

DICETOPIPERAZINAS BIOINSECTICIDAS AISLADAS DE *Nomuraea rileyi* (HONGO ENTOMOPATÓGENO)

Karenina Marcinkevicius², Analía Salvatore³, Elena Cartagena¹, Mario Arena^{1,3}, Nancy Vera¹

¹Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán,

²INQUINOA – CONICET, Ayacucho 471, 4000 Tucumán, ³EEOC-ITANOA-

CONICET. Av. William Cross 3150, Las Talitas, T4101XAC. Argentina.

karenina.marcinkevicius@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Los hongos entomopatógenos constituyen una vía muy interesante para el control de insectos y presentan una serie de ventajas: seguridad para el hombre, no producen desequilibrios ecológicos, no se han registrado resistencias y son persistentes¹.

Los ciclodipéptidos, también conocidos en la literatura como dicetopiperazinas (DKPs), son una clase importante de productos naturales, muchos de los cuales muestran un amplio rango de actividades biológicas, incluyendo actividad antimicrobiana, antiviral, antitumoral e inmunosupresiva. Se han aislado a partir de levaduras, líquenes, hongos, bacterias y esponjas marinas y su esqueleto se genera por la ciclación de dos L-α-aminoácidos²⁻⁴.

En este trabajo investigamos el extracto acetato de etilo del sobrenadante del cultivo de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson que ha sido informado como patógeno de más de 30 especies de larvas de lepidópteros⁵. Se aislaron 3 dicetopiperazinas, Ciclo (Pro-Val) (**1**)⁶, Ciclo (Pro-Leu) (**2**), y Ciclo (Pro-Phe) (**3**)⁷, cuyas estructuras fueron elucidadas por comparación de los espectros de ¹H y ¹³C-RMN con datos bibliográficos y con espectros de masas obtenidos por ionización electrónica. Finalmente se evaluó la actividad insecticida de las mismas, sobre tres modelos experimentales *Spodoptera frugiperda* (lepidóptero), *Ceratitis capitata* (díptero) y *Tribolium castaneum* (coleóptero), insectos plagas que generan graves pérdidas económicas en el noroeste argentino.

METODOLOGÍA

El desarrollo fúngico se realizó usando, como medio de cultivo Sabouraud-maltosa enriquecido con extracto de levadura (SME) inoculado con un 3% de conidios (p/v) (10⁷ conidios/mL) del HE y con y sin el agregado de 1% (p/p) restos de insectos. Se incubó en agitador rotatorio durante 15 días. Los extractos (6 seis) se obtuvieron por extracción de la biomasa con acetato de etilo y metanol en relación 1/1 y del sobrenadante con acetato de etilo. Las fases orgánicas obtenidas fueron luego evaporadas en evaporador rotatorio a presión reducida. Se seleccionó de los extractos obtenidos, el extracto acetato de etilo del sobrenadante **NSHIAC** para su posterior estudio químico, debido su actividad en los sistemas biológicos utilizados en este trabajo. El extracto (4,5 g), se cromatografió en columna de sílica gel (600 g, Merck, 70–230 mesh), usando como eluyente cloroformo (CHCl₃) con cantidades crecientes de acetato de etilo (AcOEt) (0–100%) y finalmente metanol (MeOH) como eluyentes para dar nueve fracciones, que posteriormente fueron evaluadas por su actividad biológica.

Bioensayos con insectos

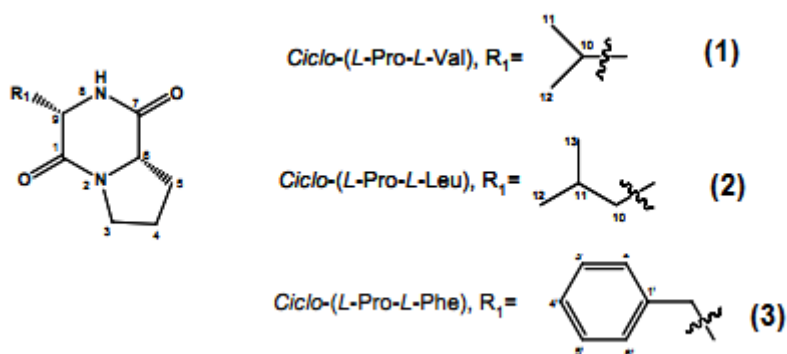
Se evaluó la conducta alimentaria de *Spodoptera frugiperda* en condiciones de elección y no elección. Se determinó el Índice de Elección Alimentaria que se define como $IIA = (1 - T/C) 100^8$.

