

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
*FACULTAD DE QUIMICA*

**STEVINSOL, METABOLITO SECUNDARIO  
AISLADO DE  
STEVIA NELSONII ROBINSON**

**T E S I S**

Que presenta el Q.

**ROBERTO MARTINEZ**

para optar por el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS**

(QUIMICA ORGANICA)

**México, D. F.**

**1 9 7 7**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

JURADO ASIGNADO SEGUN EL TEMA

PRESIDENTE	DR. ALFONSO ROMO DE VIVAR
VOCAL	DRA. MARTHA ALBORES
SECRETARIO	DRA. ROCIO POZAS
SUPLENTE	DR. IGNACIO SANCHEZ

ESTA TESIS SE LLEVO A CABO EN EL INSTITUTO DE QUIMICA DE LA  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO BAJO LA DIRECCION -  
DEL DR. ALFREDO ORTEGA HERNANDEZ CON UNA BECA DEL PROGRAMA  
DE FORMACION DEL PERSONAL ACADEMICO DE LA UNIVERSIDAD NACIO  
NAL AUTONOMA DE MEXICO.

## CONTENIDO

- 1.- INTRODUCCION
- 2.- GENERALIDADES
- 3.- PARTE EXPERIMENTAL
- 4.- RESULTADOS Y DISCUSION
- 5.- CONCLUSIONES
- 6.- BIBLIOGRAFIA

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

El estudio de la flora mexicana se ha intensificado debido a su gran variedad y a la aplicación, en muchos casos exitosa, de plantas en medicina popular. El estudio químico se lleva a cabo desde diferentes puntos de vista<sup>1</sup> : el que relaciona las sustancias aisladas de los vegetales con su clasificación taxonómica<sup>2</sup> ; la biogénesis de los metabolitos en los vegetales<sup>3</sup> y la síntesis, in vitro, de compuestos aislados de los mismos<sup>4</sup> ; los efectos fisiológicos provocados por la ingestión de vegetales o por sustancias aisladas de los mismos<sup>5</sup>, etc.

La realización de cualesquiera de las investigaciones mencionadas anteriormente requieren como paso inicial el aislamiento de metabolitos a partir de los vegetales y la posterior determinación de su estructura y su estereoquímica pues se sabe que existe una correlación entre éstas y sus propiedades físicas y químicas ; además la respuesta fisiológica<sup>6</sup> que provoquen será función de sus características estructurales y estereoquímicas .

Los adelantos logrados en los métodos de purificación por cromatografía en columna y en capa fina junto con la mayor sensibilidad obtenida en los instrumentos utilizados por las diferentes técnicas espectroscópicas ( uv, ir, rmp y espectrometría de masas ) han permitido aislar y asignar la estructura correcta a un gran número

de compuestos de origen vegetal.

La información en la literatura química acerca de estudios de plantas pertenecientes al género *Stevia* (compuesta) se reduce a las siguientes especies : *S. rebaudiana*<sup>7</sup>, *S. rhombifolia*<sup>8</sup>, *S. serrata*<sup>9</sup>, *S. paniculata*<sup>10</sup>, *S. berlandieri*<sup>11</sup>, *S. purpúrea* y *S. jaliscensis* -- Robinson<sup>12</sup>. El steviosido, aislado de *S. rebaudiana*, es un agente- edulcorante de naturaleza diterpénica que motivó el estudio de --- otras especies.

El presente trabajo informa acerca de los resultados obtenidos del estudio químico de una población de *Stevia nelsonii* Robinson .

## GENERALIDADES

Los diterpenos se pueden clasificar con base en las diversas formas de ciclización del pirofosfato de geranilgeranilo dividiéndose éstas en tres grupos <sup>13</sup> :

1.- El pirofosfato como grupo saliente ( Esquema I ).

El pirofosfato de geranilgeranilo pierde el grupo pirofosfato ( 1 ) y se genera un ión carbonio, el cual es atacado por la doble ligadura del isopropilideno. La toma de un hidruro por el ión carbonio terciario da origen al hidrocarburo cembreno ( 2 ) por lo contrario, el ataque de una doble ligadura así como la entrada de agua da origen al verticillol ( 3 ) .

2.- Protonación del doble enlace del isopropilideno ( Esquema II ).

El proceso se inicia con la protonación del doble enlace del isopropilideno, atacando en forma concertada las dobles ligaduras hasta formar el labdadienol ( 4 ). Modificaciones posteriores producen derivados del manñol ( 5 ) o del ácido labdánico ( 6 ) ; la oxidación de la cadena lateral del labdadienol produce derivados con anillo furánico ( vgr. marrubina, 7 ) o derivados del óxido de manñol ( 8 ) .

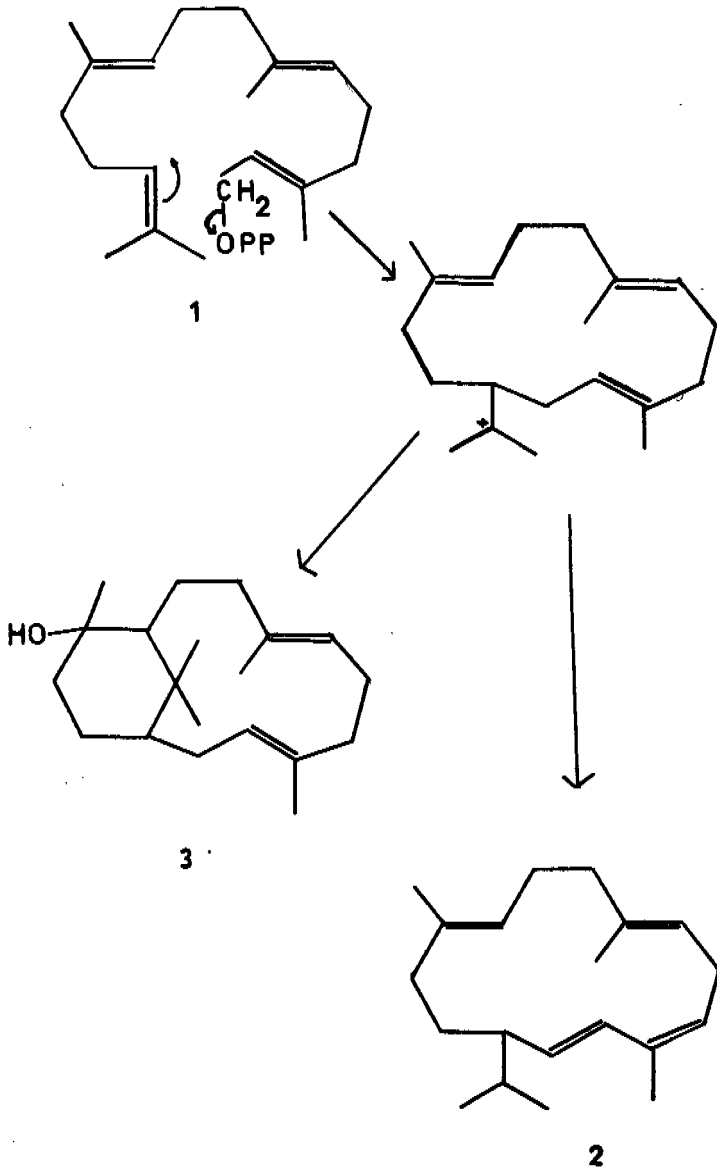
3.- Protonación de la doble ligadura del isopropilideno y salida -

simultánea del pirofosfato ( Esquema III ).

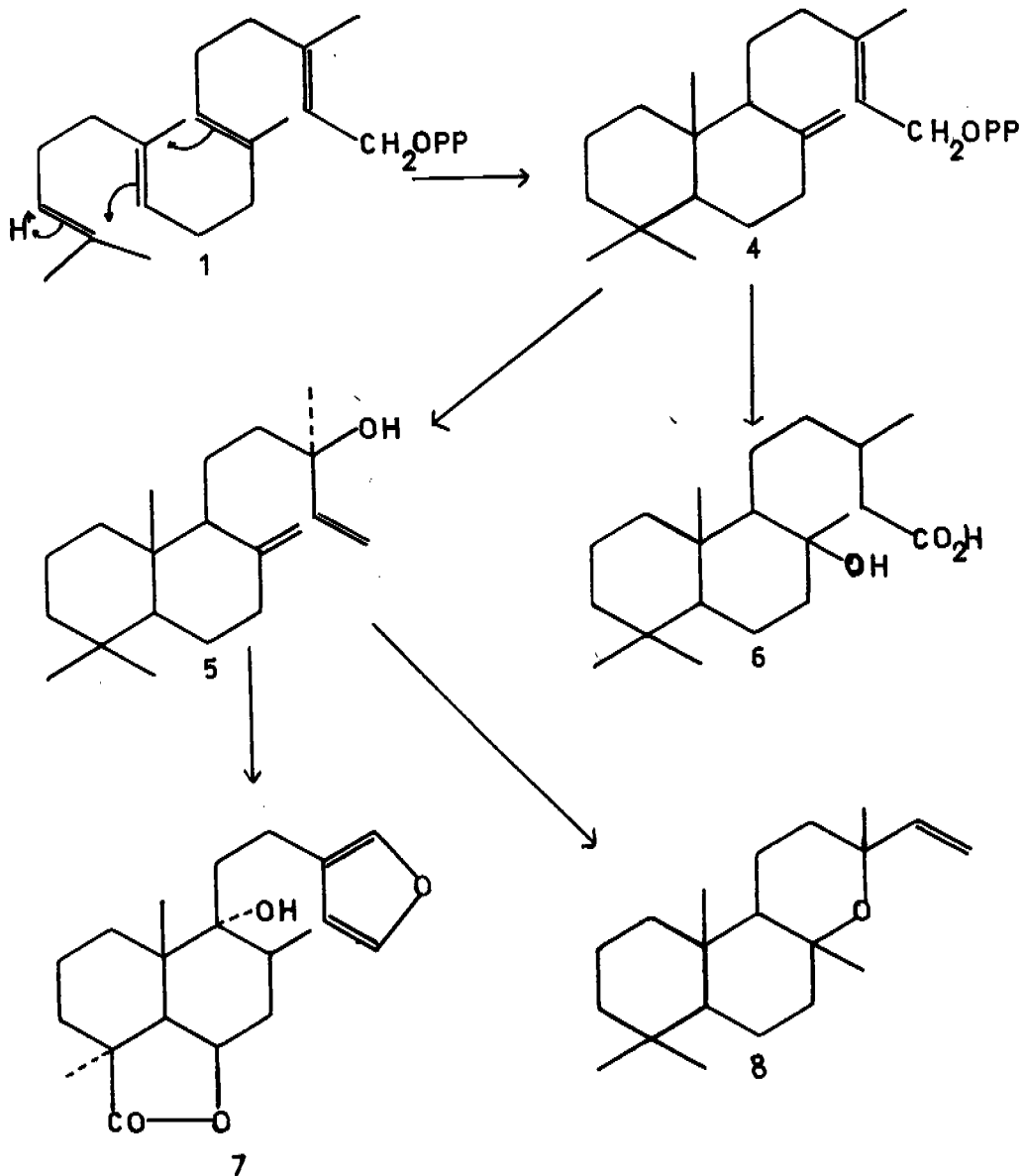
El doble enlace del isopropilideno se protona y las dobles liga



