

DİRENGEN EVCİL SİNEKLERDE LINDANE'İN METABOLİZMASI

M. Şahin Akman*

Şükrü Gürtunca**

Giriş

Benzene hexachloride (1,2,3,4,5,6 - hexachloro-cyclohexane)'in stereoizomerleri içinde insektisidal nitelik gösteren başlıca komponent lindane'dır. Benzene hexachloride (BHC) bileşiminde alpha izomer % 65-70, beta izomer % 6-8, gamma izomer % 12-15, delta izomer % 2-5 ve epsilon izomer de % 3-7 oranında bulunmaktadır. Ayrıca eta ve theta izomerlerine de iz olarak rastlanmaktadır.

BHC izomerleri etki bakımından birbirinden ayrılmaktadır. Memeli hayvanlarda alpha ve gamma izomerleri santral sinir sisteminin güçlü stimulanıdır, oysa beta ve delta izomerleri santral sinir sistemi üzerine depresan etki yaparlar. Farmakolojik etkinin doğuşunda molekül yapısının rolü büyüktür (4.5.6.7).

Lindane'in LD₅₀ (topikal) değeri insekt türüne göre 0.4-57 mg/kg arasında oynamaktadır. BHC'in insektisidal etkinliği hemen hemen salt gamma içeriğine bağlıdır. Lindane, *Sitophilus granarius*'a teknik izomer karşımından 1.000 kez daha toksik etkidedir. Delta izomeri ile karşılaştırıldığı zaman lindane'in *Macrosiphum pisi* için % 94, *Epilachna varivestis* için % 98, *Sitophilus granarius* için % 99 ve *Heliothrips haemorrhoidalis* için de % 99.9 oranında daha toksik olduğu görülür.

Lindane'in emilmesi, yoğunluğu ve ısıyla orantı gösterir. Eşit dozda 35°C'da topikal uygulamada ilk 4 saatte % 90, 24°C'da ise

* A. Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Kürsüsü Profesörü. Ankara Türkiye.

** A. Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Kürsüsü Dr. Asistanı. Ankara-Türkiye.

aynı süre içinde % 44 oranında emilmektedir. Topikal uygulamada emilme hızı duyar, ya da direngen sineklerde değişiklik göstermemektedir. Eşit doz ve eşit uygulamada duyar sineklerde 18 saat içinde % 97 oranında ölüm meydana getirir. Oysa buna karşılık direngen sinek türlerinde aynı süre içinde ölüm görülmemektedir (9,10,13,14).

Koransky ve arkadaşları (11) BHC'in radyoaktif alpha ve gamma izomerleri ile yaptıkları araştırmalarda, sidikle atılan Cl^{36} - labeled bileşiklerin % 60'ının inorganik ve % 40'ının da organik olduğunu ortaya koymuşlardır. Karaciğerin oksidan mikrozomal anzimlerinin phenobarbital ile aktivasyonu, BHC eliminasyonunu önemli ölçüde arttırmaktadır. Ekskresyona organik metabolitler eşlik etmekte, inorganik metabolitlerin atılma oranı ise düşmektedir. Koransky ve arkadaşları (11) BHC molekülünde, mikrozomal anzimlerin katalize ettiği oksidatif bir transformasyonun meydana geldiği sonucuna varmaktadırlar. Aynı bir araştırmada yine Koransky ve arkadaşları (12) ratlar üzerinde yaptıkları deneylerde daha önce hayvanlara verilen phenobarbital, phenylbutazone ve nikethamide gibi mikrozomal anzim aktivatörlerinin scilliroside konvülziyonlarını yatıştırdığını saptamışlardır. Scilliroside'in toksisitesinin azalması mikrozomal anzimlerin etkinliği ile ilgili görülmektedir.

Evcil sineklerin DDT'ye direnç göstermelerinde, DDT-dehydrochlorinaz enziminin yoğunluğu ile direnç arasında bir paralelizm göze çarpmaktadır. Ancak enzimin nasıl bir mekanizma aracılığı ile DDT'den HCl eliminasyonunu katalize ederek nontoksik DDE oluşumunu hazırladığı aydınlanmış değildir. DDT'ye direngen evcil sinek türlerinden yalıtılmış DDT-dehydrochlorinaz enzimi lindane'a etkimemekle beraber, lindane metabolizmasında da bazı anzimatik etkilerin rolü olduğu düşünülmektedir. Lindane molekülünden HCl'in anzimatik yolla eliminasyonunun sağlandığı sanılmaktadır (8,14, 16,18). Birçok araştırmacı, lindane'in gerek duyar ve gerekse direngen sineklerde birtakım metabolik ürünlere degrade olduğu konusu üzerinde önemle durmuşlardır. Sternburg ve Kearns (19) degradasyon ürünlerinden birinin pentachlorocyclohexene olduğunu ortaya koymuşlardır.

