

Tesis de Posgrado

Estabilidad térmica y actividad insecticida de compuestos piretroides y metoprene en formulaciones fumígenas

González Audino, Paola Andrea

1998

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

González Audino, Paola Andrea. (1998). Estabilidad térmica y actividad insecticida de compuestos piretroides y metoprene en formulaciones fumígenas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3029_GonzalezAudino.pdf

Cita tipo Chicago:

González Audino, Paola Andrea. "Estabilidad térmica y actividad insecticida de compuestos piretroides y metoprene en formulaciones fumígenas". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1998.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3029_GonzalezAudino.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

Tesis
3029
ej.2

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Estabilidad térmica y actividad insecticida de compuestos piretroides y metoprene en formulaciones fumígenas

Thermal stability and insecticidal activity of pyrethroids and methoprene in fumigant formulations

Paola Andrea González Audino

Director de Tesis: Dr Eduardo N. Zerba
Lugar de Trabajo: Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas
CITEFA-CONICET

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires

-1998-

Agradecimientos

Especialmente a Eduardo Zerba, mi director, por su optimismo, su buen humor y por la confianza que depositó en mí a lo largo de estos años de trabajo.

A Susana Licastro, por enseñarme a desenvolver en el laboratorio de Química Orgánica y por estar siempre dispuesta a solucionar mis dificultades.

A Mariné Picollo y Andrea Fontán por su alegría y su amistad y por haberme introducido en el desconocido mundo de la Entomología.

A Raúl Alsogaray, por su paciencia infinita en la corrección de esta Tesis.

A Adriana Martinez, Norma Casabé, Claudia Vassena, Susana Segovia, Emilia Seccacini y Mary, por su compañerismo y por darme muchas manos cada una en lo suyo.

A Mariela Vaccarezza, Francisco Marchi y R. Viviani del Departamento de Química de CITEFA por la realización de los espectros de masa y de los estudios calorimétricos.

Al Laboratorio de Rayos X de CITEFA por la realización de difractogramas.

Al Dr . E. Wood por ser Consejero de estudios.

A Héctor Masuh, por ayudarme siempre en mi trabajo, con o sin protesta de por medio. Y por todo lo demás...

Finalmente a mis padres, Ana y Ramón, por su generosidad, por apoyarme y ayudarme siempre, por estimular mi amor al estudio y enseñarme todo lo que no aprendí en la facultad.

A mis hermanos, Mariana y Ramón, por bancarme tanto en mis años de estudio.

A Loly y Pedro por darme tanta felicidad.

A mis abuelos porque son maravillosos.

A Zlata, por los aullidos de alegría.

Y agradezco a las siguientes Instituciones

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y al Instituto de Investigaciones Científicas y Técnicas de las Fuerzas Armadas (CITEFA), instituciones a las que pertenece el Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas donde desarrollé este trabajo. La financiación del trabajo provino de subsidios otorgados a nuestro laboratorio por Chemotecnica Sintyal, UNDP/World Bank/ WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR) y el CONICET.

Estabilidad térmica y actividad insecticida de compuestos piretroides y metoprene en formulaciones fumígenas

P. González Audino

Las formulaciones fumígenas insecticidas son actualmente importantes en el control de vectores de la Enfermedad de Chagas impulsadas por trabajos previos de nuestro laboratorio. En esta Tesis se evaluaron el destino y los procesos de descomposición térmica de insecticidas piretroides a partir de la combustión de formulados fumígenos. Se estableció que la descomposición e isomerización térmica de los piretroides liberados en humos se revierte significativamente por agregado de agentes espumígenos (cianoguanidina y azodicarbonamida). Se demostró que uno de los componentes de la mezcla fumígena, el clorato de potasio, cataliza la isomerización térmica *cis-trans* de los piretroides, fenómeno también observado para otras sales de oxiácidos.

Para la permetrina y β -cipermetrina se identificaron una serie de productos de descomposición comunes a distintos procesos de termólisis estudiados. Estos productos provienen de rupturas del enlace éster, oxidación y posible aromatización de los productos formados. La evaluación biológica de las formulaciones sobre *T. infestans* (vinchucas) determinó que la más efectiva fue la mezcla conteniendo azodicarbonamida como agente espumígeno y β -cipermetrina como principio activo.

En la segunda parte de esta Tesis se planteó como objetivo evaluar las posibilidades de metoprene, un insecticida inhibidor del crecimiento de insectos de alta labilidad térmica, como activo en formulaciones fumígenas.

A los fines de estabilizarlo se lo complejó con β -ciclodextrina y el complejo se caracterizó por difracción por rayos X, termogravimetría y Modelado Molecular.

El complejo incorporado a formulaciones fumígenas permitió buenas recuperaciones en humos. Estos formulados mostraron un alto efecto insecticida sobre larvas de moscas, característico de compuestos inhibidores de crecimiento de insectos.

El análisis conformacional del complejo demostró que la ciclodextrina adopta una forma elipsoide y que su estequiometría es 1:1.

Palabras claves: piretroides- permetrina- β -cipermetrina- descomposición térmica- mezclas fumígenas- metoprene- β -ciclodextrina- estabilidad térmica- clorato de potasio- isomerización

Thermal stability and insecticidal activity of pyrethroids and methoprene in fumigant formulations

P. González Audino

Fumigant insecticide formulations are nowadays very important tools for the control of Chagas disease vectors owing to our laboratory work. In this work, we report the fate and thermal decomposition of pyrethroid insecticides in fumigant formulations. It was established that decomposition and thermal isomerization of pyrethroids in fumes are significantly decreased by incorporation of smoking agents to the mixture (cyanoguanidine and azodicarbonamide).

It was demonstrated that potassium chlorate, one of the fumigant mixture components, catalyzes *cis-trans* thermal isomerization of pyrethroid insecticides. The same was observed for other oxoacids salts.

We analysed decomposition products of permethrin and β -cypermethrin in fumigant smokes formed by thermolysis. These products mainly arise from ester bond cleavage and oxidation of the products.

Mixtures containing β -cypermethrin as insecticide and azodicarbonamide as smoking agent showed the greatest insecticidal activity against *T. Infestans*.

In the second part of this work, the aim was to evaluate methoprene, a juvenoid insecticide of low thermal stability, as the active ingredient in fumigant compositions. In order to increase its stability, it was included in β -cyclodextrin and the complex was characterised by X Ray diffraction, thermoanalytical techniques and molecular modelling. This complex when incorporated to fumigant mixtures allowed a significant increase in methoprene recovery in fumes as well as a significant improvement in its larvicidal activity against *M. domestica*.

On the other side, the geometry of the inclusion complex was studied by conformation analysis and Molecular Modelling. it was observed that the β -cyclodextrin molecules are elliptically distorted and stoichiometry showed to be 1:1.

Key words: pyrethroid- permethrin- β -cypermethrin- thermal decomposition- fumigant mixtures- methoprene- β -cyclodextrin-thermal stability- potassium chlorate- isomerization

INDICE

PARTE I. ESTABILIDAD TERMICA Y ACTIVIDAD INSECTICIDA DE INSECTICIDAS PIRETROIDES

Introducción

I. Antecedentes	
Piretrinas Naturales	1
Evolución química de los piretroides	2
Perfil toxicológico	4
II. Reacciones de descomposición no hidrolítica	
Fotodegradación	6
Termólisis	11
Isomerización química	14
III. Enfermedad de Chagas. Formulaciones fumígenas utilizadas para su control	19
OBJETIVOS	21

Materiales y métodos

MATERIALES	
Sustancias químicas	22
Material biológico	24
<i>Triatoma infestans</i> (vinchuca)	24
<i>Musca domestica</i> (mosca común)	24
METODOLOGIA	
Síntesis de productos de descomposición	25
Cloruro de 3-fenoxibencilo	25
3-Fenoxibencilonitrilo	25
Ensayos de combustión	25
Preparación de las mezclas fumígenas por mezcla de sólidos	25
Preparación de las mezclas fumígenas en solución	26
Recuperación del insecticida en humos	26
Análisis de los residuos en la pastilla	26
Análisis por CGL cuantitativos y cualitativos	26
Análisis de isomerización térmica por combustión	27
Análisis de isómeros de cipermetrina por HPLC	27
Reacciones de descomposición e isomerización por calentamiento	27
Reacciones de isomerización en solución	27

Ensayos calorimétricos de las formulaciones fumígenas	27
Calorimetría de barrido diferencial	28
Análisis termogravimétrico	28
Medición de presión a la salida del frasco de combustión de la mezcla fumígena	28
Residuo sólido	28
Evaluación biológica de efecto insecticida	28
Mezclas fumígenas	28
Evaluación de actividad biológica de cipermetrina en sus diferentes composiciones isoméricas	29
Análisis estadístico de los resultados	29

Resultados y discusión

I. Recuperación de piretroides en humos liberados a partir de mezclas fumígenas	31
Influencia del estado físico de la formulación fumígena	32
Influencia de agentes productores de gases y antioxidantes en la recuperación	32
Influencia de la concentración inicial de insecticida en la recuperación y en el porcentaje de residuo en la pastilla	35
II. Isomerización térmica de piretroides	38
Isomerización durante la combustión de la mezcla fumígena	38
Permetrina	38
β-cipermetrina	40
Isomerización por calentamiento	44
Reacciones en fase sólida : catálisis por ClO ₃ K	44
Reacciones en fase sólida: catálisis por otras sales	50
Isomerización térmica de otros piretroides	50
Isomerización catalizada por KClO ₃ en solución	52
Isomerización térmica de piretroides ópticamente activos	53
III. Productos de descomposición térmica de piretroides	56
Caracterización de estándares y sustancias de referencia	56
Productos de descomposición formados a 210 °C	57
<i>cis</i> -permetrina	57
β-cipermetrina	60
Productos formados durante la combustión de la mezcla fumígena	62
<i>cis</i> -permetrina	62
β-cipermetrina	62
IV. Estudios calorimétricos de las formulaciones	71
Calorimetría de barrido diferencial	71
Liberación de gases	74
Termogravimetría y Residuos Sólidos	74

V. Evaluación de actividad biológica de humos producidos por mezclas fumígenas insecticidas	76
Efectividad de <i>cis</i> -permetrina y β -cipermetrina en mezclas fumígenas formuladas con distintos agentes espumígenos	76
Efecto de la incorporación de agentes expurgantes a la mezcla fumígena	77
Evaluación de la actividad insecticida de mezclas isoméricas de cipermetrina	79

CONCLUSIONES	80
--------------	----

PARTE II. ESTABILIDAD TERMICA Y ACTIVIDAD INSECTICIDA DE METOPRENE, INSECTICIDA INHIBIDOR DEL CRECIMIENTO DE INSECTOS

Introducción

I. Metamorfosis de insectos e insecticidas reguladores de crecimiento (IGR)	83
II. Formulaciones en ciclodextrinas	86
Preparación de complejos de inclusión	87
Caracterización de los complejos de inclusión	88
III. Formulaciones fumígenas de Insecticidas Reguladores del Crecimiento	89
IV. Química Computacional y Modelado Molecular	90

OBJETIVOS	92
-----------	----

Materiales y métodos

MATERIALES	93
METODOLOGIA	93
Preparación del complejo de inclusión metoprene- β -ciclodextrina	93
Caracterización del complejo	93
Ensayos de combustión	93
Preparación de mezclas fumígenas con metoprene	94
Recuperación del insecticida en humos	94
Modelado Molecular del complejo metoprene β -ciclodextrina	94
Conformación de la β -ciclodextrina	94
Conformación del metoprene	95
Conformación del complejo	95
Evaluación de actividad biológica de mezclas fumígenas conteniendo metoprene	96

I. Complejo de inclusión de metoprene en β -ciclodextrina	97
Obtención y caracterización del complejo	97
Obtención	97
Contenido de metoprene en el complejo	97
Difracción de Rayos X	97
Análisis termogravimétrico	98
II. Ensayos de recuperación de metoprene en humos	99
Mezcla fumígena	99
Recuperación de metoprene en humos	99
III. Actividad biológica de mezclas fumígenas con metoprene	101
IV. Modelado Molecular del complejo metoprene β -CD	103
Conformación espacial de la β -CD	103
Conformación del metoprene	107
Conformación del complejo β -CD metoprene	110
CONCLUSIONES	116
CONCLUSIONES FINALES	117

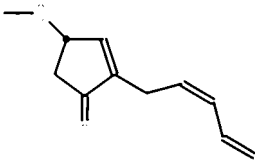
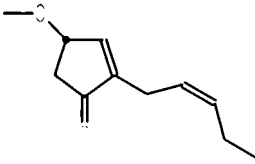
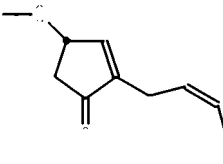
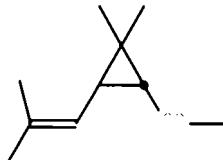
PARTE I: *Estabilidad térmica y actividad insecticida de compuestos
piretroides en formulaciones fumígenas*

I. Antecedentes históricos

Piretrinas

Las piretrinas son insecticidas naturales presentes en el extracto de piretro. Este extracto se obtiene de las flores de *Chrysanthemum cinerifolius* (piretro) que crece naturalmente en las montañas del Cáucaso y en Dalmacia. Comparado con otros insecticidas de origen vegetal, estos compuestos tienen alta efectividad y rápida acción contra un gran número de insectos, y son prácticamente inocuos para los animales, el hombre y el medio ambiente. Su baja estabilidad frente a factores ambientales como el aire y la luz limitan su uso en plagas agrícolas.

Las flores secas y molidas ya eran usadas como insecticidas en la China antigua y posteriormente en la Edad Media en Persia. Hace casi dos siglos los comerciantes armenios las introdujeron en Europa con el nombre de 'polvo pérsico' o 'polvo insecticida'. Más tarde comenzó su cultivo en Dalmacia y posteriormente en Japón, Brasil y USA. Actualmente se obtienen los extractos o aún las flores secas molidas de plantaciones en Kenia, Tanzania y Colombia. Las piretrinas se extraen de las flores con mezclas de metanol y queroseno o éter de petróleo y acetonitrilo entre otras mezclas. El producto de extracción es una mezcla oleosa que contiene seis piretrinas (Tabla 1).

<u>Componente ácido</u>	 Piretrolona	<u>Componente alcohólico</u>  Jasmolona	 Cinerolona
 ácido crisantémico	Piretrina I 35%	Jasmolina I 5%	Cinerina I 10%

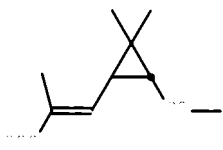
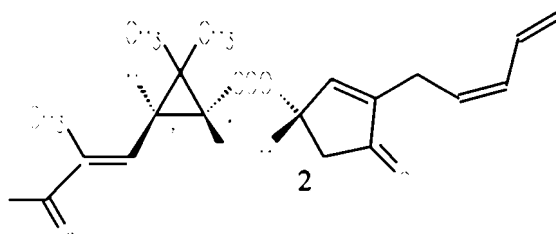
 <p>ácido crisantemúmico dicarboxílico ácido pirétrico</p>	<p>Piretrina II 33%</p>	<p>Jasmolina II 4%</p>	<p>Cinerina II 14%</p>
---	-----------------------------	----------------------------	----------------------------

Tabla 1. Piretrinas

Estas moléculas son ésteres ópticamente activos del ácido crisantémico (monocarboxílico) y del ácido pirétrico (dicarboxílico) con ciclopentenonas sustituidas ópticamente activas. La Piretrina II es menos activa pero de mayor velocidad de acción que la Piretrina I. La Piretrina I es el componente más activo del piretro. La Piretrina II contiene 5 centros que definen su estereoquímica :



La configuración absoluta es 1-R *trans* y E en el ácido, y S y Z en el alcohol.

Debido a su propiedades favorables para el uso en interiores, contra insectos en alimentos y en ambientes humanos, el piretro es todavía un producto en uso. Sus formulaciones y su producción en cultivos celulares son aún objeto de estudio.

Evolución química de los insecticidas piretroides

La síntesis de análogos sintéticos de las piretrinas con el objetivo de obtener insecticidas de mayor efectividad y mayor estabilidad química comenzó hace más de treinta años y sigue siendo un objetivo en la actualidad. Hace 30 años, la definición de piretroides comprendía a insecticidas sintéticos con propiedades altamente lipofílicas y cuyas estructuras eran fácilmente relacionadas con las de sus precursores las piretrinas.

En los últimos años las variaciones estructurales han convergido en fórmulas estructurales que no tienen ningún parecido cuando son dibujadas en el plano. Las similitudes en la forma tridimensional, en las propiedades físicas relacionadas con el volumen espacial (tamaño, distribución de carga, propiedades electrodonantes y electroceptoras) y en el modo y sitios de acción en la membrana nerviosa, pueden ser agrupados y distinguidos del resto de los insecticidas, excepto del DDT. Desde los puntos de vista farmacológico y electrofisiológico,

el DDT y sus análogos son similares a los piretroides; pero difieren en aspectos estructurales.

No debe confundirse el nombre piretroide con el de sus ancestros naturales las piretrinas, ya que como se dijo anteriormente los piretroides son insecticidas sintéticos.

Además de una serie de requerimientos estructurales, se necesita un rango definido de lipofilia para que un piretroide tenga acción insecticida, aunque no hay correlación entre lipofilia y toxicidad. Sin embargo existe una correlación entre la penetración a través del tejido nervioso hacia el blanco de acción con la lipofilia. Los compuestos más polares como piretrina I o tetrametrina actúan más rápido en términos del *knock down* (volteo) de los insectos.

Las primeras variaciones sintéticas que condujeron a los primeros piretroides, fueron hechas por Staudinger y Ruzicka en Zurich hace más de 70 años, cuando dilucidaron la naturaleza química de las piretrinas y sintetizaron por primera vez el ácido crisantémico. Ellos mostraron que ciertos alcoholes bencílicos sustituidos y alcoholes insaturados de cadena larga producían crisantematos moderadamente activos.

El primer piretroide activo se parecía mucho a la piretrina I natural. Este compuesto, llamado aletrina (Fig. 1), fue sintetizado por Schechter y LaForge y 50 años después se sigue utilizando como insecticida doméstico.

En 1949 Synerholm retomó los trabajos de Staudinger, buscando ésteres bencílicos más activos. Cuando el investigador inglés Michael Elliott entró en el campo de esta investigación, en los 1950's, aumentó notablemente el desarrollo de crisantematos de metilo, arilo y heteroarilo. Al mismo tiempo, Farkas, Sorm y Kurim sustituyeron los metilos de la cadena vinílica del ácido crisantémico por cloros, obteniendo así el ácido permetrínico (Fig. 1) cuya importancia no se reconoció en ese momento.

Un primer gran cambio en términos de actividad fue el descubrimiento de la N-hidroximetil tetrahidroftalimida y de 3-hidroximetil-5-bencilfurano como alcohol (Fig. 1) debido a Kato (1964) y Elliot (1967) respectivamente (1). Pero los piretroides recién tomaron gran importancia comercial como insecticidas agrícolas con el descubrimiento del *m*-fenoxibencil alcohol en manos de Elliott (1968), quien lo combinó con el ácido permetrínico y obtuvo permetrina y cipermetrina (Fig. 1). Estas nuevas moléculas resultaron relativamente estables y pudieron ser utilizadas en agricultura. La introducción de un grupo α -ciano, mejoró aún más la actividad (Matsuo, 1971) así como lo hizo el átomo de flúor en la posición 4 del *m*-fenoxibencil alcohol o la sustitución de un cloro por un grupo CF₃ (Huff, 1977). La deltametrina (Fig. 1), un isómero óptico puro, descubierta por Elliot en 1974, resultó tener una actividad insecticida no alcanzada hasta el momento. Al mismo tiempo, fue descubierto por Ohno en 1972 un compuesto estructuralmente diferente pero isostérico, llamado éster α -isopropilfenilacético o fenvalerato (Fig. 1), que era menos activo pero era más fácil de sintetizar y tenía el mismo modo de acción. El desarrollo de nuevos piretroides continúa y continúa en la actualidad en menor proporción (1).

Las variaciones estructurales obtenidas a lo largo de más de 30 años han dado lugar a insecticidas que a primera vista en nada se parecen a la piretrina original. Sin embargo, se

mantiene la forma y la distribución geométrica de las propiedades físicas sobre la superficie de las distintas moléculas piretroides.

Mínimas variaciones en la estructura, en los sustituyentes o en la estereoquímica conducen a moléculas inactivas. El análisis de las estructuras inactivas contribuye a entender cómo sería en esencia la molécula ideal y cual sería su conformación.

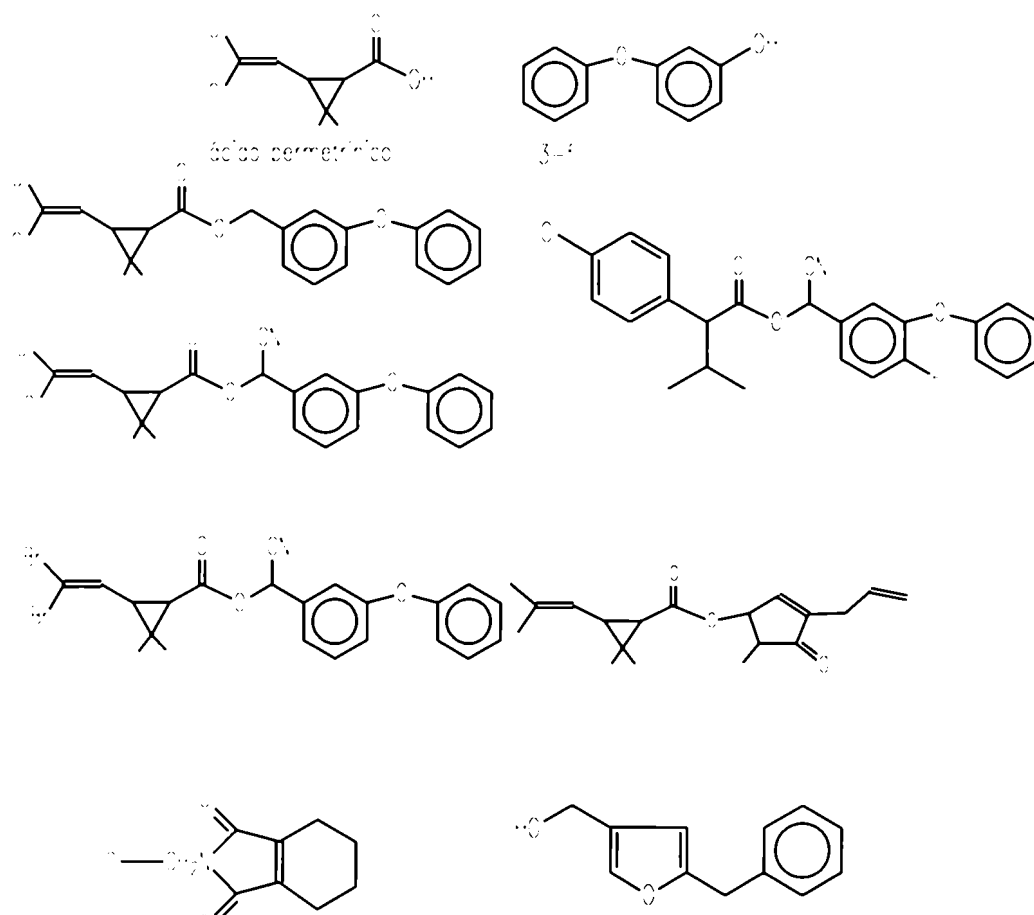


Figura 1. Desarrollo histórico de los piretroides

Perfil toxicológico

Los piretroides son insecticidas neurotóxicos que actúan a nivel de los axones en los sistemas nervioso central y periférico por interacción con los canales de sodio dependientes de voltaje, tanto en mamíferos como en insectos (2). Una dosis única produce en mamíferos signos de intoxicación: temblores, hiperexcitabilidad, salivación, coreo-atetosis y parálisis. Los signos desaparecen rápidamente y los animales se recuperan generalmente en el período de una semana. En dosis cercanas a la letalidad, los piretroides pueden causar cambios transientes en el sistema nervioso, como *swelling* axonal y rupturas y degeneraciones de la mielina en los nervios ciáticos. No se consideran capaces de producir neurotoxicidad

demorada como algunos compuestos organofosforados. Con respecto al mecanismo de acción, los piretroides actúan directamente sobre el axón interfiriendo en el mecanismo de apertura de canales de sodio dependientes de voltaje que soporta la generación y conducción de los impulsos nerviosos. Los canales de sodio dependientes de voltaje pueden adoptar al menos dos estados conformacionales: abierto y cerrado. Los piretroides no afectan la transición del estado cerrado al abierto, pero sí alteran la transición del estado abierto al cerrado. De esta manera se producen trenes de impulsos nerviosos que producen electrofisiogramas característicos. Aunque todos los piretroides tienen el mismo mecanismo de acción, la velocidad de relajación difiere para cada piretroide.

Basándose en estudios electrofisiológicos con preparaciones de nervios periféricos de rana, se ha dividido a los piretroides en dos clases : Tipo I y Tipo II (69).

Son no ciano piretroides: permetrina, aletrina , fenotrina, tetrametrina, cismetrina y bioresmetrina (Tipo I) y Ciano Piretroides : deltametrina, cipermetrina, fenvalerato, fenpropanato (Tipo II)

Algunos piretroides (deltametrina, fenvalerato, cipermetrina) pueden causar irritación dérmica, picazón o una sensación de quemazón sobre la piel en humanos.

En mamíferos, los piretroides son metabolizados generalmente por hidrólisis del éster, oxidación y conjugación. La tendencia a la bioacumulación en organismos es mínima.

En el ambiente son rápidamente degradados tanto en los suelos como sobre las plantas. Según se detallará más adelante en esta Introducción, los productos de degradación más importantes son derivados de la hidrólisis y la oxidación. Se adsorben fuertemente sobre el suelo y los sedimentos, y no son eluidos por el agua.

Debido a las bajas dosis de aplicación y su rápida degradación ambiental, los residuos encontrados en alimentos son mínimos.

Los piretroides sintéticos han demostrado, en ensayos de laboratorio, ser tóxicos para peces, artrópodos acuáticos y abejas. Pero en la práctica no se han observado efectos adversos serios debido a las bajas dosis de uso y a su falta de persistencia en el ambiente. Su toxicidad en aves y animales domésticos es baja.

II. Reacciones de descomposición no hidrolítica

Fotodegradación

La fotoquímica de los insecticidas es un área que ha sido objeto de gran estudio. Para determinar la estabilidad de los plaguicidas es necesario conocer los caminos de fotodegradación, la identidad de sus fotoproductos y su toxicología. En muchos casos los fotoproductos son los mismos compuestos que se obtienen como metabolitos, y en estas casos las reacciones fotoquímicas pueden utilizarse para su síntesis.

Las piretrinas no son adecuadas para uso en agricultura debido a su sensibilidad frente a la oxidación con su consecuente tiempo de vida corto en el ambiente. Los primeros análogos sintéticos, como la aletrina, mantenían la actividad insecticida pero no tenían aún una estabilidad adecuada. Los piretroides fotoestables desarrollados posteriormente contienen sustituyentes que evitan las reacciones de oxidación. El cambio en la funcionalidad y la estereoquímica de los piretroides de segunda generación produjo cambios en las reacciones fotoquímicas, pero su lipofobicidad no permite realizar estudios de descomposición química en medios acuosos.

Las reacciones de descomposición más observadas para piretroides fotoestables son isomerización, dehalogenación, descarboxilación y ruptura del enlace éster (3,4). Las oxidaciones son las reacciones principales en el caso de los crisantematos, pero son caminos secundarios para piretroides derivados del ácido permetrínico como los que fueron objeto de nuestro estudio.

Fotoisomerización

Uno de los primeros fotoprocesos identificados fue la isomerización del enlace C1-C3 del anillo ciclopropano (5). Esta reacción puede producirse en forma directa o sensibilizada por radiación, y procede probablemente por la formación de un dirradical triplete seguido por el cierre del anillo (Fig. 2)

El dirradical formado puede disproporcionar eliminando un carbeno dihalovinílico y produciendo ésteres de dimetilacrilato o ciclarse formando una lactona de cinco miembros.

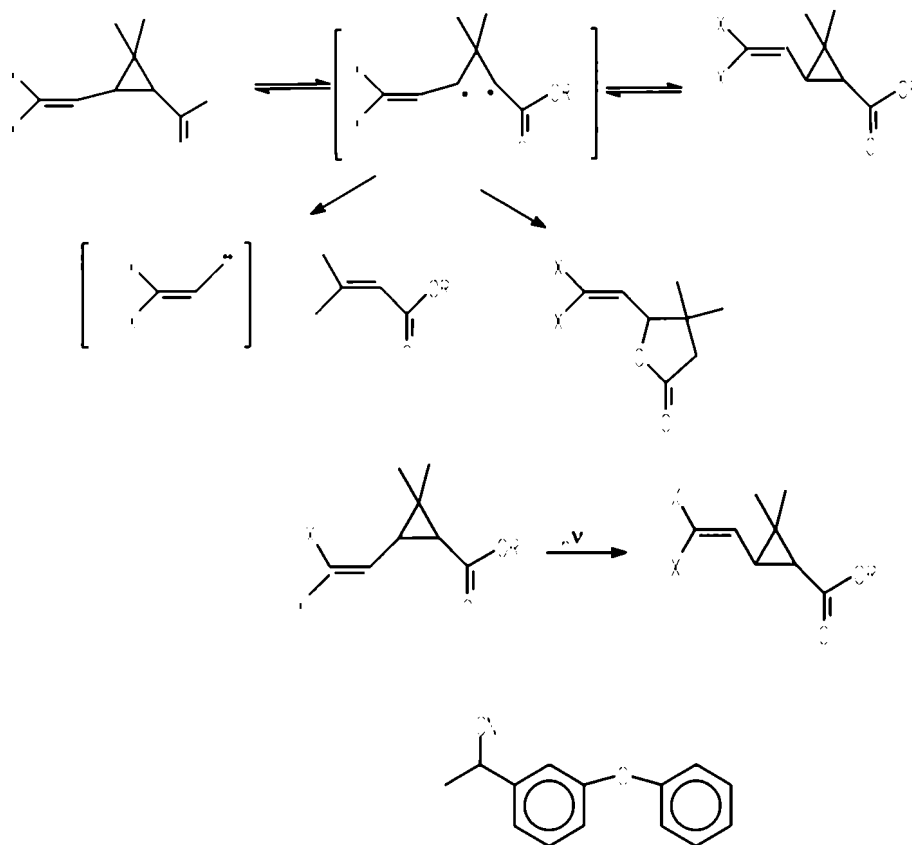


Figura 2. Isomerización fotoquímica de piretroides

Los piretroides que contienen el sustituyente dibromovinilo se isomerizan más eficientemente que los que contienen el sustituyente diclorovinilo e isobutenilo. La irradiación del fragmento ácido de la permetrina a 300 nm resulta en la formación de cantidades detectables (1%) del isómero *trans* sólo después de largos tiempos de exposición (10 veces el tiempo requerido para el 20% de conversión del compuesto dibromovinílico). La velocidad de reacción puede incrementarse por irradiación en presencia de bromopropano en metanol (6)

La sustitución por átomos pesados en el solvente o en el sustrato facilita las interconversiones singlete- triplete (cruzamiento intersistemas) y por lo tanto afecta la población del estado excitado y su tiempo de vida .

Se ha observado que sobre la superficie de las plantas se obtiene más isómero *trans* a partir de la deltametrina que de la 1 R, *cis* permetrina.

La proporción de isómero *trans* obtenida es afectada por la naturaleza del fragmento alcohólico de la molécula de piretroide. Los piretroides con sustituyente 3-benzoilo y 3-fenilbencilo sufren predominantemente procesos de transferencia de energía en solución

desgaseada de benceno. El rendimiento cuántico depende de la eficiencia de la transferencia de energía intramolecular que conduce a la isomerización en el enlace C1-C3.

Por eso, si comparamos los ésteres cuyos fragmentos ácidos sufren isomerización *cis-trans* con aquellos en los que no ocurre (Fig. 2), se observa una diferencia de velocidad de sólo cuatro veces en la velocidad de reacción con 3-fenoxibencilo o 3-fenilbencilo en el fragmento alcohólico en contraste con las diferencias de 30 a 100 veces con los compuestos sustituidos con 3-benzoil-bencilo.

Ruptura de los enlaces carbono-halógeno

La deltametrina (7), permetrina (8) y sus fragmentos ácidos (6) son dehalogenadas reductivamente con eficiencias cuánticas dependiendo de la energía de la unión carbono-halógeno y de la longitud de onda de la radiación. La capacidad donadora de hidrógeno y la viscosidad del solvente determinan el rendimiento del producto dehalogenado reductivamente. Estos resultados avalan un mecanismo que comprende una ruptura homolítica inicial para formar un par radical que puede recombinarse o reaccionar con el solvente (Fig. 3).

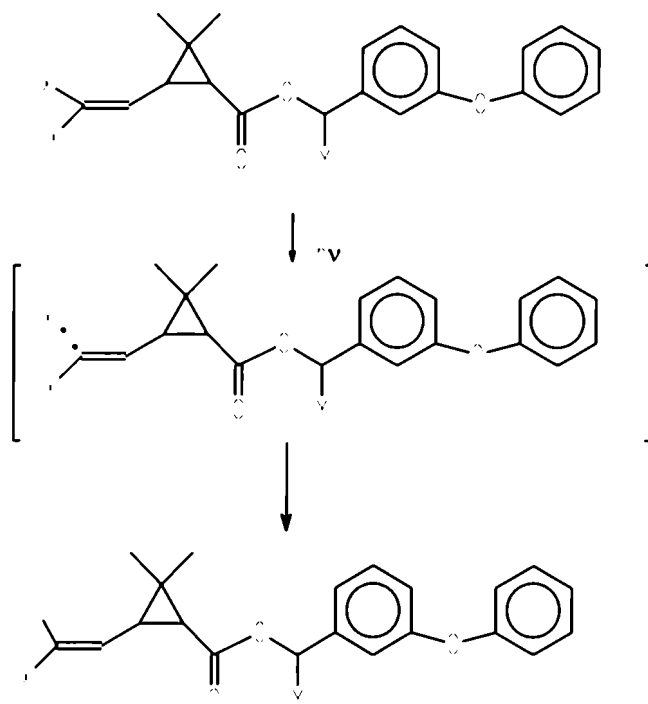


Figura 3. Dehalogenación fotoquímica de piretroides

La deltametrina (7) y su ácido (6) cuando son irradiados a 300 nm en solución metanólica producen preferentemente el isómero *cis*-dehalogenado que se obtiene por *trans*-dehalogenación.

Esta preferencia es probablemente resultado de una reacción secundaria del radical vinilo producido por *cis*-dehalogenación con el grupo metilo más cercano, disminuyendo así la concentración del intermediario que daría origen al isómero *trans* (6). Esta selectividad desaparece progresivamente con el aumento de la capacidad donadora de hidrógeno del solvente.

La debrominación es el mayor camino de degradación de los piretroides tralometrina y tralocitrina que producen deltametrina y cipermetrina respectivamente. La reacción comprende la ruptura homolítica del enlace C-Br.

La producción de derivados dehalogenados disminuye cuando los solventes son pobres como donores de hidrógeno (benceno). En este caso se obtienen sustancias poliméricas por reacción de los radicales halógeno formados. A bajas concentraciones de sustrato esta reacción disminuye y se obtienen mayores cantidades de deltametrina y cipermetrina. La fotólisis en benceno y en presencia de trietilamina aumenta cuantitativamente las reacciones de debrominación. Esto es probablemente resultado de dos factores: reacciones de transferencia electrónica que convierten bromo a bromuro y ruptura del enlace C-Br asistida por la base.

Reacciones de ruptura del enlace éster

La ruptura de la unión éster es un camino de degradación fotoquímica general encontrado en todos los piretroides estudiados hasta el momento (3,4). Puede proceder por disociación directa a carboxilato y radical alquilo como resultado de reacción nucleofílica con el solvente. Aunque el ácido y el alcohol libres son productos mayoritarios de degradación para muchos piretroides, a niveles de conversión comparables se produce más ruptura del enlace éster en los piretroides halogenados que en los derivados de crisantémico, en los cuales predominan las reacciones de oxidación (9).

La permetrina da como productos el ácido diclorovinílico y el 3-fenoxibencil alcohol, aldehído y ácido, así como pequeñas cantidades de fenoles provenientes de la reacción de grupo difenil éter (8), 3-fenoxibencildimetilacrilato.

Los isómeros *cis* y *trans* de la permetrina dan rendimientos similares de estos productos.

La deltametrina y el fenvalerato (10) tienen la misma unidad alcohólica y dan similares productos de degradación (Fig. 5)

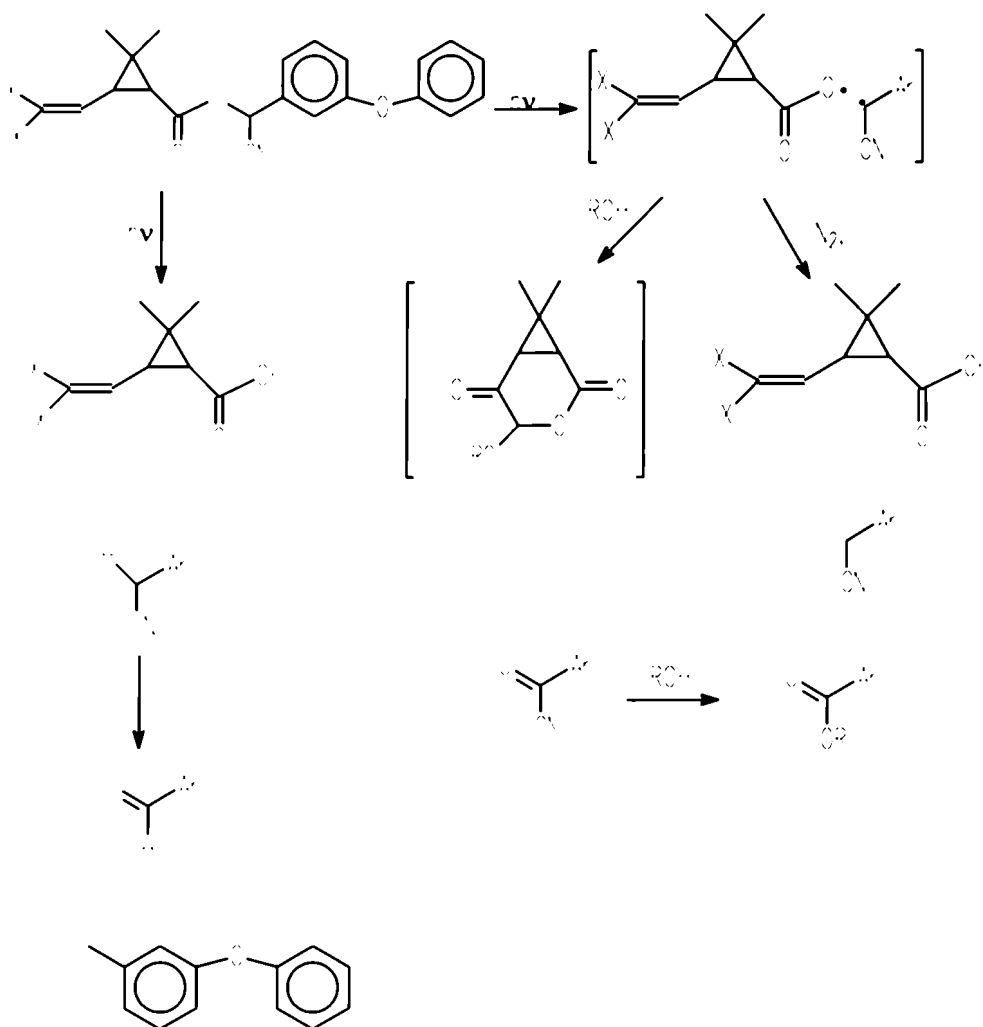


Figura 5. Ruptura fotoquímica del enlace éster y de la unidad alcohólica

En el caso de la deltametrina, se encuentran cantidades sustanciales de α -ciano-3-fenoxibencil alcohol, 3-fenoxibencil alcohol, 3-fenoxibenzaldehído y ácido, así como pequeñas cantidades del dímero del fenoxibencilo. En ausencia de oxígeno, un producto de degradación importante de cipermetrina y deltametrina es 3-fenoxibencilnitrilo, mientras que en metanol oxigenado el producto principal de ruptura de deltametrina, cipermetrina (11) y fenvalerato (10) es metil-3-fenoxibenzoato. En soluciones oxigenadas de hexano fue identificado el precursor de este producto como cianuro de 3-fenoxibenzoílo. Este último proviene presumiblemente de la reacción de radical bencilo con oxígeno (Fig. 5).

Las unidades ácidas de deltametrina y cipermetrina forman nuevos productos por reacción con oxígeno (12) dando derivados de caronaldehído a partir de la ruptura del sustituyente dihalovinílico, así como un compuesto tentativamente caracterizado como lactona A (Fig. 5), solamente formado a partir de los isómeros *cis*. La unidad ácida de fenvalerato también sufre reacciones secundarias de eliminación, oxidación y dimerización (10).

La descarboxilación es un camino principal de degradación para el fenvalerato, pero es menor para deltametrina y cipermetrina (Fig. 6).

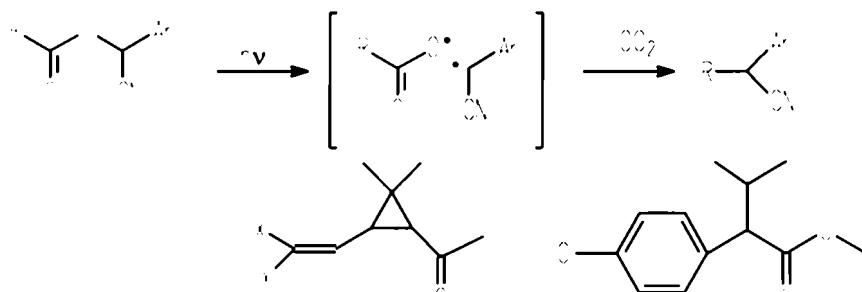


Figura 6. Descarboxilación de piretroides

Ha sido observado que esta reacción depende de la estabilidad de los radicales formados inicialmente (12), y por esa razón no se observa descarboxilación de la permetrina (8). Cuando se irradia un solo isómero, como 1R *cis* α -(S)-cipermetrina, se obtienen dos o más isómeros descarboxilados, avalando la intermediación de un proceso no concertado con participación de radicales de tiempos de vida por lo menos moderados.

