



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

FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS HEXÁNICOS
Y METANÓLICOS DE LAS HOJAS Y TALLOS DE LA PLANTA *Croton pungens*
Jacq. DEL SECTOR GRANADILLO. ONOTO, ESTADO ANZOÁTEGUI

PIERINA CANDELARIA HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN QUÍMICA

CUMANÁ, 2025



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

FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS HEXÁNICOS
Y METANÓLICOS DE LAS HOJAS Y TALLOS DE LA PLANTA *Croton pungens*
Jacq. DEL SECTOR GRANADILLO. ONOTO, ESTADO ANZOÁTEGUI
(Modalidad: Tesis de grado)

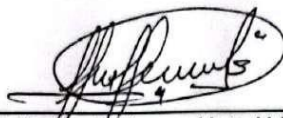
PIERINA CANDELARIA HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN QUÍMICA

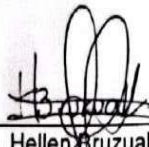
CUMANÁ, 2025

FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS HEXÁNICOS
Y METANÓLICOS DE LAS HOJAS Y TALLOS DE LA PLANTA *Croton pungens*
Jacq. DEL SECTOR GRANADILLO. ONOTO, ESTADO ANZOÁTEGUI

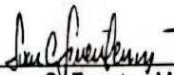
APROBADO POR:



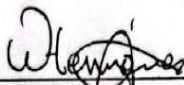
Prof. Hernando Herrera Mata M.Sc.
Asesor



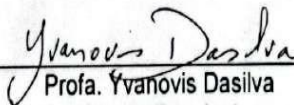
Profa. Hellen Cruzal M.Sc.
Coasesora



Dr. Juan C. Fuentes Monteverde
Asesor Externo



Prof. William Henríquez
Jurado Principal



Profa. Yvanovis Dasilva
Jurado Principal

DEDICATORIA

A mis padres, por su amor y apoyo incondicional.

A mi hermana, que ha sido un ejemplo para mí en todos los sentidos.

A mis familiares, por su cariño y compañía.

A Otto, Zeus, Mochi y Zafiro quienes siempre fueron luz en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, por contarme entre sus estudiantes, y haberme permitido adquirir un caudal de conocimientos a lo largo de la carrera. Gracias.

Al profesor Hernando Herrera Mata, por su asesoramiento, orientación y guía en la realización de este trabajo.

A la profesora Hellen Bruzual, por su ayuda y consejos aportados en el desarrollo de este trabajo de investigación.

Al Dr. Juan Carlos Fuentes M., por su apoyo y aporte invaluable para el cumplimiento de los objetivos de este trabajo.

A la Lcda. Daviannys Hernández H. por su ayuda invaluable en el área de microbiología aplicada en este trabajo.

Al Dr. Willian Henríquez G., por sus enseñanzas y conocimientos impartidos durante la carrera.

Al Dr. Jesús Lezama, por sus valiosas sugerencias que enriquecieron este trabajo de investigación.

Al profesor Fernando Mago, por su guía y apoyo durante la carrera.

ÍNDICE

LISTA DE TABLAS.....	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
RESUMEN	IX
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA.....	8
Obtención del material vegetal	8
Análisis fitoquímico	9
Alcaloides.....	9
Saponinas	9
Flavonoides.....	9
Taninos y polifenoles	9
Antraquinonas	10
Pruebas de actividad biológica	10
Procedimiento cromatográfico	12
Caracterización.....	12
Cromatografía de gases y Espectrometría de masas	12
Espectroscopia Infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)	12
Resonancia magnética nuclear (RMN).....	12
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
Obtención de los extractos.....	14
Análisis fitoquímico	14
Alcaloides.....	15
Saponinas	16
Flavonoides.....	17
Taninos y polifenoles	17
Antraquinonas	18
Pruebas de actividad biológica	19
Caracterización.....	21
Análisis por espectroscopia infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) ...	21
Fraccionamiento por cromatografía de columna	22
Análisis por espectrometría de masas	23

Análisis por resonancia magnética nuclear (RMN)	24
CONCLUSIONES.....	14
BIBLIOGRAFÍA	36
HOJAS DE METADATOS	42

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Cepas bacterianas utilizadas en la evaluación de la actividad biológica en los extractos de <i>Croton pungens</i>	10
Tabla 2 Cepas de hongos del tipo levadura y filamentosos utilizadas en la evaluación de la actividad antifúngica biológica en los extractos de <i>Croton pungens</i>	11
Tabla 3. Porcentaje de rendimiento de los extractos metanólicos y hexánico del material vegetal de <i>Croton pungens</i>	14
Tabla 4 Análisis fitoquímico de los extractos metanólicos de las hojas y tallos de <i>Croton pungens</i>	15
Tabla 5. Actividad antibacteriana de los extractos obtenidos de <i>Croton pungens</i> . 19	
Tabla 6. Actividad antifúngica de los extractos obtenidos de <i>Croton pungens</i>	21
Tabla 7. Desplazamientos químicos de ^1H , ^{13}C y las correlaciones ^1H - ^1H COSY y ^1H - ^{13}C HMBC	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Fotografía de ejemplar de <i>Croton pungens</i> Jacq. preservado en el Royal Botanic Gardens, Londres.....	4
Figura 2 Compuestos aislados previamente de los extractos apolares del <i>Croton pungens</i>	5
Figura 3 Estructura del isopimarano aislado de <i>C. laevigatus</i>	6
Figura 4 Ubicación del área de muestreo de la planta <i>Croton pungens</i> Jacq., sector Granadillo, Onoto, estado Anzoátegui	8
Figura 5 Alcaloides aislados de <i>C. echinocarpus</i> y <i>C. lechleri</i> (Ravanelli <i>et al.</i> , 2015 y Montopoli <i>et al.</i> , 2012)	16
Figura 6 Espectro IR del extracto crudo de los tallos de <i>C. pungens</i>	22
Figura 7 Esquema de fraccionamiento del extracto metanólico de los tallos de <i>C. pungens</i>	23
Figura 8 Espectro de masas con ionización positiva por impacto electrónico (70eV) del compuesto 1	24
Figura 9 Espectro de ^1H ^1D RMN del compuesto 1. Las integrales están marcadas en azul. El detalle en la figura muestra el efecto tejado (roof effect) observado sobre los protones H9.	25
Figura 10 Espectro ^{13}C -RMN desacoplado en protones del compuesto 1	26
Figura 11 Espectro ^1H - ^{13}C HMQC del compuesto 1. Las correlaciones carbono-protón se indican en azul. (*) La señal residual del disolvente y (**) una impureza detectada en la muestra.	27
Figura 12 Espectro ^1H - ^1H COSY del compuesto 1(a); las correlaciones protón-protón (dos y tres enlaces) se indican en azul y las correlaciones a larga distancia (más de tres enlaces) en negritas y los sistemas de espines del compuesto 1 (b); aquellos a dos y tres enlaces se indican con líneas gruesas, mientras que las correlaciones distantes se indican con flechas punteadas.....	30
Figura 13 ^1H - ^{13}C HMBC del compuesto 1(a), las posibles estructuras derivadas del análisis de RMN del compuesto 1 (b). Las correlaciones carbono protón relevantes se indican en azul.....	31
Figura 14 Comparación entre los desplazamientos químicos, y la curva de correlación del compuesto 1 y los reportados para la 3,4-dehidroteaspirona. La estructura en a es una reproducción de la publicada por Moujir <i>et al.</i> en 2011, mientras que las estructuras b y c son las propuestas en este trabajo.....	34
Figura 15 Estructura corregida de la 3,4-dehidroteaspirona.	35

RESUMEN

Croton pungens es una especie vegetal del género *Croton*, de la que se tiene poco conocimiento de su composición química. El análisis fitoquímico realizado a las hojas y tallos de la planta, sugiere la presencia de distintas familias de metabolitos secundarios (alcaloides, taninos, polifenoles, flavonoides y antraquinonas). El extracto hexánico (40 mg/ml) ejerció escasa actividad antibacteriana, la cual se evidenció por la presencia de un halo de inhibición de 8 mm contra *Staphylococcus aureus*. No se observó actividad antifúngica frente a los patógenos ensayados. Se realizó un fraccionamiento por cromatografía de columna al extracto metanólico crudo, donde se obtuvieron una fracción. De la fracción 4 eludida con cloroformo, se aisló un compuesto (1) y se caracterizó como 3,4-dehidroteaspirona, mediante una combinación de análisis de RMN, consistentes en ^1H -1D, ^{13}C -desacoplando en protones-1D, ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HMQC y ^1H - ^{13}C HMBC, además de cálculos computacionales. Este es el primer reporte del compuesto con su estructura validada por cálculos computacionales, en el género *Croton*; encontrando una discrepancia con la estructura reportada en la literatura, en la posición de los metilos geminales en C10. La 3,4-dehidroteaspirona es un compuesto de origen natural, potencialmente antipalúdico. Los resultados obtenidos indican que *C. pungens* es una planta con relevancia etnobotánica, que también pudiera tener importancia a nivel de la industria farmacológica, debido al compuesto detectado y aislado en ella.

INTRODUCCIÓN

Las plantas son seres vivos caracterizados por poseer células con paredes celulares compuestas de celulosa. Su proceso evolutivo les ha permitido adaptarse a diferentes ambientes y desarrollar una gran variedad de grupos, familias, géneros y especies (Hoffmann y Armesto, 2008).

Durante miles de años, las plantas han constituido un recurso valioso para satisfacer las necesidades de los seres humanos, siendo empleadas para una amplia diversidad de productos vegetales como alimentos, madera, utensilios y medicinas (Sharma y Sarkar, 2012).

El uso de las plantas medicinales se remonta a tiempos antiguos, donde eran administradas en forma de tinturas, infusiones, polvos, cataplasmas y otras formulaciones. El conocimiento sobre las dolencias, enfermedades y el tratamiento medicinal a base de plantas, ha sido preservado gracias a la tradición oral (Balunas y Kinghorn, 2005).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), define la medicina tradicional como un conjunto de conocimientos, prácticas y habilidades fundamentadas en creencias, teorías y experiencias de carácter autóctono de diversas culturas, que pueden o no tener explicación y que son utilizadas en el mantenimiento de la salud y en la prevención, la mejora o el tratamiento de una enfermedad física o mental. Las plantas medicinales poseen fitoquímicos que les otorgan actividad biológica. Los fitoquímicos son compuestos orgánicos bioactivos que se pueden encontrar en diferentes partes de la planta (Ugboko *et al.*, 2020).

La mayoría de las moléculas terapéuticamente activas aisladas de plantas corresponden a los metabolitos secundarios (MS), también conocidos como productos naturales (PN). Estos son capaces de interactuar con macromoléculas como proteínas, ácido desoxirribonucleico (ADN) y otras de características

semejantes, convirtiendo a los MS en biomoléculas de gran relevancia farmacológica. Las funciones de los MS en las plantas son amplias, debido a que participan en la protección general de la planta, eliminando radicales libres, absorbiendo luz ultravioleta y como mecanismos químicos de defensa contra animales o patógenos (Sen y Samanta, 2014). El origen de los MS, es el catabolismo de los metabolitos primarios; en tal sentido, la biosíntesis de los MS comienza a partir de vías básicas, como por ejemplo la glucólisis, para luego diversificarse. Este proceso depende en gran medida del tipo de célula vegetal y la etapa de desarrollo en la que esta se encuentre, así como las condiciones ambientales, teniendo como resultado la existencia de una enorme variabilidad en la concentración de MS, su localización y almacenamiento en los diferentes órganos y tejidos de las plantas (Li *et al.*, 2020).

La domesticación vegetal que han realizado los seres humanos a través de los siglos, ha afectado la composición y el contenido de las especies vegetales. Al emplear la selección artificial, mediante la selección de las plantas con las características deseadas o la manipulación del medio ambiente, los MS pueden poseer diferentes perfiles y funcionar como sustancias intoxicantes, estimulantes u otorgar resistencia a los cultivos contra plagas y patógenos (Bautista *et al.*, 2012).

La fitoquímica es la ciencia que se dedica a la caracterización estructural, evaluación de propiedades e investigaciones biosintéticas de las sustancias de origen natural y producidas por el metabolismo secundario de las plantas. Esta disciplina científica tiene una gran importancia a nivel económico, social y de investigación química y farmacológica (Braz, 2010).

En años recientes, alrededor del 25 % de la medicina moderna tienen su origen en productos naturales; el descubrimiento de estas nuevas sustancias está guiado principalmente por el uso de esos organismos en la medicina tradicional. Las moléculas modificadas químicamente han desplazado a los extractos naturales en las naciones con mayor desarrollo económico. Sin embargo, gran parte de los

países subdesarrollados dependen principalmente de los remedios etnobotánicos (De Luca *et al.*, 2012). A nivel de estos países, las enfermedades infecciosas causadas por virus, parásitos, hongos y bacterias constituyen una de las principales amenazas a la salud pública; en este sentido, el uso de las plantas que poseen valor medicinal es un recurso ampliamente utilizado (Dhama *et al.*, 2014).

Por otro lado, el incremento en la resistencia de los microorganismos y parásitos a los medicamentos empleados históricamente conlleva al desarrollo de nuevos fármacos más eficaces para frenar la progresión de enfermedades. Debido a la diversidad biológica y estructural de los componentes de las plantas, estas constituyen una valiosa fuente de compuestos antibacterianos, antifúngicos, antivirales y antiparasitarios (Sakkas y Papadopoulou, 2017).

