



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

LICENCIATURA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

INFORME DE ACTIVIDADES DE SERVICIO SOCIAL

Título del Proyecto
EFFECTO FITOTÓXICO DE COMPUESTOS ORGÁNICOS DE TIPO
INDAZOL

Alumna: Daniela Sampedro Fuente **Matrícula:** 2163062497

Asesores: Dr. Juan Francisco Palacios Espinosa
Dr. Jaime Pérez Villanueva

Francisco Palacios E.

Lugar de realización: Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Sistemas Biológicos, Laboratorio de Síntesis y Aislamiento de Sustancias Bioactivas

Fecha de inicio: 17 de marzo de 2023

Fecha de término: 18 de septiembre de 2023

Introducción

Entre las diversas moléculas orgánicas, los heterociclos que contienen nitrógeno son componentes básicos importantes de muchos compuestos bioactivos y medicamentos que ya están disponibles comercialmente (Fauzia et al., 2012). El indazol, también llamado benzopirazol, es un compuesto orgánico aromático heterocíclico que raramente se observa en la naturaleza. Se han descrito varios derivados del indazol sustituidos con distintos grupos funcionales y que muestran una amplia gama de actividades biológicas, esto ha despertado un gran interés en el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos a base de este núcleo (Zhang et al., 2018). De manera interesante, se han reportado compuestos con anillos de indazol como potenciales herbicidas y se han estudiado sus efectos sobre el crecimiento de plantas (Zicola, 2016).

Lo anterior indica la importancia de realizar estudios de fitotoxicidad de un producto químico, como parte esencial de la ponderación del riesgo ecológico de este compuesto, pero también, con la finalidad de explorar nuevos compuestos como potenciales herbicidas. Una de las pruebas que se han estandarizado para medir la fitotoxicidad es la *Terrestrial Plants, growth test* (OCDE 208, 2006) que evalúa los efectos potenciales de sustancias en la germinación y crecimiento de las plantas. Varias respuestas de las plantas pueden ser medidas en un bioensayo de fitotoxicidad dependiendo del diseño del experimento. En general, los efectos de las sustancias tóxicas en las plantas pueden ser analizados usando la germinación, el crecimiento medido en peso fresco, longitud de la raíz durante la prueba, o las observaciones físicas como la clorosis (hojas amarillentas), necrosis, entre otros.

En este proyecto, se realizó inicialmente un screening o tamizaje de 16 compuestos de tipo indazol utilizando el ensayo de la inhibición sobre la germinación y crecimiento radicular de una especie de maleza (*Amaranthus hypochondriacus*) en caja Petri. Esto permitió la identificación de tres compuestos que tuvieron la mayor actividad inhibitoria sobre el crecimiento radicular, posteriormente, se llevó a cabo su evaluación a diferentes concentraciones para así obtener su CI_{50} .

Justificación

Las malezas son un problema que los agricultores enfrentan en la actualidad y que aumenta con el paso del tiempo (Forcella et al., 2003). Los daños más importantes que ocasionan estas malezas son los siguientes: Incrementan los costos de producción, reducen la calidad de los cultivos, reducen la riqueza de la tierra, disminuyen la estética de los jardines y terrenos de cultivo, llegan a ser refugio de insectos y organismos patógenos, hasta el grado de causar grandes incendios (Torra et al., 2022). El costo para eliminar las malezas es muy

grande y va aumentando cada año, debido a las complicaciones cada vez mayores para el control de estas. Los herbicidas suelen ser de gran ayuda para combatir a las malezas, existen una gran variedad de estos en el mercado y son de fácil acceso, pero en ocasiones las malezas llegan a presentar resistencia a estos. Así mismo, algunos herbicidas no sólo acaban con las malezas, sino también con todas las plantas susceptibles que se pueden encontrar a su alrededor (Tudi et al., 2021).

Por los problemas antes mencionados es necesario intensificar la búsqueda de nuevos herbicidas, tanto de origen natural como sintético, más eficaces. En este sentido, los compuestos orgánicos de tipo indazol ofrecen buenas perspectivas para el descubrimiento de nuevos agentes potencialmente útiles en el desarrollo de nuevos herbicidas. Es por eso que en el presente trabajo se evaluarán los efectos inhibitorios de diferentes compuestos de tipo indazol sobre la germinación y crecimiento de al menos una especie de maleza.

Objetivos

General:

- Evaluar el efecto inhibitorio de diferentes compuestos orgánicos de tipo indazol sobre la germinación y crecimiento de al menos una especie de maleza (*Amaranthus hypochondriacus*).

Específicos:

- Evaluar a una concentración de 1000 ppm el efecto inhibitorio de compuestos de tipo indazol sobre *Amaranthus hypochondriacus*.
- De los compuestos más activos, evaluar a diferentes concentraciones para calcular sus CI_{50} .
- Generar información sobre la relación estructura-actividad de estos compuestos de tipo indazol.

Antecedentes

La agricultura y sus retos

Los agricultores enfrentan en la actualidad varias dificultades durante los periodos que llevan a cabo sus cultivos (plagas, malezas, el manejo inapropiado de herbicidas, enfermedades por bacterias y hongos en los cultivos y cambios climáticos) y estos aumentan con el paso del tiempo. Uno de estos son las malezas, debido a que son muy comunes, interfieren con la cosecha del cultivo, incrementan los costos de producción, reducen la riqueza de la tierra, disminuyen la estética de los jardines y terrenos de cultivo, llegan a ser refugio de insectos y organismos patógenos, hasta el grado de causar grandes

incendios (Torra et al., 2022). Se denomina malezas a aquellas especies que crecen en torno a un cultivo comercial y no son deseadas, ya que en determinados momentos compiten por agua, luz, nutrientes y espacio físico con plantas cultivadas. La maleza puede ser controlada en forma mecánica, biológica o química. El control químico de la maleza se realiza por medio de la aplicación de herbicidas. Estos, se encuentran dentro de la clasificación de los plaguicidas, definidos por la Ley General de Salud como “sustancia o mezcla de sustancias que se destina a controlar cualquier plaga, incluidos los vectores que transmiten las enfermedades humanas y de animales, las especies no deseadas que causen perjuicio o que interfieren con la producción agropecuaria y forestal”.

Los herbicidas pueden ser clasificados de acuerdo a su época de aplicación, selectividad, tipo, familia química y modo de acción (Schmidt, 2005). En la actualidad, el control químico es una de las principales herramientas en la agricultura moderna (Anderson, 1996). Aunque no solo se usa en la agricultura, sino también en zonas industriales y zonas urbanas, debido a que, si son adecuadamente utilizados, controlan eficazmente a las malezas a un bajo costo (Peterson et al., 2001). No obstante, si no son aplicados correctamente, los herbicidas pueden causar daños a las plantas cultivadas, al medio ambiente e incluso a las personas que los aplican.

