

УДК 595.767:547.539.2

## ДЕЙСТВИЕ N-[2-(4-ХЛОРФЕНИЛ)ЭТИЛ] ХЛОРАЦЕТАМИДА И N-[2-(4-ХЛОРФЕНИЛ)ЭТИЛ]- 2-ХЛОРПРОПИОНИЛАМИДА НА РАЗВИТИЕ МАЛОГО МУЧНОГО ХРУЩАКА

Д. В. СОШКИН, Н. М. ПРЖЕВАЛЬСКИЙ

(Кафедра органической химии и с.-х. энтомологии)

Рассматривалась возможность регулирующего действия синтетических аналогов N-ацетилДОФамина — N-[2-(4-хлорфенил)этил]хлорацетамида и N-[2-(4-хлорфенил)этил]2-хлорпропиониламида — на развитие ювенильных стадий малого мучного хрущака.

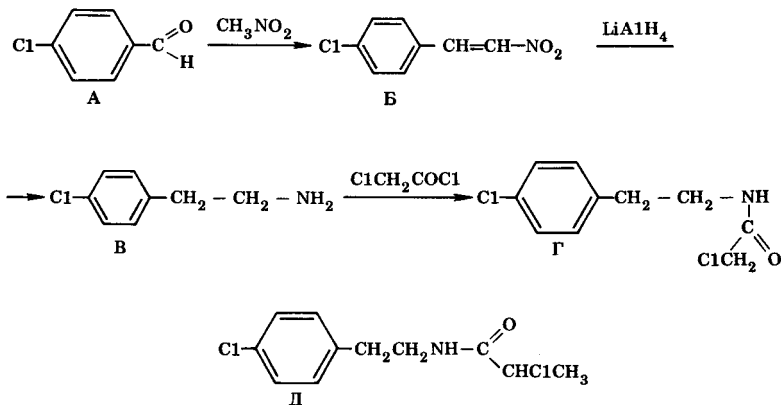
Исследования, проведенные в последние годы, показали, что ДОФамин в организме позвоночных и беспозвоночных животных в результате активации аденилат-циклазы экспрессирует определенную цепочку метаболических реакций, запуская транскрипцию генов, которые кодируют необходимые для ее реализации ферменты [5]. Можно предположить, что среди такого рода «разбуженного» генетического материала имеется РНК, транслирующая синтез ДОФамина N-ацетилтрансферазы. Этот механизм экспрессии логически весьма вероятен. Насекомое не может получить готовый N-ацетил-ДОФамин с пищей, поскольку он практически отсутствует в диете, кроме того, возможно его разложение ферментами в кишечнике. Таким образом, личинки должны сами синтезировать данное вещество из тирозина корма через образование ДОФамина. Поэтому очевидно, что реакция образования N-ацетил-ДОФамина может осуществляться только в присутствии ДОФамина, который ковенно ее «запускает». Синтезированный N-ацетил-ДОФамин, в свою очередь, способен активировать другую группу метаболических реакций, связанную с ДОФамин-индуцирующейся

системой скорее всего путем подавления транскрипции гена, ответственного за реакцию образования самого N-ацетил-ДОФамина. Осушается широко распространенный принцип обратной связи. Независимость ДОФамин- и N-ацетил-ДОФамин-индуцирующихся систем можно объяснить хотя бы участием в них разных нуклеотид-циклаз: например, ДОФамин активирует аденилат-циклазу, а N-ацетил-ДОФамин — гуанилат-циклазу. Поскольку эти процессы могут протекать независимо друг от друга, их последовательность во времени лишь вынужденная. Так как без N-ацетил-ДОФамина и экспрессированных им метаболических реакций невозможно осуществление нормальной линьки, некоторый отрезок времени межличиночного периода необходим для того, чтобы особь могла накопить достаточное количество N-ацетил-ДОФамина для запуска регулируемой им системы. Поэтому продолжительность одного личиночного периода могла бы уменьшиться, если 2 метаболические цепочки осуществлялись одновременно, что привело бы к улучшению саморегуляции организма, поскольку сбой в одной системе не так сильно отражался бы на функционировании другой.

В связи с этим мы предприняли попытку изучить влияние на развитие насекомых некоторых аналогов N-ацетил-ДОФамина. В данном эксперименте использовали производные 2-(4-хлорфенил)этиламина.

