

Metabolitos secundarios con acción farmacológica de la *Werneria pygmaea* Gilles

Secondary metabolites with pharmacological action of the *Werneria pygmaea* Gilles

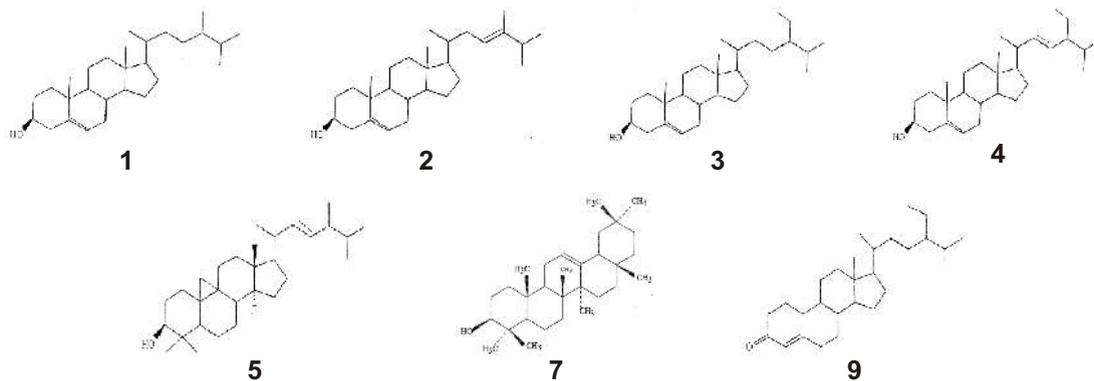
Rosa Aguilar Alva¹, Fernando Rodríguez Avalos²,
Marlon García Armas³

RESUMEN

La *Werneria pygmaea* Gilles, recolectada en la sierra de la región de La Libertad, Provincia de Santiago de Chuco, Pampa de la Julia, Jalca de Quiruvilca, a 4200 m.s.n.m. ha sido estudiada para aislar algunos metabolitos secundarios.

El análisis fitoquímico preliminar indicó presencia de lactonas, esteroides y flavonoides, mediante ensayos de coloración. La combinación de la cromatografía en capa delgada (CCD), cromatografía en capa delgada preparativa (CCDP), cromatografía líquida al vacío (CLV) y cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masas (CG - EM) permitió aislar e identificar los esteroides ergost-5-en-3 β -ol (1), estigmast-5,23-dien-3 β -ol (2), estigmast-5-en-3 β -ol (3), *trans*-estigmast-5,22-dien-3 β -ol (4), 9,19-ciclanostano-25-en-3 β -ol (5), β -amirina (7), estigmast-4-en-3-ona (9).

Palabras clave: *Werneria pygmaea* Gilles, metabolitos secundarios.



¹ Ingeniera Químico. Maestra en Ciencias Químicas. Profesora de la Universidad Privada Antenor Orrego.

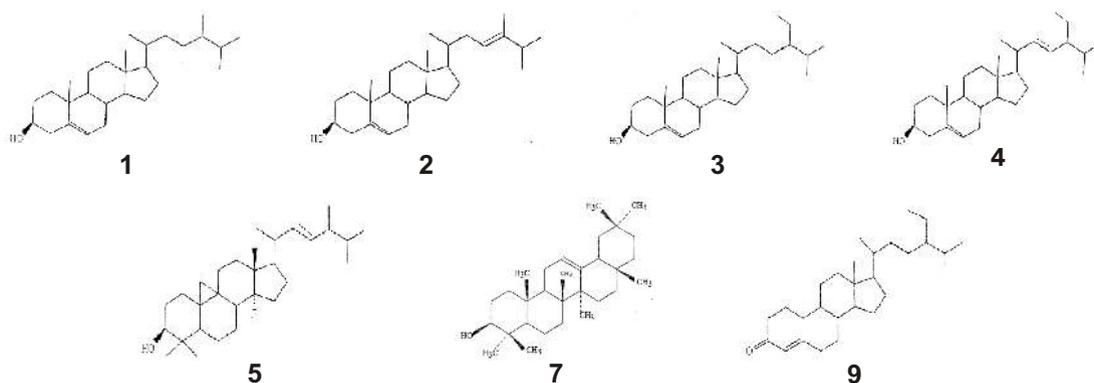
² Ingeniero Químico. Master of Science. Doctor en Educación. Profesor Principal de la Universidad Privada Antenor Orrego.

