

BÚSQUEDA DE PRINCIPIOS ACTIVOS ANTIPARASITARIOS EN PLANTAS DE USO TRADICIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA. ESPECIAL ENFASIS EN ALCALOIDES INDOLICOS.

L. Ruiz Mesía¹, W. Ruiz Mesía^{1*}, J. M. Rios Rios¹, L. Arévalo Encinas¹, M. Reina Artiles², A. González Coloma³, R. A. Martínez Díaz⁴.

¹Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Laboratorio de Investigación de Productos Naturales y Antiparasitarios de la Amazonía (LIPNAA), Iquitos, Perú.

²Instituto de Productos Naturales y Agrobiología (INPNA- CSIC), Tenerife, España.

³Instituto de Ciencias Agrarias (ICA- CSIC),

⁴Departamento de Medicina Preventiva Universidad Autónoma de Madrid (UAM), España.

*e-mail: wirume@hotmail.com

RESUMEN

A fin de evaluar el potencial antimalárico de remedios tradicionales utilizadas en el Perú por las poblaciones indígenas y mestizas del río Nanay en Loreto, fueron entrevistados sobre el uso medicina tradicional para el tratamiento de la malaria. La encuesta se llevó a cabo en seis pueblos y llevaron a la recolección de 59 plantas. 35 extracciones hidro-alcohólicas se realizaron en las 21 plantas más citadas. A continuación se ensayaron los extractos para la actividad antiplasmodial in vitro sobre cepa resistente a la cloroquina de *Plasmodium falciparum* (FCR-3), y también se realizó la prueba de inhibición de ferriprotoporfirina con el fin de asumir propiedades farmacológicas. Los extractos de 9 plantas, en veintidós evaluados, mostraron una actividad antiplasmodial interesante ($IC_{50} < 10 \mu g/ml$) y 16 extractos resultaron activos en la prueba de inhibición de la ferriprotoporfirina. Cinco alcaloides oxindólicos y dos alcaloides de tipo plumerano subtipo haplophitina, fueron aislados de plantas medicinales: *Aspidosperma rigidum* y *A. schultesii*. Uno de estos compuestos se identificó como un confórmero rotámero transoide de la 18-Oxo-O-metilaspidoalbina que no se describió anteriormente, también fueron determinada la actividad antiparasitaria de los compuestos contra *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania infantum*.

Palabras claves: *Aspidosperma rigidum*, *Aspidosperma schultesii*, Alcaloide Indólicos, Leishmania, *Trypanosoma cruzi*.

SEARCH ACTIVE ANTIPARASITIC PLANTS TRADITIONALLY USED IN THE PERUVIAN AMAZON. EMPHASIS ON INDOLE ALKALOIDS

ABSTRACT

Aim of the study: In order to evaluate the antimalarial potential of traditional remedies used in Peru, Indigenous and Mestizo populations from the river Nanay in Loreto were interviewed about traditional medication for the treatment of malaria. The survey took place on six villages and led to the collection of 59 plants, 35 hydro-alcoholic extractions were performed on the 21 most cited plants. The extracts were then tested for antiplasmodial activity in vitro on *Plasmodium falciparum* chloroquine resistant strain (FCR-3), and ferriprotoporphyrin inhibition test was also performed in order to assume pharmacological properties. Extracts from 9 plants on twenty-one tested displayed an interesting antiplasmodial activity ($IC_{50} < 10 \mu g/ml$) and 16 remedies were active on the ferriprotoporphyrin inhibition test. Five oxindole alkaloids, and two plumerane-type alkaloids, subtype haplophitine, were isolated from the medicinal plants *Aspidosperma rigidum* and *A. schultesii*. One compound was identified as the transoid conformer of 18-oxo-O-methylaspidoalbina which was not previously described. The antiparasitic activity of all compounds against *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania infantum*, were also determined.

Keywords: *Aspidosperma rigidum*, *Aspidosperma schultesii*, Indole Alkaloids, Malarie, Leishmania, *Trypanosoma cruzi*.