La primera generación de medicamentos de origen vegetal fue realizada con elementos botánicos administrados más o menos en forma cruda. Basados en la evidencia empírica y cultural, sociedades de diferentes partes del mundo utilizaron fitomedicinas eficaces en estado natural provenientes de plantas variadas como la *Cinchona officinalis* L. (quina), *Papaver somniferum* L. (adormidera), *Atropa belladonna* L. (belladona) y el género *Aloe*, comúnmente conocido como sábilas (Mahady, 2005).

El género *Croton*, de la familia Euphorbiaceae, es ampliamente usado en la medicina tradicional. Este género contiene aproximadamente 1300 especies entre hierbas, arbustos y árboles distribuidos en las regiones tropicales y subtropicales del planeta. La mayoría de estas plantas producen un látex de color rojizo y son clasificadas como aromáticas, debido a que poseen aceites volátiles. Los remedios preparados con las especies de este género han sido empleados en África, el sur de Asia y en América de Sur para el tratamiento de enfermedades como dolores de estómago, abscesos, malaria, cáncer, fiebre, hipertensión, parasitosis intestinales causadas por helmintos, diabetes, inflamación y pérdida de peso (Salatino *et al.*, 2007). Las especies que integran el género *Croton* son

abundantes en diferentes tipos de diterpenoides, además poseen alcaloides y glucósidos como parte de sus compuestos fitoquímicos, lo que podría explicar sus amplias propiedades farmacológicas (Wen-Hui *et al.*, 2018).

Croton pungens Jacq., es un arbusto de hojas ovaladas o en forma de corazón con un ápice largamente acuminado y flores pistiladas sésiles, lo que la diferencia de las demás especies (figura 1). *C. pungens* tiene una amplia distribución en el territorio venezolano, abarcando la cordillera de la costa y la serranía del interior del país. Comúnmente se le puede observar formando parte de los arbustales a orillas del camino (Luján *et al.*, 2015).



Figura 1 Fotografía de ejemplar de *Croton pungens* Jacq. preservado en el Royal Botanic Gardens, Londres

Son escasos los estudios hechos sobre la planta *C. pungens*. Sin embargo, se ha reportado la presencia de compuestos fitoquímicos como fitol, nor-kaurano, β -sitosterol y un éster de β -sitosterol en los extractos apolares de esta especie (Márquez, 2011) ver figura 2. Otros autores han señalado que los extractos acuosos de *C. pungens* tienen la capacidad de inducir una disminución en los niveles de glucosa cuando se utiliza un modelo de diabetes experimental, sin afectar los niveles de colesterol. Por otra parte, se ha indicado que el extracto acuoso de *C. pungens* posee toxicidad aguda de baja intensidad, cuando es

administrado en ratones de experimentación (Torrico *et al.*, 2013).

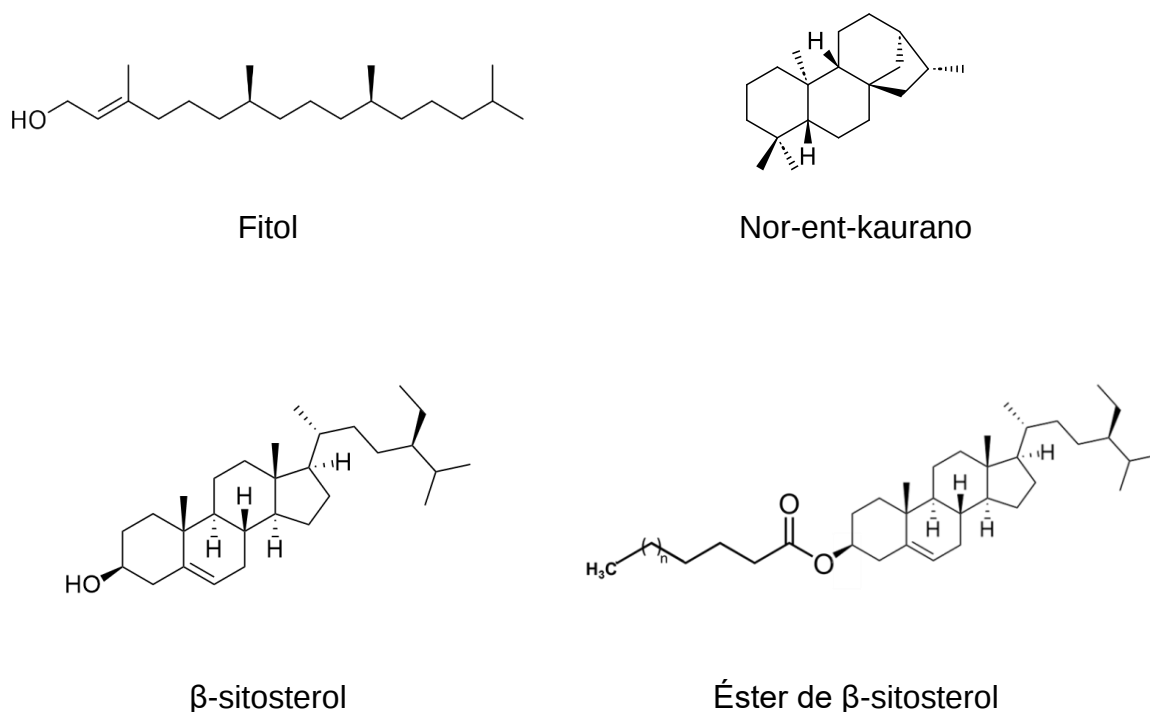


Figura 2 Compuestos aislados previamente de los extractos apolares del *Croton pungens*

Investigaciones recientes han descubierto en las especies del género *Croton* diversos productos naturales y actividades biológicas diversas. Del mismo modo, se ha reportado que el extracto de las partes aéreas de *C. laevigatus* contenía un nuevo diterpenoide de tipo isopimarano (figura 3) (Man-Yu *et al.*, 2019.).

Un análisis fitoquímico de las raíces de la planta *C. crassifolius* llevó al descubrimiento de cinco sesquiterpenos, dos de ellos nuevos, enriqueciendo la diversidad de los compuestos químicos encontrados en la especie *C. crassifolius* (Jin-Long, 2019). Asimismo, en un estudio realizado por Silva *et al.* (2020), se encontró que en las raíces de *C. velutinus* estaban presentes cuatro nuevos derivados de fenilpropanoides; dos de ellos con actividad citotóxica,

antiinflamatoria y tripanocidas. Según una investigación realizada por Niu *et al.* (2020), los aceites esenciales, extraídos de las semillas de *C. tigilium* son capaces de reducir la proliferación e inducir la apoptosis de líneas celulares de cáncer de pulmón. De igual manera, un estudio realizado por Araújo *et al.*, (2017) demostraron que los aceites esenciales de las hojas de la especie *C. ceanothifolius* poseen un efecto sinérgico con algunos antibióticos contra cepas bacterianas multirresistentes.

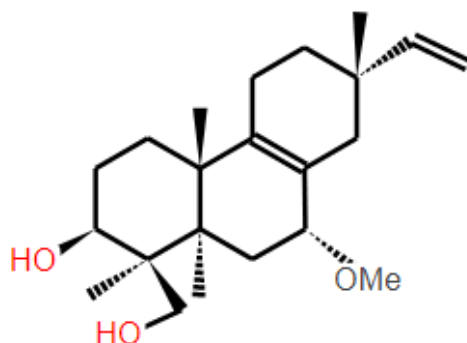


Figura 3 Estructura del isopimarano aislado de *C. laevigatus*

La especie *C. pungens*, según señalo Márquez (2011), contiene metabolitos secundarios reportados en otras especies. Además, concluyó que el uso del extracto acuoso de las hojas de la planta es seguro para pruebas *in vivo*. Estos extractos presentan baja toxicidad y no ocasionan letalidad. Interesantemente, también se observó que aquellos organismos expuestos a estos extractos presentaron la capacidad de reversión de los efectos tóxicos de los mismos a concentraciones específicas. En este sentido, los resultados parecen indicar que los extractos de *C. pungens* poseen un efecto citoprotector.

Es necesario resaltar que la fundamentación de los análisis, caracterización y elucidación de las estructuras moleculares de los productos naturales aislados de plantas y otros organismos, se basan en diferentes métodos y técnicas cromatográficas, espectroscópicas y espectrométricas, entre ellos; infrarrojo, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, cromatografía de

alto desempeño acoplada a espectrometría de masas de alta resolución, y resonancia magnética nuclear de campo alto, como las más notables (Herrera-Mata *et al.*, 2002; Chauhan *et al.*, 2015). Sin embargo, de reciente data se han incorporado las técnicas de simulación computacional, entre ellas, la dinámica molecular y la teoría de densidad funcional y redes neuronales (MD, DFT y NN, por sus siglas en inglés, respectivamente), las cuales tienen como finalidad agilizar y corroborar las estructuras espaciales y conformacionales de los compuestos caracterizados (Corona, 2018).

La falta de estudios fitoquímicos sistemáticos de *C. pungens*, la poca información con respecto a los compuestos que forman parte de la fitoquímica de la planta, su actividad antimicrobiana, abundancia y diversidad estructural de los productos naturales anteriormente aislados, así como su potencial utilidad farmacológica, motivaron la realización de este trabajo de investigación, que tiene como finalidad descubrir potenciales principios activos para su posterior uso terapéutico y medicinal.

METODOLOGÍA

Obtención del material vegetal

Las hojas y tallos de *Croton pungens* se recolectaron en el sector Granadillo, de la localidad de Onoto, estado Anzoátegui, Venezuela.

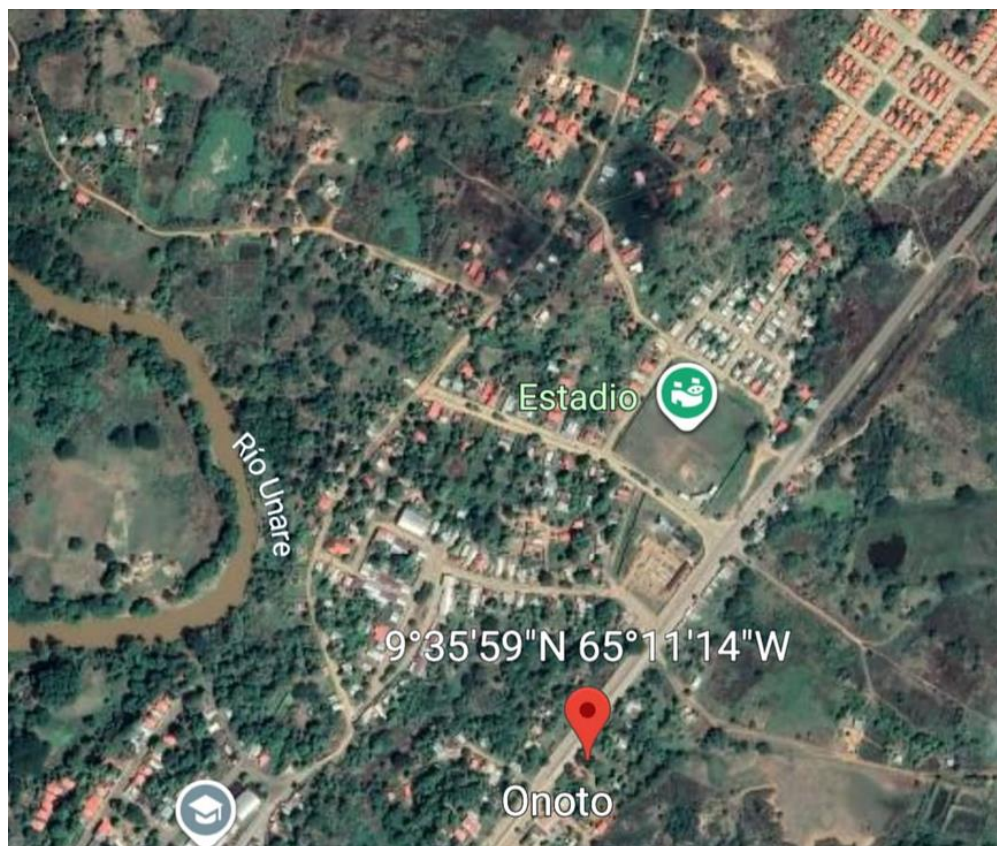


Figura 4 Ubicación del área de muestreo de la planta *Croton pungens* Jacq., sector Granadillo, Onoto, estado Anzoátegui

Las partes aéreas de *C. pungens* se secaron a la sombra durante una semana, a temperatura ambiente en un lugar seco y fresco. No se observó proliferación de hongos durante el secado. Seguidamente las muestras de las hojas (MH) y los tallos (MT) secos se separaron y fueron molidas independientemente. Posteriormente, las muestras fueron extraídas sucesivamente con hexano y MeOH durante 3 días. Ambos extractos fueron concentrados a presión reducida

en un rotaevaporador Heidolph, hasta un volumen aproximado de 150 ml, obteniéndose así el extracto crudo metanólico y hexánico de las hojas y los tallos.

