

Aislamiento y elucidación estructural de alcaloides indólicos de la especie vegetal *Aspidosperma cuspa* (Kunth) Blake

Nery Margarita Pérez Ibáñez* y Stephanie Grabielle Pérez Cardena
Laboratorio de Farmacognosia y Medicamentos Herbarios, Facultad de Farmacia,
Universidad Central de Venezuela. Apartado 40109. Caracas, Venezuela.

Recibido: 09-10-12 Aceptado: 29-07-13

Resumen

Un estudio fitoquímico de los extractos orgánicos de la corteza y las hojas de *Aspidosperma cuspa* (Kunth) Blake reveló la presencia de los alcaloides indólicos: o-demetilaspidospermina, aspidocarpina, 5-oxo-o-demetilaspidospermina, 11-metoxitubotaiwina, picralinal y picrinina. Los dos últimos se reportan por primera vez para el género. Las estructuras de estos alcaloides fue establecida por el análisis de los datos UV, IR, RMN y MS y comparación con datos reportados en la literatura.

Palabras clave: *Aspidosperma cuspa*, alcaloides indólicos, Apocynaceae.

Isolation and structural elucidation of indole alkaloids of the plant species *Aspidosperma cuspa* (Kunth) Blake

Abstract

A phytochemical investigation of organic extracts of bark and leaves of *Aspidosperma cuspa* (Kunth) Blake revealed the presence of indole alkaloids: o-demetilaspidospermine, aspidocarpine, 5-oxo-o-demetilaspidospermine, 11-metoxitubotaiwine, picralinal and picrinine. The last two are reported for the first time for the genus. The structures of these compounds were established from UV, IR, MS and NMR data and by comparison with the literature data.

Keywords: *Aspidosperma cuspa*, indole alkaloids, Apocynaceae.

Introducción

El género *Aspidosperma* (Apocynaceae) comprende aproximadamente 100 especies, distribuidas en América tropical y subtropical. En Venezuela están presentes 30 especies, de las cuales 22 se hallan principalmente en la región de Guayana (1). Este género se ha caracterizado químicamente por la existencia

alcaloides indólicos de considerable diversidad estructural (2), que confieren un amplio espectro de actividades biológicas reconocidas en las especies de ese género, tales como antitumoral, antiplasmódica, antimicrobiana y antibacteriana (3). La especie *Aspidosperma cuspa* se extiende al norte de nuestro país, desde Nueva Esparta y Sucre hasta el Zulia, formando una vegetación arbustiva ári-

Autor para la correspondencia: nery.perez@ucv.ve, neryperez42@gmail.com

da, así como al norte de Bolívar y Amazonas, en bosques deciduos. También se encuentra en Haití, Colombia, Trinidad y Tobago, Ecuador, al este y sur del Brasil (1). Esta planta se conoce popularmente en Venezuela como amargoso, amargo, cuspa, kaláitpana y caramacati. La corteza se utiliza en la medicina tradicional contra los dolores de estómago, el reumatismo, para aliviar dolores de parto, la diabetes, contra la fiebre y las mordeduras de culebras. Igualmente, las hojas se utilizan en la preparación de una bebida antifebrífuga y en forma de cataplasma contra las úlceras (4, 5). Estudios fitoquímicos previos de la corteza reportan los alcaloides indólicos: burnamina, aspidodasicarpina, des-o-metilaspido-carpina, kopsanona, epikopsanol, kopsanol y 16-epi-isositsirikina (6, 7).

Recientemente, señalamos la presencia de los alcaloides aspidocarpina **2**, 11-metoxitubotaiwina **4** y picralina en el extracto acuoso de la corteza de la planta, así como la toxicidad y actividad analgésica del extracto (8). El presente trabajo describe seis alcaloides indólicos obtenidos de los extractos orgánicos de la corteza y las hojas de *Aspidosperma cuspa*: o-demetilaspidospermina **1**, aspidocarpina **2**, 5-oxo-o-demetilaspidospermina **3**, 11-metoxitubotaiwina **4**, picralinal **5** y picrinina **6**. Los alcaloides **5** y **6** se reportan por primera vez para el género. Todos estos compuestos fueron identificados empleando espectrometría UV, IR, Masas, espectroscopía RMN (1 y 2 D) y comparando los datos obtenidos con los reportados en la bibliografía.

Materiales y métodos

La corteza y las hojas de la planta fueron recolectadas en la localidad de Sáucedo, Municipio Ribero, Golfo de Cariaco, Edo. Sucre por el Sr. Jesús Márquez. La identificación botánica fue realizada por el Dr. Stephen Tillett y un ejemplar reposa en el Herbario Víctor Manuel Ovalles (MYF) de la Facultad de Farmacia, UCV, Caracas, Distrito Capital, con el número de colección 26217. Para la cromatografía de columna (CC) se utilizó:

sílicagel 60 F₂₅₄ (0,2-0,5 mm, 35-70 mesh ASTM, Fa. Merck, Darmstad), óxido de aluminio N (Al₂O₃) (Fa. Merck, Darmstad), Cartucho Sep-Pak RP-18 (Fa. Waters-Millipore, Eschborn). En la cromatografía de capa fina (CCF) preparativa se emplearon: placas con sílicagel 60 F₂₅₄ (20 × 20 cm, 0,50 mm, Fa. Merck, Darmstad), óxido de aluminio N (20 × 20 cm, 0,50 mm, Fa. Merck, Darmstad). Para la cromatografía de capa fina analítica se usaron: cromatofolios de sílicagel 60 F₂₅₄ (20 × 20 cm, 0,25 mm, Fa. Merck, Darmstad), óxido de aluminio N (20 × 20 cm, 0,25 mm, Fa. Merck, Darmstad). Evaluación de las placas: lámpara UV (λ 254 y 365 nm) y reactivo de Dragendorff. Los equipos utilizados fueron: espectrofotómetro UV Beckman Du-6, IR 470 Shimadzu, espectrómetro de RMN Bruker 500 MHz y Eclipse-JOEL 270 MHz, espectrómetro de Masas por Impacto Electrónico, GC/MS Varian Saturno 2000, espectrómetro de Ionización por Electro-spray, Perkin Elmer API 100.

