

УДК 632.951.2:632.76:635.21

Н. В. КОВГАНКО*, А. И. БЫХОВЕЦ, Р. М. ЗОЛОТАРЬ, О. П. ЧЕПИК,
С. Н. СОКОЛОВ, Ю. Г. ЧЕРНОВ, Ж. Н. КАШКАН

**ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ α -ХЛОРПИРИДИНСОДЕРЖАЩИХ
ПРОИЗВОДНЫХ СТЕРОИДНЫХ $3\beta,5\alpha,6\beta$ -ТРИОЛОВ
И $3\beta,5$ -ДИГИДРОКСИ-6-КЕТОНОВ НА ЛИЧИНКИ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА
*LEPTINOTARSA DECEMLINEATA SAY. (COLEOPTERA)***

Институт биоорганической химии НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 01.12.2010)

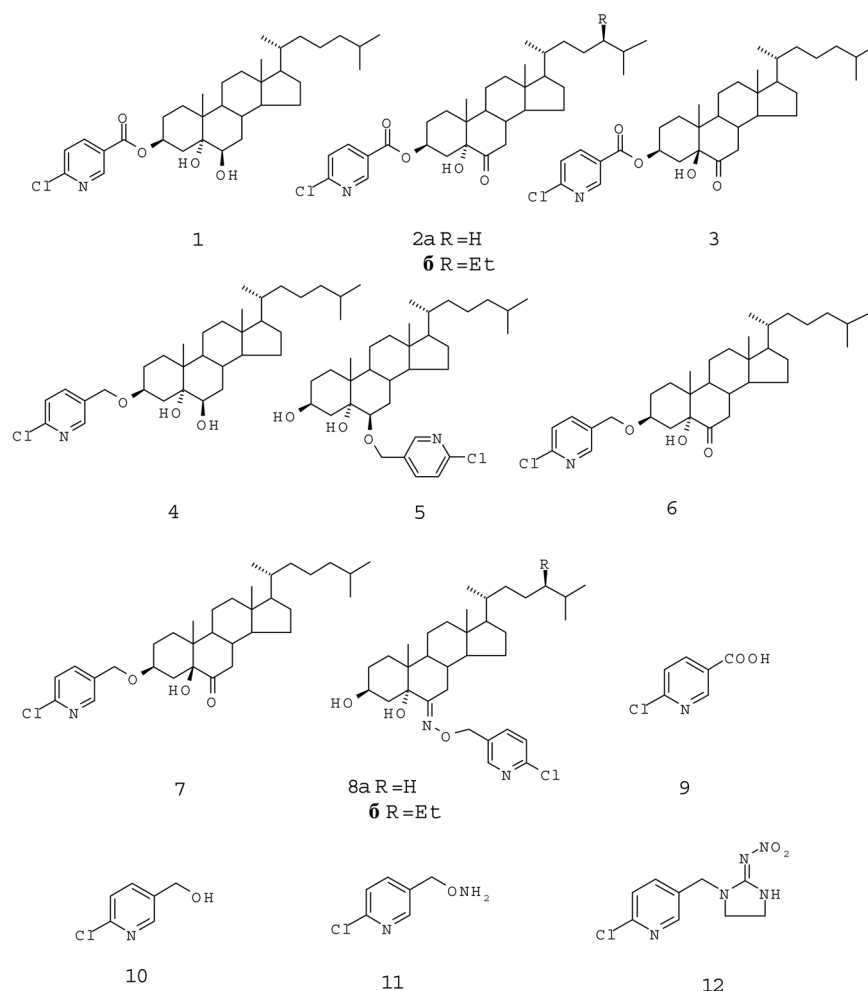
Картофель традиционно относится к одной из основных пищевых культур в нашей стране. Количество и качество урожая картофеля зависят от многих условий, среди которых важное значение имеет защита культуры от ее основного насекомого-вредителя – колорадского жука. Личинки этого фитофага, если с ними не бороться, повреждают листья растения, что приводит к значительным потерям урожая картофеля.

В настоящее время наиболее эффективными инсектицидами являются неоникотиноиды, которые по своему химическому строению и механизму инсектицидного действия аналогичны природному алкалоиду никотину [1]. Препараты неоникотиноидов, рекомендованные для защиты культуры картофеля от колорадского жука в Беларуси, внесены в Государственный реестр средств защиты растений (пестицидов) и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь [2]. Однако со временем эффективность действия применяемых средств защиты снижается. Это обусловлено способностью колорадского жука к их детоксикации. В результате у насекомых появляется устойчивость к инсектицидам определенной группы. Из-за появления такой устойчивости, которая называется резистентностью, на практике приходится ограничивать применение традиционных инсектицидов и разрабатывать новые препараты с принципиально отличным от старых механизмом биологического действия.

