

NOTA TÉCNICA

Alcaloides de la corteza de *Aspidosperma quebracho-blanco* Schltdl. del Chaco paraguayo

Alkaloids from the bark of Aspidosperma quebracho-blanco Schltdl. from the Paraguayan Chaco

L. P. Chaparro¹; M. R. Chena Galeano²; M. L. Grau Torales³; L. M. Gamarra Ruiz Diaz⁴ y A. González Yaryes⁵

¹ Licenciada en Ciencias mención Química, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción, Campus UNA Km 11 San Lorenzo, Paraguay. E-Mail: laura.chaparro@agr.una.py

² Licenciado en Ciencias mención Química, Centro Experimental Biológico Quiloperone, Piribebuy, Paraguay. E-mail: ricar.gal.08@gmail.com

³ Licenciada en Ciencias mención Química, Facultad de Ciencias Exactas Y Naturales, Universidad Nacional de Asunción, Campus UNA Km 11 San Lorenzo, Paraguay. E-mail: letiziagrau91@gmail.com

⁴ Ingeniera Forestal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción, Campus UNA Km 11 San Lorenzo, Paraguay. E-mail: lila.gamarra@agro.una.py

⁵ Ingeniero agrónomo, investigador independiente. Asunción, Paraguay. E-mail: alberto.gy@hotmail.com

Recibido en junio de 2023; Aceptado en octubre de 2023

RESUMEN

Aspidosperma es un género forestal ampliamente conocido por su riqueza en metabolitos biológicamente activos, distribuyéndose en varias zonas del continente americano. Sus usos en la medicina tradicional se encuentran bien documentados, tal es así que se conocen medicamentos obtenidos a partir de ciertas especies y utilizados en terapias específicas dentro de la medicina moderna. El objetivo de esta investigación fue identificar los alcaloides presentes en la fracción orgánica obtenida a partir del extracto acuoso de la corteza de *Aspidosperma quebracho-blanco* Schltdl. colectada en una región del Chaco paraguayo empleando como método cromatografía gaseosa acoplada a espectrómetro de masas GC - MS. Mediante los espectros obtenidos se han identificado 17 alcaloides entre los cuales se encontraron aquellos más representativos del género como quebrachamina y aspidospermina. Por otro lado, el hallazgo de quinidina y neprotina resulta relevante desde el punto de vista químico y etnobotánico debido a las propiedades biológicas atribuidas a dichos metabolitos. La caracterización química del vegetal podría contribuir al conocimiento fitoquímico del género y sus especies distribuidas en el territorio paraguayo, para su exploración como fuente de moléculas aplicables en diversos campos de la ciencia como la química, agronomía y salud.

Palabras clave: Neprotina, quebrachamina, cromatografía gaseosa acoplada a espectrómetro de masas, aspidospermina, fitoquímica, forestal.

ABSTRACT

Aspidosperma is a forest genus widely known for its richness in biologically active metabolites, spread through the various areas of the American continent. Its uses in traditional medicine are well documented, so much so that there are known medicines obtained from certain species and used in specific therapies in modern medicine. The objective of this research was to identify the alkaloids present in the organic fraction obtained from the aqueous extract of *Aspidosperma quebracho-blanco* Schltdl. bark collected in a region of the Paraguayan Chaco using gas chromatography coupled to GC-MS mass spectrometer. Out of the spectra obtained, 17 alkaloids have been identified, being quebrachamina and aspidospermina the most representative of this genus. On the other hand, the finding of quinidine and neprotin is relevant from the chemical and ethnobotanical point of view due to the biological properties attributed to these metabolites. The chemical characterization of the plant could contribute to the phytochemical knowledge of the genus and its species distributed along the Paraguayan territory, for its exploration as a source of molecules applicable in various fields of science such as chemistry, agronomy and health.

Key words: Neprotin, quebrachamine, gas chromatography coupled to mass spectrometer, aspidospermine, phytochemistry, forestry.

