

4/6
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES DE CUAUTITLAN

ESTUDIO QUIMICO DE PRODUCTOS NATURALES CON ESQUELETO DE LONGIPINENO



T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
LAURA RODRIGUEZ SHOMAR



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O .

INTRODUCCION	I
PARTE TEORICA	II
DISCUSION DE LOS	
RESULTADOS	III
PARTE EXPERIMENTAL	IV
CONCLUSIONES	V
ESPECTROSCOPIA	VI
BIBLIOGRAFIA	VII

I N T R O D U C C I O N .

INTRODUCCION

La vida del hombre está íntimamente ligada con el medio ambiente y en particular a los vegetales, los cuales le proporcionan alimento, vestido, materiales de construcción, solaz, salud o muerte.

Las plantas en diversas formas han sido un factor decisivo en los fenómenos sociales y económicos para la evolución de la humanidad. Recordemos que el hombre primitivo hacía extractos de plantas y animales, los cuales usaba como pinturas, alimento o medicamentos para aliviar el dolor o los síntomas de enfermedad.

En particular el estudio de las plantas ha sido muy lento -- y a la identificación de plantas útiles o dañinas siguió la explotación y el cultivo de las primeras, el aislamiento de productos extraídos de las plantas fué el primer intento por conocer más a fondo sus propiedades y características. No es conocida con exactitud la etapa en que se inició el estudio de éstos extractos en forma científica, pero se cree que fué en el medio con el aislamiento de terpenoides en forma de aceites esenciales, usados principalmente como medicamentos o perfumes.

Los extractos de plantas son sustancias químicas provenientes del metabolismo, el cual podemos definir como el conjunto de procedimientos químicos, mediante los cuales el organismo -- crea y mantiene sustancias, genera energía para crecer y desempeñar sus funciones. Los procedimientos metabólicos son variados y complejos, dependiendo de cada organismo. Los productos del metabolismo son compuestos orgánicos fácilmente aislables y tienen una importancia histórica dentro de la química orgánica y que son :

- Las grasas, los carbohidratos, las proteínas, los ácidos nucleicos (DNA, RNA), desempeñan papeles preponderantes en el funcionamiento del organismo, estos están presentes en casi todos los seres vivos y se conocen como metabolitos primarios.

Los organismos usan también otras rutas metabólicas elaborando productos que al parecer no tienen ninguna utilidad aparente conocida, éstos son los metabolitos secundarios y su distribución en la naturaleza tiende a ser dependiente de la especie, se conocen también con el nombre de productos naturales pudiendo definirse como los compuestos orgánicos de origen natural que son únicos o comunes a un número de especies.

Ahora bien es indudable que en los últimos años a surgido un renovado interés por conocer y estudiar los productos naturales y en particular los de plantas medicinales. La herbolaria está sufriendo un nuevo auge y es bueno saber que la cubierta vegetal de México es una de las más extensas y variadas de todo el mundo, ya que en su territorio están todos los grandes biomas descritos de la superficie terrestre, desde desiertos, hasta las densas y frondosas selvas, las zonas netamente tropicales y las zonas frías de las altas montañas.

Uno de los géneros más abundantes en México lo constituyen las Stevias las cuales son plantas arbustivas y herbáceas y son muy significativas en las zonas templadas de la República Mexicana; se han encontrado distribuidas en la Sierra Madre Occidental, Sierra Madre Oriental, Serranía Meridional, Serranía Transmexicana, Norte de Jalisco, Valle del Mezquital, etc...

El presente es el estudio de la Stevia lucida lag. var. -- Lucida cuya clasificación botánica es:

Reino	Vegetal
División	Spermathophyta
Subdivisión	Angioespermae
Clase	Dicotiledoneae
Orden	Synandreae
Familia	Compuestas
Tribu	Eupatoriae
Género	Stevia
Especie	lucida
Variedad	Lucida

Siendo el objetivo principal el aislamiento, purificación y determinación de estructuras de los metabolitos secundarios más abundantes que se encuentran en la parte subterránea de la Stevia lucida lag. var. Lucida. Apoyándonos en reacciones químicas y métodos espectroscópicos (I.R.; RMN-H; E.M; U.V.; y - rotación óptica), para la elucidación de estructuras, R-X.

P A R T E T E O R I C A .

PARTE TEORICA:

En los organismos vivos los compuestos químicos son sintetizados y degradados por medio de una serie de reacciones químicas mediadas por enzimas. Estos procesos son conocidos como metabolismo (catabolismo - degradación; anabolismo-síntesis).

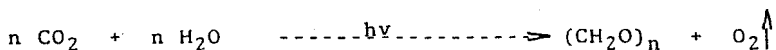
Todos los organismos poseen metabolismos semejantes por medio del cual sintetizan y utilizan ciertas especies químicas esenciales que son: azúcares, aminoácidos, ácidos grasos, ácidos nucleicos y los polímeros derivados de ellos, éstos son conocidos como metabolitos primarios. Los organismos usan rutas alternas para producir otros compuestos químicos conocidos como metabolitos secundarios.

La división que existe entre metabolitos primarios y secundarios, no está bien definida, sin embargo es bien sabido que existen tres materiales principales para la síntesis de metabolitos secundarios, estos son:

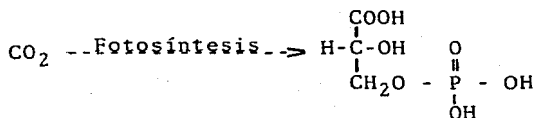
- 1) Acido Shikimico.- Precursor de compuestos aromáticos.
- 2) Aminoácidos.- Dan lugar a antibióticos peptídicos y alcaloides.
- 3) Acetato.- Precursor de poliacetileno, prostaglandinas, polifenoles, antibióticos macrocíclicos y los isoprenoides (terpenos, esteroides y carotenoides).

En éste caso nos enfocaremos al tercer tipo que son los que sintetizan los terpenoides.

La materia prima de las plantas es el bióxido de carbono, esta unidad estructural inicia un proceso conocido como fotosíntesis para dar azúcares y derivados de éstos :

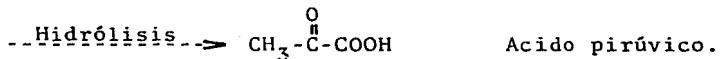
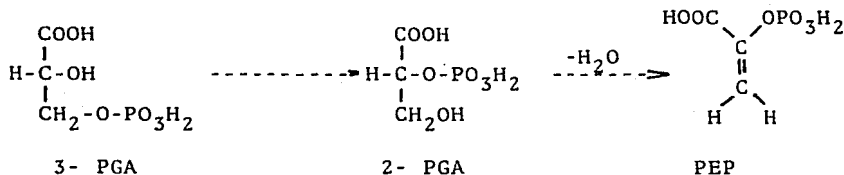


La conversión se cataliza por medio del pigmento verde llamado clorofila y por la acción de enzimas. La energía requerida para el funcionamiento del aparato fotosintético proviene de la luz solar. Uno de los primeros productos estables que se pueden identificar es el ácido 3 fosfoglicérico (3-PGA).



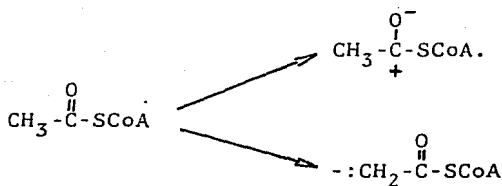
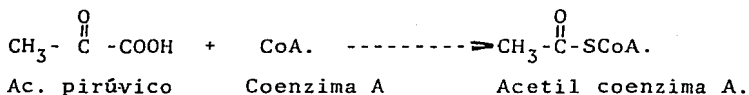
Acido 3- fosfoglicérico.

Esta sustancia se isomeriza en ácido 2- fosfoglicérico (2-PGA) que sufre una deshidratación dando paso al ácido fosfoenol pirúvico (PEP). El ácido fosfoenol pirúvico se hidroliza dando ácido pirúvico y ión fosfato.

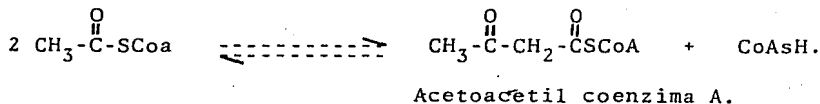


El ácido pirúvico más la coenzima A nos da la acetil coenzima A. La acetil coenzima A es un tioéster equivalente biológico del acetato de etilo. Los grupos S-R desempeñan dos funciones:

- a) Activa el grupo acetilo para el ataque nucleofílico.
- b) Hace que los protones $-\text{CH}_3$ sean más ácidos para efectuar la enolización.

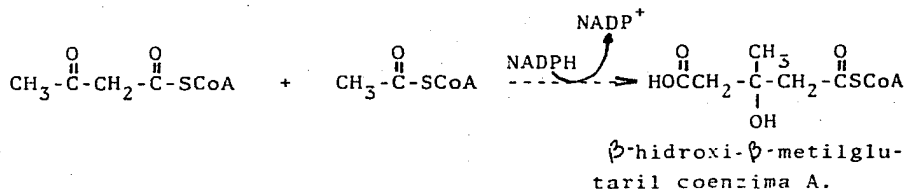


Siguiendo una condensación de Claisen se da lugar a la acetil coenzima A.

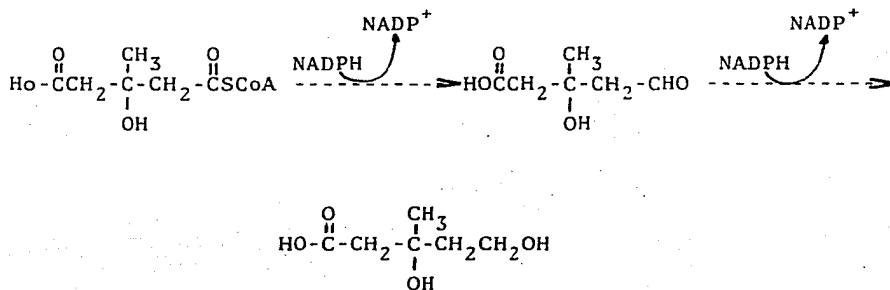


Esta molécula reacciona con otra molécula de acetil coenzi

ma A en forma de condensación aldólica dando β -hidroxi- β -metil glutaril coenzima A.

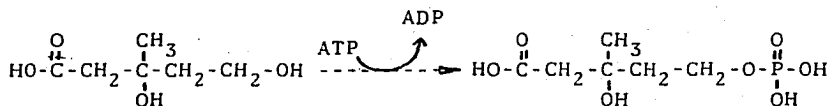


El agrupamiento se reduce primero a un ácido hidroxi aldehídico y luego a un ácido dihidroxilo; el mevalónico.



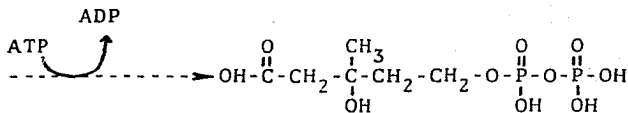
El NADPH (dinucleótido de niacina adenina fosfato) el cual actúa como un reductor.

El ácido mevalónico se convierte en dos etapas, en ácido mevalónico-5-pirofosfato. La fosforilación se logra mediante la ayuda de otra coenzima, el trifosfato de adenosina conocido como ATP.



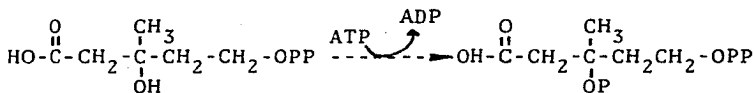
Acido mevalónico

Acido-5-fosfato mevalónico.

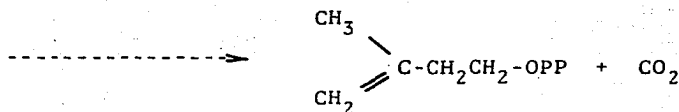


Acido-5-pirofosfato mevalónico.

El ácido-5-pirofosfato mevalónico se vuelve a fosforilar una vez más convirtiéndose en ácido-3-fosfato-5-pirofosfato - que sufre una eliminación descarboxilativa para producir pirofosfato de isopentilo.

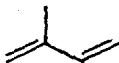


Acido-3-fosfato-5-pirofosfato mevalónico.



Pirofosfato de isopentilo.

El pirofosfato de isopentilo es la unidad isopreno biológica y es considerada la unidad básica de los terpenos. Los terpenos se dividen en grupos dependiendo del número de unidades isopreno que contenga la molécula.