Análisis fitoquímico

Alcaloides

El extracto crudo se evaporó hasta sequedad y, fue retomado con HCl al 10 % seguidamente se extrajo con CHCl_3 . La fase acuosa fue alcalinizada con hidróxido de amonio y se extrajo nuevamente con CHCl_3 . Las tres fases obtenidas se analizaron por separado con el reactivo de Dragendorff; el mismo permitió detectar la presencia de alcaloides básicos, débilmente básicos y sales cuaternarias de amonio, respectivamente (Marcano y Hasegawa, 2018).

Saponinas

Una pequeña porción del extracto crudo se colocó en un tubo de ensayo con 2 ml de agua destilada; posteriormente, se agitó vigorosamente la muestra durante 30 segundos. La prueba se confirma como positiva tras la formación de una espuma persistente durante 30 minutos, 3 cm por encima de la superficie de la disolución (Marcano y Hasegawa, 2018).

Flavonoides

La presencia de flavonoides se evaluó mediante dos metodologías. Primer ensayo: el extracto crudo, fue llevado a sequedad y, tratado con ácido clorhídrico concentrado y virutas de magnesio; la prueba se consideró como positiva al producirse una coloración roja luego de entre 10 y 20 minutos de reacción. Segundo ensayo: una gota del extracto crudo se colocó sobre papel del filtro y se roció con una solución de cloruro de aluminio al 1 %. La aparición de una coloración amarilla fluorescente bajo la luz ultravioleta (265 nm), indicaría la presencia de flavonoides (Marcano y Hasegawa, 2018).

Taninos y polifenoles

Determinación de polifenoles: el extracto crudo se llevó a sequedad,

seguidamente se retomó en agua destilada y se filtró. Posteriormente se le adicionó una disolución de cloruro férrico al 1 %; la presencia de fenoles se determinó por la aparición en la disolución de una coloración marrón. Determinación de Taninos: se trató el extracto crudo con una disolución al 1 % de gelatina en NaCl al 1 %; en caso de observarse una ligera precipitación, indica la presencia de taninos en la muestra (Marcano y Hasegawa, 2018).

Antraquinonas

El extracto crudo se llevó a sequedad y se extrajo con KOH al 1 % m/v. Posteriormente, la solución se filtró y se acidificó con ácido acético y luego se extrajo con benceno. Un ensayo positivo ocurre cuando la fase orgánica toma una coloración roja al alcalinizarla con hidróxido de amonio (Marcano y Hasegawa, 2018).

Pruebas de actividad biológica

Con los extractos crudos obtenidos se realizaron pruebas de antibiograma (antibacteriana y antifúngica) mediante la técnica de difusión en agar, según la metodología de Bauer-Kirby *et al.* (1959/1966) y Madubunyi (1995).

La actividad antibacteriana del extracto vegetal se comprobó empleando cepas bacterianas ATCC, clasificadas en Gram positivas y Gram negativas (tabla 1).

Tabla 1 Cepas bacterianas utilizadas en la evaluación de la actividad biológica en los extractos de *Croton pungens*

Bacterias	Coloración de Gram
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Positiva
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Negativa
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 27853	Positiva
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9212	Negativa

Siguiendo la técnica de difusión en agar, se impregnaron discos estériles de papel de filtro Whatman N° 1 de 5 mm de diámetro, con 10 µl de una solución del extracto crudo de las hojas de *Croton pungens*. Los discos impregnados se

colocaron en la superficie de placas de Petri, previamente servidas con agar Müller-Hinton e inoculadas con una suspensión de cepas bacterianas de una concentración conocida (1×10^8 UFC/ml), las cuales se estandarizaron por comparación con el patrón de turbidez de McFarland de 0,5.

Luego, se realizó una pre-incubación de las placas refrigeradas a 5 °C por 12 horas, para permitir la difusión del extracto en el medio. Seguidamente, las placas se incubaron a 37 °C por 24 horas en una incubadora microbiológica. Por último, se verificó la actividad antibacteriana mediante la presencia de un halo de inhibición alrededor de los discos de papel de filtro. Los diámetros de los halos de inhibición se midieron con una regla milimétrica (Bauer *et al.*, 1966).

Las cepas de hongos filamentosos utilizadas se cultivaron en tubos inclinados con agar papa dextrosa, a temperatura ambiente. Luego, se agregaron 10 ml de agua destilada a cada uno de los tubos antes mencionados y se procedió a agitar y filtrar para obtener la suspensión micótica. Esta suspensión se utilizó para inocular las placas de agar papa dextrosa. En las placas se colocaron los discos de papel de filtro Whatman N° 1 de 5 mm de diámetro, impregnados con 10 µl del extracto crudo y se incubaron a temperatura ambiente durante cinco días. La actividad antifúngica se comprobó por la presencia de un halo de inhibición alrededor de los discos, el cual se midió su diámetro con una regla milimétrica (Madubunyi, 1995). (tabla 2).

Tabla 2 Cepas de hongos del tipo levadura y filamentosos utilizadas en la evaluación de la actividad antifúngica biológica en los extractos de *Croton pungens*.

Hongos	Origen
<i>Candida albicans</i>	Laboratorio de Micología (HUAPA)
<i>Aspergillus niger</i>	Laboratorio de Micología (HUAPA)
<i>Aspergillus terreus</i>	Laboratorio de Micología (HUAPA)

Procedimiento cromatográfico

La purificación del extracto alcohólico obtenido se realizó por cromatografía de columna, utilizando gel de sílice de 60 mesh (malla 35-70). Se empleó como eluyente una mezcla de disolventes orgánicos de polaridad creciente, comenzando con hexano, hasta llegar a metanol, en proporciones variables, obteniéndose varios eluatos que se agruparon en fracciones, sobre la base del comportamiento cromatográfico de los mismos, observado por cromatografía de capa fina analítica (base aluminio).

Caracterización

Cromatografía de gases y Espectrometría de masas

Se realizó en un espectrómetro HP 5890 series II, equipado con una columna capilar abierta (60 m x 0,25 mm x 0,25 μ m), con He como gas de arrastre, acoplado a un detector de masa de tipo cuadrupolo simple, modelo HP 7951A, operado con el software Chemstation. El espectro obtenido proporcionó una primera aproximación de los compuestos presentes en las muestras, al ser comparado con la base de datos Wiley; la identificación se hizo mediante comparación del tiempo de retención y relación masa-carga (m/z) con aquellas reportadas en la base de datos de espectrometría de masas Wiley (Yarkov, 2004).

Espectroscopia Infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

El extracto crudo se disolvió en cloroformo. Posteriormente, se analizó en un equipo Perkin Elmer FTIR-ATR modelo Frontier, obteniéndose así los respectivos espectros. El número de barridos empleados fue de ocho (8).

Resonancia magnética nuclear (RMN)

Se realizó un análisis de RMN usando experimentos mono- y bidimensionales, empleando un equipo Bruker de 400 MHz. Para ello, la muestra se disolvió en 650 μ l de un disolvente deuterado adecuado; la disolución se homogeneizó y se filtró en algodón para remover partículas sólidas en suspensión. Dicha solución se transfirió a tubos de RMN de 5 mm; las muestras así preparadas alcanzaron una

longitud de entre 4 cm y 4,5 cm. Los tubos de RMN empleados se limpiaron minuciosamente. La caracterización estructural se estableció por el análisis e interpretación de los desplazamientos químicos de los espectros 1D ^1H y ^{13}C -desacoplado en ^1H - y las correlaciones obtenidas en el análisis de experimentos bidimensionales, a saber; Correlación Espectroscópica por Detección de Orbitales Cruzados, Correlación Heteronuclear de Coherencia Múltiple y Correlación Heteronuclear a Largo Alcance a través de Enlaces de Unión Múltiple, conocidos por sus siglas en inglés como ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HMQC y ^1H - ^{13}C HMBC, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención de los extractos

Los extractos metanólicos y hexánico de las hojas y tallos de *Croton pungens* Jacq. se obtuvieron por maceración del material vegetal triturado a temperatura ambiente. Los extractos se protegieron de la luz en todo momento. Se ha comprobado que moler o triturar el material vegetal incrementa el rendimiento de la extracción (Benítez *et al.*, 2019). En la tabla 3, se expresa el rendimiento porcentual obtenido de los extractos. Del mismo modo, se ha determinado en investigaciones donde se emplean extractos vegetales que, para la liberación de compuestos bioactivos, no se requieren tiempos de extracción prolongados; luego de 48 h se alcanza un equilibrio, reduciendo la eficiencia de la extracción. Es conocido que un aumento de la temperatura de la muestra podría favorecer la extracción; sin embargo, un incremento en la temperatura podría ocasionar la degradación de los compuestos fenólicos, así como también, de productos termolábiles (Jerez, *et al.*, 2006).

Tabla 3. Porcentaje de rendimiento de los extractos metanólicos y hexánico del material vegetal de *Croton pungens*.

Variable	EHH	EMH	EMT
m_o (g)	129,4	129,4	74,9
m_{extracto} (g)	7,2	23,7	5,0
Rendimiento (%)	5,6	18,3	6,6

EHH: extracto hexánico de las hojas. EMH: extracto metanólico de las hojas. EMT: extracto metanólico de los tallos. m_o : masa inicial del órgano de la planta. m_{extracto} : masa obtenida del extracto crudo.

Análisis fitoquímico

Los extractos alcohólicos poseen mayor cantidad de compuestos fitoquímicos en su composición, debido a que los alcoholes penetran con mayor facilidad la membrana celular de las plantas, la cual posee un carácter anfipático, permitiendo así la liberación de estos compuestos contenidos en el material

vegetal (Prashant *et al.*, 2011). Sobre el género *Croton*, gran parte de los compuestos purificados y aislados provienen de extractos alcohólicos de los tallos y corteza de estas especies, donde se han encontrados terpenos como, por ejemplo, lupeol, aislado del extracto metanólico en *C. macrostachyus* (Tole *et al.*, 2021).

No existen análisis fitoquímicos realizados en la especie *C. pungens* según la revisión bibliográfica consultada para la ejecución de este trabajo de investigación. La presencia de familias de metabolitos secundarios, fue valorada con una serie de pruebas fitoquímicas realizadas al extracto metanólico, expuestas en la tabla 4 y basadas en la metodología propuesta por Marcano y Hasegawa (2018).

Tabla 4 Análisis fitoquímico de los extractos metanólicos de las hojas y tallos de *Croton pungens*.

<u>Familia de compuestos</u>	Extractos metanólicos	
	Hojas	Tallos
Alcaloides	+	+
Saponinas	-	-
Flavonoides	-	+
Taninos	-	+
Polifenoles	+	+
Antraquinonas	-	+

Alcaloides

El género *Croton* es ampliamente conocido por contener alcaloides como parte de sus metabolitos secundarios (Gao *et al.*, 2018). Se han obtenido ocho (8) alcaloides del género *Croton*, siendo éstos un 2 % de los diferentes compuestos aislados del mismo (Wen-Hui *et al.*, 2018). Los extractos alcohólicos demuestran que *C. pungens* posee en su composición la presencia de estos compuestos en sus hojas y tallos, pudiéndose observar a través de la formación

del complejo anaranjado creado a partir de la reacción de los alcaloides con el reactivo Dragendorff (Kancherla, *et al.*, 2019). La mayoría de los alcaloides poseen un grupo amino terciario que reacciona con un ácido para formar una sal de amonio, luego, se produce un intercambio de iones entre esta última y el tetraiodobismutato de potasio, lo que conlleva a la formación de una sal insoluble, cuyo color varía entre amarillo, naranja, rojo y marrón. Es de resaltar que algunos alcaloides purínicos, como la cafeína, no reaccionan frente al reactivo Dragendorff (Raal *et al.*, 2020).

Los alcaloides del género *Croton* son de gran importancia farmacológica, los mismos están siendo investigados como posibles fármacos para el tratamiento de enfermedades; los alcaloides coridina y norisoboldina han sido aislados en *C. echinocarpus* y probados en estudios de líneas celulares como posible tratamiento anti-VIH (Ravanelli *et al.*, 2015). De *C. lechleri* se aisló taspina, que exhibe inhibición contra las líneas celulares de melanoma humano SK23 y cáncer de colon HT29 (Montopoli *et al.*, 2012).

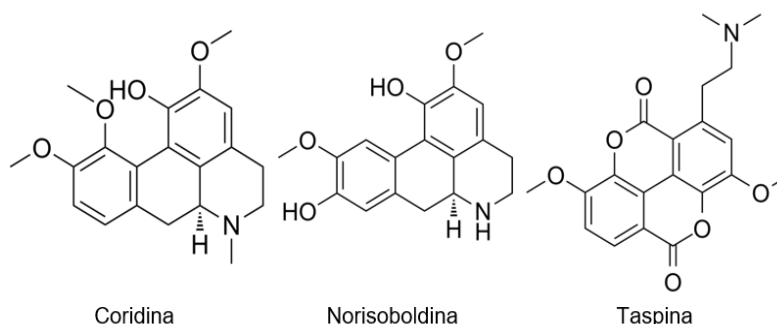


Figura 5 Alcaloides aislados de *C. echinocarpus* y *C. lechleri* (Ravanelli *et al.*, 2015 y Montopoli *et al.*, 2012)

Saponinas

Las pruebas realizadas al extracto metanólico, no evidenciaron la presencia de saponinas. Esta observación reviste interés, debido a que las saponinas tienen propiedades toxigénicas que pueden afectar los órganos y el sistema sanguíneo

de los seres vivos, al producir una hemólisis cuando interaccionan con el colesterol de la membrana de los eritrocitos. Las de naturaleza bidesmosídicas, compuestas por una aglicona y dos azúcares, producen este efecto en menor medida. Sin embargo, no todas las saponinas tienen la capacidad de generar lisis celular (Tránsito, 2001).

