

## BEITRÄGE ZUR ÖKOLOGISCHEN CHEMIE—XX<sup>1</sup> VERTEILUNG, AUSSCHIEDUNG UND METABOLISMUS VON TELODRIN UND HEPTACHLOR IN RATTEN UND MÄNNLICHEN KANINCHEN, ENDPRODUKT DES WARMBLÜTERMETABOLISMUS VON HEPTACHLOR

R. KAUL, W. KLEIN und F. KORTE

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Bonn und dem Institut für  
ökologische Chemie, Schloss Birlinghoven

(Received in Germany 23 July 1969; Received in the UK for publication 18 August 1969)

**Zusammenfassung**—Telodrin (I) und Heptachlor (II) werden nach intravenöser Applikation langsam ausgeschieden, Telodrin von weiblichen Ratten innerhalb 48 Stunden zu 16%, von männlichen Tieren zu 13%. Männliche Kaninchen scheiden innerhalb 96 Stunden nach der Applikation 13% der Radioaktivität aus, hauptsächlich als einen hydrophileren Metaboliten. Innerhalb 72 Stunden wird Heptachlor von weiblichen Ratten zu 32%, von männlichen zu 22%, von männlichen Kaninchen innerhalb 144 Stunden zu 23% ausgeschieden. Die stärkere Speicherungsrate von Telodrin und Heptachlor in weiblichen Ratten gegenüber männlichen steht im Widerspruch zum Speicherungsverhalten der übrigen insektiziden Chlorkohlenwasserstoffe.

Telodrin wird zu einem hydrophilen Metaboliten umgewandelt, der nach Hydrolyse ein bekanntes Lacton (III) ergab und bereits in Versuchen mit Larven von *Aedes aegypti* gefunden wurde.<sup>5</sup> Heptachlor wird zum Epoxid (IV) und darüber hinaus zu 1,4,5,6,7,8,8-Heptachloro-2,3 epoxi-3a,4,7,7a tetrahydro-4,7 endomethanoindan (VI) umgewandelt. Nach Applikation dieses hydrophilen Metaboliten erfolgt in Ratten keine weitere Umwandlung.

**Abstract**—Telodrin (I) and heptachlor (II) are slowly excreted after intravenous application, telodrin by female rats to 16% and by male rats to 13% in 48 hr. After intravenous injection male rabbits excrete 13% of the radioactivity within 96 hr, mainly as a hydrophilic metabolite. After intravenous administration of heptachlor, female rats excrete 32%, male rats 22% within 72 hr, whereas male rabbits excrete 23% of the radioactivity within 144 hr. The lower storage of telodrin and heptachlor in female rats as compared with males is opposite to excretion behaviour of all the other insecticides of this group.

Telodrin is transformed to a hydrophilic metabolite, which after hydrolysis gave a known lacton (III) already reported after experiments with larvae *Aedes aegypti*. Heptachlor is transformed to an epoxide (IV) which in turn becomes changed to 1,4,5,6,7,8,8-heptachloro-2,3 epoxy-3a,4,7,7a tetrahydro-4,7 endomethanoindan (VI). After administration of this hydrophilic metabolite no further transformation occurs.

IM RAHMEN von Untersuchungen über das Schicksal von insektiziden Chlorkohlenwasserstoffen in Warmblütern<sup>2</sup> wurden Ausscheidung, Verteilung und Metabolismus von Telodrin und Heptachlor in den Organen und Geweben von Ratten beiderlei Geschlechts und männlichen Kaninchen bestimmt. Für jeden Versuch wurden 3 männliche und 3 weibliche Tiere eingesetzt. Die <sup>14</sup>C-markierten Insektizide<sup>2-4</sup> wurden intravenös appliziert.

<sup>1</sup> Zum Teil Auszug aus der Dissertation R. Kaul, Universität Bonn 1968.