### Методика

Синтез N-[2-(4-хлорфенил)этил]хлорацетамида осуществляли по



4-хлор-ω-нитростирол B. В трехгорловой колбе объемом 1 л, охлаждаемой смесью льда и соли и снабженной механической мешалкой, термометром и капельной воронкой, смешивают 19 г (0,3 моля) нитрометана, 42 г (0,3 моля) бензальдегида и 60 мл метанола. Раствор гидроксида натрия готовят осторожным добавлением 13 г (0,32 моля) плавленного NaOH в 15 мл воды и охлаждают. Затем его разбавляют до 30 мл водой со льдом, переносят в капельную воронку и добавляют при перемешивании к смеси нитрометана и бензальдегида с такой скоростью, чтобы температура была не выше 10 °С. Выпадающий пастообразный осадок через 15 мин отделяют и растворяют в 250—300 мл воды со льдом.

В стакан объемом 1 л помещают

представленной схеме. Согласно этой схеме, п-хлорбензальдегид путем конденсации с нитрометаном вначале превращается в 4-хлор-ω-нитростирол B, который восстанавливали алюмогидридом лития до 2-(4-хлорфенил)-этиламина B, последний ацилировали хлорангидридом хлоруксусной кислоты, получая амид Г.

концентрированную соляную кислоту (60 мл) и 90 мл воды со льдом. При перемешивании к этому раствору по каплям прибавляют реакционную смесь, температура которой не превышает 5 °С. Выпавшие желтые кристаллы отделяют, промывают водой и перекристаллизовывают из этанола. Получают 30 г (54 % от теоретического) 4-хлор-ω-нитростирола B, т. пл. 110—111 °С. По данным [6], т. пл. 111—112 °С.

2-(4-Хлорфенил)этиламин B. К перемешиваемой суспензии алюмогидрида лития (13,02, 0,3 моля) в 200 мл абсолютного эфира по каплям добавляют раствор 4-хлор-ω-нитростирола (18,3 г, 0,1 моля) в смеси 200 мл абсолютного эфира и 20 мл абсолютного бензола. После добавления реагента смесь в течение 1 ч кипятят с об-

ратным холодильником, охлаждают и приливают порциями 70 мл ледяной воды. Эфирный слой отделяют, сушат безводным сульфатом магния и обрабатывают сухим газообразным хлористым водородом. Выпавшие кристаллы соли отделяют, обрабатывают 10 % раствором гидроксида калия, выделившееся основание экстрагируют бензолом. Остаток после отгонки бензола перегоняют в вакууме. Получают 9 г (60 % от теоретического) амина В, т. кип. 132—134 °С (24 мм рт. ст.). По данным [2], т. кип. 129—135 °С (24 мм рт. ст.).

N - [2 - (4 - Хлорфенил) этил] хлорацетамид Г. Растворяют 1,56 г (0,01 моля) амина В и 1,02 г (0,01 моля) триэтиламина в 30 мл абсолютного бензола. Полученный раствор по каплям добавляют при перемешивании магнитной мешалкой (температура комнатная) к 1,13 г (0,01 моля) хлорацетилхлорида в 20 мл абсолютного бензола. Выпавший осадок соли триэтиламина отфильтровывают. Остаток после отгонки бензола из фильтра перекристаллизовывают из

70 % водного этанола. Получают 1,74 г (75 % от теоретического) амида Г, т. пл. 89—90 °С. По данным [3], т. пл. 90—91 °С.

N - [2 - (4 - Хлорфенил) этил] - 2 - хлорпропиониламид Д. Получают аналогично амиду Г из 0,8 г (0,005 моля) амина В и 0,64 г (0,005 моля) α-хлорпропионилхлорида. Выход 0,88 г (72 % от теоретического), т. пл. 77—78 °С (из этанола). По данным [3], т. пл. 78 °С.

В качестве тест-объекта использовали свободную от протозойных паразитов популяцию малого мучного хрущака, *Tribolium confusum* Duv. (Coleoptera, Tenebrionidae), являющегося одним из объектов экспериментов, посвященных изучению метаболизма производных тирозина [4].