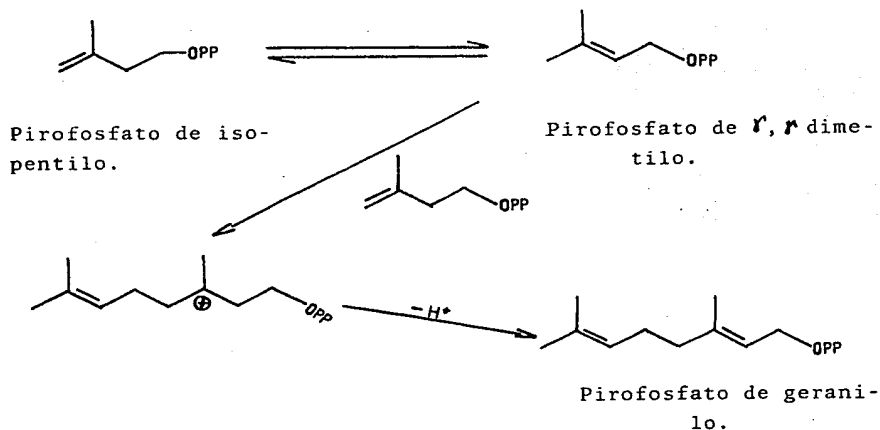
2 metil 1,3 butadieno
ISOPRENO.

	No. Carbonos	Unidades isopreno
Hemiterpenos	5	1
Monoterpenos	10	2
Sesquiterpenos	15	3
Diterpenos	20	4
Sesteterpenos	25	5
Triterpenos	30	6
Politerpenos	n	n

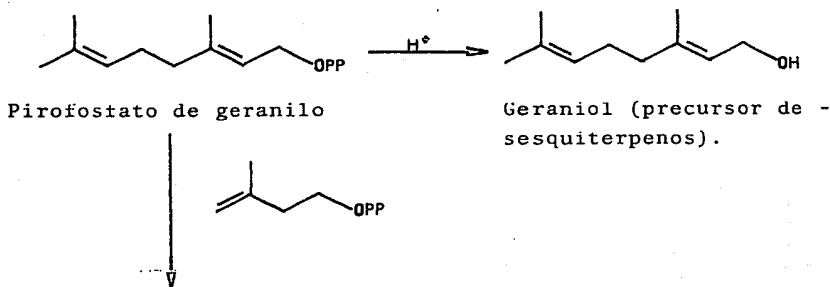
Estas sustancias siguen la regla del isopreno debido a que su estructura esta formada por dos, tres, cuatro unidades isoprenicas en un orden establecido, nombrandoseles como uniones cabeza-cola; cola-cabeza; no obstante existen excepciones a la regla, encontrandose uniones de tipo cola-cola; cabeza-cabeza, las cuales son conocidas como anormales.

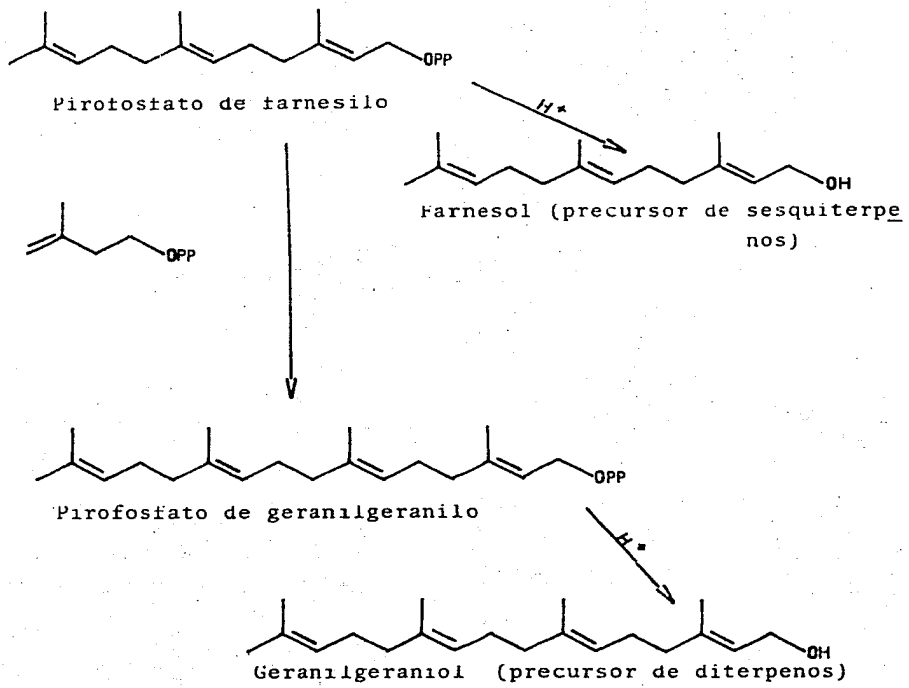
El pirofosfato de isopentilo se isomeriza en pirofosfato de γ, δ dimetilalilo, el cual se activa y favorece mecanismos de SN-1 y SN-2. El acoplamiento de pirofosfato de γ, δ dimetilalilo

da pirofosfato de geranilo:

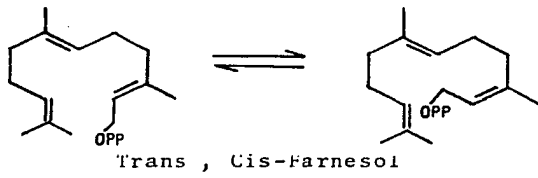


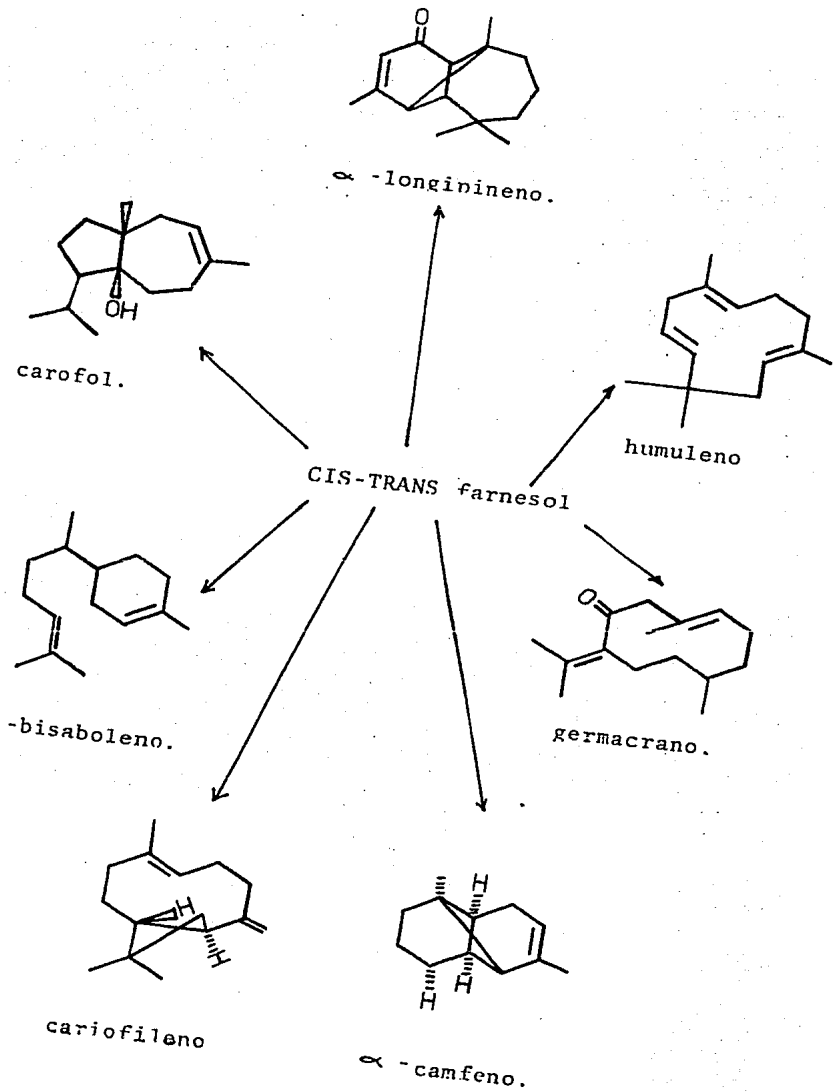
El pirofosfato de farnesilo y el pirofosfato de geranilgeranilo se elaboran mediante alquilaciones sucesivas del pirofosfato de isopentilo. La hidrólisis de éstos productos producen los alcoholes de terpenos acíclicos:





El farnesol es el sesquiterpeno más sencillo al que se le considera precursor de los demás sesquiterpenos.





Los longipinenos fueron aislados por primera vez en 1963 -- de extractos de madera del Pinus silvestris L. y extractos de turpentina suiza; el extracto de turpentina es extraído básicamente de la madera de pino, pero contiene compuestos derivados de otras especies a partir de hojas y troncos; en 1967 se hicieron estudios de aceites esenciales de ramas, hojas y troncos; - en doce especies diferentes de Picea, Pinus, Tsuga con la finalidad de determinar diferencias entre las coníferas, encontrándose que en todas las especies de Picea y en algunas de Pinus - se encontraba α - longipineno. (1,2,3,4)

En 1968 el estudio de la coníferas fué más extenso debido a que éstas tenían una gran comercialización, se utilizaba en gran medida su madera y se realizaron estudios del Pino, Cedro, Abeto, del aceite de turpentina Indio y se encontró entre otras sustancias α - longipineno. (5,6,7,28)

En 1973 de Scapania undulata que son plantas del Japón grandes sin flores, se aisló α - longipineno con una rotación óptica negativa. (32)

En 1975 se realizó un estudio de los aspectos biológicos y genéticos del Pinus pinaster en donde se encontró que la ----- presencia de los alelos que permiten la asignación genética -- para la síntesis de longipinenos está íntimamente relacionada -- con la síntesis de longifoleno ambos tienen un Locus dominante para su síntesis en los Pinus pinaster. (17)

En 1978 estudios de la goma de turpentina China y en 1980 el estudio de los abetos Abies sachalinensis; A. mayriana y A. gracilis demostraron la presencia de α - longipineno. (20,18)

En estudios de Pinus pinea y del Abeto normanniana más recientes (1981-1982) se han realizado estudios de cromatografía

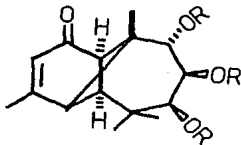
de líquidos a alta presión se ha determinado en que cantidad se encuentran los longipinenos, se ha visto que éstos ocupan un porcentaje aproximado al 2.3% del total de los productos en todos los casos. (21, 22).

Sin embargo, los longipinenos no solo se encuentran en las coníferas como se ha señalado hasta ahora, sino que también se encuentran en otras plantas, tales como:

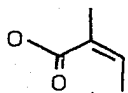
Pseudosuga menziessi, la cual fué estudiada en 1974 y el objetivo del estudio fué determinar cual era la relación de los productos naturales en las hojas jóvenes y en las hojas maduras, se observó que en las hojas maduras siempre aparece α -longipineno y en las hojas jóvenes no. (8).

En 1975 en Polipteris texana se encontraron cuatro diferentes longipinenos a los que se les designo como:

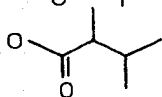
- 1) 8 β -9 α -diangeloiloxi-7 β hidróxi(oxo-2,3)H α -longipineno.
- 2) 8 β -9 α -diangeloiloxi-7 β hidróxi(oxo- α -longipineno).
- 3) 9 α -angeloxi, 7 β -hidróxi-8 β -isovaleriloxi-1-oxo, 2,3-longipineno.
- 4) 9 α -angeloxi, 7 β -hidroxi-8 β -isovaleriloxi-1-oxo- α -longipineno. (9).



- 1 R=R'=COMe=CHMe; R''=H
- 2 R=R'=COMe; R''=H
- 3 R=COCMe=CHMe; R'=(CH₂)₂CHMe₂
- 4 R=COCMe=CHMe; R'=(CH₂)₂CHMe₂
R''= H.

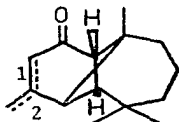


Angelato



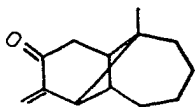
Isovalerato.

En 1977 en muestras de Scapania undulata estudiada por cromatografía de líquidos-gas se encontraron α , β longipinenos - en una relación 3:1. (10).

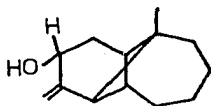


- 2) β -longipineno
- 1) α -longipineno.

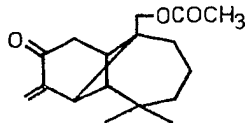
De plantas mayores como Marsupella emarginata subsp. tubulosa en 1979 se localizaron tres estructuras a las que se les denominó marsupellona, (+) marsupello1 y (+) acetoximarsupellona las cuales contienen un esqueleto ent-longipineno. (11).



marsupellona

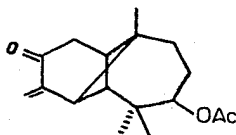


marsupello1



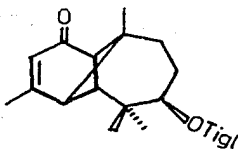
acetoximarsupellona.

