

**STUDIE ZUR RESORPTION UND TOXIKOKINETIK VON
1-METHOXY-2-AMINO-4-(β -HYDROXYETHYL)-AMINOBENZOL**

**ABSORPTION AND TOXICOKINETIC STUDY OF
1-METHOXY-2-AMINO-4-(β -HYDROXYETHYL)-AMINOBENZENE**

A084-OP50616

Austrian Research Centre Selbersdorf, Vienna, 1984

The following pages were not translated: None

Translated by:

Jan Oltmanns, MSc (FoBiG GmbH)

in cooperation with:

Randall Cassada, PhD

Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe (FoBiG) GmbH

Werderring 16

79098 Freiburg

Germany

May 2005

OEFZS Report No. AO562

BL-472/84

August 1984

**ABSORPTION AND TOXICOKINETIC STUDY OF
1-METHOXY-2-AMINO-4-(β -HYDROXYETHYL)-AMINO BENZENE**

Department of Toxicology

Final report of the research contract from

**Austrian Research Centre Seibersdorf Ltd.
Lenaugasse 10 A-1082 Vienna**

**INSTITUTE OF BIOLOGY
Research Centre Seibersdorf**

WE1

Members of staff involved:

Study director: Dr. H. Hofer

Deputy and execution of the test: E. Reindl

Assistance: Dr. E. Hruby, M. Happel, R. Paar, Mag.

N. Bornatowicz, Mag. Ch. Fenzl

Quality assurance unit: Mag. P. Weniger

Code designation of the experiment: WE1

Sponsor number: 1841

Test facility and archive:

Research Centre Seibersdorf

Start of the experiment: 03/04/1984

Customer:

Length of the report: Pages I, 1-15

ABSORPTION AND TOXICOKINETIC STUDY OF 1-METHOXY-2-AMINO-4-(β -HYDROXYETHYL)-AMINOBENZENE

SUMMARY

14C-labelled 1-methoxy-2-amino-4-(β -hydroxyethyl)-aminobenzene was applied to the skin of rats for 30 minutes. The test substance was integrated into 2 different hair dye formulations of which one, hair dye II, was mixed with an oxidising agent prior to the administration. The aqueous solution of the test substance was applied cutaneously to a third group of rats for comparison.

The cutaneous absorption is between 0.033% and 0.24% of the 14C amount administered. The lowest absorption (0.033%) was detected using hair dye II + oxidising agent, the highest absorption using the solution (0.24%). Hair dye I results in an absorption of 0.13%.

The absorbed 14C activity is rapidly excreted, predominantly via the urine. Three days after the administration, only very low concentrations of 14C are to be found in the organs and the carcass. An accumulation in an organ is not detectable. In the treated skin, 0.57% (hair dye I), 1.51% (hair dye II + oxidising agent) and 0.75% (solution of the test substance) of the 14C activity applied are still present.

**ABSORPTION AND TOXICOKINETIC STUDY OF
1-METHOXY-2-AMINO-4-(β -HYDROXYETHYL)-AMINOBENZENE**

1. INTRODUCTION

The test substance is used as one of the components in hair dye products.

The objectives of the investigation were:

- Determination of the percutaneous absorption using 2 different formulations and a solution of the test substance.
- Determination of the organ distribution and potential accumulation following cutaneous administration.
- Investigation of the type and speed of the excretion following cutaneous administration.

¹⁴C-labelled test substance was used to simplify the chemical analysis.

2. MATERIALS

2.1 Experimental animals:

Equal numbers of female and male, healthy Him:OFA-Sprague Dawley rats. Source: Research Institute for Experimental Animal Breeding, Himberg, Austria. Body weight of the rats: approximately 200 g at the time of administration (also see Table 1).

2.1.1 Animal husbandry: Individually in metabolic cages, type UNO, in room PHA24.

Feed: Altromin 1314ff, 1 Mrad gamma-irradiated. This pelleted feed was ground for use in the metabolic cages.

Water: Tap water from Makrolon bottles, ad libitum.

Room temperature: 21 to 22°C.

Relative humidity: 50-60%.

Light: Artificial light from 7 am to 7 pm.

Air exchange: 10fold/h.

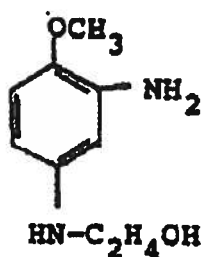
Acclimatisation: 1 week in the metabolic cages.

Labelling of the animals: marking on the tail with a felt-tip pen.

2.2 **Test substance:**

1-methoxy-2-amino-4-(β-hydroxyethyl)-aminobenzene, abbreviated as MAHE. The dihydrochloride was used.

Chemical structure:



Synthesis: conducted by the Institute of Chemistry of the Austrian Research Centre Seibersdorf (see separate report), starting from barium carbonate. Labelling was carried out uniformly in the benzene ring.

External characterisation of the test substance: brown powder.

Two different preparations of the test substance (hair dye I and hair dye II) as well as an aqueous solution were used for the experiments.

2.2.1 **Hair dye I:**

Used in sub-experiment A, also see section 3.

Composition:

1.	1-Methoxy-2-amino-4-(β -hydroxyethyl)-aminobenzene · 2 HCl (14C)	1.050% a)
2.	Salt mixture (Antioxidants and complexing agents)	0.700%
3.	Ammonia, 25% (to dissolve the dye)	0.600%
4.	Isopropanol	3.900%
5.	Ethoxylated fatty alcohol carboxylic acid, sodium salt	2.000%
6.	Water (completely deionised)	44.150%
7.	Matrix	47.600%
	Ethoxylated alkylphenol	
	Ammonium oleate	
	Alcohol	
	Perfume oil	

a) this corresponds to 0.75% of the free base MAHE.

Specific activity of hair dye I: 0.151 mCi 14C/g.

Processing instruction:

1. Items 1 to 3 are mixed with subsequent pasting using item 4.
2. Item 5 is hot dissolved in item 6.
3. The paste produced according to 1. is dissolved in the solution produced according to 2.
4. The aqueous solution is stirred into the matrix.

In sub-experiment A, the following was applied onto an area of 3x3 cm per rat:

1 g hair dye I, corresponding to

10.5 mg MAHE · 2 HCl, corresponding to

7.5 mg MAHE, corresponding to

0.83 mg MAHE/cm² but also see section 5.

Related to body weight this means:

Approximately 38 mg MAHE/kg body weight.

2.2.2 Hair dye I:

Used in sub-experiment B, also see section 3.

