23. Meier C., Boche G. N-Aryl-O-( $\alpha$ -aminoacyl)hydroxylamine: Modellreaktionen mit desoxyguanosin, guanosin und 5'-guanosinmonophosphat zur aktivierung monocyclischer aromatischer amine (z.B. phenacetin) zu ultimaten carcinogenen *Chem Ber*, 123, 1699, (1990)
24. Novak, M., Kahley, M.J., Lin, J., Kennedy, S.A., James T.G.: Involvement of free nitrenium ions, ion pairs, and preassociation trapping in the reactions of ester derivatives of N-arylhydroxylamines and N-arylhydroxamic acids in aqueous solution. *J Org Chem*, 60, 8294, (1995)
25. Fishbein J.C., McClelland R.A.: Azide ion trapping of the intermediate in the Bamberger rearrangement. Lifetime of a free nitrenium ion in aqueous solution *J Am Chem Soc*, 109, 2824, (1987)
26. Eyer, P.: Reactions of oxidatively activated arylamines with thiols: reaction mechanisms and biologic implications. An overview. *Environ Health Perspect*, 102S, 123 (1994)
27. Guliaev, A.B., Hang, B., Singer, B.: Structural insights by molecular Dynamics simulations into specificity of the major human AP endonuclease toward the benzene-derived DNA adduct, pBQ-C. *Nucleic Acids Res*, 32, 2844, (2004)
28. Chao, M.W., Kim, M.Y., Ye, W., Ge, J., Trudel, L.J., Belanger, C.L., Skipper, P.L., Engelward, B.P., Tannenbaum, S.R., Wogan, G.N.: Genotoxicity of 2,6- and 3,5-Dimethylaniline in cultured mammalian cells: The role of reactive oxygen species. *Toxicol Sci*, 130, 48 (2012)
29. Gan, J., Skipper, P.L., Gago-Domingues, M., Arakawa, K., Ross, R.K., Yu, M.C., Tannenbaum, S.R.: Alkylaniline-hemoglobin adducts and risk of non-smoking-related bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 96, 1425, (2004)
30. Material Safety Data Sheet. Section 1: Chemical Product and Company Identification. 2,6-Dimethylaniline MSDS. <http://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9923805>. (07/03/2014)
31. PAN Pesticides Database. U.S. National Toxicology Program acute toxicity studies for 2,6-Dimethylaniline. [http://www.pesticideinfo.org/List\\_NTPStudies.jsp?Rec\\_Id=PC37258](http://www.pesticideinfo.org/List_NTPStudies.jsp?Rec_Id=PC37258) (07/03/2014)
32. Erkekoglu, P., Chao, M.W., Ye, W., Ge, J., Trudel, L.J., Skipper, P.L., Koçer-Gümüşel, B., Engelward, B.P., Wogan, G.N., Tannenbaum, S.R.: Cytoplasmic and nuclear toxicity of 3,5-dimethylaminophenol and potential protection by selenocompounds. *Food Chem Tox* 72, 98-110, (2014)
33. Government of Canada. 1993. Canadian Environmental Protection Act: Priority Substances List Assessment Report – 3,5'-Dimethylaniline. Environmental Health Center, Health Canada, Ottawa, Ontario, Canada, 10 pp. [http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt\\_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/contaminants/psl1-lsp1/3\\_5\\_dimethylaniline/3\\_5\\_dimethylaniline\\_e.pdf](http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/contaminants/psl1-lsp1/3_5_dimethylaniline/3_5_dimethylaniline_e.pdf) . (01/05/2009)
34. Cui L., Sun, H.L., Wishnok, J.S., Tannenbaum, S.R., Skipper, P.L.: Identification of adducts formed by reaction of N-acetoxy-3,5- dimethylaniline with DNA. *Chem Res Toxicol*, 20, 1730, (2007)
35. Chen, P.X., Moldoveanu, S.C.: Mainstream smoke chemical analyses for 2R4F Kentucky reference cigarette. *Beiträge zur Tabakforschung Int*, 20, 448, (2003)
36. Smith, C.J., Dooly, G.L., and Moldoveanu, S.C.: New technique using solid-phase extraction for the analysis of aromatic amines in mainstream cigarette smoke. *J Chromatogr A*, 991, 99 (2003)

