

Composición y actividad biológica de los extractos de *Ulomoides Dermestoides* (Tenebrionidae) procesados bajo diferentes condiciones en Cumaná, estado Sucre

Shailili Moreno Morales^{1*}, Oscar Crescente¹, Beatriz Herrera Malaver²,
José Vicente Hernández², Marielva Muñoz³ y María José Oliveros⁴
(Recibido: julio 23, Aceptado: octubre 29, 2019)

¹ Lab. 310, Departamento de Química, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, Venezuela.

² Laboratorio de Ecología Química, Universidad Simón Bolívar, Venezuela.

³ Facces-Administración de Empresas, Universidad Nororiental Gran Mariscal de Ayacucho, Cumaná, Estado Sucre, Venezuela.

⁴ Facultad de Odontología, Universidad Gran Mariscal de Ayacucho, Barcelona, Estado Anzoátegui, Venezuela.

* Autor de correspondencia: shaililiko@yahoo.com

Resumen

Ulomoides dermestoides (Coleoptera: Tenebrionidae) (Fairm), conocidos como “gorgojos chinos”, han sido usados con éxito como medicina en terapias no convencionales. Los metabolitos de *U. dermestoides* fueron extraídos tanto a partir de grupos de individuos vivos (UD1 hexano, acetona e isopropanol), como de individuos previamente refrigerados por 72h (UD2 hexano, diclorometano, acetona y metanol). La composición de estos extractos fue determinada mediante Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (CG-EM). El análisis químico preliminar mostró ausencia de saponinas en todos los extractos y presencia de esteroides y triterpenos en el extracto hexánico de ambas muestras. La prueba de alcaloides resultó positiva para UD2 diclorometano, acetona y metanol, y la de polifenoles para UD1 en isopropanol y UD2 acetona. También, resultaron positivas la prueba para flavonoides en UD1 isopropílico y UD2 hexánico, cumarinas en todos los extractos UD2 y glicósidos cianogénicos en UD2 acetona. Los extractos alcohólicos resultaron inactivos en el ensayo de letalidad contra *Artemia salina*; y ninguno mostró actividad antifúngica, mientras que UD1 isopropílico mostró un efecto bacteriostático contra *Klebsiella neumoneae*. Los extractos de UD2 tienen un amplio espectro de acción antibacteriana, pues mostraron actividad frente a *K. neumoneae* y *Staphylococcus aureus*. Dodecano es el componente mayoritario de UD1 hexano y para el UD2 hexano fue 1-pentadeceno, 1-cloroheptacosano, octacosano y colestano-3-ol. En los otros extractos los componentes mayoritarios fueron 9,17 (Z)-octadecadienal (UD1 y UD2 en acetona), heptadecano y colestano-5-en-3-ol (UD2 en diclorometano). El análisis de FT-IR de los extractos confirmó grupos funcionales de los compuestos identificados, posibles responsables de la actividad biológica observada.

Palabras Clave: Gorgojos chinos, metabolitos de insectos, *Ulomoides dermestoides*.

Composition and Biological activity of extracts from *Ulomoides dermestoides* (Tenebrionidae) processed under different conditions in Cumana, Sucre State.

Abstract

Ulomoides dermestoides (Coleoptera: Tenebrionidae) (Fairm) known as chinese beetles, are used as a medicine in no-conventional therapies. The metabolites of *U. dermestoides* were extracted from two groups; live individuals (UD1 hexane, acetone and isopropanol) and individuals previously cooled at 4°C for 72h (UD2 hexane, dichloromethane, acetone and methanol). The composition of these extracts was determined by Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS). The preliminary chemical analysis has shown no presence of saponins in the extracts. In the hexanoic extracts were observed sterols and triterpenes. Alkaloids were confirmed in extracts of UD2 prepared with dichloromethane, acetone and methanol. On the other hand, polyphenols were observed in the UD1 isopropanol and UD2 acetone extracts. Flavonoids were present in UD1 isopropanol extract and hexanoic UD2 extracts. In all UD2 extracts were observed coumarins and in the UD2 acetone extract were detected cyanogenic glycosides. The hexanoic extracts were inactive in the bioassays with *Artemia salina*; and none of them show antifungal activity. However, UD1 isopropanol extract has shown bacteriostatic effect against *Klebsiella neumoneae*. The UD2 extracts have a wide antibacterial action. They demonstrated activity against *K. neumoneae* and *Staphylococcus aureus*. Dodecane is the main compound in UD1 hexane extract while in UD2 hexane extract were 1-pentadecene, 1-chloroheptacosane, octacosane and cholestan-3-ol the main copounds. The principal constituents of the other extracts were 9.17 (Z)-octadecadienal (UD1 and UD2 in acetone), heptadecane and cholestan-5-en-3-ol (UD2 in dichloromethane). The FT-IR analysis of the extracts confirmed the functional groups of the identified compounds, which can explain the observed biological activity.

Keywords: *Ulomoides dermestoides*. Chinese beetles, insect metabolites

INTRODUCCIÓN

Existen muchas fuentes naturales de sustancias (metabolitos) que no se han explotadas profundamente; un ejemplo de ello, son los “gorgojos chinos”, también conocidos como “gorgojos del maíz” o “bichito del amor”, los cuales son utilizados popularmente, para tratar los síntomas de algunas enfermedades como, el asma, problemas gástricos, cáncer, entre otras. Ellos se clasifican científicamente como *Ulomoides dermestoides* (Fairm) (Coleoptera: tenebrionidae), y son comunes en todas las regiones templadas y tropicales del mundo (1).

A pesar de que este insecto puede causar graves problemas en las cosechas y almacenamiento de granos, como el maíz y el maní, también podría ser aprovechable como una alternativa de alimentación de especies de interés doméstico y exótico (2). De hecho, la práctica antropoentomofagia (uso de los insectos como recurso alimenticio de seres humanos) ha sido infravalorada por los escasos estudios que existen hasta ahora, ya que los insectos comestibles, son un potencial nutritivo, debido a los macro y micronutrientes que albergan y a su abundancia (3). Una de las principales regiones del mundo donde los insectos son consumidos es América tropical, ya que estos organismos proveen una cantidad significativa de calorías y nutrimentos, que están disponibles para todas las poblaciones (4). El mayor grupo de insectos comestibles, usado como alimento, son los coleópteros con 468 especies. Los adultos de *U. dermestoides* se comen como fortificante energético; este insecto aún es cultivado a nivel familiar como un recurso nutracéutico, pues es consumido como un fortificante excelente (5).

