

Insekticidna aktivnost derivata kinazolinona

Majer, Dora

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:151:337331>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-19**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Dora Majer, apsolvant

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo, modul Zaštita bilja

INSEKTICIDNA AKTIVNOST DERIVATA KINAZOLINONA

Diplomski rad

Osijek, 2024.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Dora Majer, apsolvant

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo, modul Zaštita bilja

INSEKTICIDNA AKTIVNOST DERIVATA KINAZOLINONA

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Vesna Rastija, predsjednik
2. prof. dr. sc. Ivana Majić, mentor
3. izv. prof. dr. sc. Ankica Sarajlić, član

Osijek, 2024.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	2
2.1. Značaj velikog voskovog moljca (<i>Galleria mellonella L.</i>) u znanstvenim istraživanjima.....	2
2.2. Štetnost velikog voskovog moljca (<i>Galleria mellonella L.</i>) u pčelarstvu.....	3
2.3. Biologija velikog voskovog moljca (<i>Galleria mellonella L.</i>).....	4
2.3.1. Jaja.....	4
2.3.2. Ličinka.....	4
2.3.3. Kukuljica.....	5
2.3.4. Odrasli stadji (<i>imago</i>).....	5
2.4. Suzbijanje velikog voskovog moljca u pčelarstvu.....	6
2.4.1. Kemijsko suzbijanje velikog voskovog moljca.....	7
2.4.2. Biološko suzbijanje velikog voskovog moljca.....	10
2.4.3. Fizikalne mjere suzbijanja velikog voskovog moljca.....	11
2.5. Biološka aktivnost kinazolinona.....	12
2.5.1. Supstituirani kinazolinoni.....	13
2.5.2. Derivati kinazolinona.....	13
2.5.3. Insekticidna aktivnost derivata kinazolinona.....	14
3. MATERIJALI I METODE.....	17
4. REZULTATI.....	21
5. RASPRAVA.....	26
6. ZAKLJUČAK.....	28
7. POPIS LITERATURE.....	29
8. SAŽETAK.....	35
9. SUMMARY.....	36
POPIS TABLICA.....	37
POPIS SLIKA.....	38

1. UVOD

Pesticidi su sredstva za zaštitu bilja od bolesti, štetnika i korova koji ugrožavaju produktivnost i kvalitetu poljoprivredne proizvodnje. Insekticidi se koriste za zaštitu od štetnih kukaca u šumarstvu i poljoprivredi. Kemijski pesticidi se u posljednjih 50 godina sve intenzivnije koriste, odnosno moguće ih je pronaći u svim fazama poljoprivredne proizvodnje, od sjetve sve do skladištenja gotovih proizvoda. Unatoč tomu što pesticidi doprinose sigurnosti i visini prinosa, što je važno s obzirom na rastuće globalne potrebe za hranom, njihova toksičnost čini dugoročnu primjenu neodrživom u odnosu na zdravlje ljudi, biljaka i životinja. Pesticidi imaju tendenciju da se gomilaju u tjelesnom tkivu ljudi i životinja, posebno u masnom tkivu, jetri i bubrezima, što može dovesti do ozbiljnih dugoročnih posljedica na zdravlje. Zbog štetnih posljedica primjene pesticida te nemogućnosti kontinuiranog tretiranja štetnika koji pokazuju otpornost i nedovoljno konzistentnog djelovanja se kontinuirano razmatraju alternativne i nove metode održive zaštite bilja.

Kinazolinoni su heterociklički spojevi koji se sastoje od dva aromatska prstena u čijoj se strukturi nalaze atomi dušika. Prethodna istraživanja su već dokazala farmaceutski potencijal kinazolinona (protuupalne, antifungalne, antibakterijske, antikancerogene karakteristike i dr.) te danas postoje mnogi lijekovi na bazi kinazolinona (Dohle i sur., 2018.). Međutim, glavne prednosti koje pravdaju potrebu za ovim istraživanjem proizlaze iz mogućnosti sinteze derivata kinazolinona, pri čemu pojedini derivati djeluju kao insekticidi.

Veliki voskov moljac u pčelarskoj industriji uzrokuje značajne financijske gubitke, napadajući prazne košnice i oslabljene pčelinje zajednice, osim toga, ovaj kukac je često korišten kao model u biološkim testovima. Ličinke se hrane voskom, pri čemu uništavaju košnice i med (Kumar i Khan, 2020.). Yang i sur. (2020.) utvrdili su potencijal pojedinih derivata kao visoko učinkovitih insekticida budući da su uzrokovali 70 % - 90 % mortaliteta kod pojedinih štetnika.

Cilj ovog rada je utvrditi biološku aktivnost sintetskih derivata kinazolinona i njihovo insekticidno djelovanje na velikog voskovog moljca (*Galleria mellonella* L.).

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Značaj velikog voskovog moljca (*Galleria mellonella* L.) u znanstvenim istraživanjima

Veliki voskov moljac koristi se kao model u različitim istraživanjima i biološkim testovima. Jedan od ključnih razloga za njihovu popularnost u znanstvenoj zajednici je njihova sposobnost da služe kao model za proučavanje ljudskih patogena, posebno u kontekstu bakterijskih infekcija. Ova sposobnost čini ih izuzetno korisnim za istraživanje virulencije i novih terapija za najvažnije patogene bakterije (Ménard i sur., 2021.). Uz to, koriste se u istraživanjima vezanim uz razvoj novih lijekova za ljude, novih pesticida i toksikološka istraživanja utjecaja kemikalija na okoliš (Mowlds i sur., 2010.) te kao model za uzgoj korisnih organizama. Uz sve ove primjene, važno je naglasiti da je *G. mellonella* ekonomski isplativa za uzgoj, jednostavna za korištenje i nije ograničena etičkim regulativama, što čini ovu vrstu kukca atraktivnim izborom za mnoge znanstvenike (Ménard i sur., 2021.).

Veliki voskov moljac koristi se za razumijevanje mehanizama virulencije lijekova za ljude, razvoj dijagnostike, prethodnih tretmana i terapija za bolesti. Često se primjenjuje u svrhu testiranja antifungalnih spojeva i proučavanje patogeneze i imunološkog odgovora domaćina na infekcije, što može pružiti vrijedne informacije o mehanizmima djelovanja potencijalnih terapijskih spojeva (Champion i sur., 2016.).

Kada je riječ o razvoju novih pesticida, *G. mellonella* se koristi za proučavanje interakcija između kukaca i patogena. Toksini iz entomopatogenih gljiva, nematoda i bakterija se proučavaju pomoću voskovog moljca kako bi se razumjeli njihovi mehanizmi djelovanja i potencijalna primjena u svrhu razvoja pesticida, primjerice *Candida albicans* i *Aspergillus fumigatus* (Champion i sur., 2016.; Ménard i sur., 2021.).

U toksikološkim istraživanjima, *G. mellonella* koristi se kao model za procjenu toksičnosti različitih kemikalija i procjenu njihovog utjecaja na okoliš. Ovo je posebno važno u kontekstu procjene rizika od izloženosti kemikalijama u okolišu i njihovog potencijalnog utjecaja na zdravlje ljudi i ekosustave (Mowlds i sur., 2010.). Također, koristi se za procjenu učinka prirodnih ili umjetno proizvedenih kemikalija. Istraživanja su pokazala da kvaliteta kukca domaćina može

utjecati na učinkovitost entomopatogena, poput entomopatogenih nematoda (EPN) proizvedenih *in vivo*.

Veliki voskov moljac koristi se kao model za uzgoj korisnih organizama, poput parazitoidnih kukaca i entomopatogenih nematoda i gljiva (Mowlds i sur., 2010.).

2.2. Štetnost velikog voskovog moljca (*Galleria mellonella* L.) u pčelarstvu

Među različitim skupinama štetnika i nametnika koji mogu ugroziti pčelinje košnice se ističu mali voskov moljac (*Achroia grisella*, Fabricius) i veliki voskov moljac (*G. mellonella* L.). Njihove se ličinke hrane saćem, voskom i medom, brzo uništavaju košnice te uzrokuju velike gubitke u pčelarskoj industriji (Burges, 1978.). Veliki voskov moljac je posebno problematičan u proljetnim i ljetnim mjesecima. U prirodnim uvjetima, ličinke se hrane saćem, koje sadrži značajnu količinu pčelinjeg voska, nešto meda, odbačene kože pčelinjih ličinki i ostatke peludi. Iz takve hrane dobivaju veliku količinu energije, ali relativno malo proteina (Kwadha i sur., 2017.). Sadržaj proteina utječe na brzinu razvoja ličinki. Njihov rast je brz na starom saću, koje sadrži pčelinje ličinke i pelud, ali vrlo spor na bijelom ili novom saću.

Veliki voskov moljac napada saće izvan košnice, ali se može pronaći i unutar napuštenih košnica ili košnica u kojima je pčelinja zajednica oslabljena npr. od bolesti. Osim praznog saća napada i saće s medom, a miris pčelinjeg voska detektiraju s velikih udaljenosti uz pomoć ticala (Wojda i sur., 2020.). U košnicama i na uskladištenom vosku veliki voskov moljac polaže jaja, a ličinke se u procesu ishrane kreću kroz saće, praveći tunele i uništavajući tako strukturu saća, ličinke medonosnih pčela i njihove zalihe meda. Specifičan smjer kretanja (prema saću) je vrlo vjerojatno stimularan kemijski, što su potvrdili Nielsen i Brister (1979.), koji su shvatili da se ličinke velikog voskovog moljca uvijek vraćaju prema izvoru hrane nakon što su prethodno izolirane iz saća. Ova pojava se naziva galerioza i karakteristična je posljedica napada velikog voskovog moljca u košnici (Wojda i sur., 2020.). Nakon što napadnu košnicu, ličinke nakon uništavanja saća na jednom okviru prelaze na drugi, bušeći hodnike čak i u drvenim okvirima košnica.

2.3. Biologija velikog voskovog moljca (*Galleria mellonella* L.)

Galleria mellonella pripada redu Lepidoptera – leptiri, porodici Pyralidae – plamenci. Spada u kukce s potpunom preobrazbom, tj. prolazi kroz sve četiri faze razvoja, od jajeta, preko ličinke i kukuljice do stadija imaga (Wojda i sur., 2020.).

2.3.1. Jaja

Oplođena ženka leptira može položiti mnogo jaja, najčešće u skupinama na tamnim i mračnim mjestima. Kad su u pitanju slabe pčelinje zajednice ili saće izvan košnice, takva mjesta mogu biti npr. podnice ili zidovi košnice, dijelovi dotrajalog saća. Jaja su slijepljena zajedno te se u prosjeku jajna skupina sastoji od 50 do 150 jaja (Kwadha i sur., 2017.), a moguće je i znatno više od 175 do 355 jaja u nekim slučajevima (Desai i sur., 2019.). Jaja su ovalna te su na početku mliječno bijele boje, dok kasnije poprimaju blijedoružičastu boju. Mrežasta su i gruba jer su sastavljena od međusobno povezanih poligona. Mogu biti dugačka od 0,44 do 0,47 mm, a širina se kreće u rasponu od 0,29 do 0,39 mm (Wojda i sur., 2020.). Jaja voskovog moljca su vrlo otporna. Ako ženka snese jaja u jesen, ona mogu preživjeti zimu i s toplijim vremenom će se nastaviti razvijati. To je jedan od razloga radi čega se suzbijanje voskovog moljca odvija tijekom toplih mjeseci.

