

34  
2ej.



**Universidad Nacional Autónoma  
de México**

**FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES**

**Facultad de Estudios Superiores**

**CUAUTITLÁN**

Departamento de  
Exámenes Profesionales



**NUEVAS TRANSFORMACIONES DE ENTIDADES CON ESQUELETO  
DE LONGIPINENO**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
P R E S E N T A**

**MARIA INES NICOLAS VAZQUEZ**

**Director de Tesis; M. en C. René Miranda Ruvalcaba**

**Asesor de Tesis: Dr. Manuel Salmón Salazar**



## **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.

## INDICE

<b>I.-</b>	<b>INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>II.-</b>	<b>GENERALIDADES.....</b>	<b>4</b>
<b>III.-</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>14</b>
<b>IV.-</b>	<b>DISCUSION.....</b>	<b>21</b>
<b>V.-</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>27</b>
<b>VI.-</b>	<b>TABLAS Y ESPECTROS.....</b>	<b>28</b>
<b>VII.-</b>	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>51</b>

## **INTRODUCCION**

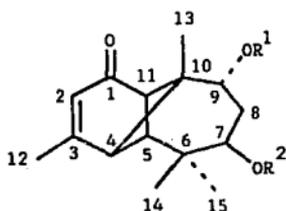
## INTRODUCCION

Uno de los géneros más abundantes dentro de la flora nacional es el género *Stevia* (*Compositae*); las plantas que lo constituyen suelen ser arbustivas o herbáceas (anuales o perennes). Esta flora es característica en las zonas templadas de la República Mexicana, encontrándose ampliamente distribuida en la Sierra Madre Occidental, Sierra Madre Oriental, Serranía Meridional, Serranía Transísmica, Norte de Jalisco y Valle del Mezquital, entre otros.

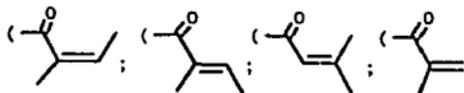
De acuerdo con Crashoff<sup>1</sup> se conocen 81 especies en Norteamérica, 70 de las cuales se localizan en México; algunos de estos especímenes suelen ser usados en medicina tradicional<sup>2</sup>. Estudios previos en estas especies reportan como productos naturales compuestos químicos del tipo de: los kaurenos<sup>3</sup>, lactonas sesquiterpénicas<sup>4</sup>, diterpenos<sup>5-6</sup>; asimismo, de particular interés para el presente trabajo, son los ésteres de longipin-2-en-7 $\beta$ ,9 $\alpha$ -diol-1-ona. Algunas de estas últimas entidades químicas se han descrito en la literatura como aceites, o solamente han sido detectadas en mezclas; al respecto, en años recientes se ha determinado la estereoquímica (configuración absoluta y conformación) del esqueleto básico de estas complejas estructuras sesquiterpénicas<sup>7-10</sup>

El objetivo del presente trabajo es el de contribuir a la química de oxidación de los longipinenos (FIGURA 1), encontrándose que los productos obtenidos no han sido reportados hasta la fecha en la literatura o con asignaciones espectroscópicas de RMN incompletos<sup>35</sup>, específicamente la longipin-2-en-1,7,9-triona y el Ac. 8-norlongipin-2-en-7,9-dioico.

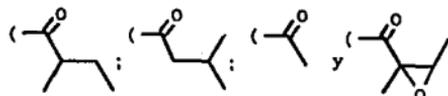
Para validar la estructura del producto natural y de los productos correspondientes de transformación, se utilizaron métodos espectroscópicos comunes: como la espectrofotometría infrarroja, espectrofotometría de ultravioleta, espectrometría de masas y además experimentos de resonancia magnética nuclear protónica y de carbono 13: APT (Attached Proton Test), ADEPT (Attached Deacopleted Proton Test) y HETCOR (Heteronuclear Correlation).



R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>:



angeliloilo tiglilo senecioloilo metacrililo

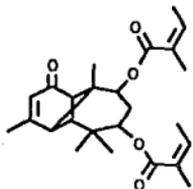


$\alpha$ -metilbutirilo isovalerilo acetilo epoxiangeloilo

Esteres de longipin-2-en-7 $\beta$ ,9 $\alpha$ -diol-1-ona

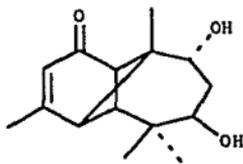
FIGURA 1

ESTRUCTURAS TRABAJADAS EN EL PRESENTE TRABAJO



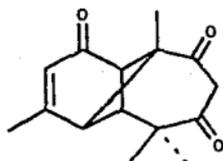
I

Diangelato de longipin-2-en-7 $\beta$ ,9 $\alpha$ -diol-1-ona.



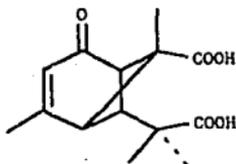
II

Longipin-2-en-7 $\beta$ ,9 $\alpha$ -diol-1-ona



III

Longipin-2-en-1,7,9-triona



IV

Ac. 8-norlongipin-2-en-7,9-diáico

**GENERALIDADES**

## GENERALIDADES

Todas las plantas para llevar a cabo su metabolismo, necesitan de una serie de especies químicas esenciales como los aminoácidos, ácidos grasos, azúcares y biopolímeros (lípidos, proteínas y ácidos nucleicos), los cuales son conocidos como metabolitos primarios.

Por otro lado, éstas presentan una serie de metabolitos secundarios o productos naturales<sup>11</sup> que son definidos como compuestos característicos de una o varias especies relacionadas. Estos, suelen obtenerse por diferentes vías metabólicas que realiza la planta. Los metabolitos secundarios, en general, no tienen un papel biológico importante, sin embargo algunos de ellos presentan actividad hormonal, por ejemplo al ácido giberílico (hormona de crecimiento) otros proporcionan a la planta mecanismos de defensa contra el medio ambiente (por ejemplo algunos secretan sustancias tóxicas para ciertos insectos, animales y plantas)<sup>12</sup>.

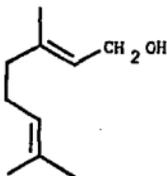
De acuerdo a lo anteriormente expuesto, todas las moléculas que pertenecen a los productos naturales pueden estar clasificadas en alguno de los grupos siguientes<sup>14</sup>:

- Grupo I.- Clasificación en base a su estructura química (esqueleto molecular).
- Grupo II.- Clasificación basada en su actividad fisiológica.
- Grupo III.- Clasificación basada en su taxonomía.
- Grupo IV.- Clasificación basada en su biogénesis.

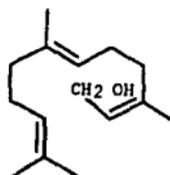
**GRUPO I.-** Clasificación en base a su estructura química (esqueleto molecular).

- A.- Cadena abierta : ácidos grasos, azúcares y algunos aminoácidos.
- B.- Homocíclicos : esteroides, alcaloides y terpenoides.
- C.- Aromáticos : fenólicos, quinonas etc.
- D.- Heterocíclicos : alcaloides, flavonoides y ácidos nucleicos

Esta clasificación es considerada muy superficial, debido a que muchos compuestos entran en mas de una clase. Ejemplo: Las estructuras 1, 2 y 3 pertenecen a la clase A y el 4 a la clase C, pero debido a las consideraciones biogénicas, son generalmente tratadas con otros terpenoides y esteroides bajo la clase B.



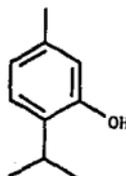
geraniol  
(1)



farnesol  
(2)



escualeno  
(3)



timol  
(4)

**GRUPO II.- Clasificación basada en su actividad fisiológica.**

- A.- Hormonas
- B.- Vitaminas
- C.- Antibióticos
- D.- Micotoxinas

**GRUPO III.- Clasificación basada en su taxonomía.**

Esta clasificación está basada en la comparación de diversos estudios morfológicos de las plantas, es decir su taxonomía. Se sabe que en animales y en algunos microorganismos los metabolitos finales son excretados, mientras que en las plantas, éstos son almacenados. Así, determinados metabolitos están ampliamente distribuidos en ciertos tipos de plantas en cantidad variable.

Algunos de éstos componentes como los alcaloides e isoprenoides han sido aislados de especies, géneros, tribus o familias específicas de plantas. Al respecto de un mismo tipo de especies, estas suelen contener numerosos constituyentes ligados estructuralmente entre sí.

**GRUPO IV.- Clasificación basada en su biogénesis.**

Los componentes de todas las plantas y animales son biosintetizados por reacciones enzimáticas, siendo la glucosa la principal fuente de carbono, la cual es fotosintetizada en plantas verdes (organismos autótrofos) o la obtienen del medio ambiente (organismos heterótrofos).

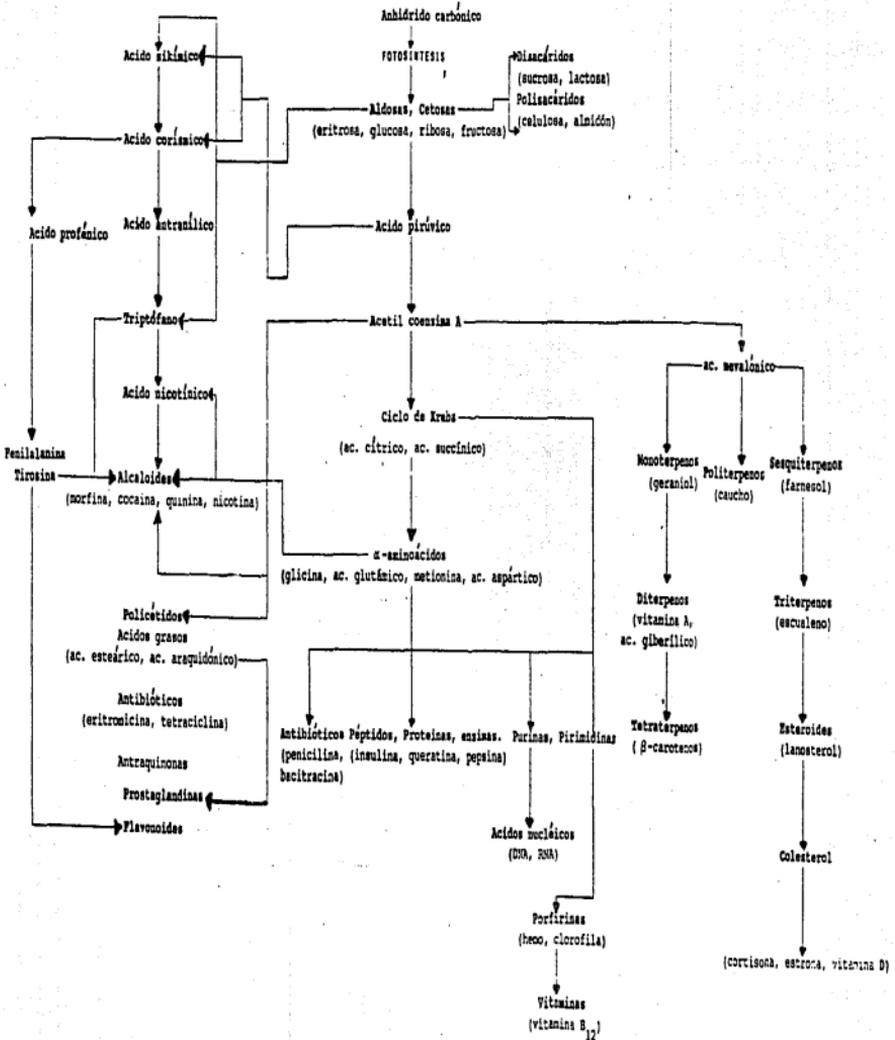
Cuando el químico orgánico se encuentra ante la necesidad de determinar la estructura de un nuevo producto natural, generalmente realiza una correlación de su origen biosintético, encontrando que entre las estructuras más complicadas de los productos naturales, están el grupo de los terpenos y los alcaloides

De acuerdo a lo anterior, resulta que solamente un limitado grupo de compuestos tienen importancia taxonómica en las diferentes familias, como a continuación se menciona<sup>32</sup>:

- Terpenos
- Alcaloides
- Flavonoides
- Quinonas
- Poliacetilenos
- Glucosinolatos
- Compuestos cianogénicos

En el ESQUEMA 2 se ilustra la relación de las diferentes clases de productos naturales a partir del metabolismo de los productos primarios.

