

Actividad larvicida de extractos etanólicos de *Tabernaemontana cymosa* y *Trichilia hirta* sobre larvas de estadio III y IV de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

Larvicidal activity of ethanol extracts of *Tabernaemontana cymosa* and *Trichilia hirta* against III and IV stage larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

Dr. C. Fredyc Díaz Castillo,^I Lic. Sandra Marcela Morelos Cardona,^I Lic. Moisés Carrascal Medina,^I MSc. Yina Pájaro González,^I Dr. C. Harold Gómez Estrada^{II}

^I Laboratorio de Investigaciones Fitoquímicas y Farmacológicas de la Universidad de Cartagena (LIFFUC). Cartagena de Indias, Colombia.

^{II} Grupo de Investigación en Química de Medicamentos. Universidad de Cartagena. Cartagena de Indias, Colombia.

RESUMEN

Introducción: el mosquito *Aedes aegypti* es el principal vector de los virus del dengue y la fiebre amarilla. Una de las formas actuales para combatir estas enfermedades es el control del vector. Sin embargo, los problemas causados por los insecticidas sintéticos y la resistencia adquirida por los mosquitos, hacen cada vez más difícil esta lucha. Las plantas constituyen una fuente alternativa al uso de insecticidas sintéticos.

Objetivos: evaluar la actividad larvicida para el mosquito *Aedes aegypti*, de los extractos etanólicos y fracciones activas, de diferentes órganos vegetales de las especies *Trichilia hirta* L. y *Tabernaemontana cymosa* Jacq.

Métodos: en este estudio se utilizaron larvas de *Aedes aegypti* en estadios III y IV. Los extractos etanólicos totales se obtuvieron por maceración del material vegetal seco y molido, durante una semana y posterior secado a presión reducida con un rotoevaporador. La obtención de fracciones y subfracciones, se realizó por cromatografía de columna abierta, usando solventes de diferentes polaridades. La actividad larvicida se evaluó bajo protocolos recomendados por la Organización Mundial de la Salud.

Resultados: los extractos etanólicos de corteza de *Trichilia hirta* y flores, corteza y hojas de *Tabernaemontana cymosa*, no mostraron actividad larvicida. El extracto de semillas de *Trichilia hirta* mostró una actividad moderada con una CL₅₀ y CL₉₀ de 219,2 y 331,4 mg/L respectivamente. El extracto etanólico de semillas de *Tabernaemontana cymosa*, la fracción F008 y la subfracción F011, mostraron una buena actividad larvicida con CL₅₀ de 35,1; 20,9, y 14,98 mg/L, respectivamente. **Conclusiones:** según los resultados, se consideró como promisorio el extracto de semillas de *Tabernaemontana cymosa* para la obtención de metabolitos secundarios con actividad larvicida.

Palabras clave: resistencia a larvicidas, dengue, *Tabernaemontana cymosa*, *Trichilia hirta*.

ABSTRACT

Introduction: *Aedes aegypti* is the main vector of dengue and yellow fever. One way to combat these diseases today is the vector control. However, the problems caused by synthetic insecticides and the acquired resistance by mosquitoes, turn this control into a more difficult struggle every day. The plants offer an alternative source to the use of synthetic insecticides.

Objectives: the objective of this study was to evaluate the larvicidal activity of the ethanol extracts and active fractions of different organs of *Trichilia hirta* L. and *Tabernaemontana cymosa* Jacq.

Methods: in this study, *Aedes aegypti* larvae in III and IV stages were used. The total ethanol extracts were obtained by maceration of dried and ground plant material for a week and then dried at reduced pressure. The fractionation was performed by open column chromatography with the use of different polarity solvents. The larvicidal activity was assessed following protocols recommended by the World Health Organization.

Results: the ethanol extracts from *Trichilia hirta* bark and flowers, and *Tabernaemontana cymosa* bark and leaves showed no larvicidal activity. The *Trichilia hirta* seed extract showed a moderate activity with an LC₅₀ and LC₉₀ of 219.2 and 331.4 mg/L respectively. The ethanol extract from *Tabernaemontana cymosa* seeds, the fraction F008 and the subfraction F011, showed good larvicidal activity with LC₅₀ of 35.1, 20.9, and 14.98 mg/L, respectively.

Conclusions: according to the results obtained in this study, the extract from *Tabernaemontana cymosa* seeds could be considered as a potential source of secondary metabolites with larvicidal activity.