Composition:

- | | | |
|-----|---|-----------|
| 1. | 1-Methoxy-2-amino-4-(β-hydroxyethyl)-aminobenzene · 2 HCl (14C) | 2.100% a) |
| 2. | p-Toluylenediamine sulphate | 3.500% |
| 3. | Mixture of resorcinol and m-aminophenol | 1.355% |
| 4. | Salt mixture
(Antioxidants and complexing agents) | 0.700% |
| 5. | Ammonia, 25% (to dissolve the dyes) | 3.800% |
| 6. | Isopropanol | 3.900% |
| 7. | Ethoxylated fatty alcohol carboxylic acid, sodium salt | 2.000% |
| 8. | Water (completely deionised) | 31.395% |
| 9. | Matrix | 47.600% |
| | Ethoxylated alkylphenol | |
| | Ammonium oleate | |
| | Alcohol | |
| | Perfume oil | |
| 10. | Ammonia, 25% (for alkalisation) | 3.650% |

b) this corresponds to 1.5% of the free base MAHE.

=> 0,75%
free base

Specific activity of hair dye II: 0.248 mCi 14C/g.

Processing instruction:

- Items 1 to 5 are mixed with subsequent pasting using item 6.
- Item 7 is hot dissolved in item 8.
- The paste produced according to 1. is dissolved in the solution produced according to 2.
- The aqueous solution is stirred into the matrix.
- Item 10 is subsequently homogeneously stirred in.

Immediately prior to the application onto the animal, hair dye II was mixed 1:1 with (contains 9.5% H₂O₂). In sub-experiment B, the following was applied onto an area of 3x3 cm per rat:

- 0.5 g hair dye II + 0.5 g , corresponding to
- 10.5 mg MAHE · 2 HCl, corresponding to
- 7.5 mg MAHE, corresponding to
- 0.83 mg MAHE/cm².

Related to body weight this means:

Approximately 38 mg MAHE/kg body weight.

2.2.3 Solution of the test substance:

Used in sub-experiment C, also see section 3.

Immediately prior to use, a 3.47% aqueous solution of MAHE · 2 HCl (14C) was produced of which 0.3 ml per animal was applied onto an area of 3x3 cm. I.e.:

10.4 mg MAHE · 2 HCl/animal, corresponding to

7.4 mg MAHE/animal, corresponding to

0.83 mg MAHE/cm², corresponding to

approximately 37 mg MAHE/kg body weight

Specific activity of the solution of the test substance: 0.331 mCi 14C/g.

3. SUMMARY OF THE SUB-EXPERIMENTS CONDUCTED

Sub-experiment	Number of animals, sex	Type of administration, characteristics	Test sample	Duration of the experiment
A	3 f 3 m	Cutaneous, Hair dye I	Washing water, treated skin, urine, faeces, organs, carcass	72 h
B	3 f 3 m	Cutaneous, Hair dye II + Welloxon	As A	72 h
C	3 f 3 m	Cutaneous, Test substance solution	As A	72 h

4. TEST PROCEDURE AND METHODS

4.1 Animal experiments

Shearing of the animals: large-area shearing of the back under ether anaesthesia using a shearing machine on the day prior to administration. Replacement of animals with skin lesions by reserve animals.

Anaesthesia: 40 mg thiopental i.p./kg body weight prior to the start of administration.

Application of the dye matrix and the dye mixture, experiments A and B: Application and dispersion using a spatula onto an area of 3x3 cm at the back. Determination of the amount actually applied by weighing the remaining substance.

Application of the solution, experiment C: Application and spreading of 0.3 ml of the solution using a 1 ml plastic syringe. Otherwise as above.

Washing off: rub-off the dye matrix with a spatula. Then washing of the treated area with approximately 100 ml of a warm (body temperature) 3% shampoo solution. Further washing with as much warm (body temperature) water until the run-off water remains colourless and the swabs used to dry the skin do not display any colour. Drying of the skin with cellulose swabs.

Occlusion of the dyed area: First occlusion by 4 layers of gauze patch sized 4x4 cm, which are attached with tape around the body. Above: air-permeable, truncated conical plexiglass funnel for partial immobilisation, attached behind the shoulders by tape. Immediately after this washing and dressing procedure: putting the animals back in the metabolic cages.

Urine and faeces collection: separated collection of urine and faeces for 24 hours each. Daily, thorough rinsing of the cages with water. Pooling of the rinsing liquid and the urine.

Sacrifice: Bleeding of animals under thiopental anaesthesia, 72 h after the start of administration.

4.2 Arising samples:

- Control samples of the hair dyes and the test substance solution for the determination of the specific radioactivity actually administered. The control samples were dissolved either in methanol/water 1:1 or in the scintillator (Lumagel)

and further diluted with Lumagel.

- Washing water (i.e. pooling of the following samples: abraded dye matrix dissolved in methanol/water 1:1 + shampoo liquid + washing water itself + methanol/water 1:1 extract of the patches). The washing water was filtered. Filter and filtrate were processed separately and only combined in the calculation after the ¹⁴C determination.
- Urine and the rinsing liquid from the metabolic cages (0-24, 24-48, 48-72 hours).
- Faeces (0-24, 24-48, 48-72 hours), manually homogenised under the addition of some water.
- Treated piece of skin. The dyed skin was taken with some border areas and dissolved in Soluene-350 (Packard Inc.).
- Organs. See Table 3 for a list of organs taken out.
- Carcass. The skin of the animal was completely removed and the carcass homogenised by repeated use of an electrical meat chopper.

4.3 Processing of the samples:

Aliquots of solid samples (faeces, organs, carcass, filter) were weighed out, air-dried and ashed in an ashing device (Sample oxidizer 306, Packard).

Liquid samples (urine plus rinsing liquid from the cages, washing water from the washing off procedure, control samples of the test substance solution, skin dissolved in Soluene-350) were placed in a Lumagel scintillator (Baker Inc.).

Duplicate determination of: faeces and carcass; other samples if questionable results existed.

¹⁴C measurement: in a liquid scintillation counter (TriCarb 300 CD, Packard) with automatic external standardisation.

4.4 Analysis:

Calculation of the ¹⁴C amount actually applied per animal. Conversion of all measured decay rates to "percent of the administered ¹⁴C amount" and "percent of the administered ¹⁴C amount per g organ" for concentrations, respectively.

Limit of detection: the mean decay rate of the background sample increased by 30%. For illustration, conversion of this limit of detection to the units "percent of the administered...." mentioned above using typical sample amounts and typical net weights.

Outliers: Statistical determination of outliers (Dixon test, P = 0.05) in inconsistent cases. Elimination of the outliers for further calculations, however, only if additional evidence for artefacts exists.

