



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**FACULTAD DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGÍA**

**Asignación Total del Espectro de Resonancia
Magnética Nuclear de Hidrógeno del Curcumeno**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

ANTONIO DE JESUS OLIVEROS ORTIZ

DIRECTORES:

D.Q. MARIO ARMANDO GÓMEZ HURTADO

D.C. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES

Morelia, Michoacán.

ENERO 2019

ÍNDICE

RESUMEN.....	ii
ABSTRACT	iii
1.INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1 Medicina tradicional en México	5
2.2 Familia Asteracea	6
2.3 Género <i>Lasianthaea</i>	7
2.4 <i>Lasianthaea aurea</i>	7
2.4.1 Estudios químicos <i>Lasianthaea aurea</i>	8
2.5 Curcumeno	10
2.5.1 Actividad biológica del curcumeno	11
3. JUSTIFICACIÓN	13
4. OBJETIVOS.....	14
4.1 Objetivo General	14
4.2 Objetivos Específicos	14
5. DISCUSIÓN Y RESULTADOS	15
5.1 Obtención del extracto hexánico	15
5.2 Obtención del curcumeno	15
5.3 Análisis completo de spin de ^1H RMN.....	18
6. CONCLUSIONES	29
7. PARTE EXPERIMENTAL	30
7.1 Materia vegetal.....	30
7.2 Obtención de extractos.....	30
7.3 Análisis espectroscópico y físico	30
7.4 Estudio químico.....	31
7.5 Simulación de Spin y conformacional	31
8. BIBLIOGRAFÍA	33

RESUMEN

El espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del curcumeno (**15**) aislado de la raíz de *Lasianthaea aurea* pudo ser asignado completamente, estableciendo los desplazamientos químicos y todas las constantes de acoplamiento, incluyendo constantes de acoplamiento a larga distancia. Usando estos valores en el espectro de ^1H simulado mediante el análisis de todos los spines en software WINDNMR-PRO. La comparación de éstos con los valores obtenidos experimentalmente y procesados en el software MestReNova mostraron una excelente correlación. Los sistemas de acoplamiento a larga distancia de H-9 y H-9' fueron apoyados a partir de los valores ponderados de ángulos diedros H7-C7-C9-H9 y H7-C7-C9-H9' de los conformeros de un rango de 0-3 kcal/mol, calculados con el funcional DFT B3LYP 6-31G**, empleando el programa Spartan'04. Adicionalmente en este estudio fitoquímico se aisló e identificó al podocefalol (**16**).

Palabras clave: curcumeno, simulación, RMN, sesquiterpeno, podocefalol.

ABSTRACT

The 400 MHz ^1H NMR spectrum of curcumene (**15**) from roots of *Lasianthaea aurea* was completely assigned by means of the comparison of all experimental and calculated coupling constants. The WINDNMR-PRO NMR software, as well as MestReNova program provided the simulated ^1H NMR spectrum. The long-range spin-spin coupling systems of H-9 and H-9' were supported by the pondered dihedral angles values H7-C7-C9-H9 and H7-C7-C9-H9' from the conformers in the range of 0-3 kcal calculated at DFT B3LYP 6-31G** functional, using the Spartan '04 program, which suggested the "W" coupling type. The results matched in good agreement with that experimental. In addition, the identification of podocephalol (**16**) was possible.

Key words: curcumene, iterative, NMR, sesquiterpene, podocephalol

1. INTRODUCCIÓN

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es la técnica analítica no destructiva que proporciona información para la identificación y la determinación estructural de moléculas orgánicas, tiene aplicaciones en todas las áreas de la Química y en algunas de la Biología. Esta multidisciplinariedad y el desarrollo de instrumentos más potentes la hace una técnica indispensable e imprescindible en la determinación de estructuras orgánicas. En la actualidad que permite resolver diversos problemas de la investigación química y de control de calidad. Con otros tipos de instrumentos es una técnica de diagnóstico en Medicina [1]. La espectroscopia de resonancia magnética nuclear es una espectroscopia cuyo fundamento es la absorción de energía (radiofrecuencias) de 4 a 900 MHz por un núcleo magnéticamente activo, que está orientado en el seno de un campo magnético, y que por efecto de esa energía cambia su orientación. Las partes fundamentales de un espectrómetro de RMN (**Figura 1**) son un imán, actualmente una bobina superconductora, que suministra el campo magnético principal, un oscilador de radiofrecuencias que suministra la energía necesaria para cambiar la orientación de los núcleos, una bobina detectora que recibe las señales y un sistema informatizado que gobierna todo el aparato y que incluye un sistema de amplificación y registro [2].

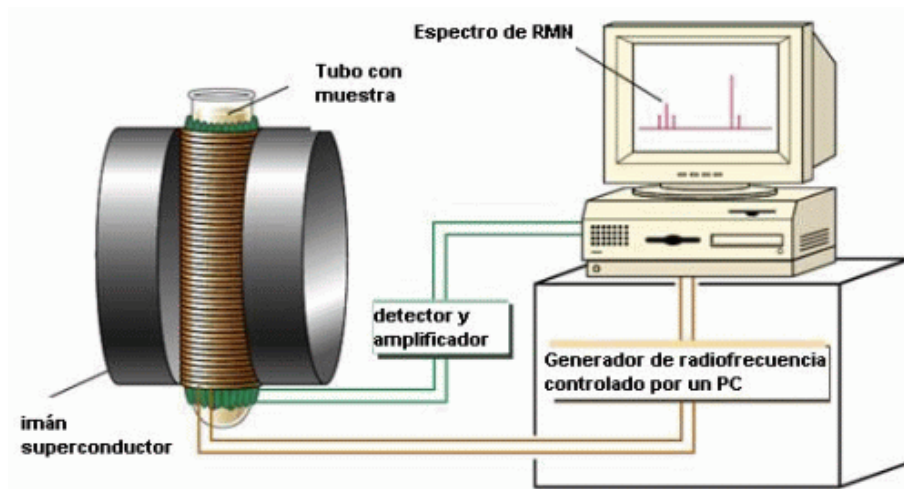


Figura 1. Partes principales de un Espectrómetro de RMN. (Tomado de <https://practicatufisica.files.wordpress.com/2013/05/000489271.png>)

Además, para que en los núcleos se formen los estados de energía que hagan posible la absorción, es necesario colocar el analito en un intenso campo magnético. Varios tipos de núcleos atómicos se comportan como si estuvieran girando alrededor de un eje, de manera similar a como la Tierra gira a diario. Debido a que tienen carga positiva, estos núcleos giratorios actúan como pequeños imanes en forma de barra e interactúan con un campo magnético externo. No todos los núcleos actúan de esta manera, pero afortunadamente para los químicos orgánicos, el protón ^1H y el ^{13}C tienen spines [3].

Las bases teóricas de la espectroscopia de resonancia magnética nuclear fueron formuladas por W. Pauli en 1924, quien sugirió que ciertos núcleos atómicos tienen las propiedades de espín y momento magnético y que, como consecuencia, al exponerlos a un campo magnético se produciría una división de sus niveles de energía. Durante el siguiente decenio se consiguió la comprobación experimental de estos postulados. Pero no fue sino hasta 1946 cuando Felix Bloch, en Stanford, y Edward Purcell, en Harvard, con trabajos independientes, demostraron que los núcleos absorben radiación electromagnética en un campo magnético intenso como resultado del desdoblamiento de los niveles de energía inducidos por el campo magnético. En 1952, los dos físicos compartieron el Premio Nobel por su trabajo [4].

La RMN es una técnica donde una muestra es sometida a un campo magnético intenso, constante y homogéneo, y posteriormente irradiada con radiación electromagnética en el intervalo de la radiofrecuencia. Como resultado se obtiene la “señal de resonancia”. Brevemente, el núcleo atómico excitado mediante la señal de radiofrecuencia emite una señal magnética llamada Free induction Decay (FID) o caída libre de la inducción, la cual es digitalizada a través de métodos matemáticos para obtener las señales de resonancia de una muestra [5].

El análisis de datos espectroscópicos es una tarea que involucra varios procesos y aunque no todos los análisis se realizan con los mismos fines, procesar, visualizar, almacenar, simular, ajustar parámetros, asignar, predecir, comparar y buscar información relevante son parte de las funciones necesarias. Actualmente existen herramientas computacionales usadas en el análisis y procesamiento de los datos espectroscópicos.

Asignación de espectros a estructuras

La asignación de los espectros de RMN a sus correspondientes estructuras es una tarea importante en el proceso de análisis de RMN ya que permite relacionar los desplazamientos químicos obtenidos mediante la espectroscopia a los diferentes sistemas de átomos en la molécula. Usando los resultados de la asignación se han creado la mayoría de los repositorios de datos experimentales de desplazamientos químicos disponibles en internet. Como se puede inferir la labor de asignación requiere que se conozca de antemano la estructura molecular correspondiente al conjunto de espectros de RMN.

Elucidación de estructuras a partir de espectros de RMN

Aunque actualmente las computadoras desempeñan un papel muy importante en el proceso de la elucidación de las estructuras realizando tareas como proveer repositorios de datos, simulando espectros a partir de estructuras utilizando dichos repositorios, realizando asignación automática o asistiendo al experto en ella, la elucidación completamente automática y precisa aún es un problema que atrae el interés de muchos investigadores. Si bien hay una gran cantidad de trabajo realizado en esta área, es importante resaltar que aún no se posee un método lo suficientemente rápido, confiable y general que permita realizar esta tarea.

Predicción

Uno de los pasos claves en el análisis de espectros de RMN es la predicción de desplazamientos y acoples a partir de la estructura molecular. Dichas predicciones son usadas en las aplicaciones de asignación como estimación inicial y se han usado desde los años setentas. También las predicciones juegan un papel importante en la extracción o identificación de los parámetros correctos para espectros experimentales, o para desambiguar señales. La predicción de desplazamientos químicos es una tarea mucho más compleja que la predicción de acoples, ya que los primeros dependen de una gran cantidad de variables estructurales que son difíciles de plasmar en un algoritmo, a diferencia de la predicción de acoples, donde solo unas pocas variables estructurales toman partido.

Simulación

El termino simulación se refiere a recrear un espectro a partir de los descriptores físicos de un sistema de spines (desplazamientos, constantes de acoplamiento) sometidos a excitaciones simuladas como las de un espectrómetro [6]. Con los avances en la tecnología se han desarrollado programas que ayudan al procesado y asignación de espectros, entre los que se encuentran: MestReNova [7], ACD/SpecManager [8], iNMR [9].

En el presente trabajo se describe la asignación total del espectro de RMN de ^1H del sesquiterpeno conocido como curcumeno, mediante métodos de simulación computacional.