ESQUEMA 1



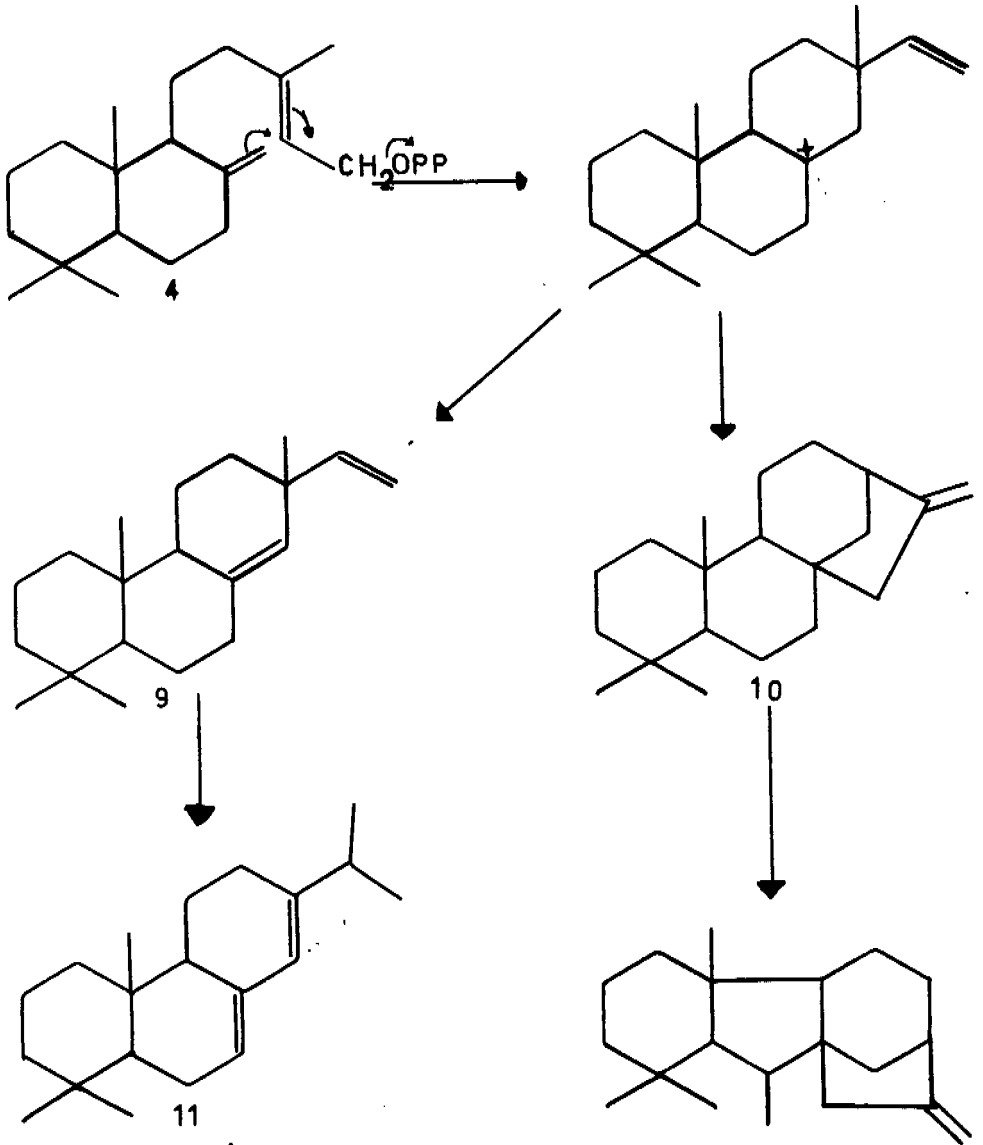
ESQUEMA II



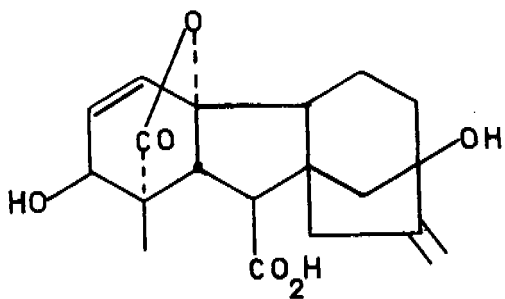
duras atacan en forma concertada pero la ciclización no para en el labdadienol sino que sigue hasta expulsar el grupo pirofosfato y formar el triciclo pimaradieno ( 9 ). Modificaciones posteriores de éste esqueleto dan origen a los abietanos ( 11 ) y kaurenos(10).

Los diterpenos que han mostrado alguna actividad biológica son pocos, entre ellos destaca el ácido giberélico ( 12, Esquema IV ), -- aislado del hongo Gibberella fujikuroi<sup>14</sup>, el cual es un promotor de la extensión celular en algunos vegetales, posiblemente en conjunción con auxinas. La taxadiona<sup>15</sup> ( 16, Esquema V ) así como los kaurenólidos orodonina y lesiokaurina<sup>16</sup> ( 14 y 15, Esquema V ) han mostrado una acción anticancerígena ; se piensa que la actividad que presentan las dos últimas se debe a la presencia de una ciclopentenona  $\alpha$  ,  $\beta$  insaturada en su estructura. También se han encontrado diterpenos responsables de una actividad antiinflamatoria<sup>17</sup> ( vgr. clerodina, 13a, Esquema IV ) así como depresores de la presión sanguínea<sup>18</sup> ( 13b, Esquema IV ) .

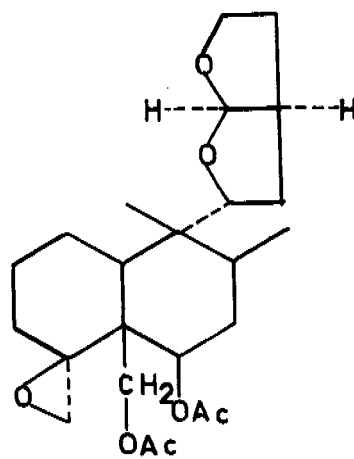
ESQUEMA III



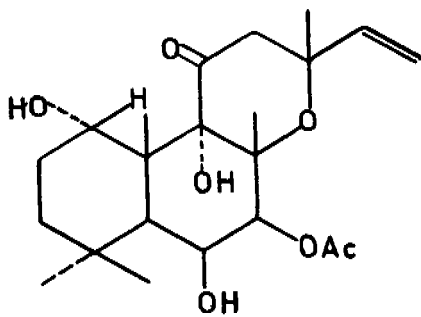
ESQUEMA IV



12



13 a



13 b

ESQUEMA V

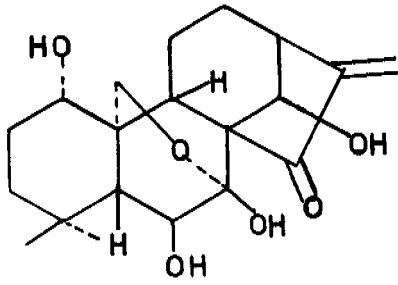


FIG.14

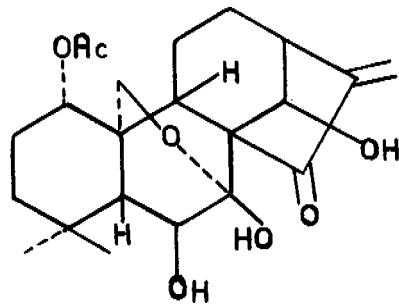


FIG.15

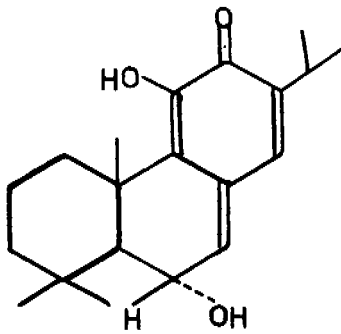


FIG.16

## P A R T E E X P E R I M E N T A L

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jones y no están corregidos.

Las cromatografías se efectuaron en sílica-gel 0.2-0.5 mm y alúmina Alcoa grado F-20, 80-100 mallas; la pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se siguió a base de cromatoplasmas de sílica-gel F-54, utilizando como reveladores: sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N, yodo y luz ultravioleta. Los microanálisis fueron efectuados por el Dr. Franz Rascher - en Bonn, Alemania.

Los espectros de UV se determinaron en etanol al 95% en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 202 y los espectros de IR en un espectrofotómetro de doble haz Perkin-Elmer modelo 337, utilizando cloroformo como disolvente, KBr si fué pastilla.

Los espectros de masas se determinaron en un espectrómetro de masas Hitachi-Perkin Elmer RMU 6D, de doble foco, a 75 eV.

Los espectros de RMN se determinaron en los espectrómetros Varian A-60 y Varian HA-100. Los desplazamientos químicos están dados en ppm referidos al tetrametilsilano como referencia interna. Los experimentos de doble irradiación se efectuaron en un espectrómetro Varian HA-100 con audio osciladores Hewlett Packard, modelos 200AB y 200CD. Se utilizaron deuteriocloroformo e isocianato de tricloroacetilo como disolventes.

La planta Stevia nelsonii Robinson, de la familia de las compuestas fué recolectada en Topilejo, D.F. en el mes de julio de 1975.

La planta seca y picada (3.8 Kg) se extrajo con etanol a ebullición durante 4 horas, repitiéndose el proceso dos veces. El extraç

to etanólico se concentró a sequedad, el residuo se extrajo con benceno y acetato de etilo sucesivamente, desechando el residuo insoluble. Los extractos resultantes se concentraron a sequedad y se fraccionaron en una columna de alúmina, eluyendo con acetato de etilo -- ( fracción 1a ), acetato de etilo más acetona ( 50:50 ) ( fracción 2a ) y metanol ( fracción 3a ).

La fracción 1a ( 63 g ) se extrajo con hexano caliente quedando un residuo gomoso que se eliminó ; el extracto hexánico se concentró a sequedad obteniendo 24 g de un sólido amorfo el cual se purificó por recromatografía en una columna de alúmina utilizando como eluyentes benceno y acetato de etilo.