## ORIGEN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS



TERPENOS. Los terpenos (ESQUEMA 3) se encuentran almacenados en cantidades relativamente grandes en ciertas plantas, por esta razón presentan cierto interés taxonómico. Algunos terpenos se encuentran en presencia de otras sustancias tales como: glicósidos, ésteres de ácidos orgánicos y en otros casos con algunas proteínas.

Los miembros más sencillos de esta clase ( $C_{10}$  y  $C_{15}$ ) suelen ser obtenidos de plantas frescas y secas por arrastre de vapor, mientras que los miembros más grandes ( $> C_{20}$ ) generalmente son aislados por extracción con disolventes, separados y purificados por: cristalización, destilación y/o cromatografía.

Los terpenoides están relacionados a un origen y una estructura común, así su composición ( $C_{10}$ ,  $C_{15}$ ,  $C_{20}$ ,  $C_{30}$  etc.,) sugiere que, estos compuestos son múltiplos de cinco átomos de carbono, y en la elucidación de sus estructuras se ha demostrado la presencia de la unidad del esqueleto hidrocarbonado conocido como isopreno (FIGURA 2).

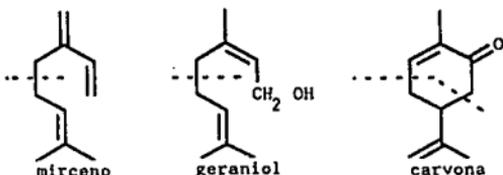
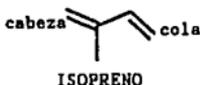
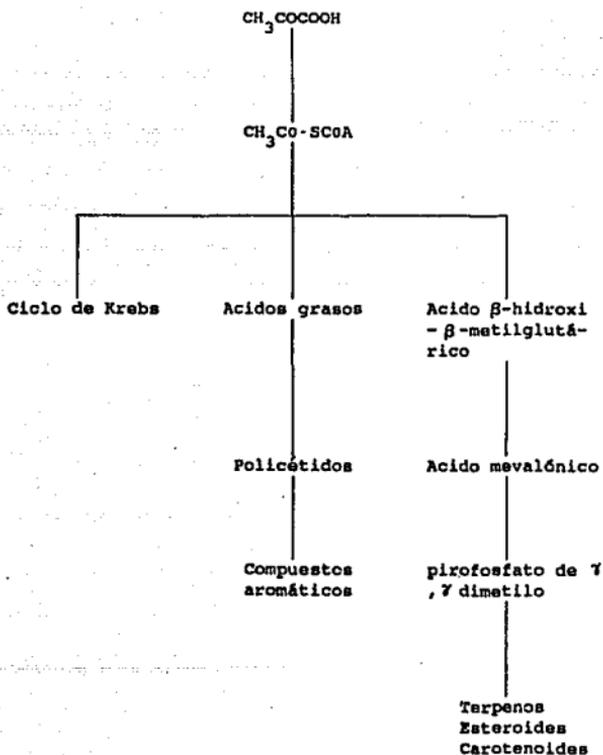


FIGURA 2

De acuerdo a lo anterior, se presenta para los terpenos la siguiente clasificación:

# ORIGEN DE LOS TERPENOS<sup>33</sup>



ESQUEMA 3

TABLA I.- Clasificación de los terpenos<sup>33</sup>.

GRUPO	No. C	No. UI
Hemiterpenos	C <sub>5</sub>	1
Terpenos	C <sub>10</sub>	2
Sesquiterpenos	C <sub>15</sub>	3
Diterpenos	C <sub>20</sub>	4
Sestaterpenos	C <sub>25</sub>	5
Triterpenos	C <sub>30</sub>	6
Tetraterpenos	C <sub>40</sub>	8
Politerpenos	(C <sub>5</sub> ) <sub>n</sub>	n

No. C = Número de átomos de carbono; No. UI = Número de unidades de isopreno.

Se sabe que las estructuras terpénicas siguen la Regla del Isopreno, debido a que están formados por 2, 3, 4, etc. unidades isoprenicas en un orden establecido, y pueden formar las siguientes uniones cabeza-cola o cola-cabeza, existiendo anomalías a la regla como son las uniones cola-cola, cabeza-cabeza (FIGURA 3a-c).

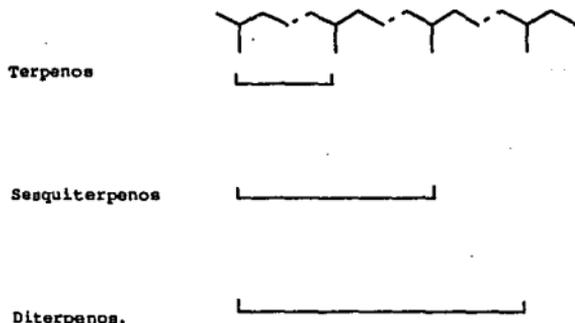


FIGURA 3a-c.

SESQUITERPENOS.- Los sesquiterpenos <sup>12-19 y 34</sup> son compuestos biogénicamente derivados del pirofosfato de farnesilo (ESQUEMA 4); y se encuentran en plantas, hongos, microorganismos y algunos insectos. Existe una gran diversidad en sus esqueletos, siendo muy marcada en comparación con otros terpenoides, la mayoría de ellos, son hidrocarburos olefinicos y sus estructuras se encuentran en forma oxidada. Algunos son derivados de carotenoides por oxidación degradativa. El farnesol es el más sencillo y precursor de los diferentes sesquiterpenos. Entre estos destacan los longipinenos (ESQUEMA 4), los cuales son formados a partir del cis-trans pirofosfato de farnesilo, siendo característico de éstos los Esteres de longipin-2-en-7 $\beta$ ,9 $\alpha$ -diol-1-ona.

Los longipinenos son metabolitos secundarios de la familia de las compuestas, y se encuentra en mayor abundancia en el género *Stevia*.

Este género se localiza en el Continente Americano y en especial en la zona central de México. A su vez, una gran cantidad de longipinenos han sido aislados de muy variados especímenes, tales como:

- *Stevia jaliscensis*<sup>20</sup>
- *Stevia serrata*<sup>21</sup>
- *Stevia polycephala*<sup>21</sup>
- *Stevia mandonii*<sup>22</sup>
- *Stevia boliviana*<sup>22</sup>
- *Stevia berlandieri*<sup>23</sup>
- *Stevia lemonia*<sup>23</sup>
- *Stevia salicifolia*<sup>23</sup>
- *Stevia mercedensis*<sup>24</sup>
- *Stevia potrerensis*<sup>25</sup>
- *Stevia aristata*<sup>26</sup>
- *Stevia lucida*<sup>27</sup>
- *Stevia triflora*<sup>27</sup>
- *Stevia subpubescens*<sup>28</sup>



**PARTE EXPERIMENTAL**

## PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jones y no están corregidos. La rotación óptica se determinó en un polarímetro digital Perkin Elmer modelo 241. Los espectros de ultravioleta (U.V) se realizaron en un espectrofotómetro UV-VIS Perkin Elmer modelo 552 usando etanol como disolvente. La espectrofotometría de infrarrojo (IR) se determinó en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 283 ó en un aparato Nicolet modelo Ft-55K, utilizando las técnicas: de pastilla (KBr), película o disolución clorofórmica. Los espectros de masas fueron determinados en un espectrómetro de masas SHIMADZU GCMS-QP2000A. Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN:  $H^1$ ,  $C^{13}$ , APT, DEPT, HETCOR) fueron determinados en un espectrofotómetro VARIAN FT-200. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) están dados en ppm, y están referidos al tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Para indicar los patrones de acoplamiento se usan las siguientes abreviaturas: s = señal simple, d = señal doble, t = señal triple, q = señal cuádruple, sa = señal simple ancha, dd = señal doble de doble, ddd = señal doble de doble de doble, smc = señal múltiple compleja, s/sp = señal sobrepuesta.

Las constantes de acoplamiento (J) están dadas en Hertz. La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se determinaron por cromatografía en capa fina (CCF) utilizando como reveladores: disolución de sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2 N, vapores de yodo o luz ultravioleta. Las cromatografías en columna (CC), se realizaron con gel de sílice tamaño de partícula de 0.2-0.5 milímetros (35-70 mallas), utilizando como eluyentes un gradiente de los sistemas benceno/ACOEt y n-hexano/ACOEt.

En los ESQUEMAS 5 y 6 se resume el trabajo desarrollado durante la parte experimental de esta tesis.

# COLECCION

(Carretera Toluca-Valle de Bravo: frente al Club de golf Avándaro;  
21-Oct-1990)

IDENTIFICACION  
(Voucher FESC-RE 19)

PLANTA SECA

PLANTA MOLIDA

EXTRACTO HEXANICO

Producto I

HIDROLISIS

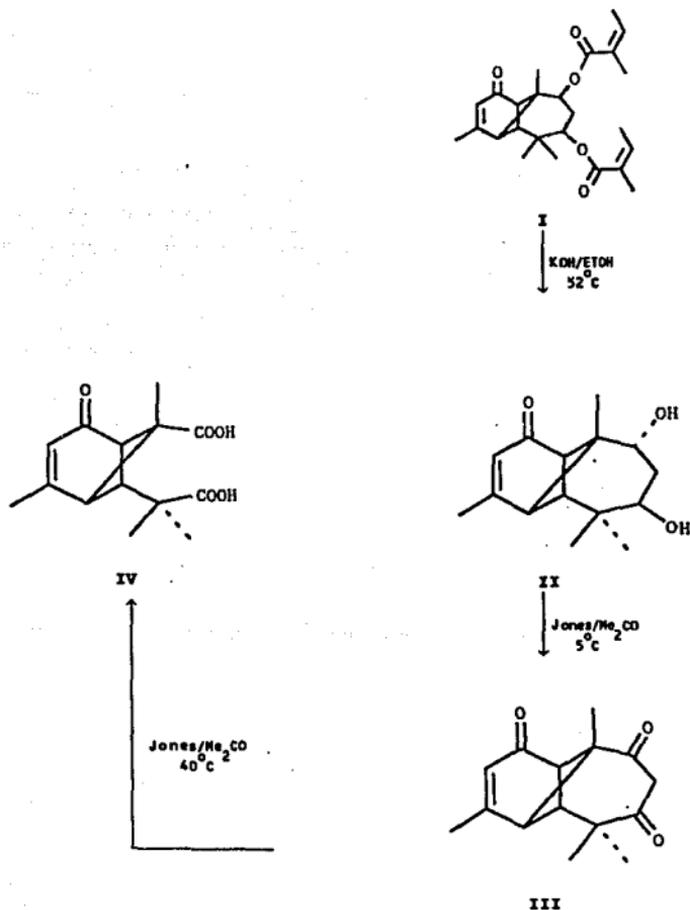
Producto II

OXIDACION SUAVE  
(PRODUCTO III)

OXIDACION DRASTICA  
(Producto IV)

ESQUEMA 5

REACCIONES QUIMICAS: A PARTIR DE LA MEZCLA DE LONGIPINENOS



ESQUEMA 6

ASLAMIENTO DE LA MEZCLA DE ESTERES DE LONGIPINENOS.- La planta, *Stevia subpubescens* se colectó el 21 de Octubre de 1990 en la carretera Toluca-Valle de Bravo, junto al Club de Golf Avándaro en el Edo. de México, México. Una muestra de este espécimen fue depositado en el Herbario Nacional del Instituto de Biología (FESC-RE 19). Las raíces secas fueron finamente molidas obteniéndose 1 Kg de raíz. El tratamiento que se dió a la raíz se muestra en el esquema 5; se trituro y maceró en *n*-hexano en frío, tres veces durante una semana, el extracto se concentró a presión reducida obteniéndose 8 g de crudo original, el cual posteriormente se cromatografió en columna (SiO<sub>2</sub>; benceno/AcOEt: 90-10), obteniéndose finalmente 3.5g de mezcla de ésteres de longipineno, predominando en un 80% el diangelato de longipin-2-en-7β,9α-diol-1-ona (I). Aceite amarillo-verdoso; con fórmula molecular C<sub>25</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub>; RMN H<sup>1</sup> (80 MHz) ver ESPECTRO I; su correlación con lo reportado en la literatura<sup>7</sup> se localiza en la TABLA III; EM-IE (70 ev) m/z (% int rel) 414(0.8) M<sup>+</sup>; 331(100) M<sup>+</sup> - C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>O.