2. ANTECEDENTES

2.1 Medicina tradicional en México

A través de los años, el hombre ha desarrollado diferentes estrategias terapéuticas que se han basado en los conocimientos tradicionales, en el empirismo y el método científico [10]. La medicina tradicional se desarrolla bajo el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, usados para la prevención, diagnóstico, mejora y tratamiento de las enfermedades [11]. En el contexto latinoamericano, al hacer referencia a la medicina tradicional, se incluye la medicación, materiales, preparados y productos terminados a base de hierbas que contienen principios activos de plantas u otros materiales vegetales [12].

En México, el tratamiento médico de muchas patologías se apoya en medicamentos farmacéuticos comerciales, pero gran parte de la población hace uso de plantas medicinales, debido a las propiedades curativas que estas poseen [13]. Esta herencia revela sus orígenes con el primer libro de herbolaria medicinal azteca, y con una de las más importantes fuentes bibliográficas históricas en América en medicina, que lleva por nombre “Libro de las yerbas medicinales de los indios”, que se conociera cuatro siglos después como Códice Badiano, una obra en la que se describen más de 150 plantas medicinales nativas [14].

La diversidad vegetal con que cuenta México es una de las más diversas en el mundo, reflejada por la presencia de prácticamente todos los tipos de vegetación. Esto se debe en gran medida a la ubicación de su territorio en el planeta, que suma una topografía accidentada, y que conjugada con otros factores (presencia oceánica, corrientes marinas, vientos alisios) resulta en la existencia de toda la gama de climas y suelos [15]. Un total de 23,314 especies de plantas vasculares nativas se han registrado, las cuales están distribuidas en 2,854 géneros, 297 familias y 73 órdenes. Por su número de especies, México registra alrededor de 50% de especies endémicas, ocupando el cuarto lugar a nivel mundial y entre los países continentales el segundo por el número de especies endémicas [16].

Se calcula que la flora medicinal mexicana contiene entre 3,000 a 5,000 plantas que tienen potencial terapéutico. Los reportes indican que las plantas medicinales más utilizadas en el país son: Gordolobo (*Gnaphalium sp.*), Eucalipto (*Eucalyptus globulus*), Hierbabuena (*Menta sp.*), Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Nopal (*Opuntia ficus-indica*), Árnica (*Heterotheca spp.*), Guarumbo (*Cecropia obtusifolia*), Sábila (*Aloe vera*), Ruda (*Ruta graveolens*), Romero (*Rosmarinus officinalis*), entre otras [17].

2.2 Familia Asteracea

El territorio mexicano es considerado un sitio de concentración de diversidad y de endemidad, comparado con muchas otras entidades políticas en el mundo. Dentro de su flora la familia Asteraceae es la más grande por su número de géneros y especies. La familia se distribuye a lo largo de todo México, desde las dunas o vegetación costera hasta los picos nevados de las altas montañas. México registra 26 tribus, 417 géneros y 3,113 especies de Asteraceae, de las cuales 3,050 son especies nativas y 1,988 (63.9 %) son endémicas del territorio nacional. Michoacán ocupa el quinto lugar dentro de los estados con mayor número de especies pertenecientes a esta familia [18].

Asteraceae o Compositae, constituye el grupo vegetal más diverso de plantas vasculares sobre el planeta, está representada por alrededor de 950 géneros y 20,000 especies [19]. Además de su gran tamaño, la familia tiene una distribución cosmopolita y está muy diversificada en sus preferencias de hábitat, formas de vida, estructura floral, mecanismos de polinización y dispersión de semillas. Fácilmente reconocidos por sus inflorescencias dispuestas en capítulos, sus flores gamopétalas y por lo general pentámeras, cáliz modificado en un vilano, estambres singenesios y el ovario ínfero bicarpelar que deriva en una cipsela [20].

Las asteráceas son de gran importancia económica, algunas son ampliamente cultivadas como alimentos, entre ellas la lechuga (*Lactuca sativa L.*) y la alcachofa (*Cynara scolymus L.*). Algunos de los géneros de esta familia como *Calendula*, *Chrysanthemum*, *Dahlia* tiene un uso ornamental, otras como el girasol (*Helianthus annuus L.*), y el cártamo

(*Carthamus tinctorius* L.) son fuentes de aceites [19]. Además muchas especies de esta familia son fuentes medicinales [21].

2.3 Género *Lasianthaea*

Corresponde un pequeño género con especies distribuidas desde el suroeste de Estados Unidos hasta Venezuela, todas presentes en México y en su mayoría con el área restringida a los límites de nuestro país. Durante muchos años este grupo se consideraba como parte integral de *Zexmenia*, conjunto polifilético actualmente subdividido en varios géneros. Son plantas herbáceas perennes, arbustivas o a veces arborescentes hasta de 7 m de alto, hojas todas opuestas o a veces algunas alternas, simples e indivisas, por lo común triplinervadas, con flores amarillas, anaranjadas o rojas; flores del disco hermafroditas, sus corolas pentámeras, tubulosas, amarillas a rojas, anteras apendiculadas en el ápice, auriculadas en la base, cafés a negruzcas, ramas del estilo filiformes [22] .

En México se reporta la presencia de 16 especies de este género: *L. aurea*, *L. beckeri*, *L. crocea*, *L. fruticosa*, *L. gentryi*, *L. helianthoides*, *L. macrocephala*, *L. machucana*, *L. palmeri*, *L. podocephala*, *L. ritovegana*, *L. rosei*, *L. seemannii*, *L. squarrosa*, *L. zinniioides*, siendo todas endémicas del territorio mexicano, con excepción de *L. podocephala* y *L. fruticosa* [16].

2.4 *Lasianthaea aurea*

Planta herbácea perenne hasta de 60 cm de alto, a partir de un conjunto de raíces tuberosas. Sus tallos son a menudo varios, simples o ramificados, erectos o ascendentes; hojas opuestas o a veces ternadas, de lámina lanceolada a elíptica, variando a veces a ovada, oblonga o linear, de 2 a 7.5 cm de largo, de 0.8 a 3 cm de ancho, de textura membranácea o cartácea y rasposa en ambas caras. Flores del disco 20 a 40, sus corolas tubulosas, de 6 a 8 mm de largo, amarillas, glabras, anteras cafés, de 2 a 2.5 mm de largo, ramas del estilo con ápices subulados y pubérulos.

Elemento frecuente en pastizales secundarios y claros en medio de bosques de encino en el norte de Michoacán, más escaso en Guanajuato y Querétaro, en alturas de 1750-2650 m. Florece de julio a agosto aunque puede encontrarse en octubre. Sus nombres comunes registrados son: hierba del cangro, plunia, té de llano, árnica, peonía.

Especie endémica del centro de México, reportándose su crecimiento en los estados de Durango, Zacatecas, Aguascalientes, San Luis Potosí, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, México y D.F. [22].

2.4.1 Estudios químicos *Lasianthaea aurea*

En el grupo de trabajo se reporta un estudio químico preliminar realizado a los extractos hexánicos de raíz de *Lasianthaea aurea* colectada en el estado de Michoacán, donde se describe el aislamiento del ácido kaurenoico (**1**) como compuesto mayoritario y ácido periménico (**2**) en menor proporción (**Figura 2**) [23].

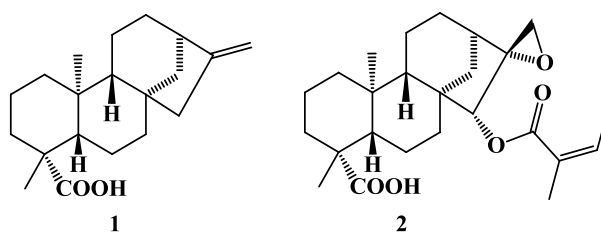


Figura 2. Diterpenos de *Lasianthaea aurea*

En un estudio posterior realizado por el grupo de trabajo se reporta el aislamiento, en extracto hexánico de raíz de *L. aurea*, de los compuestos ácido periménico (**2**), ácido grandiflorénico (**3**), α -pineno (**4**), kaurenal (**5**), ácido *ent*-3 α -angeloil-kaur-16-en-19-oico (**6**) y ácido angelolilgrandiflórico (**7**), así como una estructura novedosa el ácido *ent*-3 α -isobutiroiloxi-kaur-16-en-19-oico (**8**) y la preparación del derivado *ent*-kaur-16-en-19-ato de metilo (**9**) (**Figura 3**).

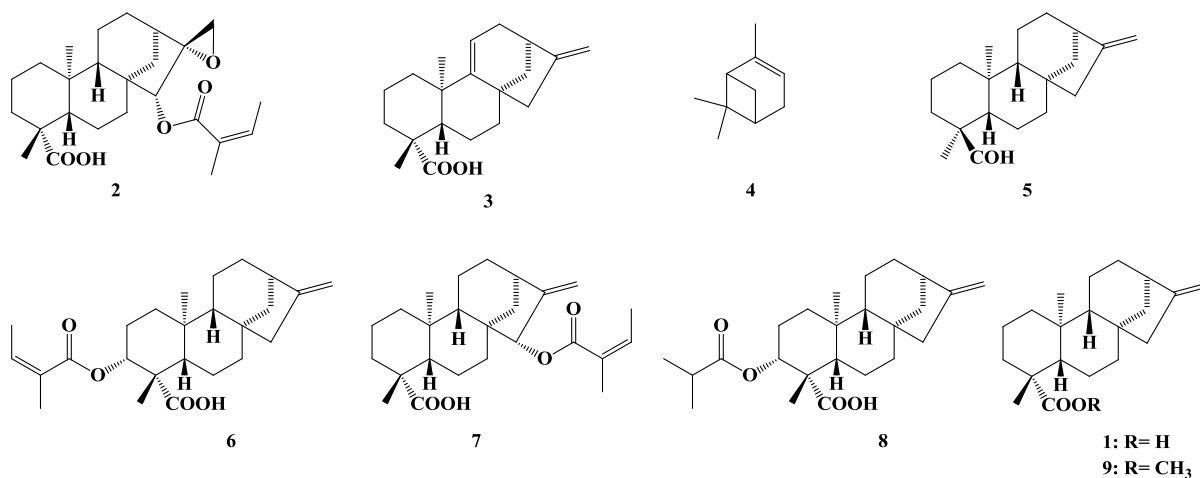


Figura 3. Compuestos aislados de raíz de *Lasianthaea aurea*

De los extractos de flor, tallo y hoja identificaron a los fitoesteroles estigmasterol (**10**) y β -sitoesterol (**11**). Del estudio de extractos de hoja identificaron a los triterpeno α -amirina (**12**), β -amirina (**13**) y lupeol (**14**). De todos los órganos de la planta obtuvieron al ácido kaurenoico (**1**) (**Figura 4**).

