

32  
2ej



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores  
"CUAUTITLAN"

*"CONTRIBUCION AL ESTUDIO FITOQUIMICO  
DEL GENERO STEVIA"*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

Laura Morales Belmont

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**





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.

I N D I C E

I.	INTRODUCCION .....	1
II.	GENERALIDADES .....	2
III.	DISCUSION DE RESULTADOS ....	11
IV.	PARTE EXPERIMENTAL .....	15
V.	CONCLUSIONES .....	19
VI.	ESPECTROSCOPIA.....	20
VII.	BIBLIOGRAFIA .....	29

## I. INTRODUCTION.

## I. INTRODUCCIÓN.

La investigación química en el área del estudio de los vegetales ha tenido un gran auge en las dos últimas décadas, principalmente en la obtención de productos naturales. La biosíntesis de este tipo de compuestos en las plantas<sup>1</sup> se lleva a cabo inicialmente por medio de la fotosíntesis, en donde se utilizan compuestos como carbohidratos, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, los cuales son llamados metabolitos primarios y desempeñan un papel importante en la obtención de energía y de la generación de compuestos más complejos que se conocen como productos naturales o metabolitos secundarios, característicos de un género y/o especie. Uno de los géneros más abundantes en México, es el género Stevia<sup>2</sup>, que se encuentra en zonas de coníferas, altas y templadas. El presente trabajo tiene como objetivo principal, aislar, purificar y determinar las estructuras de metabolitos secundarios que se encuentren específicamente en la parte subterránea de la Stevia lucida lag. var. lucida.

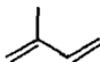
## II. GENERALIDADES.

## II. GENERALIDADES.

Las plantas biosintetizan varios compuestos como metabolitos secundarios, entre estos se encuentran los terpenos, esteroides, carotenoides, compuestos fenólicos, etc. (fig. 1)<sup>3</sup>. Para llevar a cabo esta biosíntesis, sólo algunos metabolitos primarios participan para la elaboración de los productos naturales que se conocen.

### TERPENOS.

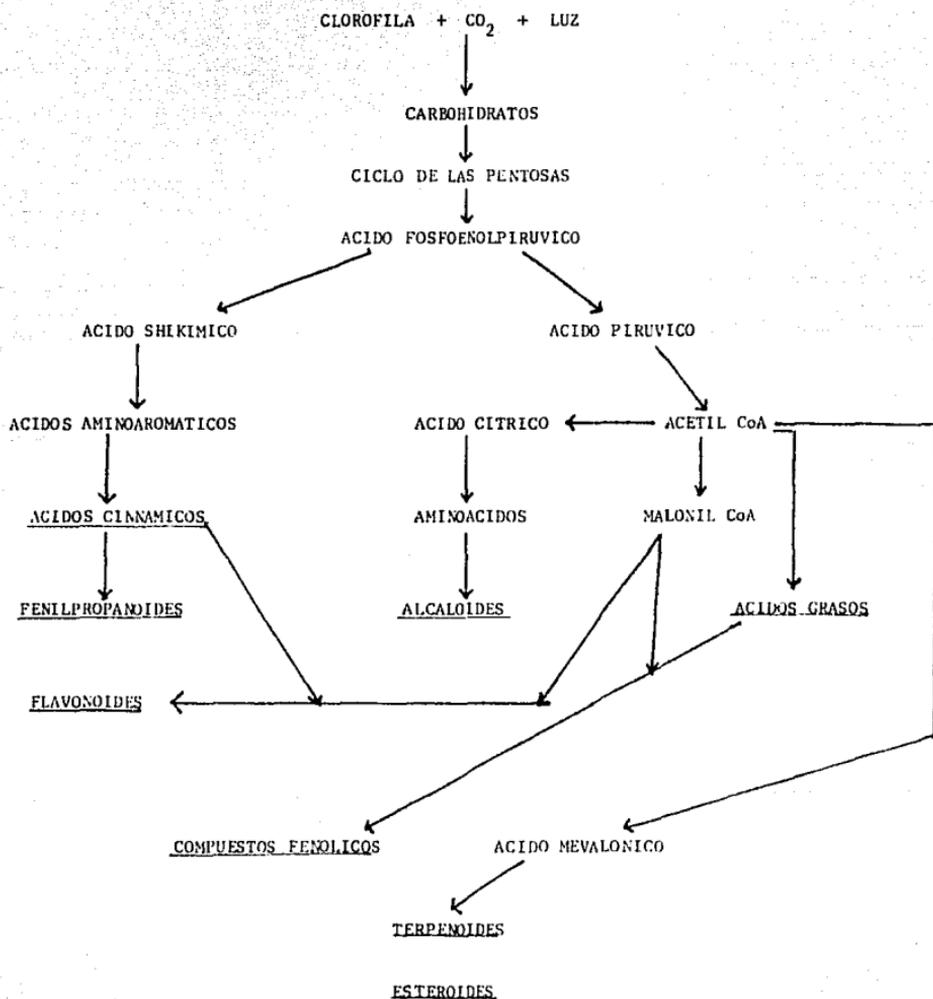
En el metabolismo de los compuestos terpenoides se manifiesta el isopreno (I) como pirofosfato de isopentilo, que es la unidad básica para la formación de los terpenos<sup>4</sup>, estos se clasifican en varios grupos dependiendo del número de unidades de isopreno que formen a la molécula<sup>5</sup>:



(I)

<u>NOMBRE</u>	<u>UNIDADES DE ISOPRENO</u>	<u>No. DE C.</u>
Hemiterpenos	1	5
Monoterpenos	2	10
Sesquiterpenos	3	15
Diterpenos	4	20
Sesterpenos	5	25
Triterpenos	6	30
Tetraterpenos	8	40
Politerpenos	n	n

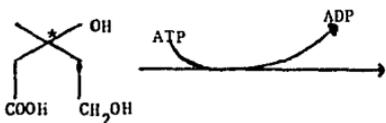
Fig. 1. ESQUEMA DEL ORIGEN DE LOS PRODUCTOS NATURALES.