Extracción y aislamiento de los alcaloides

La corteza fue secada en una estufa (55°C/72h) y pulverizada con un molino mecánico. La corteza seca y molida (117 g) se extrajo por soxhlet con solventes de polaridad creciente. Los solventes fueron evaporados al vacío obteniéndose los siguientes extractos, cuyos rendimientos se muestran en paréntesis: hexano (0,25% p/p), CH₂Cl₂ (0,42% p/p), AcOEt (0,54% p/p) y EtOH (5,91% p/p). El extracto de CH₂Cl₂ se fraccionó a través de CC (30 g sílicagel) utilizando los eluentes siguientes: CH₂Cl₂ (100), CH₂Cl₂-AcOEt (75:25), CH₂Cl₂-AcOEt (50:50), AcOEt (100), AcOEt-EtOH (50:50) y EtOH (100). Se recolectaron 35 fracciones de 15 mL c/u. Todas las fracciones fueron evaluadas por CCF (sílicagel) y las que resultaron similares se unieron. El compuesto **1** (60 mg) fue aislado de la fracción 11 (71,5 mg) utilizando CCF preparativa [sílicagel/AcOEt-MeOH (90:10)]. La sustancia **2** (32,2 mg) se obtuvo de la fracción 12-15 (51,3 mg) por CC (Al₂O₃/éter etílico). El extracto de AcOEt se fraccionó a

través de CC (30 g sílicagel) utilizando eluantes de polaridad creciente: CH₂Cl₂ (100), CH₂Cl₂-AcOEt (75:25), CH₂Cl₂-AcOEt (50:50), CH₂Cl₂-AcOEt (25:75), AcOEt (100), AcOEt-EtOH (50:50) y EtOH (100). Se recolectaron 46 fracciones de 15 mL c/u. Las fracciones se evaluaron por CCF y las similares se unieron. A partir de la fracción 14-29 (335,2 mg) se aislaron 21,6 mg del compuesto **3** utilizando CC (Al₂O₃/CHCl₃). El extracto de EtOH (1,23 g) se fraccionó a través de CC (30 g sílicagel) usando los eluantes siguientes: CH₂Cl₂ (100), CH₂Cl₂-AcOEt (75:25), CH₂Cl₂-AcOEt (50:50), AcOEt (100), AcOEt-EtOH (50:50) y EtOH (100). Se recolectó 61 fracciones de 15 mL c/u, las cuales fueron evaluadas por CCF (sílicagel) y similares se unieron. De la fracción 33-40 (76,9 mg) se obtuvo el compuesto **4** (37 mg) empleando CC (10 g RP-18/MeOH) y CCF preparativa [sílicagel/AcOEt-MeOH-H₂O (100:13,5:10)].

Por otra parte, las hojas secas y molidas (50 g) se extrajeron por soxhlet con EtOH. El extracto total fue filtrado y el solvente rotaevaporado. El extracto bruto obtenido (11,6 g) fue disuelto en una mezcla de MeOH-H₂O (9:1) y separado por partición con hexano, luego con CHCl₃. Los solventes se evaporaron al vacío obteniéndose las siguientes fracciones cuyos rendimientos se indican en paréntesis: hexano (7,08% p/p), CHCl₃ (3,78% p/p) y MeOH-H₂O (9,04% p/p). Tanto el extracto como las fracciones fueron evaluados por CCF (sílicagel y Al₂O₃). La fracción de CHCl₃ fue sometida a CC (30 g Al₂O₃/CHCl₃). Se recolectó 20 fracciones de 10 mL c/u, las similares se unieron luego de ser evaluadas por CCF (Al₂O₃). Los compuestos **5** (15 mg) y **6** (10 mg) fueron aislados a partir de la fracción 6-14 (56,5 mg) mediante CC (Al₂O₃/CHCl₃) y CCF preparativa (Al₂O₃/CHCl₃) (figura 1).

O-demetilaspidospermina 1: sustancia oleosa de color amarillo. UV (λ_{\max} , nm, EtOH): 218, 256, 289(sh). IR (ν_{\max} , cm⁻¹): 3454 (OH), 2930 (CH), 1622 (C=O), 1600-1445 (C=C anillos aromáticos), 740. MS-IE [m/z, intensidad relativa (%): 340(75),

312(25), 298(5), 282(5), 152(5), 125(100). RMN-¹H (500,1 MHz) y ⁻¹³C (125,7 MHz) en CDCl₃: ver desplazamientos químicos en la tabla 1.

Aspidocarpina 2: sustancia oleosa ligeramente amarilla. UV (λ_{\max} , nm, EtOH): 224, 261. IR (ν_{\max} , cm⁻¹): 3472 (OH), 2928 (CH), 1622 (C=O), 1596-1401 (C=C anillos aromáticos), 740. MS-IE [m/z; intensidad relativa (%): 370 (70), 342 (20), 327(5), 152 (5), 124 (100). RMN-¹H (270,1 MHz) y ⁻¹³C (67,9 MHz) en CDCl₃: ver datos en la tabla 1.

5-Oxo-o-demetilaspidospermina 3: sustancia oleosa ligeramente amarilla. UV (λ_{\max} , nm; EtOH): 218, 257, 291(sh). IR (ν_{\max} , cm⁻¹): 3472 (OH), 2978 (CH), 1680 (C=O), 1625 (C=O), 1590-1400 (C=C anillos aromáticos), 740. MS-IE [m/z; intensidad relativa (%): 355 (18), 312 (100). RMN-¹H (270,1 MHz) y ⁻¹³C (67,9 MHz) en CDCl₃: ver valores en la tabla 1.

11-Metoxitubotaiwina 4: sustancia oleosa ligeramente amarilla. UV (λ_{\max} , nm; EtOH): 206, 251, 301(sh), 324. IR (ν_{\max} , cm⁻¹): 3344 (NH), 2954 (CH), 1667 y 1593 (-N-C=C-COOCH₃), 1484, 1443, 1232, 1139, 1110, 748. MS-IES [m/z, intensidad relativa (%): 355 (26), 323 (100). RMN-¹H (270,1 MHz) y ⁻¹³C (67,9 MHz) en CDCl₃: ver desplazamientos químicos de la tabla 1.