Por otra parte, en la medicina tradicional de varios países latinoamericanos, se conoce como “coleoterapia” o “coleopteroterapia” a la ingesta de escarabajos con fines terapéuticos, para tratar los síntomas de una amplia gama de enfermedades (6, 7).

Esta terapia tan poco convencional exige que los gorgojos (que miden aproximadamente cinco milímetros) se consuman vivos, sin morderlos, con agua o mezclados con yogur, leche, miel, helados, gelatina o dentro de cápsulas vacías. La coleopteroterapia es un bien complementario para la medicina humana, ya que al ingerir coleópteros vivos mejora la calidad de vida de las personas que padecen diferentes enfermedades (8). En este sentido, *U. dermestoides* ha sido ampliamente aplicado, en la medicina folclórica china y japonesa, para el tratamiento de dolores, asma y otros desórdenes respiratorios. También ha sido popularmente reportado en varias localidades de Brasil, como elemento efectivo en el tratamiento del asma y su extracto acuoso (con proteínas concentradas), aplicado intrapleuralmente en dosis de 12,5 mg/dl, ha demostrado su efectividad como agente antiinflamatorio en ratas Wistar hembras con pleuritis inducida (7). Esta propiedad, posiblemente, explica en parte el uso médico tradicional del escarabajo (9, 7).

Análogamente, *U. dermestoides* fue objeto de estudios, por ser un gorgojo cosmopolita consumido en Argentina como una alternativa medicinal en el tratamiento del asma, mal de Parkinson, diabetes, artritis, VIH y especialmente cáncer; razones por las cuales se le evaluó la citotoxicidad y el daño al ADN provocado por los componentes volátiles mayoritarios del gorgojo sobre la línea celular A549, correspondiente a un carcinoma humano epitelial. Los compuestos fueron extraídos con diclorometano e identificados como 1,4-dimetilbenzoquinona y 1,4-dietilbenzoquinona, mostrando una actividad citotóxica de 0,26 a 0,34 equiv/ml (10). Otro estudio, sobre la composición química y la capacidad anti-irritante de extractos de cuerpo entero de *U. dermestoides*, se determinó que el extracto metanólico tiene un potencial efecto anti-irritante; en cambio, el extracto hexánico no mostró actividad anti-irritante (11).

Con respecto a la composición química de *U. dermestoides*, se identificaron seis compuestos comunes en ambos extractos, del tipo ácidos grasos y esteroidales; así como compuestos aromáticos, quinonas, hidrocarburos saturados y alcoholes sólo en el extracto hexánico, mientras que en el extracto metanólico se identificaron alcoholes y sustancias terpenoidales. Los resultados de este estudio permitieron concluir que, el efecto anti-irritante de los extractos metanólicos de *U. dermestoides* podrían atribuirse a compuestos con actividad anti-inflamatoria, como el ácido oleico y el limoneno (11).

La relevancia de estos antecedentes sugiere que, los insectos del tipo coleópteros producen una amplia variedad de metabolitos, los cuales representen sustancias medicinales y/o precursores de las mismas, y a futuro pueden llegar a tener aplicaciones médicas importantes; lo cual plantea la necesidad de realizar investigaciones profundas a estas especies, más aún cuando están siendo cultivadas y consumidas localmente, con efectividad en tratamientos médicos no convencionales. Por esta razón, se plantea un estudio orientado a identificar los metabolitos presentes en extractos orgánicos de los Gorgojos Chinos "*Ulomoides dermestoides*" (Coleóptera: Tenebrionidae), obtenidos bajo diferentes condiciones y, determinar la actividad biológica de dichos extractos, con el fin de detectar una posible aplicación biomédica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta e identificación. Los diferentes ejemplares del insecto utilizado fueron proporcionados por la familia del señor Gustavo Rodríguez, practicante de la coleoterapia, en agosto de 2013, en Cumaná, estado Sucre. *Ulomoides dermestoides* (Fairm) (Coleoptera: tenebrionidae) fue identificado por Dr. Franklin Morillo en el Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA),

estado Miranda, Venezuela. Muestras húmedas del insecto reposan en la Colección de Insectos del INIA.

Cultivo y obtención de las muestras. Los ejemplares de *U. dermestoides* fueron cultivados durante cuatro (4) meses a temperatura ambiente en el Lab. EC-310 del núcleo de Sucre, de la Universidad de Oriente. Los insectos fueron colocados en un envase de vidrio limpio y seco, con tapa de tela para permitir la aireación. El sustrato utilizado, como medio alimenticio y de reproducción, fue una mezcla de afrecho y conchas de cambur, la cual se renovó cada 48 h. Después del proceso de cultivo y crecimiento, los individuos de *U. dermestoides* se separaron manualmente del medio alimenticio y se dividieron en dos grupos: *U. dermestoides* 1 y *U. dermestoides* 2 (UD1 y UD2, respectivamente) para posteriores análisis. La masa del material utilizado, para cada muestra, fue cuantificada utilizando una balanza electrónica Citizen de 220g de capacidad.

Tratamiento de las muestras y obtención de los extractos. La muestra UD1, constituida por ~15g de individuos vivos, se dividió en tres grupos, de cada tercio se obtuvo por separado un extracto orgánico diferente: UD1 en hexano, UD1 en acetona y UD1 en alcohol isopropílico. Los extractos se prepararon colocando los individuos en contacto con 250 ml del correspondiente solvente. Se realizaron extracciones sucesivas hasta agotamiento, a temperatura ambiente. Luego se filtraron por gravedad sobre papel de filtro. El solvente se eliminó en un rotaevaporador Buchi 461 a 35°C, obteniéndose así tres extractos crudos de la muestra viva.

