



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA Y
ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE *Capraria biflora* L.
(SCROPHULARIACEAE) DE LA LOCALIDAD DE GUARANACHE. CUMANÁ,
ESTADO SUCRE
(Modalidad: Tesis de Grado)

Mayra Alejandra Franco León

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOANÁLISIS

Cumaná, noviembre 2012.

EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA Y ANTIBACTERIANA
DE EXTRACTOS DE *Capraria biflora* L. (SCROPHULARIACEAE) DE LA
LOCALIDAD DE GUARANACHE. CUMANÁ, ESTADO SUCRE

APROBADO POR:



Profesor Hernando Herrera
Asesor



Profesora Yasmira Araque



Profesora Haydelbra D'Armas

INDICE

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS	II
LISTA DE TABLAS	III
LISTA DE FIGURAS	IV
LISTA DE ABREVIATURAS	V
RESUMEN	VI
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	6
RECOLECCIÓN DEL MATERIAL	6
OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES	6
EXTRACTOS HEXÁNICOS	6
EXTRACTOS METABÓLICOS	7
ANÁLISIS FITOQUÍMICO	7
ALCALOIDES	7
SAPONINAS	7
FLAVONOIDES	8
TANINOS Y POLIFENOLES	8
ESTEROLES INSATURADOS	8
PRUEBAS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA	8
<i>Actividad antibacteriana</i>	8
ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA	9
PUNTO DE FUSIÓN	10
RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
CONCLUSIONES	24
BIBLIOGRAFÍA	25
HOJA DE METADATOS	25

DEDICATORIA

A

Dios todo poderoso, que en momentos difíciles siempre ha estado presente para darme paciencia y fortaleza en las dificultades que se me han presentado al enfrentar la vida.

La memoria de mi padre: Hugo Guillermo Franco, hombre inigualable quien con amor, comprensión, constancia, alegría y dedicación hizo posible el logro de mis sueños.

Mi madre que con su estímulo, insistencia, empuje, perseverancia y apoyo me ha conducido en la vida por el camino del éxito.

Mi hermana por su comprensión, amor y compañía incondicional.

Mi tía Zoraida, por el cariño, confianza y apoyo que me ha dado.

Mi Novio Jean Carlos por su paciencia, apoyo, comprensión y siempre brindarme toda su ayuda.

Toda mi familia por el amor, el cariño, apoyo y palabras de aliento para seguir adelante.

Luisa Mavidia Márquez de Carrillo, por su ayuda, comprensión y dedicación invaluable.

Mis amigas y amigo Josselyn, Yolimar; Ranthonny que me acompañaron en el desarrollo académico de mi carrera.

Y a todas aquellas personas que de manera directa e indirecta colaboraron para la realización de esta investigación.

AGRADECIMIENTOS

A

Dios, porque puso personas maravillosas en mi vida que me han ayudado a seguir adelante y que me han motivado a luchar por mis sueños y metas a pesar de todas las dificultades y obstáculos.

Mis padres francys y Hugo, por confiar en mí, la paciencia que me han tenido y por su ayuda incondicional.

Mi hermana por ser la persona que me ha motivado a seguir adelante, gracias por ser mi amiga. Te adoro hermana.

Mi Tía Zoraida, Tío francisco y demás familiares por apoyarme y ayudarme en todo momento.

Mi novio por ser un ser tan comprensivo, paciente, un amigo incondicional y por haberme acompañado en los buenos y malos momentos.

A mi Suegra por el cariño y la confianza que me ha brindado.

Luis José Gamardo Rodríguez y Robert José Andrade Segura por brindarme su apoyo durante la recolección de la planta y guiarme con sus conocimientos.

Mi Asesor Hernando Herrera, por su sabiduría, asesoramiento, orientación y guía en la realización de este trabajo de investigación, también por su apoyo incondicional que siempre me brindo, gracias profesor, siempre le estaré agradecida por todo lo que hizo por mí.

Doctor Williams Henrique por su colaboración durante la ejecución de esta investigación

A todos ustedes mil gracias.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Cepas bacterianas que se utilizaran en la evaluación de la actividad antibacteriana.	9
Tabla 2. Cepas de hongos que se utilizaron en la evaluación de la actividad antifúngica.	10
Tabla 3. Porcentaje de extracción de las partes botánicas (hoja y tallo) de la <i>Capraria biflora</i> .	13
Tabla 4. Análisis fitoquímico de los extractos metanólicos y hexánicos de cada órgano vegetal obtenidos de la <i>Capraria biflora</i> .	14
Tabla 5. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C , correlación y agrupación atómica en la molécula que conforma la muestra del PBMT.	19

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Espectro de RMN- ^1H del PBMT, ampliada en la región de las señales.	16
Figura 2. Ampliación del RMN- ^1H del PBMT.	17
Figura 3. Espectro de RMN- ^{13}C del PBMT.	18
Figura 4. Ampliación del DEP-135° del PBMT.	18
Figura 5. Espectro COSY ^1H - ^1H del PBMT, ampliada en la región de las señales.	19
Figura 6. Espectro HMQC ^1H - ^{13}C del PBMT, ampliada en la región de las señales.	20
Figura 7. Espectro HMBC ^1H - ^{13}C del PBMT, ampliada en la región de las señales.	21
Figura 8. Fragmento molecular propuesto de la interpretación espectroscópica, indicando las interacciones HMBC, HMQC y COSY ^1H - ^1H .	21
Figura 9. Espectro de masas del compuesto manitol.	22
Figura 10. Estructura propuesta del manitol ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$), según el análisis de RMN del PBMT.	23

LISTA DE ABREVIATURAS

1. EMH Extracto metanólico de las hojas
2. EMT Extracto metanólico del tallo
3. EHH Extracto hexánico de las hojas
4. EHT Extracto hexánico del tallo
5. PBMT Polvo blanco metanólico del tallo
6. RMN ¹H Resonancia magnética nuclear de protones
7. RMN ¹³C Resonancia magnética nuclear de carbono
8. HMQC Heteronuclear multiple quantum coherence
9. HMBC Heteronuclear multiple bond correlation
10. DEPT Distortionless enhancement by polarization transfer
11. COSY Correlated spectroscopy homonuclear

RESUMEN

A los extractos metanólicos y hexánicos de las hojas y el tallo de la planta *Capraria biflora*, se les realizó un estudio fitoquímico para evaluar las propiedades antimicrobianas y antimicóticas en ambos extractos, así como también al precipitado blanco, obtenido del extracto metanólico del tallo. El análisis químico preliminar realizado a los extractos metanólicos, mostró la posible presencia de flavonoides; además, en las hojas se detectaron saponinas y esteroides, a diferencia del tallo que mostró la presencia de polifenoles y triterpenos; el precipitado blanco, obtenido del extracto metanólico del tallo resultó negativo para todas las pruebas fitoquímicas realizadas. El extracto hexánico de las distintas partes botánicas, reflejó la presencia de esteroides, a excepción del tallo que, además, dió positivo para la prueba de saponinas. Ambos extractos, tanto metanólicos como hexánicos de las distintas partes botánicas, resultaron inactivos frente a todas las bacterias y hongos estudiados, el cual pudo deberse a la presencia de un glucósido llamado manitol en cantidades considerables, el cual pudo incrementar el crecimiento de las cepas bacterianas y micóticas, respectivamente, ya que este compuesto es un glucósido que utilizan los microorganismos para su crecimiento. Del precipitado blanco que se obtuvo del extracto metanólico del tallo se logró aislar e identificar por Resonancia Magnética Nuclear de una y dos dimensiones al glucósido manitol ($C_6H_{14}O_6$), siendo éste el primer reporte acerca del aislamiento de este metabolito secundario en el tallo de la *Capraria biflora*.

INTRODUCCIÓN

El hombre moderno sigue adquiriendo considerables conocimientos para utilizar las propiedades de las sustancias naturales. De esta manera, el uso curativo que le confiere a muchas de las plantas autóctonas viene dado por el modo común y espontáneo de conocerlas, adquirido por el trato directo con el ser humano y con el ambiente que lo rodea (Márquez, 1987).

En la actualidad, la información sobre las propiedades curativas de algunos o varios vegetales, proviene de fuentes que podrían resultar no del todo ciertas. Por tal razón, la etnobotánica trata de recopilar esos conocimientos de manera precisa (Marcano y Hasegawa, 1991). Cada día se presta más interés al estudio de las plantas medicinales, de forma que la etnobotánica, fitoterapia y fitoquímica han adquirido un auge insospechado, tanto en la práctica de la medicina complementaria, como en el ámbito académico (Beyra *et al.*, 2004).

En las plantas superiores, la actividad antibacteriana ya es conocida por medio de diversos trabajos realizados en el área. Osborn (1943) probó tal actividad en 63 géneros de plantas pertenecientes a varias familias fanerógamas, las cuales mostraron su capacidad de inhibir el crecimiento de las especies bacterianas *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Rao y Álvarez (1981) comprobaron que el extracto metanólico de *Eupatorium capillifolium* mostró actividad contra *Bacillus subtilis*. Miski *et al.* (1983) demostraron que algunos flavonoides aislados de las hojas de *Salvia palestina* presentaron actividad contra las especies bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* y *Klebsiella pneumoniae*. Mori *et al.* (1987), encontraron una sustancia en *Eleagnus glabra* que presentaba actividad contra *Proteus vulgaris* y *Staphylococcus aureus*.