HIDROLISIS DE LOS ESTERES DE LONGIPINENO.- 1.3 g de la mezcla de I, se hizo reaccionar con 35 ml de una disolución de NaOH en EtOH al 4% a una temperatura de 52°C durante 12 hr con agitación constante. El desarrollo de la reacción se controló por CCF (SiO<sub>2</sub>; n-hexano/AcOEt: 80-20), al final de la reacción se evaporó el disolvente, posteriormente a la mezcla de reacción se le extrajo con 20 ml de AcOEt y a continuación con NaHCO<sub>3</sub> 10% (10 ml x 3); acto seguido, la fase orgánica fue lavada con agua (10 ml x 3), mientras que la fase acuosa fue acidificada (HCl 10%), a continuación se extrajo el producto con AcOEt. En una etapa siguiente se reunieron las fases orgánicas, las cuales a su vez se lavaron con disolución de NaHCO<sub>3</sub> 10% y luego con agua; la fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anh.), se filtró y se concentró a presión reducida, obteniéndose 300 mg de Longipin-2-en-7β,9α-diol-1-ona (II). Polvo blanco; con fórmula molecular C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub>, pf 172 - 175 °C; [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +76; RMN H<sup>1</sup> (80 MHz) ver ESPECTRO II; su correlación con lo reportado en la literatura<sup>7</sup> se localiza en la TABLA III; EM-IE (70 ev) m/z (% int rel): 232(4.0) [M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O] 122 (100).

OXIDACION SUAVE DE II.- 100 mg de II se disolvieron en 8 ml de Me<sub>2</sub>CO, esta disolución se sometió a un baño de hielo con agitación constante; después se le adicionó poco a poco reactivo de Jones, controlando la temperatura de reacción a 5°C, siguiendo su desarrollo por CCF (SiO<sub>2</sub>; n-hexano/AcOEt: 80-20); terminada la transformación se evaporó el disolvente, se le adicionaron 20 ml de AcOEt y finalmente se realizaron lavados con agua (10 ml x 3). Se reunieron los extractos orgánicos, se secó el extracto orgánico (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>anh.), y finalmente a esta mezcla se le evaporó el disolvente a presión reducida, resultando 45 mg de Longipin-2-en-1,7,9-triona (III). Producto cristalino blanco; con fórmula molecular C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub>; pf 110 - 115 °C; [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -36.74; IR <sup>película</sup><sub>max</sub> cm<sup>-1</sup>: 1720(O=C dicetona), 1675(O=C, cetona α, β-insaturada), 1616(O=C cetona), 1372(CH<sub>3</sub>); UV <sup>EtOH</sup><sub>λmax/nm</sub> (log ε): 206 Y 260; RMN H<sup>1</sup>(200 MHz) TABLA III; RMN C<sup>13</sup> (TABLA II); ADEPT(TABLA IV); EM-IE (70 ev) m/z (% int rel): 246(28) M<sup>+</sup>; 231(5) M<sup>+</sup>-15; 218(15) M<sup>+</sup>-28.

OXIDACION DRASTICA DE II.- 200 mg de II se disolvieron en 8 ml de Me<sub>2</sub>CO, adicionando poco a poco reactivo de Jones hasta un exceso (ca 2.5 eq), controlando la temperatura de reacción a 40°C, el desarrollo de ésta, se siguió por CCF (SiO<sub>2</sub>; n-hexano/AcOEt: 80-20), a la mezcla se le evaporó el disolvente, posteriormente fue tratada con 10 ml de agua para después realizar una serie de extracciones con AcOEt (10 ml x 3), se juntaron los extractos orgánicos y se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anh.), finalmente se evaporó el disolvente a presión reducida obteniéndose 24 mg de ac. 8-norlongipin-2-en-7,9-dioico (IV). Aceite; con fórmula molecular C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>; [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +25; IR<sub>película max</sub> cm<sup>-1</sup>: 3058.460 (OH ácido), 2975.542 y 2931.295 (CH), 1711(O=C ácido), 1680.885 (O=C α, β-insaturada), 1611.951 (C=C); UV<sub>EtOH</sub> λ<sub>max/nm</sub> (log ε): 248; RMN H<sup>1</sup> (200 MHz) TABLA III; RMN C<sup>13</sup> (TABLA II); APT(TABLA V); EM-IE (70 ev) m/z (% int rel): 248(1.8) M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O; 220(2) M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O - CO.

**DISCUSSION**

## DISCUSION

De la cromatografía en columna de gel de sílice del extracto *n*-hexánico de la raíz de *Stevia subpubescens*, eluida con  $C_6H_6/ACOEt$  (90:10), se obtuvieron 3.5 g de una mezcla de ésteres de longipineno, predominando en ésta en un 80% el diangelato correspondiente. La composición química de esta mezcla (diangelato principalmente) se validó con sus datos espectroscópicos (RMN  $H^1$ , RMN  $C^{13}$ , U.V., I.R.) mediante correlación con lo reportado por P. Joshep-Nathan et al<sup>7</sup>, así mismo mediante el trabajo de L. Roman y cols.<sup>28</sup> sobre la raíz de *Stevia subpubescens*. Al respecto consideramos adecuado mencionar que la selección de este espécimen, se hizo en base a que es muy accesible (Avándaro Estado de México) abundante y rico en ésteres de longipineno.

Acto seguido, para efecto de obtener la materia prima necesaria (II) y efectuar las oxidaciones, se procedió a realizar una hidrólisis alcalina de la mezcla de ésteres de longipineno, obteniéndose 600 mg del diol correspondiente. La estructura de éste, se comprobó por correlación de su espectro de RMN  $H^1$  y RMN  $C^{13}$  con los reportados en la literatura<sup>7</sup>.

Por otro lado, en México abunda el género *Stevia* (50 % de la población del continente americano). Además, las raíces de los especímenes de este género son ricas en derivados del longipineno; en consecuencia nuestro país se caracteriza por tener una amplia divulgación en el aislamiento, caracterización y transformación de entidades químicas con el esqueleto antes mencionado.

Después de una exhaustiva revisión bibliográfica, no encontramos

información concerniente a productos de oxidación con esqueleto de longipineno que puedan proveer de funcionalidades con interés químico.

En este sentido con el compuesto II se hicieron una serie de pruebas de oxidación, resultando de interés particular las realizadas con el reactivo de Jones: a 5 °C y a 40 °C formándose una dicetona (III) y un nordiácido (IV) respectivamente.

El producto de oxidación III, se obtuvo al someter II, a una oxidación suave mediante el uso de reactivo de Jones a temperatura ambiente, obteniéndose un producto cristalino blanco con fórmula molecular:  $C_{15}H_{18}O_3$  y un p.f 110 - 115 °C. El espectro de U.V. de tal producto presenta valores de  $\lambda_{max}$ . de absorbancia a 206 nm y una  $\lambda_{max}$  a 260 nm. El infrarrojo muestra; una banda en 1720  $cm^{-1}$  debido a la dicetona, una banda en 1675  $cm^{-1}$  que indica la presencia de una cetona  $\alpha, \beta$ -insaturada y finalmente una banda en 1615  $cm^{-1}$  característica de un doble enlace.

En el correspondiente espectro de RMN  $H^1$  determinado a 200 MHz puede observarse en primera instancia una señal cuádruple en 5.8865 ppm con  $J = 0.7$  Hz la cual integra para un protón y es asignada a la posición vinílica en 2; enseguida resalta la presencia de un sistema AB centrado en 4.0983 ppm, asignable a los protones 8  $\alpha$  (4.3217,  $J = 11$  Hz) y 8  $\beta$  (3.88,  $J = 11$  Hz); después en 3.3833 ppm se vé una señal doble con  $J = 7$  Hz que integra para un protón la cual por correlación con los compuestos de longipineno reportado en la literatura inequívocamente corresponde al protón en posición 11; centrada en 2.8051 ppm se presenta una señal doble de doble con  $J = 7.14$  Hz, la cual integra para un protón y por correlación queda

asignada al hidrógeno de la posición 4; a su vez el hidrógeno en 5 se detecta por la asignación de una señal simple en 2.58 ppm; por otro lado en 2.12 ppm aparece una señal doble con  $J = 0.7$  Hz la que por su acoplamiento y desplazamiento químico se asigna a el metilo vinílico (Me - 12); finalmente a campo más alto se observan dos señales simples en 1.25 y 1.23 ppm que integran para 6 y 3 protones respectivamente, las cuales corresponden a los protones de los metilos en 13, 14 y 15.

Por otro lado el espectro de RMN  $C^{13}$ , de la entidad oxidada III, presenta en la región de los carbonilos; en la versión normal y ADEPT una señal en 202.917 ppm que se asigna al carbono del carbonilo  $\alpha,\beta$ -insaturado, así mismo, en esta misma región y respectivamente en 202.216 y 199.997 ppm se presentan otras dos señales correspondientes a los carbonilos de la  $\beta$ -dicetona; posteriormente en 169.697 ppm se presenta una señal de carbono tetrasustituido la cual es debida a C-3; por otro lado en 122.253 ppm se ve una señal la que de acuerdo a la versión de ADEPT pertenece a un metino el cual se asigna a C-2; por la región de campo alto y de manera muy específica, en 62.839 ppm se manifiesta una señal de carbono trisustituido perteneciente a C-5; en seguida hay dos señales sobrepuestas en 57.759 ppm correspondiende para un metileno y otro tetrasustituido asignados a C-8 y C-10 de manera respectiva; para C-11 se tiene en el espectro una señal a 56.647 ppm congruente para un metino; asimismo C-4 presenta un desplazamiento químico de 49.709 ppm, este carbono también es de tipo metino; finalmente a campo alto se presentan señales típicas de metilo en 23.804, 23.384, 23.152 y 17.113 asignadas a C-15, C-12, C-13 Y C-14 respectivamente. Es así que, en base a los

datos espectroscópicos anteriormente discutidos y por ende tomando en consideración el experimento de RMN 2D Heteronuclear (HETCOR) datos presentados en el ESPECTRO VIII, resumidos a su vez en la TABLA V; se identifica inequívocamente al producto de oxidación suave, como la dicetona (III).

Por último, su fórmula molecular  $C_{15}H_{18}O_3$ , concuerda con los datos obtenidos por espectrometría de masas 246(28)  $H^+$ ; 231(5)  $H^+-15$ ; 218(15)  $H^+-28$ .