Presentation of the results: arithmetic mean \bar{x} and standard deviation s as \bar{x} ,
s.

Statistical differences between groups: t-test for difference of the means between the sexes. Simple analysis of variance and subsequent Scheffé test in case of several groups. P = 0.05.

Absorbed amount: calculation by totalling the ¹⁴C amount already excreted by the body after 3 days (i.e. faeces 0-72 h + urine 0-72 h) and the ¹⁴C amount still remaining in the carcass after 3 days. The absorbed amount thus calculated (in percent of the administered ¹⁴C amount) relates to ¹⁴C alone and does not allow any further conclusion on whether unaltered test substance or oxidised or metabolised test substance were absorbed.

5. DEVIATION FROM THE STUDY PLAN

In sub-experiment A, application of hair dye I, the hair dye gel slightly spreaded during the 30 minute exposure period so that the area actually treated was approximately 11-12 cm² instead of 9 cm².

6. RESULTS AND DISCUSSION

The results are summarised in Table 1. Data on the excretion are reproduced in Table 2, data on the organ distribution in Table 3.

6.1 Treated skin:

Three days after the administration, 0.57 to 1.51% of the administered 14C amount are to be found in the treated skin. The highest value (1.51%) occurs after the application of hair dye II + Welloxon; it is significantly higher than those with application of hair dye I (0.57%) and the test substance solution (0.75%).

6.2 Excretion:

In all three sub-experiments, approximately 3/4 of the absorbed 14C amount are excreted with the urine and approximately 1/4 with the faeces. The predominant part is already excreted within the first 24 hours:

Sub-experiment A 93%,

Sub-experiment B 87%,

Sub-experiment C 96%.

6.3 Carcass, organ distribution:

The 14C amount remaining in the body after 3 days is very low in all 3 sub-experiments (with the exception of the treated piece of skin), i.e. close to or below the limit of detection of approximately 0.005 to 0.008% of the administered 14C activity.

The 14C concentration in the organs is also close to or below the limit of detection in almost all cases (see Table 3).

Relatively the highest concentrations occur in the kidney as the excretion organ in

sub-experiment C and particularly in the thyroid. In this context, it should be noted that the limit of detection is one order of magnitude higher for the very small thyroid than for other organs and that the concentrations measured in the thyroid, while appearing high, are also close to or below the limit of detection.

6.4 Washing water, balance:

The predominant part of the administered ¹⁴C amount is removed from the dyed piece of skin by washing 30 minutes after the start of dyeing.

The balance, i.e. the sum of the ¹⁴C activities in all measured samples, is:

- Sub-experiment A 97.7%,
- Sub-experiment B 95.1%,
- Sub-experiment C 99.9%.

6.5 Absorption:

As the essential result of this study, the absorption is again summarised in addition to Table 1.

Absorption	Sub-experiment		
	A Hair dye I	B Hair dye II + Welloxon	C Solution
in % of the administered ¹⁴ C amount	\bar{x} 0.128	0.033	0.237
	s 0.057	0.030	0.226
in 10 ⁻⁶ g MAHE/cm ²	\bar{x} 0.83	0.27	1.97
	s 0.37	0.25	1.88

The absorption in sub-experiment B (hair dye II + Welloxon) is significantly lower than the absorption in sub-experiments A and C. The highest absorption occurs from the aqueous test substance solution.

It can be deduced from the time course of the excretion (Table 2) that the absorption

should largely be complete within the first 24 hours and that the radioactivity still present in the skin would probably no longer be available for absorption.

6.6 Sex differences:

Significant sex differences between the measured parameters occur sporadically (Tables 1 and 3), but are irrelevant.

Scientists responsible

Dr. H. Hofer
Study director
Head of the Department of Toxicology

Dr. H. Altmann
Head of the Institute of
Biology

QUALITY ASSURANCE UNIT

Declaration on the experiment: Absorption and toxicokinetic study of
1-methoxy-2-amino-4-(β -hydroxyethyl)-aminobenzene

This experiment was inspected on 11/05/1984 and 01/08/1984. The conclusions reached on these occasions were reported to the Head of the Department of Toxicology of the Institute of Biology.

The experiment was conducted according to the study plan. The data, observations and results stated in this report agree with the raw data.

Seibersdorf,

Quality assurance unit

.....
(Mag. P. Weniger)

Table 1: Cutaneous administration of 1-methoxy-2-amino-4-(β -hydroxyethyl)-aminobenzene.

Overview. Presentation of the results as \bar{x} s

3 male and 3 female animals

Sub-experiment, characteristics	Body weight (g)	Dyeing cream or test substance solution applied		Washing water	14C activity in percent of the administered amount in				
		(mg)	(μ Ci)		Treated skin	Urine 0-72h	Faeces 0-72h	Carcass	Absorption
A Hair dye I	202 8	1004	152	97.0	0.57	0.097	0.0267	0.005b	0.128
		12	2	1.2	0.31	0.037	0.0259	0.002	0.057
B Hair dye II +)	201a 10	499	124	93.6	1.51	0.020	0.0081	0.005b	0.033
		9	2	1.4	0.16	0.023	0.0055	0.001	0.030
C Test substance solution	207 8	306	101	98.9	0.75	0.180	0.0470	0.010b	0.237
		4	1	1.0	0.15	0.173	0.0526	0.006	0.226

a: significant sex difference ($m > f$).

b: some or all of the individual values are below the limit of detection of approximately 0.005 to 0.008%.

Table 2: Cutaneous administration of 1-methoxy-2-amino-4-(β -hydroxyethyl)-amino-benzene.
 14 C activity in urine and faeces (in 10^{-3} % of the administered 14 C amount).
 Presentation of the results as \bar{x}
 s

3 male and 3 female animals

Sub-experiment, characteristics	Urine			Faeces		
	0-24h	24-48h	48-72h	0-24h	24-48h	48-72h
A	94	2b	1b	20.6	4.2	1.8
Hair dye I	36	1	1	24.7	1.9	0.9
B	19	Øb	1b	5.4	1.9	0.8
Hair dye II + \	22	Ø	1	5.0	0.8	0.2
C	179	1b	1b	38.7	6.0	2.3
Test substance solution	169	2	1	49.7	1.8	1.3

b: some or all of the individual values are below the limit of detection.

Limit of detection urine: approximately $3 \cdot 10^{-3}$ % to $5 \cdot 10^{-3}$ %.

Limit of detection faeces: approximately $0.2 \cdot 10^{-3}$ % to $0.3 \cdot 10^{-3}$ %.