Otro ent-longipineno se aisló también en Marsupella aquatica en 1981 y se le denominó (-) ent- 12 β -acetoxilongipinin-2-(10) ent-3-ona. (12).



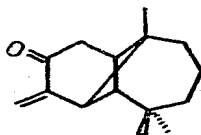
ent-12- β -acetoxilongipinin-2-(10)en-3-ona.

Durante el estudio de Eupatorieae delphus purpureus en 1980 - junto con otros productos fué aislado un tiglato que por datos - comparativos con RMN-H se le dió el nombre del 7 β -tiglinoiloxi-1-oxo- α -longipineno. (14).



7 β -tiglinoiloxi-1-oxo- α -longipineno.

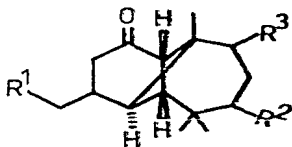
Estudios en la raíz de Artemisia filifolia en 1982 en suma a otros compuestos conocidos se encontro un oxo-longipineno, al que se le denominó longipinen-2-ona (13). Este producto es un ent-longipineno y primero se había aislado con el nombre de marsupellona.



longipinen-2-ona.

En estudios de Artemisia douglasiana en 1982 encontraron cinco derivados diferentes de longipinenos en una mezcla de 20 mg. La estructura y los nombres se dan a continuación:

- 1 y 2) 7 α - 6 β -hidróxi- α -longipinen-1-ona.
- 3 y 4) 9 α - 6 β -hidroxi- α -longipinen-1-ona.
- 5) 15-hidróxi- α -longipinin-1-ona.



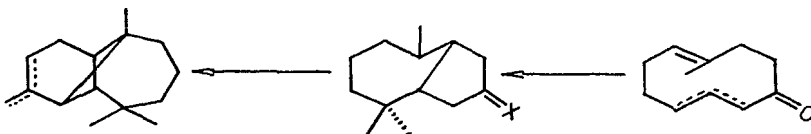
	1	2	3	4	5
R'	H	H	H	H	OH
R''	OH,H	OH,H	H ₂	H ₂	H ₂
R'''	H ₂	H ₂	OH,H	OH,H	H ₂

Por otra parte en el estudio de oleo resinas de Larix olgensis en 1983 se aislaron en una fracción sesquiterpénica y entre otros productos α -longipineno en una pequeña cantidad (23). Del folleje de Dacrydium cupressinum en 1985, el principal sesquiterpeno - fué α - longipineno, siguiéndole longiborneno y otros, durante el desarrollo del estudio se observó que hay una estrecha relación entre la presencia de α -longipineno y longiborneno (15, 27)

En el estudio de los productos naturales los químicos no se --

conforman solo con aislar y determinar las estructuras de los productos que se encuentran, ellos siempre pretenden ir más lejos y sintetizar los productos naturales que se encuentran en la naturaleza. Los longipinenos no se han escapado a ésta inquietud ya que la síntesis de α -longipineno constituye un buen reto para el químico que se dedica a la síntesis orgánica.

Así en 1971 se realizó el primer intento utilizando 1,5,5-trimetilciclodecadieno-1,6-dien-8-ona, para realizar una fotociclización intramolecular obteniéndose después de muchos pasos dos productos que pueden ser intermediarios del α y/ó β -longipineno (28).

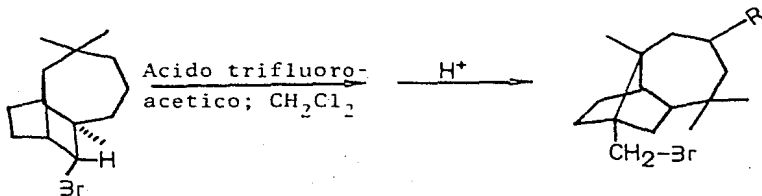


β ó α -longipineno.

a) X=CH₂

b) X=O

En 1972 se realizó otro intento utilizando un producto tricíclico un derivado de longiborneno, el cual por medio de transformaciones que involucran a los carbonos 1 y 7 del enlace bicíclico, se genera una estructura bicíclica de himachaleno para darnos finalmente el longipineno, éste intento se quedó en la formación de dos cetonas a partir de las cuales se buscaría una transformación para obtener el himachaleno y α -longipineno (29)

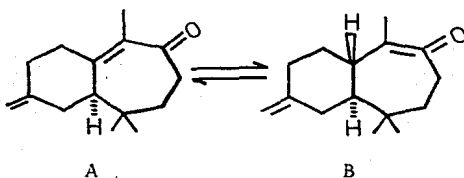


-bromolongifoleno.

1) R = -OH

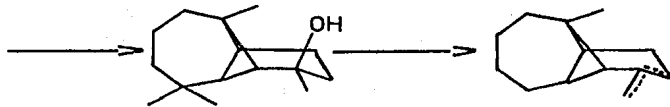
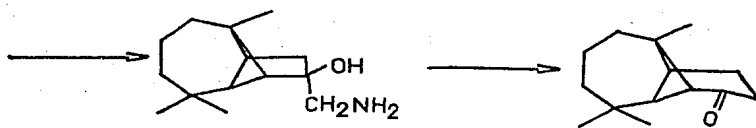
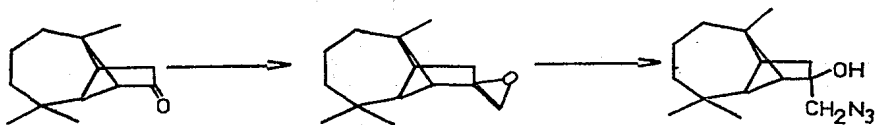
2) R = O

DMSO - NaH



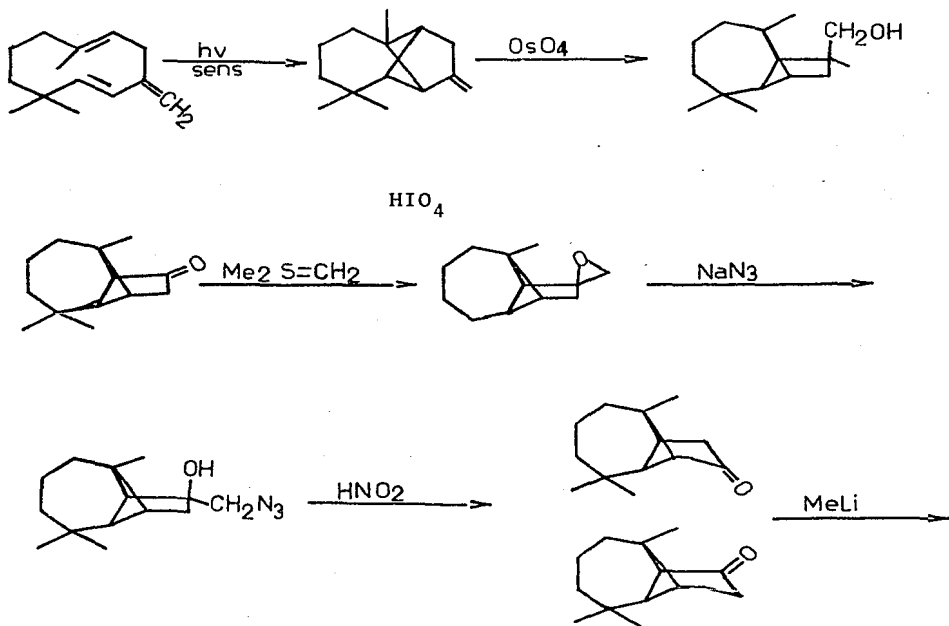
Cetonas A y B.

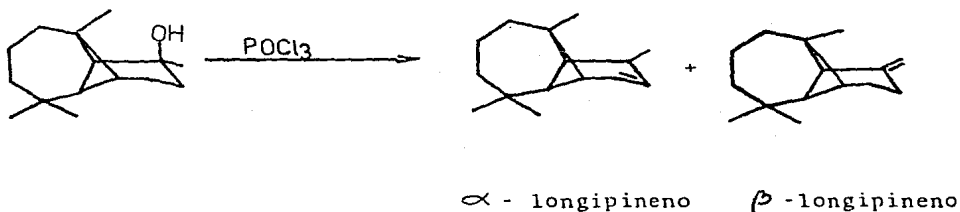
En Japón en 1972 se realizó una síntesis total de la mezcla racémica de α y β -longipinenos, utilizando una cetona para iniciar la síntesis por medio de una reacción de expansión del ciclo. A partir de una cetona con metilida de dimetilsulfonio bajo condiciones estándar se obtiene un oxirano el cual se hace reaccionar con azida de sodio y dimetil formamida, obteniéndose un alcohol ácido; éste alcohol ácido se hidrogena sobre un catalizador de Adams en ácido acético dándonos un alcohol amido; se purifica y trata con nitrito de sodio en ácido acético dando un producto cetónico el cual por medio de metil litio nos da un trans longipineno, con un tratamiento de oxicloruro de fósforo en piridina nos da una mezcla de α , β -longipineno en relación 4:3 (30)



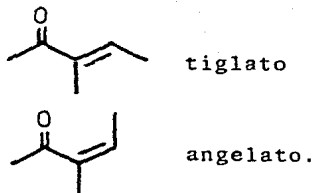
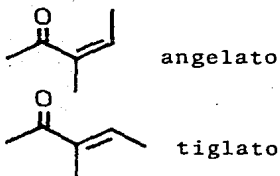
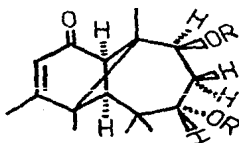
α y β longipineno.

En 1973 Masaaki Miyashita a partir del metil ciclodecadiéno vía fotociclización intramolecular realizó la síntesis de $(+)$ - α -longipineno y $(-)$ - β -longipineno. El metilciclodecadiéno -- fué irradiado con una lámpara de Hg. de alta presión, através de un filto Pyrex usando α -acetonaftona como sensibilizador ob-- teniéndose un cicloaducto que es convertido vía glicol con te-- tróxido de osmio y después con ácido periódico, en tetrahidrofufano, en una acetona la cual por medio de una reacción de Tiffe-- neau-Demjanov nos da aminoalcoholes y nuevas cetonas, éstos ami-- noalcoholes reaccionan con metil-litio produciendo un carbinol - y longipinanol, con POCl_3 nos da una mezcla olefínica de $(+)$ - α - longipineno; $(-)$ - β -longipineno en un rendimiento del 48% y - 36% respectivamente. (31)

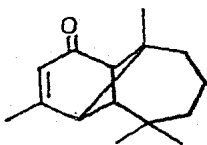




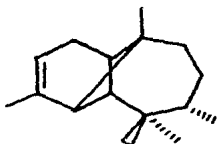
El descubrimiento de diterpenos glicósidos intensamente dulces en las hojas de Stevia rebaudiana Bertoni inició el estudio de éste gran género en América; algunas especies de éste género presentan estructuras de longipinenos, tal es el caso de la -- Stevia jaliscensis Robinson, en donde fueron aislados dos longipinenos; el a) 9 β -angeloiloxi-7- α -tiglinoiloxi y b) 7 α -angeloiloxi-9- β -tiglinoiloxi-oxo- α -longipineno en 1976. (34)



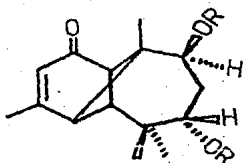
En la Stevia ovata Willd se localizaron algunos derivados de longipinenos, en 1977; los cuales fueron elucidados por espectros copia resultando:



1-oxo- α -longipineno

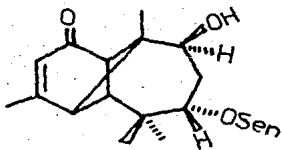


7- α -hidroxi-1-oxo- α -longipineno

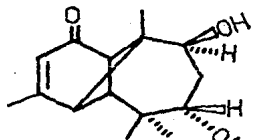


7- α -, 9- β diangeloiloxi-1-oxo- α -longipineno.

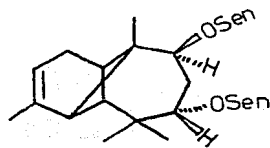
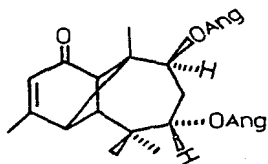
7- α -, 9- β digenesioiloxi-1-oxo- α -longipineno.



7- α -senecioiloxi-9- β -hidroxi
1-oxo- α -longipineno.

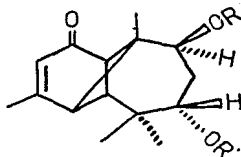


7- α -angeloiloxi-9- β -hidroxi-1-oxo- α -longipineno.



7 α - 9 β diangeloiloxi-1-oxo α -longipineno.