La muestra UD2, constituida por ~11g de individuos previamente refrigerados por 72h a 5°C, fue extraída sucesivamente, a temperatura ambiente y de manera exhaustiva, con n-hexano, luego se filtró por gravedad sobre papel de filtro. El solvente

se eliminó en un rotaevaporador Buchi 461 a 35°C, obteniéndose así el extracto UD2 en hexano. Posteriormente, la muestra resultante fue extraída con diclorometano, y se repitió el procedimiento hasta la obtención de UD2 en diclorometano. De igual forma, se procesó la misma muestra para obtener UD2 en acetona y UD2 en metanol, resultando en cuatro extractos crudos de la muestra previamente refrigerada.

Pruebas químicas preliminares. La evaluación química preliminar se realizó con reactivos de clasificación en una serie de pruebas químicas cualitativas de coloración o precipitación. Esto permitió detectar la posible presencia de diversas familias de metabolitos (alcaloides, antraquinonas, cumarinas, esteroides insaturados y triterpenos pentacíclicos, fenilpropanoides, flavonoides, glicósidos cianogénicos y cardiotónicos, metilencetonas, saponinas, taninos y polifenoles, entre otros) de acuerdo a los protocolos descritos en (12, 13).

Evaluación de la bioactividad. La actividad biológica se refiere a cualquier efecto que ejerce la muestra sobre los seres vivos, de modo que se realizarán una serie de ensayos de letalidad (14, 15), actividad antimicrobiana (16) y antifúngica (17) con la finalidad de determinar el posible efecto farmacológico que puedan presentar los extractos en estudio.

Identificación. Para realizar la identificación de los compuestos mayoritarios, los extractos se analizaron en un Cromatógrafo de Gases, marca Agilent, modelo 7890A, acoplado a un Espectrómetro de Masas (marca Agilent, modelo 5975) de impacto electrónico (70 eV), operado en modo SCAN (rango de m/z 30 a 500), y fuente de ionización a 250 °C. Se inyectó un 1 µl de los extractos en modo *splitless* con tiempo de apertura de válvula de 0,60 min, usando helio UAP como gas de arrastre, temperatura del inyector a 260

°C. Las corridas realizadas mediante CG-EM se analizaron empleando el programa Chemstation (Agilent, versión A10.01.1) y se utilizó la librería de espectros NIST (versión 2008) para la identificación de los constituyentes de los extractos UD1 y UD2. Adicionalmente, los extractos fueron analizados en un espectrofotómetro Perkin Elmer FTIR 16 PC. Los análisis se realizaron como muestra-KBR-aire con 24 barridos de solución de 2cm-1. Las pastillas se compactaron en una prensa a 1,05x10⁹ kg/m² de presión, disponible en las instalaciones del Instituto de Investigaciones de Biomedicina y Ciencias Aplicadas (IIBCA) de la UDO.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La reproducción y el ciclo de vida de *U. dermestoides* son afectados por los cambios climáticos, temperatura y alimento entre otros. Por ello, se deben emplear sustratos adecuados en su crianza y mantenerlos bajo condiciones relativamente constantes de temperatura y humedad, para lograr su reproducción. Con respecto al tipo de sustrato, ellos no tienen diferencias significativas sobre sus preferencias de consumo, es decir, son capaces de atacar gran diversidad de granos, independientemente del tipo de granero que se use para su almacenamiento (2). Las condiciones de cultivo utilizadas en esta investigación fueron favorables, ya que la población inicial de individuos totales en el medio aumentó su masa, pasando de ~5g iniciales hasta ~30g para el final del tiempo de cultivo, lo cual confirma la versatilidad que tiene este insecto para adaptarse a diferentes condiciones climáticas y de alimentación. Posteriormente, se separaron manualmente los individuos de las dos muestras a analizar, para desarrollar con éxito el proceso de extracción. En general, los porcentajes de rendimientos en la obtención de los extractos son bajos, menores del 20%, sin embargo son aceptables dentro del campo de los productos naturales de organismos. Obteniendo que, para la muestra UD1, el extracto en mayor

cantidad es el de acetona, mientras que el de menor masa es el de alcohol isopropílico (Tabla 1). En cambio, para la muestra UD2, el extracto obtenido en mayor cantidad es el de metanol, mientras que el de menor masa es el de diclorometano; lo cual evidencia que el hecho de variar el procesamiento de la muestra tiene efecto significativo en la cantidad y tipo de metabolitos (polaridad), segregados por los individuos de cada muestra. De acuerdo con el % rendimiento del extracto hexánico y acetónico, para ambas muestras, existe una diferencia notable en la cantidad de metabolitos segregados al solvente de extracción, al ser sometidos a procesos distintos para la obtención del extracto; cuando se utiliza la muestra viva de individuos inmediatamente separados del medio de cultivo (UD1), se obtiene mayor masa de estos extractos, comparada con la obtenida cuando se utiliza la muestra previamente refrigerada (UD2); esto sugiere que, el “stress” de la extracción directa provoca mayor activación del metabolismo de los gorgojos y, por lo tanto, mayor segregación de metabolitos. Proceso similar ocurre cuando estos coleópteros son utilizados en ingesta directa (coleoterapia) y son sometidos a extracción de la muestra viva por la saliva y los jugos gástricos.

El primer aspecto característico, el color, sugiere que cada extracto tiene entre sus constituyentes uno, o más, compuestos cuya estructura química posee cromóforos y/o sistemas de dobles enlaces conjugados

que, en general, son los que presentan coloraciones específicas. El segundo aspecto, la textura, muestra la variabilidad de acuerdo al tipo de compuestos que se extraen según el solvente utilizado y, el tercer aspecto, el olor, nos permite inferir que dentro de los compuestos constituyentes de cada extracto, existen sustancias lipófilas volátiles, que generalmente son de baja masa molar (<300g/mol) y bajo punto de ebullición, por lo cual escapan de su estado fluido, o incluso sólido, pasando con cierta facilidad a la fase de vapor y, de acuerdo a sus características estructurales, impregnan su microambiente con un olor específico; cabe destacar que, los olores de los extractos hexánicos sugieren la presencia de aldehídos y cetonas alifáticas en UD1 y de ácidos n-alifáticos en UD2, ya que los grupos funcionales mencionados se pueden asociar a los olores característicos de almendras y grasas respectivamente (18).