Table 3: Cutaneous administration of 1-methoxy-2-amino-4-(β -hydroxyethyl)-aminobenzene. Organ distribution.

Presentation of the results as \bar{x} _s.

3 male and 3 female animals

Sub-experiment, characteristics	14C concentration ($10^{-3}\%$ of the administered 14C amount/g organ)												
	Whole blood	Liver	Kidney	Lung	Brain	Gonads	Muscle	Heart	Spleen	Adrenal gland	Fat	Skin	Thyroid
A	0.03	0.04	0.06	0.03b	0.03b	0.01a,b	0.04b	0.03b	0.04b	0.03b	0.04b	0.05b	0.4b
Hair dye I	0.02	0.01	0.03	0.02	0.03	0.00	0.02	0.02	0.03	0.03	0.02	0.03	0.1
B	0.03b	0.06b	0.04b	0.06b	0.02b	0.02b	0.05b	0.03b	0.05b	0.04b	0.06b	0.05b	0.2b
Hair dye II + ¹	0.02	0.05	0.03	0.05	0.01	0.02	0.04	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.1
C	0.03b	0.05b	0.17	0.04b	0.03b	0.02b	0.05b	0.05b	0.06b	0.06b	0.04b	0.09	0.6b
Test substance solution	0.03	0.04	0.18	0.02	0.02	0.02	0.05	0.04	0.05	0.01	0.01	0.07	0.4

a: significant sex difference ($m < f$).

b: some or all of the individual values are below the limit of detection of approximately $0.03 \cdot 10^{-3}\%$ for larger organs and approximately $0.3 \cdot 10^{-3}\%$ for the thyroid.

OEFZS Ber.No. A0562

BL- 472/84

August 1984

VERTRAULICH

STUDIE ZUR RESORPTION UND TOXIKOKINETIK VON
1-METHOXY-2-AMINO-4-(β -HYDROXYETHYL)-AMINOENZOL

Abteilung Toxikologie

Abschlußbericht zum Forschungs-
auftrag von Wella AG vom 82 12 07

Österreichisches
Forschungszentrum Seibersdorf
Ges.m.b.H.
Lenaugasse 10 A-1082 Wien

INSTITUT FÜR BIOLOGIE
Forschungszentrum Seibersdorf

Beteiligte Mitarbeiter:

Versuchsleiter: Dr. H. Hofer

Stellvertreter und Versuchsdurchführung: E. Reindl

Assistenz: Dr. E. Hruby, M. Happel, R. Paar, Mag.

N. Bornatowicz, Mag. Ch. Fenzl

Qualitätssicherungseinheit: Mag. P. Weniger

Versuchskurzbezeichnung: WE1

Kostenträgernummer: 1841

Versuchsort und Archiv:

Forschungszentrum Seibersdorf

Versuchsbeginn: 1984 04 03

Auftraggeber:

Umfang des Berichtes: Seite I, 1-15

STUDIE ZUR RESORPTION UND TOXIKOKINETIK VON 1-METHOXY-
2-AMINO-4-(β -HYDROXYETHYL)-AMINOBENZOL

ZUSAMMENFASSUNG

14C markiertes 1-Methoxy-2-amino-4-(β -hydroxyethyl)-aminobenzol wurde auf die Haut von Ratten für 30 Minuten appliziert. Die Prüfsubstanz war in 2 verschiedenen Haarfärbeformulierungen eingebaut, eine davon, Haarfarbe II, wurde vor der Verabreichung mit einem Oxydationsmittel gemischt. Zum Vergleich wurde an eine 3. Gruppe von Ratten die wäßrige Lösung der Prüfsubstanz cutan verabreicht.

Die cutane Resorption liegt zwischen 0,033% und 0,24% der verabreichten 14C-Menge. Die niedrigste Resorption (0,033%) wurde bei Anwendung von Haarfarbe II + Oxydationsmittel festgestellt, die höchste Resorption bei Anwendung der Lösung (0,24%). Haarfarbe I ergibt eine Resorption von 0,13%.

Die resorbierte 14C-Aktivität wird schnell und überwiegend mit Harn ausgeschieden. 3 Tage nach der Verabreichung finden sich nur mehr sehr geringe 14C-Konzentrationen in den Organen und im Restkörper. Es ist keine Speicherung in einem Organ feststellbar. In der behandelten Haut sind noch 0,57% (Haarfarbe I), 1,51% (Haarfarbe II + Oxydationsmittel) und 0,75% (Prüfsubstanzlösung) der verabreichten 14C-Aktivität vorhanden.

STUDIE ZUR RESORPTION UND TOXIKOKINETIK VON
1-METHOXY-2-AMINO-4-(β -HYDROXYETHYL)-AMINOBENZOL

1. EINLEITUNG

Die Prüfsubstanz wird als eine der Komponenten in Haarfärbeprodukten eingesetzt.

Ziele der Untersuchung waren:

- Feststellung der percutanen Resorption unter Einsatz von 2 verschiedenen Formulierungen und einer Lösung der Prüfsubstanz.
- Ermittlung der Organverteilung und eventueller Speicher nach cutaner Verabreichung.
- Untersuchung von Art und Geschwindigkeit der Ausscheidung nach cutaner Verabreichung.

^{14}C -markierte Prüfsubstanz wurde verwendet, um die Analytik zu vereinfachen.

2. MATERIAL

2.1. Versuchstiere:

Gleich viel weibliche und männliche, gesunde Him:OFA-Sprague Dawley Ratten. Bezugsquelle: Forschungsinstitut für Versuchstierzucht, Himberg, Österreich. Körpergewicht der Ratten: Etwa 200 g bei Verabreichung (s.a. Tab. 1).

2.1.1. Haltungsbedingungen: Im Raum PHA24 einzeln in Stoffwechselkäfigen, Typ UNO.

Futter: Altromin 1314ff, 1 Mrad gammabestrahlt. Dieses pelletierte Futter wurde für den Einsatz in den Stoffwechselkäfigen gemahlen.

Wasser: Leitungswasser aus Makrolonflaschen, ad libitum.

Raumtemperatur: 21 bis 22°C.

Relative Luftfeuchtigkeit: 50-60%.

Licht: Künstliches Licht von 7 bis 19 Uhr.

Luftwechsel: 10/h.

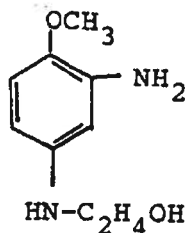
Akklimation: 1 Woche in den Stoffwechselkäfigen.

Kennzeichnung der Tiere: Filzstiftmarkierung am Schwanz.