Picralinal 5: sustancia oleosa ligeramente amarilla. UV (λ_{\max} , nm, EtOH): 204, 234(sh), 289. IR (ν_{\max} , cm⁻¹): 3296 (NH), 1712 (C=O), 1600 (C=C anillos aromáticos), 1180 (C-O) y 740. MS-IE [m/z; intensidad relativa (%): 366 (30), 337 (20), 327(55), 152 (65), 79 (100). RMN-¹H (270,1 MHz) y ⁻¹³C (67,9 MHz) en CDCl₃: ver datos de la tabla 2.

Picrinina 6: sustancia oleosa ligeramente amarilla. UV (λ_{\max} , nm, EtOH): 205, 230(sh), 286. IR (ν_{\max} , cm⁻¹): 3391 (NH), 1724 (C=O), 1611 y 1464 (C=C anillos aromáticos) 1168 (C-O) y 740. MS-IE [m/z; intensidad relativa (%): 338 (27), 239 (89), 180(58), 130 (64), 77 (100). RMN-¹H (270,1 MHz) y ⁻¹³C (67,9 MHz) en CDCl₃: ver valores en la tabla 2.

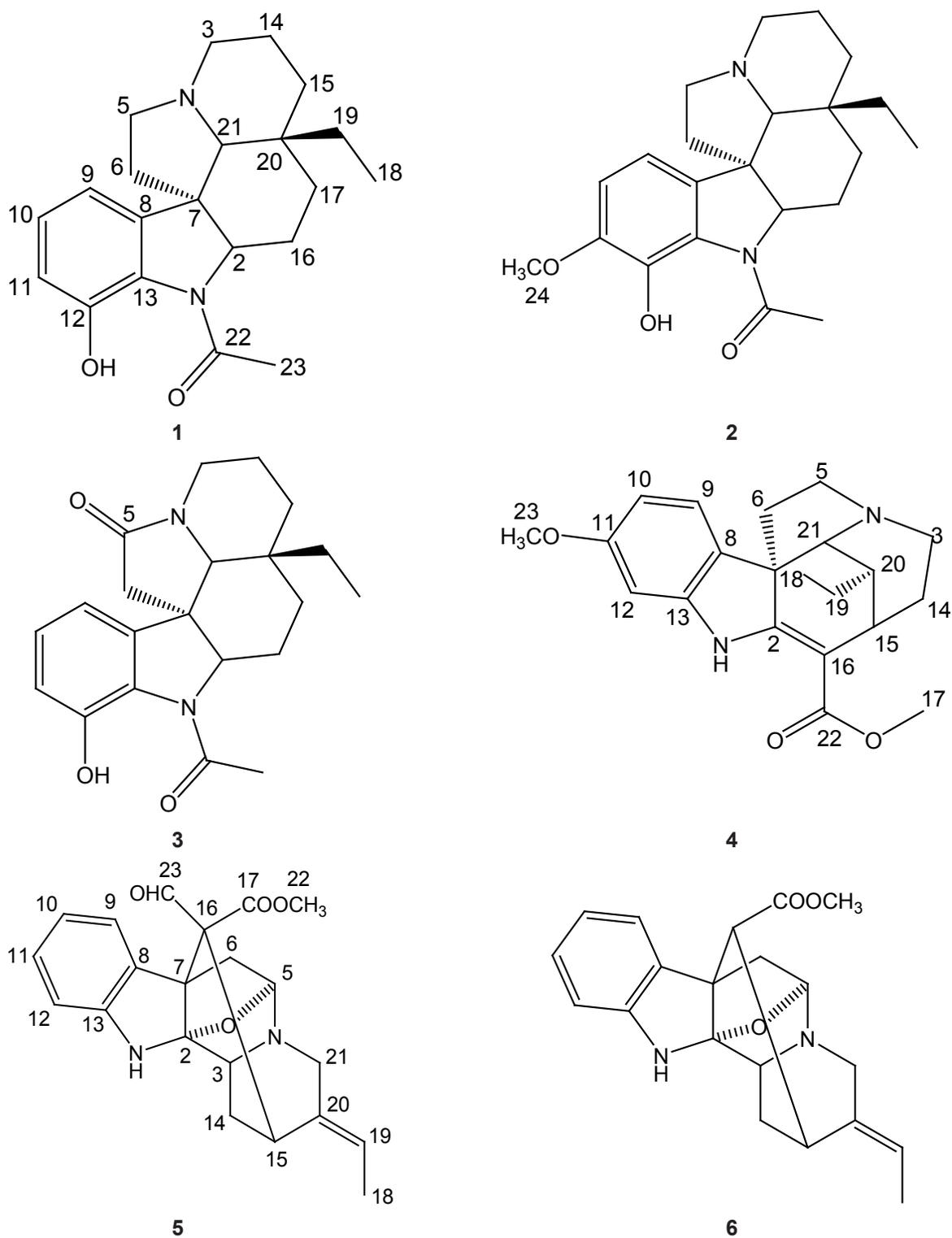


Figura 1. Alcaloides indólicos aislados de la corteza y las hojas de *A. cuspa*.

