

**Instituto Nacional de Salud Pública**  
**Centro Regional de Investigación en Salud Pública**

---

---

Identificación de los compuestos químicos del extracto acuoso de *Spathodea campanulata* P Beauvois (Scrophulariales: Bignoniaceae) que causan toxicidad sobre estadios inmaduros de *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae).

# **T E S I S**

Que para obtener el grado de

**Maestro en Ciencias de la Salud**

P r e s e n t a

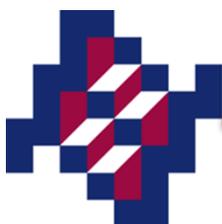
**QFB Abel Zacarías Gómez**

Director de Tesis:

Dr. José Luis Torres Estrada  
Centro Regional de Investigación en Salud Pública  
Instituto Nacional de Salud Pública

Asesores:

Dra. María Guadalupe Vázquez Martínez  
Dr. Américo David Rodríguez Ramírez  
Dr. Ramón Marcos Soto Hernández



Tapachula, Chiapas, México. Agosto de 2013.

---

**El fin supremo de la ciencia es la verdad;  
el fin del arte es el placer (Gottfried Lessing).**

## **Dedicatorias**

A Dios por permitirme seguir formándome profesionalmente, por darme la oportunidad de consolidar uno de mis objetivos.

A mis padres, Abel Zacarías López y Marina Gómez Cruz por estar presente en cada momento de mi vida y de este nuevo logro académico, por ser fuente de motivación constante, por sus sabias palabras.

A mi hermana Madai y mis hermanos Isaí e Higinio por todo el apoyo brindado durante todo este proceso, por sus palabras de aliento.

## **Agradecimientos**

Al Dr. José Luis Torres Estrada por dirigir esta tesis, por su asesoría y sus constantes consejos, muchas gracias Dr.

A mis asesores, Dra. María Guadalupe Vázquez Martínez, Dr. Américo David Rodríguez Ramírez por su contribución, para realizar esta tesis. Así también al Dr. Ramón Marcos Soto Hernández por brindarme la oportunidad de consolidar uno de mis sueños al permitirme llevar a cabo la estancia de investigación en su laboratorio del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

A las compañeras de laboratorio M en C Farah Zamira Vera Maloof e IBT Alejandra Maldonado Ramírez por la disposición mostrada, por todo el apoyo que han significado para realizar el presente trabajo.

A los Técnicos en Sistemas de Salud Crecencio Diaz Espinoza, Sandra Robles Cruz, Octavia Pérez Medina y Lizbeth Maldonado Hernández por el apoyo brindado y por compartir su experiencia durante el desarrollo de esta tesis.

A ustedes compañeros y amigos que me han brindado la oportunidad de conocerles y disfrutarles en este proceso de Maestría, muchas gracias por sus amistad Daenna Kaori Romero Moreno, Fabiola de los Ángeles Castillo García, Alicia Dorantes Delgado, Roger López Bello, Amílcar Mendoza Vázquez, Federico Alonso Zumaya Estrada.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento para llevar a cabo esta Maestría, además de la estancia en el Colegio de Postgraduados.

# Contenido

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| Resumen.....                    | 7  |
| Introducción.....               | 8  |
| Materiales y Métodos.....       | 10 |
| Sitio de colecta.....           | 10 |
| Obtención de extracto .....     | 10 |
| Análisis de los extractos ..... | 11 |
| Pruebas de susceptibilidad..... | 11 |
| Análisis de resultados.....     | 12 |
| Resultados .....                | 13 |
| Análisis de los extractos ..... | 13 |
| Pruebas de susceptibilidad..... | 13 |
| Discusión.....                  | 14 |
| Conclusión.....                 | 16 |
| Referencias .....               | 17 |
| Anexo .....                     | 25 |
| Tablas .....                    | 25 |

**Identificación de los compuestos químicos del extracto acuoso de  
*Spathodea campanulata* P Beauvois (Scrophulariales: Bignoniaceae) que  
causan toxicidad sobre estadios inmaduros de *Anopheles albimanus*  
(Diptera: Culicidae).**

Zacarías-Gómez Abel, MCS<sup>1</sup>, Vázquez-Martínez María Guadalupe, Dra.<sup>1</sup>, Rodríguez-Ramírez Américo David, Dr.<sup>1</sup>, Soto-Hernández Ramón Marcos, Dr.<sup>2</sup>, Torres-Estrada José Luis, Dr.<sup>1</sup>

(1) Instituto Nacional de Salud Pública, Centro Regional de Investigación en Salud Pública, Tapachula, Chiapas, México.