*Verteilung und Ausscheidung von Telodrin-<sup>14</sup>C*

Tabelle 1 zeigt die Verteilung der Radioaktivität in Organen und Geweben von Ratten. Erwartungsgemäss wurde in Fettgeweben die Hauptmenge der Radioaktivität gefunden. 48 Stunden nach der Applikation (15 µg/kg) von Telodrin-<sup>14</sup>C hatten weibliche Ratten 73%, männliche 75% der applizierten Radioaktivität in Fettgeweben, Muskeln und Kadaver gespeichert.

TABELLE 1. VERTEILUNG DER RADIOAKTIVITÄT IN DEN ORGANEN VON RATTEN NACH INTRAVENÖSER INJEKTION (48 STUNDEN) VON 15 µg/kg TELODRIN-<sup>14</sup>C

Organe	männliche		weibliche	
	% Akt.	ppm	%Akt.	ppm
Blut	0.04	$2.2 \times 10^{-4}$	0.37	$0.82 \times 10^{-3}$
Leber	1.43	$6.0 \times 10^{-3}$	0.79	$1.23 \times 10^{-2}$
Hoden/Ovarien	0.80	$8.7 \times 10^{-3}$	0.47	$4.3 \times 10^{-2}$
Niere	1.20	$2.5 \times 10^{-2}$	0.01	$7.1 \times 10^{-3}$
Darm	1.45	$4.1 \times 10^{-2}$	0.75	$1.4 \times 10^{-2}$
Milz	0.37	$3.9 \times 10^{-2}$	0.05	$8.2 \times 10^{-3}$
Magen u. 12 Fingerdarm	0.25	$9.5 \times 10^{-3}$	0.62	$3.0 \times 10^{-2}$
Herz	0.41	$2.8 \times 10^{-2}$	0.13	$1.2 \times 10^{-2}$
Lunge	0.54	$1.7 \times 10^{-2}$	0.45	$2.9 \times 10^{-2}$
Gehirn	1.13	$4.0 \times 10^{-2}$	0.01	$3.4 \times 10^{-3}$
Magen-u. Darminhalt	1.42	$1.0 \times 10^{-2}$	2.21	$2.0 \times 10^{-2}$
Bauchfett	19.18	$3.0 \times 10^{-2}$	26.55	$1.0 \times 10^{-1}$
Muskeln	12.25	$6.0 \times 10^{-3}$	9.29	$1.0 \times 10^{-2}$
Subcutanes Fett	9.77	$3.0 \times 10^{-2}$	7.59	$7.2 \times 10^{-2}$
Kadaver	31.26	$1.2 \times 10^{-2}$	29.83	$2.0 \times 10^{-2}$
Kot	12		11	
Urin	1		5	
	94.50		95.12	

In Abb. 1 ist der zeitliche Verlauf der Ausscheidung der Radioaktivität, bezogen auf appliziertes Telodrin-<sup>14</sup>C, in Kot und Urin angegeben. Männliche Ratten scheiden innerhalb 48 Stunden nach der Applikation 12% im Kot, 1% im Urin aus, weibliche Ratten in der gleichen Zeit 11% im Kot und 5% im Urin. Weibliche Tiere scheiden also 3% der Aktivität mehr aus als männliche. (Ausscheidungsfaktor für weibliche gegenüber männlichen Ratten 1.23).

Männliche Kaninchen scheiden innerhalb 96 Stunden nach der Applikation von 241 µg/kg Telodrin 12% im Urin und 1% im Kot aus. In Abb. 2 ist der zeitliche Verlauf dieser Ausscheidung graphisch dargestellt.

*Verteilung und Ausscheidung von Heptachlor-<sup>14</sup>C.*

Tabelle 2 gibt die Verteilung der Radioaktivität (% bezogen auf applizierte Dosis) in Organen und Geweben männlicher und weiblicher Ratten 72 Stunden nach intravenöser Applikation von 100 µg/kg Heptachlor-<sup>14</sup>C an. Insgesamt wurden in Organen und Geweben männlicher Ratten 77%, weiblicher Tiere 69% der applizierten Radioaktivität wiedergefunden.