2.2. Prüfsubstanz:

1-Methoxy-2-amino-4-(β -hydroxyethyl)-aminobenzol, abgekürzt zu MAHE. Verwendet wurde das Dihydrochlorid.

Chemische Konfiguration:



Synthese: Vom Institut für Chemie des Österreichischen Forschungszentrums Seibersdorf durchgeführt (s. eigener Bericht), ausgehend vom Bariumkarbonat. Die Markierung erfolgte uniform im Kern des Benzolringes.

Äußerliche Charakterisierung der Prüfsubstanz: braunes Pulver.

Für die Versuche wurden 2 verschiedene Zubereitungen der Prüfsubstanz (Haarfarbe I und Haarfarbe II) eingesetzt sowie eine wäßrige Lösung.

2.2.1. Haarfarbe I:

Verwendet im Teilversuch A, s.a. Punkt 3.

Zusammensetzung:

1.	1-Methoxy-2-amino-4-(8-hydroxyethyl)-aminobenzol . 2 HCl (14C)	1,050% a)
2.	Salzgemisch (Antioxidantien und Komplexbildner)	0,700%
3.	Ammoniak, 25%ig (zum Lösen des Farbstoffes)	0,600%
4.	Isopropanol	3,900%
5.	Äthoxylierte Fettalkoholcarbonsäure, Natriumsalz	2,000%
6.	Wasser (vollentsalzt)	44,150%
7.	Grundmasse	47,600%
	Äthoxyliertes Alkylphenol	
	Ammoniumoleat	
	Alkohol	
	Parfümöl	

a) dies entspricht 0,75% der freien Base MAHE.

Spezifische Aktivität der Haarfarbe I: 0,151 mCi 14C/g.

Verarbeitungsanweisung:

1. Die Positionen 1 bis 3 werden miteinander gemischt und anschließend mit Position 4 angeteigt.
2. Position 5 wird in Position 6 heiß gelöst.
3. Der nach 1. hergestellte Teig wird in der nach 2. hergestellten Lösung gelöst.
4. Die wäßrige Lösung wird in die Grundmasse eingerührt.

Im Teilversuch A wurde je Ratte auf eine Fläche von 3x3 cm aufgetragen:

- 1 g Haarfarbe I, entsprechend
- 10,5 mg MAHE.2 HCl, entsprechend
- 7,5 mg MAHE, entsprechend
- 0,83 mg MAHE/cm² siehe aber auch Punkt 5.

Auf das Körpergewicht bezogen bedeutet das:

ca. 38 mg MAHE/kg Körpergewicht.

2.2.2. Haarfarbe II:

Verwendet im Teilversuch B, s.a. Punkt 3.

Zusammensetzung:

1. 1-Methoxy-2-amino-4-(8-hydroxyethyl)-aminobenzol . 2 HCl (14C)	2,100% a)
2. p-Toluyldiaminsulfat	3,500%
3. Gemisch aus Resorcin und m-Aminophenol	1,355%
4. Salzgemisch (Antioxydantien und Komplexbildner)	0,700%
5. Ammoniak, 25%ig (zum Lösen der Farbstoffe)	3,800%
6. Isopropanol	3,900%
7. Äthoxylierte Fettalkoholcarbonsäure, Natriumsalz	2,000%
8. Wasser (vollentsalzt)	31,395%
9. Grundmasse Äthoxyliertes Alkylphenol Ammoniumoleat Alkohol Parfümöl	47,600%
10. Ammoniak, 25%ig (zur Alkalisierung)	3,650%

a) dies entspricht 1,5% der freien Base MAHE.

Spezifische Aktivität der Haarfarbe II: 0,248 mCi 14C/g.

Verarbeitungsanweisung:

1. Die Positionen 1 bis 5 werden miteinander gemischt und anschließend mit Position 6 angeteigt.
2. Position 7 wird in Position 8 heiß gelöst.
3. Der nach 1. hergestellte Teig wird in der nach 2. hergestellten Lösung gelöst.
4. Die wäßrige Lösung wird in die Grundmasse eingerührt.
5. Anschließend wird Position 10 homogen eingerührt.

Unmittelbar vor dem Auftragen auf das Tier wurde die Haarfarbe II 1:1 mit Welloxon (enthält 9% H₂O₂) vermischt. Im Teilversuch B wurde je Ratte auf eine Fläche von 3x3 cm aufgetragen:

0,5 g Haarfarbe II + 0,5 g Welloxon, entsprechend
10,5 mg MAHE . 2 HCl, entsprechend $\approx 1,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ *de facto*
7,5 mg MAHE, entsprechend *1/50*
0,83 mg MAHE/cm².

Auf das Körpergewicht bezogen bedeutet das:
ca. 38 mg MAHE/kg Körpergewicht.

2.2.3. Lösung der Prüfsubstanz:

Verwendet im Teilversuch C, s.a. Punkt 3.

Unmittelbar vor der Anwendung wurde eine 3,47%ige wäßrige Lösung von MAHE . 2 HCl (14C) hergestellt und je Tier 0,3 ml davon auf eine Fläche von 3x3 cm aufgetragen. D.h.:
10,4 mg MAHE . 2 HCl/Tier, entsprechend
7,4 mg MAHE/Tier, entsprechend
0,83 mg MAHE/cm², entsprechend
ca. 37 mg MAHE/kg Körpergewicht.

Spezifische Aktivität der Prüfsubstanzlösung: 0,331 mCi
14C/g.

3. ÜBERSICHT ÜBER DIE DURCHGEFÜHRTEN TEILVERSUCHE

Teil- ver- such	Tier- zahl, Sex	Verabreichungsart, Charakteristik	Meßproben	Ver- suchs- dauer
A	3 w 3 m	cutan, Haarfarbe I	Waschwasser, be- handelte Haut, Harn, Kot, Organe, Restkörper	72 h
B	3 w 3 m	cutan, Haarfarbe II + Welloxon	wie bei A	72 h
C	3 w 3 m	cutan, Prüfsubstanzlösung	wie bei A	72 h

4. VERSUCHSABLAUF UND METHODIK

4.1. Tierexperimenteller Teil:

Scheren der Tiere: Am Tag vor der Verabreichung großflächiges Scheren des Rückens in Äthernarkose mittels Schermaschine.
Ersatz von Tieren mit Hautläsionen durch Reservetiere.

Narkose: 40 mg Thiopental i.p./kg Körpergewicht vor Verabreichungsbeginn.