INTRODUCCION

Las plantas medicinales constituyen un componente muy importante de la medicina tradicional en la Amazonía Peruana (Obitz *et al.*, 1995) las comunidades nativas de las regiones tropicales han utilizado extractos de plantas para combatir enfermedades parasitarias como Leishmaniasis, enfermedad de Chagas y Malaria (Bourdy, 2002). Estas enfermedades constituyen un grave problema para los seres humanos que habitan esas regiones, por su alta mortalidad (World, 2000). Concretamente en Perú la incidencia de malaria es alta, especialmente en la región amazónica, debido a la prevalencia de *Plasmodium*. Por esta razón la Región Loreto está considerada como una zona de muy alto riesgo (DISA-Loreto, 2004). En la actualidad los fármacos usados para el tratamiento de estas enfermedades presentan muchos inconvenientes como baja eficacia, efectos adversos y/o aparición de parásitos resistentes. En el caso de la leishmaniasis solo un fármaco "miltefosina" (Croft *et al.*, 2005) ha sido registrado desde hace décadas. Los compuestos antiparasitarios aislados de las plantas usadas en medicina tradicional pueden constituir la base de nuevos fármacos. De hecho muchos de los fármacos empleados contra la malaria son directa o indirectamente derivados de productos naturales (Christensen and Kharazami, 2001). La Región Amazónica cuenta con una gran biodiversidad que aún no ha sido estudiada de una manera sistemática, dirigida a explotar su potencial médico y económico. Se estima que menos del 5% de la Flora Amazónica ha sido evaluada farmacológicamente, de ahí el interés de estudiar química y farmacológicamente especies vegetales utilizadas por el poblador amazónico para el tratamiento de sus enfermedades, con la finalidad de verificar la actividad farmacológica que se atribuye a dichas especies y realizar su validación.

En las propuestas de investigación desarrolladas hemos abordado el estudio químico-biológico de plantas usadas en la medicina tradicional teniendo como base la información etnofarmacológica obtenida a través de encuestas en las comunidades con mayor prevalencia y con poca accesibilidad a los centros de salud para tratar estas enfermedades parasitarias (malaria y leishmaniasis), priorizando las familias: *Apocinaceae*, *Rubiaceae*, *Fabaceae*, *Menispermaceae*, etc., (*Aspidosperma*, *Geissosperma*, *Tabernaemontana*, *Remijia*, etc.) que son conocidas como fuente de alcaloides indólicos de diferentes esqueletos estructurales, algunos de los cuales poseen importantes propiedades biológicas (antiparasitarias, antimicrobianas, antitumorales, insecticidas, etc.) (Reina *et al.*, 2011A; 2011B; Mitaine-Offer *et al.*, 2002; Neuss and Neuss, 1990). En este sentido los alcaloides, un singular grupo de productos naturales, juegan un papel crucial en el desarrollo de una nueva generación de fármacos antiparasitarios que podrían contribuir a combatir enfermedades tropicales endémicas (González-Colona *et al.*, 2011). Además, nuestro trabajo puede aportar conocimientos útil a la problemática relacionada con esta región, con el fin de proporcionar un valor agregado a la biodiversidad de la zona. Los resultados de nuestras investigaciones son altamente prometedoras (Reina *et al.*, 2001; 2011A; González-Colona *et al.*, 2011).

MATERIAL Y METODOS

ETNOFARMACOLOGICA

Selección del área o ámbito de estudio.

El componente etnofarmacológico del proyecto se desarrolló en lugares donde se reporta mayores casos de malaria y leishmania del Departamento de Loreto, los mismos que son considerados como zonas de muy alto riesgo, por presentar alta incidencia de malaria y leishmania.

Población y muestra.

La población de referencia estará constituida por 266 familias que residen en la provincia de Maynas los cuales se encuentran ubicadas a orillas del río Nanay (Anguilla, Diamante Azul, Manacamiri, Samito, Santa María del Alto Nanay y Tarapoto). Este río es un afluente del río Amazonas cuya desembocadura se encuentra situada en las afueras de Iquitos, capital del

departamento de Loreto, siendo 859 lugares donde se reportan la mayor incidencia de malaria y leishmania (Matias *et al.*, 2011B).

El tamaño de la muestra se determinó aplicando la fórmula para muestras de poblaciones finitas, asumiendo un nivel de confianza de 95%;

$$n = \frac{Z^2 \alpha \cdot pe \cdot qe}{E^2}$$

Donde:

n = Tamaño de la muestra.

