



УДК 547.996.02

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОЛОВОГО ФЕРОМОНА САМОК
КАПУСТНОЙ СОВКИ *MAMESTRA BRASSICAE* L.
(*LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE*)*

Ковалев Б. Г., Недопекина С. Ф.

Всесоюзный научно-исследовательский институт биологических методов
защиты растений, Кишинев

Лебедева К. В.

Всесоюзный научно-исследовательский институт химических средств
защиты растений, Москва

Кост А. Н.

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

Установлено, что половой аттрактант самок капустной совки *Mamestra brassicae* является ацетатом цис-11-гексадецен-1-ола.

Капустная совка *Mamestra brassicae* — широко распространенный в Советском Союзе и в Западной Европе полифаг, повреждающий овощные, технические и эфиромасличные культуры, а также декоративные растения [3].

Половой феромон этой бабочки мы извлекали из брюшек самок экстракцией хлористым метилом. Для выявления компонентов полового феромона мы описанным ранее методом проводили препаративную газовую хроматографию сырого экстракта с отбором одноступенчатых фракций, которые тестировали методом электроантеннографии (ЭАГ) [4, 5]. При разделении на колонке с умеренно полярной фазой ХЕ-60 (рис. 1) наибольший ответ антенн самцов (5,5 мВ) был получен для фракции 9—10, что соответствовало пику на хроматограмме со временем удерживания 9,8 мин. При анализе этой фракции на колонке с неполярной фазой (апиезоном L) был получен практически один пик со временем удерживания 19,2 мин. При хроматографическом разделении сырого экстракта на колонке с апиезоном L и последующем ЭАГ-тестировании оказалось, что наиболее активна фракция (18—19), соответствующая тому же самому пику со временем удерживания 19,2 мин (рис. 2). Испытание одноступенчатых фракций, вызывавших значительные ЭАГ-ответы антенн самцов, и их комбинаций показало, что только фракция со временем удерживания 19,2 мин вызывает четкий направленный полет самцов капустной совки в туннельном ольфактометре. Отсюда был сделан вывод, что половой феромон представлен одним веществом.

Известно, что среди половых феромонов самок чешуекрылых преобладают ацетаты высших непредельных спиртов [6]. Поэтому для предвари-

* Предварительные сообщения см. [1, 2].

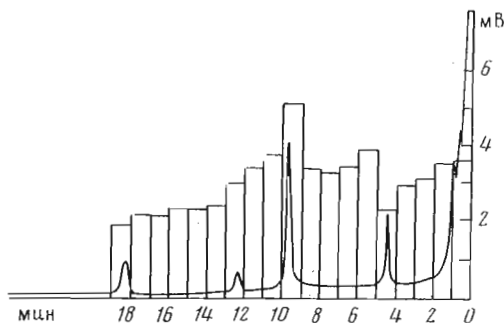


Рис. 1. Хроматограмма на колонке с ХЕ-60 экстракта самок капустной совки и ответы антенн самцов [4, 5] на одномоментные фракции

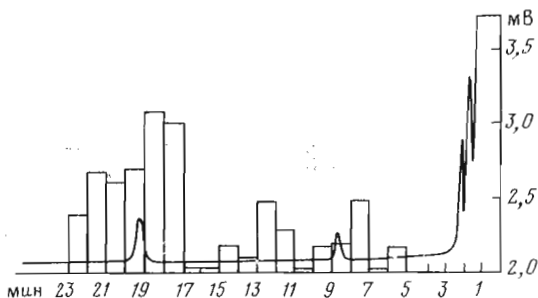


Рис. 2. Хроматограмма на колонке с апиезоном L экстракта самок капустной совки и ответы антенн самцов на одномоментные фракции

тельной оценки природы выделенного активного компонента феромона капустной совки мы сравнили газохроматографическое поведение последнего и ацетатов первичных предельных спиртов, имеющих нормальную цепь из 12—18 углеродных атомов. Оказалось, что на колонках с апиезоном L и силиконом ХЕ-60 активный компонент по времени удерживания был близок к *n*-гексадеценилацетату, а после гидрирования полностью совпал с ним (см. табл. 1). При гидрировании, однако, поведенческая активность исчезала. Поскольку щелочной гидролиз сырого экстракта также полностью уничтожал поведенческую активность, а последующее реацетилирование восстанавливало ее, действительно можно было предположить, что активный компонент является ацетатом непредельного спирта с 16 углеродными атомами. При рассмотрении нормализованных ответов антенн самцов капустной совки на ряд спиртов и ацетатов заведомого строения (рис. 3) выяснилось, что наибольшие ответы вызывали ацетаты *цис*- и *транс*-11-гексадецен-1-олов.