Los procesos de alelopatía y fitotoxicidad

La alelopatía se refiere a cualquier proceso que involucra metabolitos secundarios producidos por plantas, microorganismos, virus y hongos que influyen en el crecimiento y desarrollo de sistemas agrícolas y biológicos. Se ha establecido que la alelopatía ofrece un gran potencial para aumentar la producción agrícola (cereales, hortalizas, frutas y silvicultura), disminuir los efectos nocivos de las prácticas agrícolas modernas, uso indiscriminado de pesticidas (herbicidas, fungicidas, insecticidas y nematocidas), mantener la productividad del suelo, además de un medio ambiente libre de contaminación para nuestras generaciones futuras (Sampietro et al., 2009; Macias et al., 2019). Los aleloquímicos son una parte integral de la investigación de la alelopatía. Estos se biosintetizan y almacenan en las células sin afectar las actividades de la misma. Sin embargo, después de su liberación, en el caso de plantas mediante volatilización, lixiviación de exudados de raíces y descomposición de la biomasa; estos aleloquímicos comienzan a influir en otros organismos cuando entran en contacto con ellos (plantas, microorganismos, insectos, etc.). Por lo tanto, la investigación de la alelopatía no está completa hasta que se aíslan, identifican y caracterizan los aleloquímicos presentes en las condiciones experimentales. Los aleloquímicos son sustancias secundarias, biosintetizadas a partir del metabolismo de carbohidratos, grasas y aminoácidos y surgen diversas vías de biosíntesis como la acetato-malonato o de la vía del ácido siquímico (Sampietro et al., 2009).

Po su parte, la fitotoxicidad es el proceso en el retraso de la germinación, así como la inhibición del crecimiento de las plantas o cualquier efecto negativo (quemazón de puntas de hojas, clorosis parcial o general). Estos daños pueden ser causados por diversos factores o por la interacción de los mismos, principalmente, compuestos químicos, trazas metálicas, pesticidas, salinidad, fitotoxinas, hormonas, temperatura, nivel de hidratación, etc (Abhishek et al., 2018).

Los compuestos que provocan la fitotoxicidad se denominan fitotóxicas que son, en gran medida, metabolitos secundarios. Estas moléculas pueden originarse de varias fuentes como microorganismos y plantas (terpenos, fenoles, alcaloides, entre otros). Los patólogos de plantas aplican el término fitotóxina a sustancias microbianas que son responsables de producir síntomas de enfermedad en las plantas, debido a su bajo peso molecular son capaces de atravesar membranas y/o penetrar aberturas naturales (estomas, lenticelas), causando así necrosis, marchitamiento, clorosis o una combinación de estos síntomas (Hoffman et al., 2003). Al mismo tiempo, las fitotóxicas se clasifican de acuerdo con el papel que juegan en el proceso de infección en la planta; como fitotóxicas hospedero-selectivas (HST's) y fitotóxicas hospedero no selectivas (no-HST's) (Prell & Day, 2000; Jeng-Sheng, 2001).

Las HST's se consideran como determinantes primarios de patogenicidad debido a que son requeridas por el patógeno para colonizar la planta, estas inducen los síntomas de la enfermedad aun en ausencia del microorganismo que lo produce y son tóxicas únicamente al o los hospederos del patógeno que las produce. Por otra parte, las no-HST's afectan a un rango más amplio de hospederos, causando una variedad de síntomas. Estos metabolitos no son esenciales para el inicio de la infección, pero contribuyen a la virulencia del patógeno, por lo que se les reconoce como determinantes secundarios de patogenicidad (Jeng-Sheng, 2001).

La búsqueda de nuevos agentes herbicidas sintéticos: El núcleo indazol

Debido a todas las adversidades que enfrentan los agricultores, es necesario intensificar la búsqueda de nuevos herbicidas, tanto de origen natural como sintético, más eficaces y seguros para el medio ambiente. En este sentido, los compuestos orgánicos de tipo indazol ofrecen buenas perspectivas para el descubrimiento de nuevos agentes potencialmente útiles en el desarrollo de nuevos herbicidas. El indazol, es un importante heterocíclico aromático benzofusionado con un anillo de pirazol, una fórmula química de $C_7H_6N_2$, también llamado benzopirazol.

El indazol presenta formas de tautoméricas, existen 1*H*-indazol, 2*H*-indazol y 3*H*-indazol. El tautomerismo en los indazoles influye en gran medida en la síntesis, la reactividad, las propiedades físicas e incluso biológicas. El cálculo de la energía interna termodinámica de estos tautómeros apunta al 1*H*-indazol como la forma predominante y estable sobre el

2*H*-indazol. Los compuestos que contienen indazoles sustituidos con diferentes grupos funcionales presentan actividades farmacológicas significativas y sirven como núcleos estructurales en algunos fármacos, esto ha despertado un gran interés en el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos a base de indazol (Mat et al., 2022; Saketi et al., 2022). El principal problema de los indazoles es su baja abundancia en fuentes vegetales y sus derivados sintéticos también a menudo se enfrentan a problemas por su bajo rendimiento (Saketi et al., 2022). El 1*H*-indazol y algunos derivados mostraron inhibición cuando se aplicaron en suelos, antes o después de la germinación de las semillas; esta inhibición puede ser útil para eliminar las malezas no deseadas en el arroz. También, tuvieron una alta potencia herbicida, especialmente en malezas de hoja ancha como la falsa pimpinela (*Lindernia procumbens*), la copa de dientes de India (*Rotala indica*), la hierba de agua (*Elatine triandra*) y la hierba de corral (*Echinochloa oryzicola*) (Fauzia et al., 2012). Lo anterior posiciona al núcleo indazol como privilegiado para la búsqueda de herbicidas sintéticos.

Materiales y Métodos

Obtención de los compuestos derivados de indazol

Los 16 compuestos con el núcleo indazol se obtuvieron de la quimioteca N015, preparados por el grupo de investigación del Dr. Jaime Pérez Villanueva (Tabla 1), en el laboratorio de Síntesis y Aislamiento de Sustancias Bioactivas del Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-X.

Evaluación del efecto inhibitorio de la germinación y el crecimiento radicular en caja Petri

La determinación del potencial fitotóxico de los compuestos indazólicos se realizó mediante el bioensayo de germinación y crecimiento radicular de semillas de *A. hypochondriacus* en caja Petri.

Para poder realizar el bioensayo, las semillas se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante cinco minutos y, posteriormente, se lavaron con suficiente agua hasta eliminar por completo el hipoclorito de sodio. El bioensayo se realizó en cajas Petri de vidrio de 5 cm de diámetro cubiertas con círculos de papel filtro del mismo tamaño.

En el tamizaje inicial de los 16 indazoles, se preparó una solución a una concentración de 1000 ppm de cada compuesto en un solvente orgánico volátil adecuado, según la solubilidad se usó diclorometano, acetona o etanol. Un mililitro de las disoluciones preparadas de cada compuesto, se vertió sobre un disco de papel filtro de 5 mm dentro de las cajas Petri, permitiendo enseguida la evaporación del disolvente mediante una corriente de aire. Posteriormente, se adicionó un mililitro de agua destilada sobre el papel filtro y se

colocaron 10 semillas desinfectadas de la especie vegetal de prueba. Las cajas Petri se sellaron e incubaron a 35 °C. La actividad fitotóxica se registra calculando el porcentaje de germinación e inhibición, midiendo la longitud de las radículas a las 48 horas del tratamiento. Los ensayos se realizaron por triplicado, como blanco se utilizó agua y como control positivo RIVAL® (glifosato, C₃H₈NO₅P) a una concentración de 5 mg/mL.