El producto IV se obtuvo por oxidación drástica de II con la utilización del reactivo de Jones a 40 °C, obteniéndose un producto aceitoso, cuya fórmula molecular es:  $C_{14}H_{18}O_5$ . El espectro de U.V. de este producto exhibe valores de  $\lambda$  max. de absorbancia a 248 nm. El espectro infrarrojo presenta: una banda ancha en 3620 a 2701.220  $cm^{-1}$  debido al grupo oxhidrilo de los ácidos, una banda en 2975.542 y 2931.295  $cm^{-1}$  correspondientes a enlaces carbono-hidrógeno ( $sp_3$ ), enseguida se presenta una banda en 1711.116  $cm^{-1}$  típica de un grupo carbonilo de ácido, posteriormente se tiene una banda en 1680.885 característica para un grupo carbonilo de cetona  $\alpha, \beta$ -insaturada finalmente se tiene una banda en 1611.951 perteneciente a un doble enlace carbono-carbono. Por otro lado en su espectro de RMN  $H^1$  determinado a 80 MHz se observa una señal ancha correspondiente a los grupos ácidos, la cual desaparece al ser intercambiado con agua deuterada. En el espectro determinado a 200 MHz puede observarse en primer lugar una señal simple ancha en 5.88 ppm la cual integra para un protón y es asignada a la posición vinílica en 2; a

continuación sobresale la presencia de una señal dd/sp centrada en 3.63 ppm, la cual integra para 2 protones, de las posiciones 4 y 11, después en 2.32 ppm se observa una señal simple que integra para un protón la cual al ser correlacionada con los derivados de longipineno reportados en la literatura <sup>7</sup>, indudablemente corresponde al protón en posición 5; el valor en 2.15 ppm se presenta como una señal doble la cual integra para tres protones y por analogía queda asignada a los hidrógenos del metilo en 12; por último a campo más alto se observan tres señales simples en 1.22, 1.25 y 1.20 ppm las que integran para 3 protones cada una, correspondiendo éstas a los protones de los metilos en 13, 14 y 15 de manera respectiva.

Finalmente, se tiene que en su correspondiente espectroscopia de RMN  $C^{13}$ , de la entidad oxidada IV, presenta en la región de los carbonilos tanto en la versión normal como de APT una señal en 202.349 ppm que se establece al carbono del carbonilo  $\alpha$ - $\beta$ -insaturado, de manera análoga en esta misma región y específicamente en 183.110 y 183.875 ppm, se observan otras dos señales correspondientes a los carbonos de carbonilo del diácido; a continuación se tiene en 171.499 ppm una señal de carbono par, la cual corresponde a C-3; posteriormente en 123.187 ppm se observa una señal la que de acuerdo al experimento APT pertenece a un carbono non (metino) el cual se asigna a C-2; por otro lado en la región de campo alto y de manera concreta en 66.205 ppm se manifiesta una señal de carbono non/trisustituido concerniente a C-5; en seguida se presentan dos señales sobrepuestas en 56.907 ppm pertenecientes a carbonos par y non, correspondientes a un carbono tetrasustituido y otro metino asignados a C-10 y C-11 de manera respectiva; para C-4 se tiene en el espectro una

señal a 50.018 ppm, lógico para un carbono non/metino; del mismo modo C-12 presenta un desplazamiento químico de 23.261 ppm, este carbono también es non tipo metino; finalmente a campo más alto y de acuerdo a la interpretación de APT se presentan señales típicas de metilo en 20.035, 25.084 y 28.338 asignadas a C-13, C-14 y C-15 respectivamente.

De acuerdo a los datos obtenidos espectroscópicamente, analizados con anterioridad y relacionándolos con el experimento de RMN 2D Heteronuclear (HETCOR) datos expuestos en el espectro XVI, compendiado a su vez en la TABLA VII; se concluye de esta manera con la identificación del producto de oxidación drástica como el diácido (IV).

Finalmente, su fórmula molecular  $C_{14}H_{18}O_5$ , concuerda con los datos obtenidos por espectrometría de masas  $248(1.8) M^+ - H_2O$ ;  $220(2) M^+ - H_2O - CO$ .

**CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES

- 1.- Los longipinenos se encuentran con excelente rendimiento en una gran variedad del género *Stevia*; esto permitió que se llevara a cabo un estudio químico sobre este tipo de entidades químicas.
- 2.- Se reporta en este trabajo un estudio espectroscópico, particularmente de RMN, para caracterizar y asignar inequívocamente las señales de dos productos de oxidación III y IV; los cuales no se encuentran descritos en la literatura química.
- 3.- Para evidenciar la estructura de los productos de oxidación, III y IV fue necesario recurrir a los métodos espectroscópicos siendo los siguientes: U.V; I.R; RMN  $H^1$ ; RMN  $C^{13}$  versiones: ADEP, APT; HETCOR favoreciendo de esta manera la caracterización estructural de los productos obtenidos.

**TABLAS Y ESPECTROS**

TABLA II.- Datos de RMN C<sup>13</sup> de los compuestos I - IV.  
 I - II(75 MHz)      III - IV(25 MHz)

Carbono	COMPUESTO			
	I <sup>a</sup> ppm	II <sup>a</sup> ppm	III ppm	IV ppm
1	202.93	204.58	202.917	202.349
2	122.79	122.67	122.253	123.187
3	170.35	171.70	169.697	171.499
4	48.41	48.92	49.709	50.018
5	65.86	66.59	62.839	66.205
6	37.37	38.23	48.428	42.525
7	72.25	69.34	199.997	183.110
8	32.40	38.87	57.759	-
9	74.71	73.72	202.216	183.875
10	55.86	57.46	57.759	56.907
11	54.06	52.71	56.647	56.907
12	23.35	23.42	23.384	25.084
13	21.36	21.91	23.152	23.261
14	19.14	17.67	17.113	20.035
15	26.21	26.49	23.804	28.338
R <sub>1</sub> =	Ang	H		
1	166.83	-		
2	127.98	-		
3	137.75	-		
4	15.73	-		
5	20.63	-		
R <sub>2</sub> =	Ang	H		
1	167.28	-		
2	128.11	-		
3	138.29	-		
4	15.82	-		
5	20.63	-		

<sup>a</sup>Datos reportados en la literatura (7).

TABLA III.- Datos de RMN  $H^1$  de los compuestos I - IV.  
I - II (300 MHz) III - IV (200 MHz).

Protón	COMPUESTO			
	I <sup>a</sup> ppm	II <sup>a</sup> ppm	III ppm	IV ppm <sup>c</sup>
H-2 q(d/d)	5.81	5.78	q 5.8865	sa 5.88
H-4 dd	2.67	2.56	dd 2.8051	dd/sp 3.63
H-5 s	2.34	2.28	s 2.58	s 2.32
H-7 dd	5.11	3.93	-	-
H-8 ddd	2.11	1.91	AB [(d)4.0983 (d)4.0983	-
H-8 ddd	2.24	2.26		-
H-9 dd	5.13	3.86	-	-
H-11 dd	3.17	3.03	d 3.3833	dd/sp 3.63
Me-12 d	2.06	2.03	d 2.1200	d 2.15
Me-13 s	1.02	1.10	s 1.2400	s 1.22
Me-14 s	1.08	0.95	s 1.2500	s 1.25
Me-15 s	0.93	0.99	s 1.2300	s 1.20
R <sub>1</sub> =	Ang	H		
H-3 trans <sup>d</sup>	6.03	-		
H-4	1.95	-		
H-5	1.87	-		
HO	-	1.65		
R <sub>2</sub> =	Ang	H		
H-3 trans <sup>d</sup>	6.11	-		
H-4	2.03	-		
H-5	2.01 <sup>b</sup>	-		
HO	-	-		

<sup>a</sup>Datos reportados por la literatura (7)

<sup>b</sup>Señal compleja

<sup>d</sup>Con respecto al grupo carbonilo

TABLA IV.- Datos de RMN  $C^{13}$  en su versión ADEPT para:  
LONGIPIN-2-EH-1,7,9-TRIONA

C	ADEPT				
	ppm	C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
1	-	X			
2	122.23		X		
3	-	X			
4	49.68		X		
5	62.82		X		
6	-	X			
7	-	X			
8	57.77			X	
9	-	X			
10	57.77	X			
11	56.63		X		
12	23.38				X
13	23.17				X
14	17.11				X
15	23.80				X

**TABLA V.- Datos de correlación heteronuclear (HETCOR) para:**  
**LONGIPIN-2-EN-1,7,9-TRIONA**

$H_n / C_n$	$S_H / S_C$
$H_1 / C_1$	--- / 202.917
$H_2 / C_2$	5.8865 (1H, q) / 122.253
$H_3 / C_3$	--- / 169.697
$H_4 / C_4$	2.8051 (1H, dd) / 49.709
$H_5 / C_5$	2.5800 (1H, s) / 62.839
$H_6 / C_6$	--- / 48.428
$H_7 / C_7$	--- / 199.997
$H_8 / C_8$	AB $\left[ \begin{array}{l} 4.0983 (1H, d) / 57.759 \\ 4.0983 (1H, d) / 57.759 \end{array} \right.$
$H_9 / C_9$	--- / 202.216
$H_{10} / C_{10}$	--- / 57.759
$H_{11} / C_{11}$	3.3833 (1H, d) / 56.647
$H_{12} / C_{12}$	2.12 (3H, d) / 23.384
$H_{13} / C_{13}$	1.24 (3H, s) / 23.152
$H_{14} / C_{14}$	1.25 (3H, s) / 17.113
$H_{15} / C_{15}$	1.23 (3H, s) / 23.804

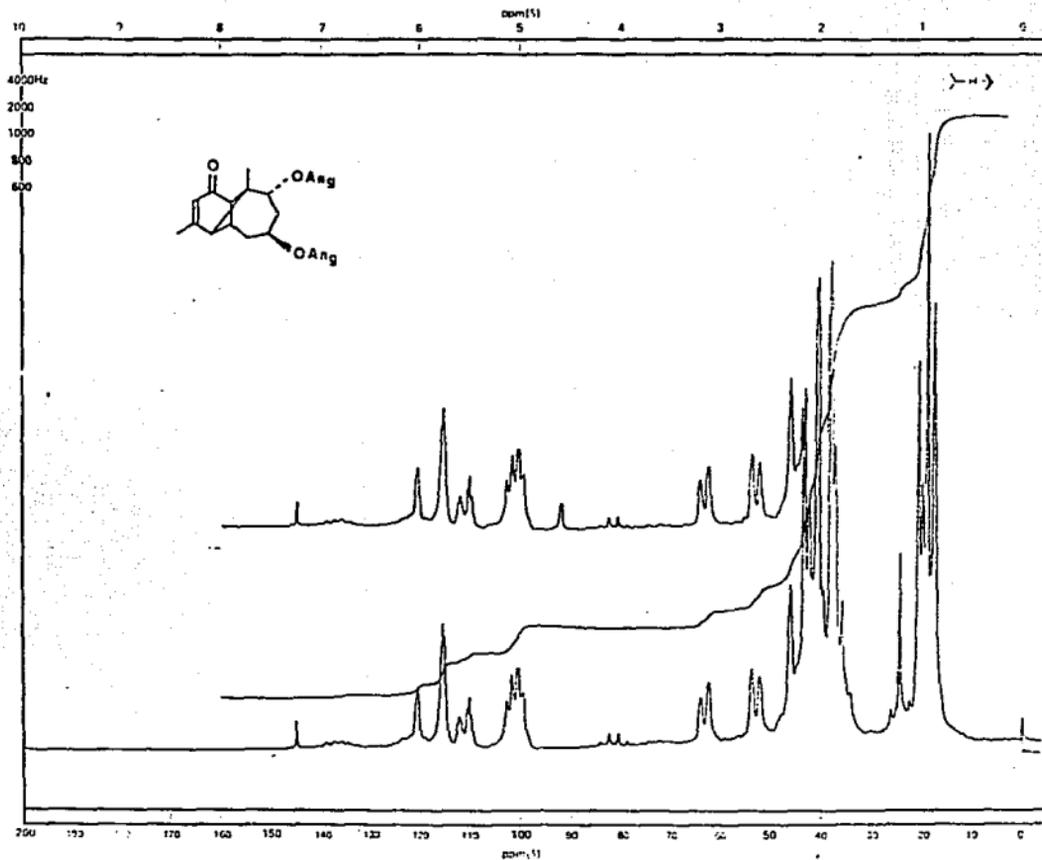
TABLA VI.- Datos de RMN  $C^{13}$  en su versión APT para:  
Ac. 8-NORLONGIPIN-2-EN-7,9-DIOICO