Ensayo para evaluar la actividad disuasoria de la oviposición en *C. capitata*. Se calculó el % Inhibición de Oviposición; %IO: $[T/C \times 100-100]$, donde C y T representan la cantidad de huevos en el sustrato de oviposición tratado y control respectivamente.

Bioensayo de preferencia alimentaria y repelencia sobre *T. castaneum*: se realizó el recuento de individuos presentes en ambas dietas (T y C) y se evaluó la preferencia alimentaria mediante el cálculo del Índice de Preferencia alimentaria (IP) y se evaluó la repelencia mediante el Índice de Repelencia (IR).

RESULTADOS

El estudio químico del extracto acetato de etilo del sobrenadante del cultivo de *Nomuraea rileyi* condujo al aislamiento de tres DKPs ya conocidas, aunque descritas por primera vez en *N. rileyi*. Los datos espectroscópicos de RMN y el poder rotatorio de estos compuestos coinciden con los datos previamente descritos en bibliografía. El aminoácido L-prolina está presente en todas las DKPs aisladas a partir de *N. rileyi*, de acuerdo con la presencia de tres metilenos entre 1.8 y 3.7 ppm en el espectro de ^1H RMN: Ciclo-(L-Pro-L-Val)⁶, ciclo-(L-Pro-L-Leu)⁷ y ciclo-(L-Pro-L-Phe)⁷.



En el Choice Test se observó un efecto antialimentario de los compuestos con valores de **IIA** superiores al 49 %. El porcentaje de inhibición de la ingesta más elevado lo produjo el compuesto **1** con un **IIA** del 86 %, seguido del compuesto **3** con una inhibición del 73 %, y 81 y 75 % respectivamente en el no choice test. Todos los compuestos ensayados mostraron un mayor o menor efecto en la inhibición de la oviposición de *Ceratitis capitata* a la concentración de $25 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ con porcentajes entre 16 a 70 %, siendo el más activo el compuesto **3**. En *T. castaneum* todos los compuestos ensayados mostraron acción repelente, siendo el más activo el compuesto **1** con valores de **IR** de 41 % y de **IP** de -0,42 respectivamente.

A pesar de encontrar antecedentes sobre la actividad de algunas dicetopiperazinas (DPKs) sobre lepidópteros y coleópteros, no se encontraron publicaciones sobre la actividad de las tres DPKs estudiadas en este trabajo, por lo que sería el primer estudio en reportar la actividad insecticida de estos compuestos, además de ser el primer reporte de actividad insecticida de DPKs en dípteros específicamente *Ceratitis capitata*. Por lo que podrían considerarse como potenciales prototipos para la síntesis de nuevas drogas insecticidas más potentes y seguras.

BIBLIOGRAFÍA

1. Devi U, Mohan C, Padmavathi J, Ramesh K. (2013). Biocontrol Sci Technol. 13, 367-371.
2. Prasad, C. (1995). Peptides 16, 151–164.
3. Rudi, A.; Kashman, Y.; Benayahu, Y.; Schleyer M. (1994). J. Nat. Prod. 57, 829–832.

XXXI Congreso Argentino de Química

25 al 28 de Octubre de 2016 Asociación Química Argentina

Sánchez de Bustamante 1749 – Ciudad de Buenos Aires – Argentina

The Journal of The Argentine Chemical Society Vol. 103 (1-2) January – December 2016 ISSN: 1852 -1207

Anales de la Asociación Química Argentina AAQAE 095 - 196

4. Strom, K.; Sjogren, J.; Broberg, A.; Schnurer, J. (2002). *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 4322–4327.
5. Devi U, Mohan C, Padmavathi J, Ramesh K., (2013). *Biocontrol Sci Technol.* 13, 367-371.
6. Schmitz, F. J.; Vanderah, D. J.; Hollenbeak, K. H.; Enwall, C. E. L.; Gopichand, Y.; Sengupta, P. K.; Hossain, M. B.; and Vanderhelm, D. (1983). *Journal of Organic Chemistry* 48: 3941-3945.
7. Adamczeski, M.; Reed, A. R.; and Crews, P. (1995). *Journal of Natural Products-Lloydia* 58: 201-208.
8. Vera, N.; Misico, R.; Gonzales Sierra, M.; Asakawa, Y.; Bardón, A. (2008). *Phytochemistry* 69: 1689–1694.