

SINTESIS DE FLAVONA AMIGABLE CON EL MEDIO AMBIENTE Y SU EFECTO SOBRE LA INTERACCIÓN LECHUGA - ÁFIDOS

Tacaliti, María S.¹; Tocho, Erica¹; González, Matías A.¹; Ciriaco, Cintia¹; Cosentino, Miguel¹; Palomino, Luis¹; Margaría, Cecilia¹; Ricci, Mónica¹; Romanelli, Gustavo^{1,2}

1 Centro de Investigación en Sanidad Vegetal (CISaV), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. Calle 60 y 119, CP 1900. La Plata, Bs. As., Argentina.

2 Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias Aplicadas "Dr. Jorge J. Ronco" (CINDECA-CONICET). Calle 47 N° 257, 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

maria.tacaliti@agro.unlp.edu.ar

RESUMEN: La búsqueda de compuestos químicos que sean eficaces para el control de plagas y a su vez inocuos para la salud del hombre y el ambiente se presenta como una necesidad. En el presente trabajo se informa un procedimiento simple y compatible con el ambiente para la preparación de un compuesto perteneciente a la familia de los fenilpropanoides (flavona), a través de ciclodeshidratación de 1-(2-hidroxifenil)-3-fenil-1,3-propanodiona en condiciones de impacto ambiental reducido (síntesis en ausencia de solvente, catalizada con ácido sólido recuperable y utilizando calefacción mediante microondas y con tiempos reducidos), y la evaluación del crecimiento de una especie hortícola (lechuga) por la acción de este compuesto. El porcentaje de germinación de las semillas de lechuga disminuyó con 400 y 500 ppm de flavona respecto del control, mientras que a partir de 200 ppm de flavona se observó un menor crecimiento de las plántulas debido a la disminución de la longitud del hipocótilo. Aunque no se observaron efectos por contacto directo de la flavona sobre el cuerpo de los áfidos, pudo identificarse repelencia del insecto en discos de lechuga embebidos en 500 ppm de flavona.

PALABRAS CLAVE: Flavona, plantas de lechuga, interacción planta-pesticida-insecto.

ENVIRONMENTAL-FRIENDLY SYNTHESIS OF FLAVONE AND ITS EFFECT ON LETTUCE-APHID INTERACTION

ABSTRACT: The search for chemical compounds that are effective for pest control and in turn harmless to human health and the environment is needed. In this work, a simple and environmentally compatible procedure is reported for the preparation of a compound belonging to the phenylpropanoid (flavone) family, through cyclodehydration of 1-(2-hydroxyphenyl)-3-phenyl-1,3-propanedione under conditions of reduced environmental impact (synthesis in the absence of solvent, catalyzed with recoverable solid acid and using microwave heating and with reduced times), and the evaluation of the growth of a horticultural species (lettuce) by the action of this compound. The percentage of germination of lettuce seeds decreased with 400 and 500 ppm of flavone compared to the control, while from 200 ppm of flavone a lower growth of the seedlings was observed due to the decrease in the length of the hypocotyl. Although no effects were observed by direct contact of flavone on the aphid body, insect repellency could be identified in lettuce discs embedded in 500 ppm flavone.

KEYWORDS: Flavone, lettuce plants, plant-pesticide- insect interaction.

INTRODUCCIÓN

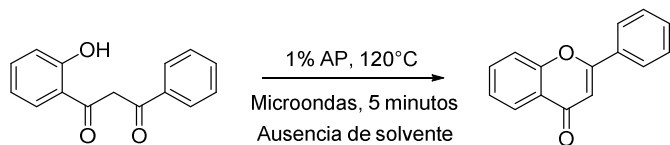
La lechuga es uno de los vegetales más consumidos en Argentina. El Cinturón Hortícola Platense es el segundo centro productor provincial de este cultivo [1] actividad que se caracteriza por la excesiva aplicación de pesticidas y los consecuentes efectos nocivos para el ambiente y para el hombre. Para revertir esta situación, se buscan productos más inocuos y que permitan controlar a las plagas. En este sentido, la Química Verde se ocupa de la síntesis de productos químicos análogos a los producidos por las propias plantas, mediante el uso de procesos que utilizan eficientemente los materiales de partida y que generan productos eficaces y biodegradables, con baja producción de residuos [2].