De las fracciones eluidas con benceno:acetato de etilo ( 50:50 ) - se obtuvo un sólido cristalino que se purificó por recristalización con acetona-hexano, dando agujas blancas de punto de fusión  $178-80^{\circ}\text{C}$  y se le nombró Stevinsol, I. Análisis calculado para  $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_4$  : C, 72.49 ; H, 9.96 ; O, 17.55. Encontrado : C, 72.23 ; H, 9.81 ; O, 17.74.  $\bar{\nu}_{\text{máx.}}$  :  $3600, 3450 \text{ cm}^{-1}$  ( OH ) ;  $1740 \text{ cm}^{-1}$  ( carbonilo de ester ). uv :  $\lambda_{\text{máx.}}$  236 nm (  $\epsilon = 25,260$  ). Peso molecular por espectrografía de masas igual a 364 .

Las fracciones 2a y 3a se extrajeron, por separado, con benceno - caliente ; los extractos resultantes se juntaron y concentraron a -



sequedad, obteniendo 60 g de residuo el que se disolvió en benceno y se fraccionó en una columna de sílice, utilizando como eluyentes benceno y acetato de etilo. De las fracciones eluidas con benceno: acetato de etilo ( 80:20 ) se obtuvieron 300mg de I.

La cristalización fraccionada de las aguas madres de I, con hexano-acetona, permitió separar de I un sólido cristalino de punto de fusión  $185-6^{\circ}\text{C}$ , que se identificó como 4',7 dimetoxi naringenina.

TETRAHIDROSTEVINSOL ( II ). - Una disolución de I (1 g) en acetato de etilo ( 80 ml ) se puso a hidrogenar, utilizando 100mg de Pd/C al 10 %, como catalizador, hasta que absorbió 225 ml de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró al traves de celita y se concentró a sequedad. El residuo se cristalizó de acetona-hexano dando agujas blancas de punto de fusión  $158-60^{\circ}\text{C}$ , II . Análisis calculado para  $\text{C}_{22}\text{H}_{40}\text{O}_4$  : C, 71.69 ; H, 10.94 ; O, 17.37. Encontrado : C, 71.77 ; --- H, 10.93 ; O, 17.38. rmp : 5.21ppm (  $\text{CH}-\text{OAc}$  ), 3.5 ppm (  $\text{CH}-\text{OH}$  ), 1.2 ppm (  $\text{Me}-\text{C}-\text{OH}$  ).

DESACETILSTEVINSOL ( III ). REACCION DE I CON SODIO E ISOPROPANOL.

En un matraz de bola se disolvieron 250 mg de sodio en 15 ml de isopropanol, a ésta disolución se le agregó 200 mg de I. Se calentó en baño maría, durante tres horas, después se diluyó con agua y se aciduló con una disolución diluida de ácido clorhídrico. Se extrajo con cloroformo, levó con agua y secó con sulfato de sodio an-

hidro; después de evaporar el disolvente se obtuvo un aceite que se cristalizó con acetona-hexano dando agujas blancas de p.f. 65°C, III, .mp (ppm) : 2.7 ( OH ), 3.44 ( 3H: OH ; CH -OH ; CH -OH ).

DESACETIL STEVINSOL ( III ). REACCION DE I CON  $K_2CO_3$  Y METANOL .

Una disolución de stevinsol(100mg) y carbonato de potasio(100mg) en metanol (15 ml) se puso en un matraz de bola de 50 ml. Después de 30 minutos de reacción, a temperatura ambiente, se agregó hielo y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua y se secó con sulfato de sodio anhidro ; después de evaporar el disolvente y cristalizar, de hexano-acetona, se obtuvo III.

ACETATO DE STEVINSOL ( IV ). - En un matraz de bola de 50 ml se pusieron 200mg de I , 2ml de anhídrido acético y 3 ml de piridina. La mezcla se dejó reaccionar durante 6 horas a temperatura ambiente, después se agregó hielo y se extrajo con cloroformo. La fase orgánica se lavó con agua y se secó con sulfato de sodio anhidro, concentrándose a sequedad. El residuo se cristalizó con acetona-hexano dando - 60 mg de material recuperado ; las aguas madres se cromatografiaron en una placa de sílice (20 x 20 cm ), desarrollándola con una mezcla de benceno-acetato de etilo (40:60) . La sustancia con rf mayor, observada con luz ultravioleta, se extrajo con acetato de etilo y se concentró a sequedad obteniendo un aceite , V , que no se pudo cris

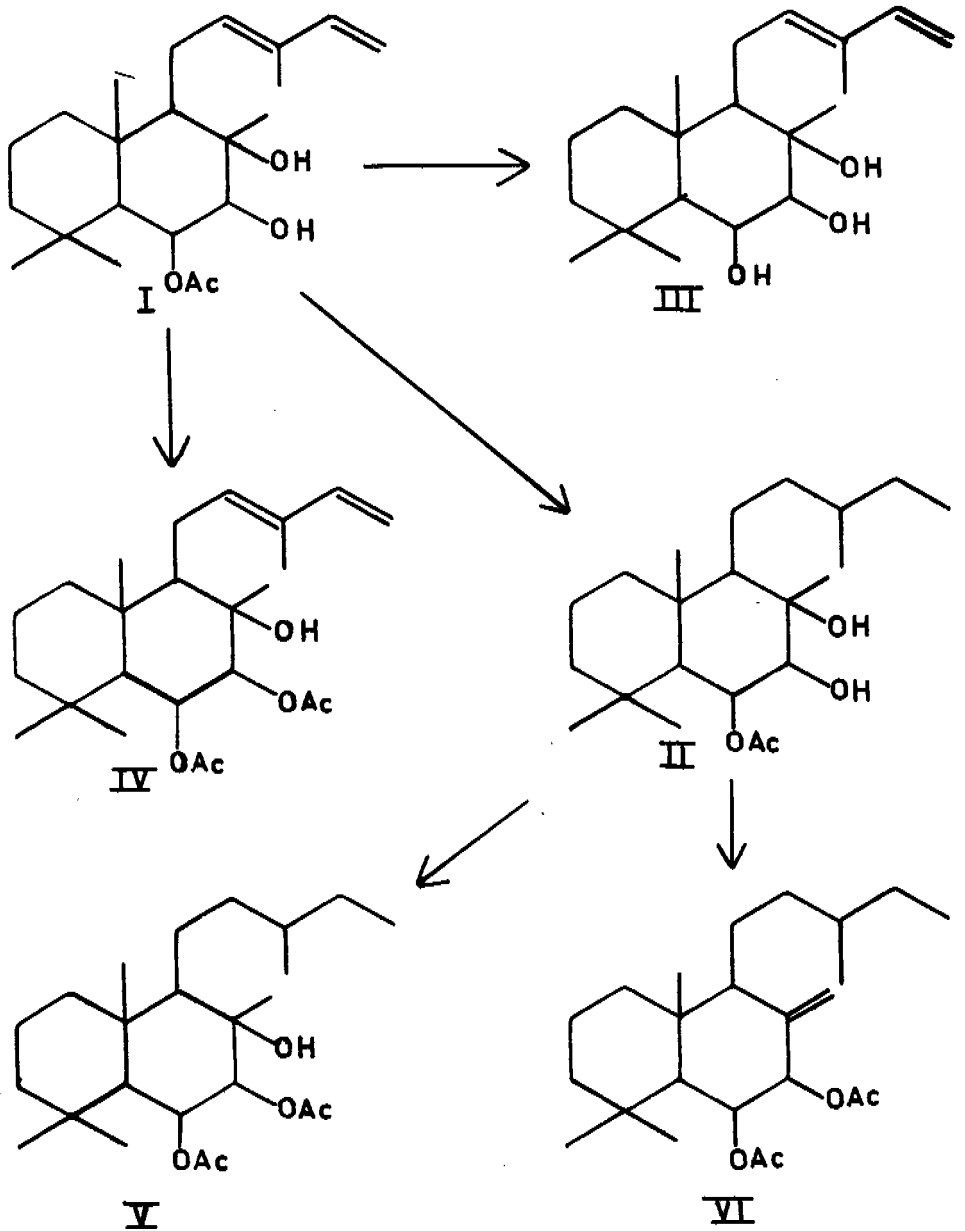
talizar. mp ( ppm ) : 4.9(d, J 10 Hz ;  $\text{CH} - \text{OAc}$ ); 5.2 (d,d, J=10, 10 Hz ;  $\text{CH} - \text{OAc}$  ); 1.9, 2.1 ( 2 Me -  $\text{C} - \text{O}$  ).

ACETATO DE TETRAHIDROSTEVINSOL ( V ) Y ACETATO DE DEHIDROTETRAHI -  
DROSTEVINSOL ( VI ).

En un matraz de bola se disolvieron 150 mg de II en anhídrido - acético, se les agregó 2 gotas de ácido perclórico dejando que reaccionaran, a temperatura ambiente, durante 5 minutos; después se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo ; la fase orgánica se lavó con disoluciones de carbonato de sodio, agua y posteriormente se secó con sulfato de sodio anhidro. El aceite resultante se cromatógrafió en una placa de alúmina, eluyendo con benceno:hexano (80:20); la fracción más polar se extrajo con acetato de etilo, la fase orgánica se concentró obteniendo el compuesto V, de consistencia aceitosa. mp ( ppm ) : 2.1 (s, Me -  $\text{C} - \text{O}$  ), 2.0 (s, Me -  $\text{C} - \text{O}$ ), 1.33 (Me - C - OH ).

La fracción menos polar se extrajo en la misma forma que V, obteniendo el compuesto VI, de consistencia aceitosa. mp ( ppm ) : 2.2 (s, Me -  $\text{C} - \text{O}$  ), 2.0 (s, Me -  $\text{C} - \text{O}$ ), 4.7 (s) y 5.1 (s) ( -C = CH<sub>2</sub> ) .

# ESQUEMA DE REACCIONES

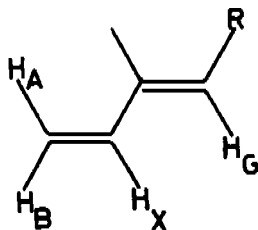


## R E S U L T A D O S Y D I S C U S I O N

La recromatografía en alúmina de la fracción polar del extracto etanólico de una población de la planta Stevia nelsonii Robinson dió como resultado el aislamiento de dos compuestos, uno de los cuales no ha sido descrito en la literatura química .

El compuesto aislado por elución con una mezcla de benceno:acetato de etilo (50:50) tiene un punto de fusión de 178-80°C y se llamó Stevinsol, I,; su peso molecular determinado por espectrometría de masas es de 364 ( $M^+$ ) y corresponde a una fórmula condensada de  $C_{22}H_{36}O_4$  la cual coincide con la encontrada por análisis elemental.