Los resultados se expresaron en porcentajes de inhibición, midiendo la longitud de las radículas a las 48 horas del bioensayo.

Con estos resultados, se seleccionaron tres de los indazoles más activos y se procedió a calcular los valores de concentraciones inhibitorias 50 (CI₅₀) mediante su evaluación a diferentes concentraciones 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.62, 7.81, 3.90, 1.95 y 0.97 ppm (curvas concentración-respuesta), de la misma forma que se relató anteriormente.

Análisis estadístico

Los resultados se expresan como la media ± DE del crecimiento radicular en milímetros de al menos tres experimentos individuales. Las CI₅₀ se expresan en ppm. Se utilizó el programa Prism GraphPad para construir las gráficas.

Resultados

En primera instancia, se realizó un estudio concentración-respuesta del compuesto de referencia Rival® (glifosato) a diferentes concentraciones (ppm) incluyendo un blanco de agua para estimar su CI₅₀ sobre la especie seleccionada (*A. hypochondriacus*), observando que su efecto sobre el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus* es dependiente de la concentración, este resultado se presenta en la figura 1.

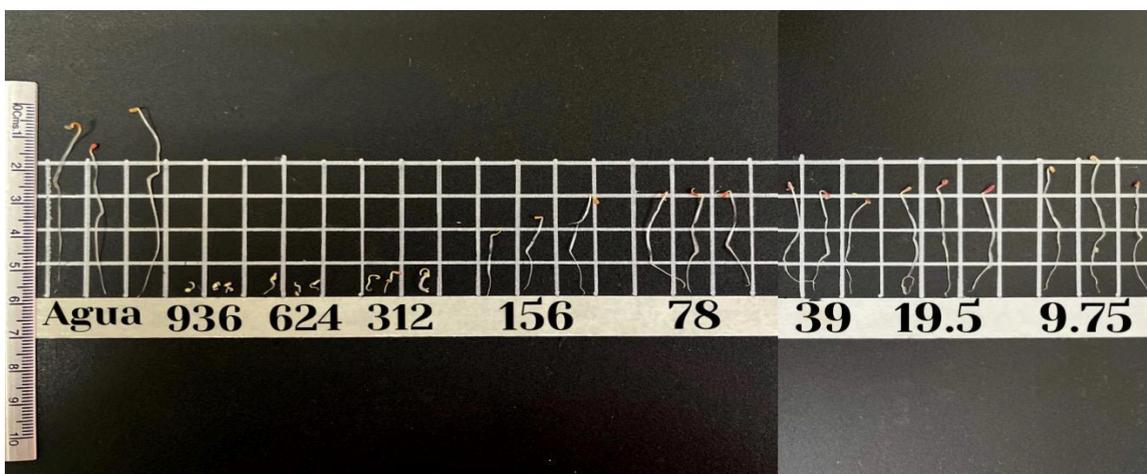


Figura 1. Efecto inhibitorio del crecimiento radicular de *A. hypochondriacus* empleando RIVAL a diferentes concentraciones.

Una vez hecho esto, se realizó el tamizaje de los 16 indazoles empleando una concentración de 1000 ppm. Esto permitió la identificación de ocho compuestos que inhibieron de manera significativa o total la germinación y/o el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus* (J1, J184, J197, J205, J255, J186, J187 y J182). El concentrado de los resultados del tamizaje se presenta en la figura 2.

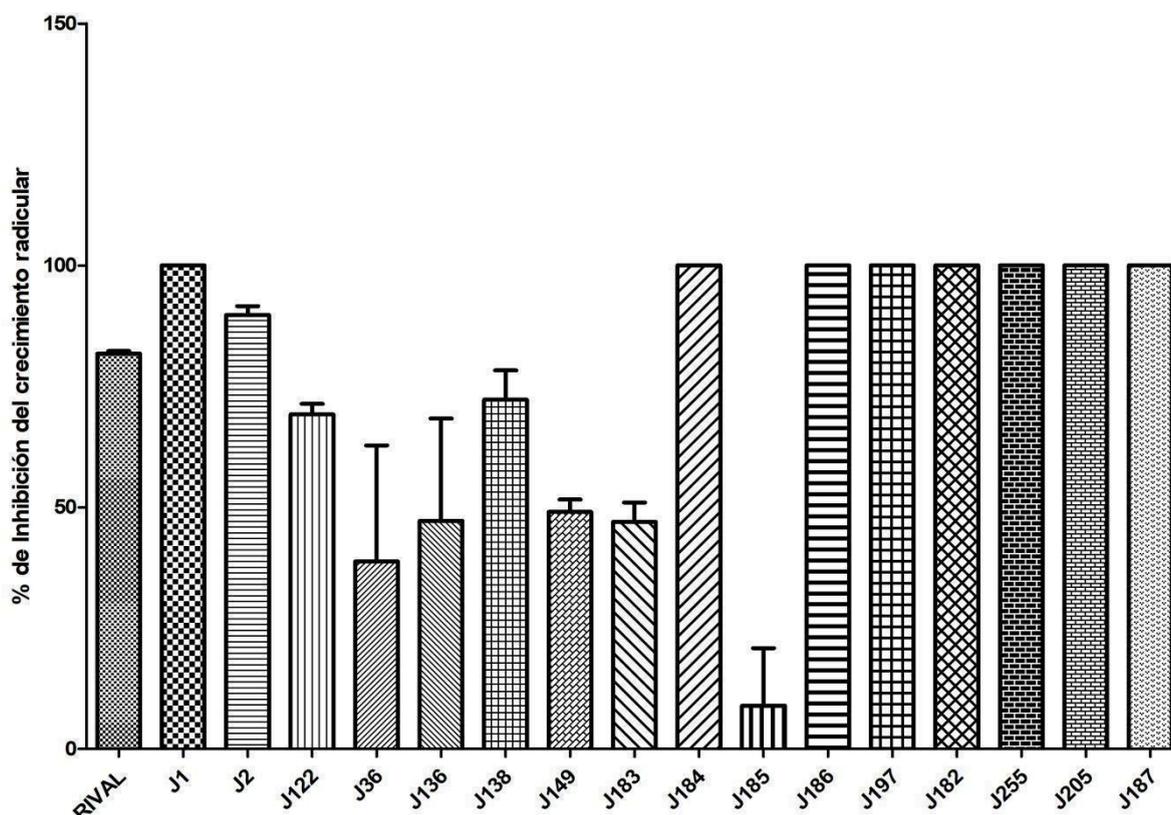


Figura 2. Efecto de los 16 compuestos de tipo indazol sobre el crecimiento radicular del *A. hypochondriacus* en caja Petri a 1000 ppm. Cada barra representa el promedio de dos experimentos \pm DE.

Una vez identificados los indazoles con mayor efecto inhibitorio, se identificaron ocho indazoles con porcentajes de inhibición mayor a 95%, de estos, se seleccionaron los compuestos J184, J197 y J205 para ser evaluados a través de un análisis concentración-respuesta y calcular su CI_{50} . En la tabla 1 se presentan los resultados obtenidos del análisis de los tres compuestos seleccionados como los más activos y el RIVAL®, midiendo su efecto a diferentes concentraciones en ppm.