(2) Colegio de Postgraduados, Campus Montecillos, Texcoco, Estado de México, México.

## Resumen

**Objetivo:** Identificar los compuestos químicos del extracto acuoso de *Spathodea campanulata* que producen toxicidad a larvas de *Anopheles albimanus*. **Materiales y métodos:** Se analizaron extractos acuosos de *S. campanulata* y se identificaron los compuestos mediante un sistema de cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas. Se realizaron pruebas de susceptibilidad sobre larvas de *An. albimanus* con dos de los compuestos identificados y obtenidos comercialmente. **Resultados:** El análisis cromatográfico muestra la presencia de ocho compuestos químicos, entre los cuales se identificaron el 1,3,5-trioxano y diclorometano. El 1,3,5-trioxano causó una mortalidad del 23% de larvas a una concentración de 20000 ppm mientras que el diclorometano causó una mortalidad del 96% de larvas a una concentración de 1600 ppm. **Conclusiones:** El diclorometano fue el compuesto que causó una mayor mortalidad a larvas de *An. albimanus*, por lo que se le puede atribuir que una parte del efecto tóxico de *S. campanulata* se debe a este compuesto. Se requiere realizar estudios con los demás compuestos para determinar su efecto sobre larvas de *An. albimanus*.

**Palabras claves:** Paludismo, *Anopheles albimanus*, extractos vegetales.

## Introducción

El paludismo es una enfermedad causada por parásitos del género *Plasmodium*, la infección en el humano comienza cuando un mosquito infectado se alimenta e inyecta los esporozoítos en la sangre circulante <sup>1</sup>. Las cinco especies de parásitos que causan la enfermedad son *Plasmodium malariae*, *P. ovale*, *P. knowlesi*, *P. falciparum* y *P. vivax*; estas dos últimas, son las de mayor distribución en el mundo <sup>2</sup>.

A pesar de los intensos esfuerzos para controlar el paludismo, éste continúa siendo un problema de salud pública a nivel mundial debido a que causa 300 millones de casos y 781 mil muertes al año <sup>3</sup>. La mayor cantidad de víctimas que sufren este padecimiento son niños del África Subsahariana cuyas edades oscilan en los cinco años de edad <sup>3</sup>. En México, los focos de transmisión permanente de paludismo se han reportado sobre la costa del Océano Pacífico <sup>4,5</sup> siendo el foco más activo el localizado en la frontera sur del territorio nacional, específicamente en el estado de Chiapas. Hasta la semana epidemiológica número 31 del 2013 el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) reportó que 99 de los 262 casos causados por *P. vivax* (37.78%), se han presentado en este foco de transmisión permanente <sup>5-13</sup>, siendo *An. albimanus* el principal vector <sup>14</sup>.

La principal estrategia de control de anofelinos en México se basó, por más de medio siglo, en la aplicación del diclorodifeniltricloroetano (DDT) pero debido a la resistencia que se empezó a registrar desde inicios de los años setentas en los vectores de paludismo, los efectos nocivos de este sobre la salud humana y la firma del acuerdo de norteamérica para la cooperación ambiental su uso fue discontinuado <sup>15-17</sup>.

Debido a esto el programa de control de vectores contempló la aplicación de insecticidas piretroides en los brotes y focos de transmisión desde el año 2000<sup>18</sup>. Sin embargo, el uso intensivo y extensivo de insecticidas favoreció el desarrollo de la resistencia en anofelinos a este grupo toxicológico<sup>19,20</sup>.

En México, se ha documentado la resistencia a insecticidas en *An. albimanus*, vector de paludismo en la costa del Océano Pacífico<sup>21-23</sup>. Derivado de los problemas reportados por el uso intensivo de insecticidas sintéticos existe la necesidad de buscar nuevas alternativas de control<sup>24</sup>. En este sentido, las plantas pueden ser una opción viable debido a que producen una serie de sustancias con efectos insecticidas como saponinas, alcaloides, fenoles, flavonoides, terpenoides<sup>25-28</sup>, peróxidos cíclicos<sup>29</sup>, entre otros.

Una de las plantas con efecto tóxico más estudiada por su eficacia en el control de insectos plaga en todo el mundo es *Tanacetum cinerariifolium* debido a su contenido de piretrinas<sup>30</sup>. Debido a la inestabilidad que presentan las piretrinas a la luz y al aire algunos investigadores buscaron métodos para sintetizar compuestos químicos análogos a las piretrinas, dando como resultado la aletrina, el primer piretroide sintetizado<sup>30</sup>.