La baja solubilidad de los piretroides en agua ha dificultado el estudio de las fotoreacciones en este solvente. Sin embargo, se han usado mezclas acetonitrilo- agua y se ha observado la formación de productos similares a los obtenidos en metanol (7,10).

Otros resultados obtenidos en soluciones micelares revelan distribuciones de productos parecidas a las obtenidas en solventes orgánicos y velocidades similares a las obtenidas en acetonitrilo- agua.

Termólisis

Los piretroides y piretrinas han sido ampliamente usados como insecticidas domésticos: en forma de humos producidos por la quema de espirales o evaporados a partir de tabletas impregnadas y calentadas a 120-180 °C. Por este motivo, se han realizado estudios sobre la estabilidad térmica y la descomposición térmica de estos piretroides con el objetivo de predecir las condiciones de su uso y la seguridad del mismo. Los piretroides y piretrinas usados en estas formulaciones domésticas son aletrina, piretrina I, propartrin y furametrina y sobre estos mismos insecticidas se han hecho estudios de estabilidad y descomposición térmicas (13-17); no obstante, son muy pocos los estudios realizados acerca del comportamiento térmico de piretroides.

En el caso de los piretroides estudiados en esta tesis, no se pudo encontrar información previa acerca de su estabilidad térmica.

La furametrina comparte con los piretroides objeto de nuestro estudio algunas características en su estructura química, por lo que es de interés describir aquí sus productos de descomposición térmica que han sido previamente estudiados (18).

Las temperaturas iniciales de vaporización y de descomposición térmica de la furametrina técnica son 120°C y 256°C respectivamente, según fueron determinadas por Análisis Térmico Diferencial. La pirólisis por calentamiento en atmósfera a 200°C durante 7 hs da como resultado una sustancia gomosa formada por dos fracciones: una soluble en acetato de etilo y otra marrón oscura insoluble. El análisis por CGL de la fracción oleosa da como resultado siete picos, aparte del de furametrina. La estructura de los productos formados y sus posibles caminos de formación se detallan en la Figura 7.

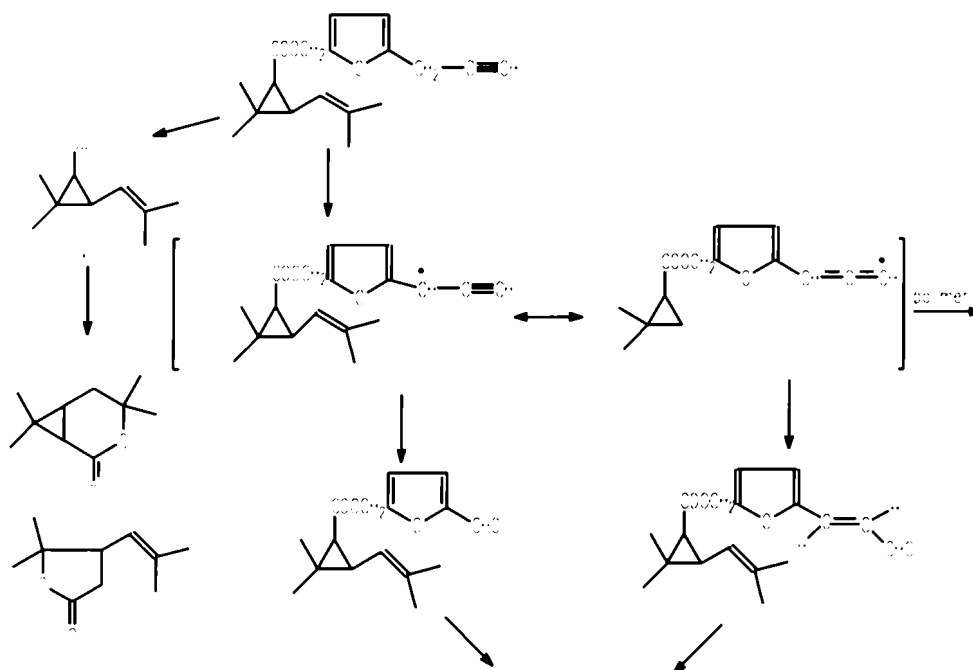


Figura 7. Productos de pirólisis de furametrina

No se encontraron como productos de descomposición la unidad alcohólica de la furametrina ni sus derivados (propargilfurfural, furfuralcohol, furfural).

Las lactonas V y VI se encontraron como productos de pirólisis de furametrina técnica pero no de la recristalizada. La relación *cis*: *trans* de la furametrina técnica es 20:80, mientras que la de la recristalizada es 5:95. Esto indica que la *cis*- furametrina es eliminada por recristalización en metanol: agua 11:1. Según ya había sido descrito, a 300- 400°C aún el ácido *trans*- crisantémico se isomeriza a lactonas (V y VI), pero sólo el *cis*- crisantémico lo hace a 150-200 °C. Esto explica la ausencia de las lactonas en los productos de pirólisis de la furametrina recristalizada.

No se encontró la formación de 5-propadienilfurilmetil crisantemato (PDC), producto que podría provenir de la isomerización del grupo propargilo de la furametrina. Como por pirólisis de PDC a 200°C se obtienen II, III, y IV y aumentando el tiempo de calentamiento se produce la desaparición de III y el aumento de IV, se sugieren los caminos de formación de estos productos mostrados en la Figura 7. Inicialmente el oxígeno abstrae un radical H del grupo propargilo de la furametrina y luego se forma un radical alenilo por

reordenamiento (VIII). Los radicales propargilo y alenilo en equilibrio radical estarían sujetos a oxidación por aire, produciendo II y III respectivamente.

El compuesto IV aparecería por pirólisis de I y originaría posteriormente, el V y VI. Puede asumirse que IV se forma por descomposición radicalaria de I, porque la hidrólisis de I daría el propargilfural metil alcohol. Pero ni este alcohol ni sus derivados fueron encontrados. La ausencia de alcohol también podría deberse a la polimerización radical en el anillo furano. Según datos de IR y análisis elemental el compuesto VII (fracción insoluble) se produciría por polimerización en el radical alenilo.

Para estudiar la estabilidad térmica de furametrina en su uso práctico, se impregnan tabletas de celulosa y se calientan a 120- 150°C durante 2 hs. El vapor generado se recoge en trampas frías de diclorometano. Se cromatografían por CGL la solución obtenida y el extracto del remanente en la tableta. Se encuentran en el residuo, además de la furametrina, los productos de pirólisis II y III (identificados por co-cromatografía con estándares). Estos productos no se encuentran en los vapores, que contienen solamente furametrina. Los derivados de pirólisis quedan en la tableta debido a sus bajas presiones de vapor.

Para estudiar la furametrina contenida en espirales para mosquitos, el humo formado se recoge en trampas similares a las anteriores y se analizan por CGL de la misma manera. Se compara el cromatograma obtenido con el de una espiral quemada sin insecticida para asignar los picos correspondientes a los componentes vegetales de la espiral, y se concluye que no se forman productos de pirólisis en el quemado de la espiral para mosquitos.

Existe otra reacción interesante que describe también el comportamiento térmico de los piretroides o sus precursores. Es un reordenamiento que sufren los ácidos dihalogenovinilciclopropano carboxilatos (19), precursores de los piretroides.

Cuando el éster alílico del ácido permetrinico se piroliza a 250 °C se obtiene como único producto de reacción el éster alílico del ácido *o*- toluico (Fig. 8). También se detecta la formación de ácido clorhídrico. Dan productos análogos el permetrato de metilo, y la *N,N*-diethylamida del ácido permetrinico.

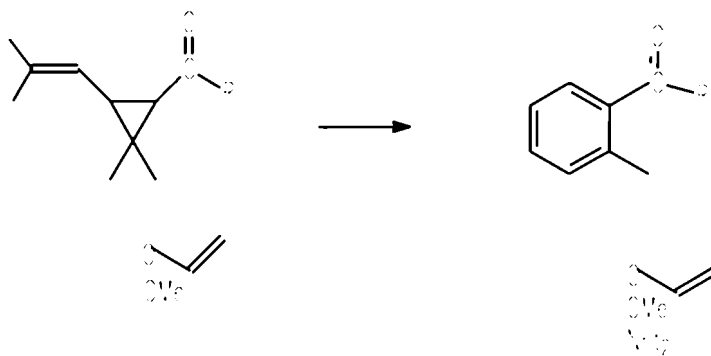
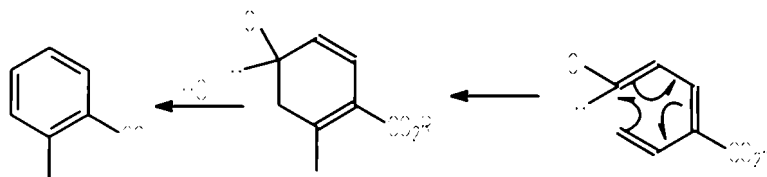


Figura 8. Aromatización de ésteres de ácido permetrinico a 260 °C.

Se postula el siguiente mecanismo de aromatización (19) :



Un desplazamiento de hidrógeno 1,5 inducido térmicamente (reacción retro-énica) conduce al dieno 1,4, el cual sufre en condiciones pirolíticas dehidroclorinación conjugada 1,4 para dar el trieno. Luego se cicla para dar el ciclohexadieno que se aromatiza por eliminación de HCl para dar el *o*-toluato de metilo.

Isomerización química

En los puntos anteriores se recopilaron los antecedentes publicados acerca de la isomerización de insecticidas producida por fotólisis y se describió la ausencia de información sobre isomerización por termólisis.

Respecto a la isomerización de compuestos piretroides catalizada por agentes químicos, no fue posible encontrar publicaciones sobre el tema. Existe en cambio abundante bibliografía, principalmente de patentes, referida a la isomerización de ácidos precursores de piretroides. Este hecho es debido al interés tecnológico comercial en la producción de isómeros específicos de mayor actividad biológica a partir de ácidos precursores de gran pureza isomérica (2).

Isomerización de ácido crisantémico

Solamente los enantiómeros 1R (Fig. 9) del ácido crisantémico tienen actividad insecticida. Cuando por síntesis del ácido se obtienen mezclas *cis-trans* racémicas, se pueden obtener los isómeros activos usando como reactivos aminas ópticamente activas.

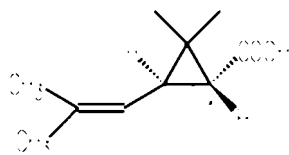


Figura 9. Estructura del ácido crisantémico

Si lo que se desea es separar racematos *cis* o *trans* a partir de mezclas *cis-trans* racémicas, se aprovechan la baja solubilidad del ácido *cis*, la mayor velocidad de saponificación del isómero *trans*, la capacidad del isómero *cis* de sufrir reacciones intramoleculares y las diferencias en las pK's de ambos isómeros.

Las bases fuertes epimerizan la posición α , levemente ácida, del grupo carboxi del ácido, sus ésteres y sus sales (20). De ese modo puede obtenerse, vía formación térmica de crisantemolactona (Fig. 10), no sólo la transformación del isómero inactivo 1S-*trans* en el isómero 1R-*cis* sino también la transición del 1S *cis* al 1 R *trans* (Fig. 11).

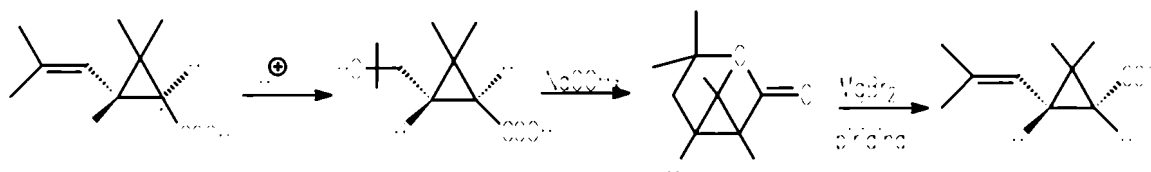


Figura 10. Isomerización de ácido crisantémico catalizada por bases

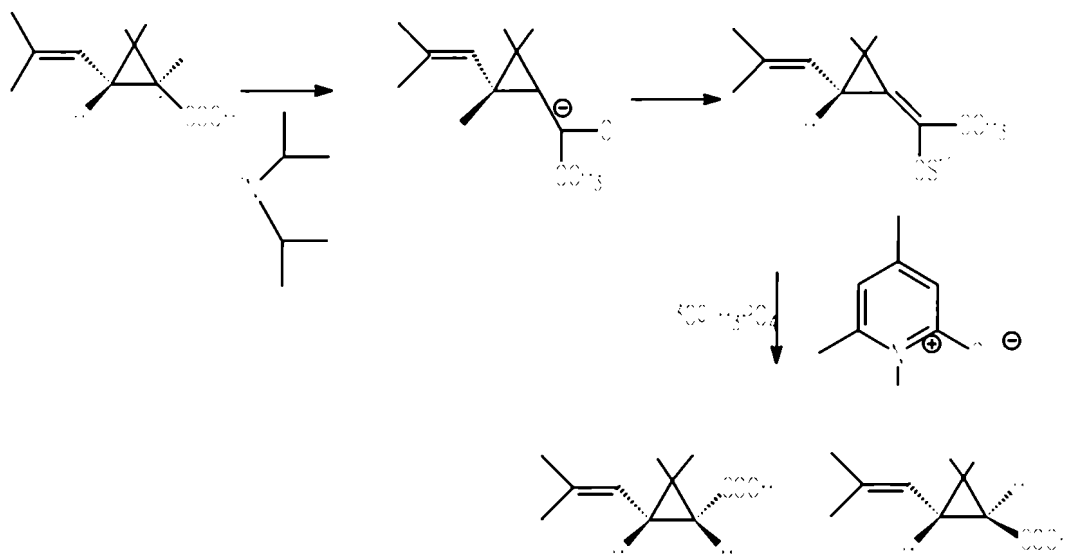


Figura 11. Isomerización del ácido crisantémico catalizada por bases fuertes

Mientras que en la reacción de la Figura 10 la epimerización está dada por la inversión piramidal del carbanión α del éster a través del plano del anillo y la fijación del *cis*-alcoholato como lactona, en la reacción de la Figura 11 la epimerización ocurre con la protonación de un intermediario plano usando un hidrocloreto impedido estéricamente.

La transformación de 1S *cis* a 1R *trans* está favorecida térmicamente, de modo que puede llevarse a cabo fácilmente utilizando una superbases sobre un soporte sólido inerte (Na.

NaOH. Al_2O_3) que reacciona con el éster (21) (Fig. 12). Además de epimerizar en el C α , se puede epimerizar el C β pasando por la apertura del anillo ciclopropano y por la formación de un ión carbonio con tricloruro de aluminio. De esta manera se puede transformar el 1S *cis* en el 1S *trans* (Fig. 12).

El tratamiento térmico del cloruro de crisantemoilo ópticamente activo sólo epimeriza en la posición α por pérdida reversible de HCl y posterior readición a la cetena intermediaria (22) (Fig. 12).

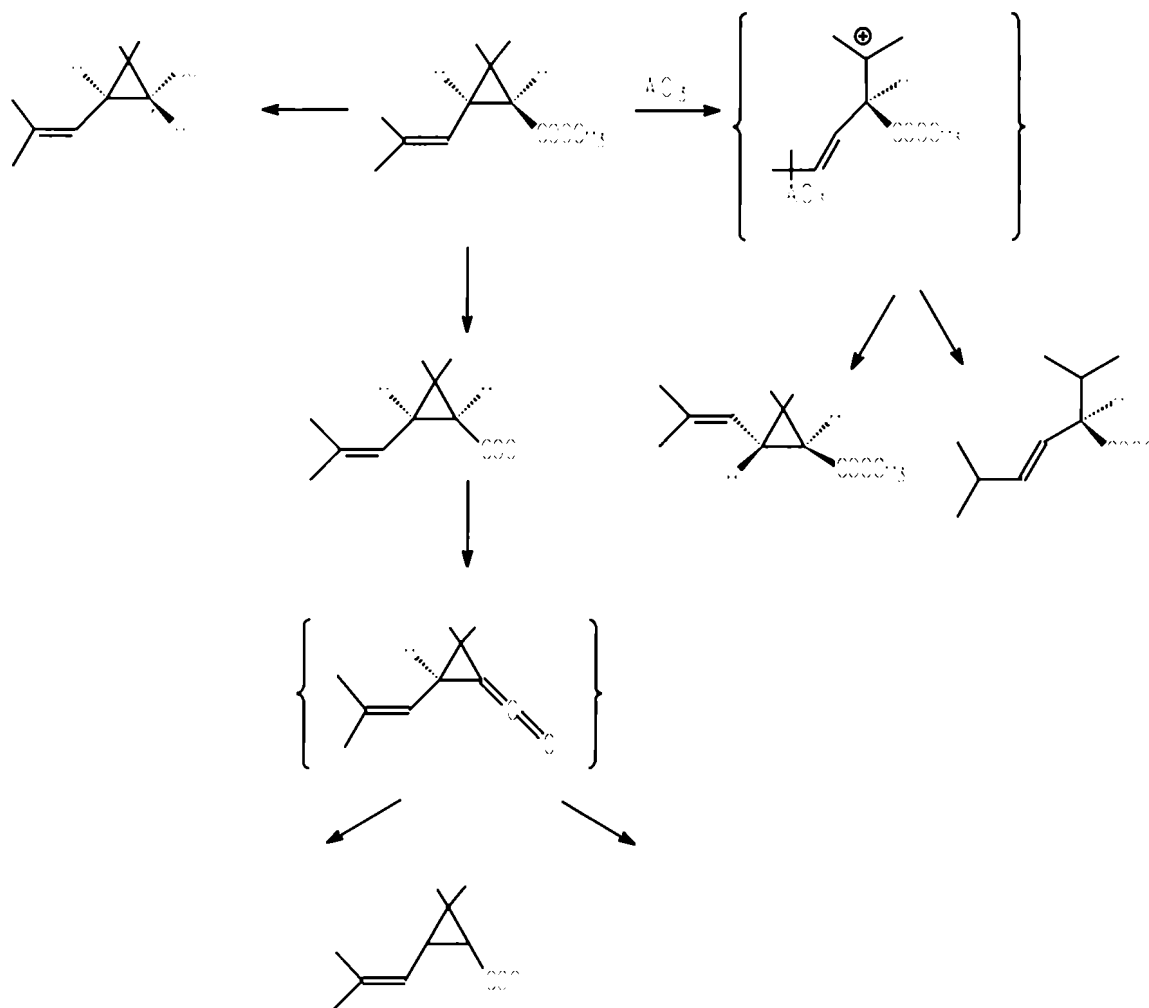


Figura 12. Reacciones de isomerización de ácido crisantémico

La epimerización en el C β solamente también puede ocurrir por tratamiento del ácido 1R *cis* crisantémico con dicloruro de paladio en benzonitrilo, obteniendo así el 1R *trans*.

Para la conversión de un isómero único del ácido crisantémico en su imagen especular (1S *trans* \longrightarrow 1R *trans*) es necesario invertir simultáneamente dos centros de asimetría, lo que es posible únicamente por completa estereoisomerización y ruptura reversible del enlace C1- C2 del anillo ciclopropano.

Esta ruptura puede obtenerse por tratamiento térmico del éster a 320°C, o por irradiación del ácido a 180°C, o iónicamente por acción de un ácido de Lewis como tricloruro de boro sobre el cloruro de ácido para dar el racemato *trans* (23, 24, 25). El tratamiento de una mezcla *cis-trans* del ácido libre con BF₃-éter permite la separación de la crisantemolactona descrita anteriormente a partir del ácido *trans*.

Además, el tratamiento del ácido *cis-trans* con ácido sulfúrico a 160°C produce el racemato *trans*. Por otro lado, el éster *trans* en pentano a temperatura ambiente, da lugar por agregado de ácido sulfúrico a una apertura irreversible del anillo en el enlace C2-C3. El tratamiento de anhídridos de configuración 1S a temperaturas moderadas y en presencia de yodo o de ácidos de Lewis produce pérdida de la actividad óptica.

El tribromuro de aluminio y el tribromuro de boro catalizan la racemización del ácido 1S y dicha reacción procede aún mejor en presencia de hidroperóxidos. También es útil la reacción del tribromuro de aluminio o del tribromuro de boro, en presencia de cantidades catalíticas de hidroperóxidos, con ésteres ópticamente activos a temperaturas bajas y moderadas.

Isomerización del ácido permetrínico

La resolución del ácido permetrínico racémico produce también el isómero 1S *trans*, que no es activo. Para transformar este isómero en su enantiómero es necesaria la ruptura del enlace C1-C3. La isomerización completa hasta una mezcla *cis-trans* racémico ocurre por influencia de la luz y sensibilizadores en el caso del éster o las sales, o por mecanismos iónicos en el caso del ácido, pasando por la formación de anhídrido y de un catión acilo (26) (Fig. 13).

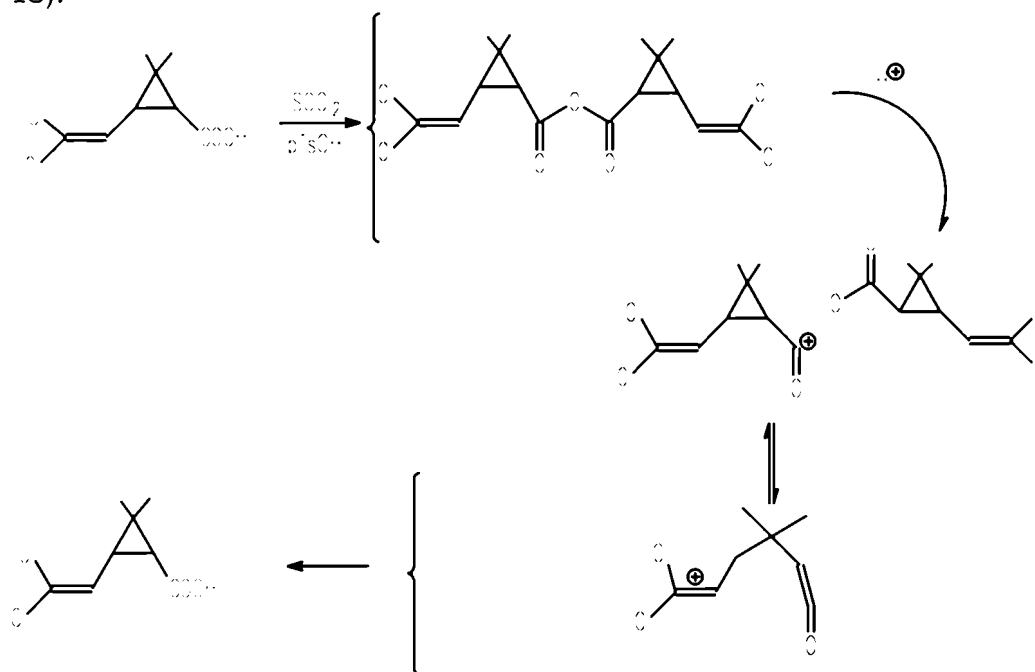


Figura 13. Isomerización de ácido permetrínico por cloruro de tionilo.

Por calentamiento a más de 110°C, el cloruro de ácido 1*S trans* epimeriza sólo en la posición α , vía cetena, para dar una mezcla en equilibrio de 1*R cis* y 1*S trans* (27) (Fig. 14).

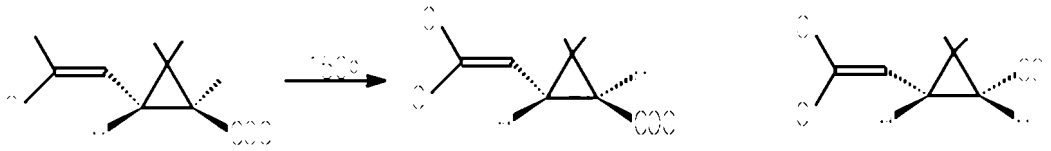


Figura 14. Isomerización de cloruro de ácido permetrínico

III. Enfermedad de Chagas. Formulaciones fumígenas utilizadas para su control.

La única endemia transmitida por insectos que tiene importancia epidemiológica en nuestro país, por el alto número de individuos infectados, es la Enfermedad de Chagas, dolencia americana que se extiende desde México hasta el Norte de la Patagonia. Según un informe técnico de la Organización Mundial de la Salud del año 1991, se calcula que en toda América existen 90 millones de personas expuestas a la enfermedad y de entre ellas 16 millones están infestadas.

Esta enfermedad es ocasionada por el *Tripanosoma cruzi*, un protozoario que cumple su ciclo de vida alternando entre dos huéspedes: un mamífero y un insecto vector. Estos insectos pertenecen a la subfamilia *Triatominae* (*Reduviidae: Hemiptera*). Son de hábitos hematófagos y en nuestro país se los conoce vulgarmente con el nombre de vinchucas.

Existen varias especies de Triatominos capaces de transmitir la enfermedad en diferentes zonas. En la Argentina, la especie domiciliaria responsable de la transmisión es *Triatoma infestans*.

La vinchuca, originalmente no infectada, se infecta con *T. cruzi* al alimentarse de sangre de mamíferos enfermos. Luego puede transmitir el protozoario a un individuo sano en sucesivas ingestas a través de las heces.

T. infestans es un insecto hemimetábolo con 5 estadios ninfales entre el huevo y el adulto. Todos los estadios ninfales y el adulto son hematófagos obligados y potencialmente transmisores de la enfermedad.

Sin duda, el conocimiento racional de nuevos y mejores métodos de control del insecto podría conducir en el futuro a controlar la Enfermedad de Chagas. La única manera viable hasta el momento de controlar la enfermedad es la interrupción del ciclo de vida del parásito por la eliminación del insecto vector. Para esto se realizan campañas de desinsectación de viviendas utilizando insecticidas capaces de matar al *Triatoma infestans* adulto, así como a sus estadios ninfales y huevos (28).

El desarrollo de nuevas formulaciones para el control del vector de la Enfermedad de Chagas ha sido uno de los objetivos de nuestro laboratorio desde hace más de quince años (29, 30, 31, 32). Las nuevas formulaciones deben satisfacer dos requerimientos del programa de control de vectores:

- Las actividades de los equipos de fumigadores que dependen de instituciones gubernamentales

■ Las acciones descentralizadas que necesitan de la participación de la comunidad

En el primer caso se exploran nuevas posibilidades de combinaciones de insecticidas en formulaciones de uso profesional, como polvo mojable, concentrado emulsionable o productos floables.

Con respecto a formulaciones no profesionales se observa una falta de productos económicos, simples y efectivos. Equipos de fumigadores profesionales realizan detección de vinchucas por efecto de expurgue con tetrametrina. Actualmente, esta actividad ha sido en parte transferida a agentes sanitarios que trabajan con la participación de la comunidad.

En el camino hacia las formulaciones no profesionales, nuestro Centro desarrolló un pote fumígeno insecticida (31). En este pote se hacía uso de un fenómeno de sinergismo entre insecticidas. La versión más estudiada del pote fumígeno fue, hasta el desarrollo de este trabajo, el CIPEIN PF-3. Este dispositivo consistía en un recipiente descartable que se encendía con una mecha en su parte superior. En un primer paso, la combustión sin llama de una mezcla sólida de composición adecuada liberaba rápidamente los gases de combustión que contenían lindano (activador de la respiración de insectos). Este principio activo era incorporado a la mezcla en condiciones apropiadas de protección para evitar su destrucción térmica o química durante la combustión. El calor liberado durante este primer paso se transfería a un segundo recipiente que contenía diclorvos y fenitrotión (ambos son insecticidas fosforados).

En 1983 el CIPEIN comenzó los estudios de campo en Santiago del Estero. Esta es una de las provincias más pobres de la Argentina y el 74.2 % de la población está infectada con *T. Cruzi*, parásito causante de la Enfermedad de Chagas (dato 1988). Se hicieron tratamientos con insecticidas en regiones donde las casas tienen paredes hechas con ladrillos y adobe, los techos están hechos de paja, ramas y lodo y en la zona peridomiliar se observan corrales, depósitos y galpones. Los ensayos de campo realizados consistieron en el tratamiento de un grupo de casas con el pote fumígeno y una posterior evaluación de actividad triatómica por medio de ensayos biológicos. También se evaluaron las concentraciones de residuos post-tratamiento, encontrándose que después de la ventilación los residuos en aire eran no detectables y los principios activos encontrados sobre las superficies fueron significativamente menores que los quedan luego de un tratamiento de fumigación.

Bioensayos de poder residual sobre vichucas de pote fumígeno demostraron que la mayor actividad residual se encontraba en el piso, y que era menor en las paredes.

La actividad triatómica fue evaluada por la presencia de vectores después de un tratamiento de expurgue con concentraciones subletales de tetrametrina. El diseño original del pote fumígeno fue simplificado para su transferencia al sector industrial y el nuevo prototipo fue evaluado en su toxicidad frente a algunas especies de vertebrados. Los resultados demostraron la seguridad del mismo. Los ensayos realizados posteriormente con el pote fumígeno industrial demostraron una buena actividad triatómica y al mismo tiempo una excelente aceptación por parte de la comunidad.

El desarrollo de nuevos prototipos continuó durante los años posteriores en búsqueda de:

- Principios activos más seguros y efectivos
- Sustancias que disminuyeran la descomposición de los insecticidas durante la combustión y al mismo tiempo aumentarían la proporción de insecticida intacto liberado en los humos.

Objetivos

La utilidad creciente de las formulaciones fumígenas de insecticidas piretroides en el control de vectores de la enfermedad de Chagas impulsada por trabajos previos de nuestro laboratorio, permitió detectar la escasez de conocimientos que hay acerca del comportamiento térmico de dichos compuestos.

Por tal razón fue de interés analizar la recuperación cuantitativa de piretroides en los humos liberados por la combustión de distintas matrices fumígenas y la influencia que en éstas tienen la incorporación de agentes espumígenos y antioxidantes.

Asimismo se planteó la necesidad de analizar fenómenos de isomerización de permetrina y β -cipermetrina producidos durante la combustión de la mezcla. Estos fenómenos cobran importancia debido a que el isómero *trans* posee una actividad biológica muy diferente a la del *cis*. Debido a esto fue considerado relevante investigar las condiciones que minimicen los procesos de conversión de isómeros biológicamente activos a isómeros inactivos y la formación de impurezas producto de descomposición. Los procesos de descomposición caracterizados por las impurezas liberadas en humos pueden reducir el efecto insecticida e incrementar la toxicidad en mamíferos de las formulaciones fumígenas en estudio.

Por otra parte a efectos de extender el conocimiento básico de los fenómenos de termólisis que sufren los insecticidas piretroides "per se" o en presencia del clorato de potasio, componente fundamental de las mezclas fumígenas, se incluyó en el plan de trabajo el estudio de las reacciones de pirólisis de dichos insecticidas en estufa, enfocado fundamentalmente a fenómenos de isomerización y formación de productos de descomposición. A partir del hallazgo del efecto catalítico del clorato de potasio en fase sólida para promover la isomerización de insecticidas piretroides, hecho del que no se tenían antecedentes, se consideró relevante extender el estudio del fenómeno a otras sales y otros piretroides.

Como uno de los objetivos fundamentales del trabajo se encaró la evaluación toxicológica del efecto insecticida sobre *Triatoma infestans* de las formulaciones fumígenas en estudio. Luego del hallazgo y caracterización del fenómeno de isomerización catalizado por clorato de potasio en fase sólida del insecticida piretroide cipermetrina y partiendo de conocimientos previos sobre las significativas variaciones de toxicidad que introducen las modificaciones de la composición isomérica en estos compuestos, se consideró relevante establecer el efecto insecticida de la cipermetrina modificada en isómeros.

Materiales

Sustancias químicas

Mezcla fumígena

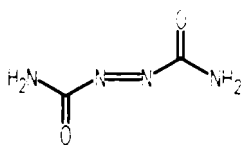
KClO₃ : grado técnico, LIBRA (Argentina)

dextrina : provista por Aldrich (EEUU)

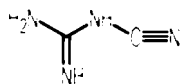
caolín : grado técnico, Serain Juárez S.A. (Argentina)

azodicarbonamida (ADC) : 97% . Provista por Aldrich (EEUU).

cianoguanidina o dicianidamida (CNG) : 99%. Provista por Aldrich (EEUU).



azodicarbonamida



cianoguanidina

Insecticidas

Permetrina standard [3-fenoxibencil (1RS)-*cis-trans*-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato] : composición isomérica *cis* : *trans* 45 : 55 . Provista por Chemotecnica Sintyal.

cis - permetrina: composición isomérica *cis* : *trans* 99 : 1. Se obtiene por recristalizaciones sucesivas de permetrina standard de etanol / agua , según método desarrollado en nuestro laboratorio (33).

Permetrina enriquecida en *cis* : composición isomérica *cis* : *trans* 82 : 18. Se obtiene por recristalización de permetrina standard de etanol : agua.

trans -permetrina : composición isomérica *cis* : *trans* 1 : 99. Provista por Chemotecnica Sintyal.

cipermetrina [(RS)- α -ciano-3-fenoxibencil(1RS)-*cis-trans*-3-(2,2-diclorovinil)-1,1-dimetilciclopropanocarboxilato] :composición isomérica aproximada *cis:trans* 40:60. Provista por Chemotecnica Sintyal.

β -cipermetrina [(SR)- α -ciano-3-fenoxibencil (1RS)-*cis* -3-(2,2-diclorovinil)-1,1-dimetilciclopropanocarboxilato y (SR)- α -ciano-3-fenoxibencil (1RS) -*trans*-3-(2,2-diclorovinil)-1,1-dimetilciclopropanocarboxilato] : composición aproximada *cis:trans* 60:30. Provista por Chemotecnica Sintyal.

Otro nombre no aceptado oficialmente es asimetrina. Recristalizada de etanol dos veces para análisis de sus productos de descomposición .

Tetrametrina [(ciclohex-1en-1,2-dicarboximidometil (1RS,3RS; 1RS,3SR)-2,2-dimetil-3-(2-metilprop-1-enil) ciclopropanocarboxilato] : provista por Sumitomo (Japón). Pureza 94%

Fenotrina [3-fenoxibencil (1RS)-*cis-trans*-3-isobutenil-2,2-]: relación *cis:trans* 15:85. Provista por Sumitomo (Japón). Pureza: 93.4%

Aletrina [(RS)-3-alil-2-metil-4-oxociclopent-2enil (1RS,3RS; 1RS,3SR)-2,2-dimetil-3-(2-metilprop-1-enil) ciclopropanocarboxilato] : provista por Sumitomo (Japón). Pureza 92.2%

Deltametrina [(S)- α -ciano-3fenoxibencil (1R)-*cis*-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato] : provista por Agrevo S.A. Pureza 98%

λ - cihalotrina [(SR)- α -ciano-3-fenoxibencil-(1RS)-*cis*-3-(2-cloro-3,3,3-trifluoropropenil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato]: ICI. Pureza 99.7%

β -ciflutrina [(SR)- α -ciano-4-fluoro-3-fenoxibencil (1RS)-*cis*-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato y (SR)- α -ciano-4-fluoro-3-fenoxibencil (1RS)-*trans*-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato] : standard 94.5%. Bayer.

Solventes

Diclorometano, benceno, cloroformo : grado analítico, Sintorgan (Argentina)

Acetonitrilo : grado HPLC, Sintorgan

Dimetilformamida : grado analítico, Merck

Solventes HPLC : Hexano para cromatografía, Sintorgan, e Isopropanol, grado analítico, Merck, destilado.

Reactivos

SOCl₂: 99%.Aldrich (EEUU).

KCN: 97%. Aldrich (EEUU)

KClO₃ : 99%. Aldrich (EEUU)

KBrO₃: 99+%. Aldrich (EEUU)

KCl: 99+%. Aldrich (EEUU)

NaIO₃: 98%. Aldrich (EEUU)

K₂Cr₂O₇: 99+%. Aldrich (EEUU)

NaNO₃ : 99+%. Aldrich (EEUU)

NaNO₂ : 97+%. Aldrich (EEUU)

KClO₄ : 99%. Aldrich (EEUU)

K₂C₂O₄.H₂O : 99%. Aldrich (EEUU)

Sustancias químicas patrones para cromatografía

Acido permetrínico (ADVC) [ácido (1RS)-*cis-trans*-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxílico] , 3-fenoxibencilalcohol (3-FBalc) , 3-fenoxibenzaldehído (3-FBal) fueron provistos por Sintyal.

Acido 3-fenoxibencilico (3-FBac) :Aldrich.

Material biológico

Triatoma infestans (vinchuca)

Se usaron insectos provenientes de una cepa criada en el CIPEIN desde 1976 en condiciones ambientales constantes (26-28°C, 50-70% HR, fotoperíodo 12: 12), con alimentación semanal sobre paloma.

Se usaron ninfas del primer estadio (ninfas I) de 5 días de edad, ayunadas desde la eclosión (1,2 +/- 0,2 mg de peso); y ninfas del tercer estadio (ninfas III) de 7 días de edad, ayunadas desde la muda (10,5 +/- 2,5 mg de peso corporal).

Musca domestica (mosca común)

Se usaron insectos provenientes de una cepa criada en el CIPEIN desde 1980 en condiciones ambientales constantes (24-26°C, 40-60% HR, fotoperíodo 12:12).

Para los bioensayos con piretroides se seleccionaron moscas hembras adultas de 4 días de edad. Para la separación de sexos las moscas fueron anestesiadas con flujo continuo de CO₂.

Metodología

Síntesis de productos de descomposición

Cloruro de 3-fenoxibencilo

De acuerdo con la técnica de obtención de cloruros a partir de alcoholes (34) modificada, se disolvieron en cloroformo 5 g (0.025 moles) de 3-fenoxibencil alcohol y se colocaron en un balón de tres bocas. El balón se colocó en un baño de agua, se agregó un condensador y a esta solución se agregó gota a gota una solución clorofórmica de SOCl_2 (0,025 moles). La mezcla de reacción se agitó vigorosamente durante el agregado de SOCl_2 y luego por cuatro horas más.

Se separó la fase inferior, se secó sobre Cl_2Ca granular durante 30 minutos y luego se filtró para eliminar el agente desecante. El rendimiento fue del 90% de conversión (4,9 g). La caracterización se realizó por CG-masa.

3-fenoxibencilonitrilo

Según técnica descrita (35), el cloruro de 3-fenoxibencilonitrilo (0,02 moles) obtenido en el paso anterior se agregó a una solución de acetonitrilo: dimetilformamida (1:1) conteniendo 2,6 g. de KCN (0,04 moles) y se reflujó toda la noche. Se filtró la sal, se lavó el precipitado y se evaporó el solvente. Se tomó el aceite resultante con benceno y se lavó con agua caliente. Se secó y se evaporó el benceno. Se destiló a presión reducida a (13mm Hg, 137°C) y se caracterizó por EM.

Ensayos de combustión

Preparación de las mezclas fumígenas por mezcla de sólidos

Mezcla fumígena base: se mezclaron por agitación mecánica, previa molienda de los componentes en molinillo, KClO_3 15,8% (oxidante), dextrina 8% (reductor) y caolín 59% (inerte). A esta mezcla se incorporó el insecticida finamente molido en la proporción necesaria y se llevó nuevamente a agitador mecánico.

Mezclas fumígenas con agregado de agentes productores de gases: dichos agentes (cianoguanidina y azodicarbonamida) se incorporaron molidos a la mezcla base junto con el insecticida.

Preparación de mezclas fumígenas en solución

Cuando se incorporaron insecticidas líquidos o sólidos de bajo punto de fusión o antioxidantes (BHT, 2,6-ditert butil-4-metil-fenol, o BHA, 2,6-ditert butil-4-metil-anisol) que no resisten el calentamiento provocado por la agitación mecánica, la mezcla se preparó suspendiendo todos sus componentes en diclorometano y luego de homogeneizar se evaporó el solvente al vacío.

Recuperación del insecticida en humos

Con 1 g de la mezcla fumígena necesaria en cada caso se prepararon en un pastillero por presión manual pastillas insecticidas. Las pastillas con el insecticida incorporado se quemaron en un recipiente para combustión (modificación del *Thomas-Schoniger Flask* al que se le incorporó una salida lateral con robinete de teflón para regulación de las presiones). Como ignitor se utilizó una lámpara IR (Figura 1 y 2). El recipiente se enfrió en baño de hielo, se lavó cuantitativamente con CH_2Cl_2 , el lavado se llevó a 10 ml en matraz aforado y se analizó por CGL.

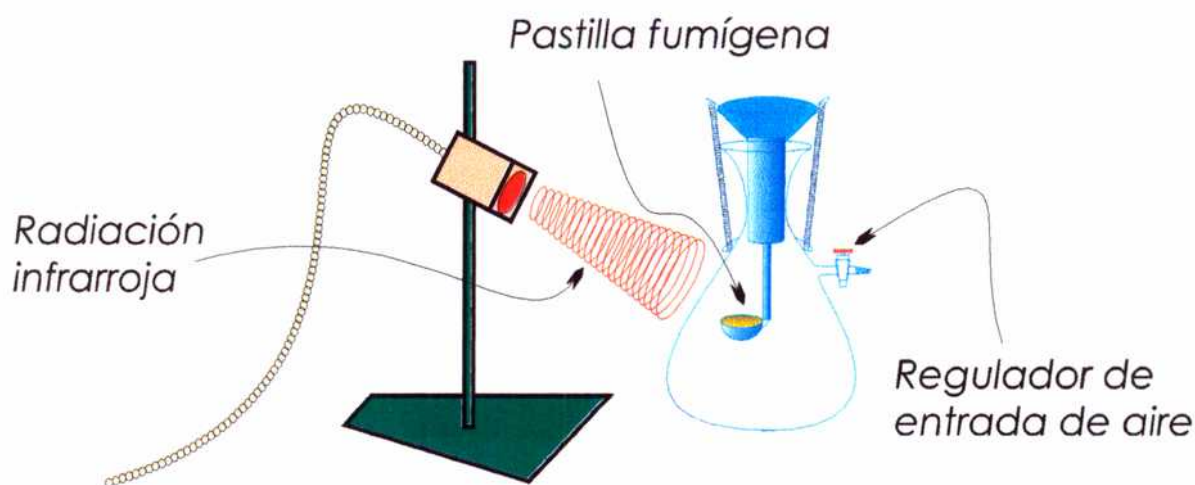


Figura 1. Dispositivo para combustión de mezclas fumígenas

Análisis de los residuos en la pastilla

Se quemaron pastillas fumígenas dentro de un sistema extractor de aire para evitar la deposición de las partículas de humos sobre los restos de la pastilla. Se extrajo el residuo con CH_2Cl_2 y se analizó por CGL.

