

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO FITOQUÍMICO DE *Solanum verbascifolium*.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA

NOE DE LA ROSA AVILA

México, D.F.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente Prof. Manuel Jiménez Estrada

Vocal Prof. José Manuel Méndez Stivalet

Secretario Prof. Baldomero Esquivel Rodríguez

1er. Suplente Prof. Ana Adela Sánchez Mendoza

2°. Suplente Prof. Araceli Patricia Peña Álvarez

Sitio en donde se desarrolló el tema: Laboratorio 2-9 del Instituto de Química de la
UNAM

Nombre y firma del asesor del tema

Nombre y firma del sustentante

Dedicatorias

Esta tesis la dedico a mis padres y a mi hermana. Su apoyo y comprensión han sido fundamentales para la culminación de esta meta.

Agradecimientos

Agradezco a la UNAM a la Facultad de Química y al Instituto de Química pertenecientes a la misma, ya que son pieza fundamental en el desarrollo de nuestro país.

Durante el desarrollo de este trabajo hubo personas que me ayudaron sin dudar y a las cuales les estoy muy agradecido por ello: Maestra Ana Adela Sánchez Mendoza, no encuentro palabras para expresar mi agradecimiento, debido no sólo a lo que he aprendido con usted, sino al tiempo que ha dedicado en mi trabajo y desde luego a su amistad; al M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez le agradezco el haberme abierto las puertas de su laboratorio y sobre todo, el siempre contar con una palabra firme y profesional; a la M. en C. Clarisa Villegas Gómez quién aparte del apoyo incondicional que siempre me ofreció es una gran amiga; al Q.F.B. Youssef Simón Arceo siempre alegre y ocurrente, pero sobre todo una gran persona; al Q. Rodolfo Álvarez Manso de quien se puede aprender algo nuevo a diario y desde luego, aprendí que “la química es realmente divertida”; al Biol. Armando Rodríguez, una gran persona y sobre todo un gran amigo; dentro de la Facultad de Química el Instituto de Química y en general en toda la Universidad, tuve la dicha de crear muy buenas amistades, el no mencionar nombres no quiere decir que no sean importantes para mí, pero no me gustaría dejar a ninguno fuera por olvidar alguno, sin embargo sepan que les estoy profundamente agradecido por su amistad.

Índice

1	Introducción	1
2	Antecedentes	3
2.1	Familia solanaceae	3
2.2	Química de solanáceas	3
2.3	Solanáceas en México	5
2.4	<i>Solanum verbascifolium</i>	5
2.4.1	Usos de <i>Solanum verbascifolium</i>	6
2.4.2	Química de <i>Solanum verbascifolium</i>	9
2.4.3	Estudios de ácidos grasos y compuestos afines	13
2.5	Estudios recientes en <i>Solanum verbascifolium</i>	17
2.6	Plagas en el sector pecuario	17
2.6.1	Control de <i>Boophilus microplus</i>	19
2.6.2	Control en México	20
2.6.3	Importancia del maíz	21
2.6.4	<i>Spodoptera frugiperda</i>	22
3	Objetivos	25
4	Resultados y discusión	26
4.1	Resultados con <i>Boophilus microplus</i> del extracto íntegro y de la fracción poco polar del extracto metanólico	27
4.2	Resultados de pruebas con <i>Artemia sp</i> del extracto íntegro y de la fracción poco polar del extracto metanólico	28
4.3	Resultados de pruebas con <i>Spodoptera frugiperda</i> , de la fracción poco polar del extracto metanólico	28

4.4 Elucidación estructural de las moléculas con posible actividad biológica	30
4.4.1 Reacción de Metilación	30
5 Conclusiones	33
6 Parte experimental	34
6.1 Equipo y Material utilizado	34
6.2 Extracción y aislamiento	35
6.2.1 Recolección	35
6.2.2 Extracción	35
6.2.3 Elección de extractos con actividad	36
6.2.4 Separación	37
6.2.5 Reacción de metilación	38
6.3 Pruebas Biológicas	42
6.3.1 Pruebas con <i>Boophilus microplus</i>	42
6.3.2 Pruebas con <i>Artemia sp</i>	43
6.3.3 Pruebas con <i>Spodoptera frugiperda</i>	43
7 Bibliografía	46
8 Espectros	53

1 Introducción

La abundancia vegetal de México cubre casi en su totalidad los aproximadamente dos millones de Km² que comprenden su extensión territorial. Esto se debe indudablemente a la basta diversidad de biomas que en él se pueden encontrar. Así, se presentan desde los desiertos en los cuales el desarrollo de vida es casi nulo, hasta las zonas selváticas, cuya espesa vegetación es casi imposible de penetrar.

La ubicación geográfica de México es un factor importante que ha permitido el desarrollo de tales características. Debido a que se localiza en el trópico de cáncer, presentando la mitad de su territorio en la zona templada y la mitad sur en la intertropical [38], permite que todo el año el sol bañe su territorio (a diferencia de otras regiones del planeta), lo que permite que el promedio de las temperaturas este por arriba de los 18° C, que varía según la geografía de cada región [56] , siendo en este aspecto, un factor importante la precipitación pluvial, la cual aunque contrastante en diversos puntos ha permitido el desarrollo vegetal. Aunado a esto, sus litorales se encuentran bordeados por los océanos Atlántico y Pacífico al este y oeste respectivamente, una altitud variante en cada región y un gran número de cadenas montañosas, nos dan como resultado las condiciones ideales para que las especies vegetales se diversifiquen y dispersen por sobre todo el territorio.

Así como las plantas se extendieron sobre todo el territorio, también lo hicieron los seres humanos, los cuales se beneficiaron por las condiciones antes mencionadas y por la vegetación que yacía en ella, siendo este último un factor importante que permitió que las culturas del México antiguo florecieran, desarrollaran y contrarrestaran los efectos debidos a las variantes climáticas y geográficas, proporcionando, alimento, vestido, casa y beneficios a la salud que no sólo se limita a los humanos sino también a los animales que le han sido de compañía o de beneficio agrícola.

La riqueza florística se benefició y enriqueció con las plantas traídas al continente americano por los conquistadores españoles y otros viajeros, lo que ha contribuido con la medicina tradicional.

En la actualidad se sabe que en México se cuenta con alrededor de 30.000 especies de plantas de las cuales el 10% presentan usos medicinales conocidos [42].

A varias de las especies de plantas que se han reportado en la literatura se les han realizado estudios químicos que han permitido conocer la forma de integrarse y relacionarse con su entorno ecológico. Así se habla de una posible comunicación química entre éstas para combatir y protegerse del ataque de plagas. Otro punto importante de investigación y que ha sido tal vez el más estudiado, es como actúan las plantas en el ser humano para curar las enfermedades y cuáles son las moléculas involucradas en dicho accionar. Desentrañar la maraña de este último punto representa un reto para el sector que investiga y desarrolla las posibles formas de acción de las moléculas que presentan actividad farmacológica en las plantas.

2 Antecedentes

2.1 Familia Solanaceae

La familia Solanaceae se localiza geográficamente de manera preponderante en el trópico y se le encuentra también en las regiones templadas. Hay alrededor de 40 géneros y más de 2000 especies, de las que 1700 se encuentran en un solo género, *Solanum*. A esta familia pertenecen los tomates, las papas, el tabaco, la berenjena, los pimientos, petunias y la salpiglosis. Aunque la familia tiene una amplia distribución, la mayoría de las formas cultivadas se semidomesticaron en el hemisferio occidental. En esta familia se encuentran incluidas muchas plantas tóxicas y narcóticas, como la belladona y la atropina. Incluso plantas tan comunes como el tomate se consideraron durante mucho tiempo como venenosas, como lo indica el nombre científico *Lycopersicon*, que significa “durazno de los lobos”. Hay muchas hierbas erectas y trepadoras en la familia, así como arbustos y pequeños árboles [17]

2.2 Química de solanáceas

Químicamente, las solanáceas han sido ampliamente estudiadas, principalmente durante la década de los 60 [3, 4, 5, 6, 7, 8]. Durante este tiempo se descubrieron varias moléculas novedosas como esteroides, saponinas, glicósidos y

alcaloides en raíces, tallos y hojas. De todas las moléculas antes mencionadas, son los alcaloides a quienes se ha dado una importancia especial ya que éstos han mostrado presentar la mayor actividad en todos los casos. Se destacan la solanidina, la solasodina (es precursor de acetato de 16-dehidropregnenolona que es una molécula anti-fertilidad y anti-inflamatorio [13]), solasodieno, diosgenina, solaverinas, solasonina, solaverol, solafloridina, tomatidina, solaverbascina y β -solamarina, sólo por mencionar los alcaloides más importantes.

Los glicoalcaloides esteroidales son de importancia fundamental en el género *Solanum* y presentan un gran interés desde el punto de vista humano y ecológico. En especies silvestres son un componente químico especial para las plantas ya que son utilizados por éstas como medios de defensa contra herbívoros y microorganismos patógenos [18]. La actividad biológica de los glicoalcaloides del género *Solanum* deriva principalmente de dos propiedades, (a) de la habilidad que presentan para complejarse con los 3β -hidroxiesteroles y romper la integridad funcional de la membrana, y (b) la inhibición de la acetilcolinesterasa (enzima importante en la transmisión de impulsos nerviosos) y butirilcolinesterasa (enzima que presenta cierta función en contra de toxinas específicas) [18]. Los glicoalcaloides han sido aislados de más de 350 especies de solanáceas. Otro componente químico importante antes mencionado son las saponinas las cuales se sugiere presentan actividad contra artrópodos debido a que pueden afectar las cutículas cerosas de éstos [15].

2.3 Solanáceas en México

De las especies de solanáceas que encontramos en México tenemos a *Solanum nigrum*, *Solanum paniculatum*, *Solanum marginatum*, *Solanum americanum*, *Solanum tuberosum* y *Solanum verbascifolium*, entre otras. Todas ellas con múltiples propiedades y acciones terapéuticas, pero aquí nos centraremos en el estudio de *Solanum verbascifolium*, ya que ha presentado especial interés por parte de investigadores en México debido a presentar ciertas propiedades insecticidas que no han sido antes descritas en la literatura.

2.4 *Solanum verbascifolium*

Solanum verbascifolium fue descrita por Linneo en 1753 en su “Species Plantarum” donde reconoció otros dos grupos de solanáceas [16] y desde entonces se le han modificado los nombres científicos. Se le conoció como *Solanum mauritianum* Scopoli 1788, *Solanum auriculatum* Aiton 1789, *Solanum tabaccifolium* Vell 1829, *Solanum verbascifolium* L. var. *auriculatum* Kuntze 1891, *Solanum carterianum* Rock 1913, *Solanum verbascifolium* L. forma *typicum* Hassl. 1918, *Solanum verbascifolium* L. ssp. *auriculatum* (Aiton) Hassl. 1918, *Solanum erianthum* D. Don [19].

Es un arbusto o arbolillo de hasta 10 m, con las ramas estrellado-pubescentes; hojas ovadas o lanceoladas hasta de 25cm, agudas, afelpado tomentosas en ambas caras, flores monopétalas, blancas de 7-9mm; fruto globoso, amarillento, de 6-12mm. En México se distribuye en casi todo el país en lugares

cálidos principalmente [1], desde el nivel del mar hasta los 1865m. Se le asocia con vegetación perturbada de bosques tropicales y templados [21]. Los nombres con los que se le conoce varían de una zona a otra, así en Veracruz y Chiapas se le conoce como Berenjena; en Zihuatanejo, Guerrero como Berenjenilla; friegaplato en Veracruz; Hoja de manteca en Oaxaca; Guardalobo en Nuevo León; Hierba de San Pedro en San Luis Potosí; Huahtauui en Chihuahua; lengua de vaca en la región de Guadalcázar, S.L.P; Malabar en Monterrey , N.L.; Palo de Chachalaca en Chililico, Huejutla Hidalgo; Sacamanteca en Sinaloa; Sosa en Tuxtla Gutiérrez Chiapas entre otros[1]. En otros países también es conocida y su distribución también se ubica en zonas cálidas. Así, se le encuentra desde México y el sur de EUA (en Hawai se le conoce como “pua nana honua”) hasta las regiones del caribe y el sur de América (en Uruguay se le conoce como tabaquillo, en Argentina y Bolivia como fumo bravo cuyo significado es de origen portugués y significa tabaco cimarrón[14]), así como en Asia, Nueva Zelanda (dónde se le conoce como hierba de la manopla, planta de queroseno, hierba del tabaco) y Africa (se le conoce como “luisboom”) [19].