Z² = Coeficiente de confiabilidad con un nivel de confianza del 95%, que equivale a 1.96.

pe = Proporción estimada que se considera 0.5 (50%) porque no se cuenta con datos sobre el comportamiento de la variable en estudio.

qe = Es la diferencia de 1 – 0.5 = 0.5 (50%).

E² = Error o precisión que se usa es de α = 0.05.

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.5)(0.5)}{(0.05)^2} = 384$$

Entonces

Ajuste del tamaño de la muestra:

$$n = \frac{n}{1 + n/N}$$

$$n = \frac{384}{1 + 384/859} \quad n = 266 \text{ familias}$$

El tamaño de la muestra estuvo constituido por 266 familias y para garantizar su representatividad de cada uno de los caseríos y distritos sujetos de estudio se aplicó la fórmula de fijación proporcional siguiente:

$$n_x = \frac{\text{Nº de familias por caserío}}{\text{Total de familia}} \times n$$

PREPARACION DE EXTRACTOS

De las especies vegetales seleccionadas en base a la información etnofarmacológica, se prepararon los extractos (etanol/agua 70:30) utilizando 5kg de muestra seca y molida, con hexano (para desengrasar) y luego con etanol-agua para los ensayos de actividad antimalarica y el fraccionamiento bioquímico.

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA

Para la evaluación antimalárica *in vitro* se utilizó la cepa de *Plasmodium falciparum* (FCR-3 resistente a cloroquina) disponible en el LIPNAA, la cual una vez descongelada se cultivó de acuerdo al método descrito por (Trager and Jensen, 1976) con modificaciones. El ensayo se realizó por triplicado y los análisis de los resultados se evaluaron según el método descrito por (Deharo *et al.*, 2002).

Para realizar los ensayos de actividad leishmanicida de los extractos alcaloidales y productos puros se emplearan la cepa PB75 de *Leishmania infantum* (leishmaniasis), procedente del Centro Nacional de Microbiología, Virología e Inmunología Sanitaria del Instituto de Salud Carlos III de Madrid, y la cepa Y de *Trypanosoma cruzi*, aislada por el Profesor Pedreira de Freitas en 1950 de un caso humano agudo procedente de Marília (Sao Paulo, Brasil), respectivamente. Los resultados se evaluó como ha descrito previamente (Muñoz *et al.*, 2000).

EXTRACCION Y PURIFICACION DE ALCALOIDES

A partir de los extractos etanólicos se obtuvieron los extractos alcaloides. El análisis cromatográfico en capa fina de alúmina neutra (CCF) de los distintos extractos obtenidos, nos permitió detectar la presencia de alcaloides. Se realizó la evaluación de la actividad antiparasitaria de los extractos alcaloidales, siguiendo la metodología descrita previamente (Muñoz *et al.*, 2000). Los extractos activos, se cromatografiaron sucesivamente mediante diferentes técnicas cromatográficas, [cromatografía en columna (CC) en fase normal y fase reversa-Lichroprep RP-18] se utilizó como fase estacionaria gel de sílice, alúmina neutra, CC de sephadex LH-20 y como fase móvil, mezclas de solventes orgánicos de polaridad creciente, hasta aislar los principios activos de la especie en estudio. La purificación final de los compuestos se realizó por HPLC, cromatografía preparativa (PTLC) o por cristalización fraccionada.

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA QUIMICA

Para la determinación de la estructura de los productos purificados se utilizó técnicas espectroscópicas de IR, UV y DC, técnicas espectrométricas: EM de alta y baja resolución, RMN ^1H y ^{13}C , incluyendo experimentos bidimensionales de correlación homo y heteronuclear (HSQC, COSY, HMBC y ROESY) y transformaciones químicas que ayudaron a la determinación estructural definitiva del compuesto. En algunos casos se realizó difracción de rayos X para confirmar la estructura del alcaloide.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La encuesta etnofarmacológica se llevó a cabo en seis áreas ubicadas a orillas del río Nanay (Anguilla, Diamante Azul, Manacamiri, Samito, Santa María del Alto Nanay y Tarapoto). Este río es un afluente del río Amazonas con desembocadura situada en las afueras de Iquitos, capital del departamento de Loreto.