En la literatura, se menciona la presencia de saponinas en otras especies del género, como es el caso de *C. macrostachyus*, en la cual se ha conseguido este metabolito secundario en los tallos y hojas de la misma (Maroyi, 2017). Esta diferencia en los resultados obtenidos, puede ser entendida considerando que la estación de recolección, edad, órgano analizado, sustrato donde se desarrolla y alimentación de la planta examinada, son factores que pueden afectar el contenido de este PN (Güçlü-Üstündağ y Mazza, 2007).

Flavonoides

En *C. pungens* se ha logrado identificar, mediante análisis fitoquímico, la presencia de flavonoides en el extracto de los tallos; esta familia de metabolitos ha sido reportado también en las hojas y tallos de *C. brasiliensis* y en el látex rojo de *C. draco* y *C. panamensis* (Salatino *et al.*, 2007), demostrando así que el género *Croton* posee gran variedad de esta familia de compuestos orgánicos en su diversidad biológica.

Taninos y polifenoles

Son diversos los PN que se encuentran dentro de la familia de los polifenoles, a los que se les adjudican propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, vasodilatadoras, antitrombóticos, antilipémicos, antiaterogénicos, entre muchas otras (Quiñones *et al.*, 2012).

En este caso, se identificó la presencia de taninos en el extracto de los tallos de *C. pungens*. Durante el ensayo, se apreció una ligera turbidez, lo cual podría

sugerir que la concentración de taninos en el material vegetal no era tan alta como para formar el precipitado característico del complejo proteína-tanino. Se sabe que la formación del complejo tanino-proteína depende de la cantidad de grupos funcionales disponibles en las proteínas y en los anillos de los compuestos fenólicos, así como otro tipo de interacciones, tanto débiles como fuertes, además de la temperatura y el *pH* (Olivas *et al.*, 2015). Estos compuestos fenólicos también se han observado en otras especies del mismo género, como *C. lobatus* (Anafi *et al.*, 2017) y *C. bonplandianus* (Mohan y Divya, 2017).

Antraquinonas

Por último, en el análisis fitoquímico se confirmó la presencia de antraquinonas en el extracto de los tallos de *C. pungens*, lo cual coincide con su detección en el extracto metanólico de la planta *C. macrostachyus* (Mechesso *et al.*, 2016). Sin embargo, las antraquinonas no se pueden tomar como un marcador quimiotaxonómico del género *Croton*, toda vez que no todas las especies del mismo muestran antraquinonas como parte de sus compuestos fitoquímicos.

Durante el análisis fitoquímico del extracto metanólico de las hojas de *C. pungens* no se evidenció la presencia de muchas familias de PN. Se puede razonar que, en algunas ocasiones, la concentración de estos compuestos es baja y no es posible detectarlos con los métodos químicos de campo empleados (Marcano y Hasegawa, 2018). Hay factores que influyen en estos casos, como es la edad de la planta, las condiciones climáticas o el tiempo de recolección del material vegetal, haciendo énfasis que muchas floras producen mayor o menor cantidad de compuestos fitoquímicos, dependiendo del entorno físico en el que se encuentren (Li *et al.*, 2020).

Las plantas contienen cantidades significativas de compuestos bioactivos, y éstos pueden tener una reacción adversa en la salud de los seres vivos, por lo

tanto, es necesario el aislamiento y la purificación de estos metabolitos para su correcto uso a nivel farmacológico (Okechukwu *et al.*, 2021).

Pruebas de actividad biológica

Se debe mencionar que para las pruebas de actividad antibacteriana, se emplearon los extractos crudos. Van Vuuren y Holl, en sus investigaciones de 2017, sugieren que resulta más eficiente centrarse en la combinación de compuestos químicos contenidos en una misma área de la planta, ya que las interacciones que hay entre dichos compuestos, pueden lograr un mayor efecto inhibitorio.

El microorganismo *S. aureus* mostró un halo de inhibición (8 mm) frente al extracto hexánico, a una concentración de 40 mg/ml, como se expresa en la tabla 5. En otras especies de *Croton* se ha observado que el extracto hexánico es más eficiente para controlar el crecimiento bacteriano, a diferencia de los extractos con mayor polaridad que requieren una mayor concentración para lograr la inhibición de la actividad bacteriana (Rocha *et al.*, 2020).

Tabla 5. Actividad antibacteriana de los extractos obtenidos de *Croton pungens*.

Bacterias	EHH		EMH			EMT		
	A	C	A	B	C	A	B	C
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

EHH: extracto hexánico de las hojas. EMH: extracto metanólico de las hojas. EMT: extracto metanólico de los tallos. A: concentración 20 mg/ml. B: concentración 30 mg/ml. C: concentración 40 mg/ml. (+): con actividad antibacteriana. (-): sin actividad antibacteriana.

Las bacterias Gram positivas, como *S. aureus* suelen ser más sensibles que las bacterias Gram negativas, ya que estas últimas, por lo general, son más

resistentes a los agentes antimicrobianos. Este hecho se ha explicado por la presencia de una barrera de impermeabilidad de la membrana externa, lo que limita el acceso de los agentes antimicrobianos a sus objetivos diana en la célula bacteriana (Martins, *et al.*, 2013).

Las cepas bacterianas restantes no manifestaron sensibilidad frente a los discos impregnados con ambos extractos a diferentes concentraciones. Extractos de especies como *C. gratissimus*, *C. megalobotrys*, *C. steenkampianus* y *C. sylvaticus* han evidenciado muy baja o ninguna actividad frente a diversos patógenos, por lo que se evidencia que la capacidad inhibitoria del género *Croton* es muy variable, dependiendo del microorganismo empleado y de la naturaleza del extracto (Moremi, 2021).

Por otra parte, no se puede descartar un posible efecto antagonista entre los metabolitos secundarios contenidos en el extracto alcohólico de *C. pungens*, que pudieran causar una interferencia o protección sobre las cepas empleadas, impidiendo así la actividad antibacteriana (Sui *et al.*, 2024).

Los extractos de *C. pungens* no mostraron actividad antifúngica con respecto a ninguna de las cepas de hongos empleadas (ver tabla 6). Algunas especies del género *Croton* no han mostrado ninguna actividad antimicrobiana frente a organismos fúngicos, como la *C. albicans*; asimismo, estudios realizados en extractos obtenidos de los tallos de *C. anisodontus* y *C. nepetaefolius* no manifestaron actividad antifúngica al ser ensayados contra *C. albicans*. Esto podría deberse a que dicho microorganismo posee diversos mecanismos de protección, como la formación de biopelículas, así como la composición de su pared celular y la secreción de enzimas hidrolíticas (Linhares *et al.*, 2016).

Existe una gran biodiversidad de hongos que se desarrollan y persisten en diferentes condiciones y hospederos, afectando así a la mayoría de los seres

vivos (Aguirre *et al.*, 2014). Extractos del género *Croton* han sido probados contra diversos fitopatógenos; el extracto alcohólico de *C. aromaticus* demostró tener actividad antifúngica, inhibiendo cepas de patógenos en frutas post-cosecha, como el banano (*Colletotrichum musae*, *Lasiodiplodia theobromae*), mango (*Alternaria alternata*, *Pestalotiopsis mangiferae*, *L. theobromae*) y en papaya (*Colletotrichum gloeosporioides*, *L. theobromae*) (Wijesundara *et al.*, 2016).

Tabla 6. Actividad antifúngica de los extractos obtenidos de *Croton pungens*.

Hongos	EHH	EMH	EMT
<i>Candida albicans</i>	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-
<i>Aspergillus terreus</i>	-	-	-

EHH: extracto hexánico de las hojas. EMH: extracto metanólico de las hojas. EMT: extracto metanólico de los tallos. (-): sin actividad antifúngica. Concentración 40 mg/ml.

Caracterización

Análisis por espectroscopia infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

El espectro de IR del extracto crudo de los tallos en metanol (figura 6) se realizó para la determinación de los grupos funcionales de las familias de compuestos presentes en el extracto; el espectro de IR arrojó como resultado lo siguiente: una banda de absorción a $1750,04\text{ cm}^{-1}$, la cual se atribuye al estiramiento del enlace de un grupo carbonilo, posiblemente del tipo cetona. Igualmente, a $2929,08\text{ cm}^{-1}$ y $2856,82\text{ cm}^{-1}$ se observan bandas que se asignan a la frecuencia de vibración de estiramiento de grupos alifáticos CH_3 (asimétricos) y CH_2 (simétricos), respectivamente. En 1215 cm^{-1} se muestra una señal que se asigna a las vibraciones por tensión del enlace C-O. Por último, se establece que una señal a $1467,96\text{ cm}^{-1}$ es la flexión de CH alifático. En el espectro del crudo no se observa la presencia de grupos hidroxilos. Son notorias otras absorciones en el espectro de IR, a saber: $3020,25\text{ cm}^{-1}$; $758,43\text{ cm}^{-1}$ y

669,07 cm^{-1} , estas bandas pertenecen al CHCl_3 usado para disolver la muestra y cuyas señales pueden alterar el blanco del sistema, debido a que afectan las ventanas de transparencia del solvente en esas zonas (Ayala *et al.*, 2009). Dichas bandas podrían solaparse o causar desplazamiento de otras señales de menor intensidad que sean propias al extracto crudo. Es conocido que este efecto podría, en algunos casos, ocasionar una lectura imprecisa.

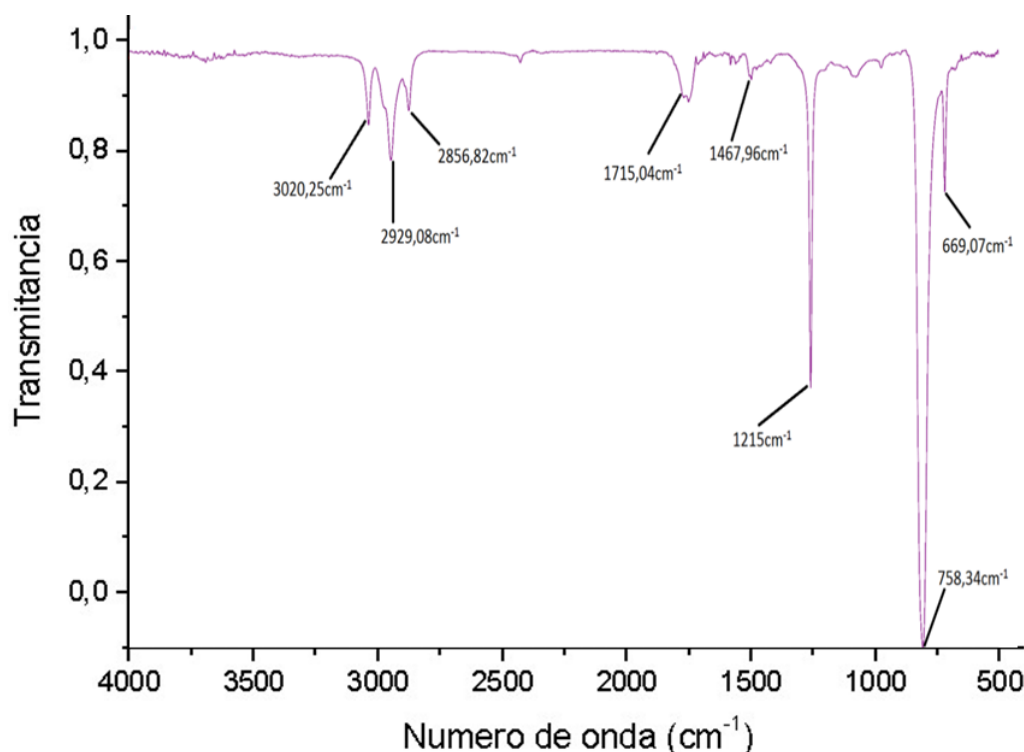


Figura 6 Espectro IR del extracto crudo de los tallos de *C. pungens*

Fraccionamiento por cromatografía de columna

Se realizó el fraccionamiento al extracto metanólico de los tallos de *C. pungens*. Como se observa en la tabla 4, los tallos poseen mayor cantidad de estos compuestos fitoquímicos, siendo para este estudio de mayor interés químico.

Luego de realizarse el fraccionamiento por cromatografía de columna (CC) del extracto de los tallos de *C. pungens*, se obtuvieron quince (15) fracciones (ver

figura 6). La fracción cuatro (CC-F4), eluida en CHCl_3 , fue de principal interés, toda vez que, se apreció en TLC una mancha bien definida, que refleja la posible presencia de un compuesto mayoritario y de importancia. Con base en ésto, se realizó la caracterización de dicha fracción.