Key words: resistance to larvicides, dengue, *Tabernaemontana cymosa*, *Trichilia hirta*.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por insectos, principalmente por el mosquito *Aedes aegypti*, constituyen un importante problema de salud en todo el mundo. El control de estas enfermedades ha sido difícil, debido a la ausencia de vacunas y medicamentos eficaces y a la gran capacidad adaptativa del mosquito. Hoy día, la estrategia más factible y viable para combatir las enfermedades ha sido el control del vector *Aedes aegypti*, dirigido en específico a la erradicación de las larvas con

insecticidas sintéticos.¹⁻³ Sin embargo, el uso de estos presenta problemas como baja biodegradabilidad, toxicidad en humanos y en los sistemas de control biológico, pero sobre todo de resistencia adquirida por el vector.⁴⁻⁹ Por lo anterior, es necesario buscar alternativas para el control de vectores como *Aedes aegypti*, que reduzcan al mínimo los problemas que poseen los insecticidas sintéticos usados.⁷⁻¹⁰ Una fuente de nuevas y variadas estructuras bioactivas la constituyen las especies vegetales, las cuales pueden tener actividad intrínseca o servir como líderes para el desarrollo de insecticidas más seguros.^{11,12} El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad del extracto etanólico total y las fracciones de diferentes órganos de *Tabernaemontana cymosa* Jacq. y *Trichilia hirta* L. contra larvas del mosquito *Aedes aegypti*.

MÉTODOS

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Investigaciones Fitoquímicas y Farmacológicas de la Universidad de Cartagena (LIFFUC), en colaboración con el Grupo de Investigación en Química de Medicamentos de la Universidad de Cartagena, en el periodo 2010-2011.

Obtención y mantenimiento de la colonia de Aedes aegypti

Las larvas de *Aedes aegypti* se colectaron en la zona residencial del barrio la Montañita del municipio de Turbaco (Bolívar), a partir de criaderos artificiales (tanques de reserva de agua potable). Se colocaron 300 larvas de mosquito en los estadios III y IV en bandejas plásticas con agua potable y se trasladaron al laboratorio de la Unidad de Entomología Departamental de Salud Pública de Bolívar, donde se realizó su identificación, descartando aquellas larvas no pertenecientes a la especie *Aedes aegypti*. A continuación se trasladaron a LIFFUC para la formación y el mantenimiento de colonias de mosquitos *Aedes aegypti*, bajo condiciones adecuadas de temperatura y humedad relativa (28-30 °C y 75 %).

Recolección del material vegetal

La recolección del material vegetal de *Tabernaemontana cymosa* Jacq. y *Trichilia hirta* L., se realizó en el municipio de San Bernardo del Viento, en el Departamento de Córdoba, localizado en la Costa Atlántica colombiana, en el periodo comprendido del 15 al 20 de abril de 2010. A un espécimen de cada planta se le realizó la identificación taxonómica en el herbario del Jardín Botánico "Guillermo Piñerez" de Cartagena (Colombia) y se herborizaron con los códigos JBG6421 y JBG4330, respectivamente.

Se recolectaron entre 100 y 1 000 g de cada órgano vegetal para las pruebas químicas y biológicas del estudio.

Preparación de extractos

El material vegetal colectado se sometió a secado a temperatura ambiente (29-30 °C) por 15 d. Cada órgano vegetal de las especies *T. cymosa* y *T. hirta* se molió por separado mediante métodos mecánicos y macerado con etanol por 5 d. Completado el tiempo de extracción, se filtraron y secaron a presión reducida con un

rotoevaporador a 40 °C. Posteriormente estos extractos secos se pesaron y almacenaron en viales de vidrio refrigerados y protegidos de la luz.

Bioensayos de actividad larvicida

La evaluación de la actividad larvicida se realizó teniendo en cuenta el protocolo establecido por el Laboratorio de Investigaciones Fitoquímicas y Farmacológicas de la Universidad de Cartagena (LIFFUC), el cual a su vez está basado en protocolos internacionales establecidos por la Organización Mundial de la Salud.^{13,14}

La actividad larvicida se evaluó, por exposición de 20 larvas de *Aedes aegypti* en III (tardío) y IV (temprano) estadios, a una determinada concentración del extracto o fracción en un volumen de agua de 100 mL, a una temperatura de 28 ± 2 °C y humedad relativa entre 75 y 80 %. Cada ensayo se hizo por triplicado. Como control positivo se usó temefos (fosforotionato de o,o,o,o'-tetrametil-o,o'-tio-di-p-fenileno), conocido comercialmente como Abate[®] (0,05 mg/L) y como control negativo se empleó DMSO 1 % o acetona 5 %, dependiendo de la solubilidad del extracto o fracción. Las lecturas de mortalidad larvaria, se realizaron a las 1, 6, 12, 24, 36 y 48 h de exposición. Las larvas se declararon muertas cuando no reaccionaron al contacto físico en la región cervical y si se presentaban movimientos muy lentos o incapacidad para flotar.