Tabla 1

Datos de RMN de los alcaloides indólicos de la corteza de *A. cuspa*, δ en ppm (multiplicidad; J en Hz)

N°	1		2		3		4	
	RMN- ¹³ C	RMN- ¹ H	RMN- ¹³ C	RMN- ¹ H	RMN- ¹³ C	RMN- ¹ H	RMN- ¹³ C	RMN- ¹ H
2	69,6	4,02 (c; 10; 5)	70,3	4,02 (c; 11; 6)	68,0	3,86 (c; 10,8; 4,9)	170,9	-
3	53,6	3,02 (d; 10), 1,93 (m)	53,8	1,98 (m) 3,04 (m)	40,7	4,15 (m), 2,64 (m)	45,3	2,91 (m) 2,41 (m)
5	52,7	3,09 (t; 5), 2,23 (m)	52,5	2,25 (m) 3,08 (m)	171,8	-	53,9	2,95 (m) 2,82 (m)
6	39,1	2,01 (m), 1,54 (m)	39,4	1,59 (m) 2,02 (m)	46,3	2,47 (d; 17), 2,21 (dd; 16,7;1,4)	44,0	2,82 (m) 1,78 (m)
7	52,5	-	52,2	-	48,1	-	54,5	-
8	141,2	-	133,2	-	137,4	-	129,4	-
9	113,4	6,65 (d; 7,3)	112,4	6,59 (d; 8)	118,9	6,87 (dd; 8,1;1,2)	120,0	6,97 (d; 9,1)
10	127,7	7,01 (t; 7,8)	110,1	6,65 (d; 8)	128,2	7,08 (t; 7,9)	105,5	6,35 (d; 9,1)
11	117,5	6,75 (d; 8)	149,4	-	113,1	6,71 (dd; 7,3;1,2)	159,6	-
12	147,7	-	137,6	-	147,5	-	97,2	6,39 (s)
13	127,7	-	127,6	-	127,0	-	144,8	-
14	21,4	1,69 (m), 1,48 (m)	21,5	1,51 (m)	18,8	1,74-1,59 (m)	28,5	1,78 (m)
15	33,9	1,62 (m), 1,07 (m)	34,1	1,65 (m)	33,6	1,74-1,59 (m) 1,28-1,20 (m)	30,9	3,01
16	25,0	1,81 (m), 1,46 (m)	25,2	1,51 (m) 1,82 (m)	23,3	1,84-1,79 (m)	95,9	-
17	22,8	1,93 (m), 1,10 (m)	23,0	1,14 (m) 1,99 (m)	22,1	1,74-1,59 (m) 1,28-1,20 (m)	51,1	3,74 (s)
18	6,7	0,61 (t; 7,4)	6,8	0,61 (t; 7,4)	6,7	0,67 (t; 7,4)	11,6	0,71 (t; 6,4)
19	30,3	1,31 (c; 14,3; 7,4) 0,83 (c; 14,3; 7,4)	30,1	0,83 (c; 14; 7) 1,40 (m)	29,6	1,31 (m), 0,92 (c; 14,5; 7,4)	23,9	0,81 (m)
20	35,5	-	35,5	-	34,7	-	41,3	1,94 (m)
21	70,7	2,23 (s)	70,7	2,20 (s)	63,9	3,68 (s)	65,4	3,79 (m)
22	169,2	-	169,4	-	169,4	-	169,0	-
23	22,7	2,28 (s)	22,7	2,29 (s)	22,7	2,30 (s)	55,5	3,76 (s)
24	-	-	56,5	3,84 (s)	-	10,76 (s)	-	-
OH		10,84 (s)	-	10,92 (s)		-		-
NH								8,80 (s)

Tabla 2
 Datos de RMN de los alcaloides indólicos de las hojas de *A. cuspa*, δ en ppm (multiplicidad; *J* en Hz)

N°	5		6	
	RMN- ¹³ C	RMN- ¹ H	RMN- ¹³ C	RMN- ¹ H
1	-	4,82 (d; 2,4)	-	4,85 (da)
2	106,1	-	106,4	-
3	51,9	3,58 (sa)	51,9	3,64 (sobrepuesto)
5	87,5	4,82 (d; 2,4)	87,2	4,85 (da)
6	46,6	3,51 (d; 14) 2,44 (dd; 14, 2,7)	40,1	3,38 (d; 13,8) 2,22 (dd; 13,8, 2,8)
7	53,6	-	51,2	-
8	136,4	-	135,1	-
9	126,2	7,30 (d; 6,6)	125,1	7,10 (d; 7,4)
10	121,7	6,88 (t; 6,6)	121,0	6,77 (d; 7,6)
11	128,9	7,12 (ddd; 16,5; 7,6; 1,2)	128,1	7,04 (dd; 6,4; 1,2)
12	110,8	6,71 (d; 7,9)	110,7	6,72 (d; 7,4)
13	147,8	-	147,5	-
14	22,6	2,21 (da; 13,5) 1,94 (dc; 14; 3)	25,8	2,12 (ddd; 14,2) 1,82 (dd; 14,3; 3,4)
15	31,6	3,67 (sobrepuesto)	30,9	3,28 (sa)
16	65,3	-	51,7	2,41 (d; 3,2)
17	168,2	-	172,4	-
18	12,9	1,48 (dd; 7; 2,2)	12,8	1,45 (dd; 6,9; 2,2)
19	120,9	5,38 (c; 7,1)	120,9	5,39 (ca; 6,9)
20	131,8	-	135,0	-
21	43,5	3,77 (dt; 18; 2,7) 3,09 (d; 17,7)	46,1	3,74 (m) 3,07 (d; 17,8)
22	52,6	3,68 (s)	51,5	3,64 (s)
23	197,3	8,56 (s)	-	-

Resultados y discusión

Los compuestos aislados mostraron en CCF una coloración anaranjada con el reactivo de Dragendorff que sugiere una estructura alcaloidal. El espectro UV de los compuestos **1-3** exhibe absorciones máximas (ver sección anterior) que indican la existencia de un cromóforo N-acetildihidroindol (9). En el espectro IR de los compuestos **1-2** se observan bandas de absorción de grupos OH, CH

alifáticos, C=O del N-acetilo, C=C de anillos aromáticos (ver sección anterior). El espectro de RMN-¹H del compuesto **1** muestra señales características de un alcaloide tipo aspidospermina (9,12) (tabla 1): un triplete a δ 0,61 ppm ($J = 7,4$ Hz) y dos cuartete a δ 0,83 y 1,31 ppm ($J = 14,3; 7,4$ Hz c/u) correspondientes a la cadena etilo lateral, dos singletes a δ 2,28 y 2,23 ppm característicos de los protones metílicos del grupo N-acetilo y H-21, respectivamente, un doblete a δ 3,02