Entre las plagas que afectan a la lechuga, los áfidos o pulgones comprometen la calidad y cantidad del producto final comercializable. El pulgón de la papa (*Aulacorthum solani*) es una especie muy polífaga capaz de provocar daños directos al alimentarse de la savia que obtienen a través de su aparato bucal picador succionador. Además, la inyección de saliva tóxica causa decoloraciones y deformaciones en las hojas [3].

Entre los metabolitos secundarios, los flavonoides presentes en las plantas intervienen en la interacción planta- insecto plaga a través de la disuasión en la alimentación de los insectos, la reducción de la digestibilidad y la generación de toxinas antialimentarias [4-7]. Se ha

reportado también actividad insecticida sobre huevos y larvas de lepidópteros [8].

El objetivo del trabajo consistió en sintetizar flavona (Esquema 1) mediante un procedimiento de bajo impacto ambiental enmarcado en los postulados de la Química Verde [9] (mediante una reacción en ausencia de solvente, empleando un catalizador de estructura Preyssler reciclable y radiación por microondas como fuente alternativa de energía) y, además, evaluar en qué medida se ve afectada la relación entre la plaga y el hospedante (áfido-lechuga) por efecto de su aplicación.



Esquema 1 - Síntesis de flavona

METODOLOGÍA

General: los productos químicos utilizados fueron de grado analítico y empleados sin posterior purificación. El producto fue identificado por la determinación del punto de fusión del compuesto, el cual fue determinado por el método del capilar y la caracterización espectroscópica se llevó a cabo por la determinación de los espectros de ¹H-RMN y ¹³C-RMN. Los resultados fueron similares a los reportados en la literatura [10].

Síntesis del sustrato de partida ((1-(2-hidroxifenil)-3-fenil-1,3-propanodiona): se siguió un procedimiento descrito en la literatura [11].

Síntesis del catalizador (Ácido de Preyssler (AP), H14[NaP5W29MoO110]): se siguió esencialmente un procedimiento descrito en la literatura [12].

Síntesis de flavona: se mezclaron íntimamente 1 mmol de (1-(2-hidroxifenil)-3-fenil-1,3-propanodiona con 1 % mmol de AP. La mezcla de reacción se calentó a 120 °C durante 5 minutos en un horno de microondas para síntesis Anton Paar, MONOWAVE 400. El grado de avance de la reacción se controló por CCD. Finalizada la reacción, se añadieron 3 ml de tolueno y se filtró en caliente para separar el catalizador; este se lavó con el mismo solvente (2x2 ml). La fase orgánica reunida se lavó con NaOH 2M (2x3 ml) y luego con H₂O (2x3 ml). Se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. Se obtuvo un sólido que fue purificado por cristalización en metanol, obteniéndose un rendimiento de 91 %. El catalizador recuperado fue secado en tambor desecador a vacío hasta peso constante.

Bioensayos: Los áfidos fueron recolectados en cultivos de lechuga a campo y bajo cubierta en diferentes establecimientos del Cinturón Hortícola Platense, luego mantenidos sobre lechuga, en una cámara de cría con condiciones controladas (T: 15°C ± 2; HR 60% y fotoperíodo de 12:12 luz: oscuridad). Se probaron soluciones de flavona de 100, 200, 400 y 500 ppm. Se utilizaron dos controles, uno con agua y el tensioactivo Tween 20 (0,1%) (C) y el otro con agua, Tween 20 (0,1%) y acetona (C+AC).

Bioensayo de fitotoxicidad en germinación: en cajas de Petri se dispusieron 20 semillas de lechuga sobre un papel de filtro, embebido previamente con 2 ml de las soluciones de flavonas o con las soluciones control para cada tratamiento. A las 24 h se determinó el porcentaje de germinación de las semillas y a las 72 h el crecimiento (mm) del hipocótilo y de la radícula.

M.S. Tacaliti et. al / Inv. Jov. 7 (1) (2020) 16-19

Actividad insecticida por aplicación tópica sobre el insecto: tres áfidos adultos fueron colocados sobre un disco de lechuga de 3 cm de diámetro, en una caja de Petri. Sobre el cuerpo de cada insecto se aplicó un volumen de 0,4 µl de las distintas soluciones a ensayar, con la ayuda de una microjeringa con aguja de punta roma. Se determinó la mortalidad de los insectos a las 24 h y a las 48 h según Abbot [13].