Evaluación preliminar de la actividad larvicida de los extractos y fracciones de Tabernaemontana cymosa y Trichilia hirta

Se evaluó la actividad larvicida de los extractos etanólicos de semillas y corteza de *T. hirta* y corteza, hojas, flores y semillas de *T. cymosa*, a una concentración de 200 mg/L. Para los extractos activos se realizó un fraccionamiento por cromatografía en columna abierta. Posteriormente se evaluó la actividad larvicida de las fracciones a la concentración de 100 mg/L.

Fraccionamiento cromatográfico del extracto de Tabernaemontana cymosa

Se adsorbieron 10 g del extracto etanólico total de semillas de *T. cymosa* sobre 10 g de silicagel, con el fin de someterlo a separación por cromatografía de columna abierta (5 cm x 60 cm). Se utilizaron 150 g de silicagel 60 (Merck[®], 70-230 mesh) suspendida en hexano, como fase estacionaria. El extracto etanólico de semillas de *T. cymosa* se eluyó utilizando gradientes de polaridad creciente, comenzando con hexano seguido por diclorometano, acetona y metanol. La fracción F008 (fracción más activa), se sometió a separación por cromatografía de columna abierta (2,5 cm x 60 cm) empleando 25 g de silicagel 60 Merck 70-230 mesh, suspendida en hexano como fase estacionaria. La elución se realizó con gradientes de polaridad creciente, comenzando con hexano:diclorometano (8:2), diclorometano:acetona (9:1), acetona y metanol.

Determinación de la concentración letal 50 y 90 (CL₅₀ y CL₉₀) de extractos y fracciones activas

Para la determinación de las concentraciones letales 50 y 90 (CL₅₀ y CL₉₀) del extracto etanólico de semillas de *T. hirta*, y del extracto etanólico, fracción F008 y subfracción F011 de semillas de *T. cymosa*, se realizaron bioensayos de actividad larvicida con exposición de las larvas de *Aedes aegypti*, a diferentes

concentraciones por separado, de los extractos o fracciones como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Concentraciones utilizadas para la determinación de la concentración letal 50 y 90 del extracto etanólico de semillas de *Trichilia hirta* y del extracto etanólico, fracción y subfracción de semillas de *Tabernaemontana cymosa*

Extracto/fracción	Concentraciones (mg/L)
Extracto etanólico de <i>Trichilia hirta</i> (semillas)	250, 200, 150, 100
Extracto etanólico de <i>Tabernaemontana cymosa</i> (semillas)	100, 50, 25, 10, 5
Fracción F008	30, 25, 20, 15, 10
Subfracción F011	30, 20, 10, 5, 2,5, 1

Análisis estadístico

En todos los casos donde se presentó mortalidad larvaria, los porcentajes de mortalidad generados por cada una de las concentraciones evaluadas, se registraron y procesaron utilizando un análisis de mortalidad *Probit*, del paquete estadístico *Biostat 2009® Professional 5.8.4*, dando como resultado valores para CL₅₀ y CL₉₀ con sus respectivos límites de confianza.

Para el cálculo de los porcentajes de mortalidad se utilizaron las fórmulas que aparecen a continuación:

$$\% \text{ de mortalidad} = \frac{\text{Número de larvas muertas}}{\text{Número de larvas expuestas}} \times 100$$

Todas las larvas moribundas se contaron como muertas y en los casos donde se presentaron pupas, estas se descontaron del número total de larvas expuestas por vasos, como se muestra en la fórmula siguiente:

$$\% \text{ de mortalidad} = \frac{\text{Número de larvas muertas}}{\text{Número de larvas expuestas} - \text{Número de pupas}} \times 100$$

Tamizaje fitoquímico preliminar (TFP)

Se realizó el TFP al extracto etanólico total y fracciones de *T. cymosa*. El TFP se dirigió a la identificación de los grupos de metabolitos siguientes: alcaloides, flavonoides, triterpenos y esteroides, cumarinas, saponinas, taninos y polifenoles, quinonas y glicósidos cardiotónicos.