Tabla 1. Efecto de la concentración de los indazoles seleccionados en la prueba del efecto inhibitorio sobre *A. hypochondriacus* en caja Petri.

| Clave | Concentración (ppm)/Porcentajes de inhibición (%) | | | | | | | | | | | | CI ₅₀ (ppm) |
|-------|---|------|-----|-----|------|-------|------|-----|-----|-----|------|------|---------------------------|
| | 1000 | 500 | 250 | 125 | 62.5 | 31.25 | 15.8 | 7.9 | 3.9 | 1.9 | 0.98 | 0.49 | |
| J184 | 100 | 88 | 84 | 62 | 51 | 21 | 19 | 18 | 16 | 0 | 0 | 0 | 86.58 |
| J197 | 100 | 100 | 78 | 59 | 58 | 20 | 19 | 14 | 12 | 11 | 10 | 1 | 107.2 |
| J205 | 100 | 86 | 58 | 56 | 41 | 29 | 14 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 114.1 |
| RIVAL | 68.3 | 55.3 | 42 | 38 | 31 | 5.48 | 0 | 0 | - | - | - | - | 125.4 |

En la figura 3, se muestran las curvas concentración-respuesta que se obtuvieron de los compuestos J184, J197 y J205. En ellas, se puede observar que el compuesto J184 (puntos circulares) provocó la mayor inhibición en el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*, con una CI₅₀ de 86.58 ppm (Tabla 1) y fue 1.44 veces más potente que el RIVAL® (CI₅₀ = 125.4 ppm). Enseguida, se encuentra el indazol J197 (cuadrados), con una CI₅₀ de 107.2 ppm y finalmente el compuesto J205 (triángulos), con una CI₅₀ = 114.1 ppm. Los compuestos J197 y J205 tienen igual potencia que el compuesto de referencia, lo que está indicado por la máxima respuesta que alcanzan.

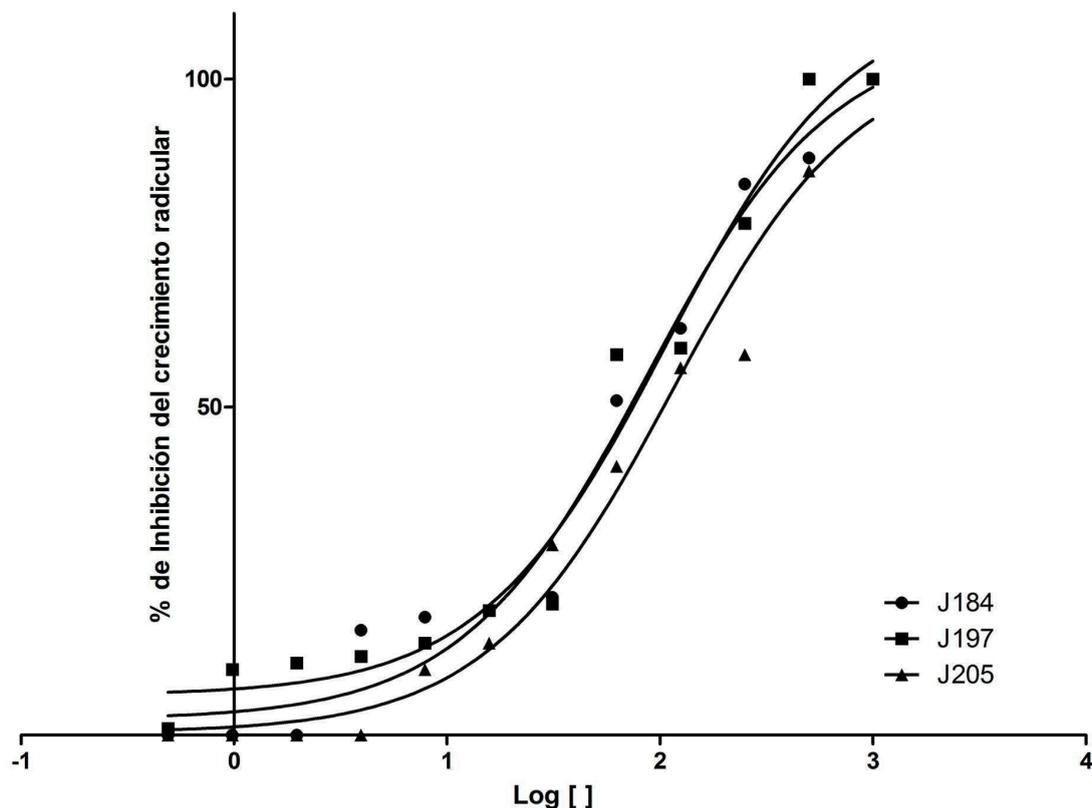


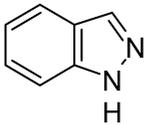
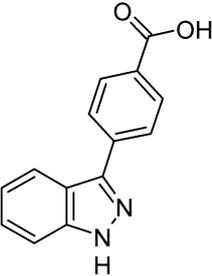
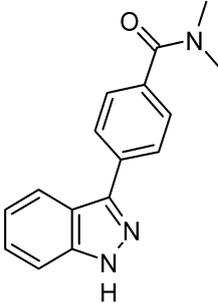
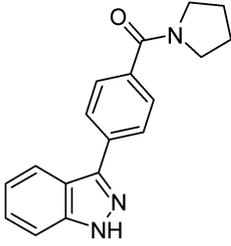
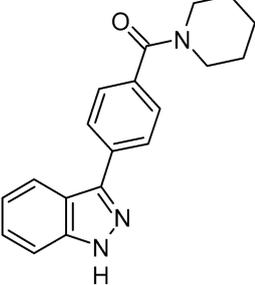
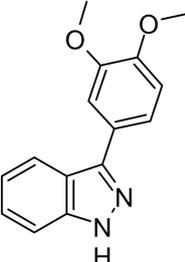
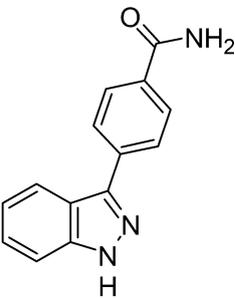
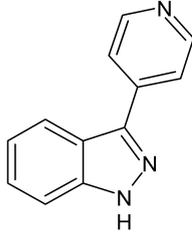
Figura 3. Curvas log de la concentración-respuesta sobre el efecto inhibitorio en el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus* de los compuestos J184, J197 y J205.

Discusión

En la búsqueda de nuevos agentes herbicidas y la evaluación de los potenciales efectos sobre especies vegetales de moléculas orgánicas obtenidas por síntesis, en este trabajo se reporta la evaluación preliminar de 16 indazoles, a la concentración de 1000 ppm, empleando el método de inhibición del crecimiento radicular del amaranto (*A. hypochondriacus*) en caja Petri.