El Stevinsol tiene dobles ligaduras olefinicas conjugadas --- pues presenta bandas de absorción en su espectro de ir<sup>19</sup> (Espectro 1) a 3100,1650,990 y 890  $cm^{-1}$ ; además su espectro de rmp ( Espectro 2 ) muestra señales características para un sistema como el --- siguiente<sup>20</sup> :



Un doblete de doblete, centrado en 6.91 ppm ( $J_{BX} = 17$  Hz ;  $J_{AX} = 11$  Hz) para  $H_X$ , un multiplete en 5.35 ppm ( $J_{BX} = 17$  Hz ;  $J_{AB} = 2$  Hz) para  $H_B$ , otro en 5.1 ppm ( $J_{AB} = 2$  Hz ;  $J_{AX} = 11$  Hz) para  $H_A$ ; una más, como doblete de doblete, ancho, para  $H_G$  en 5.4 ppm y la señal simple en 1.8 ppm (3H) que corresponde al metilo vinílico. La absorción en uv ( Espectro 3 ) presentado por I en 236 nm ( $\epsilon = 25260$ ) además de las señales descritas anteriormente en rmp son semejantes a las que presentan otros compuestos naturales que tienen el mismo cromóforo en su estructura<sup>12,22,21</sup>.

En el mismo espectro de rmp se observa un doblete de doblete en 5.2 ppm ( $J = 10, 10$  Hz) que se asigna a un protón base de éster<sup>12,18</sup> y el singulete en 2.1 ppm (3H) a un metilo de acetato; junto con estas señales la banda de absorción en  $1740\text{ cm}^{-1}$  (Espectro 1) y el fragmento que aparece a m/e 43 (PB) en su espectro de masas<sup>23</sup> (Espectro 4) establecen la existencia de un grupo acetoxi en la estructura de I.

Las señales anchas en 2.3 ppm (1 H) y 3.5 ppm (sobrepuesta a un doblete) se asignan, cada una, a hidrógenos de grupos oxihidrilo porque al correr el espectro de rmp de I en equilibrio con  $D_2O$  se simplifican. La banda de absorción en  $3600$  y en  $3450\text{ cm}^{-1}$  en el espectro de ir de I apoyan la presencia de grupos oxihidrilo en su

estructura. El doblete en 3,5 ppm (  $J=10$  Hz) se asigna al hidrógeno base de un alcohol secundario el cual, por su multiplicidad, se encuentra interaccionando con otro hidrógeno<sup>24</sup>. El singulete en 1,2 ppm -- (3H) se asigna a un metilo unido a átomo de carbono cuaternario en el que se apoya la otra función oxihidrilo ; los singuletes en 1,1- ppm(3H), 1,0 ppm(3H) y 0,8 ppm (3H) corresponden, cada uno, a metilo unido a átomo de carbono cuaternario.

La hidrogenación catalítica de I, con Pd/C al 10 %, da un producto con punto de fusión 158-60°C, II, ; su análisis elemental corresponde a una fórmula condensada de  $C_{22}H_{40}O_4$  y un peso molecular de - 368, congruente con la señal que aparece a m/e 350 (  $M^+ - H_2O$  ) en su espectro de masas ( Espectro 5 ).

El espectro de rmp, a 60 MHz ( Espectro 6 ), de II presenta las siguientes señales : un doblete, centrado en 5,21 ppm (  $J=10,10$  Hz) para el protón base del acetato ; un doblete en 3,5 ppm (  $J=10$  Hz) - para el hidrógeno base del alcohol secundario ; singuletes en 2,1 - (3H), 1,2 (3H), 1,1 (3H), 1,0 (3H) y 0,9 ppm (3H) que se asignan a metilo de acetato, metilo unido a átomo de carbono cuaternario que soporta una función oxihidrilo y los tres últimos a metilos unidos a átomo de carbono cuaternario.

El conjunto de señales asignadas a los protones del sistema dié-- nico conjugado, en el espectro 2 de I, así como el singulete para el-- metilo vinílico no aparecen en el espectro 6 ; éste hecho aunado -- con que II no presenta banda de absorción en uv y que sus fragmen-- tos de mayor masa ( m/e 350, 308 y 290, espectro 5 ) difieren en cua-- tro unidades de los fragmentos similares que presenta I ( m/e 346, -- 304 y 286 ; espectro 4 ) indicó que el sistema dié-- nico conjugado de éste último había sido saturado.

El tratamiento de I con sodio e isopropanol da un compuesto de-- punto de fusión  $65^{\circ}\text{C}$ , III, ; su espectro de rmp, a 60 MHz ( Espectro 7 ) muestra a campo bajo las señales características para el sistema -- dié-- nico conjugado y en la región en que aparecen las señales para -- metilos, todas las que presenta el espectro 2, a excepción de la que -- aparecía en 2.1 ppm asignada al metilo del acetato. La adición de --  $\text{D}_2\text{O}$  hace que la señal en 2.7 ppm (1H) desaparezca y la de 3.48 ppm -- (2H) se resuelva en un doblete de doblete ( 1H,  $J=10, 10$  Hz ) ; ésta -- señal que aparecía en 5.2 ppm (d, d,  $J=10, 10$  Hz) en el espectro 2, -- asignada al hidrógeno base del acetato se desplaza y es la que aho-- ra aparece en 3.48 ppm. La señal que corresponde al protón base del alcohol secundario original no modifica su desplazamiento químico y aparece en 3.4 ppm (d,  $J=10$  Hz).

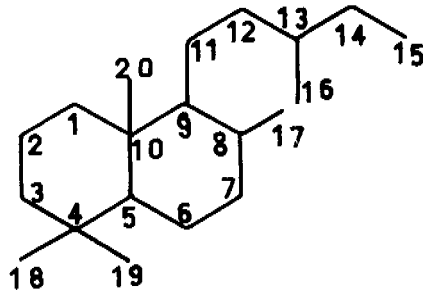


Los datos espectroscópicos de ir y rmp del Stevinsol y sus derivados II y III confirman la presencia de un acetoxi y dos oxihidrilos, uno secundario y el otro terciario, en su estructura.

La reacción de I con anhídrido acético y piridina complementó la aseveración anterior pues el producto obtenido se identificó como el acetato de Stevinsol, IV, ya que su espectro de rmp, a 60 MHz-- ( Espectro B ), comparado con el espectro 2 permite observar que la señal que aparece en éste último, centrada en 3.5 ppm(d, J=10 Hz) - asignada al hidrógeno base del alcohol secundario se desplaza a 4.9 ppm(d, J=10 Hz) además de dos singuletes en 1.9 (3H) y 2.1 ppm(3H)- que corresponden, cada uno, a metilo de acetato.

La información hasta aquí obtenida de las evidencias suficientes para afirmar que, como lo indica su fórmula condensada, el Stevinsol es un diterpeno bicíclico que tiene los siguientes grupos funcionales : un sistema diénico conjugado, un acetoxi y dos oxihidrilos, siendo uno de ellos secundario y el otro terciario.

De los diferentes esqueletos de diterpenos bicíclicos<sup>25</sup> en donde se pudieran colocar los grupos funcionales que tiene I, congruente con sus características espectroscópicas, solo en el del labdano es posible hacerlo :



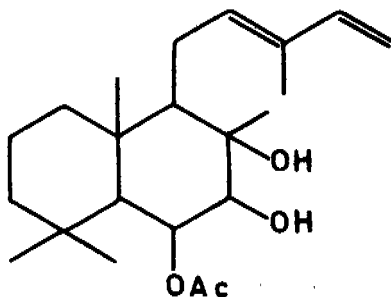
El sistema diénico conjugado se ubicó en la cadena lateral ya -  
que, como se ha informado en párrafos anteriores, los datos de uv y -  
rmp presentados por éste sistema coinciden con los que presentan --  
otros compuestos naturales que lo tienen en la cadena lateral<sup>12,22</sup>.

La secuencia C (6)-OAc, C (7)-OH es congruente con que el doble-  
te que aparece en 3.5 ppm (  $J=10$  Hz) en los espectros 2 y 6, asigna-  
do a H<sub>7</sub>, sea desplazado hasta 6.0 ppm (d,  $J=10$  Hz) cuando se corre  
el espectro de rmp de I a 100 MHz ( Espectro 9 ) disuelto en deute-  
rocloroformo e isocianato de tricloroacetilo; y el doblete de doble-  
te, centrado en 5.2 ppm (  $J=10,10$  Hz) (Espectros 2 y 6 ) se despla-  
za hasta 3.4 ppm (d,d,  $J=10,10$  Hz) (Espectro 7 ) cuando I se hidró-  
liza.

La secuencia anterior se confirmó con los experimentos de doble irradiación de I (Espectro 10) : la doble irradiación del doblete en 3.5 ppm ( $H_7, J=10$  Hz) simplifica el conjunto de señales que aparecen en 5.2 ppm ( $H_6$ ) y la irradiación de ésta, modifica el doblete a una señal simple y ancha. Estas observaciones en las señales asignadas a  $H_6$  (base del acetato) y  $H_7$  (base del alcohol secundario) aunado a la multiplicidad y constantes de acoplamiento que presentan confirmaron su relación vecinal.

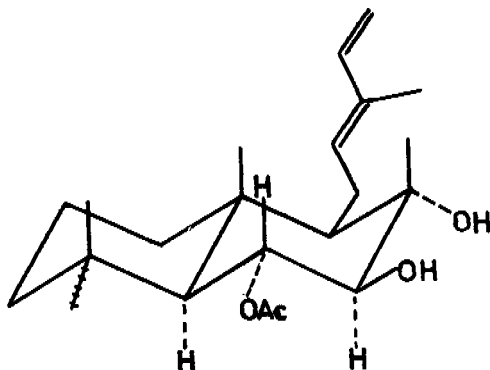
El análisis espectroscópico de los compuestos V y VI, obtenidos de la reacción de II con anhídrido acético y ácido perclórico, permite ubicar el oxihidrilo terciario en la estructura de I. El espectro de rmp, a 60 MHz (Espectro 11), de VI muestra dos singuletes: uno en 2.2 ppm (3H) y el otro en 2.0 ppm (3H) asignado cada uno a metilo de acetato; señales simples y anchas en 4.7 (1H) y 5.1 ppm (1H) asignadas a los hidrógenos de un metileno exocíclico en anillo de seis miembros<sup>26</sup>. Por otra parte el espectro de rmp, a 60 MHz (Espectro 12), de V muestra un singulete en 2.1 ppm (3H) y otro en 2.0 ppm (3H) asignados, cada uno, a metilo de acetato, además de un singulete en 1.33 ppm (3H) que corresponde al metilo unido al átomo de carbono que soporta el oxihidrilo terciario.