ppm ($J = 10$ Hz) y un triplete a δ 3,09 ppm ($J = 5$ Hz) inherentes a los protones H-3 α y H-5 α , respectivamente. Estas asignaciones se deben a la cercana proximidad de los protones al par de electrones del N en posición 4. Un cuartete a δ 4,02 ppm ($J = 10; 5$ Hz) característico de H-2, un doblete a δ 6,65 ($J = 7,3$ Hz) y 6,75 ppm (d, $J = 8,0$ Hz) y un triplete a δ 7,01 ppm ($J = 7,8$ Hz) correspondiente a tres protones aromáticos y un singlete a δ 10,84 ppm atribuible al protón de un hidroxilo fenólico en posición C-12. Los protones aromáticos son asignables a H-9, H-11 y H-10, respectivamente, debido

a sus multiplicidades y al efecto electrónico ejercido por el grupo OH en C-12. Por otra parte, el espectro muestra un total de 28 protones, a través de la integración de todas las señales. El espectro COSY ^1H - ^1H confirma la conexión entre H-10 y sus protones aromáticos vecinos, así como la correlación entre los protones de la cadena etilo lateral. También permite identificar los protones H-16 α , H-16 β y H-17 α , H-17 β a partir de H-2 y los protones H-6 α , H-6 β a partir de las correlaciones con los protones de H-5 α y H-5 β (figura 2). El espectro de RMN- ^{13}C presenta las señales de 21 átomos de carbono, los cuales

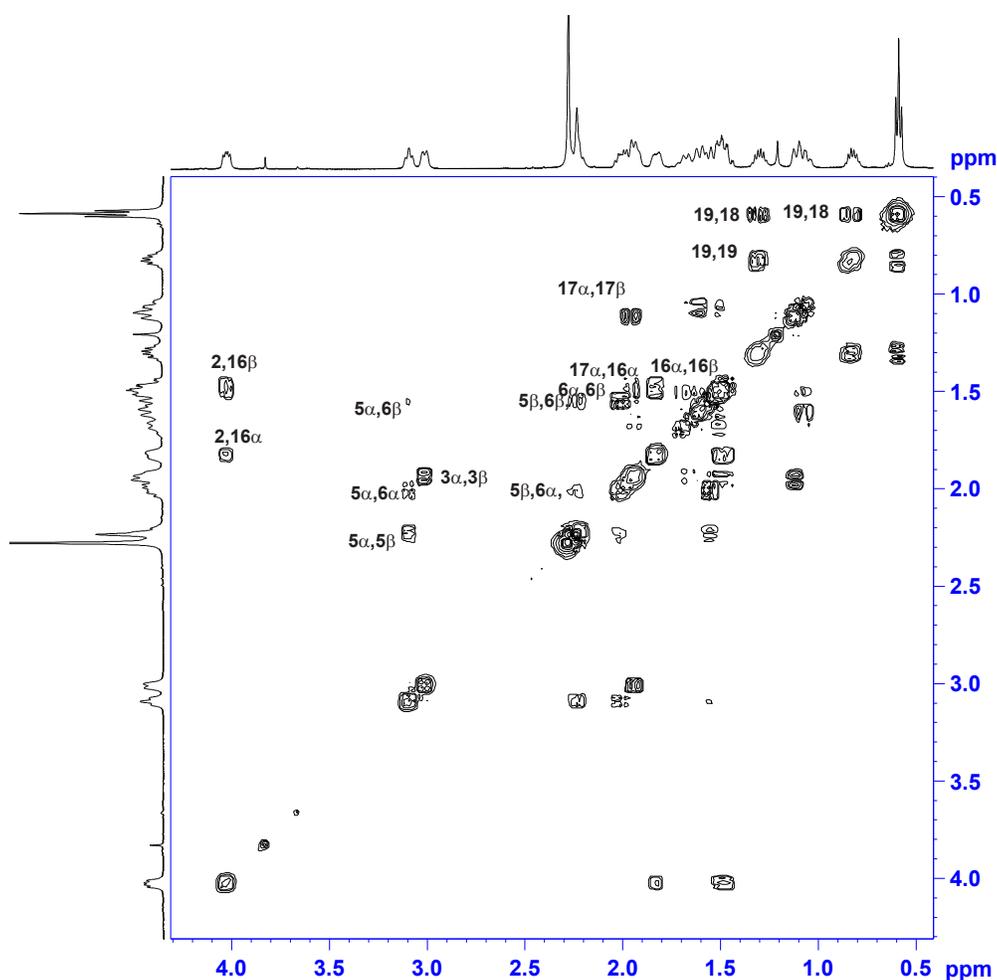


Figura 2. Espectro COSY ampliado del compuesto 1 en $\text{CDCl}_3/500$ MHz.

fueron discriminados a través del experimento DEPT 135 de la siguiente manera: 2 metilos, 8 metilenos, 5 metinos y 6 carbonos cuaternarios (tabla 1). Las señales del carbono cuaternario a δ 169,2 ppm y del metilo a δ 22,7 ppm indican la presencia del grupo N-acetilo. El espectro HMQC muestra las señales del carbono metileno a δ 30,3 ppm y del metilo a δ 6,7 ppm, que corroboran la existencia de la cadena de etilo lateral. Las señales de los carbonos metinos a δ 113,4; 127,7 y 117,5 ppm corresponden a los protones aromáticos H-9, H-10 y H-11, respectivamente. El espectro HMBC confirma estas asignaciones y permite identificar las señales de los carbonos cuaternarios a δ 147,2, 141,2 y 126,8 ppm como C-12, C-8 y C-13, respectivamente. La señal a δ 52,5 ppm se asigna al carbono cuaternario C-7 por su acoplamiento a tres enlaces con H-9 y a dos enlaces con H-2, H-21 y H-6 α , así como la señal a δ 35,5 ppm se atribuye al carbono cuaternario C-20 por su vinculación al grupo etilo lateral. Todos estos datos sugieren la fórmula molecular $C_{21}H_{28}N_2O_2$.

El espectro de MS-IE muestra un ión molecular en m/z 340, que corrobora la fórmula molecular sugerida. También exhibe el patrón de fragmentación típico de los alcaloides tipo aspidospermina (10). El fragmento m/z 312 (M^+-28) se origina de la fragmentación de una unidad de etileno, así como los fragmentos m/z 152 y 125 son productos de la ruptura de dos y tres enlaces, respectivamente. En el espectro también se observa los fragmentos m/z 298 (M^+-42) y 282 (M^+-58), que confirman la presencia de los grupos acetilo e hidroxilo.