Auftragen der Färbemasse bzw. der Färbemischung, Versuche A und B: Auftragen und Verteilen mittels Spatel auf ein Areal von 3x3 cm am Rücken. Bestimmung der tatsächlich aufgetragenen Menge durch Rückwaage. Einwirkzeit = 30 min.

Auftragen der Lösung, Versuch C: Auftragen und Verteilung der 0,3 ml Lösung mittels 1 ml Plastikspritze. Sonst wie oben.

Abwaschen: Abschaben der Färbemasse mittels Spatel. Dann Waschen der behandelten Stelle mit etwa 100 ml 3prozentiger, körperwarmer Shampoolösung. Weiteres Waschen mit soviel körperwarmem Wasser, bis das ab rinnende Wasser farblos bleibt und die Tupfer zum Trocknen der Haut keine Farbe zeigen. Trocknen der Haut mit Zellstofftupfern.

Abdecken der gefärbten Fläche: Erste Abdeckung durch 4 Lagen 4x4 cm großer Mulltupfer, Befestigung dieser durch Klebstreifen rund um den Körper. Darüber: Luftdurchlässiger, kegelstrumpfförmiger Plexiglastrichter zur Teilimmobilisierung, hinter den Schultern der Tiere durch Klebestreifen befestigt. Unmittelbar nach dieser Wasch- und Einkleideprozedur: Rückversetzen der Tiere in die Stoffwechselkäfige.

Harn- und Kotsammlung: Getrenntes Sammeln von Harn und Kot über jeweils 24 Stunden. Tägliches Durchspülen der Stoffwechselkäfige mit Wasser. Vereinigung der Spülflüssigkeit mit dem Harn.

Tötung: Entbluten in Thiopentalnarkose, 72 h nach Verabreichungsbeginn.

4.2. Anfallende Proben:

- Stichproben von den Haarfarben bzw. der Prüfsubstanzlösung zur Feststellung der tatsächlich verabreichten spezifischen Radioaktivität. Die Stichproben wurden in Methanol/Wasser 1:1 oder im Szintillator (Lumagel) gelöst

- und mit Lumagel weiterverdünnt.
- Waschwasser (i.e. Vereinigung folgender Proben: in Methanol/Wasser 1:1 gelöste, abgeschabte Färbemasse + Shampooflüssigkeit + eigentliches Waschwasser + Methanol/Wasser 1:1 Extrakt der Tupfer). Das Waschwasser wurde filtriert und Filter und Filtrat getrennt weiterverarbeitet und erst nach der 14C-Bestimmung wieder rechnerisch vereinigt.
 - Harn plus Spülflüssigkeit von den Stoffwechsellkäfigen (0-24, 24-48, 48-72 Stunden).
 - Kote (0-24, 24-48, 48-72 Stunden), händisch homogenisiert unter Zugabe von etwas Wasser.
 - Behandeltes Hautstück. Die gefärbte Haut wurde mit etwas Rand (4x4 bis 5x5 cm) genommen und in Soluene-350 (Fa. Packard) gelöst.
 - Organe. Liste der entnommenen Organe s. Tabelle 3.
 - Restkörper. Die Haut des Tieres wurde komplett abgezogen und der restliche Körper in einem elektrischen Fleischwolf, durch mehrmaliges Durchlaufenlassen, homogenisiert.

4.3. Weiterverarbeitung der Proben:

Aliquote von festen Proben (Kot, Organe, Restkörper, Filter) wurden eingewogen, luftgetrocknet und in einem Verbrennungsgerät (Sample Oxidizer 306, Packard) verbrannt.

Flüssige Proben (Harn plus Spülflüssigkeit von den Käfigen, Waschwasser von der Abwaschprozedur, Stichproben der Prüfsubstanzlösungen, in Soluene - 350 gelöste Haut) wurden in einen Lumagel-Szintillator (Firma Baker) eingebracht.

Doppelbestimmung von: Kot und Restkörper. Von anderen Proben, wenn zweifelhafte Ergebnisse vorlagen.

14C-Messung: In einem Flüssigszintillationszähler (TriCarb 300 CD, Packard) mit automatischer externer Standardisierung.

4.4. Auswertung:

Berechnung der tatsächlich je Tier applizierten ^{14}C -Menge. Umrechnung aller gemessenen Zerfallsraten auf "Prozent der verabreichten ^{14}C -Menge" bzw. auf "Prozent der verabreichten ^{14}C -Menge je g Organ" bei Konzentrationen.

Nachweisgrenze: Die um 30% erhöhte Zerfallsrate der mittleren Untergrundprobe. Zur Veranschaulichung Umrechnung dieser Nachweisgrenze in die obengenannten Einheiten "Prozent der verabreichten" mit Hilfe von typischen Probenmengen und typischen Einwaagen.

Ausreißer: Statistische Ausreißermittlung (Dixon-Test, $P = 0,05$) in ungereimten Fällen. Eliminierung der Ausreißer für die weitere Berechnung jedoch nur dann, wenn zumindest zusätzlich Hinweise auf Artefakte vorliegen.

Darstellung der Ergebnisse: Durch den arithmetischen Mittelwert \bar{x} und die Standardabweichung s in der Form $\frac{\bar{x}}{s}$.

Statistische Unterschiede zwischen Gruppen: t-Test bei Unterschied der Mittelwerte zwischen den Geschlechtern. Einfache Varianzanalyse und nachfolgender Scheffé-Test bei mehreren Gruppen. $P = 0,05$.

Resorbierte Menge: Errechnung durch Summation der vom Körper nach 3 Tagen bereits wieder ausgeschiedenen ^{14}C -Menge (d.h. Kot 0-72 h + Harn 0-72 h) und der nach 3 Tagen im Restkörper noch verbliebenen ^{14}C -Menge. Die so errechnete resorbierte Menge (in Prozent der verabreichten ^{14}C -Menge) bezieht sich alleine auf ^{14}C und läßt keinen weiteren Schluß zu, ob unveränderte Prüfsubstanz oder oxidierte oder metabolisierte Prüfsubstanz resorbiert wurde.

5. ABWEICHUNG VOM VERSUCHSPLAN

Im Teilversuch A, Anwendung von Haarfarbe I, zerrann das Haarfärbegel während der halbstündigen Einwirkzeit etwas, sodaß die tatsächliche behandelte Fläche statt 9 cm² etwa 11-12 cm² betrug.

6. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Eine Übersicht der Ergebnisse ist in der Tabelle 1 dargestellt. Daten über die Ausscheidung sind in Tabelle 2, Daten über die Organverteilung in Tabelle 3 wiedergegeben.