Khan *et al.* (1990) observaron que, el extracto crudo en n- hexano de las hojas de *Ardisia solanacea* era capaz de inhibir el crecimiento de las especies bacterianas *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Gupta *et al.* (1992) determinaron que, los

extractos de las plantas *Hemidesmus indicus* poseen importante actividad antibacteriana y antiinflamatoria.

Desde la década de los 80, se ha intensificado la investigación científica para extraer y separar sustancias con actividad biológica o terapéutica de algunas especies vegetales, que son herramientas básicas para resolver problemas planteados por diversas disciplinas científicas, tales como: la genética, fisiopatología, taxonomía, ecología, fitogeografía, paleobotánica, entre otras (Albornoz, 1980). Cabe resaltar que el 25% de los fármacos existentes se obtienen de extractos vegetales, o bien se han sintetizado a partir de sustancias halladas en la investigación fitoquímica o referencias anteriores (Beyra *et al.*, 2004).

Venezuela, por su diversidad de ambientes y su localización en el trópico, podría considerarse como una “farmacia natural” que, desde hace mucho tiempo, los médicos quieren consultar. Algunos botánicos y químicos destacados, como Leandro Aristegüieta, Américo Albornoz y Francisco Delascio, afirman que, “indudablemente, las plantas tienen una importancia medicinal indiscutible” y consideran que todo el país es muy rico en especies medicinales (Delpretti, 1984). Actualmente, las industrias e instituciones científicas de todo el mundo realizan diversos estudios para la obtención de fármacos naturales que puedan resultar más que alternativas, terapias complementarias para resolver los problemas de salud que enfrenta la humanidad (Vicet, 2009).

Es innegable que muchas plantas contienen principios activos, los cuales ejercen una acción sobre el cuerpo, remediando ciertas dolencias. Cuando se realiza el análisis químico de algunas de ellas, se puede detectar la presencia de estos compuestos, que son empleados en la preparación de un gran número de medicamentos (Pino *et al.*, 2009). Por ello, los constituyentes químicos de las especies que exhiben actividad biológica es importante, no sólo para descubrir nuevos agentes terapéuticos o justificar la acción terapéutica de una planta en particular, sino que, saber esta información es útil para detectar nuevas fuentes de materiales de valor económico, precursores naturales para la síntesis de sustancias químicas complejas y para el conocimiento de los compuestos químicos de las denominadas plantas tóxicas (Aguilera, 1989).

Existen diversos trabajos etnobotánicos enfocados en los usos medicinales de las plantas, los cuales demuestran la interrelación directa que tiene el hombre con estos vegetales. Entre los autores que han publicado trabajos realizados en Venezuela, relacionados con la etnobotánica, se puede mencionar: “Atlas of medicinal plants of middle america to yucatan” (Morton, 1912), donde se incluye un gran número de plantas medicinales utilizadas en la Sierra de Perijá; “Medicamentos indígenas” (Pompa, 1966); “Aportes al conocimiento de la Etnobotánica del estado Cojedes” (Delascio, 1978); Medicina popular venezolana (Rodríguez, 1980); Herbolario Tropical (Bhat, 1981); “Los Yanomami y las plantas silvestres” (Fuentes, 1980). Continuando con las investigaciones realizadas a las plantas, se hallan otros autores quienes escribieron las obras: “Plantas usadas en la medicina empírica venezolana” (Delascio, 1985); “Contribución al conocimiento de las plantas medicinales del estado Táchira” (Vera, 1993) y “Medicina tradicional como instrumento de promoción de la conservación de la diversidad vegetal en piedemonte oriental de los Andes” (Castellano y Azócar, 1994).

A nivel de la región oriental, la flora también ha sido objeto de trabajos etnobotánicos que han aportado numerosos conocimientos sobre sus usos y propiedades terapéuticas. Entre ellos se cuenta el de Cabeza (1981), que comprende un estudio taxonómico de 192 especies reportadas como medicinales. Entre las plantas medicinales de Macuro, estado Sucre (Delgado *et al.*, 1992), se reportaron los usos y propiedades medicinales atribuidas a 95 especies, de esta alejada población venezolana de gran importancia histórica. Aunque, muchas plantas han sido extensamente estudiadas y validadas desde el punto de vista químico biológico, todavía muy poco se conoce de otras, tal es así que de las plantas vasculares conocidas, hasta finales de los 90’ sólo el 1 ó 2% se han investigado en algún aspecto y de las especies reconocidas como medicinales se estudian únicamente el 5% (Baker, 1968).

La especie *Capraria biflora*, perteneciente a la familia Scrophulariaceae, es una planta con una larga historia en la medicina tradicional. Gracias a los estudios previos, se puede conocer que esta familia está compuesta por aproximadamente 220 géneros y unas 3000

especies. Las plantas suelen ser herbáceas, anuales o perennes, algunas semiparasitarias y en pocas ocasiones árboles. Algunas especies son medicinales y otras muy útiles como ornamentales. Ciertas especies pertenecientes a esta familia han sido muy estudiadas desde el punto de vista fitoquímico; entre los géneros más conocidos están *Digitalis*, *Verbascum*, *Calceolaria*, *Linaria* y *Veronica*, entre otros. Generalmente, los grupos de compuestos más reportados para dicha familia son: saponinas, flavonoides, naftaquinonas y antraquinonas, iridoides, esteroides y triterpenos, y heterósidos cianogénicos (Vicet, 2009).

Entre este grupo de plantas, pertenecientes a la familia Scropulariaceae se puede mencionar a *Capraria biflora*, hierba ramificada y tomentosa, con hojas alternadas, oblongas, lanceoladas, ápice agudo, base cuneada, márgenes dentados hasta la mitad, flores blanco – cremosas, axilares, solitarias o en pares, pentasépalos, corola campanulada de 5 lóbulos, fruto seco dehiscente, la cual habita en suelos secos o semi-húmedos, pedregosos, en lugares iluminados (Delgado *et al.*, 1992). Se conoce popularmente como “fregosa”, y se le atribuye efectos curativos en la medicina tradicional, puesto que la decocción de los cogollos, hojas y raíces, por separado, es ingerida para curar diarreas, dolores estomacales y malestares producido por lombrices (antihelmíntico). La infusión de la planta entera se toma en caso de erupciones de la piel, antigripal, y bajar la tensión arterial, mientras que, para curar espasmos se dan friegas en la parte afectada con la planta macerada (Márquez, 1987). También se refiere su uso en el tratamiento de dolor de oídos, hemorroides, reumatismo y procesos inflamatorios (Scofield, 2002). Estudios previos realizados en la *Capraria biflora*, han demostrado que el extracto acuoso de las hojas secas sirve como analgésico moderado (Lans, 2007). También se usa como antidismenorreico y para fibromas uterinos, pero en este caso se realiza una infusión con las hojas de ésta y las de *Persea americana* (Beyra *et al.*, 2004). De las raíces, se extrae una sustancia denominada biflorin, la cual posee actividad antibiótica contra bacterias, levaduras y hongos dermatófitos. Aún no se ha encontrado en la literatura, estudios científicos relacionados con los efectos tóxicos causados por las hojas e infusión de flores; sin embargo, de acuerdo a la cultura popular, se sabe que al ingerir dosis muy altas, pueden ocasionar somnolencias, vértigos, mareos y rigidez muscular (Albuquerque, 2001).

Los primeros trabajos fitoquímicos realizados para dicha especie, fueron desarrollados por Gongalves de Lima (1954), al aislar, a partir de las raíces de la planta, un principio activo con actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas y otros gérmenes. La sustancia, denominada biflorina, se identificó como una naftoquinona, a través de técnicas espectroscópicas (Prelog *et al.*, 1958). Numerosos estudios se realizaron en años posteriores, mejorándose la pureza del compuesto e incrementando el número de microorganismos ensayados (Gongalves de Lima *et al.*, 1962). Otros reportes fitoquímicos señalan la identificación de una estructura dimérica de la biflorina, llamada bis-biflorina (Fonseca *et al.*, 2003), para la cual no se reportaron estudios relacionados con una posible actividad biológica. También, han informado sobre la presencia de compuestos tipo taninos, en abundancia en los extractos acuosos de la planta, aunque no se informaron características estructurales de los mismos (Morais *et al.*, 1995). Asimismo, se han realizado análisis cromatográficos y espectroscópicos por RMN ^1H y ^{13}C , que permitieron identificar la presencia de naringenina, derivados metoxilados de luteolina y apigenina, un derivado glucosilado de apigenina (ácido 7-O- β -apigeninglucurónico), un derivado clorofilico (feoforbide) y manitol, reportados por primera vez para la especie. Los compuestos identificados contribuyen a los efectos farmacológicos comprobados en el extracto, y por tanto, pudieran explicar el uso de la especie en afecciones inflamatorias (Vicet, 2009).

Cabe destacar que, son múltiples los trabajos realizados en análisis fitoquímico en plantas con propiedades medicinales, además de su actividad antifúngica y antibacteriana, debido a la resistencia a los distintos antimicóticos y antibacterianos comerciales utilizados normalmente en el control de enfermedades, lo que ha estimulado en los últimos años, la búsqueda de nuevas sustancias antifúngicas y antibacterianas entre los productos naturales variados. Por ello, se seleccionó a la *Capraria biflora*, con el fin de realizar una evaluación fitoquímica y comprobar la efectividad de las propiedades antifúngica y/o antibacteriana de los extractos.