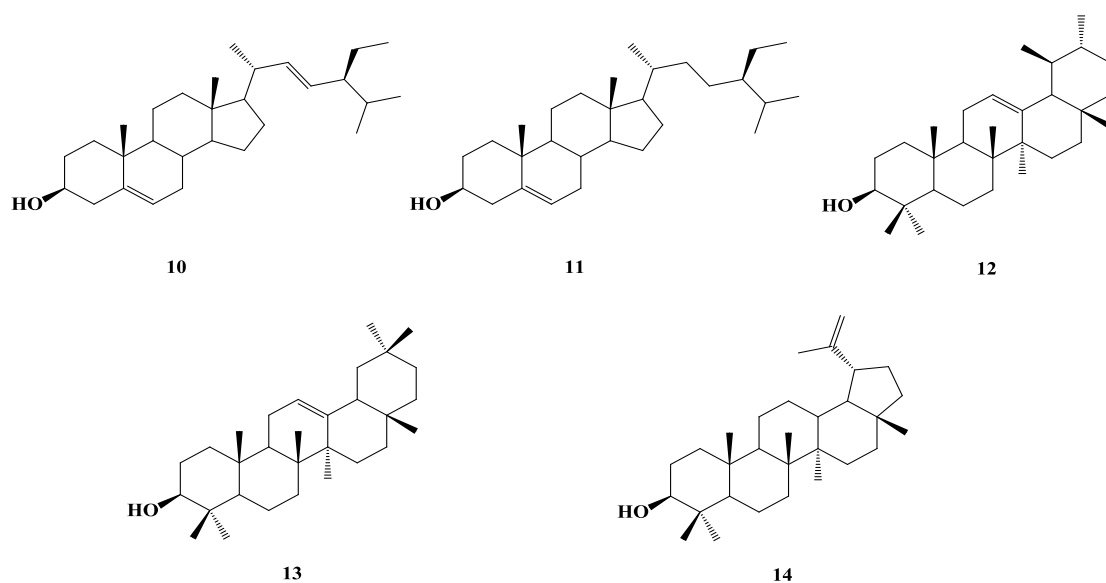


Figura 4. Compuestos de partes aéreas de *Lasianthaea aurea*

Sesquiterpenos

En el grupo de trabajo se reportó el aislamiento de dos sesquiterpenos conocidos como curcumeno (**15**) y podocefalol (**16**), además de la preparación del derivado acetilado del podocefalol (**17**) (**Figura 5**) [24].

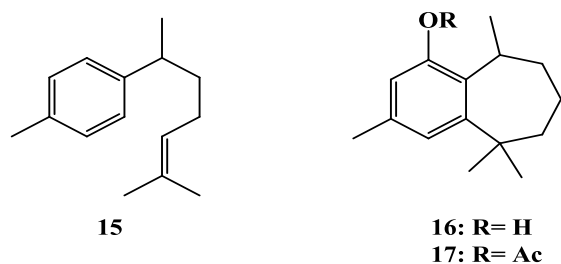


Figura 5. Sesquiterpenos de *Lasianthaea aurea*

2.5 Curcumeno

Sesquiterpeno monocíclico constituyente de un gran número de aceites esenciales y que fue aislado por primera vez en 1926 del aceite esencial obtenido de los rizomas de *Curcuma aromatica* [25] y posteriormente en 1965 fue confirmada la configuración absoluta del (-)-*ar*-curcumeno como (*S*) a través de su síntesis química [26]. Actualmente ambos enantiómeros (*R*)-*ar*-curcumeno (**18**) y (*S*)-*ar*-curcumeno (**19**) se han encontrado en la naturaleza (**Figura 6**) [27].

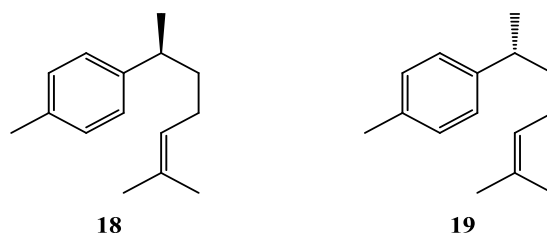


Figura 6. Enantiómeros (*R*)-*ar*-curcumeno y (*S*)-*ar*-curcumeno

2.5.1 Actividad biológica del curcumeno

Aislados de diversas fuentes naturales, los sesquiterpenos de bisaboleno son una clase importante de compuestos que muestran una amplia gama de actividades biológicas que varían con la estereoquímica. Entre los sesquiterpenoides bisabolénicos, se encuentra el curcumeno, del cual se tienen reportes sobre su actividad biológica [28].

Un estudio sobre feromonas de atracción sexual producidas por las Chinche de los hombros rojos (*Thyanta pallidovirens*), en el cual realizaron una separación de los componentes que conforman a la feromona lograron el aislamiento del (*S*)-*ar*-curcumeno siendo uno de los componentes principales y contribuyendo a la actividad de esta feromona [29].

El curcumeno también presenta actividad inhibitoria de la acetilcolinesterasa (AChE), esto fue comprobado en un estudio en el cual se evaluó la inhibición de AChE por parte de varios sesquiterpenoides de tipo bisaboleno entre los que se encontraba el (*S*)-*ar*-curcumeno. Cabe mencionar que aunque el curcumeno presentó actividad esta fue menor que la presentada por los bisabolenos con mayor grado de oxidación (cetonas, alcoholes) [30].

Investigaciones realizadas con el (*R*)-*ar*-curcumeno aislado del tomate silvestre (*Solanum habrochaites*) mostraron que este compuesto posee la propiedad de repeler a las moscas blancas (*Bemisia tabaci*); esta propiedad no fue presentada por el enantiómero (*S*)-*ar*-curcumeno, aislado del jengibre, que fue evaluado durante el mismo estudio [31].

En un estudio llevado a cabo para evaluar la toxicidad que presentan los componentes mayoritarios del aceite esencial de *Hedychium larsenii* contra los mosquitos vectores de malaria, chinkungunya y encefalitis de San Luis, encontraron que el curcumeno presenta alta toxicidad en las larvas de los mosquitos *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus*; además de tener efectos inhibidores de la ovoposición en las tres especies de mosquito. Adicionalmente, el curcumeno presentó una baja toxicidad para los biocontroles, por lo que se puede tener como un posible candidato para el desarrollo de nuevos métodos de control de mosquitos vectores [32].

En la evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro* del curcumeno, observaron que las cepas fúngicas son más sensibles al curcumeno que las bacterianas con mejor eficacia para cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida albicans*. En este mismo estudio evaluaron el posible sinergismo del curcumeno con diferentes antibióticos frente diversos microorganismos, al ser combinado el curcumeno con el imipenem presentó un sinergismo frente a *Enterobacter cloacae* [33].

Otros estudios realizados al curcumeno demostraron que este compuesto induce la apoptosis en células SiHa cancerosas de ovario humano y que esto se da por la vía mitocondrial activando la caspasa-3 [34].

Considerando que el curcumeno aislado de *Lasianthaea aurea* a la fecha no h sido asignado el espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno y que representa un buen modelo para explorar estas metodologías, en el presente trabajo se realizó este estudio.

3. JUSTIFICACIÓN

El curcumeno es un sesquiterpeno constituyente de un gran número de aceites esenciales y presentan diversos reportes de actividad biológica; sin embargo, en la literatura no se encuentran reportes de asignación completa de espectro de RMN de ^1H , por lo cual es interesante realizar una asignación total de dicho espectro, mediante el uso de softwares de adquisición libre que permitan validar dichos resultados.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Asignar el espectro total de RMN de ^1H del curcumeno presente en el extracto hexánico de raíz de *Lasianthaea aurea*.

4.2 Objetivos Específicos

Aislar el curcumeno de la raíz de *Lasianthaea aurea*

Determinar el espectro de RMN ^1H a 400 MHz

Simular el espectro de RMN de ^1H con los programas WINDNMR-PRO y MestReNova.

Comparar los espectros experimentales y teóricos

5. DISCUSIÓN Y RESULTADOS

5.1 Obtención del extracto hexánico

La colecta de la especie vegetal *Lasianthaea aurea*, se realizó el 26 de Julio del 2017 en la región de Altozano en Morelia Michoacán. La planta colectada, se dejó secar extendida a la sombra, para su posterior separación en sus distintas partes: flor, hoja, tallo y raíz.

La raíz seca y triturada se maceró con hexano a temperatura ambiente por cinco días, se filtró y se evaporó el disolvente en rotavapor para obtener el extracto, este proceso se realizó en tres ocasiones consecutivas utilizando el mismo disolvente, obteniendo un total de extracto hexánico de 140 g color amarillo y de textura viscosa.

5.2 Obtención del curcumeno

Un lote de 70 g de extracto hexánico de raíz fue sometido a columna cromatográfica, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y como eluyente hexanos y mezclas hexanos-AcOEt en orden ascendente de polaridad, la columna fue monitoreada por cromatografía en capa fina utilizando el mismo sistema de disolventes.

Después de varios procesos de recromatografía en columna y de una cromatografía en placa preparativa eluída con hexano, se obtuvo un líquido viscoso incoloro, en cuyo espectro de RMN de ^1H (**Figura 7**). En δ 7.08 se observa una señal múltiple característica de hidrógenos aromáticos que integra para cuatro (H-1, H-2, H-4, H-5), una señal triple de triples que corresponde a un hidrógeno vinílico H-10 ($J = 7.0, 1.5$ Hz) se presenta en δ 5.09, en δ 2.65 una señal séxtuple asignada a H-7 ($J = 7.0$ Hz), una señal simple se encuentra en δ 2.31 que integra para tres hidrógenos del CH_3 -15 aromático, en δ 1.87 una señal múltiple y en δ 1.58 otra señal múltiple que integran cada una para dos hidrógenos asignadas a los metilenos CH_2 -9 y CH_2 -8 respectivamente, en δ 1.67 (CH_3 -12) y δ 1.52 (CH_3 -13) se encuentran dos señales simples que corresponden a los metilos geminales, y el metilo secundario (CH_3 -14) se observa como una señal doble en δ 1.21 ($J = 7.0$).

En su espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 8**) se observan las señales del anillo aromático en δ 144.62 (C-6), δ 135.12 (C-3), en δ 128.93 se encuentran traslapadas las señales (CH-2, CH-4), de igual forma en δ 126.87 se traslapan las señales (CH-1, CH-5), los carbonos vinílicos C-11 y C-10 aparecen en δ 131.35 y δ 124.54 respectivamente, el metilo CH-7 aparece en δ 38.99, los carbonos de los metilenos de la cadena alifática se ubican en δ 38.44 (CH₂-8) y δ 26.16 (CH₂-9), en δ 25.71 y δ 17.66 aparecen los metilos geminales CH₃-12 y CH₃-13, la señal en δ 22.47 se asigna al metilo secundario CH₃-14, y la señal del metilo aromático CH₃-15 se observa en δ 20.98. Los datos de RMN de ^1H y ^{13}C fueron comparados con los encontrados en la literatura (**Tabla 1**) y corresponden a un sesquiterpeno aromático conocido como curcumeno (**15**).