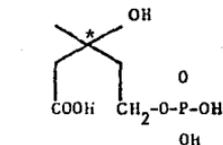
DITERPENOS.

El geranilgeraniol en forma de pirofosfato es el precursor biosintético inmediato de los diterpenos tanto cíclico como acíclicos, este se forma mediante una serie de reacciones enzimáticas partiendo del ácido mevalónico.

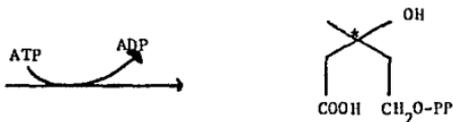
El ácido mevalónico se transforma en ácido mevalónico-5-pirofosfato, este proceso de fosforilación se logra con la participación de la coenzima trifosfato de adenosina, conocida como ATP.



Acido-(3R)-Mevalónico

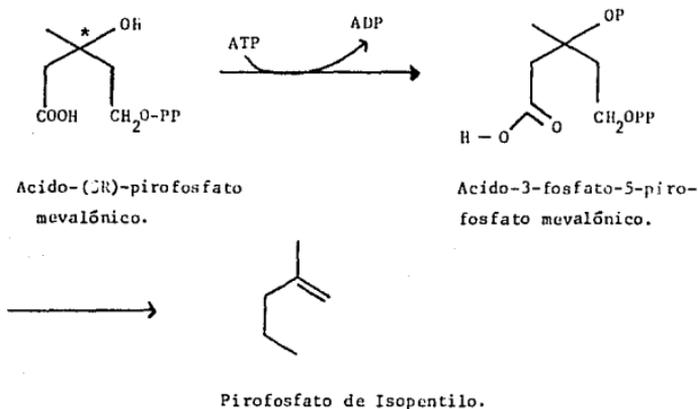


Acido-(3R')-5-fosfato mevalónico.

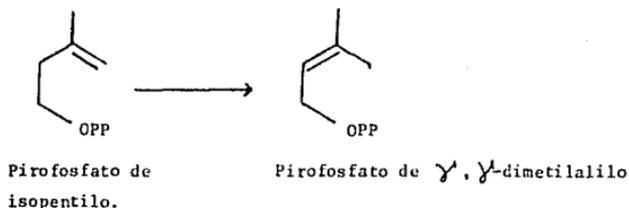


Acido-(3R)-5-pirofosfato mevalónico.

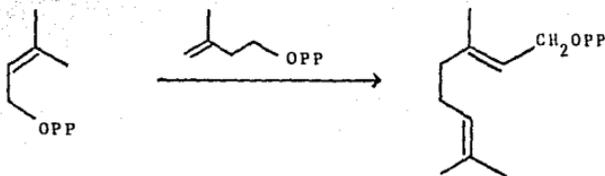
El ácido-3R-5-pirofosfato mevalónico se fosforila nuevamente formando el ácido-3-fosfato-5-pirofosfato que sufre a su vez una eliminación descarboxilativa y se produce el pirofosfato de isopentilo, forma en la cual encontramos al isopreno a nivel celular.



El pirofosfato de isopentilo se isomeriza en pirofosfato de  $\gamma, \gamma$ -dimetilalilo.

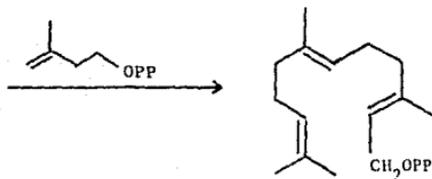


Posteriormente, el pirofosfato de  $\gamma,\delta$ -dimetilalilo sufre una serie de sustituciones hasta dar lugar al geranilgeraniol.

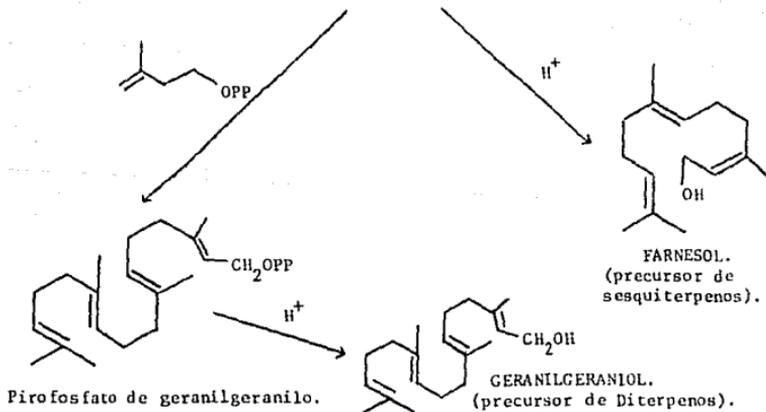


Pirofosfato de  $\gamma,\delta$ -dimetilalilo.

Pirofosfato de geraniol.



Pirofosfato de farnesilo.



Pirofosfato de geranilgeraniol.

GERANILGERANIOL.  
(precursor de Diterpenos).

FARNESOL.  
(precursor de sesquiterpenos).

Una de las ciclizaciones más comunes del geranilgeraniol se inicia por un ataque electrofílico de la doble ligadura terminal, acompañándose por un cierre del anillo en un proceso estereoelectronicamente controlado. Durante este proceso se genera un carbocatión, por: pérdida de un protón, captura de un electrófilo, por medio de una ciclización o por migración de metilos<sup>3</sup>. (Fig. 2).