METODOLOGÍA

Recolección del material

Las muestras de *Capraria biflora* fueron recolectados en las zonas verdes de la localidad de Guaranache, Cumaná, estado Sucre. Luego, se trasladaron al Laboratorio de Productos Naturales del Departamento de Química, Núcleo de Sucre, de la Universidad de Oriente UDO para su procesamiento. La identificación de la misma se realizó por comparación con especímenes depositados en el Herbario I.R.B.R del Departamento de Biología, Núcleo de Sucre, de la Universidad de Oriente UDO.

Obtención de los extractos vegetales

El material vegetal se separó en sus diferentes partes (tallos y hojas); posteriormente se dejó secar en la sombra, a temperatura ambiente, excepto las raíces, las cuales se procesaron en fresco. Cada parte se pulverizó por separado, mediante un molino eléctrico. El producto obtenido se maceró primero en n-hexano y luego con metanol, esto con la finalidad de extraer el mayor número de metabolitos secundarios de acuerdo a sus solubilidades en dichos solventes. Posteriormente, los extractos se concentraron bajo presión reducida, utilizando un rotaevaporador marca Büchi 461, hasta recuperar el 80% del solvente, para así obtener los extractos crudos, con los cuales se determinaron la actividad biológica (antifúngica y antibacteriana), se realizaron las pruebas químicas y los análisis espectroscópicos.

Extractos hexánicos

Se determinó la masa de las hojas y tallo, luego se separó y se extrajo a temperatura ambiente y de manera exhaustiva, con n-hexano, el cual se eliminó con el rotaevaporador marca Buchi 461 a 35°C, donde se obtuvieron los extractos hexánicos de cada órgano vegetal, EHH (hojas), EHT (tallos).

Extractos metabólicos

De igual manera, se pesaron las hojas y el tallo, a los que luego se les extrajo con metanol, separadamente, y a temperatura ambiente hasta total agotamiento; el solvente se separó del extracto metanólico de cada parte mediante un proceso de evaporación, a presión reducida en el rotaevaporador antes mencionados.

Análisis fitoquímico

Se realizó en aquellos extractos que resultaron más activos en los ensayos biológicos, evaluándose la presencia de algunos metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, saponinas, polifenoles y taninos, esteroides y glicósidos cianogénicos. Cabe destacar que estas pruebas fitoquímicas se llevaron a cabo siguiendo las técnicas descritas por Marcano y Hasegawa (2002).

Alcaloides

El extracto, casi seco, se resuspendió con ácido clorhídrico (HCl) al 10% y fue agitado con un solvente inmisible (cloroformo), formándose dos capas. La capa clorofórmica fue retirada utilizando un embudo de separación y se guardó para un posterior análisis. La fase acuosa fue alcalinizada con hidróxido de amonio (NH_4OH) y extraída nuevamente con cloroformo, obteniéndose nuevamente dos capas. Las tres fases se ensayaron con el reactivo de Dragendorff, sobre placas de sílica gel, para detectar alcaloides básicos, débilmente básicos y sales cuaternarias de amonio, respectivamente. En caso de ser positiva la prueba, se evidenció la presencia de alcaloides por una coloración rojo - naranja.

Saponinas

En un tubo de ensayo se colocaron 0,5 g del extracto crudo y se adicionaron 2ml de agua destilada; posteriormente, se agitó la mezcla vigorosamente durante 30 segundos. Se asumió la presencia de saponinas, si se forma una espuma persistente durante 30 minutos, en una zona de 3 – 15 cm por encima de la superficie del líquido.

Flavonoides

El extracto crudo se trató con ácido clorhídrico (HCl) concentrado y virutas de magnesio; se consideró positivo la prueba al producirse una coloración roja al dejar la reacción en reposo durante 20 min. Acto seguido se tomó una gota del extracto total, se absorbió sobre papel de filtro y se roció con una solución de cloruro de aluminio (AlCl_3) al 1%, la aparición de una mancha fluorescente amarilla bajo luz ultravioleta es indicativa de la presencia de flavonoides.

Taninos y polifenoles

Los compuestos fenólicos en el extracto crudo se detectaron al producirse una coloración parda, en presencia de una solución de cloruro de hierro III (FeCl_3), al 1%. Para ello, el extracto se evaporó hasta sequedad, se resuspendió en agua y filtro antes de que ocurriera la reacción con cloruro férrico. La presencia de taninos fue indicada por la precipitación producida al tratar el crudo con solución de gelatina al 1% en cloruro de sodio (NaCl) al 1%.

Esteroles insaturados

El extracto crudo se hidrolizó con ácido clorhídrico (HCl) al 10% y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se mezcló con el reactivo de Liebermann-Burchard (1 ml de anhídrido acético frío se mezcla con dos o tres gotas de ácido sulfúrico concentrado), una coloración verde, indica la presencia de esteroles.

Pruebas de actividad biológica

Actividad antibacteriana

Se comprobó el efecto antibacteriano de los extractos y fracciones de la especie vegetal en estudio, utilizando cepas bacterianas ATCC de origen comercial. Según la coloración de Gram, se clasificaron en bacterias Gram positivas y Gram negativas. La actividad antibacteriana se determinó mediante la técnica de difusión en agar, denominada antibiograma, la cual consistió en impregnar discos estériles de papel filtro Watman N° 3 de 10 mm de diámetro con una solución, de concentración conocida de los extractos o

fracciones a ensayar. Estos discos se colocaron sobre la superficie de placas de Petri, previamente servidas con agar Müeller – Hinton e inoculados con una suspensión bacteriana estandarizada por comparación con el patrón MacFarland 0,5 (Bauer *et al.* 1966).

Luego, las placas se preincubaron a 5°C por 12 horas en un refrigerador convencional y seguidamente, se colocaron a 37°C durante 24 horas, en una estufa eléctrica marca “P-Selecta”. Finalmente, se evidenció la acción antibiótica que produjeron los extractos sobre las cepas de los diferentes microorganismos, por la aparición de halos de inhibición alrededor de los discos, cuyos diámetros se midieron con regla milimetrada (Bauer *et al.* 1966).

Tabla 1. Cepas bacterianas que se utilizaran en la evaluación de la actividad antibacteriana.

Microorganismo	Origen	Coloración de Gram
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 10536	Negativo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 25416	Negativo
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Positivo
<i>Salmonella tiphymurium</i>	ATCC 14028	Negativo
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 9634	Positivo

Actividad antifúngica

Se evaluaron cepas de hongos patógenos y fitopatógenos, los cuales fueron proporcionados por el Laboratorio de Micología del Departamento de Biología, Núcleo de Sucre, de la Universidad de Oriente; además de una cepa certificada ATCC. La actividad antimicótica se valoró utilizando un método de difusión en agar denominada antibiograma, en el cual las cepas de hongos se incubaron por una semana a temperatura ambiente en tubos de vidrio que contenían agar papa dextrosa (PDA) inclinado (Henríquez, 1995).

Para este procedimiento, se le añadió a cada tubo 10 ml de agua destilada estéril, se agitó fuertemente y se filtró sobre gasa estéril. Estas suspensiones obtenidas contenían esporas de las cepas. Cada suspensión se sembró sobre cápsulas de Petri, previamente servidas con agar PDA. Finalmente, se colocaron sobre las placas los discos de papel de filtro Whatman

Nº3, de 10 mm de diámetro impregnados con 25 ul de solución (extractos) y se dejaron incubar durante 48 horas, a temperatura ambiente, para luego medir la actividad antifúngica con la aparición de un halo de inhibición (Henríquez, 1995).

Tabla 2. Cepas de hongos que se utilizaron en la evaluación de la actividad antifúngica.

Microorganismo	Origen
<i>Aspergillus niger</i>	Lab.micología
<i>Fusarium poae</i>	Lab.micología
<i>Penicillium hirsutum</i>	Lab.micología
<i>Mucor racemus</i>	Lab.micología
<i>Rhizopus orizae</i>	Lab.micología
<i>Carvularia lunata</i>	Lab.micología
<i>Fusarium sp.</i>	Lab.micología
<i>Fusarium moniliforme</i>	Lab.micología
<i>Cladosporium macrocarpus</i>	Lab.micología
<i>Trichoderma viridis</i>	Lab.micología

Punto de fusión

En un sólido, las moléculas están agrupadas por la energía de cohesión que forma el retículo del mismo. Una elevación de la temperatura provoca un aumento de la energía cinética del sistema, de manera que se pueden llegar a vencer las fuerzas intermoleculares que constituyen el retículo cristalino del sólido, pasando inmediatamente al estado líquido (Carey, 1999).

Para la determinación del punto de fusión, se introdujo la muestra en el interior de un capilar con ayuda de una espátula, luego se sujetó el capilar sobre el bulbo del termómetro con una goma elástica; ambos se introdujeron en un tubo de vidrio llamado Thiele y se sujetaron con un tapón de goma en la boca del mismo. El Thiele contenía un aceite de elevado punto de ebullición, parafina, para poder elevar la temperatura sin riesgo de evaporación. Luego se calentó el aceite con la ayuda de un mechero por la parte posterior del tubo Thiele y se observó en el interior del tubo capilar un desmoronamiento de la estructura del sólido, acompañado de la formación de un líquido transparente. En ese

momento se anotó la temperatura que marcaba el termómetro. Se repitió dicho ensayo varias veces, para observar si el punto de fusión obtenido presentaba variaciones en pequeños intervalos de temperatura (aproximadamente 2°C), lo cual indica si una muestra está pura (Carey, 1999).

