



# UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

## FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGIA

ESTUDIO PARCIAL FITOQUÍMICO Y EVALUACIÓN  
ANTITERMITA DE *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq) Griseb.

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

TERESA PAMATZ BOLAÑOS

ASESORES DE TESIS:

**D. C. MAURO MANUEL MARTÍNEZ PACHECO**

**D. C. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES**

Morelia, Mich., Abril del 2008



**El presente trabajo se realizó en los Laboratorios de Fisiología Celular y Química de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la asesoría de los doctores en ciencias: Mauro Manuel Martínez Pacheco y Rosa Elva Norma del Río Torres. Con el apoyo financiero de la UMSNH (CIC-2.1MMP-2007) del CONACYT y del Gobierno del Estado de Michoacán (Fondos Mixtos Michoacán-2005-C01-009)**

## ÍNDICE GENERAL

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| ÍNDICE DE FIGURAS.....                                             | 1  |
| ÍNDICE DE CUADROS.....                                             | 4  |
| RESUMEN.....                                                       | 5  |
| 1. INTRODUCCIÓN.....                                               | 6  |
| 2. ANTECEDENTES.....                                               | 9  |
| 2.1. Descripción del género <i>Enterolobium</i> .....              | 9  |
| 2.2. Descripción general de <i>Enterolobium schomburgkii</i> ..... | 10 |
| 2.2.1. Nombres Comunes.....                                        | 10 |
| 2.2.2. Descripción.....                                            | 10 |
| 2.2.3. Usos.....                                                   | 11 |
| 2.3. Descripción general de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .....  | 11 |
| 2.3.1. Nombres comunes.....                                        | 12 |
| 2.3.2. Características morfológicas de la especie.....             | 12 |
| 2.3.3. Distribución de la especie.....                             | 14 |
| 2.3.4. Aspectos Históricos.....                                    | 15 |

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3.5. Usos.....                                                                | 15 |
| 2.3.6. Uso en la medicina tradicional.....                                      | 16 |
| 2.3.7. Fitoquímica de <i>E. cyclocarpum</i> .....                               | 16 |
| 2.3.8. Antecedentes biocidas del extracto acuoso de <i>E. cyclocarpum</i> ..... | 17 |
| 3. JUSTIFICACIÓN.....                                                           | 19 |
| 4. HIPÓTESIS.....                                                               | 20 |
| 5. OBJETIVOS.....                                                               | 20 |
| 6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....                                                 | 21 |
| 6.1. Variación biológica.....                                                   | 21 |
| 6.1.1. Determinación de fenólicos totales.....                                  | 21 |
| 6.1.2. Determinación de flavonoides totales.....                                | 23 |
| 6.1.3. Extracción por reflujo.....                                              | 24 |
| 6.1.4. Extracción por arrastre de vapor.....                                    | 26 |
| 6.1.5. Maceración en frío y a reflujo con hexano.....                           | 31 |
| 6.1.6. Extracción acuosa.....                                                   | 32 |
| 6.2. Análisis Estadístico.....                                                  | 38 |

|                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 6.3. Ensayos biológicos del pinitol contra termitas.....                                                | 38 |
| 7. MATERIALES Y MÉTODOS.....                                                                            | 41 |
| 7.1. Generalidades.....                                                                                 | 41 |
| 7.2. Obtención del extracto acuoso de duramen de <i>E. cyclocarpum</i> .....                            | 41 |
| 7.3. Determinación de la concentración de fenólicos totales equivalentes en <i>E. cyclocarpum</i> ..... | 43 |
| 7.4. Determinación de la concentración de flavonoides totales en <i>E. cyclocarpum</i> .....            | 44 |
| 7.5. Obtención de extractos de <i>E. cyclocarpum</i> por arrastre de vapor.....                         | 45 |
| 7.6. Obtención de extractos de <i>E. cyclocarpum</i> por reflujo con agua.....                          | 46 |
| 7.7. Obtención de extractos de <i>E. cyclocarpum</i> por reflujo con hexano...                          | 46 |
| 7.8. Obtención de extractos por maceración con hexano <i>E. cyclocarpum</i> .....                       | 47 |
| 7.9. Columna cromatográfica para la purificación del manool.....                                        | 48 |
| 7.10. Columna cromatográfica para la purificación del pinitol.....                                      | 49 |
| 7.11. Ensayos biológicos del pinitol contra termitas.....                                               | 50 |

|                                      |           |
|--------------------------------------|-----------|
| <b>8. RESUMEN DE RESULTADOS.....</b> | <b>51</b> |
| <b>9. CONCLUSION.....</b>            | <b>51</b> |
| <b>10. BIBLIOGRAFÍA.....</b>         | <b>52</b> |

**ÍNDICE DE FIGURAS**

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Flor fruto y hojas del género <i>Enterolobium</i> .....                                                                                                                                                                                                                                    | 9  |
| Figura 2. <i>Enterolobium schomburgkii</i> . A) Fruto, B) Hoja y flor, C) Distribución.....                                                                                                                                                                                                          | 11 |
| Figura 3. Árbol de <i>E. cyclocarpum</i> localizado en Nueva Italia Michoacán.....                                                                                                                                                                                                                   | 13 |
| Figura 4. Hoja y fruto de <i>E. cyclocarpum</i> .....                                                                                                                                                                                                                                                | 14 |
| Figura 5. Distribución en América de <i>E. cyclocarpum</i> .....                                                                                                                                                                                                                                     | 14 |
| Figura 6. Curva de calibración para determinar la cantidad de fenólicos totales equivalentes a ácido <i>p</i> -cumárico en el extracto acuoso.....                                                                                                                                                   | 22 |
| Figura 7. Curva de calibración para determinar la cantidad de flavonoides totales equivalentes a naringina en el extracto acuoso.....                                                                                                                                                                | 23 |
| Figura 8. Espectro de RMN $^1\text{H}$ en $\text{D}_2\text{O}$ a 400 MHz del extracto acuoso del duramen de <i>E. cyclocarpum</i> talado en Apatzingán (trazo superior). Espectro de RMN $^1\text{H}$ del extracto acuoso del duramen <i>E. cyclocarpum</i> talado en Tuzantla (trazo inferior)..... | 25 |
| Figura 9. Cromatograma (trazo superior) y espectro de masas (trazo inferior) del manool.....                                                                                                                                                                                                         | 27 |
| Figura 10. Espectro de RMN $^1\text{H}$ a 400 MHz en $\text{CDCl}_3$ del manool.....                                                                                                                                                                                                                 | 28 |
| Figura 11. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ a 100 MHz en $\text{CDCl}_3$ del manool.....                                                                                                                                                                                                              | 30 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 12. Espectro de RMN $^1\text{H}$ en piridina- $\text{d}_5$ a 400 MHz de las fracciones cromatográficas 51-61.....                                                                                                                                                                                                                             | 33 |
| Figura 13. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ en piridina- $\text{d}_5$ a 100 MHz de las fracciones cromatográficas 51-61.....                                                                                                                                                                                                                          | 34 |
| Figura 14. Espectro de RMN $^1\text{H}$ a 400 MHz en $\text{D}_2\text{O}$ del pinitol.....                                                                                                                                                                                                                                                           | 35 |
| Figura 15. Espectro de correlación homonuclear (COSY) del pinitol.....                                                                                                                                                                                                                                                                               | 36 |
| Figura 16. Experimento de correlación heteronuclear (HETCOR) del pinitol.....                                                                                                                                                                                                                                                                        | 37 |
| Figura 17. Ensayo para determinar el posible efecto biológico del pinitol sobre la alimentación de la termita <i>I. marginipennis</i> . A) Prueba con pinitol, B) Control positivo boro C) Control negativo papel solo.....                                                                                                                          | 38 |
| Figura 18. Efecto antialimentario del pinitol A) Curso temporal de alimentación relativa de las termitas B) Porcentaje de alimentación en cada uno de los tratamientos ( $n = 3$ ; unidad experimental = 5).....                                                                                                                                     | 39 |
| Figura 19. A) Curso temporal de Mortalidad relativa de las termitas B) Porcentaje de mortalidad en cada uno de los tratamientos. ( $n = 3$ ; unidad experimental = 5).....                                                                                                                                                                           | 40 |
| Figura 20. Equipo utilizado en la preparación de los extractos acuosos y en la medición de flavonoides y fenólicos totales. A) Molienda de la madera. B) Decocción del polvo para la obtención del extracto acuoso. C) Concentración de los extractos mediante liofilización. D) Determinación del contenido de flavonoides y fenólicos totales..... | 42 |

Figura 21. Equipo utilizado en la realización del arrastre de vapor A) Montaje del arrastra de vapor B) Separación de la fase orgánica, C) Concentración la fase orgánica D) Vial con el aceite esencial de *E. cyclocarpum*.....45

Figura 22. Reflujo en agua para la obtención de extractos de *E. cyclocarpum*, A) Montaje del reflujo, B) Agua recuperada del filtrado y embudo de separación.....46

Figura 23. Reflujo hexánico A) Filtrado del reflujo hexánico, B) Muestra recuperada en vial para enviarse a RMN  $^1\text{H}$ .....47

Figura 24. A) Maceración con hexano de polvo de duramen de *E. cyclocarpum*. B) Muestra recuperada de las maceraciones en vial para RMN  $^1\text{H}$ .....47

Figura 25. Columna utilizada para la purificación del manool.....48

Figura 26. Columna utilizada para la purificación del pinitol.....49

Figura 27. Montaje del ensayo biológico del pinitol contra termitas: A) Termitas con pinitol el primer día, B) Termitas en control positivo con boro C) Termitas en control negativo papel filtro solo.....50

## ÍNDICE DE CUADROS

|                                                                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Cuadro 1. Análisis fitoquímico de <i>E. cyclocarpum</i> .....                                                                                                           | 17 |
| Cuadro 2. Variación del contenido de fenólicos totales en extractos acuosos obtenidos del duramen de <i>E. cyclocarpum</i> proveniente de diferentes localidades.....   | 22 |
| Cuadro 3. Variación del contenido de flavonoides totales en extractos acuosos obtenidos del duramen de <i>E. cyclocarpum</i> proveniente de diferentes localidades..... | 24 |
| Cuadro 4. Variación natural cualitativa de los extractos obtenidos por arrastre de vapor realizados a la madera de duramen de <i>E. cyclocarpum</i> .....               | 31 |
| Cuadro 5. Presencia del manool y 13- <i>epi</i> -manool en extractos obtenidos de la madera de duramen de <i>E. cyclocarpum</i> por maceración con hexano.....          | 32 |
| Cuadro 6. Especificación de las diluciones para realizar las lecturas en el espectrofotómetro.....                                                                      | 44 |

## RESUMEN

La durabilidad natural del duramen de *Enterolobium cyclocarpum* al biodeterioro, es una propiedad de interés para el control de plagas. Se realizaron extractos del duramen de cuatro plantas de *E. cyclocarpum* colectadas en diferentes regiones (residuos de Cuanajo provenientes de estado de Veracruz, Apatzingán, Tacámbaro, Tuzantla los tres ultimas del estado de Michoacán). Mediante los análisis químicos, espectrofotométricos y espectroscópicos de estos extractos se comprobó la variabilidad natural en el contenido de extraíbles. De los extractos obtenidos por arrastre de vapor del duramen colectado en Apatzingán y Veracruz, se identificó y purificó al diterpeno manool, en maceración con hexano de la muestra del duramen colectado en Apatzingan se logró identificar un mezcla de manool y 13-*epi*-manool. Mientras que de los métodos de extracción por decocción se identificó y purificó como componente mayoritario al pinitol (3-metoxi-1, 2, 4, 5, 6-penta hidroxí ciclohexano) producto natural del grupo de los ciclitales. Se demostró que el pinitol no produce toxicidad aguda y que es responsable del efecto antialimentario disuasivo contra la termita de madera seca *Incisitermis marginipennis*.

Fueron identificados por primera vez el pinitol y el manool de la madera de duramen de *E. cyclocarpum*.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las plantas producen una increíble diversidad de metabolitos secundarios, cuya elaboración puede estar influenciada por varios factores externos, tales como las condiciones ambientales predominantes, por ejemplo, la presencia de depredadores, infecciones producidas por parásitos, temperatura del agua, profundidad y niveles nutrientes. También factores internos influyen en la presencia de un metabolito determinado, estos pueden ser; el estado de desarrollo, reproducción, etc. Por lo que debido a estos parámetros cambiantes, el contenido químico a menudo varía, dependiendo de cuándo y dónde son recolectadas.

Una de las explicaciones que puede justificar la vasta diversidad química que reside dentro de la biodiversidad biológica de las especies, es que los organismos necesitan desarrollarse y sobrevivir en un medio muy competitivo por los recursos y los nutrientes, las plantas exitosas en la sobrevivencia han tenido que desarrollar mecanismos bioquímicos y fisiológicos que les permitan producir compuestos bioactivos para múltiples propósitos, tales como; protegerse de enfermedades virales, hongos patógenos y depredadores o para otras funciones como la reproducción y la comunicación (Dixón, 2001). La biodiversidad de las especies vegetales, junto a la diversidad química encontrada en cada una de ellas, constituye un recurso prácticamente ilimitado que puede ser utilizado de forma beneficiosa, a través de la biotecnología, con el fin de desarrollar productos para la agricultura, compuestos farmacéuticos, materiales de investigación médica, enzimas industriales, etc.

Para el hombre, diseñar métodos para el control de plagas e insectos que sean efectivos y sin impacto ambiental negativo, así como económicamente rentables le ha sido difícil. Inicialmente utilizó extractos crudos vegetales y sales minerales hasta llegar a los plaguicidas sintéticos, que hoy en día se han vuelto un

problema de contaminación y deterioro ambiental, una realidad terrible que ha inducido un amplio replanteamiento tecnológico para el control de plagas.

La resistencia natural de la madera contra organismos xilófagos depende principalmente, de las sustancias extraíbles que pueden tener gran poder fungicida o insecticida. Estos componentes corresponden a grupos químicos diferentes y casi siempre son de estructura compleja (Kraemer, 1958). Los compuestos derivados de las plantas pueden ser potencialmente utilizados como plaguicidas. La baja persistencia de los compuestos naturales en el medio ambiente, su especificidad contra ciertos organismos, la reducida o nula toxicidad contra mamíferos y la conservación de otros organismos benéficos hace de estos compuestos una alternativa como agentes de control biológico.

Michoacán como otros Estados de la República Mexicana, cuentan con una basta riqueza vegetal escasamente conocida desde el punto de vista fitoquímico. Por lo tanto, es importante contar con estrategias para la búsqueda de especies vegetales que sean usadas como fuente de productos naturales, en especial plaguicidas y de esta manera contribuir al desarrollo biotecnológico y al mejoramiento del medio ambiente. De ahí que esta alternativa merece mayor atención, como una posibilidad de utilizar extractos naturales contra organismos xilófagos que atacan a la madera seca, elaborados principalmente de madera del duramen de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq) Griseb., el cual ha demostrado tener una alta efectividad contra el ataque de termitas de madera seca *Incisitermis marginipennis* (Latreille) (Isóptera: Kalotermitidae) (Raya y col 2006).

Las termitas son importantes en el reciclaje de materiales muertos de madera y contribuyen a la formación del suelo. Sin embargo las termitas son consideradas una plaga principal en edificios de madera, muebles y plásticos. También ocasionan daños a la madera y productos de madera, plantas forestales y cultivos agrícolas.

Cálculos efectuados indican que el daño por la termita alcanza a los 28.5 millones de dólares tan solo en la Región Metropolitana (Distrito Federal y la Cd de México) de nuestro país (Wiseman y Eggleton, 1994).

Otro ejemplo en Estados Unidos de América un país donde las viviendas en su mayoría son de madera, las termitas afectan cinco veces más casas que los incendios y provocan un daño económico mayor que los tornados, huracanes y tormentas en conjunto, al dañar guardapolvos, pisos, muebles, marcos, puertas, ventanas, vigas, pilares estructurales y decorativos, alfombras, papel mural, libros, ropa, polietileno expandido, yeso y pinturas. El daño económico que causan las termitas sobrepasa los dos billones de dólares anuales en Estados Unidos (Wiseman y Eggleton, 1994).

Se han hecho estudios con extractos de *E. cyclocarpum* (Jacq) Griseb., obtenidos con disolventes orgánicos y se ha reportado que la durabilidad de esta madera se debe principalmente a tropolonas, quinonas y flavonoides presentes en el duramen (Haygreen y Bowyer, 1982; Kraemer, 1958; Zavala, 1996). Mientras que existe escaso conocimiento de los metabolitos secundarios bioactivos solubles en agua obtenidos de la madera seca del duramen de *E. cyclocarpum*. Al respecto se observó que madera de pino impregnada con el extracto acuoso del duramen de *E. cyclocarpum*, fue protegida del ataque de termitas de madera seca *I. marginipennis* en ensayos de alimentación forzada y produjo una muerte del 60 % después de dos meses, se ha sospechado sin llegar a probarlo que tiene propiedades antialimentarias (Inhibidores de la alimentación, aquel compuesto que después de una pequeña prueba, el insecto se deja de alimentar y muere por inanición) (Raya y col., 2005). El extracto acuoso de *E. cyclocarpum* es una alternativa que tiene posibilidad de uso contra organismos xilófagos que atacan a la madera seca, el cual ha demostrado actividad contra el ataque de termitas de madera seca *I. marginipennis* y contra *Lyctus spp* debido a que presenta compuestos con potencial biocida (Raya y col., 2006).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Descripción del género *Enterolobium*

El género *Enterolobium* pertenece a la Familia: *Leguminosae* (*Mimosoideae*). Los árboles se caracterizan en general por no poseer espinas, tienen hojas bipinnadas, con glándulas en el raquis. Flores en cabezuelas pedunculadas, fasciculadas o en racimos cortos, axilares o terminales. Flores pentámeras con los pétalos unidos y numerosos estambres sobresalientes. Fruto en legumbre leñosa, ancha y encorvada en círculo. (Figura 1).