6.1. Behandelte Haut:

In der behandelten Haut finden sich 3 Tage nach der Verabreichung 14C-Menge zwischen 0,57 und 1,51% der verabreichten 14C-Menge. Der höchste Wert (1,51%) tritt bei Anwendung von Haarfarbe II + Welloxon auf, er ist signifikant höher als bei Anwendung von Haarfarbe I (0,57%) und von der Prüfsbstanzlösung (0,75%).

6.2. Ausscheidung:

Die Ausscheidung der resorbierten 14C-Menge erfolgt zu etwa 3/4 mit Harn und zu etwa 1/4 mit Kot, in allen 3 Teilversuchen. Der überwiegende Teil wird bereits in den ersten 24 Stunden ausgeschieden:

Teilversuch A	93%,
Teilversuch B	87%,
Teilversuch C	96%.

6.3. Restkörper, Organverteilung:

Die nach 3 Tagen im Körper (ausgenommen dem behandelten Hautstück) verbliebene 14C-Menge liegt in allen 3 Teilversuchen sehr niedrig, d.h. an oder unter der Nachweisgrenze von etwa 0,005 bis 0,008% der verabreichten 14C-Aktivität.

Die 14C-Konzentration in den Organen liegt ebenfalls in fast allen Fällen an oder unter der Nachweisgrenze (s.Tab. 3). Relativ höchste Konzentrationen treten im Ausscheidungs-

organ Niere im Teilversuch C auf und vor allem in der Schilddrüse. Dazu ist zu bemerken, daß die Nachweisgrenze für die sehr kleine Schilddrüse, gegenüber anderen Organen, um eine Größenordnung höher liegt und die zwar hoch ausschauenden, gemessenen Konzentrationen in der Schilddrüse ebenfalls an oder unter der Nachweisgrenze liegen.

Es ist keine Speicherung in einem Organ feststellbar.

6.4. Waschwasser, Bilanz:

Der überwiegende Teil der verabreichten ¹⁴C-Menge wird beim Waschen des gefärbten Hautstückes, 30 min nach Färbebeginn, wieder entfernt.

Die Bilanz, d.h. die Summe über die ¹⁴C-Aktivitäten in allen gemessenen Proben, beträgt:

Teilversuch A	97,7%,
Teilversuch B	95,1%,
Teilversuch C	99,9%.

6.5. Resorption:

Die Resorption, als wesentliches Ergebnis dieser Studie, wird zusätzlich zu Tab. 1 nochmals zusammengefaßt.

Resorption	Teilversuch		
	A Haarfarbe I	B Haarfarbe II+ Welloxon	C Lösung
in % der verabreichten ¹⁴ C-Menge	\bar{x} 0,128 s 0,057	0,033 0,030	0,237 0,226
in 10 ⁻⁶ g MAHE/ /cm ²	\bar{x} 0,83 s 0,37	0,27 0,25	1,97 1,88

Die Resorption im Teilversuch B (Haarfarbe II + Welloxon) ist signifikant niedriger als die Resorption in den Teilversuchen A und C. Die höchste Resorption erfolgt aus der wäßrigen Prüfsubstanzlösung.

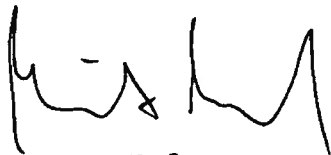
Aus dem zeitlichen Verlauf der Ausscheidung (Tab. 2) läßt

sich ableiten, daß die Resorption in den ersten 24 h im wesentlichen abgeschlossen sein dürfte und daß die in der Haut noch vorhandene Radioaktivität wahrscheinlich nicht mehr zur Resorption gelangen würde.

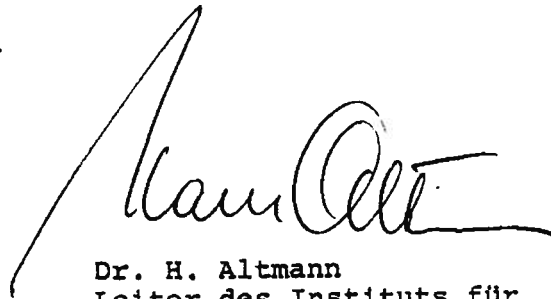
6.6. Geschlechtsunterschiede:

Signifikante Geschlechtsunterschiede bei den gemessenen Parametern treten sporadisch auf (Tab. 1 und 3), haben aber keine Bedeutung.

Verantwortliche Wissenschaftler



Dr. H. Hofer
Versuchsleiter
Leiter der Abteilung Toxikologie



Dr. H. Altmann
Leiter des Instituts für
Biologie

QUALITÄTSSICHERUNGSEINHEIT

Erklärung zum Versuch: Studie zur Resorption und Toxikokinetik
von 1-Methoxy-2-amino-4-(β -hydroxyethyl)-
aminobenzol

Dieser Versuch wurde am 84 05 11 und 84 08 01
inspiziert. Über die dabei getroffenen Feststellungen wurde
dem Leiter der Abteilung Toxikologie des Instituts für
Biologie berichtet.

Der Versuch wurde gemäß dem Versuchsplan durchgeführt.
Die in diesem Bericht angegebenen Daten, Beobachtungen und
Ergebnisse stimmen mit den Rohdaten überein.

Seibersdorf,

Qualitätssicherungseinheit


.....
(Mag. P. Weniger)

Tabelle 1: Cutane Verabreichung von 1-Methoxy-2-amino-4-(β -hydroxyethyl)-aminobenzol.
 Übersicht. Darstellung der Ergebnisse durch \bar{x} s.

3 männliche und 3 weibliche Tiere

Teilversuch, Charakteristik	Körper- gewicht (g)	aufgetragene Färbcreme bzw. Prüfsub- stanzlösung (mg)	14C-Aktivität in Prozent der verab- reichten Menge in					Resorp- tion
			Wasch- wasser	behand. Haut	Harn 0-72h	Kot 0-72h	Rest- körper	
A Haarfarbe I	202 8	1004 12	97,0	0,57	0,097	0,0267	0,005b	0,128
			1,2	0,31	0,037	0,0259	0,002	0,057
B Haarfarbe II +	201a 10	499 9	93,6	1,51	0,020	0,0081	0,005b	0,033
			1,4	0,16	0,023	0,0055	0,001	0,030
C Prüfsubstanz- lösung	207 8	306 4	98,9	0,75	0,180	0,0470	0,010b	0,237
			1,0	0,15	0,173	0,0526	0,006	0,226

a: signifikanter Geschlechtsunterschied (m>w).
 b: ein Teil oder alle Einzelwerte liegen unter der Nachweisgrenze von ca. 0,005 bis 0,008%.