³ Ingeniero Químico. Doctor en Ciencias Químicas. Profesor Asociado de la Universidad Privada Antenor Orrego.

ABSTRACT

Werneria pygmaea Gilles, from Santiago de Chuco, Pampa de la Julia, Jalca de Quiruvilca a 4200 m.o.s.l., has been studied in order to isolate some secondary metabolites. Colorimetric tests, showed: lactones, steroids, and flavonoids. Thin layer chromatography (TLC), preparative thin layer chromatography, vacuum liquid chromatography (VLC), and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) were used to isolate and identify the steroids: ergost-5-en-3 β -ol (1), stigmast-5,23-dien-3 β -ol (2), stigmast-5-en-3 β -ol (3), *trans*-stigmast-5,22-dien-3 β -ol (4), 9,19-cyclolanost-25-en-3 β -ol (5), β -amirina (7), stigmast-4-en-3-ona (9).

Key words: *Werneria pygmaea* Gilles, secondary metabolites.



I. INTRODUCCIÓN

La Fitoquímica en el Perú es una ciencia que está alcanzando un gran desarrollo, por los importantes aportes que brinda a la humanidad con el descubrimiento de sustancias que curan las enfermedades y alivian el dolor. Por el estudio fitoquímico se sabe que muchas plantas son utilizadas con diversos fines, y la ciencia moderna las estudia, ordenando y clasificando sus diversas propiedades para agruparlas de acuerdo a sus efectos similares (Lock, 1994).

El Perú no ha alcanzado aún el desarrollo que debía esperarse de un país poseedor de una gran riqueza en su flora, de la cual miles de especies son conocidas; varios cientos están por ser descubiertas y menos del diez por ciento han sido estudiadas desde el punto de vista químico y farmacológico. El Perú puede convertirse en un exportador de materias primas y en abastecedor de productos elaborados, desarrollando cultivos organizados de plantas medicinales, aromáticas y colorantes y realizando un análisis fitoquímico sistemático que permita descubrir nuevas sustancias tan o más importantes que las que ya tienen aplicación.

El uso de las plantas medicinales para el tratamiento de diversas enfermedades se da en todo el país, y se ha ido

comunicando de generación en generación empíricamente, sin ningún control y muchas de ellas han sido indiscriminadamente comercializadas, siendo aún hasta adulteradas con un fin meramente económico.

Los pobladores peruanos, mayormente de condición económica media y baja, acuden a aliviar sus enfermedades a personas conocidas como herbolarios o curanderos, quienes indican el consumo diario de una mezcla de hierbas que por comentarios de los propios consumidores les ayudan a combatir sus enfermedades aliviando sus dolores. Se sabe también que muchas de estas personas indican el consumo de hierbas sin ningún conocimiento provocando, en algunos casos, intoxicación en los consumidores (Calier, 1981).

El género *Werneria* está constituido por un grupo de especies que son usadas en la medicina tradicional andina como antiinflamatorio y en el tratamiento del reumatismo, dolor de garganta, cáncer al útero, hipertensión, afecciones estomacales y antifebrífuga, etc. (Lock, 1984).

En el Cuadro 1 se indica las especies de *Werneria* estudiadas en el Perú, así como los usos reportados para cada una de ellas (Lock, 1984).

Werneria es un pequeño género de senecionae estrechamente relacionado con el *Senecio*. Está formado por 40 especies distribuidas en los países de Guatemala,

Cuadro 1
USOS REPORTADOS DEL GENERO WERNERÍA

Especies	Actividad
<i>W. villosa</i> A. Gray	Infecciones uterinas
<i>W. dactylophylla</i> Schultz	Hipertensión arterial Afecciones estomacales Afecciones a las vías respiratorias Antiinflamatorio
<i>W. poposa</i> Philippi	Estomática, facilita la digestión. Hipotensor, cura del insomnio Dolores de cabeza, dolores estomacales y mal de altura
<i>W. nubigena</i> HBK	Tratamiento de inflamaciones Reumatismo, gastrointestinal, cura del susto, hemorragia por susto.
<i>W. ciliolata</i> A. Gray	Efecto hipotensor, Astringente estomacal y emenagoga
<i>W. sp</i>	Antiasmático y pectoral

Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, Chile, Bolivia y Argentina (Brako y Zarvechi, 1993; Lock, 1989).