Figura 1. Flor fruto y hojas del género *Enterolobium*

Algunos autores (Allies y Barney, 1996) mencionan el género *Enterolobium* lo componen 11 especies: *E. barinense*, *E. barnebianum*, *E. contortisiliquum*, *E. cyclocarpum*, *E. glauziovii*, *E. gumminferum*, *E. maximum*, *E. monjollo*, *E. oldemanii*, *E. schomburgkii*, *E. timbauva*. Sin embargo, en una página de internet ([zipcodezoo.com](http://zipcodezoo.com)); consideran hasta 23 especies: *E. barinense*, *E. barnebianum*, *E. barnebyanum*, *E. barnebianum*, *E. blanchetii*, *E. contortisiliquum*, *E. contortisiliquum*, *E. cyclocarpum*, *E. ellipticum*, *E. glaziovii*, *E. grandifolium*, *E. gummiferum*, *E. mangense*, *E. maximum*, *E. monjollo*, *E. oldemanii*, *E. parvifolium*, *E. polycéphala*, *E. saman*, *E. schomburgkii*, *E. schomburgkii* var. *glaziovii*, *E. schomburgkii* var. *Schomburgkii*, *E. timbouva*. Distribuidas en América Tropical.

En una búsqueda en Internet encontramos que en México solo se han reportado dos especies: *E. schomburgkii* y *E. cyclocarpum*.

## 2.2. Descripción general de *Enterolobium schomburgkii*

Nombre botánico: *Enterolobium schomburgkii*

Orden: Fabales.

Familia: Leguminosae (Mimosaceae).

Género: *Enterolobium*

Especie: *schomburgkii*

Sinonimia: *Feuilleea schomburgkii* (Benth.) Kuntze; *Mimosa wilsonii* Standley; *Pithecellobium schomburgkii* Benth

### 2.2.1. Nombres Comunes

Corotú de montaña, dormilón, harino, guábilo, zarza, jarino.

### 2.2.2. Descripción

Árbol de 20 a 35 m de altura y de 50 a 100 cm de diámetro. Tronco recto y cilíndrico. Corteza exterior gris o amarillenta. Hojas bipinnadas y alternas, con 10 a 28 pares de pinnas, opuestas o subopuestas. Pinnae con 40 a 60 pares de folíolos pequeños, de 3 a 6 mm de largo y de 0.5 a 1 mm de ancho, oblongos, con ápice agudo o redondeado, bordes enteros y base redondeada. Pecíolos de 1.5 a 3 cm de largo y pulvinados en la base, con una glándula en la parte media superior. Raquis con glándulas entre los pares de pinnae (figura 2B). Flores blancas y agrupadas en cabezuelas globulares (figura 2B). Frutos en legumbres reniformes, de 12 a 18 cm de largo, a veces en forma de una "oreja humana", verdes, tornándose marrón rojizo al madurar (figura 2A). Deja caer totalmente sus hojas durante la estación seca, pero las repone a inicios de la estación lluviosa. Florece

y fructifica de marzo a mayo. Por el parecido de las hojas, las flores y los frutos se puede confundir con *E. cyclocarpum* pero este árbol crece en pastizales y sabanas en áreas secas y los frutos son de mayor tamaño. La especie crece a bajas elevaciones, en climas húmedos Bolivia, Brazil, Colombia, Costa Rica, Guyana Francesa, Guyana, México, Nicaragua, Panamá, Peru, Surinam, Venezuela (Croat, 1978) (figura 2C).

### 2.2.3. Usos

Madera empleada en la elaboración de tableros decorativos, carpintería de interiores, ebanistería, cajas, postes de cercas, leña, pulpa de papel y en la fabricación de botes. El fruto es comestible para el ganado.

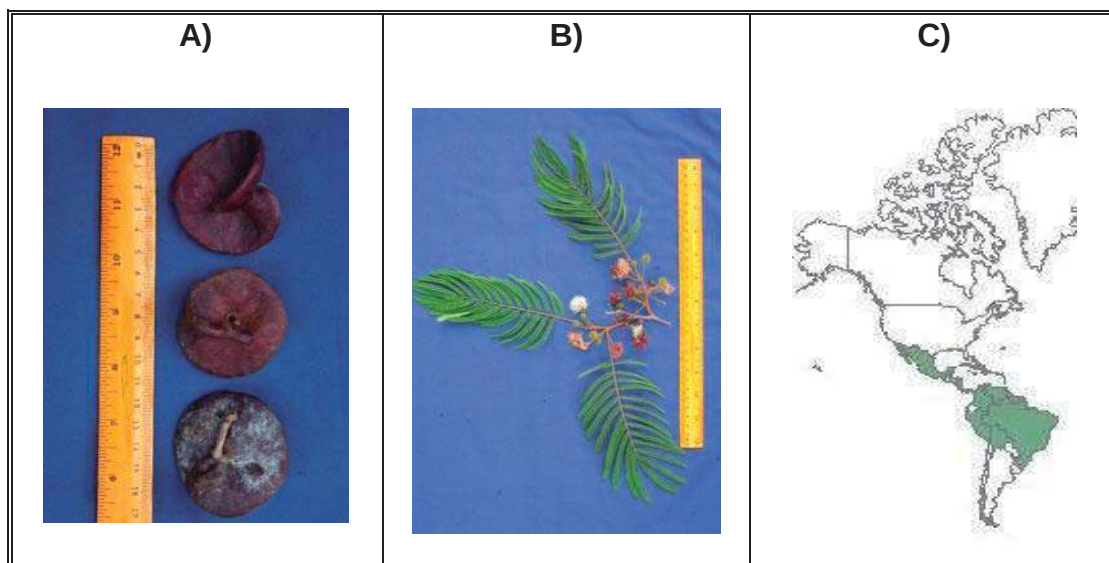


Figura 2. *E. schomburgkii*. A) Fruto, B) Hoja y flor (webatlas/findinfo), C) Distribución (Ildis.org).

### 2.3. Descripción general de *Enterolobium cyclocarpum*

Nombre botánico: *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq). Griseb.

Orden: Fabales.

Familia: Leguminosae (Mimosaceae).

Género: *Enterolobium*

Especie: *cyclocarpum*.

Sinonimia: *Albizia longipes* britton y Killip; *Feuilleea cyclocarpa* (Jacq.) Kuntze; *Inga cyclocarpa* (Jacq.) Willd.; *Mimosa ciclocarpa*, (Jacq). *Mimosa cyclocarpa*, (Jacq). *Mimosa parota* Sessé y Moc.; *Pithecellobium cyclocarpum* (Jacq.) Mart.; *Prosopis dubia* Kunth.

### 2.3.1. Nombres comunes

Dependiendo de la región es conocido con diferentes nombres, en Michoacán, Jalisco, Guerrero y Oaxaca es conocido con el nombre de parota; en San Luis Potosí, se le dan los nombres de orejón, týohu y nacascuahuitl; en Sinaloa: huanacastle y huinecaastle; en Tamaulipas se le llama cascabel y cascabel sonaja, en Veracruz lo nombran cuytátsuic, nacastle y orejón; en Oaxaca se le conoce como aguacaste, lash-matz-zi, ma-ta-cua-tze, mo-cuadzi, mo-ñi-no, ya-chibe; en Tabasco se le llama charamusquillo y picho; este último nombre también lo recibe en Chiapas y en Yucatán se conoce con el nombre de pich (Pennington y Sarukhán, 1968; Corral, 1985). En Guatemala se le conoce como conacaste, anjera en Colombia, caro hembra en el Salvador, árbol de las orejas en Cuba (Standley, 1922). En Costa Rica es considerado como árbol nacional. Y existe una población llamada Guanacastle en alusión a esta especie.

### 2.3.2. Características morfológicas de la especie

Es un árbol grande y llamativo, caducifolio, de 20 a 30 m (hasta 45 m) de altura, con un diámetro a la altura del pecho de hasta 3 m de copa hemisférica. El follaje es abundante, dando a la amplia copa una forma más ancha que alta. Libre de competencia por luz, puede alcanzar grandes diámetros. Hojas bipinnadas con 4 a 15 pares de pinnas opuestas, miden de 15 a 40 cm de largo; folíolos numerosos (15 a 30 pares por pinna) de color verde brillante que se pliegan durante la noche. De tronco derecho y a veces con pequeños contrafuertes en la

base. Ramas ascendentes. Su corteza externa es lisa a granulosa y a veces ligeramente fisurada, gris clara a gris pardusca, con abundantes lenticelas alargadas, suberificadas, dispuestas longitudinalmente. Grosor: 2 a 3 cm. Sus flores van en pequeñas cabezuelas pedunculadas axilares, de 1.5 a 2 cm de diámetro, sobre pedúnculos de 1.5 a 3.5 cm de largo. Flores actinomorfas, cáliz verde y tubular; corola verde clara, de 5 a 6 mm de largo, florece de febrero a junio.



Figura 3. Árbol de *E. cyclocarpum* localizado en Nueva Italia Michoacán.

La morfología del fruto de la especie consiste en una vaina circular indehisciente, de 7 a 15 cm de diámetro, aplanada y enroscada, leñosa, moreno oscura, brillante, de sabor dulce. Contiene de 5 a 20 semillas. Las semillas son grandes, ovoides y aplanadas, de 2.3 por 1.5 cm, morenas y brillantes con una línea pálida con la forma del contorno de la semilla, rodeadas por una pulpa esponjosa y fibrosa de olor y sabor dulce. Presentan una testa extremadamente dura que impide la germinación hasta que una modificación estructural permita la hidratación del embrión. Los frutos maduran durante abril y julio. Su raíz es un sistema radical extenso y profundo. Presenta sexualidad hermafrodita. Con un número cromosómico:  $2n = 26$  (Gómez, 1966).



Figura 4. Hoja y fruto de *E. cyclocarpum* (webatlas/findinfo).

### 2.3.3. Distribución de la especie

Se encuentra ampliamente distribuida en la vertiente del Golfo desde el sur de Tamaulipas hasta la Península de Yucatán, y en la vertiente del Pacífico desde Sinaloa hasta Chiapas. Se desarrolla en regiones costeras del país y a lo largo de ríos y arroyos. Su hábitat propicio es de baja elevación (por debajo de los 500 msnm). Presenta su mejor desarrollo en los suelos conocidos como vertisol pélico y vertisol gleyco (FAO). Suelos: arenoso-arcilloso, arenoso. Se encuentra en zonas de vegetación perturbada en selvas altas perennifolias y medianas subperennifolias al parecer en asociaciones primarias de selvas medianas subcaducifolias y caducifolias (Pennington y Sarukhán 1968).



Figura 5. Distribución en América de *E. cyclocarpum* (Francis 1988).

### 2.3.4. Aspectos Históricos

El nombre vernáculo de “parota” procede de las regiones calientes de México cerca de Coahuayana, Michoacán (Mc Vaugh 1987). Su nombre científico proviene de Griego *Entero* = “intestino”, *Lobium* = “lóbulo”, kiklos = “circulo” y karpus = “fruto”, en referencia al a forma semicircular de la vaina (Allen y Allen 1981).

Primeramente descrito en 1809 con el nombre científico de *Mimosa cyclocarpa*, hasta que los Británicos Jacq y Griseb botánicamente lo denominaron como *Enterolobium cyclocarpum*, a pesar de ello en la Nueva España en 1887 aun se le conocía como *M. parota* (Standley, 1922). Este árbol tiene un efecto restaurador en terrenos degradados, controlando la erosión, fijando nitrógeno, presenta además un efecto ornamental por sus enormes copas y hermoso follaje, es una especie maderable de gran valor artesanal por su dureza y resistencia al daño por las termitas.

### 2.3.5. Usos

La madera seca de duramen de esta especie presenta gran durabilidad, es fácil de trabajar, de importancia artesanal, con ella se elaboran juguetes y artículos torneados. Se utiliza también en la construcción rural. Además el duramen es muy apreciado en la ebanistería, para fabricación de canoas y embarcaciones ligeras por ser muy resistente al agua, en la fabricación de muebles, duelas, utensilios de cocina y en acabados de interiores. La leña obtenida de este árbol, tiene un poder calórico de 18,556 kJ/kg, lo que la ubica como una especie recomendada como fuente energética. Los frutos maduros contienen un jugo gomo-resinoso el cual tiene varios usos, por ejemplo, mezclado con la pulpa del mismo previamente macerada sirve para fabricar aglomerados de carbón. En algunos sitios se consumen las semillas en salsas y sopas y como

sustituto de café. La corteza, semilla y fruto se utilizan como curtientes de pieles. Las semillas contienen 36 % de proteína. Se emplean como forraje y complemento alimenticio para ganado bovino, porcino, caprino y equino. Se aprovecha mediante ramoneo y corte de ramas.

### **2.3.6. Uso en la medicina tradicional**

La corteza y vainas se usan en infusiones para curar el salpullido; es depurativa. Los frutos verdes son astringentes y se utilizan en casos de diarrea. La goma que exuda el tronco se usa para tratar la bronquitis, resfriados y hemorroides (González 1942; Mendieta y del Amor 1984). Jarabe de corteza para combatir resfriados (Brook 2000). El foliar disminuyó la población de protozoos ruminales y aumentó la presencia de hongos en ganado bovino (Rosales y col 1989; Navas-Camacho y col 1993).

### **2.3.7. Fitoquímica de *E. cyclocarpum***

La composición química del duramen, ha sido poco estudiada. Raya y col (2006) reportan como componentes para la madera de duramen aceites esenciales, fenólicos, terpenos y acetofenonas, con efecto biológico antialimentario y antibacteriano. Otro dato importante reportado por Raya y col. (2007) fue con respecto al extracto acuoso de *E. cyclocarpum* en el cual se describe que el compuesto mayoritario encontrado en el extracto acuoso corresponde a un ciclitol. Otros componentes se mencionan en el cuadro 1 así como su órgano fuente y efecto biológico.

Cuadro 1. Análisis fitoquímico de *E. cyclocarpum*.

| Producto vegetal                                                                                                                                                                    | Órgano fuente      | Efecto biológico                 | Referencia                                                              |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Líquido viscoso aglutinante                                                                                                                                                         | Vainas frescas     | Aglutinante y emulsificante      | Espejel y Martínez, 1979                                                |
| Extracto hexánico                                                                                                                                                                   | Corteza            | Fungitóxico                      | Rutiaga, 1995                                                           |
| Ác. 2,3-diamino propiónico                                                                                                                                                          | semilla            |                                  | Gmelin, 1959                                                            |
| Saponinas triterpénicas                                                                                                                                                             | Pulpa y cáscara    | Ictiotóxicas y bactericidas      | Domínguez y Franco, 1979                                                |
| Galactosa, arabinosa, glucosa rhamnosa, ac. glucurónico                                                                                                                             | Goma del tronco    |                                  | De Pinto y col., 1986, 1994; Serrato, 1989                              |
| Inhibidores de tripsina, glucósidos cianogénicos, saponinas                                                                                                                         | Semillas y follaje | Biocida                          | Sotelo y col. 1978, 1980; Aguilar y Zolla, 1982                         |
| Treonina, lisina, leucina, valina, asparagina, glutamina, serina, histidina, glicina, arginina, alanina, tirosina, metionina, valina, fenilalanina, isoleucina, luecina, triptofano | Semillas           | Alimentario                      | Giral y Echegoyen, 1949; Massiu y Cravioto, 1950; Serratos Avalos 1989. |
| Ac. lionoléico, ac. oleico, ac. palmítico, ac linolénico                                                                                                                            | Semillas           | Alimentario                      | Ezeagu, 1998                                                            |
| Hierro, Calcio, Fósforo, ac. ascórbico                                                                                                                                              | Vaina madura       | Alimentario                      | Espejel y Martínez, 1979                                                |
| Albúminas, globulinas, prolaminas, glutelinas-1,                                                                                                                                    | Semilla            | Alimentario                      | Serratos Avalos, 2001.                                                  |
| Aceites esenciales, fenólicos, terpenos, acetofenonas                                                                                                                               | Madera de Duramen  | Antialimentario, antibacteriano. | Raya Gonzáles y col., 2006.                                             |
| Extracto acuoso                                                                                                                                                                     | Madera de Duramen  | Inhibición de enzimas            | Espinoza Madrigal 2008                                                  |

### 2.3.8. Antecedentes biocidas del extracto acuoso de *E. cyclocarpum*

El extracto acuoso de *E. cyclocarpum* es una alternativa que tiene posibilidad de uso contra organismos xilófagos que atacan a la madera seca, el cual ha demostrado actividad contra el ataque de termitas de madera seca *I. marginipennis* y contra *Lyctus spp* debido a que contiene compuestos con potencial biocida (López Villalobos 2006; Raya y col., 2006).

Se han hecho estudios con extracto acuoso del duramen de *E. cyclocarpum*, sometido al ataque de termitas de madera seca *I. marginipennis* en ensayos de alimentación forzada, se ha sospechado sin llegar a probarlo que tiene propiedades antialimentarias (Raya y col., 2005; López 2006).