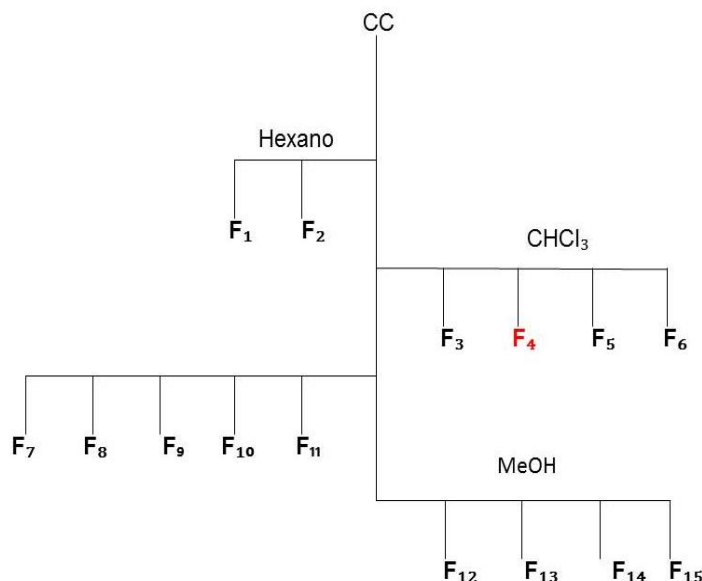


Figura 7 Esquema de fraccionamiento del extracto metanólico de los tallos de *C. pungens*

Análisis por espectrometría de masas

El espectro de masas con ionización positiva por impacto electrónico (70eV) (figura 8), mostró un ion molecular $[M+H]^+$ con relación carga/masa (m/z) de 207 Da, y varios picos significantes de relación m/z de 168 (8,3 %), 150 (8%), 135 (6,7%), 124 (100%), 111 (8,3%), 107 (6 %), 79 (8%) y 43 (19,3%), correspondientes a fragmentos de la molécula principal. Se dedujo que la masa molecular del compuesto aislado se corresponde con la fórmula $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2$. La masa molecular así deducida indica el grado de insaturación de 4, lo cual es congruente con la presencia de dos ciclos y dos insaturaciones.

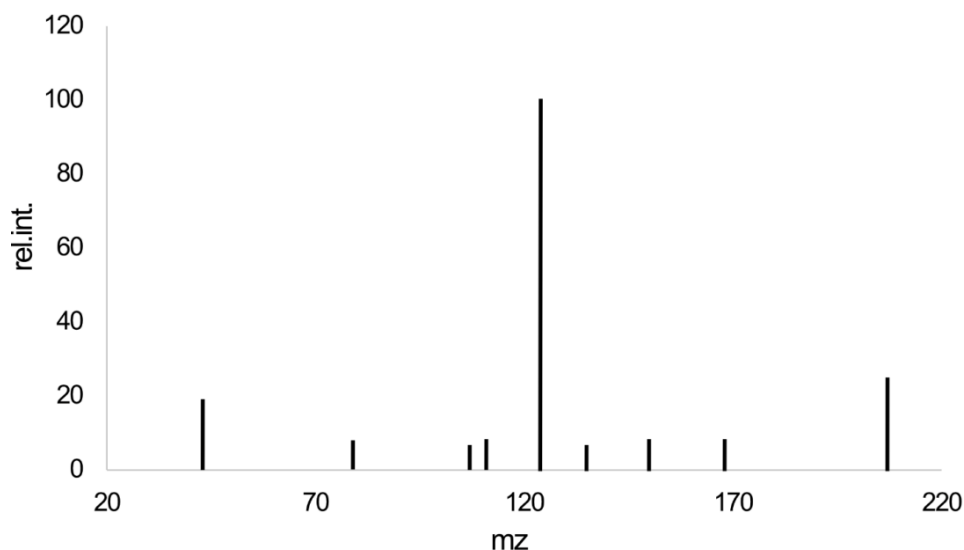


Figura 8 Espectro de masas con ionización positiva por impacto electrónico (70eV) del compuesto 1

Análisis por resonancia magnética nuclear (RMN)

La fracción 4, obtenida mediante cromatografía de columna y analizada por cromatografía de capa fina mostró que se trataba de un compuesto puro mediante la observación de una mancha bien definida; debido a esto, se caracterizó empleando la técnica de Resonancia Magnética Nuclear (RMN). El mencionado método de análisis era el ideal para esta cantidad de muestra; el mismo es un estudio no destructivo y permite la recuperación del analito. La muestra se sometió a un estudio de RMN de una y dos dimensiones, en la que se obtuvieron los resultados presentados a continuación.

El espectro unidimensional de protones (1D ^1H -RMN, figura 8), luego de su integración mostró 18 señales de protones, distribuidas entre 0,99 ppm y 5,89 ppm, pertenecientes diversos grupos funcionales.

El análisis detallado de la figura 8, muestra cuatro señales de protones pertenecientes a grupos metilo. Dos de ellas se asignan a una pareja de metilos geminales, ambos singletes ($^1\text{H}\delta$: 0,99 ppm [Me13] / 1,05 ppm [Me12]), los

cuales reciben un apantallamiento mayor y, por consiguiente, se encuentran a campo alto. La señal siguiente, un singlete, pertenece a un metilo adyacente a la posición β de un grupo carbonilo α,β -insaturado ($^1\text{H}\delta$: 1,88 ppm [Me14]), y finalmente un doblete, que integra para tres protones ($^1\text{H}\delta$: 1,28 ppm [Me11]) es atribuido a un metilo, cuyo entorno químico está siendo influenciado por un grupo éter. Este doblete se asigna, presumiblemente, a un acoplamiento débil con un protón metínico vecino.

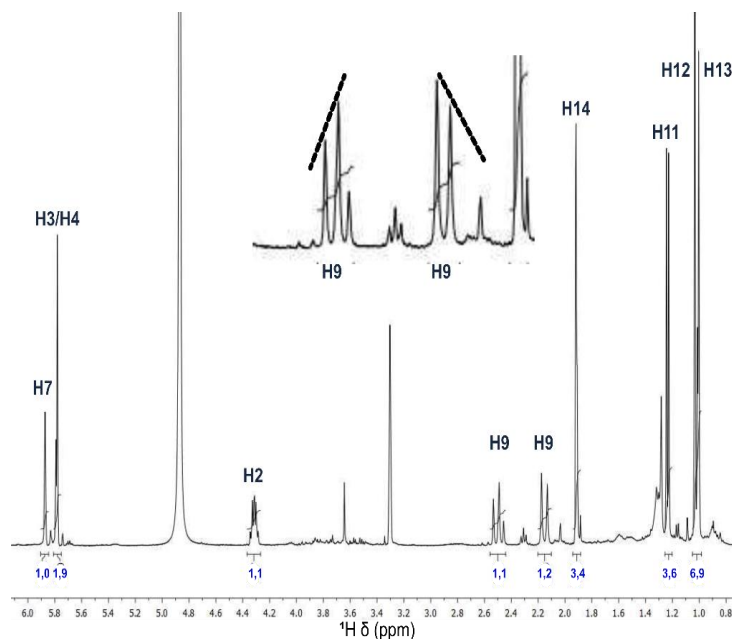


Figura 9 Espectro de ^1H ^1D RMN del compuesto 1. Las integrales están marcadas en azul. El detalle en la figura muestra el efecto tejado (roof effect) observado sobre los protones H9.

Se observan dos protones de un metileno que aparecen como dobletes ($^1\text{H}\delta$: 2,19 ppm [H9]/ 2,45 ppm [H9]), respectivamente. Éstos, por su cercanía a tres enlaces de un elemento electronegativo (oxígeno) presentan el característico efecto tejado (ver la figura 9, detalle). Presumiblemente, este grupo podría ser un carbonilo o un éter. El efecto tejado (*roof effect*) en espectroscopia de RMN es un fenómeno que ocurre en acoplamientos de protones cercanos, y es particularmente visible en los patrones de acoplamiento de protones que están

escalarmenre acoplados entre sí. Este efecto se caracteriza por la asimetría en la intensidad de los picos de acoplamiento, generando un "tejado" en la región entre los picos de un sistema de espines acoplados. Un metino bastante desapantallado ($^1\text{H}\delta$: 4,38 ppm [H2]), por su cercanía a un grupo éter, aparece como un multiplete. También son observables dos grupos metinos que son parte de un sistema conjugado, los cuales aparecen muy cercanos entre sí, con lo que parecieran ser singletes anchos o multipletes ($^1\text{H}\delta$: 5,78 ppm [H3]/ 5,80 ppm [H4]). Finalmente, se observa un grupo metino ($^1\text{H}\delta$: 5,89 ppm [H7]), el mismo podría estar en la posición α o β de un grupo carbonilo α,β -insaturado.

El espectro de RMN ^{13}C (figura 10) desacoplado permitió observar 13 señales diferentes, atribuibles a los núcleos de carbonos presentes en el compuesto, y congruentes con la fórmula molecular derivada del análisis de MS. La asignación de señales se hizo mediante tablas de espectroscopia, y un trabajo de Shibagaki, *et al.* (1981). El espectro de RMN ^{13}C sirvió para revelar el esqueleto del compuesto 1, durante la asignación de las señales de carbono.

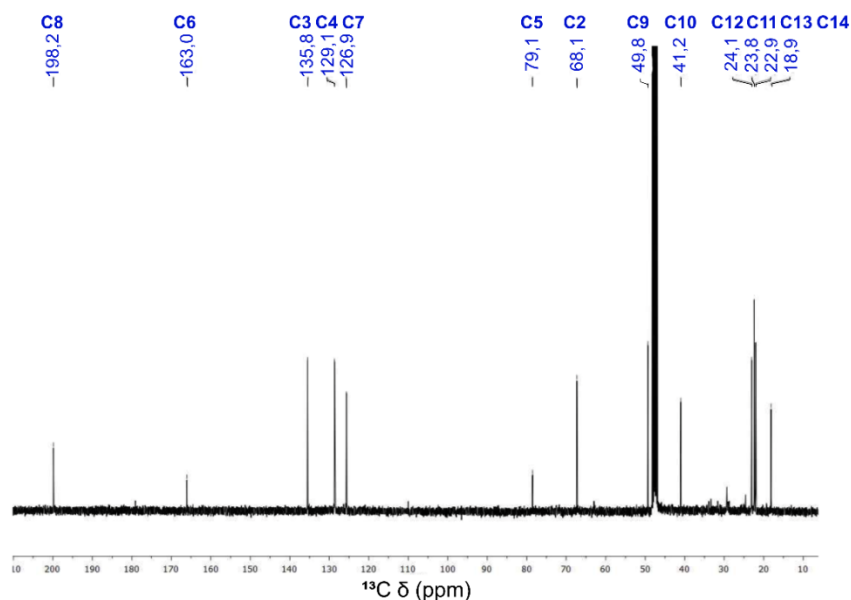


Figura 10 Espectro ^{13}C -RMN desacoplado en protones del compuesto 1

Además, con la ayuda del espectro ^1H - ^{13}C HMQC (figura 11), se asignaron las correlaciones carbono-protón y los consiguientes fragmentos que se presentan a continuación.

Las señales con desplazamientos químicos de 18,99 ppm (C14/H14: 1,88), 22,97 ppm (C13/H13: 0,99), 23,8 ppm (C11/ H11: 1,28) y 24,11 ppm (C12/ H12: 1,05) corresponden a grupos metilo, como lo muestra el desplazamiento químico de los protones que dan correlación con ellos y su integral en el espectro de protones.

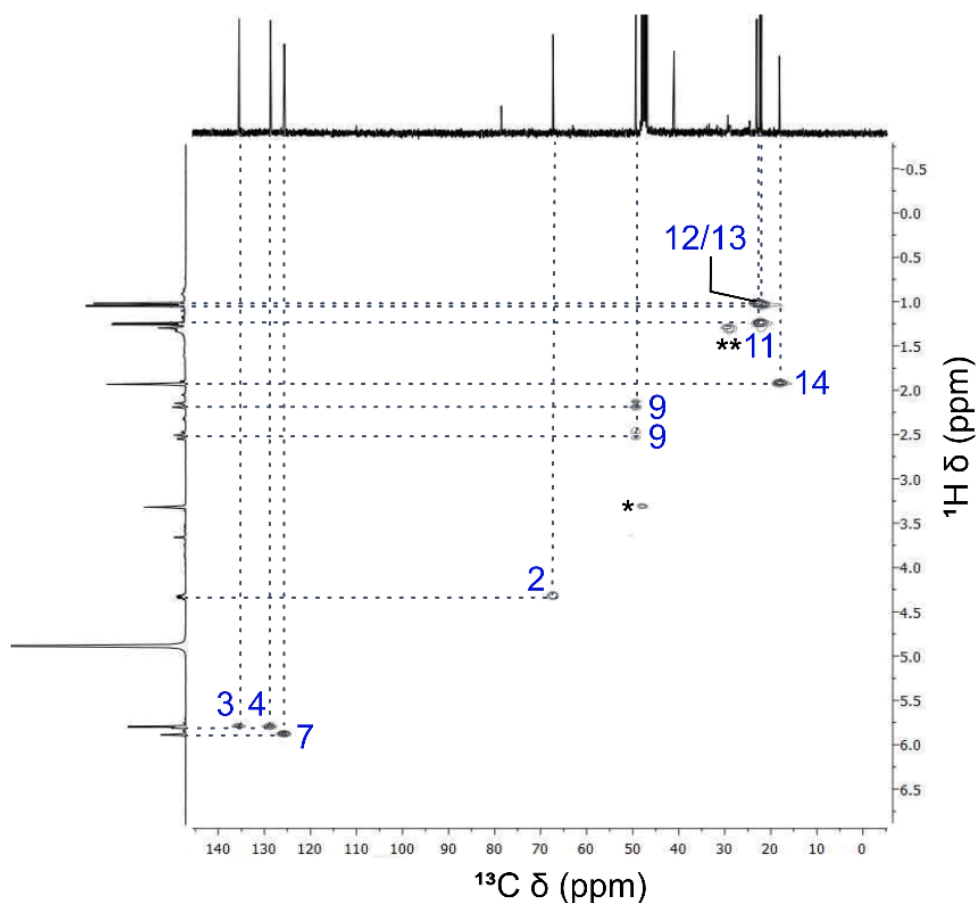


Figura 11 Espectro ^1H - ^{13}C HMQC del compuesto 1. Las correlaciones carbono-protón se indican en azul. (*) La señal residual del disolvente y (**) una impureza detectada en la muestra.