Luego de comparar los datos espectroscópicos obtenidos con los reportados en la literatura para compuestos relacionados (11-13) el compuesto **1** pudo ser identificado como o-demetilaspidospermina (figura 1). Este alcaloide también fue aislado en otras especies de *Aspidosperma*: *A. discolor*, *A. eburneum*, *A. excelsum*, *A. neblinae* y *A. pyricollum* (2), pero es la primera vez que se reporta para *A. cuspa*. Un estudio *in vi-*

tro muestra la actividad antiplasmódica del o-demetilaspidospermina frente al *Plasmodium falciparum* (14).

El espectro de RMN- 1H del compuesto **2** muestra señales similares a las de **1** (tabla 1), excepto las que aparecen a δ 6,59 y 6,65 ppm (d, $J = 8$ Hz c/u), correspondientes a dos protones aromáticos dispuestos en posición orto, y la señal a δ 3,84 ppm (s) que integra para tres protones, características de un grupo metoxilo aromático. El espectro COSY 1H - 1H fue muy similar al del compuesto **1** (figura 2). Exhibe las correlaciones entre los protones aromáticos, los de la cadena etilo lateral, las del proton H-2 con los protones H-16 α , H-16 β y H-17 α , H-17 β , así como las de los protones H-5 α y H-5 β y los protones H-6 α y H-6 β . El espectro de RMN- ^{13}C DEPT 135 y HETCOR muestran las señales de 22 átomos de carbono (3 metilos, 8 metilenos, 4 metinos y 7 carbonos cuaternarios) (tabla 1). Las señales del carbono cuaternario y metilo a δ 169,4 y 22,7 ppm, evidencian la presencia del grupo N-acetilo. La señal a δ 56,5 ppm corresponde al grupo metoxilo del anillo aromático, mientras que las señales a δ 30,1 y 6,8 ppm caracterizan la cadena etilo lateral. La señal del carbono metino a δ 112,4 se asigna a C-9 así como la señal a δ 110,1 ppm a C-10. El espectro HETCOR long range permitió identificar las señales de los carbonos cuaternarios a δ 149,4, 137,6, 133,2 y 127,6 ppm como C-11, C-12, C-8 y C-13, respectivamente. Además, evidencia la posición del grupo metoxilo en C-11. Estos datos sugieren la fórmula molecular $C_{22}H_{30}N_2O_3$. El espectro de MS-IE muestra un ión molecular en m/z 370, el cual corrobora la fórmula molecular anterior.

Se observa los picos m/z 342 (M^+-28), 152 y 125 característicos de los alcaloides tipo aspidospermina, así como el fragmento en m/z 327 (M^+-43) que confirma la existencia del grupo acetilo. Luego de comparar los datos espectroscópicos obtenidos con los publicados en la literatura (15), el compuesto **2** fue identificado como aspidocarpina (figura 1). Este fue reportado también en las espe-

cies *A. album*, *A. formosanum*, *A. limae*, *A. marcgravianum*, *A. megalocarpon*, *A. neblinae*, *A. oblongum*, *A. obscurinervium* y *A. olivaceum* (2). La aspidoscarpina mostró ser bastante activa frente a *Plasmodium falciparum* K1 (16).

El espectro IR del compuesto **3** exhibe bandas de absorción semejantes a las de **1** y **2**, excepto la banda en 1680 nm, atribuible a una lactama de cinco miembro (17). El espectro de RMN-¹H presenta señales muy similares a las de **1** (tabla 1): un singlete a δ 10,76 ppm característico del protón de un hidroxilo fenólico en posición C-12; un triplete a δ 7,08 ppm ($J = 7,9$ Hz), un doblete de doblete a δ 6,87 ($J = 8,1$ y $1,2$ Hz) y 6,71 ppm (d, $J = 7,3$ y $1,2$ Hz), inherentes a tres protones aromáticos; un singlete a δ 2,30 ppm, característico de los protones metílicos del grupo N-acetilo; un multiplete a δ 1,31, un cuartete a 0,92 ($J = 14,5$; $7,4$ Hz) ppm y un triplete a δ 0,67 ppm ($J = 7,4$ Hz), correspondientes a la cadena etilo lateral. Así mismo, se observa las señales a δ 4,15 (m), 3,86 (c; $J = 10,8$; $4,9$ Hz) y 3,68 ppm (s), que integran para un protón cada una y en base a su multiplicidad son asignables a los protones H-3 α , H-2 y H-21, respectivamente. Por otra parte, aparece un doblete ancho a δ 2,54 ($J = 17$ Hz) ppm y un doblete de doblete ancho a δ 2,27 ($J = 16,7$; $1,4$ Hz) ppm, característicos de protones no equivalentes atribuibles a un metileno (H6 α y H6 β) adyacente a un grupo carbonilo y a un carbono cuaternario. El espectro COSY ¹H-¹H exhibe claramente la correlación entre las señales de los protones aromáticos, los de la cadena etilo lateral, así como entre los protones no equivalentes. Además, se puede distinguir los protones H-16 α y H-16 β a partir de H-2. El espectro de RMN-¹³C, DEPT 135 y HECTOR señalan la presencia de 21 átomos de carbonos (2 metilos, 7 metilenos, 5 metinos y 7 carbonos cuaternarios). Al comparar estas señales con las del compuesto **1** (tabla 1) se observa que un carbono metileno fue reemplazado por el carbono cuaternario que aparece en δ 171,8 ppm, atribuible al carbono carbonilo de la función lactama. También se observa despla-

zamientos químicos significantes hacia campo alto de las señales asignadas a C-3 (δ 40,7 ppm), C-7 (δ 48,1 ppm) y C-21 (δ 63,9 ppm), los cuales se atribuyen al efecto anisotrópico diamagnético producido por el grupo carbonilo de la amida.