37. Pereira, W.E., Rostad, C.E., Garbarino, J.R., and Hult, M.F.: Groundwater contamination by organic bases derived from coal-tar wastes. *Environ Toxicol Chem*, 2, 283, (1983)
38. Xia, K., and Pillar, G. Anthropogenic organic chemicals in biosolids from selected wastewater treatment plants in Georgia and South Carolina. (2003) <http://cms.ce.gatech.edu/gwri/uploads/proceedings/2003/Xia%20and%20Pillar.pdf>. (03/ 07/2014)
39. Cauchon, D., Krishnan, K.: In vitro and in vivo evaluations of the methaemoglobinaemic potential of xylidine isomers in the rat. *J Appl Toxicol*, 17, 397, (1997)
40. Shardonofsky, S., Krishnan, K.: Characterization of methemoglobinemia induced by 3,5-xylidine in rats. *J Toxicol Environ Health*, 50, 595, (1997)
41. National Toxicology Program (NTP). Chemical Information Profile for Alkylanilines. 2-Ethylaniline; 3-Ethylaniline; 3,5-Dimethylaniline. (2009) [http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/noms/Support\\_Docs/Alkylanilines060809\\_508.pdf](http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/noms/Support_Docs/Alkylanilines060809_508.pdf). (07/03/2014)
42. Sabbioni, G.: Hemoglobin binding of arylamines and nitroarenes: molecular dosimetry and quantitative structure-activity relationships. *Environ Health Perspect*, 102S, 61, (1994)
43. Bryant, M.S., Vineis, P., Skipper, P.L., Tannenbaum, S.R.: Haemoglobin adducts of aromatic amines in people exposed to cigarette smoke. *IARC Sci Publ*, 89, 133 (1988)
44. Strife, R.J., Mangels, M.L., Skare, J.A.: Separation and analysis of dimethylaniline isomers by supercritical fluid chromatography—Electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1216, 6970, (2009)
45. Scientific Committee on Consumer products (SCCP). Opinion on p-aminophenol COLIPA n° A16. SCCP/0867/05 (2005). [http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_sccp/docs/sccp\\_o\\_00e.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_00e.pdf). (07/03/2014)
46. Hill A.B., Jefferies P.R., Quistad G.B., Casida J.E.: Dialkylquinoneimine metabolites of chloroacetanilide herbicides induce sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. *Mutat Res*, 395, 159, (1997)
47. Jefferies P.R., Quistad G.B., Casida J.E. Dialkylquinonimines validated as in vivo metabolites of alachlor, acetochlor, and metolachlor herbicides in rats. *Chem Res Toxicol*, 11, 353, (1998)
48. Slaughter, D.E., Hanzlik, R.P.: Identification of epoxide- and quinone-derived bromobenzene adducts to protein sulfur nucleophiles. *Chem Res Toxicol*, 4, 349 (1991)
49. Hill B.A., Kleiner H.E., Ryan E.A., Dulik D.M., Monks T.J., Lau S.S.: Identification of multi-S-substituted conjugates of hydroquinone by HPLC-coulometric electrode array analysis and mass spectrometry. *Chem Res Toxicol*, 6, 459, (1993)
50. Lau S.S., Monks T.J., Everitt J.I., Kleymenova E., Walker C.L.: Carcinogenicity of a nephrotoxic metabolite of the "nongenotoxic" carcinogen hydroquinone. *Chem Res Toxicol*, 14, 25, (2001)
51. Patel S.K., Ma N., Monks T.J., Lau S.S. Changes in gene expression during chemical-induced nephrocarcinogenicity in the Eker rat. *Mol Carcinog*, 38, 141, (2003)
52. Weber, E.J., Colón, D., Baughman, G.L.: Sediment-associated reactions of aromatic amines. 1. Elucidation of sorption mechanisms. *Environ Sci Technol*, 35, 2470 (2001)
53. Yang M.Y., Lau S.S., Monks T.J.: 2,3,5-tris(Glutathion-S-yl)hydroquinone (TGHQ)-mediated apoptosis of human promyelocytic leukemia cells is preceded by mitochondrial cytochrome c release in the absence of a decrease in the mitochondrial membrane potential. *Toxicol Sci*, 86, 92, (2005)