C	ppm	APT			
		NON		PAR	
		(CH	CH <sub>3</sub> )	(C	CH <sub>2</sub> )
1	202.349			X	
2	123.187	X			
3	171.499			X	
4	50.018	X			
5	66.205	X			
6	42.525			X	
7	183.110			X	
9	183.875			X	
10	56.907			X	
11	56.907	X			
12	25.084		X		
13	23.261		X		
14	20.035		X		
15	28.338		X		

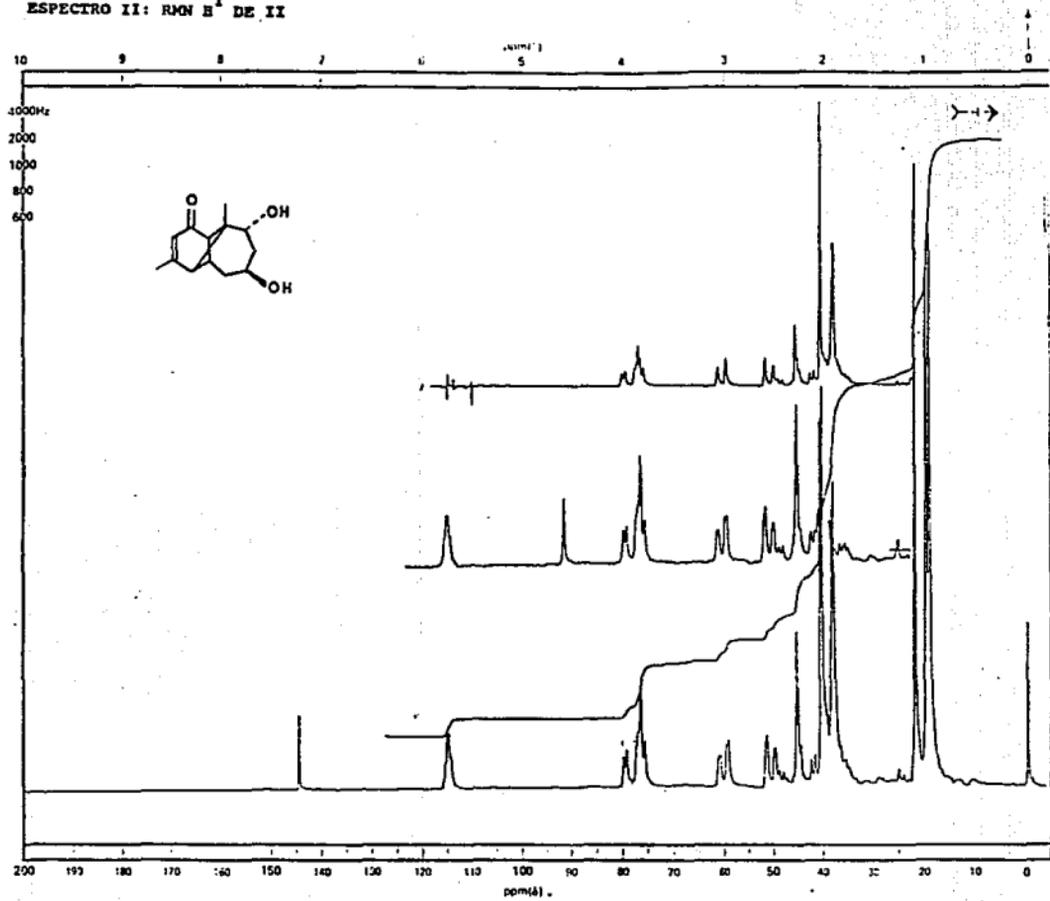
TABLA VII.- Datos de correlación heteronuclear (HETCOR) para:  
Ac. 8-NORLONGIPINEN-7,9-DIOICO

$H_n/C_n$	$S_H^{13} / S_C^{13}$
$H_1/C_1$	--- / 202.349
$H_2/C_2$	5.88(1H, sa ) / 123.187
$H_3/C_3$	--- / 171.499
$H_4/C_4$	3.63(1H, dd/sp) / 50.018
$H_5/C_5$	2.32(1H, s ) / 66.205
$H_6/C_6$	--- / 42.525
$H_7/C_7$	--- / 183.110
$H_9/C_9$	--- / 183.875
$H_{10}/C_{10}$	--- / 56.907
$H_{11}/C_{11}$	3.63(1H, dd/sp) / 56.907
$H_{12}/C_{12}$	2.15(3H, d ) / 25.084
$H_{13}/C_{13}$	1.22(3H, s ) / 23.261
$H_{14}/C_{14}$	1.25(3H, s ) / 20.035
$H_{15}/C_{15}$	1.20(3H, s ) / 28.338

ESPECTRO I: RMN H<sup>1</sup> DE I

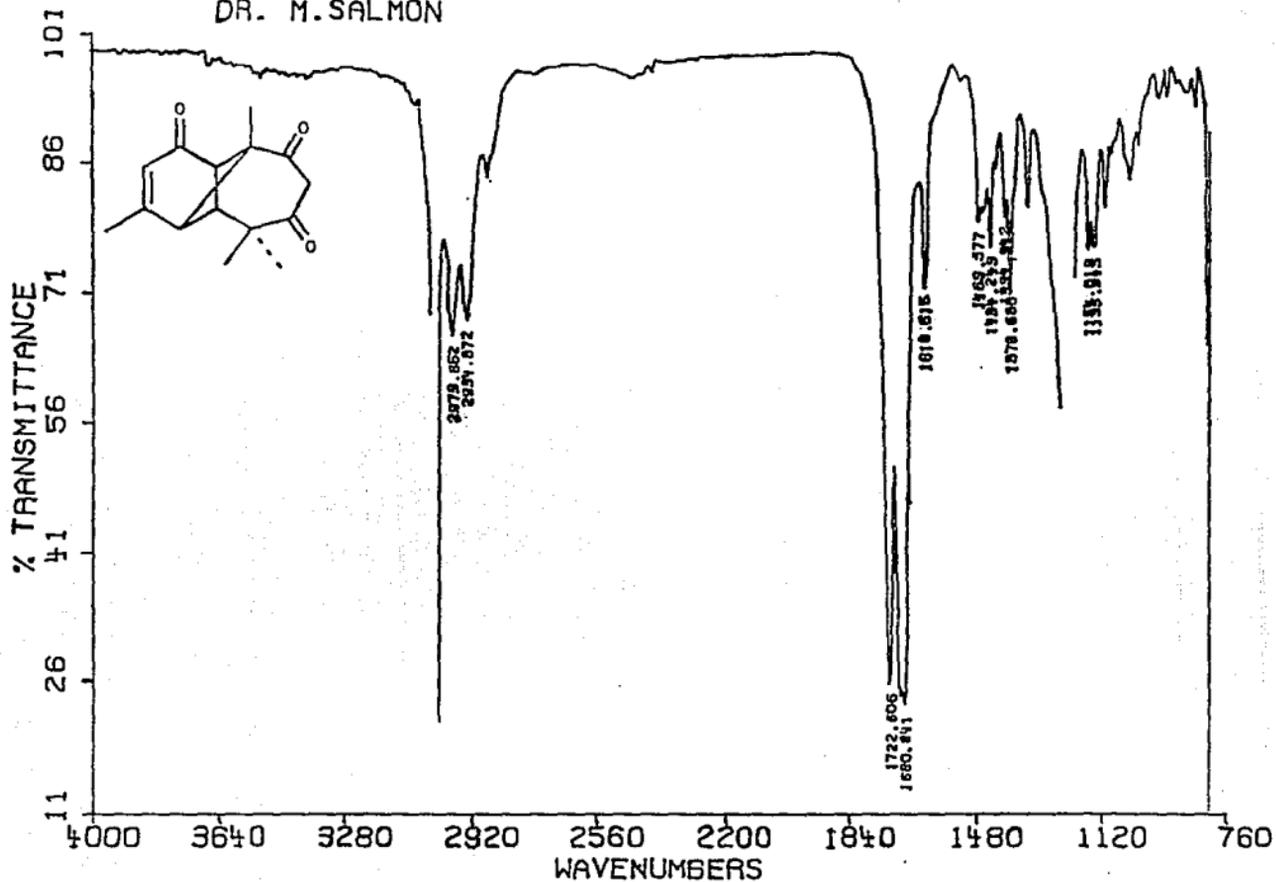


ESPECTRO II: RMN H<sup>1</sup> DE II





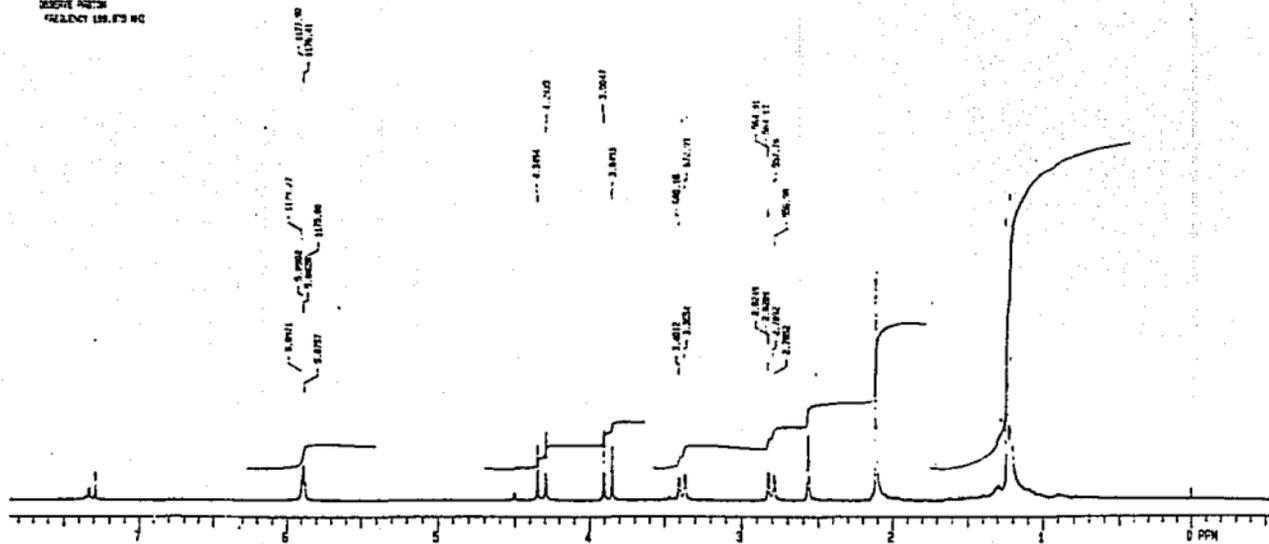
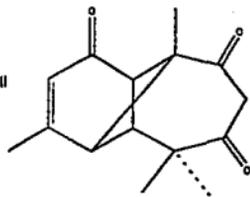
DR. M. SALMON