De acuerdo a los resultados de la Tabla 1, ninguno de los extractos contiene saponinas, taninos, metilcetonas, fenilpropanoides, glicósidos cardiotónicos y antraquinonas como constituyentes; sin embargo, un resultado negativo no necesariamente implica la ausencia de este tipo de metabolitos, ya que puede ocurrir que el ensayo no sea lo suficientemente sensible ante el tipo de estructura presente, o que al estar presentes cantidades pequeñas del metabolito dentro del extracto, la prueba no los pueda detectar, es por ello que aún no podemos descartar la presencia de este tipo de compuestos.

Tabla 1. Rendimiento del proceso de obtención, características y análisis químico preliminar de los extractos de *U. dermestoides*.

EXTRACTO	UD1			UD2			
	hexano	acetona	i-propanol	hexano	CH ₂ Cl ₂	acetona	metanol
Rendimiento (% m-m)	7,18	17,67	6,06	1,02	0,63	1,46	11,31
Color	amarillo	marrón oscuro	rosa pálido	amarillo	vino tinto	marrón claro	marrón oscuro
Textura	aceitosa	sólido	emulsión	cera	sólido	sólido	sólido
Olor	almendra	penetrante	penetrante	grasa	penetrante	penetrante	penetrante
Familia de metabolitos							
Saponinas	-	-	-	-	-	-	-
Taninos	-	-	-	-	-	-	-
Polifenoles	-	-	+	-	-	-	-
Cumarinas	-	-	-	+	+	-	+
Metilcetonas	-	-	-	-	-	-	-
Flavonides	-	-	+	-	-	-	-
Fenil-propanoides	-	-	-	-	-	-	-
Esteroles y triterpenos	+	+	-	+	+	-	+
Glucósidos cardiotónicos	-	-	-	-	-	-	-
Glucósidos cianogénicos	-	-	-	-	-	-	-
Alcaloides	-	-	-	-	+	-	+
Antraquinonas	-	-	-	-	-	-	-

Sin embargo, se obtuvo resultado positivo para flavonoides en el extracto UD1 en isopropanol y UD2 en hexano. Este tipo de compuestos son comunes al metabolismo de las plantas, no obstante se han reportado en otro tipo de organismos. Antiguamente se consideraba que la síntesis de flavonoides era una actividad exclusiva de las plantas, actualmente se conoce que microorganismos como *Streptomyces griseus* codifican una proteína que tiene gran similitud con la de las plantas. Los modelos microbianos son una herramienta excelente para la producción de metabolitos secundarios de plantas, pues se sabe que los microorganismos mimetizan el metabolismo de mamíferos, plantas e insectos. Además de poseer sistemas enzimáticos parecidos a éstos, catalizan reacciones similares de importancia en el metabolismo (19). De allí que, los flavonoides

posiblemente presentes en los extractos de *U. dermestoides* pueden ser propios de su metabolismo o adquiridos de la fuentes vegetales y/o bacterianas, con las que estaban en contacto durante su proceso de reproducción y crecimiento.

Análogamente, los polifenoles posiblemente presentes en UD1 en isopropanol y UD2 en acetona, son metabolitos comunes de las plantas, pero también es sabido que forman parte de la exocutícula de los insectos, que es una capa gruesa muy compleja, formada por varios tipos de quitinas, proteínas y polifenoles (20). De igual modo, se evidenció la posible presencia de Esteroles y triterpenos en ambos extractos hexánicos, así como en el extracto UD1 acetónico y UD2 diclorometánico. Los Esteroles encuentran en abundancia en los organismos vivos, sobre todo en animales y en algunas algas rojas.

Los hongos y levaduras contienen esteroides tipo ergosterol, que son precursores de la vitamina D, y por tanto es necesario ingerirlos en la dieta. Organismos marinos como las estrellas de mar contienen esteroides muy característicos con insaturaciones, que los diferencian de los esteroides terrestres de plantas y animales (21). Por otro lado, los triterpenos han sido estudiados rigurosamente debido en parte a su relación con los esteroides, y se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, tanto en el reino vegetal como en el reino animal. En las plantas está generalizada su habilidad para biosintetizarlos, pero en el reino animal el proceso parece ser más complicado y mucho menos conocido. Por ejemplo, los vertebrados sintetizan esteroides a partir de precursores sencillos, pero los insectos solo pueden acumularlos a partir de los ingeridos en su alimentación. Hay que tener en cuenta la asociación con la microflora que generalmente acompaña a los insectos, en cuyo caso, siendo un régimen no estéril, deben considerarse las contribuciones que hace tal microflora al metabolismo de los insectos. También en las plantas superiores se han encontrado unas 30 ecdisonas (fitoecdisonas) y se sospecha que su función es la de interferir con el metabolismo hormonal de insectos fitófagos (12). En la Tabla 1 también se puede observar que se obtuvo resultado positivo en la aplicación de la prueba de glucósidos cianogénicos a UD2 en acetona y en la prueba de cumarinas para todos los extractos UD2. Ambos tipos de metabolito son más comunes al metabolismo de plantas que de animales; sin embargo existe una estrecha relación por las interacciones planta-insecto que pueden llevar sustancias de un organismo a otro. Al igual que con otros metabolitos secundarios, algunos animales se han adaptado a alimentarse de plantas que contienen glucósidos cianogénicos y glucosinolatos, sin que les produzca ningún daño. A pesar de la toxicidad de éstas sustancias, algunos insectos especializados

presentan adaptaciones biológicas similares, llegando a tolerar metabolitos de plantas con propiedades defensivas, que incluyen furanocumarinas, glucosinolatos y glucósidos cianogénicos; por ejemplo, la 2,4-dihidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona (DIBOA), correspondiente a una toxina encontrada en maíz, trigo y otras gramíneas expuestas a la herbivoría (22).