Tabla 1. Desplazamientos de RMN del curcumeno (**15**)

Posición	RMN ^1H		RMN ^{13}C	
	δ Experimental	δ Literatura [35]	δ Experimental	δ Literatura [35]
1	7.08	m 7.08	126.87	126.95
2	7.08	m 7.08	128.93	129.00
3	-	-	135.12	135.20
4	7.08	m 7.08	128.93	129.00
5	7.08	m 7.08	126.87	126.95
6	-	-	144.62	144.72
7	2.65	s 2.65	38.99	39.07
8	1.58	m 1.58	38.44	38.52
9	1.87	m 1.87	26.16	26.23
10	5.09	m 5.08	124.54	124.63
11	-	-	131.35	131.43
12	1.67	s 1.67	25.71	25.77
13	1.52	s 1.52	17.66	17.73
14	1.21	d 1.21	22.47	22.53
15	2.31	s 2.32	20.98	21.05

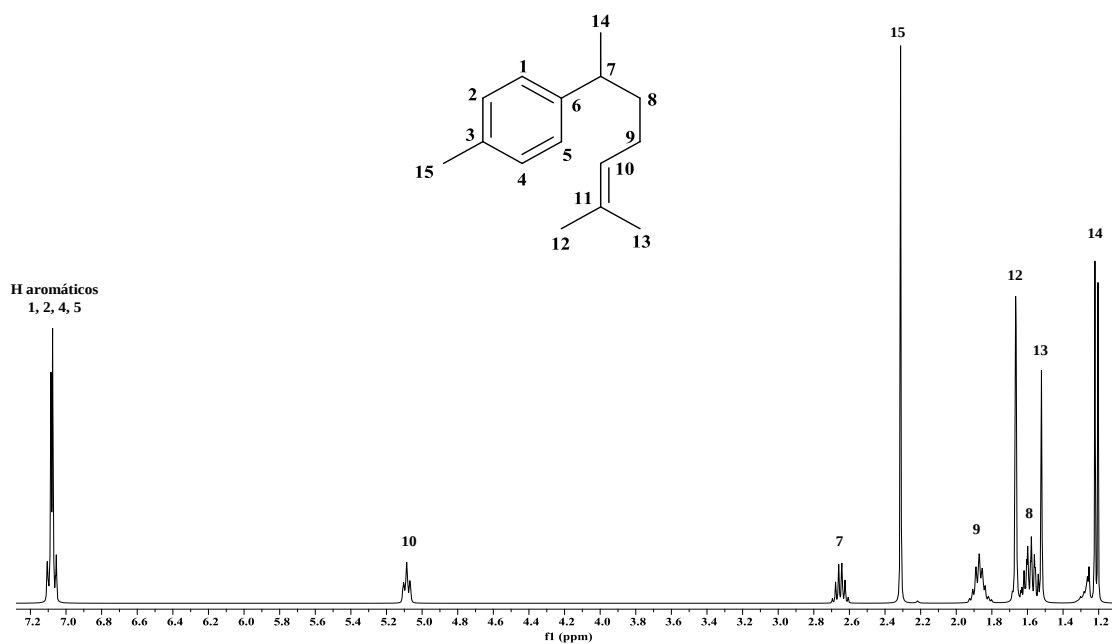


Figura 7. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del curcumeno (15) en CDCl_3

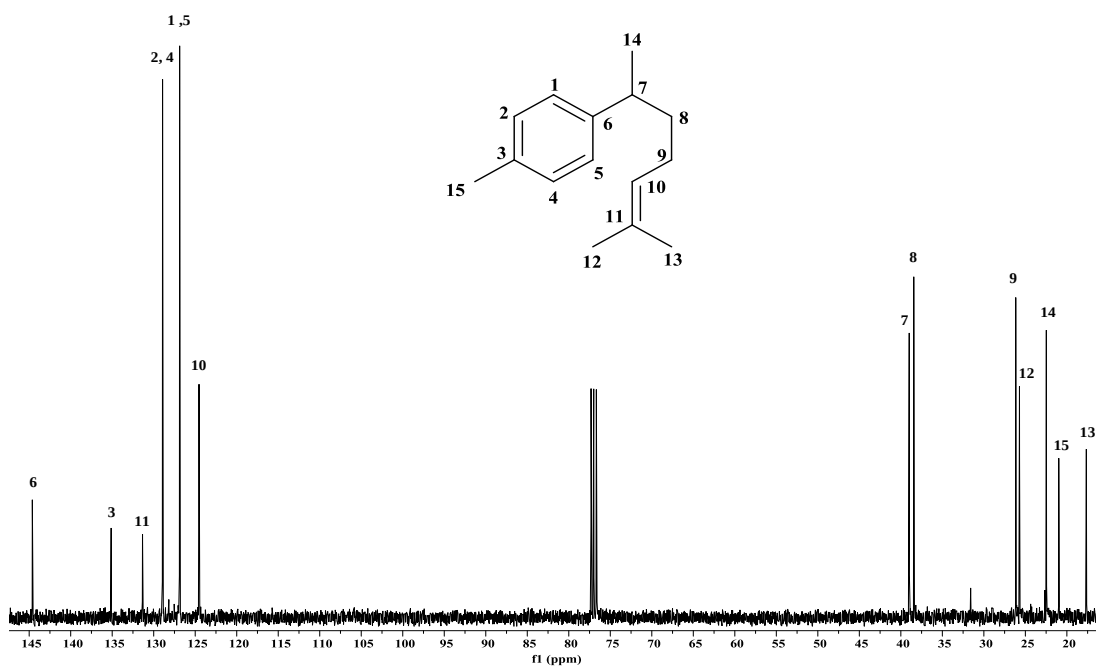


Figura 8. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del curcumeno (15) en CDCl_3

5.3 Análisis completo de spin de ^1H RMN

En los datos de RMN ^1H reportados en la literatura se encuentran varias señales descritas como señales múltiples. Con el fin de realizar la asignación total del espectro de RMN de ^1H del curcumeno (**15**) y haciendo uso de los métodos computacionales, se realizó un análisis completo de spin utilizando los software MestReNova, herramienta con las cuales se obtuvieron los datos experimentales correspondientes a desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento del espectro del curcumeno (**15**). Estos datos fueron utilizados para realizar simulaciones de spin mediante el software WINDNMR-PRO (DNMR71.EXE) un programa de libre acceso, con la finalidad de corroborar y rectificar la asignación de señales en el espectro de RMN de ^1H del curcumeno.

Utilizando los valores experimentales obtenidos se procedió a simular las señales del espectro de manera individual, comenzando con la correspondiente a los hidrógenos aromáticos, la cual es descrita en la literatura como una señal múltiple, que al ser analizada con más detalle y posteriormente simulada por medio de software, se observa que se tiene dos señales dobles anchas (**Figura 9**), en 7.09 y 7.06 ppm con valores para la constante de acoplamiento $J = 8.4$ Hz, las señales correspondientes a los hidrógenos aromáticos H-2, H-4 y H-1, H-5 respectivamente.

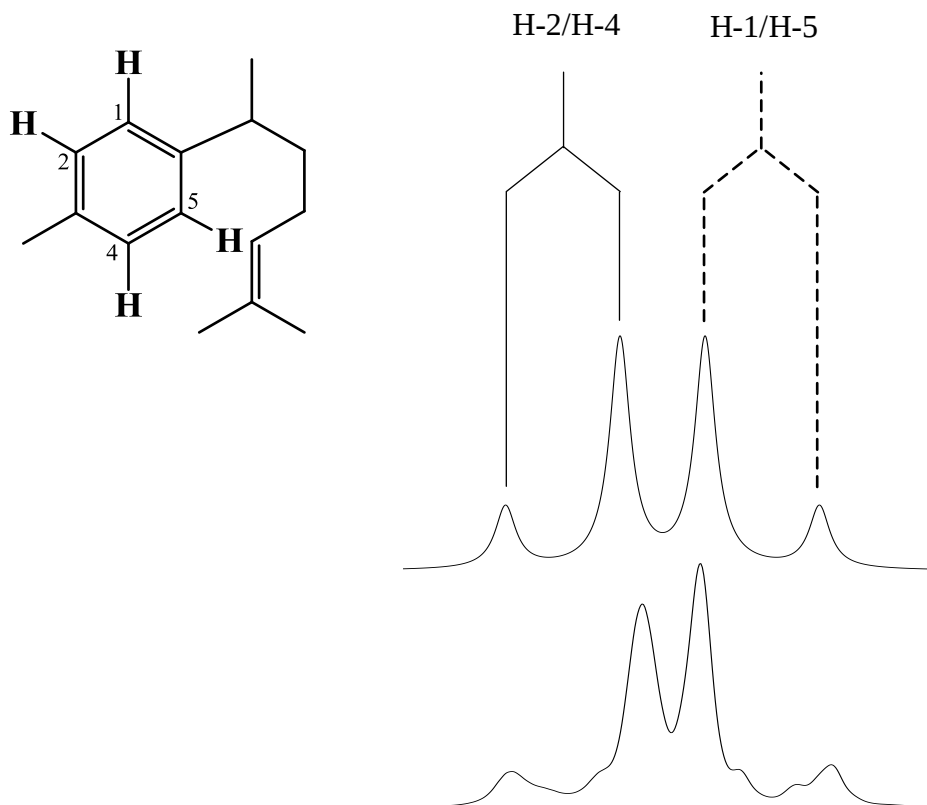


Figura 9. Señal experimental (trazo inferior) y simulada (trazo superior) para H-2, H-4 y H-1, H-5.

Continuando con la simulación se realizó la asignación del hidrógeno vinílico H-10, cuya señal se observa en 5.09 ppm. A partir del análisis de los datos experimentales y su ambiente químico se puede apreciar acoplamiento del hidrógeno H-10 con los hidrógenos H-9 y H-9 teniendo un valor de $J = 7.1$ Hz, además de interacción con los hidrógenos de los metilos CH₃-12 y CH₃-13 con valores de $J = 1.5$ Hz, obteniendo al realizar la simulación con dichos datos una señal triple de séptuples, muy similar a la experimental (**Figura 10**).