En nuestro país se ha identificado aproximadamente 30 especies en la cordillera de los Andes, usadas en medicina tradicional para curar diversas enfermedades. En especies de *Werneria* estudiados en el Perú se han identificado: diterpenos, esteroides, flavonoides, cumarinas, cromenos, benzofuranos y alcaloides.

Los estudios del género *Werneria* son pocos y, a la fecha se han reportado estudios de la *Werneria ciliolata*, (14) recolectada en la provincia de Huarochiri a una altitud de 5000 m.s.n.m. de la que se han aislado benzofuranos, flavonoides, diterpenos, cumarinas destacando los benzofuranos, por su actividad biológica como insecticida natural. Los ensayos farmacológicos realizados con uno de los benzofuranos mostraron resultados significativos en cuanto a su efecto hipotensor. El uso popular es como astringente estomacal y emenagoga (15). De la *Werneria* ef. *Decora* Blake, recolectada en ticlio, se han aislado y caracterizado una mezcla de diterpenos, alcaloides pirrolizidínicos, siendo el primer reporte de alcaloides en este género aunque no han alcanzado importancia farmacéutica por la toxicidad que presentan muchos de ellos. Su presencia en algunas plantas ha sido asociada con la mortandad del ganado debido a la actividad hepatóxica y carcinogénica. De la *Werneria dactylophylla*, se han aislado compuestos derivados de p-hidroxiaacetofenona, utilizada para el tra-

tamiento del insomnio, dolores de cabeza y estomacales y el mal de altura (Chávez y Lock, 1997).

La *Werneria pygmaea* aún no ha sido estudiada y al igual que otras especies del mismo género podría ser química y farmacológicamente importante para combatir algunas enfermedades.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Recurso Vegetal

La planta fue recolectada en la sierra de La Libertad, provincia de Santiago de Chuco, Pampa de la Julia, jalca de Quiruvilca a 4200 m.s.n.m. Es una planta postrada de 3-4 cm de alto, rizomatosa, con rizomas extendidas de las que nacen rosetas de hojas acaules. La *Werneria pygmaea* Gilles pertenece a la familia Arteraceae, género *Werneria*, especie *pygmaea* y a la tribu Seneionae. La figura 1 muestra la imagen de la planta fresca el día de su recolección.

2.2. Preparación de la muestra

La planta fue secada a temperatura ambiente y bajo sombra por 2 días y luego se colocó entre periódicos, para ser secada a presión, y posteriormente en estufa a 40 °C. La muestra seca fue molida con un molino casero y almacenada en bolsas de papel.

2.3. Obtención de extractos por maceración

En tres depósitos de vidrio de boca ancha se coloca-



Figura 1. *Werneria pygmaea* Gilles.

ron, en cada uno de ellos, 200 g de la muestra seca y molida. A continuación, independientemente, se les añadió aproximadamente 600 mL de H₂O, EtOH y CH₂Cl₂. La mezcla resultante fue agitada y dejada en maceración por espacio de 120 horas la del extracto acuoso (M3), 48 horas las del extracto etanólico (M1) y diclorometánico (M2). Después de los tiempos transcurridos el material obtenido fue filtrado y concentrado en rotavapor.

2.4. Obtención de extractos por ebullición a reflujo

Una mezcla de 200 g de muestra seca y molida y EtOH, fue sometida a reflujo por un período de 60 minutos. Luego se dejó enfriar hasta temperatura ambiente, se filtró y concentró en rotavapor, para obtener el extracto R1; la que fue separada en tres porciones R1A, R1B y R1C.

2.5. Determinaciones cualitativas para metabolitos secundarios

Los extractos R1A, R1B y R1C fueron sometidos a ensayos a la gota. La identificación cualitativa de alcaloides en R1A, se realizó con las reacciones de coloración de Dragendorff, Mayer y Wagner. En R1B se realizaron ensayos para determinar esteroides, flavonoides, antraquinon-

nas y taninos con las reacciones de: revelador de SbCl₅-HOAC, prueba de shinoda, Borntrager, y gelatina sal respectivamente. En R1C se realizaron ensayos para determinar presencia de lactonas, revelando con vainillina ortofosfórica al material cromatografiado con CHCl₃ : Me₂CO (9:1.).

