

Revista de

QUIMICA

VOLUMEN XI N° 1

Junio 1997



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL PERU**



30 AÑOS DE QUÍMICA EN LA PUCP

30 AÑOS, de actividades de la Sección Química del Departamento de Ciencias de la Pontificia Universidad Católica, es una fecha importante en el recuerdo de nuestros egresados y de quienes laboramos en ella.

30 AÑOS, durante los cuales han egresado aproximadamente 300 alumnos de la Facultad de Ciencias e Ingeniería (Bachiller y Licenciado en Química) y de la Escuela de Graduados (Magíster en Química).

30 AÑOS, durante los cuales se han desarrollado y sustentado alrededor de 250 trabajos de tesis.

30 AÑOS, durante los cuales hemos difundido la química y su mejor aplicación a través de cursos de actualización y conferencias; con nuestra participación en Congresos y Seminarios, y a través de nuestras publicaciones científicas.

30 AÑOS, durante los cuales hemos recibido la visita de investigadores de diversos países quienes nos han dejado sus enseñanzas a la vez que han aprendido de nosotros lo poco o mucho de nuestro quehacer diario.

30 AÑOS, durante los cuales hemos aportado a la capacitación de los maestros de nivel primario, secundario, y porqué no decirlo también del nivel universitario.

30 AÑOS, durante los cuales hemos contribuido al conocimiento de nuestros recursos naturales a través de nuestras investigaciones y convenios con diversas instituciones y organismos privados y estatales.

30 AÑOS, de los cuales en los 10 últimos nuestro aporte al conocimiento de la Química lo hacemos también a través de nuestra Revista de Química, de periodicidad semestral.

30 AÑOS, que hemos recibido el apoyo permanente de nuestras autoridades.

Y nos toca ahora invocar:

- a nuestras autoridades a que continúen apoyándonos, con la seguridad que no los defraudaremos, como no lo hemos hecho durante estos 30 años.
- a nuestros egresados y alumnos, que tengan siempre presente que hemos hecho los mayores esfuerzos para ofrecerles una educación de mejor calidad cada vez, y que con su desempeño profesional dejen en alto a su Alma Mater.
- a la comunidad científica, especialmente a la comunidad química, que todo esfuerzo que hagamos, sea siempre pensando en nuestro Perú, que necesita el aporte de todos nosotros, que hemos sido privilegiados con el conocimiento científico que poseemos.
- a nuestros lectores para que sigan apoyándonos en la publicación de la Revista de Química con su aporte, y con sus comentarios y sugerencias para un mejor cumplimiento de nuestro objetivos que es el de difundir la Ciencia Química en nuestro país.

La Directora

Publicamos a continuación un texto escrito por Carlos Cueto Fernandini, un verdadero maestro de maestros, que hizo contribuciones invaluable a la educación nacional la profundidad y generosidad que irradia de todas sus frases muestran a la grandeza de su alma.

Es maestro

Todo aquel que se sienta capaz de trabajar empeñosamente en el servicio de un ideal, sin guardarse para sí los frutos de su trabajo;

Todo aquel que al conversar con otro sienta el placer de beneficiar con su pensamiento a aquel con quien dialoga y de escuchar atentamente el mensaje que puede desprenderse de las palabras recogidas;

Todo aquel, que apetezca sumirse en los ideales que empujan a los demás hacia la práctica del bien;

Todo aquel que se reconozca así mismo en las justas aspiraciones de un hombre cualquiera, aun cuando ese hombre no sea su amigo y a pesar de que esa aspiración no comprometa ninguna de sus ambiciones personales;

Todo aquel que se sienta enriquecido cuando da;

Todo aquel que se sienta capaz de trabajar por los demás sin extender en seguida la mano para demandar la recompensa;

Todo aquel que crea firmemente que el destino del hombre puede ser siempre mejor;

Todo aquel que no se sienta capaz de condenar a los demás sin una palabra de misericordia;

Todo aquel que esté llano a aceptar que hay muchas cosas que no sabe, sin sentirse por eso humillado;

Todo aquel que no considere presuntuoso al hombre de menor edad que ha llegado a aprender más que él y que vea esta situación sin resentimiento como el símbolo venturoso en la renovación del espíritu humano;

Todo aquel que sea capaz de escuchar las palabras de rebeldía de los jóvenes y trate honestamente de comprenderlas en su justo valor de inspiración para la futura historia humana, sin que la efervescencia de esas palabras lo haga, sin embargo, inecuánime para apreciar el valor de vida ya realizada por los ancianos, ni sordo a las innovaciones de los conservadores;

Todo aquel que al contacto con el alma y la cultura del hombre se sienta revitalizado por los impulsos tranquilos de la veneración;

Todo aquel que a pesar de las circunstancias personales adversas y de las amenazas del poder, tenga la firmeza necesaria para mantener irrevocable el dictamen de la verdad;

Todo aquel que quiera aprender incesantemente lo nuevo son desdeñar lo antiguo;

Todo aquel que quiera hacer de otro hombre un maestro como él;

Si lo es de veras, cualquier hombre puede ser un maestro.