Análisis por CGL cuantitativos y cualitativos

Los extractos obtenidos en los puntos anteriores fueron analizados cuali y cuantitativamente. Los análisis cuantitativos de recuperación y de residuo en la pastilla se

realizaron contra patrones 0.1% del insecticida en un cromatógrafo Shimadzu GC 6A con columna QF-1, de 2 mm, N₂ como gas portador y temperaturas de inyector 250° C y de columna de 210 a 220°C según el piretroide.

Los análisis de los productos de descomposición formados en la mezcla fumígena fueron realizados por cocromatografía gaseosa capilar contra standards en un equipo Varian 3400 CX, columna DB-1, 15m, 0.53 mm, con programa de temperatura 70°C, 1min, 10°C/min hasta 280°C, 5 min a 280°C y corroborados por CGL acoplado a Espectrometría de Masas en un equipo Finnigan Mat, columna DB-5, 50m, 0.25 mm con programa de temperatura 70°C, 1min, 10°C/min hasta 280°C, 5min a 280°C y en un equipo TRIO-2 VG MASSLAB, columna DB-5, 30 m., DI 0,25 mm, gas portador He. Los análisis de EM fueron hechos por Impacto electrónico (EI) de iones positivos a 70 eV y por Ionización química (CI) con CH₄ a 80 mtorr como gas ionizante.

Análisis de isomerización térmica por combustión

En el extracto obtenido luego de la combustión se analizó por CGL la isomerización *cis-trans* de permetrina, tetrametrina y fenotrina en las condiciones descritas anteriormente y se confirmó la estructura de los isómeros por CG-MS en las condiciones especificadas anteriormente.

Análisis de isómeros de cipermetrina por HPLC

La resolución obtenida por CGL no fue suficiente para separar cromatográficamente los isómeros de la cipermetrina y la β-cipermetrina de modo que se utilizó HPLC.

La determinación de la composición isomérica de la cipermetrina se realizó en columna Pirkle quiral ((R)-N- [(3,5- dinitrobenzoil) fenil]- glicina, DNBPG, 4.6 mm x 25 cm, 5 mm tamaño de partícula) con hexano : isopropanol 0.1% como eluyente a 1 ml por min. Se utilizaron las mismas condiciones para el análisis de isómeros ópticos de la deltametrina.

Reacciones de descomposición e isomerización por calentamiento en estufa

Los insecticidas o sus mezclas con KClO₃ (20 mg en total) u otras sales inorgánicas se colocaron en ampollas color caramelo que se dispusieron en el centro de una estufa tubular Thermolyne, Type F21100, mantenida a temperatura constante (210 +/- 0.5 °C).

Los análisis de isomerización se realizaron como fue descrito anteriormente.

Los análisis de los productos de descomposición se analizaron como fue descrito .

Reacciones de isomerización en solución

Soluciones de *cis*-permetrina 0.1% en solvente se refluaron durante 20 minutos y se analizaron los resultados por CGL según ya fue descrito.

Ensayos calorimétricos de las formulaciones fumígenas

Calorimetría de barrido diferencial

Se analizaron las curvas de calentamiento e inflamabilidad del insecticida puro, de los agentes espumígenos y de las mezclas fumígenas básica y mejorada con dichos agentes. Se evaluaron a partir de dichas curvas la temperatura de inflamación de las mezclas y la compatibilidad de sus componentes. El equipo utilizado fue un Dupont 900 Thermal Analyzer, con un programa de temperatura de 20°C por minuto y tomando como referencia la cápsula vacía.

Análisis termogravimétrico

Se midió pérdida de peso en función de la temperatura de las mezcla fumígenas con un programa de calentamiento de 20°C/min. y en atmósfera de N₂ a 50 ml./min. en el mismo equipo descrito en el punto anterior.

Medición de presión a la salida del recipiente de combustión de la mezcla fumígena

Luego del quemado de las mezclas fumígenas el recipiente de combustión se dejó enfriar a temperatura ambiente (24 °C) y se midió la presión en mm de Hg colocando un manómetro de mercurio a la salida lateral del mismo.

Residuo sólido

Se pesaron las pastillas fumígenas antes (Pi) y después de la combustión (Pf) y se calculó el % de residuo como $(P_i - P_f) / P_i \times 100$.

Evaluación biológica de efecto insecticida

Mezclas fumígenas

Se realizó en cámara de volteo cúbica de 0,7 m de lado, con paredes y techo de vidrio. La cara frontal posee 4 orificios de 5 cm de diámetro y uno de 20 cm de diámetro y en la cara superior una salida a un extractor (Figura 2).

Mezclas fumígenas conteniendo piretroides

Para los ensayos con mezclas fumígenas conteniendo piretroides, grupos de diez ninfas de *T. Infestans* se colocaron en potes plásticos descartables de 5cm de diámetro de base y 5 cm de altura, con rectángulos de papel de filtro plegado que sirvieron de superficie sobre la cual los insectos se movieron. Los potes se taparon con gasa y se ubicaron en los orificios de la cara frontal de la cámara de volteo, de modo tal que los humos producidos dentro de la cámara llegaran a los insecto a través de la tela. La pastilla fumígena a evaluar se colocó en el centro de la cámara sobre un soporte y se encendió. A partir del encendido de la pastilla fumígena se comenzó a contar el tiempo de exposición de los insectos a los humos. A distintos tiempos

se retiraron los potes con insectos, se tapó el orificio de la cámara con plástico y se pasaron los insectos expuestos a frascos limpios que se mantuvieron a 25-27°C durante 24 hs. Los tiempos de exposición fueron 5, 10, 20 y 30 minutos. A las 24 hs después del tratamiento se registró el número de insectos muertos a cada tiempo de exposición. Estos datos se usaron para el análisis estadístico de los resultados (método probit).

Para los ensayos en que se midió el poder de expurgue los recipientes donde se colocaron los insectos estuvieron formados por dos tubos como los descritos anteriormente separados por una tela tipo tul. El tubo externo sirvió de refugio y el tubo interno (lado expuesto a los humos) fue la zona de expurgue ya que el insecto expurgado alteró su comportamiento saliendo del refugio.

Evaluación de actividad biológica de cipermetrina en sus diferentes composiciones isoméricas

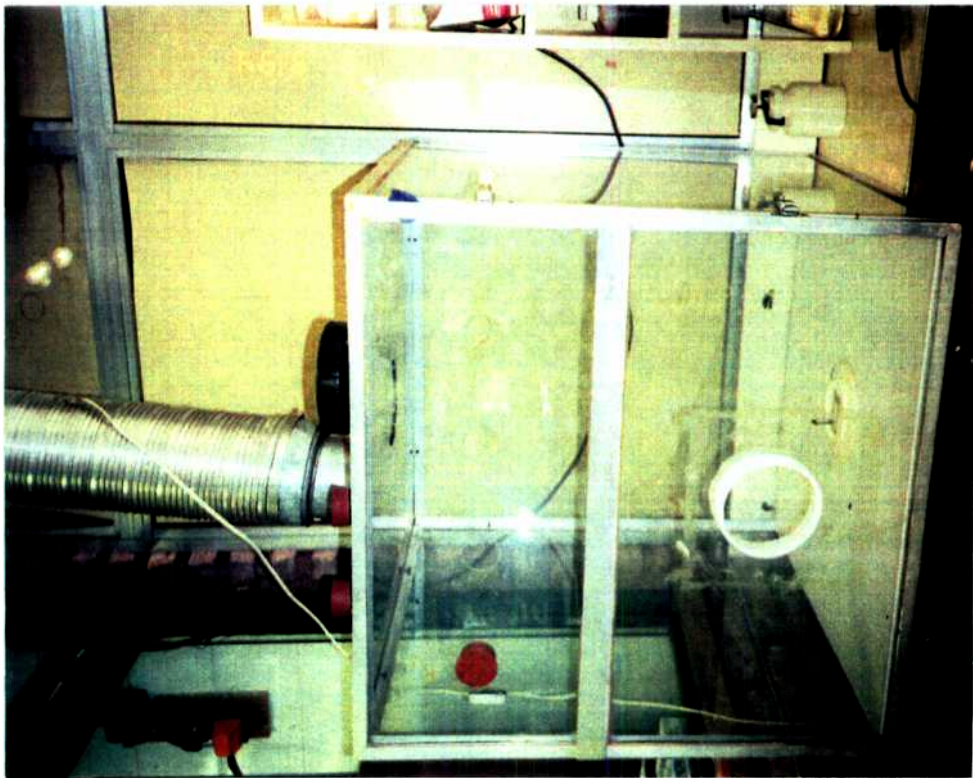
Se usó la metodología de aplicación tópica sobre la parte ventral del abdomen de moscas hembras anestesiadas con CO₂. El solvente utilizado para disolver el principio activo fue acetona y el volumen aplicado fue 1 µl por mosca.

Grupos de 10 moscas cada uno se trataron con 4 concentraciones distintas de cipermetrina o su variación isomérica. Los insectos tratados se colocaron en potes descartables tapados con gasa y con agua a disposición y se mantuvieron en condiciones ambientales de cría. A las 24 h después del tratamiento se registró el número de insectos muertos a cada concentración.

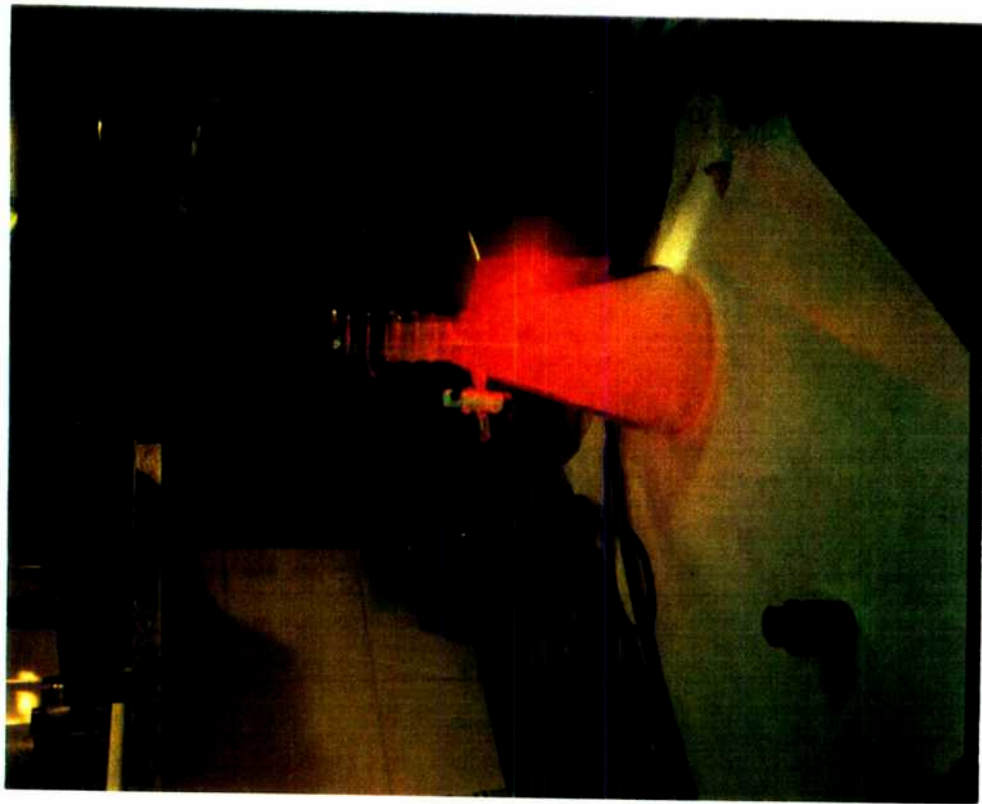
Se realizaron en paralelo ensayos controles en los cuales se trataron las moscas con 1 µl de acetona.

Análisis estadístico de los resultados

Los datos de mortalidad obtenidos para cada tiempo de exposición o para cada concentración, se procesaron según un programa basado en el método probit (EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM USED FOR CALCULATING EC VALUES version 1.4). Se obtuvieron así los parámetros DL₅₀ (dosis de insecticida que mata al 50% de los insectos tratados) y TM₅₀ (tiempo de exposición necesario para matar el 50% de los insectos expuestos)



*Cámara de volteo para evaluación
de actividad biológica*



*Medición de recuperación
en humos*

Figura 2

I. Recuperación de piretroides en humos liberados a partir de mezclas fumígenas.

Influencia del estado físico de la formulación fumígena

La mezcla fumígena está compuesta por :

- KClO₃ como oxidante, que posee baja higroscopicidad y alta estabilidad durante el almacenamiento;
- dextrina como combustible orgánico, que produce además de calor por la reacción química de alta energía evolución de gases por formación de CO₂ y vapor de agua y actúa también como *binder*, es decir que mantiene a los componentes unidos en una mezcla homogénea evitando su segregación durante la manufactura y el almacenamiento;
- y caolín, un inerte que actúa como retardador, es decir que disminuye la velocidad de quemado por absorción de calor y separación de los componentes de la reacción sin afectar la *performance*.

Con el objeto de evaluar la mejor recuperación de insecticida en los humos se probaron dos métodos de preparación de las pastillas fumígenas: a) mezcla de polvos y b) suspensión de los componentes de la mezcla y disolución del activo en diclorometano con posterior evaporación del solvente. Como insecticidas se usaron *cis*-permetrina y β -cipermetrina. Los resultados se resumen en la Tabla 1.

Insecticida	Método	% Recuperación
<i>cis</i> -permetrina	solución- suspensión	36.5+/- 0.5
<i>cis</i> -permetrina	polvos	50.0+/- 2.0
β -cipermetrina	solución- suspensión	42.7+/- 1.5
β -cipermetrina	polvos	48.80+/- 1.4

Tabla 1. Recuperación de insecticidas en humos según el método de preparación de la mezcla. La concentración inicial del piretroide en la formulación es 1.5%. La recuperación se mide respecto al piretroide agregado a la mezcla fumígena .

La mezcla preparada en solvente presentó mayor homogeneidad y menor tamaño de partícula. Como el grado de compactación obtenido al pastillar la mezcla fue igual en ambos métodos, puede esperarse que que la mezcla preparada por suspensión tenga una mayor velocidad de quemado. Teniendo en cuenta los resultados de recuperación se adoptó la mezcla de polvos como método para formular insecticidas sólidos. Esta

metodología no es aplicable cuando los insecticidas no son sólidos o son sólidos cerosos que se funden al agitar la muestra mecánicamente. En estos casos fue necesario suspender los componentes en diclorometano y luego evaporar el solvente.

Influencia de agentes productores de gases y antioxidantes en la recuperación

Según ha sido informado a través de algunas patentes (36-40), fundamentalmente de origen japonés, pueden obtenerse formulaciones fumígenas o fumigantes eficientes en la generación de insecticida por calentamiento, formulando el principio activo con uno o más agentes productores de gases (espumígenos) y uno o más antioxidantes. Los compuestos productores de gases actúan como *carriers* de los principios activos, permitiendo una máxima liberación del insecticida y al mismo tiempo una mínima descomposición del mismo por combustión. Se han usado, entre otros, azodicarbonamida (ADC) y cianoguanidina (CNG) (36-40).

La ADC y la CNG se descomponen por calentamiento aproximadamente a 200 °C (ver punto II) dando productos gaseosos que transportan al insecticida. Este transporte se suma al llevado a cabo por los componentes de la matriz fumígena que producen humos en los que se libera el insecticida.

Teniendo en cuenta estos antecedentes se incorporaron distintas proporciones de estos agentes a la matriz fumígena con el objetivo de evaluar el aumento que producen en la recuperación de los insecticidas en los humos liberados.

Para establecer las concentraciones de CNG y ADC que hacen máxima la liberación de insecticida en humos se realizaron curvas de recuperación de permetrina y *cis*-permetrina en función de la concentración de agente espumígeno (Figs. 1 y 2).

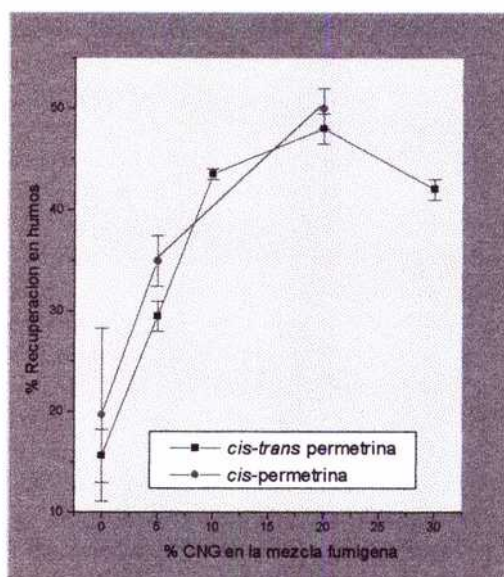


Figura 1. Recuperación en humos de *cis*-permetrina y *cis* : *trans* permetrina (82 :18) en pastillas con agregado de CNG en su formulación. La concentración inicial del piretroide en la formulación fue 1.5%. La recuperación se midió respecto al piretroide agregado a la mezcla fumígena .

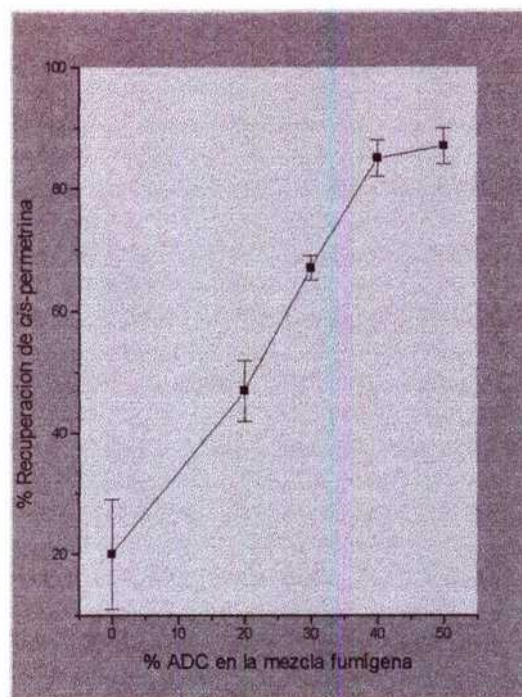


Figura 2. Recuperación en humos de *cis*-permetrina en pastillas con agregado de ADC en su formulación. La concentración inicial del piretroide en la formulación fue 1.5%. La recuperación se midió respecto al piretroide agregado a la mezcla fumígena .

Como puede verse en la Figura 1, la máxima recuperación de permetrina se obtuvo en mezclas con 20% de CNG. Por encima de esta concentración la mezcla se encendió con dificultad y disminuyó la recuperación de insecticida. En el caso de la *cis*-permetrina las dificultades de encendido de la mezcla con 30% de CNG no permitieron establecer su recuperación en humos.

Cuando se usó ADC como agente productor de gases (Fig. 2) los resultados indicaron también una tendencia creciente en la recuperación de piretroides con el aumento de la concentración del espumígeno. La recuperación fue máxima para 40 y 50% de ADC en la mezcla fumígena. Entre ambos porcentajes no hubo diferencias significativas de recuperación y por encima de 50 % , el agregado de ADC dificultó la combustión de la mezcla.

A partir de estos resultados se encaró la realización de ensayos con otros piretroides con el objetivo de comparar el efecto de CNG y ADC en la recuperación de los mismos en humos.

Para tal fin, la mezcla fumígena con 20% de CNG se formuló con los siguientes piretroides: tetrametrina, fenotrina, permetrina, β -cipermetrina y cipermetrina (Fig. 3) y las mezclas con 40 y 50% de ADC se formularon con tetrametrina y β -cipermetrina (Fig. 4).

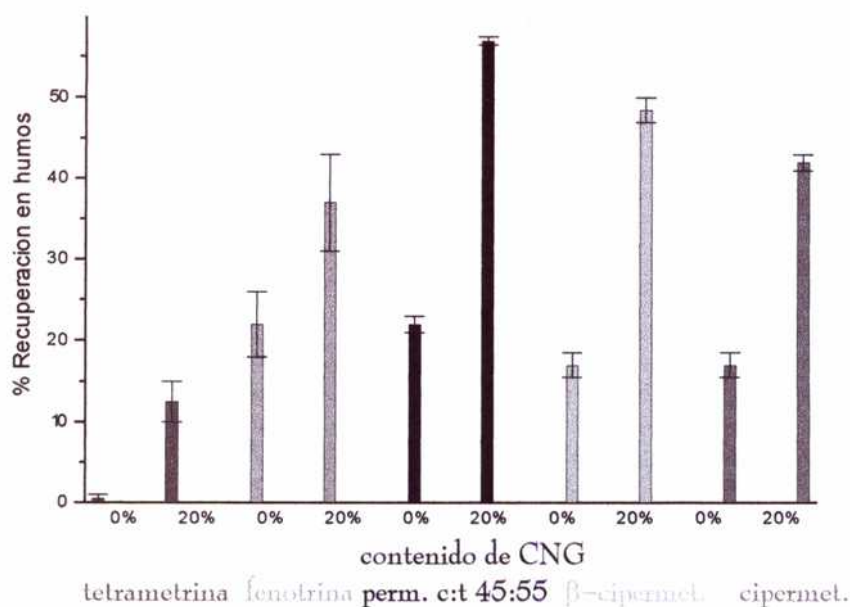


Figura 3. Recuperación de piretroides en humos provenientes de mezclas fumígenas con y sin CNG en su formulación. La concentración inicial del piretroide en la formulación fue 1.5%. La recuperación se midió respecto al piretroide agregado a la mezcla fumígena.

En todos los casos el agregado de CNG a la formulación mejoró significativamente la recuperación del insecticida en humos.

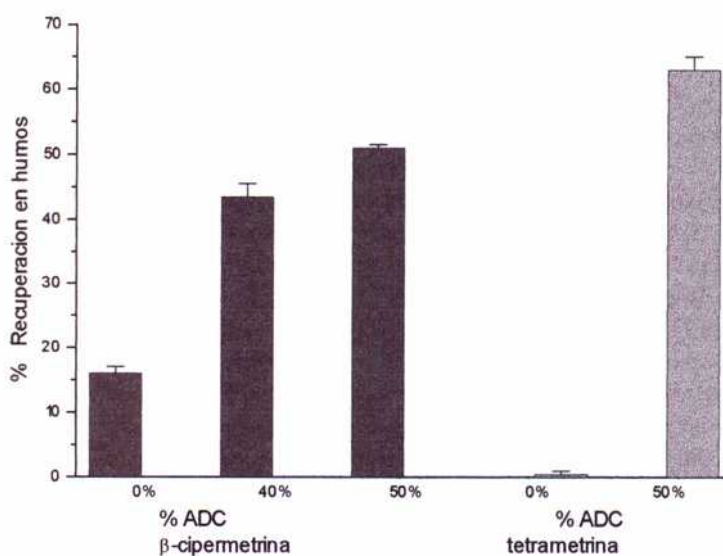


Figura 4. Recuperación de piretroides en humos provenientes de mezclas fumígenas con y sin ADC en su formulación. La concentración inicial del piretroide en la formulación fue 1.5%. La recuperación se midió respecto al piretroide agregado a la mezcla fumígena.

En ambos casos el agregado de ADC a la formulación mejoró notablemente la recuperación del insecticida en humos. Sin embargo las mezclas con 50% de ADC encienden con dificultad por lo que se consideró óptima una proporción de 40%.

Los antioxidantes actúan como inhibidores de radicales libres y por lo tanto como bloqueantes de reacciones mediadas por estos intermediarios. Debido a estas propiedades,

han sido usados en formulaciones de piretroides junto con agentes productores de gases que liberan al insecticida por calentamiento. Dentro de los antioxidantes descritos en las patentes de referencia, el más citado es el 6-di terbutil 4-hidroxifenol (BHT) (41, 42). Además de usarse para estabilizar formulaciones de insecticidas con agentes liberadores de gases, el BHT es utilizado en espirales o tabletas de evaporación térmicas, combinado con piretroides susceptibles de oxidación.

Con el objeto de aumentar la estabilidad de los insecticidas en las formulaciones fumígenas, y consiguientemente su recuperación, se introdujeron distintas proporciones de BHT y BHA en las formulaciones y se midieron las recuperaciones correspondientes (Fig. 5). Como insecticida para estos ensayos se usó *cis*-permetrina.

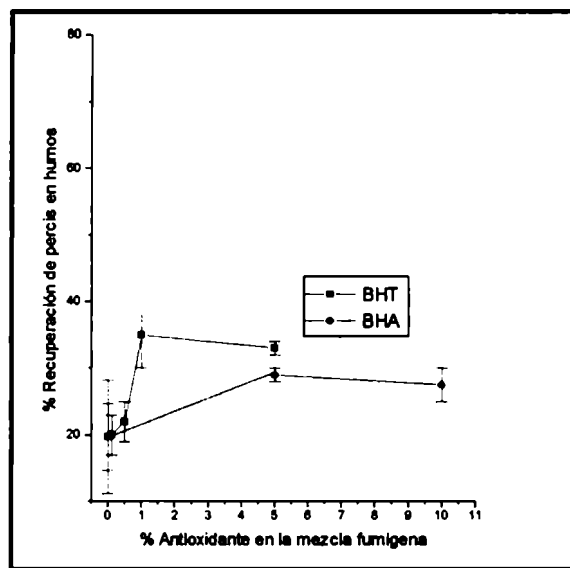


Figura 5. Recuperación de *cis*-permetrina en humos provenientes de mezclas fumígenas con y sin BHT o BHA en su formulación. La concentración inicial del piretroide en la formulación fue 1.5%. La recuperación se mide respecto al piretroide agregado a la mezcla fumígena.

Los resultados mostraron un discreto aumento en la recuperación del piretroide con agregado de BHT o BHA en concentraciones por debajo de 5%. Este incremento en la proporción de *cis*-permetrina liberada en humos debido a la incorporación de antioxidantes en la mezcla fumígena fue menor que cuando se formuló con agentes espumígenos y no siguió un patrón tan claro como cuando estos agentes fueron incorporados a la mezcla. También se probaron combinaciones de antioxidantes con agentes espumígenos, obteniéndose resultados similares a los obtenidos con el agente productor de gases solamente.

Influencia de la concentración inicial de insecticida en la recuperación y en el porcentaje de residuo en la pastilla

Se consideró conveniente estudiar la influencia del contenido inicial de insecticida en la mezcla fumígena sobre la cantidad del mismo que se libera en humos. Para tal fin se usó la β -cipermetrina formulada en distintas concentraciones en mezclas fumígenas que contuvieron 40% de ADC y 20 % de CNG respectivamente (Figs. 6 y 7).

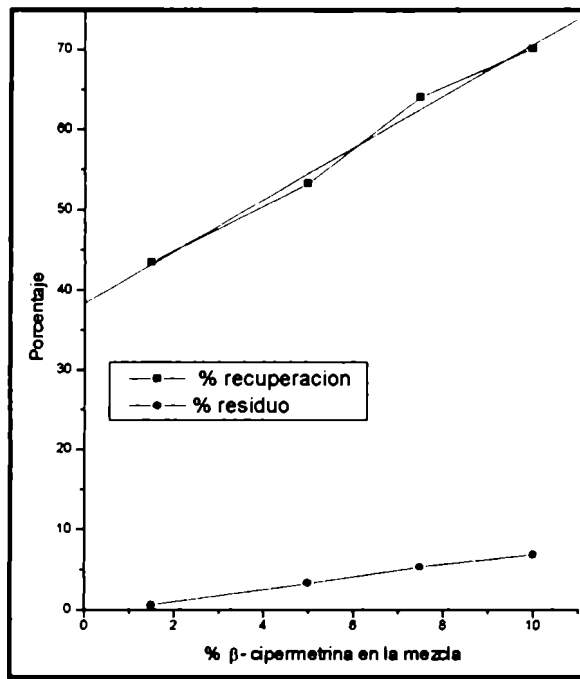


Figura 6. Recuperación de β-cipermetrina en humos provenientes de mezclas fumígenas con 40% de ADC y porcentaje de residuo en la pastilla en función de la concentración inicial del piretroide. La recuperación se midió respecto al piretroide agregado a la mezcla fumígena.

Los cálculos de regresión lineal para la curva de recuperación son:

$$Y = a + b \cdot X, a: 38,34051 +/ -1,54527; b: 3,22658 +/ -0,22815; R = 0,99504$$

$$SD = 1,43389, N = 4, P = 0,00496$$

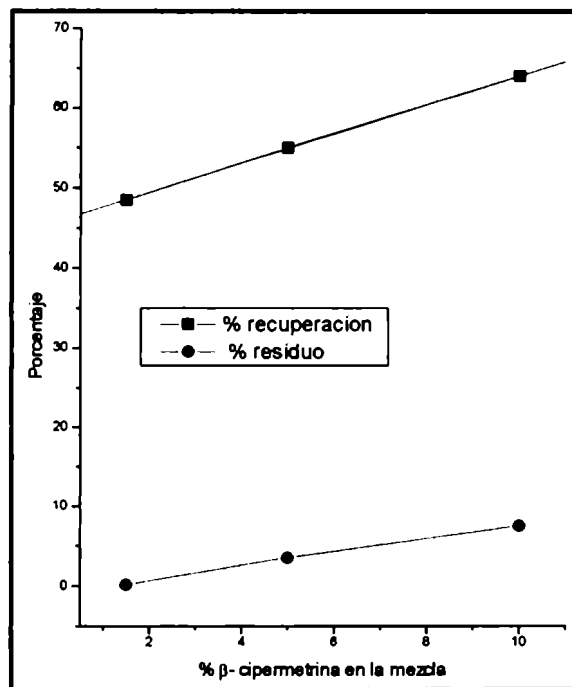


Figura 7. Recuperación de β-cipermetrina en humos provenientes de mezclas fumígenas con 20% de CNG y porcentaje de residuo en la pastilla en función de la concentración inicial del piretroide. La recuperación se midió respecto al piretroide agregado a la mezcla fumígena.

Los cálculos de regresión lineal para la curva de recuperación son:

$Y = a + b * X$; a: 45,81279 +/- 0,10302; b: 1,82192 +/- 0,01582; R= 0,99996
SD = 0,09556,, N = 3, P = 0,00553.

En las Figs. 6 y 7 puede observarse una buena correlación lineal entre la concentración inicial de insecticida en la mezcla y su recuperación en humos para las mezclas fumígenas conteniendo ADC y CNG. Una interpretación de estas correlaciones es que un aumento en la proporción de insecticida disminuye la temperatura de combustión de la mezcla y también la relación entre el insecticida y los reactivos oxidantes presentes en la formulación. El porcentaje de insecticida residual que no se volatilizó durante la combustión también aumentó con el aumento de la proporción de éste en la mezcla.

II. Isomerización térmica de piretroides

Isomerización durante la combustión de la mezcla fumígena

Permetrina

La permetrina comercial es un insecticida constituido por dos pares racémicos, los isómeros *cis* y *trans* (Figura 8).

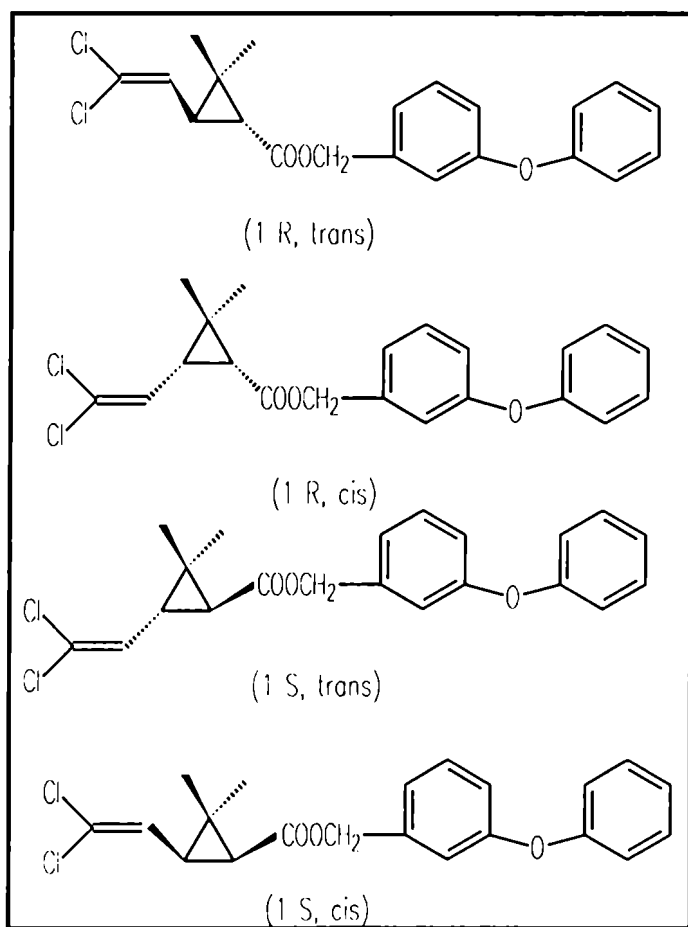


Figura 8. Estructuras químicas de los cuatro isómeros de permetrina

Los isómeros geométricos presentan toxicidad diferencial en insectos. En general, la *cis*-permetrina es más tóxica que la *trans* (43).

Por esta razón, fue de gran interés establecer fenómenos de isomerización *cis-trans* para este piretroide durante la producción de humos por mezclas fumígenas y la influencia de agentes productores de gases sobre el proceso de conversión isomérica. Para tal fin se midieron los porcentajes de isomerización de permetrina de distinta composición isomérica en humos de pastillas (Tabla 2).

composición isomérica antes de la combustión (<i>cis</i> : <i>trans</i>)	composición isomérica post combustión (<i>cis</i> : <i>trans</i>)	
	mezcla con CNG	mezcla sin CNG
99: 1	85: 15	66: 33
45: 55	40: 60	40: 60
3: 97	5: 95	20: 80

Tabla 2. Isomerización de permetrinas de distinta composición isomérica liberadas en humos de mezclas fumígenas con y sin CNG.

Los resultados indicaron que el isómero *trans* se isomerizó en menor proporción que el *cis*. Asimismo el proceso de isomerización tendió a la composición de equilibrio constituida por isómero *cis* entre 40 y 45% e isómero *trans* entre 55 y 60 %. Cualquiera sea la composición de partida nunca se atraviesa la "barrera" impuesta por la composición de equilibrio. La incorporación de CNG a la mezcla disminuyó considerablemente el porcentaje de isomerización para las composiciones que se apartan de las de equilibrio.

Debido a la mayor efectividad del isómero *cis*, en especial para el control de *T. infestans*, vector de la enfermedad de Chagas (44) fue relevante estudiar con más detalle su isomerización a *trans* durante la liberación en humos en función del agregado a las mezclas fumígenas de aditivos potencialmente protectores tales como agentes espumígenos y antioxidantes. Para tal fin se midió el porcentaje de isomerización *cis-trans* en función del agregado de CNG, ADC y BHT a la mezcla (Fig. 9).

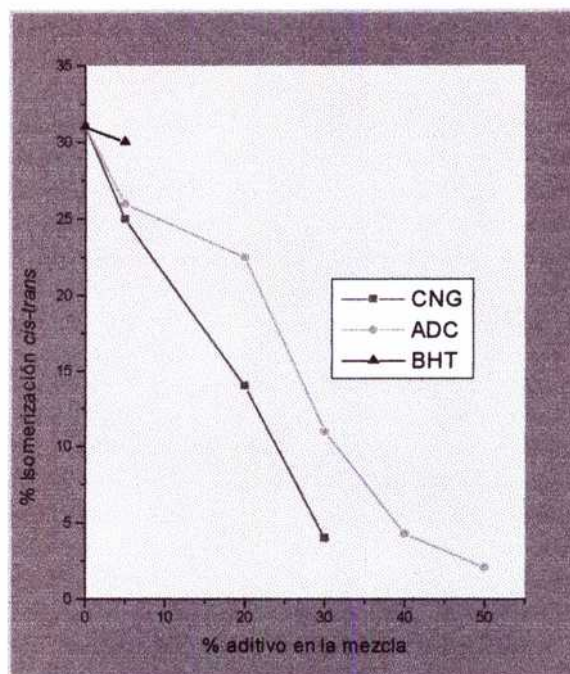


Figura 9. Influencia de los agentes espumígenos y antioxidantes en la isomerización *cis-trans* medida como (% de *trans* final / % *cis* inicial) X 100. Cada aditivo fue usado en la máxima concentración compatible con la mezcla.

Se desprende claramente de la figura que tanto la ADC como la CNG no sólo aumentaron la recuperación de la *cis*-permetrina, como vimos anteriormente, sino que disminuyeron el % de isomerización a *trans*.

En el caso de antioxidantes, los resultados no mostraron una inhibición del proceso de isomerización cuando fueron incorporados a la mezcla fumígena.

β-cipermetrina

Debido a la toxicidad diferencial presentada por los isómeros de piretroides, en los últimos años se ha tendido a enriquecer las mezclas comerciales en los isómeros más activos. Estas nuevas mezclas son llamadas piretroides de 3ª generación, y el más moderno de ellos es la *β*-cipermetrina (45). Este compuesto es de alta eficacia en control de plagas agropecuarias y se perfila como un insecticida promisorio para el control de insectos de importancia sanitaria, especialmente los vectores de la enfermedad de Chagas (30, 31). La *β*-cipermetrina es una mezcla particular de isómeros de cipermetrina compuesta por los pares activos *cis* II y *trans* II (Fig. 10).

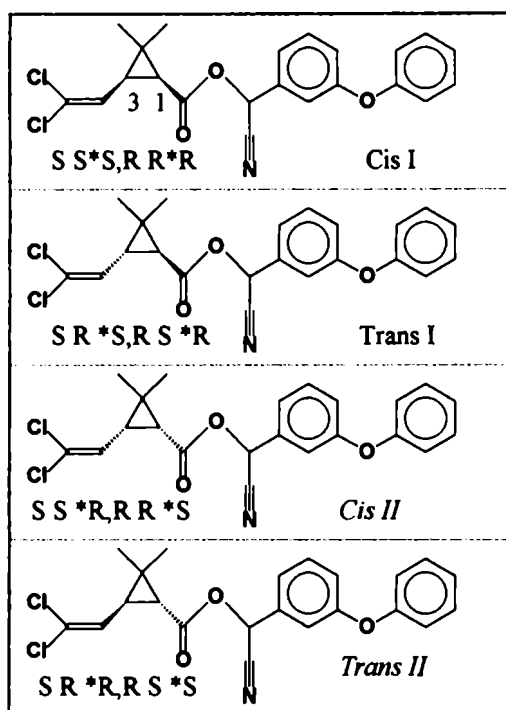


Figura 10. Pares isoméricos de cipermetrina y β -cipermetrina

En el contexto de este trabajo fue importante entonces analizar los procesos de isomerización de β -cipermetrina a otros isómeros biológicamente inactivos durante la liberación en humos producidos por mezclas fumígenas.

Se observó que la β -cipermetrina se isomeriza durante el quemado de las pastillas fumígenas: la aparición de los pares *cis I* y *trans I* fue determinada por HPLC.

Como se hiciera con la permetrina, fue de interés establecer la influencia de los agentes espumígenos en la isomerización. Para tal fin se midió la concentración final de isómeros después del quemado de la mezcla fumígena con y sin CNG (Fig. 11). Se trabajó con un 20% de CNG, basados en los resultados obtenidos con *cis*-permetrina, en los que esa concentración produjo la máxima inhibición de isomerización con buena combustión.

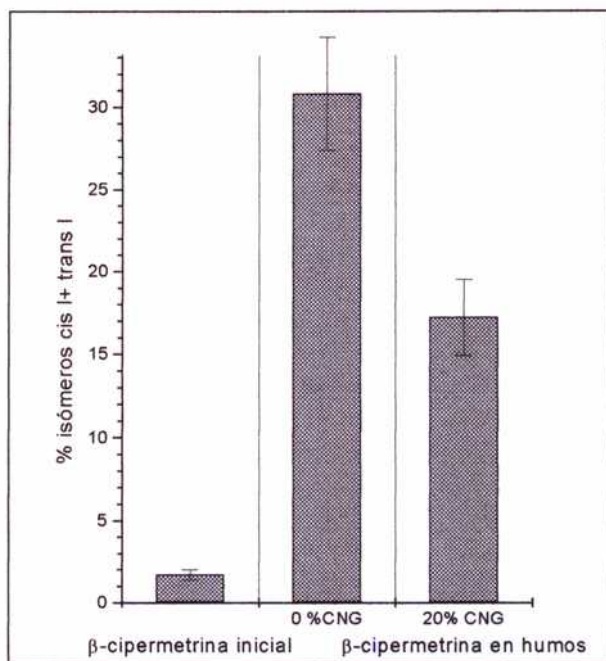


Figura 11. Influencia de la presencia de CNG en la mezcla fumígena en la magnitud de la isomerización a (*cis I + trans I*). La concentración inicial de β-cipermetrina en la mezcla fue 1,5%. Los resultados que se muestran en la Figura 11 indican que hubo una alta isomerización durante la liberación en humos de la β-cipermetrina, la cual disminuyó notablemente con el agregado de CNG a la mezcla. Asimismo, se estudió la influencia de la concentración inicial de β-cipermetrina en los porcentajes de isomerización (Fig. 12).

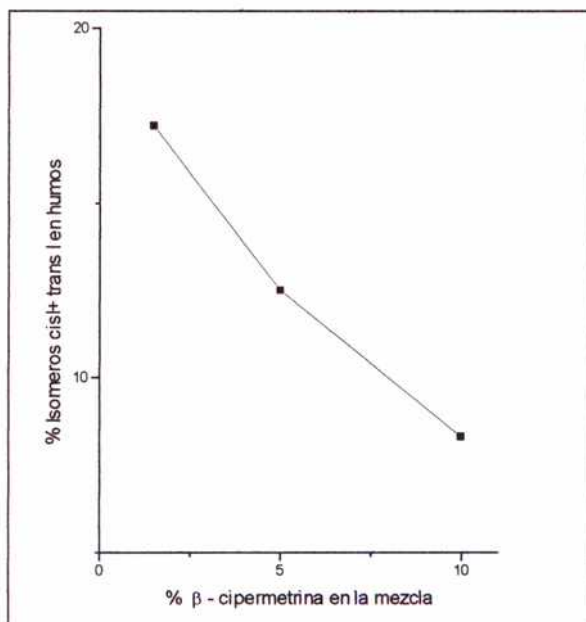


Figura 12. Influencia de la concentración de β-cipermetrina en la mezcla fumígena sobre la magnitud de su isomerización en mezclas conteniendo CNG.