Resonancia magnética nuclear

Esta técnica espectroscópica es la herramienta más utilizada para la identificación de productos naturales o compuestos orgánicos en general, ya que permite estudiar las propiedades de las moléculas que contienen núcleos magnéticos, observándose los campos magnéticos que entran en resonancia con un campo externo aplicado de frecuencia definida (Gaugitz y Vo-Dinh, 2003).

Los análisis de RMN se realizaron en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) en un espectrómetro de BRUKER AM 500 (frecuencia de resonancia $^1\text{H} = 500$ MHz). Los espectros de RMN ^1H proporcionaron información importante del número de señales distintas de ^1H , el desplazamiento químico, el patrón de acoplamiento y la integración de la intensidad de las señales. Los espectros de RMN ^{13}C proporcionaron información acerca del número de tipos diferentes de carbono y el desplazamiento químico de cada señal, que está determinando por el contorno molecular de cada carbono.

Para tal fin, la muestra se disolvió en solventes deuterados. Los desplazamientos químicos (δ) obtenidos en los espectros se reportaron en ppm, respecto a un estándar interno de tetrametilsilano (δTMS). Además de los experimentos de RMN ya mencionados, se realizó DEPT-135 (Distortionless Enhancement Through Polarization Transfer), el cual proporciona información acerca de la cantidad y el tipo de carbonos (CH , CH_2 , CH_3) presentes en la estructura de los compuestos estudiados. Los espectros bidimensionales se registraron a frecuencias de resonancia de $^1\text{H} = 500$ MHz y de $^{13}\text{C} = 125, 72$ MHz, utilizando los siguientes experimentos:

HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence). Este experimento de correlación heteronuclear permitió correlacionar protones y carbonos unidos directamente con un enlace de alta sensibilidad.

HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Connectivity). Estableció la correlación entre protones y carbonos separados por 2 ó 3 enlaces. Dicha técnica se considera muy sensible por resultar excitación y detección protónica. Una de las ventajas de este experimento es que permite detectar los carbonos cuaternarios acoplados a protones. (Gaugitz y Vo-Dinh, 2003).

El espectro RMN COSY ^1H - ^1H (Correlated Spectroscopy Homonuclear). Correlaciona todos los desplazamientos químicos de protones sobre carbonos contiguos (H-C-C-H), con lo cual fue posible ubicar los protones vecinos que están acoplados.

EM (Espectrometría de masas). En el espectro de masas, cada pico observado muestra la masa total del fragmento, por tal motivo el análisis de un espectro de masa consiste en primer lugar en relacionar los picos principales y en interpretarlos simultáneamente (Gaugitz y Vo-Dinh, 2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis del porcentaje de rendimiento obtenido de los extractos hexánicos y metanólicos.

Después de realizar el proceso de obtención de los cuatros extractos vegetales y del polvo blanco metanólico del tallo, se determinó el porcentaje de rendimiento para cada uno de ellos reportados en la tabla 3, las hojas se encontraban en mayor cantidad, debido a que constituían el órgano más abundante en la planta, seguido del tallo. Se procedió a realizar cada una de las extracciones y a determinar su rendimiento porcentual, donde los extractos metanólicos presentaron un rendimiento mayor que el de los extractos hexánicos, lo que demuestra que esta especie vegetal es más rica en compuestos polares, solubles en metanol, que en los apolares, los cuales, se solubilizan en solventes como el hexano.

Tabla 3. Porcentaje de extracción de las partes botánicas (hoja y tallo) de la *Capraria biflora*.

Extracto	Material seco (g)	Extracto crudo (g)	Extracción (%)
EMH	298,4	20,82	6,98
EMT	377,7	8,12	2,15
EHH	298,4	3,61	1,21
EHT	377,7	2,50	0,66
PBMT	377,7	1,50	0,40

EMH: Extracto metanólico de las hojas, EMT: Extracto metanólico del tallo, EHH: Extracto hexánico de las hojas, EHT: Extracto hexánico del tallo, PBMT: Precipitado blanco metanólico del tallo.

En el análisis fitoquímico realizado al extracto metanólico de las hojas (EMH) y del tallo (EMT), se detectó la presencia de flavonoides en ambos extractos. Además se detectó otra familia de compuestos en las hojas, tales como: saponinas y esteroides, a diferencia del tallo que mostró la presencia de polifenoles y triterpenos. En el extracto hexánico de las distintas partes botánicas, se observó la presencia de esteroides, a excepción del tallo que además dio positivo para la prueba de saponinas. También se realizó dicho estudio al precipitado

blanco obtenido del extracto metanólico del tallo y el resultado fue negativo para todas las pruebas realizadas (tabla 4).

Esta detección se basó en el hecho de que para la presencia de esteroides, se observó una coloración azul verdosa una vez agregado el reactivo Liebermann-Burchard. Para los triterpenos pentacíclicos se presentó una coloración roja púrpura, para los polifenoles se observó la presencia de una coloración parda, para el caso de los flavonoides se apreció bajo una lámpara de luz ultravioleta la intensificación de un color amarillo verdoso y para las saponinas la aparición de una espuma permanente.

En el análisis fitoquímico realizado, se pudo observar que no se detectaron otras familias de metabolitos secundarios, lo que puede deberse al hecho de que muchas veces la concentración de dichos compuestos en la especie no se encuentran en concentraciones suficientes como para poder ser detectados por los reactivos utilizados en las diversas pruebas; por lo que no se puede asegurar que estas sustancias químicas se encuentran ausentes en los diversos extractos (Marcano y Hasegawa, 2002).

Tabla 4. Análisis fitoquímico de los extractos metanólicos y hexánicos de cada órgano vegetal obtenidos de la *Capraria biflora*.

Familia de compuestos	EMH	EMT	EHH	EHT	PBMT
Taninos	-	-	-	-	-
Esteroides	+	-	+	+	-
Saponinas	+	-	-	+	-
Triterpenos	-	+	-	-	-
Flavonoides	+	+	-	-	-
Polifenoles	-	+	-	-	-
Alcaloide	-	-	-	-	-

EMH: Extracto metanólico de las hojas, EMT: Extracto metanólico del tallo, EHH: Extracto hexánico de las hojas, EHT: Extracto hexánico del tallo, PBMT: Precipitado blanco metanólico del tallo, Detectado: +, No Detectado: -

Con la finalidad de evaluar la actividad farmacológica de esta planta, se realizaron ensayos antimicrobianos y antifúngicos a los diferentes extractos EMH, EMT, EHH, EHT y PBMT de *Capraria biflora*. Los resultados obtenidos fueron negativos, es decir, no presentaron actividad antifúngica ni antibacteriana; al contrario, se pudo observar un crecimiento

considerado de los microorganismos para ambos ensayos. Esto puede deberse a la presencia en cantidades consideradas de un compuesto denominado manitol, el cual es un glucósido (molécula en la que un azúcar se enlaza a un grupo funcional diferente a un carbohidrato), de fórmula molecular $C_6H_{14}O_6$, que se encuentra en muchas plantas y su función principal es la de almacenar los productos químicos importantes como glucósidos inactivos; si estos productos químicos son necesarios, se hidrolizan en presencia de agua y una enzima, generando azúcares importantes en el metabolismo de planta (Cruz *et al.* 2002)

Para comprobar que el compuesto aislado era manitol, se procedió a determinar el punto de fusión del precipitado obtenido. Este ensayo se llevó a cabo, una vez obtenido de manera inesperada la formación de cristales durante la experimentación de dicho trabajo. Se pudo observar la presencia de los cristales cuando se rotaevaporaba el extracto metanólico del tallo de *C. biflora*, el cual se realizaba con la finalidad de obtener el extracto crudo de la planta y así poder realizar seguidamente las pruebas pertinentes; dichos cristales eran de color verde (debido al exceso de clorofila presentes en la muestra), con bordes irregulares y de textura dura. Posteriormente, se lavaron con diferentes solventes polares y apolares los cuales fueron: etanol, hexano y cloroformo, los cuales limpiaron poco a poco los cristales hasta obtener un polvo de color blanco. Luego de esto, se determinó el punto de fusión, para determinar si los cristales eran impurezas del extracto o un compuesto puro de la planta. Dicho ensayo se realizó varias veces, obteniéndose como resultado un punto de fusión de $164^{\circ}C-169^{\circ}C$, lo cual indicó que la muestra en estudio era pura y apta para realizar otras pruebas más específicas, como por ejemplo las pruebas espectroscópicas. La comparación del punto de fusión obtenido con un valor bibliográfico no es evidencia suficiente para la identificación de dicho compuesto, puesto que existen miles de compuestos orgánicos con puntos de fusión parecidos (Carey, 1999).