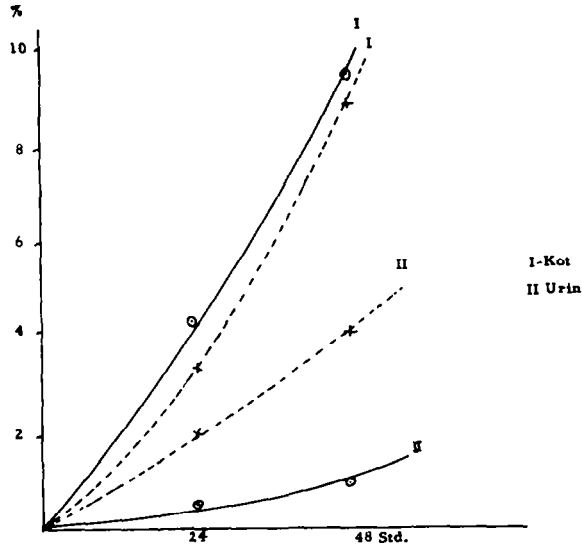


ABB. 1. Ausscheidung der Aktivität in Urin und Kot von männl. und weibl. Ratten nach intravenöser Injektion von 15 µg Telodrin-<sup>14</sup>C pro Tier

—männl., --- weibl. Tiere

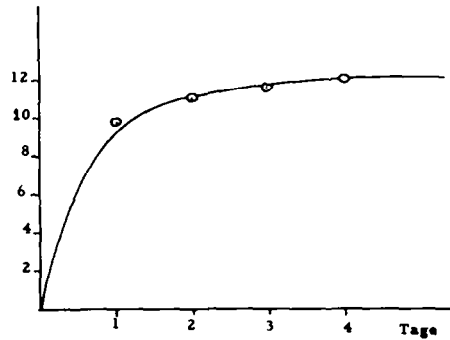


ABB. 2. Ausscheidung der gesamten Aktivität in Exkreten des männl. Kaninchens nach intravenöser Injektion von 241 µg/kg Telodrin-<sup>14</sup>C.

Den zeitlichen Verlauf der Ausscheidung im Kot und Urin zeigt Abb. 3. Die Gesamtausscheidung betrug 72 Stunden nach der Injektion für männliche Tiere 22% (20% im Kot, 2% im Urin) und für weibliche 32% (27% im Kot, 5% im Urin); entsprechend ist der Ausscheidungsfaktor für weibliche gegenüber männlichen Ratten 1.45.

Nach der Applikation von 350 µg/kg Heptachlor-<sup>14</sup>C in männliche Kaninchen wurde in 144 Stunden 21% der Aktivität im Urin und 2% im Kot ausgeschieden. In Abb. 4 ist der zeitliche Verlauf der Ausscheidung angegeben.

Tabelle 3 zeigt die Konzentration der Radioaktivität, bezogen auf das Molekulargewicht von Heptachlorepoxyd-<sup>14</sup>C, in Organen und Geweben von männlichen Kaninchen 144 Stunden nach Applikation von 350 µg/kg Heptachlor-<sup>14</sup>C.

TABELLE 2. VERTEILUNG DER RADIOAKTIVITÄT IN DEN ORGANEN VON RATTEN 72 STUNDEN NACH INTRAVENÖSER INJEKTION VON 100 µg/kg HEPTACHLOR-<sup>14</sup>C.