ARTICULOS

ESTUDIO QUIMICO DE LA *WERNERIA* sp.

Ricardo Chávez-Reyes y Olga Lock de Ugaz*

RESUMEN

Este estudio es una contribución al conocimiento del género *Werneria*. Se ha trabajado con los extractos ácido-básico, diclorometánico y etanólico de las partes aéreas secas y molidas de la *Werneria* sp., conocida comúnmente como "varita de San José", habiéndose aislado por medios cromatográficos diez (10) compuestos, de los cuales se han identificado por medios físico-químicos y espectroscópicos (UV, IR, 1D RMN: ^1H y ^{13}C , y 2D RMN: COSY ^1H - ^1H , HMQC ^1H - ^{13}C y HMBC ^1H - ^{13}C): tres (3) flavonoides: quercetina 3-O-(β -D-glucopiranosil-(1'' \rightarrow 2''))- β -D-galactopiranosido), y dos derivados de quercetina 3-O-diglicosidados (monodesmósidos); una (3) cumarina: escopoletina; un (1) diterpeno: ácido 17-hidroxi-16 α -ent-kauran-19-oico; y dos (2) hidrocarburos de cadena abierta; los otros cinco (3) compuestos no han sido aun identificados, pero por sus características cromatográficas, físico-químicas y espectroscópicas, se les atribuye naturaleza terpenoidal o esteroidal. Se ha detectado además, la presencia de alcaloides, catequinas y saponinas.

* Pontificia Universidad Católica del Perú. Departamento de Ciencias - Sección Química.

INTRODUCCION

Dentro de las especies vegetales utilizadas en medicina tradicional tenemos las del género *Werneria*, especies perennes pertenecientes a la tribu *Senecioneae*, la cual es una de las tribus que conforman la familia *Asteraceae* (*Compositae*) [1].

El género *Werneria* está conformado por 40 especies distribuidas a lo largo de las cadenas montañosas de Centro y Sudamérica. En el Perú se han encontrado unas 30 especies, entre las cuales podemos mencionar, *W. caespitosa* Wedd.; *W. dactylophylla* Sch. Bip.; *W. digitata* Wedd.; *W. nubígena* Kth.; *W. strigosissima* A. Gray.; *W. incisa* Phil.; *W. cf. decora* Blake; *W. pseudodigitata* Rockhausen; *W. stuebelii*; *W. poposa* Philleppi; *W. ciliolata* y *W. pygmaea* Gill.; algunas de las cuales se usan en medicina tradicional como drogas antirreumáticas, remedios para la hipertensión, enfermedad de altura, y desórdenes digestivos [2]. Asimismo, se reporta la especie *Werneria* sp. o “varita de San José” que se utiliza como antiespasmódica y pectoral, la cual es materia del presente estudio fitoquímico.

Se tiene un conocimiento limitado sobre la química del género *Werneria*, habiéndose iniciado los estudios químicos sobre especies de este género recién a partir de 1982. Estos trabajos han sido sobre las especies, *W. stuebelii* [3], *W. cf. decora* Blake [4, 5, 6], *W. ciliolata* [7, 8, 9, 10], *W. poposa* Philleppi [11], y *W. dactylophylla* [12, 13]. Cabe señalar y destacar que la mayor parte de estos estudios han sido realizados en la Pontificia Universidad Católica del Perú.

MATERIAL VEGETAL

La *Werneria* sp. conocida comúnmente como “varita de San José” es una especie vegetal perennifolia, de 15-30 cm de alto (arbusto pequeño), ramificada desde la base. Fue recolectada en los meses de mayo y setiembre de 1994, en la localidad de Ticlio, provincia de Huarochirí, departamento de Lima, a una altitud de aproximadamente 4900 m.s.n.m.¹

1 La recolección fue llevada a cabo por el Biól. Genaro Yauripaitán, Museo Nacional de Historia Natural “Javier Prado”.

PARTE EXPERIMENTAL

Se trabajó con las partes aéreas secas y molidas de la *Werneria sp.* Una primera porción de este material vegetal (1 Kg) fue macerada en CH_2Cl_2 durante 48 horas (2 L \times 4). El marco obtenido fue sometido a maceración en EtOH durante 48 horas (2 L \times 4). Las soluciones diclorometánicas resultantes se reunieron, filtraron y concentraron a presión reducida, obteniéndose 285g de extracto; las soluciones etanólicas recibieron el mismo tratamiento anterior, obteniéndose 10.75 g de extracto. Otra porción del material vegetal (25 g) fue sometida a extracción ácido-básica; la solución acuosa resultante fue extraída con AcOEt, y las soluciones orgánicas fueron concentradas a presión reducida, obteniéndose un residuo de 74 mg.