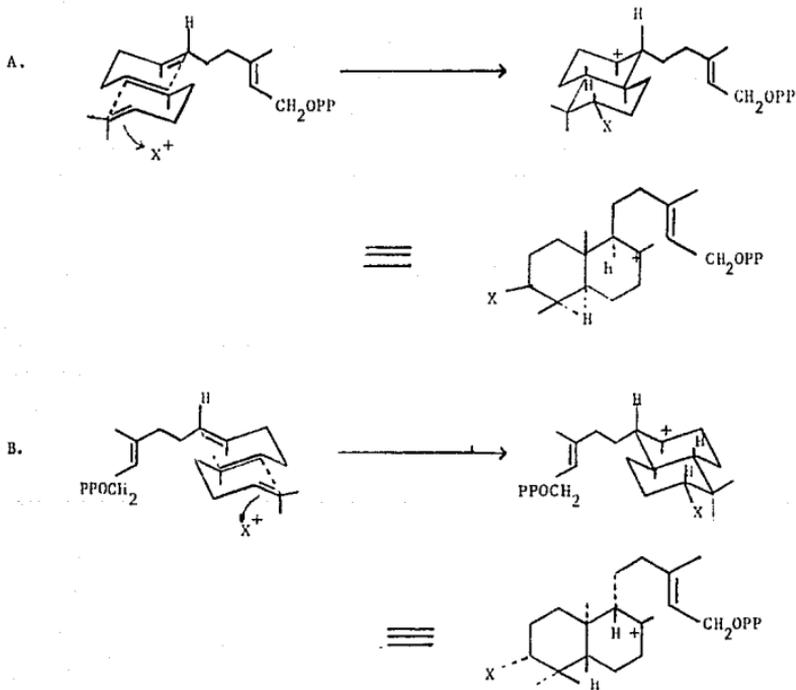


Figura 2.

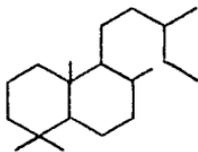
En la familia de las compuestas, el género Stevia ha resultado ser una de las fuentes importantes de productos naturales, iniciándose su estudio de aislamiento y caracterización a principios de este siglo. Rasenack fue el primero en aislar de Stevia rabaudiana<sup>6</sup> un glicósido en forma cristalina, posteriormente Dietrich<sup>7</sup> describió una vez más el aislamiento de dicha entidad y le dio el nombre de steviósido. Con estos estudios aumentó el interés de muchos investigadores sobre el género - Stevia, y por consecuencia la obtención de nuevos compuestos. (Tabla I).

TABLA I

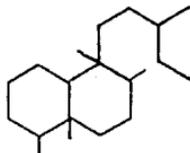
ESPECIE	COMPOSICION QUIMICA	REFERENCIA
1. <u>S. rebaudiana</u>	Diterpeno, Triterpeno, Esteroides.	8, 9
2. <u>S. rhombifolia</u>	Lactonas (sesquiterpénicas) Sesquiterpenos.	10
3. <u>S. serrata</u>	Lactonas sesquiterpénicas Sesquiterpenos.	11
4. <u>S. berlandieri</u>	Triterpenos, Flavonoides.	12
5. <u>S. paniculata</u>	Diterpenos (Kaureno)	13
6. <u>S. purpurea per.</u>	Sesquiterpenos, Flavonas.	14
7. <u>S. jaliscensis robinson</u>	Sesquiterpenos, Diterpenos (Labdano).	14
8. <u>S. policephala bertol</u>	Sesquiterpenos, Diterpenos (Clerodano).	15
9. <u>S. eliator</u>	Sesquiterpenos.	11
10. <u>S. ovata</u>	Sesquiterpenos, Diterpenos.	11
11. <u>S. boliviensis</u>	Sesquiterpenos, Lactonas sesquiterpénicas.	16
12. <u>S. mandonii</u>	Sesquiterpenos, Triterpenos.	16
13. <u>S. setifera</u>	Lactonas sesquiterpénicas Diterpenos (Kaureno).	16

ESPECIE	COMPOSICION QUIMICA	REFERENCIA
14. <u>S. salicifolia</u>	Diterpenos, Flavonoides, Sesquiterpenos.	17
15. <u>S. monardaefolia</u>	Lactonas sesquiterpénicas, Diterpenos (Labdano).	18
16. <u>S. myriadenia</u>	Lactonas sesquiterpénicas.	19
17. <u>S. lucida lag. var.</u> <u>biponti.</u>	Diterpenos	20
18. <u>S. lucida lag. var.</u> <u>lucida</u>	Diterpenos, Esteroides.	24
19. <u>S. selerriana robinson</u>	Esteroides.	24

Un análisis muy simple de la tabla anterior nos permite detectar que bastantes especies del género Stevia contienen diterpenos con esqueletos de Labdano (I) y/o de Clerodano (II) <sup>21</sup>.



( I )



( II )

Teniendo en cuenta que hasta la fecha de el inicio de elaboración del presente trabajo no había nada descrito en la literatura química respecto al estudio fitoquímico de las raíces de la Stevia lucida lag. var. lucida, se procedió al mismo, siendo esto el objetivo del presente trabajo.

La planta presenta la siguiente clasificación botánica:

Reino .....	Vegetal
División .....	Spermathopyta
Subdivisión .....	Angiospermal
Clase .....	Dicotyledonal
Orden .....	Synandral
Familia .....	Compuestas
Tribu .....	Lupatorial
Género .....	Stevia
Especia .....	Lucida
Variedad .....	Lucida

### **III. DISCUSION DE RESULTADOS.**

### III. DISCUSION DE RESULTADOS.

De la cromatografía en gel de sílice del extracto de Acetato de Etilo, de la planta en estudio Stevia lucida lag. var. lucida, se obtuvo un compuesto aceitoso de color amarillo, y una mezcla de compuestos, la cual se sometió a reacciones químicas logrando caracterizar un segundo compuesto.

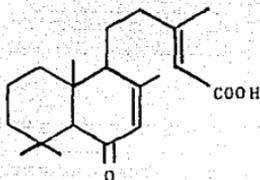
#### ACIDO LABDANLUCILUCIDICO.