1. INTRODUCCIÓN

Los recursos vegetales han sido partícipes fundamentales en el desarrollo de varias culturas en el mundo. Las sustancias obtenidas de la naturaleza, mediados por el conocimiento ancestral se materializan en fitoterápicos utilizados por la medicina contemporánea para el tratamiento de diversas afecciones del ser humano, como alternativa a medicamentos de origen sintético. *Aspidosperma* es un género ampliamente conocido por su riqueza en metabolitos biológicamente activos, entre los que predominan los alcaloides de tipo indol, aunque también han sido reportados flavonoides, triterpenos, ácidos orgánicos y saponinas de ciertas especies (Nishibe *et al.*, 2001; Oliveira *et al.*, 2009; de Almeida *et al.*, 2019). Sus usos en la medicina tradicional se encuentran documentados como antimalárico, para el tratamiento de reumatismo y fiebre (de Almeida *et al.*, 2019), como abortivo, depurador de la sangre y anticólico (Degen Naumann y Mereles, 1997). En Paraguay, la corteza de *Aspidosperma quebracho-blanco* puede ser adquirida en tiendas de herbolaria situadas en mercados populares. La misma es consumida en formas de decocción, infusión o mate ya que se le atribuye variadas propiedades para el alivio de dolores estomacales, como diurético, en el tratamiento de intoxicaciones, asma, tos, úlcera de estómago, hemorroides, parásitos intestinales, lavado de heridas y úlceras, entre otros (Degen Naumann y Mereles, 1997; Peña-Chocarro *et al.*, 2006; Friesen Ratzlaff, 2017). La corteza contiene colorante amarillo y varios principios medicinales, además de ser rica en taninos así como las hojas (Lorenzi, 2013). Mientras que en la medicina moderna se prescriben medicamentos, preparados a partir de la corteza, para el tratamiento de patologías como la disfunción eréctil masculina (Sperling *et al.*, 2002). Extractos obtenidos de ciertas especies de *Aspidosperma* demostraron, en ensayos *in vitro*, mecanismos antitumorales sobre células de cáncer humano (Stiborová *et al.*, 2011), actividad antiplasmodial (Mitaine-Offer *et al.*, 2002) y leishmanicida frente a promastigotes de *Leishmania (L.) amazonensis* (Tanaka *et al.*, 2007). El extracto acuoso de partes aéreas de *quebracho-blanco* demostró *in vitro* un efecto protector sobre células murinas expuestas a un agroquímico de uso frecuente (Scotta *et al.*, 2017). El género se distribuye en varias zonas del continente americano, desde México hasta la Argentina (Bernardi, 1984). Existen 11 especies registradas para el Paraguay, entre ellas se encuentran especies de valor económico elevado y de gran importancia ecológica, como *Aspidosperma polyneuron* Müll. Arg. cuya madera es dura y pesada pudiendo utilizarse en construcciones, muebles y aplicaciones navales, entre otras (Ortega Torres *et al.*, 1989) siendo su hábitat el Bosque Húmedo de la región Oriental (Pérez de Molas, 2016) y *Aspidosperma quebracho-blanco* Schlttdl. cuya madera es utilizada en la fabricación de carbón y tableros (Sanabria *et al.*, 2007; Sanabria *et al.*, 2011) distribuyéndose en el Bosque Seco del Chaco (Pérez de Molas, 2016). Quebracho blanco es una especie característica del Chaco, puede tener una altura de 7-20 m, un diámetro de 30-85 cm (Pérez de Molas, 2021) y una densidad de 800-850 kg/m³ (López *et al.*, 2002). El objetivo de esta investigación fue identificar los alcaloides presentes en la fracción orgánica obtenida a partir del extracto acuoso de la corteza de *Aspidosperma quebracho-blanco* Schlttdl. colectada en una región del Chaco paraguayo empleando como método de cromatografía gaseosa acoplada a espectrómetro de masas GC - MS.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta del vegetal

El individuo fue identificado *in situ* como *Aspidosperma quebracho-blanco* Schlttdl. (quebracho blanco), en el Distrito de Campo Aceval, Departamento de Presidente Hayes, Región Occidental

del Paraguay, con coordenadas 23° 10' 19,8" S 59° 51' 20,2" W (Figura 1). Fue recolectada una porción de corteza de éste, evitando dañar al ejemplar.