Organe	männliche		weibliche	
	% Akt.	ppm	% Akt.	ppm
Blut	—	—	0.08	$4.5 \times 10^{-3}$
Leber	0.72	$1.9 \times 10^{-2}$	0.41	$0.99 \times 10^{-2}$
Hoden/Ovarien	0.05	$6.2 \times 10^{-3}$	0.09	$5.4 \times 10^{-2}$
Niere	0.33	$4.1 \times 10^{-2}$	0.13	$1.8 \times 10^{-2}$
Darm	0.81	$2.6 \times 10^{-2}$	0.58	$1.6 \times 10^{-2}$
Milz	0.17	$3.7 \times 10^{-2}$	0.04	$1.9 \times 10^{-2}$
Magen u. 12 Fingerdarm	0.14	$2.4 \times 10^{-2}$	0.13	$2.3 \times 10^{-2}$
Herz	0.08	$1.9 \times 10^{-2}$	0.69	$1.6 \times 10^{-1}$
Lunge	0.11	$2.0 \times 10^{-2}$	0.32	$3.6 \times 10^{-2}$
Gehirn	0.13	$1.7 \times 10^{-2}$	0.18	$2.5 \times 10^{-2}$
Magen-u. Darminhalt	11.48	$0.74 \times 10^{-1}$	1.02	$3.6 \times 10^{-2}$
Bauchfett	3.13	$0.9 \times 10^{-1}$	9.54	$1.5 \times 10^{-2}$
Muskeln	2.80	$5.2 \times 10^{-2}$	3.89	$2.0 \times 10^{-2}$
Subcutanes Fett	15.87	$1.6 \times 10^{-1}$	9.95	$1.0 \times 10^{-1}$
Kadaver	40.97	$1.3 \times 10^{-1}$	41.76	$1.2 \times 10^{-1}$
Kot	20		27	
Urin	2		5	
	98.79		100.81	

TABELLE 3. KONZENTRATION DER RADIOAKTIVITÄT IN ORGANEN VON MÄNNLICHEN KANINCHEN NACH INTRAVENÖSER INJEKTION VON 350 µg/kg HEPTACHLOR-<sup>14</sup>C.

Organ	Gewicht (g)	dpm	ppm
Blut	7.5	2500	$6.0 \times 10^{-3}$
Leber	91.5	1,748,750	$3.4 \times 10^{-1}$
Niere	14.9	41,200	$4.9 \times 10^{-2}$
Darminhalt	270.0	208,450	$1.3 \times 10^{-2}$
Herz	7.3	28,800	$7.1 \times 10^{-2}$
Lunge	11.7	97,920	$1.5 \times 10^{-1}$
Muskel	132.0	107,950	$1.4 \times 10^{-1}$
Subcutanes Fett	25.6	109,770	$7.7 \times 10^{-2}$
Bauchfett	9.4	85,900	$1.6 \times 10^{-1}$

### Metabolismus von Telodrin

In Fettgeweben wurde papierchromatographisch ein hydrophiler Metabolit in geringem Anteil (2–3% der aus Geweben extrahierten Radioaktivität) nachgewiesen. Dünnschichtchromatographie ergab, dass die im Kot und Urin gefundene Radioaktivität nur aus einem hydrophilen Metaboliten bestand. Dieser ergab bei der sauren Hydrolyse eine Substanz, die in zwei Dünnschicht- und zwei gaschromatographischen Systemen identisch ist mit dem Hydrolyseprodukt eines aus Larven von *Aedes aegypti* isolierten Metaboliten<sup>5</sup> (III).