Las especies madereras tropicales producen metabolitos que las protege contra el biodeterioro y que les dan una durabilidad natural, como ejemplo, la madera de teca (*Teutona grandis*) ampliamente utilizada en la construcción de embarcaciones por su resistencia, estabilidad y durabilidad que le confiere una sustancia con actividad antitérmes llamado tectoquinona (Rudman 1960).

Este trabajo muestra un esfuerzo para hacer un planteamiento en el control de algunas plagas mediante la exploración de las propiedades biocidas de la especie arbórea, *E. cyclocarpum*, así como aumentar la información referente a la composición química de ésta especie.

### 3. JUSTIFICACIÓN

El uso indiscriminado de pesticidas y fármacos sintéticos ha generado varios efectos tóxicos en el ambiente, en los organismos y en plagas indujo resistencia a fungicidas, insecticidas y herbicidas (Devonshire y Field, 1991,, Wang y Zhao, 2003). La habilidad natural de las plantas para producir metabolitos secundarios que le ayudan en la defensa contra depredadores o plagas y en la comunicación con su entorno, es una fuente inagotable de compuestos químicos que pueden ser utilizados como moléculas con propiedades farmacológicas con posibilidad de desplazar a fármacos y plaguicidas sintéticos. Estos metabolitos secundarios vegetales deberán tener una gran capacidad biocida de amplio o estrecho espectro de acción, ser eco-amigables de rápida degradación y que además puedan actuar con nuevos mecanismos de acción farmacológica, para que sean capaces de reemplazar a los existentes en el mercado.

Debido a que en el extracto acuoso se ha probado la efectividad contra las termitas de madera seca, es interesante purificar los compuestos químicos mayoritarios de este extracto y probarlos directamente contra las termitas de madera seca *Incisitermes marginipennis*. Se encontró un dato reciente referente a la composición química de este extracto, Raya y col., (2007) identificaron por medio de estudios de resonancia magnética al pinitol como el componente mayoritario de *E. cyclocarpum*, un metabolito considerado como un promotor del crecimiento microbiano.

Estas observaciones nos indujeron a extraer y purificar a los componentes mayoritarios del extracto acuoso de madera de duramen de *E. cyclocarpum*.

#### 4. HIPÓTESIS

Los componentes puros mayoritarios de *Enterolobium cyclocarpum* son los responsables del efecto antialimentario contra las termitas de madera seca *Incisitermes marginipennis*.

#### 5. OBJETIVOS

**Objetivo general.-** Extraer, separar, purificar, identificar y probar el componente mayoritario del extracto acuoso, de *E. cyclocarpum* contra la termita de madera seca *I. marginipennis*.

**Objetivo particular 1.** Obtención de los extractos de *E. cyclocarpum*.

**Objetivo particular 2.** Demostrar la variabilidad natural de cuatro plantas de *E. cyclocarpum* colectadas en diferentes regiones.

**Objetivo particular 3.** Purificación del componente mayoritario del extracto acuoso de *E. cyclocarpum*.

**Objetivo particular 4.** Probar el componente mayoritario de *E. cyclocarpum* contra termitas de madera seca *I. marginipennis*.

## 6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 6.1. Variación biológica.

Los componentes extraíbles de una planta pueden variar en individuos de la misma especie y en la misma planta de acuerdo a muchos factores, época del año, características del suelo (Vázquez y col. 1987, Rivero. 2006). Para conocer la variación en el contenido de los extraíbles del duramen de *E. cyclocarpum*. Se tomaron como indicadores de variación natural al contenido de fenoles, flavonoides y terpenoides. Se procedió a hacer el análisis al duramen de cuatro árboles obtenidos en cuatro diferentes localidades como fueron: residuos de Cuanajo provenientes del estado de Veracruz, El poblado los Charcos Municipio de Apatzingán, Tuzantla y localidad “El Copalito”, del Municipio de Tacámbaro. Los ejemplares se sometieron a secado bajo sombra a temperatura ambiente y posteriormente fueron molidas.

Las muestras fueron procesadas mediante diferentes métodos de extracción, como: Decocción, maceración en frío con disolventes de diferente polaridad, arrastre de vapor, reflujo. Los extractos obtenidos fueron analizados para observar la composición química y de ésta manera poder demostrar la variabilidad natural.

#### 6.1.1. Determinación de fenólicos totales

Primeramente se realizó el método de decocción en agua desionizada a ebullición durante 20 minutos, los extractos fueron liofilizados y se les determinó la concentración de fenoles totales equivalentes mediante el método espectrofotométrico citado por Swain y Hillis (1959). Los compuestos fenólicos se oxidan por el reactivo Folín-Ciocalteu el cual está formado por mezcla de ácido fosfotúngstico ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) y ácido fosfomolibdico ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) que se reduce, por acción de fenoles, en una mezcla de óxidos azules de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y de

molibdeno ( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ). Para lo cual se realizó una curva de calibración, utilizando el ácido *p*-cumárico como referencia (figura 6).

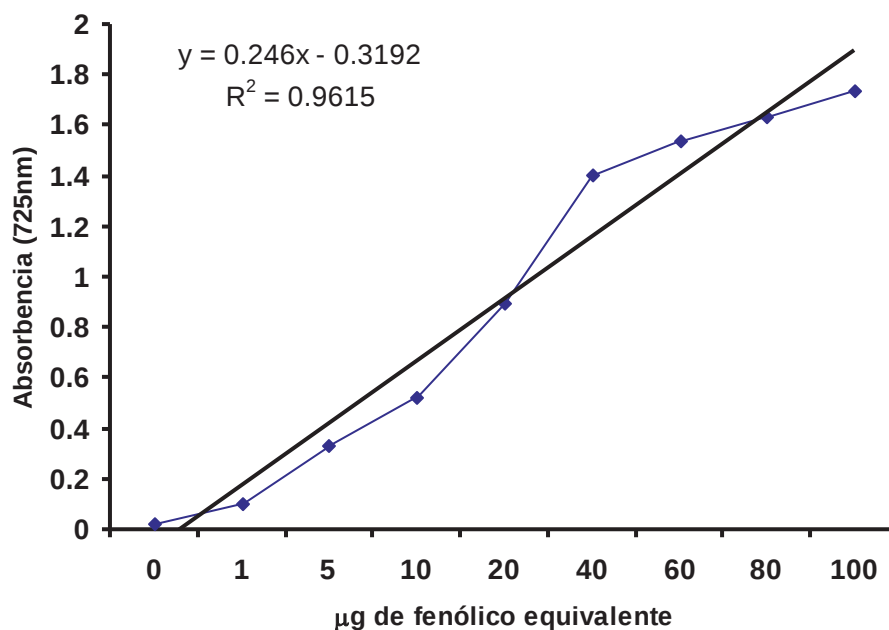


Figura 6. Curva de calibración para determinar la cantidad de fenólicos totales equivalentes a ácido *p*-cumárico en el extracto acuoso

Una vez obtenida la curva de calibración se determinaron los fenoles totales a las cuatro muestras obtenidas por el método de decocción, encontrándose los siguientes resultados.

Cuadro 2. Variación del contenido de fenólicos totales en extractos acuosos obtenidos del duramen de *E. cyclocarpum* proveniente de diferentes localidades.

| Localidad  | Concentración de fenólicos (mg/ml) |
|------------|------------------------------------|
| Apatzingán | $0.360 \pm 0.00953$                |
| Tacámbaro  | $0.770 \pm 0.0243$                 |
| Tuzantla   | $0.308 \pm 0.0169$                 |
| Veracruz   | $0.540 \pm 0.0252$                 |

Cabe mencionar que para estas determinaciones se realizaron diluciones (ver materiales y métodos) se determinó su absorbencia y se ajustaron las lecturas con la ecuación de regresión lineal.

Como se puede apreciar en el Cuadro 2 la concentración de los fenoles totales difiere en cada una de las muestras analizadas, un indicador que demuestra una variación natural en el contenido de estos extraíbles con agua.

### 6.1.2. Determinación de flavonoides totales

Para fortalecer la evidencia de esta variabilidad natural se procedió a realizar la determinación de flavonoides por el método de Zhishen y col 1999. para lo cual fue necesario realizar una curva de calibración utilizando la naringina como referencia. (Figura 7).

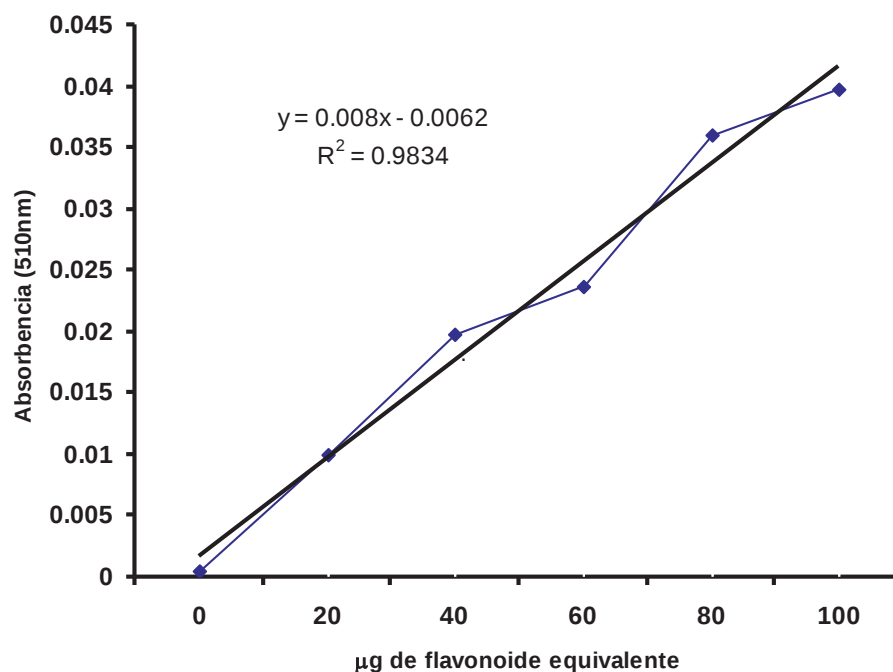


Figura 7. Curva de calibración para determinar la cantidad de flavonoides totales equivalentes a naringina en el extracto acuoso

Nuevamente se realizaron diluciones (ver materiales y métodos) y se ajustaron mediante la ecuación de regresión lineal. Obteniéndose los siguientes resultados.

Cuadro 3. Variación del contenido de flavonoides totales en extractos acuosos obtenidos del duramen de *E. cyclocarpum* proveniente de diferentes localidades.

| Localidad  | Concentración de flavonoides (mg/ml) |
|------------|--------------------------------------|
| Apatzingán | 11.62 ± 0.00326                      |
| Tacámbaro  | 12.4 ± 0.00666                       |
| Tuzantla   | 19.4 ± 0.00776                       |
| Veracruz   | 8.25 ± 0.0255                        |

Se observó una pequeña variación en la concentración total de flavonoides.

### 6.1.3. Extracción por reflujo

Se realizaron otro tipo de extracciones como fue la de reflujo con agua durante cuatro horas. Transcurrido este tiempo, se dejó enfriar y se extrajo con diclorometano, la fase acuosa fue liofilizada y analizada por resonancia magnética nuclear de hidrógeno. Teniéndose los siguientes resultados (Figura 8), donde solo se muestra la comparación de las muestras de Apatzingán y Tuzantla.

Analizando ambos espectros se puede observar una diferencia en las siguientes regiones: de 0.4 a 2.8 ppm, así como de 4.8 a 6.4 ppm, estas zonas corresponden a los compuestos alifáticos tipo terpenoides insaturados. (Figura 8).

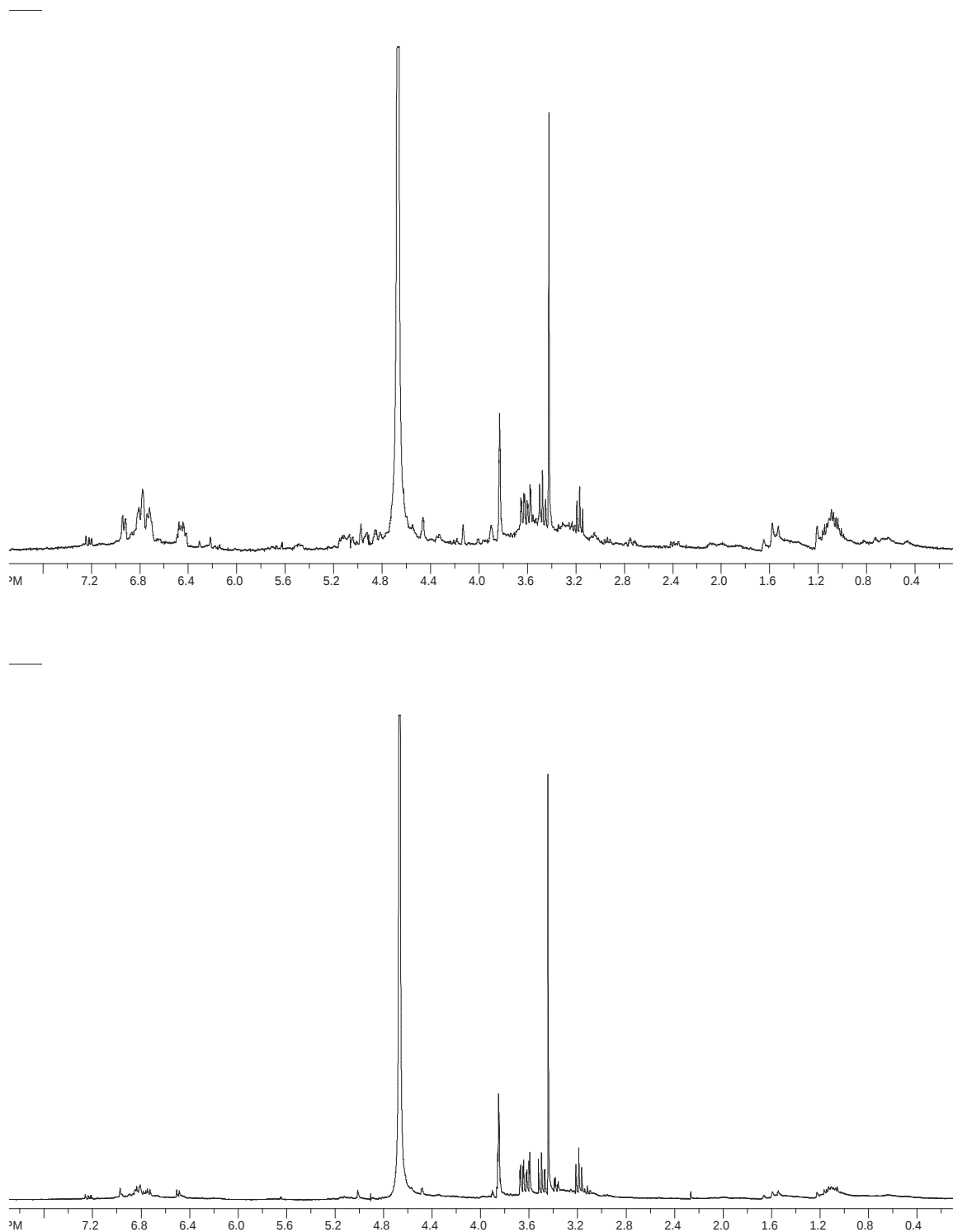


Figura 8. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  en  $\text{D}_2\text{O}$  a 400 MHz del extracto acuoso del duramen de *E. cyclocarpum* talado en Apatzingán (trazo superior). Espectro de RMN  $^1\text{H}$  del extracto acuoso del duramen *E. cyclocarpum* talado en Tuzantla (trazo inferior).

Mediante este análisis pudimos ver que estos resultados están en concordancia con los obtenidos por el método de la determinación de fenoles y flavonoides totales y demuestra que existe una variabilidad natural en la composición química en las especies de *E. cyclocarpum* colectadas en cuatro diferentes localidades, siendo tres de ellas en Michoacán y otra en Veracruz.

#### 6.1.4. Extracción por arrastre de vapor

Para cumplir con los objetivos planteados en el presente trabajo y después de analizar los resultados obtenidos por los métodos de extracción anteriores, se procedió a realizar las extracciones por arrastre de vapor y obtener los aceites esenciales.