El C14 se atribuye a un grupo metilo ubicado adyacentemente a una posición β de un grupo carbonilo α,β -insaturado; el C11 se asigna, por su desplazamiento químico, a un metilo cercano a un éter, de otra forma tendría un valor más apantallado, de unos 3 ppm menos, y los metilos C12 y C13 se asignaron a metilos geminales, unidos al carbono cuaternario a 41,22 ppm (C10, q); ésto basado en las observaciones de Shibagaki, *et al.* (1981) sobre el producto sintético, 8,9-dehidroteaspirona. Se observa un metileno a 49,77 ppm (C9/ H9: 2,19/ 2,45), cuyos protones aparecen como dobletes, sobre los cuales se observa, como ya se mencionó, un efecto tejado por su cercanía a un átomo de oxígeno.

Cuatro grupos metinos son observables en el espectro, a saber: 68,09 ppm (C2/H2: 4,38); 126,9 ppm (C7/H7: 5,89); 129,1 ppm (C4/H4: 5,81); 135,8 ppm (C3/H3: 5,78). Esto es congruente con el resultado de la integral de los mismos en el espectro de protones; es de resaltar que las resonancias correspondientes a H3/H4, debido a su proximidad, arrojan una integral equivalente dos protones. El experimento HMQC confirma que se correlacionan con carbonos distintos (C3 y C4). El desplazamiento químico observado para C2, es característico de metinos directamente unidos a ésteres o alcoholes. Toda vez que no se observó algún grupo hidroxilo en el espectro, se atribuiría este desplazamiento por la cercanía de C2 a un grupo éter. Los metinos C3 y C4, se corresponden con un doble enlace.

Una inspección detallada del espectro de protones muestra que H4 aparece desdoblado como un doblete, como resultado del acoplamiento con H3; por otro lado, H3 aparece distorsionado como un singlete ancho. Esta distorsión en H3 es atribuida a su acoplamiento con otros protones vecinos, por lo que se concluye que H4 es vecino a un carbono cuaternario. Debido al desplazamiento químico observado en C3 y C4, hace presumir que son parte de un ciclo. Valores más próximos a 130 ppm serían, por el contrario, indicativos de que son

parte de una cadena. Por último, C7 se debería localizar en la posición α de un grupo carbonilo α,β -insaturado; esa asignación se hace sobre la base de similitudes con el compuesto 8,9-dehidroteaspirona.

Finalmente, en el espectro de carbono se revela la presencia de cuatro carbonos cuaternarios: C10 (41,22 ppm), C5 (79,10); C6 (163,00 ppm) y C8 (198,19 ppm), la hibridación de los carbonos se deduce de la ausencia de correlaciones del tipo protón-carbono (ver HMQC, figura 11). Como se comentó anteriormente, basado en su peculiar desplazamiento químico, C10 se atribuye a un carbono unido a dos grupos metilos, esto es corroborado con el análisis de correlaciones carbono-protón distantes (más de un enlace, experimento HMBC). El carbono C5 es de mayor relevancia en el sistema, posee un desplazamiento químico únicamente posible para un carbono unido a éter de un sistema conjugado y, a su vez, parte de un anillo. El carbono C6, se asigna como perteneciente a un sistema conjugado y, al ser cuaternario, cabe esperar que se halle sustituido por un grupo metilo. Por último, C8 posee un desplazamiento característico de carbonos cuaternarios alfa-beta insaturados en ciclo de seis miembros (Shibagaki, *et al.*, 1981).

Con esta información, existe la certeza para descartar la posibilidad de que el carbonilo este en un anillo de cinco miembros, en un sistema con esas características, C8 tendría un desplazamiento en el orden de 174 ppm, como es el caso de la casealactona (Keng-Chia Chang, 2003).

El análisis de los espectros 1D de protones y carbonos, adicional a ^1H - ^{13}C de HMQC, permitieron tener una visión general del compuesto, siendo ésta una molécula con dos ciclos, dos enlaces conjugados, y cuatro carbonos cuaternarios, siendo uno de ellos una cetona en un anillo de seis miembros.

Para la elucidación completa del compuesto, se hicieron espectros de 2D-RMN (^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HMQC y ^1H - ^{13}C HMBC). El espectro de correlación homonuclear ^1H - ^1H -COSY (figura 12, parte a), permitió construir los sistemas de spin, mostrados en la figura 12, parte b.

El sistema correspondiente a H9/H9 únicamente da correlaciones homonucleares consigo mismo, lo que soporta la observación hecha en el espectro de protones, toda vez que los mismos aparecen como dobletes (figura 9, detalle). Mientras que, un sistema más interesante se observa entre los protones H4-H3-H2-H11, el cual conecta los protones alifáticos (H3/H4), uno de los metínicos (H2) y el uno de los metilos (H14), detallado en la figura 12, parte b (b-1).

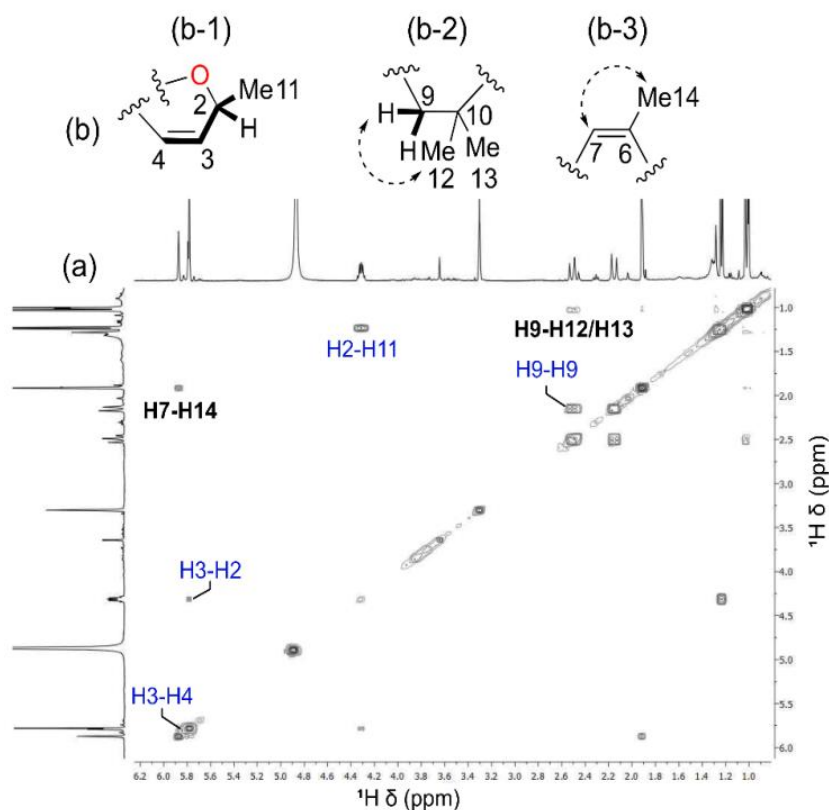


Figura 12 Espectro ^1H - ^1H COSY del compuesto 1(a); las correlaciones protón-protón (dos y tres enlaces) se indican en azul y las correlaciones a larga

distancia (más de tres enlaces) en negritas y los sistemas de espines del compuesto 1 (b); aquellos a dos y tres enlaces se indican con líneas gruesas, mientras que las correlaciones distantes se indican con flechas punteadas

Se observan otras correlaciones en el experimento COSY, indicadas en negritas en la figura 12, parte b (b-2 y b-3), pertenecientes a acoplamientos "a través de varios enlaces", que conectan H7 con H14, a través de un sistema conjugado, y H9 con H12/H13. Estas correlaciones COSY son comunes en sistemas conjugados o cíclicos donde la interacción no está completamente limitada por la geometría directa de la molécula.

La probable posición relativa de los elementos estructurales identificados se trató de establecer basados en un experimento de correlación heteronuclear a múltiples enlaces, HMBC, (figura 13, parte a).

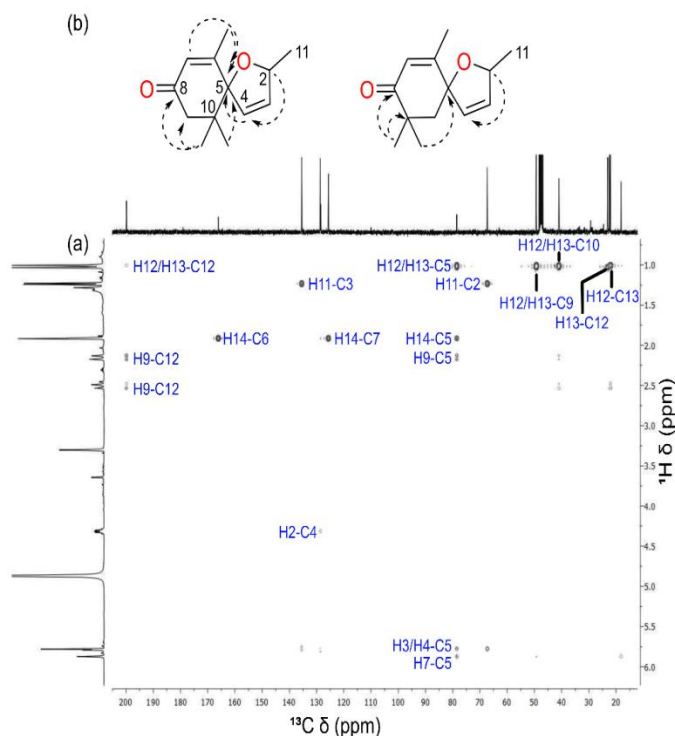


Figura 13 ^1H - ^{13}C HMBC del compuesto 1(a), las posibles estructuras derivadas del análisis de RMN del compuesto 1 (b). Las correlaciones carbono protón relevantes se indican en azul.

Las conectividades encontradas en el espectro HMBC entre H2 y C4, confirman el primer fragmento descrito a través de correlaciones COSY. El fragmento 12b-2, se correlacionó con C8 y C5, mediante correlaciones entre los metilos 12/13. Debido a que el experimento HMBC no discrimina entre correlaciones distantes, puede considerarse que dos ubicaciones para los metilos, con relación a C8, son igualmente posibles, alfa o beta; esto es así porque la intensidad de las señales HMBC está modulada por la magnitud de la constante de acoplamiento carbono-protón distante, lo cual se constituye en un aspecto importante a considerar en la elucidación definitiva del compuesto 1 (figura 12b). Una serie de correlaciones al carbono cuaternario C5, que conectan H7/H13/H4/H14-C5, permitieron establecer el esqueleto general de la molécula, siendo éste un sistema-esqueleto de dehidroteaspirona, porque el mismo está relacionado con los terpenoides espiránicos, siendo C5 el carbono espiránico del sistema. El resto de las correlaciones mostradas en el experimento HBMC respaldan la existencia del esqueleto propuesto, pero no así la posición definitiva de los metilos H12 y H13 en el compuesto 1.

Una exhaustiva revisión bibliográfica permitió comprobar que el compuesto 1, está estructuralmente relacionado con la teaspirona (Ina *et al.*, 1968), y tiene desplazamientos químicos (tabla 7) similares a la 3,4-dehidroteaspirona, inicialmente reportada en 2011, en las hojas de *Juniperus brevifolia* (Moujir *et al.*, 2011). Este compuesto ha sido reportado por otros grupos de investigación (Morita *et al.*, 2012; Saenglee *et al.*, 2018). Sin embargo, no se elucidó totalmente la estructura, y se aceptó la evidencia publicada por Moujir *et al.* en 2011.

Al hacer la comparación entre los desplazamientos químicos reportados para la 3,4-dehidroteaspirona y el compuesto 1 de este trabajo (figura 14, parte a), muestra una evidente correlación entre ambos valores, con una correlación $R = 1,00$, lo cual confirma que ambos son el mismo compuesto.