Este primer compuesto presenta una  $[\alpha]_D^{25} = -31.0$ ; y una  $\lambda_{\max} / \text{EtOH} = 224\text{nm}$  ( $\epsilon = 1820$ ) (espectro 1). El espectro de IR (espectro 2) presenta una banda en  $3148 \text{ cm}^{-1}$  que corresponde a dobles ligaduras, una banda en  $1710 \text{ cm}^{-1}$  correspondiente a un carbonilo de cetona  $\alpha, \beta$ -insaturada, y en  $1639 \text{ cm}^{-1}$  se presenta otra banda que corresponde al carbonilo del ácido carboxílico.

En el espectro de masas (espectro 3), el ión molecular  $M^+$  se localiza a  $m/z$  318, que concuerda para una fórmula condensada  $C_{20}H_{30}O_3$ .

En el espectro de RMN- $^1\text{H}$  (espectro 4), se observa una señal múltiple en 5.7 ppm que integra para dos protones vinílicos; en 2.2 ppm se observa una señal doble que integra para tres protones que corresponde a un grupo metilo en  $\beta$  a una cetona  $\alpha, \beta$ -insaturada; en 1.2 ppm una señal simple que integra para tres protones que corresponden a un metilo angular; en 0.8 ppm se observa una señal simple que integra para seis protones asignada a gem dimetilos.

En base al análisis espectroscópico anterior, se propuso la estructura para el Acido Labdanilucilucídico, que debe ser un diterpeno con esqueleto de Labdano (estructura 1).



Estructura 1.

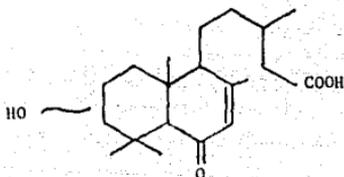
#### ACIDO CLERODANLUCILUCIDICO.

El segundo compuesto presenta en su espectro de IR (espectro 5), una banda entre 3500-3100  $\text{cm}^{-1}$  característica de un grupo oxhidrilo de alcohol; una banda para un carbonilo de cetona en 1638  $\text{cm}^{-1}$  y otra banda en 1625  $\text{cm}^{-1}$  para un carbonilo de ácido carboxílico.

En el espectro de RMN- $^1\text{H}$  (espectro 6) se observa una señal simple en 5.7 ppm asignado originalmente a un protón vinílico; en 4.7 ppm se encuentra una señal ancha que intercambia con  $\text{D}_2\text{O}$  característica de un alcohol, en 2.2 ppm se encuentra una señal doble que se asigno para tres protones de un grupo metilo vinílico; en 1.9 ppm se observa una señal doble que integra para tres protones de grupo metilo cercano a un ácido carboxílico; en 0.9 ppm encontramos una señal simple que fue asignada para tres protones de un metilo angular; en 0.8 ppm una señal simple que integra seis protones de gem dimetilos.

Cabe señalar que esta espectroscopía nos muestra la presencia de una mezcla de productos, difíciles de separar.

En base a la información anterior se propuso inicialmente la estructura del segundo compuesto, el Acido Clerodanlucilucídico (estructura 2).



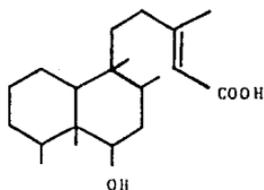
Estructura 2.

Para efecto de corroborar esta estructura, el compuesto cuya estructura fue 2 se trató con el reactivo de Jones, obteniéndose los siguientes datos espectroscópicos: en su espectro de IR (espectro 7), se observa una banda en  $1711\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a un carbonilo de cetona y en  $1690\text{ cm}^{-1}$  se presenta una banda que corresponde al carbonilo de un ácido carboxílico.

En el espectro de RMN- $^1\text{H}$  (espectro 8) se encuentra una señal simple en 5.7 ppm que integra para un protón vinílico; en 2.8 ppm se observa una señal doble que integra para tres protones, dos sobre el anillo B y uno angular; en 1.9 ppm se encuentra una señal doble que integra para tres protones asignados a un metilo  $\beta$  a un ácido carboxílico  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturado; en 1.2 ppm una señal simple asignada para 12 protones de cuatro grupos metilos.

Estos datos nos indicaron la necesidad de descartar la estructura 2, ya que en el espectro de RMN-<sup>1</sup>H de la oxidación se encuentra una señal que integra los protones de cuatro metilos con desplazamientos químicos semejantes, lo que no ocurre con la estructura propuesta anteriormente, ya que posee desplazamientos químicos diferentes para cada metilo.

En base a las anteriores evidencias espectroscópicas se infirió que la estructura del segundo compuesto debía ser un diterpeno con esqueleto de Clerodano (estructura 3).



Estructura 3 .

El compuesto 2 se sometió a una segunda reacción química, usando cloruro de benzoilo; observándose en su espectro de --RMN-<sup>1</sup>H (espectro 9) dos señales múltiples centradas en 7.7 ppm que integran para cinco protones los cuales son asignados a los hidrógenos del anillo benzénico; una señal simple ancha en 5.7 ppm que integra para un protón vinílico; en 1.8 ppm una señal doble que integra para tres protones de un metilo  $\beta$  a un ácido carboxílico  $\alpha$ ,  $\beta$  - insaturado; centradas en 1.3 ppm varias señales simples prácticamente sobrepuestas que integran para doce protones de cuatro metilos.

#### IV. PARTE EXPERIMENTAL.

#### IV. PARTE EXPERIMENTAL.

La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se determinaron por cromatografía en placa fina utilizando como reveladores, sulfato cúrico al 1% en ácido sulfúrico 2N, vapores de yodo, y/o luz ultravioleta.