En presencia de CNG, el proceso de isomerización se redujo en forma inversamente proporcional a la concentración de β -cipermetrina en la mezcla. Esto puede explicarse teniendo en cuenta que al aumentar la concentración de piretroide en la mezcla disminuyen la temperatura de quemado y la proporción del insecticida respecto a los componentes de la mezcla que catalizan su isomerización y descomposición.

La composición de β -cipermetrina luego de la combustión sugiere que en forma análoga a lo que ocurre con la permetrina, la isomerización tendería a una composición en isómeros que se acercaría a la de la cipermetrina sin enriquecimiento isomérico (Tabla 3).

Contenido de β -cipermetrina en la mezcla (%)	Contenido de agente espumígeno en la mezcla (%)	Composición isomérica post-combustión		Total isómeros inactivos <i>cis</i> I + <i>trans</i> I (%)
		<i>cis</i> I: <i>trans</i> I	<i>cis</i> II: <i>trans</i> II	
1.5	----	9.0: 21.8:	23.0 :46.0	30.8
1.5	20 (CNG)	7.2:10.0:	32.6: 50.1	17.2
1.5	40 (ADC)	5.7: 10.8:	37.7: 45.8	16.5
10	20 (CNG)	3.1: 5.2:	33.8: 57.9	8.3
β -cipermetrina		0.7: 1.0:	36.6: 61.7	1.7
cipermetrina		~ 25:	30: 21: 24	55

Tabla 3. Formación de isómeros inactivos durante la combustión de las mezclas fumígenas.

Se ha comentado en la Introducción de este trabajo que el proceso de isomerización en el ciclopropano puede ocurrir vía apertura del anillo o por epimerización en el C1 o en el C3. En el primer caso, el sistema se cerrará dando las estructuras finales *cis* o *trans* más favorecidas cinética o termodinámicamente. En el caso de nuestros resultados observados para la β -cipermetrina en la mezcla fumígena, se observa la aparición de los pares *cis* I (configuración S,S α S y R, R α R) y *trans* I (configuración S, R α S y R,S α R) a partir de los pares *cis* II (S,S, α R y R,R α S) y *trans* II (S, R α R y R, S α S). Sabemos, según hemos observado en permetrina, que se produce isomerización en el ciclopropano. Demostraremos más adelante que no se produce isomerización en el C α . Si la isomerización en el ciclopropano se produjera por epimerización en el C 1, el par *cis* II daría el par *trans* I y el par *trans* II daría el par *cis* I. Por otro lado, si la isomerización se produjera en el C 3 el par *cis* II daría el par *trans* II y el par *trans* II daría el par *cis* I. Según esta hipótesis no se justificaría la aparición del par *trans* I.

Entonces las dos posibilidades son :

1. que la isomerización se produzca en el C1
2. que la isomerización se produzca por apertura del anillo

Para distinguir entre estas dos hipótesis fue necesario hacer reaccionar un piretroide constituido por un solo isómero óptico. Para tal fin se utilizó la deltametrina constituido por el isómero óptico puro (S)- α -ciano-3 fenoxibencil (1R)-*cis*-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato , sobre la cual se midió isomerización térmica (ver punto II).

Isomerización por calentamiento

Reacciones en fase sólida: catálisis por $KClO_3$

Para saber si los procesos de isomerización de piretroides observados en la combustión de las mezclas fumígenas eran solamente de origen térmico o catalizados por alguno de los componentes de la mezcla, se realizaron ensayos en estufa en ausencia de la luz para evitar reacciones fotoquímicas. Como temperatura de estudio se eligió 210 °C ya que fue ésta la temperatura de combustión de la mezcla medida por Calorimetría de Barrido Diferencial (punto III). Se colocaron en ampollas color caramelo *cis*-permetrina, *cis*-permetrina + $KClO_3$ (80:20), y *cis*-permetrina + $KClO_3$ + dextrina (80:10:10) y se midieron los porcentajes de descomposición de permetrina y de isomerización de *cis*-permetrina a *trans*-permetrina vs tiempo (Fig. 13, 14 y 15).

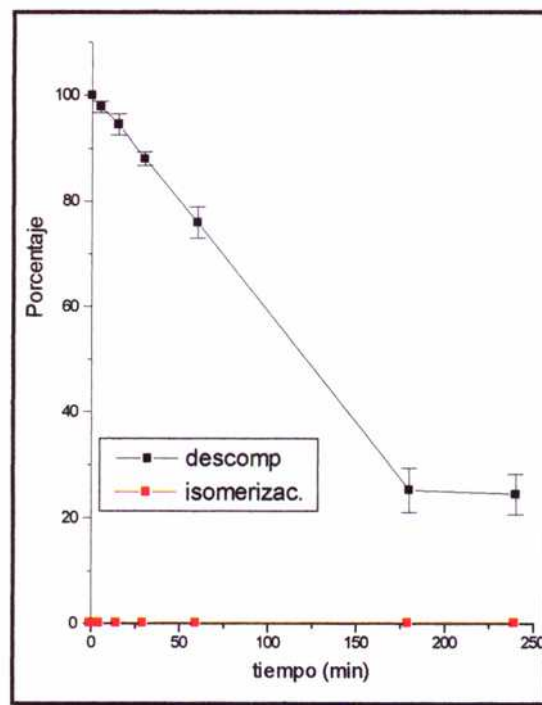


Figura 13. Curvas de descomposición e isomerización de *cis*-permetrina a 210 °C. La descomposición fue medida como $[(\text{masa de } cis + trans \text{ permetrina})_t / \text{masa de } cis\text{-permetrina inicial}] \times 100$ y la isomerización como $[(\text{masa de } trans\text{-permetrina})_t / (\text{masa de } cis + trans \text{ permetrina})_t] \times 100$

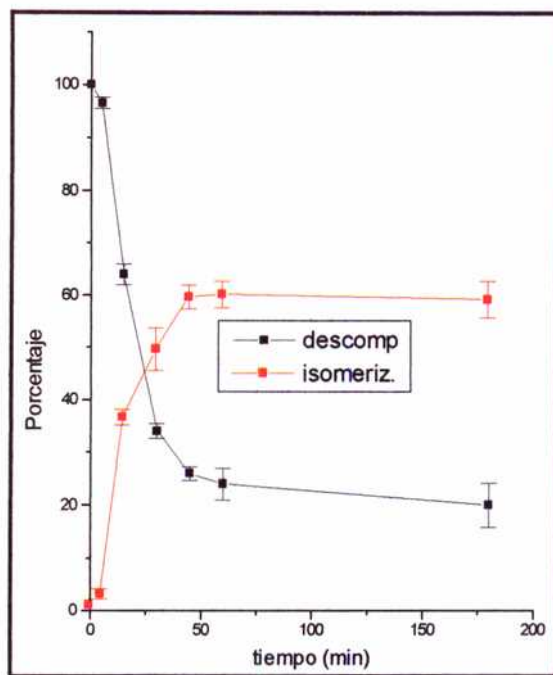


Figura 14. Curvas de descomposición e isomerización de permetrina en presencia de $KClO_3$ (20 %) a $210\text{ }^\circ\text{C}$. La descomposición fue medida como $[(\text{masa de } cis + trans \text{ permetrina})_t / \text{masa de } cis\text{-permetrina inicial}] \times 100$ y la isomerización como $[(\text{masa de } trans\text{-permetrina})_t / (\text{masa de } cis + trans \text{ permetrina})_t] \times 100$

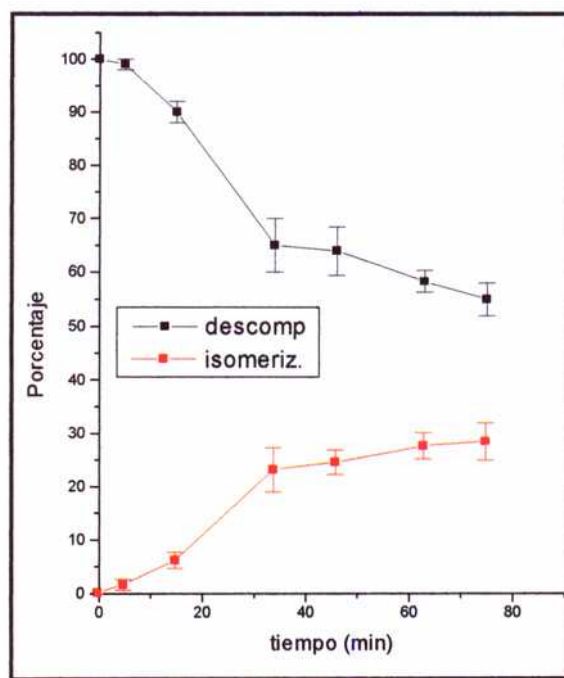


Figura 15. Curvas de descomposición e isomerización de permetrina en presencia de $KClO_3$ y dextrina a $210\text{ }^\circ\text{C}$. La descomposición fue medida como $[(\text{masa de } cis + trans \text{ permetrina})_t / \text{masa de } cis\text{-permetrina inicial}] \times 100$ y la isomerización como $[(\text{masa de } trans\text{-permetrina})_t / (\text{masa de } cis + trans \text{ permetrina})_t] \times 100$

Comparando las Figuras 13 y 14 se puede ver que la isomerización sólo se produjo a 210°C en presencia de catalizador. En su ausencia no se produjo isomerización medible pero sí reacciones de descomposición. La aparición de procesos de descomposición paralelos a la isomerización no permite calcular las constantes cinéticas del proceso de isomerización.

Se observó además que el porcentaje de isomerización aumentó proporcionalmente con la concentración de KClO_3 . En presencia de dextrina, disminuyeron tanto la isomerización como la descomposición, debido a que la dextrina reaccionó preferentemente con el KClO_3 durante los procesos de termólisis que ocurren a 210 °C.

Podemos suponer que la *cis*-permetrina reacciona paralelamente para dar por un lado permetrina *trans* y por otro lado diferentes productos de descomposición. Para analizarlo se graficó la curva de desaparición total de *cis*-permetrina (isomerización sumada a otras reacciones de descomposición) y la curva de aparición de isómero *trans* para las reacciones de *cis*-permetrina, *cis*-permetrina + KClO_3 y de *cis*-permetrina + KClO_3 + dextrina a 210°C (Fig. 16,17,18).

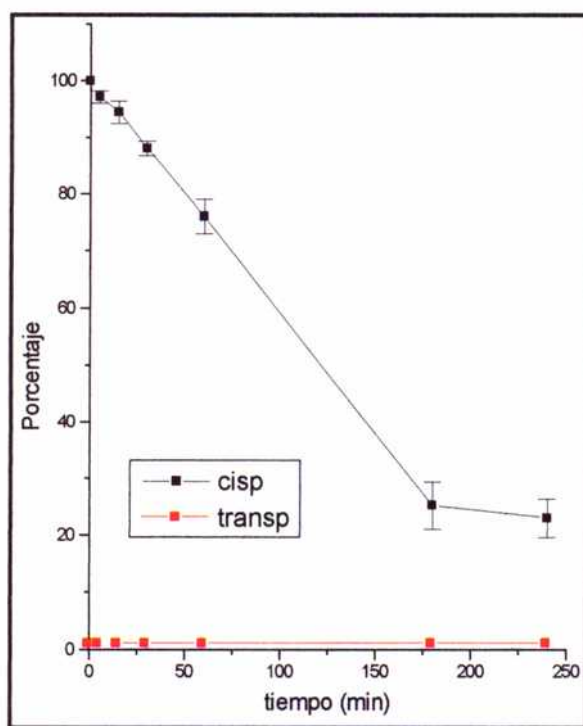


Figura 16. Curvas de desaparición total de *cis*-permetrina y aparición de *trans*-permetrina a 210 °C. La desaparición de *cis*-permetrina fue medida como $[(\text{masa de } cis\text{-permetrina})_t / \text{masa de } cis\text{-permetrina inicial}] \times 100$ y la formación de *trans*-permetrina como $(\text{masa de } trans\text{-permetrina})_t / \text{masa de } cis\text{-permetrina inicial} \times 100$.

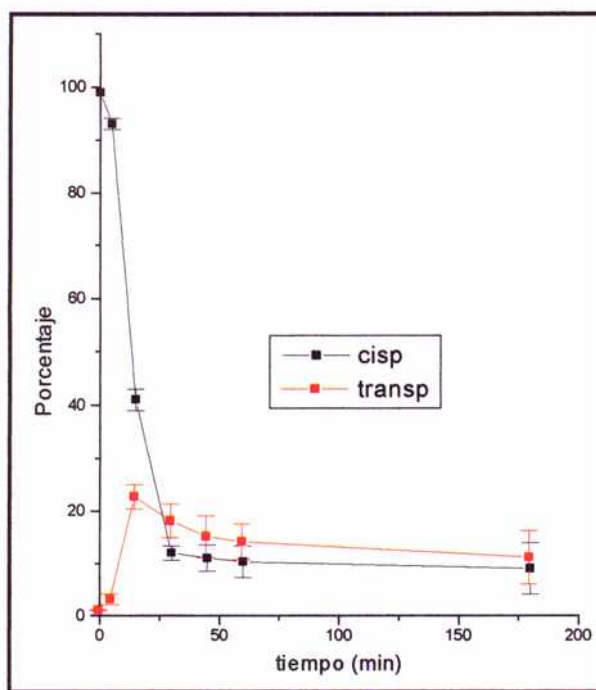


Figura 17. Curvas de desaparición total de *cis*-permetrina y aparición de *trans*-permetrina a 210 °C en presencia de KClO₃ (20%). La desaparición de *cis*-permetrina fue medida como $[(\text{masa de } cis\text{-permetrina})_t / \text{masa de } cis\text{-permetrina inicial}] \times 100$ y la formación de *trans*-permetrina como $[(\text{masa de } trans\text{-permetrina})_t / \text{masa de } cis\text{-permetrina inicial}] \times 100$

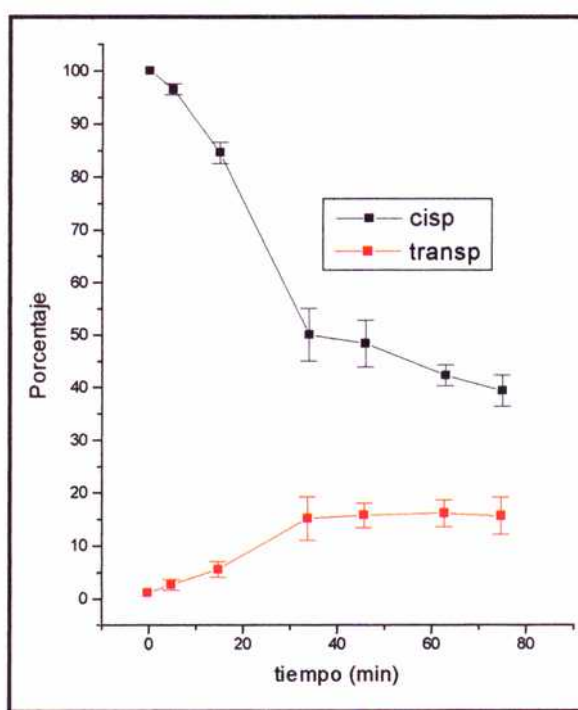


Figura 18. Curvas de desaparición total de *cis*-permetrina y aparición de *trans*-permetrina a 210 °C en presencia de KClO₃ (20%) y de dextrina (20 %). La desaparición de *cis*-permetrina fue medida como $[(\text{masa de } cis\text{-permetrina})_t / \text{masa de } cis\text{-permetrina inicial}] \times 100$ y la formación de *trans*-permetrina como $[(\text{masa de } trans\text{-permetrina})_t / \text{masa de } cis\text{-permetrina inicial}] \times 100$

Puede verse en la Figura 17 que inicialmente disminuyó la *cis*-permetrina y que la *trans*-permetrina aumentó hasta llegar a un máximo y luego su concentración decayó y se estabilizó debido posiblemente a procesos de descomposición análogos a los de la *cis*-permetrina.

Si bien no se pueden calcular constantes cinéticas para la isomerización debido a la presencia de reacciones paralelas, se calculó la velocidad inicial de reacción a partir de las curvas de aparición de isómero *trans* y de desaparición de *cis*-permetrina (en el caso de la desaparición de *cis*-permetrina es igual a la suma de las velocidades de todas las reacciones que sufre). Dicho cálculo se realizó para las reacciones a 210°C en estufa de *cis*-permetrina, *cis*-permetrina + KClO₃ y *cis*-permetrina + KClO₃ + dextrina. A partir de las respectivas curvas se calcularon las derivadas a tiempo = 0 (Tabla 4).

	Velocidad inicial	
	$-(\partial \text{cis-permetrina} / \partial t)_0^*$ (min ⁻¹)	$-(\partial \text{trans-permetrina} / \partial t)_0$ (min ⁻¹)
<i>cis</i> -permetrina	0.56	-
<i>cis</i> -permetrina + KClO ₃	1.18	0.4
<i>cis</i> -permetrina + KClO ₃ + dextrina	0.7	0.3

Tabla 4. Velocidades iniciales de desaparición de *cis*-permetrina y de aparición de *trans*-permetrina medidas como pendientes iniciales.

La desaparición de *cis*-permetrina tiene mayor pendiente que la aparición de *trans*-permetrina ya que la primera incluye a la segunda además de las reacciones de descomposición. Por otro lado la velocidad de descomposición + isomerización de *cis*-permetrina (desaparición de *cis*-permetrina) aumentó en el orden *cis*-permetrina < *cis*-permetrina + KClO₃ + dextrina < *cis*-permetrina + KClO₃. En el caso de la velocidad inicial de isomerización el orden fue *cis*-permetrina + KClO₃ + dextrina < *cis*-permetrina + KClO₃.

La influencia de la composición isomérica de la cipermetrina en su efectividad insecticida ha sido bien estudiada y se han desarrollado métodos de isomerización de cipermetrina con el objetivo de obtener mezclas más activas. De hecho, la β-cipermetrina, que contiene sólo los isómeros activos de la cipermetrina (*cis* II y *trans* II), se obtiene por isomerización en medio básico de la cipermetrina (46).

Como existen fenómenos de antagonismo entre isómeros, no es predecible *a priori* la actividad biológica de una determinada composición isomérica. Por este motivo y a los fines de ponderar la relevancia del proceso de isomerización catalizada por KClO₃ fue de interés aplicarla a la isomerización de cipermetrina para obtener una mezcla diferente de isómeros y evaluar su actividad biológica.

Para tal fin se colocaron ampollas con cipermetrina : KClO₃ 80: 20 a 210 °C y se midieron los porcentajes de isomerización y descomposición en función del tiempo de calentamiento. Se tomó como índice de la isomerización la aparición del isómero *trans* II en la mezcla (Figura 19).

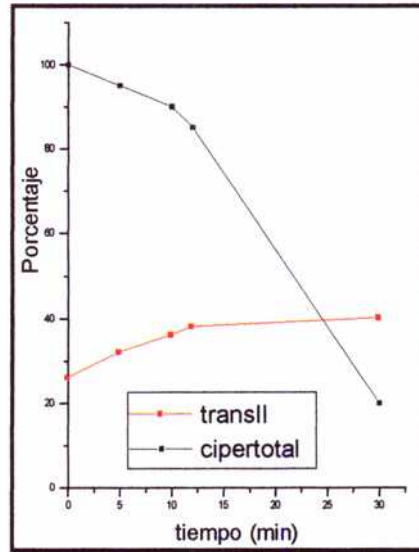


Figura 19. Curvas de descomposición e isomerización de cipermetrina en presencia de $KClO_3$ a 210 °C. La descomposición fue medida como $[(\text{masa de cipermetrina})_t / \text{masa de cipermetrina inicial}] \times 100$ y la isomerización como $[\text{masa de trans II} / (\text{masa de cipermetrina})_t] \times 100$.

Como se observó que la isomerización aumentaba paralelamente con la descomposición y que los grados de descomposición eran altos para bajos porcentajes de isomerización, se redujo la temperatura de trabajo. Se estableció como temperatura óptima en el compromiso descomposición - isomerización 110 °C. Se realizaron entonces las curvas de isomerización y descomposición en función del tiempo a esa temperatura (Figura 20).

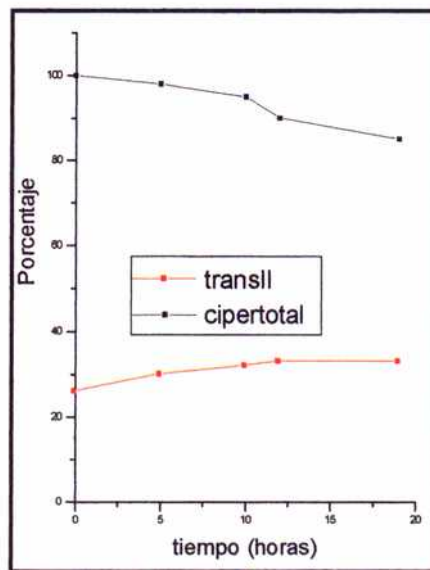


Figura 20. Curvas de descomposición e isomerización de cipermetrina en presencia de $KClO_3$ a 110 °C. La descomposición fue medida como $[(\text{masa de cipermetrina})_t / \text{masa de cipermetrina inicial}] \times 100$ y la isomerización como $[\text{masa de trans II} / (\text{masa de cipermetrina})_t] \times 100$.

Se observó que el % de *trans* II aumentó hasta un valor límite a esa temperatura (cercano a un 40 % del total). La actividad biológica de la mezcla isomérica finalmente obtenida fue evaluada en moscas domésticas. La descripción y resultados de estos ensayos se describen en el punto V.

Reacciones en fase sólida: catálisis por otras sales

Para establecer si la capacidad catalítica de la isomerización de permetrina es específica para el KClO_3 se probaron otras sales.

Los ensayos se realizaron en estufa a 210°C en iguales condiciones que los realizados con KClO_3 . Las sales probadas fueron:

KCl : ha sido previamente utilizado para catalizar la isomerización de monoterpenos (47)

IO_3Na : responde a la fórmula XO_3Me con $\text{X} = \text{halógeno}$

BrO_3K : responde a la fórmula general XO_3Me con $\text{X} = \text{halógeno}$

$\text{Cr}_2\text{O}_7\text{Na}$: presenta propiedades oxidantes

AlCl_3 : ha sido descripta previamente su capacidad de isomerizar ácido crisantémico (48)

CH_3ONa : ha sido descripta previamente su capacidad de isomerizar ácido crisantémico (49)

ClO_4NH_4 : presenta propiedades oxidantes y contiene Cl en alto grado de oxidación

MnO_4K : presenta propiedades oxidantes

Los resultados de isomerización obtenidos para la *cis*-permetrina calentada en mezcla con distintas sales se muestran en la Tabla 5.

Sal (20%)	Tiempo (min)	% Isomerización
KClO_3	40	47
NO_3K	5*	23
IO_3Na	30	15
BrO_3K	30	11
NO_2Na	45	0
KCl	45	0
$\text{Cr}_2\text{O}_7\text{Na}$	30	0
AlCl_3	30	0
CH_3ONa	30	0
MnO_4K	30	0
ClO_4NH_4	30	0

Tabla 5. Isomerización por calentamiento de *cis*-permetrina a 210°C en presencia de distintas sales.

* Se interrumpió a los 5 minutos debido al alto grado de descomposición del piretroide.

De los resultados obtenidos se pudo establecer que la catálisis de isomerización de la permetrina producida por KClO_3 puede ser extendida a sales de tipo XO_3K o XO_3Na con $\text{X} = \text{halógeno}$ o N .

Isomerización térmica de otros piretroides

Con el objetivo de determinar si la catálisis por KClO_3 es específica para permetrina y cipermetrina y establecer si existe una relación entre la estructura del piretroide y su

susceptibilidad frente a la isomerización por $KClO_3$, se sometió a varios piretroides y moléculas relacionadas (Figura 21) a la reacción de calentamiento con $KClO_3$.

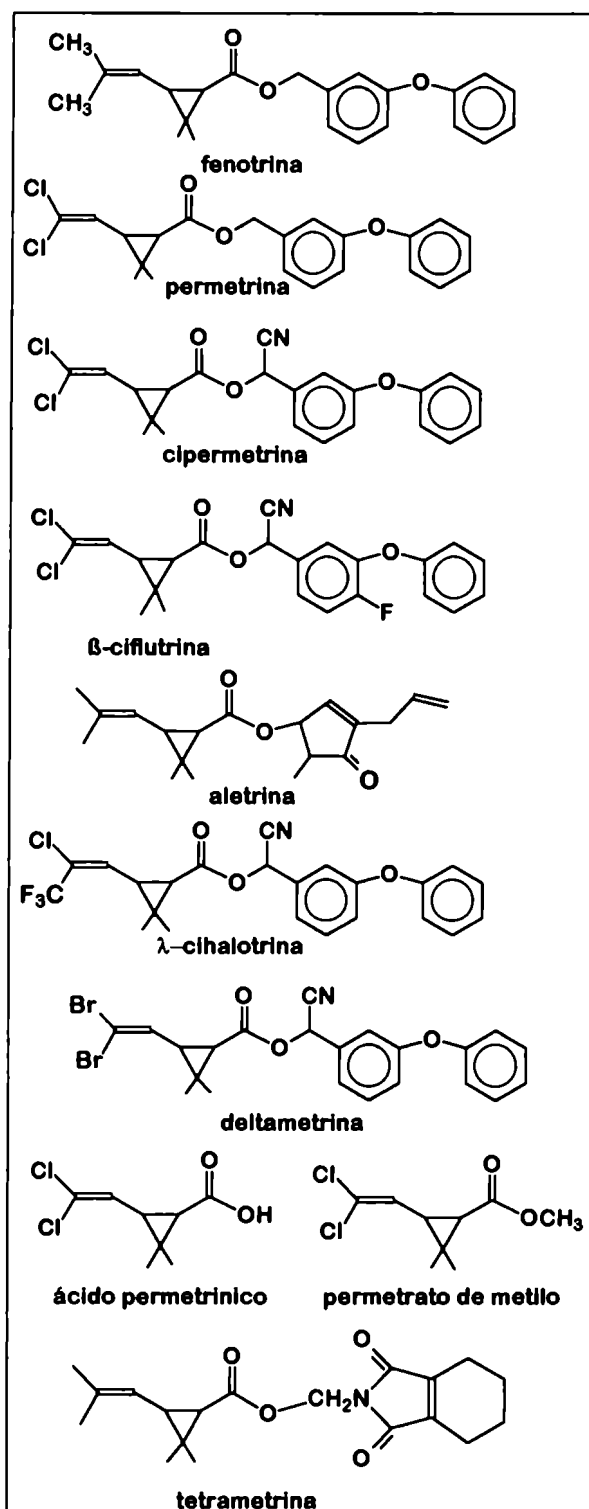


Figura 21. Piretroides y moléculas relacionadas cuya isomerización catalizada por $KClO_3$ fue medida a $210^\circ C$.

Los % de isomerización fueron medidos por CGL y se informan en la Tabla 6.

Compuesto	% Isomerización
deltametrina	30*

λ - cihalotrina	0
aletrina	0
β -ciflutrina	7**
fenotrina	0
tetrametrina	0
furametrina	0
ácido permetrínico	0
permetrato de etilo	0

Tabla 6. Resultados de ensayos de isomerización térmica catalizada por KClO_3 . Realizados a 210°C en ampollas. La relación piretroide : KClO_3 es 80 : 20.

*medida como % de *cis* 1 + *trans* 1 + *trans* 2

** medida como % de *cis* 1 + *trans* 1

Se observó reactividad frente al KClO_3 para los piretroides cuya unidad ácida es el permetrínico o deltametrínico (Cl y Br respectivamente como sustituyentes de los C vinílicos), y cuya unidad alcohólica es el 3-fenoxibencil alcohol o su α ciano derivado. La reactividad frente al KClO_3 no se perdió por la introducción de un F en el anillo del alcohol (β -ciflutrina). Los derivados de ácido crisantémico (CH_3 como sustituyente de los C vinílicos) no fueron isomerizables por KClO_3 . La sustitución de un Cl por un grupo CF_3 provocó la pérdida de reactividad. El ácido permetrínico libre no reaccionó y tampoco lo hizo su éster metílico.

Isomerización catalizada por KClO_3 en solución

Los resultados expuestos previamente muestran la isomerización térmica catalizada por KClO_3 en fase sólida. Dadas las dificultades inherentes al estudio y aplicabilidad de las reacciones en fase sólida se decidió evaluar si dicho proceso ocurre también en solución. Se probaron distintos solventes, barriendo el espectro de polaridades. Se prepararon soluciones 0.1 % de *cis*-permetrina y 0.02 % de KClO_3 en cada solvente o mezcla con agua y se llevaron a ebullición durante 20 min. La incorporación de agua permite la disolución del KClO_3 . Los resultados de isomerización se informan en la Tabla 7.

Solvente	Composición isomérica final
	<i>cis</i> : <i>trans</i>
xileno	99:1
tolueno	99: 1
acetona	99: 1
metanol	99: 1
dimetilformamida	99: 1
hexano-agua	99: 1
cloroformo- agua	99: 1
etanol- agua	99: 1
dioxano- agua	99: 1

Tabla 7. Pruebas de isomerización de *cis*-permetrina (0.1%) catalizada por KClO_3 (0.02%) en distintos solventes.

Ante los resultados negativos obtenidos, y pensando que no había contacto entre reactantes disueltos en distintas fases, se incorporó a las soluciones bifásicas un catalizador de transferencia de fase (Tabla 8).

Solvente	Composición isomérica final
	<i>cis/trans</i>
hexano- agua- catalizador	99: 1
cloroformo-agua-catalizador	99: 1

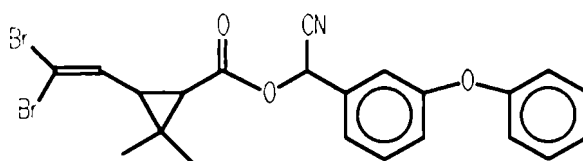
Tabla 8. Pruebas de isomerización de *cis*-permetrina (0.1%) catalizada por KClO_3 (0.02%) en solución en presencia de catalizador de transferencia de fases.

Tampoco se obtuvieron así los procesos de isomerización esperados. Para corroborar estos resultados se hicieron pruebas con permetrina 40: 60, β -cipermetrina, cipermetrina y con ácido permetrínico en las condiciones experimentales descritas en las dos tablas anteriores. Como resultado de estas experiencias se estableció que para las condiciones probadas no hay isomerización medible en ninguno de los casos estudiados.

También se probaron mayores tiempos de reacción pero los resultados fueron los mismos. Surge de lo expuesto que la reacción entre KClO_3 y el piretroide procede solamente en fase sólida, probablemente por el íntimo contacto entre reactantes.

Isomerización de piretroides ópticamente activos

Para estudiar en mayor detalle la isomerización térmica de piretroides catalizada por KClO_3 , se realizaron ensayos con deltametrina. La deltametrina es el isómero 1R,3R α S de la estructura:



Esta configuración es esencial para su alta actividad insecticida. Como los otros isómeros de la deltametrina (son ocho posibles) tienen muy diferente actividad biológica, la isomerización fotoquímica ha sido muy estudiada. Ruzo *et. al* (50) han dado un sistema de numeración de estos isómeros según el cual el 1 es la deltametrina y el 3 es el otro isómero que tiene actividad biológica (aunque menor) (Tabla 9).

Isómero	Configuración
1 (deltametrina)	1R3R α S
1'	1S3S α R
2	1R3R α R
2'	1S3S α S
3	1R3S α S
3'	1S3R α R
4	1R3S α R
4'	1S3R α S

Tabla 9. Designación de los isómeros de deltametrina (46)

Ruzo *et al.* (50) encontraron en 1977 que la isomerización fotoquímica de la deltametrina en filme sobre vidrio daba los isómeros (3+4'), mientras que Hill y Jhonson (51) encontraron en ensayos similares (2+2'), (3+3'), (4+4') además de (1+1'). Sin embargo, un trabajo posterior que a diferencia de los anteriores se realizó por Cromatografía Quiral (HPLC) demostró que solamente se producen los isómeros 2', 3 y 4' (52). Es decir que en condiciones fotoquímicas los productos de isomerización provienen de la apertura del ciclopropano como fue propuesto por Ruzo y colaboradores (50).

Estos antecedentes nos sugirieron el uso de las mismas condiciones cromatográficas para el análisis de los productos de isomerización térmica de deltametrina. Para tal fin, se analizó por HPLC quiral el producto de isomerización térmica con $KClO_3$ obtenido en el punto II. Se detectó así la formación de 4 isómeros: 1, 2', 3 y 4'; es decir que, análogamente a lo que ocurre en el proceso fotoquímico, no se produjo epimerización en el C α y la aparición de los isómeros 2 y 4' requiere apertura del anillo.

Aunque sabíamos por los resultados obtenidos con permetrina que la isomerización ocurre en el anillo ciclopropano, para descartar la reactividad del C α del alcohol 3-fenoxibencílico frente al $KClO_3$ se realizó un ensayo de calentamiento con esta sal a 210 °C con un piretroide que no tiene isomería *cis-trans* en el anillo ciclopropano pero sí tiene el grupo α -ciano 3-fenoxibencílico (Figura 22).

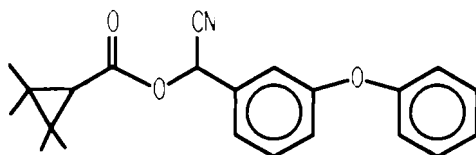


Figura 22. Fenpropatrina

Tal como era esperado, no se observó epimerización en el grupo α -ciano.

No se han encontrado antecedentes en la literatura de reacciones en fase sólida de isomerización *cis-trans* catalizadas por $KClO_3$ u otras sales derivadas de oxiácidos. Teniendo en cuenta otros trabajos de isomerizaciones *cis-trans* de ciclopropanos en solución catalizadas por sales, podrían plantearse, como hipótesis para el fenómeno de conversión isomérica de piretroides catalizado por sales de oxiácidos aquí descrito, las siguientes dos posibilidades:

a) Una especie nucleófila aniónica formada a partir de la sal de oxiácido en presencia del piretroide que abriría el ciclopropano iniciando la isomerización en forma similar al proceso fotoquímico (6). E. Yankee y colaboradores informaron un proceso de este tipo, si bien en

fase solvente, a partir de $ClLi$ como generador de la especie nucleófila aniónica que cataliza la isomerización de distintos derivados de ciclopropano (Fig. 23) (53).

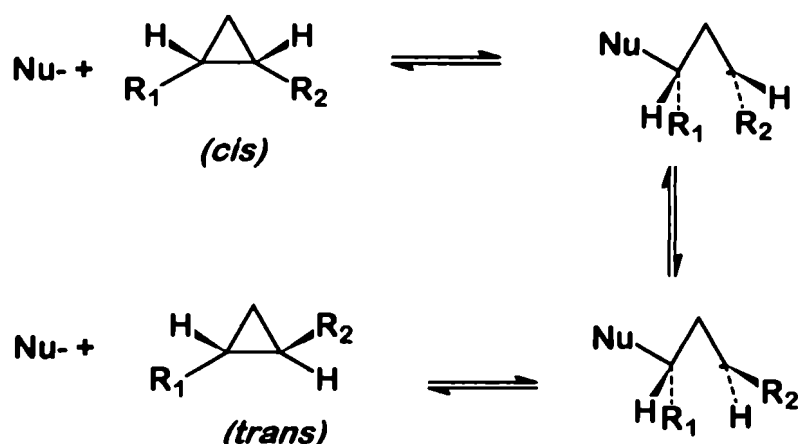


Figura 23. Mecanismo general de isomerización originada por un nucleófilo.

Según este mecanismo, a través de una reacción SN_2 el Nu^- desplaza un grupo saliente para dar el carbanión. El carbanión colapsa en parte a la estructura de partida y en parte ocurre una rotación de 180°C formando el otro carbanión que a su vez colapsará en parte a través de una reacción SN_2 intramolecular al isómero *trans*.

b) Un radical libre formado a partir del KClO_3 o de su reacción con el piretroide podría iniciar la apertura del ciclopropano en una forma similar a la isomerización térmica de derivados de ciclopropano (54) o similar a la isomerización fotoquímica de piretroides (6).

Si bien el KClO_3 puro se descompone por encima de 480°C (55), la presencia de metales como impurezas provoca la formación de radical ClO_3 a menores temperaturas y es posible que a temperaturas como las que se usaron para la catálisis de isomerización de piretroides se formen pequeñas cantidades de estas especies reactivas que permitirían iniciar la apertura del ciclopropano. Asimismo, la presencia de ClO_2K como impureza, cuya descomposición ocurre a temperaturas menores de 200°C podría iniciar las reacciones de isomerización (55).

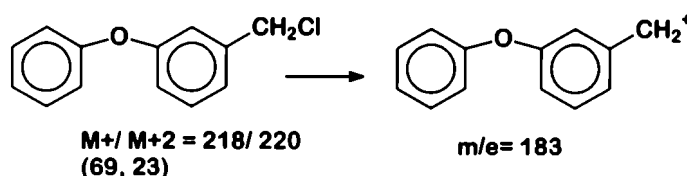
III. Productos de descomposición térmica de piretroides

Caracterización de estándares y sustancias sintetizadas

Sustancias sintetizadas

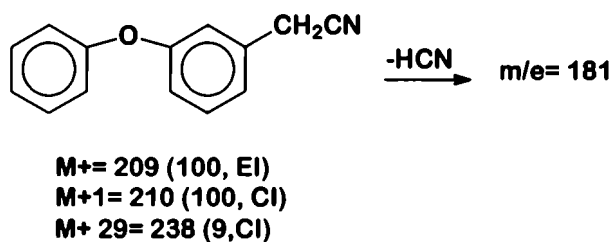
a) Cloruro de 3-fenoxibencilo

Fue caracterizado por su EM :



b) 3-Fenoxibencilonitrilo

Fue caracterizado por su EM por EI y CI:



Estándares obtenidos de otros laboratorios

Por EM/EI se caracterizaron ácido permetrínico (ADCV), 3-fenoxibenzaldehído (3-Fbal), ácido 3-fenoxibenzoico (3-Fbac), 3-fenoxibencilalcohol (3-Fbalc), permetrina y β -cipermetrina (Figura 24, Tabla 11) y por EM/ CI ADCV, 3-Fbal, 3-Fbalc, 3-FbCl, 3-FbCN, permetrina y β -cipermetrina (Figura 24, Tabla 10).

Compuesto	m/e (intensidad relativa)
ADVC	209(M+1,35),173(M-35,32), 113(100),112(62),93(61)
3-Fbal	199(100,M+1),171(M-CO,84),227(M+29)
3-Fbac	215(100,M+1),243(M+29),197(M-17, 12),153(18)

3-Fbalc	183 (100, M-17), 201(22,M+1)
β -cipermetrina	181(100),183(68),208(52),210(82),191(95)

Tabla 10. CG-masa- CI de estándares

Compuesto	m/e (intensidad relativa)
ADVC	173 (100,M-Cl), 163 (M-COOH,35), 127(163-HCl,95), 91(127-HCl,78)
3-Fbalc	200 (M+,100),171(24)
3-FbCl	218 (M+, 69), 183(M-Cl,100)
3-FbCN	209 (100),210(12),181(15.34), 141(21.21),77(21.59)
3-Fbal	197(100), 198(11.6, M+), 169(5.74),141(21.21),77(21.59)
3-Fbac	214(100,M+), 196(68,M-H ₂ O),169 (M-COOH,84)
permetrina	183(100),184(12),163(25),390(<1,IM),77(9)
β -cipermetrina	163(100),165(70),167(13),181(61.), 209 (21),208(12.35),415(2,M+)

Tabla 11 .CG-masa -EI de sustancias de referencia

Productos de descomposición formados a 210°C

cis-Permetrina

La *cis*-permetrina (protegida de la luz) fue calentada a 210 °C en estufa como se describió en el punto II. Como producto del calentamiento se obtuvo una sustancia marrón claro, soluble en diclorometano. Se analizaron las soluciones por cocromatografía en CGL capilar, contra estándares y sustancias sintetizadas en el laboratorio, y luego se caracterizaron los picos por CG-masa. El cromatograma (Fig. 25a) mostró la presencia de *cis*-permetrina como pico mayoritario , según fue confirmado por su EM (Fig. 24). Como ya se describió en el punto III , no se produjo isomerización *cis-trans*. El resto de los picos (Tabla 12) fueron identificados por cocromatografía contra estándares y por sus EM (Fig.24).

Compuesto	t _R	% de Areas *
1. ADVC	10.09	0.3
2.3- Fbal	13.19	0.3
3. 3-FbCl	13.82	0.7
4. 3-Fbalc	14.09	0.7
5. permetrina	21.92	98.0

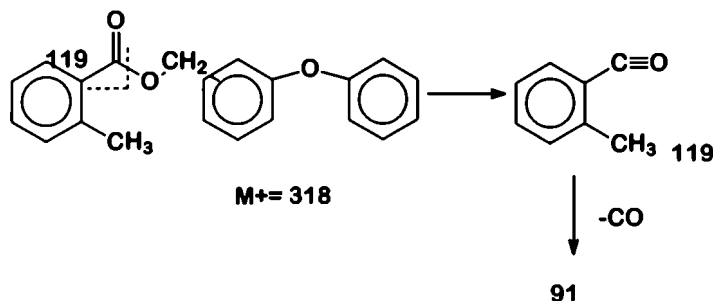
Tabla 12. *Distribución porcentual de productos formados a 210 °C durante 15' a partir de *cis*-permetrina calculados como porcentaje de áreas en el cromatograma.

El ensayo se realizó también en presencia de KClO_3 en proporción de 20% respecto de la permetrina. En este caso la descomposición de la permetrina fue mayor (Tabla 13 y Fig. 25b) y se obtuvieron, además de los productos formados en ausencia de catalizador, 3-Fbac (Fig. 24) y el isómero *trans*, proceso descrito en el punto II.

Compuesto	t_R	% de Áreas *
1. ADVC	10.09	0.9
2.3- Fbal	13.19	0.7
3. 3-FbCl	13.82	3.7
4. 3-Fbalc	14.09	3.3
5. 3-Fbac	15.12	2.4
6. permetrina	21.92	88.5

Tabla 13. *Distribución porcentual de productos formados a 210°C en presencia de KClO_3 durante 15' a partir de *cis*-permetrina calculados como porcentaje de áreas en el cromatograma

Un pico en t_R 20.09 de área en proporción de 0.1% presentó un EM (Fig. 24) que puede ser interpretado como correspondiente a *o*-toluato de 3-fenoxibencilo, según se detalla a continuación :



Asimismo un par de picos de proporción también menores al 0.8 % mostraron EM similares (Fig. 24) observándose la presencia del fragmento 3-fenoxibencílico y la mitad ácida modificada. Podría tratarse de dos isómeros pero sus bajas concentraciones no permitieron aislarlos y los EM no permitieron dilucidar sus estructuras completas.