Биотестирование амидов Г и Д проводили следующим образом: 4300 мг стерильной пшеничной крупы, калиброванной до среднего диаметра гранул 1 мм, помещали в чашку Петри и обрабатывали 5 мл водоспиртового раствора вещества, обеспечивающего заданную концентра-

Таблица 1

Действие N-[2-(4-хлорфенил)этил]хлорацетамида Г на состав потомства малого мучного хрущака (% общего числа особей)

Доза вещества, Log моль на 1 г среды	47 сут			54 сут			58 сут			65 сут		
	Л	К	И	Л	К	И	Л	К	И	Л	К	И
0	61	26	13	19	46	35	11	37	52	0	10	90
0	67	30	3	24	56	20	0	47	53	0	0	100
0	68	24	8	24	51	25	4	47	49	0	2	98
8,0	8	62	30	2	18	80	0	6	94	0	0	100
8,0	10	58	32	2	9	89	2	4	94	0	0	100
6,9	29	54	17	2	33	65	0	11	89	0	0	100
6,2	11	32	57	0	16	84	0	0	100	0	0	100
5,9	14	62	24	2	25	73	2	5	93	0	0	100
5,9	39	50	11	11	20	69	0	20	80	0	0	100

Примечание. Здесь и в табл. 3 Л — личинки; К — куколки; И — имаго. В этой таблице для наглядности все значения округлены до целых чисел.

Действие N-[2-(4-хлорфенил)этил]хлорацетамида на процесс отрождения имаго в одном поколении малого мучного хрущака

Доза вещества, —Log моль на 1 г среды	Функция, описывающая динамику процесса отрождения имаго	F	F <sub>0,05</sub>	T <sub>2</sub>	У <sub>2</sub>	У'
0	$Y = 100x(1 + 4e^{47,585 - 0,802T})^{-0,25}$	0,49	4,46	59	67	10,7
8,0	$Y = 100x(1 + e^{16,228 - 0,329T})^{-1}$	0,58	9,55	49	50	8,2
5,9	$Y = 100xe^{-12,696 - 0,256T}$	1,35	9,55	50	37	9,4

Доза вещества, —Log моль на 1 г среды	У'' <sub>макс</sub>	У'' <sub>мин</sub>	T <sub>1</sub>	У <sub>1</sub>	T <sub>3</sub>	У <sub>3</sub>	T <sub>50</sub>	Ф
0	3,2	—3,2	57	44	62	91	58	5,0
8,0	1,0	—1,0	45	21	53	79	49	8,0
5,9	2,0	—1,1	46	7	54	68	51	7,5

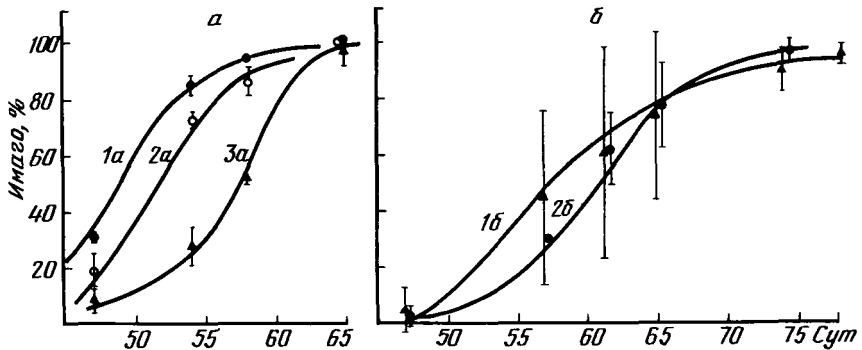
Примечание. У — количество особей, % общего числа потомков; Т — период, сут; T<sub>50</sub> — период отрождения 50 % особей в имаго; T<sub>1</sub>, У<sub>1</sub>; T<sub>2</sub>, У<sub>2</sub>; T<sub>3</sub>, У<sub>3</sub> — координаты точек максимальных значений соответственно скорости, ускорения и торможения процесса; Ф — продолжительность основной фазы процесса.

цию соединения (в молях на 1 г среды). На обработанный и высушенный субстрат помещали 15 имаго малого мучного хрущака в возрасте 80—90 сут после вылупления из яйца. Через неделю его удаляли и потомство, развившееся из отложенных яиц, воспитывали при температуре  $29 \pm 2$  °С, относительной

влажности воздуха 50—60 % и 12-часовом световом дне. Начиная с 47 сут проводили периодические подсчеты различных фаз развития во всех вариантах. Наблюдения прекращали после того, как в экспериментальных группах основная масса потомков (95—100 %) достигала состояния имаго.