Estudios realizados con *Azadirachta indica* (árbol de Nim), otra planta ampliamente estudiada, han reportado mortalidades de 85 y 90% para larvas de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus*, respectivamente<sup>31</sup>. De esta planta se han extraído compuestos químicos de importancia insecticida, como es el caso de la azadiractina<sup>32-37</sup>, la cual se ha evaluado contra larvas de *An. stephensi*, *Cx. quinquefasciatus* y *Ae. aegypti* mostrando actividad larvicida<sup>38</sup>. Recientemente, se ha reportado que extractos con diversos solventes y diversas especies de plantas como *Pentzia globosa*, *Ricinus communis* y *Pterocarpus angolensis*

causaron mortalidad del 100% de larvas de *An. arabiensis*<sup>39</sup>. También, se han realizado estudios con extractos acuosos de *S. campanulata* (tulipán africano), quienes produjeron altas mortalidades para larvas de *Ae. fluviatilis* y *An. albimanus*<sup>40, 41</sup>. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue identificar los compuestos químicos del extracto acuoso de *S. campanulata* que producen la toxicidad a larvas de *An. albimanus*.

## **Materiales y Métodos**

### **Sitio de colecta**

Los bulbos preflorales de *S. campanulata* fueron colectados en árboles localizados en diferentes sitios de la ciudad de Tapachula, Chiapas, México. Para realizar la colecta se utilizaron tijeras jardineras. Los bulbos se trasladaron inmediatamente al laboratorio en bolsas plásticas colocadas dentro de hieleras para evitar pérdida de compuestos por efecto de la temperatura.

### **Obtención de extracto**

La extracción se realizó en el laboratorio de Ecología Química del Centro Regional de Investigación en Salud Pública (CRISP), Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), Tapachula, Chiapas, México. El extracto fue obtenido al realizar una incisión en la parte apical de los bulbos preflorales con la ayuda de un bisturí estéril, posteriormente el extracto fue almacenado en frascos de vidrio color ámbar a una temperatura de 4°C.

## **Análisis de los extractos**

Una muestra de 5 mL al 5% del extracto acuoso de *S. campanulata* fue inyectada a un concentrador (purga y trampa) Velocity XPT Tekmar Domrmann, usando una jeringa estéril. La muestra fue arrastrada con helio, con un tiempo de 11 min con una "purga" de 2 min. La "desorción" de la muestra fue de 1 min y el "horneado" de 2 min, el tiempo total de la extracción fue de 16 min. Después de este tiempo, la muestra fue inyectada automáticamente a un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (CG-EM), Agilent Technologies modelos 6890 y 5973N, respectivamente. La separación se realizó con una columna capilar HP-5ms (5% fenil metil siloxano) de 30 m X 250  $\mu\text{m}$  X 0.25  $\mu\text{m}$ . El gas acarreador fue helio con un flujo constante de 1 mL/min. Se inyectó 1  $\mu\text{l}$  de muestra en modo split 15:1 a 200°C. El horno inició a 50°C durante 3 min, posteriormente se incrementó 10°C/min hasta 300°C y permaneció a esa temperatura 2 min. La temperatura de la línea de transferencia fue 280°C. La ionización fue con 70 EV en modo "scan" (m/z 50-400) <sup>42</sup>. La identificación de los compuestos se realizó comparando los espectros de masas de cada compuesto con los registrados en la biblioteca espectral NIST 2002 y algunos corroborados con estándares comerciales.

## **Pruebas de susceptibilidad**

Una vez identificados los diversos compuestos químicos presentes en el extracto, se optó por obtener comercialmente los compuestos 1,3,5-trioxano (Sigma-Aldrich, 99% de pureza, Toluca, estado de México, México) y diclorometano (Golden Bell Reactivos, grado HPLC, Zapopan, Jalisco, México). La elección de estos compuestos se debió a los antecedentes de

toxicidad reportados en vertebrados e invertebrados acuáticos, además de su fácil obtención comercial.

Las pruebas de susceptibilidad se realizaron con los dos compuestos químicos, anteriormente citados, en larvas de 3er estadio tardío y 4to estadio temprano de *An. albimanus* de una colonia establecida en el CRISP, mantenidas a una temperatura de  $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y una humedad relativa de  $75\% \pm 5\%$  <sup>43</sup>. Las concentraciones utilizadas en los bioensayos fueron para el 1,3,5-trioxano 100, 200, 300, 400, 500, 1000, 10000 y 20000 ppm mientras que para el diclorometano 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400 y 1600 ppm, las anteriores concentraciones fueron seleccionadas en base a los reportes de toxicidad sobre modelos acuáticos ecotoxicológicos <sup>44, 45</sup>. Las pruebas se realizaron en vasos de plástico conteniendo 25 larvas con 200 mL de agua tridestilada y las concentraciones mencionadas de cada estándar comercial (4 repeticiones por cada tratamiento), un control conteniendo agua tridestilada y 25 larvas fue colocado por cada tratamiento. La mortalidad fue registrada a las 24 horas y se realizaron tres repeticiones del experimento <sup>46</sup>.