7 α - 9 β -dicenecioiloxi-1-oxo α -longipineno.



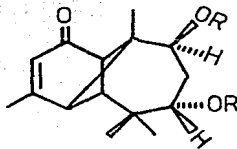
	1	2.	3	4	5	6
R	ang.	meacr.	ang.	ang.	tigl.	meacr.
R'	meacr.	ang.	sen.	H	sen.	sen.

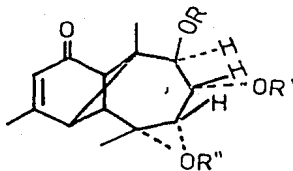
meacr. = $\text{COC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$

ang. = $\text{COC}(\text{CH}_3)=\text{CHCH}_3$ (cis).

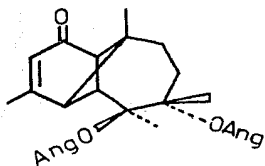
tigl. = $\text{COC}(\text{CH}_3)=\text{CHCH}_3$ (trans)

mebu. = $\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$



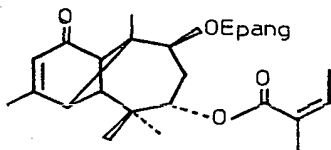


	7	8	9	10
R	tygl.	tygl.	meacr.	meacr.
R'	tygl.	meacr.	tygl.	meacr.
	11	12	13	
R	ang.	ang.	ang.	
R'	ang.	mebu.	mebu.	
R''	H	H	OH.	



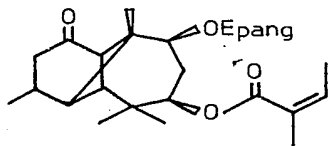
7- α -12-diangeloiloxy-1-oxo- α -longipineno (35).

En Stevia Mandonii se encontraron tres derivados de α -longipineno que son:

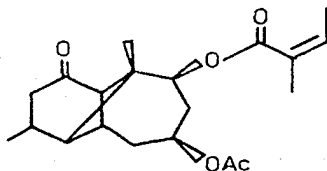


Epang= 2,3 Epoxi-2 Metil
butiril.

7- α -angeloiloxy-9- β -(2,3-epoxi-2 metilbutriloxi)-1-oxo α -longipineno.

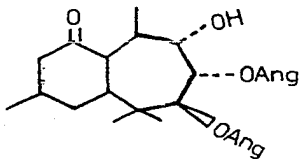


7- α -angeloiloxy-9- β -(2,3-epoxi-2 metilbutriloxi)-2,3-dihidro-1-oxo- α -longipineno.

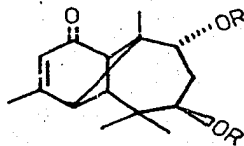


7 α aceto-9 β angeloiloxi-2,3 dihidro-1-oxo α -longipineno. [36]

En 1981 se aisló un producto de la raíz de Stevia serrata y Stevia rhombifolia al cual se le conoce como "rasteviona"; la principal diferencia entre la rasteviona y el longipineno es la insaturación en el ciclo de seis miembros y el átomo de oxígeno en la posición ocho.

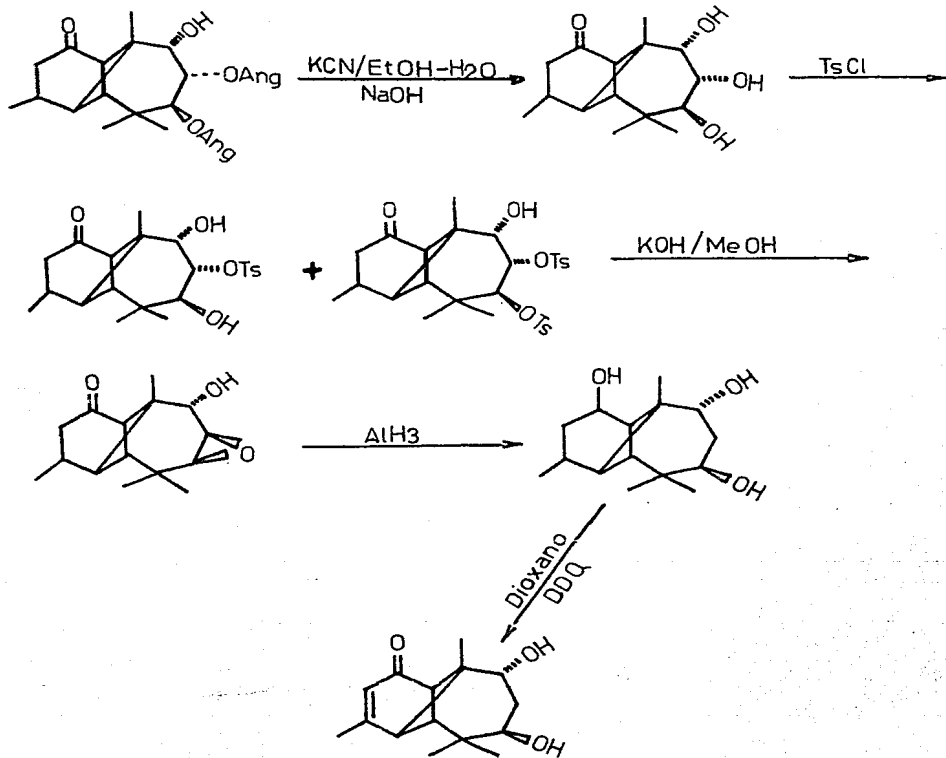


rasteviona



α - longipineno.

A partir de Stevia salicifolia se obtuvo un α -longipineno al cual se le nombró longipinin-2-ene-7,9-diol-1-ona de donde se comprobó el cambio de la rasteviona encontrada en S. serrata y S. rhombifolia las transformaciones químicas que se realizan en la estructura son las siguientes:



DDQ = 2,3 dicloro 5,6 diciano-1,4 benzoquinona.

DISCUSION DE LOS

RESULTADOS.

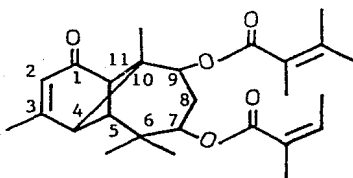
DISCUSION DE LOS RESULTADOS:

De la cromatografía en sílica-gel del extracto de acetato de etilo de la raíz de la Stevia lucida lag. var. Lucida se obtuvo un producto de consistencia aceitosa de color amarillo verdoso, el cual fué purificado por cromatografía en columna, la estructura de éste producto se elucidó en base a las siguientes evidencias químicas y espectroscópicas.

El producto presenta $[\alpha]_D^{25} = +42.27$, $\lambda_{\text{max}}/\text{EtOH} = 213 \text{ nm}$ ($\epsilon = 15556.36$) (espectro 1). El espectro de IR (espectro 2) presenta una banda en $3005\text{-}1615 \text{ cm}^{-1}$ que corresponde a una doble ligadura, la banda en $1710\text{-}1250 \text{ cm}^{-1}$ corresponde a un éster de tipo α, β -insaturado la banda en 1670 cm^{-1} corresponde a una cetona α, β -insaturada, las bandas en $1295\text{-}940$ y 850 cm^{-1} son debidas a dobles ligaduras de éster en posición trans en 1070 y 1020 cm^{-1} se presentan bandas de carboxilo del éster.

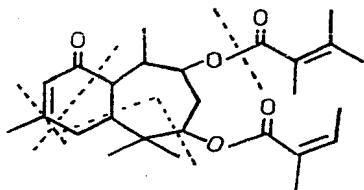
En el espectro de RMN (espectro 3), se observa a 6.02 ppm una señal simple que corresponde a protones de ésteres α, β -insaturados, en 5.70 ppm observamos una simple ancha para un protón vinílico, en 3.15 ppm ($J=4 \text{ Hz}$) hay una doble señal que integra para un solo protón, en 2.75 ppm una señal simple para un solo protón que está cercano a una cetona, en 2.63 ppm ($J=4 \text{ Hz}$) hay una señal doble que integra para doce protones de metileno cercanos a dobles ligaduras, en 1.82 ppm una señal simple que integra para tres protones que corresponden a un metileno, 1 ppm una señal simple que integra para seis protones que pertenecen a grupos metilos.

En base a las anteriores evidencias espectroscópicas se infirió que ésta sustancia debía ser un sesquiterpeno derivado del esqueleto de α -longipineno (I).



α - longipineno (I).

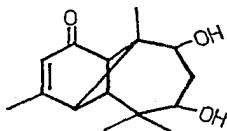
En el espectro de masas (espectro 4), el ión molecular M^+ se encuentra en m/z 414.3 que corresponde al análisis elemental para la fórmula condensada $C_{25}H_{34}O_5$. Presenta el pico base en m/z 330.9 M^+ $-(C_5H_8O)$, y como picos de mayor abundancia m/z --- 400 M^+ $-(CH_2)$, m/z 261 M^+ $-(C_4H_5O)$ y m/z 206.8 M^+ $-(C_4H_7)$. Las distintas fragmentaciones están representadas en el esquema (I).



--- C_5H_8O ---	m/z 330.9 M^+ (100%)
--- CH_2 ---	m/z 400 M^+ (0.8%).
--- C_4H_5O ---	m/z 261 M^+ (12.1%).
--- C_4H_7 ---	m/z 206.8 M^+ (7.7%).

Esquema I.

Para comprobar la estructura el compuesto anterior se sometió a una hidrólisis alcalina con una solución alcohólica de hidróxido de sodio, obteniéndose el diol correspondiente (II), -- de p.f. 170-172°C, cuyo análisis elemental es correcto para -- $C_{15}H_{22}O_3$.



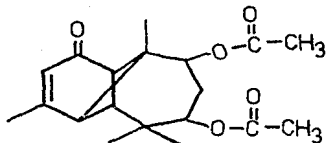
Estructura II.

El compuesto presenta una $[\alpha]_D^{25} = + 76$. Su espéctro de IR - (espéctro 5), muestra bandas en $3680 - 3619 \text{ cm}^{-1}$ que pertenecen a OH, la banda intensa en 1671 cm^{-1} corresponden a la doble ligadura de la cetona α, β insaturada.

La RMN (espéctro 6) en la región de campo alto presenta - una señal doble que integra para tres protónes que corresponden al metilo en C-15, en 1 ppm aparece una señal simple que integra para seis protones que corresponden a C-13 y C-14, en 1.8-ppm se presenta una señal simple que integra para tres protones de metilo que corresponden a C-12, en 1.9 ppm se presenta una - señal doble que integra para un protón correspondiente a C-9 y en 2.25 ppm el que integra para el protón en C-7, en 2.55 ppm - (J= 1.5 Hz) aparece una señal doble de doble asignado al protón en C-5 y en 3.25 ppm (J=2HZ) una señal doble de doble asignado al protón en C-4, en 3.65 ppm se presenta una señal simple que integra para los protones correspondientes al alcohol en C-7 y C-9 en 3.80 ppm y 4 ppm se presentan las señales dobles que integran cada una para un solo protón que corresponde a C-8 y en 5.75 ppm una señal doble que integra para protón vinílico en - C-2.

La acetilación del alcohol (II) en presencia de cloruro de acetilo y piridina, dió como resultado el diacetato (III), con un p.f. 100-105 °C, cuyo análisis elemental concuerda con la

fórmula condensada $C_{19}H_{26}O_5$.



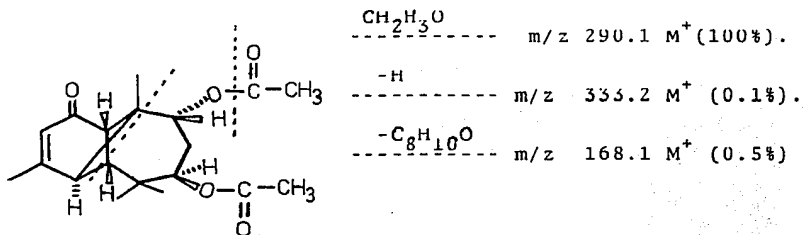
Estructura III.

El espectro de UV (espectro 7) presenta una λ max. de absorción en 250 nm. ($\epsilon = 14195$). Su IR (espectro 8), muestra señales en 1781-1248 cm^{-1} que pertenecen al acetato, la banda en 1673 cm^{-1} pertenece a la cetona α, β insaturada y la banda en 1617 cm^{-1} a la doble ligadura.