A partir de estos extractos, se aislaron por medios cromatográficos doce compuestos, de los cuales se identificaron por medios físico-químicos y espectroscópicos siete. A continuación se presentan los datos físico-químicos, cromatográficos y espectroscópicos de los compuestos aislados. Los equipos usados en las mediciones espectroscópicas fueron: UV-Vis: espectrofotómetro PE Lambda 2 (Pontificia Universidad Católica del Perú); IR: espectrómetro PE FT-IR serie 1600 (Pontificia Universidad Católica del Perú); y RMN: espectrómetro Bruker de 200 MHz (^1H) y 50 MHz (^{13}C) (Universidad de Salamanca, España).

Compuesto RCHR-1: Quercetina 3-O-(β -D-glucopiranosil-(1'' \rightarrow 2''))- β -D-galactopiranosido)

Cristales en forma de agujas, color amarillo oscuro (27.5 mg); soluble en MeOH y mezclas MeOH:H₂O. CCD (sobre RP-18 F₂₅₄): MeOH:H₂O (50:50), R_f 0.58 (visible, color amarillo; UV 254 nm, color celeste pálido; UV 366 nm, color rosado pálido; UV 366 nm después de exponer el cromatofolio a vapores de NH_{3(cc)}, color rosado). HPLC (columna Ultrasphere octyl RP-8: 5 μm , 150 \times 4,6 mm): t_R 15.52 min. (gradiente 5-100% MeOH en H₂O + 0,5% H₃PO₄ durante 30 minutos, detección luz UV 254 nm). UV(λ_{max} , MeOH, nm): 256.8 y 358.8. 1D: RMN- ^1H : 7.67 (1H, d), 7.48 (1H, dd), 6.82 (1H, d), 6.62 (1H, d), 6.37 (1H, d), y 3.10-3.75 (m). 1D: RMN- ^{13}C : 177.43 (s), 162,66 (s), 161.95 (s), 157.15 (s), 155.82 (s), 148.28 (s), 144.25 (s), 133.76 (s), 121.26 (d), 120.75 (s), 116.36 (d), 114.87 (d), 105.58 (s), 101.75 (d), 99.93 (d), 99.22 (d), 94.07 (d), 79.81 (d), 76.90 (d), 76.67 (d), 76.25 (d), 73.72 (d), 72.76 (d), 69.53 (d), 69.41 (d), 60.91 (t) y 60.62 (t).

Compuesto RCHR-2: Quercetina 3-O-diglicosidada (I)

Cristales en forma de agujas, color amarillo caramelo (51.3 mg); soluble en MeOH y mezclas MeOH:H₂O. CCD (sobre RP-18 F₂₅₄): MeOH:H₂O (50:50), R_f 0.46 (visible, color amarillo pálido; UV 254 nm, color celeste pálido; UV 366 nm, color rosado pálido; UV 366 nm después de exponer el cromatofolio a vapores de NH_{3(ccc)}, color rosado). HPLC (columna Ultrasphere octyl RP-8: 5 μm, 150×4.6 mm): T_R 16.90 min. (gradiente 5-100% MeOH en H₂O + 0,5% H₃PO₄ durante 30 minutos, detección luz UV 254 nm). UV(λ_{máx}, MeOH, nm): 256.2 y 358.2. 1D: RMN-¹H (DMSO-*d*₆ - CDCl₃, δ ppm): 7.55 (1H, d), 7.48 (1H, dd), 6.78 (1H, d), 6.63 (1H, d), 6.39 (1H, d) y 3.13-4.12 (12H, m).

Compuesto RCHR-3: Quercetina 3-O-diglicosidada (II)

Cristales en forma de agujas, color caramelo (23.7 mg); soluble en MeOH y mezclas MeOH:H₂O. CCD (sobre RP-18 F₂₅₄): MeOH:H₂O (50:50), R_f 0.34 (visible, color amarillo muy pálido; UV 254 nm, color celeste pálido; UV 366 nm, color rosado pálido; UV 366 nm después de exponer el cromatofolio a vapores de NH_{3(ccc)}, color rosado). HPLC (columna Ultrasphere octyl RP-8: 5 μm, 150×4.6 mm): T_R 18.36 min. (gradiente 5-100% MeOH en H₂O + 0,5% H₃PO₄ durante 30 minutos, detección luz UV 254 nm). UV(λ_{máx}, MeOH, nm): 256.4 y 358.4. 1D: RMN-¹H (DMSO-*d*₆ - CDCl₃, δ ppm): 7.70 (m), 6.72 (d), 6.41 (d), 4.95 (m) y 3.08-3.73 (m).

Compuesto RCHR-4: Escopoletina

Polvo fino, casi incoloro (5 mg); soluble en CH₂Cl₂, Me₂CO, AcOEt y MeOH; p.f. 204-205°C. CCD (silica gel 60 F₂₅₄): CH₂Cl₂:MeOH (25:1), R_f 0.62 (UV 254 nm, color celeste pálido; UV 366 nm, color fluorescencia morada). UV(λ_{máx}, MeOH, nm): 227, 285 y 340; UV(λ_{máx}, MeOH+NaOH, nm): 239(h), 277(h) y 390. IR(v_{máx}, KBr, cm⁻¹): 3422, 2921, 2841, 1709, 1569, 1465 y 1124.