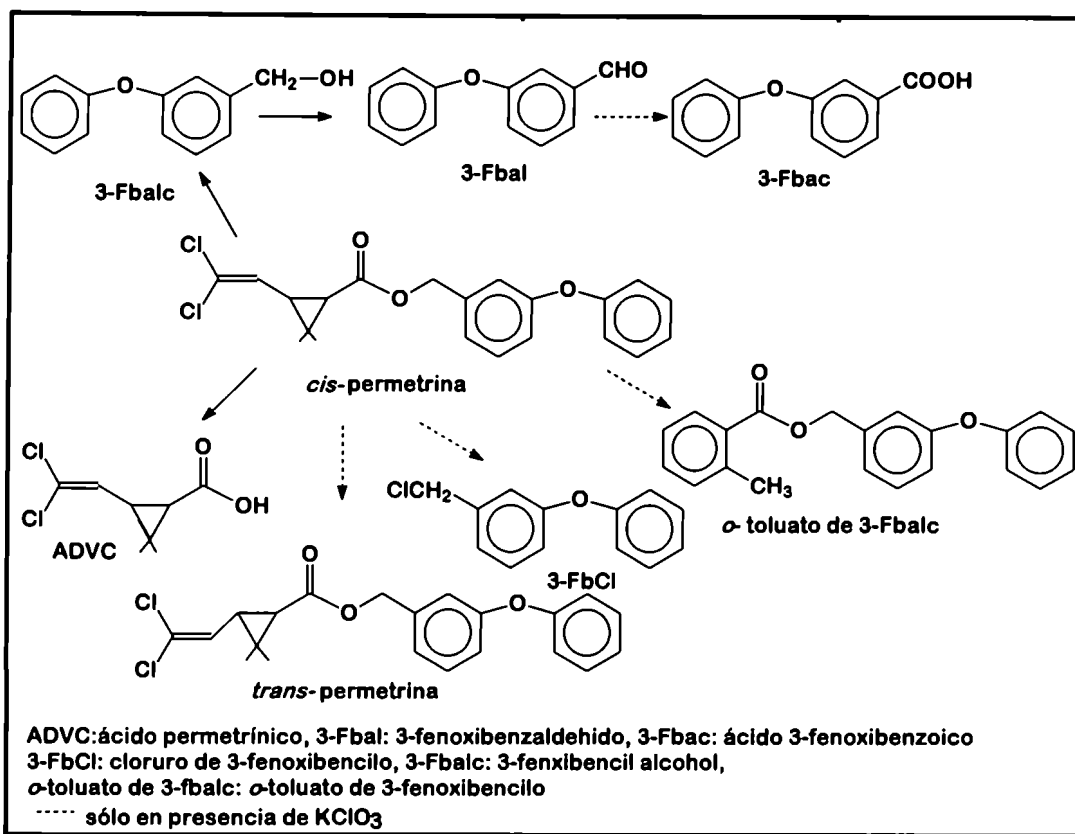


Figura 26. Productos de descomposición térmica de *cis*-permetrina a 210°C.

La Fig. 26 muestra un esquema de la descomposición térmica de *cis*-permetrina, en presencia y ausencia de KClO₃. La formación de ADVC, 3-Fbal, y 3-FbClc ha sido descrita en la descomposición fotoquímica de permetrina (8). No se observó la formación de lactonas derivadas del ácido permetrínico como fue informado para la pirólisis de furametrina, piretroide derivado del ácido crisantémico. La formación de 3-FbCl no ha sido descrita en la descomposición fotoquímica de permetrina. La formación del 3-FbCl se produciría antes de la ruptura ya que el tratamiento a 210°C del 3-FbClc no produjo el cloruro. Aunque no se detectó la formación de monocloro permetrina que sí ha sido descrita como producto de la descomposición fotoquímica de permetrina, su formación llevaría a la formación de HCl. El HCl formado podría dar origen a la formación del cloruro. Sin embargo, la formación de monocloro permetrina no puede descartarse ya que el EM del producto no identificado citado anteriormente y que se presenta como dos isómeros es compatible con esa estructura.

En ausencia de catalizador se produjo muy baja descomposición y no se produjo isomerización *cis-trans*. Se formaron pequeñas cantidades de productos de la ruptura del enlace éster. El alcohol liberado se oxidó a aldehído.

En presencia de KClO₃ la descomposición fue mayor. También predominaron los procesos de ruptura del enlace éster además de la isomerización. En este caso la oxidación de alcohol continuó hasta ácido.

El proceso de aromatización del ciclopropano para dar *o*-toluate de 3-fenoxibencilo se produciría en muy baja proporción.

No fueron analizados productos altamente volátiles o no detectados por CGL en las condiciones realizadas.

β -cipermetrina

La β -cipermetrina fue calentada a 210 °C durante 15' en ampolla color caramelo. Como producto del calentamiento se obtuvo una sustancia marrón, soluble en diclorometano. Se analizaron las soluciones por cocromatografía en CGL capilar, contra estándares y sustancias sintetizadas en el laboratorio, y luego se caracterizaron los picos por CG-masa. El cromatograma (Fig. 25c) mostró la β -cipermetrina como pico mayoritario y su identidad se confirmó por su EM (Fig. 24). No se produjo isomerización *cis-trans*. Los picos restantes (Tabla 14) fueron identificados por cocromatografía contra estándares y por sus EM (Fig. 24).

Compuesto	t_R	% de Areas *
1. ADVC	10.09	0.4
2. 3- Fbal	13.19	0.5
4. 3Fbol	14.09	0.3
3. 3-FbCN	14.88	0.1
4. β -cipermetrina	22.76/22.88	98.7

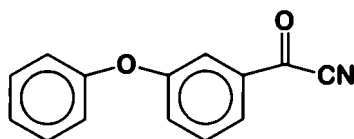
Tabla 14. *Distribución porcentual de productos formados a 210°C durante 15' a partir de β -cipermetrina calculados como porcentaje de áreas en el cromatograma.

El ensayo también se realizó en presencia de $KClO_3$ en proporción de 20% respecto de la β -cipermetrina. En este caso la descomposición de la β -cipermetrina fue mayor que en ausencia de $KClO_3$ (Tabla 15 y Fig. 25d).

Compuesto	t_R	% de Areas *
1. ADVC	10.09	3.1
2. 3- Fbal	13.19	22.1
3. 3-FbCOCN ^a	13.29	2.5
4. 3-Fbalc	14.09	-
5. 3-FbCN	14.88	4.8
6. 3-Fbfac	15.12	10.2
7. derivado <i>o</i> -toluico ^b	20.96	2.9
8. cipermetrina	22.76/22.88	57.0

Tabla 15. *Distribución porcentual de productos formados a 210 °C en presencia de $KClO_3$ durante 15' a partir de β -cipermetrina calculados como porcentaje de áreas en el cromatograma.

^a la caracterización de este compuesto se realizó sobre la base de su EM (CI) :



M+1 = 196 (100)

M+29=224 (13)

^b Análogamente a lo que ocurre con la permetrina, se postula la estructura siguiente en base a su EM (Fig. 24) :

También se observó la presencia en de dos picos en proporciones menores que 0.1%. Correspondieron a moléculas con la misma mitad alcohólica que la β -cipermetrina y la mitad ócida modificada. Posiblemente fueron isómeros, a juzgar por sus EM, pero la información obtenida y sus bajas concentraciones no permiten asignarles una estructura.

La descomposición térmica de la β -cipermetrina en ausencia de catalizador es muy baja en las condiciones ensayadas. Como se resume en la Figura 27, los productos formados provienen de la ruptura del enlace éster y de oxidación posterior del alcohol formado. No hubo isomerización *cis-trans*.

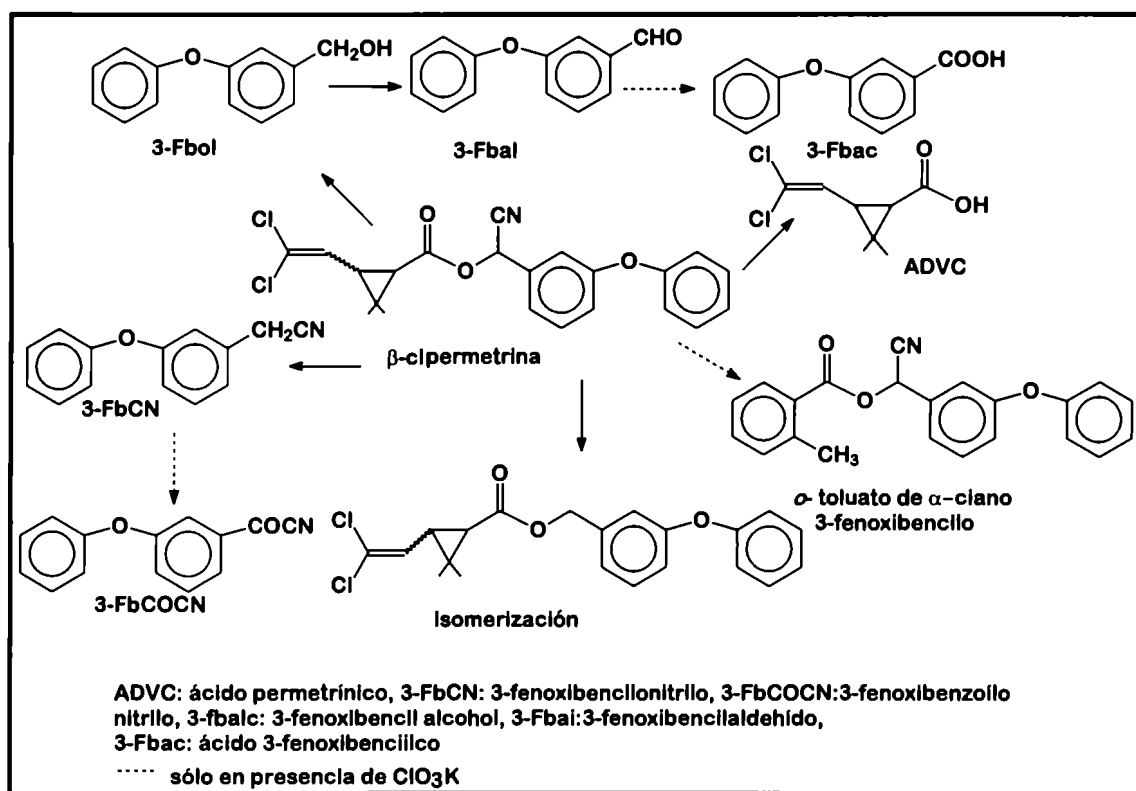


Figura 27. Productos de descomposición térmica de β -cipermetrina a 210°C .

En presencia de KClO_3 aumentó la proporción de productos de oxidación. El aldehído formado sufrió oxidación subsecuente a ácido y el 3-FbCN o su cianhidrina, cuya presencia no puede detectarse porque en las condiciones cromatográficas se descompone al aldehído, podrían también oxidarse al 3-FbCOCN.

A juzgar por su EM, el producto de aromatización del ciclopropano conservaría el sustituyente CN. La caracterización completa de producto no se realizó porque la muy baja proporción en que se formó no permitió su aislamiento.

No fueron analizados productos altamente volátiles o no detectados por CGL en las condiciones realizadas.

Productos de descomposición formados durante la combustión de la mezcla fumígena

cis-Permetrina

Las soluciones en diclorometano provenientes del quemado de la mezcla fumígena (ver punto I) fueron analizadas por cocromatografía en CGL capilar, contra estándares y sustancias sintetizadas en el laboratorio, y luego se caracterizaron los picos por CG-masa. La cromatografía gaseosa mostró la presencia de numerosos picos (Fig. 25 e) pero comparando con el obtenido por combustión de la mezcla sin insecticida algunos de ellos pudieron ser atribuidos a la descomposición de la matriz fumígena (Tabla 16). El componente en mayor concentración fue la *cis*-permetrina, cuya identidad se confirmó por su EM. Como ya se describió en el punto III, se produjo isomerización *cis-trans*. El resto de los picos fue identificado por cocromatografía contra estándares y por sus EM (Fig. 24).

Compuesto	t_R	% de Áreas *
1. ADVC	10.09	1.1
2. 3- Fbal	13.19	0.9
3. 3FbCl	13.82	0.3
4. 3-Fbalc	14.09	6.6
5. permetrina	21.92/22.02	91.1

Tabla 16. *Distribución porcentual de productos formados en la combustión de la mezcla fumígena conteniendo CNG y 1,5% de *cis*-permetrina, calculados como porcentaje de áreas en el cromatograma.

También se encontró en proporción menor que 0.1% el derivado *o*-toluico encontrado en la descomposición térmica de la permetrina. Se pudo observar que la formación de los productos de termólisis también ocurrió durante la combustión de la mezcla fumígena.

β -cipermetrina

Las soluciones en diclorometano provenientes del quemado de la mezcla fumígena fueron analizadas por cocromatografía en CGL capilar, contra estándares y sustancias sintetizadas en el laboratorio, y luego se caracterizaron los picos por CG-masa. Se analizaron la mezclas provenientes de mezclas fumígenas de distinta composición: con CNG, con ADC y sin agente espumígeno. En todos los casos la cromatografía gaseosa mostró la presencia de numerosos picos (Fig. 25 f,g,h). Por comparación con los resultados obtenidos por quemado de las mezclas sin insecticida, se descartaron los picos correspondientes a la descomposición térmica de la matriz fumígena (Tablas 17, 18 y 19). Como ya se describió en el punto II, se produjo isomerización durante la

combustión. El resto de los picos fueron identificados por cocromatografía contra estándares y por sus EM (Fig. 24).

Compuesto	t_R	% de Areas *
1. ADVC	10.09	1.2
2. 3- Fbal	13.19	7.3
3. 3-FbCOCN	14.98	0.3
4. 3-FbCl	13.83	0.3
5. 3-Fbalc	14.09	0.6
6. 3-FbCN	14.88	6.2
7. 3-Fbfac	15.12	5.9
8. permetrina	21.92-22.02	3.5
9. cipermetrina	22.76-22.88	74.7

Tabla 17. * Distribución porcentual de productos formados en la combustión de la mezcla fumígena sin agentes espumígenos y 1.5% de β -cipermetrina , calculados como porcentaje de áreas en el cromatograma.

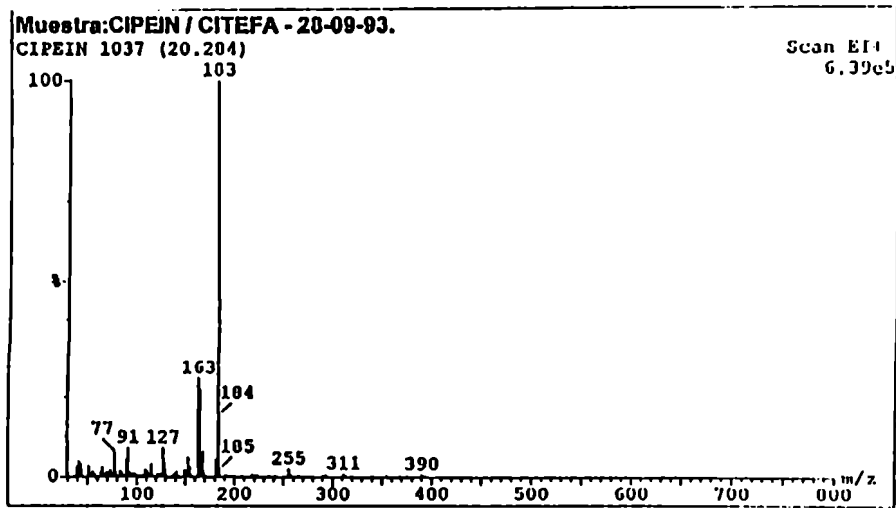
Compuesto	t_R	% de Areas *
1. ADVC	10.09	0.1
2. 3- Fbal	13.19	1.9
3. 3-FbCOCN	13.29	0.09
4. 3-Fbalc	14.09	0.5
5. 3-FbCN	14.88	0.2
6. cipermetrina	22.76-22.88	97.2

Tabla 18. *Distribución porcentual de productos formados en la combustión de la mezcla fumígena conteniendo CNG y 1.5% de β -cipermetrina, calculados como porcentaje de áreas en el cromatograma.

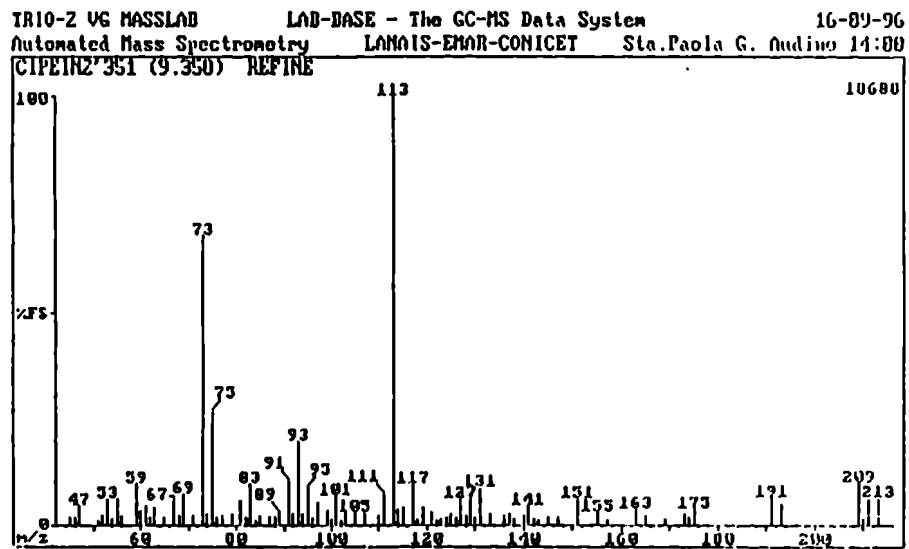
Compuesto	t_R	% de Areas *
1. ADVC	10.09	0.7
2.3- FBal	13.19	3.3
3. FbCOCN	13.29	0.1
4. 3-Fbalc	14.09	0.8
5. 3-FbCN	14.88	1.4
6. permetrina	21.92- 22.02	4.3
7. cipermetrina	22.76-22.88	89.4

Tabla 19. *Distribución porcentual de productos formados en la combustión de la mezcla fumígena conteniendo ADC y 1.5% de β -cipermetrina, calculados como porcentaje de áreas en el cromatograma.

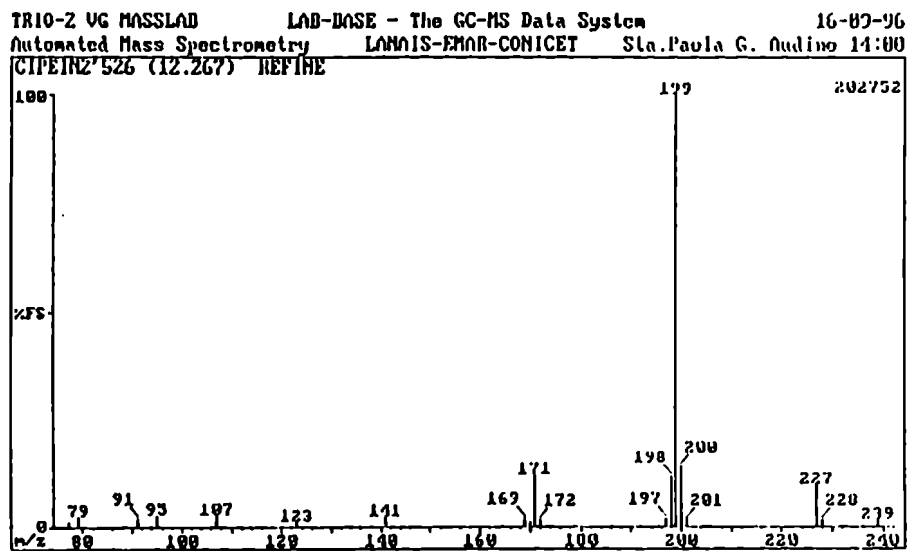
Pudo observarse que en las descomposiciones por mezclas fumígenas se encontraron los mismos productos formados en la termólisis a 210°C. En la mezcla sin agentes espumígenos se formó mayor proporción de los productos de descomposición que en las mezclas con CNG y ADC, tal como era esperado debido a que la temperatura de combustión de la mezcla sin productores de gases es mucho mayor y se encuentra por encima de las temperaturas de descomposición de los piretroides estudiados.



Permetrina (EI)

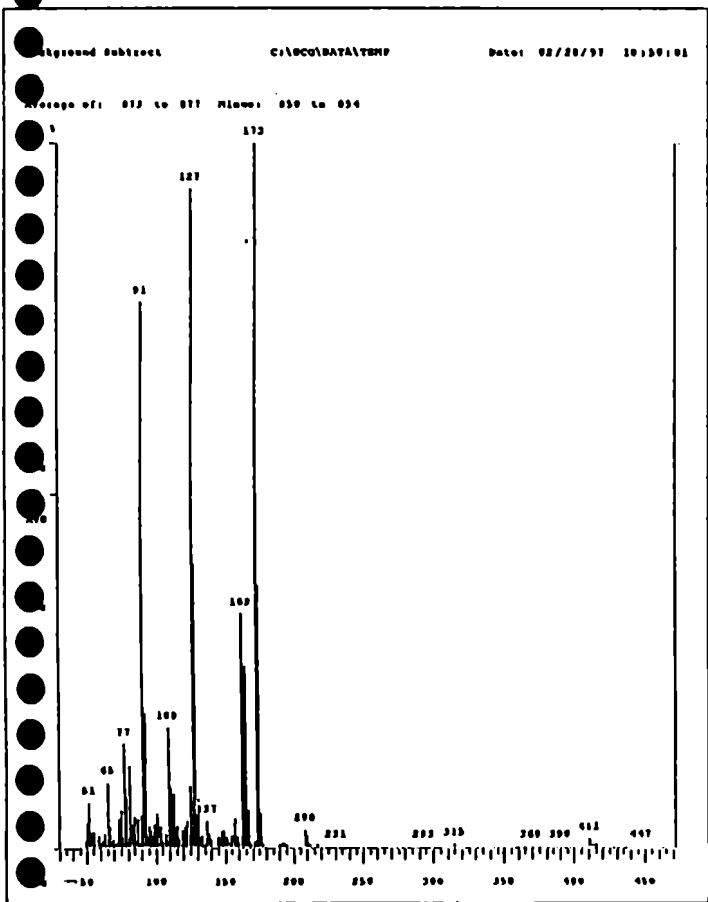


Acido permtrínico (CI)

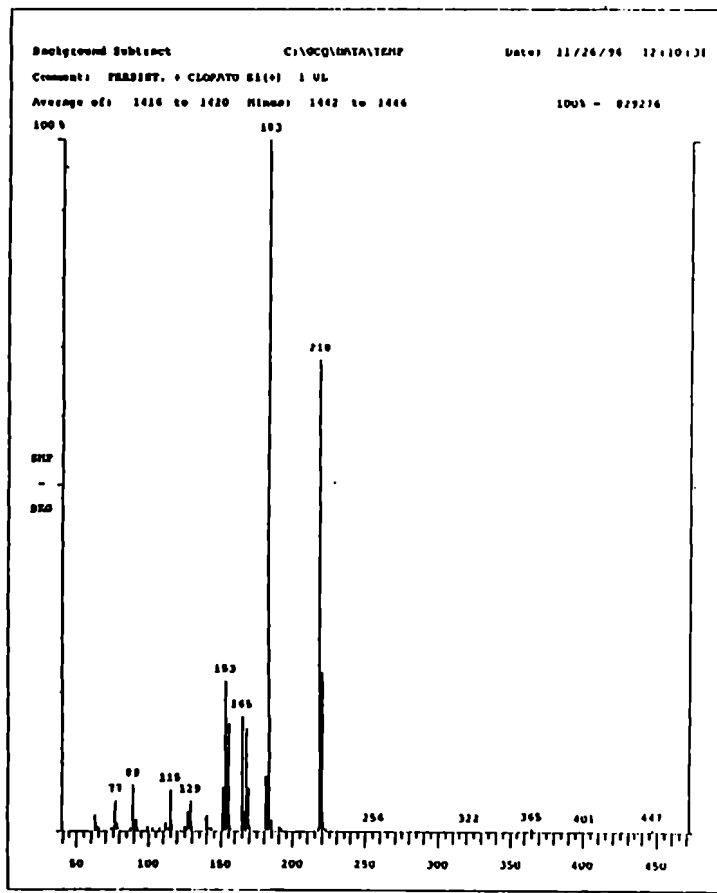


3-Fenoxibenzaldehído (CI)

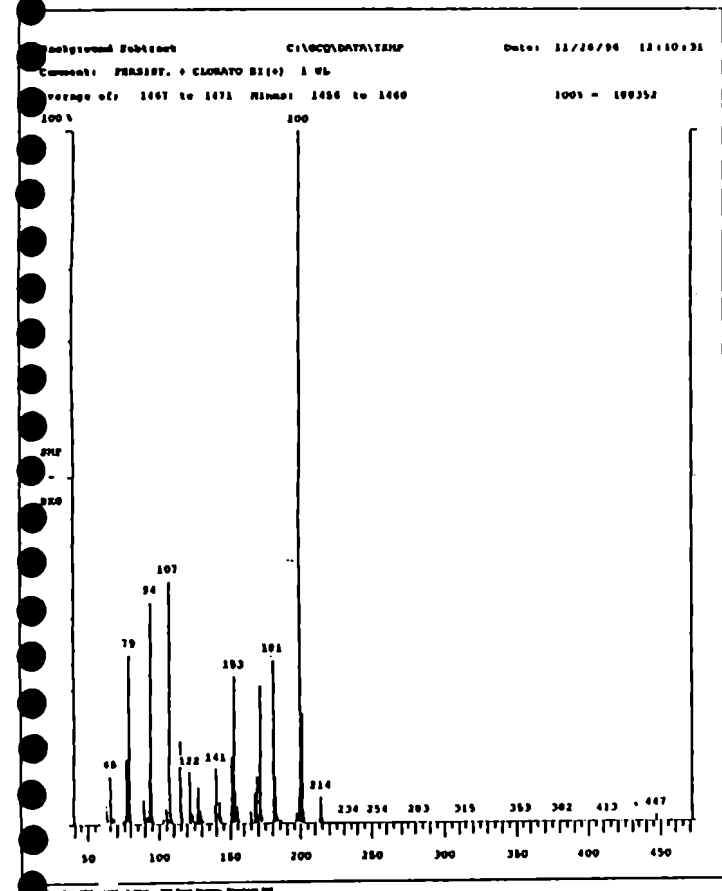
Figura 24. Espectros de Masa



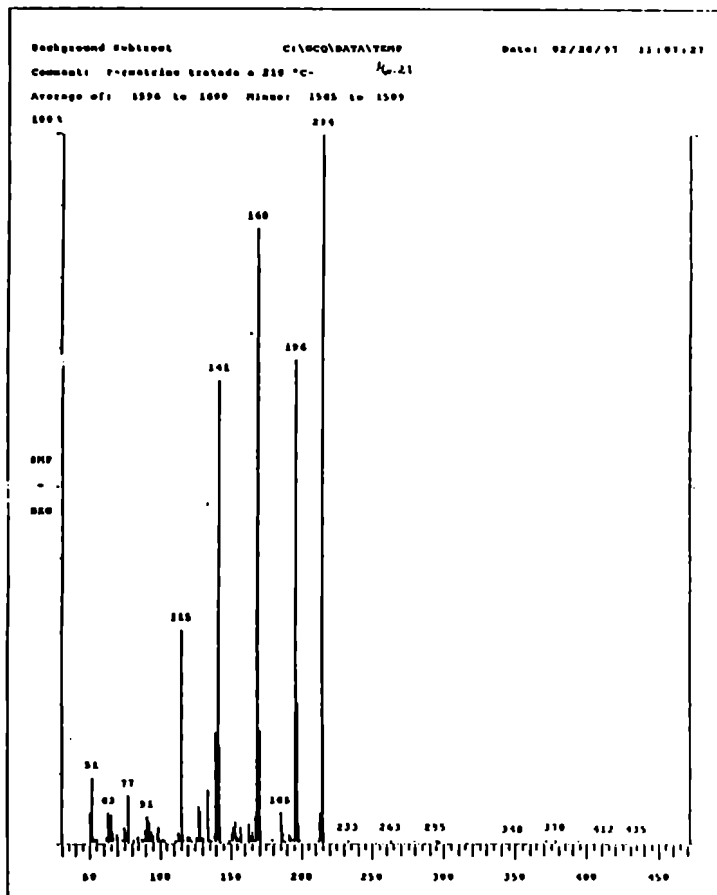
Acido permetrínico (EI)



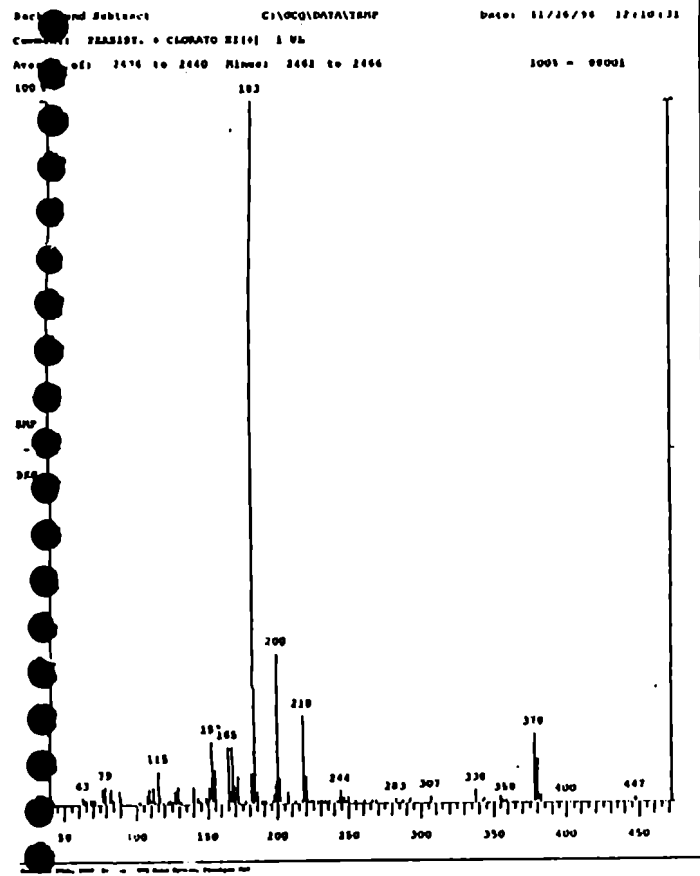
Cloruro de 3-fenoxibencilo (EI)



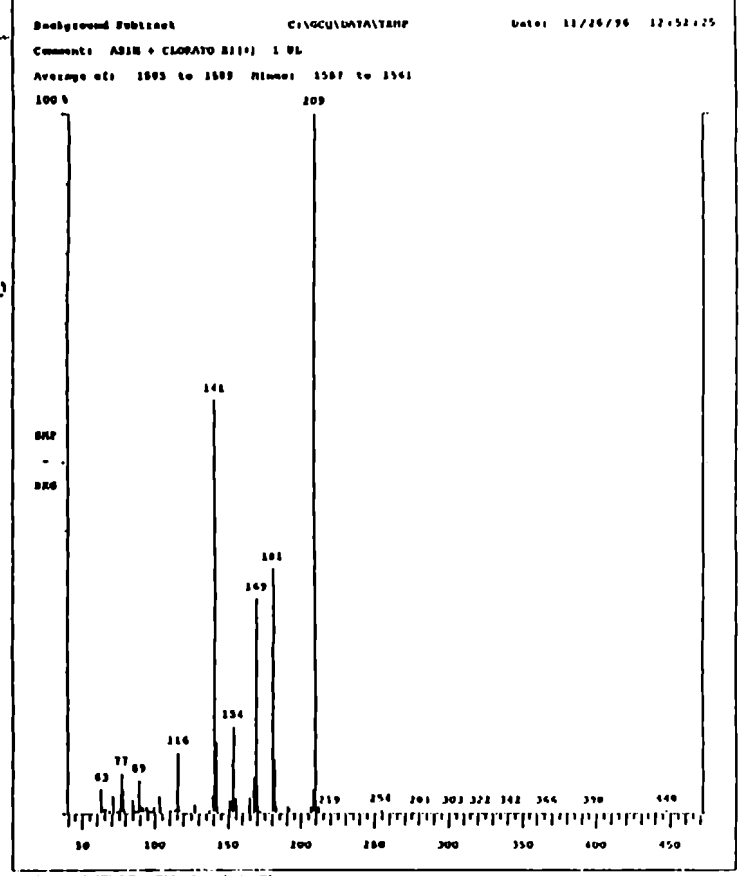
3-Fenoxibencil alcohol (EI)



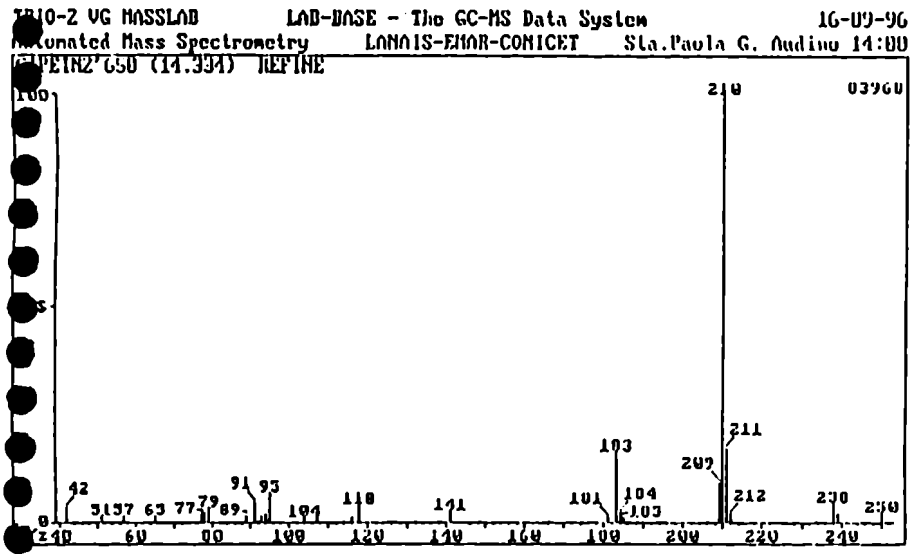
Acido 3-fenoxibenzoico (EI)



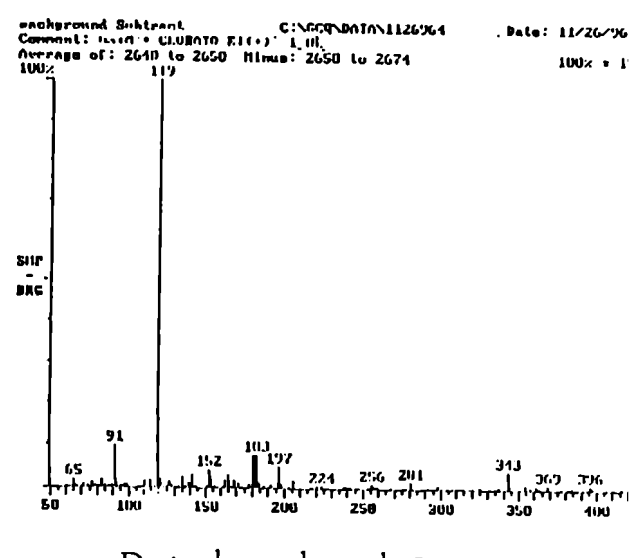
Estructura desconocida (EI)



3-Fenoxibencilnitrilo (EI)

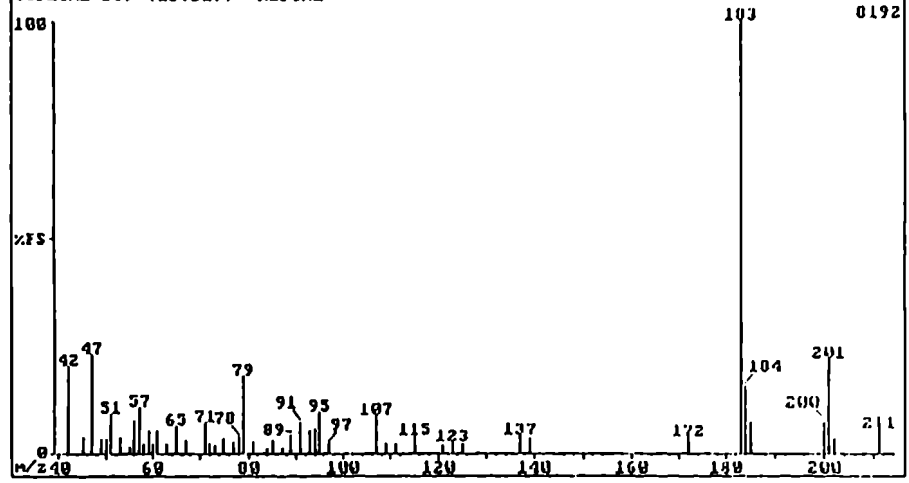


3-Fenoxibencilnitrilo (CI)

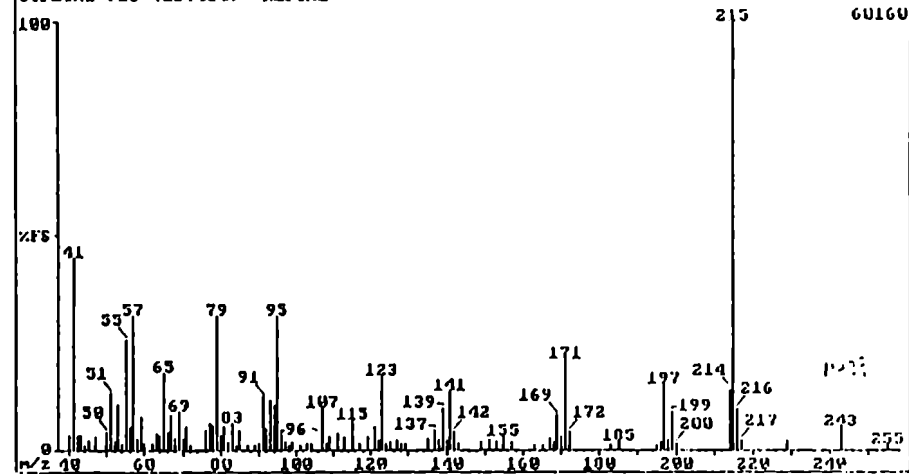


Derivado o-toluico de β -cipermetrina

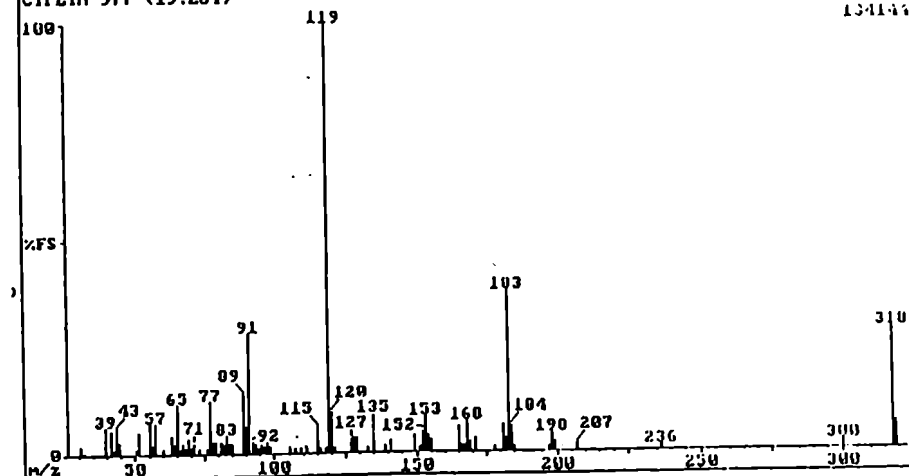
Figura 24. Espectros de Masa



3-Fenoxibencil alcohol (CI)

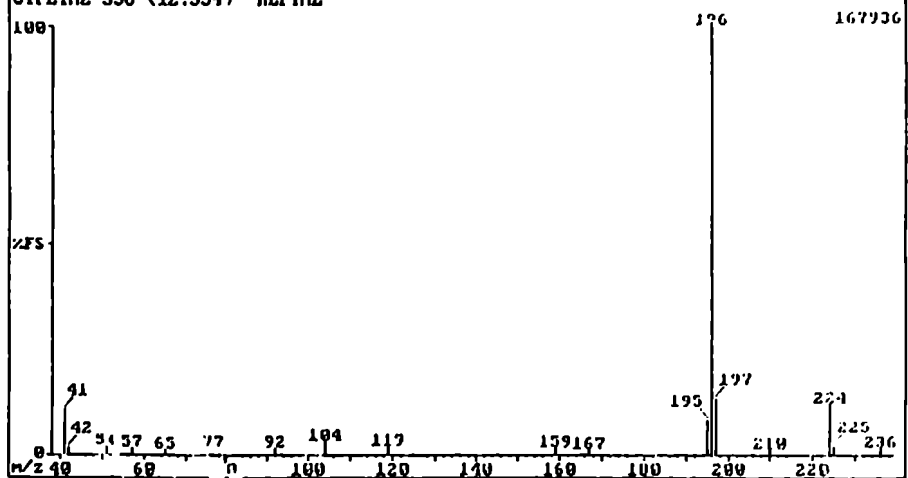


Acido 3-fenoxibenzoico (CI)

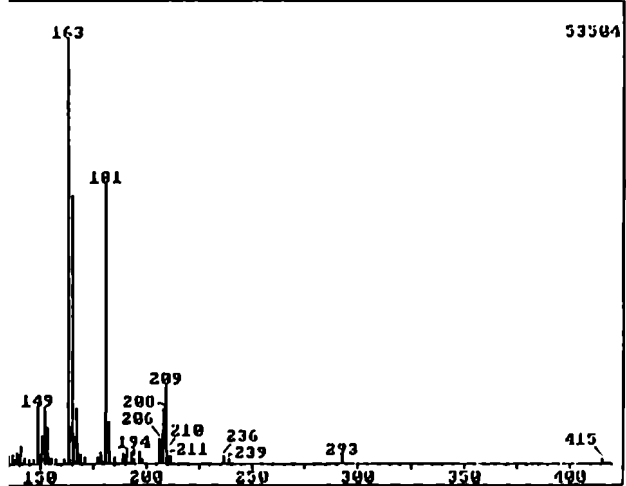


Derivado o-toluenico de permetrina (EI)