2.3.2. Ličinka

Ličinke su polipodne gusjenice. Sastoje od glave, prsišta te zadka od 11 članaka. U prvom stadiju ličinka je blijede boje, nema pigment, tanka je i vrlo kratka. Glava je tamno obojena i hitinizirana. U drugom stadiju postaje bijelosiva. Ličinke u trećem stadiju postaju masivnije (Desai i sur., 2019.). Na glavi imaju kratka ticala, usni ustroj za grizenje i četiri međusobno odvojena, jednostavna i okrugla oka (*ocelli*). Na prsištu imaju tri para nogu, dok je iza prsišta zadak koji nije skroz odvojen od prednjeg dijela. Na zadku postoje izrasline koje nisu noge, no ličinke ih koriste za kretanje. Optimalna temperatura za razvoj ličinki voskovog moljca je od 29 do 33 °C (Wojda i sur., 2020.).

Najčešće se broj stadija u razvoju ličinke kreće u rasponu od pet do deset. Najmanje pet stadija ličinke u razvoju kukca zabilježili su Fasasi i Malaka (2006.), koji objašnjavaju kako je ovaj prilično neobičan rezultat povezan s vrstom hrane i drugim uvjetima njihovog uzgojnog programa,

koji je zahtjevao brz razvoj i time manji broj presvlačenja. U stadiju ličinke nije moguće razlikovati mušku i žensku jedinku zbog nedostatka vanjskih specifičnih značajki (Wojda i sur., 2020.).

Imaju izrazito razvijena osjetila koja im omogućuju pronalazak pčelinjeg voska, a pritom uništavaju med i košnice (Kumar i Khan, 2020.). Ako se ličinke razvijaju brzo, u samo tjedan dana može biti uništena čitava košnica. Nasuprot tomu, ako dođe do nedostatka hrane, javlja se kanibalizam, odnosno ličinke voskovog moljca hrane se međusobno (Hamida, 1997.).

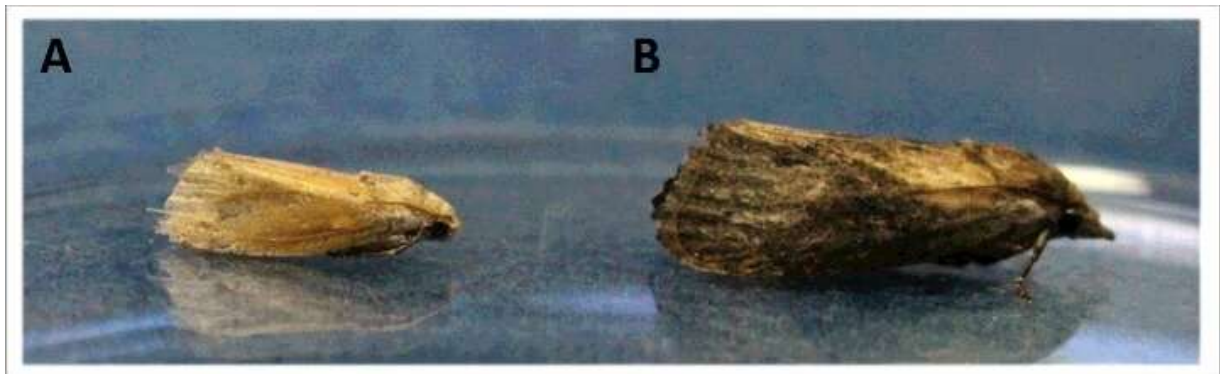
2.3.3. Kukuljica

Kad se ličinke prestanu hraniti, njihov razvoj je završen te počinje kukuljenje. Tad počinju presti svilenu kukuljicu koju pričvršćuju za površinu, što u prosjeku traje oko dva dana (Wojda i sur., 2020.). Kukuljica izvana ubrzo postane tvrda, dok iznutra ostaje mekana te se u prednjem dijelu stvara izlaz. Nakon što je kukuljica stvorena, blago smežurana ličinka postaje neaktivna. Taj kratkotrajni stadij naziva se predkukuljenje (Wojda i sur., 2020.).

2.3.4. Odrasli stadij (imago)

Odrasle velike voskove moljce karakterizira široko tijelo crvenkastosmeđe boje, s pjegavim prednjim krilima i blijedokrem nijansom na stražnjim krilima koja su ukrašena blagim resama. Veličina tijela oko 15 mm, raspon krila može doseći do 31 mm. Ženke su veće i teže od mužjaka. Kod ženki, vanjski rub prednjeg krila je gladak, dok se kod mužjaka nalazi polukružni urez (Kumar i Khan, 2018.) (slika 1).

Leptiri su blijedosmeđi, veliki i žive otprilike dva do šest tjedana, ovisno o vremenskim uvjetima (Burges, 1978.). Na razmnožavanje i razvoj kukca utječu ekološki uvjeti (Wojda i sur., 2020.). Konkretno, čimbenici koji utječu na razvoj i metamorfozu su temperatura, relativna vlažnost zraka i prehrana. Aktivnost započinje u ožujku, s dolaskom prvih toplijih dana, dosežući vrhunac u kolovozu. Međutim, aktivnost se smanjuje kako temperature padaju i potpuno prestaje kada se spuste ispod 10°C. Za razmnožavanje kukca idealni uvjeti su temperatura zraka od 30°C i relativna vlažnost zraka od približno 40 %. Čim se za to stvore uvjeti, jedinke traže partnera s kojim se pare, polažu jajašca i ubrzo ugibaju (Hosamani i sur., 2017.).



Slika 1. Odrasli stadij velikog voskovog moljca: Mužjak (lijevo) i ženka (desno)

Izvor: Jorjão i sur., 2018.

Postoje izražene morfološke razlike između mužjaka i ženki voskovog moljca (Slika 1). Mužjaci su svjetlije boje. Ženke su obično veće i teže. Životni vijek ženke je otprilike 12 dana, što je za desetak dana kraće u usporedbi s mužjacima. Nadalje, dok ženke imaju gotovo ravne distalne margine prednjeg krila, mužjake karakterizira nazubljena margina. Kod ženki je usni aparat usmjeren prema naprijed, zbog čega taj dio nalikuje kljunu. Nasuprot tomu, mužjaci imaju usni aparat oštro zakrivljen prema gore i unutra (Kwadha i sur., 2017.). S obzirom na atrofirane dijelove u usnom ustroju imaga ne mogu se hraniti (Charrière i Imdorf, 1999.), oba spola imaju filiformne antene koje se razlikuju po broju segmenata: 40 - 50 kod mužjaka i 50 - 60 kod ženki. Mužjaci imaju modificirane segmente od devetog do jedanaestog u obliku aedeagusa, ženke imaju leglicu.

2.4. Suzbijanje velikog voskovog moljca u pčelarstvu

Veliki voskov moljac može se suzbijati tehničkim, biološkim i kemijskim metodama. Međutim, metode se razlikuju po svojoj učinkovitosti uzimajući u obzir njihovo djelovanje na različite stadije voskovog moljca, te je upitna njihova sigurnost za ljude, životinje i okoliš. Većina kemijskih spojeva ostavlja toksične rezidualne tragove u medu i vosku. Biološka sredstva su sigurnija za ljude, ali ne pružaju zadovoljavajući stupanj zaštite od velikog voskovog moljca.

2.4.1. Kemijsko suzbijanje velikog voskovog moljca

Kemijska sredstva su jednostavna za upotrebu i vrlo su djelotvorna, zbog čega pronalaze široku primjenu u kontroli i suzbijanju velikog voskovog moljca. Elbehery i sur., 2016. navode fumigaciju sumporom, mravljom i octenom kiselinom te primjenu paradiklorbenzena kao česte kemijske metode suzbijanja štetnika u uskladištenoj pčelarskoj opremi. Navedenim spojevima se mogu dodati etilen bromid, kalcijev cijanid, metil bromid, fosfin, naftalen i ugljični dioksid.

Fumigacija sumporom, odnosno sumporovim dioksidom se provodi sagorijevanjem trakica sumpora ili se oslobađa kao plin iz posude pod tlakom. Sumpor se pali unutar posude koja se nalazi u hermetički zatvorenom prostoru. Za svakih 100 litara prostora košnice koristi se jedna traka sumpora. Ova metoda jedna je od najučinkovitijih u borbi protiv voskovog moljca, no potrebna su redovita ponavljanja. Moguće je da nakon fumigacije sumporom ostanu tragovi sumpora na vosku i medu.

Fosfin je vrlo toksični plin koji djeluje inhibirajući enzime uključene u stanično disanje. Kada se koristi za fumigaciju, primjenjuje se u zatvorenom prostoru, poput hermetički zatvorenog spremnika ili pčelinje zajednice, gdje može prodrijeti u sve dijelove strukture i suzbiti štetnike. Ima nekoliko prednosti u odnosu na druge fumigante za suzbijanje voskovih moljaca u pčelinjim zajednicama. Vrlo je učinkovit pri niskim koncentracijama, ima kratki životni vijek i ne ostavlja štetne ostatke u medu ili pčelinjem vosku (Elbehery i sur., 2016.). Istraživanjem u Španjolskoj (González i sur., 2013.) testirana je učinkovitost fosfina u fumigaciji s tri različite koncentracije protiv voskovog moljca. Utvrđena je minimalna potrebna koncentracija fosfina od 2,5 mg/L zraka za postizanje 100 % mortaliteta ličinki velikog voskovog moljca.

Fumiganti su vrlo učinkoviti – ciljaju i uništavaju sve životne faze moljaca, osim paradiklorbenzena (PDB) koji ne uništava jaja (Kwadha i sur., 2017.) Fumigacija je troškovno učinkovita metoda koja ne zahtijeva opsežno znanje o biologiji voskovog moljca. Međutim, navedeni fumiganti (osim ugljičnog dioksida) podrazumijevaju zdravstvene rizike za ljude i ostavljaju tragove u medu. Poznati su po svojoj toksičnosti za populacije pčela, kontaminaciji meda i drugih pčelinjih proizvoda. Otrovnici su i za druge neciljne vrste te zbog toga nisu općeprihvaćeno sredstvo suzbijanja voskovog moljca (Charrière i Imdorf, 1999.).

Metil bromid je dokazano djelotvoran u svakoj etapi razvoja štetnika, ali je vrlo otrovan za ljude i druge sisavce (Tremblay, 1978.).

Octena kiselina je djelotvorno i ekološki prihvatljivo sredstvo za kontrolu voskovog moljca pri zaštiti uskladištenog saća, posebice zbog dezinfekcijskog učinka i tendencije uništavanja spora nozemoze.

Mabrouk i sur. (2009.) testirali su djelotvornost organskih kiselina (mravlja kiselina, octena kiselina), insekticida Phostoxin (aluminijev fosfid) te paradiklorbenzena. Phostoxin je trgovački naziv za proizvod koji sadrži aluminijev fosfid (57 %). Radi se o tabletama za fumigaciju i suzbijanje skladišnih kukaca. Kada se aluminijev fosfid izloži vlažnosti i zraku, oslobađa fosfin (PH_3), otrovni plin koji je smrtonosan za štetnike poput kukaca, glodavaca i drugih organizama koji se mogu naći u žitaricama, suhom voću i drugim uskladištenim proizvodima. Vrlo je opasan za ljude zbog visoke toksičnosti i izostanka karakterističnih znakova trovanja (Šovljanski i sur., 1969.). Paradiklorbenzen (PDB u kristalnoj formi) je kemijsko rješenje koje se često koristi u tretiranju voskovog moljca zbog visoke razine mortaliteta koja se postiže primjenom.