2.4.1 Usos de *Solanum verbascifolium*

Los usos varían de una región a otra. En algunos países se utiliza como planta de ornato, para proteger la flora nativa debido a su espeso follaje y se ha visto que existen especies de aves que se alimentan de sus frutos, los pelillos que presentan las hojas son irritantes a la piel [19].

Las propiedades farmacológicas de las partes aéreas (hojas y tallos principalmente aunque existen también algunos reportes de flores y frutos) se

encuentran en tratamientos de hemorragia, edema, gota, carbunco, dermatitis, analgésica, antiúlceras, antiinflamatoria, cicatrizante descongestivo y diurético [9], en el este de Asia se usa particularmente en enfermedades de la piel y como abortivo [10].

En México, a *Solanum verbascifolium* le han sido registradas sus cualidades curativas desde el siglo XVI, el Código Florentino se refiere a ella mencionando que: “puesta la hierba molida, sirve para los humores de los pies y para la hinchazón de las ingles”. En el mismo siglo, Francisco Hernández la reporta como antipirética, antiumoral y astringente. Para el siglo XX, Maximino Martínez repite la información proporcionada por Hernández y agrega su uso para las cefalalgias. Popularmente en Chiapas, Hidalgo, Puebla y Veracruz, se le reconocen propiedades analgésicas, desinflamatorias y desinfectantes, siendo su empleo más frecuente en diversos padecimientos y lesiones de la piel. En general se utiliza el cocimiento de las hojas.

Como analgésico, se ingiere cuando se sufre de cólicos, y especialmente cólico hepático; o se dan baños para el dolor de vientre en mujeres, que generalmente se asocia al aparato reproductor o urinario; las vaporizaciones se utilizan para el dolor de huesos aplicándose éstas de forma local.

Como antiinflamatorio, se bebe cuando hay inflamación de hígado o se esparce sobre la superficie afectada.

Como desinfectante, además de las hojas se ocupa la planta completa o el fruto, en fomentos o baños, para lavar las heridas, granos, moretones y llagas; para

el “chincual” se hierven las hojas junto con las de guácima (*Guazuma ulmifolia*) y al enfriarse se lavan con ello las nalguitas, hombros y plantas de los pies del niño. Para la curación de heridas o llagas se calientan las hojas en cenizas y se dejan toda la noche envueltas con una tela.

Contra la caída del cabello, se frota el fruto contra el cuero cabelludo y puede utilizarse como sustituto del jabón.

En la sierra totonaca la gente nativa ocupa esta planta para aliviar la enfermedad del “mal de aire”. Otros usos medicinales referidos para esta planta son: contra el asma, la tos, la recaída de señoras, evitar reumas, para las torceduras, los riñones, la impotencia y el “susto”. Se hace mención de su uso como afrodisíaco.

En Sinaloa, para el tratamiento de la diabetes se usan las ramas y hojas en cocimiento, de este se administran 3 tazas a diario durante unos 8 a 9 meses. Mientras se lleva acabo el tratamiento no se debe tomar café, comer carnes frescas, sólo seca, tomar agua de arroz, comer cebada y un bajo consumo de sal. Se utiliza también para regular el apetito y quitar el estreñimiento [21].

En otras regiones las propiedades que se le atribuyen son el ayudar a secar granos que se hinchan, dan picazón y a veces se llenan de pus, producidos por la picadura de moscas o algún otro insecto. En este caso, el tallo y las hojas se dejan secar y se hierven, se dan baños con esta agua y se ponen las hojas en los granos, las hojas calientes se aplican sobre la frente para calmar el dolor de cabeza, sus

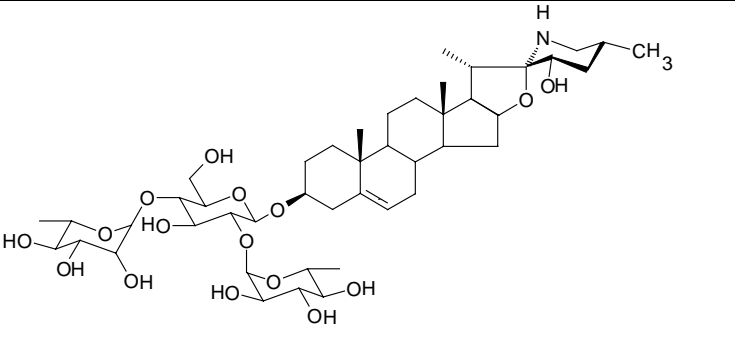
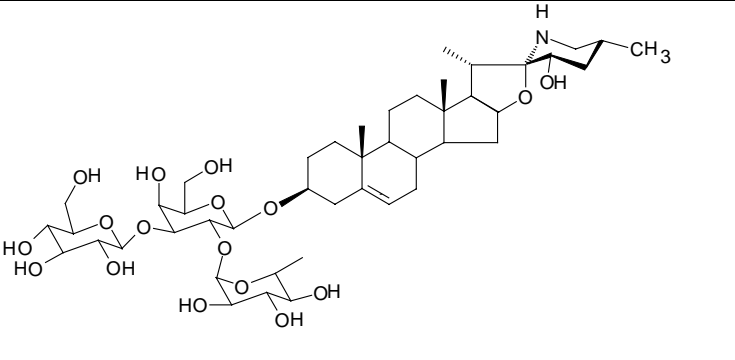
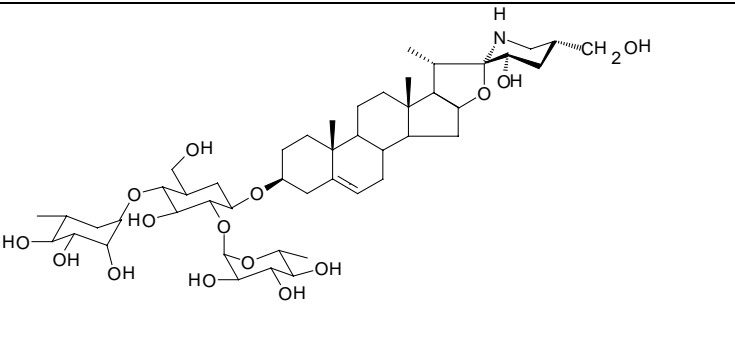
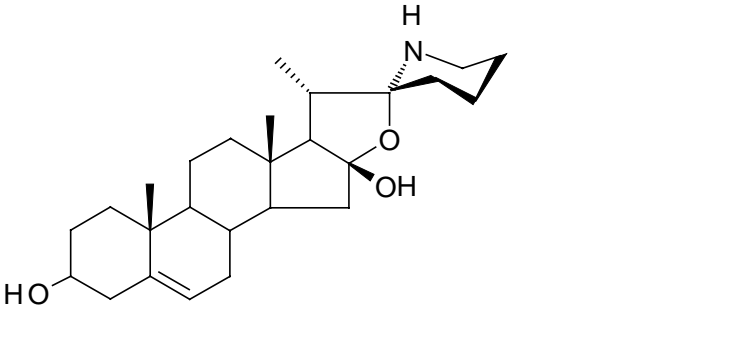
hojas se han usado en algunas partes de México para lavar platos (de aquí que adquiriera en algunos lugares el nombre de friegaplatos) [2].

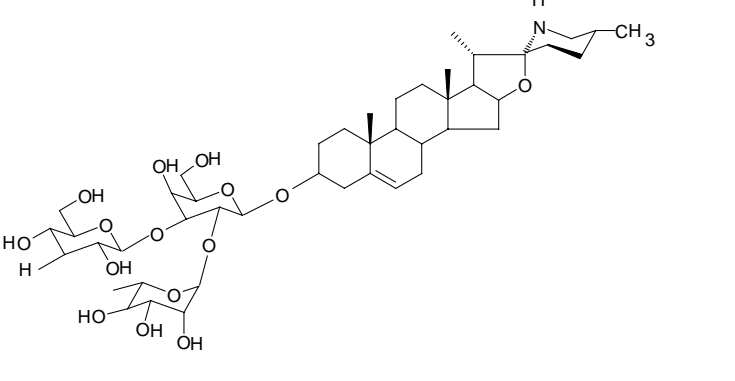
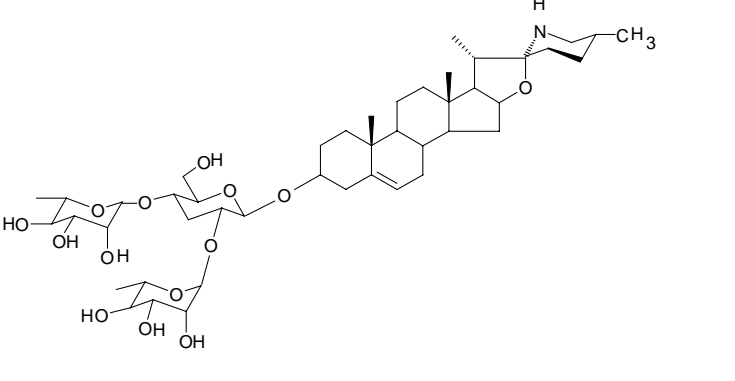
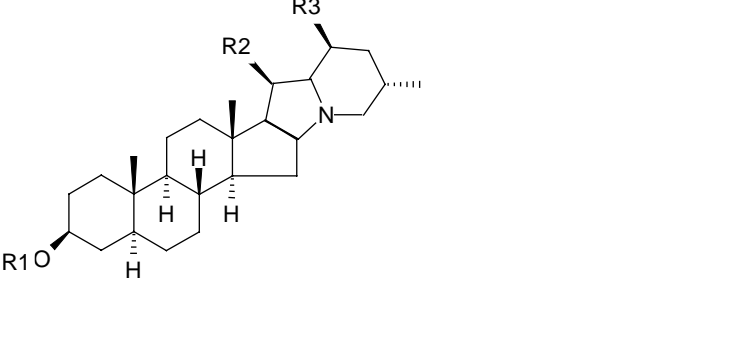
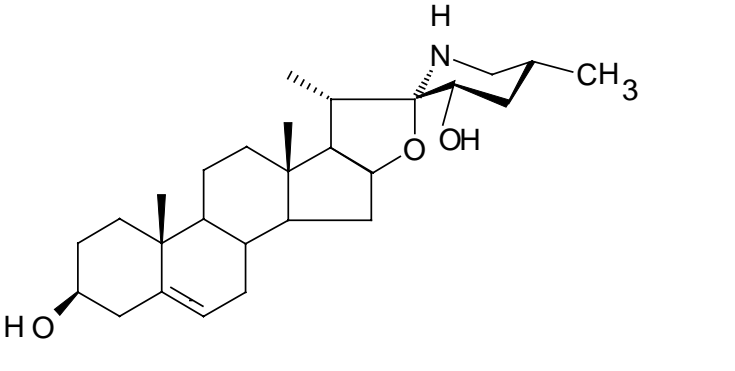
2.4.2 Química de *Solanum verbascifolium*

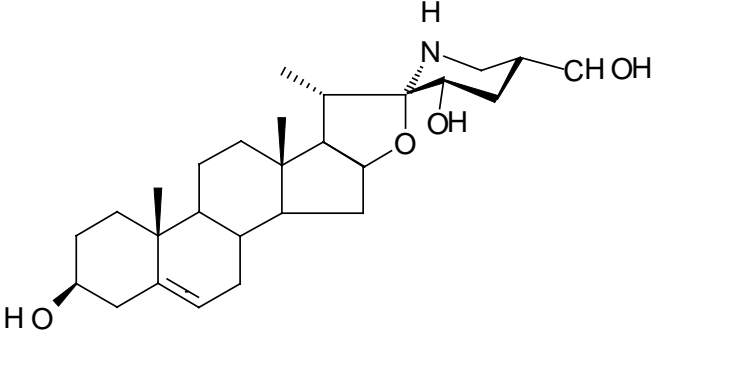
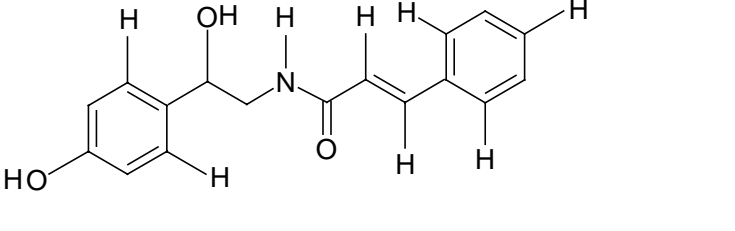
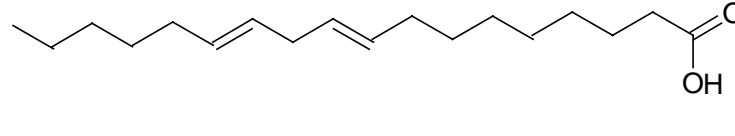
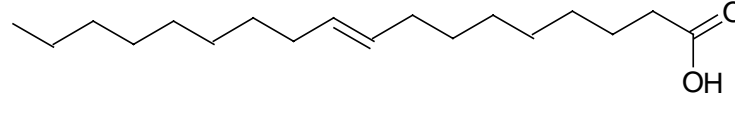
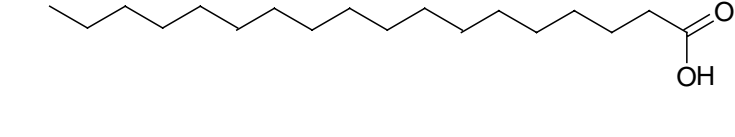
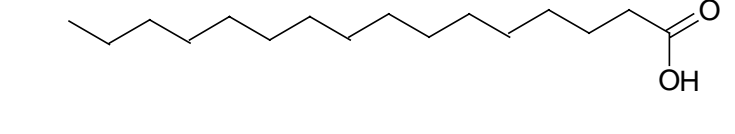
El perfil químico de *Solanum verbascifolium* es similar al de cualquier otra solanácea como las que ya se han mencionado anteriormente, pero aquí destacan específicamente los glicósidos esteroidales nombrados como solaverinas I, II y III [20], los alcaloides solaverbascina – A, β -solamargina, así como trazas de solanina[10], α -solasonina que es el alcaloide mayoritario [12], sapogenoles conocidos como solaveroles A y B [20], más recientemente se logró aislar una cinamida y ácido vanílico [9] todos estos compuestos aislados de raíces y partes aéreas (tallos y hojas específicamente) pero también se han estudiado sus semillas en las cuales se han encontrado gran cantidad de ácidos grasos como lo son el linoléico, oléico, palmítico y esteárico, todos ellos de gran importancia en la industria química [11].