Bioensayo de selección: en caja de Petri se colocaron dos discos de lechuga de 3 cm de diámetro, uno embebido en una solución de flavona y el otro en agua (C), entre los cuales se ubicaron 6 áfidos adultos. La evaluación se realizó a las 48 h, determinando la preferencia o libre elección de los áfidos por uno u otro disco (tratado o control). Los resultados se expresaron a través del índice de repelencia (IR), calculado según $IR = (T - C) / (T + C)$, donde T y C corresponden al número de áfidos ubicados sobre el disco tratado y sobre el control, respectivamente. El IR varía entre 1 (máximo de atracción) y -1 (máximo de repelencia) [14].

Los datos se analizaron mediante ANOVA y con el test LSD (Fisher) en los casos en que se encontraron diferencias significativas, empleando el programa Statistica [15].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de la flavona: Se llevó a cabo mediante un procedimiento que incluye el uso de un catalizador sólido reciclable en reemplazo de catalizadores líquidos altamente corrosivos. La reacción consiste en la ciclodeshidratación de (1-(2-hidroxifenil)-3-fenil-1,3-propanodiona en ausencia de solvente (Esquema 1).

Se ensayaron diferentes condiciones de reacción, las cuales incluyen el efecto de la temperatura, la cantidad de catalizador y el tiempo de reacción. Las condiciones óptimas de síntesis de flavona se obtienen a 120 °C, en ausencia de solvente, empleando un 1% en milimol de AP, en un período de tiempo de 5 minutos, empleando radiación por microondas. En tales condiciones la flavona se obtiene con un rendimiento del 91 %, libre de productos secundarios. El catalizador utilizado puede recuperarse y reciclarse sin apreciable pérdida de la actividad catalítica. Se desarrolló un método catalítico sencillo para la preparación de flavona por ciclodeshidratación de una 2-hidroxil-1,3-difenilpropanodiona en condiciones libres de disolvente. El procedimiento cuenta con un bajo impacto ambiental, alto rendimiento, alta selectividad, tiempos cortos de reacción y un catalizador que puede ser reutilizado directamente después de su separación.

Bioensayo de fitotoxicidad en germinación: el porcentaje de germinación a las 24 h mostró diferencias significativas entre tratamientos (F= 3,6216; gl= 5; p= 0,031), observándose una disminución de este valor cuando se aplicaron 400 y 500 ppm de flavona respecto del control (Figura 1). Sin embargo, en comparación con el tratamiento C+AC, todas las soluciones de flavona causaron la disminución del porcentaje de germinación (Figura 1). Por lo tanto, se asume que la acetona utilizada como disolvente del principio activo pudo perjudicar a la germinación de las semillas.

La longitud total de las plántulas a las 72 h fue significativamente menor a partir de una concentración de flavona de 200 ppm respecto del control (F= 10,6; gl= 5; p= 0,001) (Figura 2). En comparación con el C+AC, se observaron diferencias significativas de ese parámetro sólo con la mayor concentración de flavona (500 ppm).

Considerando por separado parte aérea y raíz, se observó una disminución significativa de la longitud del hipocótilo (F= 131,78; gl= 5;

$p=0,001$), mientras que la radícula aumentó su longitud por efecto de los tratamientos con flavona ($F=24,46$; $gl=5$; $p=0,001$), en comparación con ambos controles (Figura 2).

Con 100 ppm de flavona, el menor crecimiento a nivel del hipocótilo fue compensado por el mayor crecimiento de las raíces y, por lo tanto, la longitud total de las plántulas fue similar a la de las plantas control. Con soluciones de 200, 400 y 500 ppm de flavona, la disminución de la longitud total de las plántulas se debió al acortamiento del hipocótilo mientras que las raíces no modificaron significativamente su longitud al aumentar las concentraciones de flavona.

Actividad insecticida por aplicación tópica sobre el insecto: la aplicación directa de las flavonas sobre el cuerpo de los áfidos no causó su muerte. A las concentraciones probadas y en el corto tiempo de exposición empleado, no puede afirmarse que las flavonas tengan efecto insecticida por contacto para el pulgón de la papa.