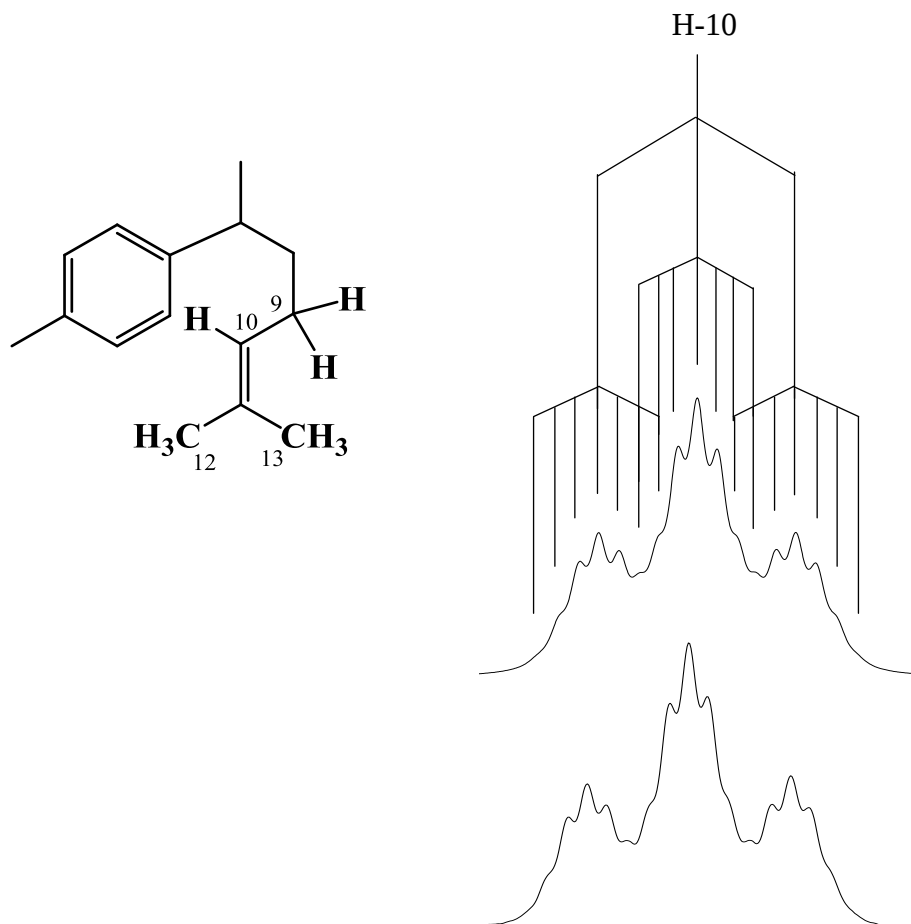


Figura 10. Señal experimental (trazo inferior) y simulada (trazo superior) para H-10

Para asignar la señal observada en 1.87 ppm, que la literatura describe como múltiple, se partió de la idea de que en dicha señal se encontraban traslapadas dos señales correspondientes a los hidrógenos H-8 y H-8', dada la cercanía con el centro estereogénico. El sistema utilizado para simular la señal a partir del análisis de la molécula y sus datos experimentales, fue el de dos señales dobles de dobles de dobles de dobles (dddd), que se traslapan ligeramente, en las cuales se toman en cuenta acoplamiento de los hidrógenos H-8 y H-8' con el hidrógeno H-7 teniendo una $J = 7.0$ Hz, con los hidrógenos H-9 y H-9' con un valor de $J = 7.0$ Hz, además de una interacción entre estos hidrógenos geminales H-8 y H-8' con una $J = 7.0$ Hz. Con el uso de estos datos fue posible simular las señales traslapadas de los hidrógenos H-8 y H-8' las cuales se encuentran en 1.81 y 1.86 ppm respectivamente (**Figura 11**).

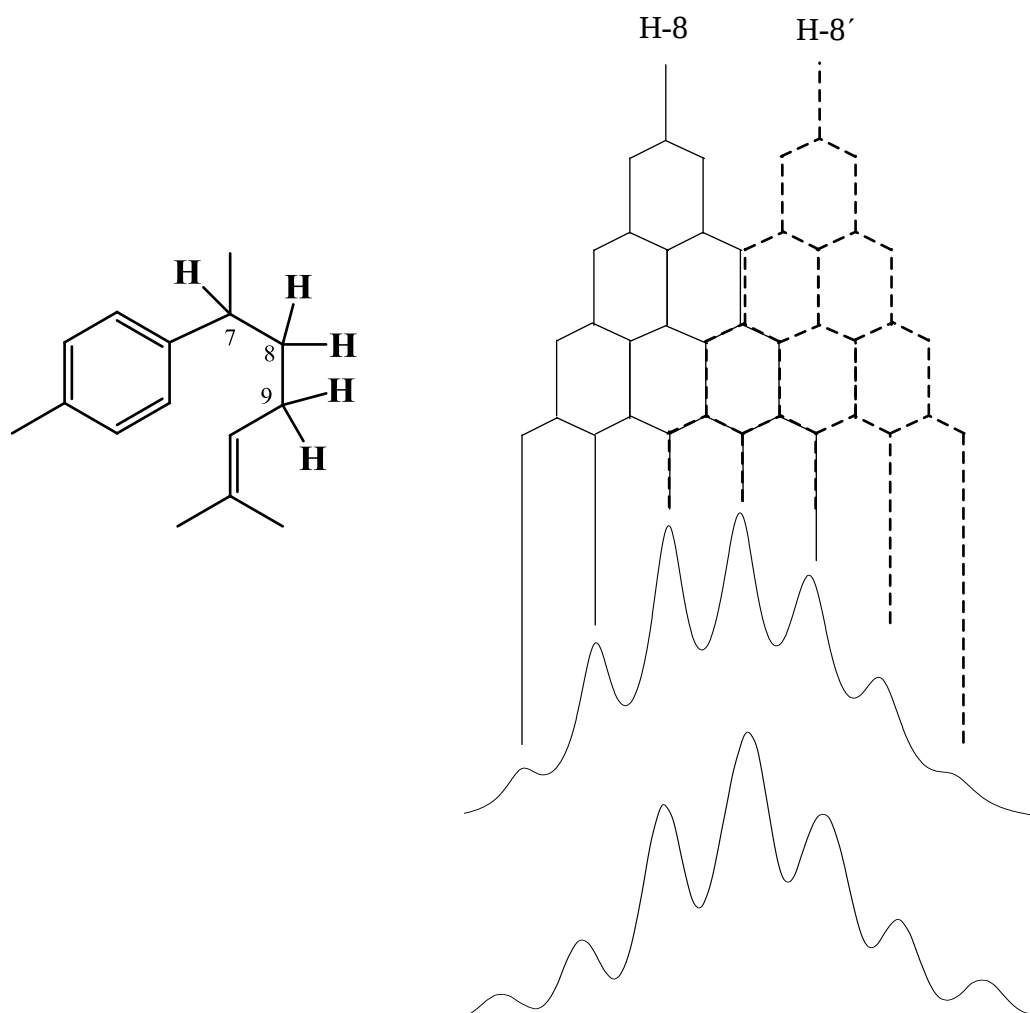


Figura 11. Señal experimental (trazo inferior) y simulada (trazo superior) para H-8, H-8'

Posteriormente se continuó con las señales de los hidrógenos H-9 y H-9'. Al analizar el ambiente químico de la molécula se inició el análisis utilizando un sistema de dos señales traslapadas en el cual se consideran interacciones con el hidrógeno H-10 con una $J = 7.0$ Hz, con los hidrógenos H-8 y H-8' teniendo valores de $J = 7.0$ Hz y finalmente una interacción entre los hidrógenos geminales H-9 y H-9' $J = 7.0$ Hz. Tomando en cuenta la posibilidad de tener una constante de acoplamiento de tipo alílica, la cual se da con hidrógenos separados por 4 enlaces [36], se decidió tomar en cuenta un acoplamiento con respecto al metino CH-7 con un valor de $J = 1.35$ Hz. El uso de este sistema llevó a la

obtención de dos señales quintuples de dobles traslapadas que se encuentran en 1.59 y 1.56 ppm correspondientes a los hidrógenos H-9 y H-9' (**Figura 12**).

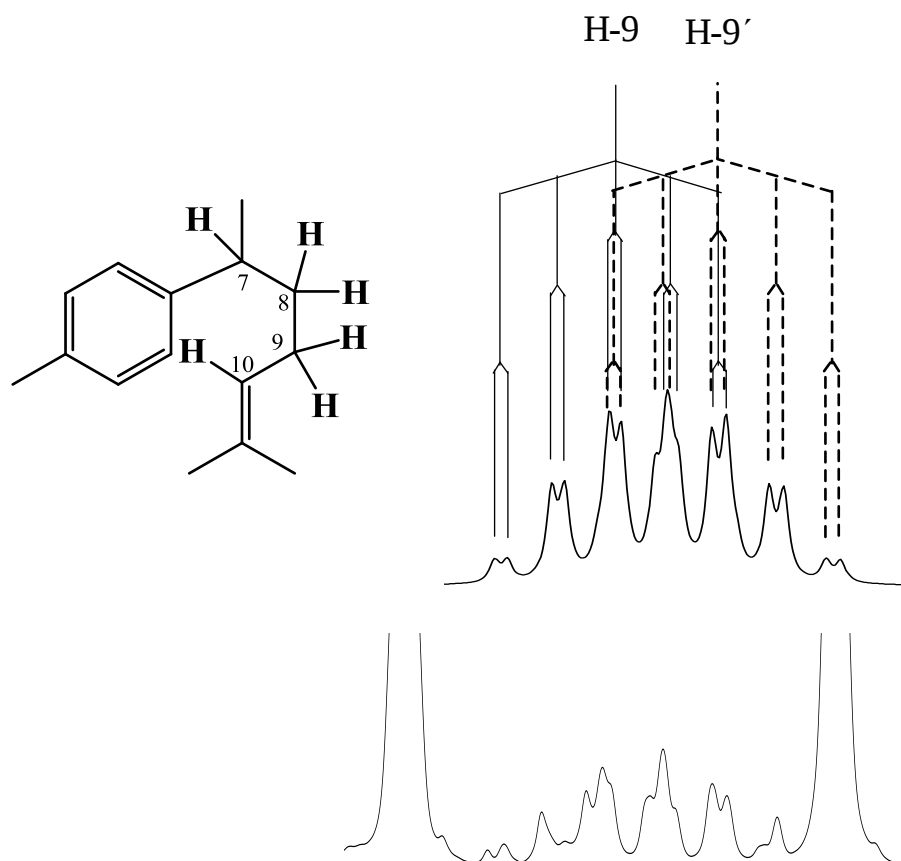


Figura 12. Señal experimental (trazo inferior) y simulada (trazo superior) para H-9 y H-9'

Los sistemas de acoplamiento a larga distancia fueron establecidos a partir de los valores de los valores experimentales y de los ángulos diedros calculados para H7-C7-C9-H9 y H7-C7-C9-H9' empleando el programa Spartan'04. Un modelo del sesquiterpeno **15** fue generado en el programa Spartan '04, cuyo análisis conformacional fue realizado mediante el protocolo MonteCarlo. De este proceso, se obtuvieron 37 confórmeros con un rango de 0-5 kcal/mol. Un corte en el rango de 0-3 kcal/mol permitió optimizar la energía de 27 confórmeros mediante el Teoría de Funcionales de la Densidad con el funcional

B3LYP, y un nivel de teoría 6-31G**. Tras este proceso, los ángulos diedros H7-C7-C9-H9 y H7-C7-C9-H9' fueron medidos, arrojando valores de 30.7° y 2.1°, los cuales sugieren conformaciones tipo “W” (**Figura 13**), que favorecen valores de acoplamiento cercanos a 1.3 Hz [36], lo cual concuerda con los resultados experimentales.