RESULTADOS

Evaluación preliminar de la actividad larvica de los extractos y fracciones de *Tabernaemontana cymosa* y *Trichilia hirta*

En la tabla 2 se resumen los porcentajes de mortalidad de los extractos etanólicos evaluados. De acuerdo con los resultados obtenidos, la actividad larvica de *T. hirta* y *T. cymosa* se presentó en el extracto etanólico de las semillas de ambas especies, mientras que los extractos de los demás órganos ensayados no tuvieron actividad.

Tabla 2. Porcentajes de mortalidad de los extractos etanólicos de los diferentes órganos vegetales de *Tabernaemontana cymosa* y *Trichilia hirta*

Especie	Extracto (200 mg/L)	Tiempo en horas/% mortalidad					
		1	6	12	24	36	48
<i>Trichilia hirta</i>	Corteza	0	0	0	0	0	0
	Semillas	0	0	0	10	35	53
<i>Tabernaemontana cymosa</i>	Cortezas	0	0	0	0	0	0
	Hojas	0	0	0	0	0	0
	Flores	0	0	0	0	0	0
	Semillas	10	50	85	100	100	100
	Dimetil sulfóxido (DMSO) 1 %	0	0	0	0	0	0
Temefos 0,05 mg/L	33	91	100	100	100	100	

A partir del fraccionamiento cromatográfico de 10 g del extracto etanólico de semillas de *T. cymosa* se obtuvieron 10 fracciones (F001-F010), de las cuales la fracción F008 concentró la mayor actividad larvica. De esta fracción F008, se obtuvieron 4 subfracciones (F011-F014) por cromatografía en columna abierta; la subfracción F011 resultó la responsable de la actividad, que causó una mortalidad mayor que 90 % a la primera hora de tratamiento (tabla 3).

A los extractos y fracciones que presentaron actividad larvica según los ensayos preliminares a las concentraciones evaluadas en este estudio, se les determinó los valores de CL_{50} y CL_{90} . Para el extracto total y las fracciones de *T. cymosa* la evaluación se realizó a las 24 h de tratamiento, mientras que para el extracto etanólico de *T. hirta* se hizo a las 48 h. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4.

De los 2 extractos evaluados, el correspondiente a semillas de *T. cymosa*, presentó la mayor actividad larvica ($CL_{50} = 35,1$ mg/L), la subfracción F011 de este extracto es la que parece concentrar los metabolitos secundarios con mayor actividad larvica ($CL_{50} = 14,98$ mg/L) obtenida en este estudio.

Tabla 3. Porcentajes de mortalidad de las fracciones obtenidas a partir del fraccionamiento cromatográfico del extracto etanólico de semillas de *Tabernaemontana cymosa*

Fracciones (100 mg/L)	Tiempo en horas/% mortalidad							
	0,25	0,5	1	2	4	6	12	24
F001	0	0	0	0	0	0	0	0
F002	0	0	0	0	0	0	0	0
F003	0	0	0	0	0	10	20	20
F004	0	0	0	0	5	10	25	25
F005	0	0	0	0	0	0	0	0
F006	0	0	10	30	65	85	100	100
F007	0	0	0	0	0	0	0	0
F008	5	25	50	85	100	100	100	100
F009	0	0	0	0	0	0	0	0
F010	0	0	0	0	0	0	0	0
F011	23	58,3	93	100	100	100	100	100
F012	0	0	0	0	0	0	0	0
F013	0	0	0	0	0	0	0	0
F014	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 4. Concentraciones letales 50 y 90 del extracto etanólico de semillas de *Trichilia hirta* y del extracto etanólico de semillas, fracción activa F008 y subfracción activa F011 de *Tabernaemontana cymosa*

Extracto o fracción	CL ₅₀ (mg/L)	Límites de confianza (95 %)		CL ₉₀ (mg/L)
		Superior	Inferior	
Extracto semillas <i>Trichilia hirta</i>	219,22	284,01	185,17	331,24
Extracto semillas <i>Tabernaemontana cymosa</i>	35,1	46,81	23,29	88,77
Fracción F008	20,94	25,52	16,20	79,06
Subfracción F011	14,98	18,68	11,28	31,86

Determinación de la concentración letal 50 y 90 (CL₅₀ y CL₉₀) de extractos y fracciones activas

Tamizaje fitoquímico preliminar (TFP)

Los diferentes tipos de metabolitos presentes en el extracto etanólico de semillas de *T. cymosa*, de las fracciones F006 y F008 y subfracción F011, obtenidas por cromatografía en columna abierta se identificaron mediante diferentes pruebas microquímicas y por cromatografía de capa delgada, de acuerdo con los protocolos previamente establecidos en la literatura. Los resultados del TFP se encuentran relacionados en la tabla 5.