Se realizaron pruebas de coloración del extracto diclorometánico M2, realizándose la reacción de Shinoda para flavonoides, Dragendorff, Mayer y Wagner para alcaloides; FeCl₃, para compuestos fenólicos, Liebermann-Burchard, para esteroides, la del ácido hidroxámico, para lactonas y la prueba de espuma para saponinas, encontrándose algunos metabolitos secundarios en este extracto.

2.6. Separaciones

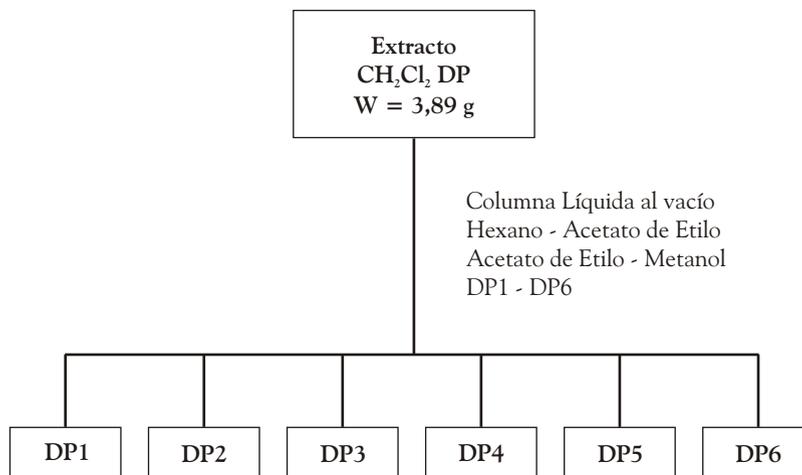
El extracto M2 (3,89 g) se mezcló con silicagel para columna, para fraccionarlo en una columna líquida al vacío (CLV) con eluyentes por orden creciente de polaridad: hexano-acetato de etilo, acetato de etilo - metanol y mezclas de ambos (Cuadro 2). Las fracciones fueron sometidas a CCD usando CHCl₃: MeOH: H₂O (65:45:15) y EP:Me₂CO (7:2), observándose en el primer sistema una mancha con R_f = 0,79 (P5) y otra con R_f =

Cuadro 2
RESUMEN DE LA COLUMNA LÍQUIDA AL VACÍO

Solvente	Volumen mL	Número de fracciones
Hex - EtOAc		
100 : 0	100	1
90 : 10	100	2
80 : 20	100	3
70 : 30	100	4
60 : 40	100	5
40 : 60	100	6
20 : 80	100	7
EtOAc - MeOH		
100 : 0	100	8
50 : 50	100	9
0 : 100	100	10

Cuadro 3
REAGRUPACIÓN DE FRACCIONES DC

	Fracciones	Peso (g)
DP1	1	0,071
DP2	2-3-4	1,062
DP3	5-6-7	0,772
DP4	8	0,105
DP5	9	0,631
DP6	10	0,252



Esquema 1. Fraccionamiento del extracto diclorometánico DP.

Cuadro 4
PRUEBAS DE COLORACIÓN PARA EXTRACTOS DP1 - DP6

Pruebas	DP1	DP2	DP3	DP4	DP5	DP6
Shinoda	-		+	-	+	+
FeCl ₃	-		+	-	-	-
Dragendorff	-		-	-	-	-
Mayer	-		-	-	-	-
Wagner	-		-	-	-	-
Acido	+	-	-	-	-	-
Hidroxámico						
Liebermann	-		+	-	-	-
Burchard						

0,45 (P6); éstas fueron unidas en una sola (DP3). En el segundo sistema se observó dos manchas con $R_f = 0,54$ y $0,62$, que después de ser reveladas con $SbCl_5$ -HOAc se observaron manchas con $R_f = 0,68, 0,62, 0,54$ en las fracciones 2,3 y 4; las que se unieron en DP2. Las manchas observadas se denominaron P2, P3 y P4 (Figura 2, Cuadro 3).

Se realizaron pruebas de coloración con las fracciones DP1 -DP6 (Cuadro 4).

2.7. Obtención de espectros

De los componentes separados de P1 a P6 se obtuvieron sus espectros IR, UV, RMN ¹H y CG-EM

III. RESULTADOS

De medio saco de planta fresca, se obtuvo 1500 g de muestra seca y molida, por maceración se obtuvo 3 extractos: M1 (8,60g) de color marrón y apariencia pastosa, correspondiente al extracto etanólico, M2 (3,89g) extracto diclorometánico de color verde amarillento, M3 (2,54g) de color marrón oscuro y apariencia pastosa correspondiente al extracto acuoso. El extracto etanólico por ebullición a reflujo fue R1 (9,04g).