Compuesto RCHR-5: Ácido 17-hidroxi-16α-ent-kauran-19-oico

Polvo fino y/o agujas casi transparentes (61.3 mg); soluble en CHCl₃, AcOEt y MeOH; p.f. 185°C. CCD (silica gel 60 F₂₅₄): CH₂Cl₂:AcOEt (6:1), R_f 0.35 (SbCl₃-HOAc, color morado pálido). UV(λ_{máx}, MeOH, nm): no hay absorción. IR(v_{máx}, KBr, cm⁻¹): 3409, 2930, 2852, 1696, 1468, 1449, 1255, 1178, 1056, 1044, 1030 y 1015. 1D: RMN-¹H (CDCl₃, δ ppm): 3.43 (1H,

dd), 3.39 (1H, dd), 2.18 (1H, s), 2.03-2.15 (m), 1.75-1.98 (m), 1.50-1.62 (m), 1.32-1.46 (m), 1.23 (3H, s), 0.95-1.05 (m), 0.93 (3H,s) y 0.78-0.88 (m). 1D: RMN-¹³C (CDCl₃, δ ppm): 183.52 (s), 67.48 (t), 56.97 (d), 55.30 (d), 44.97 (t), 44.72 (s), 43.63 (s), 43.32 (d), 41.61 (t), 40.72 (t), 39.59 (s), 38.13 (d), 37.82 (t), 37,16 (t), 31.35 (t), 28.92 (q), 22.35 (t), 19.06 (t), 18.84 (t) y 15.52 (q). 2D: COSY-DQF ¹H-¹H, HMQC ¹H-¹³C, HMBC ¹H-¹³C: ver Tabla 1.

Compuesto RCHR-6: Hidrocarburo de 31 ó 33 C

Polvo grueso, color blanco (27.2 mg); soluble en hexano y éter de petróleo, insoluble en H₂SO_{4(cc)}; p.f. 71-72°C. IR(v_{máx}, KBr, cm⁻¹): 2916, 2848, 1471, 1463 y 719.

Compuesto RCHR-7: Hidrocarburo de 35 ó 37 C

Polvo fino, color blanco (9.9 mg); soluble en hexano y éter de petróleo, insoluble en H₂SO_{4(cc)}; p.f. 76-77°C. IR(v_{máx}, KBr, cm⁻¹): 2916, 2848, 1472, 1462, 729 y 719.

Compuestos RCHR-8A y RCHR-8B: Esteroides

Aspecto ceroso, color blanquecino (63,5 mg); soluble en hexano, éter de petróleo y benceno; CCD (silica gel 60 F₂₅₄): Hexano, R_f 0.91 (2A) (SbCl₃-HOAc, color anaranjado) y 0.89 (2B) (SbCl₃-HOAc, color morado claro). IR(v_{máx}, NaCl, cm⁻¹): 2928, 2849, 1472, 1462, 1379, 729 y 719.

Compuesto RCHR-9: Terpenoide o esteroide

Agujas pequeñas, casi transparentes (17.3 mg); soluble en CHCl₃, CH₂Cl₂ y AcOEt.. CCD (silica gel 60 F₂₅₄): CH₂Cl₂:MeOH (25:1), R_f 0.51 (SbCl₃-HOAc, color anaranjado oscuro). IR(v_{máx}, KBr, cm⁻¹): 3452, 2928, 2868, 1718, 1464, 1368, 1162 y 1093. 1D: RMN-¹H (CDCl₃, δ ppm): 4.80, 4.74, 2.65, 2.06, 1.84, 1.77, 1.62, 1.48, 1.25, 1.07 y 0.95.

Compuesto RCHR-10: Terpenoide o esteroide

Agujas pequeñas, color blanco (13.7 mg); soluble en CHCl₃, CH₂Cl₂ y AcOEt.. CCD (silica gel 60 F₂₅₄): CH₂Cl₂:MeOH (25:1), R_f 0.39 (SbCl₃-HOAc, color morado). IR(v_{máx}, KBr, cm⁻¹): 3432, 2932, 2868, 1711, 1464, 1385, 1240, 1164 y 1048. 1D: RMN-¹H (CDCl₃, δ ppm): 4.80, 4.74, 2.65, 2.05, 1.96, 1.80, 1.77, 1.62, 1.52, 1.37, 1.25, 1.03 y 0.95.

DISCUSION DE RESULTADOS

Compuesto RCHR-1: Quercetina 3-O-(β -D-glucopiranosil-(1'''' \rightarrow 2''))- β -D-galactopiranosido)

El comportamiento de este compuesto en CCD frente a la luz visible (color amarillo), luz UV de 366 nm (color rosado pálido), y bajo luz UV de 366 nm después de exponer al cromatofolio a vapores de NH_3 (color rosado) nos permite plantear que debe ser un flavonol 3-O sustituido [14, 15].