Tabla 7. Desplazamientos químicos de ^1H , ^{13}C y las correlaciones ^1H - ^1H COSY y ^1H - ^{13}C HMBC

Posición	^1H δ (ppm)	^{13}C δ (ppm)	Correlaciones ^1H - ^1H COSY	Correlaciones ^1H - ^{13}C HMBC
2	4,38 t	68,09	H2-H11; H2-H3	H11-C2
3	5,78 s.a	135,78	H3-H4	H11-C3
4	5,81 d	129,07		H2-C4
5	-	79,10		H3/H4/H7/H9/H12/H13/H14-C5
6	-	163,00		H14-C6
7	5,89 s.a	126,94	H7-H14	H14-C7
8	-	198,19		
9	2,19 d ; 2,45 d	49,77	H9-H9 ; H9- H12/H13	H12/H13-C9
10	-	41,22		H12/H13-C10
11	1,28d	23,80		
12	1,05 s.a	24,11		H9/H12/H13-C12
13	0.99 s.a	22,97		H12-C13
14	1,88 d	18,99		

s.a: singlete ancho ; d: doblete ; t: triplete

Ante la posible discrepancia en la ubicación de los metilos 12 y 13 en la α,β -insaturada cicloenona (figura 14, parte b), se buscó corroborar la estructura del compuesto 1.

Una búsqueda bibliográfica, preliminar a la elucidación asistida por computadora (Elyashberg y Argyropoulos, 2021), mostró que en la 8,9-dehidroteaspirona, sintetizada en 1981, la proximidad de los dos metilos al carbono espiránico haría que su desplazamiento químico estuviera alrededor de 90,7 ppm, una diferencia de 11,6 ppm contra el valor experimental de C5 en el compuesto 1.

El análisis de química computacional se hizo empleando el programa ChemDraw (Oyarzún *et al.*, 2022). Siguiendo una metodología parecida a la descrita por Willoughby *et al.* (2014) se calcularon los desplazamientos químicos de carbono para ambas posibles estructuras (figura 14b y 14c) y se compararon con los desplazamientos químicos del compuesto aislado.

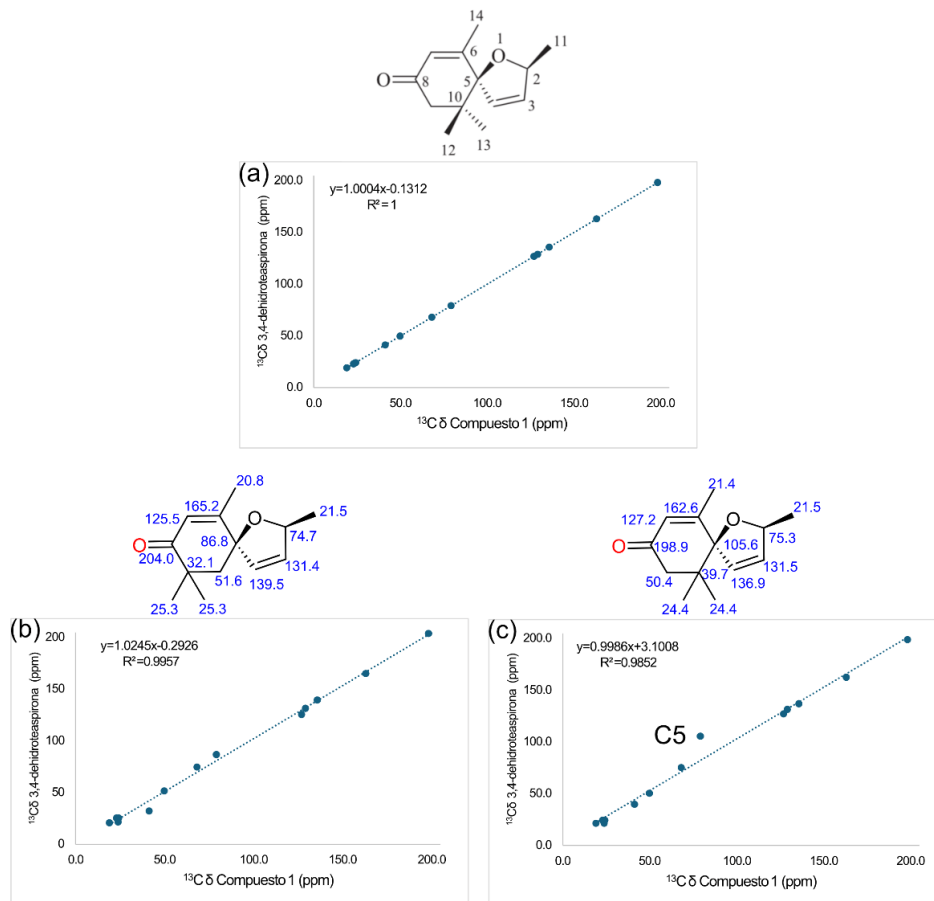


Figura 14 Comparación entre los desplazamientos químicos, y la curva de correlación del compuesto 1 y los reportados para la 3,4-dehidroteaspirona. La estructura en **a** es una reproducción de la publicada por Moujir *et al.* en 2011, mientras que las estructuras **b** y **c** son las propuestas en este trabajo.

El análisis de los cálculos muestra una mayor correlación ($R^2 = 0,9957$) y menor error cuadrático medio (ECM = 4,51) de los datos experimentales del compuesto 1 (b), cuando se compara con la estructura donde los metilos 12 y

13 se encuentran en posición alfa con respecto al grupo carbonilo del anillo en la estructura propuesta en 2011 ($R^2 = 0,9852$; ECM = 4,81).

De todo lo anteriormente expuesto, se puede concluir que la estructura del compuesto 1 es la mostrada en la figura 14, parte b, la cual sería una corrección de la publicada en 2011 (figura 15).

Este compuesto espiro heterocíclico fue reportado por primera vez por Moujir *et al.*, en 2011, en las hojas de la planta *Juniperus brevifolia*, en dicha investigación se menciona que el compuesto no posee actividad citotóxica y no tuvo actividad gantibacteriana frente a las cepas ensayadas.

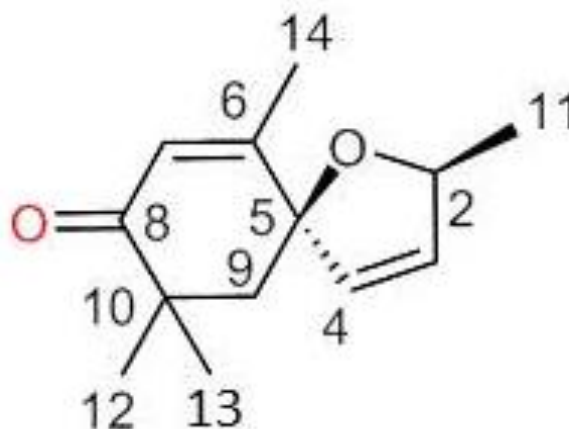


Figura 15 Estructura corregida de la 3,4-dehidroteaspirona.

Es importante señalar que la 3,4-dehidroteaspirona tiene una relevancia significativa para la industria farmacológica. Ha sido comprobada su actividad antiplasmodial *in vitro* contra *Plasmodium falciparum* 3D7, además de exhibir un alto índice de selectividad (Morita *et al.*, 2012).

Las plantas medicinales siguen siendo la fuente más explorada y promisoría de compuestos antiplasmodiales, lo que puede estar relacionado con la facilidad de acceso y características estructurales de los compuestos aislados, como múltiples estereocentros, conformaciones flexibles y presencia de heteroátomos (Tajuddeen y Van Heerden, 2019), siendo *Croton pungens* Jacq. una de esas potenciales especies.

CONCLUSIONES

Croton pungens es una especie vegetal que contiene familias de compuestos fitoquímicos (alcaloides, taninos, polifenoles, antraquinonas y flavonoides) como parte de sus metabolitos secundarios.

El extracto hexánico de *C. pungens* presentó actividad contra *Staphylococcus aureus*.

Los extractos alcohólicos y hexánico no revelaron actividad antifúngica frente a los patógenos ensayados.

Los espectros de RMN permitieron confirmar que el compuesto aislado del extracto alcohólico de los tallos de *C. pungens* es la 3,4-dehidroteaspirona y corregir su estructura previamente reportada. Este es el primer reporte de dicho compuesto en los tallos de la mencionada especie.

La especie *C. pungens* es una fuente promisoría de productos naturales bioactivos.

BIBLIOGRAFÍA

Aguirre, E.; Ulloa, M.; Aguilar, S.; Cifuentes, J. y Valenzuela, R. 2014. Biodiversidad de hongos en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85: 76-81.

Anafi, S.; Yaro, A.; Abbas, M. y Yakubu, A. 2017. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activities of methanol leaf *Croton lobatus* (Euphorbiaceae) in Rodents. *Tropical Journal of Natural Product Research*, (6): 255-258.

Araújo, A.; Freitas, P.; Rodrigues, C.; Muniz, D.; Esmeraldo, J.; Araújo, J.; da Silva, M.; Mura, T.; Pereira, R.; Ribeiro, J.; Da Silva, L.; Amaral, W.; Deschamps, C.; Tintino, S.; Iriti, M.; Vitalini, S. y Melo, H. 2020. Essential oil of *Croton ceanothifolius* Baill. Potentiates the effect of antibiotics against multiresistant bacteria. *Antibiotics*, 9: 1-8.

Ayala, C.; Brunetto, M.; Ovalles, F y Gallignani, M. 2009. Determination of atenolol in pharmaceutical dosages by Fourier transform infrared spectrometry (FTIR). *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia*, 2(3): 238-248.

Balunas, M. y Kinghorn, D. 2005. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences*, 78: 431-441.

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

Bautista, A.; Parra, F. y Espinosa, F. 2012. Efectos de la domesticación de plantas en la diversidad fitoquímica. *Temas Selectos en Ecología Química de Insectos. El Colegio de la Frontera Sur. México*. 253-267.

Benítez, M.; Sarria, R.; Gallo, J.; Pérez, N.; Álvarez, J. y Giraldo, C. 2019. Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. *Facultad de Ciencias Básicas*, 15(1): 31-38.

Braz, R. 2010. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. *Quimica Nova*, 33: 229-239.

Chauhan, H.P.; Shaik, N.M. y Singh, U.P. 2005. Synthetic, spectroscopic and antimicrobial studies of bis(dialkylidithiocarbamate) diorganodithiophosphate bismuth (III) complexes. *Applied Organometallic Chemistry*, 19(10): 1132-1139.

Corona, R.C. 2018. Elucidación estructural de metabolitos secundarios aislados de *Lasianthaea aurea*. Tesis de Maestría. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México.

De Luca, V.; Salim, V.; Masada, A. y Yu, F. 2012. Mining the biodiversity of plants: a revolution in the making. *Science*, 336: 1658-1662.

Dhama, K.; Tiwari, R.; Chakraborty S.; Saminatham, M.; Kumar, A.; Karthik.; Yaqoob, M.; Amarpal.; Vir Singh, S. y Rahal, A. 2014. Evidence based antibacterial potentials of medicinal plants and herbs countering bacterial pathogens especially in the era of emerging drug resistance: an integrated update. *International Journal of Pharmacology*, 10(1): 1-43.

Elyashberg, M. y Argyropoulos, D. 2021. Computer assisted structure elucidation (CASE): Current perspectives. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 59: 669-690.

Gao, X.; Xu, Y.; Fan, Y.; Gan, L.; Zuo, J y Yue, J. 2018. Cascarinoids A-C, a class of diterpenoid alkaloids with unpredicted Conformations from *Croton cascarilloides*. *Organic Letters*, 20(1): 228-231.

Güçlü-Üstündağ, O. y Mazza, G. 2007. Saponins: properties, applications and processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47: 231-258.

Herrera-Mata, H.; Rosas-Romero, A. y Crescente V., O. 2002. Biological activity of "Sanguinaria" (*Justicia secunda*) extracts. *Pharmaceutical Biology*, 40(3): 206-212.

Hoffmann, A. y Armesto, J. 2008. Ecología: conocer la casa de todos. 1a ed. Editorial Biblioteca Americana: Santiago de Chile.

Ina, K.; Sakato. Y. y Fukami, H. 1968. Isolation and structure elucidation of theaspirone, a component of tea essential oil. *Tetrahedron Letters*, 9(23): 2777-2780.

Jerez, M.; Pinelo, M.; Sineiro, J. y Nuñez, M. 2004. Influence of extraction on phenolic yields from pine bark: assessment of procyanidins polymerization degree by thiolysis. *Food Chemistry*, 94(3): 406-414.

Jin-Long, T.; Chen-Xi, L.; Xin-Yue, S.; Xue-Wen, H.; Yan, Z.; Ling-Zhi, L.; Xiao-Xiao, H. y Shao-Jiang, S. 2019. Sesquiterpenoids from the roots of *Croton crassifolius*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 21(7): 666-672.

Kancherla, N.; Dhakshinamoothi, A.; Chitra, K. y Komaram, R. 2019. Preliminary analysis of phytoconstituents and evaluation of anthelmintic property of *Cayratia auriculata* (in vitro). *Maedica – a Journal of Clinical Medicine*, 14(4): 350-356.

Keng-Chia Chang. 2003. A cytotoxic butenolide, two new dolabellane diterpenoids, a chroman and a benzoquinol derivative from *Casearia membranacea*. *Planta Med.*, 69(7): 667-672.

Li, Y.; Kong, D.; Fub, Y.; Sussmand, M. y Wua, H. 2020. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148: 80-89.

Linhares, F.; Maia, S.; Silva, H.; Ribeiro, M.; Nogueira, P.; Sales, E.; Gadelha, F. y Oliveira, R. 2016. Antifungal activity and synergistic effect of eacetophenones isolated from species *Croton* against dermatophytes and yeasts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(17): 216-222.