Mortalitet ličinki nakon tretiranja PBD-om je bio prosječno 99,33 %. Manji dio ličinki (10 % kod PBD-a, 0,66 % kod aluminijevog fosfida) je ostao živ i nakon 45 dana (Mabrouk i sur., 2009.) S druge strane, radi se o zapaljivoj tvari koja može biti opasna za ljude te se zato ograničava upotreba ove kemikalije. Pri korištenju kemijskih sredstava potrebno je košnice ostaviti na zraku nekoliko dana, posebice ako se planiraju višestruke pčelinje zajednice. Košnice koje su tretirane PDB-om, a nisu prozračene mogu značajno oštetiti koloniju odnosno može doći do izumiranja pčela (Mabrouk i sur., 2009.).

Zbog štetnosti kemijskih pesticida proizlazi potreba za razvojem učinkovitih alata za suzbijanje voskovog moljca, koji pružaju dugoročno održivu zaštitu bez negativnih učinaka za zdravlje ljudi, životinja i biljki. Zato se sve češće koriste alternativna sredstva kao što su spinosini – skupina naturalita čija se aktivna tvar izolira iz bakterije *Saccharopolyspora spinosa*. Spinosad je insekticid biološkog podrijetla iz skupine spinosina koji se često koristi za suzbijanje velikog voskovog moljca zbog aktivnosti u svim stadijima razvoja kukaca. Međutim, jaja je potrebno direktno tretirati, dok ličinke i odrasli dolaze u kontakt preko otrovnog voska (Mabrouk i sur., 2009.). Za sisavce ne predstavlja opasnost, tj. ne pokazuje „kancerogeno, teratogeno, mutageno ili

neurotoksično djelovanje na sisavcima ni pri najvećim testiranim dozama” (Čačija i sur., 2018.). Međutim, spinosini, uključujući Spinosad, otrovni su za pčele (Scott-Dupree i sur., 2009.).

Botanički insekticidi su prirodni insekticidi dobiveni iz biljaka koji se koriste u suzbijanju štetnika. Ekološki su prihvatljivi jer su proizvedeni iz biljaka poput češnjaka, paprike, lavande, nima i dr. Sigurni su za okoliš i ljude, a rezidualni efekti su minimalni. Glavni nedostatak je njihovo sporo djelovanje (Elbehery i sur., 2016.). El-Wahab i Dimetry (2016.) ispitali su djelotvornost botaničkog insekticida NeemAzal-T/S protiv velikog voskovog moljca. Aktivna tvar je azadiraktin, koji ometa funkcionalnost hormonskog sustava. Kukci gube volju za hranjenjem, parenjem i letenjem. Populacija se postupno smanjuje i tako se prekida životni ciklus. Voskov moljac se prestaje hraniti odmah nakon apsorpcije, što uzrokuje daljnje štete organizmu.

Elbehery i sur. (2016.) su također koristili NeemAzal-T/S za suzbijanje ličinki voskovog moljca u košnici, u koncentracijama 0,5, 1, 2 i 4 %. U prva dva tjedna je tretman pri koncentraciji od 4 % uzrokovao 100 % mortaliteta. Zaključeno je kako navedeni botanički insekticid uspješno suzbija voskovog moljca u uskladištenim košnicama i saću.

Shashidhar i Basalingpappa (2000.) također su primjenom nimovog ekstrakta u raznim koncentracijama dobili slične rezultate. Mortalitet ličinki rastao je s povećanjem koncentracije, od 55,33 % do 92,23 %.

Bitno je napomenuti kako nisu svi oblici nimovog ekstrakta jednako djelotvorni. Ulje u spreju utječe na smanjenje štete voskovog moljca u košnici, dok prah s ekstraktom nimovog lista daje najniže stope mortaliteta kod voskovog moljca (Vishwas i Gowda, 2006., Yadav i sur., 2012.).

Telles i sur. (2019.) ispitivali su učinkovitost četiri prirodna proizvoda - nimovo ulje, eukaliptusovo ulje, ekstrakt duhana i ekstrakt malagueta papra. Ispostavilo se da nimova i eukaliptusova ulja uzrokuju mortalitet voskovih moljaca čak i pri niskim koncentracijama, ali ne utječu na rast pčela, ali ovisno o koncentraciji mogu biti toksični za pčele. Ekstrakti duhana i papra pokazali su se učinkovitima u suzbijanju, bez ometanja rasta i razvoja pčela te bez uzrokovanja mortaliteta odraslih pčela.

2.4.2. Biološko suzbijanje velikog voskovog moljca

Biološko suzbijanje kukaca je metoda suzbijanja populacije kukaca korištenjem prirodnih neprijatelja, poput predatora, parazita ili patogena. Ova metoda može se koristiti u ekološkim sustavima proizvodnje. Entomopatogeni, poput nematoda, gljiva, virusa i bakterija, koriste se za suzbijanje štetnih kukaca (Laznik i sur., 2023.).

Neke vrste entomopatogenih mikroorganizama oslobađaju toksine nakon što prodru u tijelo kukca (Jelić, 2021.; Majić i sur., 2020.). Bakterija *Bacillus thuringiensis* (Bt) djeluje na taj način. Njezini metaboliti su otrovi koji postaju aktivni u probavnom traktu štetnika. Točnije, proteini iz metabolita koje izlučuje ova bakterija (deltaendotoksini) djeluju kao insekticidi. Šteta nastaje u crijevima kukaca te se njihov sadržaj izlijeva u tjelesnu šupljinu, što u konačnici uzrokuje smrt kukca. Bakterija *B. thuringiensis* prisutna je na tržištu najčešće kao soj biološkog insekticida B - 401, koji je posebno djelotvoran u suzbijanju voskovog moljca u uskladištenom saću (Hood, 2010.). Na tržištu je prisutan proizvod Certan koji sadrži soj B - 401 ili B - 402 ove bakterije (https://www.vita-europe.com/beehealth/products/b401_b402/). Odrasli voskovi moljci ne hrane se i stoga se ne mogu suzbijati ovim proizvodom. Bakterija *B. thuringiensis* nije štetna za kralježnjake i pčele te ne ostavlja ostatke u vosku ili medu (Charrière i Imdorf, 1999.).

Mabrouk i sur. (2009.) testirali su biološki insekticid Agerin, koji sadrži Bt. Rezultati su pokazali da je Agerin bio učinkovit u smanjenju broja gusjenica moljca u tretiranim košnicama i poboljšao kvalitetu saća i meda. Tretman je rezultirao mortalitetom voskovog moljca od 74,33 %. Mabrouk i sur. (2009.) dokazuju kako, u odnosu na ostala sredstva, Agerin i Spinosad daju najbolje rezultate suzbijanja velikog voskovog moljca u laboratorijskim uvjetima, uz napomenu da je Spinosad djelotvorniji nego Agerin, budući da je u jednakim uvjetima ostvarena veći mortalitet (79,67 %).

Međutim, postoje istraživanja koja ukazuju na to da *B. thuringiensis* ne predstavlja dugoročno održivo rješenje. Dubovskiy i sur. (2016.) istražili su insekticidnu aktivnost bakterije i otkrili da populacija ličinki voskovog moljca brzo razvija otpornost.

Osim entomopatogenih bakterija, *Beauveria bassiana* je entomopatogena gljiva, a *Baculoviridae* virus koji se vrlo često koriste u proizvodnji bioloških insekticida. Nisu otrovni za toplokrvne životinje i ljude te ne predstavljaju opasnost za pčele. Jalile i Kareem (2012.) ispitali su učinkovitost entomopatogenih mikroorganizama na mortalitet voskovog moljca i dokazali su

visoku učinkovitost *B. bassiana*, uz napomenu da intenzitet djelovanja vrlo brzo opada. To upućuje na razvoj otpornosti voskovog moljca na *B. bassiana* i potencijalnu neučinkovitost primjene mikoinsekticida protiv moljca. Autori Dubovskiy i sur. (2013.) ističu da se radi o atipičnom slučaju jer se tako brz razvoj otpornosti rijetko događa, što znači da se voskov moljac možda ne adaptira tako brzo na druge biološke insekticide.

2.4.3. Fizikalne mjere suzbijanja velikog voskovog moljca

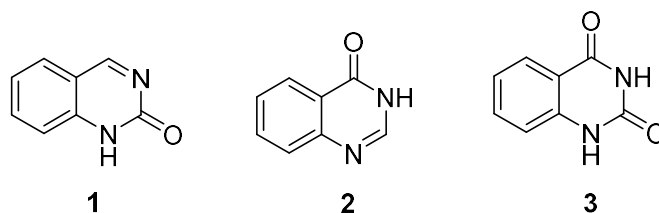
Prekid razvojnog ciklusa velikog voskovog moljca može se postići izlaganjem pčelarske opreme i saća temperaturama iznad (tehnika zagrijavanja) ili ispod (tehnika zamrzavanja) tolerancijskog raspona voskovog moljca. Ove tehnike su povoljne jer rast i razvoj voskovog moljca ovise o okolišnim čimbenicima poput temperature (Gulati i Kaushik, 2004.).

Toplina se može koristiti za ubijanje svih stadija korištenjem sljedećih vremenskih intervala izloženosti: 46 °C tijekom 80 minuta; 49 °C tijekom 40 minuta. Periodi izloženosti tretmanu ne bi trebali započeti prije nego što se postignu određene temperature. Svako izlaganje iznad tih temperatura će uzrokovati deformiranje saća. Pčelinji vosak će se otopiti pri temperaturi višoj od 64 °C (Hood, 2010.). Veliki proizvođači meda najčešće izoliraju saće od košnica, te ih složene izlažu visokim temperaturama od otprilike 45 - 80 °C na 1 - 4 sata. Manji proizvođači meda najčešće drže saće u vrućoj vodi na 3 - 5 sati (Kwadha i sur., 2017.). Okviri saća trebaju se tretirati toplinom samo u uspravnom položaju i ne bi ih trebalo pomicati sve dok se ne ohlade. Toplinski tretman treba koristiti samo za saće koje sadrži malo ili nimalo meda (Shimanuki i Knox, 1997.).

Zaraženo saće se može izložiti hladnim sobama ili hladnjacima poput kućnih zamrzivača postavljenih na -7 °C do -15 °C u trajanju od 2 - 4,5 sata (Gulati i Kaushik, 2004.). Odnosno, minimalno vrijeme držanja na niskim temperaturama koje će ubiti sve stadije života voskovog moljca u ekstrahiranom saću je 4,5 sata pri temperaturi od -7 °C, odnosno 3 sata na -12 °C i dva sata na -15 °C (Hood, 2010.). Zamrzavanje pojedinačnih okvira koji sadrže gusjenice voskovog moljca iz živih pčelinjih zajednica preporučuje se za suzbijanje ovog štetnika, no tad se rijetko uspiju spasiti pčelinje kolonije (Hood, 2010.).

2.5. Biološka aktivnost kinazolinona

Kinazolinoni su heterociklički dušični spojevi građeni od benzenske jezgre. U osnovi ih je moguće podijeliti na 2-supstituirane kinazolinone, 3-supstituirane kinazolinone, 2,4-supstituirane kinazolinone i derivate kinazolinona (Komar, 2022.).



Slika 2. Strukture 2-supstituiranih kinazolinone (1), 3-supstituiranih kinazolinone (2), 2,4-supstituiranih kinazolinona (3).