Las determinaciones cualitativas realizadas para los extractos anteriores, excepto para M2, dieron los siguientes resultados (Maby, Markham, Thomas, 1970; 25-45):

Metabolito / Reacción	Resultado
Alcaloides / Dragendorff, Mayer, Wagner	+
Esteroides / Liberman Burch	+
Lactonas / Acido Hidroxámico	+
Flavonoides / Shinoda	+
Antraquinonas / Borntrager	-
Taninos / Galatina - sal	-
Saponinas / Prueba espuma	-

Las mejores separaciones ocurrieron usando como sistemas $CHCl_3$: MeOH : H₂O (65 : 45 : 15) para flavonoides y EP : Me₂CO para esteroide.

De las pruebas de coloración para el extracto M2 se obtuvieron los siguientes resultados:

Metabolito / Reacción	Resultado
Alcaloides / Dragendorff, Mayer, Wagner	-
Esteroides / Liberman Burch	+
Lactonas / Acido Hidroxámico	+
Flavonoides / Shinoda	+
Compuestos fenólicos / FeCl ₃	+
Saponinas / Prueba espuma	-

Las fracciones obtenidas del extracto M2 por cromatografía líquida al vacío fueron 10, las que posteriormente fueron reagrupadas quedando 6 fracciones denominadas como DP1, DP2, DP3, DP4, DP5 y DP6. Con estas nuevas fracciones se realizaron pruebas de coloración (Cuadro 4).

De las fracciones DP1, DP2 y DP3 se obtuvieron por CCDP los componentes P1, P2, P3, P4, P5, y P6 con los detalles indicados en el Cuadro 5.

Del análisis espectroscópico de los espectros IR de P1 a P6, se dedujeron las siguientes asignaciones (Pavia, Lampman, Kriz, 1979):

Componente P1 (Lactona)	
ν (cm ⁻¹)	Asignación
1220	C – O (estiramiento)
1480	C – H (deformación CH ₃)
1560	C – H (deformación CH ₂)
2950	C – H (estiramiento, alifático)
3000	C – H (estiramiento, alifático)
3350 - 3600	O – H (estiramiento)

Componente P2 (Esteroido)

ν (cm ⁻¹)	Asignación
1000, 1230 y 1275	C – O (estiramiento)
1625	C = C (estiramiento)
3025	C – H (estiramiento vinílico)
3350 - 3600	O – H (estiramiento)

Componente P3 (Esteroido)

ν (cm ⁻¹)	Asignación
1010 y 1270	C – O (estiramiento)
1480	C – H (deformación CH ₃)
1600	C = C (estiramiento)
3015	= C – H (estiramiento vinílico)
3350 - 3550	O – H (estiramiento)

Componente P4 (Flavonoide)

ν (cm ⁻¹)	Asignación
985	= C – H (deformación)
1080	C – O (estiramiento)
1265	C – O (estiramiento)
1395	C – H (deformación CH ₃)
1475	C – H (deformación, CH ₂)
1560	C = C (estiramiento)
1745	C = O (estiramiento)
2925, 2995	C – H (estiramiento, alifático)
3045	= C – H (estiramiento, vinílico)
3350 - 3550	O – H (estiramiento)

Componente P5 (Flavonoide)

ν (cm ⁻¹)	Asignación
1000, 1120, 1225	C – O (estiramiento)
1435	C – H (deformación)
1560, 1600	C = C (deformación)
1640	C = C (estiramiento, olefínico)
3300 - 3550	O – H (estiramiento)

Componente P6 (Esteroido)

ν (cm ⁻¹)	Asignación
990	= C – H (deformación)
1080, 1220, 1260	C – O (estiramiento)
1380, 1398	C – H (deformación, CH ₃)
1440, 1470, 1480	C – H (deformación, CH ₂)
1640	C = C (estiramiento)
1750	C = O (estiramiento)
2950, 2995	C – H (estiramiento, alifático)
3020	= C – H (estiramiento, vinílico)
3350, 3550	O – H (estiramiento)

De los espectros UV-Vis se reportaron las siguientes longitudes de onda de absorciones máximas (Maby, Markham, Thomas, 1970).