ESPECTRO V; RMN H<sup>1</sup> DE III

RECIBO-14-10-62  
 DATE: PALM SPRINGS CALIF.  
 DATE: 10-14-62  
 SOLVENT: CDCl<sub>3</sub>  
 P.L.S. M

DESORTE PENTON  
 FREQUENCY 100.625 MC



ESPECTRO VI: RMN C<sup>13</sup> DE III

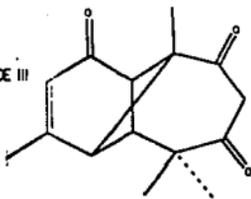
ACID-SALICIN-86

EXP: PALME SERRAVALLE: SPAL

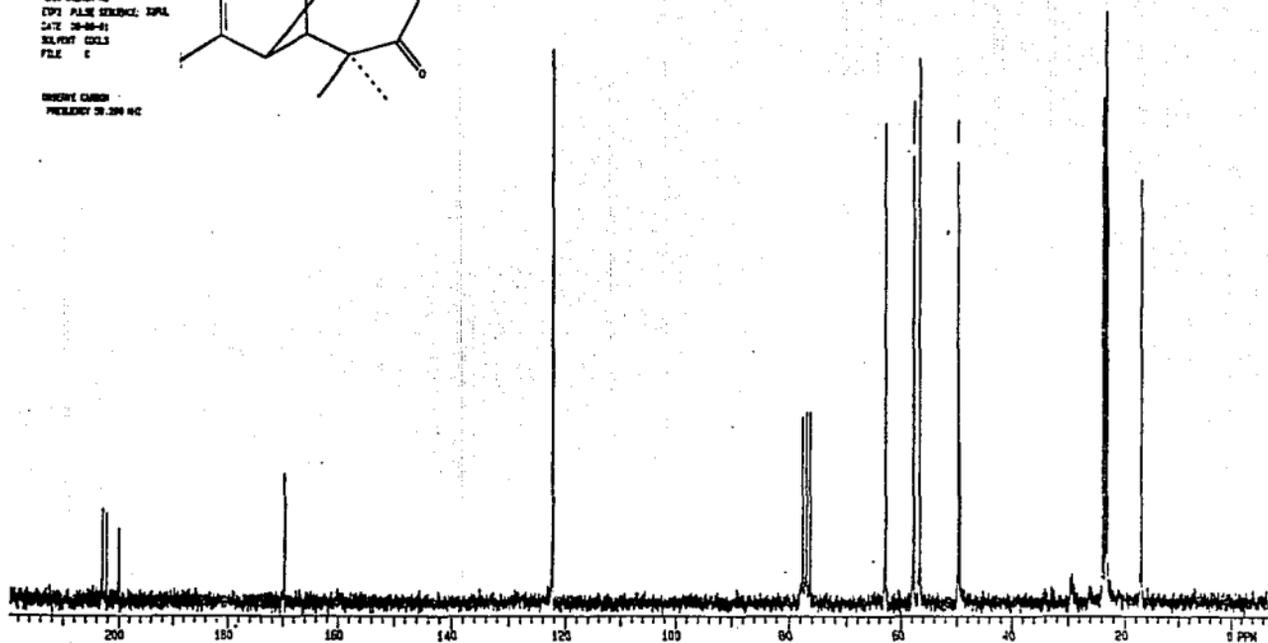
DATE: 28-08-91

SOLVENT: CDCl<sub>3</sub>

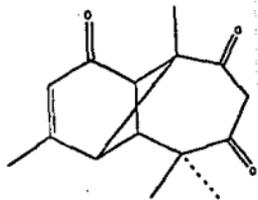
FILE: E



OSERVE CARBON  
FREQUENCY 25.299 MHz

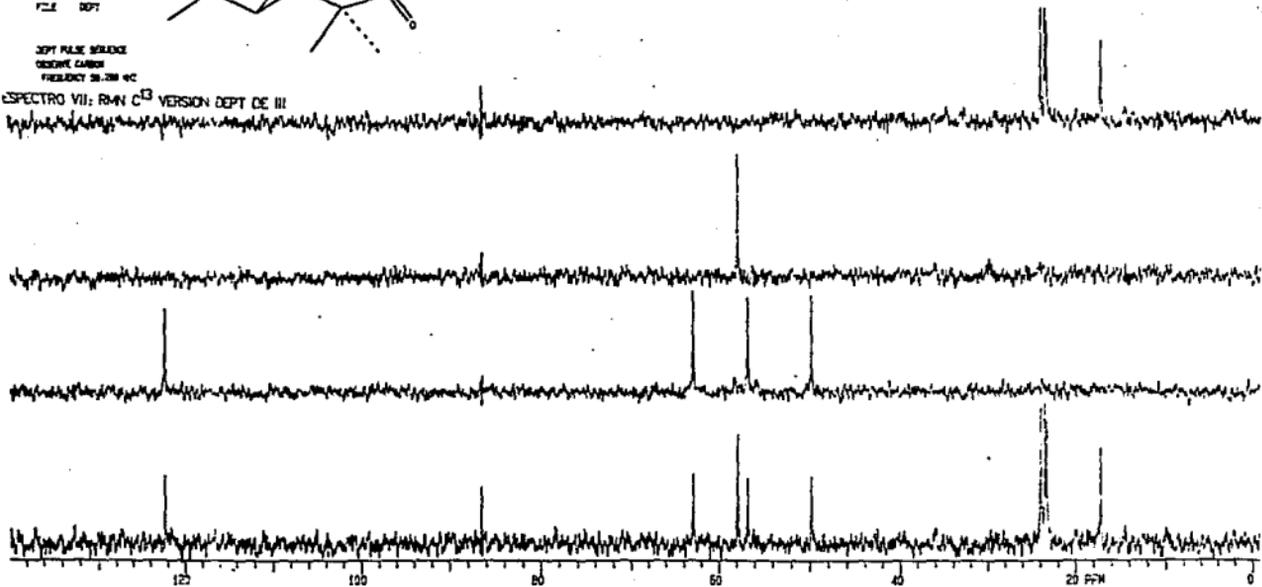


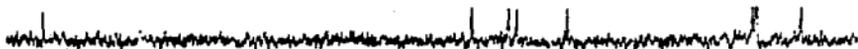
1211-SALMON-81  
EDP3 PULSE SEQUENCE: DEPT  
DATE 04-17-81  
SOLVENT CDCl3  
FILE DEPT



DEPT PULSE SEQUENCE  
PROBHD: CARBON  
FREQ: 25.280 MHz

ESPECTRO VII: RMN C<sup>13</sup> VERSION DEPT DE III

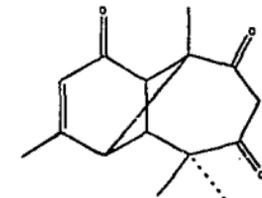
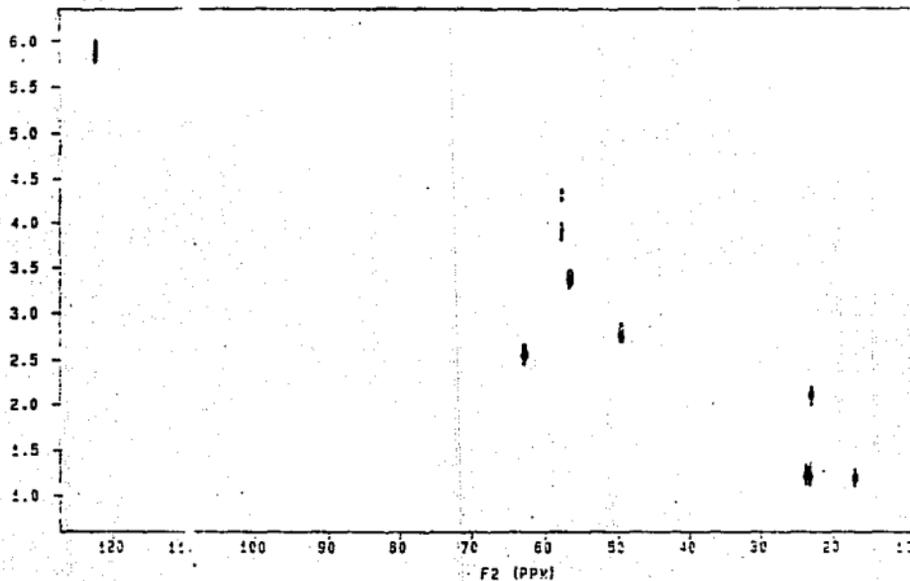




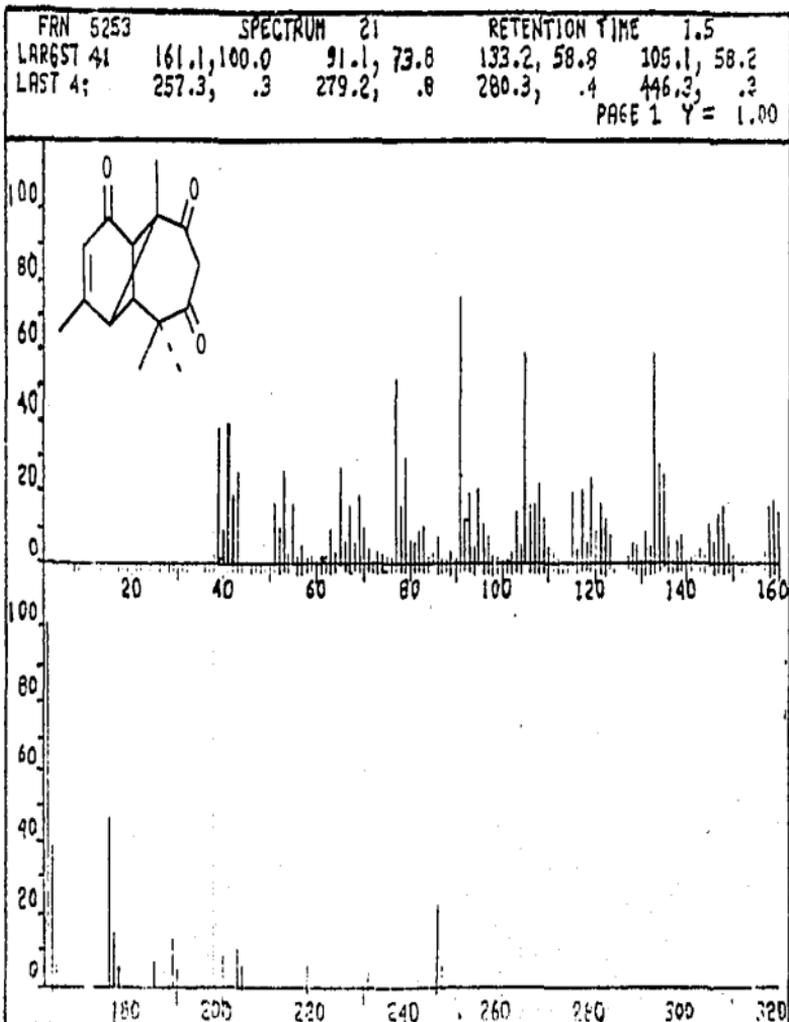
METO-CALORPAB  
 EXP: PULS SEQUEN: HETCOR  
 DATE: 10-15-91  
 SOLVENT: CDCl3  
 FILE: HETCOR

ESPECTRO VIII: RMN H<sup>1</sup> Y RMN C<sup>13</sup> VERSION HETCOR DE III

F1 (PPM)