La extracción por arrastre de vapor se realizó durante 5 horas, posteriormente al destilado se le realizó una extracción con cloruro de metileno, la fase orgánica fue evaporada y analizada mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, observándose en el espectro de masas un ion molecular de 290 uma cuyo análisis en el banco de datos nos indicó que se podría tratar de un diterpeno tipo manool (figura 9), por lo que se procedió a realizar un estudio por resonancia magnética nuclear de hidrógeno, comprobándose la presencia del diterpeno con alguna impurezas. Se sometió a purificación mediante una cromatografía en columna de la siguiente manera: se montó la columna de 1 cm de diámetro con 3 g de gel de sílice utilizándose como eluyentes: hexano, acetato de etilo y mezclas de ambos en orden creciente de polaridad. Se colectaron 57 fracciones de 5 ml. De las fracciones 12 y 13 obtenidas con la polaridad de Hexano-AcOEt 95:5 se obtuvo un sólido blanco que por análisis de RMN de  $^1\text{H}$  mostró ser el manool (Figura 10). En 5.91 ppm se observó una señal doble de dobles con  $J_{trans}=17.4$  y  $J_{cis}=10.8$  Hz señal característica de un protón vinílico con acoplamientos *cis* y *trans* correspondiente al H-14; en 5.21 ppm se observó una señal doble de dobles con un acoplamiento

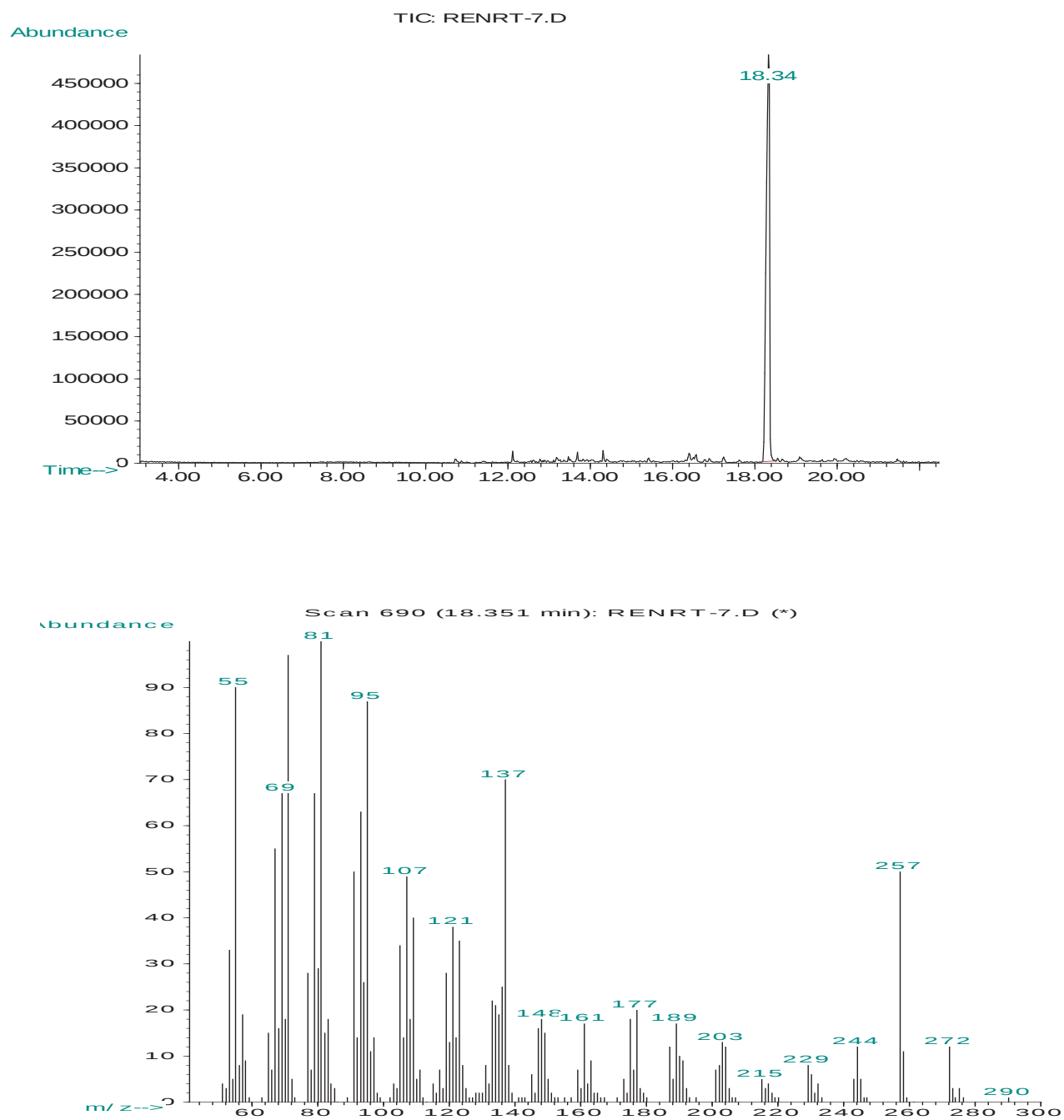
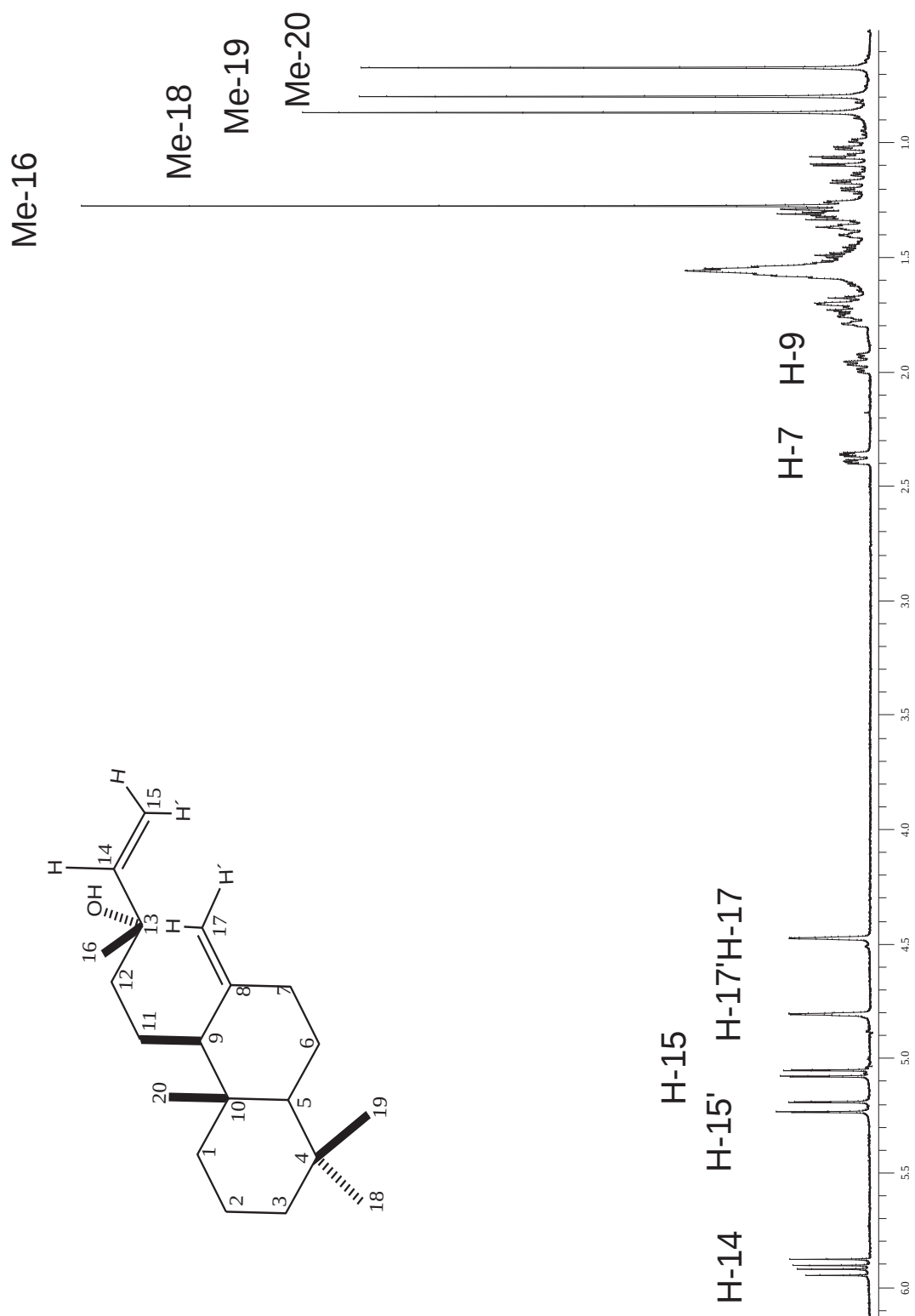


Figura 9. Cromatograma (trazo superior) y espectro de masas (trazo inferior) del manool.

Figura 10. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  del manool

*trans* de 17.4 Hz y un acoplamiento *gem* de 1.3 Hz correspondiente al H-15'. La señal del H-15 se observó en 5.06 ppm como una señal doble de doble con  $J_{cis}=10.8$  Hz y una  $J_{gem}=1.3$  Hz. En la región de los protones vinílicos se observaron otras dos señales en 4.37 y 4.80 ppm como señales simples anchas correspondientes a los hidrógenos del metileno exocíclico H-17 y H-17'. Las señales de los metilo 18, 19 y 20 se observaron en 0.87, 0.79 y 0.67 ppm como señales simples cada una. Mientras que la señal del metilo 16 se encontró en 1.27 como una señal simple; el resto de las señales del esqueleto se encuentran entre 2.4 y 1.0 ppm.

El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (figura 11) del manool fue idéntico con el reportado en la literatura Bruckwalter y col (1975). Las señales de los carbonos vinílicos 8, 14, 15 y 17 se observaron en 148.79, 145.17, 111.60 y 106.31 ppm respectivamente. La señal del carbono 13 base del alcohol se observó en 73.67 ppm. En 28.03 ppm se observó la señal del metilo 16.

La comparación de los datos por resonancia magnética nuclear tanto de hidrógeno como carbono 13, permitieron descartar la posibilidad de que el compuesto correspondiera al diasterómero 13-*epi*-manool. Los desplazamientos de los carbonos 13 y 16 fueron fundamentales. Así como el desplazamiento del hidrógeno H-17 y el metilo 16, en el espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno.

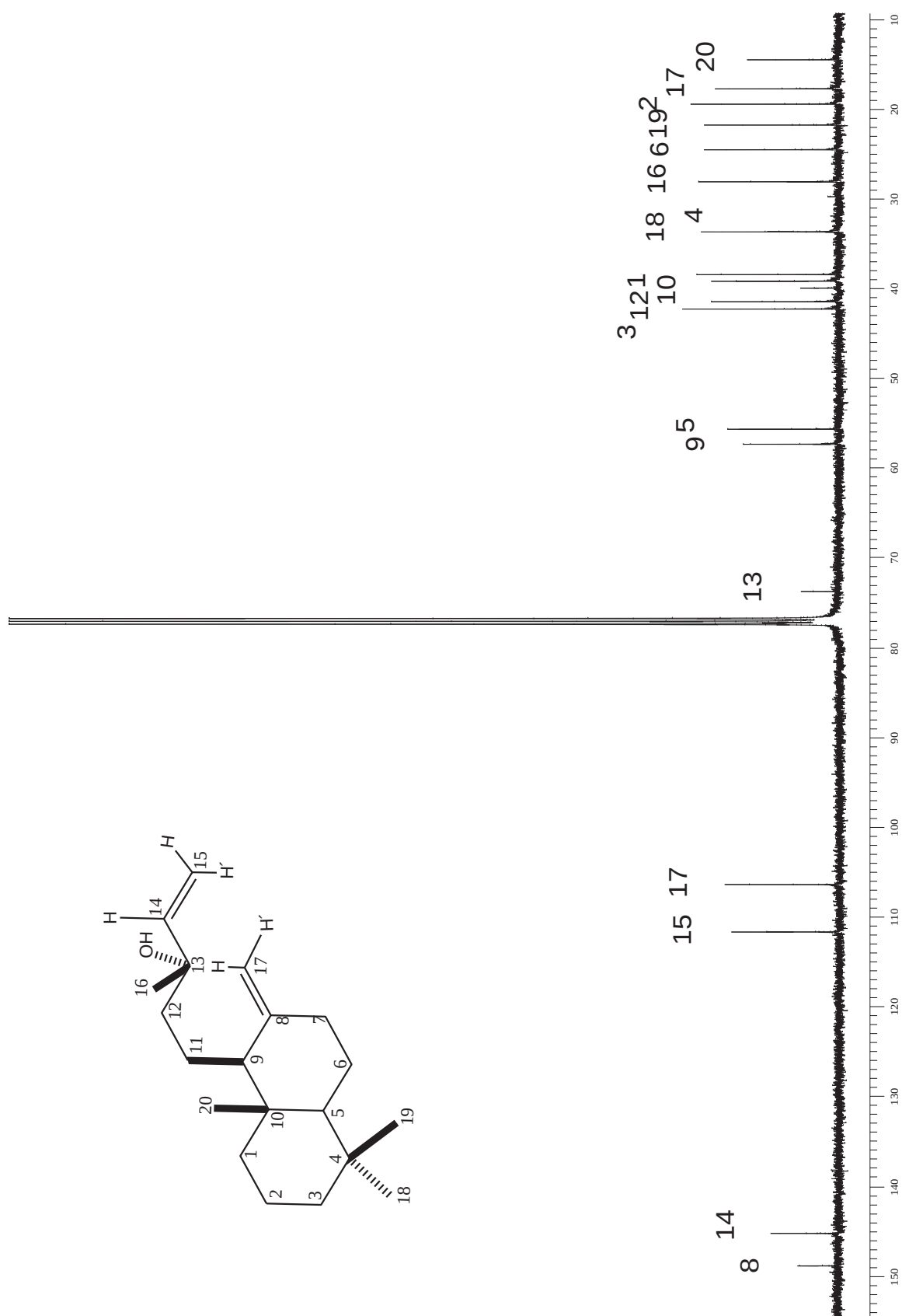


Figura 11. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$  del manolol

Al igual que en las extracciones anteriores, no se encontraron los mismos componentes en las diferentes plantas analizadas. Los resultados se muestran en el siguiente cuadro.

Cuadro 4. Variación natural cualitativa de los extractos obtenidos por arrastre de vapor realizados a la madera de duramen de *E. cyclocarpum*

| Localidad  | Diterpenos mayoritarios |
|------------|-------------------------|
| Apatzingán | manool                  |
| Tacámbaro  | negativo                |
| Tuzantla   | negativo                |
| Veracruz   | manool                  |

La cantidad obtenida de manool fue muy baja, por lo cual se procedió a realizar otro tipo de extracción como fue la maceración en frío con hexano, ya que por medio de este tipo de extracción también es posible obtener compuestos tipo terpenoides.

#### 6.1.5. Maceración en frío y a reflujo con hexano.

Se procedió a dejar en maceración con hexano durante tres días a temperatura ambiente, transcurrido este tiempo se concentró en el rotavapor el hexano, al residuo se le realizó un análisis por resonancia magnética nuclear, observándose nuevamente la presencia del manool, en la muestra de Veracruz y en la de Apatzingán se detectó una mezcla de 13-*epi*-manool y manool.

La extracción a reflujo con hexano durante cuatro horas arrojó resultados similares que la maceración en frío.

Cuadro 5. Presencia del manool y 13-*epi*-manool en extractos obtenidos de la madera de duramen de *E. cyclocarpum* por maceración con hexano.

| Localidad  | Diterpeno mayoritario           |
|------------|---------------------------------|
| Apatzingán | manool + 13- <i>epi</i> -manool |
| Tacámbaro  | negativo                        |
| Tuzantla   | negativo                        |
| Veracruz   | manool                          |

La concentración de manool obtenida por este método, fue muy baja por lo que no se pudieron realizar ensayos biológicos contra termitas con este compuesto.

#### 6.1.6. Extracción acuosa

Con la finalidad de aislar el componente mayoritario del extracto acuoso obtenido por decocción por 20 minutos. Se tomaron 50 mg del liofilizado y se sometieron a una cromatografía en columna utilizando 3 g sílica gel 70-230 mallas, una columna de vidrio de 1 cm de diámetro. Como fase móvil para el empacamiento se utilizó hexano. Una vez aplicados los 50 mg de muestra se inició la elusión en orden creciente de polaridad, utilizándose como disolvente al hexano, acetato de etilo, metanol y mezcla de estos en distintas proporciones. Se colectaron 134 fracciones de 5 ml. Del análisis del espectro de RMN de  $^1\text{H}$  en piridina deuterada (Figura 12), de las fracciones eluidas con AcOEt-MeOH 8:2 (fracciones 51-61) se pudo identificar que correspondían a un ciclitol, ya que se observan señales en la región de los protones bases de oxígeno (3.80-4,50 ppm) y la señal para un grupo metoxilo.