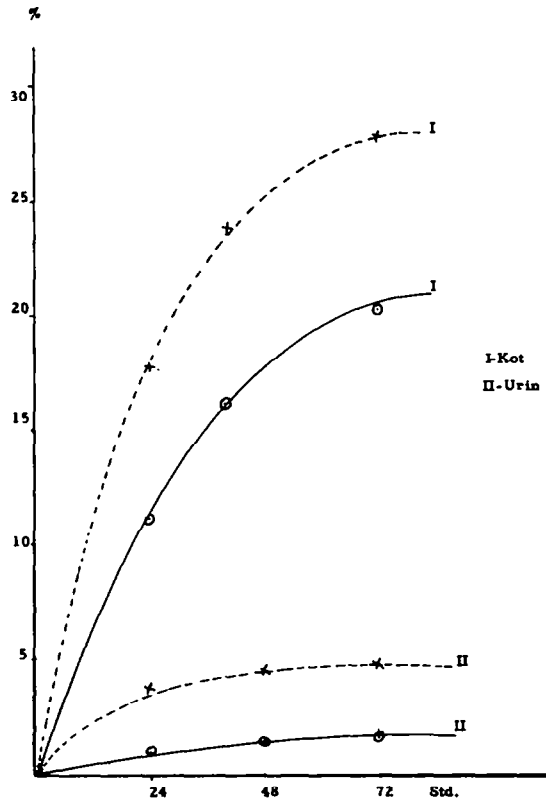


ABB. 3 Ausscheidung der Aktivität in Urin und Kot von männl. und weibl. Ratten nach intravenöser Injektion von 25  $\mu\text{g}$  Heptachlor- $^{14}\text{C}$  pro Tier

— männl., - - - weibl. Tiere

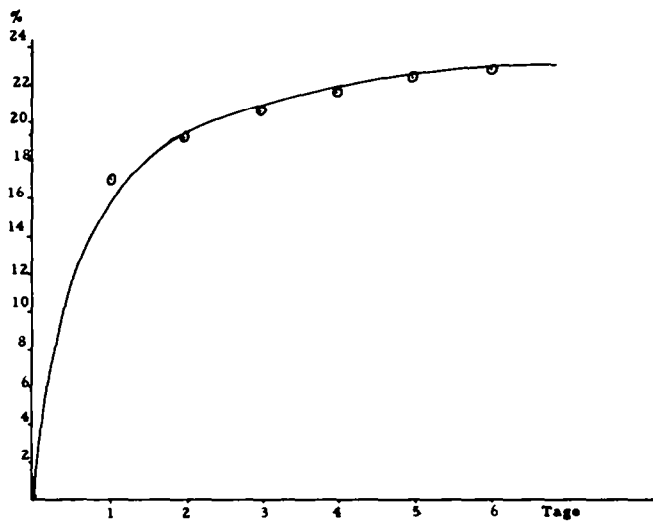
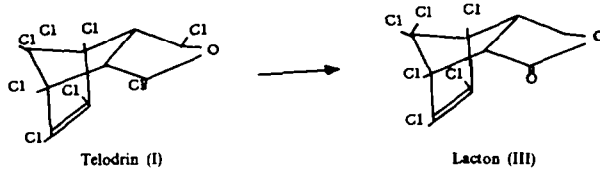


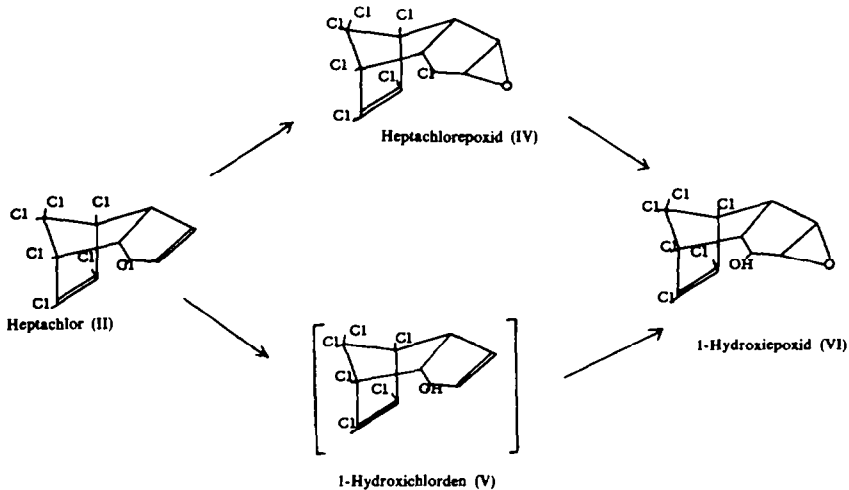
ABB. 4 Ausscheidung der gesamten Aktivität in Exkreten des männl. Kaninchens nach intravenöser Injektion von 350  $\mu\text{g}/\text{kg}$  Heptachlor- $^{14}\text{C}$ .