Производные стероидов, содержащие $3\beta,5\alpha,6\beta$ -триольную или $3\beta,5$ -дигидрокси-6-кетонную группировку, хорошо известны в качестве биологически активных природных соединений. Некоторые из этих веществ обладают цитотоксическим [3], инсектицидным [4] и фиторостоингибирующим [5] действием. Ранее [6–8] нами предпринят синтез ряда сложных и простых эфиров и кетоксимов данных веществ, содержащих в своей структуре α -хлорпиридиновый цикл. Указанный структурный фрагмент является характерным для молекул биологически активных веществ ряда неоникотиноидов, таких как выделенный из лягушки *Epipedobates tricolor* природный анальгетик эпибатидин [9] или имидаклоприд – действующее вещество широко применяемых в сельском хозяйстве инсектицидов [1, 10]. Это дало нам основание полагать, что такая химическая модификация $3\beta,5\alpha,6\beta$ -тригидрокси-стероидов и $3\beta,5$ -дигидрокси-6-кетостероидов благоприятно скажется на инсектицидной активности полученных веществ.

Цель настоящего исследования – дать оценку токсического действия на личинки колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata Say. (Coleoptera)* синтезированных нами веществ по результатам биологического скрининга.

Материалы и методы исследований. Синтез соединений 1–11 описан нами ранее [6–8, 11]. Имидаклоприд 12, использованный для приготовления инсектицида Биуник 200СЛ, получен по методу Н. В. Ковганко с соавт. [12].



Опыты по исследованию инсектицидной активности проводили в Институте биоорганической химии НАН Беларуси в июле 2010 г. Личинки колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera) получены из яйцекладок, собранных на посадках картофеля в ОАО «Гастелловское» Минского района.

Обработку проводили методом опрыскивания помещенных в чашки Петри на листья картофеля личинок колорадского жука второго возраста. В каждую чашку помещали по 10 личинок. Повторность опыта – трехкратная. Контроль – дистиллированная вода с добавлением диметилсульфоксида (0,5 мл/10 мл воды) и ПАВ ОП–10 (1 капля/1 л воды). Расход рабочего раствора – 0,5 мл на чашку Петри. Концентрация исследуемых соединений – 0,02%.

Для приготовления рабочих растворов навеску 1 мг изучаемых веществ помещали в мерную пробирку, добавляли 0,5 мл диметилсульфоксида, доводили общий объем до 5 мл дистиллированной водой, в которую предварительно добавляли ПАВ ОП–10 (1 капля на 1 л воды). В качестве эталона использовался инсектицид Биуник 200СЛ в концентрации 0,02%.

Личинки питались обработанным кормом в течение 1 суток. После этого обработанные листья картофеля заменяли на свежие необработанные. В дальнейшем, по мере необходимости, листья картофеля заменяли свежими. Учет смертности личинок проводили через одни и трое суток после обработки. Расчет смертности личинок в опытных вариантах (C) проводили по формуле Аббота:

$$C = \frac{A - B}{100 - B},$$

где A – гибель личинок в опыте, %; B – гибель личинок в контроле, %.

Результаты и их обсуждение. В данной работе приводятся результаты изучения инсектицидной активности полученных ранее [6–8, 11] производных стероидов **1–8** для личинок колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera). Кроме указанных веществ нами также изучена инсектицидная активность 6-хлорникотиновой кислоты **9**, 2-хлор-5-гидроксиметилпиридина **10** и О-(2-хлорпиридин-5-илметил)-гидроксиламина **11**. Данные вещества использовались в качестве исходных для введения в 3 β ,5 α ,6 β -тригидроксистероиды и 3 β ,5-дигидрокси-6-кетостероиды α -хлорпиридиновых фрагментов при их химической трансформации с образованием сложных эфиров, простых эфиров и оксимов соответственно.

Скрининг соединений **1–11** на инсектицидную активность осуществлен с использованием контактно-кишечного способа обработки личинок колорадского жука второго возраста. Эталонным служил разработанный нами инсектицидный препарат Биуник 200СЛ, предназначенный для защиты картофеля от колорадского жука. Биуник 200СЛ представляет водорастворимый концентрат неоникотиноида имидаклоприда **12** с содержанием действующего вещества 200 г/л. Контрольные личинки колорадского жука подвергались обработке дистиллированной водой без добавления соединений **1–11**.