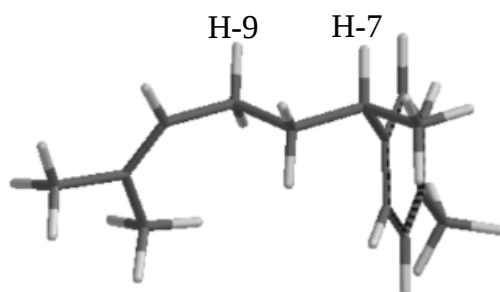


Figura 13. Confórmero representativo con acoplamiento “W” de H-9/H-7.

Con la finalidad de hacer una simulación del espectro total de RMN de ^1H de **15** y compararlo con el espectro de RMN de ^1H experimental, se procedió a utilizar el software MestReNova, utilizando los datos obtenidos con WINDNMR-PRO (DNMR71.EXE) y los desplazamientos químicos experimentales, (**Figura 14**), corroborando así la asignación total e inequívoca del espectro de RMN de ^1H del curcumeno (**Tabla 2, Figura 15**).

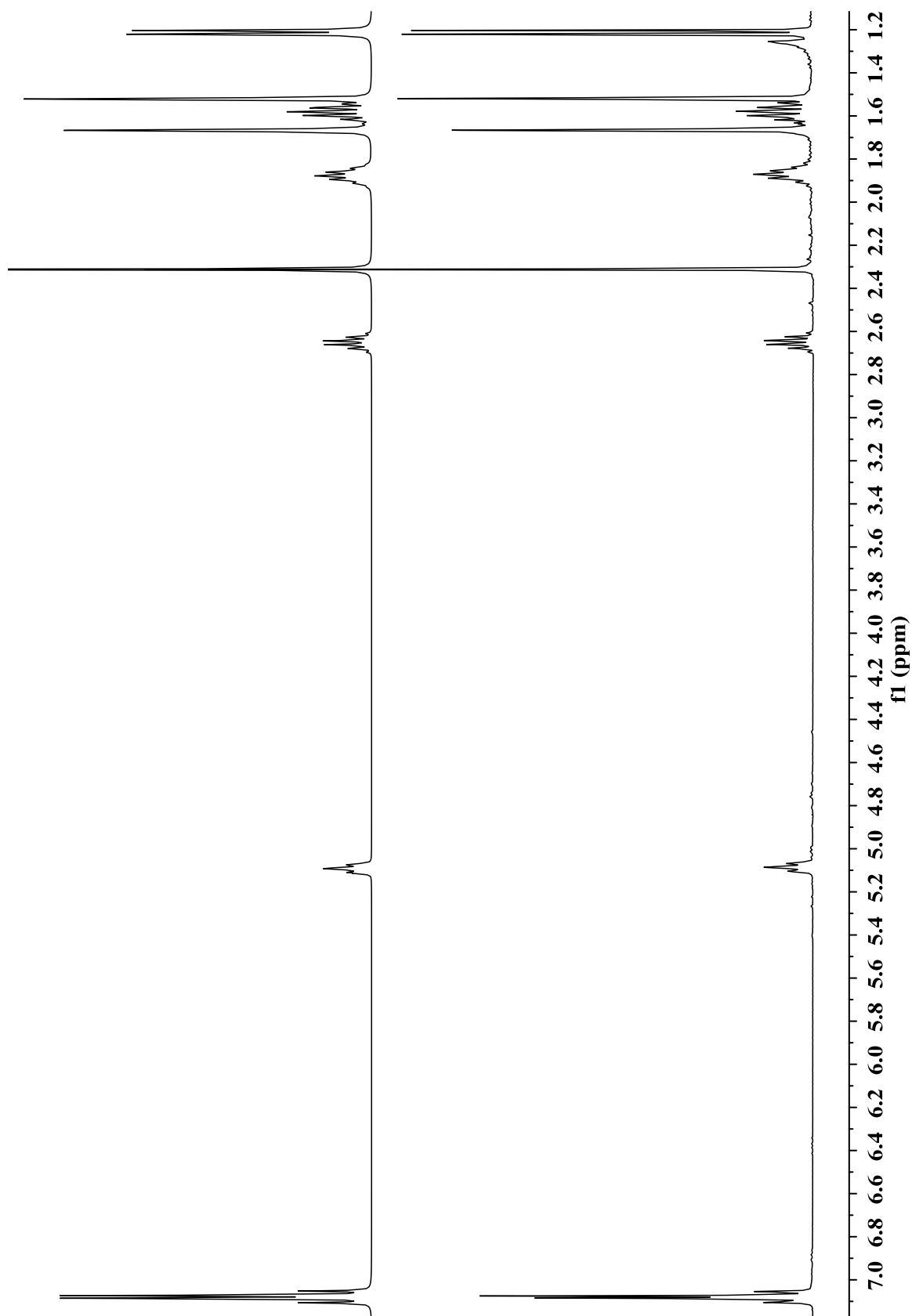
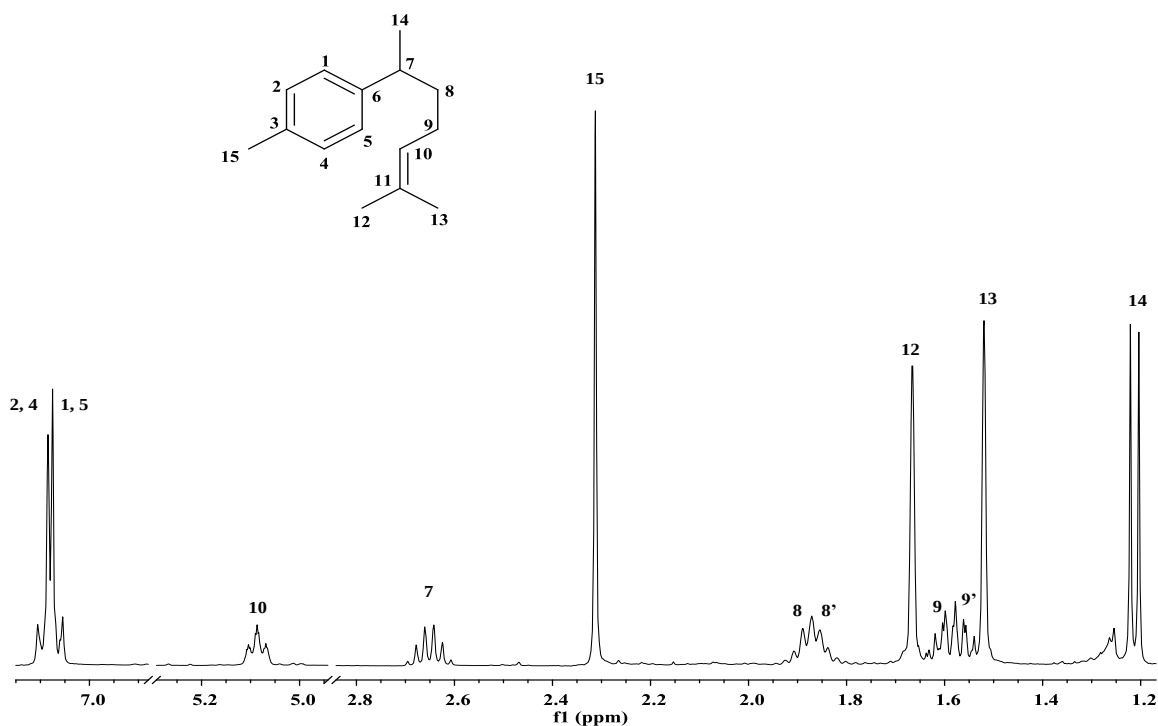


Figura 14. Espectro de RMN de ^1H del curcumeno (15) a 400 MHz en CDCl_3 experimental (abajo) y simulado (arriba)

Tabla 2. Asignación total del espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del Curcumeno (**15**) en CCl_3

^1H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
2,4	7.09	da	$^3J_{2,1} = ^3J_{4,5} = 8.4$
1,5	7.06	da	$^3J_{1,2} = ^3J_{5,4} = 8.4$
7	2.65	sext	$^3J_{7,14} = ^3J_{7,8} = ^3J_{7,8'} = 7.0$
8	1.86	dddd	$^3J_{8,7} = ^2J_{8,8'} = ^3J_{8,9} = ^3J_{8,9'} = 7.0$
8'	1.81	dddd	$^3J_{8',7} = ^2J_{8',8} = ^3J_{8',9} = ^3J_{8',9'} = 7.0$
9	1.59	qd	$^3J_{9,8} = ^3J_{9,8'} = ^2J_{9,9'} = ^3J_{9,10} = 7.0$ $^4J_{9,7} = 1.35$
9'	1.56	qd	$^3J_{9',8} = ^3J_{9',8'} = ^2J_{9',9} = ^3J_{9',10} = 7.0$ $^4J_{9',7} = 1.35$
10	5.09	tsept	$^3J_{10,9} = ^3J_{10,9'} = 7.0$ $^4J_{10,12} = ^4J_{10,13} = 1.5$
12 (3H)	1.67	s	$^5J_{12,9} = 1.35, ^4J_{12,10} = 1.5$
13 (3H)	1.52	s	$^5J_{13,9'} = 1.35, ^4J_{13,10} = 1.5$
14 (3H)	1.21	d	$^3J_{14,7} = 7.0$
15 (3H)	2.31	s	