Tabla 1

Compuestos aislados de *Solanum verbascifolium* .

Compuesto	Estructura	Referencia
Solaverina I		20
Solaverina II		20
Solaverina III		20
solaverbascina		22

Solasonina		23
Solamargina		23
Solanina	 <p data-bbox="479 1344 1209 1480"> R1= O-Deoxi α-Ramnopiranosil (1-2)-O-(β-D-Glucopyranosil-(1-3)-galactopiranosido) </p>	35
Solaverol-A		20

Solaverol -B		20
Cinnamida		9
Ácido linoléico		11
Ácido oléico		11
Ácido esteárico		11
Ácido palmítico		11

2.4.3 Estudios de ácidos grasos y compuestos afines

Comúnmente, estos ácidos son utilizados, en la industria para la fabricación de jabones, tensoactivos, cosméticos, productos farmacéuticos, productos textiles (suavizantes y tensoactivos), pinturas, barnices, emulgentes. También el ácido esteárico se utiliza en la elaboración de caucho, velas, ceras, plásticos (resinas alquidálicas), papelería y lubricantes [54].

Los ácidos grasos esteárico y palmítico se encuentran en la mayoría de las grasas y aceites de los alimentos formando parte de triacilglicéridos [41], también es común encontrarlos formando parte de diversos componentes de plantas con funciones diversas, ya sea, formando parte de las ceras en las plantas, presentando una función de barrera entre la planta y su medio ambiente, evitando la pérdida excesiva de agua (sin bloquear la transpiración), así como no permitiendo que ésta penetre y elimine minerales, y manteniendo los organismos patógenos fuera de ella. Entre los compuestos que encontramos, tenemos ácidos grasos de 16:0 y 18:1, así como alcanos de 25 a 35 átomos de carbono [45].

La **tabla 2** muestra la presencia de ácido esteárico y palmítico en órganos de diferentes plantas, así como los efectos que presentaron los extractos de donde se obtuvieron dichas moléculas.

Tabla 2

Planta	Parte de la Planta que se estudio	Ácido aislado	Efecto del extracto	Ref
Algarrobo <i>Prosopis juliflora</i>	Vaina	Palmítico Esteárico	Sin actividad	52
Borraja <i>Borago officinalis L</i>	Semilla	Palmítico Esteárico	El aceite de semillas funciona en humanos contra la dermatitis y en ratas funciona como antihipertensiva	52
Mercadela <i>Calendula officinalis L</i>	Flores	Palmítico Esteárico	El estudio de las fracciones menos polares ha presentado los siguientes efectos: cloroformo, éter etílico éter de petróleo: presentaron efecto estrogénico, el extracto de acetato de etilo presento efecto tóxico general	52

Toloache <i>Datura stramonium L.</i>	semillas	Palmítico	Sin actividad	52
Zapote blanco <i>Casimiroa edulis</i>	semillas	Palmítico Esteárico	Los extractos de cloroformo, éter etílico y acetato de etilo presentaron actividad emética en perros	52
Cardo Mariano <i>Silybum marianum (L.)</i>	semillas	Esteárico	Contra el envejecimiento humano	53
Cedro <i>Cedrela odorata L.</i>	corteza	Esteárico	El extracto metanólico presenta efecto Moluscida, el extracto etanólico presenta actividad hipotensora en perro y vasodilatadora en rata	53
Huizache <i>Acacia farnesiana</i>	flores	Palmítico	Sin actividad	53
Retama <i>Spartium junceum L.</i>	semillas	Palmítico	Sin actividad	53
Sosa <i>Solanum marginatum L.</i>	semillas	palmítico	Sin actividad	53
Quitamanteca <i>Solanum verbasifolium</i>	semillas	Palmítico Esteárico	Sin actividad	11

Como parte de estudios en las interacciones planta /insecto, se han reportado estudios en ésteres extraídos de la planta completa del sorgo, presentándose éstos como compuestos aleloquímicos, ya que modifican los hábitos de alimentación de *Locusta migratoria migratooides* [40]. En estudios más recientes, la esterificación de los ácidos ursólico y oleanólico con cadenas alifáticas de C₁₂ – C₁₈ mostraron incrementar la actividad antialimentaria de estos ácidos cuando fueron ensayados en *Spodoptera litura* F, específicamente, cuando la esterificación correspondía a cadenas de los ácidos palmítico y esteárico (C₁₆ y C₁₈ respectivamente), mostraron realzar aún más dicha cualidad de los compuestos antes mencionados [39]. Otros compuestos de estructura semejante han presentado otros tipos de actividad como efectos antinutricionales, algunos ácidos grasos ciclopropenoides presentes en aceite de algodón, son los causantes de anomalías en el proceso reproductivo y presentar alteraciones en el metabolismo de lípidos en mamíferos [55].

Otros estudios de actividad antialimentaria, se presenta en las heces del “gorgojo del pino” el cual ataca los bosques de coníferas en Europa y Asia, las hembras colocan sus huevos en una cavidad del pino y es tapada con sus propias heces las cuales funcionan para evitar predación de su misma especie. Después de someterlos a un análisis de cromatografía de gases, los ácidos grasos palmítico y esteárico se encontraron dentro de los extractos con mayor actividad [57].

2.5 Estudios recientes de *Solanum verbascifolium*

Se cuenta con información acerca de los efectos farmacológicos que se han realizado en humanos sobre ésta planta como hemos mencionado anteriormente. Sin embargo el estudio y aplicación en especies animales de interés agrícola y comercial no se hace presente en la literatura y tan solo se limita a estudios en animales de laboratorio (ratas y ratones específicamente) cuyos resultados se extrapolan posteriormente a seres humanos. En ensayos biológicos in vitro realizados en los laboratorios de INIFAP-PAVET (en Progreso, estado de Morelos) con hembras adultas de la garrapata *Boophilus microplus* empleando extractos acuosos y metanólicos de follaje y tallo secos de *Solanum verbascifolium*, se han registrado mortalidades superiores al 90% después de 48 a 72 horas, después de exponer los organismos a los extractos [15].

2.6 Plagas en el sector pecuario.

Las plagas que afectan al ganado y cultivos han causado estragos desde que la agricultura y la ganadería se desarrollaron. Existen diversos tipos de plagas que afectan el sector pecuario a nivel mundial y nacional. Entre otras, tenemos a la cochinilla algodonosa la cual ataca a la planta del plátano, la chinche *Lygus lineolaris* la cual ataca a la planta de amaranto, al gusano cebra (*Olycella nephelapsa*) y al picudo barrenador (*Cactophagus spinola*) los cuales atacan a los cultivos de nopal [58].

En cuanto a las plagas en el sector ganadero podemos mencionar algunas como: la mosca de los establos (*Stomoxys calcitrans*) y la mosca de los cuernos (*Haematobia irritans*), ambas causantes de problemas en ganado bovino [58]. Todas las plagas antes nombradas y otras que no por ser menos importantes no se mencionaron, han sido motivo de innumerable cantidad de experimentos, para eliminarlas o erradicarlas, debido a que no sólo causan pérdidas económicas debido a enfermedades del ganado y los cultivos que infestan, sino que pueden ser vectores de enfermedades en humanos.

Sin duda dos plagas que han asolado a este sector en México son: el “gusano cogollero” del maíz (*Spodoptera frugiperda*) y las garrapatas del ganado bovino (*Boophilus microplus*).

La garrapata *Boophilus microplus* es uno de los parásitos más importantes para la ganadería en las regiones tropicales, subtropicales y templadas del planeta. Las pérdidas económicas incluyen costos directos debido a la sangre que ingiere la garrapata, daños a las pieles, enfermedades que transmite, así como los tratamientos con garrapaticidas y la mano de obra para su aplicación; los costos indirectos más importantes son las restricciones comerciales por la contaminación de la carne, leche y medio ambiente debido a la utilización de estos productos químicos [24]. En muchos países se han valorado las pérdidas económicas ocasionadas por las garrapatas del ganado vacuno, se ha observado la reducción de la ganancia de peso y el total de infestación por garrapatas, concluyendo que se

produce una pérdida de 0.28 Kg por cada garrapata, promedio/año/vacuno[25]. Las garrapatas además afectan la capacidad reproductiva, bajando los índices de fertilidad, provocando trastornos metabólicos, sobre todo en animales jóvenes, retrasando su desarrollo corporal [27]

2.6.1 Control de *Boophilus microplus*

Convencionalmente, el control de este parásito se ha realizado con productos arsenicales, carbamatos, amidinas cíclicas, piretroides, IGR's (inhibidores de crecimiento de insectos) avermectinas, fenilpirazolonas, organoclorados y organofosforados, cuyo riesgo ecológico y a la salud de los consumidores han sido bien documentados, sin embargo, la emergencia de la resistencia ha constituido la más seria limitante para la utilización de estos productos químicos. La dificultad para poder pronosticar que los mecanismos establecidos en las cepas resistentes puedan afectar la eficacia de nuevos garrapaticidas, incluyendo aquellos con nuevas estructuras químicas, sumado a los altos costos del desarrollo de nuevas moléculas, hace más sombrío el futuro para el control de las garrapatas [28]. Los problemas por garrapatas se han agravado en México, y por ello se han buscado soluciones prácticas, económicamente viables a corto o mediano plazo y no agresivas al ambiente, a los alimentos derivados del ganado (carne y leche) y por lo tanto a la salud de usuarios y consumidores.

Por lo anterior, varios han sido los intentos para controlar a *Boophilus microplus* con fuentes naturales obtenidos de fuentes diversas, incluyendo cepas de *Bacillus thuringiensis*, extractos proteicos como vacunas experimentales donde se han identificado antígenos relacionados con la protección en el epitelio intestinal, tal es el caso de Bm 86 [29]. Esta proteína obtenida por vía recombinante se ha comercializado como vacuna, sin embargo, se han detectado diferencias en cuanto a la susceptibilidad de las garrapatas en diversas locaciones geográficas [30]. En México y otras partes del mundo, empíricamente los ganaderos han probado multitud de remedios a base de plantas y de otros productos con resultados irregulares. El uso de algunas gramíneas y leguminosas tropicales y subtropicales con acción acaricida o efectos repelente como *Brachiria brizantha*, *melinis minutiflora*, *Stylosantes spp.*, aceite de neem y otras han demostrado algunos efectos larvicidas o efecto repelente contra larvas de garrapata. Algunos autores han planteado que la sal común administrada oralmente al ganado vacuno tiene una marcada acción garrapaticida [31]. En los llanos orientales es común adicionar azufre como suplemento en la dieta de los bovinos, para controlar ectoparásitos como tónico y mejorar el aspecto de la piel [33]. Siendo esta información evidenciada por Navas y González [32].