### **Análisis de resultados**

Los resultados obtenidos de las pruebas de susceptibilidad en porcentajes fueron analizados utilizando el programa Probit, para conocer la relación dosis-respuesta <sup>47</sup>. Se utilizó la versión 1.5 de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (US EPA, por sus siglas en inglés) dónde se estimaron las  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$ , así como sus límites fiduciales.

## Resultados

### Análisis de los extractos

El análisis cromatográfico del extracto inyectado de *S. campanulata* indica la presencia de ocho compuestos químicos: 2-aziridinietilamina; 2,5-dimetoxi-4-(metilsulfonyl) anfetamina; diclorometano; acetato manganoso; 2-hidroxiopropanamida; cis-biciclo[4.2.0]octa-3,7-dieno; 1,3,5-trioxano; 9,11-ácido octadecadinoico, 8-oxo-metilester (Tabla 1).

### Pruebas de susceptibilidad

Los resultados obtenidos en las pruebas de susceptibilidad con el 1,3,5-trioxano indican que este compuesto no presentó toxicidad sobre larvas de *An. albimanus* excepto en las concentraciones de 10000 y 20000 ppm en donde las mortalidades observadas fueron del 2 y 23%, respectivamente ( $CL_{50} = 29523$  y  $CL_{90} = 58015.188$  ppm). Para el diclorometano las mortalidades fueron del 38, 68, 72, 73, 86, 91, 95 y 96% a concentraciones de 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400 y 1600 ppm, respectivamente ( $CL_{50} = 285.357$   $CL_{90} = 1195.513$ ).

## Discusión

Se encontraron diversos compuestos químicos, en el extracto acuoso de *S. campanulata*, pertenecientes a diversos grupos funcionales entre ellos alcaloides, haloalcanos, ésteres, ciclobutarenos y peróxidos cíclicos. Para realizar las pruebas de susceptibilidad en larvas de *An. albimanus* se optó por el 1,3,5-trioxano y el diclorometano por sus antecedentes reportados sobre toxicidad para algunos organismos acuáticos vertebrados e invertebrados<sup>29, 45, 48 - 50</sup>, además de su fácil obtención comercial.

En el presente estudio se evaluó por primera vez la toxicidad de 1,3,5-trioxano en larvas de *An. albimanus*. Cabe resaltar que el grupo de compuestos químicos al que pertenece el 1,3,5-trioxano ha sido reportado por tener acción antimalárica, así también la US EPA cataloga a este compuesto como tóxico para algunos organismos acuáticos<sup>29, 48, 49</sup>, como *Cyprinodom variegatus* y *Daphnia magna*, respectivamente reportándose una  $CL_{50} = 16530$  ppm para *C. variegatus* y una  $CL_{50} = 15200$  ppm para *D. magna*<sup>44</sup>. Las pruebas realizadas en este estudio en larvas de *An. albimanus* reportaron una  $CL_{50} = 29523$  ppm. Con los resultados obtenidos está claro que el 1,3,5-trioxano no se podría emplear como una alternativa para el control larvario de *An. albimanus* debido a que las concentraciones necesarias de este compuesto para causar mortalidad en las larvas serían muy altas, por arriba de las reportadas para *D. magna*, un organismo utilizado como referencia para determinar efectos tóxicos sobre organismos no blanco debido a su susceptibilidad<sup>50</sup>.

Por otro lado, el diclorometano, es un compuesto químico no evaluado anteriormente como larvicida de culícidos pero si ha utilizado como solvente para la extracción de compuestos