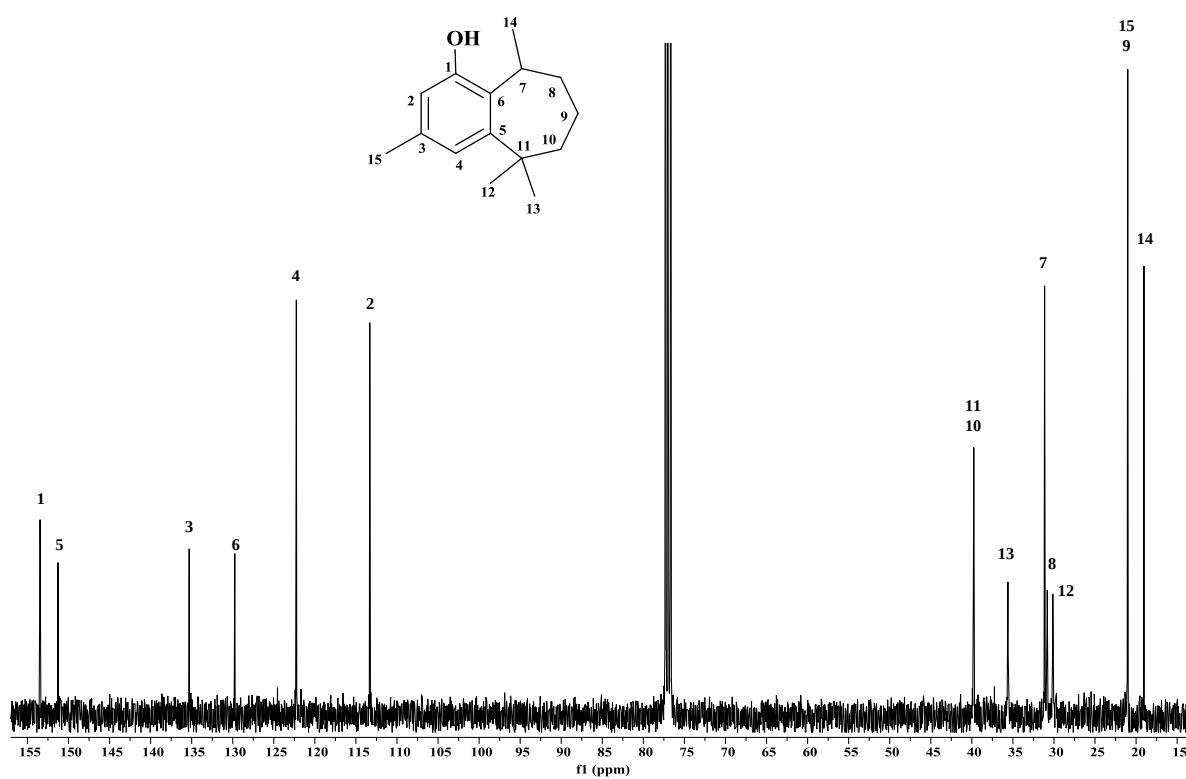
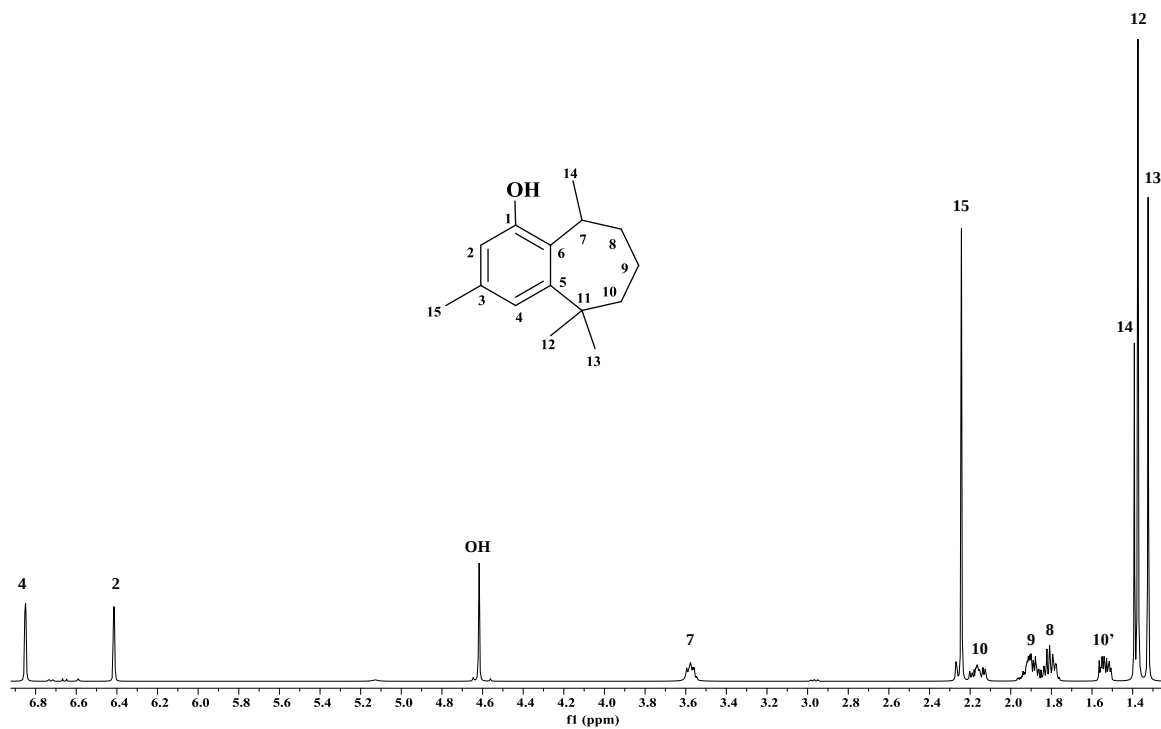
**Figura 15.** Asignación total del espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del Curcumeno (**15**) en CCl_3

Durante el estudio fotoquímico del extracto hexánico de raíz de *Lasianthaea aurea* se obtuvieron después de una recromatografía en columna eluída con polaridad 8:2 hexano-CH₂Cl₂, cristales de color ligeramente amarillo con punto de fusión de 48- 50 °C. En su espectro de RMN de ¹H (**Figura 16**) en la región de los protones aromáticos se observan dos señales múltiples en δ 6.85 y δ 6.41 que son asignadas a H-4 y H-2 respectivamente, en δ 4.66 se muestra una señal simple que es asignada al hidrógeno del hidroxilo, una señal múltiple en δ 3.58 es asignada al hidrógeno H-7 base de metilo secundario, a frecuencias menores se observa una señal simple ancha en δ 2.24 para los hidrógenos de un metilo aromático (CH₃-15), en δ 1.39 se muestra una señal doble que corresponde a los hidrógenos del metilo CH₃-14 ($J = 7.12$ Hz) y los metilos geminales CH₃-13 y CH₃-12 se encuentran en δ 1.37 y δ 1.32. Las señales para los hidrógenos H-2 y H-4 se observan como señales simples anchas; aunque se esperaba observar dos señales dobles con un acoplamiento *meta*, de acuerdo con la estructura molecular. Muy posiblemente existan acoplamientos a larga distancia de los hidrógenos aromáticos con el CH₃-15. Experimentos de irradiación de la señal simple ancha del metilo CH₃-15 en 2.24 ppm, permitió ver las dos señales en 6.85 (H-4) y 6.41 (H-2) como señales dobles con $J = 1.9$ Hz, confirmado la posición *meta* de los hidrógenos H-2 y H-4 [37].

En su espectro de RMN de ¹³C (**Figura 17**) se muestran un total de 15 señales, lo que indica la presencia de un sesquiterpeno, destacando las señales observadas en δ 153.47 señal que corresponde al carbono base de alcohol C-1, los metinos aromáticos CH-4 en δ 122.25 y CH-2 en δ 113.31, en δ 30.14 y δ 35.61 se encuentran los metilos geminales CH₃-12 y CH₃-13 respectivamente y la señal del metilo secundario CH₃-14 en δ 19.05. Estos corresponden a los encontrados en la literatura para el sesquiterpeno podocefalol (**16**).

Tabla 3. Desplazamientos de RMN ^1H del podocefalol (**16**)

H	RMN ^1H	
	δ Experimental	δ Literatura [38]
2	m 6.41	s 6.42
4	m 6.85	s 6.85
7	s 3.58	m 3.59
8	m 1.81	m 1.50-2.50
9	m 1.89	
10	m 2.16 10	
	m 1.53 10'	
12	s 1.32	s 1.33
13	s 1.37	s 1.38
14	d 1.39 ($J = 7.12 \text{ Hz}$)	d 1.40
15	s 2.24	s 2.25
OH	s 4.66	s 4.61



6. CONCLUSIONES

El estudio fitoquímico de la raíz de *Lasianthaea aurea* permitió el aislamiento e identificación del curcumeno (**15**) y podocefalol (**16**). Se realizó por primera vez la asignación total del espectro de RMN de ^1H del curcumeno (**15**) mediante la simulación de su espectro por métodos computacionales.

7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1 Materia vegetal

La colecta de la especie vegetal *Lasianthaea aurea*, se realizó el 26 de Julio del 2017 en la región de Altozano en Morelia Michoacán. La planta colectada, se dejó secar extendida a la sombra, para su posterior separación en sus distintas partes: flor, hoja, tallo y raíz.

7.2 Obtención de extractos

La raíz una vez seca y triturada se maceró con hexanos a temperatura ambiente por cinco días, se filtró y se evaporó el disolvente en rotavapor, para obtener el extracto, este proceso se fue repetido en tres ocasiones consecutivas con el mismo disolvente, obteniendo un total de extracto hexánico de 140 g color amarillo y de textura viscosa.

7.3 Análisis espectroscópico y físico

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H a 400 MHz y de ^{13}C a 100 MHz se midieron en un equipo Varian Mercury Plus 400. Se utilizó como disolvente deuterocloroformo (CDCl_3) y como referencia interna el tetrametilsilano (TMS). Los espectros fueron procesados empleando el programa MestReNova.

El punto de fusión se determinó en un aparato Fisher-Scientific y no está corregido.

La rotación específica fue determinada en solución clorofórmica en un polarímetro marca Perkin-Elmer 341.

El espectro de masa fue determinado en un Cromatografo de Gases (CG) marca Thermo Scientific, modelo trace 1310 acoplado a un Espectrómetro de Masas (EM) marca Thermo Scientific, modelo ISQ LT.

El espectro de IR se determinó en un espectrofotómetro BUCK 500, utilizando solución clorofórmica. Los datos se expresan en números de onda (ν) cm^{-1} , para los máximos principales de absorción.

7.4 Estudio químico

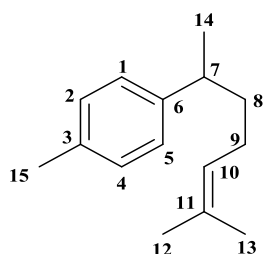
La separación de los compuestos se realizó mediante columna cromatográfica de vidrio con diámetro de 4 cm, utilizando gel de sílice de malla 230-400 marca Merck, con una altura de 12 cm como fase estacionaria y como fase móvil mezclas de hexanos-acetato de etilo y hexanos- CH_2Cl_2 en orden de polaridad creciente, colectando fracciones de 10, 5, 3 y 1 mL. La cromatografía de columna fue monitoreada por la cromatografía en capa fina. Placas preparativas sílica gel 60 F254 0.5 mm de la marca Merck de 10 cm de alto y 20 cm de ancho usando hexano como eluyente.