Результаты действия соединений **1–11** и эталона на личинки колорадского жука, приведенные в таблице, свидетельствуют, что при использовании трех методов введения α -хлорпиридиновых остатков в молекулы 3 β ,5 α ,6 β -тригидроксистероидов и 3 β ,5-дигидрокси-6-кетостероидов можно получить новые соединения с высокой инсектицидной активностью, сопоставимой с активностью неоникотиноида имидаклоприда. В частности, среди сложных эфиров **1–3** высоким инсектицидным действием обладает 6-хлорникотинат **2а**. В ряду простых эфиров **4–7** наиболее активным оказалось соединение **5**, в молекуле которого α -хлорпиридиновый цикл присоединен по 6-гидроксигруппе исходного 3 β ,5 α ,6 β -триола. Из двух изученных 6-кетоксимов **8а**, **8б** первый обладал достаточно эффективным инсектицидным действием. Приведенные в таблице данные показывают, что наиболее активные из изученных соединения **2а**, **5** и **8а** имеют инсектицидную активность, значительно большую по сравнению с использованными для химической трансформации стероидами 6-хлорникотиновой кислотой **9**, 2-хлор-5-гидроксиметилпиридином **10** и оксимом **11** соответственно.

Полученные результаты однозначно указывают на то, что на инсектицидную активность α -хлорпиридинсодержащих производных стероидных 3 β ,5 α ,6 β -триолов и 3 β ,5-дигидрокси-6-кетонов оказывают существенное влияние как природа стероида, так и характер его химической трансформации. Однако детальный характер взаимоотношений типа структура – активность

Токсичность соединений 1–12 для личинок колорадского жука

Шифр соединения	Химическое название соединения	Гибель личинок, %		
		через 1 сут	через 3 сут	с поправкой на гибель в контроле
1	5 α -Холестан-3 β ,5,6 β -триол 3-(6-хлорникотинат)	13,3	26,6	18,4
2а	3 β ,5-Дигидрокси-5 α -холестан-6-он 3-(6-хлорникотинат)	86,7	100	100
2б	(24R)-3 β ,5-Дигидрокси-5 α -стигмастан-6-он 3-(6-хлорникотинат)	0	6,7	0
3	3 β ,5-Дигидрокси-5 β -холестан-6-он 3-(6-хлорникотинат)	23,3	36,7	29,7
4	3 β -(2-Хлорпиридин-5-метилокси)-5 α -холестан-5,6 β -диол	10,0	16,7	7,4
5	6 β -(2-Хлорпиридин-5-метилокси)-5 α -холестан-3 α ,5-диол	30,0	60,0	55,5
6	3 β -(2-Хлорпиридин-5-метилокси)-5-гидрокси-5 α -холестан-6-он	13,3	30,0	22,2
7	3 β -(2-Хлорпиридин-5-метилокси)-5-гидрокси-5 β -холестан-6-он	13,3	20,0	11,1
8а	6-(2'-хлорпиридин-5'-илметилоксимино)-5 α -холестан-3 β ,5-диол	90,0	90,0	88,9
8б	(24R)-6-(2'-хлорпиридин-5'-илметилоксимино)-5 α -стигмастан-3 β ,5-диол	13,3	26,7	18,5
9	6-Хлорникотиновая кислота	13,3	26,6	18,4
10	2-Хлор-5-гидроксиметилпиридин	13,3	20,0	11,1
11	О-(2-Хлорпиридин-5-илметил)-гидроксиламин	33,3	56,6	51,7
Биуник 200СЛ (эталон)	Имидаклоприд 12 (д. в.)	93,3	100	100
Контроль		0	10,0	

в данном ряду биологически активных веществ еще предстоит установить в результате дальнейших экспериментов.

Таким образом, результаты нашего исследования позволяют отобрать из синтезированных α -хлорпиридиновых производных стероидных $3\beta,5\alpha,6\beta$ -триолов и $3\beta,5$ -дигидрокси-6-кетонов наиболее активные вещества для дальнейшего углубленного изучения их инсектицидного действия.

Выводы

1. Проведена оценка инсектицидного действия на личинок колорадского жука α -хлорпиридиновых производных $3\beta,5\alpha,6\beta$ -тригидроксистероидов и $3\beta,5$ -дигидрокси-6-кетостероидов ряда холестана и стигмастана. В качестве эталона использовали разработанный нами инсектицидный препарат Биуник 200СЛ (содержание имидаклоприда – 200 г/л), предназначенный для защиты картофеля от колорадского жука.

2. Установлено, что некоторые из исследованных веществ обладают значительным инсектицидным действием. Наиболее высокую инсектицидную активность показали $3\beta,5$ -дигидрокси- 5α -холестан-6-он 3-(6-хлорникотинат) **2a**, 6-(2'-хлорпиридин-5'-илметилоксимино)- 5α -холестан- $3\beta,5$ -диол **8a** и 6β -(2-хлорпиридин-5-метилокси)- 5α -холестан- $3\alpha,5$ -диол **5**. Смертность личинок через 3 сут для данных веществ составила 100, 90 и 60% соответственно.