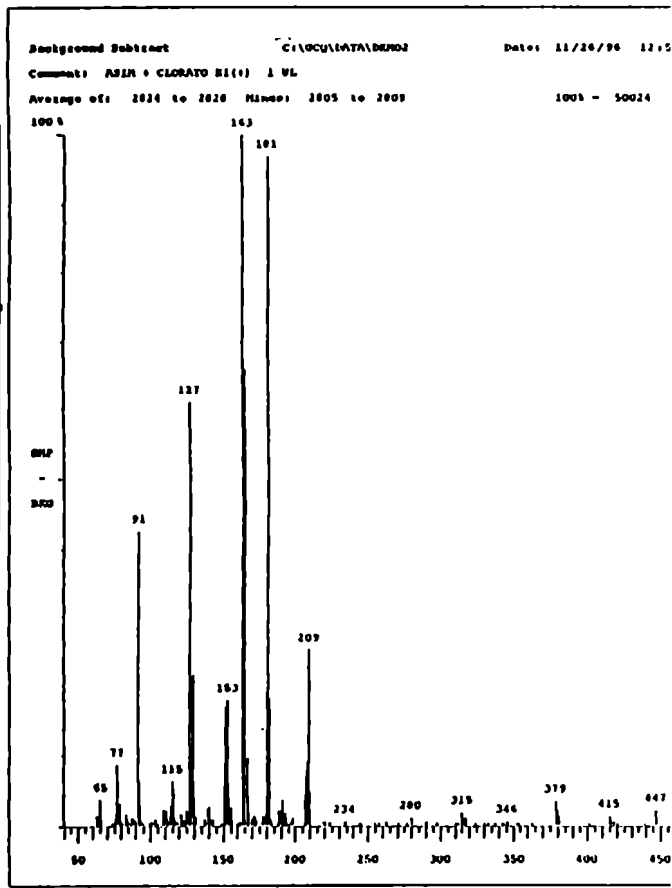
Figura 24. Espectros de Masa



3-Fenoxibenzoilo nitrilo

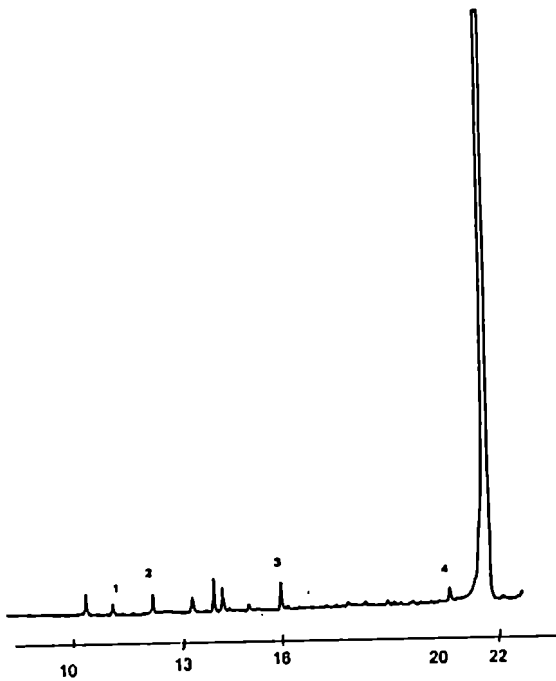


β -cipermetrina (EI)

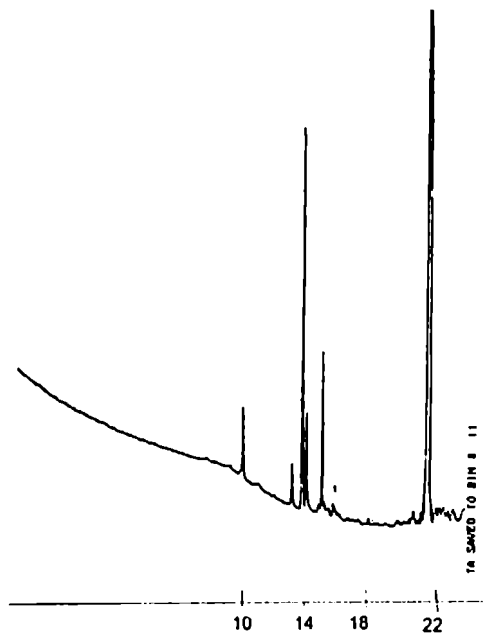


β -cipermetrina (EI)

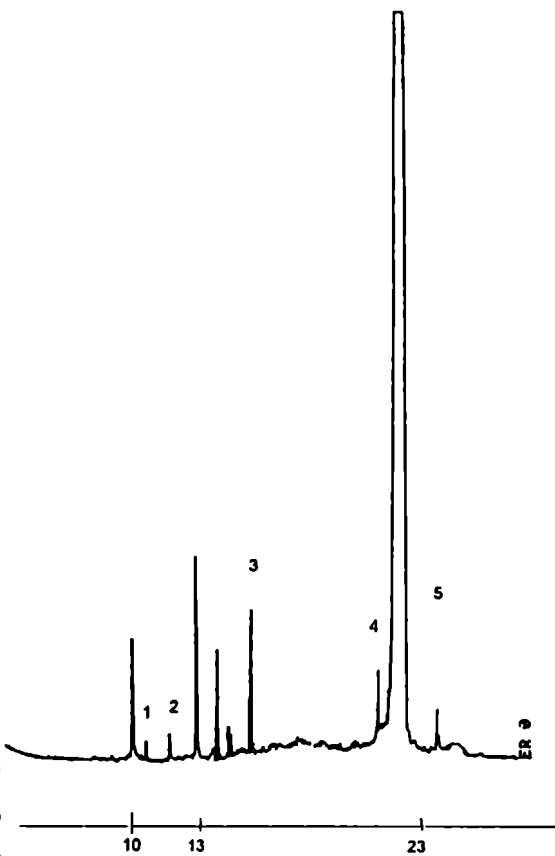
Figura 24. Espectros de Masa



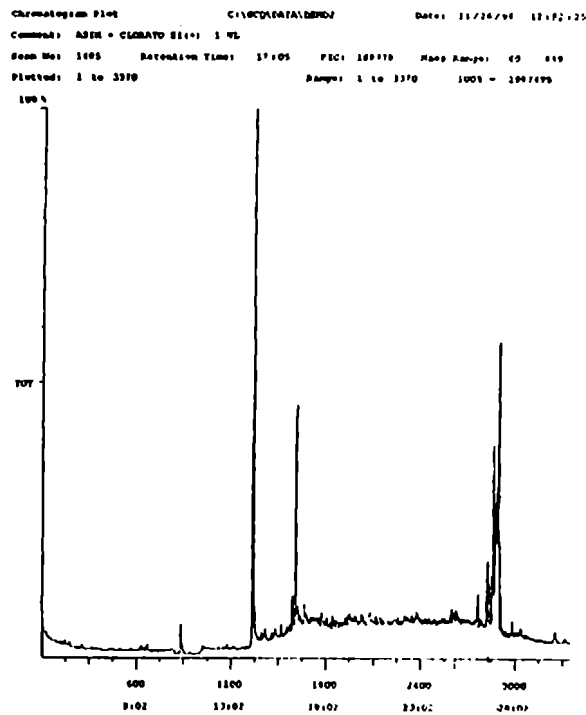
a. Cromatograma de descomposición térmica de cis-permetrina
1,2,3,4: presentes en el blanco del sistema



b. Cromatograma de descomposición térmica de cis-permetrina en presencia de CLO3K
1: presente en el blanco del sistema

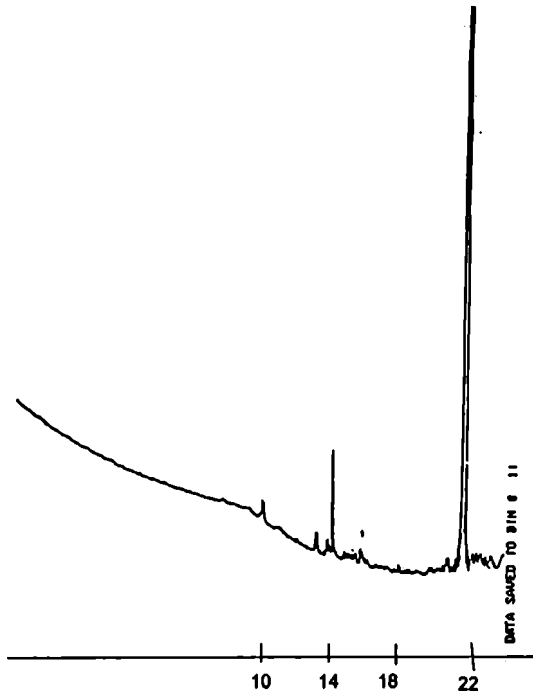


c. Cromatograma de descomposición térmica de b-cipermetrina
1,2,3,4,5: presentes en el blanco del sistema

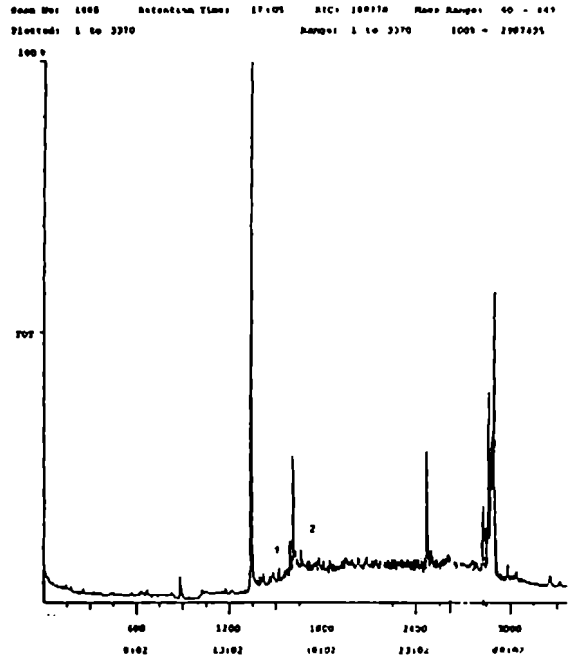


d. Cromatograma de descomposición térmica de b-cipermetrina en presencia de CLO3K

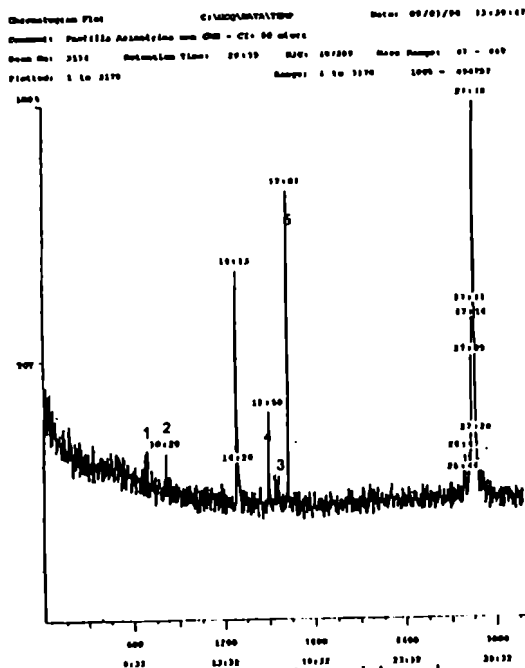
Figura 25



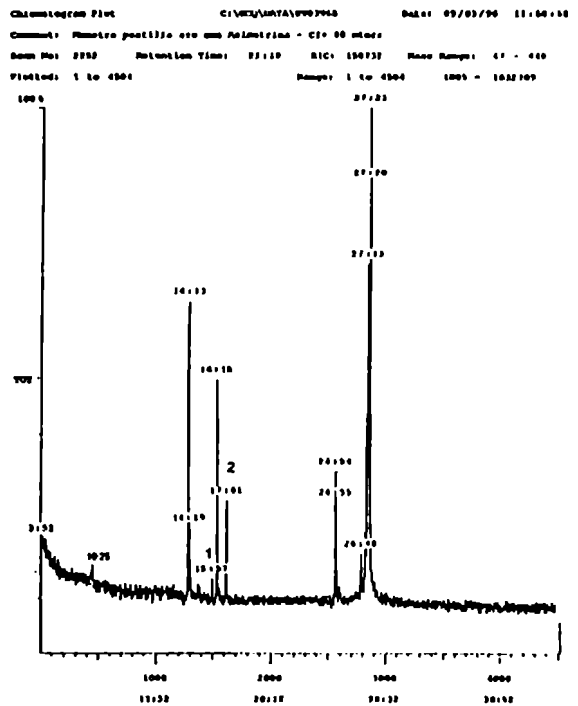
c. Cromatograma de combustión de la mezcla fumígena conteniendo 1.5% de cis-permetrina y 20 % de CNG.
1: presente en el blanco del sistema



É. Cromatograma de combustión de la mezcla fumígena conteniendo 1.5% de b-cipermetrina
1: presente en la combustión de la matriz fumígena
2: presente en el blanco del sistema



g. Cromatograma de combustión de la mezcla fumígena conteniendo 1.5% de b-cipermetrina y 20 % de CNG
1,2,4: presentes en la combustión de la matriz fumígena
3,5: presentes en el blanco del sistema



h. Cromatograma de combustión de la mezcla fumígena conteniendo 1.5% de b-cipermetrina y 40 % de ADC
1: presente en la combustión de la matriz fumígena
2: presente en el blanco del sistema

Figura 25

IV. Estudios calorimétricos de las formulaciones

Calorimetría de barrido diferencial (DSC)

Los ensayos de calorimetría se utilizan habitualmente en el estudio de mezclas combustibles, explosivas y fumígenas en general para conocer las temperaturas de liberación de cada componente observando los picos endotérmicos (fusiones y evaporaciones) y exotérmicos (descomposiciones) así como la compatibilidad de los componentes de la mezcla. Se analiza también si el comportamiento de los componentes mezclados es suma de los comportamientos independientes o si existe miscibilidad parcial entre ellos, observándose en ese caso un desplazamiento de los picos a temperaturas menores. Es importante saber la temperaturas de inflamación de las mezclas fumígenas para asegurar las condiciones de almacenamiento y transporte.

La DSC es ampliamente usada para evaluar los riesgos térmicos en industrias ya que es fácil de operar y da información sobre la sensibilidad (Temperatura de descomposición exotérmica) y severidad (calor de descomposición) al mismo tiempo. La técnica tiene errores intrínsecos debido a la pequeña cantidad de muestra que se utiliza en los experimentos. En particular la temperatura de arranque de la descomposición exotérmica obtenidas por DSC no puede ser aplicada directamente a la determinación de temperaturas de reacción prácticas o de almacenamiento y los calores de descomposición tienen un error del 5- 10%. A pesar de esto, la DSC es útil para evaluar la existencia de riesgos térmicos.

El gas dentro de la celda y el programa de calentamiento influyen en la temperatura de descomposición.

Los estudios sobre composiciones fumígenas aquí informados se realizaron en cápsula vacía. Para obtener la temperatura de descomposición se extrapola a la línea de base la mayor pendiente del pico correspondiente.

Se realizaron las curvas de calentamiento de los insecticidas, de la mezcla fumígena, de los agentes productores de gases, y de las mezclas fumígena con ADC y CNG.

Insecticidas

cis-permetrina: la curva calorimétrica (Fig. 28a) mostró un punto de fusión neto a 60 °C (endoterma) y la descomposición empieza a 310 °C (exoterma).

β -cipermetrina : en este caso la curva (Fig. 28 b) mostró un punto de fusión neto a 70°C y su temperatura de descomposición es de 285 °C.

fenotrina: este piretroide, que es líquido a temperatura ambiente, mostró que su vaporización y descomposición comienzan a 180 °C (Fig. 28c).

Productores de gases

Cianoguanidina (CNG) (Fig. 28d): se observó un pico endotérmico de fusión a 212°C y la descomposición exotérmica se produjo a 232°C, mientras que la Azodicarbonamida (ADC) descompuso sin fusión previa a 225°C (Fig. 28d). Mostró un pico exotérmico seguido de un pico endotérmico. El exotérmico es atribuido a la reacción de liberación de gases, mientras que el segundo se debe a un cambio en el producto sólido (56). La fusión de la CNG previa a su descomposición explica que en las mezclas fumígenas que la contienen en una proporción mayor al 30% el calor que consume para su fusión (proceso endotérmico) disminuye tanto la velocidad de quemado que no permite que se sostenga la autocombustión (ver punto I).

Mezclas fumígenas

Mezcla fumígena básica (sin agentes productores de gases): La temperatura de descomposición es 330°C (Fig. 28 c).

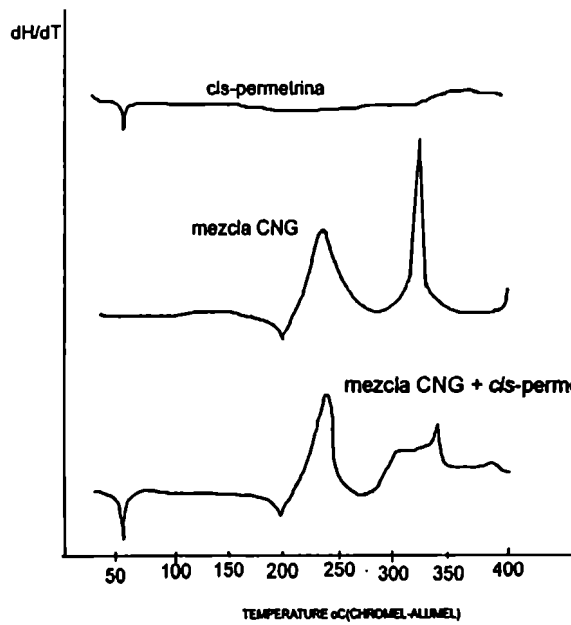
Mezcla fumígena con CNG : se observó descomposición en dos etapas separadas, siendo la primera la de la descomposición de CNG y la segunda la inflamación del resto de la mezcla. La temperatura de descomposición comenzó a 213°C (Fig. 28a).

Mezcla fumígena con ADC : inflamó en dos etapas independientes (Fig. 28 b), siendo la primera la de la descomposición de ADC y la segunda la inflamación del resto de la mezcla. La primera comenzó a 225°C.

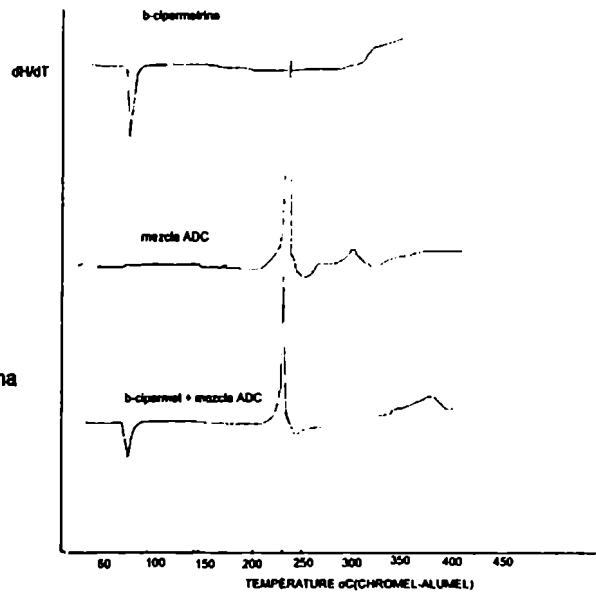
Mezcla fumígena con ADC y β -cipermetrina: la β -cipermetrina mostró total compatibilidad ya que no disminuyó la temperatura de inflamación (no sensibilizó la mezcla (Fig. 28b)). Se observó el pico de fusión de β -cipermetrina, la descomposición de ADC y luego la descomposición de la mezcla.

Mezcla fumígena con CNG y *cis*-permetrina (Fig. 28a): la permetrina mostró total compatibilidad ya que no disminuyó la temperatura de inflamación (no sensibilizó la mezcla). Se observaron la fusión de permetrina, las dos curvas de CNG (fusión y descomposición) y la de la mezcla restante.

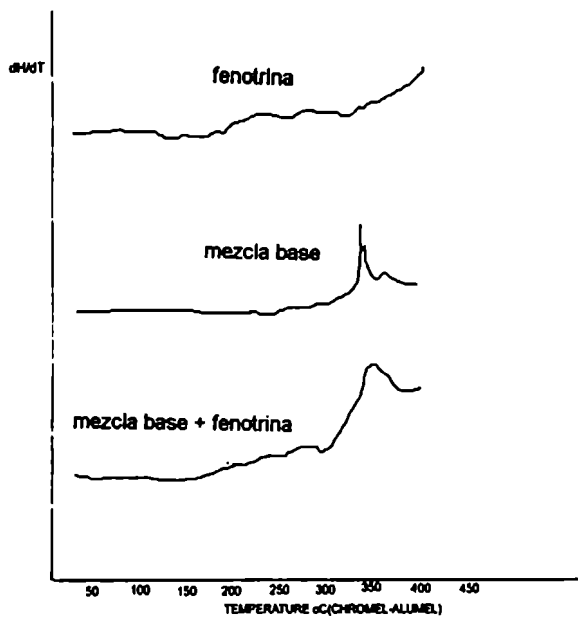
Las mezclas con agentes espumígenos producen la primera liberación de gases a temperaturas por debajo de las de descomposición de los insecticidas, como se ve por ejemplo en la Figura 28 b. Esto permite que al producirse la liberación de gases se volatilice el insecticida sin que se produzca su descomposición térmica. En ausencia de estos agentes, cuando comienza la liberación de gases ya ha comenzado la descomposición de insecticida y será menor su recuperación en humos. Este efecto puede verse claramente en la curva de la mezcla fumígena con fenotrina, Fig. 28 c. El hecho de que la introducción de insecticidas no sensibilice las mezclas es importante para el almacenamiento de las mismas.



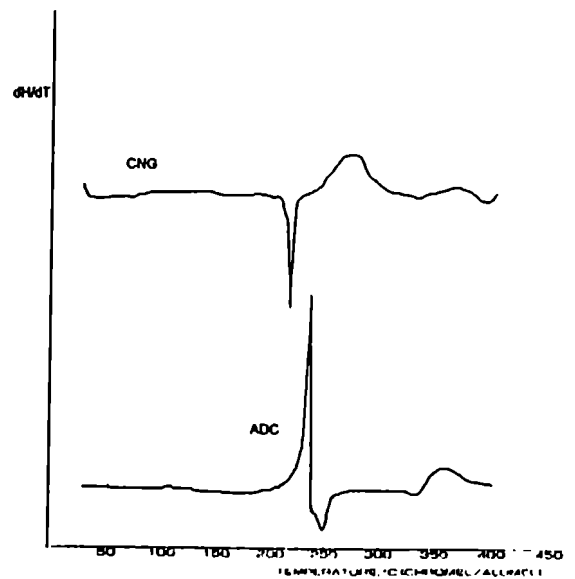
a. *cis*-permetrina, mezcla fumígena con CNG y mezcla fumígena con CNG y *cis*-permetrina



b. β -cipermetrina, mezcla fumígena con ADC y mezcla fumígena con ADC y β -cipermetrina



c. fenotrina, mezcla fumígena básica y mezcla fumígena básica con fenotrina



d. ADC y CNG

Figura 28. Curvas calorimétricas (DSC) de mezclas fumígenas, agentes productores de gases e insecticidas

Liberación de gases

Con el objeto de correlacionar el volumen de gases producidos por cada mezcla fumígena con su efectividad en la recuperación de insecticidas incluidos en la formulación, se midió la presión a la salida del recipiente de combustión (volumen constante, temperatura constante) luego de ocurrida la misma. Se comparó la presión generada por la liberación de gases (proporcional a su volumen) en ausencia de agente espumígeno con el producido por ADC en concentraciones crecientes en la mezcla .

Concentración de espumígeno en la mezcla fumígena	Presión (mm Hg)
0	3
20% CNG	27
20% ADC	71
40% ADC	93
50%ADC	117

Tabla 20. Valores de presión a temperatura constante a la salida del frasco de combustión producida por quemado de mezclas fumígenas.

Se pudo comprobar que a mayor concentración de agente productor de gases en la mezcla fumígena, es mayor la presión producida por la liberación de gases. Este resultado puede correlacionarse con la mayor recuperación de insecticida en humos según lo mostrado en la Figura 2. Estos resultados están de acuerdo con datos experimentales previamente informados (57) que indican que el volumen de gases (medido por DSC) producido por CNG es de 43.7 cal/min² g mientras que el de ADC fue informado como por encima del límite de medición en esas condiciones experimentales.

Como se informara en el punto I, la mezclas con 20% de CNG y 20% de ADC producen igual recuperación de insecticidas, lo que demuestra que la misma no depende del volumen de gases formados sino de la temperatura de liberación.

El aumento en la proporción de agente espumígeno produce un aumento en la cantidad de calor liberado a su temperatura de descomposición y por lo tanto aumenta la volatilización del insecticida. El mayor volumen de gases es deseable ya que favorece la dispersión del insecticida en el ambiente.

Termogravimetría y Residuos Sólidos

Los ensayos de termogravimetría permiten medir la pérdida de peso en función del aumento de temperatura. De esta manera se conocen la temperatura a la cual comienza la liberación de los componentes de la mezcla y qué porcentaje de la masa se pierde luego de la combustión de la mezcla fumígena.

Se realizaron las curvas de pérdida de peso para las mezclas fumígenas con 20% de CNG y 40 % de ADC, que según los resultados obtenidos en ensayos de recuperación de insecticidas en humos han mostrado ser las óptimas para cada agente espumígeno (Fig. 29 a y 29 b y Tabla 21). Sobre las mismas mezclas y sobre la mezcla básica se midió por pesada el porcentaje de pérdida de peso por combustión.

Mezcla fumígena	% Pérdida de peso por combustión determinada por TGA*	% Pérdida de peso por combustión determinada por pesada**
mezcla base	-	21
CNG 20%	20	22
ADC 20 %	-	33
ADC 40 %	50	50

Tabla 21. * % Pérdida de peso total a 300°C de las mezclas fumígenas con ADC y CNG medida por TGA.

** % Pérdida de peso por combustión determinada como $| Pf - Pi | / Pi \times 100$

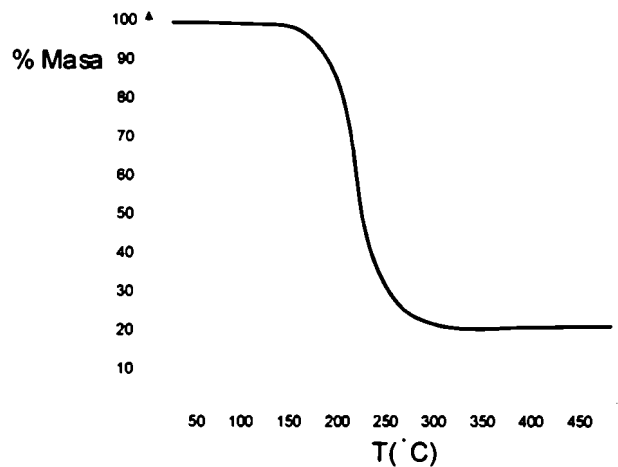


Figura 29a. Termograma de mezcla fumígena con ADC

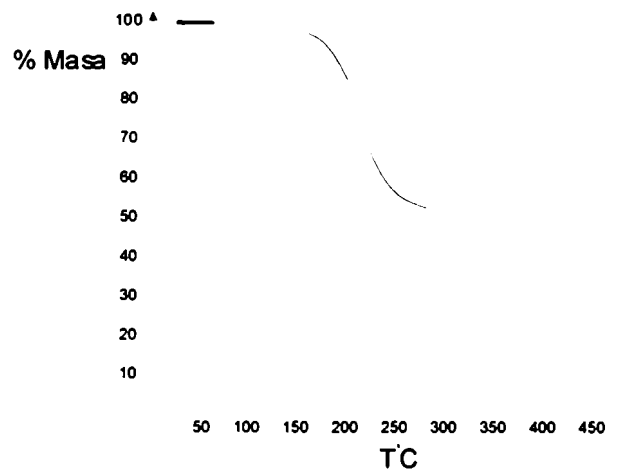


Figura 29b. Termograma de mezcla fumígena con CNG

Los valores obtenidos mostraron una mayor pérdida de peso para las muestras con ADC y CNG frente a las que no tienen agente espumígeno, así como un aumento en el porcentaje de pérdida de peso con el aumento de la proporción de ADC. Sin embargo, no es posible correlacionar en forma directa el % de pérdida de peso con el aumento en la recuperación del insecticida en humos.

V. Evaluación de actividad biológica de humos producidos por mezclas fumígenas insecticidas

Efectividad de *cis*-permetrina y β -cipermetrina en mezclas fumígenas formuladas con distintos agentes espumígenos

Con el objeto de comparar la efectividad de mezclas fumígenas conteniendo *cis*-permetrina y β -cipermetrina como principios activos y ADC y CNG como agentes espumígenos, se realizaron ensayos de exposición a humos en cámara cúbica. El período de exposición de ninfas I de *T. infestans* varió entre 5 y 20 minutos. Se midió la mortalidad a 24 hs de ninfas I producida por mezclas conteniendo 3% de principio activo y ADC o CNG en su formulación (Tabla 22). Con esos valores y mediante un cálculo estadístico basado en método probit se determinaron los valores de TM_{50} para cada mezcla (Tabla 23).

Tiempo de exposición (min)	% Mortalidad a 24 hs				Control humos sin principio activo
	<i>cis</i> -permetrina 3%		β -cipermetrina 3%		
	CNG 20%	ADC 40%	CNG 20%	ADC 40%	
5	0	33	80	80	0
10	20	60	80	80	0
20	60	80	100	100	0
30	90	100	100	100	0

Tabla 22. % Mortalidad a 24 hs de ninfas I con distintos tiempos de exposición a humos insecticidas. Se combustionaron 300 mg de mezcla. El diseño experimental fue tubo simple insertado en la cámara de volteo. Controles expuestos a humos sin principio activo.

Insecticida en la mezcla	Agente espumígeno	TM_{50} (min)	Int conf (min)
<i>cis</i> -permetrina 3 %	ADC	8.03	4.07-11.68
	CNG	16.48	12.07-22.06
β -cipermetrina 3%	ADC	<5	-
	CNG	<5	-

Tabla 23. Valores de TM_{50} obtenidos en ninfas I expuestas a humos insecticidas.

Se combustionaron 300 mg de mezcla. El diseño experimental fue en tubo simple insertado en la cámara de volteo.

Se observó correlación entre el tiempo de exposición y la mortalidad. En todos los casos la β -cipermetrina presentó mayor efecto triatómico que la *cis*-permetrina. Comparando la efectividad de cada activo en mezclas conteniendo distintos agentes espumígenos, se observó

que las mezclas con ADC resultaron igual o más efectivas que aquellas con CNG. Teniendo en cuenta estos resultados se seleccionó ADC como agente espumígeno.

En todos los casos, el tiempo necesario para matar el 50 % de los insectos fue menor para las mezclas conteniendo β -cipermetrina que para aquellas conteniendo *cis*-permetrina. La mezcla de permetrina conteniendo ADC produjo un TM_{50} 2.05 veces menor que la mezcla conteniendo CNG.

Efecto de la incorporación de agentes expurgantes a la mezcla fumígena

El efecto expurgante de algunos insecticidas consiste en producir un incremento en la actividad locomotora de los insectos (58). Este efecto de hiperquinesis, que los anglosajones llaman "flushing out" suele considerarse un coadyuvante del efecto tóxico de insecticidas sobre insectos plaga, incluyendo vectores de la enfermedad de Chagas (59).

Para evaluar si la acción expurgante de los principios activos aumentaba la efectividad de la mezcla fumígena insecticida se trabajó con un diseño experimental de doble tubo. En este caso las ninfas se encuentran inicialmente en la zona de refugio (zona exterior a la cámara y más alejada de los humos) y en presencia de un agente expurgante salen a través del tul hacia la zona más expuesta a los humos (interior a la cámara). Es decir que si el principio activo se comporta también como expurgante la efectividad de la mezcla aumentará.

Con este fin se evaluaron, a igual concentración final, *cis*-permetrina, β -cipermetrina y mezclas por partes iguales de *cis*-permetrina y β -cipermetrina y de β -cipermetrina con tetrametrina (un reconocido agente expurgante de *T. infestans*). Las ninfas se expusieron a tiempos que variaron entre 5 y 30 minutos (Tabla 24) y con los valores de mortalidad obtenidos se calcularon los TM_{50} de las mezclas (Tabla 25).

Tiempo de exposición (min)	% Mortalidad				
	<i>cis</i> -permetrina 3%	β -cipermetrina 3%	<i>cis</i> -permetrina 1.5% + β -cipermetrina 1.5%	β -cipermetrina 1.5% + tetrametrina 1.5%	Control
5	0	60	0	0	0
10	0	80	20	20	0
20	0	100	100	40	0
30	0	100	100	80	0

Tabla 24. % de mortalidad de ninfas I obtenidos para distintos tiempos de exposición. Peso de la mezcla 300 mg. Agente espumígeno ADC 40%. Diseño de doble tubo insertado en la cámara. Controles expuestos a humos sin principio activo.

Principio/s activo/s	TM_{50} (min)	Int. conf.
<i>cis</i> -permetrina 3%	>30	-
β -cipermetrina 3%	<5	-
<i>cis</i> -permetrina 1.5% + β -cipermetrina 1.5%	10.6	10.09- 16.69
tetrametrina 1.5% + β -cipermetrina 1.5%	19.8	15.23- 38.59

Tabla 25. Valores de TM_{50} para ninfas I obtenidos por exposición a humos. Peso de la mezcla 300 mg. Agente espumígeno ADC 40%. Diseño de doble tubo insertado en la cámara.

Igual que en el diseño experimental anterior, la efectividad de la β -cipermetrina fue mucho mayor que la de la *cis*-permetrina. El reemplazo de la mitad de la masa de β -cipermetrina por *cis*-permetrina, dio un resultado intermedio entre ambas insecticidas, esto es, no mejoró la efectividad de la β -cipermetrina. Cuando comparamos la efectividad de la β -cipermetrina formulada con un reconocido expurgante (tetrametrina) o con *cis*-permetrina se observa que la mayor efectividad fue para la mezcla con β -cipermetrina.

Se observó en los ensayos descriptos que algunos de los insectos tratados con β -cipermetrina mostraron recuperación, es decir que el porcentaje de mortalidad medida a 24 hs en muchos casos fue mayor que la medida a 8 días. Esto indica un efecto de volteo superpuesto con el de mortalidad. En ninfas expuestas a *cis*-permetrina la recuperación fue menor. Por esta razón fue de interés analizar si la *cis*-permetrina puede impedir la recuperación en las mezclas de β -cipermetrina. Para esto se evaluó el efecto insecticida sobre ninfas III en un sistema de tubo simple a 24 hs. y se observó la recuperación a 8 días luego del tratamiento con β -cipermetrina, *cis*-permetrina y sus mezclas (Tabla 26).

Tiempo de exposición (min)	% Mortalidad a distintos tiempos post-tratamiento									
	<i>cis</i> -permetrina 3%		β -cipermetrina 3%		<i>cis</i> -permetrina 1.5% + β -cipermetrina 1.5%		<i>cis</i> -permetrina 3% + β -cipermetrina 3%		Control	
	1d	8d	1d	8d	1d	8d	1d	8d	1d	8d
5	20	0	60	0	0	0	20	0	0	0
10	40	0	100	0	20	0	80	20	0	0
20	100	100	100	20	100	20	100	60	0	0
30	100	100	100	50	100	40	100	90	0	0

Tabla 26. % Mortalidad a distintos tiempos obtenidos sobre ninfas III con distintos tiempos de exposición a humos insecticidas. 300 mg de mezcla conteniendo ADC, diseño experimental en tubo simple insertado en la cámara. Controles expuestos a humos sin principio activo.

Con estos datos se calcularon los tiempos de mortalidad 50 (TM₅₀) para cada mezcla (Tabla 27)

Principio/s activo/s en la mezcla	días post-ensayo	TM ₅₀ (min)	Int. conf.
<i>cis</i> -permetrina 3%	1	7.98	6.70- 9.50
	8	13.1	11.82- 14.65
β -cipermetrina 3%	1	2.60	1.93- 3.52
	8	33.74	26.62-42.76
<i>cis</i> -permetrina 1.5% + β -cipermetrina 1.5%	1	11.35	10.10-12.75
	8	37.18	28.89- 47.85
<i>cis</i> -permetrina 3% + β -cipermetrina 3%	1	6.86	5.70-8.27
	8	16.95	14.05-20.46

Tabla 27. Valores de TM₅₀ para ninfas I obtenidos por exposición a humos . Peso de la mezcla 300 mg. Agente espumígeno ADC 40%. Diseño de doble tubo insertado en la cámara .

Teniendo en cuenta los valores de mortalidad a 24 hs. la mayor efectividad resultó, como en los ensayos anteriores, para la mezcla con β -cipermetrina 3%.

En las mezclas con *cis*-permetrina se observaron diferencias no significativas entre los valores de TM_{50} calculados a 1 y 8 días, lo que indica baja recuperación de insectos. En cambio con β -cipermetrina el TM_{50} a los 8 días aumentó 13 veces, lo que demuestra que hubo una significativa recuperación de ninfas volteadas. La incorporación de *cis*-permetrina 1.5% a la mezcla con β -cipermetrina 1.5% no fue suficiente para revertir totalmente el fenómeno de recuperación ya que el TM_{50} aumentó 3.3 veces. Resultados similares se obtuvieron para la mezcla *cis*-permetrina 3% y β -cipermetrina 3% en las que el TM a los 8 días aumentó 2.5 veces.

Evaluación de la actividad insecticida de mezclas isoméricas de cipermetrina

Las mezclas de isómeros de cipermetrina obtenidas por tratamiento con ClO_3K fue evaluada en su actividad biológica ya que debido a las posibles interacciones entre isómeros no es posible predecir la actividad biológica de una determinada composición isomérica aún sabiendo la actividad de cada isómero. De los 4 pares enantiómeros de la cipermetrina, son activos los pares *cis* II y *trans* II. La mezcla de isómeros obtenida por tratamiento de la cipermetrina estándar (*cis* I : *cis* II : *trans* I : *trans* II 25: 30: 21: 24) con $KClO_3$ contiene una relación *cis* I : *cis* II: *trans* I: *trans* II de 11: 16: 39: 33. Su actividad biológica evaluada por aplicación tópica sobre moscas fue comparada con la de la cipermetrina estándar. Para eso, se evaluó la actividad biológica de ambos compuestos y con los datos de mortalidad obtenidos para ambos principios activos (Tabla 28) se calcularon los valores de DL_{50} de ambos (Tabla 29).

Concentración ($\mu g/i$)	% Mortalidad a 24 hs	
	cipermetrina std.	cipermetrina isomerizada
0.001	-	20
0.0030	44	50
0.0090	88	60
0.0270	100	100
controles	11	20

Tabla 28 . % de Mortalidad de moscas de cipermetrina y cipermetrina isomerizada determinada por tópico ventral de 1 μl . Las moscas son anestesiadas con CO_2 . $n=10$. Controles anestesiados y topicados con 1 μl de acetona.

	DL_{50} (ng/i)	Int. conf. (ng/i)
cipermetrina	3.4	5.10-3-5.7
cipermetrina isomerizada	3.6	1.5.10-3-7.2

Tabla 29. DL_{50} de cipermetrina y cipermetrina isomerizada determinada por aplicación tópica de moscas. Las moscas fueron anestesiadas con CO_2 . $n=10$. Controles anestesiados y topicados con 1 μl de acetona.

Los resultados no muestran diferencias significativas en la actividad de la nueva mezcla de isómeros de cipermetrina con la de la cipermetrina de partida. Aparentemente existió una compensación de efectos ya que en la cipermetrina isomerizada se encontraba enriquecida en *trans* II (activo) pero empobrecida en *cis* II (activo) con respecto a la cipermetrina estándar.

Conclusiones

I. Recuperación de piretroides en humos liberados a partir de mezclas fumígenas

La incorporación de agentes espumígenos a las mezclas fumígenas permitió un aumento en la recuperación de insecticidas liberados en humos proporcional a la concentración del espumígeno. Como agentes espumígenos se utilizaron cianoguanidina y azodicarbonamida y se midió la recuperación en humos de permetrina, β -cipermetrina, tetrametrina, fenotrina y cipermetrina. Las recuperaciones obtenidas variaron entre <1 y 23 % según el insecticida para las muestras sin agente espumígeno y llegaron a 15 y 80 % de recuperación respectivamente con la incorporación de ADC o CNG.

La incorporación de antioxidantes como BHT o BHA no mostró un aumento claro en la recuperación de permetrina en humos, probablemente porque estos compuestos manifiestan su acción inhibitoria sobre procesos de reacción relativamente lentos.

Al aumentar la proporción de insecticida en la mezcla fumígena se observó un aumento en su porcentaje de recuperación en humos y una disminución en el porcentaje de insecticida remanente en el residuo de combustión.

II. Isomerización térmica de piretroides

Se observó isomerización *cis-trans* en permetrina durante la combustión de las mezclas fumígenas. Este proceso fue inhibido en distinto grado por ADC y CNG incorporados a la mezcla y no por la incorporación de BHT. La isomerización *cis-trans* es un proceso de interés biológico ya que la actividad de ambos isómeros es muy diferente, y por lo tanto la formulación debería minimizar los procesos de formación de isómeros inactivos.

La β -cipermetrina también sufre procesos de isomerización que conducen a la formación de los isómeros inactivos. Dichos procesos fueron inhibidos parcialmente por la incorporación a la mezcla de ADC y CNG.

Los estudios de termólisis de piretroides indicaron que permetrina y cipermetrina no sufren procesos de isomerización sólo por calentamiento. En cambio se producen estos procesos calentando en presencia de clorato de potasio y de sales análogas de la familia XO_3 de Na o K, con X siendo un halógeno o N. Este proceso de isomerización térmica catalizada por sales, del cual no se han encontrado antecedentes en bibliografía, cobra importancia teniendo en cuenta que el clorato de potasio es la sal que se utiliza como oxidante en las mezclas fumígenas y es probablemente el catalizador de la isomerización de los piretroides en la mezcla fumígena utilizada.

Se observaron procesos de isomerización similares en otros piretroides cuya unidad ácida es el ácido permetrínico o deltametrínico y cuya unidad alcohólica es el 3-fenoxibencil alcohol o su α -ciano derivado.

