

## Identificación de un flavonoide aislado de las hojas de *Chromolaena laevigata*. Parte I

Máryury Flores<sup>1</sup>, Haydelba D' Armas<sup>1\*</sup>, Adela Estaba<sup>1</sup> y Bernardo Méndez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente.<sup>2</sup>Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela.

Recibido: 29-03-05    Aceptado: 27-04-06

### Resumen

Se realizó un estudio químico y antimicrobiano, a los extractos en metanol y diclorometano, de las hojas de la planta *Chromolaena laevigata*. El análisis de bioactividad se basó en ensayos de actividad antibacteriana, todos los extractos inhibieron el crecimiento de las bacterias *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) y *Bacillus cereus* (ATCC 9634), pero, no presentaron actividad frente a las bacterias *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9920) y *Salmonella typhimurium* (ATCC 10031). El extracto en diclorometano fue separado por cromatografía en columna obteniéndose diez (10) fracciones. Después de cromatografías sucesivas, se aisló y caracterizó la 5,4'-dihidroxi-7,3'-dimetoxiflavona, utilizando técnicas espectroscópicas de identificación unidimensional: RMN-<sup>1</sup>H y bidimensional: HMQC, HMBC y COSY<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H.

**Palabras clave:** Actividad antibacteriana; *Chromolaena laevigata*; 5,4'-dihidroxi-7,3'-dimetoxiflavona.

## Identification of a flavonoid isolated from the leaf of *Chromolaena laevigata*. Part I

### Abstract

A chemical and antimicrobial study was realized to the methanol and dichloromethane extracts of leaf of *Chromolaena laevigata* plant. The bioactivity analysis was based on the antibacterial activity bioassays, all the extracts inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) and *Bacillus cereus* (ATCC 9634) bacteria, on the other hand, these do not show activity against *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9920) and *Salmonella typhimurium* (ATCC 10031) bacteria. The dichloromethane extract was separated by column chromatography living ten (10) fractions. After successive column chromatography, the 5,4'-dihydroxy-7,3'-dimethoxyflavone was isolated and characterized using 1D (<sup>1</sup>H-NMR) and 2D (HMQC, HMBC and <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY) identification spectroscopy techniques.

**Key words:** Antibacterial activity; *Chromolaena laevigata*; 5,4'-dihydroxy-7,3'-dimethoxyflavone.

\* Autor para la correspondencia. E-mail: haydelba@sucre.udo.edu.ve; Teléfono: 58-293-4302520. Fax: 58-293-4302344.

## Introducción

Desde comienzos de la humanidad, el hombre ha utilizado las plantas como alimento, vestido, vivienda o recursos para aliviar los males o dolencias que lo aquejan. Así, desde épocas remotas, se conoce del uso de plantas que, aún en nuestros tiempos, no han dejado de tener vigencia. Esa sabiduría, en manos de la población, ha venido pasando de generación en generación. La información ha servido, en muchos casos, para plantear estudios sistemáticos acerca del aislamiento de sustancias químicas responsables de la actividad atribuida a la planta en estudio. Estas investigaciones pueden conducir al descubrimiento de nuevos fármacos o al uso de drogas naturales como sustitutos de los fármacos. El conocimiento de los usos de las plantas en la medicina popular, es, sin duda, el punto de partida para nuevas investigaciones en el campo de la farmacología (1).