2.6.2 Control en México

La preocupación por parte del sector pecuario en México, por los daños ocasionados por la garrapata, ha llevado a presentar acciones de lucha

desarrollados en algunos estados de la república tales como Sonora y Tabasco, esto desde la segunda década del siglo pasado. Posteriormente a partir de 1996 con la nueva estructura de la Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria (CONASAG) el control de la garrapata se realiza en forma individualizada por los productores, contando con la asesoría y el apoyo del gobierno federal, a través de la SAGARPA y el SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad), los gobiernos estatales, las organizaciones de productores y los Comités de fomento y Protección Pecuaria de los estados [34].

2.6.3 Importancia del maíz

El maíz ocupa el tercer lugar como fuente de alimento, forraje y productos procesados para la industria.

Entre los múltiples usos que tiene el maíz además del consumo directo y de productos de nixtamal, están la producción de almidón, jarabes y aceite, producción de harina, cereales y productos para el desayuno, alcohol, bebidas alcohólicas y alimentos para animales [44].

Es una de las plantas más estudiadas por los científicos, debido a su gran adaptación a diversos climas por su alta tasa de mutación que tiene de manera natural, así como la relativa facilidad de cruzamientos e hibridaciones. Es el único cereal proveniente del nuevo mundo que gracias a su productividad y

adaptabilidad se extendió prácticamente en todo el mundo después de que los españoles lo llevaron a Europa [47].

Los principales productores de maíz en el mundo son Estados Unidos, China, Brasil y México, quienes en el año 2004 de las 622,064 millones de toneladas aportaron más del 70% (259,900; 126,000; 41,950 y 21,570 millones de toneladas respectivamente) [47]

En México las estadísticas nos indican que desde el año de 1994 la superficie que se siembra es superior a las 8 millones de hectáreas de maíz a todo lo largo y ancho del país, en el año 2004 fueron 8, 436,249 millones de hectáreas sembradas y 7, 657,657 millones de hectáreas las que se cosecharon [47].

Siendo México el país donde la mayor parte del consumo de maíz es destinado a consumo humano (59.7% de la producción total, de donde la mayoría es destinado a tortilla y harina) le es de vital importancia buscar técnicas idóneas para evitar que este producto agrícola se vea perjudicado por diversas plagas.

2.6.4 *Spodoptera frugiperda*

La palomilla del maíz *Spodoptera frugiperda* es considerada la de mayor importancia en el cultivo de este grano, por su afectación económica, especialmente en las localidades a poca altura sobre el nivel del mar, donde los daños pueden ocurrir con mayor intensidad [48]

De igual forma esta plaga, es considerada la más importante del maíz en México. Ataca con más rigor las siembras tardías en las costas y las regiones cálidas de riego. Menos infestados son los maizales de los altiplanos, donde el ataque del cogollero disminuye al entrar las lluvias o al alcanzar las plantas un metro de altura [2].

En cuanto a su origen, se indica que es una especie nativa del trópico, con una amplia distribución geográfica, la cual va desde el norte de Argentina y Chile hasta el sur de los Estados Unidos. El gusano “*cogollero del maíz*” o simplemente “*Spodoptera*”, como se le denomina comúnmente, actúa como gusano tierrero, trozador o gusano soldado; como cogollero que es su hábito más característico en gramíneas; como bellotero o perforador de frutos y ramas y como masticador de follaje. [48]

Cuantiosas son las pérdidas producidas por la *Spodoptera frugiperda* sobre siembras de maíz. A nivel mundial se han reportado pérdidas de hasta el 20% de la producción en invierno [48]

En la lucha contra el gusano cogollero, se han utilizado diversos compuestos químicos elaborados por medio de síntesis, sin embargo la resistencia que este insecto genera, ha abierto las puertas a para iniciar la búsqueda de nuevas fuentes que además de combatir la plaga, permitan proteger el entorno.

La siguiente tabla muestra algunos compuestos de origen natural que han presentado algún efecto para combatir a *Spodoptera frugiperda*.

Tabla 3

Compuesto químico	Fuente vegetal	Efecto en <i>Spodoptera frugiperda</i>	Ref.
Azadirachtin	<i>Azadirachta indica</i>	Inhibidor del desarrollo y larvícida	49
Quassinoides	<i>Simaba multiflora</i> y <i>Soulamea suolameoides</i>	Inhibidor del desarrollo y antialimentario	49
Rhodojaponina III	<i>Rhododendrom molle</i>	DL50 a 8.8 ppm	49
Ácido anticopálico	<i>Vitex hemsleyi</i>	Insecticida y antialimentario	50

3 Objetivos

- Realizar un estudio fitoquímico de las partes aéreas de la planta *Solanum verbascifolium*.
- Realizar un estudio preliminar de la actividad biológica del extracto metanólico en la garrapata que ataca al ganado bovino *Boophilus microplus*.
- Realizar estudios de probable actividad biológica en otros organismos (como *Artemia sp* y *Spodoptera frugiperda*).
- Con los extractos que dieran resultados favorables aislar compuestos bioactivos.
- Aportar moléculas que presenten una utilidad en el control de plagas en el rubro agrícola.

4 Resultados y discusión

En el presente estudio se realizó el análisis químico de la fracción poco polar del extracto metanólico de hojas de la planta *Solanum verbascifolium*. Así como pruebas con éste tomándolo de forma íntegra y fraccionada, con la garrapata *Boophilus microplus*. De su separación cromatográfica se obtuvo una mezcla de ácidos grasos, a los cuales se les hizo una esterificación, posteriormente, se les practicó en un ensayo de pruebas de actividad antialimentaria, con las larvas de la palomilla que ataca los cultivos del maíz, *Spodoptera frugiperda*.

4.1 Resultados con *Boophilus microplus*, del extracto íntegro y de la fracción poco polar del extracto metanólico

Resultados de los ensayos realizados a la garrapata *Boophilus microplus* con extractos completos y fracciones obtenidas de análisis cromatográficos.

Cuadro 1

Extracto	Efectos en el organismo
Acuoso (hojas)	Disminuye el peso de los huevos en un 74.21% En 13 casos no hay oviposición El peso de las hembras no se ve afectado
Extracto metanólico (hojas)	El peso de los huevos disminuye en un 78.53% No hay oviposición en 12 casos No se ve afectado el peso de las hembras
Extracto metanólico (tallos)	Disminuye el peso de los huevos 53.60% No hay oviposición en 9 casos No se ve afectado el peso de las hembras
Fracción de CH ₂ Cl ₂	Disminuye 6.32% el peso de los huevos Sin actividad
Fracción acuosa proveniente de la partición	Aumenta el peso de los huevos en un 16% No se ve actividad
Fracción de Acetato de etilo	Disminuye en un 3% el peso de los huevos No se observa actividad alguna

Los resultados obtenidos en el experimento preliminar con *Boophilus microplus* tienen la finalidad, de indicar una posible actividad contra esta garrapata. Aquí tenemos que, el extracto metanólico, provoca la disminución de peso de huevos, así como una inhibición de la oviposición de las hembras ensayadas.

4.2 Resultados con *Artemia sp*, del extracto íntegro y de la fracción poco polar del extracto metanólico

No se observaron efectos sobre este organismo de prueba

4.3 Resultados con *Spodoptera frugiperda*, de la fracción poco polar del extracto metanólico

Ya que los estudios de moléculas con estructura semejante a los ácidos grasos de cadena larga y específicamente sus ésteres, han demostrado tener efectos adversos en el metabolismo normal de algunos insectos, según nos muestran los reportes citados en la literatura [39], aquí se procede a experimentar con los ácidos grasos obtenidos, esteárico y palmítico.

La siguiente gráfica ilustra el consumo de la mezcla de ésteres de los ácidos grasos.

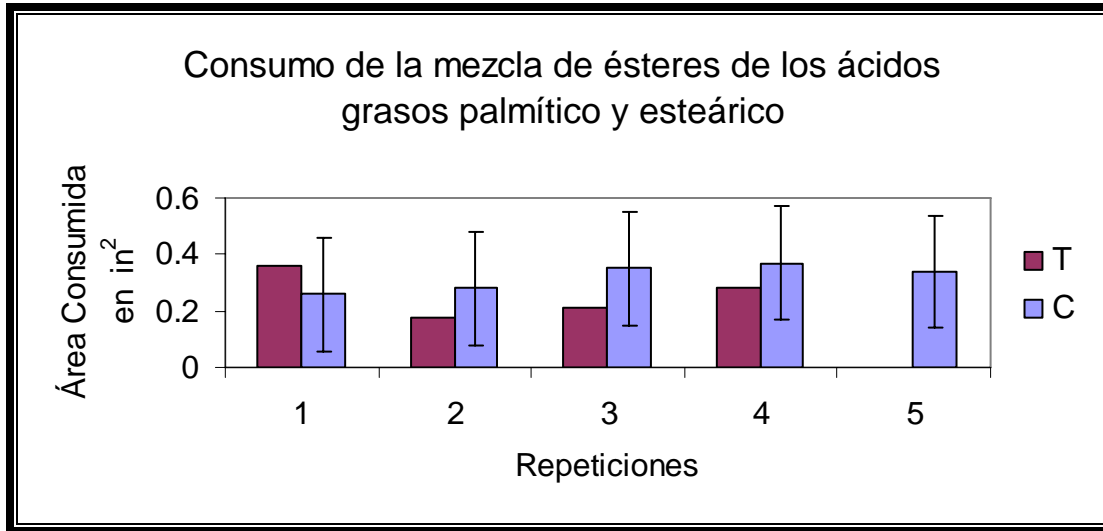


Figura 1.

En los resultados del “Bioensayo de elección para medir la actividad antialimentaria”, los cuales se muestran mediante una gráfica de barras (**figura 1**) y donde se presentan sus desviaciones, se observa que la mezcla de los ésteres de los ácidos grasos palmítico y esteárico del extracto metanólico, presentan un efecto antialimentario moderado, ya que cuando son sometidos a el tratamiento estadístico de elección para medir actividad antialimentaria, se obtiene un %RA = 30. No se presentaron muertes de larvas.

4.4 Elucidación estructural de las moléculas con posible actividad biológica

De la parte poco polar, se obtuvo un sólido blanco con apariencia resinosa, cuyo peso fue de 34 mg y presentó un punto de fusión de 51°C.

El espectro de infrarrojo (película)(**espectro1**) muestra una banda característica para un hidroxilo de un ácido carboxílico en 3353.16cm^{-1} en 1742.08cm^{-1} se presenta una banda correspondiente a un grupo carbonilo y en 2926.22cm^{-1} y 2854.81cm^{-1} bandas que corresponden al estiramiento asimétrico de metilenos, entre 1460cm^{-1} y 1380cm^{-1} existen bandas que corresponden a un grupo metilo.

De los datos antes mencionados se dedujo que el espectro correspondía a un ácido carboxílico saturado, por lo que se procedió a realizarle una metilación

4.4.1 Reacción de metilación

Para la metilación [46], se utilizaron 34mg de mezcla de compuesto, y se obtuvo una mezcla de ésteres de ácidos grasos con peso de 12mg, éstos compuestos se enviaron a espectroscopias para su identificación y posteriormente se les practicó un ensayo con *Spodoptera frugiperda*.

El espectro de infrarrojo (película) (**espectro 2**) muestra a 1736.82cm^{-1} la banda correspondiente a un carbonilo de éster, las bandas en 2925.30cm^{-1} y 2854.75cm^{-1} corresponden a metilenos y la región en $1460 - 1380\text{cm}^{-1}$ corresponde a un grupo metilo. En la región de 3360cm^{-1} se presenta una banda correspondiente a un grupo hidroxilo, por lo que se deduce que la reacción no se llevó acabo totalmente.

Por medio del sistema acoplado de gases-masas (**espectros 3, 4 y 5**) se demostró la presencia de las siguientes dos moléculas, las cuales corresponden a los ésteres metílicos de los ácidos grasos palmítico y esteárico (ácido hexadecanóico y ácido octadecanóico respectivamente), la forma de fragmentación y las estructuras se corroboraron con la base de datos del sistema y por comparación con los descritos en la literatura [51].

En el espectro de masas **4** se observa un ion molecular M^+ en 298 que corresponde a la formula molecular $C_{19}H_{36}O_2$

Para el espectro de masas **5** se presenta un ion molecular M^+ en 270 el cual corresponde a la fórmula molecular $C_{17}H_{32}O_2$

Las figuras (2 y 3) presentan las reacciones de metilación:

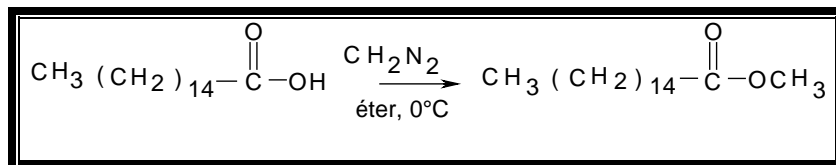


Figura 2 Reacción de metilación del ácido palmítico con diazometano

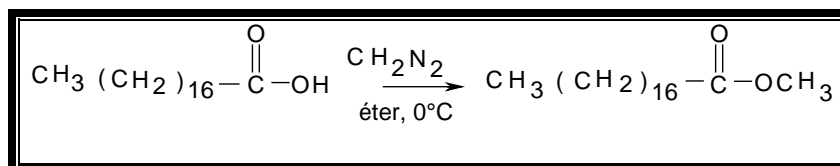


Figura 3 Reacción de metilación del ácido esteárico con diazometano

5 Conclusiones

El extracto metanólico de hojas de *Solanum verbascifolium* cuando se le realizó el estudio preliminar en *Boophilus microplus* presentó actividad significativa, disminuyendo la oviposición de las hembras de esta especie, por lo que se le puede considerar para el control de esta plaga.