Se hicieron pruebas espectroscópicas de resonancia magnética nuclear, de protones y carbono 13. El espectro de RMN de 1H (500,00 MHz, $DMSO-d_6$) del PBMT (figura 1) presentó un conjunto de señales con desplazamientos químicos en toda la región del espectro, observándose tres señales a 4,78 ppm, 4,49 ppm y 4,15 ppm, en forma de doblete (d), triplete (t) y doblete (d), respectivamente, cuya integral para cada señal corresponde

para un protón, con constantes de acoplamiento de 5,55 Hz, 5,60 Hz y 7,15 Hz. Estas señales corresponden a tres grupos hidroxilo, donde la diferencia entre los desplazamientos químicos se debe a que el protón del grupo hidroxilo a 4,78 ppm se encuentra sobre un carbono terminal, por lo que está mayormente desplazado a campo bajo, mientras que las otras dos señales corresponden a los protones del grupo hidroxilo sobre la cadena carbonada. Debido a que la multiplicidad de estas señales, cuando el espectro se hace en D₂O, son singletes (s), indica que los protones se intercambian por D, además de la formación de puentes de hidrógeno. La señal en forma de multiplete (m), con desplazamiento químico centrado en 3,58 ppm, y el multiplete (m), con desplazamiento químico centrado en 3,36 ppm, corresponden con los dos protones de un metileno (CH₂) terminal unido al grupo hidroxilo; en este caso ambos protones son diastereotópicos, por lo que su desplazamiento químico no es el mismo. Las constantes de acoplamiento para el protón con δ 3,58 ppm son $^1J = 5,3$ Hz y $^2J = 5,5$ Hz, mientras que para el protón con δ 3,36 ppm es de 5,6 Hz. Entre 3,53 ppm y 3,40 ppm se observan tres señales bien definidas, cada una de ellas integra para un protón.

De éstas, la que se encuentra a campo más bajo, δ 3,43 ppm y constantes de acoplamiento $^1J = 5,3$ Hz y $^2J = 5,8$ Hz, se observa en forma de multiplete (m), y corresponde a un protón sobre un grupo metino (CH), mientras que las otras dos señales se observan en forma de singlete (s) y tripletes (t), con δ H de 3,47 y 3,52 (J=7,6 Hz) ppm (Gaugitz y Vo-Dinh, 2003). De estas señales, el singlete (s) no parece tener relación con el compuesto estudiado, por lo que quizás esta señal sea producto de trazas existentes de MeOH con el cual se extrajo el compuesto. En la figura 1 se presenta el espectro de RMN ¹H, y en la tabla 5 los valores de los desplazamientos químicos de las señales observadas.

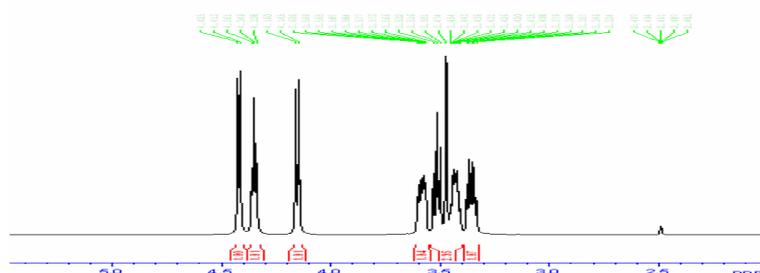


Figura1. Espectro de RMN- ¹H del PBMT, ampliada en la región de las señales.

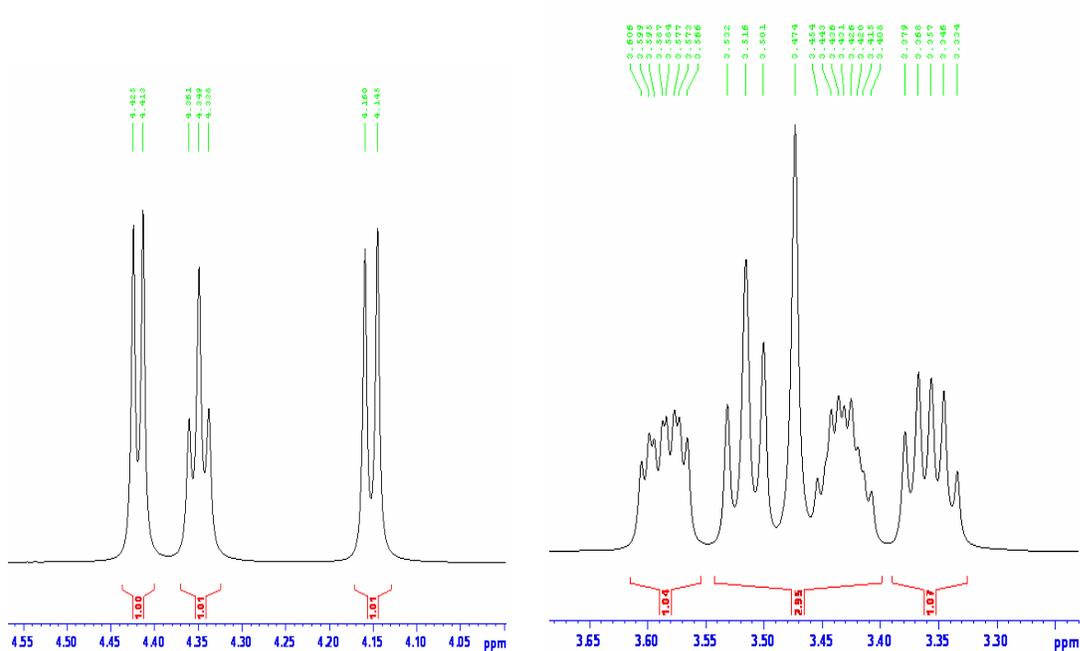


Figura 2. Ampliación del RMN- ^1H del PBMT.

El espectro de RMN ^{13}C (125,73 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) del PBMT (figura 3) muestra tres señales con desplazamientos químicos a campo bajo. De estas tres señales, las que aparecen a campo más bajo tienen δC 71,7 y 70,1 ppm, corresponden a átomos de carbono unidos a un grupo electronegativo que desapantalla el núcleo y permite que aparezca a campo bajo, en este caso los carbonos están enlazados a un oxígeno en forma de grupo $-\text{OH}$. A 64,2 ppm se encuentra una señal, en este caso no tan desplazada a campo bajo como la anteriores, pero de igual forma indica el enlace con un grupo hidroxilo. La diferencia del desplazamiento químico de esta señal con respecto a las anteriores puede deberse a que el átomo de carbono se encuentre en los extremos de la cadena carbonada, por lo que está un poco más apantallado (Gaugitz y Vo-Dinh, 2003). En la figura 4 se muestra el DEPT-135 (Distortionless Enhancement Through Polarization Transfer) (125,73 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), donde se observa que los carbonos con desplazamiento químico de 71,7 y 70,1 ppm se encuentran en la fase positiva del espectro, lo que indica que son grupos C-H, mientras que el carbono con δC 64,2 ppm se encuentra en la fase negativa del espectro, lo cual indica que es un grupo $-\text{CH}_2-$. En la figura 3 se puede detallar el espectro de RMN ^{13}C y en la tabla 5 se presentan los desplazamientos químicos de los átomos de carbono.

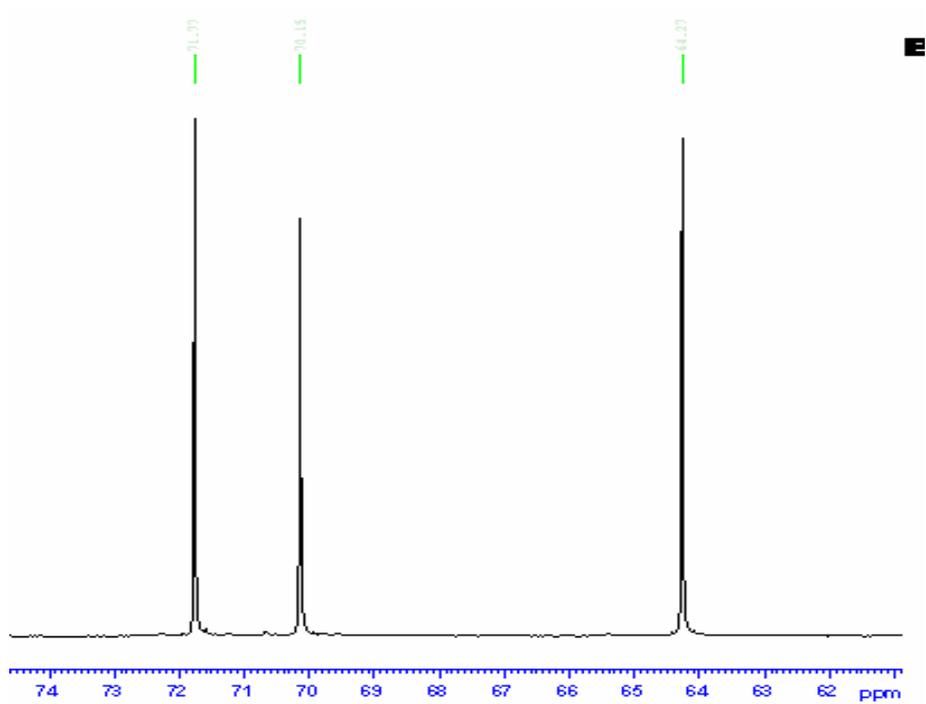


Figura 3. Espectro de RMN-¹³C del PBMT.