Zbog svoje rasprostranjenosti u prirodi (najčešće u biljkama i mikroorganizmima) te zanimljive, raznolike strukture koja omogućuje uvođenje različitih supstituta i funkcionalnih skupina, kinazolinoni se istražuju više od sto godina. Prva istraživanja su bila usmjerena boljem razumijevanju mehanizama prirodnih i životnih procesa. Farmakološka svojstva su otkrivena 1948. godine, kad je iz biljke *Dichoa febrifuga* izoliran febrifugin, kod kojeg su uočena antimalarijska svojstva (Komar, 2022.). Metakvalon, raltitreksed (antimetabolit), metolazon (djelotvoran protiv hipertenzije) su neki od prvih komercijalnih lijekova na bazi kinazolinona. Danas su derivati kinazolinona temelj mnogih biološki aktivnih spojeva, sintetskih spojeva, agrokemikalija, veterinarskih pripravaka i sl. zahvaljujući antibakterijskim, antitumorskim, antikonvulzivnim, protuupalnim, antifungalnim, antihistaminskim i drugim pozitivnim učincima (Elshahawi i sur., 2015.; Rastija i sur., 2023.). Pojedini derivati, poput fumikinazolina, pronađenog u probavnom sustavu ribe *Pseudolabrus japonicus*, te luotonina, izoliranog iz biljke *Peganum nigellastrum* Bunge, pokazuju citotoksičnost za stanice leukemije (Komar, 2022.). Posebno su djelotvorni protiv fungalnih patogena, ali se njihovo potencijalno pozitivno djelovanje očituje i u psihomotornom sustavu čovjeka (Elshahawi i sur., 2015.).

2.5.1. Supstituirani kinazolinoni

Razlikuju se četiri osnovne skupine - 2-supstituirani kinazolinoni, 3-supstituirani kinazolinoni, 2,4-supstituirani kinazolinoni i derivati kinazolinona (Komar, 2022.). Navedene skupine obuhvaćaju više od 157 različitih spojeva (He i sur., 2017.). Većina 2-supstituiranih kinazolinona dolazi od mikroorganizama, a rijetko od biljaka. Njihovi supstituenti se nalaze na C-2 i uključuju dugolančane alkile, metil, hidroksil, acetil, amino, indol i aromatske skupine.

2-supstituirani kinazolinoni pokazuju razna biološka svojstva. Primjerice, antifungalna aktivnost kinazolinona iz morske bakterije *Bacillus cereus* protiv *Candida albicans*; Bouchardatine, 2-supstituirani alkaloid iz *Bouchardatia neurococca* (Rutaceae), ima anti-kancerogene, protuupalne i anti-tuberkulozne učinke (Khalil i Habib, 1987.). Raltitrexed, sintetički 2-supstituirani kinazolinon, koristi se za liječenje naprednog raka debelog crijeva (Wani i sur., 2016.). Mikroorganizmi u morskom okolišu često su izvor aktivnih i karakterističnih sekundarnih metabolita koji nose brojne supstitucije na kinazolinonu. U slučaju 3-supstituiranih kinazolinona, ovi supstituenti se nalaze na C - 3, a spojevi uglavnom dolaze od *Aspergillus sp.* prikupljenih iz potopljenog trulog drva u morskim staništima. Fumikinazolin S, novi spoj iz klase fumikinazolin alkaloida, otkriven je u sojevima morskih gljiva *Scopulariopsis*, *Aspergillus* i *Acremonium* (He i sur., 2017.). 2,3-disupstituirani kinazolinoni karakteriziraju supstitucije na C - 2 i C - 3 i posjeduju razne spojene heterociklične skupine, kao što su pirol, indol, piridin, piperazin i diazepin. Pirokinazolinoni dobiveni iz *Adhatoda vasica*, *Peganum spp.* i *Phaius mishmensis*, imaju protuupalne, antibakterijsku i antidepresivnu aktivnost (Rao i sur., 2015.). Nasuprot tome, indolkinazolinon alkaloidi pokazuju antivirusnu aktivnost, a moguće ih je pronaći u orhideji *P. mishmensis*. Piridinkinazolinoni iz *Evodia rutaecarpa* uglavnom su analozi ruteakarpina i često se koriste u tradicionalnoj kineskoj medicini kao protuupalni lijek (He i sur., 2017.).

2.5.2. Derivati kinazolinona

Skupina derivata kinazolinona obuhvaća analoge nastale različitim supstitucijama na A i B prstenu. Među ovim spojevima, 3-supstituirani derivati kinazolinona su supstituirani s heterocikličnim prstenom koji sadrži dušik, poput tetrazolila. S druge strane, 2,3-disupstituirani derivati kinazolinona su supstituirani s različitim konstituentima, uključujući alkil, furan-2-il,

halogen, amid i aren derivati. Među ovim supstitucijama, furan-2-il je najčešća modifikacija koja pojačava bioaktivnost. Moguće je daljnjim modifikacijama ojačati potencijal i smanjiti nuspojave nekih derivata.

Autori He i sur. (2017.) otkrili su da kinazolinon može inhibirati apsorpcija kolesterola i aktivnost intestinalne acil koenzim A-kolesterol aciltransferaze (ACAT). Ovo bi potencijalno moglo smanjiti razine kolesterola u plazmi blokiranjem apsorpcije kolesterola iz prehrane i smanjenjem hepatičke sinteze lipoproteina vrlo niske gustoće (VLDL). Osim toga, kinazolinon bi mogao igrati ulogu u borbi protiv malarije, jedne od najčešćih zaraznih bolesti u mnogim tropskim i suptropskim regijama. Iako postoje brojni lijekovi dostupni za liječenje malarije, brzi razvoj otpornosti na lijekove ostaje ozbiljan problem. Kinazolinon može pokazati protuupalna svojstva inhibirajući ciklooksigenazu (COX), enzim koji igra ključnu ulogu u proizvodnji prostanoida poput prostaglandina i tromboksana. Također može inhibirati 5-lipoksigenazu (5-LO), enzim koji igra ključnu ulogu u biosintezi leukotriena, još jedne klase potentnih lipidnih medijatora upale (He i sur., 2017.).

Ova otkrića sugeriraju potencijalnu ulogu kinazolinona u liječenju različitih bolesti, uključujući kardiovaskularne bolesti, malariju i upalne bolesti. Međutim, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se bolje razumjeli mehanizmi djelovanja kinazolinona i njegove potencijalne terapijske primjene.

2.5.3. Insekticidna aktivnost derivata kinazolinona

Strukturna raznolikost kinazolinona implicira mogućnost supstitucije i modifikacije radi potencijalnog jačanja bioaktivnog djelovanja i/ili smanjenja eventualnih štetnih učinaka. Još su 1996. godine otkrivena potentna insekticidna i akaricidna svojstva 4-supstituiranih kinazolina (Latli i sur., 1996.). Za potrebe istraživanja, sintetizirani su i testirani mnogi novi derivati. Istraživači Elshashawi i sur. (2015.) su sintezom novog derivata benzoksazin-4-ona te uvođenjem različitih dušičnih nukleofila (amini, sekundarni amini, diamini, hidrazini, hidrati i hidroksilamini) producirali novu seriju derivata s ciljem istraživanja njihove insekticidne aktivnosti. Rezultati su pokazali da mortalitet kukaca raste s povećanjem koncentracije za većinu testiranih spojeva. Konkretno, za testirani derivat označen brojem 8, mortalitet pri koncentraciji od 100 ppm iznosio je 40 %, dok je pri koncentraciji od 800 ppm postignut potpuni mortalitet od 100 %. Vrijednost

LC₅₀, koja označava koncentraciju pri kojoj je postignut 50 % mortaliteta, za ovaj derivat iznosila je 147,895 ppm. Ovi podaci ukazuju na to da su neki od sintetiziranih derivata kinazolinona pokazali značajnu insekticidnu aktivnost, posebno pri višim koncentracijama, što sugerira njihov potencijal u suzbijanju štetnih kukaca, poput *Spodoptera littoralis*.

Istraživači Singh i sur. (2006.) testirali su insekticidno djelovanje kinazolinona na žohara *Periplaneta americana*. Deset derivata kinazolinona testirano je također u usporedbi sa standardnim organofosfatnim insekticidom i akaricidom Parationom, koji je primijenjen u koncentraciji 5 g/L. Devet spojeva pokazalo je insekticidna svojstva, a spoj kojem je u istraživanju dodijeljen broj 14 se pokazao najpotentnijim, zbog čega je dalje istražen pri koncentracijama 10 g/L i 20 g/L. Singh i sur. (2006.) zaključili su da nijedan spoj istovremeno ne pokazuje antibakterijske i antifungalne karakteristike. Međutim, svih deset derivata pokazala su insekticidni potencijal. Tri spoja su pokazala izražen antibakterijski učinak u odnosu na ostale derivate, koji nije bio ništa veći u usporedbi sa standardnim antibakterijskim sredstvima. Četiri spoja su pokazala veći insekticidni potencijal u usporedbi s parationom, ali je spoj br. 14 pri svim testiranim koncentracijama pokazao veću djelotvornost i antibakterijski efekt. Autori objašnjavaju kako su bolja i jača insekticidna svojstva uzrokovana supstitucijom naptalena – s beta na alfa poziciju (Singh i sur., 2006.). Wu i sur. (2014.) sintetizirali su 6,8 diklor-kinazolinone iz grupe sulfata te su testirali insekticidnu aktivnost na kupusnom moljcu *Plutella xylostella*. Zaključili su kako novosintetizirani spojevi pokazuju insekticidna svojstva, uzrokujući mortalitet u prosjeku najviše od 75 do 85 % ovisno o spoju. Yang i sur. (2020.) istraživali su spojeve nastale iz 5 amino-1H-fenilpirazola i dialkil bromomalonata te su dobili 27 novih derivata kinazolinona. Insekticidna aktivnost je potvrđena u odnosu na kupusnom moljcu *P. xylostella*, jesenskoj sovici *Spodoptera frugiperda* i vatrenih mrava *Solenopsis invicta*. Tri nova derivata su se pokazala iznimno aktivnima protiv *P. xylostella*, a istraživači uspoređuju intenzitet njihove učinkovitosti s kemijskim insekticidom indoksikarb, koji napada živčani sustav kukca te širom svijeta se široko primjenjuje u poljoprivrednoj proizvodnji. Dodatno, dva su spoja bila vrlo učinkovita protiv *S. frugiperda*, rezultirajući mortalitetom većim od 70 %, a što se pokazalo boljim od fipronila koji se pretežno koristi u tu svrhu te uzrokuje mortalitet od 68,44 %. Konačno, otkriven je spoj koji, uz odgodu od pet dana, uzrokuje mortalitet od 95,66 % protiv *S. invicta*. Yang i sur. (2020.) zaključili su kako se tri novosintetizirana derivata mogu smatrati potencijalnim inovativnim insekticidima u odnosu na *P. xylostella*, dok se nekolicina novih derivata može smatrati potencijalnim insekticidima i/ili

antacidima.

Prema istraživanjima Lahm i sur. (2005.) reakcija primarnih aromatičnih amina s benzoksazinonom rezultirala je stvaranjem kinazolinona. Testirani derivati kinazolinona pokazali su se kao novi, učinkoviti insekticidi na bazi antrahil diamida. Djelotvorni su čak i protiv kukaca koji su razvili otpornost na kemijske insekticide. Mehanizam djelovanja antrahil diamida temelji se na njihovoj sposobnosti da se selektivno vežu na receptore rijanodina u mišićima kukca. Ova veza rezultira nekontroliranim lučenjem uskladištenog kalcija iz sarkoplazmatskog retikuluma, što dovodi do slabljenja sposobnosti regulacije mišićnih kontrakcija kukca. Kao rezultat, kukac se prestaje hraniti, postaje slab, paraliziran i na kraju umire.