Brown (2) şimdiye kadar 60 arthropod türünde insektisidlere karşı direnç görüldüğünü bildirmektedir. Bu insektlerin yarısından çoğu DDT ve analoglarına direnç göstermektedir. Lindane, chlordane, dieldrin gibi çok klorlu aromatlere direnç gösterenler 1/3 oranındadır. Dieldrin'e direngen *Anopheles gambiae*'de direnç monofaktorial olduğu halde, lindane'a direngen *Musca domestica* ve chlordane'a direngen *Blattella germanica*'da ise polyjenik karakterdedir.

Busvine (3) DDT, ya da klorlu aromatikler kategorisinde bulunan insektisidlerden her hangi birine karşı bir insektin direnç kazanmasının az çok bu kategoride bulunan öteki üyeleri de kapsamı içine alacağını belirtmektedir. Nitekim gerek yetişkin sineklerin ve gerekse larvalarının lindane'a direnç kazanmaları halinde bunların daha az da olsa chlordane, toxaphene ve dieldrin'e de direnç gösterdikleri görülmüş ve saptanmış durumdadır (1). Ancak ne var ki direnç sinek soylarına göre geniş ölçüde değişmektedir. Brown (2) laboratuvar sinekleri ile Bellflower soyunu karşılaştırdığı zaman, ikincilerin lindane'a 8 kez daha dirençli olduklarını görmüştür.

Şimdiye kadar çeşitli ülkelerde BHC ve lindane'a direnç gösterdikleri saptanan insekt türleri *Anthonomus grandis*, *Triatoma infestans*, *Cimex lectularius*, *C.hemopterus*, *Ctenocephalides felis*, *Boophilus decoloratus*, *B.microplus*, *Argas columbarum*, *Aphis gossypii*, *Musca domestica*, *Psychoda alternata*, *Aedes sollicitans*, *A.taeniorhynchus*, *A.quadrinaculatus*, *Leptocera hirtula*, *Culex molestus*, *C.quinquefasciatus*, *C.tarsalis*, *Chrysomyia putoria*, *Anopheles gambiae*, *Glytostendipes paripes* ve *Drosophila melanogaster*'dir.

Materyal ve Metot

Direngevcil sineklerde lindane'ın metabolik seyrini izlerken ayrıntuları aşağıda gösterilen deneyler yapılmıştır.

26 evcil sinek (*Musca domestica* Linn.) alınarak lindane'ın ethyl alkol içindeki çözeltisinden her bir sineğe 5 mikrogram lindane düşecek biçimde topikal olarak uygulandı. Sineklerle hafif CO₂ ile anestezi yapıldıktan sonra lindane çözeltisi mikrometre ile yönetilen ayarlı bir tüberkülin iğnesi yardımıyla verildi. Uygulama mesonotuma yapıldı. Sinekler 250 ml'lik bir cam balon içine konarak balonun ağzı seyrek dokunmuş bir tülbentle sarılıp bağlandı. Beslenmeleri için reçel suyuna batırılmış bir parça pamuk tülbentin üzerine bırakıldı.

48 saat sonra sinekler iki kez 10 ml eterle iyice çalkanarak yıkandı. Yıkantı eteri alınıp alındı. Eterin sineklerin üzerinden bütünüyle uçması için bir süre bekletildi. Daha sonra sinekler 50 ml'lik dibi yuvarlak bir cam balona aktarılarak üzerine 10 ml asetik asid kondu. Balondaki içerik bir cam çubukla karıştırılıp türdeşliği sağlandıktan sonra üzerine 1 gr elenmiş toz çinko ve 2 gr da malonik asid katıldı. Dechlorinasyon ve nitrasyon için balon Schechter-Hornstein aygıtına bağlandı (6,17).