La selección de compuestos incluyó al núcleo indazol sin sustituyentes (J1), 14 compuestos de tipo 3-fenilindazol (J2, J122, J136, J138, J149, J182, J183, J184, J185, J186, J187, J197, J205, J255) y un compuesto de tipo 2,3-difenilindazol (J36), de acuerdo a disponibilidad de cada compuesto en el laboratorio N015 y también a lo descrito en la literatura sobre el potencial uso como herbicida de este grupo de compuestos. Los resultados observados se reportan en porcentajes de inhibición del crecimiento radicular provocado por estos compuestos, y van desde un 14.14% (J185) hasta el 100% (Tabla 2, indazoles identificados).

Tabla 2. Indazoles identificados después del tamizaje a 1000 ppm en la prueba de inhibición de la germinación y crecimiento radicular de *A. hypochondriacus* en caja Petri

| | | | |
|--|--|---|--|
|  <p>J1</p> |  <p>J182</p> |  <p>J184</p> |  <p>J186</p> |
|  <p>J187</p> |  <p>J197</p> |  <p>J205</p> |  <p>J255</p> |

El núcleo base de indazol (J1) provocó el 100% de inhibición en el tamizaje, indicando que esta estructura puede ser el punto de partida para modificaciones estructurales y desarrollar potenciales agentes herbicidas, confirmando una de las actividades biológicas que se le atribuyen a este tipo de compuestos (Gaikwad et al., 2015).

Para el caso del indazol 2,3-diarilsustituido (J36) con dos anillos aromáticos, el porcentaje de inhibición sobre el crecimiento radicular fue de 58.48 %, lo cual nos permite ver que su probable CI_{50} está cerca de los 1000 ppm, valor se podría considerar alto.

Finalmente, de los 14 indazoles restantes, todos ellos de tipo 3-fenilindazol; siete compuestos provocaron el 100% de inhibición del crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*, mientras que dos más de ellos (J2 y J138) produjeron una inhibición mayor al 95%. Lo que nos dice que este tipo de compuestos con la sustitución en la posición 3 del anillo indazol tienen gran potencial para generar herbicidas.

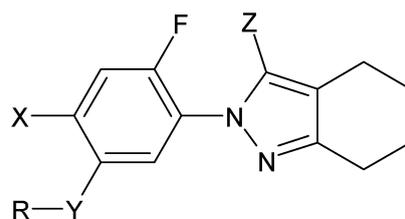
En la literatura, son pocos los reportes sobre indazoles como herbicidas. Destacan los estudios de Ando y colaboradores (2001), donde reportan la síntesis de varios derivados de imidas cíclicas, que incluyeron siete estructuras de tipo 2-fenil-3-cloroindazol. En este estudio, el grupo fenilo de la posición 2 fue sustituido con diferentes átomos de halógenos

(Cl y F) u otros grupos funcionales en las posiciones 2, 4 y 5. Los autores encontraron que dos indazoles, sustituidos con un átomo de flúor en la posición 2 y un difluorometilo en la posición 5 del anillo fenilo, presentaron las mejores actividades inhibitorias (CI_{50} menores a 10^{-9} M) sobre la lenteja de agua (*Lemna paucicostata*). Posteriores estudios, Hwang y colaboradores (2001) reportan la síntesis y evaluación herbicida sobre cultivos de arroz, en condiciones de invernadero y de arrozales inundados, de compuestos tipo 2-fenil-4,5,6,7-tetrahidro-2*H*-indazol sustituidos en la posición 5 del fenilo con un grupo propargiloxilo sobre cultivos de arroz, pastos, juncos y “cabeza de flecha”, estos tres últimos son malezas muy comunes en los cultivos de arroz. Este estudio mostró que el compuesto sustituido con un grupo metiltio en la posición 3 del esqueleto 4,5,6,7-tetrahidro-2*H*-indazol fue el más potente sobre las malezas de estudio. Por otra parte, los mismos autores sintetizaron una nueva serie de estos 4,5,6,7-tetrahidro-2*H*-indazoles que contenían un sustituyente de tipo metoxiisoxazolina en la posición 5 del anillo 2-fenilo (2005). Los resultados demostraron que dos compuestos de esta serie con sustituyentes fenilo y ciano en la posición 3 del grupo 5-metilisoxazolin-5-ilo, con buena selectividad sobre el arroz y potente efecto sobre las malezas evaluadas.

Chattha y colaboradores (2013) sintetizaron compuestos de tipo 3-aril-1*H*-indazoles. Los autores recopilaron información sobre distintos compuestos de tipo indazol (1*H*-indazoles, nitroindazoles, tetrahidro-2*H*-indazoles, 3-cloro-1,3-benzotiazol-2-onas) como prominentes herbicidas, por lo anterior, deciden explorar el núcleo 1*H*-indazol. Los resultados indicaron que los compuestos 3-(2'-hidroxifenil)-1*H*-indazol, 3-estiril-1*H*-indazol, 3-(4'-acetaminofenil)-1*H*-indazol y 3-(3',4'-dioxometilenfenil)-1*H*-indazol fueron buenos inhibidores del crecimiento de las semillas de trigo, mientras que, los compuestos 3-(2'-hidroxifenil)-1*H*-indazol, 3-estiril-1*H*-indazol, 3-(4'-acetaminofenil)-1*H*-indazol y 3-(3',4'-dioxometilenfenil)-1*H*-indazol, probaron ser inhibidores del crecimiento del sorgo, lo que concuerda con lo observado en el tamizaje de los compuestos 3-fenilindazoles en este trabajo, empleando al amaranto como especie de estudio.

Estos reportes descritos han derivado en patentes internacionales, lo que nos indica que nuestros compuestos podrían seguir el mismo camino.

La patente 4,670,043, versa sobre un herbicida de tipo 2-fenil-4,5,6,7-tetrahidro-2*H* indazol (Figura 4). Este compuesto, mostró una fuerte actividad herbicida contra una amplia variedad de malezas, incluidas de hoja ancha y de gramíneas, así como malezas en arrozales en pequeñas dosis y no producen ninguna fitotoxicidad sobre diversos cultivos agrícolas (maíz, trigo, soja, algodón, arroz) (Nagano et al., 1987).



X = Cl o Br

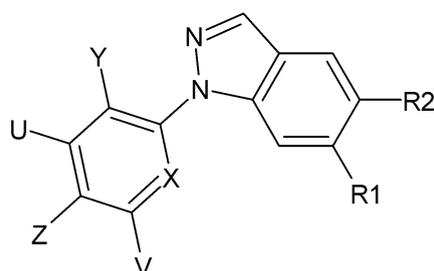
Y = O o imino

Z = Cl o CH₃

R = Alquilo (C₂-C₄), alquenilo (C₃-C₄), o alquinilo (C₄)

Figura 4. Núcleo 2-sustituido fenil-4,5,6,7-tetrahidro-2H indazoles

En la patente 0 544 218 A1, se describen nuevos derivados de arilindazol, así mismo su conversión a una sal, particularmente en aquellas agroquímicamente aceptables, como las sales de sodio, potasio y amonio (Figura 5). Este núcleo arilindazol, presentó una fuerte actividad herbicida, exterminando malezas no deseadas mediante la aplicación de una cantidad con capacidad herbicida en un área donde posiblemente crecen o crecerán malezas no deseadas (Enomoto et al., 1992).