La Asteraceae (Compositae) es una de las familias de plantas usada con más frecuencia en la medicina popular y se han realizado numerosas investigaciones en algunas especies de esta familia, ejemplo de esto se tienen aquellas pertenecientes al género *Chromolaena* o *Eupatorium*, siendo éstas muy conocidas por producir lactonas sesquiterpénicas, flavonoides, compuestos glicosidados, entre otros. Además, han sido reportados compuestos con actividad biológica, lo que aumenta el gran interés en la realización de análisis fitoquímico (2). Entre los compuestos elucidados de este género, se tienen: eriodictiol (5,7,3',4'-tetrahidroxiflavanona) y eupafolin (6-metoxi-5,7,3',4'-tetrahidroxiflavona), aislados del extracto en éter de petróleo de las partes aéreas de *Eupatorium subhastatum* (3). Del género *Chromolaena*, la especie que ha sido, tal vez, una de las más estudiadas es el género *C. odorata*, anteriormente llamada *Eupatorium odoratum*. Este es un arbusto nativo del centro y sur de América tropical que puede sobrevivir a distintas condiciones climáticas. Esta planta tiene un amplio uso en la medicina popular en algunas partes del mundo para contrarrestar ciertos males tales como; malaria, influenza, quemaduras, tos, vómitos, infecciones en la piel, hemorragias internas y externas y, además es cicatrizante. Tam-

bién, es usada para el envenenamiento de peces en el Himalayas (4, 5).

El estudio fitoquímico del extracto alcohólico de las hojas de *C. odorata* mostró la presencia de taninos, fenoles y saponinas (4). Numerosos estudios químicos han sido realizados sobre esta especie vegetal, detectándose: lactonas sesquiterpénicas, triterpenos, flavonoides y alcaloides pirrolizídicos dentro de sus constituyentes (2). A partir de las hojas de esta planta, se pudo elucidar una nueva chalcona; odoratin (6). Análisis posteriores permitieron aislar otros compuestos tales como; isosakuranetin monometil éter y 4',5-dihidroxi-3',7-dimetoxiflavona (5).

Del extracto en diclorometano de las hojas de *C. odorata*, se obtuvieron: 2'-hidroxi-3,4,4',5',6'-pentametoxichalcona, 2',4-dihidroxi-4',5',6'-trimetoxichalcona, una flavanona ópticamente activa, scutellarein éter tetrametilico y sinensetin, además de un compuesto anteriormente reportado 2'-hidroxi-4,4',5',6'-tetrametoxichalcona (7).

Otro análisis químico a *C. odorata* permitió aislar el compuesto 6-hidroxi-4',5,7-trimetoxiflavanona, y su estudio biológico demostró la acción antibacteriana contra *S. aureus* y *B. cereus*, lo que corrobora el uso de esta especie en la medicina tradicional para combatir infecciones en la piel (2). Diversos estudios biológicos de extractos en solventes diferentes de *C. odorata*, han demostrado actividad antimicrobial contra bacterias, hongos, así como actividad hemostática (4).

*Chromolaena laevigata* es una planta utilizada en la medicina naturista para aliviar ciertos males y dolencias desinflamar hinchazones, tumores, dolor de muelas, enfermedades intestinales, antigripal, rasquiña y para combatir la lepra. La parte de la planta utilizada en la medicina popular son las hojas, que bien pueden prepararse en alcohol o cociéndolas en agua (8-10).

Entre los compuestos que han sido aislados a partir de la parte aérea de *C. laevigata*, se tiene el 5-hidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona y un ácido diterpénico de la serie clerodanos, parcialmente identificado (8). Estudios biológicos han demostrado que el extracto, en diclorometano, de *C. lae-*

*vigata*, presenta actividad citotóxica y antifúngica, frente al hongo *Mucor miehei* y actividad antibacteriana frente a *Bacillus brevis*, *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis* (8, 11). Esto evidencia que dicha planta posee actividad biológica de interés farmacológico lo cual hace interesante su estudio.

## Materiales y Métodos

### Recolección

Los ejemplares de *Chromolaena laevigata* fueron recolectados en la localidad de Caripe, estado Monagas, sector La Brisa, e identificados en el herbario del Departamento de Biología del Núcleo de Sucre de la Universidad de Oriente. Una vez deshidratada la muestra, se procedió a estudiar las hojas.