A pesar de haber obtenidos mayores porcentajes en masa para los extractos de UD1, con respecto a los UD2, este análisis químico preliminar mostró mayor variedad de familias de compuestos en los extractos UD2, obteniendo además un resultado positivo en las pruebas de cumarinas y alcaloides aplicadas a UD2 en diclorometano, acetona y metanol, contrario al resultado negativo observado para todos los extractos de UD1. La diversidad estructural y la variedad en la actividad biológica de los alcaloides, hacen de este grupo, uno de los más importantes entre las sustancias naturales de interés terapéutico. Un número de insectos de diferentes especies han desarrollado adaptaciones para secuestrar, almacenar y utilizar los alcaloides pirrolizidínicos como feromonas y como defensa frente a predadores ya que estos alcaloides son hepatotóxicos (23). Con base en esto, es posible que *U. dermestoides* sintetice alcaloides o que los adquiera a partir del medio en el que se encontraba.

Actividad biológica de los extractos

El ensayo de letalidad frente a *Artemia salina* se realizó sólo para los extractos alcohólicos (UD1 en isopropanol y UD2 en metanol), por su buena solubilidad en el medio del ensayo y disponibilidad de los materiales empleados. Después de 48 horas de exposición, ningún nauplio resultó muerto. De allí que, los extractos alcohólicos no presentan efecto contra *A. salina* a las concentraciones ensayadas. De igual modo, ninguno de los extractos mostró actividad antifúngica.

Al evaluar la actividad antibacteriana, se

evidenció que los extractos en hexano y acetona de UD1 (a 50 mg/ml) no inhiben el crecimiento de las bacterias ensayadas. Sin embargo, el extracto alcohólico mostró un pequeño halo de inhibición bacteriostático contra *Klebsiella neumonae*, en cual el crecimiento de la bacteria es inhibido de forma parcial. Los antibióticos bacteriostáticos limitan el crecimiento de las bacterias al interferir con la producción de la proteína bacteriana, la replicación del ADN, u otros aspectos del metabolismo celular bacteriana. Ellos deben trabajar en conjunto con el sistema inmune para eliminar los microorganismos del cuerpo. Sin embargo, no siempre hay una distinción precisa entre ellos y los antibióticos bactericidas; altas concentraciones de algunos agentes bacteriostáticos también son bactericidas, mientras que concentraciones bajas de algunos agentes bactericidas son bacteriostáticos. (24).

Este efecto resulta interesante, tomado en cuenta que el género *Klebsiella* agrupa bacterias patógenas. Los organismos bacterianos del género *Klebsiella* pueden encabezar un amplio rango de estados infecciosos, sobre todo neumonía. Entre ellos, cabe destacar los siguientes: *Klebsiella pneumoniae*, responsable de infecciones del tracto urinario, septicemia, e infecciones de tejidos blandos; *Klebsiella ozaenae*, causante frecuente de rinitis atrófica; *Klebsiella rhinoscleromatis*, quien provoca infecciones en vías respiratorias, causando rinoescleroma o escleroma. Las especies del género *Klebsiella* son fijadoras de nitrógeno y son ubicuas en la naturaleza (25).

En la evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos UD2 a 40 mg/ml, se evidenció que no presentaban ningún efecto sobre las cepas utilizadas y, al contar con suficiente material, se repitió la evaluación a dos concentraciones más elevadas Resultando que los extractos de UD2 tienen efecto antibacteriano frente a *K. neumonae* y *S. aureus*. La primera cepa es

sensible ante los extractos UD2 en hexano, en acetona y en isopropanol, mientras que el crecimiento de la segunda es afectado por UD2 en hexano, en cloroformo y en acetona. El espectro de acción biológica exhibido por los extractos hexánico y acetónico es de amplio espectro, inhibiendo el crecimiento de una bacteria Gram (+) y una bacteria Gram (-). Adicionalmente, se puede deducir que la concentración mínima inhibitoria (CMI) de estos extractos está entre 60 y 80 mg/ml, ya que a concentraciones menores no se observa ningún efecto sobre el crecimiento de las bacterias utilizadas.

Esta evidencia indica que UD2 en hexano y en acetona podrían ser una fuente potencial de metabolitos secundarios útiles para combatir los efectos a la salud, no sólo de *K. neumonae*, sino también de *S. aureus*; la cual es responsable de algunos problemas cutáneos e infecciones de la piel (26), efectos que, a futuro, podrían ser controlados por las sustancias antibacterianas sintetizadas por *U. dermestoides*.

Identificación de los constituyentes mayoritarios

Con el objeto de identificar los grupos funcionales principales, presentes en cada extracto, y establecer correspondencia entre estos grupos y las familias de metabolitos evidenciadas previamente, se analizaron los espectros de FT-IR de cada extracto obtenido, agrupando la información relevante en la Tabla 2.

El espectro de IR de UD1 en hexano presenta dos señales a 2950 y 2900 cm^{-1} , asignables al estiramiento de enlaces C-H sp^3 (alcano) y sp^2 (alqueno no conjugados), y sus correspondientes sobretonos a 1490 y a 1200 cm^{-1} respectivamente. Además, se observa una banda de absorción a 1750 cm^{-1} , de intensidad fuerte, correspondiente a un grupo carbonilo (C=O). Estas señales son características de alcanos, alquenos y ácidos grasos, generalmente presentes en los extractos hexánicos de diversos organismos,

ya que son miscibles en el solvente de extracción por su baja polaridad. Además, en este extracto se obtuvo resultado positivo para compuestos esteroidales y triterpénicos, cuyas estructuras generales contienen enlaces C-H *sp*³ (alcano) y *sp*² (alqueno)

no conjugados; e incluso pueden contener el grupo carbonilo (C=O) en sus cadenas sustituyentes.

Tabla 2. Bandas representativas observadas en los IR de los extractos de *U. dermestoides*.