En la RMN (espectro 9) se puede observar en 5.76 ppm una señal doble que integra para un protón vinílico que corresponde a C-2, en 4,8 ppm se encuentra una señal múltiple que integra para dos protones correspondientes a C-8, en 3.15 ppm ($J = 1.5$ Hz) se presenta una señal doble que corresponde a un protón en C-4 y 2. En 6 ppm ($J = 2$ Hz) se presenta una señal doble de doble que corresponde a C-5, en 2.55 ppm encontramos una señal simple que integra para un protón que corresponde a C-11, en 2.15 ppm aparece una señal simple que integran para dos protones y que pertenecen a los grupos carboxilo del acetato, en 2.05 ppm encontramos una señal simple que integra para seis protones que corresponden al C-12, en 1 ppm encontramos una señal doble que integra para seis protones que corresponden al C-13 y C-12 y en 0.9 ppm una señal simple que integra para tres protones y que corresponde a C-15.

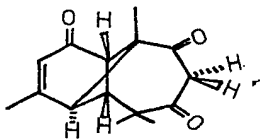
En el espectro de masas (espectro 10), el ión molecular M^+

se encuentra en m/z 334 que corresponde al análisis elemental para la fórmula condensada $C_{19}H_{26}O_5$. Presenta el pico base en m/z 290.1 M^+ $-(C_2H_3O)$ y como picos de mayor abundancia m/z --- 332.1 M^+ $-(H)$, m/z 168.1 M^+ $-(C_8H_{10}O)$. La fragmentación de la estructura está representada en el esquema II.



Esquema II.

La oxidación del diol (II) con reactivo de Jones, dió lugar a una dicetona (IV) de p.f. 110-115 °C, cuyo análisis elemental concuerda con la fórmula $C_{15}H_{18}O_3$.



Estructura IV.

El espectro de UV (espectro 11) presenta una λ max. de ab-

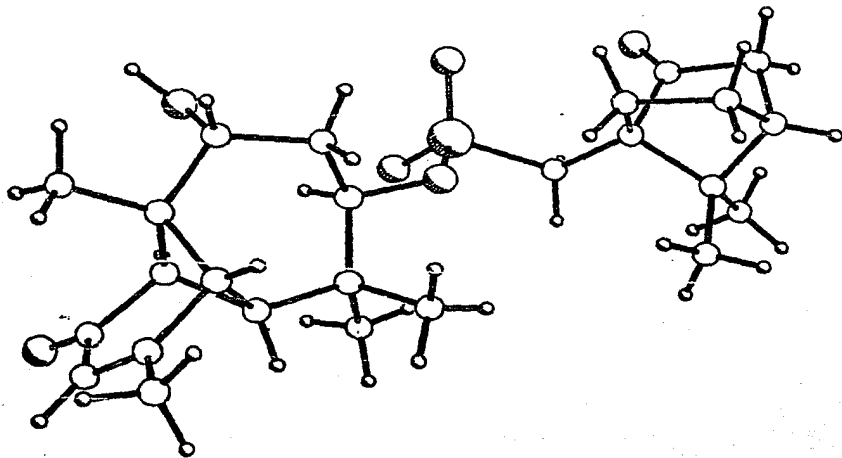
sorbancia a 206 nm. ($\epsilon = 10209$) y una λ max. de 260 nm ($\epsilon = 12054$). El IR (espectro 12) muestra una señal en 1720 cm^{-1} debida a las dicetonas, la banda 1675 cm^{-1} es la que nos indica la presencia de la cetona α , β insaturada, y la banda en 1615 cm^{-1} representa a la doble ligadura.

En la RMN (espectro 13) puede observarse una señal en 5.9 ppm que corresponde al protón vinílico en C-2, en 4.3 ppm ($J=3$ Hz) se presenta una señal doble de doble que integra para un solo protón que corresponde a C-8, en 3.9 ppm ($J=3\text{Hz}$) se ve una señal doble de doble que integra para un solo protón que corresponde a C-8, en 3.6 ppm ($J=2$ Hz) observamos una señal doble que integra para un solo protón que corresponde a C-4, en 2.75 ppm ($J= 1.5$ Hz), se presenta otra señal doble que integra para C-5 en 2.55 ppm una señal simple fina que integra para un protón que corresponde a C-11, a campo alto siguen apareciendo las señales para los metilenos en C-13, C-14, C-15 (1.25, 1.28 ppm)

Para tener una información adicional sobre la estructura -- propuesta para el compuesto I se realizó una reacción de cloro sulfonación a partir del diol para reconocer la posición más reactiva (V).

En RMN (espectro 14) se observa a campo alto las señales-- para los protones metilénicos C-15, C-13, C-14, C-12 respectivamente (0.9, 1, 2, 2.7 ppm), en 2.9 ppm se presenta una señal simple que integra para un solo protón que corresponde a C-5, en 3 ppm ($j= 3.5$ Hz) se observa una señal doble que integra para un solo protón que corresponde a C-5, en 3.75 ppm ($J= 3.5$ Hz), hay una señal doble que integra para un solo protón que corresponde a C-4, en 4.85 ppm hay un triplete que integra para un solo protón y pertenece a C-9 o C-7, en 4.87 ppm y 5 ppm tenemos dos dobles de dobles que integran para el protón vinílico que corresponde a C-2.

El compuesto V fué sometido a estudio de difracción de Rayos X de monocristal con el fin de establecer la configuración absoluta. La figura 1 nos muestra la estructura encontrada.



Longipin-2-ene-7 beta-9 alpha-diol-1-ona.

FIGURA 1.

Cristal prismático incoloro crecido por evaporación lenta - en solución de acetato de etilo. Cristal con dimensiones $0.08 \times 0.2 \times 0.24$ nm; celad unitaria de $a = 7.15 \text{ \AA}$ (4), $b = 11.128 \text{ \AA}$ (4), $c = 15.003 \text{ \AA}$ (4), monoclinico, $P2_1$ volumen = 1188 \AA^3 , $Z = 2$ $D_x = 1.30 \text{ g cm}^{-3}$, $F(000) = 500$, $T = 2.93 \text{ K}$, la celda unitaria se determino a 25 reflexiones ($3^\circ < 2\theta < 20^\circ$).

Las mediciones de intensidad se hicieron en un equipo Nicolet R 3m velocidad $30^\circ \text{ min}^{-1}$. Utilizando un barrido $2\theta/\theta$ con un intervalo de barrido de 2° y velocidad variable de 4 a $30^\circ \text{ min}^{-1}$, para $3 < 2\theta < 50^\circ$ (h: 0 a 8, K: 0 a 13, l: -17 a +17), dos reflexiones fueron monitoreadas (1,1,0 y 0,-2,0) con intensidad constante, variación 3% produciendo 1490 reflexiones únicas con intensidad $I > 2\sigma(I)$ las cuales fueron utilizadas en el análisis de la estructura (732 no observadas). Se hicieron correcciones de Lorentz y polarización pero no por absorción ni extinción secundaria. La estructura se resolvió por medio del átomo pesado utilizando el programa SHELXTL. El afinamiento se realizó por medio del método de cuadrados mínimos utilizando parámetros anisotrópicos por todos los átomos excepto los hidrógenos. Los hidrógenos unidos a átomos de carbono fueron inducidos en posiciones ideales, el hidrógeno unido a oxígeno se localizó en un mapa de difracción de densidad electrónica afinandose los parámetros posicionales y todos con un valor fijo de $U = 0.06 \text{ \AA}^2$. El esquema de pesado fué $[\sigma^2(F_o) + G(F_o^2)]^{-1}$, donde σ es la desviación estándar estimada basada en conteo estadístico y G una variable ajustada la G final = 0.002 la máxima densidad electrónica en el mapa final fué menor a $0.33 \text{ electrones \AA}^{-3} (\Delta/\sigma)_{\text{max.}} = 0.030$ -- factores de dispersión atómica fueron obtenidos de las tablas internacionales de Cristalografía de rayos X. Obteniendose finalmente $R = 0.73$ y $WR = 0.0697$.

PARTE EXPERIMENTAL.

PARTE EXPERIMENTAL:

a) Obtención de compuestos.

La Stevia lucida lag. var. Lucida fué colectada en Septiembre de 1983 a 5 Km antes de llegar al Cristo de la montaña, en el Cerro del Cubilete por el camino empedrado. Se conoce vulgarmente como Hierba del Aire y es un arbusto de 1 metro de alto -- con flores de color rosa registrada con el número 419142 en el Herbolario de Ciudad Universitaria.

Para su estudio químico se utilizó la parte subterránea. Se pesaron 350 g. de la raíz, se pico y macero con acetato de etilo en frío por tres veces. El extracto se concentro a sequedad resultando de ésta operación 20.7 g. del crudo original.

El crudo se cromatografio en una columna de vidrio empacada con 62 g. de sílica-gel (35-70). La columna se eluyó con acetato de etilo-hexano (90 : 10 %) obteniéndose un aceite viscoso, éste se purificó lavando con carbón activado en acetona y filtrando en una cama de celita con sílica-gel 35:70, se evaporó y se obtuvieron 11.5 g. del producto original puro (I) el cual es un aceite viscoso de color amarillo verdoso.

- Análisis elemental calculado para $C_{25}H_{34}O_5$

C- 72.46%, H- 8.21%, O- 19.32%

- Rotación óptica:

$[\alpha]_D^{25} = +42.27$

- U.V + λ /max/EtOH en 213 nm ($\epsilon = 15556.36$).

IR V max.: 3005-1615 cm^{-1} (O=C-C=C), 1710 cm^{-1} (éster insaturado), 1295-940 cm^{-1} (dobles ligaduras en posición trans), --- 1250 cm^{-1} (éster insaturado), 1070-1020 cm^{-1} (cetona).

-RMN (80MHz): 6.02 ppm (s,H,H-18), 5.79 ppm (s,H,H-2), --- 3.15 ppm (d, H,H-4, J=4 Hz), 2.75 ppm (s,H,H-11), 2.63 ppm (d, H,H-5, J= 4 Hz), 1.84 ppm (s, 12H, H-19, 20), 1.82 ppm (s, 3H,

H-12) 1 ppm (s, 6H,H13,14), 0.97 ppm (s,3H,H-15).

- EM: M⁺ de m/z 400 (0.8%), m/z 330.9 (100%), m/z 261% (18%)
m/z 206.8 (7.7%).

HIDROLISIS DE I:

11.3 g. del producto I se hicieron reaccionar con 200 ml. de una solución de hidróxido de sodio en etanol al 4% a una temperatura de 52C por 24 Hs., con agitación constante y controlada la reacción por medio de cromatografía de capa fina, al final de ésta se adiciona acetato de etilo, secándose la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro, se filtró y concentró. Se obtuvieron 2.1 g del diol. La muestra analítica se obtuvo por cristalización de hexano-acetato de etilo con p.f 170-172°C. (II).

- Análisis elemental calculado para C₁₅H₂₂O₃.

C-72%, H-8.8%, O-19.2%.

- Análisis elemental encontrado:

C-72.26%, H-8.9%, O-19%.

- Rotación óptica:

$[\alpha]_D^{25} = +76$.

- IR V max.: 3680-3619 cm⁻¹ (OH), 1671.17 cm⁻¹ (cetona, insaturada), 1616.08 cm⁻¹ (doble ligadura), 1376 cm⁻¹ (CH₃ def. sim.), 1328 cm⁻¹ (C-C).

- RMN (80 MHz): 5.75 ppm (d,H,H-2), 4 ppm (d,H,H-8), 3.80 ppm (d,H,H-8), 3.65 ppm (s,2H,OH-7,9), 3.25 ppm (d,H,H-4, J=2), 2.55 ppm (d,H,H-5, J=2.5 Hz), 1.8 ppm (s,3H,H-12), 1.1 ppm (s,6H,H-13,14), 0.9 ppm (d,3H,H-15).

-UV λ max/EtOH en 205 nm (ε = 11820.33)

λ max/EtOH en 255 nm (ε = 11820.33).

ACETILACION DEL ALCOHOL II.

200 mg del diol se hacen reaccionar con 5 ml de cloruro de cloruro de acetilo y cinco gotas de piridina en un baño de hie-

lo , con agitación constante, controlando la reacción por medio de cromatografía en capa fina, al término de la reacción se adiciona agua y se extrae la fase orgánica con acetato de etilo y sales de acetato cúprico, hasta que la fase acuosa permanezca de color azul y se seca con sulfato de sodio anhidro, obteniéndose 241 mg de un producto cristalino con un p.f. 100-105°C. (III)

- Análisis elemental calculado para $C_{19}H_{26}O_5$.

C-68.26%; H-7.78%, O-23.95%.

- Análisis elemental encontrado:

C- 67.85%, H-7.85%, O-24.3%.

- Rotación Óptica:

$[\alpha]_D^{25} = +33$.

- IR V max.: 1731 cm^{-1} (acetato), 1673 cm^{-1} (cetona), 1617 cm^{-1} (doble ligadura), 1248 cm^{-1} (acetato), 1372 cm^{-1} (CH_3).

- RMN (80 MHz): 5.76 ppm (d,H,H-2), 4.8 ppm (m,2H,H-8), 3.15 ppm (d,H,H-4, J=1.5Hz), 2.6 ppm (d,H,H-5, J=2 Hz), 2.55 ppm (s, 3H,H-12), 1 ppm (d,6H,H-13,14), 0.9 ppm (s, 3H,H-15).