Su espectro UV (en MeOH) muestra máximos de absorción a 256,8 y 358,8 nm, valores que son consistentes con un esqueleto de quercetina 3-O sustituido [16].

Los espectros RMN- ^1H y RMN- ^{13}C identifican de manera inequívoca al compuesto como un derivado de quercetina 3-O glicosidado [16, 17].

El número y los desplazamientos (δ) de las señales glicosídicas en el espectro RMN- ^{13}C indican la presencia de dos sistemas de hexosa. Además, ambos azúcares tienen uniones glicosídicas β , tomando como base el valor de los desplazamientos de los carbonos anoméricos de cada una de las unidades de azúcar en el espectro RMN- ^{13}C [17, 18, 19].

El espectro RMN- ^{13}C provee dos datos particularmente importantes. La señal a δ 79,81 ppm, es característica de sustitución sobre C-2'' [18, 19, 20, 21], resultando así que el primer azúcar es 1,2-disustituido. La señal a δ 101,75 ppm es característica para C-1'''' cuando el segundo azúcar está unido al primero vía éste carbono [18, 19, 20, 21], con lo cual queda establecida la unión 1'''' \rightarrow 2''.

Además, la señal característica a δ 79,81 ppm que se ha asignado a C-2'' se encuentra a campo ligeramente más alto que la correspondiente a C-2'' en el flavonoide estructuralmente relacionado: kaempferol 3-O-soforósido (β -D-glucopiranosil-(1'''' \rightarrow 2''))- β -D-glucopiranosido) [18, 20], lo que nos permite llegar a la conclusión de que no es una glucosa el azúcar unido a la aglicona.

Finalmente, las señales correspondientes a la aglicona del espectro RMN- ^1H y todas las señales del espectro RMN- ^{13}C pudieron ser asignadas por comparación con compuestos modelo [18, 22-28].

Como primera conclusión de este análisis, se tiene que la mitad glicosídica del compuesto RCHR-1 corresponde al inusual disacárido: β -D-glucopiranosil-(1''' \rightarrow 2'')- β -D-galactopiranosido, que fue recién reportado como la mitad glicosídica de flavonoides en 1984 [18, 28], y vuelto a reportar en 1986 [26], 1988 [23] y 1989 [27]; y como conclusión final del análisis anterior se puede afirmar que el compuesto RCHR-1 es: quercetina 3-O-(β -D-glucopiranosil-(1''' \rightarrow 2'')- β -D-galactopiranosido), cuya estructura se muestra en la Figura 1.

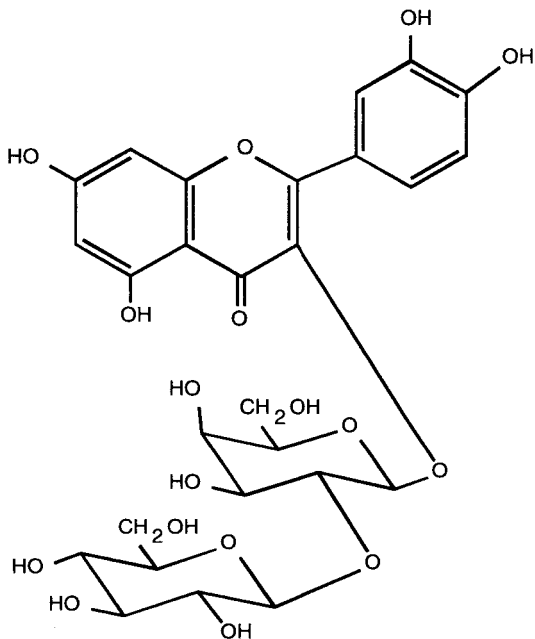


Figura 1. Compuesto RCHR-1: Quercetina 3-O-(β -D-glucopiranosil-(1''' \rightarrow 2'')- β -D-galactopiranosido)

Este compuesto fue reportado con anterioridad —en única oportunidad en 1984— por Strack *et al.* [18].

Compuesto RCHR-4: Escopoletina

El comportamiento de este compuesto en CCD frente a luz UV de 254 nm (color celeste pálido) y luz UV de 366 nm (color morado fluorescente intenso), nos permite plantear que debe ser una 7-hidroxicumarina o 7-hidroxi-6-metoxicumarina [14].

Su espectro IR exhibe absorciones características a 3422 cm^{-1} (estiramiento O-H), 2921 y 2841 cm^{-1} (estiramientos C-H alquílico), 1709 cm^{-1} (estiramiento C=O), 1569 y 1465 cm^{-1} (deformación C=C aromático), y 1124 cm^{-1} (estiramiento C-O) [16, 17]; todas las cuales son consistentes con las estructuras antes propuestas.

Su espectro UV (en MeOH) muestra máximos de absorción a 285 y 340 nm, y el espectro UV (en MeOH+NaOH) a 390 nm; siendo ambos juegos de valores consistentes con los de la 7-hidroxi-6-metoxi cumarina, escopoletina [8, 12].