### Obtención de los extractos

Las hojas de la planta fueron molidas en un molino eléctrico para, posteriormente, ser extraídas con metanol. Una vez evaporado el solvente, bajo presión reducida en un rotaevaporador Büchi 461, se obtuvo el extracto metanólico crudo, seguidamente, se le añadió una mezcla metanol:agua al 90-10%, se calentó ligeramente, y luego fue extraído, sucesivamente, con hexano y diclorometano. Tanto al extracto crudo como a las fracciones solubles en los dos distintos solventes, se les realizaron las pruebas de actividad biológica.

## Pruebas biológicas

### Actividad antibacteriana

La presencia de principios antibacterianos se detectó utilizando bacterias certificadas, pertenecientes a la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC): Gram positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC) 6538, *Bacillus cereus* (ATCC) 9634 y Gram negativas *Escherichia coli* (ATCC) 10536, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC) 9920 y *Salmonella typhimurium* (ATCC) 10031. Estas cepas bacterianas fueron suministradas por el Laboratorio de Productos Naturales del Departamento de Química de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. Esta prueba se realizó siguiendo la técnica

de difusión en agar o método de antibiograma descrito por Bauer *et al.* (12).

### Aislamiento

Del extracto en diclorometano de las hojas de *C. laevigata*, fueron fraccionados 3,90 g sobre sílica gel 0,063-0,200 mm en una columna de aproximadamente, 1,50 cm de diámetro y 70 cm de alto. La cromatografía en columna (CC) se inició con diclorometano como eluyente aumentando la polaridad utilizando mezclas de diclorometano-acetona finalizando con metanol al 100%. Se obtuvieron 137 eluatos contentivos de 50 mL cada uno, agrupados en 11 fracciones tomando en cuenta los valores de  $R_f$  observados en la cromatografía de capa fina. Como agente revelador, se utilizó una solución de molibdato de amonio al 5% en  $H_2SO_4$  al 10%. Las cromatografías de capa fina preparativa (CCFP), se realizaron en capas de sílica gel Merck 60F<sub>254+366</sub> como fase estacionaria de 1,0 mm y se visualizaron bajo luz UV y con una solución de molibdato de amonio al 5% en  $H_2SO_4$  al 10%.

### Caracterización

El análisis estructural del compuesto aislado se realizó mediante el uso combinado de técnicas espectroscópicas de identificación unidimensional y bidimensional, las cuales permitieron establecer las características del compuesto y lograr su completa identificación.

Los análisis espectrales se realizaron en el laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear de la Universidad Central de Venezuela y el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Los espectros de RMN-<sup>1</sup>H fueron tomados en un espectrómetro Jeol Elipse 270 (Frecuencia de Resonancia <sup>1</sup>H = 270 MHz). Las muestras se disolvieron en cloroformo deuterado (CDCl<sub>3</sub>) o acetona deuterada (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>), según el caso, y se colocaron en tubos de 5 mm de diámetro. Los espectros bidimensionales se tomaron en un espectrómetro Bruker Avance 500 (Frecuencia de resonancia <sup>1</sup>H = 500 MHz y de <sup>13</sup>C = 125,72 MHz), utilizando las técnicas: COSY<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H (correlación espectroscópica homonuclear), HMQC (correlación directa heteronuclear) y HMBC (correlación heteronuclear entre varios enlaces).

## Resultados y Discusión

### Actividad antibacteriana

Los resultados obtenidos demostraron que los extractos en estudio inhiben el crecimiento de las cepas *B. cereus* y *S. aureus*. Estos extractos, además de mostrar actividad bactericida, presentaron actividad bacteriostática (Tabla 1), lo que puede atribuirse a diversos factores, tales como la presencia de más de un compuesto activo, la concentración a la cual se encuentra presente la sustancia, las diferencias entre las masas molares de cada sustancia, así como también del tipo de microorganismo sobre el cual esté actuando la sustancia. Estos resultados concuerdan con el uso de esta planta en la medicina popular, así como también con los encontrados en la literatura para esta especie y para plantas pertenecientes a este mismo género.