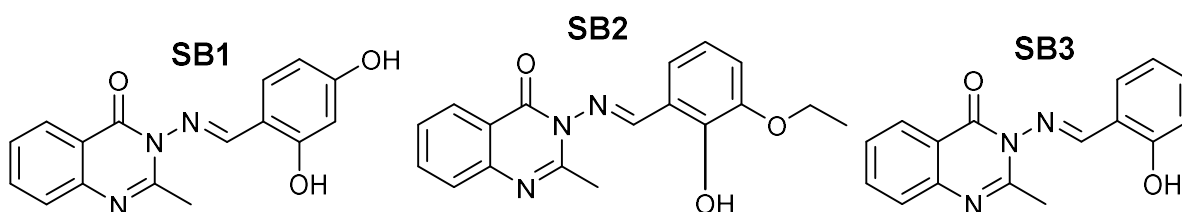
3. MATERIJALI I METODE

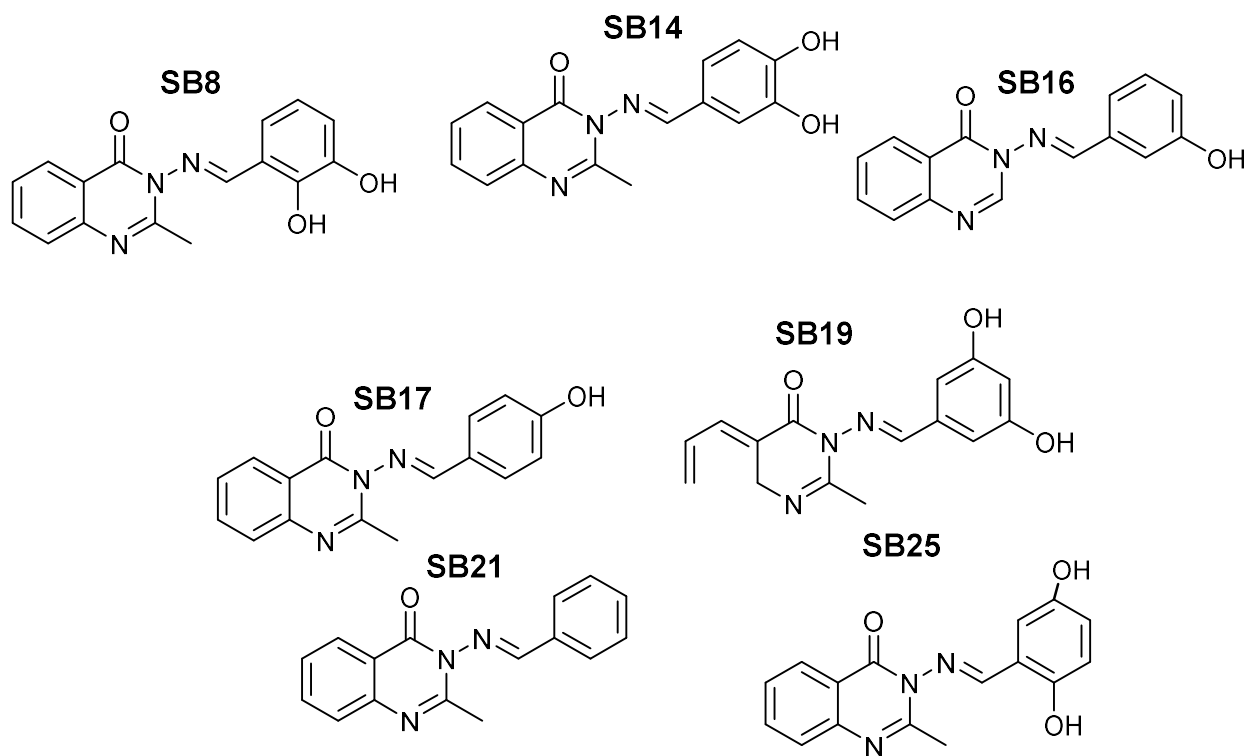
Na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti u Osijeku u laboratorijskim uvjetima uzgojen je veliki voskov moljac *G. mellonella* L. (Slika 3). Za pokus je korišten zadnji stadij gusjenice voskovog moljca. Gusjenica velikog voskovog moljca prolazi kroz šest do sedam stadija razvoja prije nego što se preobrazi u kukuljicu, a zatim u odraslog moljca. Trajanje svakog stadija ovisi o uvjetima okoliša, poput temperature i dostupnosti hrane.



Slika 3. Izdvajanje zadnjeg stadija gusjenica velikog voskovog moljca za pokus (Foto: Dora Majer, 2022.)

U laboratorijskim uvjetima na Prehrambeno tehnološkom fakultetu Sveučilišta u Osijeku sintetizirano je deset novih kemijskih spojeva – derivata kinazolinona na Schiff bazama – SB1, SB2, SB3, SB8, SB14, SB16, SB17, SB19, SB21 i SB25 (Komar, 2022.).





Slika 4. Kemijske strukture ispitivanih spojeva

Deset novosintetiziranih derivata kinazolinona na Schiff bazama testirano je u kontroliranim uvjetima kako bi se procijenila njihova biološka aktivnost na velikog voskovog moljca.

Ukupno je pripremljeno 33 petrijeve zdjelice u koje je dodano po 10 gusjenica. Gusjenice su smještene u kartonsku kutiju kako bi se držale u mraku, odnosno u što sličnijim uvjetima kao što su u košnici (slika 4). Prethodno pripremljena hrana za gusjenice miješana je s kemijskim spojevima: 3 mg spoja dodano je u 30 g hrane, ukupne koncentracije 100 ppm (100 mg/kg) odnosno 10 g tretirane hrane po ponavljanju (Petrijevoj zdjelici) i 30 g netretirane hrane za kontrolu, odnosno 10 g po ponavljanju.

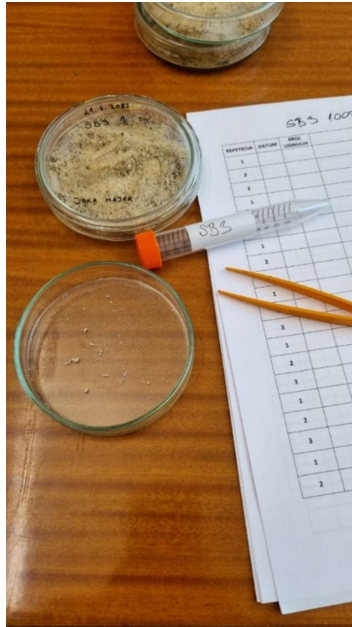
Gusjenice su ostavljene bez hrane 24 h, nakon proteka tog vremena izgladnjivanja, postavljena je hrana koja je tretirana s kemijskim spojevima u zdjelice. Pokus je proveden na ukupno 330 gusjenica velikog voskovog moljca. U kontrolnom tretmanu, gusjenice su hranjene s netretiranom hranom.



Slika 5. Vaganje i miješanje prethodno pripremljene hrane s derivatima kinazolinona (Foto: Dora Majer, 2022.)



Slika 6. Postavljanje biološkog oralnog testa ispitivanja aktivnosti derivata kinazolinona (Foto: Dora Majer, 2022)



Slika 7. Materijali korišteni za praćenje biološke aktivnosti derivata kinazolinona na gusjenicama voskovog moljca (Foto: Dora Majer, 2022.)

Rezultati pokusa praćeni su i mjereni u sljedećim vremenskim intervalima: 24 h nakon tretiranja, 48 h nakon tretiranja, 72 h nakon tretiranja i 240 h nakon tretiranja.

Praćene su i bilježene (Slika 7) promjene u ponašanju, aktivnosti te fizičke promjene na tijelu, razvoj kukca te mortalitet.

Kako bi se utvrdio utjecaj derivata kinazolinona na biologiju kukca, ocjenila se promjena u ponašanju kukaca ili morfološke promjene, pri čemu je zabilježeno:

- sposobnost okreta gusjenice – pri svakom mjerenju svaka gusjenica je okrenuta na dorzalnu stranu te je zabilježena sposobnost gusjenice da se vrati u početni položaj (0 – gusjenica se okrenula u početni položaj, 1-gusjenica se nije okrenula u početni položaj)
- broj gusjenica sa simptomima patogenosti na kutikuli (promjena boje, deformacije i lezije),
- pojava kukuljica
- pojava leptira.

4. REZULTATI

U tablicama su prikazani rezultati utjecaja derivata kinazolinona na ponašanje i razvoj gusjenica velikog voskovog moljca (*Galleria mellonella* L.) u različitim vremenskim intervalima nakon tretmana.

U tablici 1 prikazani su podaci 24 h nakon tretmana gusjenica. Svih deset gusjenica, u svakom tretmanu se nakon 24 sata uspješno vratilo u početni položaj. Samo kod dva spoja (SB1 i SB14) i u kontroli nisu zabilježeni simptomi patogenosti. Nakon 24 h, spojevi SB17 i SB21 pokazali su izraženu biološku aktivnost na kukce s obzirom da je u ova dva spoja najmanje 16 % gusjenica imalo simptome patogenosti.

Tablica 1. Utjecaj derivata kinazolinona na ponašanje i razvoj gusjenica velikog voskovog moljca (*Galleria mellonella* L.) 24 h poslije tretmana

Spoj ¹	24 h poslije tretmana			
	Aktivnost okreta ²	Simptomi patogenosti ³	Kukuljica ⁴	Odrasli stadij kukca (leptir) ⁵
SB1	0	0	0	0
SB2	0	2	0	0
SB3	0	2	0	0
SB8	0	4	0	0
SB14	0	0	0	0
SB16	0	1	0	0
SB17	0	7	0	0
SB19	0	2	0	0
SB21	0	5	0	0
SB25	0	1	0	0
Kontrola	0	0	0	0

¹koncentracija spoja 100 mg/kg hrane za kukce; ² broj gusjenica koji se nije okrenuo u početni položaj, 1-gusjenica se nije okrenula u početni položaj; ³ broj gusjenica sa simptomima patogenosti na kutikuli ; ⁴ broj kukuljica; ⁵ broj leptira

Tablica 2 prikazuje rezultate utjecaja derivata kinazolinona na kukce 48 sati nakon tretmana. Pri ovom mjerenju su se već izdvojila tri spoja s izraženom biološkom aktivnošću, a to su SB17, SB19 i SB21. U tretmanima SB17 i SB19, spojevi su utjecali na pojavu simptoma patogenosti kod 30 % gusjenica, a spoj SB21 kod 23,33 % gusjenica. Prva pojava kukuljica zabilježena je u tretmanu spoja SB21.

Tablica 2. Utjecaj derivata kinazolinona na ponašanje i razvoj gusjenica velikog voskovog moljca (*Galleria mellonella* L.) 48 h poslije tretmana

Spoj ¹	48 h poslije tretmana			
	Aktivnost okreta ²	Simptomi patogenosti ³	Kukuljica ⁴	Odrasli stadij kukca (leptir) ⁵
SB1	0	1	0	0
SB2	0	3	0	0
SB3	0	2	0	0
SB8	1	3	0	0
SB14	0	0	0	0
SB16	0	2	0	0
SB17	0	9	0	0
SB19	0	9	0	0
SB21	0	7	1	0
SB25	0	3	0	0
Kontrola	1	1	0	0

¹koncentracija spoja 100 mg/kg hrane za kukce; ² broj gusjenica koji se nije okrenuo u početni položaj; ³ broj gusjenica sa simptomima patogenosti na kutikuli ; ⁴ broj kukuljica; ⁵ broj leptira

Tablica 3 prikazuje rezultate utjecaja derivata kinazolinona na kukce 72 sata nakon tretmana. U ovom mjerenju značajno je da je kod svih tretmana zabilježena pojava kukuljca, osim u kontroli. Što ukazuje da svi tretirani spojevi utječu na razvoj kukca, što je prvi put zabilježeno 72 h nakon tretmana. Na pojavu kukuljica najznačajnije je utjecao spoj SB3, gdje se zakukuljilo 60 % gusjenica, dok je najslabije utjecao SB16 gdje se zakukuljilo 3,44 % gusjenica (Slika 8). Na preostalim gusjenicama nisu uočeni simptomi patogenosti te su se sve vratile u početni položaj nakon testa okreta u tretmanu sa spojem SB3. Kod ovog mjerenja je značajno da u kontroli nisu zabilježene nikakve promjene u ponašanju, izgledu i razvoju gusjenica, dok je kod svih testiranih spojeva zabilježena biološka aktivnost.