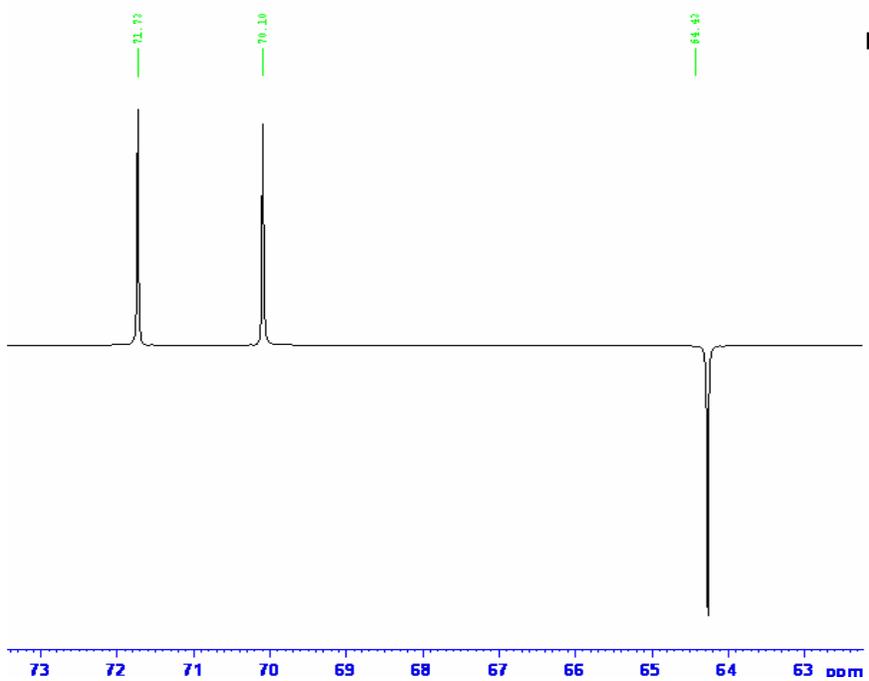


Figura4. Ampliación del DEP-135° del PBMT.

Tabla 5. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C , correlación y agrupación atómica en la molécula que conforma la muestra del PBMT.

δ_{H} , ppm (multiplicidad, J)	δ_{C} ppm	Grupo
4.42 (d, $J = 5.55$ Hz)		-OH
4.35 (t, $J = 5.6$ Hz)		-OH
4.15 (d, $J = 7.15$ Hz)		-OH
3.59 (m, $J = 5.3$ y 5.5 Hz)	64,2	-CH ₂ - (*)
3.52 (t, $J = 7.6$ Hz)	70,1	-CH
3.43 (m, $J = 5.3$ y 5.8 Hz)	71,7	-CH
3.36 (m, $J = 5.6$ Hz)	64,2	-CH ₂ - (*)

(*) Protones diastereotópicos.

Otros procedimientos espectroscópicos realizados a la muestra para corroborar la estructura, fueron las bidimensionales COSY, HBMC, HMQC. Un experimento de correlación homonuclear COSY H-H, (500,00 MHz, DMSO- d_6) (figura 5), generó un espectro que evidencia correlación entre los protones con δ 4,42 y δ 3,43 ppm, los protones con desplazamientos químicos de 4,35 ppm con los de 3,59 y 3,36 ppm, y estos últimos entre ellos. Finalmente, se correlaciona la señal que aparece a 4,15ppm con los de 3,52 ppm, y este a su vez con los protones a δ 3,43 y δ 4,15 ppm. En la figura 4 se muestra el espectro COSY H-H en donde se puede observar las correlaciones entre los grupos de núcleos de H (Gaugitz y Vo-Dinh, 2003).



Figura 5. Espectro COSY ^1H - ^1H del PBMT, ampliada en la región de las señales.

La correlación cuántica múltiple heteronuclear C-H, HMQC (500,00 MHz, $J = 2,44$ Hz, DMSO- d_6), permitió detectar los núcleos más sensibles y mostrar correlaciones directas entre carbonos e hidrógenos. Se observa el acoplamiento entre el H con δ 3,52 ppm y el C con δ 70,1 ppm, así como el protón de señal δ 3,43 ppm y el C con δ 71,7 ppm, confirmando de esta manera la presencia de dos grupos metino (C-H). Finalmente, también se observa correlación entre los protones del grupo metileno (CH_2) con δ 3,59 y 3,36 ppm con el C δ 64,2 ppm, que permite asegurar que ambos protones son diasterotópicos y que la diferencia en su desplazamiento químico es producto a su ubicación espacial que permitirá o no la interacción con el grupo hidroxilo o el protón del carbono vecino (Gaugitz y Vo-Dinh, 2003). En la figura 6 se presenta el espectro HMQC que evidencia las correlaciones antes descritas y en la tabla 5 se detallan los acoplamientos existentes entre los núcleos.

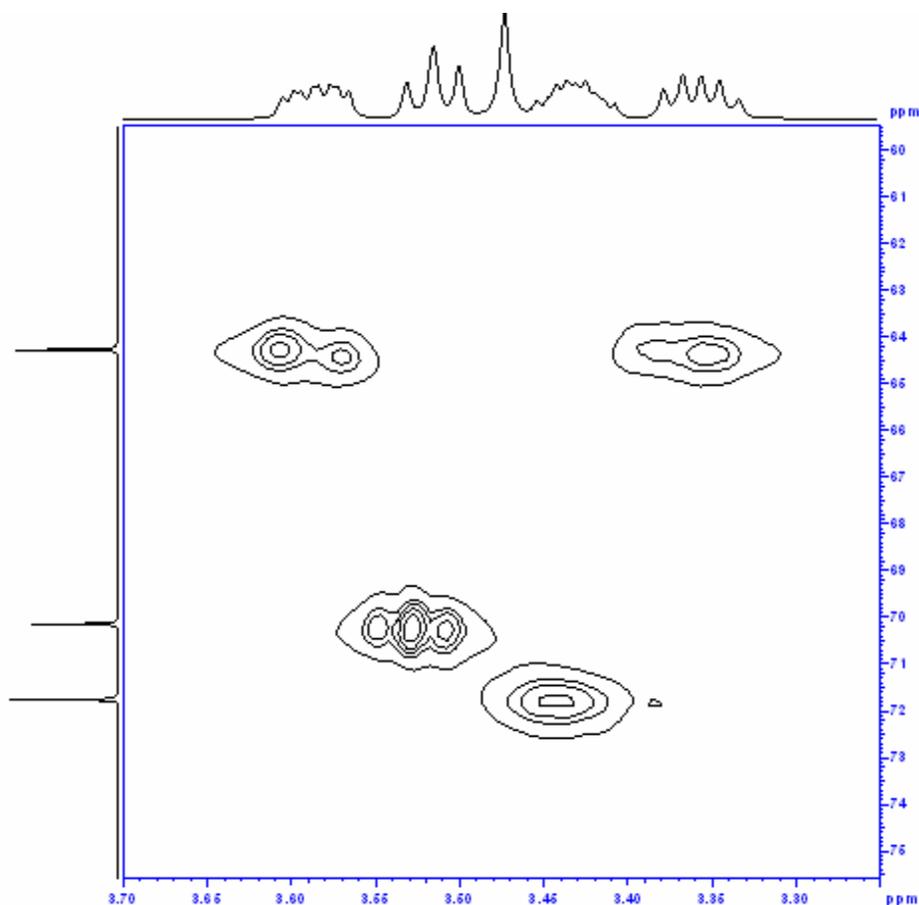


Figura 6. Espectro HMQC ^1H - ^{13}C . del PBMT, ampliada en la región de las señales.

La correlación cuántica múltiple heteronuclear C-H, HMBC (500,00 MHz, $J = 2,44$ Hz, DMSO- d_6), permitió detectar las correlaciones entre carbonos e hidrógenos distanciados por n - enlaces, donde $n= 2$ ó 3 . Se observa el acoplamiento entre los protones con δ 3,36 ppm; δ 3,58 ppm; δ 3,43 ppm; δ 4,16 ppm y el C con δ 70,1 ppm, así como para los protones de señal δ 3,36 ppm; δ 3,52 ppm; δ 4,16 ppm; δ 4,35 ppm y el C con δ 71,7 ppm. Finalmente, se observó correlación entre los protones con δ 3,52 ppm; δ 3,43 ppm; δ 4,35 ppm; δ 4,42 ppm y el C con δ 64,2 (Gaugitz y Vo-Dinh, 2003). En la figura 7 se presenta el espectro HMQC que evidencia las correlaciones antes descritas y en la figura 8 se detallan los acoplamientos existentes entre los núcleos.

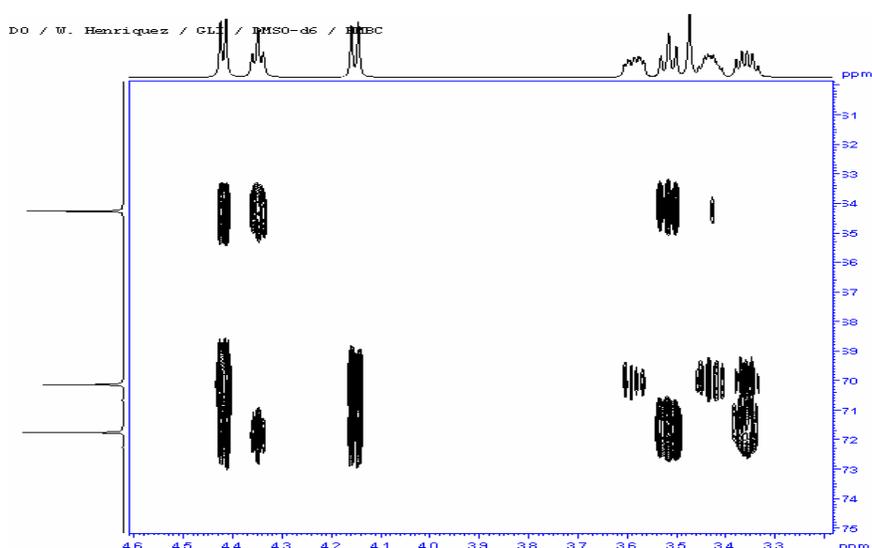


Figura 7. Espectro HMBC ^1H - ^{13}C . del PBMT, ampliada en la región de las señales.