Estudios de bioactividad anteriormente realizados han demostrado que extractos en diclorometano de *C. laevigata*, inhiben el crecimiento de las cepas *B. brevis*, *E. coli* y *B. subtilis*. Por su parte análisis de bioactividad realizados a plantas de este mismo género, tal es el caso de *C. odorata*, demostraron que la misma posee actividad contra *S. aureus* y *B. cereus*, lo que corrobora su uso en la medicina tradicional para combatir infecciones en la piel (2).

### Estudio químico del extracto en diclorometano

La cromatografía en capa fina, con distintas mezclas de solventes, realizada sobre la subfracción obtenida de la CC con diclorometano 100% (95,50 mg) presentó separación definida de sus componentes; por esta razón, se le realizó CCFP, utilizando sílica gel como fase estacionaria y una mezcla de hexano-cloroformo al 20-80% como fase móvil, realizándose en dos (2) corridas, obteniéndose tres (3) bandas cromatográficas.

Se obtuvo una masa total de 12,50 mg, que representó el 13,09% de material cromatográfico. La cromatografía de capa fina (CCF), con distintas mezclas de solventes, aplicada sobre la subfracción de polaridad intermedia con  $R_f = 0,07$ , señaló la posible presencia de un compuesto puro, el mismo fue aislado como un sólido amorfo. A diferencia de ésta, las subfracciones restantes eran mezclas de compuestos con  $R_f$  muy cercanos y de difícil separación, por lo que su análisis fue descartado.

El sólido obtenido fue analizado mediante técnicas espectroscópicas de identificación unidimensional: RMN- $^1\text{H}$  y bidimensional: HMQC, HMBC y COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . Los datos obtenidos del espectro de RMN- $^1\text{H}$  permitieron identificar al compuesto como un flavonoide, debido a la presencia de señales características de este tipo de metabolito: en la zona a campo bajo, específica-

Tabla 1  
Actividad antibacteriana de los extractos de las hojas de *Chromolaena laevigata*.

| Bacterias                                  | D.H.I | Gram +\- | Extracto en metanol | Extracto en diclorometano |
|--|-------|----------|---------------------|---------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> (ATCC) 10536       |       | -        |                     |                           |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC) 9920  |       | -        |                     |                           |
| <i>Salmonella tiphymurium</i> (ATCC) 10031 |       | -        |                     |                           |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC) 6538   |       | +        | 20*                 | 12/21*                    |
| <i>Bacillus cereus</i> (ATCC) 9634         |       | +        | 16                  | 18                        |

D.H.I: Diámetro del halo de inhibición (mm) (\*): Halo bacteriostático Disco: 10 mm (-): Inactivo Concentración: 40 mg/mL.

mente en la región aromática, aparecen seis señales que integran para seis protones:  $\delta$  7,46-7,47 ppm (H-6', dd) con acoplamiento orto-meta ( $J = 9,00$  Hz),  $\delta$  7,00-7,04 ppm (H-5', d) con acoplamiento orto ( $J = 9,00$  Hz),  $\delta$  7,31 ppm (H-2', d) con acoplamiento meta ( $J = 2,25$  Hz),  $\delta$  6,56 ppm (H-3, s) no acoplado,  $\delta$  6,47-6,48 ppm (H-8, d) con acoplamiento meta ( $J = 2,25$  Hz) y  $\delta$  6,36 ppm (H-6, d) con acoplamiento meta ( $J = 2,25$  Hz). Mientras que a campo mucho más bajo ( $\delta$  12,77 ppm), se observó un singulete que integra para un protón característico del grupo hidroxilo (-OH), que se encuentra unido al carbono C-5, el cual, según el desplazamiento, podría estar formando puente de hidrógeno con el grupo carbonilo. A campo alto, se observaron señales carac-

terísticas de grupos metoxi a  $\delta$  3,99 ppm (s) y  $\delta$  3,87 ppm (s) (Tabla 2).