Del fraccionamiento del extracto poco polar se obtuvieron dos moléculas con actividad antialimentaria moderada contra *Spodoptera frugiperda*, las cuales fueron identificadas como los ácidos grasos hexadecanóico y octadecanóico.

Es el primer estudio fitoquímico que se realiza a la parte poco polar de la planta *Solanum verbascifolium*

Los ácidos grasos aislados ya se han obtenido de esta y otras especies del género *Solanum*, pero no se ha reportado su actividad antialimentaria en insectos.

6 Parte experimental

6.1 Equipo y material utilizado.

- La identificación de compuestos, el avance de las reacciones y la pureza de los compuestos se realizó mediante la técnica de cromatografía en capa delgada utilizando cromatofolios Alugram® Sil G/UV₂₅₄
- La evaporación de disolventes se llevó a cabo mediante el uso de un “evaporador rotatorio” Büchi y un baño Heater temp Yamato Water Bath BM 42
- El análisis cromatográfico se realizó en columna abierta siguiendo las técnicas convencionales, las columnas cromatográficas utilizaron como fase estacionaria Silica Gel Aldrich tamaño de partícula 2-25 μ , 60 A°.
- La espectroscopia de Infrarrojo (IR) se realizó en un espectrofotómetro FT-IR Bruker Modelo: Tensor 27, y las bandas de absorción están dadas en cm^{-1}
- La espectrometría de masas y sistemas acoplados Gases –masas se realizaron en un espectrómetro de masas Jeol JMS A X505HA, de doble enfoque, mediante la técnica de ionización por impacto electrónico (EIMS) a 70eV

6.2 Extracción y aislamiento

6.2.1 Recolección

El material vegetal se colectó en la zona de la Colonia Heredia (Municipio de Ayala de Morelos) en el mes de Julio del año 2004 que es cuando la planta está en floración y fructificación, la clasificación botánica estuvo a cargo de la M. en C. Abigail Aguilar del Herbario IMSS del Centro Médico Nacional, a fin de contar con la certeza de la especie investigada.

6.2.2 Extracción

Extracto metanólico

Se trabajó con partes aéreas (hojas y tallos) de la planta *Solanum verbascifolium*, una vez que se secaron a la sombra, se maceraron ambas partes por separado, del peso total de hojas (4250g) se tomaron 2/3 partes (2833 g) y se les colocó en un frasco pyrex de 18 L, se adicionaron 15 L de metanol destilado. El recipiente se mantuvo en ausencia de luz durante 3 días a temperatura ambiente. Pasado este tiempo el disolvente se filtró del material vegetal y se utilizó un evaporador rotatorio a vacío para obtener el extracto. El empleo de una bomba de alto vacío garantizó un mejor secado, de aquí se peso para obtener el rendimiento y se rotuló como Ext-

MeOH. Para obtener el extracto de tallos se procedió como en lo anteriormente descrito para hojas (aquí el peso total fue de 3980g y el peso de las 2/3 partes correspondió a 2650g).

Extracto acuoso

Al material vegetal restante (1/3 parte de hojas y de tallos, 1450g y 1330g correspondientemente) se le colocó por separado en un frasco pyrex de 18 L y se le adicionó 10 L de agua destilada a cada uno, se mantuvieron por espacio de un día en ausencia de luz. El material vegetal residual se filtró y el disolvente acuoso se sometió a una liofilización para obtener el extracto seco. El extracto resultante se pesó y se rotuló como Ext-acuoso.

6.2.3 Elección de extractos con actividad

Los extractos Ext-MeOH y Ext-acuoso fueron sometidos a los bioensayos con hembras de *Boophilus microplus in vitro* (**cuadro 1**) (estos bioensayos se realizaron en la UAEM por el Dr. Eduardo Aranda), para detectar en cuál de éstos se concentró la actividad.

6.2.4 Separación

Se tomaron 38g del extracto metanólico de hojas de *Solanum verbascifolium* previamente secado en bomba de vacío.

Partición

Este extracto fue sometido a una partición, mediante el sistema de disolventes CH₂Cl₂-agua, utilizando un embudo de separación, de la fracción orgánica concentrada se obtuvieron 23.6g y de la fracción acuosa 1.3g.

A la fracción orgánica seca de CH₂Cl₂, se le realizó un análisis cromatográfico, utilizando gel de sílice para placa como fase estacionaria, con un sistema de elusión ascendente en polaridad de Hexano:Acetato de etilo, la cual produjo 136 fracciones.

De la columna anterior las fracciones 16-24 se agruparon debido a su similitud cromatográfica, obteniéndose 1.3g.

Se les preparó para realizar una segunda columna cromatográfica, empleando nuevamente sílice para placa como fase estacionaria y un sistema de elusión de polaridad ascendente de Hexano:Acetato de etilo. De ésta columna se obtuvieron 100 fracciones.

6.2.5 Reacción de Metilación

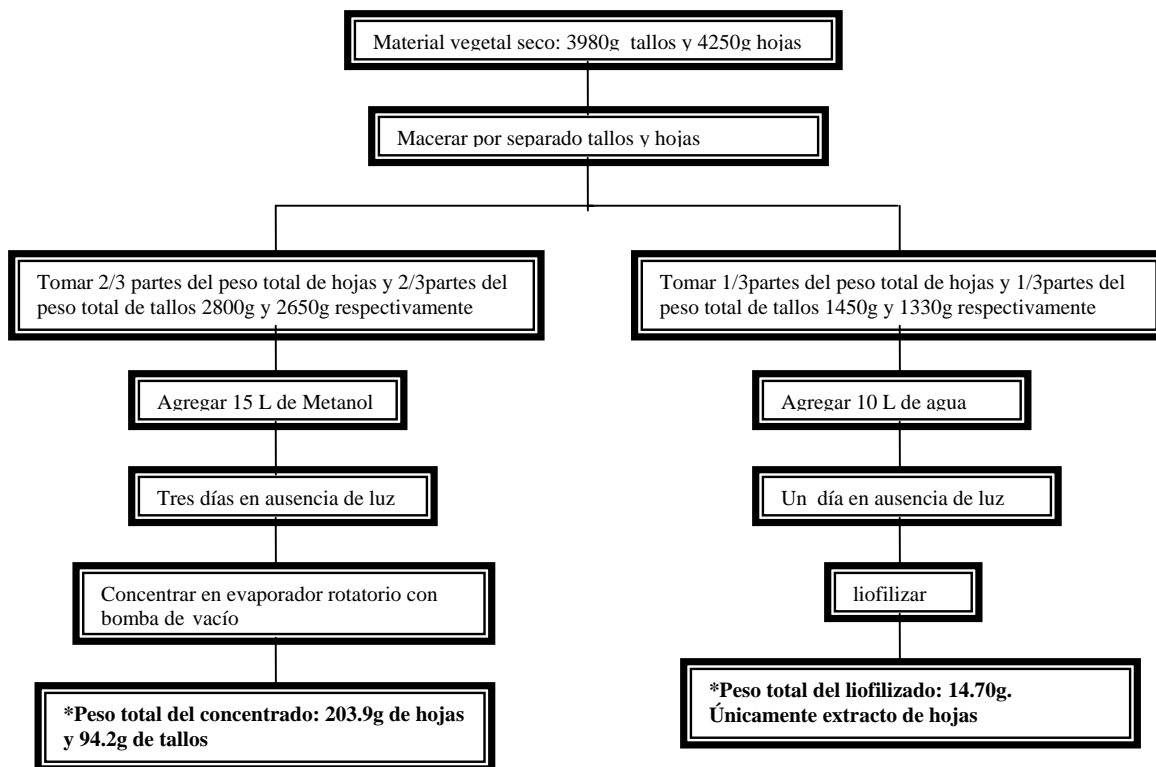
El siguiente paso consistió en realizar una metilación con diazometano al compuesto de color blanco que precipitó.

Se tomaron 34mg de producto y enseguida se añadió lentamente el diazometano [46], la reacción se monitoreo por cromatografía de capa fina.

En seguida, se llevaron acabo las pruebas de espectroscopia correspondientes para su identificación y finalmente la elaboración de un ensayo con *Spodoptera frugiperda*.

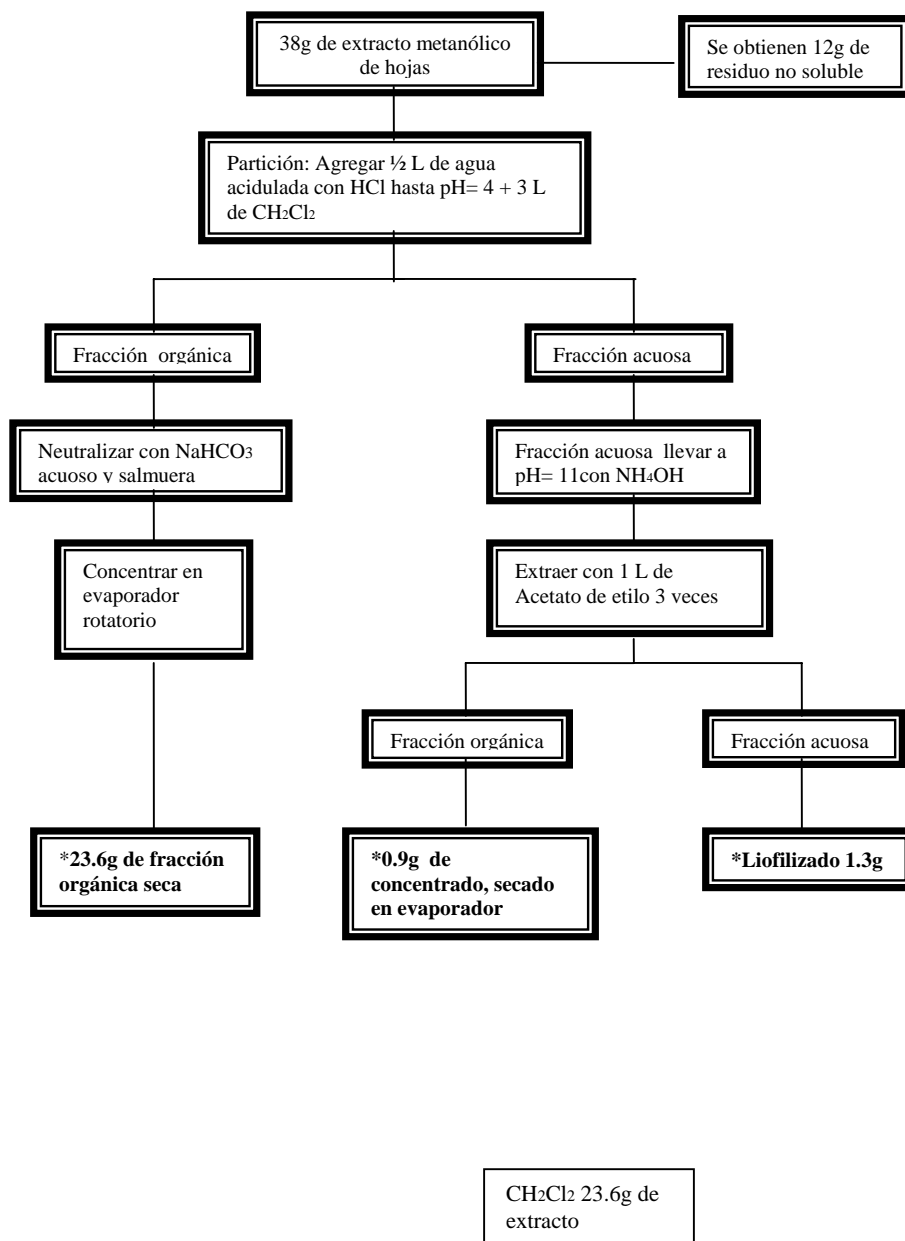
Los diagramas **1, 2 y 3** muestran de forma detallada la metodología seguida en el desarrollo del experimento.