Luján, M.; León, Y. y Riina, R. 2015. Synopsis of *Croton* (Eupobiaceae) in the Andes of Mérida, Venezuela. *Caldesia*, 37: 73-90.

Madubunyi, I. 1995. Antimicrobial activities of the constituents of *Garcinia kola* seeds. *International Journal of Pharmaceutics*, 33(3): 232-237.

Mahady, G. 2005. Medicinal plants for the prevention and treatment of bacterial infections. *Current Pharmaceutical Design*, 11: 2405-2427.

Man-Yu, L.; Zhang-Zhi, H.; Li-Fang, L.; Xiao-Zhen, W.; Wen-Jun, H.; Kai, W.; Fan, Y. y Cheng-Shan, Y. 2019. Isopimarane-type diterpenoids from *Croton laevigatus*. *Natural Product Research*, 34(20): 2976-2980.

Marcano, D. y Hasegawa, M. 2018. Fitoquímica Orgánica. 3ra edición. Consejo Editorial Universidad Central de Venezuela. Caracas.

Maroyi, A. 2017. Ethnopharmacological uses, phytochemistry, and pharmacological properties of *Croton macrostachyus* Hochst. Ex Delile: A Comprehensive Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 20: 1-17.

Martins, S.; Amorimb, E.; Peixoto, T.; Saraiva, A.; Pisciotano, M.; Aguilar, C.; Teixeiraa, J. y Mussatto, S. 2013. Antibacterial activity of crude methanolic extract and fractions obtained from *Larrea tridentata* leaves. *Industrial Crops and Products*, 41: 306-311.

Márquez, G. 2011. Estudio fitoquímico y farmacológico de los extractos apolares de *Croton pungens*. Trabajo de Grado. Escuela de Química, Universidad Central de Venezuela. Caracas.

Mathew M., A.; Penieres C., J. y Ortega J., F. 2023. Cromatografía en capa fina y columna. Facultad de Estudios Superiores, Cuautitlán. Universidad Autónoma Nacional de México. México, DF.

Mechesso, A.; Tadese, A.; Tesfaye, R.; Tamiru, W y Eguale T. 2016. Experimental evaluation of wound healing activity of *Croton macrostachyus* in rat. *Academic Journals*, 10(39): 832-838.

Mohan, A y Divya, S. 2017. Phytochemical analysis and screening of total flavonoid, tannin and phenolic contents in *Croton bonplandianum* leaf and stem. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 6(4): 1066-1075.

Montopoli, M.; Bertin, R.; Chen, Z.; Bolcato, J.; Caparrotta, L y Frolidi G. 2012. *Croton lechleri* sap and isolated alkaloid taspine exhibit inhibition against human melanoma SK23 and colon cancer HT29 celllines. *Journal of Ethnopharmacology*, 144: 747-753.

Moremi, M.; Makolo, F.; Viljoen, A y Kamatou, G. 2021. A review of biological activities and phytochemistry of six ethnomedicinally important South African *Croton* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 280: 1-16.

Morita, H.; Mori, R.; Deguchi, J.; Oshimi, S.; Hirasawa, Y.; Ekasari, W.; Widyawaruyanti, A. y A. Hadi, A. 2012. Antiplasmodial decarboxyportentol acetate and 3,4-dehydrotheaspironone from *Laumoniera bruceadelphae*. *Journal of Natural Medicine*, 66: 571-575.

Moujir, L.; Seca, A.; Araujo, L.; Silva, A. y Barreto, M. 2011. A new natural spiro heterocyclic compound and the cytotoxic activity of the secondary metabolites from *Juniperus brevifolia* leaves. *Fitoterapia*, 82: 225-229.

Niu, Q.; Sun, H.; Liu, C.; Li, J.; Liang, C.; Zhang, R.; Ge, F y Liu, W. 2020. *Croton tiglium* essential oil compounds have anti-proliferative and pro-apoptotic effects in A549 lung cancer cell lines. *Plos One*, 15(5): 1-16.

Olivas, F.; Wall, A.; González, G.; López, j.; Álvarez, E.; de la Rosal, L. y Ramos, A. 2015. Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutrición Hospitalaria*, 31(1): 55-66.

Okechukwu, F.; Chidoka, P. y Maureen, C. 2021. Toxicological significance of bioactive compounds of plant origin. *Pharmacognosy Communications*, 11(2): 67-77.

Oyarzún, A.; Moya, I. y Navarro, D. 2022. Formación en química computacional y sus aplicaciones a través de un proyecto de investigación desarrollado en la Patagonia chilena. *Formación Universitaria*, 15(2): 103-116.

Prashant, T.; Kumar, B.; Kaur, M.; Kaur, G y Kaur, H. 2011. Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1): 99-106.

Quiñones, M.; Miguel, M y Aleizandre, A. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1): 76-89.

Raal, A.; Moes, A.; Hinrikus, T.; Heinämäki, J.; Ronāme, E.; Gudienė, V.; Jakštas, V.; Koshovyi, O.; Kovaleva, A.; Fursenco, C.; Chiru, T. y Nguyen, H. 2020. Dragendorff's reagent: Historical perspectives and current status of a versatile reagent introduced over 150 years ago at the University of Dorpat, Tartu, Estonia. *Pharmazie*, 75: 299-306.

Ravanelli, N.; Santos, K.; Motta, L.; Lago, J y Furlan, C. 2015. Alkaloids from *Croton echinocarpus* Baill.: Anti-HIV potential. *South African Journal of Botany*, 102: 153-156.

Rocha, A.; Sousa, H.; do Vale Júnior, E.; de Lima, F.; Costa, A.; de Araújo, A.; Leite, J.; Martins, F.; Oliveira, M.; Plácido, A.; Filho, F y Lago, E. 2020. Extracts and fractions of *Croton* L. (Euphorbiaceae) species with antimicrobial activity. *LWT - Food Science and Technology and antioxidant potential*, 139: 1-24.

Saenglee, S.; Yenjai, C. y Phaosiri, C. 2018. New histone deacetylase inhibitors from *Melanorrhoea usitata*. *Journal of Medicinal Chemistry Research*, 27: 2004-2015.

Sakkas, H. y Papadopoulou, C. 2017. Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(3): 429-438.

Salatino, A.; Faria, M. y Negri, G. 2007. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18: 11-33.

Sen, T. y Samanta, S. 2014. Medicinal plants, human health and biodiversity: a broad review. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 147: 59-110.

Sharma, V. y Sarkar, N. 2012. Bioinformatics opportunities for identification and study of medicinal plants. *Briefings in Bioinformatics*, 14(2): 238-250.

Shibagaki, M.; Shibata, S. y Kaneko, A. 1981. Syntheses of 8,9-dehydrotheaspirone and *trans*- and *cis*- 8,9-dehydro-4,5-dihydrotheaspirone. *Agricultural and Biological Chemistry*, 45(12): 2911-2913.

Silva, L.; Manguiera, Y.; Fernandes, R.; Santana, C.; Pimienta, I.; Batista, R.; Lopes, A.; Silva, M.; Pereira, M.; Flora, C.; Sobral, M.; da Silva, E. y Fachine, J. 2020. Phenylpropanoids from *Croton velutinus* with cytotoxic, trypanocidal and anti-inflammatory activities. *Fitoterapia*, 145: 1-64.

Siu, L.; Lu, Y.; Xu, M.; Liu, J.; Zhao, Y.; Li, Q. y Zhang, Z. 2024. Insect hypovirulence-associated mycovirus confers entomopathogenic fungi with enhanced resistance against phytopathogens. *Virulence*, 15(1): 1-14.

Tajuddeen, N. y Van Heerden F. 2019. Antiplasmodial natural products: an update. *Malaria Journal*, 18: 1-62.

Tránsito, M. 2001. Saponósidos. *Offarm*, 20(6): 124-129.

Tole, T.; Diriba, E y Bahire, L. 2021. Bioactive compounds from *Croton macrotachyus* and *Commiphora habessinica* occurring in Ethiopia. *Springer*, 22(3): 621-629.

Torrico, T.; Ramos, K.; Morales, A.; Guarirapa, L.; Cando, A.; Guerrero, G.; Márquez, G.; Compagnone, R. y Suárez, A. 2013. Evaluación de la toxicidad aguda, actividad analgésica e hipoglicemiante del extracto acuoso de *Croton pungens* en animales experimentales. *Scientific Journal from the Experimental Faculty of Sciences*, 21(4): 81-91.

Ugboko, H.; Nwinyi, O.; Oranusi, S.; Fatoki, T. y Omonhinmin, C. 2020. Antimicrobial importance of medicinal plants in Nigeria. *The Scientific World Journal*, 1-8.

Van Vuurem, S y Holl D. 2017. Antimicrobial natural product research: A review from a South African perspective for the years 2009–2016. *Journal of Ethnopharmacology*, 208-253.

Wen-Hui, X.; Wei-Yi, L. y Quian, L. 2018. Chemical constituents from *Croton* species and their biological activities. *Molecules*, 23(9): 1-38.

Willoughby, P.; Jansma, M. y Hoye, T. 2014. A guide to small-molecule structure assignment through computation of (^1H and ^{13}C) NMR chemical shifts. *Nature Protocols*, 9: 643-660.

Wijesundara, S.; Kannangara, B. y Abeywickrama, K. 2016. Antifungal activity of *Croton aromaticus* L. *in vitro*, against post-harvest fungal pathogens isolated from tropical fruits. *The Journal of Agricultural Sciences*, 11(2): 105-117.

Yarkov, A. 2004. Mass spectra of organic compounds. *Wiley Science Solutions*. Software. London.

HOJAS DE METADATOS

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

Título	Fitoquímica y actividad antimicrobiana de extractos hexánicos y metanólicos de las hojas y tallos de la planta <i>croton pungens</i> jacq. del sector Granadillo. Onoto, estado Anzoátegui
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código ORCID / e-mail	
PIERINA CANDELARIA Hernández HERNÁNDEZ	ORCID	
	e-mail	pierych@gmail.com
	e-mail	
	ORCID	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

fitoquímica
etnobotánica
bacterias
hongos
compuestos
dehidroteaspirona

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Área o Línea de investigación:

Área	Subáreas
Ciencias	Química
Línea de Investigación:	

Resumen (abstract):

Resumen

Croton pungens es una especie vegetal del género *Croton*, de la que se tiene poco conocimiento de su composición química. El análisis fitoquímico realizado a las hojas y tallos de la planta, sugiere la presencia de distintas familias de metabolitos secundarios (alcaloides, taninos, polifenoles, flavonoides y antraquinonas). El extracto hexánico (40 mg/ml) ejerció escasa actividad antibacteriana, la cual se evidenció por la presencia de un halo de inhibición de 8 mm contra *Staphylococcus aureus*. No se observó actividad antifúngica frente a los patógenos ensayados. Se realizó un fraccionamiento por cromatografía de columna al extracto metanólico crudo, donde se obtuvieron una fracción. De la fracción 4 eludida con cloroformo, se aisló un compuesto (1) y se caracterizó como 3,4-dehidroteaspirona, mediante una combinación de análisis de RMN, consistentes en ^1H -1D, ^{13}C -desacoplando en protones-1D, ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HMQC y ^1H - ^{13}C HMBC, además de cálculos computacionales. Este es el primer reporte del compuesto con su estructura validada por cálculos computacionales, en el género *Croton*; encontrando una discrepancia con la estructura reportada en la literatura, en la posición de los metilos geminales en C10. La 3,4-dehidroteaspirona es un compuesto de origen natural, potencialmente antipalúdico. Los resultados obtenidos indican que *C. pungens* es una planta con relevancia etnobotánica, que también pudiera tener importancia a nivel de la industria farmacología, debido al compuesto detectado y aislado en ella.

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

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código ORCID / e-mail										
Herrera Mata Hernando	ROL										
		CA		AS	X	TU		JU			
	ORCID										
	e-mail	hherrera.mata@gmail.com									
Henriquez Willian	ROL										
		CA		AS		TU		JU			
	ORCID										
	e-mail	whenriquez66@gmail.com									
Dasilva Yvanovis	ROL										
		CA		AS		TU		JU			
	ORCID										
	e-mail	yvanovisdasilva@gmail.com									

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2025	03	13

Lenguaje Spa

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

Archivo(s):

Nombre de archivo
NSUTTG_HHPC2025

Alcance:

Espacial: UNIVERSAL

Temporal: INTEMPORAL

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciado(a) en Química

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado(a)

Área de Estudio: Química

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado: UNIVERSIDAD DE ORIENTE
- VENEZUELA

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



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

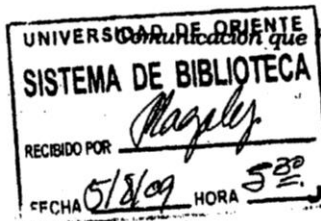
Cumaná, 04 AGO 2009

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 CUNEL
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

Apertado Correos 094 / Telfs: 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 grados son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y solo podrá ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Concejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Concejo Universitario, para su autorización”.

A handwritten signature in dark ink, appearing to be 'D. Pérez', written over a horizontal line.

AUTOR

A handwritten signature in dark ink, appearing to be 'R. Pérez', written over a horizontal line.

TUTOR