Las señales de los carbonos no cuaternarios (Tabla 3) fueron asignadas mediante la técnica de relación directa  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ , HMQC, siendo, a su vez, comparados con los valores reportados para compuestos similares, observándose que no existen diferencias significativas entre éstos (13).

La relación entre los protones fue estudiada utilizando la técnica COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . El espectro obtenido mostró una correlación que evidenció la interacción entre los protones, aromáticos, vecinales a  $\delta$  7,00 y  $\delta$  7,60 ppm, atribuibles a los hidrógenos que se encuentran sobre los carbonos C-5' y C-6', respectivamente. Además se observó

Tabla 2  
Valores de RMN- $^1\text{H}$  obtenidos para el compuesto aislado.

| Posiciones        | $\delta_{\text{H}}$ (ppm) <sup>a</sup> | Multiplicidad; $J_{\text{HH}}$ |
|-------------------|--|--------------------------------|
| 1                 | —                                      | —                              |
| 2                 | —                                      | —                              |
| 3                 | 6,56                                   | singulete                      |
| 4                 | —                                      | —                              |
| 5                 | —                                      | —                              |
| 6                 | 6,36                                   | doblete; 2,25                  |
| 7                 | —                                      | —                              |
| 8                 | 6,47-6,48                              | doblete; 2,25                  |
| 9                 | —                                      | —                              |
| 10                | —                                      | —                              |
| 1'                | —                                      | —                              |
| 2'                | 7,31                                   | doblete; 2,25                  |
| 3'                | —                                      | —                              |
| 4'                | —                                      | —                              |
| 5'                | 7,00-7,04                              | doblete; 9,00                  |
| 6'                | 7,46-7,49                              | doblete-doblete; 9,00          |
| -OCH <sub>3</sub> | 3,99                                   | singulete                      |
| -OCH <sub>3</sub> | 3,87                                   | singulete                      |
| -OH               | 12,77                                  | singulete                      |

(<sup>a</sup>): Espectro realizado en CDCL<sub>3</sub> a 270 MHz. Los desplazamientos químicos ( $\delta_{\text{H}}$ ) están expresados en ppm en relación al TMS.



Tabla 3  
Valores de HMQC obtenidos para el compuesto aislado y los valores de RMN-<sup>13</sup>C encontrados en la literatura.

| Posición          | $\delta_{C^*}$ (ppm) | $\delta_C$ (ppm) <sup>a</sup> | $\delta_H$ (ppm) <sup>b</sup> |
|-------------------|----------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 2                 | 163,4                | —                             | —                             |
| 3                 | 103,9                | 104,44                        | 6,74                          |
| 4                 | 181,9                | —                             | —                             |
| 5                 | 161,5                | —                             | —                             |
| 6                 | 98,8                 | 97,96                         | 6,34                          |
| 7                 | 164,3                | —                             | —                             |
| 8                 | 94,1                 | 92,96                         | 6,71                          |
| 9                 | 157,4                | —                             | —                             |
| 10                | 103,8                | —                             | —                             |
| 1'                | 122,9                | —                             | —                             |
| 2'                | 109,5                | 110,37                        | —                             |
|                   |                      |                               | 7,64                          |
| 3'                | 149,0                | —                             | —                             |
| 4'                | 152,0                | —                             | —                             |
| 5'                | 111,8                | 116,1                         | 7,00                          |
| 6'                | 120,1                | 121,11                        | 7,60                          |
| -OCH <sub>3</sub> | 55,7                 | 55,13                         | 3,93                          |
| -OCH <sub>3</sub> | 55,9                 | 55,25                         | 3,98                          |

\*: Valores reportados por B. Méndez y cols. *Acta Científica Venezolana*, 31: 394-397, 1980.