ESPECTRO IX: MASAS DE III





DR. M. SALMON

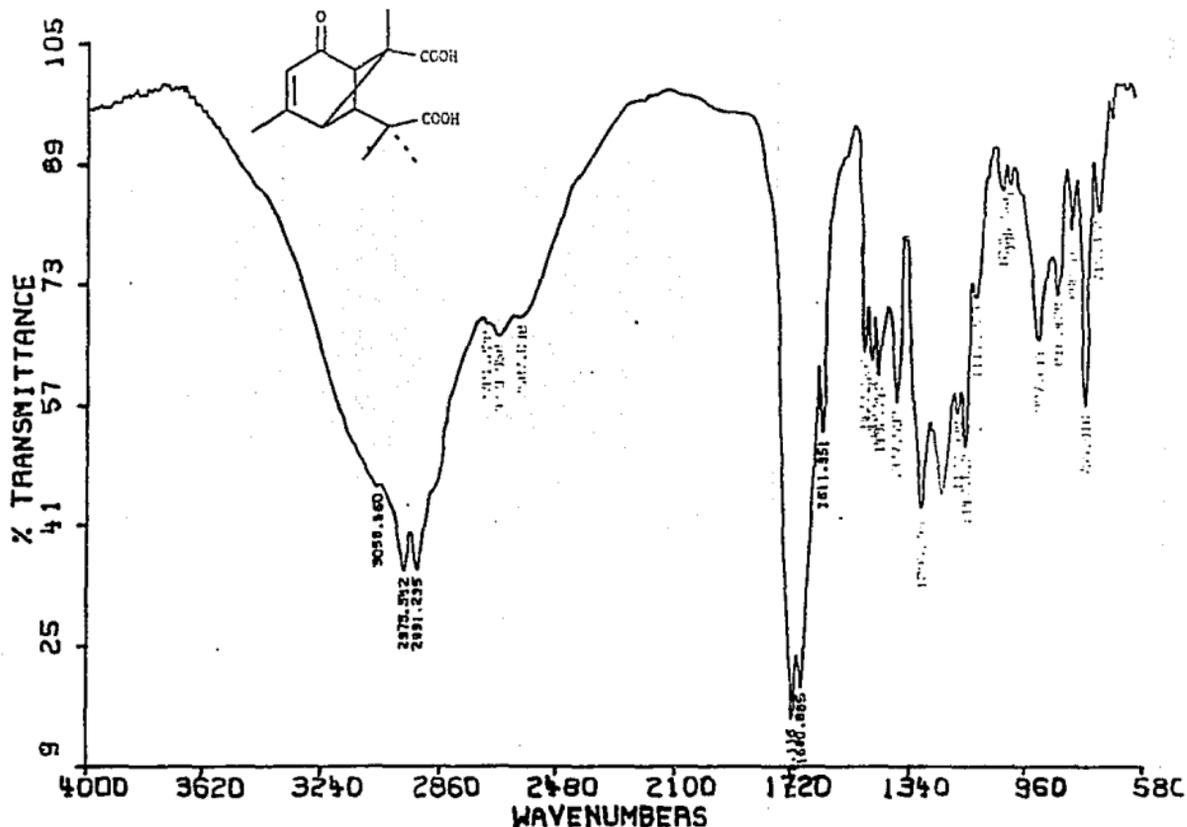
DA-1

PELICULA

23/05/91

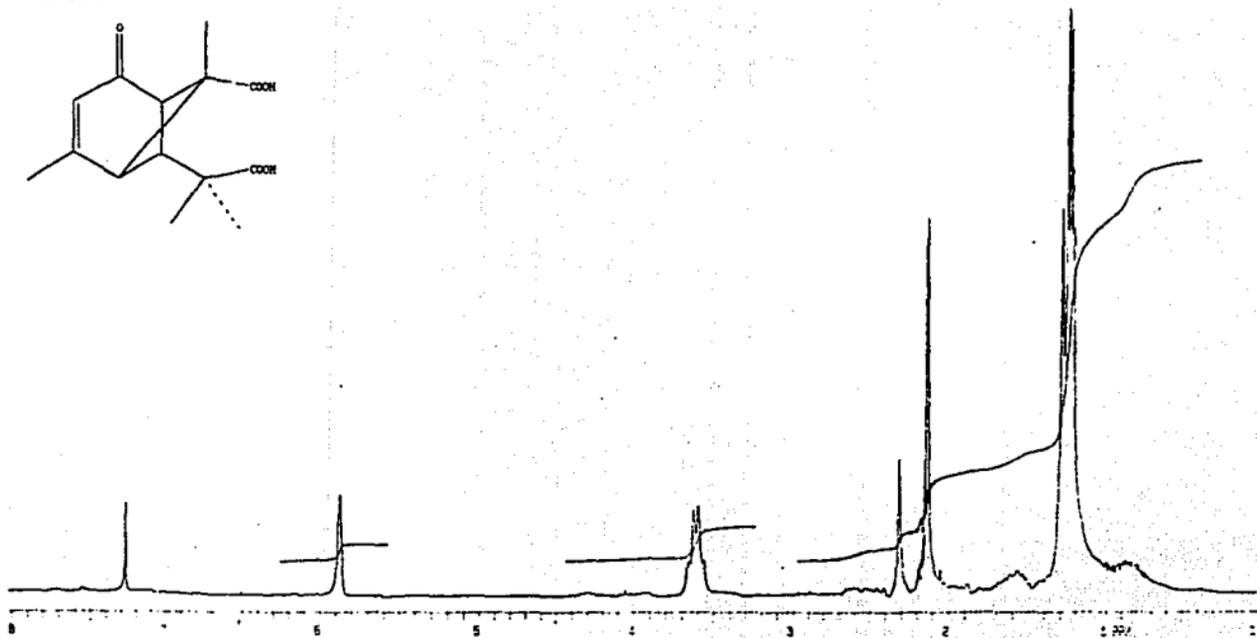
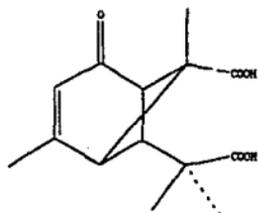
RPM

ESPECTRO I: I.R. DE IV



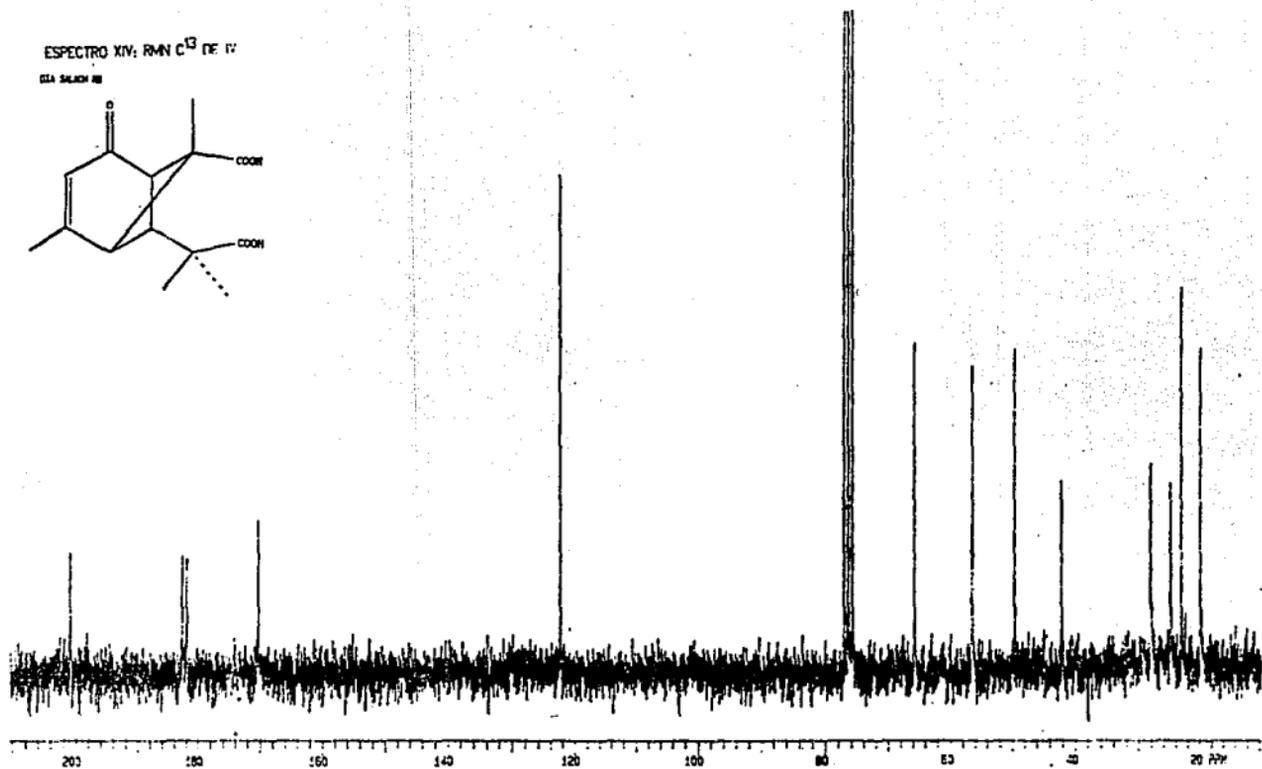
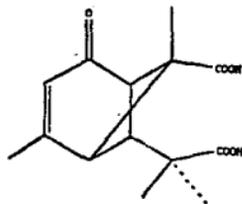


ESPECTRO XIII: RMN H<sup>1</sup> DE IV  
C1A SALMON PE



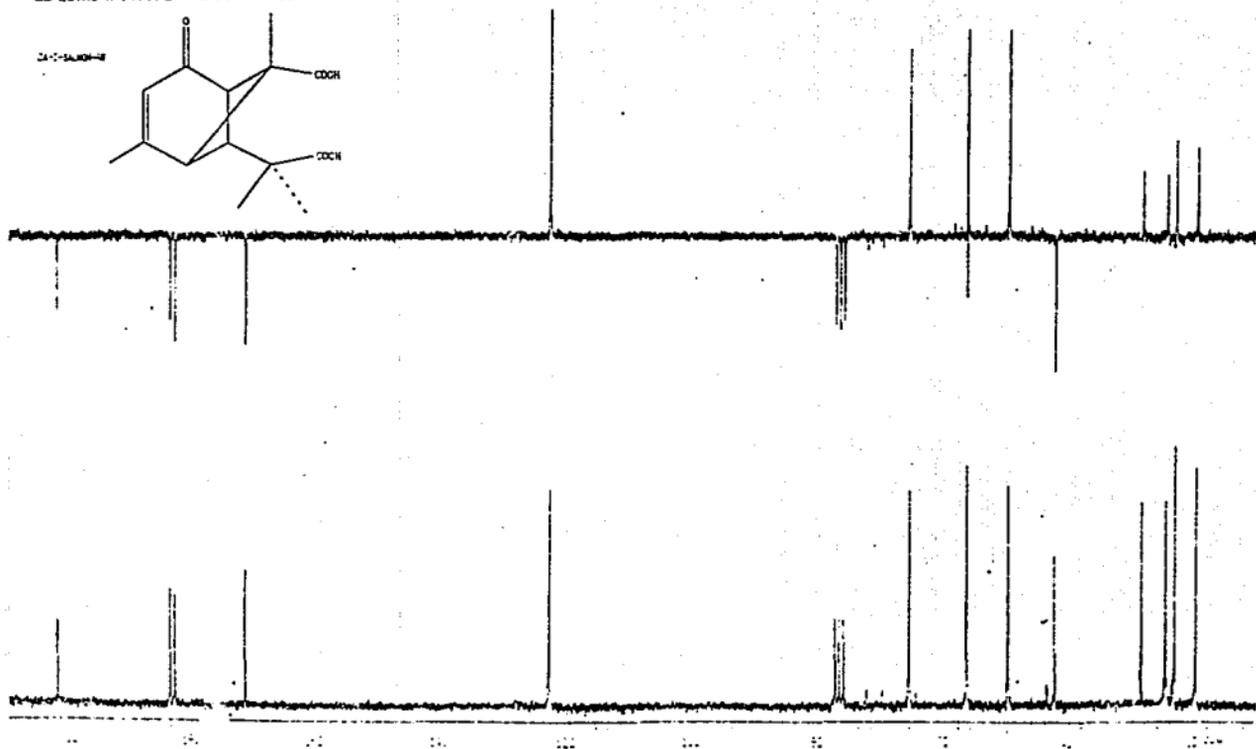
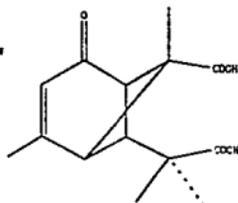
ESPECTRO XIV: RMN C<sup>13</sup> DE IV