54. Yoon H.S., Monks T.J., Walker C.L., Lau S.S.: Transformation of kidney epithelial cells by a quinol thioether via inactivation of the tuberous sclerosis-2 tumor suppressor gene. *Mol. Carcinog*, 31, 37, (2001)

55. Klos C., Koob M., Kramer C., Dekant W.: p-aminophenol nephrotoxicity: Biosynthesis of toxic glutathione conjugates. *Toxicol Appl Pharmacol*, 115, 98, (1992)
56. Martínez-Cabot, A., Morató, A., Messeguer, A.: Synthesis and stability studies of the glutathione and N-acetylcysteine adducts of an iminoquinone reactive intermediate generated in the biotransformation of 3-(N-phenylamino)propane-1,2-diol: implications for toxic oil syndrome. *Chem Res Toxicol*, 18, 1721., (2005)
57. Towndrow, K.M., Mertens, J.J., Jeong, J.K., Weber, T.J., Monks, T.J., Lau, S.S.: Stress- and growth-related gene expression are independent of chemical-induced prostaglandin E(2) synthesis in renal epithelial cells. *Chem Res Toxicol*, 13, 111, (2000)
58. Canadian Environmental Protection Act. Priority Substances List Assessment Report. 3,5-Dimethylaniline. Government of Canada. Health and Welfare Canada. Environment Canada. [http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt\\_formats/hecs-sesc/pdf/pub\\_s/contaminants/psl1-lsp1/3\\_5\\_dimethylaniline/3\\_5\\_dimethylaniline-eng.pdf](http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt_formats/hecs-sesc/pdf/pub_s/contaminants/psl1-lsp1/3_5_dimethylaniline/3_5_dimethylaniline-eng.pdf). (07/03/ 2014)
59. Chemical Carcinogenesis Research Information System (CCRIS). 3,5-Xylidine. CCRIS Record No. 4742. (1993). <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+ccris:@term+@rn+108-69-0>. 07/03/ 2014)
60. HSDB. 3,5-Xylidine. HSDB No. 2096. (2005) <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+108-69-0>. (07/03/2014)
61. Zimmer, D., Mazurek, J., Petzold, G., and Bhuyan, B.K.: Bacterial mutagenicity and mammalian cell DNA damage by several substituted anilines. *Mutat Res*, 77, 317 (1980)
62. Japan Chemical Industry Ecology-Toxicology and Information Centre (JETOC). (1999) JETOC Information Sheet No. 38, Special Issue No. 5. Tokyo, Japan.
63. Seiler, J.P.: Inhibition of testicular DNA synthesis by chemical mutagens and carcinogens. Preliminary results in the validation of a novel short term test. *Mutat Res*, 46, 305 (1977)
64. Skipper, P.L., Trudel, L.J., Kensler, T.W., Groopman, J.D., Egner, P.A., Liberman, R. G., Wogan, G.N., Tannenbaum, S.R.: DNA adduct formation by 2,6-dimethyl-, 3,5-dimethyl, and 3-ethylaniline in vivo in mice. *Chem Res Toxicol*, 19, 1086 (2004)
65. Lutz, W.K.: In vivo covalent binding of organic chemicals to DNA as a quantitative indicator in the process of chemical carcinogenesis. *Mutat Res*, 65, 289 (1979)
66. Skipper, P.L., Trudel, L.J., Kensler, T.W., Groopman, J.D., Egner, P.A., Liberman, R.G., Wogan, G.N., Tannenbaum, S.R.: DNA adduct formation by 2,6-dimethyl-, 3,5-dimethyl-, and 3-ethylaniline in vivo in mice. *Chem Res Toxicol*, 19, 1086 (2006)
67. Chao, M.W., Erkekoglu, P., Tseng, C.Y., Ye, W., Trudel, L.J., Skipper, P.L., Tannenbaum, S.R., Wogan, G.N.: Intracellular generation of ROS by 3,5-dimethylaminophenol: persistence, cellular response, and impact of molecular toxicity. *Toxicol Sci*, 141, 300 (2014)
68. Chao, M.W., Erkekoglu, P., Tseng, C.Y., Ye, W., Trudel, L.J., Skipper, P.L., Tannenbaum, S.R., Wogan, G.N. Protective effects of ascorbic acid against the genetic and epigenetic alterations induced by 3,5-dimethylaminophenol in AA8 cells. *J Appl Toxicol*. (2014) doi: 10.1002/jat.3046 (basımda).