<sup>(a)</sup>: Espectro realizado en CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub> a 125,72 MHz. Los desplazamientos químicos ( $\delta_C$ ) están expresados en ppm en relación al TMS. <sup>(b)</sup>: Espectro realizado en CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub> a 500 MHz. Los desplazamientos químicos ( $\delta_H$ ) están expresados en ppm en relación al TMS.

una correlación COSY a distancia entre los protones H-6 ( $\delta$  6,34 ppm) y H-8 ( $\delta$  6,71 ppm).

El espectro HMBC permitió tener información sobre el esqueleto de la molécula, mostrando correlaciones a distancias de <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H separados por dos y tres enlaces (Tabla 4). De esta manera, se lograron asignar las posiciones de aquellos carbonos cuaternarios que presentaban correlación HMBC con algunos protones. Se observaron correlaciones importantes, tales como las existentes entre los carbonos a  $\delta$  164,00 (C-2),  $\delta$  182,00 (X-4),  $\delta$  104,50 (C-10) y  $\delta$  122,50 (C-1') ppm, todos éstos con el protón a  $\delta$  6,74 ppm (H-3). La existencia de este protón ( $\delta$  6,74 ppm) evidenció que dicho compuesto es una flavona.

Las posiciones de los hidrógenos, como sustituyentes, en los anillos A y B, fueron asignados mediante las correlaciones entre las señales a:

- $\delta$  104,50 ppm (C-10) con los protones a 6,34 (H-6) y 6,71 (H-8) ppm
- $\delta$  164,00 ppm (C-2) con el protón a 7,60 ppm (H-6')
- $\delta$  122,50 ppm (C-1') con el protón a 7,00 ppm (H-5')
- $\delta$  150,50 ppm (C-4') con el protón a 7,60 ppm (H-6')
- $\delta$  120,20 ppm (C-6') con el protón a 7,60 ppm (H-6')

Tabla 4  
Valores de HMBC obtenidos para el compuesto aislado de la fracción F3.2 y valores de RMN-<sup>13</sup>C encontrados en la literatura.

| Posición | $\delta_c$ | $\delta_c^{(a)}$ | $\delta_H^{(b)}$                   |
|----------|------------|------------------|------------------------------------|
| 2        | 163,40     | 164,00           | 6,74(H-3); 7,60(H-6')              |
| 3        | 103,90     | —                | —                                  |
| 4        | 181,90     | 182,00           | 6,74(H-3)                          |
| 5        | 161,50     | 162,00           | 6,34(H-6)                          |
| 6        | 98,80      | —                | —                                  |
| 7        | 164,30     | 165,40           | 3,92(-OCH <sub>3</sub> )           |
| 8        | 94,10      | —                | —                                  |
| 9        | 157,40     | 157,50           | 6,71(H-8)                          |
| 10       | 103,80     | 104,50           | 6,34(H-6); 6,71(H-8);<br>6,74(H-3) |
| 1'       | 122,90     | 122,50           | 6,74(H-3); 7,00(H-5')              |
| 2'       | 109,50     | —                | —                                  |
| 3'       | 149,00     | 147,60           | 3,90(-OCH <sub>3</sub> )           |
| 4'       | 152,00     | 150,50           | 7,60(H-6')                         |
| 5'       | 111,80     | —                | —                                  |
| 6'       | 120,10     | 120,20           | 7,60(H-6')                         |

\*: Valores reportados por B. Méndez y cols. *Acta Científica Venezolana*, 31: 394-397, 1980.

<sup>(a)</sup>: Espectro realizado en CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub> a 125,72 MHz. Los desplazamientos químicos ( $\delta_c$ ) están expresados en ppm en relación al TMS. <sup>(b)</sup>: Espectro realizado en CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub> a 500 MHz. Los desplazamientos químicos ( $\delta_H$ ) están expresados en ppm en relación al TMS.