## FORMELSCHEMA 1

*Metabolismus von Heptachlor in Ratten*

Als Heptachlormetabolit aus Ratten, Hunden und Kühen<sup>6-8</sup> ist das Epoxid des Insektizids bekannt. In Fettgeweben und Organen von Ratten und Kaninchen fanden wir ebenfalls nur diese Substanz. 20% der im Kot und Urin nachgewiesenen Radioaktivität war ebenfalls das Heptachlorepoxyd, 80% jedoch ein hydrophiler Metabolit. Dieser hydrophile Metabolit war in 9 dünn- und zwei gaschromatographischen Systemen nicht von einer authentischen Probe<sup>9</sup> des 4,5,6,7,7,8,8-Hexachloro-1-exo-hydroxi-1,3-exo-epoxi-3a,4,7,7a-tetrahydro-4,7 endomethanoindans (1-Hydroxiepoxyd) (VI) unterscheidbar. Nach intravenöser Applikation von Heptachlorepoxyd-<sup>14</sup>C (IV) (2 µg/kg) an männlichen Ratten wurde innerhalb von 6 Tagen 16% der Radioaktivität in Kot und Urin ausgeschieden. 90% der ausgeschiedenen Radioaktivität war 1-Hydroxiepoxyd (VI) und 10% nicht umgewandeltes Heptachlorepoxyd. Nach Injektion (2 µg/kg) des 1-Hydroxiepoxydes in männliche Ratten wurde innerhalb von 6 Tagen 57% der applizierten Radioaktivität ausgeschieden (53% im Kot und 4% im Urin). In Fettgeweben wurde nur 7% der applizierten Radioaktivität nachgewiesen (als 1-Hydroxiepoxyd). Als einziges radioaktives Produkt wurde dünn- und gaschromatographisch das applizierte 1-Hydroxiepoxyd gefunden. Damit dürfte diese Substanz das Endprodukt des Rattenmetabolismus von Heptachlor

## FORMELSCHEMA 2



darstellen. Da nach Applikation von Heptachlorepoxyd-<sup>14</sup>C die Radioaktivität langsam ausgeschieden wird und in der Zeiteinheit weniger 1-Hydroxiepoxyd entsteht als nach Applikation von Heptachlor-<sup>14</sup>C, dürfte die Umwandlung von

Heptachlor in Ratten zu dem 1-Hydroxiepoxyd nicht nur über Heptachlorepoxyd, sondern auch über 1-Hydroxichlorden (V) erfolgen. Es ist anzunehmen, dass die Bildung des 1-Hydroxichlordens aus Heptachlor langsam im Vergleich zur Weiterreaktion zum Hydroxiepoxyd erfolgt, da 1-Hydroxichlorden nicht nachgewiesen werden konnte.

### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

**Radioaktivitätsbestimmung.** Zur  $R_f$ -Wert-Bestimmung der radioaktiven Zonen auf Dünnschichtplatten oder Papierchromatogrammen wurden Methandurchflusszähler (Friecke und Höpfner, Berthold-Scanner) benutzt. Die quantitative Messung der Radioaktivität in Lösungen wurde ausgeführt in einem Zweikanal-Liquid-Scintillationszähler, "Tricarb" Modell 3950 Packard Instrument Company, mit Scintillator-Lösung aus 1000 ccm Dioxan, 100 ccm Methanol, 100 g Naphthalin, 7·7 g 2,5-Diphenyl-oxazol und 0·33 g 1,4-Bis-[4-methyl 5 Phenyl-oxazol-(2)]-benzol.