químicos medianamente polares y ha sido reportado por tener un efecto atrayente para *Ae. albopictus*, vector secundario de dengue en varios países <sup>51</sup>. En el presente estudio se ha encontrado que el diclorometano causó mortalidades que van desde el 38 al 96% para larvas de *An. albimanus*, principal vector de paludismo en la zona costera del sur de Chiapas, México. En otros estudios se han realizado pruebas de toxicidad del diclorometano en *D. magna*, modelo ecotoxicológico para invertebrados acuáticos, reportándose una  $CL_{50}$ = 1682 ppm para este organismo <sup>45, 50</sup>. Mientras que estudios realizados en peces como *C. variegatus* y *Pimephales promelas*, han reportado una  $CL_{50}$ = 330 ppm para el primero, y no se ha observado efecto tóxico para el segundo en concentraciones de 142 ppm; ambos peces son modelos ecotoxicológicos para vertebrados acuáticos por la sensibilidad que presentan a las perturbaciones de sus medios debido a que consumen y controlan las poblaciones de insectos, microcrustáceos y algas, a la vez que permiten la recirculación, remoción y resuspensión del material orgánico dentro del ecosistema <sup>52-59</sup>. El diclorometano podría ser un buen candidato para el control de larvas de *An. albimanus* debido a que las  $CL_{50}$  reportadas son superiores a la encontrada como tóxica para este culícido en el presente estudio, 285.357 ppm. Sin embargo, el diclorometano presenta el inconveniente de que sus metabolitos primarios de eliminación son el monóxido y dióxido de carbono (CO y CO<sub>2</sub>, respectivamente) <sup>60</sup>, estos gases están implicados en el efecto invernadero, un fenómeno nocivo para el ambiente.

En estudios sobre extractos vegetales se ha reportado la identificación de diversos compuestos químicos como la azadiractina y el gimnemagenol, terpeno y saponina, respectivamente, los cuales han sido eficaces contra larvas de mosquitos culícidos <sup>39, 61</sup>. En el presente trabajo se reporta el baja toxicidad del 1,3,5-trioxano, un peróxido cíclico y la

alta mortalidad de larvas de *An. albimanus* con el diclorometano, un haloalcano. Las diferencias entre estas mortalidades puede deberse a los distintos grupos funcionales a los que pertenecen, si bien es el primer reporte de toxicidad del diclorometano sobre larvas de mosquitos este efecto puede estar asociado al halógeno presente en la molécula, sin embargo, otros estudios deben realizarse para confirmarlo.

Estudios realizados reportan que la absorción del diclorometano en animales resulta más fácil en soluciones acuosas <sup>60</sup> y dentro del organismo se metaboliza a CO en el citocromo p450 <sup>62 - 65</sup>. A la vez, el CO, al encontrarse al interior de un organismo dificulta la transferencia de oxígeno a los tejidos, desencadenando eventos letales que pueden conducir hasta su muerte <sup>66</sup>. En el presente estudio se han preparado soluciones acuosas con diclorometano y se observaron altas mortalidades en larvas de *An. albimanus* lo cual podría deberse a la falta de oxígeno provocado por dicho compuesto.

## **Conclusión**

En el presente estudio se han probado dos de los compuestos químicos identificados en el extracto acuoso de *S. campanulata*, 1,3,5-trioxano y diclorometano, observándose una mayor mortalidad en el último. Sin embargo, se deben de realizar más pruebas de susceptibilidad en las larvas de *An. albimanus* con los demás compuestos químicos identificados, para comprobar si es el diclorometano quien le brinda el efecto toxico al extracto acuoso de esta planta o es una combinación ocurrida con los otros compuestos identificados en el extracto.

## Referencias

- 1 Winzeler EA. Malaria research in the post-genomic era. *Nature* 2008; 455: 751-756.
- 2 World Health Organization. Global Malaria Programme, World Malaria Report. 2012; 23-29.
- 3 World Health Organization. Global Malaria Programme, World Malaria Report. 2010; 149-165.
- 4 Hernández-Ávila JE, Rodríguez MH, Betanzos-Reyes AF, Danis-Lozano R, Méndez-Galván JF, Velázquez-Monroy OJ, Tapia-Conyer R. Determinant factors for malaria transmission on the coast of Oaxaca state, the main residual transmission focus in Mexico. *Salud Pública Mex* 2006; 48: 405-417.
- 5 Betanzos-Reyes AF. Malaria in Mexico, Challenges and progress in the elimination of malaria in Mexico. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2011; 68(2):159-168.
- 6 Secretaría de Salud, Dirección General de Epidemiología, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Casos por entidad federativa de enfermedades transmitidas por vector, paludismo por *P. falciparum* hasta la semana epidemiológica 52, paludismo por *P. vivax* hasta la semana 51. México, 2006.
- 7 Secretaría de Salud, Dirección General de Epidemiología, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Casos por entidad federativa de enfermedades transmitidas por vector, paludismo por *P. falciparum* hasta la semana epidemiológica 52, paludismo por *P. vivax* hasta la semana 51. México, 2007.
- 8 Secretaría de Salud, Dirección General de Epidemiología, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Casos por entidad federativa de enfermedades