Diagrama 1, Metodología general de trabajo para el fraccionamiento de *Solanum verbascifolium*



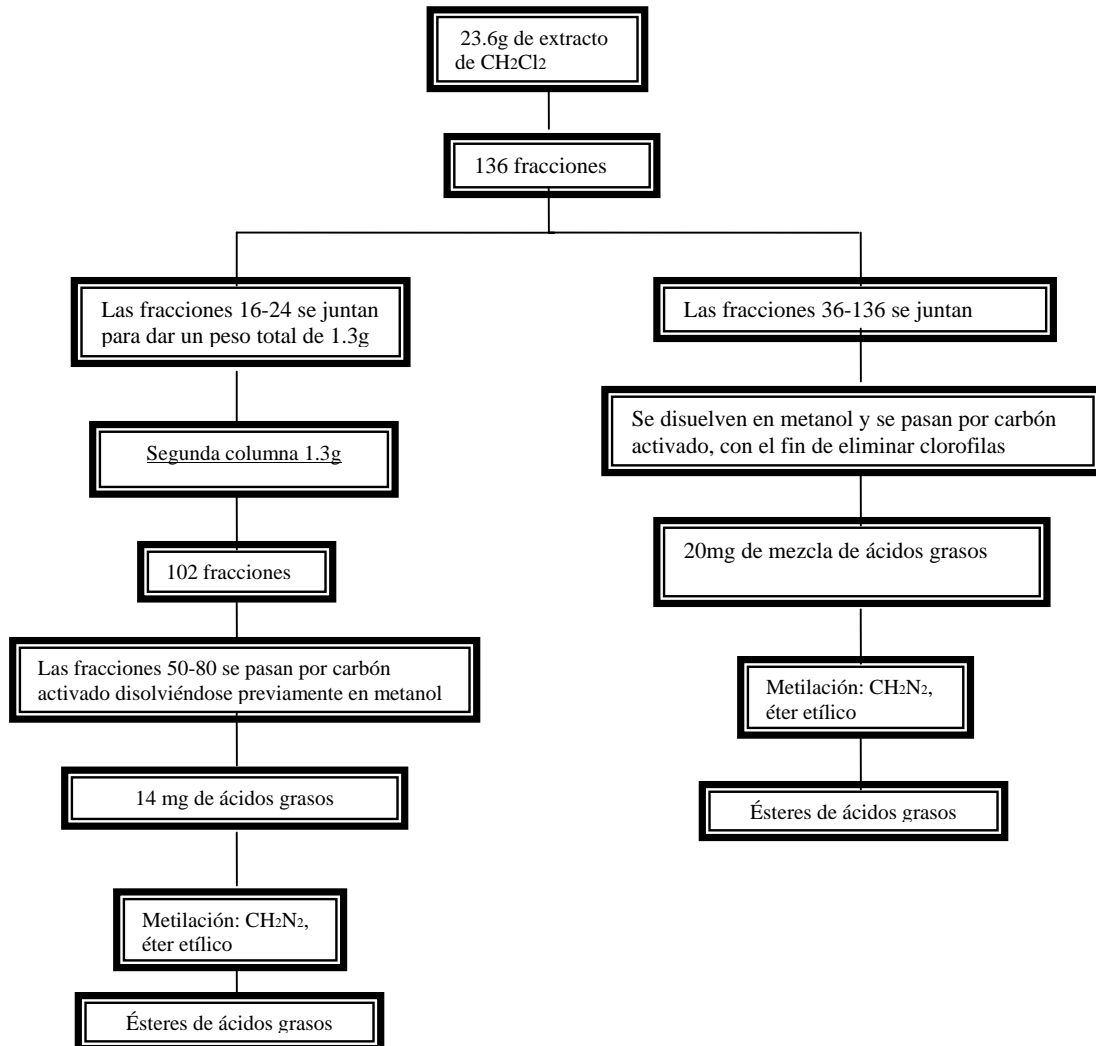
* Estas fracciones fueron enviadas a la UAEM para verificar actividad con *Boophilus microplus*.

Diagrama 2, partición y elección de extractos con posible actividad



* Estas fracciones fueron enviadas a la UAEM para verificar actividad con *Boophilus microplus*.

Diagrama 3, análisis cromatográfico



6.3 Pruebas biológicas

El trabajo con la garrapata presenta un aspecto preliminar, de aquí se utilizó el extracto de la planta que presentó la mayor actividad y se procedió a realizar ensayos con otros organismos, como *Artemia sp* y *Spodoptera frugiperda*, la elección de éstas es que pueden ser cultivados con facilidad, su mantenimiento en el laboratorio no implica costos excesivos, los resultados que se obtienen pueden ser extrapolados a otros organismos y para el caso de la palomilla del maíz ésta presenta un respaldo histórico y bibliográfico que promueven su estudio.

6.3.1 Pruebas con *Boophilus microplus*

Para las pruebas preliminares con la garrapata *Boophilus microplus*, se presentan algunos cálculos de cómo evaluar la efectividad de los extractos (en este caso el metanólico el cual resultó ser el más efectivo) en la oviposición de hembras, los cuales se muestran a continuación:

Cálculos de pruebas con *Boophilus microplus*

Promedio Peso /hembras = 0.3360g

Promedio Peso /huevos = 0.1396g

Peso de los huevos ovipositados después de la aplicación del extracto = 0.0299g

100 = 100% de porcentaje

Cálculos para obtener porcentaje de efectividad

0.1396g de huevos ----- 100

0.0299g de huevos ----- X

$$X = 21.4183$$

$$100 - 21.4183 = \underline{78.5817\%}$$

6.3.2 Pruebas con *Artemia sp*

Con *Artemia sp* se realizaron pruebas a 100ppm y 1000ppm de los diferentes extractos que previamente habían sido probados con *Boophilus microplus*, no se presentaron muertes.

6.3.3 Pruebas con *Spodoptera frugiperda*

La técnica para evaluar la posible actividad antialimentaria, fue la llamada “Bioensayo de elección para medir la actividad antialimentaria” [62], la cual fue realizada en el laboratorio de cultivo de insectos del Instituto de Química de la UNAM, utilizando larvas del 5° estadio y presenta la siguiente metodología:

En cajas Petri se coloca agar a una altura de 0.5cm, cuando éste solidifica se realizan cuatro perforaciones circulares en forma de cruz. En los huecos que corresponden al tratamiento, se colocan recortes de hojas de espinaca en forma de círculo, sobre los cuales se adiciona una disolución de 10ppm (en un disolvente adecuado) del compuesto a ensayar, los dos huecos restantes corresponden al control únicamente se le adiciona el disolvente utilizado en el tratamiento, en ambos casos se debe permitir que el disolvente se evapore.

Se colocan dos larvas de *Spodoptera frugiperda* al centro de la caja Petri, previamente se deben mantener 24horas sin alimento. El experimento se detiene cuando han consumido el 75% de los discos de hojas control, o cuando los discos de hoja de espinaca tratamiento han sido consumidos al 100%.

Se utilizan 5 cajas por compuesto.

Posteriormente se digitaliza lo que resta de las hojas que consumieron las larvas, se miden las áreas (los valores están dados en pulgadas cuadradas) y se calcula el porcentaje de hoja consumida para cada tratamiento, los valores obtenidos se introducen en la siguiente fórmula:

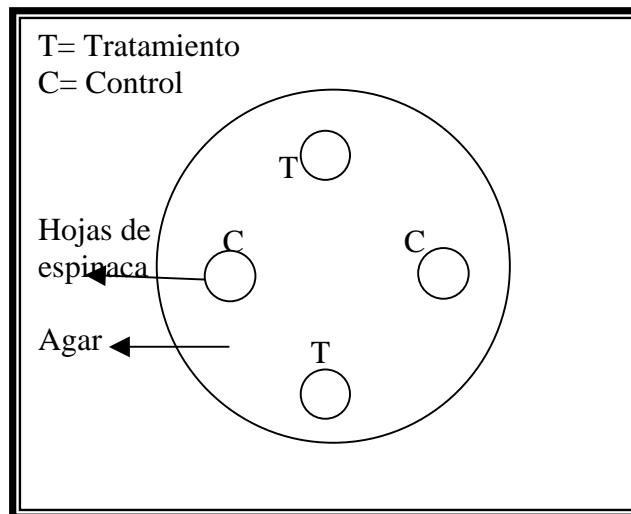
$$\% RA = [1 - T/C] * 100$$

%RA= porcentaje de reducción en alimentación

T= porcentaje de hojas tratamiento consumidas

C= porcentaje de hojas control consumidas

La siguiente figura muestra cómo se ubican los tratamientos y controles dentro de la caja Petri.



7 Bibliografía

1. Martínez, M. Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México, 1977, 1220p.
2. Flora Medicinal Indígena de México. Instituto Nacional Indigenista. Primera Edición. Vol 1, Tomo 3, 1994, pág1195.
3. Ripperger, H. Schreiber, K. Isolation of neochlorogenina and paniculogenina from *Solanum Paniculatum*. *Chemische Berichte*. 100(5), 1741-52, 1967.
4. Ripperger, H. et al. Solanum alkaloids. LXXIX. Jurubin, a nitrogen-containing steroid saponin with a new type of structure from *Solanum paniculatum*. Structure of paniculidine. *Chemische Berichte*. 100(5), 1725-40, 1967.
5. Ripperger, H. Et al. Solanum alkaloids. LX XVIII. Jurubine, a novel type steroidal saponin with (25S)-3 β -amino-5 α -furostane-22 α ,26-diol O(26)- β -D-glucopiranoside structure from *Solanum paniculatum*. *Tetrahedron Letters*. 48, 5997-6002, 1966.
6. Ripperger, H. Et al. Solanum alkaloids. LXIV. (22R,25S)-3 β -Amino-5 α -spirostan, a steroid alkaloid of new structure type from *Solanum paniculatum*. *Tetrahedron Letters* (45), 3999-4002, 1965.
7. Ripperger, et al. Structure of paniculonina A and B, two new spirostane glycosides from *Solanum paniculatum* L. *Chemische Berichte*. 101(7), 2450-8, 1968.

8. Ripperger, et al. Jurunin, a nitrogen containing steroidal saponin of a new structural type from *Solanum paniculatum* L; concerning the structure of paniculidin. *Chemische Berichte*. 100(5), 1725-40, 1967.
9. LI-XIN ZHOU. YI DING. A Cinnamide Derivative From *Solanum Verbascifolium* L. *Journal of Asian Natural Products Research*. 4(3), 185-187, 2002.
10. Adam, G. et al . Solaverbascine –A New 22,26-Epiminocholestane Alkaloid from *Solanum Verbascifolium*. *Phytochemistry*. 19 , 1002-1003, 1980.
11. Badami, R. C. et al. *Journal of food science and technology*. 14(3), 126-128, 1977.
12. LI-XIN ZHOU. YI DING. A Cinnamide Derivative From *Solanum Verbascifolium* L. *Journal of Asian Natural Products Research*. 4(3), 185-187, 2002.
13. Mann, J.D. Production of solasodine for the pharmacological industry. *Adv . Agonomy*. 30, 207-245. 1978.
14. <http://www.oni.escuelas.edu.ar/olimpi98/Biodiversidad/arboles.htm>
15. Fernández . 2004 datos no publicados, INIFAP-PAVET/CEIB UAEM
16. D'Arcy, W.G. Proposal to Reject *Solanum Verbascifolium*. *Taxon*. 2(35), 393-395
17. Thomas L. Rost, et al. *Botánica. Introducción a la biología vegetal*. Primera edición. Editorial Limusa México. pág 386-387, 1985
18. Roddick, 1996
19. <http://issg.org/database/species/ecology.asp>

20. Tomoyuki Yamashita, et al. Structures of three new steroidal alkaloid glycosides, solaverines I, II y III from *Solanum toxicarium* and *Solanum verbascifolium*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. 38(3) 827-829. 1990
21. Arturo A, et al. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Primera Edición Instituto Nacional Indigenista. pág 216-217, 1994
22. Martin W. Isolation of solasodine and other steroidal alkaloids and sapogenins by direct hydrolysis-extraction of *Solanum* plants or glycosides thereform. *Phytochemistry*. 58, 501-508, 2001
23. William P. Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives Vol 7. Springer Verlag, 1991, pág 102-103.
24. Benavides E, Romero A. Consideraciones para el control integral de parásitos externos del ganado. Carta FEDEGAN, Edición N° 70, pág 1-7.
25. Benavides, et al. Dinámica poblacional de ectoparásitos en bovinos en el piedemonte llanero. 1. Ciclo anual y dependencia de factores climáticos. En: Memorias XVI congreso Nacional de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Paipa. Colombia. 1988.
26. Springell, P. La garrapata de los bovinos en relación a la producción animal en Australia. *Revista Mundial de Zootecnia*. Vol 10, 19-23, 1974.
27. Castellanos, H. Patogénia de *Boophilus microplus*. Tesis de maestría. Facultad de medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. México. 1985
28. Convocatoria SAGARPA-CONACYT 2002/01. Demandas específicas del sector. Inocuidad Alimentaria. Área 3 Salud Animal. Tema 32. Alternativa contra plagas y enfermedades de los animales que han desarrollado resistencia a los tratamientos convencionales.