Bioensayo de selección: el IR mostró que ambos controles (C y C+A) y el tratamiento con 100 ppm de flavona no tuvieron efecto sobre la selección por parte de los áfidos, moviéndose estos de manera indistinta entre ambos discos de lechuga. Para las concentraciones de 200 ppm y 400 ppm de flavona se observaron valores bajos de repelencia. La aplicación de 500 ppm de flavona mostró un IR medio de -0,5 (Figura 3). Por lo tanto, aunque moderada, se observó repelencia con 500 ppm de flavona sobre los pulgones.

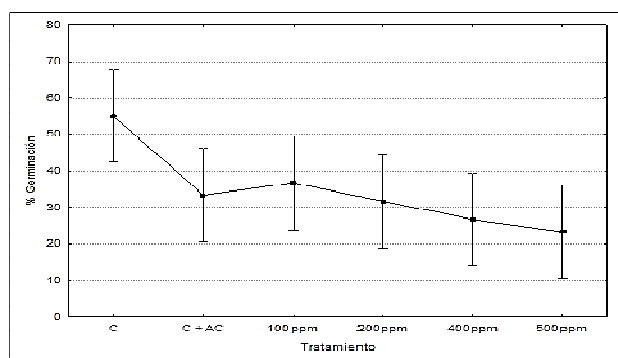


Figura 1 - Porcentaje de germinación de semillas de lechuga tratadas con flavona

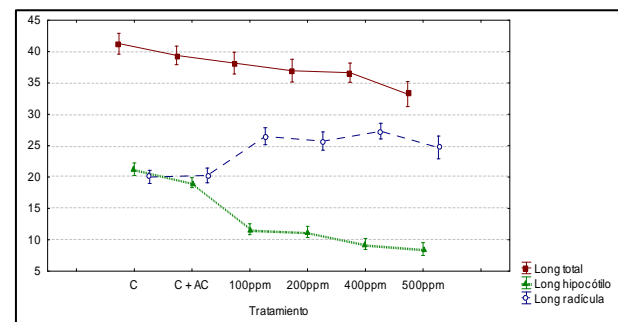


Figura 2 - Longitud total de la plántula, del hipocótilo y de la radícula de plántulas de lechuga tratadas con flavona

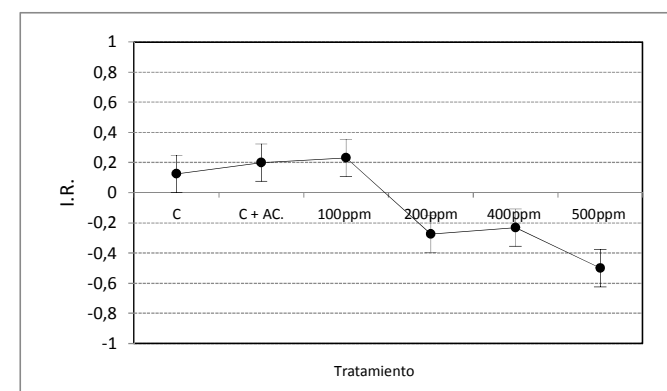


Figura 3 - Índice de Repelencia (IR) del pulgón de la papa

CONCLUSIONES

Se desarrolló un método catalítico sencillo para la preparación de flavona por ciclodeshidratación de 1,3-propanodionas en condiciones libres de disolvente, utilizando radiación por microondas como fuente de calor con el objeto de disminuir los tiempos de reacción y aumentar las selectividades hacia el producto buscado. El procedimiento cuenta con un bajo impacto ambiental, alto rendimiento, alta selectividad, tiempos cortos de reacción y un catalizador que puede ser reutilizado directamente después de su separación.

Durante la germinación de las semillas de lechuga se observaron efectos negativos a partir de 400 ppm de flavona respecto del control. Sin embargo, el efecto negativo de la acetona sobre la germinación se manifestó en todas las soluciones de flavona probadas. Otro solvente como el dimetilsulfóxido (DMSO) o el N,N-dimetilformamida (DMF) podría testarse para definir dicho efecto.