Las cromatografías en columna se realizaron en gel de sílice tamaño de partícula de 0.2-0.5 milímetros (35-70 mallas), utilizando como eluyente un gradiente de sistema Acetato de Etilo - Hexano. Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jones y no están corregidos.

La rotación óptica se efectuó en un polarímetro digital Perkin Elmer modelo 241. El espectro de Ultravioleta se realizó en un espectrofotómetro UVIS, Perkin Elmer modelo 552 en Etanol. Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 283 y en un Nicolet modelo FT-5SK, utilizando la técnica de pastilla (KBr) y solución clorofórmica. Los espectros de masas fueron determinados en un espectrofotómetro H/P 5895 GC/MS. Los espectros de RMN-<sup>1</sup>H fueron determinados en un espectrofotómetro de RMN Ft-80 A, a 80 MHz, utilizando CDCl<sub>3</sub> como disolvente. Los desplazamientos químicos están dados en ppm referidos al tetrametilsilano. Para indicar patrones de acoplamiento se usan las siguientes abreviaturas: s = señal simples, d = señal doble, t = señal triple, q = señal cuadruple, sa = señal simple ancha.

La Stevia lucida lag. var. lucida fue clasificada en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México y esta registrada con Voucher MEXO 419142, se colectó en el mes de Septiembre de 1983 en el Cerro del Cubilete, Estado de Guanajuato. Es un arbusto de un metro de alto con flores de color rosa.

Para el 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 concentró a sequedad resultando de esta operación 20.7 gr. del crudo original. Posteriormente fué cromatografiado en una columna de gel de sílice, con el sistema Acetato de Etilo - Hexano (90-10), obteniéndose una goma resinosa.

#### ACIDO LAEDANLUCILUCIDICO.

La goma resinosa se recromatografió en una columna de gel de sílice en el sistema Hexano-Acetato de Etilo (70-30), aumentando la polaridad hasta (50-50) logrando obtener una fracción I.

De dicha fracción se aisló un compuesto el cual posteriormente se purificó por placa preparativa de sílice, usando el sistema hexano-Acetato de Etilo (50-50) y se identificó por sus datos espectroscópicos:  $[\alpha]_D^{25} = -31.0^\circ$ ; UV (EtOH) (espectro 1)  $\lambda_{\max} = 224\text{nm}$  ( $\epsilon = 1620$ ); IR (espectro 2) ( $\text{CHCl}_3$ )  $\bar{\nu}_{\max} \text{ cm}^{-1}$  3146, 1710, 1639; L.M. (espectro 3)  $m/z$  (%)  $\text{M}^+$  318(6.2); RMN- $^1\text{H}$  (espectro 4) ( $\text{CDCl}_3$ , TMS)  $\delta$  ppm, 5.7 (m, 2H), 2.2 (d, 3H), 1.9 (d, 3H), 1.2 (s, 3H), 0.8 (s, 6H).

#### ACIDO CLERODANLUCILUCIDICO.

De la fracción I obtenida anteriormente se obtuvo una mezcla de compuestos, la cual se corrió en una placa preparativa de sílice, utilizando el sistema Hexano - Acetato de Etilo (60-40) y se obtuvieron los siguientes datos espectroscópicos: IR (espectro 5) ( $\text{CHCl}_3$ )  $\bar{\nu}$  max  $\text{cm}^{-1}$  3500-3100, 1638, 1625;  $\text{RMN}^{-1}\text{H}$  (espectro 6) ( $\text{CDCl}_3$ , TMS)  $\delta$  ppm, 5.7 (s, 1H), 4.7 (sa, 1H), 2.2 (d, 3H), 1.9 (d, 3H), 0.0 (s, 3H), 0.8 (s, 6H).

#### OXIDACION DEL ACIDO CLERODANLUCILUCIDICO.

50 mg. del compuesto, se disolvieron en la menor cantidad de acetona, se llevó a baño de hielo con agitación constante - adicionando poco a poco el reactivo de Jones, monitoreando la reacción por cromatografía en placa fina en el sistema Hexano - Acetato de Etilo (60-40), posteriormente se extrajo con Acetato de Etilo y se lavó con agua la fase orgánica y se seco con sulfato de sodio anhidro, obteniéndose un aceite puro, el cual presentó la siguiente espectroscopía: IR (espectro 7) ( $\text{CHCl}_3$ )  $\bar{\nu}$  max  $\text{cm}^{-1}$  1711, 1690;  $\text{RMN}^{-1}\text{H}$  (espectro 8) ( $\text{CDCl}_3$ , TMS)  $\delta$  ppm, 5.7 - (sa, 1H), 2.8 (m, 3H), 1.9 (s, 3H), 1.2 (s, 12H).

#### BENZOILACION DEL ACIDO CLERODANLUCILUCIDICO.

50 mg. del producto se hicieron reaccionar con 5 ml de cloruro de benzoilo y 3 gotas de piridina, con agitación constante, la reacción se controló por medio de cromatografía en placa fina, en el sistema Hexano - Acetato de Etilo (60-40), al término de la reacción se purificó el producto de la reacción por una cromatografía en columna de sílice, en el sistema (60-40) obteniéndose una fracción A, un producto cristalino con los siguientes