Los resultados anteriores permiten ubicar el oxihidrilo terciario en el átomo de carbono 8 y asignar la siguiente estructura a 1:



El valor de la constante de acoplamiento,  $J_{5,6} = 10$  Hz, entre  $H_5$  y  $H_6$  indica que existe una disposición trans entre ellos, lo que es de acuerdo con los valores observados en otros diterpenos naturales que tienen los anillos A y B fusionados en forma trans<sup>12,13,22</sup>. Por lo tanto se asigna, tentativamente, una configuración  $\alpha$  al hidrógeno unido a C-5 y en consecuencia  $H_6$  tiene que ser  $\beta$  y el grupo acetoxi queda cis con respecto a  $H_5$ . Asimismo, como el valor de la constante de acoplamiento entre  $H_6$  y  $H_7$  es de 10 Hz, la disposición entre ellos también tiene que ser trans y  $H_7$  deberá tener una configuración  $\alpha$ . El oxihidrilo terciario unido a C-8 y la cadena lateral en C-9 se colocan en posición ecuatorial pensando que de esta -

manera las interacciones entre grupos voluminosos serán mínimas. Así la estereoquímica de I queda como sigue :

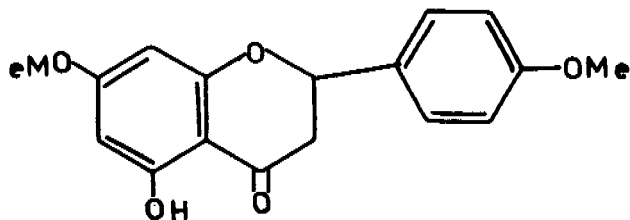


Las observaciones en las reacciones de hidrólisis y acetilación de I y II son congruentes con la disposición ecuatorial asignada a los grupos acetoxi e oxihidrilo pues se sabe que en los grupos con esta disposición se llevan a cabo dichas reacciones con más facilidad que en los que se encuentran en una disposición axial<sup>18,27</sup>.

El segundo compuesto aislado tiene un punto de fusión de 185-6°C su espectro de rmp, a 60 MHz (Espectro 13), presenta en la región de los hidrógenos aromáticos las señales características para un sistema  $A_2B_2$ <sup>24</sup> centradas en 7.05 ppm (4H); también aparece una señal ancha centrada en 6.1 ppm (2H); un doblete de doblete centrado en-

5.35 ppm ( 1H, J=12,6 Hz) se asigna a un hidrógeno que interacciona con dos protones no equivalentes ; un multiplete, centrado en 2.7 ppm (2H) y singuletes en 3.8 ppm (3H) y 3.86 ppm (3H) asignados a metilo de éter aromático.

Los desplazamientos químicos y la multiplicidad mostrada por los hidrógenos de éste compuesto sugieren que su estructura sea de tipo flavonoide por lo cual se realizó una revisión bibliográfica para tratar de encontrar alguna flavona que tuviera sus características y de no ser así, determinar su estructura<sup>28</sup>. Narasimhachari y Seshandri informaron en 1949<sup>29</sup> acerca de una sustancia de punto de fusión 187-89°C que llamaron 4',7 dimetoxi naringenina. Los desplazamientos químicos y la multiplicidad que presentan sus hidrógenos en su espectro de rmp (Espectro 14) no mostraron diferencias con los que presentan los hidrógenos de nuestra sustancia, VII, por lo que se le asignó la misma estructura :



VII

### C O N C L U S I O N E S

El estudio químico de una muestra de la población de Stevia --- nelsonii Robinson (compuesta) que crece en Topilejo, D.F. dió como resultado el aislamiento de dos compuestos, uno de los cuales no ha sido descrito en la literatura química.

El compuesto eluido con benceno-acetato de etilo (50:50) tiene un punto de fusión de 178-80<sup>o</sup>C y se llamó Stevinsol ( I ). Los datos físicos y espectroscópicos de infrarrojo, ultravioleta, resonancia magnética protónica y espectrometría de masas de I y sus derivados dan las evidencias suficientes para asignarle la estructura I .

El segundo compuesto, aislado por cristalización fraccionada de las aguas madres de I con acetona-hexano, se identificó como 4',7 - dimetoxi naringenina ( VII ).

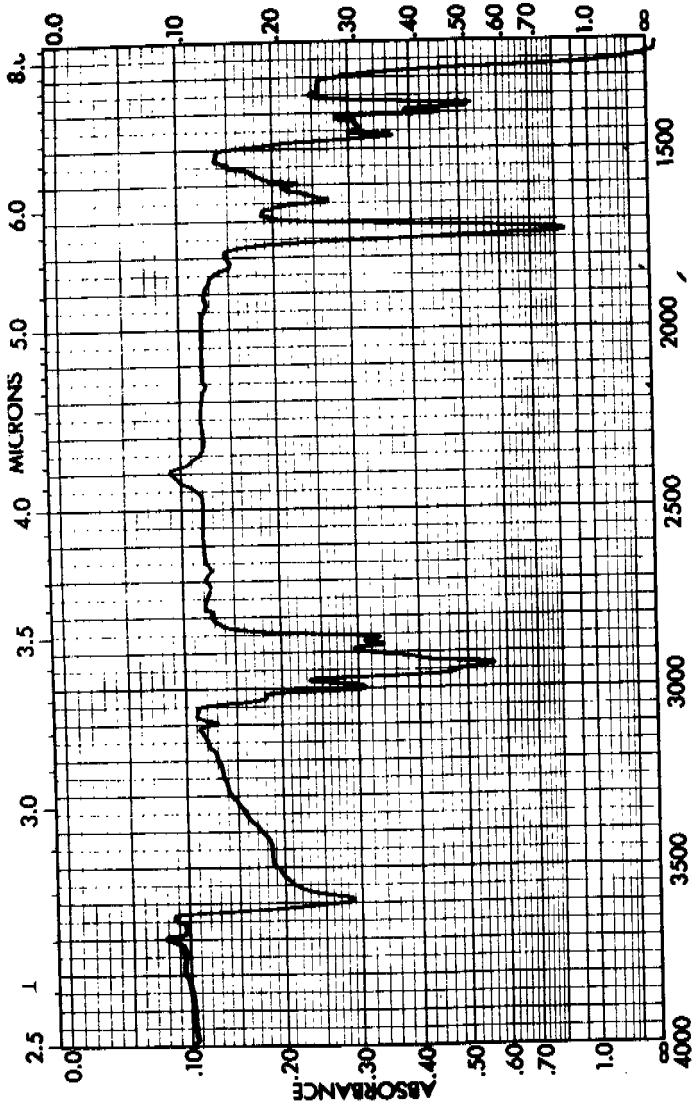
B I B L I O G R A F I A

- 1.- "Estado actual del conocimiento en plantas mexicanas"  
X. Lozoya (Editor).IMEPLAN  
México  
1976
- 2.- Nagy, S. and Nordby, M.  
Phytochemistry. 13, 153 (1974)
- 3.- Bruhn, J.G., Svensson, V. and Agurell, S.  
Acta. Chem. Scand. 24, 3775 (1970)
- 4.- Brown, S.D., Hodgkins, J.L., Massingill, Jr. and Reinecke, M.G.  
J. Org. Chem. 37, 1825 (1972)
- 5.- Walters, G.C. and Cooper, P.D.  
Nature. 218 (1968)
- 6.- Toscano, L., Grisanti, G., Fioriello, G., Berlotti, L., Binchetti, A.,  
and Riva, M. J. Medicinal Chemistry. 20. 213 (1977).
- 7.- Bell, F.  
Chemistry and Industry. 897 (1954)
- 8.- Ríos, T., Romo de Vivar, A. and Romo, J.  
Tetrahedron. 23. 4265 (1967)
- 9.- a) Salmón, M., Díaz, E. and Ortega, A.  
J. Org. Chem. 1759 ( 1973 )  
b) Salmón, M. Ortega, A. and Díaz, E.  
Rev. Latinoamer. Quim. 6. 45 (1975)
- 10.- Kohda, H., Tanaka, O. and Nishi, K.  
Chem. Pharm. Bull. 24. 1040 (1976)
- 11.- Domínguez, X.A., González, A., Zamudio, M.A. and Garza, A.  
Phytochemistry. 13. 2001 (1974)
- 12.- Bolhmann, F., Zdero, C. und Grenz, M.  
Chem. Ber. 109. 3366 (1977)

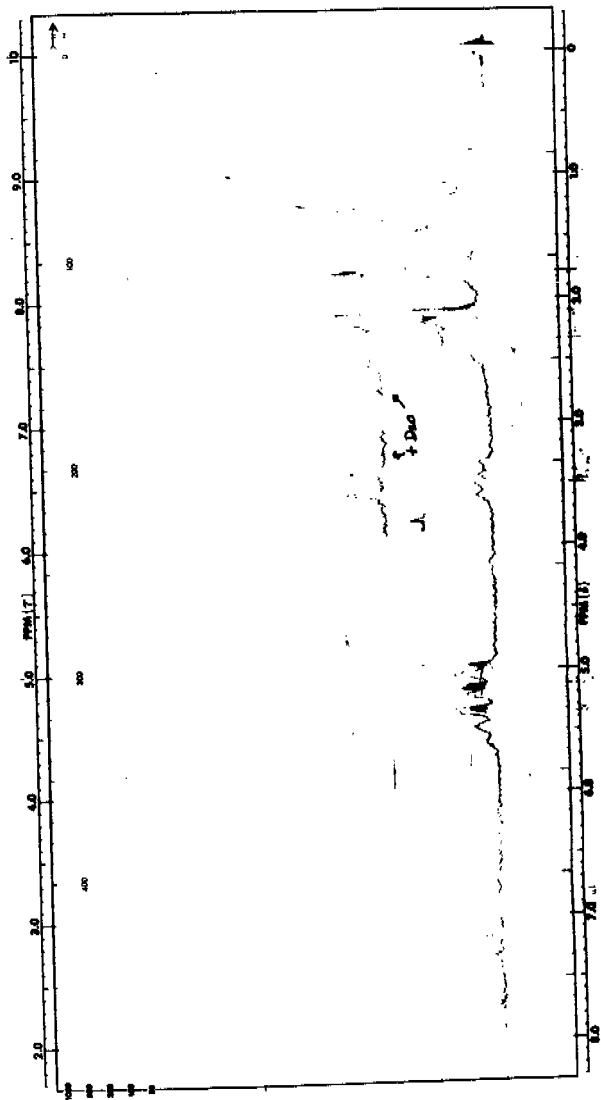


- 13.- Chemistry of Terpenes and Terpenoids  
Newman, A.A. (Editor)  
Academic Press  
London  
1972
- 14.- Brian, P.W., Grove, J.F. and MacMillan, J.  
Prog. Chem. Org. Nat. Prod. 18. 350 (1960)
- 15.- Kupchan, S.M., Karim, A. and Marcks, C.  
J. Org. Chem. 34. 3912 (1969)
- 16.- Fujita, E., Nagao, Y., Node, M., Kaneko, K., Nakezawa, S. and Kuroda, H.  
Experientia. 15. 203 (1976)
- 17.- Paul, I.C., Sim, G.A., Hamor, T.A. and Montesth, R.J.  
J. Chem. Soc. 4133 (1962)
- 18.- Bhat, S.V., Bajwa, B.S., Dorneuer, H. and deSouza, N.J.  
Tetrahedron Letters. No 19.1669 (1977).
- 19.- Nakanishi, K.  
Infrared Spectroscopy  
2n. Ed.  
Allyn and Bacon  
Boston  
1972
- 20.- Hayashi, S., Hayashi, N. and Matsura, T.  
Tetrahedron Letters. 2647 (1968)
- 21.- Arya, V.P., Enzell, C., Ertzman, H. and Kubota, T.  
Acta. Chem. Scand. 15. 225 (1961)
- 22.- Hugel, G. et Ourisson, G.  
Bull. Soc. Chim. 2903 (1968)
- 23.- Budzikiewics, H., Djerassi, C. and Williams, D.H.  
Structure Elucidation of Natural Compounds by Mass Spectrometry  
Holden Day Inc.  
St. Francisco  
1964