Componente	λ max(nm)
P1	242
P2	242
P3	242
P4	244
P5	268
P6	242

Del análisis espectroscópico de los espectros RMN ¹H de P1 a P6 se dedujeron los siguientes tipos de hidrógenos (Gordon, 1980):

Componente	Desplazamiento δ ppm	Tipo De Hidrógeno
P1	0,89	metílicos
	1,26	metilénicos
P2	0,88 y 0,84	metílicos
	1,25	metilénicos
	7,26 y 7,27	aromáticos
P3	0,84, 0,86 y 0,88	metílicos
	1,29	metilénicos
	7,26	aromáticos
P4	0,84 - 0,95	metílicos
	1,23 - 1,25	metilénicos
	4,19 - 4,22	metoxílico
	7,24 - 7,71	aromático
P5	0,86 - 0,89	metílicos
	1,26 - 1,30	metilénicos
	3,27 - 4,00	metoxílicos
	7,84 - 7,89	aromático
P6	0,82 - 0,87	metílicos
	1,25	metilénicos
	3,80 - 3,85	metoxílicos
	7,86 - 7,90	aromáticos

Los resultados obtenidos de los espectros EM/GC para las fracciones P1 se muestran en el Cuadro 6.

Los compuestos encontrados en la fracción P2 fueron: ergost-5-en-3 β -ol (**1**), estigmast-5,23-dien-3 β -ol (**2**), estigmast-5-en-3 β -ol (**3**), los tiempos de retención y pesos moleculares se muestran en el Cuadro 7.

En la fracción P3 se encontraron los compuestos, *trans*-estigmast-5,22-dien-3 β -ol (**4**), 9,19-ciclolanostano-25-en-3 β -ol (**5**), los tiempos de retención y los pesos moleculares se muestran en el Cuadro 8.

Cuadro 5
COMPONENTES OBTENIDOS DE DP1, DP2 Y DP3

Componente	Metabolito	Rf	Peso (mg)	Porcentaje
P1	Lactona	0,80	42	1,08
P2	Esteroides	0,62	36	0,93
P3	Esteroides	0,54	35	0,90
P4	Flavonoide	0,68	133	3,42
P5	Flavonoide	0,79	192	4,93
P6	Esteroides	0,45	74	1,90

Cuadro 6
HIDROCARBUROS ENCONTRADOS EN P1

Compuestos	Tiempo de retención (min)	Peso molecular
Docosano	26,384	310
Tricosano	28,139	324
Tetracosano	29,806	338
Pentacosano	31,475	352
Hexacosano	32,980	366
Heptacosano	34,641	380
Octacosano	36,089	394
Nonacosano	38,231	408
Triacantano	40,399	422
Hentriacantano	44,497	436
Diatracantano	46,933	450
Tritracantano	51,989	464

Cuadro 7
COMPUESTOS ENCONTRADOS EN LA FRACCIÓN P2
DE LA *Wernería pygmaea* Gilles

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Peso molecular
1	40,649	400
2	41,068	412
3	41,909	414

Cuadro 8
COMPUESTOS ENCONTRADOS EN LA FRACCIÓN P3
DE LA *Wernería pygmaea* Gilles

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Peso molecular
1	40,552	400
3	41,780	414
4	40,969	412
5	45,140	442

En la fracción P4 se encontró un esteroide de la familia del estigmasterol con cadena lateral, con un grupo hidroxilo en la posición C-3, con insaturaciones correspondientes de 4 anillos y un doble enlace (6), β -amirina (7), un compuesto perteneciente a la familia de los friedelanos (8) y el estigmast-4-en-3-ona (9). Los tiempos de retención y pesos moleculares se indican en el Cuadro 9.

IV. DISCUSIÓN

De la muestra seca y molida, se obtuvo un extracto etanólico mediante ebullición a reflujo con un 4,52% de rendimiento. Este extracto fue fraccionado en tres porciones, R1A para identificar alcaloides, encontrándose resultados negativos, R1B para identificar esteroides, flavonoides, antraquinonas y taninos, siendo positiva para alcaloides, esteroides, lactonas y flavonoides. Los mismos resultados fueron encontrados para M1 y M3. El extracto M2 dio prueba positiva para flavonoides, compuestos fenólicos, lactonas y esteroides.

El extracto diclorometánico M2, fue sometido a separaciones cromatográficas, por CLV usando eluyentes de diferentes polaridad (Cuadro 2). Los resultados del análisis cromatográfico permitió reagrupar algunos extractos para formar las fracciones identificadas con DP1, DP2, DP3, DP4, DP5, y DP6 (Cuadro 3, Esquema 1) en base a la similitud y/o similitud de los Rf.