Nitrasyon için 1 : 1 oranında tüten nitrik asidle sülfirik asid karışımı kullanıldı. Nitrasyon süresinin bitiminde nitrik asidli çözelti

125 ml oylumundaki ayırma hunisine aktarıldı. Huninin musluğu suyla ıslatıldı. Burada, çok az da olsa yağ kullanılması yanılığlara yol açmaktadır. 50 ml su katılarak nitrik asidli çözelti soğutuldu. Huni soğuduktan sonra üzerine 50 ml eter eklenerek birkaç dakika süreyle özenle çalkandı. Ayrılan su katı alınıp atıldıktan sonra hemen % 2 NaOH çözeltisi ile kalıntısız asid neutralize edildi. Kısa bir süre yavaş yavaş çalkandıktan sonra NaOH çözeltisi de alınıp atıldı. Eterin suyunu çekmek ve kurulaştırmak için huniye doymuş NaCl çözeltisi katılarak balondaki içerik şiddetli olarak çalkandı. NaCl çözeltisi tüm olarak eter katından ayrıldıktan sonra alınıp atıldı.

Eter çözeltisi 125 ml oylumundaki erlenmeyer şişesine alındı. Aşağı yukarı oylumu 1 ml'ye düşünceye kadar su banyosunda uçuruldu. Geri kalan eter kalıntısı saç kurutma aygıtı ile ılık hava akımıyla uçuruldu.

Şişedeki kuru kalıntı 0.1 ml asetonda eritilip çözelti filtre kâğıdı üzerine serpidi. Filtre kâğıdı üzerine ayrıca eterdeki % 5 pamuk yağı çözeltisi (durağan eritici) ile püskürtmeler yapıldı. Sonra bekletilmeksizin çabucak içinde 3: 1 oranında su ve methanol (değişken eritici) karışımı bulunan chromatografik tüpe alındı. Eritici düzeyinin aşağı yukarı 20 cm yükselmesine kadar bir süre bekletildi. Eritici uçuktan sonra kâğıt üzerine % 1 sodyum polysülfid çözeltisi ile püskürtmeler yapıldı, Yer yer *portakal sarısı* ve *erguvan* renginde lekelerin belirdiği görüldü. Sodyum polysülfid ayırıcı ile dinitrobenzene *erguvan* rengi ve dinitro-chloro-benzene de *portakal sarısı* rengini oluşturmaktadır.

Tartışma

Lindane ile BHC'in alpha ve delta izomerleri direngen evcil sineklerde duyar sineklere oranla daha çabuk metabolize olmaktadır (15). Bazı araştırmacılar, metabolik ara ürün olarak trichlorobenzene'in meydana geldiğini ileri sürmüşlerdir. Sternburg ve Kearns (19) lindane metabolizmasında pentachlorocyclohexene'in ara özdek olduğunu kesin bir biçimde ortaya koymuşlardır. Pentachlorocyclohexene parçalandıktan sonra suda eriyen bileşiklere çevrilerek canlı yapıdan uzaklaştırılmaktadır.

Lindane determinasyonunda çok kez Schechter-Hornstein yönteminden yararlanılmaktadır (6,16,17). Bu yöntemde lindane önce benzene'e dechlorine edilmekte, sonra da benzene nitrasyon yoluyla dinitrobenzene'e dönüştürülmektedir. BHC'in salt beta izomeri dec-

hlorinasyona dayanıklı bulunmaktadır. Dinitrobenzene potasyum hydroxid karşısında methyl ethyl ketonla renkli bir bileşik vermektedir. Pentachlorocyclohexene çinko ile dechlorine edildiği zaman önce chlorobenzene meydana gelir, nitrasyonla dinitro-chloro-benzene'e çevrilir. Chromatoğrafik olarak lindane ile pentachlorocyclohexene'i birbirinden separe etmek olanaklı değildir. Ancak deneyimizde olduğu gibi dechlorinasyon ve nitrasyon sonunda elde edilen son üründen bunlar birbirinden ayrılabilirler.

Özet

Direngevcil sineklerde, lindane metabolizmasında pentachlorocyclohexene ara özdek olarak ortaya çıkmaktadır. Lindane'in detoksifikasyon mekanizması yalnız bir tek molekül HCl eliminasyonunu kapsamaktadır. Dechlorinasyon ve nitrasyon sonunda lindane dinitrobenzene'e ve pentachlorocyclohexene de dinitro-chloro-benzene'e dönüşmektedir. Bu durum, dinitrobenzene'in sodyum polysülfid ayırıcı ile tepkimesi sonunda erguvan rengi ve dinitro-chloro-benzene'in de portakal sarısı rengi vermesiyle tanıtıldı.

Résumé

Métabolisme du Lindane chez les Mouches Domestiques Résistantes

Le pentachlorocyclohexene est un intermédiaire dans le métabolisme du Lindane. Il n'a pas été possible de séparer chromatographiquement le Lindane du pentachlorocyclohexene; mais il est possible de séparer les produits qui suivent la déchlorination et la nitration. Par ce traitement le Lindane est converti en dinitrobenzene et le pentachlorocyclohexene est transformé en dinitro-chloro benzene.