- UV λ max/EtOH en 250 nm ($\epsilon = 14195$).

OXIDACION DEL ALCOHOL II:

20 mg del producto de hidrólisis, se disolvieron en la menor cantidad de acetona en un matraz de 25 ml, el cual se llevó a un baño de hielo con agitación constante adicionando poco a poco reactivo de Jones, controlando la reacción por cromatografía en capa fina, al término de ésta se le adicionan unas gotitas de agua, se evapora la acetona y se extrae la fase orgánica con acetato de etilo obteniéndose 25.4 mg de un producto cristalino con p.f. 110-115 °C. (IV).

- Análisis elemental calculado para $C_{15}H_{18}O_3$.

C-73.17%, H-7.3%, O-19.5%.

- Análisis elemental encontrado:

C-72.6%, H-7.29%, O-20.1%.

- Rotación óptica:

$[\alpha]_D^{25} = -36.74$.

- UV max/EtOH en λ max 206 nm ($\epsilon = 10209$) y λ max 260 nm ($\epsilon = 12054$).

- IR Vmax. 1720 cm^{-1} (α dicetona, t C=O), 1675 cm^{-1} (cetona α, β insaturada), 1615 cm^{-1} (doble ligadura), 1372 cm^{-1} (CH_2).

- RMN (80 MHz) 5.9 ppm (s, H, H-12), 4.3 ppm (d, H, H-8, J=3 Hz), 3.9 ppm (d, H, H-8, J=3 Hz), 3.6 ppm (d, H, H-4, J=2 Hz), 2.75 ppm (d, H, H-5, J=1.5 Hz), 2.55 ppm (s, H, H-11), 2.10 ppm (s, 3H, H-12), 1.25 ppm (s, 6H, H-13, 14), 1.18 ppm (s, 3H, H-15).

CLOROSULFONACION DEL DIOL II.

50 mg del diol se disolvieron en tres mililitros de piridina recién destilada en un matraz de 25 ml y se le adicionó una solución de cloruro de alcanfor sulfonilo en piridina, se deja a 5°C por 48 hs., siguiendo la reacción por medio de cromatografía de capa fina, al final de ésta se le adicionaron unas gotas de agua, la fase orgánica se extrajo con acetato de etilo y se lavó con sales de acetato de cobre hasta que el agua permanece azul, se purificó en una placa cromatográfica con un sistema de hexano acetato de etilo 70:30%.

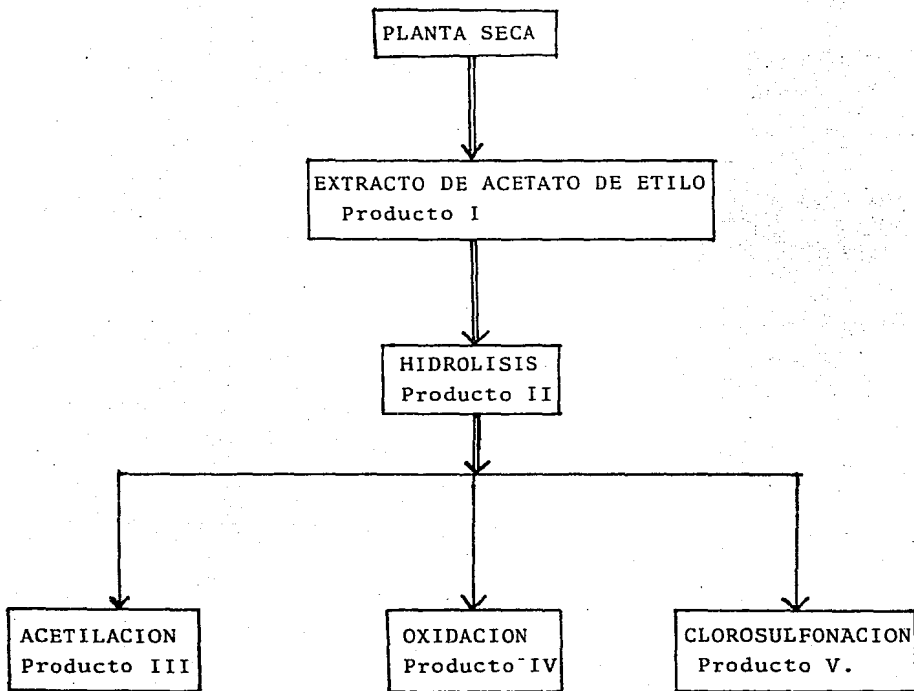
- Análisis elemental calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_6\text{S}$.

C-64.9%, H-7.35%, O-20.7%, S-6.92%.

- RMN (80 MHz) : 5.77 ppm (d, H, H-2), 5 ppm (d, H, H-4, J=3.5 Hz), 3 ppm (d, H, H-5, J=3.5 Hz), 2.9 ppm (s, 2H, H-25), 2.7 ppm (s, 2H, H-17), 2 ppm (s, 3H, H-12), 1 ppm (d, 6H, H-13, 14), 0.9 ppm (s, 3H, H-15).

b) ANALISIS.

Los puntos de fusión de los compuestos fueron tomados en un aparato Fisher-Jones y no están corregidos. Las cromatografías en columna se efectuaron en sílica-gel 60 (70-230 mesh ASTM). - La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se siguieron a base de cromatoplasmas de sílica gel F-254, utilizando como revelador sulfato cérico 2N y luz ultravioleta. Los análisis elementales fueron determinados en la República Federal Alemana. Las rotaciones ópticas se efectuaron en un polarímetro digital Perkin Elmer mod. 241. Los espectros de ultravioleta se determinaron en un espectrofotómetro UVIS, Perkin Elmer mod. 552 en etanol. Los espectros de IR se efectuaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer mod. 283 y en un Nicolet mod. FT-5SX. utilizando la técnica de pastilla (KBr), película (nujol) y solución clorofórmica. Los espectros de masas fueron determinados en un espectrofotómetro h/p 5985 GC/MS. Los espectros de RMN-H fueron determinados en el espectrofotómetro de RMN Ft-80 A a 80 MHz, - los desplazamientos químicos están dados en ppm referidos al tetrametilsilano como referencia interna, las constantes de acoplamiento están dadas en hertz.



CONCLUSIONS

CONCLUSIONES.

Alunos derivados con estructura de α -longipineno han sido encontrados como constituyentes en las especies Pinus, Scapania Abies, Pseudosuga, Polipteris, Marsupella, Eupatoria, Artemisia y Stevia.

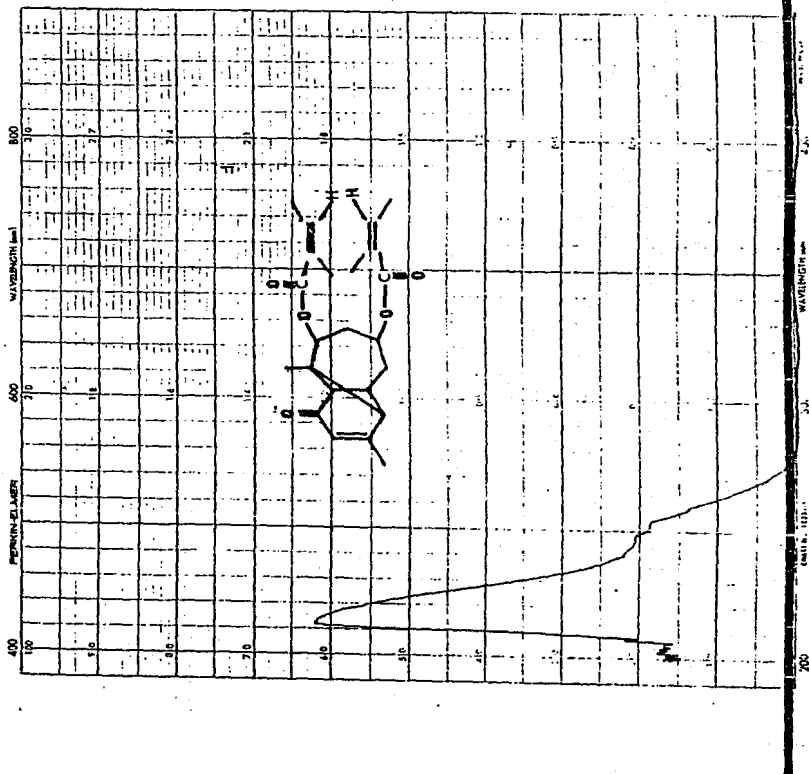
En Stevia lucida lag. var. Lucida existe una sustancia en mayor cantidad que corresponde a un esqueleto de α -longipineno el cual en posición 7 y 9 representa una mezcla de ésteres que son tiglatos o matacrlatos, un estudio en 1986 sobre configuración absoluta de derivados de longipineno se menciona que los grupos que podemos encontrar en éstas posiciones son mezclas de algunos grupos acilo y entre ellos encontramos a los tiglatos y metacrlatos.

Para comprobar la estructura se realizaron algunas transformaciones químicas en la estructura I de α -longipineno, como fueron una hidrólisis de donde obtuvimos un diol al cual nombramos 7- α -9- β -diol-1-ona- α -longipineno a partir de éste diol se realizaron reacciones de oxidación, acetilación y clorosulfonación de donde se obtuvieron la dicetona, el diacetato, y un monoclorosulfonato a los cuales denominamos 7- α -9- β -1-triona- α -longipineno y 7- α -9- β -diacetato-1-ona- α -longipineno.

El estudio espectroscópico de éstos productos nos comprueba la estructura de α -longipineno y nos lleva a concluir que nuestro objetivo de aislar, purificar y determinar la estructura del metabolito más abundante en la Raíz de la Stevia lucida lag.var. Lucida se llevó a cabo.

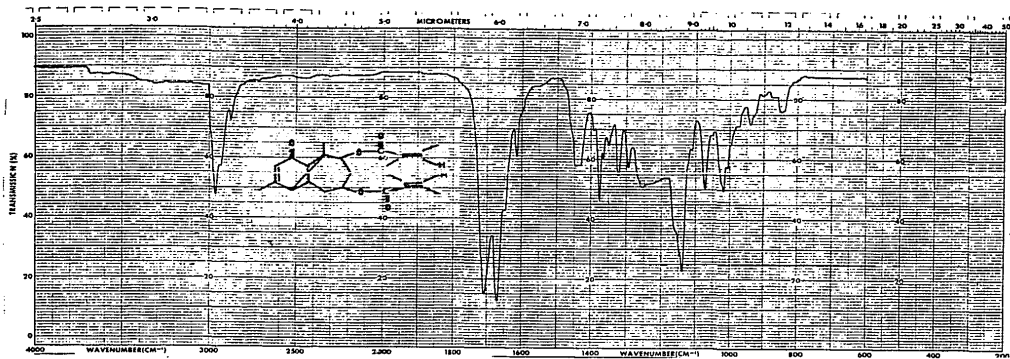
Por otra parte éste trabajo se ve reforzado por el estudio cristalográfico realizado al producto obtenido de la clorosulfonación por lo que nos comprueba en forma más palpable la existencia de la estructura del α - longipineno.

ESPECTROSCOPIA.



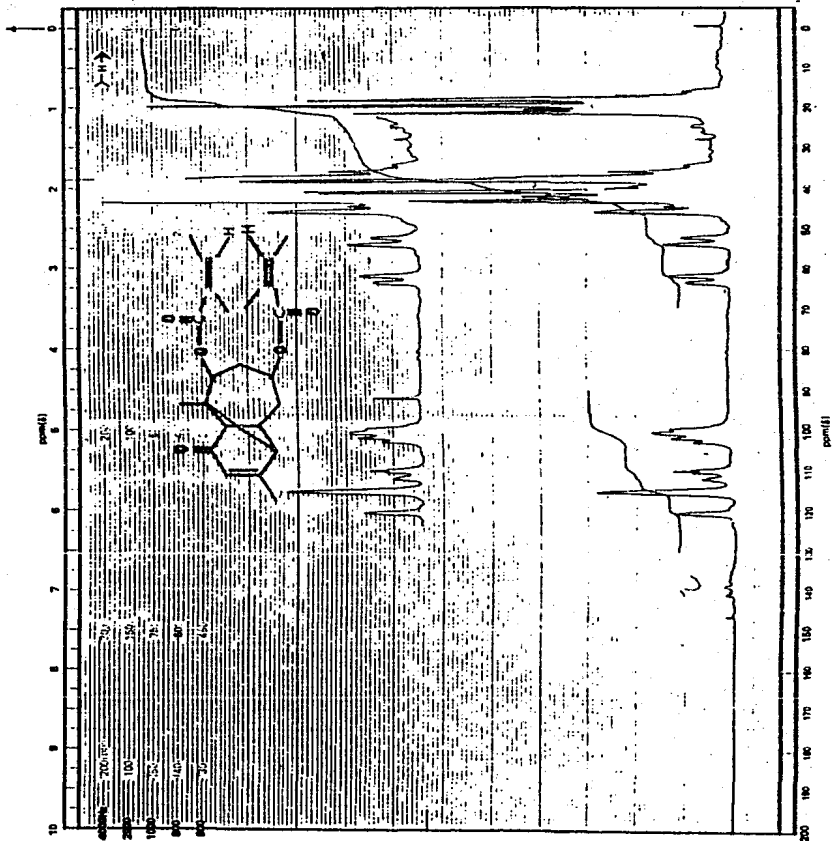
Espéctro 1. (Producto original).