Динамика процесса отрождения имаго малого мучного хрущака под влиянием N-[2-(4-хлорфенил)этил]хлорацетамида Г (а) и N-[2-(4-хлорфенил)этил]-2-хлорпропиониламида Д (б).

1а —  $10^{-8}$  моля/г; 2а —  $10^{-5,9}$ ; 3а — 0; 1б — 0; 2 —  $10^{-8}$  моля/г.



## Результаты

N - [2 - (4-Хлорфенил) этил]хлорцетамид Г, табл. 1. На 47-е сутки удельная численность личинок при наименьшей дозе вещества ( $10^{-8}$  моля) была почти в 7 раз ниже контрольной, а при максимальной — в 2,5 раза. Максимум особей, находящихся в фазе куколок, во всех вариантах с обработкой наблюдался на 47-е сутки, в контрольных группах он отмечен на неделю позже. В этот период количество окуклившихся особей было наибольшим при малой дозе вещества. Процессы отрождения имаго во времени описываются s-образными кривыми экспоненциального вида (рисунок) и выражаются соответствующими функциями (табл. 2). Причем динамика контрольных показателей имеет вид гипологистической кривой, при наименьшей дозе вещества — логистической кривой, при наибольшей — кривой Гомпертца.

В контрольном варианте поколение созревает неравномерно. Период от начала выхода имаго до инициации их массового отрождения довольно продолжительный. Когда доля жуков составляет 40 % общего количества потомков, темп метаморфоза резко увеличивается. В течение 5 сут практически все оставшиеся ювенильные особи превращаются в имаго. Хотя ускорения входа и выхода на этапе основного прироста функции численно равны, кривая зависимости асимметрична, так как периоды инициации и завершения массового отрождения имаго наступают в неодинаковые промежутки времени, прошедшего от начала или соответственно остающегося до завершения процесса. Кроме того, после окончания этапа интенсивного отрождения имаго доля ювенильных особей в потомстве составляет 9 %, что более чем в 4 ра-

за меньше, чем количество отродившихся имаго на момент инициации.

Под действием малых доз амида Г точка выхода 90 % имаго отмечается на неделю раньше, чем в контроле. Абсолютные значения максимальных скорости и ускорения прироста функции, отражающей динамику выхода имаго, гораздо меньше контрольных показателей. Максимальные ускорение и торможение основной фазы процесса численно равны и приходятся на одинаковый момент времени, прошедшего от начала и остающегося до конца этапа выхода имаго. Это наряду с идентичностью формы начального и конечного отрезков кривой придает ей симметричный вид.

При максимальной экспериментальной дозе вещества ( $10^{-5,9}$  моля/г) время прохождения отдельных фаз от точки инициации процесса отрождения имаго по сравнению с малыми дозами затягивается. Кроме того, зависимость, описывающая динамику выхода имаго, в данном случае снова становится асимметричной. Максимальный темп метаморфоза отмечается на начальном этапе (от 7 до 68 % вышедших имаго), затем он замедляется (ситуация, противоположная контрольной). Ускорение в начале фазы массового выхода имаго в 2 раза больше по модулю максимального торможения прироста функции.

N - (2 - (4-Хлорфенил) этил) - 2-хлорпропионил амид Д, табл. 3. По сравнению с предыдущим экспериментом при испытании амида Д в контрольном и опытных вариантах личинки развиваются медленнее. Контрольная группа характеризуется большим разбросом показателей. Так, на 61-е сутки удельная численность имаго в потомстве различается по повторностям более чем в 4 раза.

Таблица 3

Действие N-[2-(4-хлорфенил)этил]-2-хлорпропиониламида на состав потомства малого мучного хрущака (% от общего числа особей)

Доза вещества, —Log моль на 1 г среды	47 сут			57 сут			61 сут			65 сут			74 сут			78 сут		
	Л	К	И	Л	К	И	Л	К	И	Л	К	И	Л	К	И	Л	К	И
0	65	35	0	23	35	42	12	15	73	8	4	88	0	5	95	0	5	95
0	36	50	14	9	14	77	4	4	92	0	5	95	0	5	95	0	0	100
0	85	15	0	61	24	15	46	35	19	24	36	40	5	14	81	0	6	94
8,0	85	15	0	40	36	24	23	27	50	25	11	64	0	0	100	0	0	100
8,0	63	34	3	30	35	35	9	18	73	3	6	91	0	4	96	0	0	100
6,9	94	6	0	91	9	0	71	29	0	39	55	6	32	0	68	17	11	72
6,2	98	2	0	100	0	0	100	0	0	95	5	0	82	18	0	69	25	6
5,9	100	0	0	93	7	0	85	15	0	94	6	0	50	44	6	43	14	43