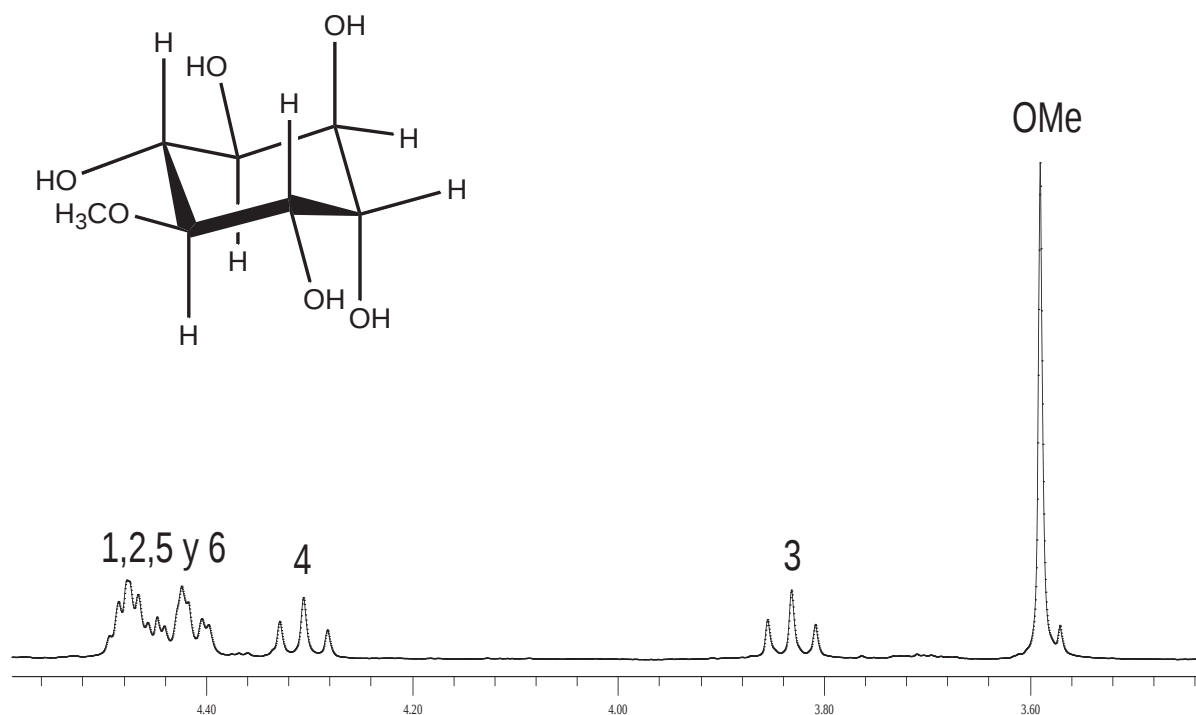


Figura 12. Espectro de RMN <sup>1</sup>H en piridina-d<sub>5</sub> a 400 MHz de las fracciones cromatograficas 51-61

El espectro de <sup>13</sup>C (Figura 13) nos confirmó la existencia de un ciclitol ya que se observaron en la región de 72 a 75 ppm, cinco señales de carbonos bases de alcohol y en aproximadamente 61 ppm se observó la señal de un metoxilo. Estos datos fueron idénticos a los reportados por Misra (2004) para el pinitol.

Se le determinó la rotación específica obteniéndose un valor positivo,  $[\alpha]_D = +67^\circ$  donde se puede decir que se obtuvo el (+)-Pinitol.

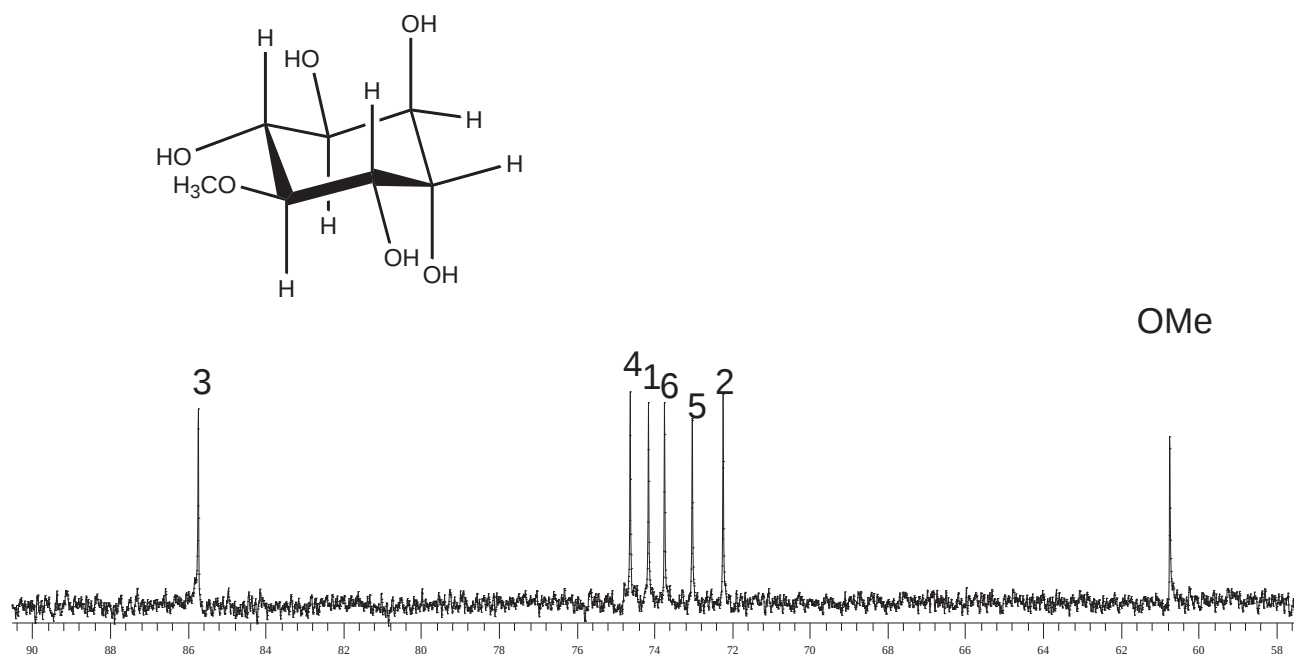


Figura 13. Espectro de RMN <sup>13</sup>C en piridina-d<sub>5</sub> a 100 MHz de las fracciones comatograficas 51-61.

Como en el espectro de RMN <sup>1</sup>H en piridina se observa una sobreposición de señales se procedió a realizar estos espectros en D<sub>2</sub>O, para ver si se lograban separar estas señales y poder llevar a cabo la asignación de las mismas.

El espectro de RMN <sup>1</sup>H en D<sub>2</sub>O (figura 14) mostró en 3.19 ppm una señal doble de dobles con J = 9.53 Hz y J = 9.79 Hz correspondiente al H-3, en 3.43 ppm se observó una señal simple correspondiente a un metoxilo. En 3.50 ppm se observó otra señal doble de dobles con J = 9.53 y J = 9.98 Hz correspondiente a H-4. La señal del protón cinco se observó como una señal doble de dobles con J = 9.98 Hz por su acoplamiento *trans* di-axial con H-4 y una J = 2.60 Hz por su acoplamiento axial ecuatorial con H-6. En 3.66 ppm se observó otra señal doble

de dobles con  $J = 9.79$  Hz correspondiente a un acoplamiento *trans* di-axial de H-2 con H-3 y una  $J = 2.60$  Hz del acoplamiento axial-ecuatorial de H-2 con H-1. Las señales de los hidrógenos 1 y 6 se encuentran sobrepuestos en 3.85 ppm se observan como una señal múltiple.

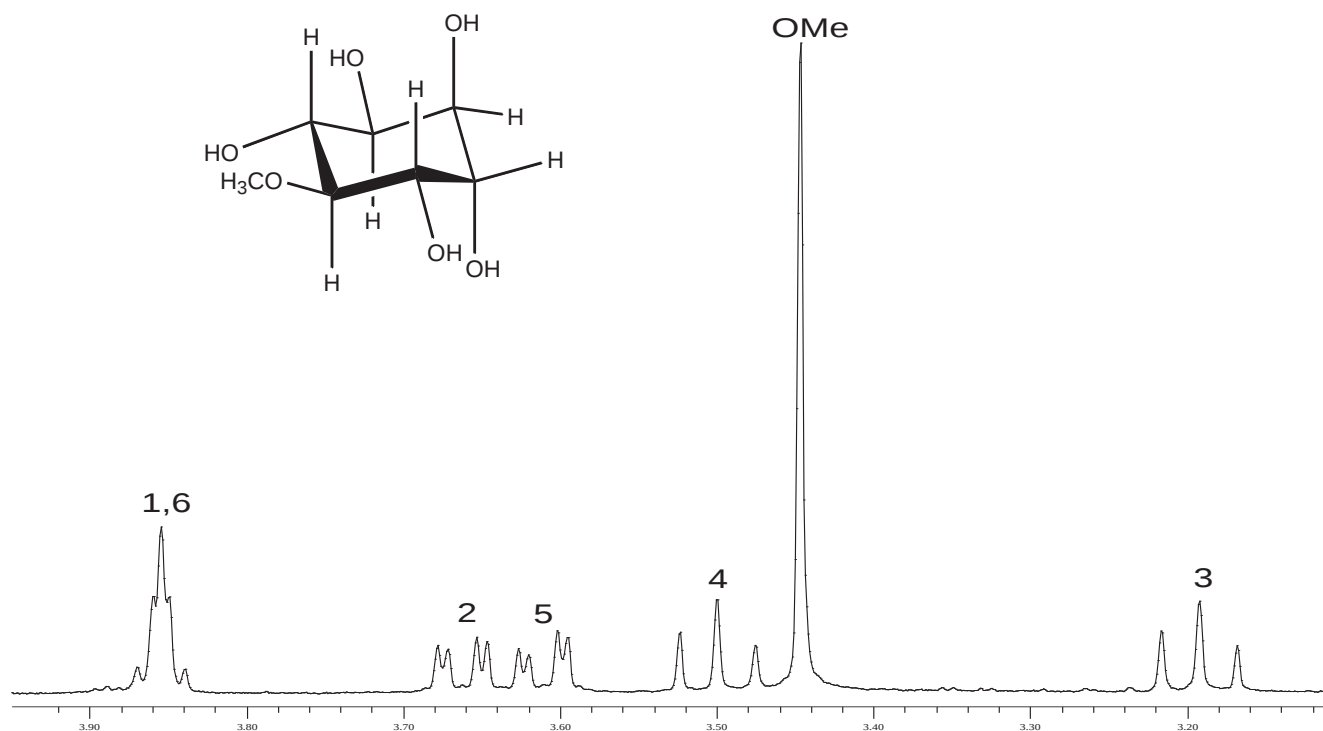


Figura 14. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 400 MHz en  $\text{D}_2\text{O}$  del pinitol.

Éstas asignaciones fueron realizadas en base al experimento COSY (figura 15) como se puede observar la señal en 3.19 ppm asignada para H-3 correlaciona con la señales en 3.50 y 3.66 ppm correspondiente a los protones H-4 y H-2.

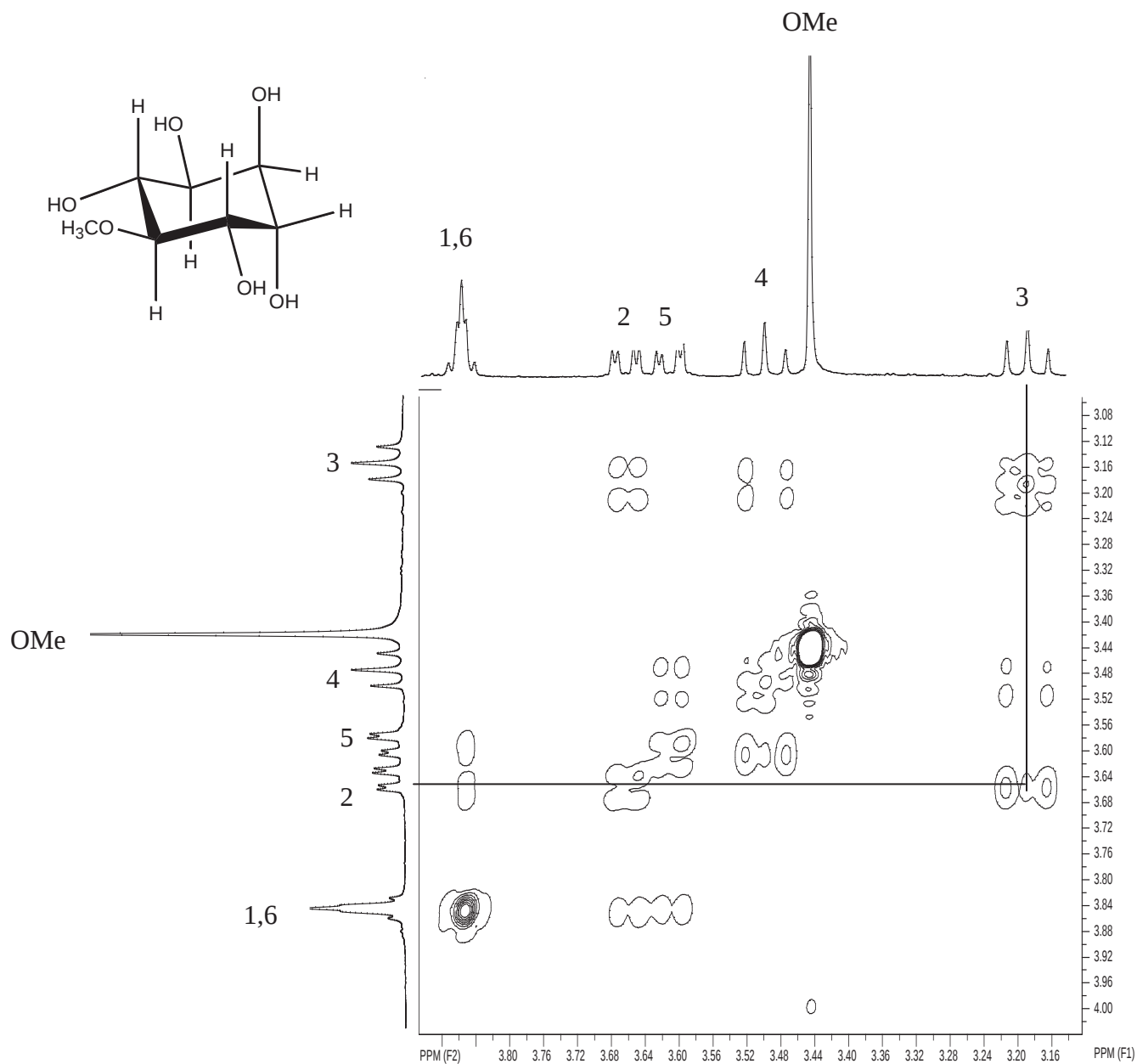


Figura 15. Espectro de correlación homonuclear (COSY) del pinitol

El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  fue asignado en base al experimento HETCOR (Figura 16). Así por ejemplo podemos ver que la señal en 3.19 ppm en la escala de hidrógeno asignada para H-3 correlaciona con la señal en 82.96 ppm en escala de carbono, por lo tanto esta señal corresponde a C-3. De la misma manera la señal en 3.50 ppm correspondiente a H-4 correlaciona con la señal en 72.32 ppm por lo tanto esta señal se le asigna al C-4.

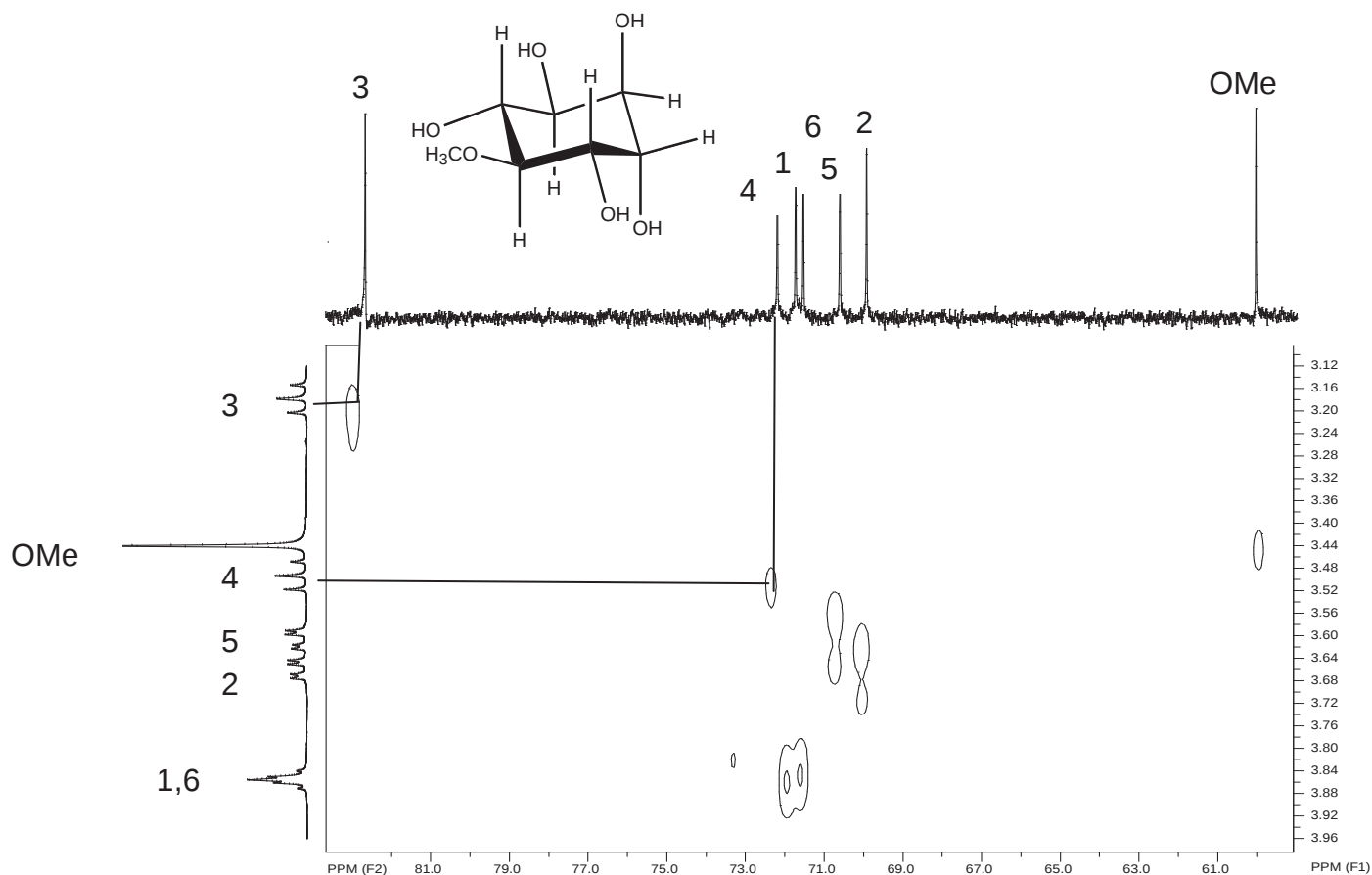


Figura 16. Experimento de correlación heteronuclear (HETCOR) del pinitol.