–  $\delta$  157,50 ppm (C-9) con el protón a 6,71 ppm (H-8)

Las posiciones de los grupos metoxilos fueron determinadas mediante la correlación a distancia entre el carbono perteneciente al anillo y los hidrógenos del sustituyente en dicho carbono, observándose correlación HMBC en el anillo B, a  $\delta$  147,60 ppm (C-3') con protones a  $\delta$  3,99 (OCH<sub>3</sub>), análogamente, en el anillo A, se observa una correlación a distancia entre el carbono a  $\delta$  165,40 ppm (C-7) con protones a  $\delta$  3,92 ppm (OCH<sub>3</sub>), correspondiente al grupo metoxilo sustituido en esa posición. Asimismo, el desplazamiento químico correspondiente al carbono C-4' es consistente con los valores reportados para flavonoides con sustituyentes hidroxilos en esa posición (13).

El análisis combinado de los datos obtenidos a partir de los espectros COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>1</sup>H y HMQC, condujo a proponer dos estructuras parciales I (Figura 1) y II (Figura 2), donde se pueden observar cada una de las asignaciones anteriormente expuestas. Cabe destacar que el espectro HMBC fue una herramienta clave tanto para poder elucidar la estructura completa del compuesto como, también, para corroborar cada una de las señales asignadas (Figura 3).

Todas las técnicas espectroscópicas utilizadas permitieron proponer, como posible compuesto, la 5,4'-dihidroxi-7,3'-dimetoxiflavona (Figura 4). Este flavonoide fue aislado, anteriormente, a partir del extracto en diclorometano de esta misma especie. Sin embargo, no existe nin-

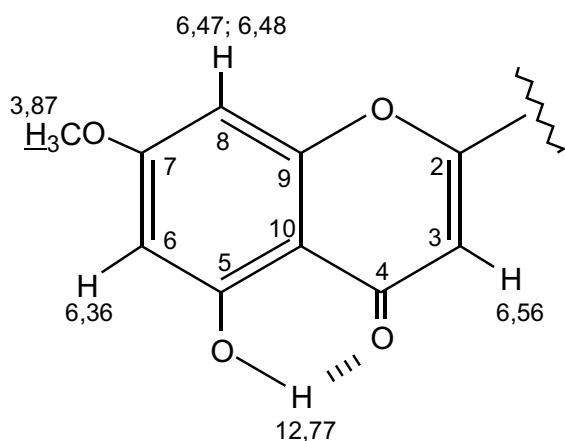


Figura 1. Estructura parcial I.

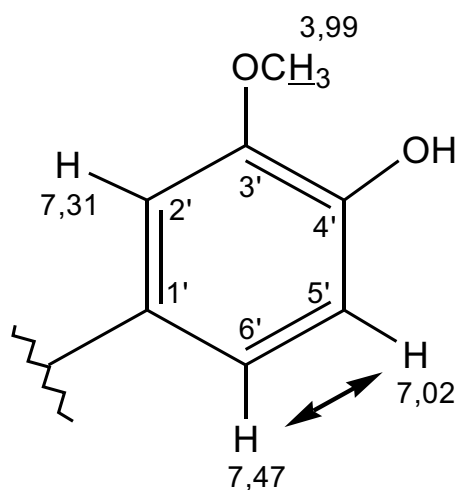


Figura 2. Estructura parcial II

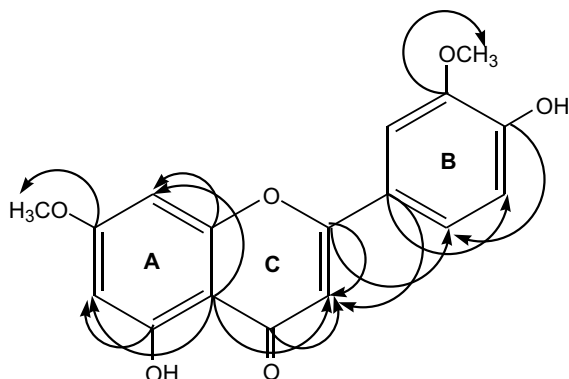
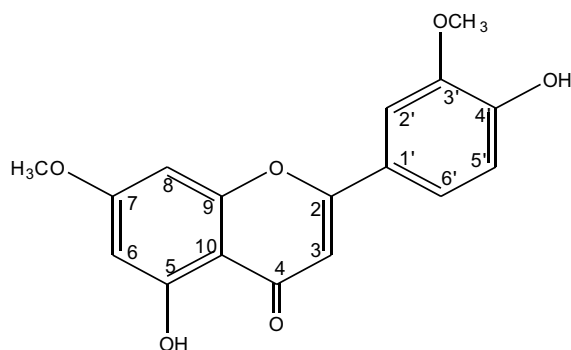
Figura 3. Correlaciones HMBC ( $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ ) del compuesto aislado.