Доза вещества, —Log моль на 1 г среды	82 сут			87 сут			92 сут			99 сут			106 сут			110 сут		
	Л	К	И	Л	К	И	Л	К	И	Л	К	И	Л	К	И	Л	К	И
0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
8,0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
8,0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
6,9	7	12	81	0	14	86	0	14	86	0	0	100	0	0	100	0	0	100
6,2	66	26	7	60	20	20	13	62	25	14	43	43	0	30	70	0	10	90
5,9	33	14	53	20	20	60	20	7	73	14	7	79	0	9	91	0	0	100

В целом на основе средних показателей зависимость, описывающая во времени процесс выхода имаго, в контрольном варианте имеет вид кривой Берталанфи (рисунок). Ускорение прироста функции максимально в момент инициации процесса, затем оно уменьшается до определенной точки (табл. 4). Пока этот процесс имеет положительные значения, скорость прироста функции увеличивается, достигая максимума, когда средняя доля имаго в потомстве составляет 25%. Максимальное торможение процесса отмечается через неделю, а после этого срока он снова ускоряется.

При малых дозах амида  $D$  —

$10^{-8}$  моля/г — имаго в опытных группах развивается в рамках показателей в контрольной группе. Однако в этом случае диапазон колебаний показателей гораздо меньше и форма кривой зависимости симметричная (рисунок). Последнее обусловлено тем, что функция имеет вид логистической кривой с одинаковыми по модулю ускорениями входа и выхода на этапе интенсивного отрождения имаго (табл. 4). Продолжительность основной фазы процесса уменьшилась на 3 сут по сравнению с контрольной кривой.

При дальнейшем повышении концентрации соединения до

Действие N-[2-(4-хлорфенил)этил]-2-хлорпропиониламида на процесс отрождения имаго в одном поколении малого мучного хрущака

Доза вещества, — Log моль на 1 г среды	Функция, описывающая динамику процесса отрождения имаго		F	F <sub>0,05</sub>	T <sub>2</sub>	У <sub>2</sub>
0	Y = 100x (1 - 0,5e <sup>6,284 - 0,119T</sup> ) <sup>2</sup>		0,03	3,26	53	25
8,0	Y = 100x (1 + e <sup>16,660 - 0,276T</sup> ) <sup>-1</sup>		0,14	5,19	60	50

у'	у'' <sub>макс</sub>	у'' <sub>мин</sub>	T <sub>1</sub>	У <sub>1</sub>	T <sub>1</sub>	У <sub>3</sub>	T <sub>50</sub>	Φ
5,9	2,80	-0,40	—	—	59	58	57	12
6,9	0,72	-0,72	56	21	65	79	60	9

10<sup>-6,9</sup> моля/г первые имаго появляются лишь на 65-е сутки эксперимента, т. е. более чем на 2 недели позже, чем в контроле. Количество куколок к этому моменту составляет более половины особей поколения. В течение следующей недели все они преобразуются в имаго, хотя до полного взросления проходит еще месяц.

При максимальных концентрациях амида D по сравнению с контрольными показателями процесс взросления поколения затягивается

на месяц. Зависимость отрождения имаго во времени имеет сложный характер и не описывается классом функций, объединяющим кривые физиологического роста [1]. Это указывает на то, что относительное старение поколения обусловливается большей частью не переходом одних фаз развития в другие, а элиминацией части ювенильных особей (табл. 5). При испытании амида D средняя смертность в контроле составляла 22 ± 11% за учетный период, при дозе 10<sup>-8</sup> мо-

Таблица 5

Действие исследуемых веществ на численность потомства (особей) малого мучного хрущака в начале и конце учетного периода

Доза вещества.— Log моль на 1 г среды	N-[2-(4-хлорфенил)этил]- хлоратамид		Смерт- ность, %	N-[2-(хлорфенил)этил]-2- хлорпропиониламид		Смерт- ность, %
	в начале	в конце		в начале	в конце	
0	54	43	20	26	21	19
0	86	68	21	24	21	13
0	102	75	25	26	17	35
8,0	50	45	10	47	34	28
8,0	57	55	4	33	28	15
6,9	85	78	8	31	13	58
6,2	37	37	0	30	7	77
5,9	55	53	4	29	11	62
5,9	66	66	0	—	—	—

Примечание. Для мучных хрущаков характерны явления каннибализма и некрофагии. Обычно личинки старших возрастов или имаго нападают на ослабленных сородичей и деформированных и нежизнеспособных куколок либо поедают их группы.