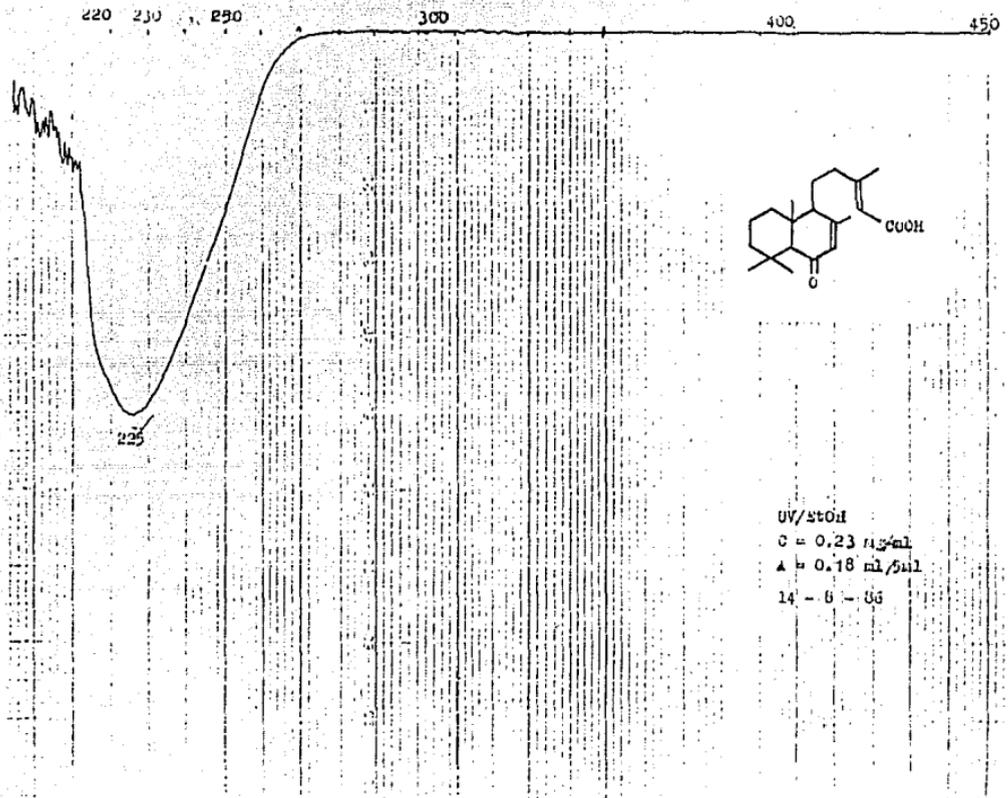
tes datos espectroscópicos: RMN-<sup>1</sup>H (espectro 9) (CDCl<sub>3</sub>, TMS) δ  
ppm, 7.7 (m, 5H), 5.7 (s, 1H), 1.8(d, 3H), 1.3(m, 12H).

## V. CONCLUSIONES.

V. CONCLUSIONES.

1. Se aisló y caracterizó de la Stevia lucida lag. var. lucida, un nuevo diterpeno bicíclico con esqueleto de Labdano, denominado Acido Labdanlucilucidico.
2. Se logró determinar estructura a un segundo producto natural diterpénico, con esqueleto de Clerodano, al cual se le denominó como Acido Clerodanlucilucidico, no descrito con anterioridad en la literatura.
3. Se sugiere continuar trabajando los mismos extractos, ya que en ellos se manifiesta la presencia de una probable mezcla isomérica de los productos aislados.
4. Actualmente se esta determinando la configuración absoluta de estos dos nuevos productos naturales.