Tablica 3. Utjecaj derivata kinazolinona na ponašanje i razvoj gusjenica velikog voskovog moljca (*Galleria mellonella* L.) 72 h poslije tretmana

Spoj ¹	72 h poslije tretmana			
	Aktivnost okreta	Simptomi patogenosti ³	Kukuljica ⁴	Odrasli stadij kukca (leptir) ⁵
SB1	0	1	5	0
SB2	0	1	9	0
SB3	0	0	18	0
SB8	0	5	15	0
SB14	0	0	12	0

SB16	0	1	1	0
SB17	0	7	15	0
SB19	0	2	16	0
SB21	0	5	13	0
SB25	0	0	12	0
Kontrola	0	0	0	0

¹koncentracija spoja 100 mg/kg hrane za kukce; ²broj gusjenica koji se nije okrenuo u početni položaj; ³ broj gusjenica sa simptomima patogenosti na kutikuli ; ⁴ broj kukuljica; ⁵ broj leptira



Slika 8. Kukuljice velikog voskovog moljca (Foto: Dora Majer, 2022.)

Tablica 4 prikazuje rezultate utjecaja derivata kinazolinona na kukce 240 sati nakon tretmana. U spoju SB17 utvrđen je najveći broj kukuljica (30). U tretmanu sa spojevima SB1, SB19, SB21 i SB25 utvrđeno je po 29 kukuljica, u spojevima SB2, SB8 i kontroli po 28 kukuljica, u spoju SB3 po 27 kukuljica i u spojevima SB14 i SB16 po 26 kukuljica. Pri ovom mjerenju vidljivo je da su i u kontroli gotovo sve gusjenice prešle u stadij kukuljice. Uspoređujući s drugim mjerenjima (vremenskim intervalima nakon tretmana), nije jasno vidljiva biološka aktivnost spojeva u odnosu na kontrolu pri ovom mjerenju. Nije zabilježena pojava leptira niti u jednom tretmanu.

Tablica 4. Utjecaj derivata kinazolinona na ponašanje i razvoj gusjenica velikog voskovog moljca (*Galleria mellonella* L.) 240 h poslije tretmana

Spoj ¹	240 h poslije tretmana			
	Aktivnost okreta ²	Simptomi patogenosti ³	Kukuljica ⁴	Odrasli stadij kukca (leptir) ⁵
SB1	0	0	29	0
SB2	0	0	28	0
SB3	0	0	27	0
SB8	0	0	28	0
SB14	0	0	26	0
SB16	0	0	26	0
SB17	0	0	30	0
SB19	0	0	29	0
SB21	0	0	29	0
SB25	0	0	29	0
Kontrola	1	1	28	0

¹koncentracija spoja 100 mg/kg hrane za kukce; ² broj gusjenica koji se nije okrenuo u početni položaj; ³ broj gusjenica sa simptomima patogenosti na kutikuli ; ⁴ broj kukuljica; ⁵ broj leptira

Tablica 5 prikazuje srednje vrijednosti mortaliteta gusjenica velikog voskovog moljca nakon tretmana s derivatima kinazolinona.

Svi testirani spojevi imali su slabu ili nikakvu insekticidnu aktivnost. U tretmanima sa spojevima SB3 i SB16 zabilježen je najveći mortalitet, koji je bio ispod 1 %, što je zanemarivo. U kontrolnom tretmanu je zabilježen sličan mortalitet, pa se može zaključiti da u promatranom vremenskom razdoblju koncentracija spojeva 100 mg/kg hrane za kukce uzrokuje promjene u ponašanju i razvoju gusjenica velikog voskovog moljca, ali nema insekticidni potencijal.

Tablica 5. Srednje vrijednosti mortaliteta gusjenica velikog voskovog moljca (*Galleria mellonella* L.) poslije tretmana s derivatima kinazolinona

Spoj ¹	Sati nakon tretmana				Ukupno
	24	48	72	240	
SB1	1	0	0	0	1
SB2	0	0	1	0	1
SB3	0	1	0	1	2
SB8	0	0	0	0	0
SB14	0	1	0	0	1

SB16	1	0	0	1	2
SB17	0	0	0	0	0
SB19	0	0	0	0	0
SB21	0	0	0	0	0
SB25	1	0	0	0	1
Kontrola	0	0	1	0	1

¹koncentracija spoja 100 mg/kg hrane za kukce; ² broj gusjenica koji se nije okrenuo u početni položaj; ³ broj gusjenica sa simptomima patogenosti na kutikuli ; ⁴ broj kukuljica; ⁵ broj leptira

5. RASPRAVA

U ovom istraživanju fokus je na utjecaju derivata kinazolinona na ponašanje i razvoj gusjenica velikog voskovog moljca (*Galleria mellonella* L.) u oralnom biološkom testu. Utvrđeno je da većina testiranih derivata kinazolinona na Schiff bazi ne uzrokuju mortalitet kod gusjenica niti utječu značajno na njihovo ponašanje. Međutim, nekoliko derivata je bilo biološki aktivno te su utjecali na patogenezu kod kukaca. Nakon 24 sata od tretmana, simptomi patogenosti bili su najizraženiji kod spojeva SB17 i SB21, dok je nakon 72 sata spoj SB3 imao najveći broj kukuljica.

Latli i sur. (1996.) prvi su utvrdili insekticidna svojstva kod 4-supstituiranih kinazolinona, dok su Elshashawi i sur. (2015.) pokazali da novi derivati uzrokuju povećani mortalitet kukaca s porastom koncentracije testiranih spojeva. Singh i sur. (2006.) otkrili su da neki derivati kinazolinona imaju veći insekticidni potencijal u usporedbi s konvencionalnim insekticidima poput parationa kod žohara (*Periplaneta americana*), dok su Wu i sur. (2014.) utvrdili visok mortalitet (75 - 85 %) kod kupusnog moljca (*Plutella xylostella*) uz primjenu 6,8-diklor-kinazolinona. Također, Yang i sur. (2020.) su identificirali derivate kinazolinona s insekticidnim djelovanjem na nekoliko vrsta kukaca, uključujući *P. xylostella* i *Spodoptera frugiperda*. Ove studije nisu u skladu s rezultatima istraživanja ovog diplomskog rada, jer je utvrđen zanemariv mortalitet. No, iako testirana koncentracija spojeva nije uzrokovala značajan mortalitet gusjenica, potrebna su dodatna istraživanja s većim koncentracijama spojeva.

Stadij kukuljenja kukaca započinje kada se smanji koncentracija juvenilnog hormona u zadnjoj fazi ličinke. Paralelno s tim, ekdison potiče razvoj iz ličinke u kukuljicu, te kukuljice u odrasli stadij. Ekdison i juvenilni hormon su ključni čimbenici u regulaciji procesa kao što su kukuljenje, metamorfoza, dijapauza i reprodukcija kod kukaca. Protorakalne žlijezde izlučuju ekdison, steroidni hormon ima ulogu u preobrazbi, presvlačenju, tvrdoći intehumenta i boji epiderme. Koncentracija ekdisona u krvnoj plazmi najviša je prije presvlačenja mladih razvojnih stadija, a djelatnost mu ovisi o količinskom odnosu prema juvenilnom hormonu.

Usporedbom s prethodnim studijama, potvrđuje se da kinazolinoni i slični spojevi mogu djelovati kao regulatori rasta i razvoja kukaca. Na primjer, istraživanja na drugim vrstama kukaca pokazala su slične promjene u kutikuli i ubrzanje metamorfoze pod utjecajem kinazolinona, što je također zabilježeno u ovom istraživanju kod gusjenica velikog voskovog moljca. Studije poput Zhang i sur. (2017.) pokazale su da kinazolinoni mogu inhibirati enzime odgovorne za sintezu hitina,

ključnog komponenta kutikule, što rezultira poremećajima u procesu presvlačenja. Moji rezultati u skladu su s ovim nalazima, posebno u pogledu ubrzanog formiranja kukuljica, čime se potvrđuje potencijal ovih spojeva kao regulatora rasta i razvoja kukaca.

Rezultati ovog istraživanja mogu se usporediti s radom Chen i sur. (2022.), koji su proučavali učinke derivata kinazolinona na razvoj ličinki svilca (*Bombyx mori*). Njihovo istraživanje pokazalo je da kinazolinoni mogu poremetiti hormonalnu ravnotežu kukaca, što je rezultiralo preuranjenim presvlačenjem i razvojem kukuljica, slično kao i u ovom istraživanju kod velikog voskovog moljca u tretmanima sa spojevima SB17, SB19 i SB21.

Također, Gupta i sur. (2018.) utvrdili su inhibiciju hitinske sinteze i deformacije u kutikuli pod utjecajem kinazolinona kod *Tribolium castaneum*, što je poremetilo razvojni procese ličinki. Prethodna istraživanja su dokazala slične promjene kod drugih vrsta kukaca, kao što je utvrđeno u kutikuli gusjenica velikog voskovog moljca u ovom istraživanju. Ovo ukazuje da kinazolinoni imaju širok spektar djelovanja na različite kukce, čime dodatno potvrđuju svoju potencijal kao regulatori rasta i razvoja kukaca.

6. ZAKLJUČAK

Testirani derivati kinazolinona na Schiff bazi nisu uzrokovali značajan mortalitet kod kukaca, niti su utjecali na njihovo ponašanje, ali su utjecali na razvoj kukca. Ličinke velikog voskovog moljca su zadržale sposobnost vraćanja u početni položaj nakon što su bile okrenute leđima (test orijentacije), sve do kukuljenja. Nakon 24 sata od kontakta kukca s tretiranom hranom, osam spojeva je izazvalo promjene na kutikuli kukca. Najveći broj ličinki je promjenio boju kutikule 48 sati nakon tretmana. Spoj SB 17 je uzrokovao simptome patogenosti u vidu promjenu boje kutikule karakteriziranu smeđim i crnim mrljama na najvećem broju ličinki tijekom čitavog perioda praćenja. Najjasniji utjecaj derivata kinazolinona na razvoj kukca je utvrđen 72 h nakon tretmana. Nakon 72 sata svi su spojevi izazvali kukuljenje kod kukaca (od 3,44 do 60 % ličinki se kukuljilo), u usporedbi s kontrolom gdje se kukuljice nisu razvile. Više od 90 % gusjenica se zakukuljilo 240 h nakon tretmana kod svih spojeva i u kontroli. Svi testirani spojevi izazvali su ranije kukuljenje gusjenica velikog voskovog moljca.

Spojevi SB3, SB8, SB14, SB21, SB17, SB19 i SB25 bi se trebali dalje testirati kako bi se ispitala biološka aktivnost spojeva pri različitim koncentracijama i u različitim ekološkim uvjetima, kao i na različite vrste kukaca. Ovim istraživanjem je utvrđeno da derivati kinazolinona imaju širok spektar djelovanja gusjenice velikog voskovog moljca, čime dodatno potvrđuju svoj potencijal kao regulatori rasta i razvoja kukaca.