- transmitidas por vector, paludismo por *P. falciparum* hasta la semana epidemiológica 53, paludismo por *P. vivax* hasta la semana 52. México, 2008.
- 9 Secretaria de Salud, Dirección General de Epidemiología, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Casos por entidad federativa de enfermedades transmitidas por vector, paludismo por *P. falciparum* hasta la semana epidemiológica 52, paludismo por *P. vivax* hasta la semana 52. México, 2009.
  - 10 Secretaria de Salud, Dirección General de Epidemiología, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Casos por entidad federativa de enfermedades transmitidas por vector, paludismo por *P. falciparum* hasta la semana epidemiológica 52, paludismo por *P. vivax* hasta la semana 52. México, 2010.
  - 11 Secretaria de Salud, Dirección General de Epidemiología, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Casos por entidad federativa de enfermedades transmitidas por vector, paludismo por *P. falciparum* hasta la semana epidemiológica 52, paludismo por *P. vivax* hasta la semana 52. México, 2011.
  - 12 Secretaria de Salud, Dirección General de Epidemiología, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Casos por entidad federativa de enfermedades transmitidas por vector, paludismo por *P. falciparum* hasta la semana epidemiológica 52, paludismo por *P. vivax* hasta la semana 52. México, 2012.
  - 13 Secretaria de Salud, Dirección General de Epidemiología, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Casos por entidad federativa de enfermedades transmitidas por vector, paludismo por *P. falciparum* hasta la semana epidemiológica 32, paludismo por *P. vivax* hasta la semana 31. México, 2013.
  - 14 Rodríguez MH, Loyola EG. Situación epidemiológica actual y perspectivas de investigación entomológica del paludismo en México. Memorias del IV Simposio

- Nacional de Entomología Médica y Veterinaria; 1989 15–40; Oaxtepec, Morelos, México.
- 15 Romieu I, Hernández-Avila M, Lazcano-Ponce E, Weber JP, Dewailly E. Breast cancer, lactation history, and serum organochlorines. *Am J Epidemiol* 2000; 152: 363-70.
  - 16 Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. Convention Text, Geneva: United Nations Environment Programme; 2001 [Consultado Julio de 2013]. Disponible en: [http://www.pops.int/documents/convtext/convtext\\_en.pdf](http://www.pops.int/documents/convtext/convtext_en.pdf)
  - 17 Coetzee M, Van Wyk P, Booman M, Koekemoer LL, Hunt RH. Insecticide resistance in malaria vector mosquitoes in a gold mining town in Ghana and implications for malaria control. *Bull Soc Pathol Exot* 2006; 99: 400–403.
  - 18 Secretaría de Salud. Programa de acción: Enfermedades transmitidas por vector; 2001 [Consultado Julio de 2013]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/vectores.pdf>
  - 19 World Health Organization. Vector resistance to pesticides. Tech Rep series 1992; 818.
  - 20 Denholm I, Devine GJ, Williamson MS. Insecticide resistance on the move. *Science* 2002; 297: 2222-2223.
  - 21 Hemingway J, Penilla RP, Rodríguez AD, James BM, Edge W, Rogers H, Rodríguez MH. Resistance management strategies in malaria vector mosquito control, a large-scale field trial in southern Mexico. *Pestic Sci* 1997; 51: 375-382.
  - 22 Penilla RP, Rodríguez AD, Hemingway J, Torres JL, Arredondo-Jiménez JI, Rodríguez MH. Resistance management strategies in malaria vector mosquito

- control, baseline data for a large-scale field trial against *Anopheles albimanus* in Mexico. *Med Vet Entomol* 1998; 12: 217-233.
- 23 Penilla-Navarro R, Rodríguez-Ramírez A, López-Solís AD, Solís-Santoyo F. Resistencia a insecticidas en los mosquitos vectores de paludismo en Chiapas, Oaxaca y Tabasco, México. *Entomología Mexicana* 2005; 4: 768-772.
- 24 Sukumar KJ, Perich M, Boobar LR. Botanical derivatives in mosquito control. *Am Mosq Control Assoc* 1991; 7 (2): 210-237.
- 25 Taiz L and Zeiger E. Plant defenses: surface protectants and secondary metabolites. In: *Plant Physiology*. 2nd ed. Sinauer Associates, Inc Publishers. USA: 1998; 347-376.
- 26 Gershenzon J and Croteau R. Terpenoids. In: GA Rosenthal, DH Janzen (eds). *Herbivores: their Interactions with secondary plant metabolites*. USA: Academic Press, 1991: 165-209.
- 27 Elakovich SD. Terpenoids as model new agrochemicals in biologically active natural products. Potential use in agriculture. Edited by Cutter HG Cutter ACS. *Am Chem Soc, Symposium Series*; 1988 250-261; Washington DC, USA.
- 28 Robinson T. The evolutionary ecology of alkaloid. In: GA Rosenthal, DH Janzen (eds). *Herbivores: their Interactions with secondary plant metabolites*. USA: Academic Press, 1979: 413-448.
- 29 Benoit-Vical F, Robert A and Meunier B. Potentiation of artemisinin activity against chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* strains by using heme models, antimicrobial agents and chemotherapy, 1999; 43(10): 2555-2558.
- 30 Casida J. Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environ Health Perspect*, 1980; 34: 189-202.