Tabla 5. Tamizaje fitoquímico preliminar del extracto etanólico de semillas de *Tabernaemontana cymosa*, fracciones F006 y F008 y subfracción F011

Metabolito secundario	Extracto etanólico (200 mg/L)	F006 (100 mg/L)	F008 (100 mg/L)	F011 (100 mg/L)
Alcaloides	+++	++	-	-
Taninos y Polifenoles	+	-	-	-
Triterpenos	++	+	++	++
Esteroles	+++	++	+++	+++
Cumarinas	+	+	+	-
Saponinas	+	-	-	-
Glicósidos	+++	-	-	-
Flavonoides	-	-	-	-
Quinonas	-	-	-	-

(+++): abundante, (++): moderado, (+): escaso, (-): no detectado.

DISCUSIÓN

Luego de evaluar varios órganos de *T. cymosa* y *T. hirta* en este estudio, se encontró que la mayor actividad larvicida se presentó en el extracto etanólico de las semillas de *T. cymosa*. Por su buena actividad larvicida, el extracto etanólico total de las semillas de *T. cymosa* se sometió a un fraccionamiento cromatográfico biodirigido, con el fin de buscar la(s) fracción(es) que concentraba(n) esa actividad y a partir de estas poder llegar al aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios presentes. De las fracciones obtenidas a partir de este extracto, la actividad larvicida se concentró en las fracciones F006 y F008, las cuales provocaron una mortalidad de 100 % a las 12 h de tratamiento. Un monitoreo al perfil cromatográfico de las 2 fracciones activas F006 y F008 y del extracto etanólico de semillas de *T. cymosa*, usando cromatografía de capa delgada y silicagel como fase estacionaria, permitió observar que la fracción F008 estaba constituida por una mezcla de compuestos de mediana y baja polaridad, mientras que la fracción F006 contenía compuestos de mayor polaridad. Esto quizá indica que el extracto etanólico debe su actividad larvicida, a una mezcla de compuestos con polaridades y estructuras químicas diferentes. Esa puede ser una situación muy ventajosa al momento de pensar en alternativas naturales que permitan mejorar el control de vectores resistentes a larvicidas, con el fin de combatir la resistencia que han adquirido los mosquitos por la presión que se ha ejercido sobre ellos con el uso continuo de larvicidas sintéticos. El posterior fraccionamiento biodirigido de la fracción F008 (CL_{50} = 20,94 mg/L) permitió determinar que la actividad larvicida se encontraba concentrada en la subfracción F011 (CL_{50} = 14,98 mg/L), la cual produjo una mortalidad larvaria de 23 % a los 15 min postratamiento, pasando a más de 90 % de mortalidad, a solo 1 h de contacto con las larvas.

La actividad larvicida exhibida por las semillas de *T. cymosa* es similar a las exhibidas por las semillas de *Annona squamosa* (CL_{50} de 31,4 mg/L, 24 h), la cual es una especie vegetal perteneciente a la familia de las Anonáceas, cuyas plantas

se han caracterizado por poseer una potente actividad larvica debido a la presencia de compuestos conocidos como acetogeninas.¹⁵⁻¹⁷

Las pruebas realizadas al extracto total de semillas de *T. cymosa* para la detección de los metabolitos secundarios, arrojó resultados positivos para la presencia de alcaloides, glicósidos cardiotónicos, cumarinas, triterpenos, esteroides y compuestos fenólicos. Mediante la prueba de cloruro férrico 10 % se descartó la presencia de taninos, dentro de los compuestos fenólicos.¹⁸ El TFP para las fracciones activas F006 y F008, indicó la presencia en ambas fracciones de metabolitos secundarios correspondientes a triterpenos, esteroides y cumarinas, los cuales también se encontraron en el extracto total. En la subfracción F011 se detectó la presencia de triterpenos (moderado) y esteroides (abundante). Por lo tanto, según nuestro estudio, la actividad larvica de las semillas de *T. cymosa* se debe muy probablemente, a compuestos del tipo de los triterpenos y esteroides.