7. POPIS LITERATURE

1. Hamida, B. T. (1997.): Enemies of bees. Bee disease diagnosis, *Options Méditerranéennes*, 25: 147 - 165.
2. Brar, H. S., Gatoria, G. S., Jhajj, H. S. i Chahal, B. S. (1985.): Seasonal infestation of *Galleria mellonella* and population of *vespa orientalis* in the colonies of *Apis mellifera* apiaries in Punjab. *Indian Journal of Ecology*, (12): 109 - 112.
3. Burges, H. D. (1978.): Control of Wax Moths: Physical, Chemical and Biological Methods. *Bee World*, 59:4, 129 - 138.
4. Charrière, J-D., Imdorf, A. (1999.): Protection of honey combs from wax moth damage. *American Bee Journal*, 139(8): 627 - 630.
5. Champion, O. L., Wagley, S., Titball, R. W. (2016.): *Galleria mellonella* as a model host for microbiological and toxin research. *Virulence*, 7(7): 840 – 845.
6. Chen, J., Wang, Y., Luo, X., Chen, Y. (2022): Recent research progress and outlook in agricultural chemical discovery based on quinazoline scaffold. *Pesticide biochemistry and physiology*, 184: 105 - 122.
7. Čačija, M. Bažok, R., Lemić, D., Mrganić, M., Virić Gašparić, H., Drmić, Z. (2018.): Spinosini – insekticidi biološkog podrijetla. *Fragmenta phytomedica*, 32(2): 43 - 60.
8. Desai, A. V., Sisshapara, M. R., Patel, P. K., Parajapti, A. P. (2019.): Biology of Greater Wax Moth, *Galleria Mellonella* L. on artificial diet. *Journal of experimental zoology India*, 22(2): 1267 - 1272.
9. Dohle, W., Jourdan, F. L., Menchon, G., Prota, A. E., Foster, P. A., Mannion, P., Hamel, E., Thomas, M. P., Kasprzyk, P. G., Ferrandis, E., Steinmetz, M. O., Leese, M. P., Potter, B. V. L. (2018.): Quinazolinone-Based Anticancer Agents: Synthesis, Antiproliferative SAR, Antitubulin Activity, And Tubulin Cocrysal Structure. *Journal of Medicinal Chemistry*, 61(3): 1031 - 1044.
10. Dubovskiy, I. M., Grizanova, E. V., Whitten, M. M., Mukherjee, K., Greig, C., Alikina, T., Kabilov, M., Vilcinskas, A., Glupov, V. V., Butt, T. M. (2016.): Immunophysiological adaptations confer wax moth *Galleria mellonella* resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Virulence*, 7(8): 860 – 870.

11. Dubovskiy, I. M., Whitten, M. M. A., Kryukov, V. Y., Yaroslavtseva, O. N., Grizanova, E. V., Greig, C., Mukherjee, K., Vilcinskas, A., Mitkovets, P. V., Glupov, V. V., Butt, T. M. (2013.): More than a colour change: insectmelanism, disease resistance and fecundity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1763): 1 - 10.
12. Elbehery, H., Essa Abd El-Wahab, T., Zakri Dimetry, N. (2016.): Management of the Greater Wax Moth *Galleria mellonella* with Neem Azal-T/S, in the Laboratory and under Semi-Field Conditions. *Journal of Apicultural Science*, 60(2): 69 - 76.
13. Elshahawi, M. M., El-Ziaty, A. K., Morsy, J. M., Aly, A. F. (2015.): Synthesis and Insecticidal Efficacy of Novel Bis Quinazolinone Derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 53(5): 1443 - 1448.
14. Fasasi, K. A., Malaka, S. L. O. (2006.): Life cycle and impact of greater wax moth, *Galleria mellonella* L. (*Lepidoptera: Pyralidae*) feeding on stored beeswax. *Nigerian Journal of entomology* , 23(1): 1 - 7.
15. Gulati, R., Kaushik, H.D. (2004.): Enemies of honeybees and their management – A review. *Agricultural Reviews*, 25(3): 189-200.
16. González, J. O. W., Laumann, R. A., Silveira, S., Moraes, M. C. B., Borges, M., Ferrero, A. A. (2013.): Lethal and sublethal effects of four essential oils on the egg parasitoids *Trissolcus basalis*. *Chemosphere*, 92(5): 608 - 615.
17. Gupta, T., Rohilla, A., Pathak, A., Akhtar, M. J., Haider, M. R., Yar, M. S. (2018): Current perspectives on quinazolines with potent biological activities: A review. *Synthetic Communications*, 48(10): 1099 – 1127.
18. He, D., Wang, M., Zhao, S., Shu, Y., Zeng, H., Xiao, C., Lu, C. i Liu, Y. (2017.): Pharmaceutical prospects of naturally occurring quinazolinone and its derivatives. *Fitoterapia*, (119): 136 - 149.
19. Hood, M. (2010.): Wax Moth IPM. *Bee Culture Magazine*, 138(9-10).
20. Hosamani V., Swamy, H. B. C., Kattimani, K. N., Kalibavi, C. M., (2017.): Studies on biology of greater wax moth (*Galleria mellonella* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11): 3811 - 3815.
21. Jalile, A. M., Kareem, H. T. (2012.): Effect of *Beauveria bassiana*, *Bacillus thuringiensis*, and *Steinernema carpocapsa* on adult wax moth *Galleria mellonella* (*Lepidoptera: Pyralidae*). *Anbar Journal of Agricultural Sciences*, 10(1): 359 - 370.

22. Jelić, T. (2021.): *Insekticidno i antifungalno djelovanje etnomopatogene gljive Beauveria bassiana i korisne bakterije Bacillus subtilis*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, diplomski rad.
23. Khalil, M. A., Habib, N. S. (1987.): Synthesis of thiadiazol derivatives of 4(3H)-quinazolinone as potential antimicrobial agents. *Il Farmaco; edizione scientifica*, 42(12): 973–978.
24. Komar, M. (2022.): *Sinteza derivata kinazolinona u niskotemperaturnim eutektičkim otapalima primjenom odabranih metoda zelene kemije*. Doktorska disertacija. Zagreb: Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije.
25. Komar, M., Molnar, M., Jukić, M., Glavaš-Obrovac, Lj., Opačak-Bernardi, T. (2020.): Green chemistry approach to the synthesis of 3-substituted-quinazolin-4 (3 H)-ones and 2-methyl-3-substituted-quinazolin-4 (3 H)-ones and biological evaluation. *Green Chemistry Letters and Reviews* 13(2). 2020, 93 - 101.
26. Kumar, G., Khan, M.S. (2018.): Study of the life cycle of greater wax moth (*Galleria mellonella*) under storage conditions in relation to different weather conditions. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(3): 444 - 447.
27. Kumar, G., Khan, M.S. (2020.): Ecofriendly Management of Greater Wax Moth (*Galleria mellonella*) Infesting Combs Under Storage. *Indian Journal of Pure & Applied Biosciences*, 8(4): 237-245.
28. Kwadha, A. C., Ong'amo, O. A., Ndegwa, N. P., Raina, K. S., Fombong, T. A. (2017.): The Biology and Control of the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella*. *Insects*, 8(61): 17.
29. Lahm, G. P., Selby, T. P., Freudenberg, J. H., Stevenson, T. M., Myers, B. J., Seburyamo, G., Smith, B. K., Flexner, L., Clark, C. E., Cordova, D. (2005.): Insecticidal anthranilic diamides: a new class of potent ryanodine receptor activators. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 15(22), 4898 – 4906.
30. Latli, B., Wood, E., Casida, J. E. (1996.): Insecticidal quinazoline derivatives with (trifluoromethyl) diazirinyl and azido substituents as NADH:ubiquinone oxidoreductase inhibitors and candidate photoaffinity probes. *Chemical Res Toxicology*, 9(2):445 - 50.
31. Laznik, Ž., Trdan, S., Tóth, T., Ádám, S., Lakatos, T., Majić, I. (2023): Discovery of *Oscheius myriophilus* (Nematoda: Rhabditidae) in Gastropods and Its Similar Virulence

- to *Phasmarhabditis papillosa* against *Arion vulgaris*, *Deroceras reticulatum*, and *Cernuella virgata*. *Agronomy*, 13(5): 1386.
32. Majić, I., Matek, M., Sarajlić, A., Pernek, M. (2020): Pathogenicity of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* combined with entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *B. pseudobassiana*. In 55. hrvatski i 15. međunarodni simpozij *agronoma* (pp. 37-37).
 33. Mabrouk, M.S.O., Haggag, E.E. i Omran N.S.M. (2009.): Controlling the Greater Wax Moth and Lesser Wax Moths using natural and chemical products. *Journal of Plant Protection and Pathology*, 34(1): 465 - 472.
 34. Ménard, G., Rouillon, A., Cattoir, V., Donnio, P. Y. (2021): *Galleria mellonella* as a Suitable Model of Bacterial Infection: Past, Present and Future. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 782733.
 35. Mowlds, P., Coates, C., Renwick, J., Kavanagh K. (2010.): Dose-dependent cellular and humoral responses in *Galleria mellonella* larvae following β -glucan inoculation. *Microbes and Infection*, 12(2): 146 - 153.
 36. Nielsen, R., D. Brister, C. (1979.) Greater Wax Moth: Behavior of Larvae. *Annals of the Entomological Society of America*, 72(6): 811 - 815.
 37. Rastija, V., Vrandečić, K., Ćosić, J., Kaniža Šarić, G., Majić, I., Karnaš, M. (2023): Prospects of Computer-Aided Molecular Design of Coumarins as Ecotoxicologically Safe Plant Protection Agents. *Applied Sciences*, 13(11): 6535.
 38. Rao, Y., Liu, H., Gao, L., Yu, H., Tan, J. H., Ou, T. M., Huang, S. L. Gu, L. Q., Ye, J. M., Huang, Z. S. (2015.): Discovery of natural alkaloid bouchardatine as a novel inhibitor of adipogenesis/lipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23(15): 4719 - 4727.
 39. Scott-Dupree, C. D., Conroy, L., Harris, C. R. (2009.): Impact of currently used or potentially useful insecticides for canola agroecosystems on *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae), *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae), and *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae). *Journal of economic entomology*, 102(1): 177 - 182.
 40. Shashidhar, V., Basalingappa, S. (2000.): Efficacy of botanicals in the management of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (L.). *Indian Bee Journal*, 62(3 - 4): 41 - 45.