Tabelle 2: Cutane Verabreichung von 1-Methoxy-2-amino-4-(β -hydroxyethyl)-aminobenzol.
 ^{14}C -Aktivität in Harn und Kot (in $10^{-3}\%$ der verabreichten ^{14}C -Menge).
 Darstellung der Ergebnisse durch \bar{x} _s.

3 männliche und 3 weibliche Tiere

Teilversuch Charakteristik	H a r n			K o t		
	0-24h	24-48h	48-72h	0-24h	24-48h	48-72h
A Haarfarbe I	94 36	2b 1	1b 1	20,6 24,7	4,2 1,9	1,8 0,9
B Haarfarbe II +	19 22	\emptyset b \emptyset	1b 1	5,4 5,0	1,9 0,8	0,8 0,2
C Prüfsubstanz Lösung	179 169	1b 2	1b 1	38,7 49,7	6,0 1,8	2,3 1,3

b: ein Teil oder alle Einzelwerte liegen unter der Nachweisgrenze.

Nachweisgrenze Harn: ca. $3 \cdot 10^{-3}\%$ bis $5 \cdot 10^{-3}\%$.

Nachweisgrenze Kot: ca. $0,2 \cdot 10^{-3}\%$ bis $0,3 \cdot 10^{-3}\%$.

Tabelle 3: Cutane Verabreichung von 1-Methoxy-2-amino-4-(β -hydroxyethyl)-aminobenzol. Organverteilung.
Darstellung der Ergebnisse durch s.

3 männliche und 3 weibliche Tiere

Teilversuch, Charakteristik	14C-Konzentration (10^{-3} % der verabreichten 14C-Menge/g Organ)												
	Vollblut	Leber	Niere	Lunge	Gehirn	Gonaden	Muskel	Herz	Milz	Nebenniere	Fett	Haut	Schilddrüse
A	0,03	0,04	0,06	0,03b	0,03b	0,01a,b	0,04b	0,03b	0,04b	0,03b	0,04b	0,05b	0,4b
Haarfarbe I	0,02	0,01	0,03	0,02	0,03	0,00	0,02	0,02	0,03	0,03	0,02	0,03	0,1
B	0,03b	0,06b	0,04b	0,06b	0,02b	0,02b	0,05b	0,03b	0,05b	0,04b	0,06b	0,05b	0,2b
Haarfarbe II +	0,02	0,05	0,03	0,05	0,01	0,02	0,04	0,02	0,03	0,04	0,04	0,04	0,1
C	0,03b	0,05b	0,17	0,04b	0,03b	0,02b	0,05b	0,05b	0,06b	0,06b	0,04b	0,09	0,6b
Prüfsubstanz- lösung	0,03	0,04	0,18	0,02	0,02	0,02	0,05	0,04	0,05	0,01	0,01	0,07	0,4

a: signifikanter Geschlechtsunterschied ($m < w$),

b: ein Teil oder alle Einzelwerte liegen unter der Nachweisgrenze von etwa $0,03 \cdot 10^{-3}$ %/g für größere Organe,
und von etwa $0,3 \cdot 10^{-3}$ %/g für die Schilddrüse.

**Osterreichisches
Forschungszentrum Seibersdorf Ges.m.b.H.**

Austrian Research Centre Seibersdorf



Institut für Chemie

1984 10 03

1-Methoxy-2-amino-4-(β -hydroxyethyl)-aminobenzol 2HCl - ^{14}C

im Benzolkern uniform mit ^{14}C markiert

spezifische Aktivität ca. 46 μCi pro mg

Gesamtaktivität ca. 8 mCi

Aus Bariumcarbonat wurde in drei Stufen ^{14}C -Benzol gewonnen. Daraus wurde über Nitrobenzol, Anilin, Acetanilid und p-Nitroacetanilid das p-Nitrophenol hergestellt. Weiters wurde über p-Nitroanisol, p-Aminoanisol und das 2-Nitro-4-aminoanisol mit anschließender Hydroxyethylierung das 1-Methoxy-2-nitro-4-(β -hydroxyethyl)-aminobenzol synthetisiert. Diese Stufe wurde mittels Säulenchromatographie von Nebenprodukten (speziell bei der letzten Nitrierung entstanden) befreit und lag radiodünnschichtchromatographisch überprüft mit fast 99 %iger radiochemischer Reinheit vor. Mit katalytischer Hydrierung wurde daraus das Endprodukt in Form des Dihydrochlorides gewonnen. Die radiochemische Reinheit beträgt ca. 97 %.

Anlage

2 Chromatogramme

61

Hr. Wiesinger**Österreichisches
Forschungszentrum Seibersdorf Ges.m.b.H.**

(vormals Österreichische Studiengesellschaft für Atomenergie Ges.m.b.H.)

Austrian Research Centre Seibersdorf

Ⓣ Lensugasse 16 - A-1082 WIEN - Austria

in

Stadtbüro Wien

Telefon: (0222) 42 75 11*

Telex: 07/6400

Telegramm: fzseib wien

Forschungszentrum Seibersdorf

Telefon: (02254) 80 **

Telex: 014/353

Bankverbindungen

CA - Bankverein: 28-34343/02

E. & Spar-Casse: 012-10122

Österr. Länderbank: 108-100-432

Ihr Zeichen	Ihre Nachricht von	Unser Zeichen	Geschäftspartner	Telefon (Durchwahl)	Datum
BKM-Dr.Be-kl	84 02 21	CH/Wi/ri	Hr. Wiesinger	* **2435	84 10 03

Betreff:

¹⁴C-Markierung

Sehr geehrter Herr Dr. Beckermann!

Wie bereits telefonisch angekündigt erlauben wir uns, Ihnen in der Anlage eine kurze Beschreibung der C-14-Markierung des 1-Methoxy-2-amino-4-(β-hydroxyethyl)-aminobenzols zu übermitteln. Wir haben ca. 8 mCi Substanz synthetisiert und davon zwei Formulierungen in der gewünschten Konzentration und der benötigten Menge hergestellt und Herrn Dr. Hofer übergeben. Aus den fertigen Formulierungen wurden jeweils drei Meßproben entnommen und damit die homogene Verteilung der radioaktiven Substanz in der Farbmasse festgestellt. Damit haben wir diese Markierung beendet, danken Ihnen für diesen Auftrag und sind gerne auch weiterhin für Sie tätig.

Mit freundlichen Grüßen

Österreichisches
Forschungszentrum Seibersdorf
Ges.m.b.H.

ppa Prokura i.a. H. PfeifferⓉ Beilagen