Las especies objeto de estudio *Trichilia hirta* (CL₅₀ = 219,22 ppm) y *Tabernaemontana cymosa*, por medio de bioensayos estandarizados demostraron tener un efecto en las larvas de III y IV estadios de *Aedes aegypti*, por lo que la actividad *T. cymosa* es muy prometedora. La concentración letal media del extracto etanólico de semillas *T. cymosa*, la fracción SM-I-5N (más activa) y la subfracción SM-I-5Q, fueron 35,1; 20,9; 14,9 ppm, respectivamente. Los resultados obtenidos son muy promisorios, porque *T. cymosa* sería una candidata muy buena a ser utilizada como alternativa natural al uso de insecticidas para el control del vector *A. aegypti*. Además cabe mencionar, que el alto grado de biodegradación exhibido por la mayoría de los productos naturales que los convierten en eco-amigables, los hace atractivos como reemplazo de los productos químicos de síntesis. Aunque falta investigación para caracterizar los compuestos responsables de la actividad larvica en *T. cymosa*, los resultados descritos en este estudio no se pueden descartar como una alternativa en el futuro a las sustancias químicas, a las cuales el mosquito ha desarrollado resistencia, tanto es su fase acuática como aérea.

Las fracciones que concentraron la actividad resultaron SM-I-5L y SM-I-5N, con el hecho interesante de que cada una produce una mortalidad de 100 % de las larvas a las 12 h, lo cual indica una alta eficacia de estas para eliminar las larvas del mosquito *A. aegypti*. Si se considera que el temefos usado en este estudio como control positivo a la concentración de 0,05 ppm produce una mortalidad de 100 % a las 6 h y que se está en presencia de una mezcla de compuestos en las 2 fracciones activas, las posibilidades de encontrar moléculas muy activas en el extracto etanólico de semillas *T. cymosa* son muy buenas. Adicionalmente, se pudo determinar que la fracción SM-I-5N está constituida por una mezcla de compuestos de mediana y baja polaridad, mientras que la fracción SM-I-5L es una mezcla de compuestos de polaridades más altas, lo cual muestra que el extracto etanólico debe su actividad larvica a una mezcla de compuestos con estructuras químicas y polaridades diferentes; esta puede ser una situación muy ventajosa al momento de pensar en alternativas naturales que permitan mejorar el control de vectores resistentes, debido al uso continuo de larvicidas sintéticos. En este caso, tanto el extracto total como las fracciones activas obtenidas a partir de él se pueden proponer para ensayos de aplicación en campo, para ver cómo se comporta frente a larvas de mosquito que hayan estado expuestas a larvicidas como el temefos. Algo más para destacar sobre la fracción activa SM-I-5N, fue el alto rendimiento (16 %) cromatográfico por columna abierta del extracto etanólico de *T. cymosa* (SM-I-1F).

De acuerdo con las CL₅₀ y CL₉₀ obtenidas en este estudio para el extracto etanólico total de semillas de *T. cymosa*, se puede considerar a esta una especie vegetal promisoriosa para el aislamiento de metabolitos secundarios a partir de sus semillas, que puedan servir como alternativas al uso de larvicidas organofosforados

sintéticos como el temefos, cuya eficacia se ha visto afectada como lo demuestran los diferentes estudios sobre resistencia adquirida por los mosquitos a este larvicida.¹⁹⁻²³