- 31 Maragathavalli S, Brindha S, Kaviyarasi NS, Annadurai B and Gangwar SK. Mosquitoes larvicidal activity of leaf extract of neem (*Azadirachta indica*). International Journal of advanced biological research, 2012; 2(1): 138-142
- 32 Schmutterer H. Properties of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. Ann Rev Entomol, 1990; 35: 271-297.
- 33 Sharma VP and Dhiman RC. Neem oil as a sand fly (Diptera: Psychodidae) repellent. J Am Mosq Control Assoc, 1993; 9: 364-366.
- 34 Su T and Mulla MS. Antifeedancy of neem products containing Azadirachtin against *Culex tarsalis* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). J Vector Ecol, 1998; 23: 114-122.
- 35 Schmutterer H. The neem tree (*Azadirachta indica*) and other Meliceous plants. In source of unique natural products for integrated pest management, medicine, industry and other porposes. 1st edition, Mumbai: Neem Foundation, 2002.
- 36 Isman MB. Botanical insecticides, deterrent and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Ann Rev Entomic, 2006; 51: 45-66.
- 37 Locantoni L, Guisti F, Cristofaro M, Pasqualini L, Esposito F, Lupetti P, et al. Effect of neem extract on blood feeding oviposition and oocyte ultra structure in *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). Tissue Cell 2006; 38: 361-371.
- 38 Virendra KD, Akhilesh CP, Kamaraju R, Ashish G, Trilochan S and Aditya PD. Larvicidal activity of neem oil (*Azadirachta indica*) formulation against mosquitoes. Malaria Journal 2009; 8: 124
- 39 Maharaj R, Maharaj V, Crouch NR, Bhagwandin N, Folb PI, Pillay P, et al. Screening of selected ethnomedicinal plants from South Africa for larvicidal activity against the mosquito *Anopheles arabiensis*. Malaria Journal 2012; 11: 320.

- 40 Consoli RAGB, Mendés NM, Pereira JP. Influence of several plant extracts on the oviposition behavior of *Aedes fluviatilis* Lutz (Diptera: Culicidae) in the laboratory. *Men Inst Oswaldo Cruz* 1989; 84: 47–51
- 41 Torres-Estrada JL, Velázquez González JC, Ríos Delgado SM, Vázquez-Martínez MG, Penilla-Navarro RP, Rodríguez AD. Toxicity of *Spathodea campanulata* P Beauvois (Scrophulariales: Bignoniaceae) aqueous extracts against immature stages of *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae) under laboratory conditions. *Research and Report in Tropical Medicine* 2010; 1: 83-87
- 42 Meijerink J, Braks MAH, Brack AA, Adam W, Dekker T, Posthumus MA, et al. Identification of olfactory stimulants for *Anopheles gambiae* from human sweat samples. *J Chem Ecol* 2000; 26: 1367-1382.
- 43 Chang AST, Rodriguez MH, Torres JA, et al. Susceptibility of three laboratory strains of *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae) to coindigenous *Plasmodium vivax* in southern Mexico. *J Med Entomol* 1994; 31: 400-403.
- 44 Walton JR and Davis EM. Company Inc. On toxicology and fate of selected industrial chemicals in aquatic ecosystems. University of Texas at Houston 1980.
- 45 Kuhn R, Pattard M, Pernak KD and Winter A. Results of the Harmful effects of selected water pollutants (anilines, phenols, aliphatic compounds) to *Daphnia magna*. *Water Research* 1989; 4 (23): 495-499.
- 46 World Health Organization. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitoes to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides establishment of the base-line. 1981.
- 47 Finney DJ. Probit Analysis. Cambridge, England: Cambridge University Press, 1952.