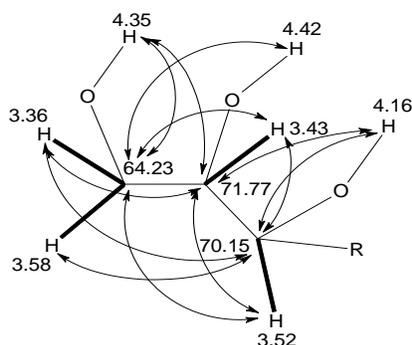


Figura 8. Fragmento molecular propuesto de la interpretación espectroscópica, indicando las interacciones HMBC, HMQC y COSY ^1H - ^1H .

Una técnica que también proporciona valiosa información sobre la posible estructura de compuesto es la espectrometría de masa, proceso de ionización relativamente nuevo, desarrollado principalmente para la determinación de la masa de grandes moléculas biológicas. El espectro de masas se realizó aplicando la técnica de ionización ESI (Ionización por electrospray); en él se observó un pico de mediana intensidad en m/z 183,15 atribuible a la matriz de iones $[M + H]^+$, el cual corresponde a la fórmula molecular $C_6H_{15}O_6$. En m/z 205,13 se observó la señal de mayor intensidad en el espectro asignada como $[M+Na]^+$, mientras que a m/z 387,15 una señal atribuible a los iones $[2M + Na]$. En la figura 9, se presenta el espectro de masa que evidencia las señales antes descritas para el compuesto manitol (Gaugitz y Vo-Dinh, 2003).

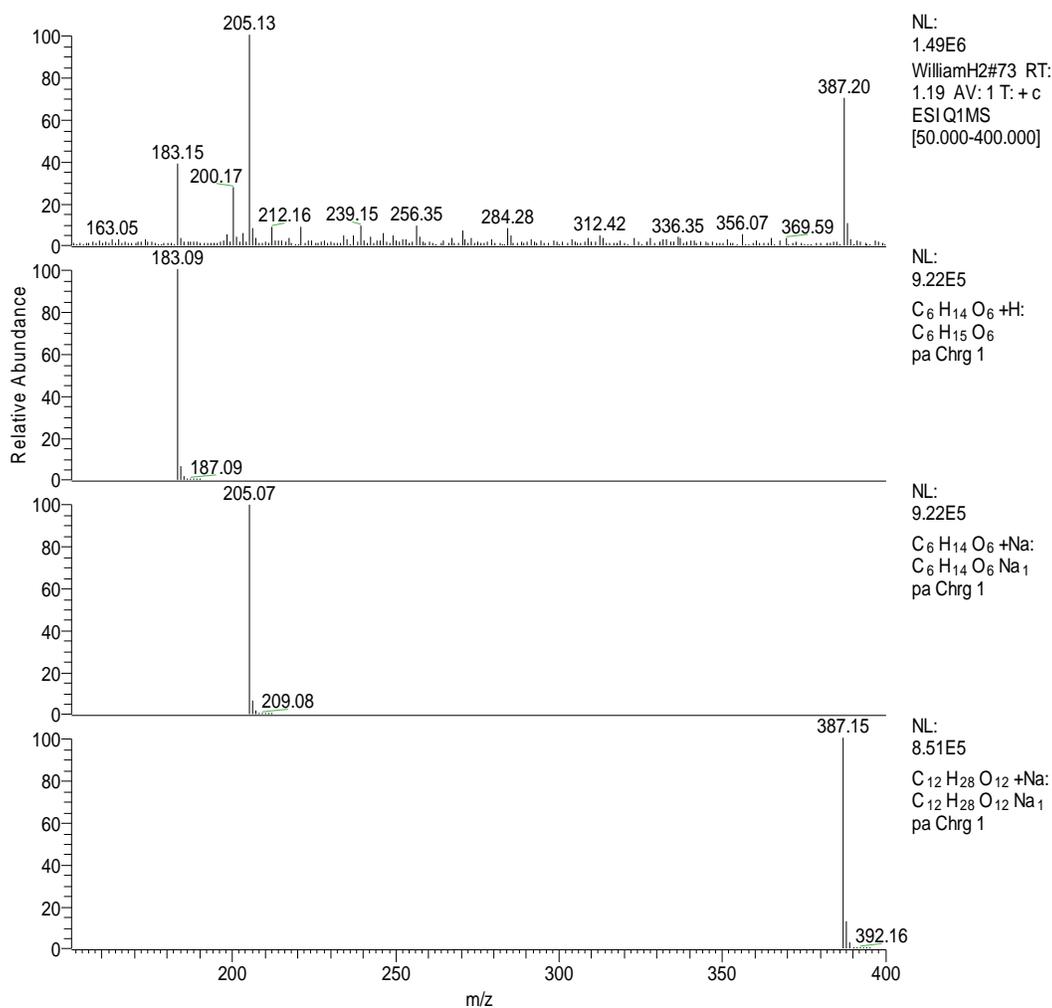


Figura 9. Espectro de masas del compuesto manitol.

Los análisis de HMQC, HMBC, ^1H y RMN ^{13}C permitieron asignar la correlación existente entre átomos de carbonos e hidrógenos presentes en la molécula, lográndose de esta manera, proponer una estructura acorde con todas y cada una de estas señales. Dichos datos espectroscópicos proporcionados, presentan correlación con un glucósido llamado manitol.

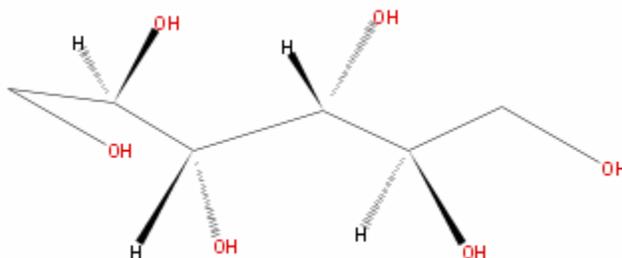


Figura 10. Estructura propuesta del manitol ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$), según el análisis de RMN del PBMT.

Los glucósidos son moléculas compuestas por un glúcido (generalmente monosacáridos) y un compuesto no glucídico; éstos desempeñan numerosos papeles importantes en los organismos vivos. Muchas plantas almacenan los productos químicos importantes en forma de glucósidos inactivos; si estos productos químicos son necesarios, se hidrolizan en presencia de agua y enzimas, generando azúcares importantes en el metabolismo de la planta. Muchos glucósidos de origen vegetal se utilizan como medicamentos; como por ejemplo el manitol, el cual es un polisacárido con una masa molecular de 182,17 y fórmula empírica $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$ que, al no reabsorberse por los epitelios tubulares, actúa como un diurético osmótico; es decir, inhibe la reabsorción de Na^+ y agua en el túbulo proximal y particularmente en la rama ascendente del asa de Henle de los riñones. Es interesante señalar que a diferencia de otros diuréticos, el manitol produce una diuresis de agua, situación en la cual la pérdida de agua es mayor que la de Na^+ y K^+ . No se utiliza en el tratamiento de padecimientos con edema, ya que el atrapamiento inicial del manitol hipertónico, induce una expansión de volumen, que en la insuficiencia cardíaca es capaz de precipitar edema agudo pulmonar (Cruz, 2002)

CONCLUSIONES

El análisis químico de los extractos EM y EH de los órganos vegetales de la planta *Capraria biflora*, evidenció la posible presencia de esteroides insaturados, saponinas, triterpenos pentacíclicos, flavonoides y polifenoles.

Los extractos metanólicos y hexánicos no mostraron actividad bactericida frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas; además, tampoco presentó actividad antifúngica frente a las cepas de hongos ensayadas.

De las varias fracciones obtenidas, se aisló un precipitado que al someterlo a análisis espectroscópicos, resultó ser el manitol.

De acuerdo con el análisis realizado para la determinación del punto de fusión del polvo blanco metanólico del tallo de la *Capraria biflora*, se obtuvo como resultado un punto de fusión de 164 °C – 169 °C, el cual puede coincidir con el punto de fusión del compuesto manitol, el cual oscila entre 164 °C- 165°C.

Con respecto al análisis de RMN en una y dos dimensiones, realizado al polvo blanco metanólico del tallo de la *Capraria biflora*, se logró identificar un glucósido llamado manitol; éste fue confirmado mediante la realización de un espectro de masa, utilizando la técnica de ionización por electrospray.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilera, N. 1989. Aislamiento y caracterización de la naturaleza química de compuestos con actividad antibiótica y/o fototóxica en algunos géneros de la familia Asteraceae y Acanthaceae. Trabajo de Pregrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná.

Albornoz, A. 1980. *Productos naturales, sustancias y drogas extraídas de las plantas*. Publicación de la Universidad Central de Venezuela. Caracas.