## VI. ESPECTROSCOPIA.

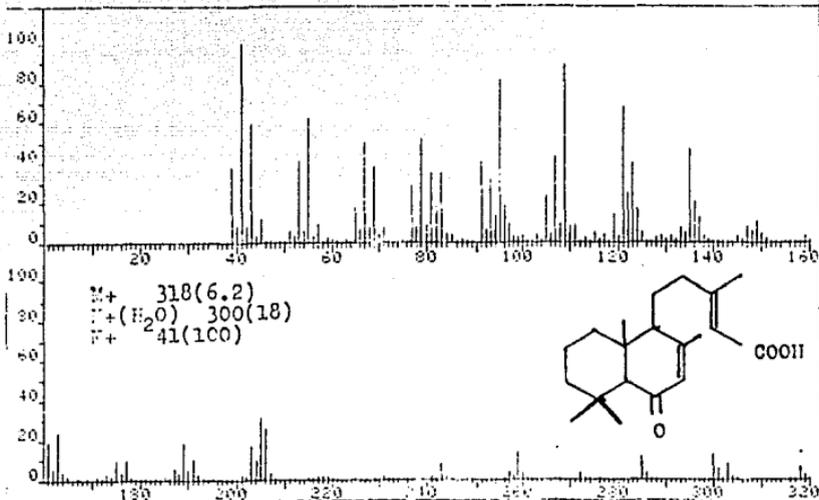


UV/STOH  
 C = 0.23 mg/ml  
 Δ = 0.18 ml/5ml  
 14 - 6 - 66

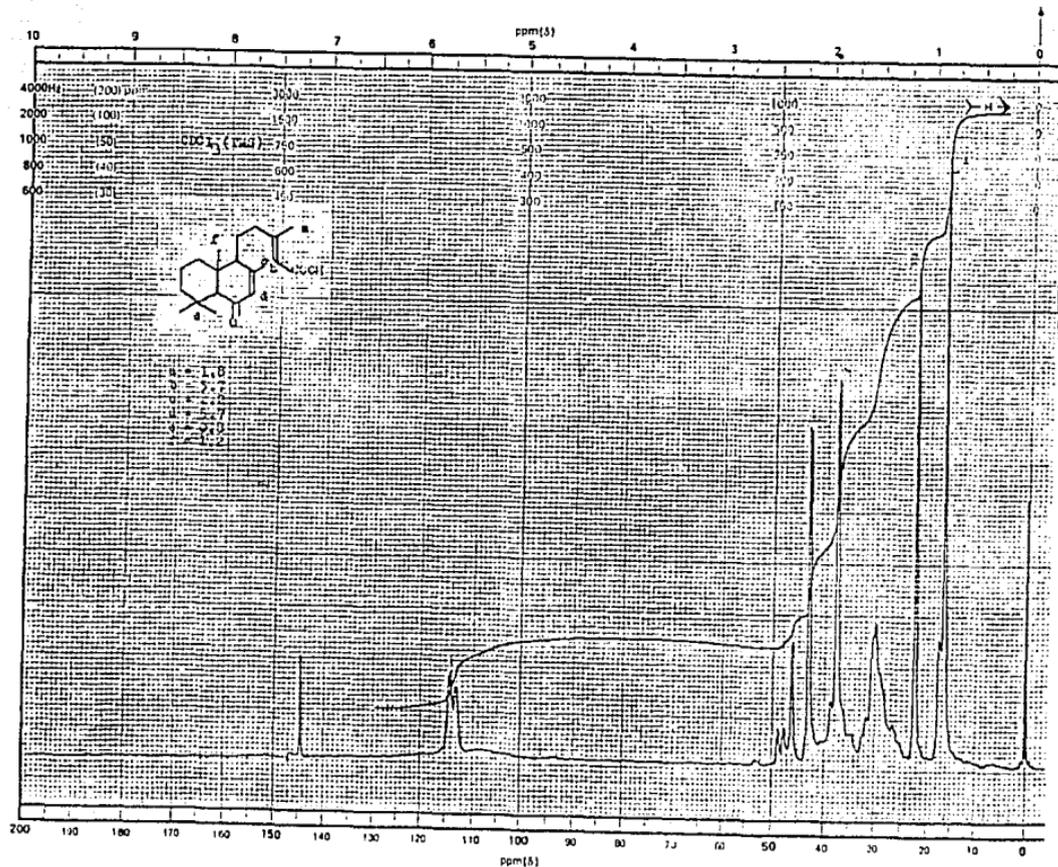
E S P E C T R O I .



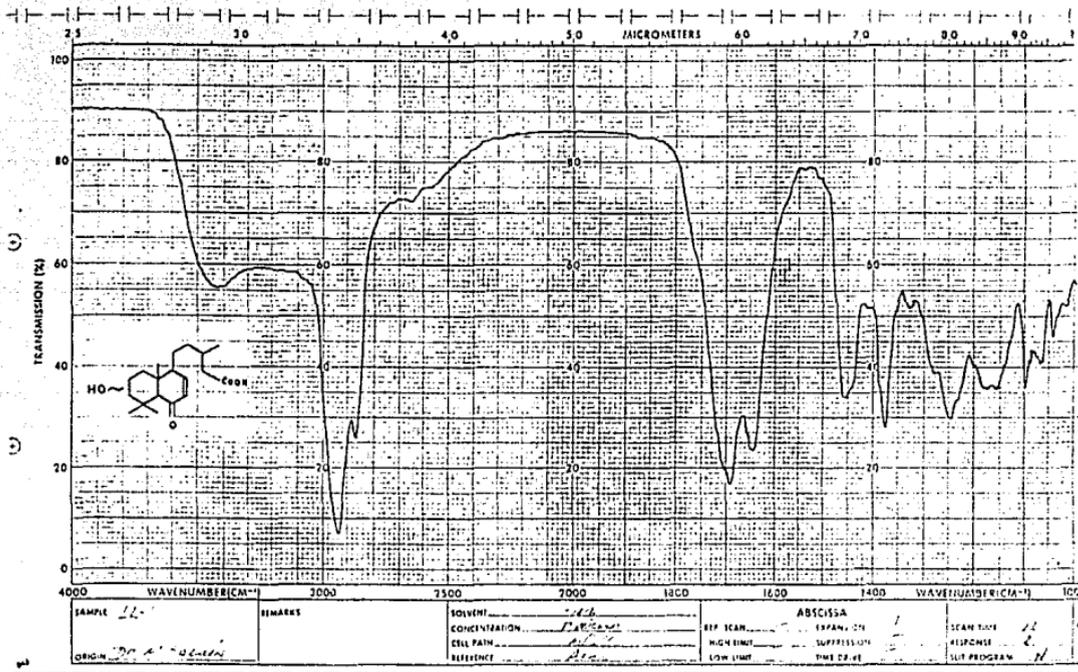
REF: 5371	SPECTRUM 78		RETENTION TIME 3.7
EXPCT 1: 41.1, 100.0	109.1, 58.3	95.1, 81.4	121.2, 57.7
LACT 4: 317.3, .3	319.3, 4.2	319.3, 2.2	339.3, .7
			PAGE 1 Y = 1.00



E S P E C T R O 3.



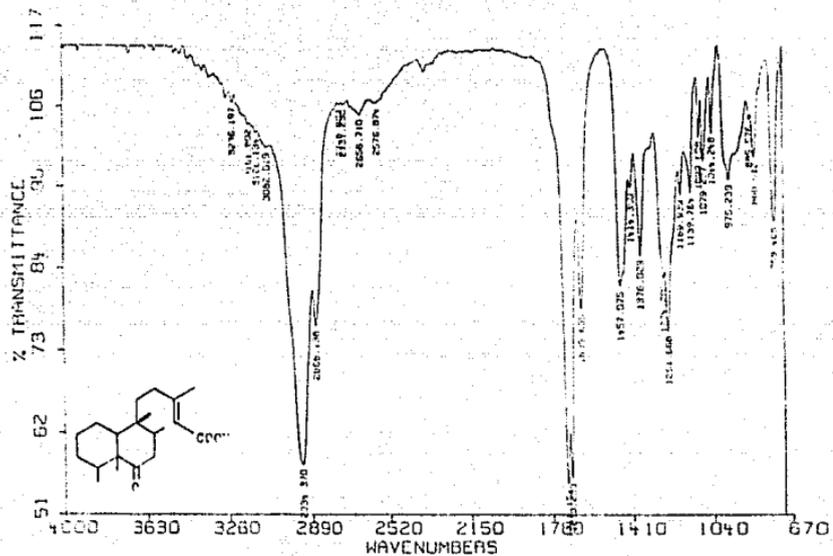
E S P E C T R O 4 .