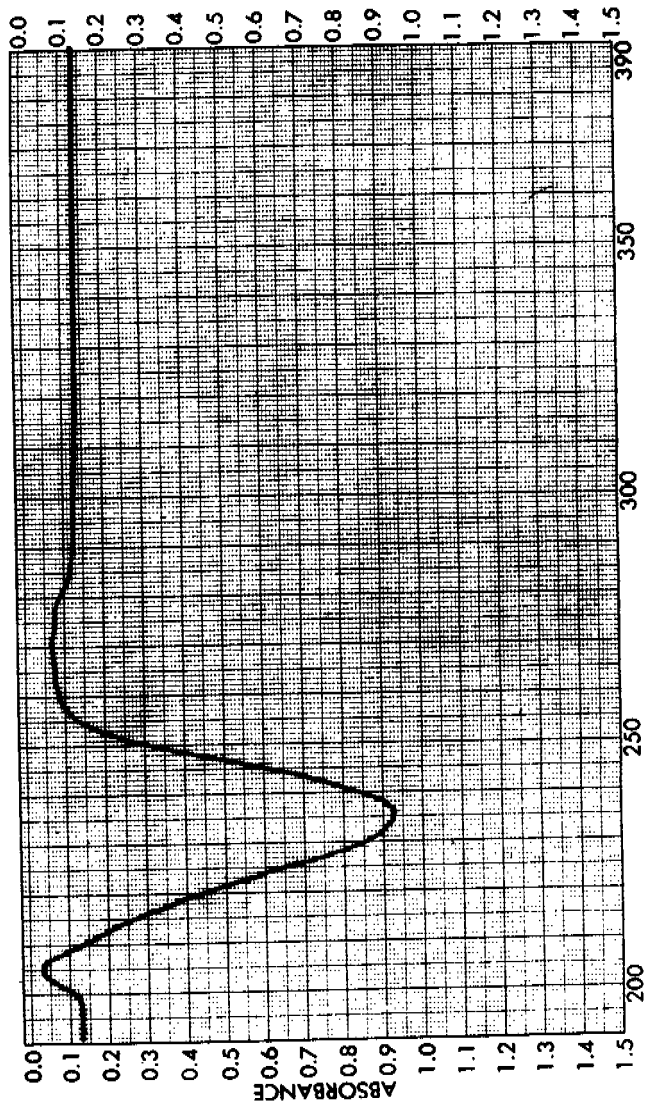
- 24.- Nathan, J.P. y Díaz, E.  
Introducción a la Resonancia Magnética Nuclear  
Ed. Limusa-Wiley S.A.  
México  
1970
- 25.- Devon, I.K. and Scott, A.I.  
Handbook of Naturally Occurring Compounds  
Vol. II  
Academic Press  
New York  
1972
- 26.- Chávez, M.A.  
"Investigación Química-Etnobotánica de *Calea zacatechichi*".  
Tesis Profesional.  
UNAM (1977)
- 27.- Fieser, L.F. y Fieser, M.  
Química Orgánica  
2a. Ed.  
Ed. Grijalbo  
México  
1960
- 28.- Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B.  
The Systematic Identification of Flavonoids  
Springer Verlag  
New York  
1970
- 29.- Narasimhachari, N. and Seshandri, T.R.  
Proc. Ind. Acad. Sci. A, 230 (1949)