41. Shimanuki, H., Knox, D. A. (1997.): Bee health and international trade. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 16(1): 172 - 6.
42. Singh, T., Sharma, S., Srivastava, V.K., Kumar, A. (2006.): Synthesis, insecticidal and antimicrobial activities of some heterocyclic derivatives of quinazolinone. *Indian Journal of Chemistry*, 45B(11): 2558 - 2565.
43. Šovljanski, R., Tasić, M., Šovljanski, M., Stojanović, T. (1969.): Zadesna otrovanja prilikom fumigacije phostoxinom. *Arh. hig. rada*, 20 (1969.) 209 - 212.
44. Telles, D. M., Oliveria, E. E., Tschoeke, P. H., Pinheiro, R. G., Maia, A. S., Aguiar, R. W. S. (2017.): Potential use of Negramina (*Siparuna guianensis* Aubl.) essential oil to control wax moths and its selectivity in relation to honey bees. *Industrial Crops and Products*, (109): 151 - 157.
45. Tremblay, A. (1978.): *Controlled Release Fumigation of the Greater Wax Moth, Galleria mellonella (L.), a Pest of Stored Honeycomb*. Oregon: Oregon State University.
46. Vishwas, A. B., Gowda, G. (2006.): Evaluation of *Bacillus thuringiensis* formulations for the management of greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Indian Bee Journal*, 68: 22 - 27.
47. Wani, Z. A., Guru, S. K., Rao, A. V. S., Sharma, S., Mahajan, G., Behl, A., Kumar, A., Sharma, P. R., Kamal, A., Bhushan, S., Mondhe, D. M. (2016.): A novel quinazolinone chalcone derivative induces mitochondrial dependent apoptosis and inhibits PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in human colon cancer HCT-116 cells. *Food and Chemical Toxicology*, (87): 1 – 11.
48. Wojda, I., Staniec, B., Sułek, M., Kordaczuk, J. (2020.): The greater wax moth *Galleria mellonella*: biology and use in immune studies. *Pathogens and Disease*, 78(9): 1 - 15.
49. Wu, J., Bai, S., Yue, M., Luo, L., Shi, Q., Ma, J., Du, X., Kang, S., Hu, D. i Yang, S. (2014.): Synthesis and insecticidal activity of 6,8-dichloro-quinazoline derivatives containing a sulfide substructure. *Chemical Papers*, 68(7): 969 - 975.
50. Zhang, Y., Gao, H., Liu, R., Liu, J., Chen, L., Li, X., Zhao, L., Wang, W., Li, B. (2017): Quinazoline-1-deoxynojirimycin hybrids as high active dual inhibitors of EGFR and α -glucosidase. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 27(18): 4309 – 4313.
51. Znaor, D. (1996.): *Ekološka poljoprivreda – poljoprivreda sutrašnjice*. Zagreb: Nakladni zavod Globus.

52. Yadav, S., Singh, J., Pardeep, K. Chhuneja (2012.): Management of *Galleria mellonella* Linnaeus (Lepidoptera: Pyralidae) for combs protection during storage. *Indian Journal of Applied Entomology*, 26(2): 140 - 142.
53. Yang, S., Lai, Q., Lai, F., Jiang X., Zhao, C., Xu, H. (2020.): Design, synthesis, and insecticidal activities of novel 5-substituted 4,5-dihydropyrazolo[1,5-a]quinazoline derivatives. *Pest Management Science*, 77(2): 1013 - 1022.

8. SAŽETAK

Deset novo sintetiziranih kinazolinona na Schiff bazama testirano je u kontroliranim uvjetima radi njihove biološke aktivnosti na velikom voskovom moljcu (*Galleria mellonella* L.). Biološki oralni test proveden je na zadnjem stadiju ličinki. Mortalitet, promjena ponašanja (test orijentacije), simptomi patogenosti na kutikuli (promjena boje, lezije i mrlje) te utjecaj na razvoj kukca praćeni su 24, 48, 72 i 240 sati nakon tretmana.

Testirani derivati kinazolinona nisu uzrokovali značajan mortalitet kod kukaca, niti su utjecali na njihovo ponašanje. Najveći broj ličinki je promjenio boju kutikule nakon 48 sati. Utjecaj derivata kinazolinona najviše je izražen 72 h nakon tretmana. Nakon 72 sata su svi spojevi izazvali kukuljenje kod kukaca (od 3,44 do 60 % ličinki se kukuljilo), u usporedbi s kontrolom gdje se kukuljice nisu razvile. Više od 90 % gusjenica se zakukuljilo 240 h nakon tretmana kod svih spojeva i u kontroli.

Spojevi SB3, SB8, SB14, SB21, SB17, SB19 i SB25 bi se trebali dalje testirati kako bi se ispitala biološka aktivnost spojeva pri različitim koncentracijama i u različitim ekološkim uvjetima, kao i na različite vrste kukaca. Ovim istraživanjem je utvrđeno da derivati kinazolinona imaju širok spektar djelovanja na gusjenice velikog voskovog moljca, čime dodatno potvrđuju svoj potencijal kao regulatori rasta i razvoja kukaca

9. SUMMARY

Ten newly synthesized quinazolinone Schiff base derivatives were tested under controlled conditions for their biological activity on the greater wax moth (*Galleria mellonella* L.). The biological oral test was conducted on the final larval stage. Mortality, behavioral changes (orientation test), symptoms of pathogenicity on the cuticle (color change, lesions, and spots), and the effect on insect development were monitored at 24, 48, 72, and 240 hours after treatment.

The tested quinazolinone derivatives did not cause significant mortality in the insects nor did they affect their behavior. The highest number of larvae exhibited cuticle color change after 48 hours. The impact of the quinazolinone derivatives was most pronounced 72 hours after treatment. After 72 hours, all compounds induced pupation in the insects (ranging from 3.44% to 60% of the larvae pupated), compared to the control group, where no pupation occurred. More than 90% of the caterpillars pupated 240 hours after treatment for all compounds and in the control group.

Compounds SB3, SB8, SB14, SB21, SB17, SB19, and SB25 should be further tested to investigate the biological activity of these compounds at different concentrations and under various ecological conditions, as well as on different insect species. This research established that quinazolinone derivatives have a broad spectrum of activity on the larvae of the greater wax moth, further confirming their potential as regulators of insect growth and development.

POPIS TABLICA

Tablica 1. Utjecaj derivata kinazolinona na ponašanje i razvoj gusjenica velikog voskovog moljca (<i>Galleria mellonella</i> L.) 24 h poslije tretmana	21
Tablica 2. Utjecaj derivata kinazolinona na ponašanje i razvoj gusjenica velikog voskovog moljca (<i>Galleria mellonella</i> L.) 48 h poslije tretmana	22
Tablica 3. Utjecaj derivata kinazolinona na ponašanje i razvoj gusjenica velikog voskovog moljca (<i>Galleria mellonella</i> L.) 72 h poslije tretmana	22
Tablica 4. Utjecaj derivata kinazolinona na ponašanje i razvoj gusjenica velikog voskovog moljca (<i>Galleria mellonella</i> L.) 240 h poslije tretmana	24
Tablica 5. Srednje vrijednosti mortaliteta gusjenica velikog voskovog moljca (<i>Galleria mellonella</i> L.) poslije tretmana s derivatima kinazolinona	24

POPIS SLIKA

Slika 1. Odrasli stadij velikog voskovog moljca: Mužjak (lijevo) i ženka (desno).....	6
Slika 2. Strukture 2-supstituiranih kinazolinone (1), 3-supstituiranih kinazolinone (2), 2,4-supstituiranih kinazolinona (3).	12
Slika 3. Izdvajanje zadnjeg stadija gusjenica velikog voskovog moljca za pokus (Foto: Dora Majer, 2022.).....	17
Slika 4. Kemijske strukture ispitivanih spojeva.....	18
Slika 5. Vaganje i miješanje prethodno pripremljene hrane s derivatima kinazolinona (Foto: Dora Majer, 2022.).....	19
Slika 6. Postavljanje biološkog oralnog testa ispitivanja aktivnosti derivata kinazolinona (Foto: Dora Majer, 2022.).....	19
Slika 7. Materijali korišteni za praćenje biološke aktivnosti derivata kinazolinona na gusjenicama voskovog moljca (Foto: Dora Majer, 2022.)	20
Slika 8. Kukuljice velikog voskovog moljca (Foto: Dora Majer, 2022.)	23

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo, modul Zaštita bilja

Diplomski rad

Insekticidna aktivnost derivata kinazolinona

Dora Majer

Sažetak: Deset novo sintetiziranih kinazolinona na Schiff bazama testirano je u kontroliranim uvjetima radi njihove biološke aktivnosti na velikom voskovom moljcu (*Galleria mellonella* L.). Biološki oralni test proveden je na zadnjem stadiju ličinki. Mortalitet, promjena ponašanja (test orijentacije), simptomi patogenosti na kutikuli (promjena boje, lezije i mrlje) te utjecaj na razvoj kukca praćeni su 24, 48, 72 i 240 sati nakon tretmana. Testirani derivati kinazolinona nisu uzrokovali značajan mortalitet kod kukaca, niti su utjecali na njihovo ponašanje. Najveći broj ličinki je promjenio boju kutikule nakon 48 sati. Utjecaj derivate kinazolinona najviše je izražen 72 h nakon tretmana. Nakon 72 sata su svi spojevi izazvali kukuljenje kod kukaca (od 3,44 do 60 % ličinki se kukuljilo), u usporedbi s kontrolom gdje se kukuljice nisu razvile. Više od 90 % gusjenica se zakukuljilo 240 h nakon tretmana kod svih spojeva i u kontroli. Spojevi SB3, SB8, SB14, SB21, SB17, SB19 i SB25 bi se trebali dalje testirati kako bi se ispitala biološka aktivnost spojeva pri različitim koncentracijama i u različitim ekološkim uvjetima, kao i na različite vrste kukaca. Ovim istraživanjem je utvrđeno da derivati kinazolinona imaju širok spektar djelovanja na gusjenice velikog voskovog moljca, čime dodatno potvrđuju svoj potencijal kao regulatori rasta i razvoja kukaca.

Rad je izrađen pri: Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Mentor: prof. dr. sc. Ivana Majić

Broj stranica: 40

Broj grafikona i slika: 8

Broj tablica: 5

Broj literaturnih navoda: 53

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: regulatori rasta i razvoja kukaca, *Galleria mellonella*, mortalitet, test orijentacije patogenost,

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. prof. dr. sc. Vesna Rastija

2. prof. dr. sc. Ivana Majić

3. izv. prof. dr. sc. Ankica Sarajlić

4. prof. dr. sc. Gabriella Kanižai-Šarić

Rad je pohranjen u: Knjižnica na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti u Osijeku, Sveučilište u Osijeku, Vladimira Preloga 1.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek
University Graduate Studies, course Plant Protection

Graduate thesis

Insecticidal activity of quinazolinone derivates

Dora Majer

Abstract:

Ten newly synthesized quinazolinone Schiff base derivatives were tested under controlled conditions for their biological activity on the greater wax moth (*Galleria mellonella* L.). The biological oral test was conducted on the final larval stage. Mortality, behavioral changes (orientation test), symptoms of pathogenicity on the cuticle (color change, lesions, and spots), and the effect on insect development were monitored at 24, 48, 72, and 240 hours after treatment. The tested quinazolinone derivatives did not cause significant mortality in the insects nor did they affect their behavior. The highest number of larvae exhibited cuticle color change after 48 hours. The impact of the quinazolinone derivatives was most pronounced 72 hours after treatment. After 72 hours, all compounds induced pupation in the insects (ranging from 3.44% to 60% of the larvae pupated), compared to the control group, where no pupation occurred. More than 90% of the caterpillars pupated 240 hours after treatment for all compounds and in the control group. Compounds SB3, SB8, SB14, SB21, SB17, SB19, and SB25 should be further tested to investigate the biological activity of these compounds at different concentrations and under various ecological conditions, as well as on different insect species. This research established that quinazolinone derivatives have a broad spectrum of activity on the larvae of the greater wax moth, further confirming their potential as regulators of insect growth and development.

Thesis performed at: Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Mentor: Ivana Majić

Number of pages: 40

Number of figures: 8

Number of tables: 5

Number of references: 53

Number of appendices: 0

Original in: Croatian

Key words: Schiff bases, insect mortality, insect behavior, cuticular changes, molting

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. prof. dr. sc. Vesna Rastija

2. prof. dr. sc. Ivana Majić

3. izv.prof. dr. sc. Ankica Sarajlić

4. prof. dr. sc. Gabriella Kanižai-Šarić

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1.