X = N, CH, CCl o CF

Y = H o Halógeno

Z = Grupo perfluoroalquilo o C₁-C₂

U y V = Pueden ser iguales o diferentes a H, halógeno o alquilo (C₂-C₄) opcionalmente sustituido con halógeno

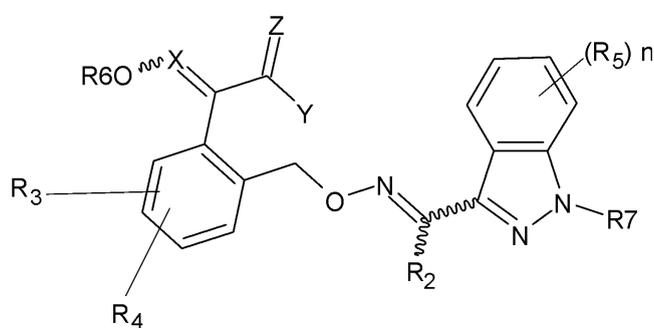
R¹ = H, halógeno, nitro, ciano

R² = H, halógeno, nitro, ciano o amino

Figura 5. Derivados de arilindazol

La patente EP 0 844 993 B1, reporta un compuesto (Figura 6) con buena actividad pesticida, provocando una mortalidad de al menos el 50-60 % de las plagas. También, se ha

descubierto que los compuestos con esta fórmula, tienen un espectro microbicida que es especialmente ventajoso para el control de microorganismos fitopatógenos, especialmente hongos. Poseen propiedades curativas, preventivas y, en particular, sistémicas muy ventajosas y pueden utilizarse en la protección de numerosas plantas cultivadas. Con los compuestos de esta fórmula, es posible inhibir o destruir las plagas que se presentan en plantas o en partes de plantas (frutos, flores, hojas, tallos, tubérculos, raíces) en diferentes cultivos de plantas. Así mismo, son activos valiosos en el campo del control de plagas animales, siendo bien tolerados por animales de sangre caliente, peces y plantas. En particular, estos compuestos son eficaces contra insectos, tales como los que se encuentran en plantas útiles y ornamentales, especialmente en plantaciones de algodón, hortalizas y frutas (Farroq et al., 2007).



X = N

Y = NHR₈

Z = O

R₁ = Alquilo (C₂-C₄)

R₂ = Alquilo (C₂-C₄), ciclopropilo, CN, preferiblemente alquilo C₁-C₃, haloalquilo

R₃ y R₄ = H, alquilo (C₂-C₄), CN, NO₂, CF₃ o halógeno

R₅ = Alquilo (C₂-C₄), halógeno, NO₂

R₆ = Alquenilo (C₂-C₆) o alquinilo (C₄) que está sin sustituir o sustituido con de 1 a 3 átomos de halógeno

R₇ = Alquenilo (C₃-C₄), Alquilo (C₂-C₄), especialmente CH₃

R₈ = H o Alquilo (C₂-C₄)

Figura 6. Compuesto activo de patente EP 0 844 993 B1.

Conclusiones

Se realizó el tamizaje de 16 compuestos de tipo indazol empleando el modelo de inhibición de la germinación y crecimiento radicular del amaranto (*A. hypochondriacus*) en caja Petri. Esto permitió la identificación de al menos ocho compuestos (J1, J182, J184, J186, J187, J197, J205 y J255) con un porcentaje de entre el 90 y 100 % inhibición de la germinación y/o crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*.

De ellos, se seleccionaron a los compuestos (J184, J197 y J205) para realizar un estudio concentración-respuesta para establecer sus CI_{50} .

El más activo fue el indazol J184 (1.44 veces más potente que el rival), mientras que los otros dos resultaron tener actividades muy parecidas al compuesto de referencia.

Referencias

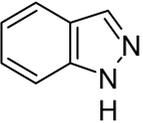
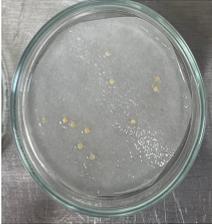
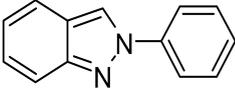
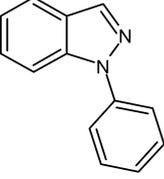
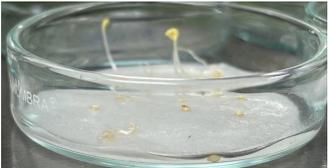
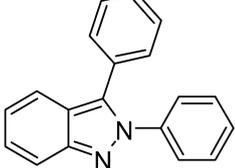
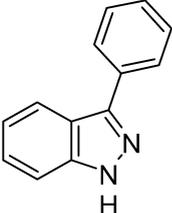
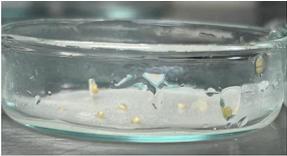
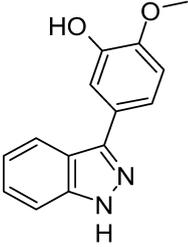
- Abhishek Thakur, Vishal Sharma & Aayushee Thakur. Phytotoxins. (2018) A mini-review. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.
- Anderson, W. P. (1996) Weed Science Principles. 3rd edition. West Publishing Co., St. Paul.
- Chattha Fauzia Anjum, Munawar Ali Munawar, Saeed Ahmad Nagra, Mohammad Ashraf, Misbahul Ain Khan and Samina Kosur. (2012) Synthesis of 3-Aryl-1H-Indazoles and Their Effects on Plant Growth. Springer Science+Business Media, LLC.
- Díaz M. D. C. C., Dominguez F. A. S., Toledo Á. M. (2012) Monitoreo De Suelos Contaminados Mediante Pruebas Ecotoxicológicas. Tlatemoani.
- Eiki Nagano, Hyogo; Ichiki Takemoto, Osaka; Masayuki Fukushima, Hyogo; Ryo Yoshida, Hyogo; Hiroshi Matsumoto, Hyogo. (1987) Herbicidal 2-substituted phenyl-4,5,6,7-tetrahydro-2h indazoles (United States Patent No. 4,670,043) Sumitomo Chemical Company
- Enomoto, Masayuki, Ryodo-cho, Nishinomiya-shi, Hyogo-ken (JP), Takemura, Susumu. (1991) Arylindazole derivatives and their use. (European patent application no. 0 544 218 A1) Sumitomo chemical company limited <https://data.epo.org/publication-server/document?iDocId=40595&iFormat=0>
- Farroq, Saleem Arisdorf, ZURFLÜH, René Basle, Szczepanski, Henry Wallbach, HALL, Roger, Graham, Aesch. (2007) Pesticidal indazol derivatives (European patent specification no. EP 0 844 993 B1) Bayer CropScience AG 40789 Monheim (DE) <https://data.epo.org/publication-server/document?iDocId=3137198&iFormat=2>