7.5 Simulación de Spin y conformacional

Las simulaciones de spin para las señales individuales se realizaron con el software WINDNMR-PRO (DNMR71.EXE). Para la simulación del espectro completo se utilizó el complemento de simulación de spin incluido en el software MestReNova. Para el cálculo de conformeros fue utilizado el software Spartan '04.

Metodología

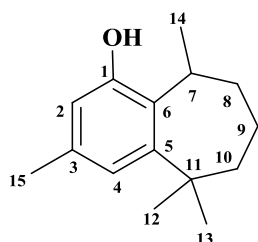
- Obtención del espectro experimental del **15** aislado de raíz de *L. aurea*.
- Procesamiento del espectro experimental para determinar los desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento experimentales.
- Los datos experimentales son aplicados al software WINDNMR-PRO para simular el sistema de spins correspondiente a cada señal y porción de la molécula. Obteniendo así las señales simuladas.
- Los datos experimentales obtenidos del procesamiento del espectro y calculados a partir de simulaciones y medición de ángulos diedros de algunas secciones de la molécula fueron utilizados para simular el espectro completo a partir de un sistema de 13 spins en el software MestReNova.

Curcumeno (15)

Líquido viscoso incoloro

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3), Ver Tabla 2.

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ 144.62 (C, C-6), 135.12 (C, C-3), 131.35 (C, C-11), 128.93 (CH, C-2 y C-4), 126.87 (CH, C-1 y C-5), 124.54 (CH, C-10), 38.99 (CH, C-7), 38.44 (CH_2 , C-8), 26.16 (CH_2 , C-9), 25.71 (CH_3 , C-12), 22.47 (CH_3 , C-14), 20.98 (CH_3 , C-15), 17.66 (CH_3 , C-13).

Podocefalol (16)

Cristales color amarillo.

Punto de fusión: 48 – 50 °C

$[\alpha]_{589} +19.0$, $[\alpha]_{578} +20.1$, $[\alpha]_{546} +23.9$, $[\alpha]_{436} +56.5$, $[\alpha]_{365} +132.8$ (c 1.07, CHCl_3) a 25 °C; IR (CHCl_3) ν_{max} cm^{-1} : 3590, 2925, 2856.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3), Ver Tabla 3.

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ 153.47 (C, C-1), 151.27 (C, C-5), 135.31 (C, C-3), 129.75 (C, C-6), 122.25 (CH, C-4), 113.31 (CH, C-2), 39.81 (C, C-11), 39.76 (CH_2 , C-10), 35.61 (CH_3 , C-13), 31.14 (CH, C-7), 30.82 (CH_2 , C-8), 30.14 (CH_3 , C-12), 21.01 (CH_3 , C-15), 21.01 (CH_2 , C-9), 19.05 (CH_3 , C-14).

8. BIBLIOGRAFÍA

- 1 McMurry J. Química orgánica. 7th ed. México,D.F.: Cengage Learning ; 2008.
- 2 Joseph-Nathan P, Diaz E. Introducción a la Resonancia Magnética Nuclear. Reimpresión ed. México D.F.: Limusa Wiley; 1980.
- 3 Skoog DA, Holler F, Crouch R. Principios de análisis instrumental. 6th ed. México,D.F.: Cengage Learning ; 2008.
- 4 Joseph-Nathan P. Resonancia Magnética Nuclear de hidrógeno-1 y de Carbono-13. Washington D.C.: Resonancia Magnética Nuclear de la Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Programa Regional de Desarrollo Científico; 1973.
- 5 Quijano L. Instituto de Química UNAM. [Internet]. 2016 [cited 2018 Diciembre 15]. Available from: <https://iquimica.unam.mx/fundamentos-de-1h-y13c>.
- 6 Castillo AM. Elucidación asistida de estructuras a partir de espectros de resonancia magnética nuclear. Tesis presentada para optar al título de: Magister en Ingeniería - Sistemas y Computación. Universidad Nacional de Colombia. 2011.
- 7 Cobas C, Sardina FJ. Nuclear Magnetic Resonance Data Processing. MesRe-C: A Software Package for Desktop Computers. Concepts in Magnetic Resonance. 2003;19A(2):80-96.
- 8 ACD/SpecManager. [Internet]. [cited 2019 enero 20]. Available from: <http://www.acdlabs.com/>.
- 9 Balacco G. SwaN-NMR: A Complete and Expansible NMR Software for the Macintosh. Journal of Chemical Information and Computer Sciences. 1994;34(6):1235-1241.
- 10 Carrillo ER, Lara CB, Ruiz MJM. Hierbas, medicina herbolaria y su impacto en la practica clínica. Médica Sur. 2010;17(3):124-130.
- 11 OMS. Organización Mundial de la Salud. [Internet]. 2018 Available from: www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/.
- 12 Sáenz-Campos D. Medicamentos, plantas medicinales y productos naturales. Fármacos. 2003;16(1,2):13-20.
- 13 Aguilar MH. Medicina herbolaria: Remedios viejos para males nuevos. Horizonte

- Sanitario. 2014;13(3):221-222.
- 14 De la Cruz M. "Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis". México D.F. 1991.
 - 15 Ocampo RA. Domesticación de plantas medicinales en Centroamérica. In: Reunion Tecnica Centroamericana; 1994; Turrialba, Costa Rica.
 - 16 Villaseñor L. Checklist of the native vascular plants of Mexico. Revista Mexicana de Biodiversidad. 2016;87(3):559-902.
 - 17 Esquivel-Gutiérrez ER, Noriega-Cisneros R, Bello-González MA, Saavedra-Molina A, Salgado-Garciglia R. Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas. Biologicas Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 2014;14(1):45-52.
 - 18 Villaseñor JL. Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México. Botanical Sciences. 2018;96(2):332-358.
 - 19 Jansen RK, Palmer JD. A chloroplast DNA inversion marks an ancient evolutionary split in the sunflower family (Asteraceae). Proceedings of the National Academy of Sciences. 1987;84:5818-5822.
 - 20 García-Sánchez CA, Sánchez-González A, Villaseñor JL. La familia Asteraceae en el Parque Nacional los Mármoles, Hidalgo, México. Acta Bótanica Mexicana. 2014 97-116.
 - 21 Rahman AHMM, Alam MS, Khan SK, Ahmed F, Islam AKMR, Rahaman MM. Taxonomic Stuies on the Family Asteraceae (Compositae) of the Rajshahi Division. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. 2008;4(2):134-140.
 - 22 Rzedowski J, Calderón de Rzedowski G, Carrillo-Reyes P. Compositae Tribu Heliantheae II (géneros Lagascea - Zinnia). Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. 2011;172:1-100.
 - 23 Cruz-Corona R. Estudio químico preliminar de raíz de *Lasianthaea aurea*. tesis presentada en la facculdad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 2015.
 - 24 Cruz-Corona R. Elucidación estructural de metabolitos secundarios aislados de *Lasianthaea aurea*. tesis presentada en el Instituto de Investigacones Quimicobiologicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 2018.

- 25 Rao BS, Shintre VP, Simonsen JL. The essential oil from the rhizomes of curcuma aromatica Salisb. Journal of the Indian Institute of Science. 1926;9A(6):133-148.
- 26 Meyers AI, Stoianova D. Shortasymmetric synthesis of (+)- α -curcumene and (+)-xanthorrhizol. The Journal of Organic Chemistry. 1997;62(15):5219-5221.
- 27 Lin W, Jiang-Chun Z, Shi-Kuo L, Fei-Peng L, Zi-Dong G, Min W, Qing-Hua B. Asymmetric synthesis of (*R*)- α -curcumene, (*R*)-4,7-dimethyl-1-tetralone, and their enantiomers via cobalt-catalyzed asymmetric Kumada cross-coupling. Tetrahedron: Asymmetry. 2016;27(1):78-83.
- 28 Kamal A, Malik MS, Shaik AA, Azeeza S. Enantioselective synthesis of (*R*)- and (*S*)-curcumene and curcuphenol: an efficient chemoenzymatic route. Tetrahedron: Asymmetry. 2007;18(21):2547-2553.
- 29 McBrien HL, Millar JG, Rice RE, McElfresh JS, Cullen E, Zalom FG. Sex attractant pheromone of the red-shouldered stink bug *Thyanta pallidovirens*: a pheromone blend with multiple redundant components. Journal of Chemical Ecology. 2002;28(9):1797-1818.
- 30 Fujiwara M, Yagi N, Miyazawa M. Acetylcholinesterase inhibitory activity of volatile oil from *Peltophorum dasyrachis* Kurz ex Bakar (yellow batai) and bisabolene-type sesquiterpenoids. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 2010;61(28):2824-2829.
- 31 Bleeker PM, Diergaarde PJ, Ament K, Schutz S, John B, Dijkink J, Hiemstra H, de Gelder R, de Both MTJ, Sabelis MW, et al. Tomato-produced 7-epizingiberene and *R*-curcumene act as repellents to whiteflies. Phytochemistry. 2011;72:68-73.
- 32 AlShebly MM, AlQahtani FS, Govindarajan M, Gopinath K, Vijayan P, Benelli G. Toxicity of α -curcumene and epi-B-bisabolol from *Hedychium larsenii* (Zingiberaceae) essential oil on malaria, chikungunya and St. Louis encephalitis mosquito vectors. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2017;137:149-157.
- 33 Narjara Santos da Silva G, Pozzatti, Rigatti, Hörner R, Alves, Mallmann, Heinzmann. Antimicrobial Evaluation Of Sesquiterpene α -Curcumene and Its Synergism With Imipenem. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2015;4(5):434-436.
- 34 Shin Y, Lee Y. Cytotoxic activity from *Curcuma zedoaria* through mitochondrial activation on ovarian cancer cells. Toxicological Research. 2013;29(4):257-261.

- 35 Adersen A, Simonsen HT, Bremner P, Heinrich M, Wagner Smitt U, Jaroszewski JW. Antifungal constituents of *Melicope borbonica*. *Phytotherapy Research*. 2004;18(7):542-545.
- 36 Garbisch EW. Conformations. VI. Vinyl-allylic proton spin couplings. *Journal of the American Chemical Society*. 1964;86(24):5561-5564.
- 37 Rodríguez-García G, Villagómez-Guzmán AK, Talavera-Alemán A, Cruz-Corona R, Gómez-Hurtado MA, Cerda-García-Rojas CM, Joseph-Nathan P, del Río RE. Conformational, configurational, and supramolecular studies of podocephalol acetate from *Lasianthaea aurea*. *Chirality*. 2019;En prensa.
- 38 Bohlmann F, Lonitz M. Natürlich vorkommende Terpen-Derivate, 117: Neue Sandaracopimardien-Derivate, Sesquiterpene und Sesquiterpenlactone aus *Zexmenia*-Arten. *Chemische Berichte*. 1978;111(3):843-852.