Finalmente, el compuesto RCHR-4 fue sometido a CCD comparativas, con una muestra patrón de escopoletina, resultando que ambas tenían siempre el mismo valor de R_f e igual comportamiento frente a la luz UV de 366 nm. En conclusión, en base a todo lo antes expuesto, se puede afirmar que el compuesto RCHR-4 es la 7-hidroxi-6-metoxicumarina, escopoletina; cuya estructura se muestra en la Figura 2.

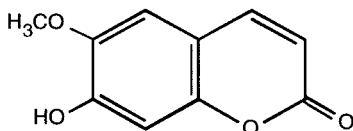


Figura 2. Compuesto RCHR-4: Escopoletina.

Compuesto RCHR-5: Acido 17-hidroxi-16a-ent-kauran-19-oico

El comportamiento de este compuesto en CCD frente a SbCl_3 -HOAc (color morado pálido) y bajo luz UV de 366 nm después de pulverizar el cromatofolio con SbCl_3 -HOAc (color rosado pálido), nos permite plantear que debe ser un diterpeno o un esteroide [14, 29].

Su espectro IR muestra absorciones características a 3409 cm^{-1} (estiramiento O-H), 2930 y 2852 cm^{-1} (estiramiento C-H alquílico), 1696 cm^{-1} (estiramiento C=O), 1468 y 1449 cm^{-1} (deformaciones C-H), 1255 (estiramiento C-O del grupo COOH), y 1044 y 1030 cm^{-1} (estiramiento C-O del grupo CH₂OH) [30, 31]; todas las cuales pueden ser parte de un diterpeno o un esteroide con un grupo OH (probablemente CH₂OH), y otro C=O (probablemente COOH).

El espectro 1D: RMN-¹H confirma la naturaleza diterpénica o esteroidal del compuesto RCHR-7, y muestra a su vez, señales características de ciertos fragmentos: las señales a δ 0,93 (s) y 1,28 (s) ppm pertenecen a dos grupos CH₃ angulares, la señal a δ 2,18 (s) ppm a un grupo CH, y las señales a δ 3,43 (dd) y 3,39 (dd) ppm pertenecen a un grupo CH₂OH [30, 31, 32].

El espectro 1D: RMN-¹³C muestra 20 señales, lo que permite establecer que el compuesto RCHR-5 es un diterpeno. Además, la señal a δ 183,52 (s) ppm nos indica que este diterpeno posee un grupo carboxilo (COOH) [30, 31, 32]. Asimismo, el número y la multiplicidad de las señales permiten plantear la fórmula global del compuesto como C₂₀H₃₂O₃.

El IDH para esta fórmula global es 5, y como sabemos que una de las insaturaciones corresponde al grupo carboxilo, entonces quiere decir que el compuesto RCHR-5 es un diterpeno tetracíclico. Entre los varios tipos de esqueletos de diterpenos tetracíclicos existentes (atisano, beyerano, giberelano, kaurano, etc) [33], el único que cumple con el número y tipo de carbonos que muestra el espectro del compuesto RCHR-5 es el kaurano.

Todas las señales del espectro RMN-¹³C fueron asignadas –en una primera aproximación– por comparación con compuestos modelo [10, 34-39], lo que permitió establecer que este compuesto era el ácido 17-hidroxi-16 α -ent-kauran-19-oico, el cual fue previamente reportado en 1987 [40] en especies de las familias *Annonaceae* y *Asteraceae*, y en 1994 [10] en otra especie de la familia *Asteraceae* (tribu *Senecioneae*, género *Werneria*).

Finalmente, la asignación definitiva de cada señal en los espectros RMN-¹H y RMN-¹³C del compuesto RCHR-5 se realizó en base al análisis de los espectros bidimensionales COSY-DQF ¹H-¹H (correlated spectroscopy - double quantum filtered) (Figura 3A y 3B), HMQC ¹H-¹³C (heteronuclear multiple-quantum coherence, or proton detected H,C-COSY) (Figuras 4A y 4B), y HMBC ¹H-¹³C (heteronuclear multiple-bond connectivity, or long range H,C-COSY) (Figuras 5a y 5b), cuyos resultados se muestran en la Tabla 1, y la Figura 6.

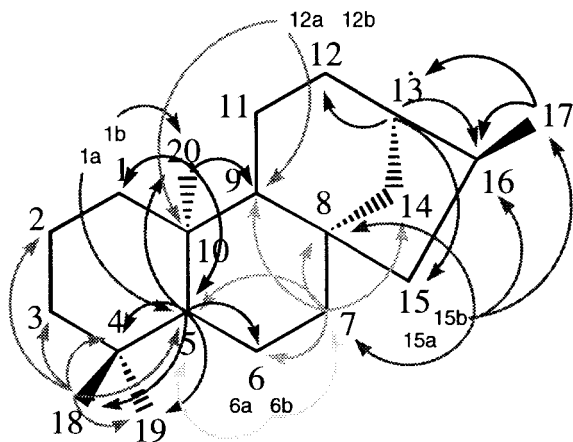


Figura 6. Esquema de las Correlaciones a dos (2) y tres (3) enlaces dadas por los Espectros HMBC ^1H - ^{13}C del Compuesto RCHR-5.