3. В результате анализа зависимости структура – биологическая активность показано, что инсектицидная активность зависит как от структуры исходного стероида, используемого для синтеза исследованных соединений, так и от метода его модификации.

Авторы выражают благодарность кандидату химических наук В. Л. Сурвило за помощь при проведении данной работы.

Литература

1. Жукова, М. И. Снижение численности и вредоносности колорадского жука (Coleoptera, Chrysomelidae: *Leptinotarsa decemlineata* Say) под влиянием неоникотиноидов / М. И. Жукова // Защита растений: сб. науч. тр. – Минск, 2006. – Вып. 30, ч. 2. – С. 158–167.
2. Государственный реестр средств защиты растений (пестицидов) и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь: справ. изд. / ГУ «Главная гос. инспекция по семеноводству, карантину и защите растений»; авт.-сост.: Р. А. Новицкий [и др.]. – Минск: Белбланкавид, 2008. – 458 с.
3. New bioactive steroids from the Gorgonian *Acalycigorgia inermis* / J. R. Rho [et al.] // Bull. Korean Chem. Soc. – 2000. – Vol. 21, N 5. – P. 518–520.
4. Инсектицидная активность 5,6-дизамещенных производных β -ситостерина для личинок колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say / Р. М. Золотарь [и др.] // Химия природных соединений. – 2002. – № 2. – С. 140–142.
5. Росторегулирующая активность синтетических 2-дезоксиде-6-кетобрасиностероидов / А. И. Быховец [и др.] // Агрохимия. – 2002. – № 8. – С. 54–63.
6. Синтез 6-хлорникотинатов стероидных $3\beta,5\alpha,6\beta$ -триолов и $3\beta,5$ -дигидрокси-6-кетонов / Н. В. Ковганко [и др.] // Химия природных соединений. – 2009. – № 2. – С. 175–179.
7. Синтез новых α -хлорпиридиновых производных стероидных $3\beta,5\alpha,6\beta$ -триолов и $3\beta,5$ -дигидрокси-6-кетонов / Н. В. Ковганко [и др.] // Химия природных соединений. – 2009. – № 2. – С. 180–182.
8. Синтез α -хлорпиридинсодержащих оксимов $3\beta,5$ -дигидрокси-6-кетостероидов / Н. В. Ковганко [и др.] // Химия природных соединений. – 2010. – № 5.
9. Epibatidine: a novel (chloropyridyl)azabicycloheptane with potent analgesic activity from Ecuadoran poison frog / T. F. Spande [et al.] // J. Am. Chem. Soc. – 1992. – Vol. 114. – P. 3475–3478.
10. Ковганко, Н. В. Достижения в синтезе неоникотиноидов / Н. В. Ковганко, Ж. Н. Кашкан // Журнал органической химии. – 2004. – Т. 40, № 12. – С. 1759–1775.
11. Синтез новых структурных аналогов имидаклоприда на основе 6-метоксиникотинового альдегида / Н. В. Ковганко [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2009. – № 2. – С. 66–69.
12. Способ получения имидаклоприда: пат. 8491 Респ. Беларусь, МПК7 C07 D401/06, A01 N43/40, A01 N43/50 / Н. В. Ковганко, Ю. Г. Чернов, В. Л. Сурвило, Ж. Н. Кашкан; заявитель Ин-т биоорганической химии НАН Беларуси. – № a20040280; заявл. 31.03.04; опубл. 10.05.06 // Афіцыйны бюл. / Нац. центр інтэлектуал. уласнасці. – 2006. – № 5. – С. 81.

*V. N. KAUHANKA, A. I. BYKHOVETS, R. M. ZALATAR, A. P. CHEPIK,
S. N. SOKOLOV, Yu. G. CHARNOU, Zh. N. KASHKAN*

**EVALUATION OF TOXIC EFFECT OF THE STEROIDAL 3 β ,5 α ,6 β -TRIOLS
AND 3 β ,5-DIHYDROXY-6-KETONE DERIVATIVES CONTAINING α -CHLOROPYRIDINE FRAGMENT
ON COLORADO BEETLE LARVAE LEPTINOTARSA DECEMLINEATA SAY. (COLEOPTERA)**

Summary

The insecticidal effect of 3 β ,5 α ,6 β -trihydroxysteroid and 3 β ,5-dihydroxy-6-ketosteroid derivatives of cholestane and stigmastane series containing 2-chloropyridine fragment in their structure on Colorado beetle larvae has been studied. Several of the compounds have been found to possess high insecticidal activity.