**Dünnschichtchromatographie.** Sie wurde auf Kieselgel G mit den folgenden Laufmittelsystemen ausgeführt: I Hexan, II Hexan/Benzol (8:2), III Hexan/Benzol (6:4), IV Benzol, V Benzol/Essigester (8:2), VI Benzol/Essigester (7:3), VII Azeton, VIII Chloroform/Azeton (8:2), IX Diisopropyläther. Gaschromatographie: Sie erfolgte nach mehrmaliger Dünnschichtchromatographie der radioaktiven Komponenten (Telodrin-Metabolit im Laufmittel VIII und IX, Heptachlor-Metaboliten im Laufmittel III und VI) und Elution mit n-Hexan, im Gerät Aerograph 660, bzw. 1520, mit Elektronen-Einfang- und Flammenionisations-Detektor in Parallelschaltungen (Glassäule  $7 \times \frac{1}{8}$ " mit Chromosorb W 80-100 mesh + 5% QF<sub>1</sub>, bzw. Chromosorb Q 80-100 mesh + 2% DC 550; Trägergas N<sub>2</sub> 50 ccm/min, Injektortemperatur 195°C, Detektortemperatur 190°, Säulentemperatur 185°).

**Intravenöse Applikation.** 0·3-0·5 ccm einer Lösung von Telodrin-[<sup>14</sup>C] (Spez. Aktivität 8·9 mC/m mol) bzw. Heptachlor-<sup>14</sup>C (Spez. Aktivität 8·6 mC/mmol) wurde in die Schwanzvene injiziert.

**Aufarbeitung der Faeces.** Die Proben wurden in Methanol homogenisiert und kontinuierlich 24 Stunden mit Methanol extrahiert. Nach Bestimmung der Gesamtaktivität wurden die Proben durch Überblasen kalter Luft eingengt und der Extrakt dünnschichtchromatographisch untersucht.

**Untersuchung von Urin.** Die Radioaktivität im Urin wurde direkt mit dem Scintillationszähler gemessen. Zur Untersuchung auf Metaboliten wurde der Urin mit Äther extrahiert.

**Aufarbeitung der Organe.** Nach Präparation der Kadaver wurden die Organe einzeln in Methanol homogenisiert und 24 Stunden kontinuierlich mit Methanol extrahiert. Für Fett- und Muskelgewebe wurde mit Benzol statt Methanol extrahiert.

#### Hydrolyse des Metaboliten von Telodrin

Der sehr hydrophile Metabolit von Telodrin wurde nach folgenden Methoden hydrolysiert:

(a) 0·5 µg markierter Metabolit wurde bei Raumtemperatur eine Stunde mit 1 ml 60%iger HClO<sub>4</sub> behandelt. In der Kälte wurde mit 30%igem Kaliumhydroxid pH4 eingestellt und die Lösung dreimal mit Äther extrahiert. Der Ätherextrakt wurde wie beschrieben chromatographisch untersucht.

(b) Eine zweite Probe des Metaboliten wurde mit 1 ml 5N HCl in der Siedehitze behandelt. Nach der Neutralisation mit KOH wurde bei pH4 mit Äther extrahiert und die ätherische Lösung wie erwähnt untersucht.

### LITERATUR

- <sup>1</sup> XIX. Mitteilung: W. Klein, R. Kaul, Z. Parlar, M. Zimmer und F. Korte, *Metabolismus von Photodieldrin-<sup>14</sup>C in Warmblütern, Insekten und Pflanzen*, *Tetrahedron Letters* im Druck.
- <sup>2</sup> F. Korte, *Botyu Kagaku* 32, 46 (1967).
- <sup>3</sup> F. Korte und M. Stiasni, *Liebigs Ann.* 656, 140 (1962).
- <sup>4</sup> G. Rechmeier, Dissertation, Bonn (1962).
- <sup>5</sup> F. Korte, M. Stiasni, *Liebigs Ann.* 673, 146 (1964).
- <sup>6</sup> J. L. Radomski und B. Davidow, *J. Pharm. Exp. Therp.* 107, 226 (1953).
- <sup>7</sup> B. Davidow und J.-L. Radomski, *J. Pharm. Exp. Therp.* 107, 259 (1953).
- <sup>8</sup> B. Davidow, J. L. Radomski und Ely Radomski, *Science* 118, 383 (1953).
- <sup>9</sup> G. T. Brooks, *Nature, Lond.* 1031 (1965); freundlicherweise als Vergleichsubstanz von G. T. Brooks zur Verfügung gestellt.