Espéctro de U.V.



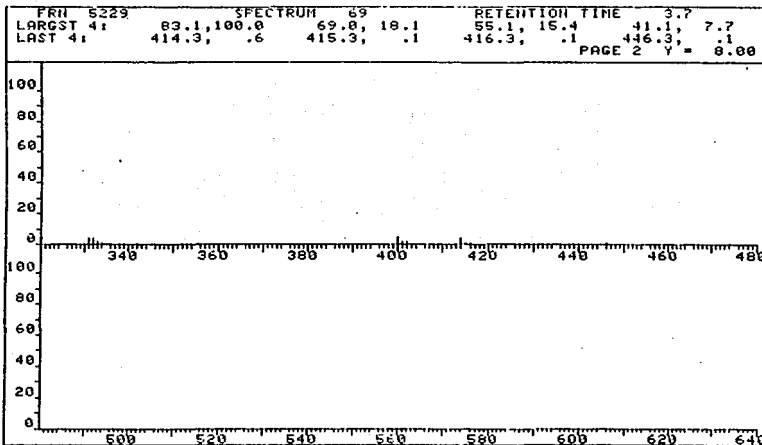
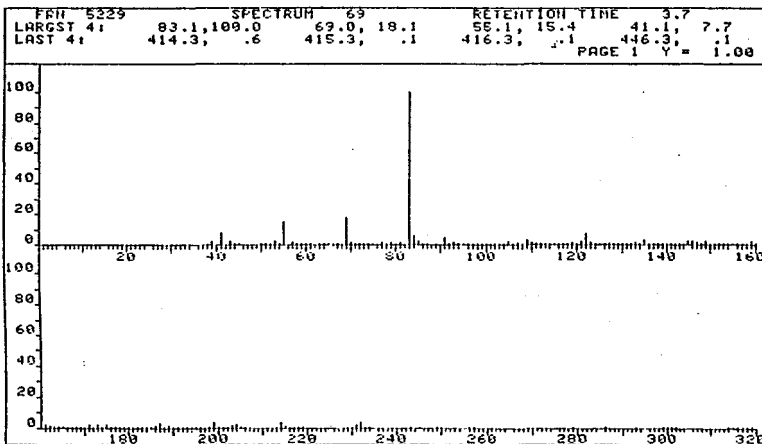
Espéctro 2 (Producto original)

Espéctro de I.R.

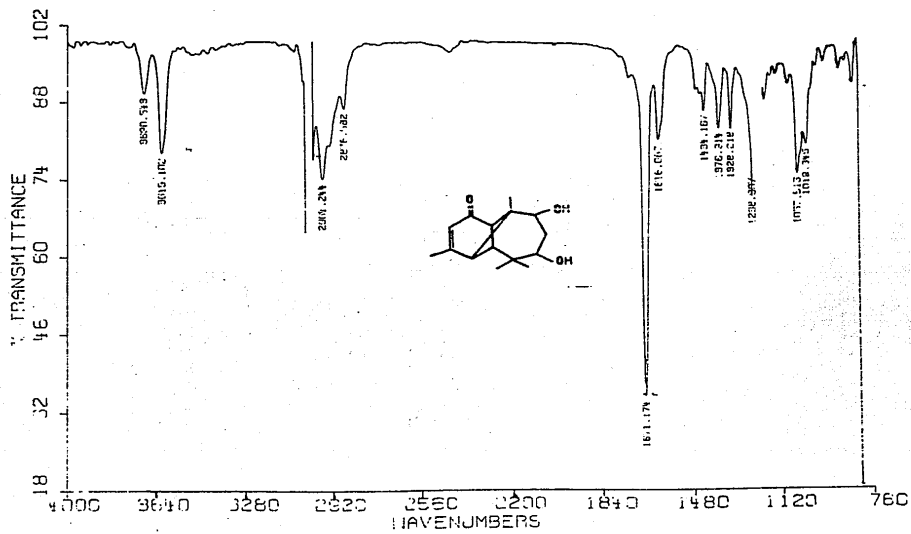


Espèctro 3 (producto original).

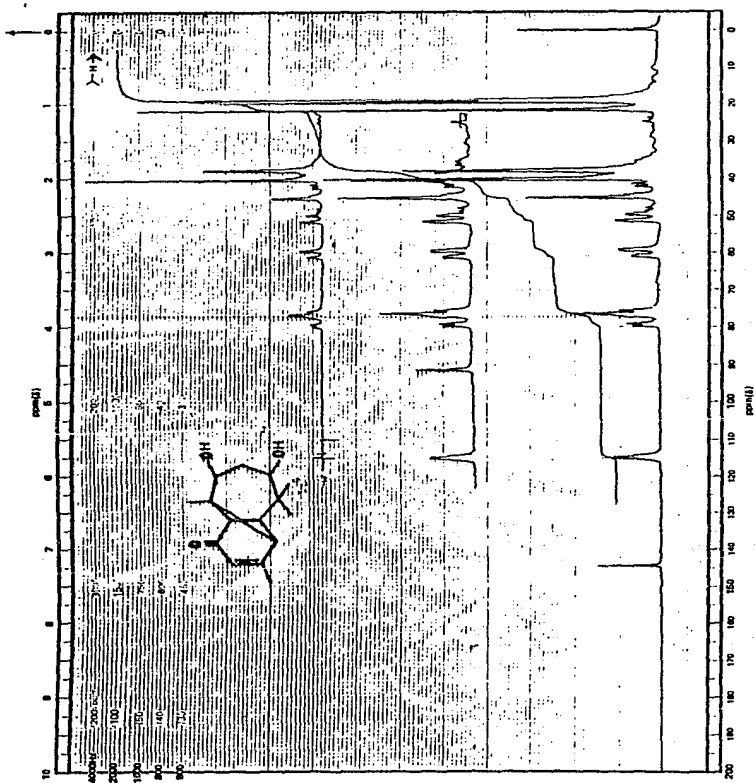
Espèctro de RMN.



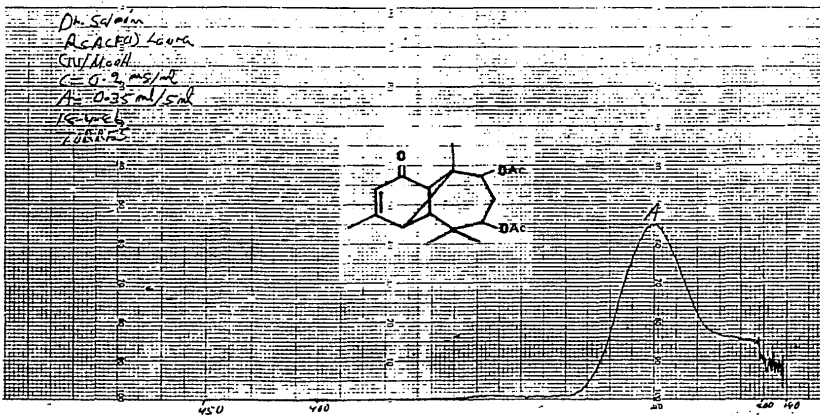
Espéctro 4 (Producto original)
Espéctro de masas.



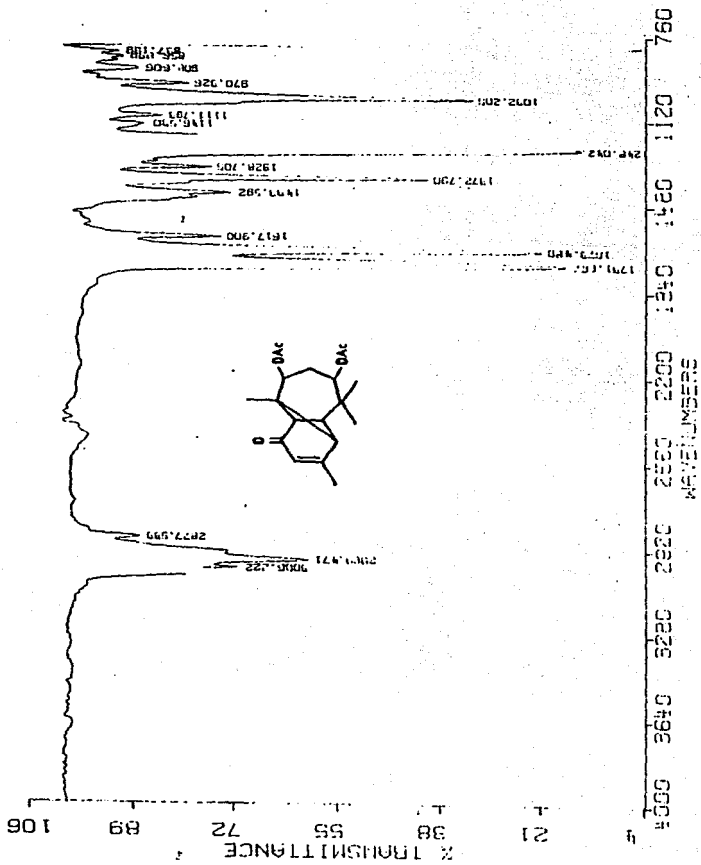
Espectro 5 (diol)
Espectro de I.R.



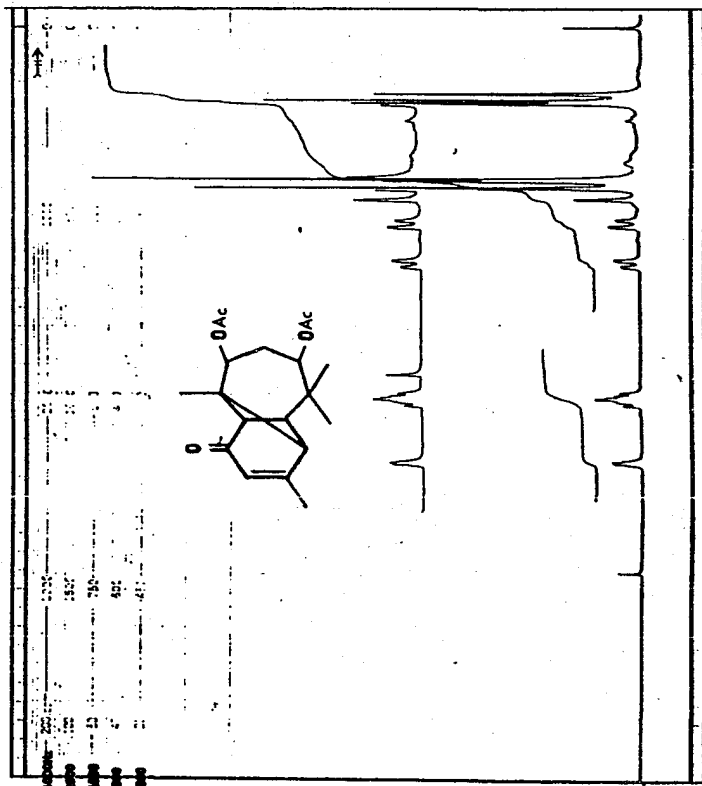
Espectro 6 (diol)
Espectro de R.M.N.



Espéctro 7 (diacetato).
 Espectro de U.V.

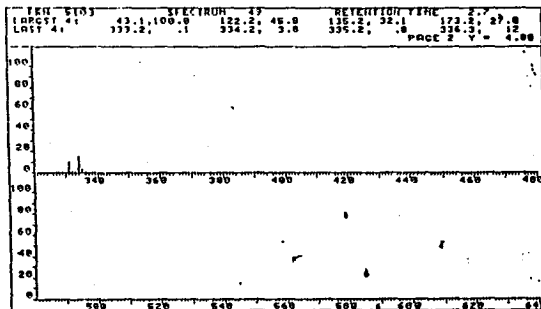
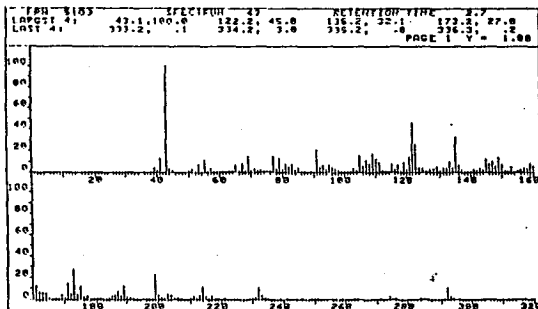


Espectro 8 (diacetato).
 Espectro de I.R.