Figura 4. Estructura del 5,4'-dihidroxi-7,3'-dimetoxiflavona.

gún reporte en la literatura que muestre los datos espectroscópicos del mismo (14), por lo cual la información química suministrada, producto de esta investigación constituye en gran aporte científico para el conocimiento fitoquímico de la especie *Chromolaena laevigata* y así como también de la familia Asteraceae. No se realizó prueba de bioactividad alguna, al compuesto, dado que no se tenía suficiente cantidad del mismo.

## Conclusiones

Todos los extractos de las hojas de la planta mostraron actividad antibacteriana contra las especies de bacterias Gram positivas: *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*.

Del extracto en diclorometano, se aisló e identificó la 5,4'-dihidroxi-7,3'-dimetoxiflavona.

## Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al Concejo de Investigación y al Departamento de Química del Núcleo de Sucre, de la Universidad de Oriente (UDO) por haber financiado parcialmente esta investigación. A la Universidad Central de Venezuela y al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), por haber facilitado la realización de los análisis de Resonancia Magnética Nuclear.



### Referencias Bibliográficas

1. BLANCO J. *Memorias del Instituto de Biología Experimental* 2: 7-10, 1999.
2. HERIQUEZ W., CRESCENTE O., HIDALGO D., ROSAS A., HERRERA J., COMPAGNONE R. *Saber* 10(2): 57-60, 1998.
3. FERRARO G., MARTINO V., BORRAJP G., COUSSIO J. *Phytochemistry* 26 (11): 3092-3093, 1987.
4. INYA-AGHA S., OGUNTMEIN B., SOFOWORA A., BENJAMIN T. *J Crude Drugs Res* 25 (1): 49-52, 1987.
5. ARENE E., PETTI G., ODE R. *Lloydia* 41 (2): 186-189, 1978.
6. BOSE P., CHAKRAVARTI P., DUTTA S., BARUA K. *Phytochemistry* 12: 667-668, 1973.
7. BARUA R., SHARMA R., THYAGARAJAN G., HERTZ W. *Phytochemistry* 17: 1807-1808, 1978.
8. HIDALGO D., NIEVES B. Estudio Fitoquímico y Actividad Antibacteriana de *Chromolaena laevigata*. *Memorias del III Congreso Venezolano de Química*. Caracas (Venezuela), pp. 159-161, 1996.
9. BRAGA A., DE OLIVEIRA G. *Tetrahedron letters* 30: 2653-2654, 1978.
10. MISRA L., JAKUPOVIC J., BOHLMANN F. *Tetrahedron* 41 (22): 5353-5356, 1985.
11. CLAVIN M., LORENZEN K., MAYER A., MARTINO V., ANKE T. *Acta Hort (ISHS)* 501: 277-282, 1999.
12. BAUERA., KIRBY A., SHERRIS J., TURK M. *American Journal of Clinical Pathol* 45: 493-496, 1996.
13. ELTZ T., ROUBIK D., WHITTEN M. *Physiological Entomology* 28 (4): 251-260, 2003.
14. MÉNDEZ B., ROJAS A., BAHASAS A., JAIMES R., TRIANA J. *Acta Científica Venezolana* 31: 394-397, 1980.