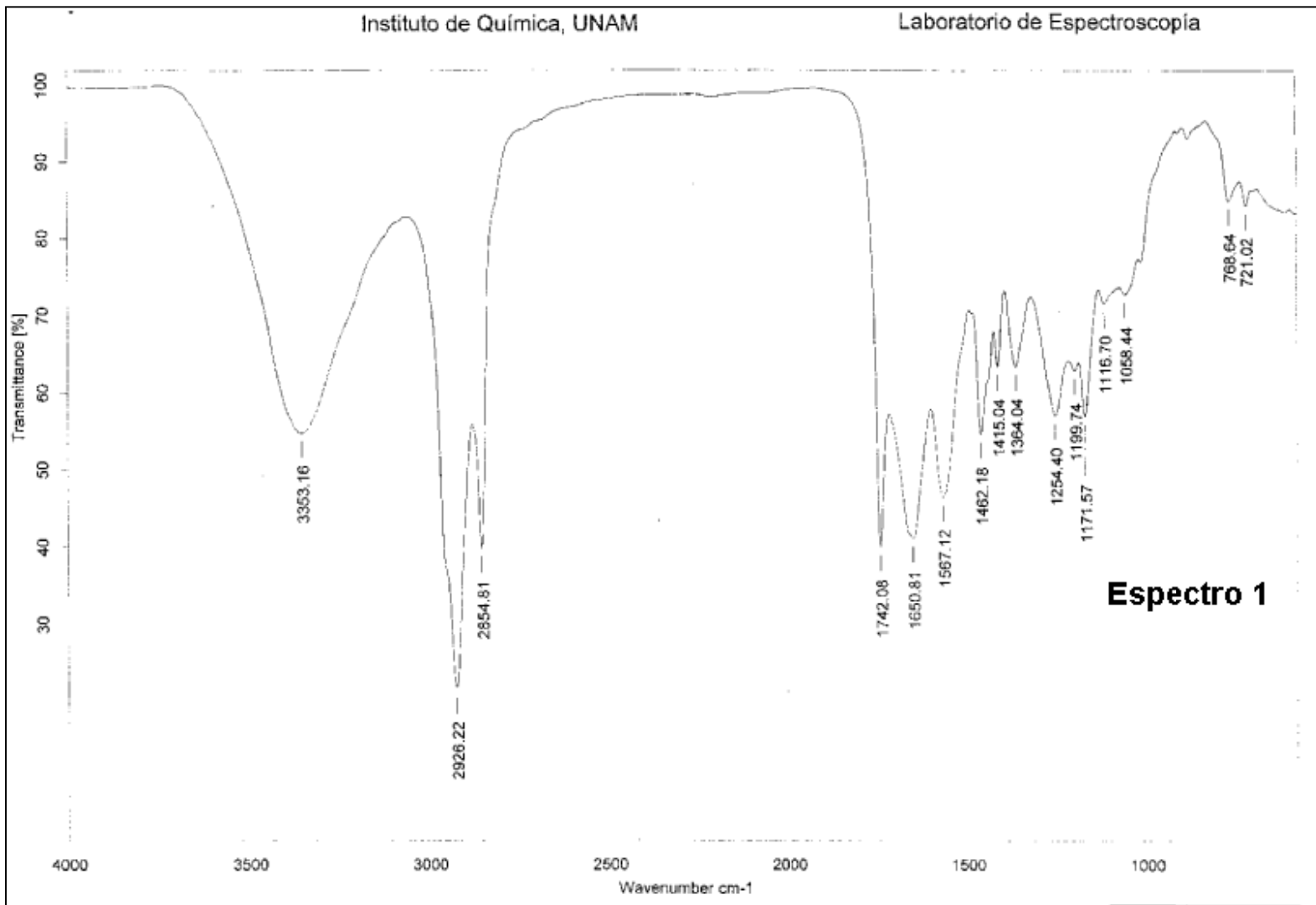
29. Willadsen, P. Novel vaccines for ectoparasites. *Veterinary parasitology* 71, 209-222, 1998
30. De la Fuente, J. et al. Control of *Boophilus microplus* infestations in cattle vaccinated with recombinant Bm86 antigen preparation. Evidences of control of chemical resistans strains and *Babesia boris* transmisión. Seminario internacional de parasitología animal, Acapulco, México 11-13 octubre 1995, 101-111.
31. Sardriñas, G.M., Bergrado, F. Valoración del efecto tóxico de NaCl en vacas. Algunas consideraciones epizootiológicas y económicas. Reporte preliminar. Ciencia y tecnología agrícola y veterinaria. 2, (2), 91-95, 1980
32. Navas, A., González, C, A. Efecto del suministro de azufre sobre el control de *Boophilus microplus*. En: Memorias XVI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia. PAIPA. Colombia, 1988.
33. Mateus, G. informe anual. Programa de Patología Animal. Centro de investigación La Libertad. ICA 1986.
34. SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad alimentaria 2004. <http://web2.senasica.sagarpa.gob.mx>)
35. Cordell, G, A. The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology. Academic Press. Vol 47, 1995, pág 245
36. Atta-Ur-Rahman. Hand Book Natural Products Data. Diterpenoid and Steroidal Alkaloids. Vol 1, Elsevier, 1990, 962p.

37. Hawkes, J.G. et al. The Biology and Taxonomy of the Solanaceae. Published for the Linnean Society of London by Academic Press. Number 7, 1979, págs 1-131, 135-171, 255-285.
38. Rzedowski, J. Vegetación de México. Editorial Limusa. Primera Edición, 1978, 432p.
39. Mahapatra, A. et al. Antifeedant Activity of Some Pentacyclic triterpene Acids and Their Fatty Acid Ester Analogues. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51, 1952-1955, 2003
40. Atkin D.S.J and Hamilton R.J. The Effects of Plant Waxes on Insects. Journal of Natural Products. 45 (6), 694-696, 1982.
41. Badui, D.S. Química de los Alimentos. Addison Wesley Longman. Tercera edición, 1993, 648p
42. Instituto Nacional Indigenista 1997 <http://www.herbotecnia.com.ar/c-public-003.html>
43. Ainoa, M.O. La biosfera: Las Grasas Como Materia Prima.
44. Camacho, N.A.; et al. Manual de prácticas: Productos de Cereales y Leguminosas. Facultad de Química UNAM. Tercera edición, 2004, 208p
45. Taiz, L., Zeiger, E. Plant Physiology. Third Edition. Sinauer Associates, Inc., publishers. págs 282, 306
46. Organic Syntheses. Volume II, 165
47. Logros y perspectivas en la producción de maíz. Estrategias para ordenar el mercado de maíz. 2005
http://www.sagarpa.gob.mx/cmdrs/sesiones/2005/pres_ord/sistprom_maíz.pdf.

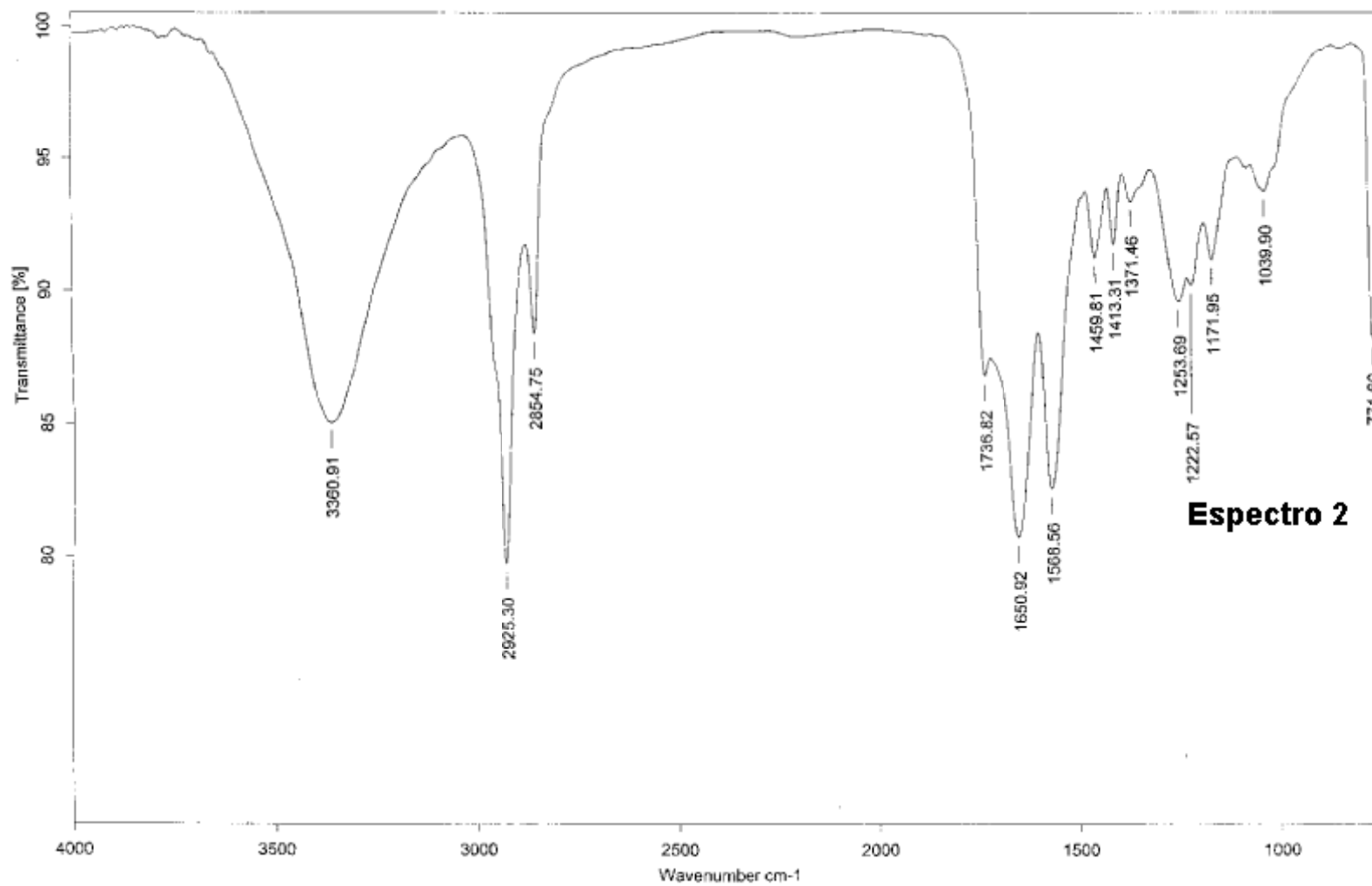
48. <http://www.monografias.com/trabajos37/spodoptera-frugiperda/spodoptera-frugiperda.shtml>.
49. Agrochemicals from natural products. Edited by Marcel Dekker inc 1995, 418 p.
50. Villegas, C. Estudio fitoquímico y de la actividad insecticida de los metabolitos secundarios de *Vitex hemsleyi*. Tesis de maestría. Instituto de Química, UNAM. México, 2004
51. McLafferty FW, Stauffer DB. The Wiley/NBS registry of mass spectral data; John Wiley, New York, Vol 3, 1988, pág 2271, 2783
52. Francisco L.O, Carmen M.A. Plantas medicinales de México. Primera Edición Vol 1 UNAM 1996
53. Francisco L.O, Carmen M. A, Baldomero, E. R, Rachel. M. E. Plantas medicinales de México. Primera edición Vol. II UNAM 1999.
54. <http://www.sc.ehu.es/iawfemaf/archivos/materia/industrial/libro-14.PDF>.
55. George Francis, Harinder P.S. Makkar, Klaus Becker. Antinutritional factors present in plant derived alternate effects in fish. Aquaculture Elsevier Review Article 199, 191-227, 2001

56. <http://www.cideiber.com/infopaises/Mexico/Mexico-01-03.html>
57. Borg-Karlson A., Nordlander G., Mudalige A., Nordenhem H., Unelius R. Antifeedant in the feces of the Pine Weevil *Hylobius abietis*: Identification and biological activity. *J. Chem. Ecol.* 32, 943-957, 2006.
58. Martínez I. y Lumaret J,P. Las prácticas agropecuarias y sus consecuencias en la entomofauna y el entorno ambiental. *Folia Entomol. México.* 45(1), 57-68, 2006.
59. M. Reina., A. Gonzalez-Coloma., C. Gutierrez., R. Cabrera and L. Villarroel. Pyrrolizidine Alkaloids from *Heliotropium megalanthum*. *J. Nat. Prod.* 61, 1418-1420, 1998.
60. Valencia, E., Valenzuela, E., Barros, E., Hernández, M., Lazo, C., González-Coloma, A y Bermejo, J. Estudio Fitoquímico y actividad antialimentaria de *Senna stipulaceae*. *Bol. Soc. Chil. Quim.* 2 (45), 2000.
61. Escoubas, P., Lajide, L., and Mizutani, J. *Entomol. Exp. Appl.*, 66, 99, 1993.
62. Bentley, M., Stoddard, W and Zalkow, L. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 77, 393, 1984.