Por otra parte, las señales a δ 169,2 (C) y 22,7 (CH₃) ppm corresponden al grupo del N-acetilo, las señales a δ 29,6 (CH₂) y 6,7 (CH₃) ppm, a la cadena etilo lateral y las señales que aparecen a δ 147,5 (C); 137,4 (C); 128,2 (CH); 127,2 (C); 113,1 (CH) y 118,9 (CH) ppm se atribuyen a los carbonos aromáticos del núcleo dihidroindólico C-12, C-8, C-10, C-13, C-11 y C-9, respectivamente. Finalmente, todos estos datos sugieren una fórmula molecular C₂₁H₂₆N₂O₃. El espectro de MS-IE muestra un ión molecular en m/z 354, que confirma la fórmula molecular sugerida y el fragmento m/z 312 (M⁺-43) indica la presencia del grupo acetilo. Estos datos espectroscópicos fueron comparados con los de la literatura de compuestos relacionados (17-19), así como con los obtenidos a través del programa ACD lab y Chem 3D.

El compuesto **3** pudo ser identificado como 5-oxo-o-demetilaspidospermina (figura 1), el cual se describe por primera vez en este trabajo. El espectro UV del compuesto **4** muestra absorciones máximas 251, 301(sh) y 324 nm, características de un cromóforo α -metilenindolina (9). El espectro IR exhibe bandas de absorción debido a funciones amina (3344 cm⁻¹) y éster conjugado (1667 y 1593 cm⁻¹), que sugieren una estructura β -anilinoacrilato -N-C=C-COOCH₃ (20). En el espectro RMN-¹H se observa a campo bajo un singlete ancho en δ 8,80 ppm, inherente a un grupo NH, dos dobletes a δ 6,97 y 6,35 ($J = 9,1$ Hz c/u) ppm y un singlete a δ 6,39 ppm, correspondientes a tres protones aromáticos. Seguidamente aparecen dos singletes a δ 3,76 y 3,74 ppm, que integran para tres protones cada uno, característicos de dos grupos metoxilos, así como un multiplete a δ 0,81 (m) ppm y un triplete a δ 0,71 ($J = 6,4$ Hz) ppm, atribuibles a un grupo etilo (tabla 1). En el espectro COSY ¹H-¹H se observa

claramente la correlación entre estas últimas señales confirmando la existencia este grupo. El espectro de RMN-¹³C y HETCOR indican la existencia de 21 átomos de carbonos (tabla 1).

A través del experimento DEPT-135 se identificaron: 3 metilos, 5 metilenos, 6 metinos y 7 carbonos cuaternarios. Las resonancias a δ 170,9 (C); 95,9 (C); 169,0 (C) y 51,1 (CH₃) ppm se atribuyen al grupo β -anilinoacrilato (-N-C=C-COOCH₃). Las señales a δ 159,6 (C); 144,8 (C); 129,4 (C); 120,0 (CH); 105,5 (CH) y 97,2 (CH) ppm corresponden a los carbonos aromáticos (anillo indolina) C-11, C-13, C-8, C-9 C-10 y C-12, respectivamente, por las correlaciones a tres enlaces observadas en el espectro HETCOR long range, así como la señal a δ 55,5 (CH₃) ppm característica de un sustituyente metoxilo aromático. Las señales de carbono de la parte no aromática son muy parecidas a las reportadas para el alcaloide indólico tubotaiwina (21). Por lo tanto, los datos obtenidos sugieren la fórmula molecular C₂₁H₂₆N₂O₃. El espectro de MS-IES exhibe un ion [M+H]⁺ en m/z 355, que corrobora la fórmula molecular sugerida y los fragmentos m/z 323 y 295 confirman la existencia de un grupo CH₃O y COOCH₃, respectivamente. Finalmente, por comparación de estos datos espectroscópicos con los de compuestos relacionados reportados en la literatura (13, 21), el compuesto **4** pudo ser identificado como 11-metoxitubotaiwina (figura 1). Este alcaloide también fue aislado de la especie *A. excelsum* y presentó actividad antimicrobiana frente a *Bacillus subtilis* (13). El espectro UV de los compuestos **5** y **6** exhibe absorciones máximas similares, características de un cromóforo indolina (9), mientras el espectro IR presenta bandas atribuibles a grupos: amina, CH, C=C aromático y éter.

El espectro de RMN-¹H del compuesto **5** revela la presencia de una unidad aromática orto-sustituída [δ 7,30 (1H; d; J = 6,6 Hz); 7,12 (1H; ddd; J = 16,5; 7,6; 1,2 Hz), 6,88 (1H; t; J = 6,6 Hz) y 6,71 (1H; d; J = 7,9 Hz) ppm], una cadena etilénica lateral [δ 5,38

(1H; q; J = 7,1 Hz) y 1,48 (3H; dd, J = 7; 2,2 Hz) ppm] y un grupo carbometoxilo [δ 3,68 (3H, s) ppm] (tabla 2). Estas señales caracterizan a los alcaloides indólicos tipo picralina. Adicionalmente, la señal a δ 4,82 (2H; d; J = 2,4 Hz) ppm integra para dos protones, uno de los cuales se encuentra fuertemente desapantallado por heteroátomos vecinos y el otro se atribuye a un grupo NH. Los espectros de RMN-¹³C y DEPT 135 muestran las señales de 21 átomos de carbonos (2 metilos, 3 metilenos, 9 metinos y 7 carbonos cuaternarios).