У продукта щелочного гидролиза активного компонента пики в ГЖХ имели одинаковые времена удерживания с пиками синтетического *цис*-11-гексадецен-1-ола на колонках с неполярной и полярными фазами, а его реацетилирование давало пик, совпадавший с пиком *цис*-11-гексадеценилацетата (табл. 1). Положение двойной связи следовало также из сравнения времен удерживания продуктов озонлиза активного вещества и синтетических ацетатов *цис*-9-, *цис*-10-, *цис*-11- и *цис*-12-гексадецен-1-олов (табл. 2) на колонках как с полярной, так и с неполярной фазами. Полученные данные позволили приписать половому феромону самок капустной совки структуру ацетата *цис*-11-гексадецен-1-ола.

Этот вывод был подтвержден следующими путями. Масс-спектры активного компонента (табл. 3), измеренные при ионизации электронным

Таблица 1

Время удерживания продуктов гидрирования, гидролиза и
реацетилирования природного феромона и синтетического
цис-11-гексадеценилацетата

| Вещество | Время удерживания, мин * | | |
|---|--------------------------|-------|---------|
| | Апиезон L | ХЕ-60 | ХФ-1150 |
| <i>цис</i> -CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CH(CH ₂) ₁₀ OAc | 19,2 | 9,8 | 37,0 |
| <i>цис</i> -CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CH(CH ₂) ₁₀ OH | 13,4 | 8,9 | 38,6 |
| CH ₃ (CH ₂) ₁₅ OAc | 20,5 | 9,1 | — |
| Природный феромон | 19,2 | 9,8 | 37,0 |
| Продукт гидрирования | 20,5 | 9,1 | — |
| Продукт гидролиза | 136 | 8,9 | 38,6 |
| Продукт реацетилирования | 19,2 | 9,8 | 37,0 |

* Условия хроматографии см. «Экспериментальную часть».

Таблица 2

Время удерживания продуктов озонлиза активного
вещества и ряда ацетатов непредельных спиртов

| Ацетат | Продукт озонлиза | Время удерживания, мин | |
|---|---|------------------------|---------|
| | | Апиезон L | ЦГдмс * |
| <i>цис</i> -CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₈ OAc | ОНС(CH ₂) ₈ OAc | 2,8 | 4,2 |
| <i>цис</i> -CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CH(CH ₂) ₉ OAc | ОНС(CH ₂) ₉ OAc | 4,1 | 6,0 |
| <i>цис</i> -CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CH(CH ₂) ₁₀ OAc | ОНС(CH ₂) ₁₀ OAc | 6,4 | 8,5 |
| <i>цис</i> -CH ₃ (CH ₂) ₂ CH=CH(CH ₂) ₁₁ OAc | ОНС(CH ₂) ₁₁ OAc | 9,8 | 12,1 |
| Природный феромон | | 6,4 | 8,5 |

* Циклогександиметанолсукцинат на хромосорбе W-AW.

Таблица 3

Масс-спектры природного феромона при 70 (а) и 20 эВ (б),
а также синтетического ацетата *цис*-11-гексадецен-1-ола при
20 эВ (в)

| <i>m/e</i> | <i>I</i> , % | | | <i>m/e</i> | <i>I</i> , % | | |
|-------------------------------|--------------|----------|----------|------------|--------------|----------|----------|
| | <i>a</i> | <i>б</i> | <i>в</i> | | <i>a</i> | <i>б</i> | <i>в</i> |
| 282 (<i>M</i> ⁺) | 3 | 7 | 2 | 152 | 6 | 11 | 12 |
| 222 | 24 | 40 | 50 | 138 | 13 | 20 | 20 |
| 208 | 2 | 17 | 2 | 124 | 22 | 23 | 30 |
| 194 | 5 | 20 | 6 | 110 | 35 | 38 | 45 |
| 180 | 5 | — | 5 | 96 | 81 | 80 | 100 |
| 166 | 6 | 12 | 11 | 60 | 3 | 9 | 2 |

ударом с энергией 70 и 20 эВ, содержат достаточно интенсивные пики молекулярного иона при *m/e* 282 и характеристичные пики фрагментов [*M*-AcOH]⁺, [*M*-AcOH-*n*CH₂=CH₂]⁺ и [*M*-AcOH-*n*CH₂]⁺. Масс-спектры природного феромона и синтетического *цис*-11-гексадеценилацетата (при 70 эВ) оказались практически одинаковыми. Конфигурация двойной связи была установлена сравнением времен удерживания продукта щелоч-