8 Espectros



Espectro 1

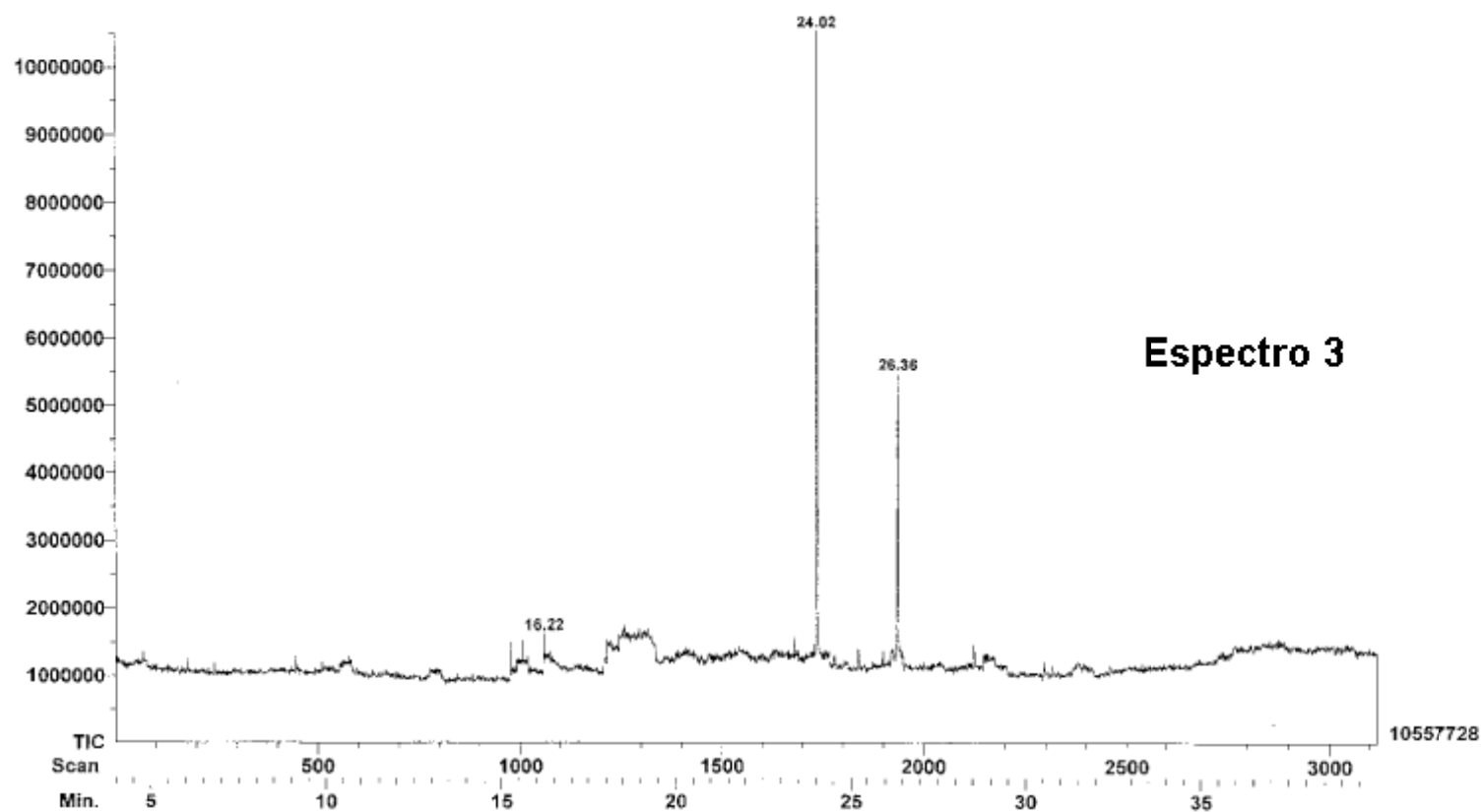


Instituto de Química (UNAM)

File: 1393 NA-D211
Sample: Esquivel-Baldomero
Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

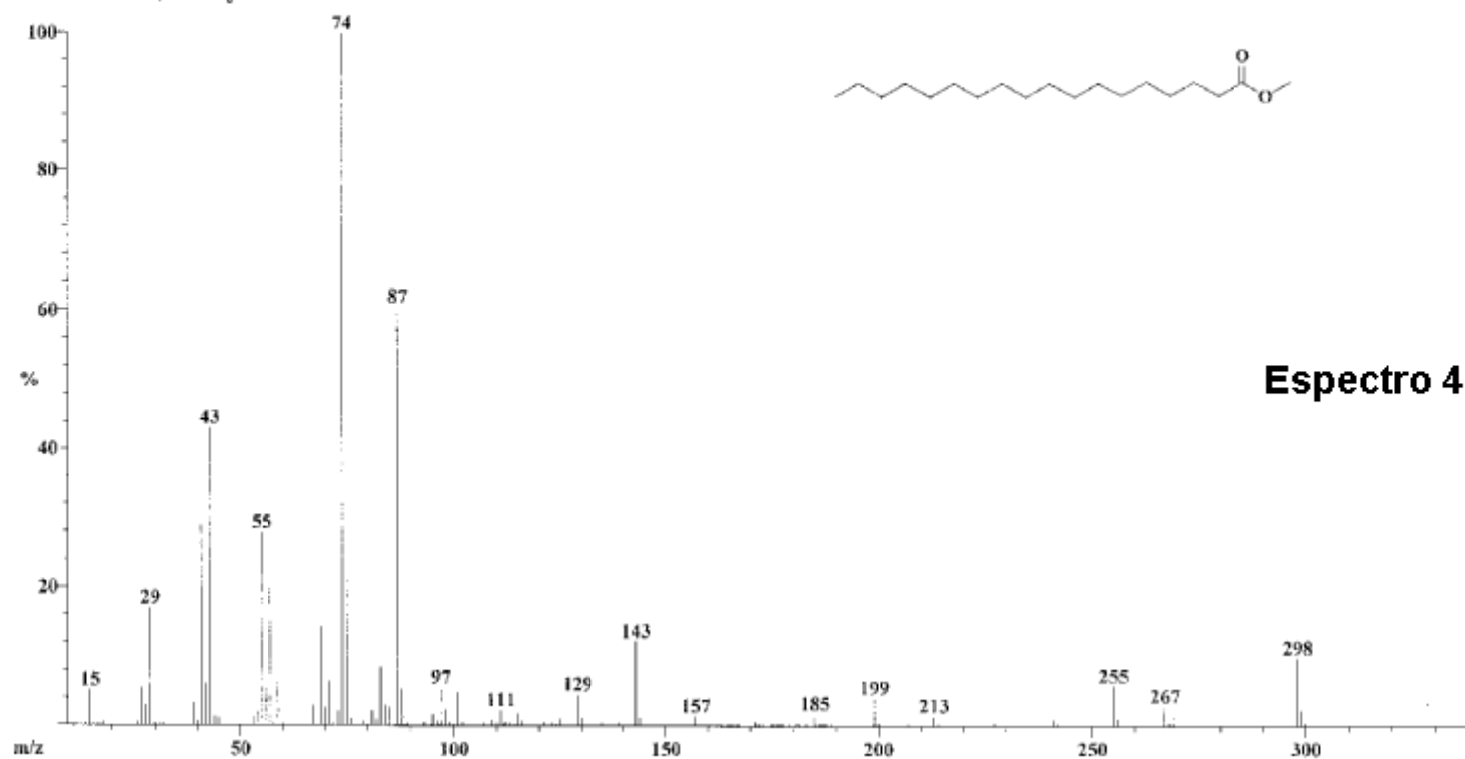
Date Run: 08-02-2007 (Time Run: 15:32:51)

Ionization mode: EI+



NIST MS 1 of 40 (112-61-8)
Base: m/z 74
Octadecanoic acid, methyl ester

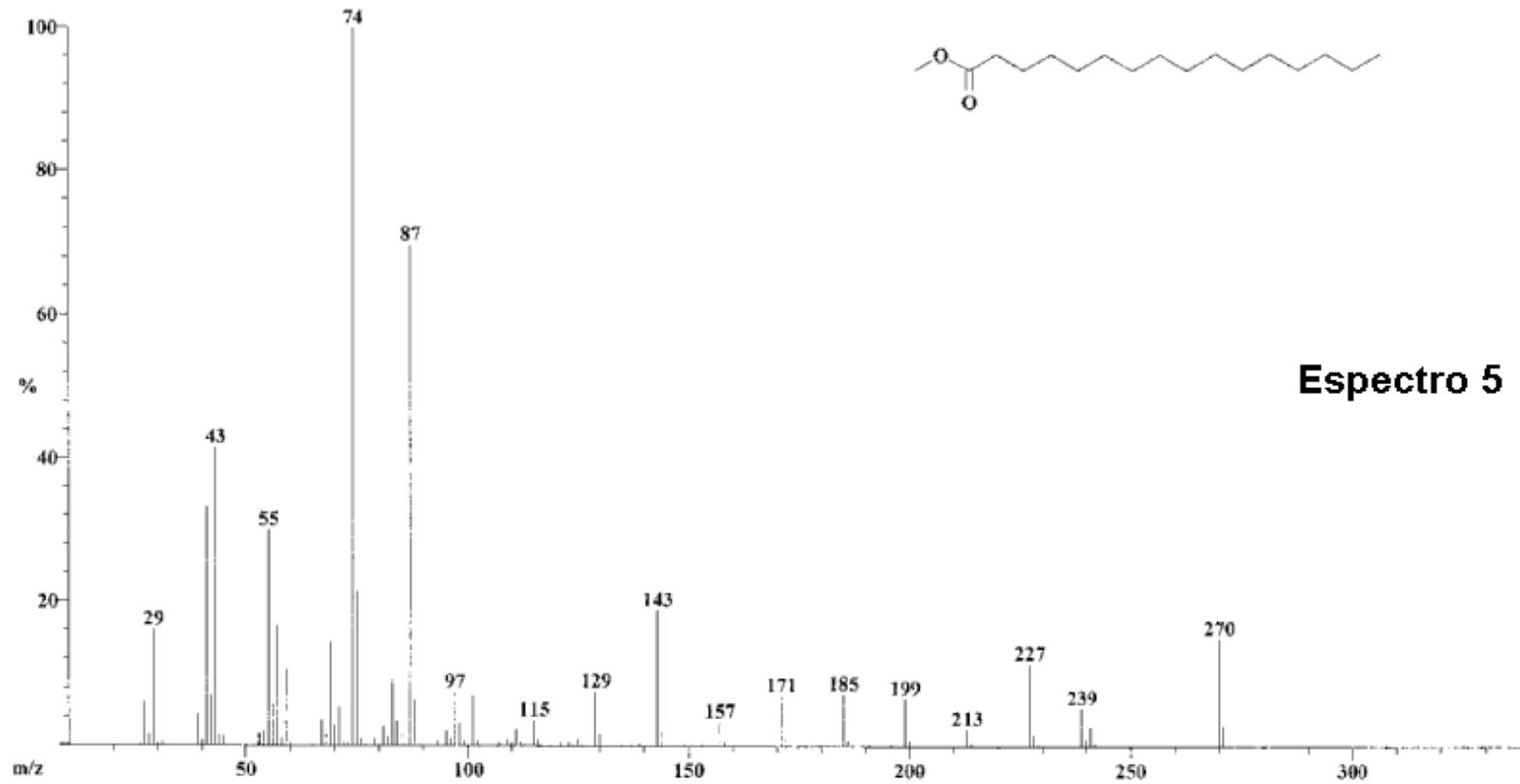
#Ions: 107



Espectro 4

NIST MS 1 of 40 (112-39-0)
Base: m/z 74
Hexadecanoic acid, methyl ester

#Ions: 152



Espectro 5