El trabajo en CCDP aisló de DP1 el componente P1 (lactona), de DP2 y DP3 los componentes P2, P3 y P6 (esteroides), P4 y P5 (Flavonoides). Para los componentes P1 a P6 se realizaron los espectros IR, UV-vis, RMN de ^1H y también los espectros de masas. De acuerdo a las señales características y por la comparación del perfil de estructuras conocidas se pudo presagiar que, efectivamente pertenecen a esteroide y flavonoides.

La confirmación de las estructuras fue efectuado mediante el análisis de su espectro de masas, mediante el modelo de rompimientos. El estudio de P1 determinó la presencia de muchos hidrocarburos lineales, siendo los mayoritarios el heptacosano, el nonacosano cuyos espectros de masas aseguran sus estructuras en 91, 99 y 96% respectivamente. La presencia de este tipo de compuestos en P1 es un tanto sorprendente y, al mismo tiempo, motivo de preocupación, traducidos en un aspecto para investigar, a fin de establecer su existencia real en la especie vegetal o a que podrían ser productos de descomposición; ya que los espectros de IR y UV de P1 no corresponden a hidrocarburos lineales.

La separación de las especies químicas de P2 y la

obtención de sus espectros de masas permitió identificar los compuestos 1, 2 y 3 que corresponde a esteroides.

La separación de las especies químicas en P3 y la obtención de sus espectros de masa permitió identificar los compuestos 1 y 3 (esteroides), 4 (esteroide) y 5 (triterpeno).

La separación de las especies químicas de P4 y la obtención de sus espectros de masas permitió identificar los compuestos 7 (triterpeno) y 9 (esteroide) haciéndose difícil realizar los rompimientos que justifiquen los picos observados para los compuestos 6 y 8 lo que impidió la identificación de estos compuestos. Del análisis del espectro de masas del compuesto 6 se puede deducir que se trata de un esteroide y el 8 un compuesto que pertenece a la familia de los Friedelanos.

V. CONCLUSIONES

5.1. En la *Werneria pygmaea* Gilles, se identificaron metabolitos secundarios, esteroides, flavonoides, lactonas.

5.2. De la *Werneria pygmaea* han sido identificados los esteroides ergost-5-en-3 β -ol (1), estigmast-5,23-dien-3 β -ol (2), estigmast-5-en-3 β -ol (3), *trans*-estigmast-5,22-dien-3 β -ol (4), 9,19-ciclolanostano-25-en-3 β -ol (5), β -amirina (7), estigmast-4-en-3-ona (9).

VI. AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Esther del Olmo del Departamento de Farmacia de la Universidad de Salamanca - España por la obtención de los espectros RMN ^1H y CG-EM, al Mg. Segundo Leyva por la ayuda en la recolección e identificación de la *Werneria pygmaea*.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brako, L.; Zarvechi, J. (1993), Catalogue of the Flowering Plants and Gymnosperms of the Perú. By Missouri Botanical Garden. Volumen 45. pp 188 - 189.
- Calier, A. (1981). Así nos curamos en el Canicapo, Huancayo Ed. El Graficolor Lima, Perú. P. 100.
- Chavez, R., Lock de Ugaz, O. 1997. Revista de Química. PUCP XI, 9.
- Gordon L. 1980. Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C para Químicos Orgánicos, p. 182, 183, 185.
- Lock de Ugaz, O., Hiojar, A., Borges de Castillo, J., Seligmann, O. y Wagner H. (1984). Fitoterapia. 55, 248.
- Lock de Ugaz, O., Jurepe, H y colab. (1989). Estudio Químico y Farmacológico de la *Werneria ciliolata*. Informe Técnico. Proyecto Concytec.
- Maby, T. J., Markham, K. R.; Thomas, M. B. 1970. The Systematic Identification of Flavonoids. By Springer - Verley New York Inc. p - 13.
- Pavia, D., Lampman, G., Kriz, G. 1979. Introducción a la Espectroscopia. Jr. Saunders College Publishing. P. 25-45.

Cuadro 9
 COMPUESTOS ENCONTRADOS EN LA FRACCIÓN P4
 DE LA *Werneria pygmaea* Gilles.

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Peso molecular
6	41,838	-
7	41,965	426
8	41,169	424
9	43,250	412