III. Productos de descomposición térmica de piretroides

El estudio de los productos de termólisis a 210 °C de *cis*-permetrina y β -cipermetrina revelaron principalmente la formación de productos de ruptura del enlace éster y la oxidación ulterior de los productos formados. También se observó, aunque en muy pequeña proporción, la aromatización del grupo ácido de permetrina y β -cipermetrina.

El análisis de los productos formados por descomposición de permetrina y β -cipermetrina en la mezcla fumígena mostró la formación en proporciones variables de los mismos productos detectados en la termólisis.

IV. Estudio calorimétrico de las formulaciones

El estudio calorimétrico reveló que las mezclas fumígenas sin agentes productores de gases descomponen a temperaturas superiores a las de descomposición de los insecticidas, provocando una gran descomposición de los mismos. Las mezclas con CNG y ADC producen la primera liberación de gases por debajo de la temperaturas de descomposición de los piretroides estudiados aumentando considerablemente su recuperación en humos.

V. Evaluación biológica de humos producidos por mezclas fumígenas insecticidas

La evaluación biológica de las mezclas fumígenas conteniendo piretroides mostró que las más efectivas sobre ninfas I de *Triatoma infestans* son las que contienen azodicarbonamida como agente espumígeno y β -cipermetrina como principio activo. Este resultado permitió el desarrollo de potes fumígenos insecticidas más efectivos para el control de insectos vectores de la enfermedad de Chagas, como contribución a la estrategia de control con participación comunitaria que actualmente se lleva a cabo en la Argentina.

La mezcla de isómeros de cipermetrina obtenida por reacción de clorato de potasio con cipermetrina mostró una actividad insecticida en moscas similar a la de la mezcla estándar de cipermetrina, es decir que no se mejoró la efectividad modificando la composición isomérica.

PARTE II: *Estabilidad térmica y actividad insecticida de metoprene en formulaciones fumígenas*

I. Metamorfosis de insectos e insecticidas reguladores de crecimiento (IGR)

La metamorfosis es una ventaja adaptativa que ha permitido la utilización eficiente de distintos ambientes por parte de las formas maduras e inmaduras de los insectos; las inmaduras especializadas en crecimiento y los adultos en reproducción y dispersión. La metamorfosis puede ser gradual (o incompleta en los *hemimetábolos*) o compleja (o completa en los *holometábolos*) (60).

En la metamorfosis gradual, las ninfas (formas inmaduras) tienen la apariencia de adultos pequeños, excepto que no tienen alas ni órganos reproductivos desarrollados. Sus partes bucales son similares a los de los adultos y usualmente utilizan los mismos recursos en forma similar. Los *hemimetábolos*, se caracterizan por el desarrollo externo de sus alas, las que aparecen gradualmente en los estadios ninfales tardíos. Sin embargo, en el caso de los *hemimetábolos* que no tienen alas no puede usarse este criterio. Los *ametábolos* (ausencia de metamorfosis) se caracterizan por no tener alas y porque los únicos cambios observados en ellos son el aumento de tamaño y la madurez sexual.

En las metamorfosis completas, los huevos se transforman en larvas, que casi siempre son muy diferentes de los adultos. Las larvas son del tipo gusano, no tienen ojos compuestos y están mandibuladas o no según lo estén los adultos correspondientes. Tampoco hay manifestaciones externas de alas. Las larvas viven en distintos ambientes que los adultos y utilizan diferentes fuentes de recursos. Esto reduce la competencia entre ellos y ha sujeto las larvas a presiones evolutivas variadas y numerosas. En consecuencia, existe una gran variedad de formas larvales y entonces no es siempre posible discernir el orden de una larva. Siguiendo al último estadio larval se encuentra la pupa, un estado "de descanso" durante el cual madura el sistema reproductor y los órganos bucales y el sistema digestivo se reorganiza y se forman las alas. En algunas especies las pupas no se alimentan. La pupa es un estado vulnerable y a menudo la larva construye una envoltura protectora en un lugar protegido antes de empupar.

El control de la metamorfosis lo realiza la hormona juvenil (JH), que actúa como moduladora o reguladora de la hormona de muda (MH). De alguna forma no totalmente explicada, el cerebro ordena al cuerpo alado la secreción de JH durante el tiempo de vida de la larva (Figura 1).

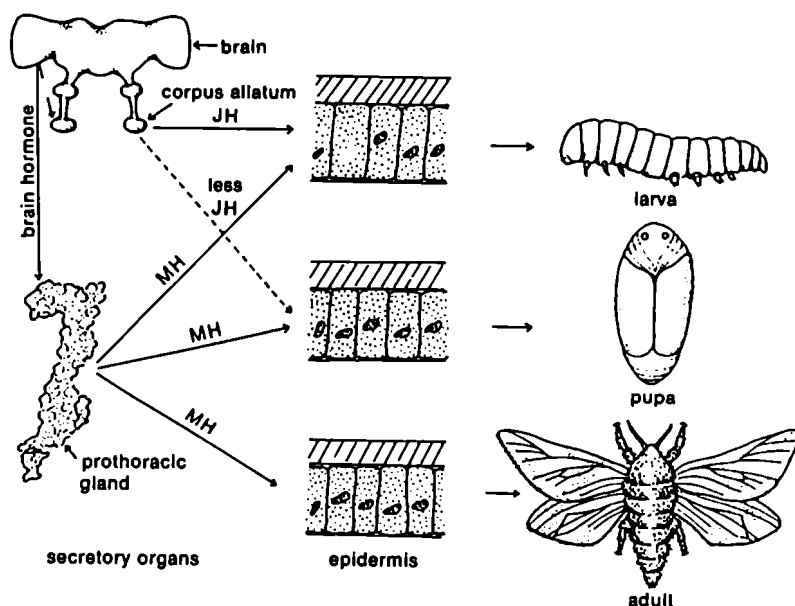


Figura 1. Control hormonal del desarrollo.

Dentro de la larva, y bajo la epidermis, se encuentran los discos imaginales, que son bolsas de células epidérmicas no diferenciadas que se transforman en alas, antenas, y otras estructuras del insecto adulto. La hormona juvenil aparentemente detiene el desarrollo de los discos imaginarios. Cuando está presente la MH, la JH induce a las células epidérmicas activas a producir las estructuras cuticulares larvales; si se remueve el cuerpo alado de una ninfa temprana de algunas especies se producirá en la siguiente muda un adulto pequeño. Es decir que la JH actúa como un "switch" genético en presencia de MH. A medida que la concentración de JH va disminuyendo, se comienzan a producir las características primero de pupa y luego de adulto. La concentración de JH decrece abruptamente en holometábolos y más gradualmente en hemimetábolos, de otra manera el control de la metamorfosis sería igual en ambos grupos.

Los mímicos de hormona juvenil se encuentran naturalmente en una variedad de plantas, y su función es la de defensa química contra insectos.

Muchas sustancias químicas que mimetizan la JH han sido sintetizadas y se utilizan como insecticidas. Cuando estos mímicos de JH, o *juvenoides*, se aplican sobre estados inmaduros, alteran el equilibrio hormonal produciendo mezclas de larvas y pupas o produciendo insectos cuyas cutículas no se esclerotizan adecuadamente. La presencia de JH también evita la maduración, y por lo tanto los insecticidas juvenoides detienen la reproducción y eliminan el daño causado por insectos que son dañinos sólo en estado adulto.

Uno de los juvenoides más utilizados es el metoprenc (isopropil (2*E*,4*E*)-11-metoxi-3,7,11-trimetil-2,4-dodecadienoato, Figura 2).

Figura 2. Metoprene

Estudios de laboratorio revelan que el metoprene es altamente selectivo, relativamente no persistente y que es rápidamente metabolizado, de manera que no constituiría un peligro para organismos no-blanco. La descomposición del metoprene en el medio ambiente ocurre rápidamente por efecto de los microorganismos del suelo y la luz solar. Estas propiedades han servido de estímulo para el desarrollo de formulaciones especiales para determinados ambientes.

Con respecto a sus propiedades químicas, el metoprene es térmicamente estable hasta 42°C por 24 meses. Es estable en agua, solventes orgánicos, y en presencia de ácidos y bases diluidos.

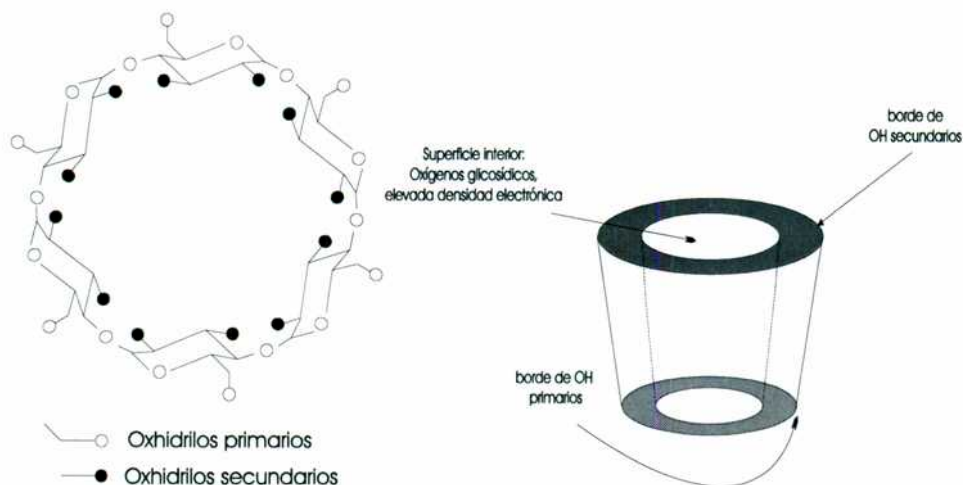
II. Formulaciones en ciclodextrinas

Debido a las propiedades descritas hasta aquí, el metoprene en estado libre no sería susceptible de ser introducido en mezclas fumígenas.

Esta dificultad podría subsanarse por inclusión del metoprene en ciclodextrina previo a su formulación.

Las investigaciones en ciclodextrinas comenzaron en 1891. En 1904, Schardinger identificó el rol del *Bacillus macerans* en la formación de los compuestos cristalinos de ciclodextrinas (CD). El aprovechamiento industrial de estos compuestos comenzó cuando se tuvo experiencia en la aplicación de la enzimología en las industrias del almidón y la glucosa. Las CD se obtienen por la acción de la enzima cicloglicosiltransferasa sobre el almidón (61, 62). Una transferencia de enlaces permite que estas enzimas enlacen las hélices que naturalmente se encuentran en el almidón cuando está en solución para formar anillos de poliglucosa tridimensionales o "coronas".

En las CD, como en el almidón, las unidades de glucosa están unidas por enlaces glicosídicos a 1,4. Las unidades de glucosa pueden ser 6, 7 u 8 (α , β y γ CD respectivamente). Las CD son anillos toroidales con un exterior polar y una cavidad no polar. Esta característica se debe a la distribución de los sustituyentes:



Esta estructura le otorga las siguientes características y propiedades:

- una cavidad interna no polar e hidrofóbica
- un exterior altamente hidrofílico

Las diferentes CD difieren en sus propiedades físicas (Tabla1).

	α	β	γ
Aspecto físico	polvo	polvo	polvo
Peso molecular	972	1135	1297
Unidades de glucosa	6	7	8
Humedad en equilibrio (%)	14	14	14
Pureza (%)	98	98	98
Solubilidad en agua (%) a 20°C	10	1.6	20
Volumen de la cavidad (ml/ mol)	100	150	200

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas de las ciclodextrinas

Como todas las moléculas con forma de corona, actúan como “hosts” que pueden acomodar y liberar una gran cantidad de moléculas huésped. Existen diferentes tipos de interacciones:

- inclusiones: se forma un compuesto específico entre cada molécula y su huésped
- asociaciones: es menos comprendida que la inclusión. Solamente existe una interacción con la zona más lipofílica de la molécula.

Preparación de complejos de inclusión

Se han descrito varios métodos de preparación en fase líquida homogénea y heterogénea. Para evitar el uso de grandes cantidades de agua o solventes (las CD son poco solubles) se recomienda la preparación en fase sólida. Este procedimiento consiste en la mezcla de la CD y su huésped, en proporciones estequiométricas, en presencia de un bajo porcentaje de agua (10- 20%). Tan pronto como se alcanza el equilibrio, se elimina el exceso de agua por secado o separación en freezer.

La formación del complejo de inclusión modifica significativamente las propiedades originales de la molécula huésped.

Efecto protector: el huésped se protege contra la degradación térmica y fotoquímica, oxidación, hidrólisis y sublimación.

Solubilidad: el exterior hidrofílico de las CD modifica la solubilidad intrínseca del huésped. Como consecuencia de esto, las CD:

- aumentan la solubilidad de moléculas poco solubles en agua,
- extraen componentes menores de fases hidrofóbicas o, al revés
- extraen componentes menores de fase acuosas, obteniendo a la CD insoluble por polimerización.

Aparición de uniones específicas "host-guest": permiten la liberación lenta de ciertos componentes

Comportamientos selectivos comparables con los enzimáticos: permite su uso en catálisis química y cromatografía.

Con respecto a su toxicidad y metabolismo, se sabe que son inocuas para todos los organismos vivos, ya que son lentamente hidrolizadas a unidades de glucosa. Sin embargo, la estructura cíclica y la ausencia de propiedades reductoras, le dan una mayor resistencia frente a enzimas amilolíticas salivales y pancreáticas con respecto al almidón o a las dextrinas.

Caracterización de los complejos de inclusión

Los complejos pueden ser detectados de diversas formas:

- cambios espectrales: las propiedades espectrales del huésped (absorción, fluorescencia, fosforescencia) cambian al estar incluido. Estos cambios sugieren que el cromóforo del huésped es transferido desde la fase acuosa hacia la cavidad apolar de la CD.

- espectroscopía de dicroísmo circular

- RMN de ^1H y ^{13}C

- Titulación potenciométrica: cuando el huésped tiene propiedades ácidas o básicas, su pK_a se modifica.

- estudios calorimétricos: los parámetros termodinámicos se modifican

TGA (análisis termogravimétrico): este método mide la pérdida de peso con el aumento de temperatura

- método de las solubilidades: consiste en graficar las curvas de solubilidad del complejo

- espectrometría de rayos X: es útil para el análisis en fase sólida por el método de polvos (Debye Scherrer). Si el huésped es líquido, se analizan las diferencias en el espectro de la CD libre y complejada

La complejación de pesticidas resulta en un aumento considerable de sus propiedades, de hecho, aumentan su solubilidad y biodisponibilidad, mejoran la estabilidad de pesticidas volátiles o inestables, disminuyen los olores desagradables y reducen su toxicidad por contacto frente a seres humanos. Las propiedades deseables como complejantes de insecticidas aumentan en el siguiente orden: α , β y γ CD. Esta última es la más soluble y la de mayor tamaño de cavidad. Por estos motivos se usan β y γ CD en los complejos de inclusión de insecticidas.

III. Formulaciones fumígenas de Insecticidas Reguladores del Crecimiento

Las formulaciones fumígenas tienen grandes ventajas debido a su sencillez de aplicación, alcance a zonas difíciles de la construcción domiciliaria y bajo riesgo de intoxicación ya que no requieren manipulación del insecticida.

Entre otros usos, el metoprene se utiliza para el control de larvas de mosquitos en formulaciones que "protegen" al insecticida de los factores ambientales como luz, calor y pH debido a su gran labilidad química y fotoquímica.

Para introducirlo en formulaciones fumígenas es necesario formularlo de manera de evitar su descomposición térmica. Es así que basados en la descripción del complejo metoprene- β -CD cuya preparación se ha llevado a cabo con el objetivo de mejorar la biodisponibilidad del metoprene por ingestión o por tópico (63), se sintetizó dicho complejo y se lo introdujo en la matriz fumígena con el objetivo de mejorar la recuperación del insecticida en humos.

IV. Química computacional y Modelado Molecular

El objetivo primario de los cálculos de química computacional es la obtención de la Superficie de Energía Potencial (E_p) para el movimiento de los núcleos. Una superficie de Energía Potencial es una especificación de la E_p clásica V en función de la estructura molecular, en particular de las distancias entre los núcleos. Las curvas de E_p presentan varios mínimos locales y un mínimo global para la energía entre los átomos. Las técnicas de cálculo de Mecánica Molecular describen la energía sin tener en cuenta los electrones sino como interacciones entre los núcleos.

Los cálculos de optimización de geometría toman distintas geometrías de la molécula, calculan la E_p y el gradiente de la curva de E_p en ese punto. Según el signo y la magnitud del gradiente, se moverá la geometría a favor del gradiente con el objetivo de encontrar el punto de la Superficie de E_p donde la energía es mínima y el gradiente es cero.

En los cálculos de Dinámica Molecular se le entrega al sistema Energía cinética para que se desplace por la Superficie de Energía potencial. Este movimiento sigue las leyes newtonianas de la Mecánica Clásica. Durante la simulación la Energía Total se conserva. Se define un set de condiciones iniciales (velocidades iniciales y un punto en particular de la superficie) y las leyes de Newton hacen que el sistema se desplace a lo largo de un camino que se llama trayectoria de Dinámica Molecular. Esta trayectoria explora la Superficie de E_p .

La Mecánica Molecular aproxima la superficie $V(R)$ por medio de funciones analíticas que son deducidas y subsecuentemente parametrizadas por cálculos y por resultados experimentales. La función analítica $V(R)$ se llama también Campo de Fuerzas. La mayor parte de los Campos de Fuerzas contienen términos asociados con estiramiento del enlace, flexión de ángulos, torsión y otros términos de importancia química.

Se define entonces la E total clásica, considerando que los átomos son suficientemente pesados para aplicarles la mecánica clásica:

$$E(R) = \sum_i \frac{1}{2} m_i \left(\frac{dR_i}{dt} \right)^2 + V(R)$$

Entonces calcula la E usando las posiciones R_i y las velocidades V_i de los átomos.

La E_p de interacción describe tanto interacciones enlazantes como no enlazantes. Las interacciones de enlace se formulan como energía de tensión que tendrá valor cero para alguna configuración ideal de los átomos y describe cómo la energía aumenta cuando la configuración ideal se deforma. Cada interacción es un término en la sumatoria.

Las interacciones de enlace relacionan los siguientes átomos:

- átomos directamente unidos (estiramiento de enlace 1-2)

- átomos geminales (flexión del ángulo 1-3)
- átomos vecinales (torsión 1-4)

Las interacciones de no enlace son las siguientes:

- repulsión cuando los átomos se acercan demasiado
- atracción de largo alcance
- interacciones electrostáticas producto de la interacción entre cargas, dipolos, cuadrupolos, o de uniones puente H.

Algunos campos de Fuerzas tienen además de estos términos básicos, términos cruzados que combinan las interacciones.

El campo de fuerzas MM2 fue desarrollado por N. L. Allinger y colaboradores para moléculas orgánicas pequeñas. El campo de fuerzas MM+ contenido en Hyperchem es una extensión del MM2. El campo MMX incluido en PCModel también deriva del MM2 pero incorpora rutinas para tratamiento de electrones pi y aumenta el número de tipos de átomos posibles y mejora el tratamiento de metales de transición y de estados de transición.

Objetivos

Los conocimientos generados en la primera parte de esta tesis permitieron acceder a ciertas "reglas de juego" de estabilidad térmica de compuestos insecticidas y al concepto básico de que un compuesto lábil también puede ser incorporado a una mezcla fumígena si se lo protege convenientemente de la termólisis.

Sobre esta idea general se extendió el estudio de estabilidad térmica en mezclas fumígenas al insecticida metoprene. Este compuesto es un mímico de hormona juvenil con efecto juvenilizante en insectos y presenta una estructura química isoprenoide de baja estabilidad. Se planteó como objetivo de esta parte del trabajo estudiar el complejamiento del metoprene en β -ciclodextrina como un proceso que permitiera incorporar este insecticida a formulaciones fumígenas y obtener buenas recuperaciones en humos. Como consecuencia de este estudio se planteó la necesidad de medir el efecto juvenilizante en moscas del metoprene liberado en humos a los fines de evaluar la relevancia como sistema insecticida de formulaciones fumígenas conteniendo este compuesto.

Además se completó el análisis conformacional del complejo por Modelado Molecular por computadora utilizando los Campos de Fuerzas MMX y MM+ incluidos en los Programas PCModel e Hyperchem respectivamente.

Materiales

Sustancias químicas

Mezcla fumígena

β -ciclodextrina : 99%. Provista por Aldrich (EEUU).

Metoprene [isopropil (E,E)-(R,S)-11-metoxi-3,7,11-trimetildodeca-2,4-dienoato] : grado técnico (90%). Es originario de Babolna Bioenvironmental Centre Ltd (Budapest, Hungría) y fue provisto por Unifarma (Argentina)

El resto de los componentes fueron descriptos en la PARTE I

Material biológico

Musca domestica (mosca común)

Se usaron insectos provenientes de una cepa criada en el CIPEIN desde 1980 en condiciones ambientales constantes (24-26°C, 40-60% HR, fotoperíodo 12:12).

Se seleccionaron larvas de 48 hs de edad.

Metodología

Preparación del complejo de inclusión metoprene- β -ciclodextrina (β -CD)

Se suspendieron 3 g. de β -CD en agua y se gotearon 0,6 g. metoprene disueltos en 12 ml. de etanol. Se dejó 24 hs con agitación a temperatura ambiente. Se filtró y lavó varias veces con CHCl_3 . La proporción de metoprene en el complejo se determinó por CGL previa disolución de la muestra en agua + hexano a ebullición.

Caracterización del complejo metoprene- β -ciclodextrina

Termogravimetría (TGA): se midió pérdida de peso en función de la temperatura de la mezcla física y del complejo metoprene/CD . Se usó un equipo Dupont 900 Thermal Analyzer con un programa de calentamiento de 20 °C/min , en N_2 a 10 ml /min.

Difracción por Rayos X: los diagramas de difracción de polvos fueron obtenidos en un difractómetro Philips PW3710 (Philips, The Netherlands) usando radiación incidente $\text{Cu: K}\alpha$, barrido convencional $\theta / 2\theta$; $2\theta = 2$ a 40°C , x step = $0,02^\circ$ (tiempo por step = 2 seg)

Ensayos de combustión

Preparación de mezclas fumígenas con metoprene

Para los ensayos de recuperación y de actividad biológica de metoprene libre, se preparó por molienda la mezcla de β -ciclodextrina (20 %), KClO_3 (29%) y caolín (51%), con o sin ADC, se suspendió en DCM en el que se disolvió el metoprene en la concentración necesaria, y se llevó a sequedad en rotavapor.

Se obtuvieron así pastillas de 1g conteniendo porcentajes variables de metoprene.

Para los ensayos de recuperación y de actividad biológica de metoprene complejoado, se mezclaron por agitación mecánica, previa molienda de los componentes en molinillo, KClO_3 29% (oxidante), β -ciclodextrina + complejo metoprene- β -ciclodextrina 20% en total (reductor e ingrediente activo) y caolín 51% (inerte). La proporción de complejo β -ciclodextrina-metoprene se calculó según el porcentaje final de metoprene necesario. Se obtuvieron así pastillas de 1g conteniendo porcentajes variables de metoprene.

La ADC se incorporó, previa molienda, en una proporción total de 40%.

Recuperación del insecticida en humos

El procedimiento es el mismo que el utilizado para las mezclas con piretroides. Los análisis cuantitativos de recuperación y de residuo en la pastilla se realizaron contra patrones 0.1% del insecticida en un cromatógrafo Shimadzu GC 6A con columna QF-1, de 2 mm, N_2 como gas portador y temperaturas de inyector 210°C y de columna de 170°C .

Modelado Molecular del complejo metoprene β -ciclodextrina

Los cálculos se realizaron en una CPU Pentium 100 MHz, 16 mB RAM. El software utilizado fue PCModel for Windows V. 1.0 (Serena Software) e Hyperchem 3.0 (Autodesk). Se dibujaron las moléculas de β -ciclodextrina, metoprene y el complejo metoprene- β -ciclodextrina y se optimizaron sus geometrías utilizando los campos de fuerzas de mecánica molecular MM+ y MM2.

Las opciones de menú usadas en cada caso se indican en cursiva y entre paréntesis.

Los gráficos fueron realizados con Origin for Windows y se usó Hijaak PRO para la captura de pantalla y Word 6.0 for Windows para la edición.

Conformación de la β -CD

PCModel: A partir de la base de datos de azúcares que incluye el programa se unieron siete unidades de glucosa con enlaces α -1,4 glicosídicos. Se conectó la primera glucosa con la última (*connect*). Se eliminaron los H (*H/AD*).

Se fijó la distancia del enlace glicosídico conectado (*fix bond*) y algunos ángulos de torsión vecinos a esta unión (*fix angle*). Se minimizó la estructura con el método de mecánica molecular MMX-M (*analyze-minimize*). Se repitió este procedimiento hasta que todos los enlaces y ángulos equivalentes tuvieron valores similares. Se liberaron los ángulos y distancias (*reset-fix-all*) y se volvió a minimizar. Se agregaron los H y se repitió el procedimiento.

Se leen las distancias, ángulos de enlace y de torsión (*query*).

Hyperchem : Se construyó una unidad de glucosa (*draw*) en conformación silla ${}^4\text{C}_1$. Se agregaron sucesivamente seis unidades más de glucosa (*merge*) y se unieron formando cada uno de los enlaces glicosídicos α -1,4. Se minimizaron consecutivamente las uniones glicosídicas, algunos ángulos de torsión, las unidades de glucosa (*setup-molecular mechanics - mm + - options-geometry optimization-Polak Riviere-convergence limit 0,05*). Finalmente se minimizó la estructura final con las mismas condiciones.

Para explorar la superficie de energía potencial de la CD y de los complejos se los sometió a una simulación de dinámica molecular (*compute-molecular dynamics*) con las siguientes condiciones:

Heat time : 1 ps.

Run time: 2 ps.

Cool time: 1 ps.

Starting temperature: 0 K

Simulation Temp. : 700 K

Final temperature: 0 K

Time step: 0.001 ps.

Temp step: 1 K

La estructura obtenida se sometió a una nueva minimización de geometría en las mismas condiciones que la anterior.

Conformación del metoprene

PCModel : se dibujó la molécula (*draw*), se marcaron los átomos pi (*mark-pi atoms*), y se minimizó con MMX-M (*analyze-minimize*).

El ángulo diedro que contiene a los dobles enlaces se rota 360 grados buscando la conformación más estable (*analyze-dihedral drive-*):

atom numbers: 8 9 10 11

current angle : 8.5°

starting angle : 0°

final angle: 360°

step size 5°

Hyperchem: se dibujó la molécula, se transformó en una estructura 3 D (*add H and model build*), se marcaron los dobles enlaces conjugados y se minimizó con MM+ (*setup-molecular mechanics - mm+ - options - geometry optimization-Polak Riviere-convergence limit 0,05*).

Conformación del complejo β -CD / metoprene

Hyperchem: se colocaron el metoprene y la CD (*merge*) en varias posiciones distintas y se minimizaron con mecánica molecular (MM+). Se leen las distancias y ángulos de interés y otros datos se obtienen del *log file*.

Se compararon las energías de cada uno de ellos. Las simulaciones dinámicas se hacen como ya fue descripto.

PCModel: Se repitió el mismo procedimiento. Se leen distancias y ángulos de enlace (*query*). Se calculó la energía de formación de los complejos como la diferencia entre los ΔH del complejo menos los de los componentes individuales. El complejo obtenido de menor energía se sometió a un *docking* con las siguientes condiciones:

XYZ displacement : 1

base angle : 15

starting temperature: 3

cooling decrement: 0.1

energy change/cycle 0.2

stop no change in:5

Evaluación de mezclas fumígenas conteniendo metoprene

Se realizaron en las cámaras de volteo descritas en la PARTE I. Para los ensayos de efecto larvicida de metoprene, se prepararon grupos de 20 larvas de moscas sobre la superficie de medio de cría standard (leche en polvo : levadura : agar 1:1:0.2) que cubre la base de potes descartables de 250 ml. La cantidad de medio por pote fue 24 g, que cubrió el requerimiento alimenticio para el desarrollo total de las larvas. Los potes con alimentos colocaron dentro de la cámara de volteo y se expusieron a los humos de la pastilla fumígena durante una hora. Los controles fueron expuestos a humos sin insecticida. Al cabo del tiempo de exposición se retiraron los potes con larvas y se mantuvieron en condiciones ambientales de cría. Para esto se cubrió la superficie del alimento con aserrín y papel de filtro humedecido. Se registró el número de pupas y el número de adultos nacidos de cada grupo de larvas expuesto. El dato final de número de adultos resultante en cada tratamiento se realizó 5 días después de emergidos los controles.

I. Complejo de inclusión de metoprene en β -ciclodextrina

Obtención y caracterización del complejo

Obtención

Se preparó el complejo por suspensión de la β -ciclodextrina (β -CD) en agua y agregado de la solución de metoprene como fue descrito en Materiales y Métodos. El sólido obtenido fue lavado (64) y luego analizado en su composición y caracterizado.

Contenido de metoprene en el complejo

Por cromatografía gaseosa y luego de destruir el complejo por extracción se determinó el porcentaje de metoprene en el complejo. Teniendo en cuenta que un criterio de formación de complejo es que la sustancia complejada esté en una concentración constante en toda la masa de complejo formada y en síntesis independientes, se determinó el promedio de los resultados cromatográficos, los que indicaron que la concentración de metoprene en el complejo es de 8 ± 1 % P/P. Este resultado indica, dentro del error de método, constancia de composición y, teniendo en cuenta los pesos moleculares, una relación molar de 1: 3 metoprene : ciclodextrina. Esta relación no puede trasladarse a una relación estequiométrica ya que depende de las propiedades de cristalización del complejo (62).

Difracción de Rayos X

Como el metoprene es una sustancia líquida, y como fuera establecido previamente para otros insecticidas organofosforados (65, 66), no produce patrón de difracción. En cambio se observó que el patrón de difracción de la β -CD y el complejo metoprene- β -ciclodextrina fueron significativamente diferentes (Fig. 1). Cambios significativos en el patrón de difracción indican la existencia de un complejo de inclusión (66).

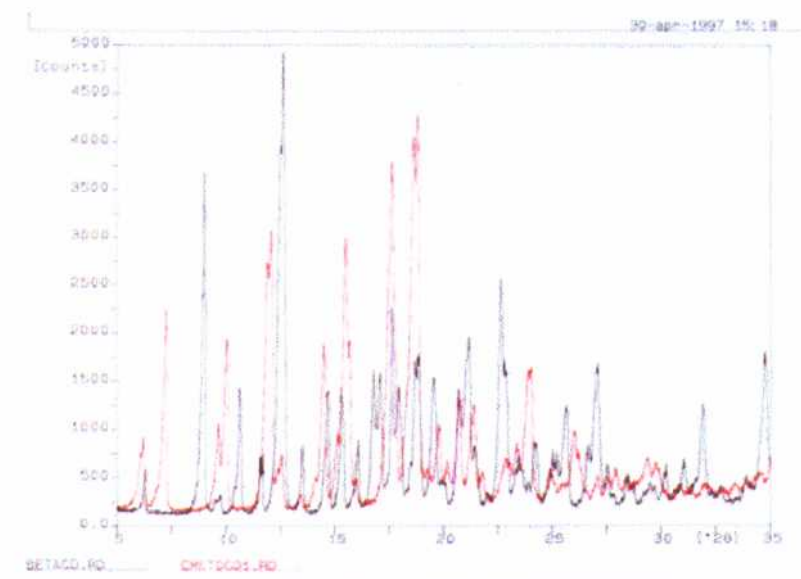


Figura 1. Patrones de difracción de β -CD y del complejo metoprene/ β -CD.

Análisis termogravimétrico

El termograma de la mezcla mecánica de β -CD y metoprene (Fig. 2) mostró inicialmente una pérdida de agua de 10% y luego la pérdida de metoprene. El termograma del complejo mostró la misma pérdida de agua pero la liberación del metoprene se produjo a mucha mayor temperatura. Esto puede considerarse como una evidencia de que todo el metoprene está incluido dentro de la molécula de complejante, lo que hace necesario que el sistema complejo de inclusión reciba mayor energía para liberar al metoprene.

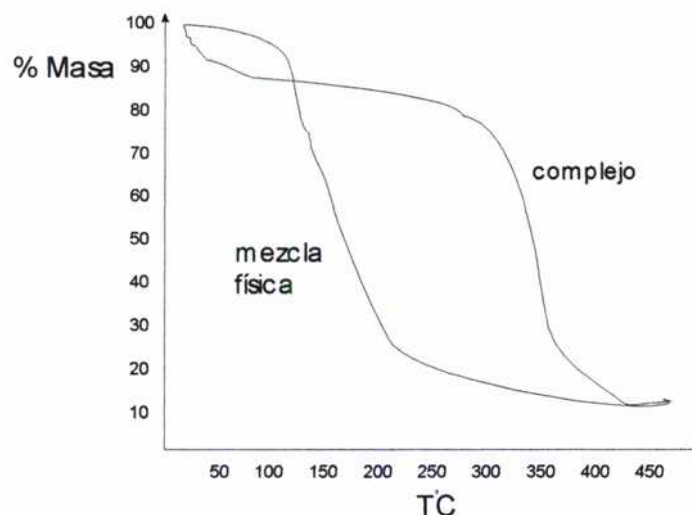


Figura 2. Termograma de la mezcla mecánica de metoprene y β -ciclodextrina y de su complejo de inclusión.

II. Ensayos de recuperación de metoprene en humos

Mezcla fumígena

Las mezclas fumígenas fueron preparadas con KClO_3 , caolín (ver punto I) pero en lugar de dextrina se utilizó como combustible β -ciclodextrina, ya que debido a la baja proporción de metoprene en el complejo, la gran cantidad de β ciclodextrina necesaria modificó las propiedades autocombustibles de la mezcla. Para comparar las recuperaciones en humos de metoprene libre y complejo fue necesario entonces modificar la composición de la mezcla fumígena incorporando CD y variando su relación con el oxidante y el inerte.

Recuperación de metoprene en humos

Con el diseño experimental de ignición en frasco y posterior enjuague con solvente, ya descrito para evaluación de liberación de piretroides en humos (PARTE I, punto I) se midió la recuperación de metoprene luego de la combustión de la mezcla fumígena por cromatografía gaseosa.

Se comparó la recuperación a partir de metoprene libre con la de metoprene-CD en la mezcla sin ADC y con ADC (Tabla 1).

Composición mezcla fumígena	Formulación de metoprene*	% Recuperación en humos
sin ADC	libre	DLD**
sin ADC	en CD	DLD**
con 40% ADC	libre	25 +/-3
con 40% ADC	en CD	48 +/-2

Tabla 1. Recuperación de metoprene en humos en distintas formulaciones

*.Concentración total 1%. ** Debajo del límite de detección cromatográfica (estimativamente <5%)

Los resultados en la Tabla 1 indican que en ausencia de ADC el metoprene, aún complejoado, se recupera en cantidades inferiores al límite de detección. El agregado de ADC como agente espumígeno permite recuperaciones del 25% las cuales se incrementan significativamente (48%) cuando el metoprene se incorpora a la mezcla fumígena complejoado con CD. Al igual que lo que ocurre con los piretroides, la alta temperatura de combustión de la mezcla sin agentes espumígenos provoca una fuerte descomposición del insecticida.

III. Actividad biológica de mezclas fumígenas conteniendo metoprene

En el punto anterior se demostró que la inclusión de metoprene en ciclodextrina aumentó su recuperación en humos. Para saber si este aumento se podía correlacionar con un aumento en la efectividad biológica de las muestras, se evaluó en cámara de volteo el efecto sobre larvas de *Musca domestica* de mezclas fumígenas conteniendo ADC y metoprene libre y complejo.

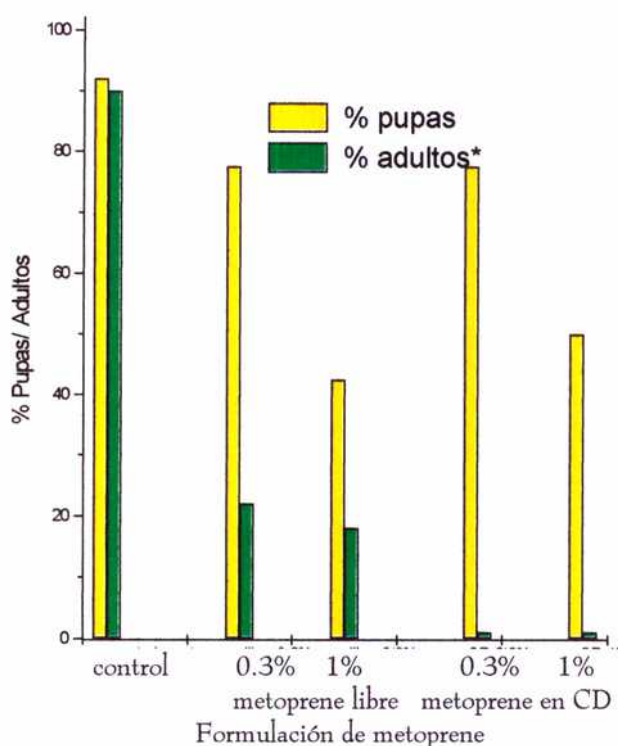


Figura 3 . % Adultos obtenidos de larvas de *Musca domestica* expuestas a metoprene. Se combustionaron 300 mg de mezcla. Controles expuestos a humos sin principio activo.

* Con respecto a pupas

Se observó que una alta proporción de las larvas expuestas a metoprene alcanzaron el estado pupal. Asimismo, las larvas expuestas a humos provenientes de pastillas fumígenas conteniendo 1% de metoprene mudaron a pupas en menor proporción y tamaño que las expuestas a pastillas conteniendo 0.3% del mismo principio activo (Tabla 2).

De las pupas provenientes de las larvas expuestas a metoprene sólo una parte alcanzó el estado adulto. La incorporación de metoprene complejo en β -ciclodextrina en las concentraciones de trabajo provocó la inhibición total del nacimiento de adultos, lo que es una medida de mortalidad de pupas y por lo tanto indicador de control.

IV. Modelado Molecular del complejo metoprene β -CD

Conformación espacial de la β -CD

Luego de dibujar la estructura de la β -CD en dos dimensiones y de realizar los cálculos de optimización de geometría por minimización de energía utilizando los Campos de Fuerzas de Mecánica Molecular MMX y MM+, se obtuvo la conformación estructural cuyas vistas lateral y frontal obtenidas con sendos campos se observan en las Figuras 4 y 5.

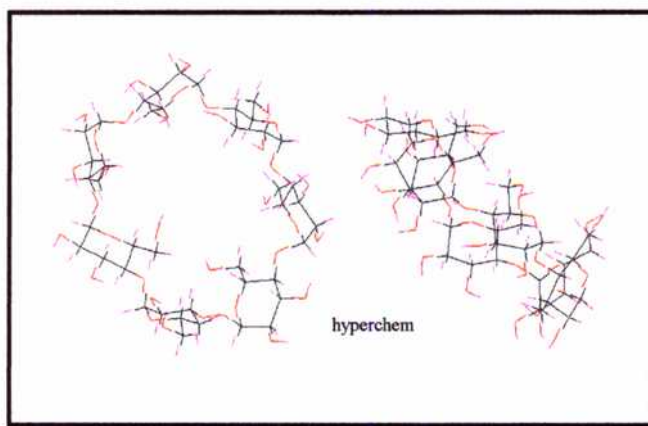


Figura 4 . Vista frontal y lateral de la ciclodextrina obtenida por MM+

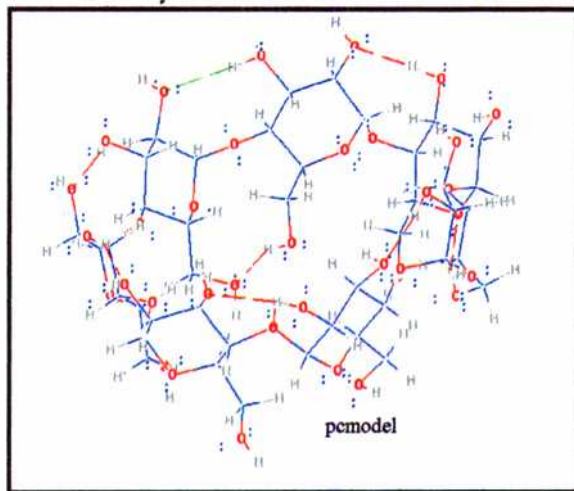


Figura 5. Vista frontal y lateral de la ciclodextrina obtenida por MMX

Para describir las distancias y ángulos de enlace, se tomó como referencia una unidad de glucosa (Fig. 6). Los átomos se numeran según la unidad de glucosa de dicha Figura y la unidades de glucosa adyacente reciben la misma numeración pero primada. Se midieron entonces, ángulos de enlace glicosídico C1-O4'-C4' (Tabla 2), ángulos de torsión C4-C3-C2-C1 (Tabla 3), ángulos de torsión C4-C5-O5-C1 (Tabla 4), distancias entre OH primarios de glucosas adyacentes (Tabla 5), distancias entre OH secundarios de glucosas adyacentes (Tabla 6) y distancias lineales entre la unidades de glucosa (Tabla 7).

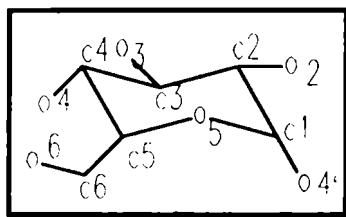


Figura 6 . Unidad de glucosa de referencia

MMX	MM+
116.90°	118.383°
117.2°	114.156°
114.8°	116.735°
117.4°	117.676°
115°	116.321°
117.3°	115.914°
114.7°	115.758°
116.2+/-1.2°	116.4+/-1.3°

Tabla 2. Angulos del enlace glicosídico (C1-O4'-C4') obtenidos por cálculos de mecánica molecular realizados con los programas de cálculo MMX e MM+

MMX	MM+
53°	55.6798°
57.9°	54.6772°
53.4°	54.3229°
53.3°	53.5718°
57.5°	52.4495°
54.9°	54.7901°
53.5°	52.5900°
54.8+/- 1.9°	54.011+/-1.11°

Tabla 3 . Angulos de torsión C4-C3-C2-C1 obtenidos por cálculos de mecánica molecular realizados con los programas de cálculo MMX y MM+

MMX	MM+
55.0°	56.1338°
60.3°	55.22412°

63.1°	62.6589°
61.0°	54.311°
60.7°	59.9826°
61.5°	57.3235°
61.4°	58.1108°
60.4+/-2.37°	57.68+/-2.7°

Tabla 4 . Angulos de torsión C4-C5-O5-C1 obtenidos por cálculos de mecánica molecular realizados con los programas de cálculo MMX y MM+

MMX	MM+
3.231 A°	3.80461A°
4.667A°	4.2596A°
4.152A°	4.871A°
3.435A°	3.7401A°
4.214A°	4.39705A°
6.370A°	4.6506A°
4.279A°	5.21A°

Tabla 5 . Distancias entre los OH primarios de glucosas adyacentes (O6-O6') obtenidos por cálculos de mecánica molecular realizados con los programas de cálculo MMX y MM+

MMX (A°)	MM+(A°)
3.486	3.05632
3.532	2.99503
3.361	3.04096
3.236	3.05946
3.28	4.12303
3.856	3.59
3.254	3.337
3.429+/-0.20	3.13+/-0.17

Tabla 6. Distancias entre OH secundarios de unidades de glucosa consecutivas (O2-O3') obtenidos por cálculos de mecánica molecular realizados con los programas de cálculo MMX y MM+

Estas distancias permiten anticipar que se formarán enlaces puente H entre las unidades de glucosa. Se pueden ver estos enlaces en los gráficos al comienzo de esta sección.