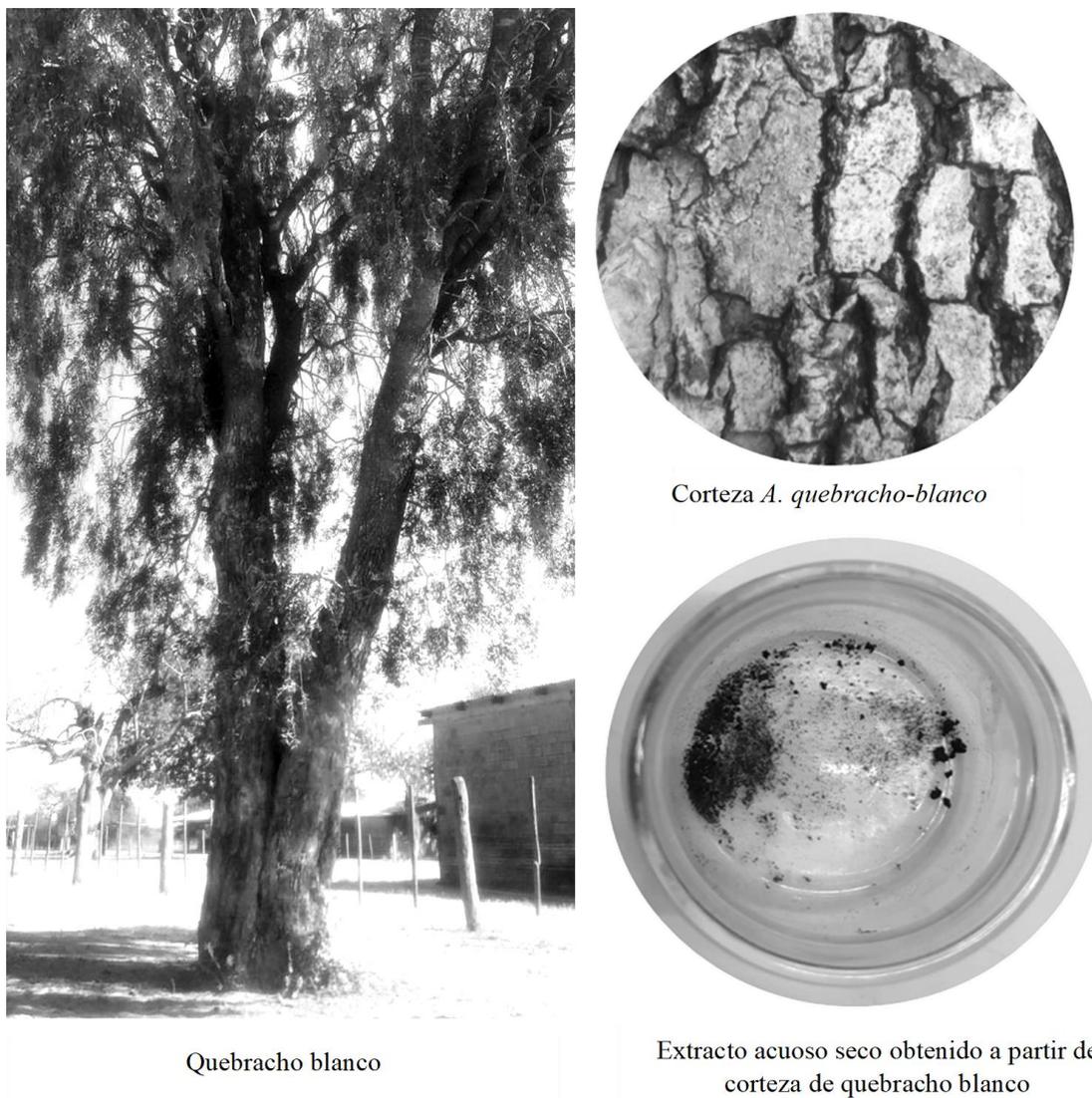


Figura 1. Ejemplar de *A. quebracho-blanco* situado en el Distrito de Campo Aceval, Departamento de Presidente Hayes, Chaco paraguayo.

Preparación del extracto crudo de la corteza de quebracho blanco y su fracción orgánica

La muestra fue secada a temperatura ambiente, bajo sombra y buena circulación de aire. Posteriormente, fue triturada empleando un molino eléctrico hasta obtener un polvo fino, con el propósito de aumentar la superficie de contacto de la muestra con el solvente de extracción. En una balanza de 0,1 g de precisión se pesó 200 g de polvo de corteza que fue mezclada con 250 ml de agua destilada, tras lo cual la solución resultante se llevó a ebullición por 10 minutos a 100 °C. Finalizado el tiempo, la solución fue enfriada a temperatura ambiente y filtrada utilizando algodón comercial como primer filtro, posteriormente se realizó un segundo filtrado empleando papel de filtro cualitativo. Finalmente se obtuvo 50 ml de extracto acuoso de la corteza de quebracho blanco. Una porción de ésta fue reservada para su evaluación y otra fue basificada utilizando hidróxido de amonio (NH_4OH) diluido. La solución alcalina resultante fue mezclada

posteriormente con 15 ml de cloroformo dentro de un embudo de decantación para su separación en fracciones, tras la agitación de la mezcla se recogió la fase orgánica. Este proceso fue repetido dos veces, hasta obtener la fase clorofórmica total, siendo ésta la fracción orgánica.