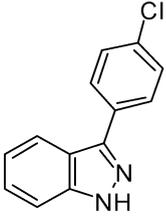
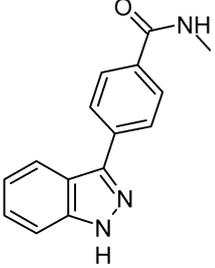
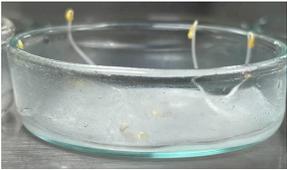
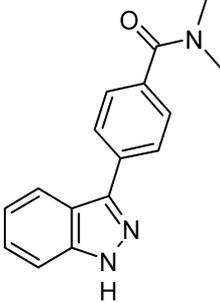
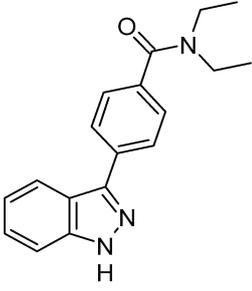
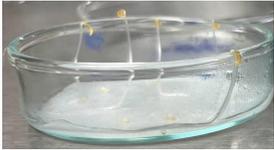
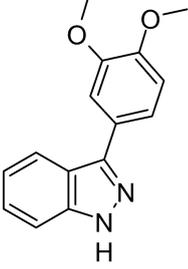
- Fauzia Anjum Chattha, Munawar Ali Munawar, Saeed Ahmad Nagra, Mohammad Ashraf, Misbahul Ain Khan & Samina Kosur. (2012) Synthesis of 3-Aryl-1H-Indazoles and Their Effects on Plant Growth.
- Forcella F., Webster T. y Cardina J. (2003) Protocolos para la determinación de bancos de semillas de malezas en los agroecosistemas. En “Manejo de Malezas para Países en Desarrollo, Addendum I”. Editado por R. Labrada, Estudio Producción y Protección Vegetal. Roma.
- Gaikwad, D. D., Chapolikar, A. D., Devkate, C. G., Warad, K. D., Tayade, A. P., Pawar, R. P., & Domb, A. J. (2015). Synthesis of indazol motifs and their medicinal importance: an overview. *European journal of medicinal chemistry*, 90, 707–731. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.11.029>
- Hoffman, D. J., B. A., Butrón, G. A., & Cairns, J. (2003) Handbook of ecotoxicology. 2da edición, EUA, Lewis Publishers.
- In Taek Hwang, Hyoung Rae Kim, Dong Ju Jeon, Kyung Sik Hong, Jong Hwan Song, Chang Kook Chung³ and Kwang Yun Cho. (2005) New 2-phenyl-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazole derivatives as paddy field herbicides. *Pest Management Science*.
- Iwao Ando, Toshikazu Ohtsuka, Nobuo Miki, Toshio Takahashi, Yoshio Hayase and Yoshiyuki Hayashi. (1989) Synthesis and Biological Activity of Cyclic Imide Derivatives and Related Compounds, *Agricultural and Biological Chemistry*.
- Jeng-Sheng, H. (2001) Plant Pathogenesis and resistance: Biochemistry and Physiology of Plant-Microbe Interactions. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Bastan, London.
- Jeon, Dong-Ju & Kim, Youngmi & Park, Kwaun-Yong & Kim, Hyoung-Rae & Song, Jong-Hwan & Kim, Jin-Seog & Ryu, Eung-K. (2001) Synthesis and Herbicidal Properties of 2-(5-Isoxazolinemethoxyphenyl)-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazole and Their Related Derivatives. *The Korean Journal of Pesticide Science*. 5.
- Macías Francisco A, Mejías Francisco JR & Molinillo José MG. (2019) Recent advances in allelopathy for weed control: from knowledge to applications.
- Mal, S., Malik, U., Mahapatra, M., Mishra, A., Pal, D., & Paidesetty, S. K. (2022) A review on synthetic strategy, molecular pharmacology of indazole derivatives, and their future perspective.
- Masao Nakatani, Yoshihiro Yamaji, Hisashi Honda and Yukio Uchida. (2016) Development of the novel pre-emergence herbicide pyroxasulfone. *J. Pestic. Sci*.
- Moyer TB, Schug WJ, Hicks LM. (2022) *Amaranthus hypochondriacus* seeds as a rich source of cysteine rich bioactive peptides. *Food Chem*.

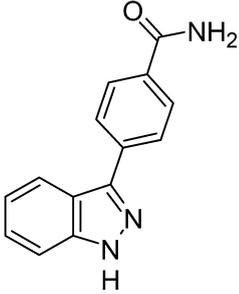
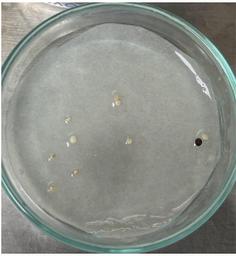
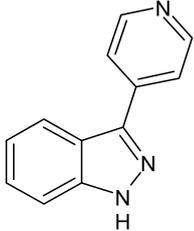
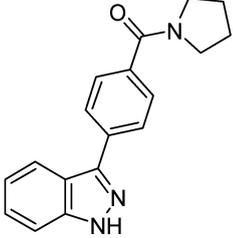
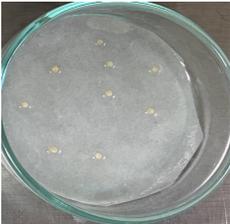
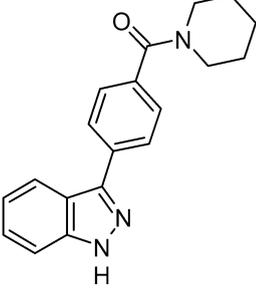
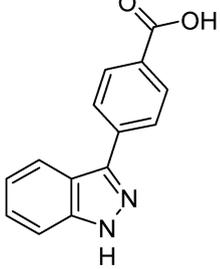
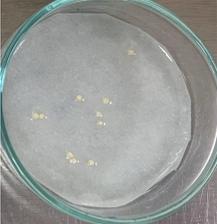
- OECD (2006), *Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Section 2, OECD Publishing, Paris.
- Peterson, D. E., C. R. Thompson, D. L. Regehr and K. Al-Khatib. (2001) *Herbicide mode of action*. Kansas State University.
- Prell, H. H. and P. R. Day. (2000) *Plant-Fungal Pathogen Interaction: A Classical and Molecular View*. Springer, Heidelberg, New York. Barcelona, Hong Kong, London, Milan, Paris, Singapore, Tokio.
- Saketi JMR, Boddapati SNM, M. R, Adil SF, Shaik MR, Alduhaish O, Siddiqui MRH, Bollikolla HB. (2020) Pd(PPh₃)₄ Catalyzed Synthesis of Indazole Derivatives as Potent Anticancer Drug. *Applied Sciences*
- Sampietro Diego A., Catalan Cesar A. N., Vattuone Marta A. (2009) *Isolation, Identification and Characterization of Allelochemicals/Natural Products*.
- Schmidt, R. R. (2005) *Clasificación de los herbicidas según su modo de acción*. Comité de acción contra la resistencia a herbicidas (HRAC).
- Secretaría de Salud, *Diario Oficial de la Federación*. Ley General de Salud, Secretaría de Salud, diciembre 2020.
- Torra J, Alcántara-de la Cruz R. (2022) *Molecular Mechanisms of Herbicide Resistance in Weeds*. *Genes* (Basel)
- Tudi M, Daniel Ruan H, Wang L, Lyu J, Sadler R, Connell D, Chu C, Phung DT. (2021) *Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment*. *Int J Environ Res Public Health*.
- Zhang SG, Liang CG, Zhang WH. (2018) *Recent Advances in Indazole-Containing Derivatives: Synthesis and Biological Perspectives*. *Molecules*.
- Zicola J. (2016) *Phytotoxins as Herbicides: Prospective Uses*.