MMX (A°)	MM+(A°)
2.508	2.39
2.54	2.39
2.512	2.42
2.535	2.37
2.504	2.40
2.536	2.41
2.54	2.39

Tabla 7. Distancias lineales entre las unidades de glucosa (C1-C4) obtenidos por cálculos de mecánica molecular realizados con los programas de cálculo MMX e MM+

También se obtienen los valores de Energía total, y los términos que la componen (Tabla 8 y 9). Como los valores de energía tienen un significado relativo son útiles para calcular diferencias entre estructuras relacionadas y optimizadas con el mismo método de cálculo. En este caso se usaron para calcular ΔH de formación del complejo β -CD/metoprene.

MMX E	31.029
Str Bnd	2.876
QQ	-98.276
Str	7.202
Tor	52.784
Dip	11.556
Bnd	32.054
VDW	34.389
ΔH	-1563.5

Tabla 8. Datos energéticos para la molécula de β -CD obtenidos por MMX

E (kcal/mol)	78,19
Angle	39.64
VdW	23.0717
Electrostatic	10.2374
Bond	2.71399
Dihedral	20.8866
StrBend	2.08481

Tabla 9. Datos energéticos para la molécula de β -CD obtenidos por MM+

Simulaciones dinámicas

Para obtener un barrido de la superficie de energía potencial y llegar a un mínimo de menor energía, se calienta el sistema para que puedan superar barreras energéticas. Para esto se utiliza la simulación dinámica.

En el cálculo realizado, la estructura final obtenida después de minimizar no mejoró la de partida, por lo tanto no se tomó en cuenta.

Otros cálculos con mayores tiempos de simulación (2-4 ps) condujeron a deformaciones de la molécula.

Conformación del metoprene

Se dibujó la estructura del metoprene en dos dimensiones y a partir de allí se realizaron las optimizaciones de geometría utilizando mecánica molecular con los Campos de Fuerzas MM+ y MMX.

Para minimizar con MM+ sin utilizar el set básico de parámetros (default parameters) fue necesario introducir el parámetro de torsión de O2-CO-C3-H en el archivo mmptors.txt y luego compilarlo. El valor fue sacado del manual del PCModel. Se marcaron los enlaces conjugados para mejorar la calidad del cálculo. La estructura obtenida es la de la Figura 7. En MMX, se marcaron los átomos pi para que el programa efectúe un cálculo pi (MMPI) y aproxime bien las distancias de enlaces conjugados. El resultado se muestra en la Figura 8.

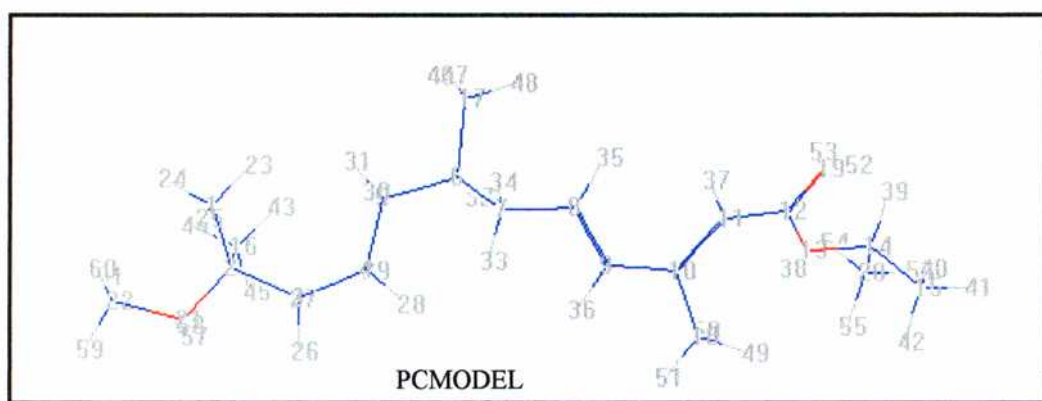


Figura 7. Vista de la molécula de metoprene obtenida por MMX.

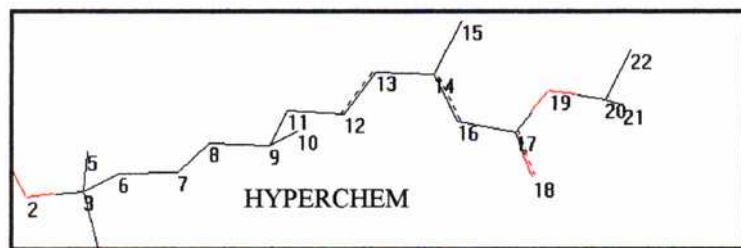


Figura 8. Vista de la molécula de metoprene obtenida por MMX.

También se obtuvieron los valores de Energía total del metoprene y los términos que la componen (Tabla 10 y 11). Como los valores de energía tienen un significado relativo, son útiles para calcular diferencias entre estructuras relacionadas y optimizadas con el mismo método de cálculo. En este caso se usaron para calcular ΔH de formación del complejo β -CD/metoprene.

MMX E	26.971
Bnd	2.285
VdW	13.708
Dip Mom	2.8
Str	2.062
Tor	7.834
QQ	5.548

Tabla 10. Datos energéticos para la molécula de metoprene obtenidos por MMX const: std. Dielc 1.5

E(kcal/mol)	25.77
Angle	9.68029
VdW	15.2335
Electrostatic	1.80556
Bond	1.84384
Dihedral	0.285993
Str-Bend	0.529256

Tabla 11. Datos energéticos para la molécula de metoprene obtenidos por MM+

También fue interesante medir las distancias de enlace de los enlaces conjugados (Tabla 12) y el ángulo de torsión C12-C13-C14-C16 (Tabla 13).

enlace	MMX	MM+
C12-C13	1.383	1.344
C13-C14	1.418	1.351
C14-C16	1.442	1.35

Tabla 12. Distancias de enlace de los dobles enlaces conjugados (C12-C13/C13-C14/C14-C16)

MMX	1.6°
MM+	-6.7°

Tabla 13. Angulo de torsión C12-C13-C14 C16

Los valores obtenidos con MM+ y MMX difieren bastante. El algoritmo MMX considera especialmente el doble enlace conjugado en su set de parámetros por lo que es probable que dé un valor más correcto. Para verificarlo, se debe realizar la optimización de geometría con un Método Semiempírico en lugar de Mecánica Molecular. Para esto se eligió el set de parámetros PM3. Se obtuvo así un valor de ángulo de torsión C12-C13-C14 C16 de -2.7°. Este valor se encuentra más cercano al obtenido por MMX como era esperado.

Sin embargo, fue conveniente realizar un estudio más detallado de este ángulo. Para ello se realizó una rotación de período fijo y luego de cada una de ellas se minimizó la geometría. Se obtuvo así un gráfico de coordenadas de Angulo diedro vs. Energía (Fig. 9).

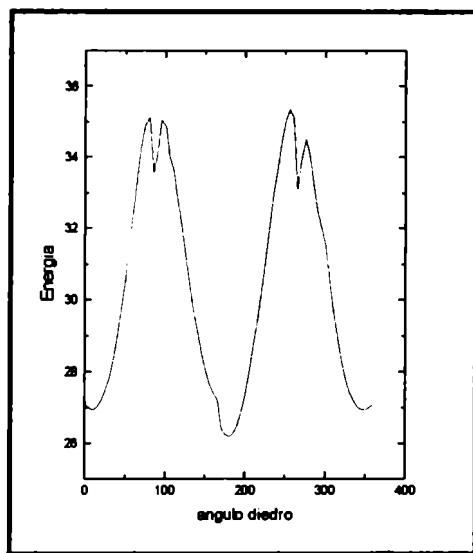


Figura 9. Diagrama de rotación del ángulo C12-C13-C14 C16 vs Energía.

Se observó entonces dicho ángulo, correspondiente al doble enlace conjugado, tiene mínimos de energía para ángulos entre 5 y 10° , 175 y 185° , 345 y 365° .

Superficie y volumen molecular

Los programas de cálculo utilizados permiten conocer la superficie total de la molécula, las áreas saturadas e insaturadas y su volumen:

Superficie	
Area total	417.183
Area saturada	347.631
Area no saturada	34.751
Area polar	34.801
Volumen	571 \AA^3
Molecular Molar	342 cm^3

Cabe recordar que el volumen molar de la cavidad de la β -CD es 150 ml, por lo que el metoprene no podría ser del tipo de huéspedes que quedan completamente dentro de la cavidad sino que entraría parcialmente en ella quedando los grupos formadores de puente H y de interacciones electrostáticas de manera que estas sean máximas, como se describirá más adelante.

Conformación del complejo β -CD metoprene

Para realizar la optimización de geometría del complejo por MM+ se minimizaron las estructuras de partida de la Figura 10. Las estructuras 1, 2 y 4 tienen el extremo carbonílico del metoprene interaccionando con los OH secundarios y están desplazadas entre sí con respecto al metoprene. Las estructuras 3, 5 y 6 tienen el extremo carbonílico interaccionando con los OH primarios.

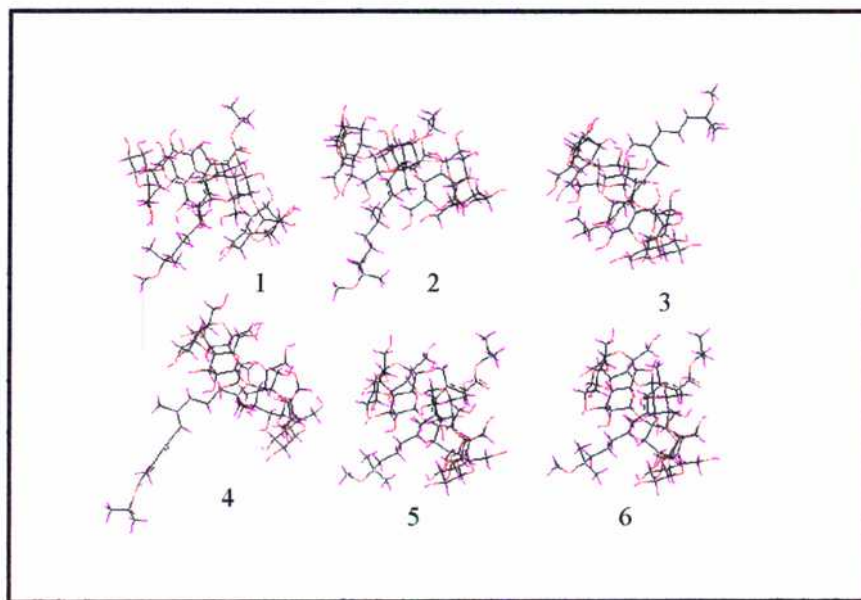


Figura 10. Estructuras de partida para la optimización de geometría del complejo metoprene β CD

Luego de la minimización de Energía se obtienen para cada estructura los valores de la Tabla 14.

Estructura	Energía(kcal/mol)
1	78.02
2	79.02
3	83.65
4	86.57
5	74.78
6	73.2

Tabla 14. Valores energéticos obtenidos para las posibles estructuras de complejo metoprene- β -CD por minimización con MM+.

Se puede concluir que la estructura 6 alcanza el mínimo más profundo en la Superficie de Energía Potencial entre todas las posibles estructuras posibles.

Dinámica molecular :

A partir de la estructura optimizada se realizan simulaciones dinámicas con el objetivo de alcanzar mínimos más profundos en la Superficie. Se repiten las condiciones utilizadas para la CD. Se grafican la energía potencial y la energía total vs tiempo (Fig. 11):

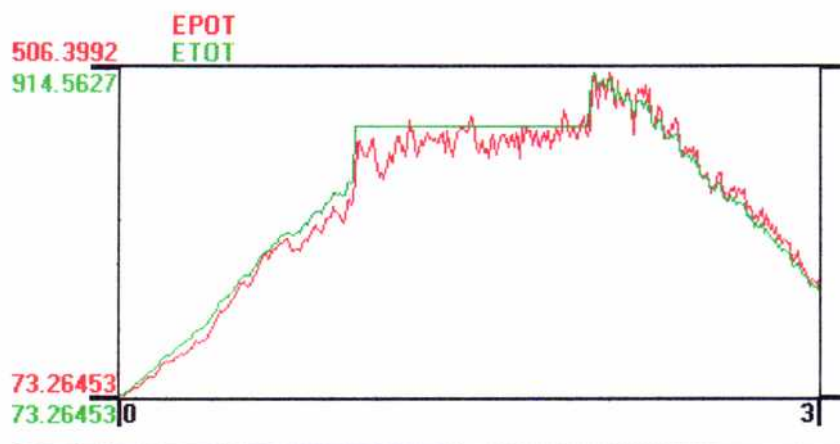


Figura 11. Gráfica de Energía potencial y Energía total en función del tiempo

En total se efectúan 10 simulaciones dinámicas seguidas de optimización de geometría de la estructura obtenida en cada simulación. Se obtiene así una estructura final (Fig. 12)

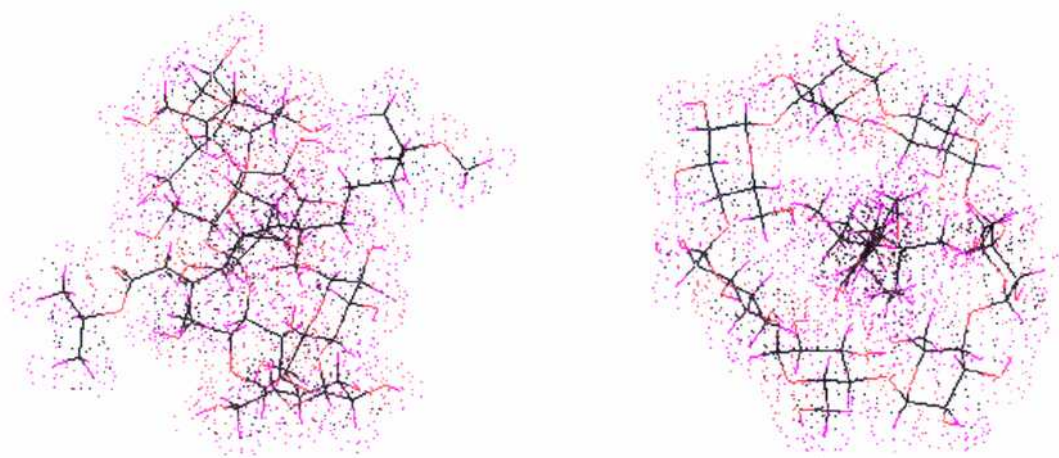


Figura 12. Estructura del complejo metoprene β -CD obtenida luego de la simulación dinámica.

Fue conveniente repetir los cálculos de Optimización de Geometría utilizando otro Campo de Fuerzas para corroborar o no los resultados obtenidos.

Para esto se trabajó con MMX (incluido en PCMODEL) y se partió de estructuras similares (Fig. 13). En este caso, las estructuras 1 y 2 tienen ambas el extremo carbonílico interactuando con los OH secundarios y difieren entre sí por las posiciones relativas del insecticida y la CD. La estructura 3 tiene el carbonilo interactuando con los OH primarios.

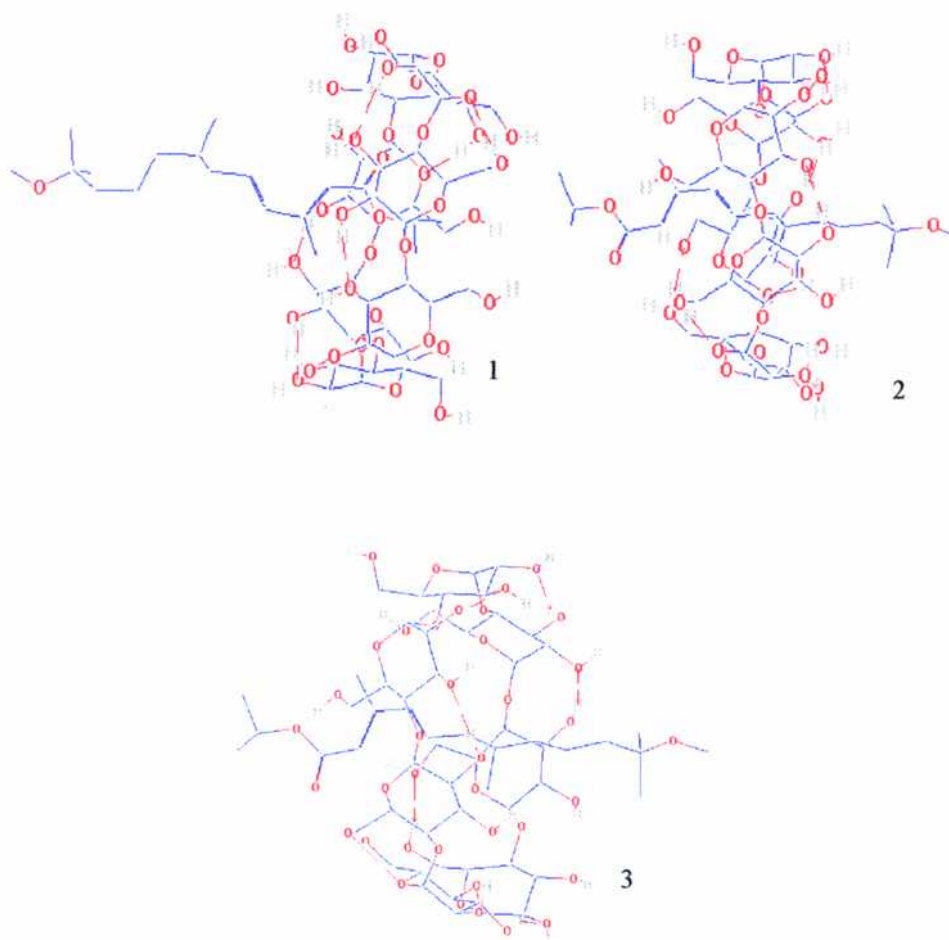


Figura 13. Estructuras de partida para la minimización del complejo metoprene β -CD por MMX.

En este caso el Programa permitió obtener, además de los valores de Energía, los valores de ΔH de los complejos. Entre los componentes de la Energía total, se eligió para comparar la Energía de van der Waals ya que es una medida de las fuerzas de interacción repulsivas de no enlace y su valor debe tender a un mínimo luego de la optimización de la geometría (Tabla 15) Otras posiciones se probaron pero no llegaron a conformaciones más estables.

Estructura	Energía(kcal/mol)	ΔH (kcal/mol)	VdW(kcal/mol)
1	40.79	-1736.50	28.565
2	24.2	-1753.09	16.138
3	25.08	-1752.26	18.203

Tabla 15. Valores energéticos obtenidos para las posibles estructuras de complejo metoprene- β -CD por minimización con MMX.

La estructura 2 llevó a un complejo de menor energía y dió el ΔH de formación más negativo y el menor valor de interacciones de Van der Waals.

Este complejo de menor energía fue sometido a cuatro *Docking* sucesivos para que al variar la posición del metoprene respecto a la β -CD llegara a una posición más favorable.

Se obtuvo así una estructura final cuya geometría se reminimizó y llegó a un valor final de 24.1 . La estructura obtenida puede verse en su vista lateral (Fig. 14) y desde arriba (Fig. 15) .

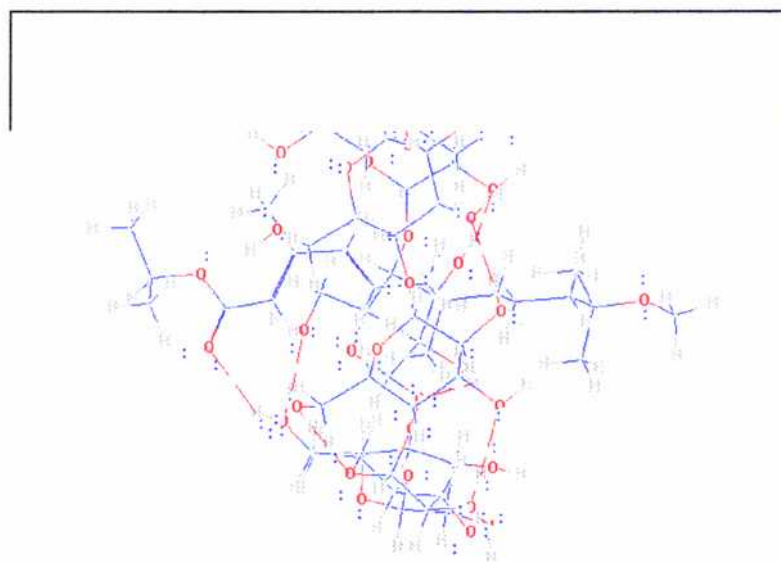


Figura 14. Estructura del complejo metoprene β -CD obtenida luego del proceso de *docking* seguido de minimización de Energía por MMX. Vista lateral.

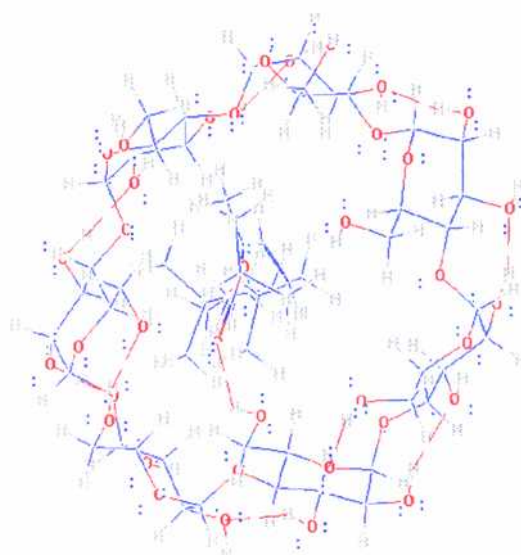


Figura 15. Estructura del complejo metoprene β -CD obtenida luego del proceso de *docking* seguido de minimización de Energía por MMX. Vista lateral.

La contribución de la Energía de enlace de puente H es importante en la estabilización del complejo.

Se puede ver claramente el puente H entre el C=O del metoprene y el OH de la CD.

Cálculo de ΔH :



$$\Delta H = \Delta H_f \text{ complejo} - (\Delta H_f \text{ CD} + \Delta H_f \text{ metop})$$

$$\Delta H = -1753.09 - (-1563.50 + 156.98) = -32.6 \text{ kcal/mol}$$

Representación gráfica de la proyección de la CD y su complejo de inclusión con metoprene en el plano x-y

En la Figura 16 se observa la modificación en la estructura que sufre la ciclodextrina cuando se introduce el metoprene. El gráfico representa las posiciones de los O glicosídicos proyectadas en el plano XY. Se puede observar que la elipse original se contrae cuando la CD interacciona con el insecticida.

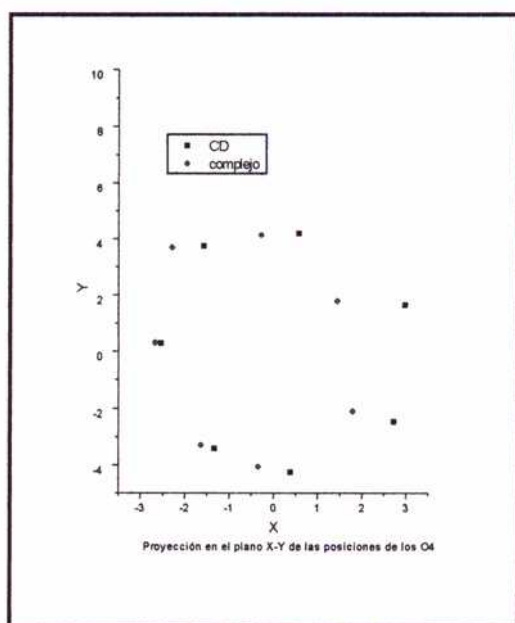


Figura 16 . Proyección en el plano XY de los O glicosídicos de la CD y del complejo metoprene-β-CD

Para analizar la posibilidad de que la interacción metoprene-CD correspondiera a una estequiometría 1: 2 se construyó el complejo metoprene-β CD₂.

A partir de la estructura más estable de complejo 1: 1, por medio de un *docking* manual se agregó otra unidad de CD manteniendo al metoprene introducido en las dos cavidades. Se plantearon 3 disposiciones posibles: las dos CD enfrentadas por la cavidad mayor, las dos CD enfrentadas por la abertura menor y las dos CD en forma paralela. Estas estructuras fueron sometidas a 10 trayectorias de simulación dinámica (68) en las condiciones especificadas anteriormente. En todos los casos la simulación dio por resultado la estequiometría 1: 1 ya que la segunda unidad de CD se aleja del sistema, como se ve por ejemplo en la Figura 17.

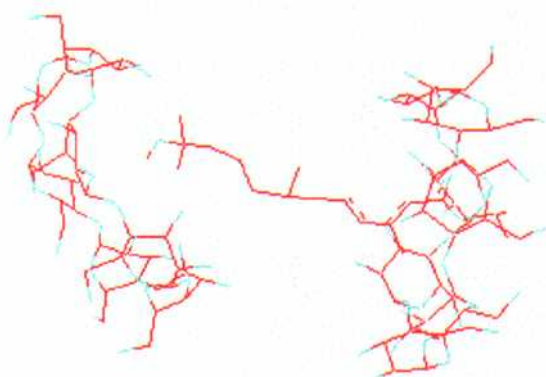


Figura 17. Resultado de la simulación dinámica con dos ciclodextrinas.

El Modelado Molecular de la interacción entre el metoprene y la β -CD permitió conocer la forma profunda en que el metoprene se introduce en la cavidad de CD, la orientación relativa de la molécula de metoprene dentro de la cavidad, la formación de enlaces puente H entre el huésped y el hospedero, la estequiometría del complejo que mostró ser 1:1 y la contracción que sufre la estructura de la CD cuando aloja al huésped.

Conclusiones

I. Complejo de inclusión de metoprene en β -ciclodextrina

El complejo fue caracterizado por

Termogravimetría : se observó que el metoprene en la mezcla física con ciclodextrina se libera a partir de 150°C mientras que el complejado lo hace por encima de 250 °C. Esto indica que el insecticida está incluido en la molécula hospedera (66).

Difracción de Rayos X, donde se observó la modificación que sufre el patrón de difracción de la ciclodextrina cuando incluye al metoprene (66).

II. Ensayos de recuperación de metoprene en humos

La formulación fumígena del metoprene incluido en β -ciclodextrina permitió aumentar su recuperación de 10 % a 48%. Este resultado abre la posibilidad de introducir un insecticida de bajo impacto ambiental y altamente selectivo, en formulaciones en las que el metoprene en estado libre sufriría gran descomposición debido a su labilidad química.

III. Actividad biológica de mezclas fumígenas conteniendo metoprene

Los resultados de actividad biológica de mezclas fumígenas conteniendo metoprene han demostrado que a iguales concentraciones de metoprene total, cuando se encuentra incluido en ciclodextrina inhibe el nacimiento de adultos en una proporción mayor que 5 veces la obtenida cuando el metoprene se encuentra libre.

IV. Modelado Molecular del complejo metoprene β -CD

El Modelado Molecular del complejo metoprene β -ciclodextrina permitió conocer el modelo de interacción del metoprene con la ciclodextrina: la penetración profunda del mismo dentro de la cavidad de CD, las uniones puente H que lo estabilizan, la contracción que sufre la ciclodextrina cuando se introduce el metoprene en su interior, la estequiometría más estable del complejo que fue determinada como 1 a 1.

Conclusiones finales

PARTE I

I. Recuperación de piretroides en humos liberados a partir de mezclas fumígenas

La incorporación de agentes espumígenos a las mezclas fumígenas permitió un aumento en la recuperación de insecticidas liberados en humos proporcional a la concentración del espumígeno. Como agentes espumígenos se utilizaron cianoguanidina y azodicarbonamida y se midió la recuperación en humos de permetrina, β -cipermetrina, tetrametrina, fenotrina y cipermetrina. Las recuperaciones obtenidas variaron entre <1 y 23 % según el insecticida para las muestras sin agente espumígeno y llegaron a 15 y 80 % de recuperación respectivamente con la incorporación de ADC o CNG.

La incorporación de antioxidantes como BHT o BHA no mostró un aumento claro en la recuperación de permetrina en humos, probablemente porque estos compuestos manifiestan su acción inhibitoria sobre procesos de reacción relativamente lentos.

Al aumentar la proporción de insecticida en la mezcla fumígena se observó un aumento en su porcentaje de recuperación en humos y una disminución en el porcentaje de insecticida remanente en el residuo de combustión.

II. Isomerización térmica de piretroides

Se observó isomerización *cis-trans* en permetrina durante la combustión de las mezclas fumígenas. Este proceso fue inhibido en distinto grado por ADC y CNG incorporados a la mezcla y no por la incorporación de BHT. La isomerización *cis-trans* es un proceso de interés biológico ya que la actividad de ambos isómeros es muy diferente, y por lo tanto la formulación debería minimizar los procesos de formación de isómeros inactivos.

La β -cipermetrina también sufre procesos de isomerización que conducen a la formación de los isómeros inactivos. Dichos procesos fueron inhibidos parcialmente por la incorporación a la mezcla de ADC y CNG.

Los estudios de termólisis de piretroides indicaron que permetrina y cipermetrina no sufren procesos de isomerización sólo por calentamiento. En cambio se producen estos procesos calentando en presencia de clorato de potasio y de sales análogas de la familia XO_3 de Na o K, con X siendo un halógeno o N. Este proceso de isomerización térmica catalizada por sales, del cual no se han encontrado antecedentes en bibliografía, cobra importancia teniendo en cuenta que el clorato de potasio es la sal que se utiliza como oxidante en las mezclas fumígenas y es probablemente el catalizador de la isomerización de los piretroides en la mezcla fumígena utilizada.

Se observaron procesos de isomerización similares en otros piretroides cuya unidad ácida es el ácido permetrínico o deltametrínico y cuya unidad alcohólica es el 3-fenoxibencil alcohol o su α -ciano derivado.

III. Productos de descomposición térmica de piretroides

El estudio de los productos de termólisis de *cis*-permetrina a 210 °C en ausencia de catalizador reveló principalmente la formación de productos de ruptura del enlace éster como el ácido permetrínico y alcohol 3-fenoxibencílico así como su producto de oxidación, el 3-fenoxibenzaldehído. También se observó la formación del cloruro de 3-fenoxibencilo. En la termólisis de *cis*-permetrina en presencia de KClO_3 , se obtuvo además de los productos citados la formación del ácido 3-fenoxibenzoico y, en muy pequeña proporción, la aromatización del grupo ácido de la permetrina .

El estudio de los productos de termólisis de β -cipermetrina a 210 °C en ausencia de catalizador reveló principalmente la formación ácido permetrínico, alcohol 3-fenoxibencílico así como su producto de oxidación, 3-fenoxibenzaldehído. También se observó la formación del 3-fenoxibencilonitrilo. En la termólisis de β -cipermetrina en presencia de KClO_3 , se obtuvo además de los productos citados ácido 3-fenoxibenzoico, 3-fenoxibenzoílo nitrilo y, en muy pequeña proporción, la aromatización del grupo ácido de la β -cipermetrina .

El análisis de los productos formados por descomposición de permetrina y β -cipermetrina en la combustión de la mezcla fumígena mostró la formación en proporciones variables de los mismos productos detectados en la termólisis a 210 °C. La mayor proporción de productos de descomposición se observó en la mezcla sin agentes espumígenos.

IV. Estudio calorimétrico de las formulaciones

El estudio calorimétrico reveló que las mezclas fumígenas sin agentes productores de gases descomponen a temperaturas superiores a las de descomposición de los insecticidas, provocando una gran descomposición de los mismos. Las mezclas con CNG y ADC producen la primera liberación de gases por debajo de la temperaturas de descomposición de los piretroides estudiados aumentando considerablemente su recuperación en humos.

V. Evaluación biológica de humos producidos por mezclas fumígenas insecticidas

La evaluación biológica de las mezclas fumígenas conteniendo piretroides mostró que las más efectivas sobre ninfas I de *Triatoma infestans* son las que contienen azodicarbonamida como agente espumígeno y β -cipermetrina como principio activo. Este resultado permitió el desarrollo de potes fumígenos insecticidas más efectivos para el control de insectos vectores de la enfermedad de Chagas, como contribución a la estrategia de control con participación comunitaria que actualmente se lleva a cabo en la Argentina.

La mezcla de isómeros de cipermetrina obtenida por reacción de clorato de potasio con cipermetrina mostró una actividad insecticida en moscas similar a la de la mezcla estándar de cipermetrina, es decir que no se mejoró la efectividad modificando la composición isomérica.

PARTE II

I. Complejo de inclusión de metoprene en β -ciclodextrina

El complejo fue caracterizado por

Termogravimetría : se observó que el metoprene en la mezcla física con ciclodextrina se libera a partir de 150°C mientras que el complejado lo hace por encima de 250°C. Esto indica que el insecticida está incluido en la molécula hospedera .

Difracción de Rayos X, donde se observó la modificación que sufre el patrón de difracción de la ciclodextrina cuando incluye al metoprene .

II. Ensayos de recuperación de metoprene en humos

La formulación fumígena del metoprene incluido en β -ciclodextrina junto con la incorporación de agentes espumígenos a la mezcla permitió aumentar su recuperación de 10 % a 48. Este resultado abre la posibilidad de introducir un insecticida de bajo impacto ambiental y altamente selectivo, en formulaciones en las que el metoprene en estado libre sufriría gran descomposición debido a su labilidad térmica y química.

III. Actividad biológica de mezclas fumígenas conteniendo metoprene

Los resultados de actividad biológica de mezclas fumígenas conteniendo metoprene han demostrado que a iguales concentraciones de metoprene total, cuando se encuentra incluido en ciclodextrina inhibe el nacimiento de adultos en una proporción mayor que 5 veces la obtenida cuando el metoprene se encuentra libre.

IV. Modelado Molecular del complejo metoprene β -CD

El Modelado Molecular del complejo metoprene β -ciclodextrina permitió conocer el modelo de interacción del metoprene con la ciclodextrina: la penetración profunda del mismo dentro de la cavidad de CD, las uniones puente H que lo estabilizan, la contracción que sufre la ciclodextrina cuando se introduce el metoprene en su interior, la estequiometría más estable del complejo que fue determinada como 1 a 1.

Bibliografía

1. K. Naumann, in *Chemistry of Plant Protection, 4. Synthetic Pyrethroid Insecticides, Synthetic Pyrethroid insecticides : Structures and Properties*, Eds. W. S. Bowers, W. Ebing, D. Martin, R. Wegler, Springer -Verlag, Berlin Heidelberg, 5-15, 1990
2. *Environmental Health Criteria 97*, FAO/WHO, Geneva, 107-118, 1990
3. L. O. Ruzo, Photoreactions of the Synthetic Pyrethroids in "*Progress in Pesticide Biochemistry*", Eds. D. H. Hutson and T. R. Roberts, Wiley, London, 1982
4. J. Miyamoto, *Pure Appl. Chem.* **53**, 1967-2022, 1981
5. K. Ueda and M. Matsui, *Tetrahedron* **27**, 2771-2774, 1971
6. L. O. Ruzo and J. E. Casida, *J. Chem. Soc. Perkin I* 728-732, 1980
7. L. O. Ruzo, R. L. Holmstead and J. E. Casida, *J. Agric. Food Chem.* **25**, 1385-1394, 1977
8. R. L. Holmstead, J. E. Casida, L. O. Ruzo and D. G. Fullmer, *J. Agric. Food Chem.* **26**, 590-595, 1978
9. L. O. Ruzo, Complementary Symposium on Pyrethroid Insecticides, IUPAC, Kyoto, Japan, 1982
10. R. L. Holmstead, D. G. Fullmer and L. O. Ruzo, *J. Agric. Food Chem.* **25**, 56-58, 1977
11. L. O. Ruzo, *J. Agric. Food Chem.* **31**, 1113-1115, 1983
12. L. O. Ruzo and J. E. Casida, *J. Agric. Food Chem.* **30**, 963-966, 1982
13. A. A. Goldberg, S. Head and P. Johnston, *J. Sci. Food Agric.* **16**, 1965
14. Y. Nakada, Y. Yura and K. Murayama, *Bull. Chem. Soc. Japan* **44**, 1724, 1971
15. Idem., *ibid.* **45**, 2243, 1972
16. N. Baba, and M. Ohno, *Agr. Biol. Chem.* 36-56, 1972
17. M. Nakanishi, T. Kuriyama and A. Kudo, *Botyu-Kagaku* **35**, 96, 1970
18. Y. Abe, N. Itaya, Y. Fujita, and N. Muramoto, *Botyu-Kagaku* **39**, 1-10, 1974
19. A. Bedekar, and K. Nair, *J. Chem. Res. Synop.* **1**, 1994
20. JA 7534019, 1977
21. G. Suzukamo, M. Fukao, M. Tamura, *Tet. Lett.* 1595, 1984
22. BE 746726, 1969-1970
23. JA 6918849, 1967
24. JA 49126665, 1973-1974
25. G. Suzukamo, M. Fukao, T. Nagase, *Chem. Lett.* 1799, 1984
26. EN 757007, 1974-1975
27. M. Elliott, N.F. Janes, D. A. Pulman, L.C. Gaughan, T. Unai, J. E. Casida, *J. Agric. Food Chem.* **24**, 270, 1976
28. E. Zerba, *Biomedical and Environmental Sciences*, **2**, 24-29, 1989

29. E. Zerba, E. Wood, F. Melgar, D. Bazán, S. A. de Licastro, M.I.P. de Villar, N.C. de Malkenson, A. Fontán y S. Segovia , N. V. de Arguello y L. Madohery, L. Chary y G. Lopez, *Chagas* 5, 19-28, 1988
30. E. Zerba, F. Melgar, G. Wallace, E. Wood, S. A. de Licastro, y M.I.P. de Villar, *Chagas* 5, 2-5, 1991
31. E. Zerba, *Revista Argentina de Microbiología* 20, 25-31, 1988
32. E. Zerba, S. A. Licastro, E. J. Wood, Patente Argentina N° 297.005: Pote fumígeno insecticida
33. H. Masuh, S. A. de Licastro, Patente Argentina en trámite
34. W. R. Kirner and W. Windus, *Org. Synthesis* 2 , 136
35. R. L. Holmstead; L. O. Ruzo, *J. Agric. Food Chem.* 26, 954-959, 1978
36. JP 02096505
37. JP 01090101
38. JP 58140002
39. JP 54147928
40. W. Scholles, H. Koddebusch, DE 1453377
41. Y. Katsuta, JP 02096505, 1990
42. S. Hagiwara, JP 53107416, 1978
43. T. Ruigt, Pyrethroids, in *Comprehensive Insect Physiology and Biochemistry and Pharmacology*, Vol. II, Eds. G. A. Kerkut and L. I. Gilbert, Pergamon Press, 1985
44. R. Alzogaray, in Press , *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 1997
45. Pyrethroid Insecticides in Public Health, *Parasitology Today* 4, 51-52, 1988
46. S. Zoltan, C. Hidasi, B. Bertok, I. Szekely, E. Somfai, I. Lak, WO9008132, 1990
47. M. Nomura and Y. Fujihara , *Nippon Kagaku Kaishi* 4, 611-615, 1984
48. G. Susukamo, M. Fukao, M. Tamura, *Tetrahedron Lett.* 25, 1595-1598, 1984
49. P. Ortiz de Montellano, S. Dinizo, *J. Org. Chem.* 43: 22, 4323-4328, 1978
50. L. O. Ruzo, R. L. Holmstead, J. E. Casida, *J. Agric. Food Chem.* 25, 1385-1394, 1977
51. B. D. Hill, D. L. Johnson, *J. Agric. Food Chem.* 35, 373-378, 1987
52. R. J. Maguire, *J. Agric. Food Chem.* 38, 1613-1617, 1990
53. E. W. Yankee, B. Spencer, N. E. Howe, and D. J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.* 95, 4220-4224, 1973
54. A. B. Chmurny, D. J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.* 95, 1973
55. E.S. Freeman, W.K. Rudloff, Report AD-832051
56. A. Sara, J. Simonik, P. Smilek, *Plaste Kautsch.* 29, 469-471, 1982
57. T. Ando, Y. Fujimoto, and S. Morisaki, *Journal of Hazardous Materials* 28, 251-280, 1991
58. *Control of Chagas Disease, Report of a WHO Expert Comitté*, WHO Technical Report, Series 811, WHO, Geneva, 1991
59. R. A. Alzogaray, A. Fontán, and E. Zerba, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 35, 323-333, 1997
60. David J. Horn, *Biology of insects*, Eds. W. B. Saunders Company, Philadelphia, 278-279, 1978
61. V. J. Stella and R. A. Rajewsky, *Pharmaceutical Research* 14, 1997.

62. Cyclodextrins Kleptose®, General Information, Pharmaceutical and Cosmetic Department, ROQUETTE
63. R. L. Carney, BR 8401448 A, 1985
64. I. Yamamoto and Y. Katsuda, *Pestic. Sci.* **11**, 134-140, 1980
65. Y. L. Loukas, E. Antoniadou-Vyza, A. Papadaki-Valiraki and K. G. Machera, *J. Agric. Food Chem.* **42**, 944-948, 1994
66. L. Szente, H. Magisztrak and J. Szejtli, *Pestic. Sci.* **28**, 7-16, 1990
67. A. S. Kostense, S. T. van Helden and L. H. M. Janssen, *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **5**, 525-543, 1991
68. B. Manunza, S. Deiana, M. Pintore, G. Delogu, C. Gessa, *Carbohydrate Research* **300**, 89-93, 1997
69. D. W. Gammon, M. A. Brown and J. E. Casida, *Pestic. Biochem. Physiol.* **15**, 181-191, 1981