- 48 Jefford CW. New developments in synthetic peroxidic drugs as artemisinin mimics. *Drug Discovery Today* 2007; 12: 487-495.
- 49 United States Environmental Protection Agency. 1,3,5-trioxane. HPV Challenge Program Submission 2000.
- 50 Guideline for the testing of chemicals. *Chironomus sp.*, acute immobilisation test. Organization for Economic Co-operation and Development; 2010 [Consultado Julio de 2013]. Disponible en: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/46507550.pdf>
- 51 Hao H, Sun J, Dai J. Preliminary analysis of several attractants and spatial repellents for the mosquito, *Aedes albopictus* using an olfactometer. *Journal of Insect Science* 2012; 12: 76.
- 52 Heitmueller PT, Hollister TA and Parrish PR. Acute toxicity of 54 industrial chemicals to sheepshead minnows (*Cyprinodom variegatus*). *Bull Environ Contaminant Toxicol* 1981; 27: 596-604.
- 53 LeBlanc G. Acute toxicity of priority pollutants to water flea (*Daphnia magna*). *Bull Environ Contaminant Toxicol* 1984; 24 (5): 684-691.
- 54 United States Environmental Protection Agency. Halomethanes, ambient water quality criteria. 1978; 296 797.
- 55 Dill DC, Murphy PG and Mayes MA. Toxicity of methylene chloride to life stages of the fathead minnow. *Bull Environ Contaminant Toxicol* 1987; 39 (5): 869-876
- 56 McMillan V and Smith R. Agonistic and reproductive behaviour of the fathead minnow (*Pimephales promelas* Rafinesque). *Z Tierpsychol* 1974; 34: 25-58.
- 57 Page LM and Brooks M. *Freshwater Fishes*. New York, NY: Houghton Mifflin; 1991.

- 58 Smith KJ and Able KW. Dissolved oxygen dynamics in salt marsh pools and its potential impacts on fish assemblages. *Mar Ecol Progr Ser* 2003; 258: 223–232.
- 59 Iannacone J, Alvariño L, Gutiérrez AR. Cinco ensayos ecotoxicológicos para evaluar metales pesados en agua dulce. *Boletín de la sociedad química del Perú* 1999; 65: 30-45.
- 60 Angelo MJ, Pritchard AB, Hawkins R, Waller AR, Roberts A. The pharmacokinetics of dichloromethane. II. Disposition in Fischer 344 rats following intravenous and oral administration. *Food Chem Toxicol* 1986; 24: 975-980.
- 61 Khanna VG, Kannabiran K, Rajakumar G, Rahuman AA, Santhoshkumar T. Biolarvicidal compound gymnemagenol isolated from leaf extract of miracle fruit plant, *Gymnema sylvestre* (Retz) Schult against malaria and filariasis vectors. *Parasitol Res* 2011; 109 (5): 1373-86.
- 62 Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for methylene chloride. Atlanta, GA; 2000 [Consultado Julio de 2013]. Disponible en: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html>
- 63 Gargas ML, Clewell HJ, Andersen ME. Metabolism of inhaled dihalomethanes in vivo: Differentiation of kinetic constants for two independent pathways. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986; 82: 211-223.
- 64 Guengerich, FP. Mechanisms of mutagenicity of DNA adducts derived from alkyl and vinyl halides. *JTTHE* 1997; 43: 69-82.
- 65 Hashmi M, Dechert S, Dekant W, Ander MW. Bioactivation of [13C]dichloromethane in mouse, rat, and human liver cytosol: [13C] nuclear magnetic resonance spectroscopic studies. *Chem Res Toxicol* 1994; 7: 291-296.

66 Maitra S, Dombroski SM, Waters LC and Ganguly R. Three second chromosome-linked clustered Cyp6 genes show differential constitutive and barbital-induced expression in DDT-resistant and susceptible strains of *Drosophila melanogaster*. Gene 1996; 180: 165-71.

## Anexo

### Tablas

**Tabla 1:** Compuestos químicos identificados en el extracto acuoso de *S. campanulata*.

| # pico | Tiempo de retención | Abundancia | Nombre                                       | Probabilidad | Grupo químico    |
|--------|---------------------|------------|--|--------------|------------------|
| 1      | 1.2 min             | 25000      | 2-aziridinietilamina                         | 80.6 %       | Alcaloide        |
| 2      | 1.4 min             | 60000      | 2,5-Dimetoxi-4-(metilsulfonil) anfetamina    | 39.1%        | Alcaloide        |
| 3      | 1.6 min             | 30000      | Diclorometano                                | 97.6%        | Haloalcano       |
| 4      | 1.8 min             | 40000      | Acetato manganoso                            | 54.9%        | Éster            |
| 5      | 2.0 min             | 10000      | 2-hidroxiopropanamida                        | 80.7%        | Alcaloide        |
| 6      | 3.2 min             | 10000      | Cis-biciclo[4.2.0]octa-3,7-dieno             | 18.7%        | Ciclobutareno    |
| 7      | 4.9 min             | 30000      | 1,3,5-trioxano                               | 79.0%        | Peróxido cíclico |
| 8      | 11.7 min            | 5000       | 9,11-ácido octadecadinoico, 8-oxo-metilester | 32.2%        | Éster            |