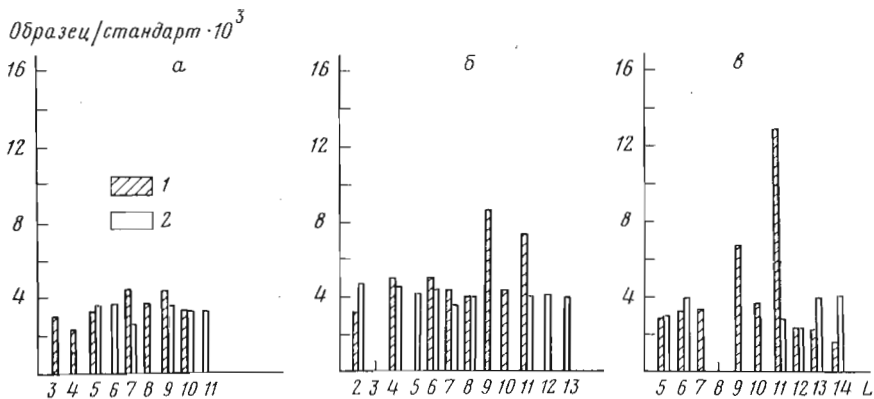


Рис. 3. Нормализованные ответы антенн самцов на ряды синтетических ацетатов додецен-1-олов (а), тетрадецен-1-олов (б), гексадецен-1-олов (в) с различным положением двойной связи (L). Доза 10 мкг, стандарт — *цис*-9-тетрадеценилацетат. 1 — *цис*-, 2 — *транс*-изомер

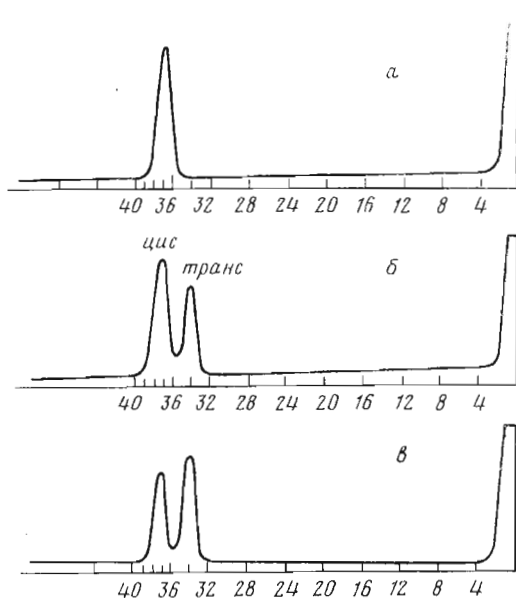


Рис. 4. Хроматограммы природного феромона (а), синтетических *цис*- и *транс*-11-гексадеценилацетатов (б) и заводской смеси природного феромона и ацетата *транс*-11-гексадецен-1-ола (в) на колонке с XF-1150

ного гидролиза природного феромона и его самого, с одной стороны, и соответственно *цис*- и *транс*-11-гексадецен-1-олов и их ацетатов — с другой, на колонке со стереоспецифической фазой XF-1150 (см. табл. 1 и рис. 4). На хроматограмме половой феромон представлен одним пиком, по времени удерживания точно совпадающим с *цис*-11-гексадеценилацетатом и отличающимся от *транс*-11-гексадеценилацетата. Специально поставленными опытами на смесях ацетатов *цис*- и *транс*-11-гексадецен-1-олов установлено, что на этой колонке удается обнаружить примесь уже 2—3% одного изомера в другом.

Ацетат *цис*-11-гексадецен-1-ола активно привлекает самцов как в туннельном ольфактометре в дозе 10 мкг, так и в поле в дозах 1000—2000 мкг.

Транс-изомер не привлекает ни в лаборатории, ни в полевых условиях. При добавлении *транс*-изомера активность *цис*-изомера падает и при соотношении изомеров 1:1 действие *цис*-изомера полностью подавляется.

Таким образом, половой аттрактант самок капустной совки является ацетатом *цис*-11-гексадецен-1-ола*.

Экспериментальная часть

Комбинированную хромато-масс-спектрометрию осуществляли на приборе LKB 2091; разделение и ввод образцов проводили на капиллярной колонке с SE-30 длиной 25 м. Для газовой хроматографии использовали хроматограф «Хром-3» (ЧССР). Вся работа, за исключением специальных случаев, проводили на колонках из нержавеющей стали длиной 2 м и внутренним диаметром 3 мм, наполненных 15% ХЕ-60 на хроматоне N-AW-HMDS (0,200–0,250 мм) и 8% апиезона L на хроматоне N-AW-HMDS (0,200–0,250 мм) при 190° и токе азота 50 мл/мин. Антеннограммы записывали по методике и на установке, описанном в работе [8]. Синтетические образцы, использованные в работе, получены авторами через ацетиленовые спирты.

Приготовление экстракта. Кончики брюшек 2–3-суточных самок, содержащих железу, продуцирующую феромон, тщательно отрезали и экстрагировали хлористым метиленом при 10–15° в течение 3–5 сут. На 100 самок использовали 10 мл хлористого метилена. Раствор декантировали, остаток несколько раз промывали небольшим количеством растворителя и экстракт доводили до определенного объема. Для работы отбирали определенный объем экстракта, который упаривали в токе азота при комнатной температуре. Все растворы экстракта полового феромона при ГЖХ готовили в сероуглероде.