La estructura del compuesto RCHR-5 se muestra en la FIGURA 7.

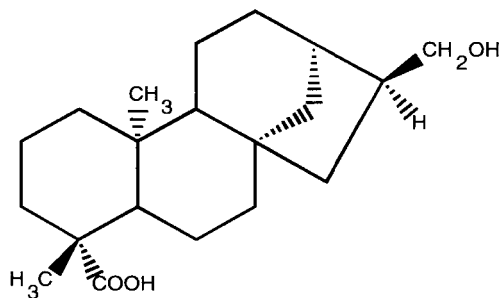


Figura 7. Compuesto RCHR-5: Ácido 17-hidroxi-16a-*ent*-kauran-19-oico

Tabla 1. Resultados del Análisis de los espectros bidimensionales COSY-DQF ^1H - ^1H , HMQC ^1H - ^{13}C , y HMBC ^1H - ^{13}C del Compuesto RCHR-5.

RMN- ^{13}C		PROTONES CORRELACIONADOS		COSY-DQF ^1H - ^1H
CARBONO	δ (ppm)	HMQC ^1H - ^{13}C	HMBC ^1H - ^{13}C	
C-1	40.72	H-1a (1.8-1.9 ppm), H-1b (0.75-0.8 ppm)	H ₃ -20	H-1a,H-1b
C-2	18.84	H ₂ -2 (1.6-1.65 ppm)	H ₃ -18	
C-3	37.82	H ₂ -3 (0.93-0.99 ppm)	H ₃ -18	
C-4	43.63	—	H-5, H ₃ -18	
C-5	56.97	H-5 (1.0-1.1 ppm)	H-6b, H ₂ -7, H-9a, H ₃ -18, H ₃ -20	
C-6	22.35	H-6a (1.85-1.88 ppm), H-6b (1.78-1.82 ppm)	H-5, H ₂ -7	
C-7	41.61	H ₂ -7 (1.4-1.45 ppm)	H-6b, H-15b	H-7,H ₂ -14, H-7,H-15b
C-8	44.72	—	H ₂ -7, H-15b	
C-9	55.30	H-9 (0.92-1.0 ppm)	H ₂ -7, H-12a, H ₃ -20	H-9,H-11a, H-13
C-10	39.59	—	H-12a	
C-11	19.06	H-11a (1.83-1.87 ppm), H-11b (1.45-1.55 ppm)	—	H-11a,H-9
C-12	31.35	H-12a (1.5-1.59 ppm), H-12b (1.33-1.42 ppm)	H-13	
C-13	38.13	H-13 (2.0-2.18 ppm)	H ₂ -17	H-13,H-9
C-14	37.16	H ₂ -14 (1.8-1.88 ppm)	H ₂ -7	H ₂ -14,H-7
C-15	44.97	H-15a (1.49-1.58 ppm), H-15b (0.83-0.91 ppm)	H-13, H ₂ -17	H-15a,H-15b H-15b,H ₂ -7
C-16	43.32	H-16 (1.88-1.97 ppm)	H-13, H-15b, H ₂ -17	
C-17	67.48	H ₂ -17 (3.42-3.51 ppm)	H-15b	
C-18	28.92	H ₃ -18 (1.16-1.24 ppm)	H-5	
C-19	183.52	—	H-5, H ₃ -18	
C-20	15.52	H ₃ -20 (0.86-0.96 ppm)	H-1b, H-5	

AGRADECIMIENTOS

Un especial agradecimiento al Quím. Marlon García y por su intermedio al Dr. Arturo San Feliciano, profesor de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Salamanca, por los espectros RMN que se presentan como parte sustancial de la presente investigación.