## 6.2. Análisis estadístico.

Los valores obtenidos de las pruebas son el promedio de tres repeticiones por separado del pinitol y su desviación estándar. Los datos obtenidos se analizaron con el paquete estadístico Statistic 7.0 y comparación de medias Tukey  $\alpha = 0.05$ .

## 6.3. Ensayos biológicos del pinitol contra termitas

Una vez aislado y caracterizado el componente mayoritario del extracto acuoso de *E. cyclocarpum* se procedió a realizar los ensayos biológicos con termitas, para probar si este era el responsable del efecto antialimentario disuasivo reportado por Raya y col (2006) en el extracto total.

Se impregnaron discos de papel filtro de 1 cm de diámetro con 10 mg de pinitol, 10 mg de una solución de boro como control positivo y un disco solo como control negativo (Figura 17). El ensayo se siguió durante 40 días, el índice de alimentación y sobrevivencia fue medido cada semana. El porcentaje de alimentación fue calculado con base al consumo del papel pesado al 100% de alimentación.

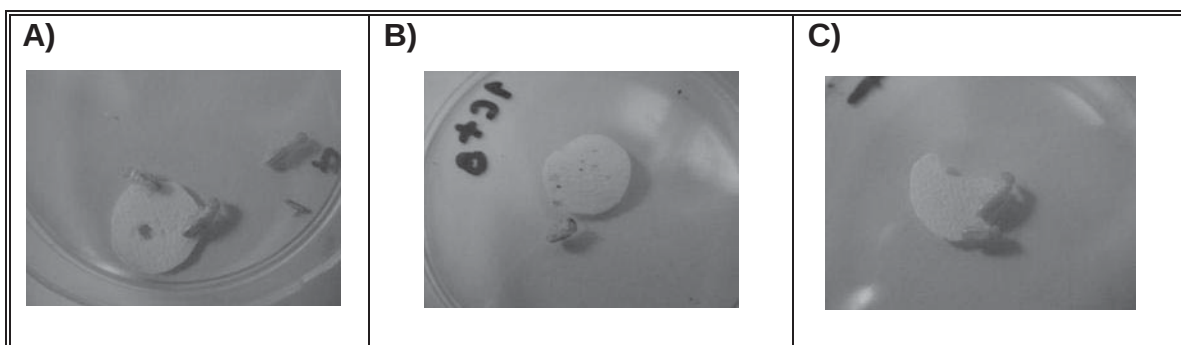


Figura 17. Ensayo para determinar el posible efecto biológico del pinitol sobre la alimentación de la termita *I. marginipennis*. A) Prueba con pinitol, B) Control positivo boro C) Control negativo papel solo.

Del análisis realizado para probar el efecto del pinitol contra las termitas se observó que este componente no ejerció un efecto termiticida, pero si ejerció un efecto disuasivo antialimentario contra las termitas ya que en los ensayos observamos que se comieron gran parte del papel filtro impregnado con pinitol, comparado con el control positivo (figura 18).

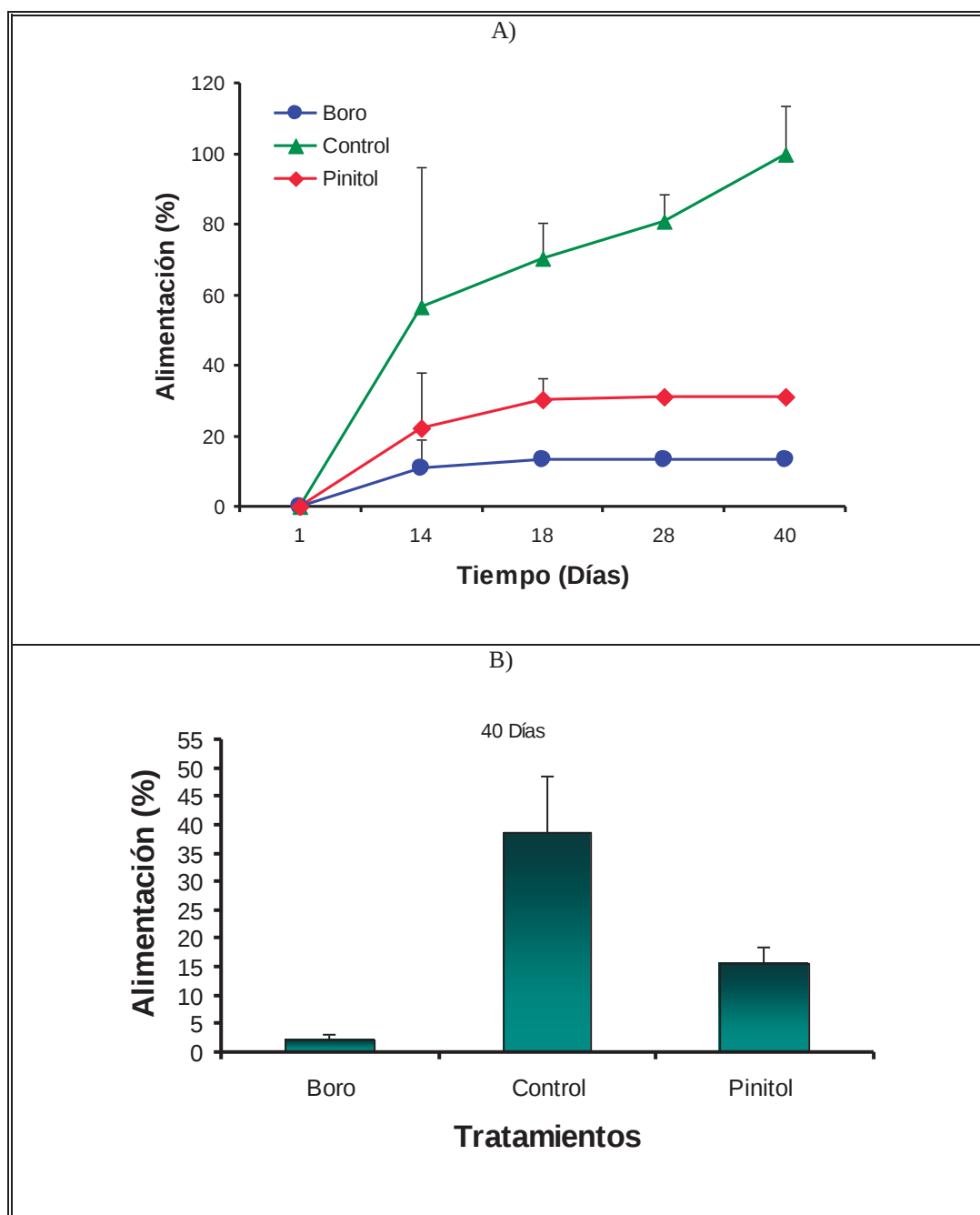


Figura 18. Efecto antialimentario del pinitol A) Curso temporal de alimentación relativa de las termitas B) Porcentaje de alimentación en cada uno de los tratamientos (n = 3; unidad experimental = 5)

En cuanto a mortalidad se observó que se murieron el 100% de las termitas tratadas con boro, mientras que solo se murió un 10% del control negativo y de la muestra con pinitol (figura 18). Por lo tanto, el experimento sugiere que el pinitol del extracto acuoso de *E. cyclocarpum* no es un termiticida, pero si posee un efecto disuasivo antialimenario sobre la termita de madera seca *I. marginipennis* (figura 19).

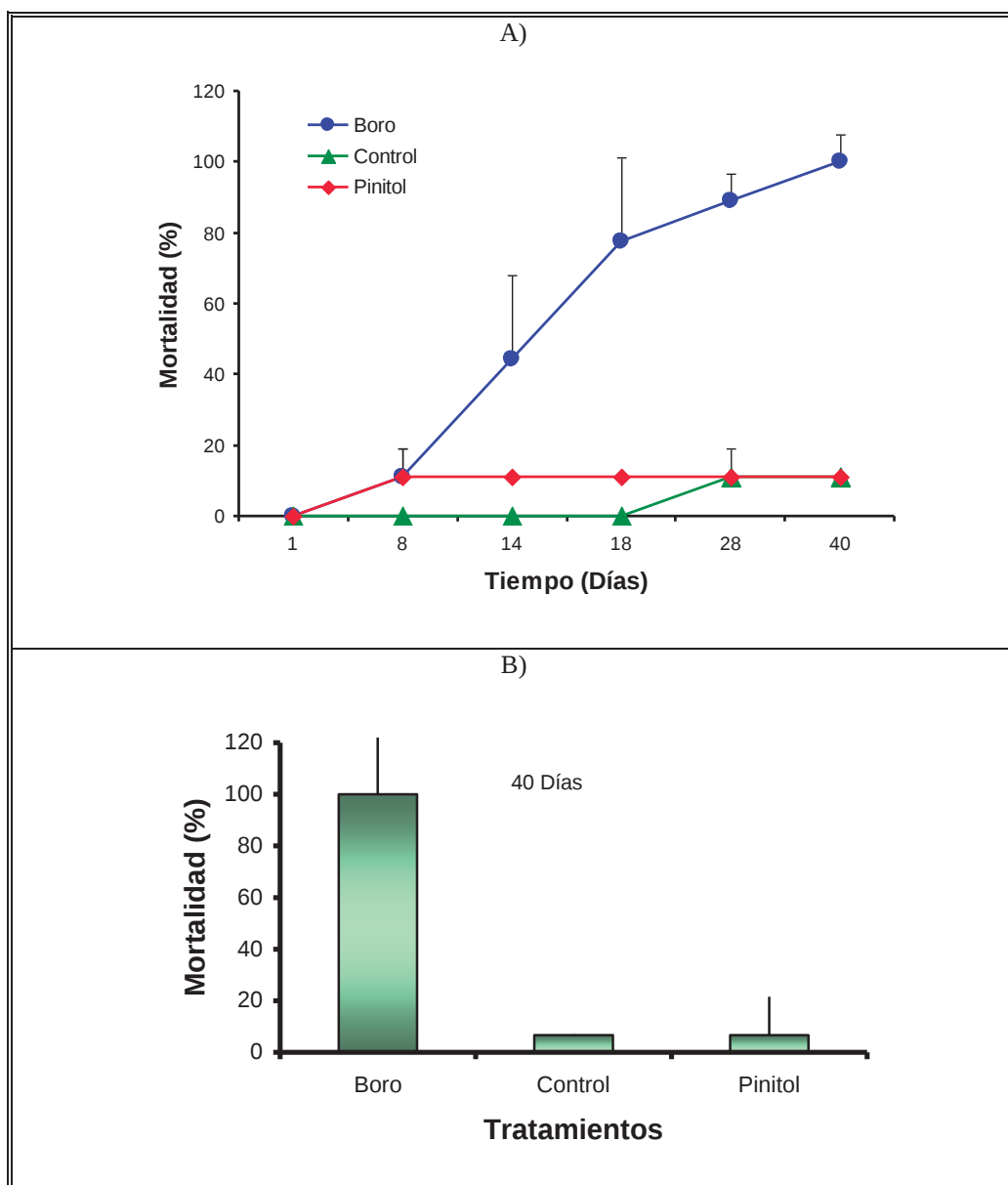


Figura 19. A) Curso temporal de Mortalidad relativa de las termitas B) Porcentaje de mortalidad en cada uno de los tratamientos. (n = 3; unidad experimental = 5).

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1. Generalidades

Las maderas secas se molieron en un molino de cuchillas (THOMAS SCIENTIFIC) de clasificación de malla 60.

Las liofilizaciones se llevaron acabo en un liofilizador LABCONCO LYPH LOCK 4.5.

Las determinaciones de fenólicos y flavonoides se realizaron en espectrofotómetro modelo CARY 50 BIO VARIAN UV visible a 725 y 510 nm respectivamente.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  a 400 MHz, y de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz, así como los diagramas bi-dimensionales de correlación  $^{13}\text{C}/^1\text{H}$  (HETCOR),  $^1\text{H}/^1\text{H}$  (COSY) se determinaron en un aparato Varian Mercury Plus-400. En las determinaciones se utilizó como disolvente al cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) agua deuterada ( $\text{D}_2\text{O}$ ), piridina- $\text{d}_5$  ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) y como referencia interna se utilizó tetrametilsilano (TMS).

La rotación óptica fue determinada en un Polarímetro Perkin Elmer 341 empleando agua como disolvente.

Para las separaciones cromatográficas se utilizó gel de sílice Merck 70-230 mallas, utilizando como fase móvil diferentes mezclas de disolventes.

### 7.2. Obtención del extracto acuoso de duramen de *E. cyclocarpum*

La madera de duramen de *E. cyclocarpum* se obtuvo de distintas localidades las cuales fueron: residuos de Cuanajo provenientes del estado de Veracruz, “Los Charcos” municipio de Apatzingán, Tuzantla y localidad “El

Copalito”, del municipio de Tacámbaro; las tres ultimas del estado de Michoacán, México. Identificadas por M. C. Xavier Madrigal taxonomista de la UMSNH.

Los ejemplares se sometieron a secado bajo sombra a temperatura ambiente, en el laboratorio de Preservación de la Madera de la Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera. Una vez deshidratadas se molieron, de esta manera se obtuvo el polvo con que se realizó la parte experimental.

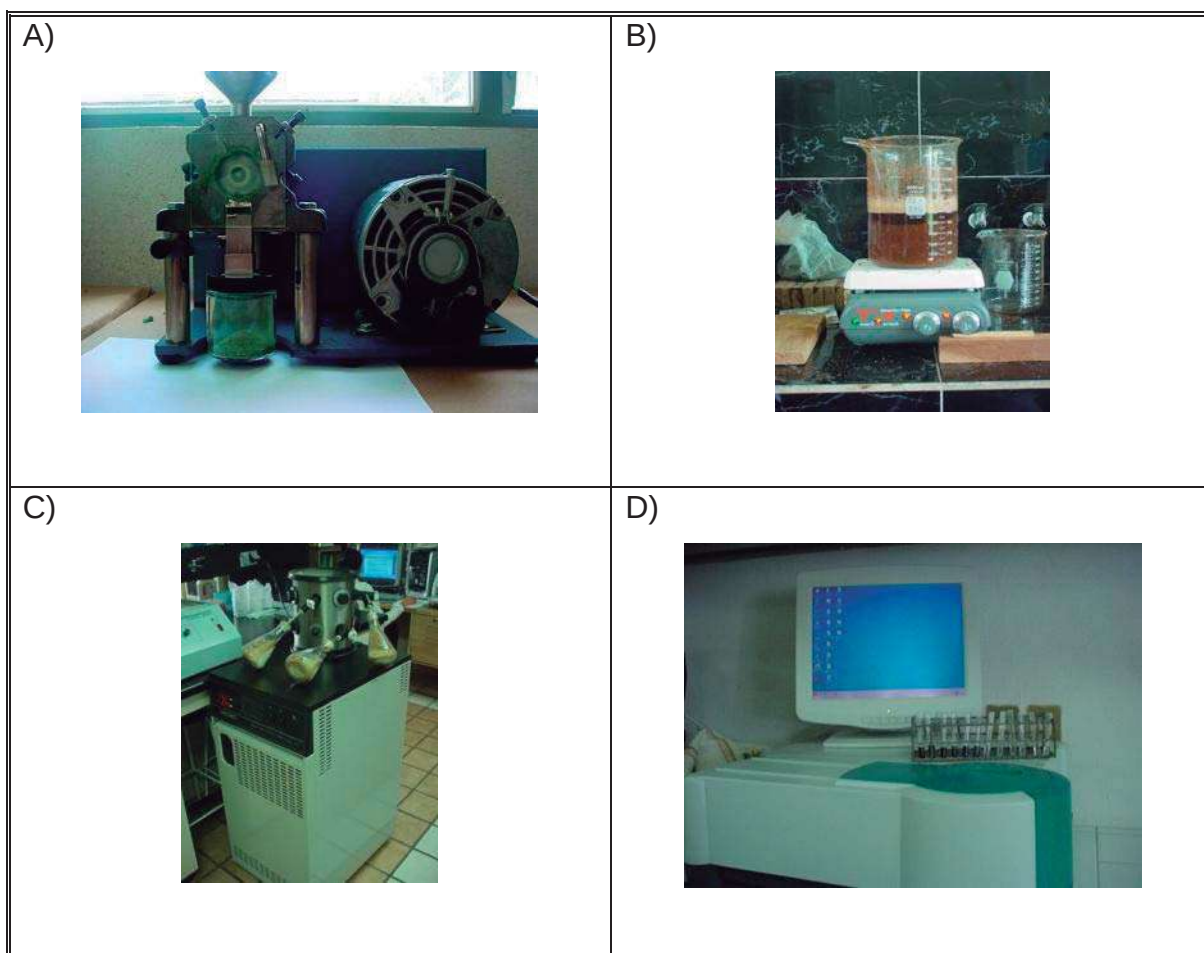


Figura 20. Equipo utilizado en la preparación de los extractos acuosos y en la medición de flavonoides y fenólicos totales. A) Molienda de la madera. B) Decocción del polvo para la obtención del extracto acuoso. C) Concentración de los extractos mediante liofilización. D) Determinación del contenido de flavonoides y fenólicos totales.