La solution de polysulfure de sodium produit une couleur pourpre comme suite à la réaction au dinitrobenzene, et une couleur orange, à la réaction au dinitro-chloro-benzene.

Literatür

- 1- **Brown, A.W.A** (1951): *Insect Control by Chemicals*. John Wiley and Sons, Inc., New York. Chapman and Hall, Limited, London., 761.

- 2- **Brown, A.W.A.** (1958): *The Spread of Insecticide Resistance in Pest Species*. Adv. Pest Cont. Res., 2, 351-414.
- 3- **Busvine, J.R.** (1954): *Houseflies Resistant to a Group of Chlorinated Hydrocarbon Insecticides.*, Nature, 174, 783-785.
- 4- **Frear, D.E.H.** (1955): *Chemistry of the Pesticides*. Third Edition. D.van Nostrand Comp., Inc., Totonto, New York, London., 47-56.
- 5- **Grollman, A.** (1960): *Pharmacology and Therapeutics*. Fourth Edition. Lea and Febiger. Philadelphia, Pa., 734.
- 6- **Gunther, F.A. and Blinn, R.C.** (1955): *Analysis of Insecticides and Acaricides*. Interscience Publishers, Inc., New York and London., 324-328.
- 7- **Güley, M.** (1958): *Gamma Benzene Hexachloride ve Bunun Tayini Üzerinde Araştırmalar*. A.Ü. Vet. Fak. Yayın No: 91, A.Ü. Basımevi., 4-18.
- 8- **Gürtunca, Ş.** (1964): *Direngen Evcil Sineklerde DDT'nin Emilmesi ve Metabolizması*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 11 (3-4), 203-207.
- 9- **Hassall, K.A.** (1965): *Pesticides: Their Properties, Uses and Disadvantages*. Brit. Vet. J., 121, 105-112.
- 10- **Hayes, W.J., Jr.** (1965): *Rewiev of the Metabolism of Chlorinated Hydrocarbon Insecticides Especially in Mammals*. Ann. Rev. Pharmacol., 5, 27-52.
- 11- **Koransky, W., Portig, J., Vohland, H.W. und Klempau, I.** (1964): *Die Elimination von Alpha und Gamma-Hexachlorocyclohexan und Ihre Beeinflussung durch Enzyme der Lebermikrosomen*. Arch. Exptl. Path. u. Pharmak., 247, 49-60.
- 12- **Koransky, W., Portig, J., Vohland, H.W. und Klempau, I.** (1964): *Aktivierung von Mikrosomenenzymen durch Hexachlorocyclohexan-Isomere. Ihr Einfluss auf die Scillirosidvergiftung der Ratte*. Arch. Exptl. Path. u. Pharmak., 247, 61-70.
- 13- **Mitchell, J.W., Smale, B.C. and Metcalf, R.L.** (1960): *Absorption and Translocation of Regulators and Compounds Used to Control Plant Disease and Insects*. Adv. Pest Cont. Res., 3, 359-436.
- 14- **Negherbon, W.C.** (1959): *Handbook of Toxicology*. Vol. III. Insecticides. W.B. Saunders Comp., Philadelphia, Pa., 437-450.
- 15- **Oppenoorth, F.J.** (1954): *Metabolism of Gamma Benzene Hexachloride in Susceptible and Resistant Houseflies*. Nature, 173, 1001-1002.

- 16- **Oppenoorth, F.J.** (1955): *Differences between Rates of Metabolism of Benzene Hexachloride in Resistant and Susceptible Houseflies.* Nature, 175, 124-125.
- 17- **Schechter, M.S. and Hornstein, I.** (1952): *Colorimetric Determination of Benzene-Hexachloride.* Anal. Chem., 24, 544-548.
- 18- **Sternburg, J., Kearns, C.W. and Moorefield, H.** (1954): *DDT-dehydrochlorinase. An Enzyme Found in DDT-resistant Flies.* J. Agric. Food Chem., 2, 1125-1130.
- 19- **Sternburg, J. and Kearns, C.W.** (1956): *Pentachlorocyclohexene, An Intermediate in the Metabolism of Lindane by Houseflies.* J. Econ. Entomol., 49 (4), 548-552.

Yazı "Dergi Yazı Kuruluna" 6.4.1967 günü gelmiştir.