E S P E C T R O

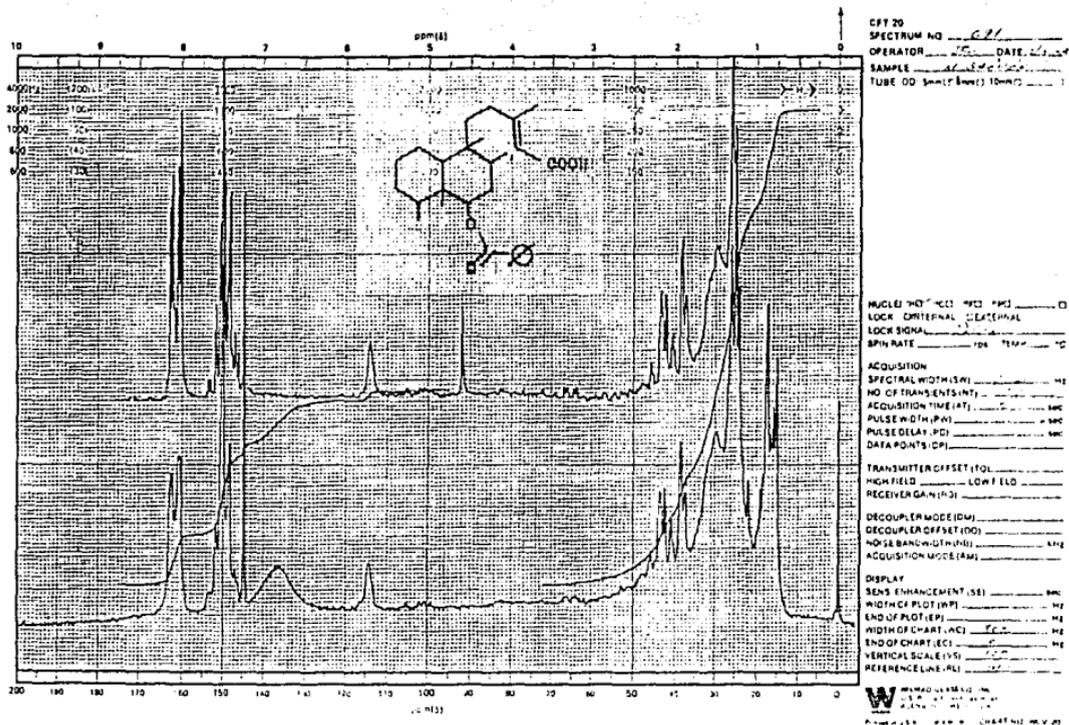


DR. SALMON LL1-OX PELICULA 14/01/83 TORRES



ESPECTRO 7.





E S P E C T R O 9 .

## VII. BIBLIOGRAFIA.

VII. BIBLIOGRAFIA.

1. T.W. Goodwin, E.I. Mercer, *Introduction to plant biochemistry*, N.Y., Pergamon Press, (1972).
2. E. Matuda, Boletín de la Sociedad Botánica de México, (23) 55-83, (1958).
3. Geissman and Crout, *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism*, Cooper and Company, USA, (1969).
4. Roberts and Caserio, *The Chemistry of natural Products in Basic Principles of Organic Chemistry*, W.A. Benjamin, Inc, N.Y., (1964).
5. A.R. Pinder, *The Chemistry of the terpenes*, N.Y., Willey and Sons, Inc. (1960).
6. F. Bell, Chemistry and Industry, 879, (1954).
7. Ibid. 879, (1955).
8. M. Kobayashi, K. Yamasaki, R. Miyama, S. Yahara, O. Tanaka, Phytochemistry, 19, 326, (1980).
9. M. Sholican, S. Horikawa, I.H. Degryi, J. Veno, H. Mituhs shi, Phytochemistry, 16, 1405, (1977).
10. T. Ríos, A. Romo de Vivar, J. Romo, Tetrahedron, 23, 4265, (1967).

11. M. Salmón, E. Díaz y A. Ortega, J. Org. Chem., 38(9), 1959, (1973).
12. J.S. Calderón, E. Angeles, M. Salmón, G. García de la Mora, Phytochemistry, 23, 186, (1984).
13. H. Kohda, O. Tanaka, K. Nishy, Chem. Pharm. Bull., 24(5), 1040, (1976).
14. F. Bohlman, Ch. Zdero, S. Choneweiss, Chem. Ber. 109, 3366, (1976).
15. E. Angeles, K. Foltin, Paul A. Grieco, C. Huffman, R. Miranda, M. Salmón, Phytochemistry, 21 (7), 1804, (1982).
16. F. Bohlman, C.N. Dutta, W. Dorner, R.M. King, H. Robinson, Phytochemistry, 18, (1979).
17. O. Ortega, R. Martínez, C.E. García, Rev. Latino Amer. Química, 1145, (1980).
18. Quijano, J.S. Calderón, F. Gómez, J.L. Vega, T. Ríos, Phytochemistry, 21, 202, (1982).
19. F. Bohlman, Ch. Zdero, R.M. King, H. Robinson, Phytochemistry, 21, 2021, (1980).
20. M. Salmón, A. Ortega, G. García de la Mora, E. Angeles, Phytochemistry, 21 (6), 1512, (1983).
21. G. Hugel, L. Lods, J.M. Melorr, G. Oorisson, Mem. Proc. Soc. Chim., 22, 82, (1965).

22. L. Rodríguez, Estudio Químico de Productos Naturales con esqueleto de Longipineno, Tesis de Licenciatura, QFB., FESC - Universidad Nacional Autónoma de México. (1987).
23. Robert M. Silverstein, G. C. Bassler y Terence C. Morrill, Identificación Espectrométrica de Compuestos Orgánicos, Editorial Diana, México, (1980).
24. E.M. Escamilla, Metabolitos aislados de: Stevia seleryana, lucida var. lucida y lucida var. Biponti, Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Químicas e Industriales, UAEM, (1987).