BIBLIOGRAFIA

1. Heywood, H.V., Harborne, J.B. Turner B.L. (eds.) (1977). **The Biology and Chemistry of the Compositae**, Vol. II. Academic Press, London.
2. Soukup, J. (1987). **Vocabulario de los Nombres Vulgares de la Flora Peruana**. Ed. Salesianos, Lima.
3. Bohlmann, F., Zdero, C., King, R., Robinson, H. (1984). *Phytochemistry*. **23**, 1135-1137.
4. Franco, J. (1989). Tesis para Optar el Grado de Magíster en Ciencias. P.U.C.P., Lima.
5. Seminario, G. (1989). Tesis para Optar el Grado de Bachiller en Química. P.U.C.P., Lima.
6. Lock de Ugaz, O., Franco, J., Seminario, G., Delle Monache, F., Millán, B., Ubillas, R., Schlemper, E., Tempesta, M. (1990). *Phytochemistry*. **29**, 2373-2375.
7. Peralta, A. (1987). Tesis para Optar el Grado de Bachiller en Química. P.U.C.P., Lima.
8. Chávez, H. (1992). Tesis para Optar el Grado de Magíster en Ciencias. P.U.C.P., Lima.
9. Piacente, S., Aquino, R., De Tommasi, N., Lock de Ugaz, O., Chávez, H. (1992). *Phytochemistry*. **31**, 2182-2184.
10. Piacente, S., Aquino, R., De Tommasi, N., Pizza, C., Lock de Ugaz, O., Chávez, H., Mahmood, N. (1994). *Phytochemistry*. **36**, 991-996.
11. Chávez, H., Lock de Ugaz, O. (1993). *Revista de Química de la P.U.C.P.* **7**, 31-39.
12. Bonilla, P. (1991). Tesis para Optar el Grado de Magíster en Ciencias. P.U.C.P., Lima.
13. De Tommasi, N., Aquino, R., De Simone, F., Piacente, S., Pizza, C. (1992). *Phytochemistry*. **31**, 1042-1043.
14. Lock de Ugaz, O. (1994). **Investigación Fitoquímica**. Fondo Editorial de la P.U.C.P., Lima.
15. Markham, K.R., Chari, V.M. (1982) en **The Flavonoids: Advance in Research** (Harborne, J.B., Mabry, T.J., eds.), Cap. 2. Chapman & Hall, London.
16. Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B. (1970). **The Systematic Identification of Flavonoids**. Springer-Verlag, Berlín.
17. Markham, J.R., Geiger, H. (1993) en **The Flavonoids: Advance in Research since 1986** (Harborne, J.B., ed.), Cap. 10. Chapman & Hall, London.

18. Strack, D., Meurer, B., Wray, V., Grotjahn, L., Austenfeld, F.A., Wiermann, R. (1984). *Phytochemistry*. **23**, 2970-2971.
19. Beier, R.C., Mundy, B., Strobel, G. (1980). *Canadian Journal of Chemistry*. **58**, 2800-2804.
20. Markham, K.R., Ternai, B., Stanlen, R., Geiger, H., Mabry, T.J. (1978). *Tetrahedron*. **34**, 1389-1397.
21. Agrawal, P.K., Bansal, M.C. (1989) en **Carbon-13 NMR of Flavonoids** (Agrawal, P.K., ed.), Cap. 6. Elsevier, Amsterdam.
22. Shigematsu, N., Kouno, Y., Kawano, N. (1982). *Phytochemistry*. **21**, 2156-2158.
23. Adell, J., Barbera, O., Marco, A. (1988). *Phytochemistry*. **27**, 2967-2970.
24. Simon, A., Chulia, A.J., Kaouadji, M., Allais, D.P., Delage, C. (1993). *Phytochemistry*. **33**, 1237-1240.
25. Yasukawa, K., Takido, M. (1988). *Phytochemistry*. **27**, 3017-3018.
26. Murakami, T., Wada, H., Tanaka, N., Kido, T., Iida, H., Saiki, Y., Chen, C. (1986). *Yakugaku Zasshi*. **106**, 982-988.
27. Marco, J.A., Adell, J., Barbera, O., Strack, D., Wray, V. (1989). *Phytochemistry*. **28**, 1513-1516.
28. Nagy, E., Seres, Y., Verzar-Petri, G., Neszmelyi, A. (1984). *Z. Naturforsch., B: Anorg. Chem., Org. Chem.* **39B**, 1813-1815. (1985). *Chemical Abstracts*. **102**, 348.
29. Domínguez, X.A. (1973). **Métodos de Investigación Fitoquímica**. John Wiley & Sons, México D.F.
30. Pretsch, E. (1980). **Tablas para la Elucidación Estructural de Compuestos Orgánicos por Métodos Espectroscópicos**. Alhambra, Madrid.
31. Silverstein, R.M., Bassler, G.C., Morrill, T.C. (1991). **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. John Wiley & Sons, New York.
32. San Feliciano, A. (1995). **Material Didáctico del Curso "Determinación Estructural de Compuestos Orgánicos basada en Métodos Modernos de RMN"**. P.U.C.P., Lima.
33. Hanson, J. (1968). **The Tetracyclic Diterpenes**. Pergamon Press, Oxford.
34. Yamasaki, K., Kohda, H., Kobayashi, T., Kasai, R., Tanaka, O. (1976). *Tetrahedron Letters*. **13**, 1005-1008.
35. Ellmauer, E., Jakupovic, J., Bohlmann, F. (1987). *Phytochemistry*. **50**, 221-224.
36. Li, X., Zhang, D., Onda, M., Konda, Y., Iguchi, M., Harigaya, Y. (1990). *Journal of Natural Products*. **53**, 657-661.
37. Grande, M., Macías, M.J. (1991). *Journal of Natural Products*. **54**, 866-869.

38. Hasan, C.M., Healey, T.M., Waterman, P. (1982). *Phytochemistry*. **21**, 1365-1368.
39. Herz, W., Kulanthaivel, P., Watanabe, K. (1983). *Phytochemistry*. **22**, 2021-2025.
40. Etse, J.T., Gray, A.I., Waterman, P.G. (1987). *Journal of Natural Products*. **50**, 979-982.