El estudio de la información etnofarmacológica condujo a la colección de 59 plantas (pertenecientes a 38 familias) y 21 de los más citados se extrajeron con EtOH/H₂O (70/30) para obtener 35 extractos; al menos 8 plantas muestran una actividad antiplasmodial interesante (IC₅₀ <10 µg/mL). Esto demuestra que el enfoque etnofarmacológico es una poderosa herramienta para seleccionar plantas entre innumerables posibles candidatos aunque la mayoría de ellos son especies domesticadas (alta ocurrencia de esas plantas permite suponer un buen conocimiento clínico de sus usos). Además, es la primera vez que un estudio etnofarmacológico importante sobre malaria se llevó a cabo en las zonas etno-geográficas (266 encuestas fueron realizadas).

La inhibición de la biomineralización ha demostrado ser valioso para la detección de compuestos con potencial actividad antimalárica y puede explicar las propiedades farmacológicas. El análisis de los resultados biológicos y un estudio bibliográfico preciso de todas las plantas, permite una evaluación biológica de los conocimientos fitoterapéuticos de los habitantes del río Nanay, 81 remedios correspondientes a 59 especies diferentes fueron reportados. La evaluación de la actividad antiplasmodial *in vitro* (en nuestro estudio o previamente descritos en la literatura), reveló que 11 especies (19%) nunca habían sido probados para esta actividad (*A. nutans*, *A. occidentale*, *A. nitidum*, *A. triplinervia*, *C. hirta*, *C. arabicus*, *C. kujete*, *O. bataua*, *M. alceifolia*, *S. straminea*, *U. guianensis*). De 48 plantas evaluadas sólo 22 (46%) de ellos fueron inactivos frente a *P. falciparum* *in vitro* (*A. brasiliana*, *B. caapi*, *B. orellana*, *B. rubescens*, *B. grandiflora*, *C. papaya*, *C. megalophyllum*, *C. nucifera*, *C. arabica*, *C. guianensis*, *F. insipida*, *H. courbaril*, *J. gossypifolia*, *L. aestuan*, *M. indica*, *P. americana*, *P. caimito*, *S. officinarum*, *S. reticulata*, *T. erecta*, *T. bicolor*, *V. litoralis*) reportadas por Calderon *et al* (2006), De Mesquita *et al* (2007), Misra *et al* (1991), Muñoz *et al* (2000), Renapurkar and Sutar (1989), Zirihi *et al* (2005). No obstante, es importante recordar que la no actividad *in vitro* del extracto, no debe interpretarse como inactividad *in vivo* frente a malaria por diferentes razones, como los límites biológicos y fitoquímicos de los ensayos (debido a la biodistribución y proceso de extracción).

El extracto etanólico de *A. rigidum* es más activo frente a *T. cruzi* que frente *L. infantum*, y es citotóxico.

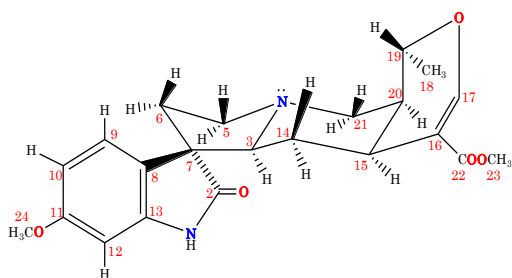
Los extractos ácidos de hojas y corteza de *A. schultesii*, fueron más efectivos frente a *T. cruzi* que a *L. infantum* a las dosis más altas (800 y 400 µg/mL). Sin embargo el extracto alcaloidal básico de corteza (EABC) fue el más activo frente a *L. infantum* pero inactivo frente a *T. cruzi* a dosis más altas.

De *Aspidosperma rigidum* y *A. schultesii*, especies seleccionadas para el estudio, se aislaron y determinaron la estructura química de cinco alcaloides oxindólicos pentacíclicos y dos alcaloides de tipo plumerano- subtipo haplophitina. Uno de estos compuestos se identificó como un transoide confórmero de (+)-18-oxo-O-methylaspidoalbina que no se ha sido descrito anteriormente en la literatura química.

CABOXINA A (1).