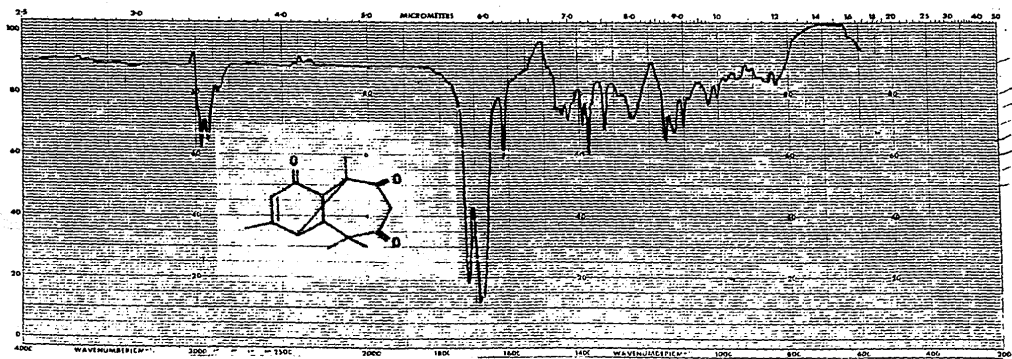


Espéctro 9 ,

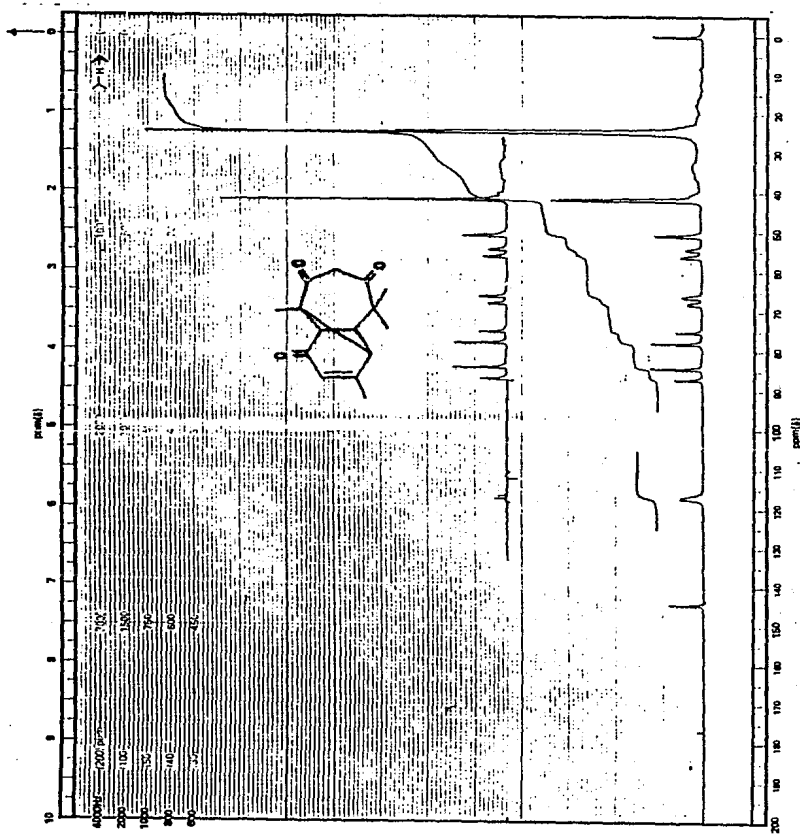
Espéctro de R.M.N.



Espectro 10 (diacetato)
Espectro de masas.

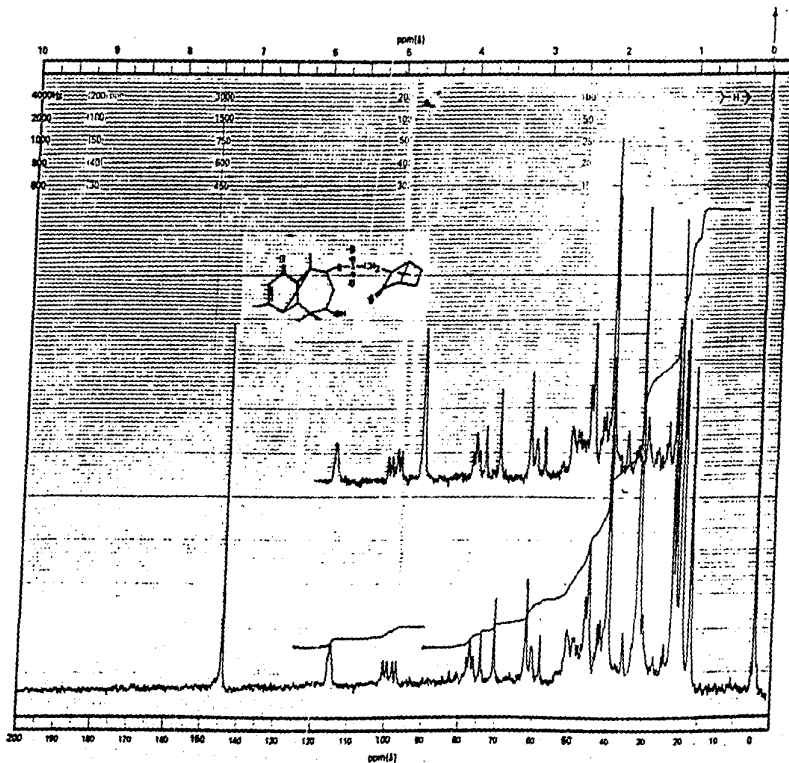


Espéctro 12 (dicetona).
Espéctro de I.R.



Espectro 13 (dicetona)
Espectro de RMN.

Espectro 14 (clorosulfonación)
Espectro de R.M.N.



B I B L I O G R A F I A .

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Westfelt L. Acta Chem. Scand. 2829, 20 (1966).
- 2.- Westfelt L. Acta Chem. Scand, 2841, 20 (1966).
- 3.- Erdtman H. and Westfelt L.; Acta Chem. Scand. 2351, 17 (1963).
- 4.- Nuyak. Tetrahedron Letter 243, (1963).
- 5.- Von Schants M; and Juyonen S.; Planta Med. 15 3 (1967).
- 6.- Pentgova, V.A.; Duvubenco, Z.et. al.; Ser Khim Nauk 114 2 (1968). C.A. 84075p (69).
- 7.- Westfelt L.; Bull Nat. Inst. Sci. India 105, 37 (1968). C.A 67915 m 1968.
- 8.- E. Kepner Richard, O. Ellison Barbara, and J. Muller Carlos Phytochem. 808,14 (1975).
- 9.- Bohlman Ferdinand and Zdero Christa.; Chem. Ber. 3543, 108 (1975).
- 10.- H. Anderson Neils, Bissonette P., et.al.; Phytochem. 1731, 16 (1977).
- 11.- Matsuo Akihiko; Uto Seiryu; Sakuda Keisuke; Uchio Yasuto; Chem. Letter 73, (1979).
- 12.- Huneck Siegfried; D. Conolly J; S. Rycroft D. and Matsuo Akihiko; Phytochem. 143, 21 (1982).
- 13.- Bohlman Ferdinand, Zdero Chista; Phytochem. 503, 22 (1983).
- 14.- Bohlman Ferdinand, Ahmed Maniruddin; M. King Robert and --- Robinson Harold. Phytochem. 2027, 20 (1981).
- 15.- M. Berry Katherine; Nigel B. Perry and Rex T. Weavers; ---- Phytochem. 2893, 24 (1985).
- 16.- A. Bombagiotti, Massimo; Vincieri Franco F; Coran Silvia A. Cosmet. Aerosol 875, 53 1972.
- 17.- Marpeau A, Baradan; P. Bernard Dagan; Ann. Sci. Fear. 185, 32 (1975). C.A. 161858k (84).
- 18.- Kasano, Masanoba; Matsubara, Yoshihara; Yukagaku 530, 27 (1978). C.A. 203995p (89).

- 19.- Huneck Siegfred; Andersen niels H.; Bryophytorum Bibl. 379, 13 (1978). C.A 143253u (92).
- 20.- Titova T.F.;Khan, V.A; Bolshakova, V.I. et.al. Khim. - Prior. Soedin 195, 2 (1980). C.A. 110561m (93).
- 21.- Smidt, E.N.; Khan, U.A.: Pentegova U.A.: Khim. Prir. - Soedin 665, 5 (1981). C.A. 48969g (1981).
- 22.- Smidt, E.N.; Khan, V.A.; Isaeva, Z.A.; et. al. Khim .- Prir. Soedin 189, 2 (1982). C.A. 141693t (97).
- 23.- Khan,V.; Pentagova, U.A.; Khim Prir. Joedin 110, 1 (1983). C.A. 212834y (98).
- 24.- Bohlmann F.; Ates, Neshun.; Jakupovic Jazmin et. al. --- Phytochem. 2691, 21 (1982).
- 25.- Iwamuro Hajime; Yokoi Katsumi; Matsubara Yoshiharo; Agric. Biolog. Chem. 1637, 47 (1983).
- 26.- Bohlmann F.; Zdero Chista; Jakuvokic, Jasmin; Greger Herald Phytochem. 503, 22 (1983).
- 27.- Berry Katherine; M. Perry Nigel B; Weavers Rex T; Phytochem. 2893, 24 (1985).
- 28.- Masaaki Miyashita and Akira Yoshikoshi. Chem. Com. 1091 -- (1971).
- 29.- Goverdhan Mehta and Surinder K. Kapoor. Tetrahedron Letters 715, 8 (1972).
- 30.- Masaaki Miyashita and Akira Yoshikoshi; J. Chem Soc. Chem. Comm. 1173, (1972).
- 31.- Massaki Miyashita and Akira Yoshikoshi; J. Chem. Soc.Chem. Comm. 1173,. (1972).
- 32.- Akihiko Matsuo, Mitsura Nakayama and Shuichi Hayashi, --- Chem Letters 769 (1973).
- 33.- Bohlmann F. ; Chista Zdero and Sigmur Schöneweiss.; Chem. Ber. 3366, 109 (1976).

- 34.- Bohlmann F.; Christa Edero and Sigmur S.; Phytochem.
2691, 21 (1982).
- 35.- Bohlmann F.; Albert Suwita; Arvind Anant Natu, Chem. Ber.
3572, 110 (1977).
- 36.- Bohlmann F.; Lakshimi Dutta; Woltgan Dorner; Phytochem.
673, 18 (1979).
- 37.- L.U. Roman and R.E. del Río; J.D. Hernandez and P. Joseph
Nathan. Tetrahedron 2769, 37 (1981).
- 38.- Luisa U. Roman and R.E. del Río; Carlos M. Cerda.; P. Joseph
Nathan et. al. J. Org. Chem. 5965, 50 (1985).
- 39.- P. Joseph-Natan, C.M. Cerda, R.E. del Río.; Journal of Na-
tural Products. 1053, 49 (1986).
- 40.- Jerzy Rzedowski. Vegetación de México . Ed. Limusa (1978).
- 41.- Jose Guillermo Penieres.
Estudio químico de la Stevia serrata Robinson.
Tesis Profesional
Inst. Química UNAM.
- 42.- Terpenoides aislados de algunas especies de compuestas
Tesis de Licenciatura UNAM 1970.
- 43.- Mann J. Secondary Metabolism. Clarendon Press. Oxford (1978)
- 44.- Romo de Vivar Alfonso. Productos Naturales de la Flora ---
Mexicana. Ed. Limusa 1985.
- 45.- Nakanishi, K., Goto, T, Ito, S, Notori, S., Nazoe, S. ---
Natural Products Chemistry. Vol 1 Kidansha Scientific Ltd.
Tokio (1974).

- 46.- T.K. Devon and A.I. Scott. Handbook of Naturally Occurring Compounds. Vol II Terpenos. Academic Press. New York and London 1972.
- 47.- Domínguez Jorge Alejandro. Métodos de investigación fitoquímica Ed. Limusa 1973.
- 48.- Francisco Javier Morales Ramírez.
Nuevos derivados del ácido kaurenico aislados de Stevia eupatoria Will. Tesis de Licenciatura.
Instituto de Química 1981.
- 49.- Enrique Ramón Angeles Anguiano.
Estudio químico de Stevia lucida Tesis de Licenciatura.
Instituto de Química UNAM 1980.
- 50.- Enrique Ramón Angeles Anguiano.
Estudio Químico de diferentes especies del género de Stevias (compuestas). Tesis de Maestría.
Universidad Autónoma del Estado de Morelos 1985.