Extracto	λ (cm ⁻¹)	Asignable a:	λ (cm ⁻¹)	Asignable a:	λ (cm ⁻¹)	Asignable a:
UD1						
Hexano	2950	Alcano	2900	Alqueno	1750	C=O
Acetona	2900 y 2850	Alcano y alqueno	3400	Alcohol	1750 y 1650	C=C
i-propanol	2900	Alcano	2850	Alqueno	3400	Alcohol
UD2						
Hexano	2920 y 2850	Alcano y alqueno	1480 y 1380	Alcano y alqueno	3400	Alcohol
CH ₂ Cl ₂	2920 y 2850	Alcano y alqueno	1650	C-N <i>sp</i> ²	3335	N-H
Acetona	2920 y 2850	Alcano y alqueno	1475 y 1380	Alcano y alqueno	3400	Alcohol
Metanol	2925 y 2800	Alcano y alqueno	1401 y 1261	Alcano y alqueno	3422 y 1634	N-H y C-N <i>sp</i> ²

De igual forma, el espectro de UD1 en acetona presenta dos señales a 2900 y 2850 cm⁻¹, asignables al estiramiento de enlaces C-H *sp*³ (alcano) y *sp*² (alqueno) no conjugados. Así como una banda de absorción a 1750 cm⁻¹, de baja intensidad, correspondiente a un grupo alqueno terminal (C=C). Además, se aprecia una señal intensa a 1650 cm⁻¹ asignable a enlaces dobles conjugados, característicos de anillos aromáticos. Por otra parte, la señal ancha e intensa alrededor de 3400 cm⁻¹, podría indicar la presencia de un grupo NH, pero se descarta con la ausencia de señales intensas C-N *sp*³ a 1200 cm⁻¹, C-N *sp*² a 1660 cm⁻¹ y/o *sp*³ a 200 cm⁻¹, lo cual es lógico si tomamos en cuenta que no se obtuvo resultado positivo para alcaloides, quienes tienen el grupo NH en su estructura. Sin embargo, esta misma zona (~3200 cm⁻¹) corresponde al grupo OH alcohólico y/o fenólico, confirmando el resultado positivo obtenido para esteroides.

De igual modo, se analizaron los FT-IR correspondientes UD1 en isopropanol y a

los extractos orgánicos de la muestra UD2 de *U. dermestoides*. Destacando el hecho de que muestra bandas de absorción similares a los anteriores, pero los extractos UD2 en diclorometano y en metanol tienen ligeras diferencias, como la disminución de la banda de grupo hidroxilo, lo cual es lógico tomando en cuenta que este extracto mostró resultado negativo en las pruebas de polifenoles y de flavonoides; sin embargo esta banda (~3350cm⁻¹) está en la zona de grupos NH, y también se aprecia señales agudas dobles, de mediana intensidad a ~1640cm⁻¹, que podría corresponder a un grupo C-N *sp*² asignable a compuestos alcaloidales, ya que este extracto mostró resultado positivo en las pruebas de alcaloides.

La información obtenida en estos análisis espectroscópicos confirma los resultados obtenidos en el análisis químico preliminar. Sin embargo, una identificación más específica, de los compuestos presentes en cada extracto, que podrían ser responsables de la actividad biológica observada, se

obtiene con el análisis espectrométrico detallado a continuación.

El extracto en hexano de la muestra UD1 es una mezcla de más de 10 componentes (Figura 1), de los cuales sólo fue identificado el dodecano ($C_{12}H_{26}$), ya que al compararlos con los compuestos reportados en la base de datos NIST, presentó una alta similitud, de 850/1000, correlacionando el espectro de masas de la estructura a identificar y los espectros de masas de la base de datos. Los demás constituyentes de la mezcla no se lograron identificar con la base de datos.

Este metabolito, constituyente mayoritario del extracto, es un alcano de cadena larga, correspondiente a un hidrocarburo común en los productos del metabolismo de las hembras de algunos insectos; de hecho ha sido utilizado en trampas artificiales para atraer adultos machos del insecto; estas trampas se han construido utilizando limoneno, dodecano, acetol, decanal, β -cariofileno y ácido propiónico, ya que son compuestos asociados a la interacción planta-insecto e insecto-insecto (27).

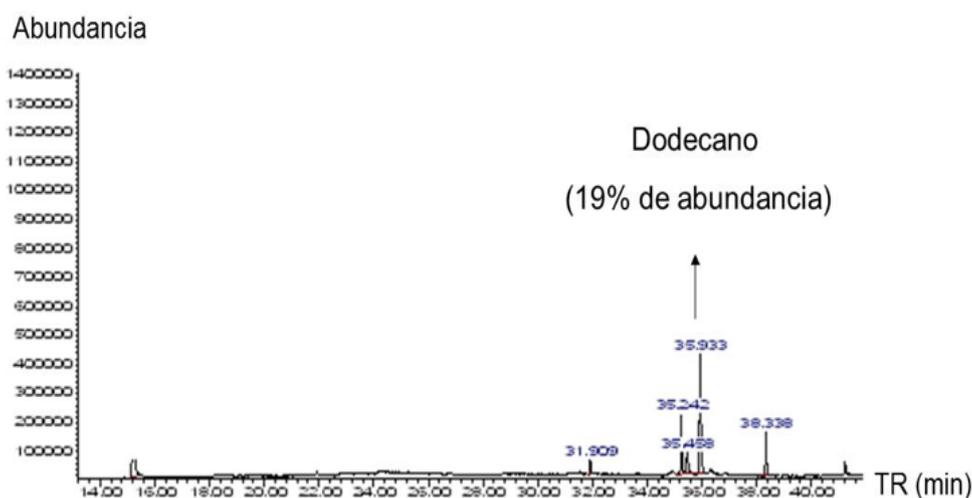


Figura 1. Cromatograma total de iones de UD1 en hexano.

Estudios previos han reportado la presencia de hidrocarburos saturados en el extracto hexánico de cuerpo entero de *U. dermestoides* (11); así como también se encontraron estructuras de cadena larga ramificadas de 13 a 43 carbonos, siendo los componentes más abundantes n-pentacosano y 9,11-pentacosadieno, quienes representan el 40 de los hidrocarburos cuticulares de *U. dermestoides* (28).