Alcaloide aislado como resina de $[\alpha]_D^{25} - 66.12$ (c, 0.304, CHCl₃); su espectro de IR mostró bandas correspondientes a la presencia de un grupo lactama (3246 y 1686 cm⁻¹), un éster enol-éter conjugado (1707 y 1629 cm⁻¹) y a 757 cm⁻¹ absorciones correspondientes a las vibraciones de C-H del anillo aromático.

Después de la interpretación de los datos espectroscópicos de RMN de ¹H y ¹³C y los experimento mono y bidimensionales, se identificó como caboxina A, alcaloide oxindólico pentacíclico previamente aislado de *Cabucala fasciculata* (Titeux *et al.*, 1975).



CABOXINA B (2), ISOCABOXINA B (3), CARAPANAUBINA (4) E ISOCARAPANAUBINA (5)

Estos alcaloides fueron aislados como resinas $[\alpha]_D^{25} - 77.5$ (c, 0.040, CHCl₃), $[\alpha]_D^{25} + 64.3$ (c, 0.028, CHCl₃), $[\alpha]_D^{25} - 43.2$ (c, 0.44, CHCl₃) y $[\alpha]_D^{25} - 63.3$ (c, 0.120, CHCl₃), respectivamente. Sus características espectrales de IR, UV y EM nos indicaron claramente que se trata de alcaloides oxindólicos pentacíclicos del tipo heteroyohimbínicos de gran similitud con (1), descrito previamente. La fórmula molecular de cada uno de los alcaloides se determinó mediante espectrometría de masas de alta resolución (EMAR), donde aparece el fragmento a *m/z*: 180 de importancia estereoquímica en Caboxina A. Los alcaloides **4** y **5** tienen 30 u.m.a. más que los alcaloides **2** y **3**.

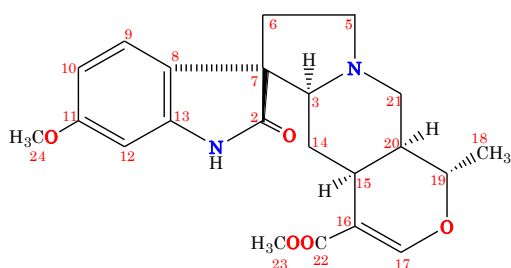
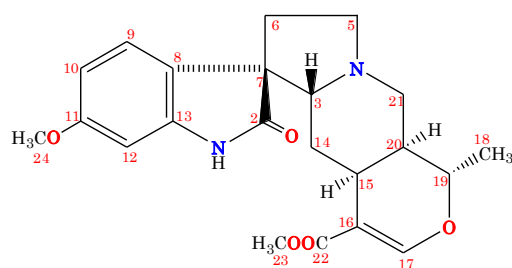
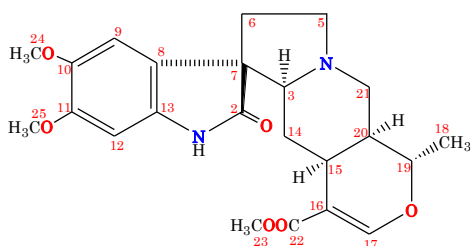
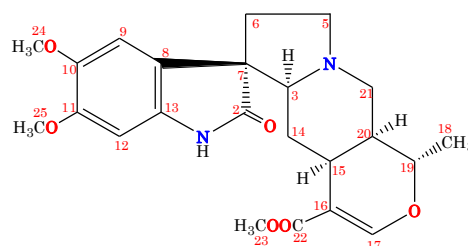
El espectro de RMN de ¹³C de los alcaloides Caboxina A y Caboxina B mostraron 22 señales correspondientes al mismo número de átomos de carbonos (tres metilos, cuatro metilenos, ocho metinos y siete carbonos cuaternarios) y los alcaloides **4** y **5**, 23 señales para 23 átomos de carbono. Además, la comparación de los espectros de RMN de ¹³C de **2**, **4** y **5** revelaron que están estrechamente relacionados, los alcaloides **4** y **5** presentan una señal más, atribuible a un metoxilo a δ_H 3.89 y 3.81 (3H, cada una, s, OMe); δ_C 56.4 y 56.7 (s, OMe) en el anillo A, respectivamente. Este hecho nos sugiere que ambos alcaloides podrían tener la misma estereoquímica en el anillo C, D y E.