Análisis químico cualitativo preliminar

El extracto acuoso, así como la fracción orgánica fueron sometidos a pruebas siguiendo la metodología de Rondón *et al.* (2018). El propósito del análisis previo fue corroborar de manera primaria la presencia de metabolitos de interés en las muestras. Fue evaluada la abundancia de alcaloides utilizando los reactivos Mayer y Dragendorff, éstos provocan coloraciones específicas y/o precipitados de acuerdo a la presencia de grupos funcionales en los extractos analizados.

Análisis cromatográfico

El extracto orgánico fue sometido a un filtrado final utilizando filtro PTFE de 0,45 micras. Una alícuota de 2 ml de esta muestra fue utilizada para su análisis en un cromatógrafo de gases modelo Trace 1310 con detector TSQ900 acoplado a un espectro de masas con ionización de impacto electrónico marca Thermo Scientific, con automuestreador TriPlus RSH. El equipo se acondicionó con una columna capilar de 5 % difenil, 95 % de dimetilpolisiloxano con dimensiones 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm. La temperatura de inyección fue 260 °C. Como gas portador se utilizó Helio 1,1 ml/min a flujo constante, la temperatura del horno se programó desde 60 °C hasta 280 °C. El tiempo de corrida fue de 54 minutos. Los componentes químicos determinados se reportan en orden de elución de la columna.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis químico cualitativo preliminar

La elección de agua como solvente inicial de extracción de sustancias de la corteza de quebracho blanco se justificó en el hecho de que este vegetal es consumido en formas de mate, decocción (Degen Naumann y Mereles, 1997; Friesen Ratzlaff, 2017) o tereré por la población. Las pruebas fitoquímicas realizadas a los extractos evaluados permitieron determinar de forma primaria la presencia de alcaloides con abundancia moderada a apreciable tanto en el extracto acuoso (EA) como en la fracción orgánica (FO) respectivamente, por lo que consideramos a estos hallazgos como una aproximación al tipo de sustancias que podrían estar siendo aprovechadas en las bebidas acuosas tradicionales mencionadas. La Tabla 1 resume los reactivos utilizados y la abundancia detectada en la muestra.

Tabla 1. Abundancia de alcaloides detectada en pruebas fitoquímicas preliminares a la fracción orgánica de *A. quebracho-blanco*

Reactivo	Metabolito secundario	Referencia	Abundancia fracción orgánica (FO)
Mayer, Dragendorff	Alcaloides	Rondón <i>et al</i> (2018)	+++

Leyenda: (-) no se detecta, (+) baja, (++) moderada, (+++) apreciable

Mayer y Dragendorff son reactivos clásicos utilizados en la prospección cualitativa de alcaloides en muestras de origen vegetal. La formación de precipitados y viraje de coloración de los extractos de quebracho blanco se muestran en las Figuras 2 y 3 respectivamente.

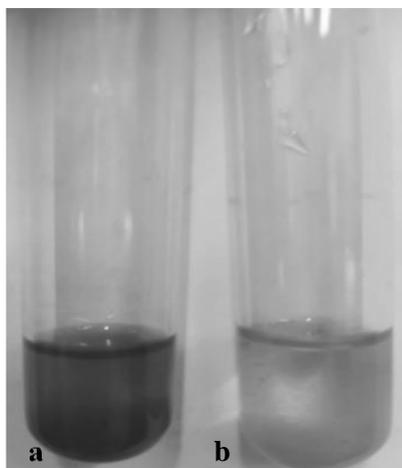


Figura 2. Prueba de alcaloides en FO
a) Dragendorff, precipitado naranja
b) Mayer, precipitado blanco