Albuquerque, U. 2001. Padronizacáo botánica de *Capraria biflora* L. (Scrophulariaceae). *Acta farm bonaerense*, 20(4): 259-263.

Baker, H. 1968. Las plantas y la civilización. Editorial Herrero Hnos. Sucesores, S. A. Edición 3. México.

Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, I. y Turck, M. 1966. Antibiotic susceptability testing by standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4): 493-496.

Beyra, A.; Leon, M.; Iglesias, E.; Ferrandis, D.; Herrera, R.; Volpato, G.; Godinez, D.; Guimaraes, M. y Alvarez, R. 2004. Estudios etnobotánicos sobre plantas medicinales en la provincia de Camagüey. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 3(61): 185-203.

Bhat, K. 1981. Herbolario tropical. Industria gráfica oriental. Cumaná. Venezuela. .

Cabeza, P. 1981 Angiospermas con atributos medicinales en el Estado Sucre. Trabajo de Pregrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná.

Carey, F. 1999. Química Orgánica. Tercera edición. Edición Mc Graw Hill.

Castellano, E. y Azócar, E. 1994. La medicina tradicional como instrumento de promoción de la conservación de la diversidad vegetal en el pie monte Oriental de los Andes. *Acta Científica Venezolana*, 45(21): 75.

Cruz, J.; Minoja, G. y Okuchi K. 2002. Major clinical and physiological benefits of early high doses of mannitol for intraparenchymal temporal lobe hemorrhages with abnormal pupillary widening. *A Randomized Trial Neurosurgery*, 51(3): 628-637.

Delascio, F. 1978. *Aportes al conocimiento de la etnobotánica del estado Cojedes*. Fundación la Salle de ciencias naturales. Caracas. Venezuela.

Delascio, F. 1985. *Algunas plantas usadas en la medicina empírica venezolana*. Dirección de investigaciones biológicas. Caracas.

Delgado, R.; Sanabria, M.; González, R. y Cumana, J. 1992. Plantas medicinales de Macuro, Edo. Sucre. Etnobotánica '92. Jardín botánico. Córdoba. España.

Delpretti, E. 1984. Los médicos si quieren saber de hierbas. EL NACIONAL. Caracas 07 de Noviembre.1985. 28 p.

Fonseca A.; Pessoa O.; Silveira E.; Monte F.; Braz-Filtho R. y Lemos T. 2003. Total assignments of the ^1H and ^{13}C NMR spectra of biflorin and bis- biflorin from *Capraria biflora*. Mang. Res. Chem.

Fuentes, E. 1980. Los Yanomami y las plantas silvestres. *Antropológica fundación La Salle*, 3(54): 4-137.

Gaugitz, G. y Vo-Dinh, T. 2003. Handbook of spectroscopy. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. Weinheim.

Gongalves de Lima O. D'albuquerque I.; Magalhaes N. y Albuquerque M. 1954. Breve nota sobre a actividade antimicrobiana da biflorina purificada por particao Craig. Revista do Instituto de Antibioticos, 1(2): 95-98.

Gongalves de Lima O. D'albuquerque I. y Navarro M. 1962. Novo método de extracao e purificacao da bifloria con possibilidade industrial. Revista do Instituto de Antibioticos, 1(2): 79-81.

Gupta, S.; Choudry, M.; Yadka J.; Srivastava, N. y Tandon, J. 1992. Antidiarrheal activity of *E.coli* enterotoxin, In vivo models. *International journal of crude drug research*, 28(249): 273-283.

Henríquez, W. 1995. Compuestos con actividad biológica de *Chromolaena odorata*. King et Robinson. Trabajo de Pregrado. Departamento de Química. Universidad de Oriente, Cumaná.

Khan, M.; Asraf, M.; Nazir, M.; Ahmad, W. y Bhatti, M. 1990. Chemistry and antibacterial activity of the constituents of the leaves of *Ardisia solanácea*. *Fitoterapia*, 62 (1): 3050-3051.

Lans, C. 2007. Comparison of plants used for skin and stomach problems in Trinidad and Tobago with Asian ethnomedicine. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 3(3): 1-12.

Marcano, D. y Hasegama, M. 1991. *Fitoquímica orgánica*. Universidad Central de Venezuela. Caracas.

Marcano, D. y Hasegawa, M. 2002. *Fitoquímica orgánica*. Universidad Central de Venezuela. Caracas.

Márquez, M. 1987. Plantas medicinales: caracterización, uso y comercialización en el estado Monagas. Trabajo de Pregrado. Departamento de Ingeniería Agrónoma. Universidad de Oriente, Monagas.

Miski, M., Ulubelen, A. y Johansson, C., 1983. Antibacterial activity studies of flavonoids from *Salvia palestina*. *Journal of natural products*, 46(6): 874-875.

Morais N.; Nogueira C.; López M. y Vasconcelos N. 1995. Inorganic analytical study of medicinal plants. *Anais da Associação Brasileira de Química*, 44(4): 14-19.

Mori, A.; Chikao, N.; Nubuyase, E. y Shinkichi, T. 1987. Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, 26(8): 2231-2234.

Morton, J. 1912. Atlas of medicinal plants middle America. Bahamas to Yucatan. Editorial Charles C. Thomas Publisher Springfield Illinois USA.

Osborn, M. 1943. On the occurrence of antibacterial substances in the green plants. *British journal of experimental pathology*, 24: 227-233.

Pino, N.; Melendez, E. y Stashenko, E. 2009. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de hojas de *Piper lanceafolium*, planta usada tradicionalmente en Colombia. *Boletín latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 8(4): 301-304.

Pompa, G. 1966. *Medicamentos indígenas*. Grandes librerías las novedades, S. A. Caracas.

Prelog V.; Goncalves de Lima O. y Keller Schierlein W. 1958. Uber das biflorin. *Helvetica Chimica Acta*: 1386-90.

Rao, K. y Alvarez, F., 1981. Antibiotic principles of *Eupatorium capillifolium*. *Journal of Natural Products*, 44 (3): 252-256.

Rincón, F. 1979. *Medicamentos indígenas*. Grandes librerías Las Novedades. S. A. Caracas.

Rodríguez, P. 1980. Las plantas de la medicina popular. *Boletín de la sociedad venezolana de ciencias naturales*, 23(109): 233 - 244.

Scofield, D. 2002. Medicinal usage: *Capraria biflora* L. (Scrophulariaceae). <<http://the.seedsite.co.uk/scrophulariaceae>>. (10/08 2011).

Vera, A. 1993. Contribución al conocimiento de las plantas medicinales del estado Táchira. Publicación de la Universidad Nacional Experimental del Táchira. San Cristóbal, Venezuela.

Vicet, L. 2009. Contribución a la farmacología antiinflamatoria de la especie *Capraria biflora*, L. Tesis presentada en opción al grado Científico de Doctor en Ciencias de la Salud. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. La Habana, Cuba.

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	Evaluación Fitoquímica, Actividad Antifúngica Y Antibacteriana De Extractos De <i>Capraria biflora</i> L. (SCROPHULARIACEAE) De La Localidad De Guaranache. Cumaná, Estado Sucre.
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
FRANCO L., MAYRA A.	CVLAC	17.446.423
	e-mail	Mayrita8725@hotmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Espectroscopia
Manitol
Fitoquímica

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

A los extractos metanólicos y hexánicos de las hojas y el tallo de la planta *Capraria biflora*, se les realizó un estudio fitoquímico para evaluar las propiedades antimicrobianas y antimicóticas en ambos extractos, así como también al precipitado blanco, obtenido del extracto metanólico del tallo. El análisis químico preliminar realizado a los extractos metanólicos, mostró la posible presencia de flavonoides; además, en las hojas se detectaron saponinas y esteroides, a diferencia del tallo que mostró la presencia de polifenoles y triterpenos; el precipitado blanco, obtenido del extracto metanólico del tallo resultó negativo para todas las pruebas fitoquímicas realizadas. El extracto hexánico de las distintas partes botánicas, reflejó la presencia de esteroides, a excepción del tallo que, además, dió positivo para la prueba de saponinas. Ambos extractos, tanto metanólicos como hexánicos de las distintas partes botánicas, resultaron inactivos frente a todas las bacterias y hongos estudiados, el cual pudo deberse a la presencia de un glucósido llamado manitol en cantidades considerables, el cual pudo incrementar el crecimiento de las cepas bacterianas y micóticas, respectivamente, ya que este compuesto es un glucósido que utilizan los microorganismos para su crecimiento. Del precipitado blanco que se obtuvo del extracto metanólico del tallo se logró aislar e identificar por Resonancia Magnética Nuclear de una y dos dimensiones al glucósido manitol (C₆H₁₄O₆), siendo éste el primer reporte acerca del aislamiento de este metabolito secundario en el tallo de la *Capraria biflora*.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Herrera, Hernando	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input checked="" type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	5.872.352
	e-mail	Hherreramata@yahoo.es
	e-mail	
Araque, Yasmina	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	8.000.727
	e-mail	Yamasi40@gmail.com
	e-mail	
D´Armas, Haydelbra	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	4.297.804
	e-mail	Htrinidad86@hotmail.com
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2012	11	6

Lenguaje: SPA

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TESIS-Francomayra.DOC	Application/word

Alcance:

Espacial: NACIONAL (Opcional)

Temporal: TEMPORAL (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciatura en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio: Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUNVELO
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

Apartado Correos 094 / Telf: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) : "los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización".


AUTOR I


TUTOR