ля/г она была примерно такой же —  $22 \pm 8$  %, однако при повышении концентрации данный показатель возрастал в 3,0—3,5 раза.

Для амида Г смертность в контроле достигала  $22 \pm 3$  % общего количества особей за учетный период, в то время как во всех группах с обработкой она была гораздо ниже и составляла в среднем  $4 \pm 4$  %.

Под действием амида Г обильность потомства по сравнению с контролем уменьшалась (в среднем  $58 \pm 16$  особей на чашку Петри в обработанных и  $81 \pm 24$  в интактных группах).

На субстратах, обработанных амидом Д, потомство более обильное, чем в интактных группах. Например, при дозе  $10^{-8}$  моля/г его численность в среднем составляла  $40 \pm 8$  особей на чашку Петри, в то время как в контроле —  $25 \pm 1$  особь. Имеет место линейная корреляция между концентрацией вещества и количеством потомков ( $r = -0,772$ ), однако по критерию Стьюдента ( $t_{\phi} = 1,45$ ) она малодостоверна ( $t_{0,05} = 3,18$ ).

При испытании на плодовитость жуков, выросших на обработанных субстратах, получены следующие результаты. Для амида Г недельная плодовитость 15 имаго в 10 г муки у контрольных особей составила  $64 \pm 19$  потомков на чашку Петри; при дозе вещества  $10^{-8}$  моля/г —  $31 \pm 1$ , при дозе  $10^{-6}$  моля/г —  $32 \pm 9$  потомков на чашку Петри. При испытании амида Д показатели были аналогичные —  $50 \pm 7$  потомков на чашку Петри в контроле и  $42 \pm 8$  потомков при концентрации соединения  $10^{-8}$  моля/г.

### Выводы

N-[2-(4-хлорфенил)этил] хлорцетамид ускоряет и синхронизирует

развитие ювенильных стадий малого мучного хрущака. Максимальный стимулирующий эффект наблюдался при малых дозах вещества ( $10^{-8}$ — $10^{-6,9}$  моля на 1 г среды). Репродуктивная активность интактных имаго на обработанных субстратах несколько снижалась, плодовитость особей, воспитанных на обработанном корме, по сравнению с контролем заметно уменьшалась. Под влиянием исследуемого вещества снижалась смертность ювенильных фаз развития насекомого, инсектицидное действие не отмечено.

N-[2-(4-хлорфенил)этил]-2-хлорпропиониламид при малых концентрациях ( $10^{-8}$  моля на 1 г среды) не влиял на скорость развития ювенильных стадий малого мучного хрущака, однако наблюдалась синхронизация метаморфоза. Большие дозы вещества ( $10^{-6,9}$ — $10^{-5,9}$  моля на 1 г среды) тормозили развитие личинок и куколок, повышая их смертность по сравнению с контролем в несколько раз и таким образом оказывая инсектицидное действие. Под действием вещества несколько возрастала репродуктивная способность интактных имаго на обработанных субстратах. При малых его концентрациях ( $10^{-8}$  моля на 1 г среды) плодовитость жуков, воспитанных на экспериментальных средах, не изменялась.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Савинов И. П., Васильев Б. Р., Шмидт В. М. Об одном классе кривых роста растений.— Журн. общ. биол., 1977, т. 38, № 3, с. 432—438.— 2. Bennington F. et al.— Org. Chem., 1958, vol. 23, p. 1979.— 3. Hasan Salma J. et al.— Indian. J. Chem., 1971, vol. 9, p. 1022—1024.— 4. Kramer K. J.— Insect Biochem., 1984, vol. 14, p. 293.— 5. Nathanson J. A.— Physiol. Rev., 1977, vol. 57, p. 157.— 6. Remery M.— Chem. Soc., 1911, vol. 99, p. 286.

Статья поступила 12 сентября 1991 г.