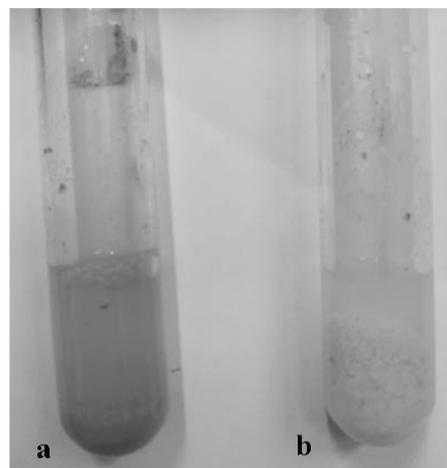


Figura 3. Prueba de alcaloides en EA.
a) Dragendorff, precipitado rojo
b) Mayer, precipitado blanco

Cromatografía gaseosa acoplada a espectrómetro de masas GC-MS

Bajo las condiciones en las cuales se realizaron los experimentos se lograron determinar diecisiete compuestos mayoritarios presentes en la fracción orgánica obtenida a partir del extracto acuoso de la corteza de *Aspidosperma quebracho-blanco* Schltdl. proveniente del Chaco paraguayo, utilizando cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas. Las estructuras químicas de estos constituyentes como sus correspondientes espectros de masas fueron identificados mediante el contraste de éstos con los datos contenidos en la biblioteca de referencias de espectros de masas *National Institute of Standards and Technology - NIST* con que cuenta el equipo utilizado para los análisis. La Tabla 2 presenta el resumen de moléculas con sus correspondientes tiempos de retención.

Por tipo de alcaloide, la muestra analizada se halló representada por 64,7 % indol, 23 % de indol/quinolizidínico, 5,9 % de quinileínicos y quinilidínicos respectivamente. Si bien la diversidad química del género es variada, los alcaloides de tipo indol son característicos de *Aspidosperma*, los hallazgos reportados en este estudio fitoquímico de la corteza de *A. quebracho-blanco* concuerdan con la literatura disponible sobre el género y sus especies y confirman que estos metabolitos son marcadores específicos presentes en el vegetal (Nishibe *et al.*, 2001; de Almeida *et al.*, 2019). El hallazgo de quebrachamina y aspidospermina en este trabajo, es congruente con lo reportado en *Aspidosperma nitidum* siendo ambos alcaloides los más representativos del género (Oliveira *et al.*, 2009). Por medio de ensayos biológicos, determinados alcaloides aislados de quebracho blanco han demostrado ser inhibidores de contracciones musculares de diversos animales, analgésicos e hipotensores, sumado al conocimiento autóctono de poblaciones que permite utilizarlo como antifebril, en el tratamiento de enfermedades respiratorias y como principio afrodisíaco (Pereira *et al.*, 2007). Las aplicaciones se ven asociadas de acuerdo a los tipos de alcaloides que se encuentren en el vegetal así como el género del cual fueron extraídos (Mitaine-Offer *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2009) de ahí la importancia e interés de la apropiada caracterización taxonómica como química del árbol. Para el caso de la especie estudiada en este trabajo, es de interés iniciar pruebas sobre patógenos específicos de manera a

evaluar el alcance de la potencial actividad biológica que pueda presentar el extracto de quebracho blanco o sus fracciones. El hallazgo de neprotina y quinidina en la muestra resulta novedoso. La neprotina, también conocida como jatrorrizina, es un alcaloide tipo protoberberina con actividad antifúngica, antiinflamatoria y antibacteriana, entre otros, que se encuentra presente en vegetales de las especies *Enantia chlorantha* (Annonaceae) y *Mahonia aquifolium* (Berberidaceae) (Kuate, 2014). La quinidina ha sido utilizada en la medicina cardiovascular como agente antiarrítmico, pruebas demostraron que el alcaloide es superior en actividad a su isómero óptico quinina como antipalúdico, llegando a utilizarse como reemplazo en el tratamiento de *Plasmodium falciparum* (Menezes *et al.*, 2001). Quinidina es un alcaloide que se encuentra en hojas de *Cinchona pubescens* y *Ladenbergia oblongifolia*, especies también utilizadas en el tratamiento de la malaria (Remuzgo *et al.*, 2020).