Las asignaciones de todas las resonancias de carbono y protones de los alcaloides se establecieron en base a los datos obtenidos en los experimentos de RMN mono y bidimensionales (RMN de ¹³C, HMBC, ¹H-COSY, NOESY). Finalmente la estructura del **2** se estableció como Caboxina B, por comparación de sus datos con los publicados para este alcaloide, previamente aislado de *Cabucala fasciculata* (Titeux *et al.*, 1975).

Las estructuras de los alcaloide **4** y **5** quedaron identificadas como carapanaubina (10,11-dimetoxicaboxina B) e isocarapanaubina (10, 11-dimetoxicaboxina A), alcaloides oxindólicos pentacíclicos previamente aislados de *Aspidosperma carapanauba* (Titeux *et al.*, 1975).

El alcaloide **3** presentó características comunes con los alcaloides **2**, **4** y **5**. Sin embargo, en su espectro de RMN de ^1H el alcaloide **3** mostró variaciones significativas con respecto a caboxina A (**1**) y B (**2**), en los desplazamientos químicos de los protones a δ_{H} 1.21 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, Me-18), 1.04 (1H, m, H-14 α), 2.14 (1H, m, H-21 β), 2.29 (1H, dd, $J = 11.6, 2.3$ Hz, H-3 β), 4.16 (1H, q, $J = 6.6$ Hz, H-19), 2.43 (1H, q, $J = 9.0$ Hz, H-5 β) y 3.24 (1H, dt, $J = 8.7, 2.3$ Hz, H-5 α).

Finalmente la identidad de nuestro alcaloide se estableció sobre la base de los datos espectroscópicos de RMN mono y bidimensional y por comparación con los publicados para isocaboxina B, previamente aislado de *Cabucala fasciculata* (Bhattacharyya and Pakraski, 1973), un alcaloide oxindólico pentacíclico tipo *epiallo*, con centros asimétricos determinados como 3*R*, 4*S*, 7*R*, 15*S*, 19*S*, 20*S* y la unión de los anillos D/E "cis".

Caboxina B (**2**).Isocaboxina B (**3**).Carapanaubina (**4**).Isocarapanaubina (**5**)

18-Oxo-ASPIDOALBINA (**6**) Y (-)-18-Oxo-O-METILASPIDOALBINA (**7**).

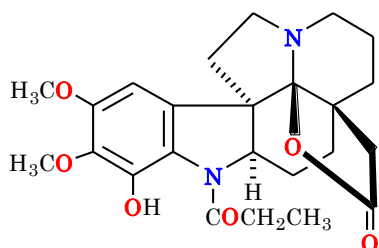
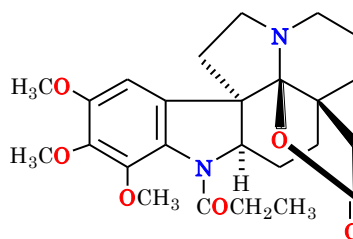
Los alcaloides se aislaron como sólidos amorfos, $[\alpha]_{\text{D}} = +30.3$ (c, 0.076, CHCl_3) y $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -90.2$ (c, 0.026, CHCl_3), respectivamente. Sus espectros de IR (CHCl_3) muestran bandas de absorción similares excepto que en el alcaloide (**6**) mostró una banda adicional correspondiente a la absorción de un grupo OH a 3418 cm^{-1} , las restantes absorciones son superponibles: 1743, 1621, 1464, 1196, 1109, 822 y 754 cm^{-1} . El espectro UV de (EtOH) de (**7**) dio bandas de absorción a 226, 260 y 300 nm, $\log \epsilon$ (4.23, 4.10 y 3.46) similares a las que presenta el alcaloide O-metilaspidoalbina (Carl *et al.*, 1962). Estos alcaloides (**6** y **7**) presentan su ión molecular a m/z : 442 (65 %) y 456 (70 %), respectivamente. Sus fórmulas moleculares concuerdan para un $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6$ y $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6$.

Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C de (**6**) y (**7**) son similares, en las que se observa una señal en la zona de los protones aromáticos a δ_{H} 6.67 y 6.90 (1H cada una, s) asignadas al protón H-9, las cuales están correlacionadas con sus carbonos a δ_{C} 99.0 y 103.8 (d, C-9), respectivamente, en un experimento HSQC. El alcaloide (**6**), exhibe una señal de un protón a δ_{H} 4.04 que presenta conectividades espaciales en un experimento NOESY, con los protones a δ_{H} 3.71 (1H, m, H-6 α), 1.95 (1H, m, 17 α), y 2.53, 2.40 (1H cada una, m) asignadas a los protones 23A y 23B datos que nos permitieron asignar esta señal al protón H-2 α .

Además, el espectro de RMN de ^1H exhibe dos dobletes a δ_{H} 2.47 y 2.02 (1H cada una, d, $J = 16.2$ Hz), señales atribuibles a un sistema AB. Estos dobletes muestran conectividades a tres enlaces (HMBC), con dos carbonos metilénicos a δ_{C} 33.6 (t, C-15), 25.8 (t, C-17) y a dos enlaces con el carbono cuaternario a δ_{C} 40.5 (s, C-20), por lo que asignamos estos dobletes a los protones del carbono 19, δ_{C} 42.5 (t). En el mismo experimento aparecen cuatro señales adyacentes a

nitrógeno, a δ_H 2.97 (1H, t, $J = 10.5$ Hz, H-3 β), 2.89 (1H, d, $J =$ Hz, H-3 α), 2.38 (1H, dd, $J =$ Hz, H-5 α) y 3.15 (1H, dt, $J =$ Hz, H-5 β), así como señales correspondientes a un agrupamiento N-COCH₂CH₃ a δ_H 2.53 (1H, m, H-23A), 2.40 (1H, m, H-23B) y 1.25 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-24), que están correlacionadas con sus carbonos a δ_C 28.3 (t, C-23), 9.70 (q, C-24) y 171.7 (s, C-22).

Finalmente la identidad de nuestros alcaloides se estableció como 18- oxoaspidoalbina (**6**) y (-)-18-oxo-O-metilaspidoalbina (**7**) sobre la base de los datos físicos, espectrocópicos de RMN mono, bidimensionales y por comparación con los publicados para oxoaspidoalbina y (+)-18-oxo-O-metilaspidoalbina, aislado previamente de *Aspidosperma exaltatum*, (Medina and Hurtado, 1977; Brown *et al.*, 1966). El alcaloide **7** es el confórmero o rotámero transoide de (+)-18-oxo-O-metilaspidoalbina y constituye un nuevo producto natural.

18-Oxo-aspidoalbina (**6**)(-)-18-Oxo-O-metilaspicoalbina (**7**)

CONCLUSIONES

El estudio etnofarmacológico es una herramienta muy útil para identificar potenciales especies vegetales con actividades biológicas ineresantes y muy variadas.

Los compuestos **1** y **2** resultaron activos frente a los dos parásitos sin citotoxicidad. Del compuesto **1** la DL₅₀ a una dosis de 100 µg/ml es algo más efectivo frente a *L. infantum*. El compuesto **2** es un tripanocida efectivo sin toxicidad asociada.

Los extractos ácidos de hojas y corteza de *A. schultesii* (EAAH y EAAC) fueron más efectivos frente a *T. cruzi* que a *L. infantum* a las dosis más altas. Sin embargo, el extracto básico de corteza (EABC) fue el más activo frente a *L. infantum* pero inactivo frente a *T. cruzi* a las dosis más altas.