Para las preparaciones del extracto acuoso se pesaron 10 g de polvo de duramen de *E. cyclocarpum*, se depositó en un vaso de precipitado de vidrio de 500 ml vertiendo 220 ml de agua desionizada, se agitó constantemente hasta que

alcanzó el punto de ebullición se dejó hervir por un tiempo aproximado de 20 minutos (Figura 19B). Este proceso se realizó dos veces. La suspensión final 177 ml se concentró en liofilizador (Figura 19C), se obtuvieron 573 mg del extracto seco. Se enviaron 10 mg a análisis preliminar de RMN  $^1\text{H}$ .

Se disolvieron 20 mg del extracto seco en 1 ml de agua desionizada, se hicieron diluciones (cuadro 6) y se les determinó la cantidad de flavonoides y fenólicos totales equivalentes en espectrofotómetro (Figura 19D).

### **7.3. Determinación de la concentración de fenólicos totales equivalentes en *E. cyclocarpum***

Los fenólicos totales equivalentes se determinaron por el método de Swain y Hills (1959). Para este ensayo se realizaron seis diluciones para determinar la concentración de equivalentes fenólicos totales presentes en los extractos.

Para la determinación de los equivalentes fenólicos la mezcla de reacción, se preparó con 50  $\mu\text{l}$  de las diluciones del extracto acuoso de *E. cyclocarpum*, se adicionaron 775  $\mu\text{l}$  de agua, 50  $\mu\text{l}$  reactivo de Folin-Ciocalteu 2.1 M, se agitó y se por tres minutos a temperatura ambiente, se le adicionó 125  $\mu\text{l}$  de una solución saturada  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y se dejó reposar a temperatura ambiente por 1 h, después se determinó la absorbencia a 725 nm. Para determinar la cantidad de fenólicos totales equivalentes y mediante una curva de calibración usando como estándar ácido *p*-cumárico.

Cuadro 6. Especificación de las diluciones para realizar las lecturas en el espectrofotómetro.

| DILUCIÓN | EXTRACTO (μl) | AGUA (μl) | TOTAL (ml) |
|----------|---------------|-----------|------------|
| 1        | 1000          | ---       | 1          |
| 1:2      | 500           | 500       | 1          |
| 1:10     | 100*          | 900       | 1          |
| 1:100    | 100**         | 900       | 1          |
| 1:1000   | 100***        | 900       | 1          |
| 1:10000  | 100           | 900       | 1          |

\* Se toman 100 μl de la dilución 1:10 para hacer la dilución 1:100

\*\* Se toman 100 μl de la dilución 1:100 para hacer la dilución 1:1 000

\*\*\*Se toman 100 μl de la dilución 1:1000 para hacer la dilución 1:10 000

#### 7.4. Determinación de la concentración de flavonoides totales en *E. cyclocarpum*

Los flavonoides totales se determinaron por el método de Zhishen y col. (1999). Para este ensayo se realizaron seis diluciones para determinar la concentración de flavonoides totales presentes en los extractos vegetales de *E. cyclocarpum*. En cada dilución de los extractos se tomaron lecturas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 510 nm para determinar la cantidad de flavonoides totales y mediante una curva estándar con naringina.

Para la determinación de los flavonoides totales la mezcla de reacción, se preparó con 100 μl de las diluciones del extracto acuoso de *E. cyclocarpum*, se adicionaron 400 μl de agua desionizada, 30 μl de una solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5%, se dejó reposar por 5 minutos a temperatura ambiente, se adicionaron 30 μl de una solución de AlCl<sub>3</sub> al 10%, se dejó reposar un minuto, se agregó 200 μl de una solución de NaOH 10 M, se le adicionaron 240 μl de agua desionizada, se homogenizó y se dejó reposar a temperatura ambiente por 15 minutos, después se determinó la absorbencia a 510 nm.

### 7.5. Obtención de extractos de *E. cyclocarpum* por arrastre de vapor

A 460 g polvo de duramen de *E. cyclocarpum* se le realizó una extracción por arrastre de vapor (figura 20A). El cual se mantuvo durante 5 horas, se colectaron 220 ml del destilado al cual se les realizó extracción orgánica con cloruro de metileno, con ayuda de un embudo de separación (figura 20B), se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anh., se filtró y se concentró en el rotavapor a 30 °C (figura 20C), el aceite esencial obtenido 10 mg, fue de un color amarillo claro, se colocó en un vial y se envió a RMN  $^1\text{H}$  (figura 20D).

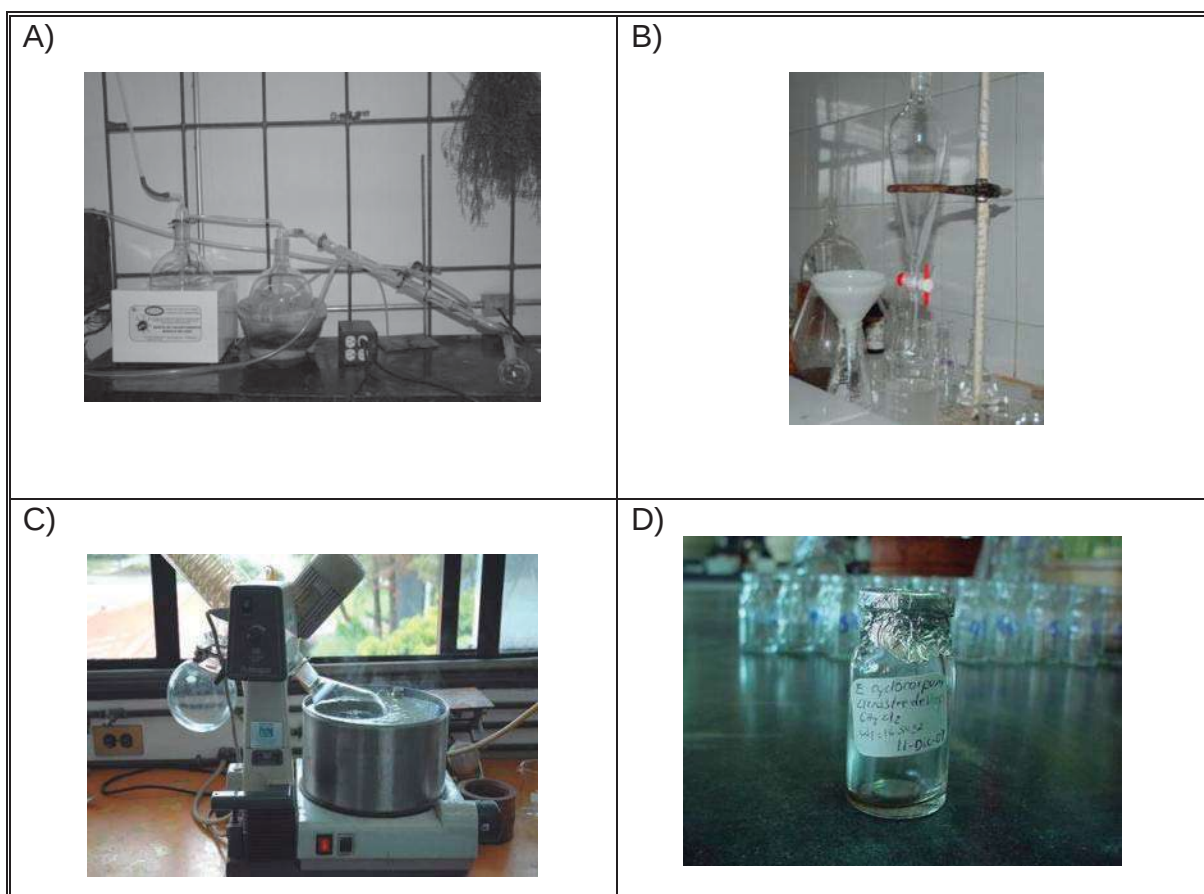


Figura 21. Equipo utilizado en la realización del arrastre de vapor A) Montaje del arrastra de vapor B) Separación de la fase orgánica, C) Concentración la fase orgánica D) Vial con el aceite esencial de *E. cyclocarpum*.

### 7.6. Obtención de extractos de *E. cyclocarpum* por reflujo con agua

A 220 g de polvo de duramen de *E. cyclocarpum*, se le realizó extracción a reflujo tres veces con 1400 ml de agua (figura 21A) durante cuatro horas. Transcurrido este tiempo se filtró, al filtrado se le hizo una extracción con cloruro de metileno (figura 21B), se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anh. Se filtró y evaporó a sequedad obteniéndose 205 mg de un sólido de color amarillo; que por RMN  $^1\text{H}$ , se observó que el componente mayoritario correspondía al manool. Por otra parte la fase acuosa se liofilizó y se detectó la presencia de pinitol.

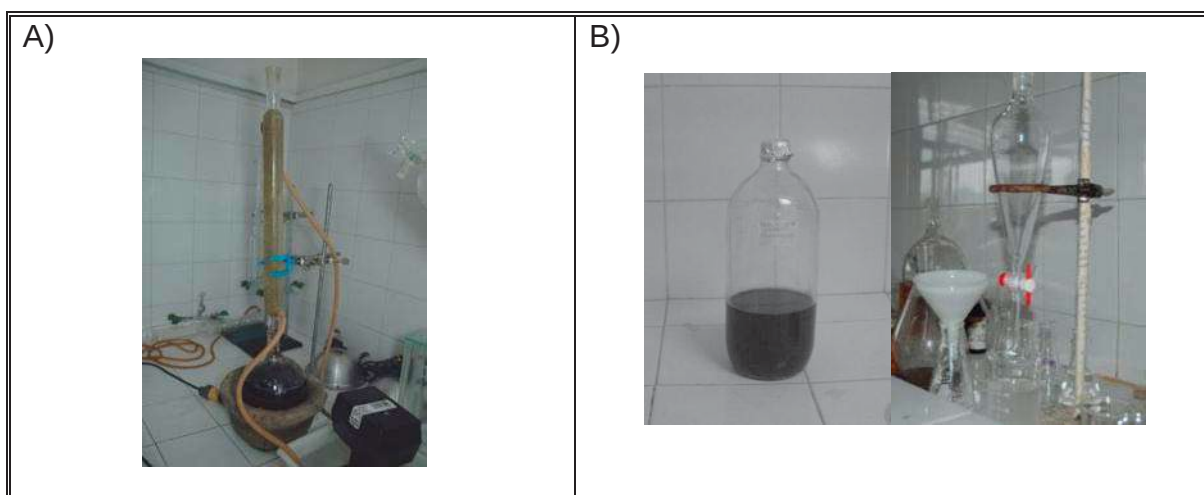


Figura 22. Reflujo en agua para la obtención de extractos de *E. cyclocarpum*, A) Montaje del reflujo, B) Agua recuperada del filtrado y embudo de separación.

### 7.7. Obtención de extractos de *E. cyclocarpum* por reflujo con hexano

A 190 g de polvo de duramen de *E. cyclocarpum* se le realizó extracción con 1400 ml de hexano a reflujo por tres veces durante cuatro horas. Después de filtrar (figura 22A) y evaporar el disolvente se obtuvieron 2.095 g de un extracto un poco denso color amarillo (figura 22B). El cual se recuperó en un vial y se envió a RMN  $^1\text{H}$ .

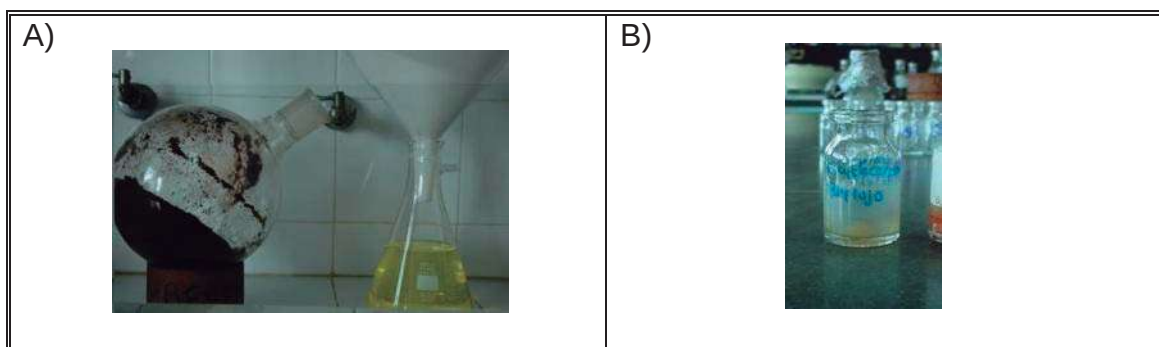


Figura 23. Reflujo hexánico A) Filtrado del reflujo hexánico, B) Muestra recuperada en vial para enviarse a RMN  $^1\text{H}$ .

### 7.8. Obtención de extractos por maceración con hexano de *E. cyclocarpum*

A 30 g del polvo de duramen de *E. cyclocarpum* se le realizó maceración con 200 ml de hexano (Figura 23A) durante 8 días por 4 veces, transcurrido este tiempo se filtró y se evaporó el disolvente a sequedad, obteniéndose un sólido amarillo (Figura 23B), el cual fue analizado por RMN  $^1\text{H}$ .

Los resultados fueron tabulados en la discusión.

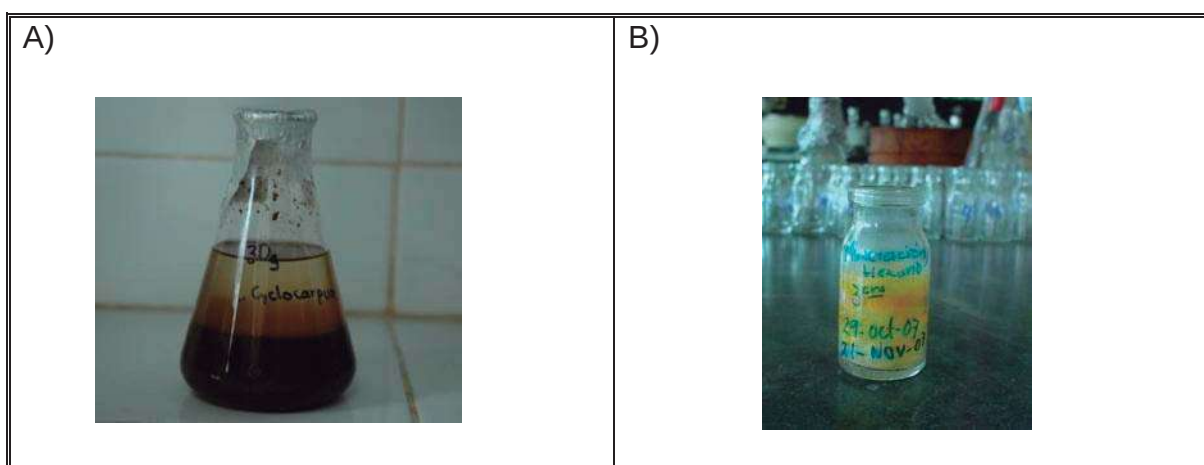


Figura 24. A) Maceración con hexano de polvo de duramen de *E. cyclocarpum*. B) Muestra recuperada de las maceraciones en vial para RMN  $^1\text{H}$

### 7.9. Columna cromatográfica para la purificación del manool

La muestra obtenida por arrastre de vapor de *E. cyclocarpum* (10 mg) se sometieron a una separación cromatográfica en columna utilizando 3 g de gel de sílice 70-230 mallas, una columna de vidrio de 1 cm de diámetro. Como fase móvil para el empacamiento se utilizó hexano.

Una vez aplicados los 10 mg de muestra se inició la elución en orden creciente de polaridad, utilizándose como disolvente al hexano, acetato de etilo y mezcla de estos en distintas proporciones. Se colectaron 57 fracciones de 5 ml cada una. Las fracciones eludías con Hexano-AcOEt 95:5 (fracciones 12-13) correspondieron al manool puro.

**RMN  $^1\text{H}$**  400 MHz  $\text{CDCl}_3$   $\delta$ : 0.67 (3H, s, Me-20), 0.79 (3H, s, Me-19), 0.87 (3H, s, Me-18), 1.27 (3H, s, Me-16), 1.98 (1H, m, H-9), 2.37 (1H, m, H-7), 4.37 (1H, s, H-17), 4.80 (1H, s, H-17'), 5.06 (1H, dd,  $J = 10.8, 1.3$  Hz, H-15), 5.21 (1H, dd,  $J = 17.4, 1.3$  Hz, H-15'), 5.91 (1H, dd,  $J = 17.4, 1.3$  Hz, H-15'), 5.91 (1H, dd,  $J = 17.4, 10.8$  Hz, H-14). **RMN  $^{13}\text{C}$**  100 MHz  $\text{CDCl}_3$   $\delta$ : 148.79 (C-8), 145 (C-14), 111.60 (C-7), 73.67 (C-13), 57.27 (C-19), 55.60 (C-5), 42.21 (C-3), 41.39 (C-12), 39.88 (C-10), 39.11 (C-1), 38.38 (C-7), 33.61 (C-18) 33.58 (C-4), 28.03 (C-16), 24.47(C-6), 21.62 (C-19), 19.39 (C-2), 17.68 (C-11), 14.44 (C-20).