Tabla 2. Denominación de los picos de moléculas y sus tiempos de retención obtenidos por CG-MS de la fracción orgánica del extracto de *A. quebracho-blanco*

Nro	Compuesto	Tiempo de retención (minutos)
1	Aspidospermidina, 1,2,6,7-tetradehidro-, (5a,12β,19a)	35,415
2	Aspidospermidina, 1,2-didehidro-, (5a,12β,19a)	35,767
3	Condifolan, 14,19-didehidro-1-methyl-, (14E)	36,405
4	Condifolan, 14,19-didehidro-, (14E)	36,794
5	Aspidospermidina, 17-methoxi	39,681
6	Condifolan, 14,19-didehidro-12-methoxi-, (14E)	39,919
7	Quebrachamina	40,657
8	Neprotina	42,029
9	Aspidospermatina	43,451
10	Aspidospermina	44,088
11	Eburnamenina, 14,15-dihidro	44,383
12	Ajmalan-17-ol, (17R)	44,873
13	Quinidina	45,151
14	Isoschizogamina	45,302
15	Aspidospermatina	45,520
16	Aspidospermidin-17-ol, 16-methoxi-1-(1-oxopropil)	45,600
17	Ajmalan-17-ona, 21-hydroxi-12-methoxi-, (21a)	46,107

4. CONCLUSIÓN

En Paraguay, determinados sectores de la población atribuyen propiedades medicinales al quebracho blanco. A pesar de ello, el estudio quimiotaxonómico del género *Aspidosperma* es incipiente, motivo por el cual se destaca la relevancia de los hallazgos descritos en este trabajo sobre *A. quebracho-blanco* contribuyendo al conocimiento fitoquímico del mismo. El reporte de alcaloides de tipo indol en el extracto de la corteza del vegetal concuerda con diversas investigaciones que afirman que dichos metabolitos secundarios son marcadores fitoquímicos característicos del género. El conocimiento de los alcaloides presentes en la especie estudiada permitirá diseñar y desarrollar estrategias de aislamiento para los mismos. El interés sobre este tipo de compuestos de origen natural radica en las propiedades biológicas que puedan expresar frente a organismos de prueba específicos.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bernardi, L. 1984. *Contribución a la dendrología paraguaya 1: Apocynaceae, Bombacaceae, Euphorbiaceae, Flacourtiaceae, Mimosoideae, Caesalpinoideae, Papilionatae*. Ginebra: Editions des Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève, Missouri Botanical Garden. Boissiera, v. 35, 341 p.
- de Almeida, V. L.; C. G. Silva; A. F. Silva; P. R. V. Campana; K. Foubert; J. C. D Lopes and L. Pieters. 2019. *Aspidosperma* species: A review of their chemistry and biological activities. *Journal of Ethnopharmacology* 231: 125-140. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.10.039>
- Degen Naumann, R. y H. M. F. Mereles. 1997. Las cortezas chaqueñas utilizadas en medicina popular. *Rojasiana* 4(1): 11-24.
- Friesen Ratzlaff, V. 2017. *Plantas Medicinales del Gran Chaco*. San Lorenzo, Paraguay, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción. 128 p.
- Kuete, V. 2014. 21-Health Effects of Alkaloids from African Medicinal Plants. En: *Toxicological Survey of African Medicinal Plants*, Elsevier Inc. 2014, p 611-633. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800018-2.00021-2>.
- López, J. A.; E. L. Little; F. G., Ritz; J. S. Rombold y W. J. Hahn. 2002. *Árboles comunes del Paraguay: Ñande yvyramáta kuéra*. Universidad Nacional de Asunción - Facultad de Ciencias Agrarias, Cuerpo de Paz, Asunción, Paraguay, 2 ed., 458 p.
- Lorenzi, H. 2013. *Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Instituto Plantarum, Nova Odessa, São Paulo, Brasil, v. 2, 4 ed., 384 p.
- Menezes, C. M. S.; K. Kirchgatter; S. M. Di Santi; G. A. Paula and E. I. Ferreira. 2001. In vitro evaluation of quinidine sensitivity in Brazilian Plasmodium falciparum isolates: Comparative analysis to quinine and chloroquine. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 43(4): 221-226. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652001000400009>.
- Mitaine-Offer, A. C.; M. Sauvain; A. Valentin; J. Callapa; M. Mallié and M. Zches-Hanrot. 2002. Antiplasmodial activity of *Aspidosperma* indole alkaloids. *Phytomedicine* 9(2): 142-145. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00094>
- Nishibe, S.; A. Sakushima; H. Takemura; T. Takenaka and Y. Noguchi. 2001. Cyclitols from Apocynaceae Leaves. The Japanese Society of Pharmacognosy. *Natural Medicines* 55(5): 268-271. <https://dl.ndl.go.jp/pid/10759825/1/1>
- Oliveira, V. B.; M. S. M. Freitas; L. Mathias; R. Braz-Filho y I. J. C. Vieira. 2009. Atividade biológica e alcalóides indólicos do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae): uma revisão. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 11(1): 92-99. <https://doi.org/10.1590/s1516-05722009000100015>.
- Ortega Torres, E.; L. Stutz de Ortega y R. Spichiger. 1989. *Flora del Paraguay. Noventa especies forestales del Paraguay*. C. et J. botaniques de la V. Geneve & M. B. Garden; Serie especial.
- Pereira, M.; R. R. L. Jácome; A. F. Alcantara; R. B. Alves y D. S. Raslan. 2007. Alcalóides indólicos aislados de espécies do gênero *Aspidosperma* (apocynaceae). *Quimica Nova* 30(4): 970-983.
- Peña-Chocarro, M. D.; J. De Egea; M. Vera; H. Maturo y S. Knapp. 2006. *Guía de árboles y arbustos del Chaco Húmedo*. The Natural History Museum, Guyra Paraguay-Fundación Moisés Bertoni-Fundación Hábitat y Desarrollo. Asunción, Paraguay, 291 p.
- Pérez de Molas, L. F. 2016. *Manual de Familias y Géneros de Árboles del Paraguay*. FAO.
- Pérez de Molas, L. F. 2021. *Algunos árboles y arbustos del Chaco: guía de campo para el reconocimiento de las especies*. FCA-UNA; INFONA, San Lorenzo, Paraguay. 118 p.