El análisis por CG/EM de los extractos UD1 acetona, UD2 hexano, UD2 diclorometano y UD2 acetona permitió identificar los compuestos constituyentes mayoritarios, mostrados en la Tabla 3. Por otra parte, los extractos alcohólicos (UD1 en isopropanol y UD2 en metanol) no pudieron ser analizados

mediante CG/EM por deficiencias técnicas al momento de su obtención.

La mayoría de los metabolitos identificados son hidrocarburos, representados por alcanos de cadena larga, alquenos, y dos compuestos con funciones oxigenadas, como el ácido carboxílico y el aldehído, que son productos comunes del metabolismo de insectos; de hecho, el ácido n-hexadecanoico corresponde al ácido palmítico (C16) y ya había sido reportado como metabolito de *U. dermestoides* (11); además, ácidos como el mirístico (C14) y derivados del ácido linoléico (C19) son comúnmente encontrados en animales que pueden sintetizarlo, colocando enlaces dobles entre C2 y C6. Adicionalmente, se han reportado los ácidos

palmítico, linoleico y esteárico, junto al metil linoleato, como compuestos más abundantes en la cutícula de algunos insectos, la cual corresponde a una parte del esqueleto que tiene función de soporte para los músculos y otras estructuras (29).

Cabe destacar que, dentro de la mezcla de compuestos, el 9,17 (Z) octadecadienal, y el 1,11-dodecadieno son los constituyentes mayoritarios de UD1 en acetona,

representando el 80% de la mezcla de constituyentes del extracto. Este resultado es similar al del estudio realizado por Villaverde (28), quien identificó 1-trideceno y 1-pentadeceno ocupando casi el 90% de la mezcla de volátiles; y también encontró entre los componentes más abundantes n-pentacosano y 9,11-pentacosadieno, representando buena parte de los hidrocarburos cuticulares de *U. dermestoides*.

Tabla 3. Constituyentes identificados en los extractos de *U. dermestoides*.

Compuesto	UD1 acetona		
	Tiempo de retención (min)	Área (%)	Similitud (en base a 1000)
Undecano	5,303	2,4122	850
1-pentadeceno	15,265	54,6392	990
Ácido n-hexadecanoico	26,234	4,2622	970
9,16 (Z)-octadecadienal	29,610	13,7788	950
Heptadecano	31,916	1,3069	910
Pentacosano	35,263	4,1181	950
1,13-tetradecadieno	35,457	1,5826	980
1,11-dodecadieno	35,972	12,2642	920
9-metilnonadecano	38,347	4,1618	950
Hexadecano	41,220	1,4740	940
Compuesto	UD2 hexano		
4-etil-5-metilnonano	9,357	2,97	870
1-pentadeceno	19,216	13,05	950
1-cloroheptacosano	39,077	11,45	920
Octacosano	42,167	24,60	950
Colestan-3-ol	48,255	11,51	990
Compuesto	UD2 diclorometano		
10-metilnonadecano	39,003	7,42	900
1,13-tetradecadieno	39,707	4,08	890
Heptadecano	42,070	15,61	950
Eicosano	47,575	2,07	930
Colestan-5-en-3-ol	48,210	21,41	990
Colestan-3-ol	48,324	4,65	920
Compuesto	UD2 acetona		
1-pentadeceno	15,265	54,64	990
9,16 (Z)-octadecadienal	29,610	13,78	950
1,11-dodecadieno	35,972	12,26	920
Hexadecano	41,2195	1,47	940

De la mezcla compleja correspondiente al UD2 hexano, sólo se logran identificar 5 de los constituyentes mayoritarios (63,58%). Se puede observar que, además de la ocurrencia de hidrocarburos saturados y alquenos, también se identifican un hidrocarburo saturado ramificado de cadena larga y un hidrocarburo clorado; esto resulta interesante ya que es poco común que estos alcanos ocurran halogenados en el metabolismo de los insectos (30); de hecho, el heptacosano ya había sido reportado como metabolito de *U. dermestoides* (11) pero el hecho de aparecer clorado sugiere nuevamente que proviene de la interacción con su microambiente, ya que la ecología química ha demostrado que muchos metabolitos secundarios de las plantas poseen actividad biológica sobre los insectos y, en la actualidad, es aceptado el papel que estos compuestos, también llamados aleloquímicos, desempeñan en la interacción planta-insecto (31).

Por otra parte, se identifica también el Colestan-3-ol, estableciendo correspondencia con el resultado positivo obtenido para esteroides en UD2 diclorometano; lo cual es lógico ya que estas sustancias se encuentran en abundancia en los organismos vivos, sobre todo en animales y en algunas algas rojas; de hecho el ejemplo más común es el colesterol, presente también en plantas pero en cantidades trazas.

Cabe destacar que el 1-pentadeceno es de ocurrencia constante en la mayoría de los extractos, por lo que podría tratarse de un metabolito primario característico de esta especie. Adicionalmente, identificamos un dialdehído de cadena larga; otros aldehídos como el decanal son compuestos volátiles asociados a algunas relaciones de interacción planta-insecto (27).

CONCLUSIONES

El sustrato de afrecho y conchas de cambur es adecuado para la crianza y manutención de *U. dermestoides*, logrando una buena reproducción en cuatro meses a temperatura

ambiente. La segregación de metabolitos, por parte de *U. dermestoides*, varía en cantidad y tipo de sustancias, según el manejo que reciba la muestra antes del proceso de extracción. Así, la extracción directa de la muestra viva genera mayor cantidad y variabilidad de compuestos; algunos de ellos con actividad antibacteriana de amplio espectro. Este estudio constituye un primer reporte comparativo, que sienta las bases para el estudio local de los gorgojos del maíz *Uromyces dermestoides*.