Figura 25. Columna utilizada para la purificación del manool

### 7.10. Columna cromatográfica para la purificación del pinitol

De la mezcla liofilizada obtenida por decocción se tomaron 50 mg para someterlo a una separación cromatográfica en columna utilizando 3 g de gel de sílice 70-230 mallas, una columna de vidrio de 1 cm de diámetro. Como fase móvil para el empacamiento se utilizó hexano. Una vez aplicados los 50 mg de muestra se inició la elución en orden creciente de polaridad, utilizándose como disolvente al hexano, acetato de etilo, metanol y mezcla de estos en distintas proporciones. Se colectaron 134 fracciones de 5 ml cada una. Las fracciones eluídas con AcOEt-MeOH 8:2 (fracciones 51-61) correspondieron al pinitol.  $[\alpha]_D = +67^\circ$  (C=0.15, H<sub>2</sub>O) a Temperatura ambiente. (Calle y col 1986)  $[\alpha]_D = +65^\circ$  (C=0.4, H<sub>2</sub>O).

**RMN <sup>1</sup>H** 400 MHz, Pyd<sub>5</sub>  $\delta$ : 3.59 (3H, s, OMe), 3.83 (1H, t J=9.34Hz, H-3), 4.31 (1H, t J=9.34 Hz, H-4), 4.39-4.50 (4H, m, H-1, H-2, H-5 y H-6). **RMN <sup>13</sup>C** 100 MHz Pyd<sub>5</sub>  $\delta$ : 85.73 (C-3), 74.63 (C-1), 74.16 (C-5), 73.75 (C-2), 73.03 (C-4), 72.24 (C-6), 60.75 (OMe).

**RMN <sup>1</sup>H** 400 MHz, D<sub>2</sub>O  $\delta$ : 3.85 (2H m, H-1, H-6), 3.66 (1H, dd, J = 2.60, 9.79 Hz, H-2), 3.61 (1H, dd, J = 2.60, 9.98 Hz, H-5), 3.50 (1H, dd, J = 9.53, 9.98 Hz, H-4), 3.4 (3H, s, OMe), 3.19 (1H, dd, J = 9.53, 9.79 Hz, H-3). **RMN <sup>13</sup>C** 100 MHz D<sub>2</sub>O  $\delta$ : 82.96 (C-3), 72.32 (C-1), 71.89 (C-5), 71.67 (C-2), 70.73 (C-4), 70.02 (C-6), 59.88 (OMe).



Figura 26. Columna utilizada para la purificación del pinitol.

### 7.11. Ensayos biológicos del pinitol contra termitas

Se preparó una solución con 50 mg de pinitol en 100  $\mu$ l de agua, de la cual se tomaron 20  $\mu$ l para impregnar un disco de papel, por otro lado se tomaron 20  $\mu$ l de un solución de boro como control positivo. Para el control negativo se utilizó un disco de papel (sin ninguna solución), los discos fueron secados en la estufa hasta peso constante. Y posteriormente fueron colocados cada uno en cajas de petri con tres termitas. Se utilizaron discos de papel filtro de 1 cm de diámetro. Este experimento se realizó por quintuplicado. Los resultados fueron analizados en la discusión de resultados.

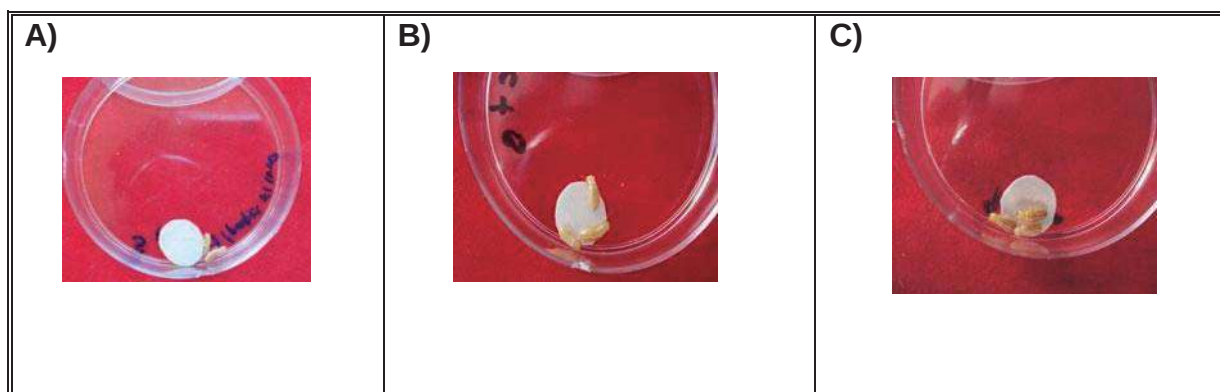


Figura 27. Montaje del ensayo biológico del pinitol contra termitas A) Termitas con pinitol, B) Termitas en control positivo con boro C) Termitas en control negativo papel filtro solo.

## 8. RESUMEN DE RESULTADOS

Se realizaron los extractos del duramen de cuatro plantas de *E. cyclocarpum* colectadas en diferentes regiones, mediante los análisis espectrofotométricos y espectroscópicos de estos extractos se comprobó la variabilidad natural.

De los extractos obtenidos por arrastre de vapor, reflujo y maceraciones en hexano se aisló e identificó al manool en las muestras recolectadas en Apatzingán Michoacán y Veracruz.

Se purificó e identificó al (+)-pinitol como el componente mayoritario del extracto acuoso de *E. cyclocarpum*.

Se demostró que el (+)-pinitol es uno de los responsable del efecto antialimentario disuasivo contra la termita de madera seca *I. marginipennis*.

Este es el primer reporte de la obtención del (+)-pinitol y del manool de la madera de duramen de *E. cyclocarpum*.

## 9. CONCLUSION

El pinitol uno de los componentes mayoritarios del extracto acuoso obtenido de madera de duramen de *E. cyclocarpum* es responsable del efecto antialimentario observado en extracto acuoso completo.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

Allen, O. y Allen, K. E. 1987. The Leguminosae a source book of characteristic, uses and nodulation. The University of Wisconsin Press. p 267-69. U.S.A.

Allies, C. y Barneby, W.G. 1996 Silk tree, guanacaste, monkey, earring a generic system for the synandrous mimosaceae of the Americas. Memory of the New York botanical garden. 74:245-251. U.S.A.

Aguilar, A. y Zolla C. 1982. Plantas tóxicas de México. Unidad de Investigación Biomédica en Medicina Tradicional y Herbolaria IMSS. Pag 46. México, D.F

Brook, C. 2000. Selected plants of medicinal value in Costa Rica. University of New Hampshire. pp 1-4 . England.

Buckwalter, B. L., Burfitt I.R., Nagel A. A. y Wenkert E. 1975.  $^{13}\text{C}$ -NMR, Spectroscopy of Naturally Occurring Substances, XXXV. Labdanic Diterpenes. Department of Chemistry, Indiana University, Bloomington, Indiana 47401, USA .

Calle, J., Rivera, A. y Joseph-Nathan, P. 198. Pinitol from leaves of *Gliricidia sepium* Planta Medica, vol; 53 (3):303.

Corral López, M. G. 1985. Características anatómicas de la madera de once especies tropicales. Bol. Tec. Inst. Nac. Inv. For. No.127. México. 68.

Croat, T. B. 1978 Flora of Barro Colorado Island. Stanford University Press, Stanford p. 626.

De Pinto, G. y Ludovic, C. 1986. Analytical study of the gum exudates from *Enterolobium cyclocarpum*. Act. Cient. Ven. 37:92-92.

De Pinto, G., Martínez, M., De Corredor, A., Rivas C. y Orlando, E. 1994. Chemical and  $^{13}\text{C}$  NMR studies of *Enterolobium cyclocarpum* gum and its degradation products. *Phytochemistry*, 7:1311-1315.

Devonshire, A. L y Field L.M., 1991. Gene amplification and insecticide resistance. *Annu. Rev. Entomol.*, 36, 1-23.

Dixon Richard. Natural products and plant disease resistance: Plant defenses *Rev. Nature*, 2001, 411, 843pp.

Domínguez, A., y Franco R. 1979. Plantas medicinales de México XXXV Estudio químico de la corteza y fruto del guanacastle o parota *Enterolobium cyclocarpum*. Jacq. una leguminosa. *Rev. Latinoam. Quim.* 10:46

Espejel J. y Martínez E. 1979. El guanacaste. *Inireb informa*, Comunicado 33:1-6. Veracruz, México.

Espinoza Madrigal R. 2008 Efecto del extracto acuoso de *Enterolobium cyclocarpum* sobre la enzima dihidrofolato reductasa sobre hongos y oomicetos fitopatógenos. Tesis de licenciatura UMSNH Morelia, Michoacán México.

Ezeagu E., Petzke K., Lange E. y Metges C. 1998. Fat content and fatty acid composition of oil extracted from select wild gathered tropical plant seed from Nigeria. *J. Am. Oil Chem Soc.* 75:1031-1035.

Francis, John K. 1988 *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. Guanacaste, erapod-tree. SO-ITF-SM-15 New Orleans, LA: US. Departamento f Agricultura, Forest Srvice, Southern Forest Experiment Station. Pp 195-199.

Giral, D., y Echegoyen M. 1949. Determinaciones de treonina en alimentos mexicanos y en otros productos. *Ciencia* 9:300-302

Gmelin, R., Strauss G., y Hasenmaier G. 1959. A new aminoacid from mimosaceae. Z., Physiol. Chem. 314:28-32.

González, C. 1942. Estudio bioquímico de la parota (*Enterolobium cyclocarpum*). Tesis de la Escuela Nacional de Biología. Instituto Politécnico Nacional. Pp 1-90. México, D.F.

Gómez, P. A. 1966. Estudios botánicos en la región de Misantla, Veracruz. Distrito Federal, México: Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables. 173.

Haygreen, J.G., y Browyer, J. L. 1982. Forest products and wood science. An introduction. The Iowa State University Press. 495.

Kraemer, K. G. 1958. Compendio de la conservación de madera. Santander. España. 526.

López Villalobos, M. 2006. Eliminación de pigmentos del extracto acuoso termiticida de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq) Griseb. Tesis de licenciatura, presentada en la Facultad de Tecnología de la Madera, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia Michoacán, México.

Massiu, G., Guzmán J., y Cravioto R. 1950. Contenido en aminoácidos indispensables en algunas semillas. Ciencia, 10:1424-1426

Mc Vaugh, R. 1987. Flora Novogaliciana. A descriptive account of the vascular plants of Western México. Ann arbor the University of Michigan press 5: 176-178

Mendieta, R., y Del Amor S. 1984. Catálogo de las plantas medicinales del Estado de Yucatán. 143. INIREB, CECSA, México.

Misra, L. N., y Siddiqi, S. A. 2004. Dhaincha (*Sesbania bispinosa*) leaves: a good of antidiabetic (+)-pinitol. Current science, vol. 87, No. 11, 1507

Navas, Camacho, A., Cuesta A., Anzola H., y León J. 1993. Effect of supplementation with a tree legume forage on rumen function. Live. Res. Rur. Dev. 5:1-13.

Pennington, T. D. y Sarukhán, J. 1968. Manual para la identificación de campo de los principales árboles tropicales de México. Pp. 11-521 INIF-SAG. México.

Raya González, D., Rutiaga Quiñones, J. G., y Martínez Pacheco, M. M. 2005. Control de termitas con extractos vegetales. Revista Latinoamericana de Química. Vol. 33. Suplemento especial. 143.

Raya González, D., Martínez Pacheco, M.M., Flores, García, A., Castro, Ortiz, R., López, Villalobos, M., Pintau, y Loeza, L. 2006. Control de termitas *Incisitermis marginipennis* (Latreille) Isóptera: Kalotermitidae, con extractos de duramen de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq) grises. Ed. Sociedad Mexicana de Entomología A.C. Texcoco, Estado de México, México, p. 1259.

Raya González, D., Martínez Pacheco, M. M., Flores García, A., Morales López, M. E., Urrutia Hernández, S. E., Dasgupta-Shubert, N., y Farias Rodríguez, V. 2007. Efecto del extracto acuoso de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb sobre la microbiota intestinal de la termita. 4o Congreso Forestal Cuba.

Rivero, Cruz, B., Rivero-Cruz, I., Rodríguez, J. M., Cerda-García-Rojas, C. M., y Mata, R., 2006 J. Nat. Prod., 69, 1172-1176.

Rosales, M., Lared M., Cuesta, A., Anzola, H., y Hernández, L. 1989. Use of tree foliages in the control of rumen protozoa. Live. Res. Rur. Dev. 1:78-84

Rudman P., y Gay F.J., (1964). The causes of natural durability in timber. XIV. Intraspecific variations in termite resistance of Cypress Pine (*Callitris columellaris* F. Muell.) *Holzforschung*. 18 113-116.

Rutiaga Quiñónez, JG., Windeisen, E., y Shumacher, P. 1995. Antifungal activity of heartwood extracts from *Dalbergia granadillo* and *Enterolobium cyclocarpum*. *Halz als Rho und Werstoff*. 53:308-308

Serratos, Ávalos, J.C. 1989. Utilización de semillas de parota (*Enterolobium cyclocarpum*) para alimentación humana. Tesis de Maestría. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jal. México.

Serratos Ávalos, J.C. 2001. Aislamiento y caracterización de proteínas de las semillas maduras de *Enterolobium cyclocarpum* para su aprovechamiento alimenticio. Tesis doctoral. Universidad de Colima. Tecoman, Col. México

Sotelo A., López H., Hernández M. Infante A., y Cruz M. 1978. Inhibidores de tripsina y hemaglutinas en algunas leguminosas comestibles. *IMSS*. 9:1-15.

Sotelo A., Lucas B., Uvalle A., y Giral F.1980. Chemical composition and toxic factors contents of sixteen leguminous seeds. *Quart D. Crude Drugs Res*. 18:9-16.

Standley P. 1922. Trees and Shrubs of Mexico contrib V.S. *Nat Herb* 23 (Part 2) 1:171 -515, U.S.A.

Swan, T. y Hillis W. E. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica* The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric*. 10:6368.

Urrutia Hernández, S. E. 2006. Efecto antialimentario del extracto vegetal de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb sobre la termita de madera seca

*Incisitermes marginipennis* (Latrielle) (Isoptera: Kalotermitidae). Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich. México.

Vázquez, G., Antorena, G. y Parajo, J. C. 1987. Studies on the utilization of pinus Pinaster bark. Wood Science Technology, 21, 65-74.

Wang, J. J., y Zhao, Z. M. 2003. Accumulation and utilization of triacylglycerol and polysaccharides in *Liposcelis bostrychophila* (Psocoptera: Liposcelididae) to controlled atmosphere. International Journal of Pest Management. 45: 75-79.

Wiseman, S.; y Eggleton, P. 1994. The Termicide Market. PJB Publications, Richmond, Surrey, UK.

Zavala, Chávez, F. 1996. Principales, metabolitos secundarios de encinos. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales. Universidad Autónoma de Chapingo, Texcoco. México. 2:129-136

Zhishen, J., Mengchen, T. y Jianming, W. 1999. Food Chemistry 64:555-559

## PAGINAS EN INTERNET

Anónimo 1860 *Enterolobium cyclocarpum*. en flora of the british West Islands 226. 1860 [internet]. Diponible en: <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info/especies/arboles/doctos/41-legum16m.pdf>

*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. Árboles y plantas de Panamá [internet]. Disponible en: <http://ctfs.si.edu/webatlas/findinfo.php?specid=2627&leng=english>

*Entorolobium schomburgkii* [internet]. Disponible en: <http://www.ildis.org/LegumeWeb/6.00/taxa/11866.shtml>

*Entorolobium schomburgkii* [internet]. Disponible en:  
[http://zipcodezoo.com/plants/e/enterolobium\\_schomburgkii.asp](http://zipcodezoo.com/plants/e/enterolobium_schomburgkii.asp)

*Enterolobium schomburgkii* (Benth.) Benth. Arboles y plantas de Panama  
[internet]. Disponible en:  
<http://ctfs.si.edu/webatlas/findinfo.php?specid=2627&leng=english>

## GLOSARIO

- Actinomórfica: Flor con simetría radial.
- Aglutinante: Que se adhiere tenazmente a la piel, y sirve para agregar.
- Alimentario: Perteneciente o relativo a la alimentación.
- Alimentación: Conjunto de cosas que se proporcionan como alimento.
- Antialimentario: Producto que induce a los insectos a detener su alimentación a corto plazo.
- Antibacteriano: Que se utilizan para combatir las bacterias.
- Bactericida: Que destruye bacterias.
- Biocida: sustancias químicas sintéticas, naturales o de origen biológico o de origen físico y están destinados a destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer un control de otro tipo sobre cualquier microorganismo considerado nocivo para el hombre.
- Caducifolio: Que pierde todas sus hojas en una época del año.
- COSY: Experimento de RMN en dos dimensiones de Correlación Homonuclear.
- Disuadir: Inducir, mover al insecto a desistir de hacer algo
- Foliar: De las hojas de los árboles o relativo a ellas.
- Folíolos: Cada una de las hojas pequeñas que forman una hoja.
- HETCOR: Experimento de RMN en dos dimensiones de Correlación Heteronuclear.
- Ictiotóxico: Que causa toxicidad a peces
- Indehiscente: Término referido en general a los frutos que no se abren al madurar
- Plaguicida: Los plaguicidas son sustancias químicas utilizadas para controlar, prevenir o destruir las plagas que afectan a las plantaciones agrícolas.
- RMN (Resonancia magnética nuclear): técnica empleada principalmente en la elucidación de estructuras moleculares, también se puede emplear con fines cuantitativos.
- Xilófago: Insecto que roe madera.