El alcaloide **(-)-18-Oxo-O-Metilaspidoalbina (7)**, se describe por primera vez en la literatura química.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Bhattacharyya J and Pakraski SC. 1973. *Tetrahedron Letters*, 2, 159-162.
- Bourdy G. 2002 Plantas del Chaco (Tomo 2). Usos tradicionales Isoceño-Guarani. IRD, CYTED, HNB, KAA IYA, USAID, WCS, pag. 441.
- Brown KS, Sánchez WE, Figueiredo AA, Ferreira JM. 1966. *J. Am. Chem. Soc.*, 88 (21), 4984.
- Calderon AI, Romero LI, Ortega-Barria E, Brun R, Correa MD, Gupta MP. 2006. Evaluation of larvicidal and in vitro antiparasitic activities of plants biodiversity plot in the Altos de Campana national park, Panama. *Pharmaceutical Biology* 44, 487-498.
- Christensen SB and Kharazami A. 2001. Antimalarial natural products. In: Tringali, C. (Ed.), *Bioactive Compounds from Natural Sources*. Taylor and Francis, London, pp. 381-431.
- Croft SL, Barrett MP, Urbina JA. 2005. Chemotherapy of trypanosomiasis. *Trends in Parasitology*.
- Deharo E, Gautret Ph, Muñoz V, Sauvain M. 2002. CYTED - COOPERACIÓN IBEROAMERICANA. Técnicas de Laboratorio para la Selección de Sustancias Antimaláricas. Primera edición. La Paz – Bolivia. Pag. 171-183.
- De Mesquita ML, Grellier P, Mambu L, De Paula JE, Espindola LS. 2007. In vitro antiplasmodial activity of Brazilian Cerrado plants used as traditional remedies. *Journal of Ethnopharmacology* 110, 165-170.
- DISA-Loreto (2004), Semana Epidemiológica 10. Boletín Epidemiológico.

- Djerassi C, Antonaccio LD, Budzikiewicz H and Wilson JM. 1962. *Tetrahedron*, 22, 1001.
- González-Coloma A, Reina M, Sáenz C, Lacret R, Ruiz-Mesia L, Arán VJ, Sanz J, Martínez-Díaz RA. 2011. Antileishmanial, antitrypanosomal and cytotoxic screening of ethnopharmacologically selected Peruvian plants. *J. Ethnopharmacol.* (En prensa).
- Medina JD and Hurtado JA. 1977. *Planta Medica*, 32, 130.
- Misra P, Pal NL, Guru PY, Katiyar JC, Tandon JS. 1991. Antimalarial activity of traditional plants against erythrocytic stages of *Plasmodium berghei*. *Pharmaceutical Biology* 29, 19-23.
- Mitaine-Offer AC, Sauvain M, Valentin A. 2002. Antiplasmodial activity of *Aspidosperma* indole alkaloids. *Phytomedicine* 9:142-145.
- Muñoz V, Sauvain M, Bourdy G, Callapa J, Rojas I, Vargas L, Tae A, Deharo E. 2000. The search for natural bioactive compounds through a multidisciplinary approach in Bolivia. Part II. Antimalarial activity of some plants used by Mosekene Indians. *Journal of Ethnopharmacology* 69, 139–155.
- Neuss N and Neuss MN. 1990. In "Therapeutic use of Bisindole Alkaloids from *Catharanthus*" *The Alkaloids*. Ed. Arnold Brossi. Academic Press, Inc. 1990. 37, 299.
- Obitz P, Stöckigt J, Mendoza LA, Aimi N and Sakai S. 1995. In "Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives" (S.W. Pelletier, ed) Pergamon, Elsevier Science Amsterdam 9, 236.
- Reina M, Ruiz-Mesia W, Ruiz-Mesia L, Martínez-Díaz R, and González-Coloma A. 2011A. "Indole Alkaloids from *Aspidosperma rigidum* and *A. schultesii* and their Antiparasitic Effects". *Z. Naturforsch. C* (aceptado, en prensa, Ref.-No. C 0219 Reina).
- Reina M, Ruiz-Mesia W, Ruiz-Mesia L, Martínez-Díaz R, González-Coloma A and Rodríguez M. 2011B. Antiparasitic Indole alkaloids from *Geissospermum reticulatum* A. Gentry (Apocynaceae). *J. Nat. Prod.* (en prensa).
- Renapurkar DM and Sutar NK. 1989. Coconut milk and the cultivation of *Plasmodium* in vitro. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 83, 720.
- Trager and Jensen. 1976. Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 193 (4254): 673-675.
- Titeux F, Le Men-Olivier L, Le Men J. 1975. *Phytochemistry*. 14, 565-568.
- World Health Organization. 2000. WHO Reports on Global Surveillance of Epidemic-prone Infectious Disease. WHO/CDS/CRS/ISR/2000-1.
- Zirih GN, Mambu L, Guédé-Guina F, Bodo B, Grellier P. 2005. In vitro antiplasmodial and cytotoxicity of 33 West African plants used for treatment of malaria. *Journal of Ethnopharmacology* 98, 281–285.

Recibido: 18 setiembre / **Aceptado:** 22 noviembre 2012