61A SEARCH 88



ESPECTRO XV: RMN  $C^{13}$  VEF. ON APT DE IV

24-11-2008-14

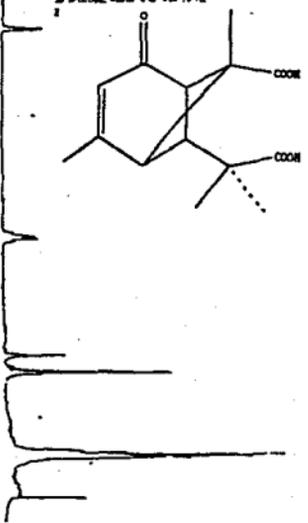
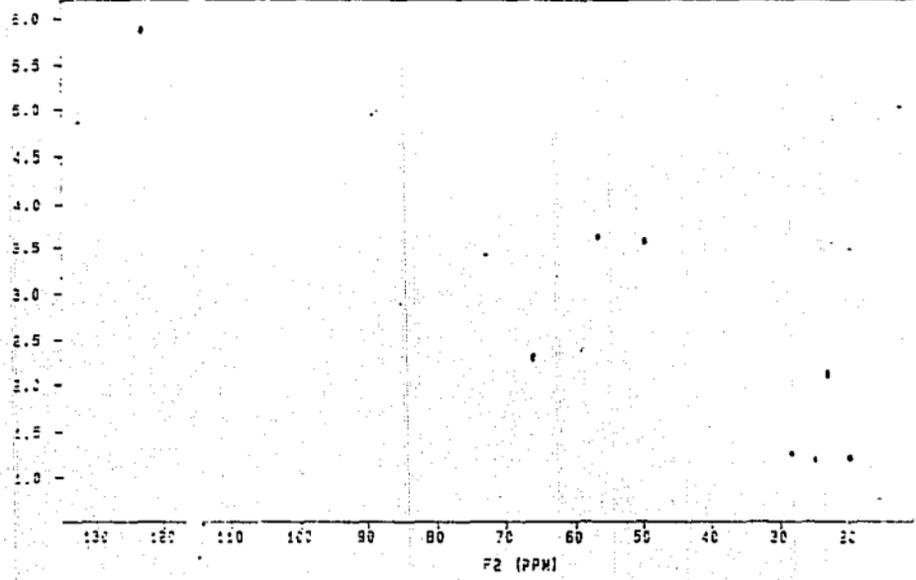


22A SALASH 06  
CIVIL ALICE BERNARDI METCO

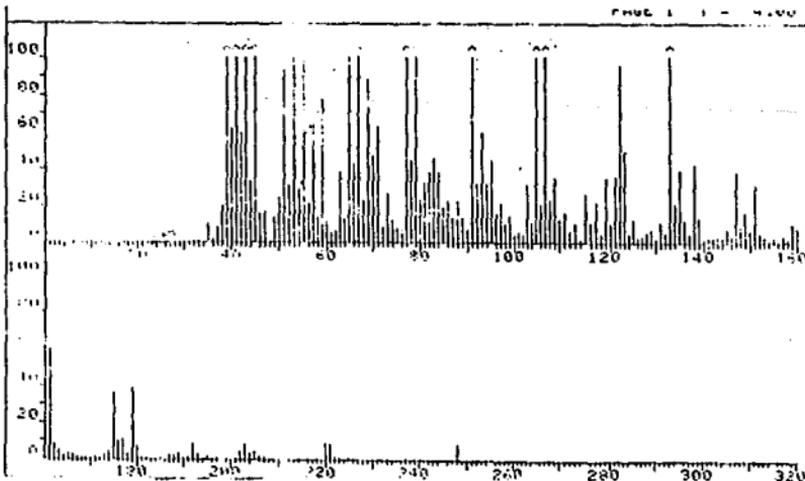
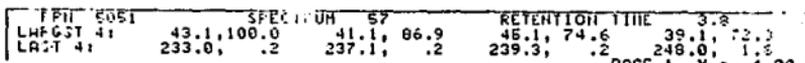
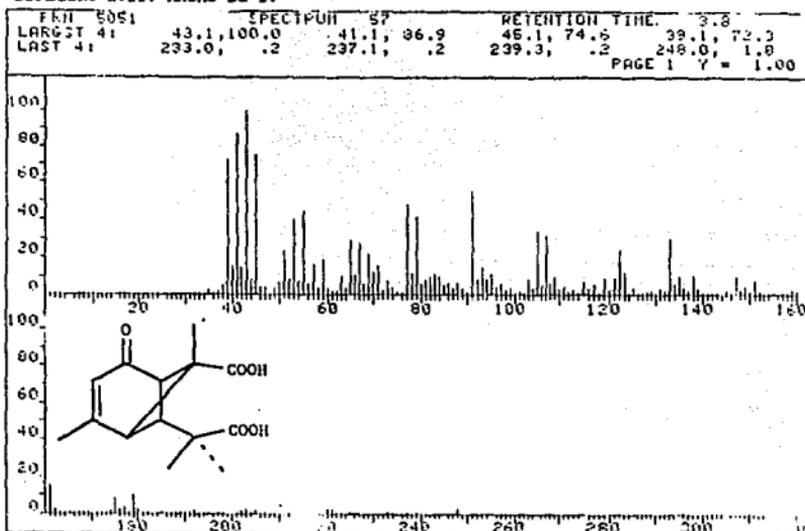
01.05.77 00.03  
FILE METCO

ESPECTRO XVI: RMN H<sup>1</sup> Y RMN C<sup>13</sup> VERSION HETCOR DE IV

METCO FILME RESONANCE  
SPECTRO LABORS  
FREQ. 100.624 MHz  
100 MHz SPECTRO LABORS 100 MHz



ESPECTRO VIII: MASAS DE IV



## REFERENCIAS

## REFERENCIAS

- 1.- Grashoff, J. L., (1972) Ph. D. Diss..Univ. Texas Austin. Univ. Mich. Microfilm No 73-7356.
- 2.- Mitscher, L. A., Drake, S., Gollapudi, S. R. and Okwute, S. K. (1987) *J. Nat. Prod.* 50, 1025.
- 3.- Ortega, A., Morales, F.J. and Salmón, M. (1985) *Phytochemistry* 24, 1850.
- 4.- Salmón, M., Díaz, E. and Ortega, A. (1973) *J. Org. Chem.* 38, 1759.
- 5.- Salmón, M., Ortega, A., García de la Mora, G. and Angeles, E. (1983) *Phytochemistry* 22, 1512.
- 6.- Quijano, L., Gómez, F., Calderón., J. S., Vega, J. L. and Ríos, T. (1892) *Phytochemistry* 21, 1369.
- 7.- Joseph-Nathan, P. and Cerda, C. M. (1989) *J. Nat. Prod.* 52, 481.
- 8.- Joseph-Nathan, P., Cerda, C. M. and Del Río, R.E.(1986) *J. Nat. Prod.* 49, 1053.
- 9.- Román, L. U., Del Río, R. E., Hernández, J. D., Cerda, C. M., Cervantes, D., Castañeda, R. and Joseph-Nathan, P. (1985) *J. Org. Chem.* 50, 3965.
- 10.- Román, L. U., Hernández, J.D., Del Río, R.E. and Bucio, M. A. (1991) *J. Org. Chem.* 56, 1938.
- 11.- Williams, D. H., Stone, H.J., Hauck, P. R. and Rahman, S. K. (1989) *J. Nat. Prod.* 52, 1189.

- 12.- Giordano, O. S., Guerreiro, E., Pestchanker, M. J., Guzmán, J., Pastor, D. and Guardia, T. (1990) *J. Nat. Prod.* 53, 803.
- 13.- Mata, R., Calzada, F., Díaz, E. and Tociano, R. A. (1990) *J. Nat. Prod.* 53, 1212.
- 14.- Nabeta, K., Ara, Y., Aok, Y. and Miyake, M. (1990) *J. Nat. Prod.* 53, 1241.
- 15.- Vieira, P. C., Himejima, M. and Kubo, J. (1991) *J. Nat. Prod.* 54, 416.
- 16.- Cumanda, J., Marinoni, G., De Bernardi, M., Vidari, G. and Vitafinzi, P. (1991) *J. Nat. Prod.* 54, 460.
- 17.- Watanabe, N., Yamagishi, M., Mizutani, T., Kondoh, H., Omura, S., Hanada, K. and Kushida, K. (1990) *J. Nat. Prod.* 53, 1176.
- 18.- Matos, E. O., De Sosa, M. P., Matos, F. J. A. and Cra- Mveiro, A. A. (1988) *J. Nat. Prod.* 51, 780.
- 19.- Berry, K. M., Perry, N. B. and Weavers, R. T. (1985) *Phytochemistry* 24, 2893.
- 20.- Bohlmann, F., Zdero, C. and Schoneweiss, S. (1976) *Chem. Ber.* 109, 3366.
- 21.- Bohlmann, F., Suwita, A., Natu, A. A. and Czerson, H. (1977) *Chem. Ber.* 109, 3366.
- 22.- Bohlmann, F., Dutta, L. N., Dorner, W., King, R. H. and Robinson, H. (1979) *Phytochemistry* 18, 673.
- 23.- Bohlmann, F. and Zdero, C. (1985) *Lieb. Ann. Chem.* 1764.

- 24.- Bohlmann, F., Zdero, C., King, R. M. and Robinson, H. (1986) *Lieb. Ann. Chem.* 799.
- 25.- Gil, R. R., Oberti, J. C., Sosa, V. E. and Herz, W. (1987) *Phytochemistry* 26, 1459.
- 26.- Zdero, C., Bohlmann, F. and Schmeda, G. (1987) *Phytochemistry* 26, 463.
- 27.- Amaro, J. M., Adrian, M., Cerda, C.M. and Joseph-Nathan, P. (1988) *Phytochemistry* 27, 1409.
- 28.- Román, L. U., Hernández, J. D., Castañeda, R., Cerda, C. M. and Joseph-Nathan, P. (1989) *Phytochemistry* 28, 265.
- 29.- Cassidy, J. M., Baird, W. H. and Cook, C. E. (1989) *J. Nat. Prod.* 52, 706.
- 30.- Waterman, P. G. (1990) *J. Nat. Prod.* 53, 13.
- 31.- Martín, G. E. and Crouch, R. C. (1991) *J. Nat. Prod.* 54, 1.
- 32.- Domínguez, S. X. A. (1990) *Phytochemistry Methods Frontiers, First Special Supplement*. Revista Latinoamericana de Química.
- 33.- Geissman, T. A. and Crout D. H. G. (1969) *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism*, Freeman, Cooper and Company, pag. 25, 35 y 235.
- 34.- Nakanishi, K., Goto, T., Ito, S., Natori, S. and Nozoe, S. (1974) *Natural Products Chemistry Vol. 1*, Kodansha Ltd. Academic Press, Inc. pag. 41.
- 35.- Rodríguez Shomar Laura (1987) Tesis de licenciatura: Estudio químico de productos naturales con esqueleto de longipineno. FES-C - UNAH.