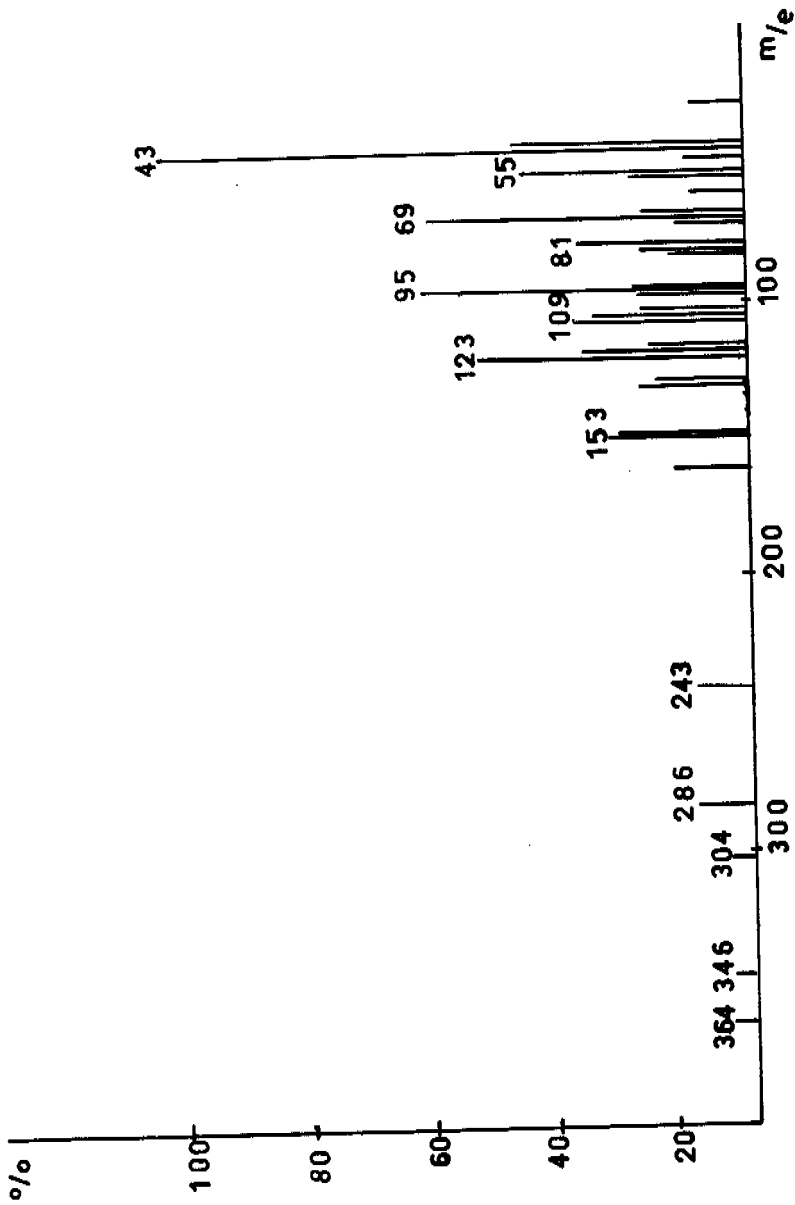
ESPECTRO 1



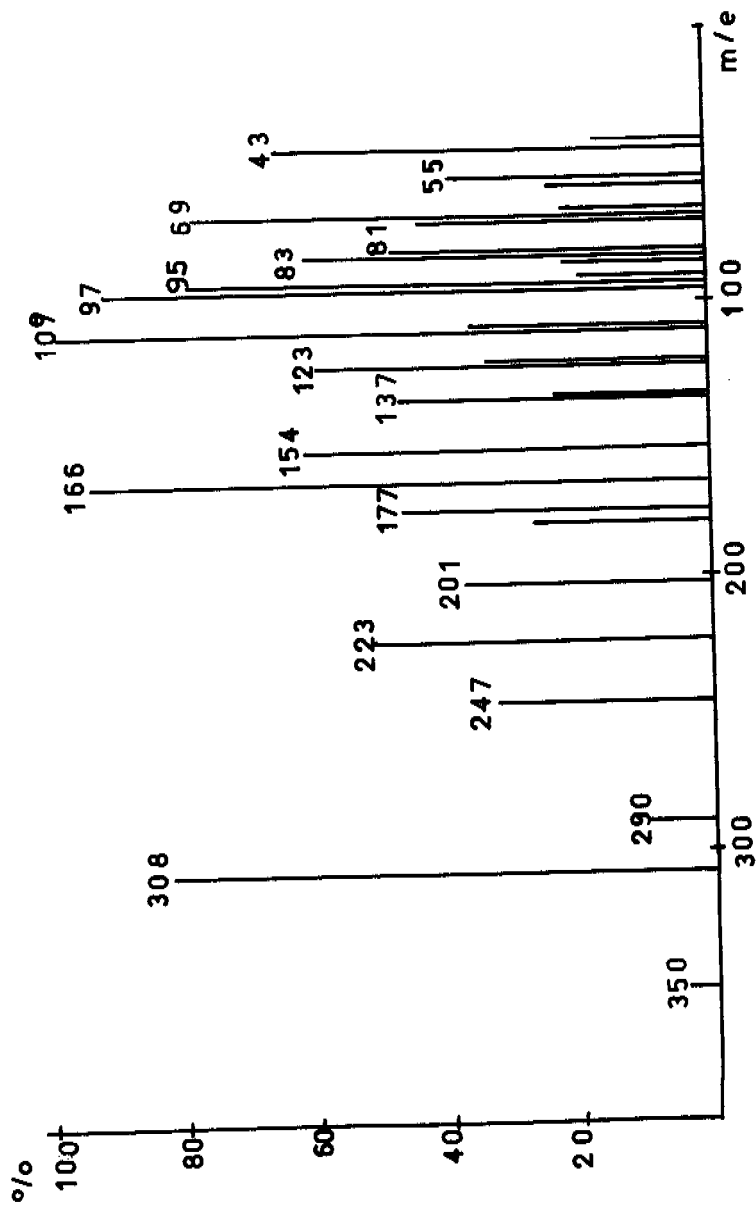
ESPECTRO 2



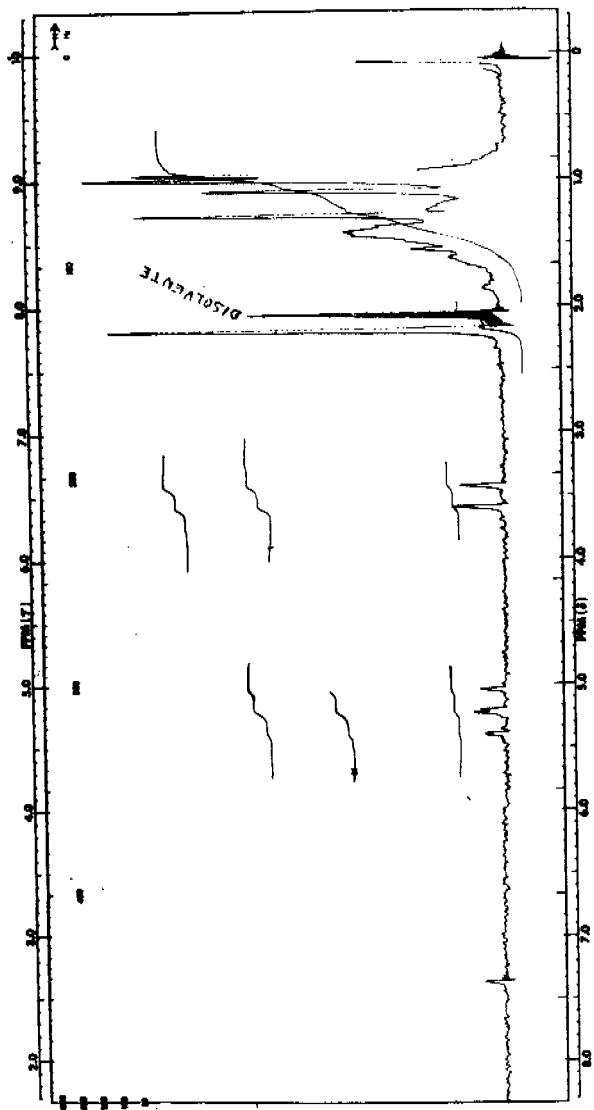
ESPECTRO 3



ESPECTRO 4

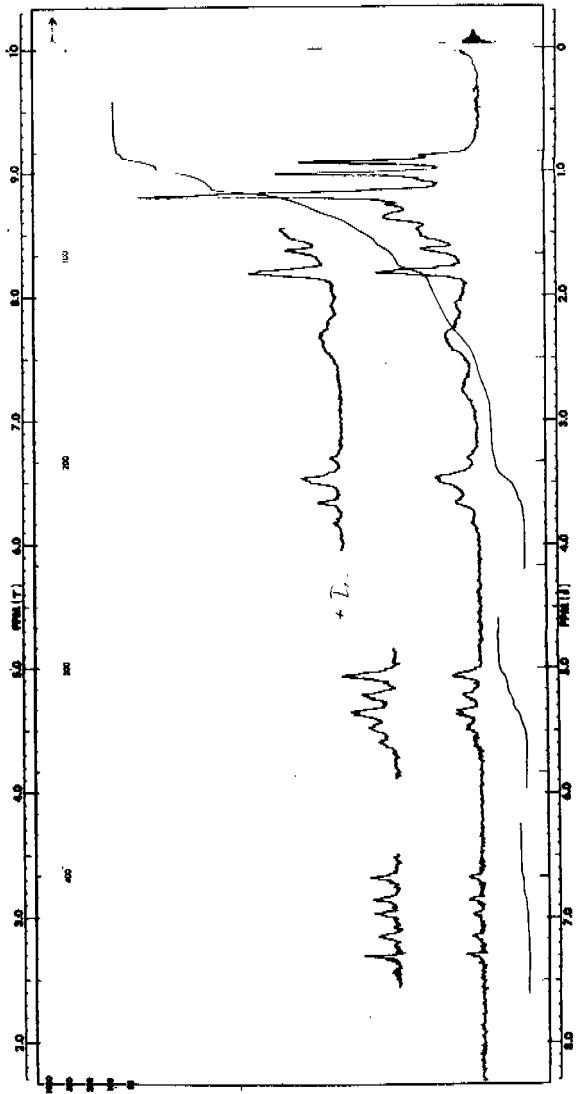


ESPECTRO 5

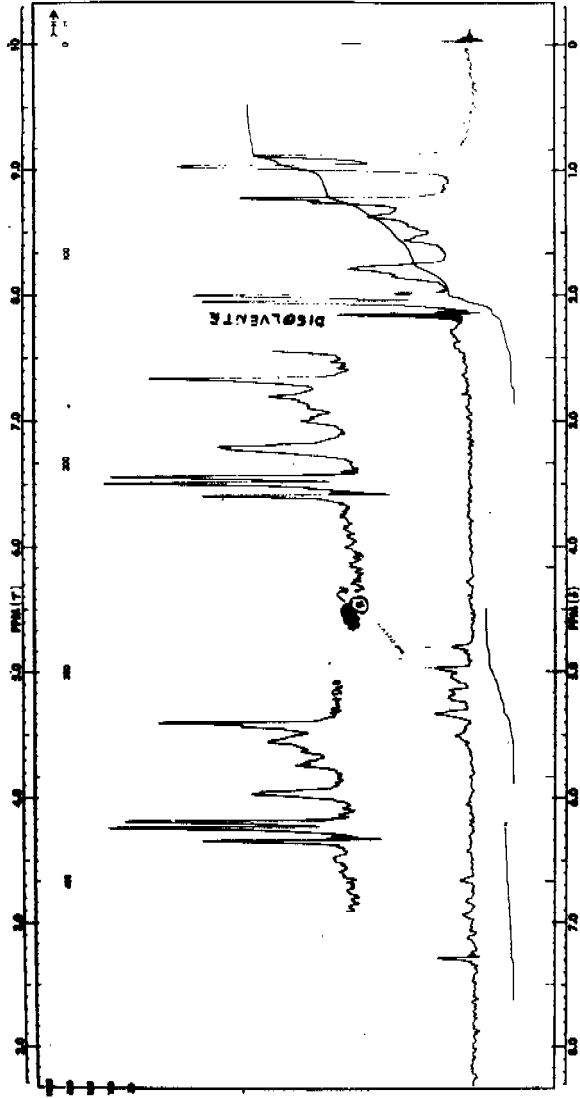


ESPECTRO 6

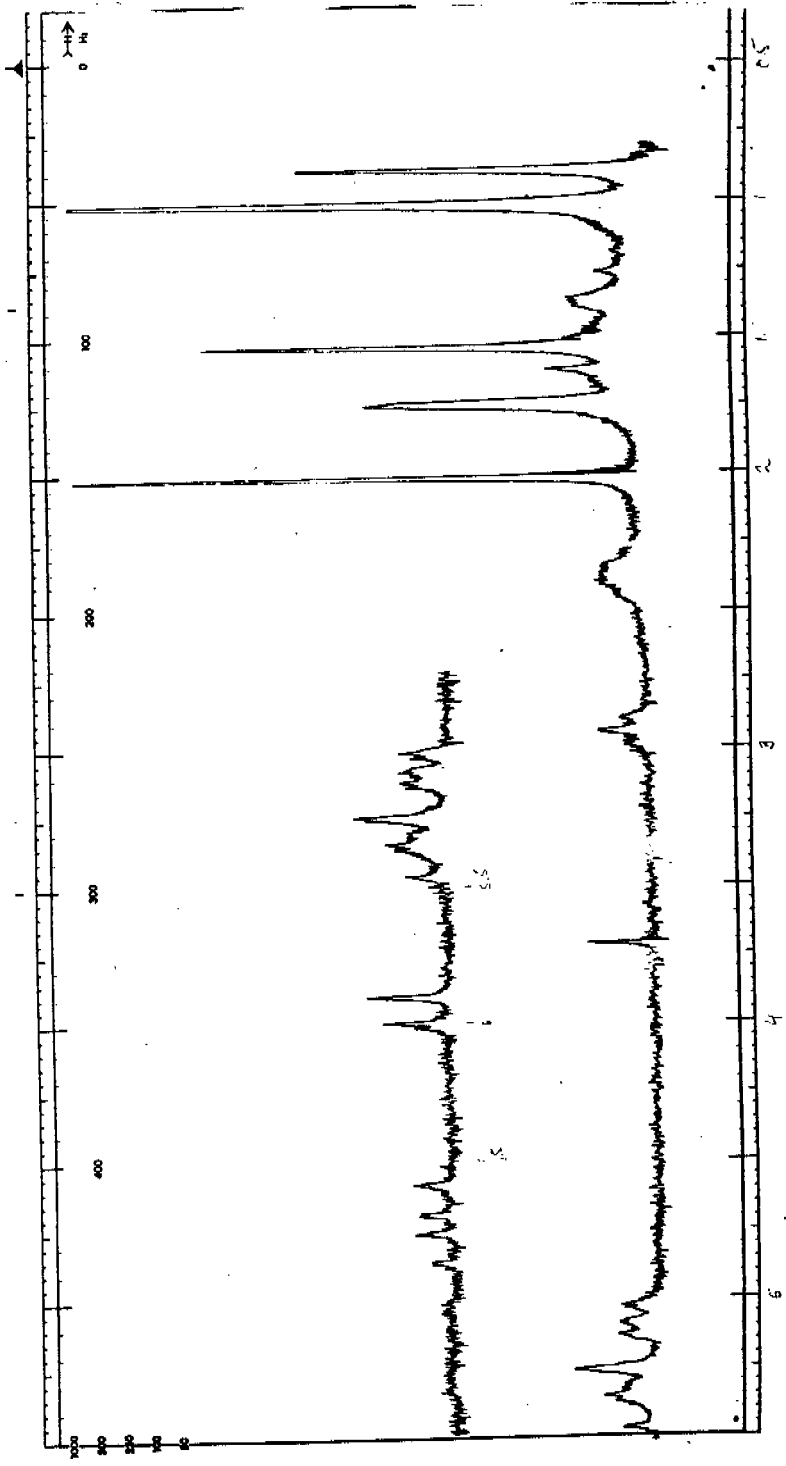