- Remuzgo, J.; J. Alvarez; F. Sales y G. Valdivieso. 2020. Caracterización taxonómica y fitoquímica de *Cinchona pubescens* y *Ladenbergia oblongifolia* en el ámbito del valle Alto Huallaga - Región Huánuco. *Rebiol* 40(2): 242-255.
- Rondón, M.; S. Moncayo; C. Xavier; J. Santos; V. David; R. Siguencia; *et al.* 2018. Preliminary phytochemical screening, total phenolic content and antibacterial activity of thirteen native species from Guayas province Ecuador. *J. King Saud Univ., Sci.* 30(4): 500-505. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jksus.2017.03.009>
- Sanabria, E. O.; M. Cayré y W. Frank. 2007. Optimización de producción de carbón con *Aspidosperma quebracho blanco* en la provincia del Chaco, Argentina. *Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente* 13(1): 23-27.
- Sanabria, E. O.; M. E. Cayré y W. Frank. 2011. Evaluación de tres adhesivos en la fabricación de tableros enlistonados de *Aspidosperma quebracho blanco* estabilizado con polietilenglicol. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente XVII*(1): 69-75. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2010.05.030>
- Scotta, A. V.; G. A. Bongiovanni y E. A. Soria. 2017. Actividad moduladora in vitro de extractos acuosos de plantas americanas sobre la toxicidad inducida por clorpirifos en esplenocitos murinos. *Revista de La Facultad de Ciencias Médicas* 74(4): 325-330. <https://doi.org/10.31053/1853.0605.v74.n4.15361>
- Sperling, H.; A. Lorenz; S. Krege; R. Arndt and M. C. Michel. 2002. An extract from the bark of *Aspidosperma quebracho blanco* binds to human penile α -adrenoceptors. *Journal of Urology* 168(1): 160-163. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(05\)64852-5](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(05)64852-5)
- Stiborová, M.; J. Poljaková; E. Martínková; L. Bořek-Dohalská; T. Eckschlager; R. Kizek and E. Frei. 2011. Ellipticine cytotoxicity to cancer cell lines-a comparative study. *Interdisciplinary Toxicology* 4(2): 98-105. <https://doi.org/10.2478/v10102-011-0017-7>
- Tanaka, J. C. A.; C.C. da Silva; I. C. P. Ferreira; G. M. C. Machado; L. L. León and A. J. B. de Oliveira. 2007. Antileishmanial activity of indole alkaloids from *Aspidosperma ramiflorum*. *Phytomedicine* 14(6): 377-380. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2006.09.002>