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar sus agradecimientos a la Universidad de Cartagena y al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, COLCIENCIAS, por todo el apoyo financiero para el desarrollo de este estudio, a través del proyecto Código 1107-519-28634.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Salud de Argentina. Directrices para la prevención y control de *Aedes aegypti*. 2010 [Citado 16 Ene 2010]. Disponible en: http://www.msal.gov.ar/dengue/descargas/guia_%20acciones%20prevencion_control_aedes%20aegypti.pdf
2. Cheng SS, Huang CG, Chen YJ, You JJ, Chen WJ, Chang ST. Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oils from two eucalyptus species. *Bioresource Technol.* 2009;100(1):452-6.
3. Chung IM, Seo SH, Kang EY, Park SD, Moon HI. Chemical composition and larvicidal effects of essential oil of *Dendropanax morbifera* against *Aedes aegypti* L. *Biochem Systematics Ecol.* 2009;37:470-3.
4. Montada D, Castex M, Suarez S, Figueredo D, Leyva M. Estado de la resistencia a insecticidas en adultos del mosquito *Aedes aegypti* del municipio Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. *Rev Cubana Med Trop.* 2005;57(2):137-42.
5. Ansari MA, Razdan RK, Tandon M, Vasudevan P. Larvicidal and repellent actions of *Dalbergia sissoo* Roxb. (F. Leguminosae) oil against mosquitoes. *Bioresource Technol.* 2000;73:207-11.
6. Casida JE, Quistad GB. Insecticide targets: learning to keep up with resistance and changing concepts of safety. *Agric Chemical Biotechnol.* 2000;43:185-91.
7. Garcez WS, Garcez FR, Da Silva L, Hamerski L. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of some plants native to the West-Central region of Brazil. *Bioresource Technol.* 2009;100(24):6647-50.
8. Santos AH, Hsiang M, Nunes LF, Rocha, Garcia HH, Luz C. Dependence of *Metarhizium anisopliae* on high humidity for ovicidal activity on *Aedes aegypti*. *Biological Control.* 2009.50(1):37-42.

9. Cheng SS, Huang CG, Chen WJ, Kuo YH, Chang, ST. Larvicidal activity of tectoquinone isolated from red heartwood-type *Cryptomeria japonica* against two mosquito species. *Bioresource Technol.* 2008;99(9):3617-22.
10. Leyva M, Marquetti MC, Tacoronte JE, Scull R, Tiomno O, Mesa A, et al. Actividad larvica de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Rev Biomedica.* 2009;20:5-13.
11. Shu YZ. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. *J Nat Prod.* 1998;61(8):1053-71.
12. Fabricant DS, Farnsworth NR. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environ Health Perspectives.* 2001;109(1):69-75.
13. World Health Organization. Guidelines for laboratory field testing of mosquito larvicides. Geneva: WHO; 2005. [Cited 26 Jul 2010]. Available at: http://whqlibdoc.who.int/hq/2005/WHO_CDS_WHOPES_GCDPP_2005.13.pdf
14. Organización Mundial de la Salud. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. WHO/VBC/81.80. Geneva: WHO; 1981. p. 6.
15. Morais S, Alves V, Medeiros L, Barreira E, Dos Anjos JF, Aparecida S. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Piper species*. *Biochem Systematics Ecol.* 2007;35(10):670-5.
16. De Omena MC, Navarro DM, De Paula JE, Luna JS, Ferreira MR, SantAna AE. Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of some Brazilian medicinal plants. *Bioresource Technol.* 2007;98(13):2549-56.
17. Abdel-Salam E, Canyon D, Faried M, Abdel-Wahab H, Mansour AH. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *Environ International.* 2005;31(8):1149-66.
18. Albornoz A. Productos naturales, sustancias y drogas extraídas de plantas. Caracas: Universidad Central de Venezuela; 1980.
19. Rawlins SC. Spatial distribution of insecticide resistance in Caribbean populations of *Aedes aegypti* and its significance. *Rev Panameña Salud Pub.* 1998;4(4):243-51.
20. Rodríguez MM, Bisset JA, Fernández D. Levels of insecticide resistance and resistance mechanism in *Aedes aegypti* from some Latin American countries. *J Am Mosq Control Assoc.* 2007;23(4):420-9.

21. Seccacini E, Lucia A, Zerba E, Licastro S, Masuh H. *Aedes aegypti* resistance to temephos in Argentina. J Am Mosq Control Assoc. 2008;24(4):608-9.

22. Jirakanjanakit N, Saentharatip S, Rongnoparut P, Duchon S, Bellec C, Yoksan S. Trend of temephos resistance in *Aedes (Stegomyia)* mosquitoes in Tailand during 2003-2005. Environ Entomol. 2007;36:506-11.

23. Ayesa P, Harrington L, Scott J. Evaluation of novel insecticides for control of dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). J Med Entomol. 2006;43:55-60.

Recibido: 14 de febrero de 2012.

Aprobado: 14 de abril de 2012.

Harold Gómez-Estrada. Grupo de Investigación en Química de Medicamentos.
Universidad de Cartagena. Cartagena de Indias, Colombia. Teléf.: 57-5-6698323.
Correo electrónico: hgomeze@unicartagena.edu.co