Отбор одномоментных фракций. Для записи аналитических хроматограмм и для препаративного отбора одномоментных фракций использовали экстракт из 50 самок. Фракции собирали в стеклянные капилляры длиной 30 см, внутренним диаметром 1 мм, которые присоединяли непосредственно к выходу колонки.

Гидрирование феромона. Половой феромон, полученный от 100 самок, гидрировали 3 ч над PtO₂ в 4 мл бензола. Затем катализатор отфильтровывали, растворитель упаривали в вакууме до объема 0,5 мл и остаток бензола удаляли током азота.

Подготовка образца феромона для масс-спектрометрии. Фракцию, соответствующую активному пику феромона, выделяли препаративной ГЖХ на колонке с апиезоном L из сырого экстракта, полученного от 1000 самок.

Микроозонолиз феромона. Микроозонолиз осуществляли по методике, описанной в работе [9]. Продукты озонлиза хроматографировали на стеклянной колонке длиной 2,5 м, внутренним диаметром 3 мм, наполненной 5% циклогександиметанолсукцината на хромосорбе W-AW (80–100 меш), при 190° и токе азота 40 мл/мин.

Гидролиз феромона. Половой феромон из 150 самок омыляли кипячением с 2 мл 10% водного едкого натра и 2 мл этилового спирта в течение 25 ч. Затем экстрагировали эфиром, сушили Na₂SO₄, упаривали, добавляли CS₂ и использовали в ГЖХ.

Определение геометрии двойной связи. Геометрию двойной связи определяли сравнением времен удерживания природного феромона и синтетических ацетатов *цис*- и *транс*-11-гексадецен-1-ола на стеклянной колонке длиной 4,5 м, внутренним диаметром 3 мм, наполненной 10% XF-1150 на газохроме Q (100/120 меш), при 185° и токе азота 20 мл/мин.

* В процессе подготовки данной статьи к публикации появилось краткое сообщение [7], в котором авторы пришли к тем же выводам о строении полового феромона капустной совки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ковалев Б. Г., Недопекина С. Ф., Конохов В. П., Ривилис Ф. С., Лебедева К. В., Кост А. Н. (1978) V Советско-индийский симпозиум по химии природных соединений, тезисы докладов, с. 38, Ереван.
2. Nedopjekina S. F., Kost A. N., Kovalev B. G., Lebedeva K. V. (1978) Fourth International Congress of Pesticide Chemistry, Zurich, Abstract Volume, paper III-28.
3. Поспелов С. М. (1962) Совки – вредители сельскохозяйственных культур, с. 78–79, Изд-во с.-х. лит., журн. и плакатов, Л.–М.
4. Roelofs W. L., Tette J. P., Taschenberg E. F., Comeau A. (1971) *J. Insect. Physiol.*, **17**, 2235–2243.
5. Миняйло В. А., Ковалев Б. Г., Бедный В. Д. (1978) в сб.: Хеморецепция насекомых, № 3, с. 97–101, Вильнюс.
6. Миняйло В. А., Ковалев Б. Г. (1973) в сб.: Итоги науки и техники, серия «Энтомология», т. 2, с. 124–173, М.
7. Bestman H. I., Vostrowsy O., Koschatzky K. M., Platz H., Szymanska A., Knauf W. (1978) *Tetrahedron Lett.*, 605–608.
8. Roelofs W. L., Comeau A. (1971) *J. Insect Physiol.*, **17**, 1969–1982.
9. Beroza M., Bierl B. A. (1967) *Anal. Chem.*, **39**, 1131–1135.

Поступила в редакцию
27.VII.1978

После доработки
12.I.1979

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF THE SEX PHEROMONE OF THE CABBAGE MOTH FEMALES *MAMESTRA BRASSICAE* L. (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

KOVALEV B. G., NEDOPJEKINA S. F., LEBEDEVA K. V., KOST A. N.

All-Union Institute for Biological Methods of Plant Protection, Kishinev;
All-Union Institute for Chemical Means of Plant Protection, Moscow;
M. V. Lomonosov State University, Moscow

The active component was isolated by preparative GLC. The presence of the acetyl group and the molecule chain-length were established by saponification and following identification of hexadecenol by GLC on the polar and nonpolar columns. The double bond position was determined using microozonolysis and GLC-identification of the product as acetoxyundecanal. The *cis*-configuration of the double bond was established by comparison of the retention times for the natural product and for *cis*- and *trans*-11-hexadecenyl acetates. The mass spectrum of the natural product was identical with that of synthetic *cis*-11-hexadecenyl acetate. In the field tests *cis*-11-hexadecenyl acetate revealed a high attractiveness for the cabbage moth males.