REFERENCIAS

1. Cupul-Magaña, F. Sobre el uso de *Uromyces dermestoides* (Chevrolat, 1878), (Coleoptera, Tenebrionidae, Diaperini) en la coleoterapia: informe de un caso en Ixtapa, Jalisco, México). *Boln. asoc. esp. ent.* 2010, 34 (3-4): 419-422.
2. Garcés, A.; Gutiérrez, G. y Gómez, T. Cría de *Uromyces dermestoides*, coleoptera: tenebrionidae, en tres tipos de sustratos. *Revista Lasallista de Investigación.* 2009, 6 (2): 64-68.
3. Costa, E. y Ramos, J. Los insectos comestibles de Brasil: Etnicidad, diversidad e Importancia en la alimentación. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa.* 2006, 38: 423-442.
4. Gullan, P. y Cranston, P. The insects: an outline of entomology. 2005, 5^{ta} ed. Londres: Chapman and Hall.
5. Costa-Neto, E. Barata é um santo remedio: Introdução metodológicas e estudo de casos. 1999, Feira de Santana: UEFS.
6. Kriton, K. El escarabajo del asma y su empleo en la medicina tradicional. *Reptilia.* 2008, 70: 34-42.
7. Santos, R.; Lunardelli, A.; Caberlon, E.; Bastos, C.; Nunes, F.; Pires, M.; Boilchi, V.; Paul, E.; Vieira, F.; Resendo, A.; Corseuil, E. y De Oliveira J. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Uromyces dermestoides* on induced pleurisy in rats and lymphoproliferation *in vitro*. *Inflammation.* 2010, 33 (6): 173-179.

8. Lujan, M. Coleoterapia: Medicina Complementaria. 2006. Recuperado de: <http://www.monografias.com/trabajos34/coleoterapia/coleoterapia.shtml>.
9. Wahrendorf, M. y Wink, M. Pharmacologically active natural products in the defence secretion of *Palembus ocellaris* (Tenebrionidae, Coleoptera). *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, 106 (1): 51-56.
10. Crespo, R.; Villaverde, L.; Girotti, J.; Guerci, A.; Juarez, P. & De Bravo, M. Cytotoxic and genotoxic effects of defence secretion of *Ulomoides dermestoides* on A549 cells. *Journal of ethnopharmacology*. 2011, 136(1): 204-9.
11. Mendoza, D. y Saavedra, S. Chemical composition and anti-irritant capacity of whole body extracts of *Ulomoides dermestoides* (coleoptera, tenebrionidae). *Vitae, Revista de la Facultad Química Farmacéutica*. 2013, 20 (1): 41-48.
12. Marcano, D. y Hasegawa, M. Fitoquímica Orgánica. 2002, Segunda edición. U.C.V, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Caracas.
13. Murillo, E y Méndez, J. Guía metodológica para la detección rápida de algunos metabolitos secundarios. 2007. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Tolima, Colombia.
14. Meyer, B.; Ferrigni, N.; Putnam, J.; Jacobsen, L.; Nichols, D. y McLaughlin, J. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medicinal Plant Research*. 1982, (45): 31-34.
15. Estaba, A. Propiedades Fototóxicas y Antibacterianas de algunas plantas de la familia Asteraceae. 1986. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela, 76pp.
16. Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J. y Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. 1996, 45 (4): 493-496.
17. Mitidieri, L. Control Biológico de Hongos del Suelo con *Trichoderma*. *IDIA*, 1988, (44): 45-49.
18. Malnic B., Godfrey P. y Buck, B. The human olfactory receptor gene family. *Proceedings of the National Academy of Sciences US*. 2004, 101: 2584-2589.
19. Clark-Garza, J.; Blanco-Gómez, E.; Sánchez-González, M. Análisis del potencial del género *Aspergillus* en la síntesis y transformación de flavonoides. 2007. Congreso Regional de la facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. Pág. 1-4.
20. Wille, A. y Fuentes, G. Efecto de la ceniza del Volcán: Irazú (Costa Rica) en algunos insectos. *Revista Biología Tropical*. 1975, 23(2): 165-175.
21. European Food Safety Authority (EFSA). Response to comments on the Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to 3 g/day plant sterols/stanols and lowering blood LDL-cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease pursuant to Article 19 of Regulation (EC) No 1924/2006. *Supporting Publications EFSA*. 2012, (332): 1-6.
22. Gutiérrez, C. Señales en la interacción planta insecto. *Revista Chapingo. Serie Ciencias forestales y del ambiente*. 2009, 15 (1): 81-85.
23. Hartmann, T. Plant-derived secondary metabolites as defensive chemicals in herbivorous insects: a case study in chemical ecology. *Planta*. 2004, 219: 1-4.
24. Cordiés, J.; Machado, L.; Hamilton, M. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. *Acta Médica*. 1998, 8 (1): 14-18.
25. Podschun, U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev*. 1998, 11 (4): 589-603.
26. Madigan, M., Martinko, J., Parker, J. Brock

- Biología de los microorganismos. 2003. Editorial Pearson Prentice-Hall. Madrid, España. 986 pp.
27. Tafoya, F.; Velasco, J.; Perales, C.; González, E.; Escoto, J. Evaluación de compuestos volátiles para estimar poblaciones del picudo de la guayaba *Contrachelus dimidiatus*. *Acta Universitaria. Universidad de Guanajuato*. 2011, 21 (4): 65 – 69.
 28. Villaverde, L.; Girotti, J.; Mijailovsky, S.; Pedrini, N.; Juarez, Patricia. Volatile secretions and epicuticular hydrocarbons of the beetle *Ulomoides dermestoides*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry & Molecular Biology*. 2009, 154B (4): 381-386.
 29. Soto, A.; Moreira, M.; Pallini, A. Análisis de la composición química de la cutícula de *Tetranychus evansi* y *Tetranychus urticae* (Acari: tetranychidae). *Bol. Cient. Mus.hist.nat.* 2011, 15 (2): 171-190.
 30. Pichersky, E.; Gershenzon, J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion in Plant Biology*. 2002, 5 (3): 237-243.
 31. Heit, G.; Rodríguez, S.; Folcia, A.; Yaber, M. Actividad biológica de extractos de hojas de tomate sobre *Oryzaephilus*