ANEXOS

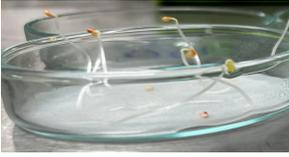
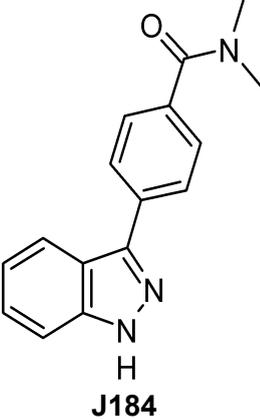
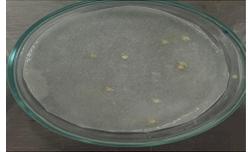
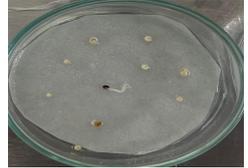
Anexo 1. Efecto inhibitorio preliminar sobre el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus* de 16 compuestos de tipo indazol a 1000 ppm.

| ESTRUCTURA Y CLAVE DEL INDAZOL | DISOLVENTE | INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO % | IMAGEN REPRESENTATIVA |
|---|------------|------------------------------|---|
|  <p>J1</p> | DCM | 100 |  |
|  <p>J2</p> | DCM | 95.47 |  |
|  <p>J122</p> | DCM | 75.65 |  |
|  <p>J36</p> | DCM | 58.48 |  |
|  <p>J136</p> | DCM | 74.22 |  |
|  <p>J138</p> | ACETONA | 92.25 |  |

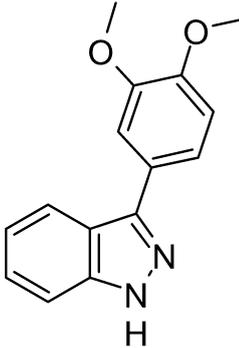
| | | | |
|---|---------|-------|---|
|  <p>J149</p> | DCM | 57.24 |  |
|  <p>J183</p> | ACETONA | 52.91 |  |
|  <p>J184</p> | DCM | 100 |  |
|  <p>J185</p> | DCM | 14.14 |  |
|  <p>J197</p> | ACETONA | 100 |  |

| | | | |
|---|---------|-----|---|
|  <p>J205</p> | ACETONA | 100 |  |
|  <p>J255</p> | ACETONA | 100 |  |
|  <p>J186</p> | ETANOL | 100 |  |
|  <p>J187</p> | ETANOL | 100 |  |
|  <p>J182</p> | ETANOL | 100 |  |

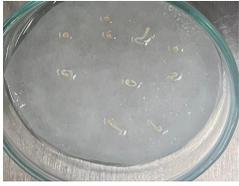
Anexo 2. Cajas petri seleccionadas de los ensayos realizados sobre el efecto inhibitorio del crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*.

| COMPUESTO | CONCENTRACIÓN (ppm) | IMAGEN REPRESENTATIVA | % DE INHIBICIÓN |
|--|---------------------|--|---|
| H ₂ O | |  | Sin inhibición, crecimiento promedio de la raíz de 16.14 mm |
| RIVAL | 5 mg/ml |  | 74.33 |
|  <p>J184</p> | 1000 |  | 100 |
| | 500 |  | 88 |
| | 250 |  | 84 |
| | 125 |  | 62 |
| | 62.5 |  | 51 |
| | 31.25 |  | 21 |

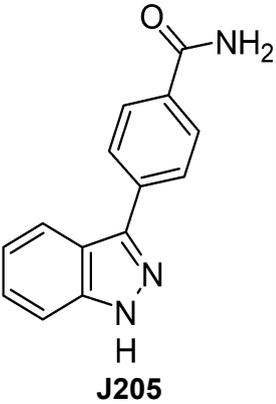
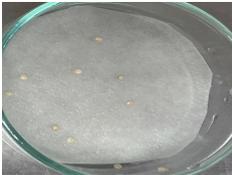
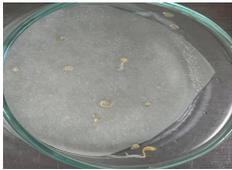
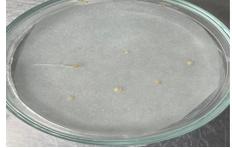
Anexo 2. Cajas petri seleccionadas de los ensayos realizados sobre el efecto inhibitorio del crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*.

| COMPUESTO | CONCENTRACIÓN (ppm) | IMAGEN REPRESENTATIVA | % DE INHIBICIÓN |
|---|--|--|-----------------|
|  | 15.76 |  | 19 |
| | 7.88 |  | 18 |
| | 3.94 |  | 16 |
| | 1.97 |  | 0 |
| | 0.98 |  | 0 |
| | 0.49 |  | 0 |
| | 1000 |  | 100 |
| 500 |  | 100 | |

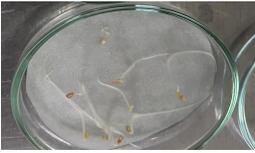
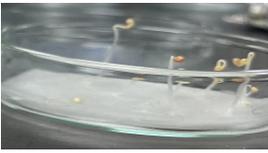
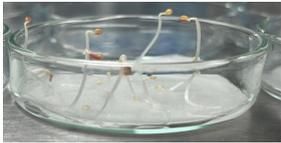
Anexo 2. Cajas petri seleccionadas de los ensayos realizados sobre el efecto inhibitorio del crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*.

| COMPUESTO | CONCENTRACIÓN (ppm) | IMAGEN REPRESENTATIVA | % DE INHIBICIÓN |
|-----------|---------------------|--|-----------------|
| J197 | 250 |  | 78 |
| | 125 |  | 59 |
| | 62.5 |  | 58 |
| | 31.25 |  | 20 |
| | 15.76 |  | 19 |
| | 7.88 |  | 14 |
| | 3.94 |  | 12 |
| | 1.97 |  | 11 |

Anexo 2. Cajas petri seleccionadas de los ensayos realizados sobre el efecto inhibitorio del crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*.

| COMPUESTO | CONCENTRACIÓN (ppm) | IMAGEN REPRESENTATIVA | % DE INHIBICIÓN |
|--|---------------------|--|-----------------|
| | 0.98 |  | 10 |
| | 0.49 |  | 1 |
|  J205 | 1000 |  | 100 |
| | 500 |  | 86 |
| | 250 |  | 58 |
| | 125 |  | 56 |
| | 62.5 |  | 41 |
| | 31.25 |  | 29 |

Anexo 2. Cajas petri seleccionadas de los ensayos realizados sobre el efecto inhibitorio del crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*.

| COMPUESTO | CONCENTRACIÓN (ppm) | IMAGEN REPRESENTATIVA | % DE INHIBICIÓN |
|-----------|---------------------|--|-----------------|
| | 15.76 |  | 14 |
| | 7.88 |  | 10 |
| | 3.94 |  | 0 |
| | 1.97 |  | 0 |
| | 0.98 |  | 0 |
| | 0.49 |  | 0 |