La señal del metino a δ 197,3 ppm y del protón a δ 8,56 (s) ppm se atribuyen a un grupo aldehído (tabla 2). Las señales a δ 168,2 (C) y 52,6 (CH₃) ppm confirman la presencia de un grupo carbometoxilo, mientras que las señales a δ 106,1 (C) y 87,5 (CH) ppm sugieren un grupo éter entre dos carbonos (tabla 2). El espectro MS-IE exhibe un ion molecular [M⁺] a m/z 366, consistente con la fórmula molecular C₂₁H₂₂N₂O₄. Al comparar los datos espectroscópicos obtenidos con los reportados en la literatura (22, 23), el compuesto **5** fue identificado como picralinal (figura 1). Los espectros de RMN-¹³C y DEPT 135 del compuesto **6** exhiben las señales de 20 átomos de carbonos (2 metilos, 3 metilenos, 9 metinos y 6 carbonos cuaternarios). Los datos de RMN-¹³C y ¹H son similares a los de **5** (tabla 2), excepto por la ausencia de las señales correspondientes al grupo aldehído y la aparición de las señales a δ 51,7 y 2,41 (1H; d; 3,2) ppm, atribuibles al grupo metino en posición 16. El espectro MS-IE muestra un ion molecular [M⁺] a m/z 338, consistente con la fórmula molecular C₂₀H₂₂N₂O₃. Luego de comparar estos datos con los reportados en la (22, 23), el compuesto **6** pudo ser identificado como picrinina (figura 1). Los alcaloides **5** y **6** son reportados por primera en el género *Aspidosperma*. Ensayos biológicos *in vivo* e *in vitro* demostraron la actividad antiinflamatoria de picralinal y el efecto analgésico, antiinflamatorio, antitussivo y antiasmático de picrinina (24, 25).

Conclusiones

La corteza y las hojas de *Aspidosperma cuspa* mostraron ser una fuente promisoría de alcaloides indólicos. De los extractos orgánicos se aislaron seis alcaloides, o-demetilaspidospermina **1**, aspidocarpina **2**, 5-oxo-o-demetil-aspidospermina **3**, el cual no había sido reportado antes, según la revisión bibliográfica, 11-metoxitubotaiwina **4**, picralinal **5** y picrinina **6**. Estos últimos son reportados por primera vez para la especie. El aislamiento o-demetilaspidospermina también representa una contribución a la caracterización de esta molécula, pues se han completado los datos espectroscópicos. Finalmente, la continuación del estudio de la especie *Aspidosperma* se hace necesario debido a que esa clase de alcaloides poseen un espectro de actividades biológicas comprobadas, entre las cuales se destaca la actividad antiplasmódica.

Agradecimientos

Al Instituto de Investigaciones Farmacéuticas (IIF: 02/2009) y al CDCH de la Universidad Central de Venezuela por el financiamiento recibido.

Referencias bibliográficas

1. STEYERMARCK J., BERRY P., HOLST B. *Flora of the Venezuelan Guayana*. Missouri Botanical Garden Press. St. Louis. USA. 3: 181-84, 376. 1995.
2. PEREIRA M., JÁCOME R., ALCÁNTAR A., ALVES R., RASIAN D. *Quím Nova* 30(4): 970-83. 2007.
3. OLIVEIRA V., FREITAS M., MATHIAS L., BRAZ-FILHO R., VIERA I. *Rev Bras Pl Med Botucatu* 11(1): 92-99. 2009.
4. GUPTA M. *270 Plantas Medicinales Ibero-americanas*. CYTED. 39-40. 1995.
5. PITTERIE H. *Manual de las plantas usuales de Venezuela*. Litografía del comercio. Universidad de Texas. 110. 1926.
6. CRUCEIRO J., GILBERT B. *Phytochem* 15: 543-44. 1976.
7. BURNELL R., MEDINA J. *Phytochem* 7: 2045-51. 1968.
8. PEREZ N., TORRICO F., MORALES A. *J Ethnopharmacol* 143: 599-602. 2012.
9. MANSKE R. *The Alkaloids. Chemistry and Physiology*. Academic Press INC. New York. 8. 367-95. 1965.
10. BUDZIKIEWICZ H., DJERASSI C., WILLIAMS D. *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, 1, Alkaloids*, Holden Day INC. San Francisco. London. Amsterdam. 98-126. 1964.
11. ZÉCHES M., MESBAH K., RICHARD B., MORETTI C., NUZILLARD J., LE MEN-OLIVIER L. *Planta Med* 61: 89-91. 1995.
12. CAMPBELL W., JACKSON G., RAVENSCROFF N. *Spectroscopy Lett* 26(4): 707-19. 1993.
13. VERPOORTE R., KOS-KUYCK E., TJIN A TOSÍ A., RUIGROK C., DE JONG G., BAERHEIM A. *Planta Med* 48: 283-89. 1983.
14. MITAINE-OFFER A., SAUVAIN M., VALENTIN A., CALLAPA M., MALLIE M., ZECHES-HANROT M. *Phytomed* 9: 142-45. 2002.
15. MCLEAN S., PALMER K., MARION L. *Can J Chem* 38: 1547-56. 1960.
16. DE ANDRADE-NETO V., POHLIT A., PINTO A., SILVA E., NOGUEIRA K., MELO M., HENRIQUE M., AMORIM R., SILVA L., COSTA M., NUNOMURA R., NUNOMURA S., ALECRIM W., ALECRIM M., CHAVES F., VIEIRA P. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102(3): 359-65. 2007.
17. WENKERT E., PESTCHANKER M. *J Org Chem* 53: 4875-77. 1988.
18. CAVA M., TJOA S., AHMED Q., DA ROCHA A. *J Org Chem* 33(3): 1055-59. 1968.
19. ACHENBACH H. *Tetrahedron Lett* 19: 1793-97. 1967.
20. MANSKE R., RODRIGO R. *The Alkaloids. Chemistry and Physiology*. Academic Press

- INC. New York. San Francisco. London. 17. 147-54, 354-62. 1979.
21. SCHRIPEMA J., VAN BEEK T., VERPOORTE R. **J of Nat Prod** 50(1): 89-101. 1987.
22. ABE F., CHEN R., YAMAUCHI T., MARUBAYASHI N., UEDA I. **Chem Phar Bull** 37(4): 887-90. 1989.
23. WONGSERIPATANA S., CHAISRI L., SRI-TULARAK B., LIKHITWITAYAWVID K. **Thai J Pharm Sci** 28(3-4): 173-80. 2004.
24. SHANG J., CAI X., FENG T., ZHAO Y., WANG J., FENG T., YAN M., LUO X. **J of Ethnopharmacol** 129: 293-98. 2010.
25. SHANG J., CAI X., FENG T., ZHAO Y., WANG J., ZHANG L., YAN M., LUO X. **J of Ethnopharmacol** 129: 174-81. 2010.