La longitud total de las plántulas a las 72 h se vio afectada con 200, 400 y 500 ppm de flavona respecto del control. Con la concentración más baja de 100 ppm se observó un efecto de compensación entre las porciones correspondientes al hipocótilo y a las raíces, de modo que la longitud total resultó similar a la obtenida con ambos tratamientos control (C y C+A).

Si bien no se pudo determinar la mortalidad por contacto directo de las sustancias sobre el cuerpo del insecto, se observó un efecto repelente con 500 ppm de flavona sobre el pulgón de la papa.

REFERENCIAS

- [1] Censo Hortiflorícola de Buenos Aires 2005 (CHFBA'05). Dirección Ministerio de Asuntos Agrarios y Ministerio de Economía de la Provincia de Buenos Aires (Argentina). **2006**.
- [2] J.H. Clark, D.J. Macquarrie, *Handbook of Green Chemistry and Technology*. Wiley-Blackwell, Oxford, U.K. **2002**.
- [3] S. Fujimaki, T. Fujiwara, H. Hayashi. "A new method for direct introduction of chemicals into a single sieve tube of intact rice plants". *Plant Cell Physiol.* **41**, **2000**, 124-128.
- [4] O. Thoison, T. Sévenet, H.M. Niemeyer, G.B. Russell. "Insect antifeedant compounds from *Nothofagus dombeyi* and *N. pumilio*". *Phytochem.* **65**, **2004**, 2173-2176.
- [5] G.E. Nenaah. "Toxic and antifeedant activities of prenylated flavonoids isolated from *Tephrosia apollinea* L. against three major coleopteran pests of stored grains with reference to their structure-activity relationship". *Nat. Prod. Res.* **28**, **2014**, 2245-2252.
- [6] B. Mechri, M. Tekaya, H. Cheheb, F. Attia, M. Hammami. "Accumulation of flavonoids and phenolic compounds in olive tree roots in response to mycorrhizal colonization: a possible mechanism for regulation of defense molecules". *J. Plant. Physiol.* **185**, **2015**, 40-43.
- [7] Q. Wang, A.E. Eneji, X. Kong, K. Wang, H. Dong. "Salt stress effects on secondary metabolites of cotton in relation to gene expression responsible for aphid development". *PLoS One* **10**, **2015**, e0129541.
- [8] C. Muthu, K. Baskar, V. Duraipandiyam, S. Ignacimuthu, N.A. Al-Dhabi. "Bioefficacy of Pectolinarigenin from *Clerodendrum phlomidis* Linn. F. against *Anopheles stephensi* and Bendi Fruit Borer, *Earias vittella* fab.". *Braz. Arch. Biol. Technol.* **58** n.3, **2015**, 358-366.
- [9] P.T. Anastas, L.B. Bartlett, M.M. Kirchoff, T.C. Williamson. "The role of catalysis in the design, development, and implementation of green chemistry". *Catal. Today* **55**, **2000**, 11-22.

- [10] G.P. Romanelli, E.G. Virla, P.R. Duchowicz, A.L. Gaddi, D.M. Ruiz, D.O. Bennardi, E. del V. Ortiz, J.C. Autino. "Sustainable synthesis of flavonoid derivatives, QSAR study and insecticidal activity against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae)" *J. Agric. Food Chem.* 58, **2010**, 6290-6295.
- [11] B. Furniss, A. Hannaford, V. Rodgers, P. Smith; A. Tatchell. *Vogel's textbook of Practical Organic Chemistry*. Longman, New York. **1978**.
- [12] M. Arabi, A. Mohammadpour, M. Abedini, A. Nemati, M. Alizadeh. "Esterification of phthalic anhydride with 1-butanol and 2-ethylhexanol catalyzed by heteropolyacids". *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 200, **2003**, 105-110.

- [13] W.S. Abbott. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18, **1925**, 265-267.
- [14] R.V. Alzogaray, A. Sfara, A. Moretti, E. Zerba. "Behavioural and toxicological responses of *Blattellagermanica* (Dictyoptera: *Blattellidae*) to monoterpenes". *Eur. J. Entomol.* 110, **2013**, 247-252.
- [15] StatSoft, Inc. 2005. Statistica (data analysis software system), version 7.1. www.statsoft.com.