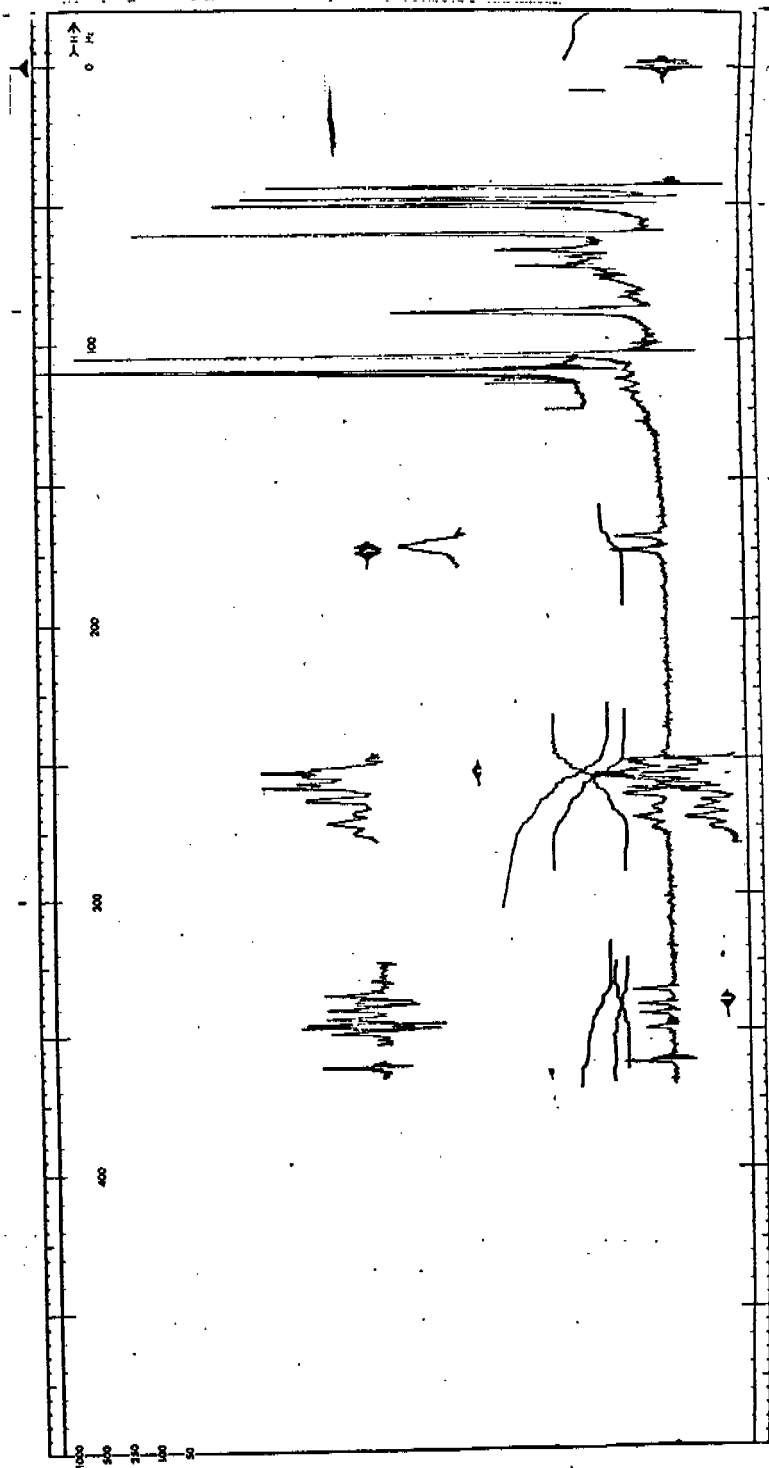
ESPECTRO 7



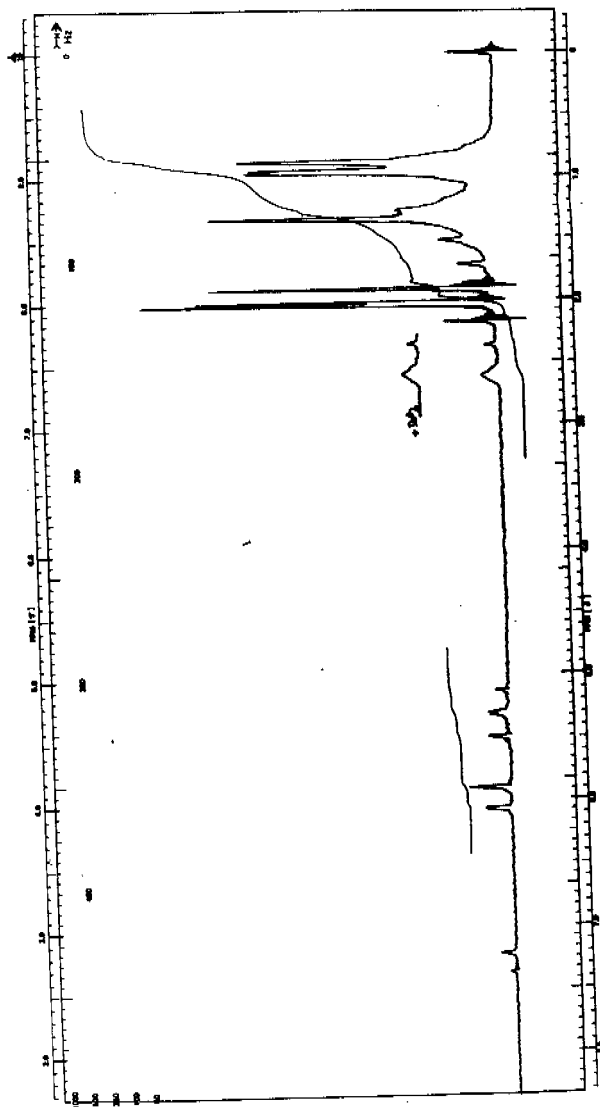
ESPECTRO 8



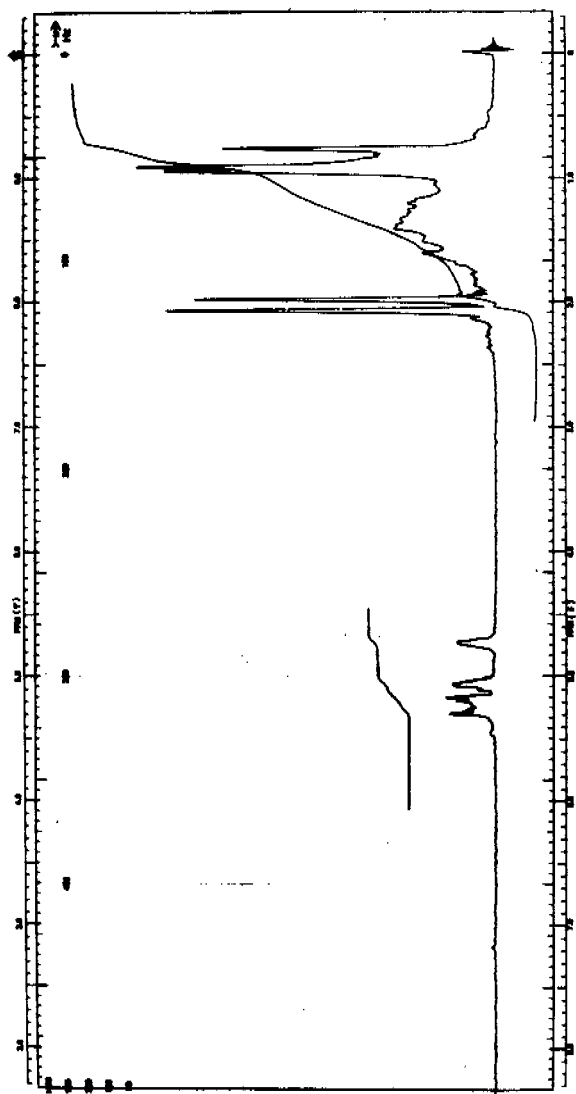
ESPECTRO 9



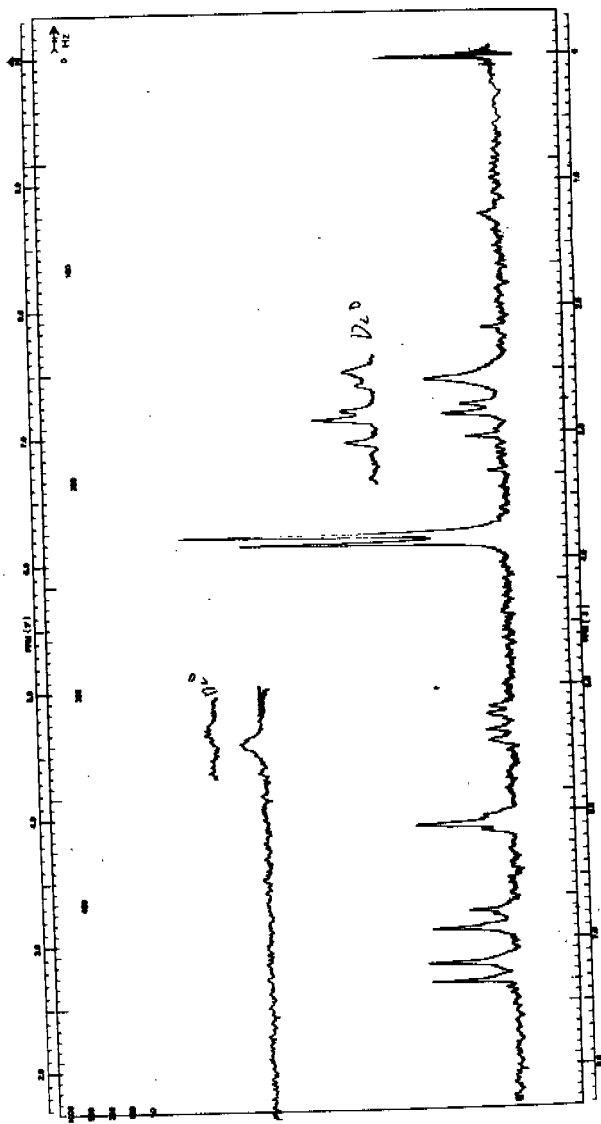
ESPECTRO 10



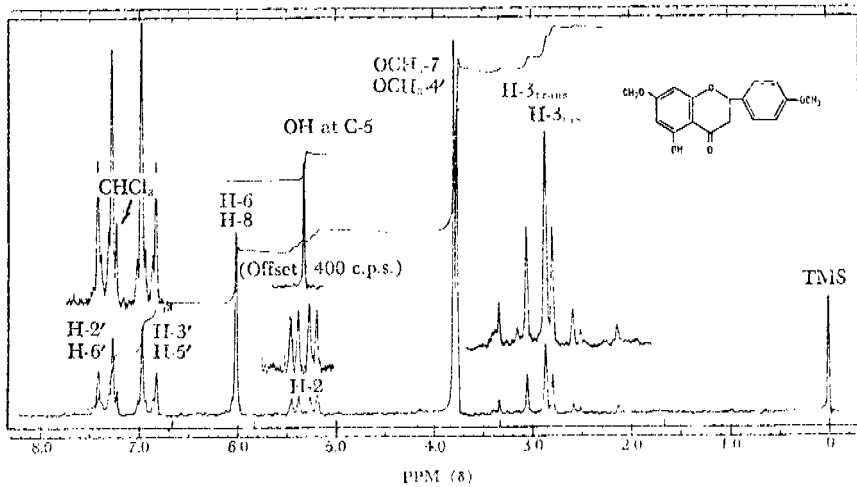
ESPECTRO 11



ESPECTRO 12



ESPECTRO 13



ESPECTRO 14