

CARACTERISTICAS ETNOBOTANICAS Y FITOQUIMICAS DE

***Prunus spinosa* L. (Rosaceae)**

A. G. González y A. G. Ravelo

C.P.N.O. A. González. Instituto Universitario de Bio-Orgánica.
Universidad de la Laguna. 38206 Tenerife

A. Crespo y M. Fernández

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de
Farmacia. Universidad de Navarra. 31080 Pamplona

ABSTRACT

A chemical examination of barks of *Prunus spinosa* L. has led isolation of three flavonoids, one coumarin and four proanthocyanidins

KEY WORDS: *Prunus spinosa* L., Rosaceae, coumarin, flavonoids, proanthocyanidin

El cocimiento de ramas de *Prunus spinosa* es utilizado como hipotensor en Navarra y es uno de los más comúnmente empleados¹, sin embargo no figura como tal en la literatura científica.

Esta especie, denominada vulgarmente endrina y más conocida en Navarra como pacharán, figura en la bibliografía de plantas medicinales por las propiedades diuréticas y depurativas de sus flores, antidiarreicas y digestivas de sus frutos y antidiabéticas y antiasmáticas de sus hojas²⁻⁴.



Los heterósidos de flavonol aislados de hojas y flores poseen efecto hipocolesterolémico⁵, espasmolítico y antitónico por disminución del tono y amplitud de la contracción⁶, acción antiinflamatoria y vitamínica P^{7,8}, inotrópica positiva, diurética y natriurética⁸.

Las investigaciones farmacológicas realizadas con el extracto acuoso de ramas, obtenido por cocimiento, han permitido llegar a las siguientes conclusiones⁹⁻¹³: su toxicidad es relativamente baja, DL₅₀=4550 mg/Kg por vía oral y DL₅₀=1325 mg/Kg por vía intraperitoneal; produce descenso en la presión arterial en ratas normotensas e hipertensas y este efecto es dosis-dependiente y superior al obtenido con extractos etanólicos y con los acuosos de otras partes de la planta a la misma dosis; muestra una actividad anticoagulante, que permanece con la posterior adición de cloruro cálcico al 5%, y actividad antiagregante plaquetar frente a la agregación inducida por ADP, adrenalina y ácido araquidónico; actividad antiespasmódica; efecto depresor del sistema nervioso central, tras administración intraperitoneal, que se manifiesta en la disminución de la actividad y coordinación motora, en el aumento de la prolongación del sueño inducido por pentobarbital sódico en ratón y en la protección de las convulsiones inducidas por pentilentetrazol en el mismo animal.

Tras el fraccionamiento del cocimiento por extracción con butanol, se ha comprobado que la fracción acuosa produce un descenso de la presión arterial superior al de la butanólica; sin embargo, ésta presenta mayor actividad antiagregante plaquetar y depresora del sistema nervioso central.

Los efectos sobre este sistema varían en función de la vía de administración, según se ha comprobado posteriormente. Por vía

subcutánea manifiesta acción estimulante en las pruebas de tipo general, actividad antidepresiva, comprobada por el antagonismo de la hipertermia inducida por apomorfina y potenciación de la toxicidad de yohimbina en ratón, pero carece de actividad antisicótica y ansiolítica¹⁴.

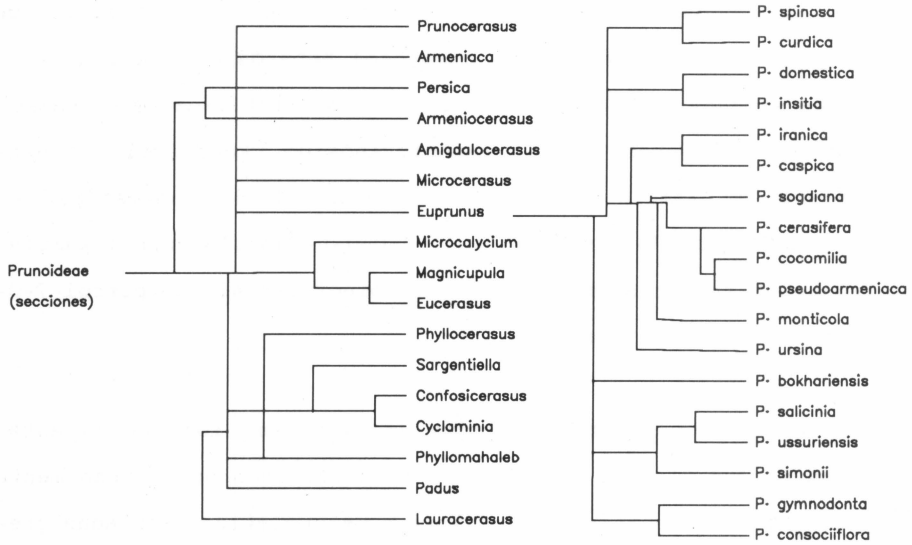
En los ensayos iniciales sobre la composición química⁹ de los extractos acuosos se detectaron numerosos heterósidos de flavonol, de los que algunos podrían corresponder a los identificados en hojas¹⁵ y flores^{9,16}, kampferol 7-O- α -L-ramnofuranósido, kampferol 3-O- α -L-ramnofuranósido, kampferol 3-O- α -L-arabinofuranósido, quercetina 3-O- α -L-arabinofuranósido (avicularina), 3-O- α -L-ramnofuranosil-kampferol-7-O- α -L-ramnofuranósido, 3-O- α -L-arabinofuranosil-kampferol-7-O- α -L-ramnofuranósido (ternósido).

No se han encontrado derivados de flavonas, los cuales están presentes en las flores¹⁷. También se identificaron provisionalmente las cumarinas esculetina, umbeliferona y escopoletina, aisladas previamente de los frutos^{18,19}. Asimismo se comprobó la presencia de heterósidos cianogénicos, compuestos frecuentes en la familia Rosaceae, y proantocianidinas, que no han sido identificadas con anterioridad en ningún órgano de la planta.

El análisis de las fracciones obtenidas por extracción con butanol, a partir del extracto inicial, indicó que la mayor parte de los polifenoles se recogían en la fracción butanólica¹³.

CARACTERISTICAS BOTANICAS DE *Prunus spinosa* L.

El *Prunus spinosa* pertenece a la familia Rosaceae y dentro de ésta a la subfamilia Prunoideae. Esta sub-familia se divide a su vez en 17 secciones, incluyéndose el pacharán en la sección *Euprunus*.



*Prunus spinosa*²⁰ normalmente se presenta en forma de arbusto, de 1 a 2 m, aunque puede llegar a medir 4 m. Es muy ramificado, las ramas son divergentes, corteza pardo-oscura, las jóvenes son pubescentes, muchas ramas pequeñas se endurecen y agudizan constituyendo espinas.

Las hojas simples, alternas, caducas, son pequeñas (2 a 4 cm), ovaladas, oblongo-lanceoladas, finamente dentadas, de color verde oscuro y glabras en el haz y pubescentes en los nervios del envés.

Tienen flores abundantes de 1 a 1,5 cm de diámetro, nacen antes que las hojas en las ramas del año anterior; suelen ser laterales, solitarias, con pedúnculo corto (menos de 1 cm) y glabro, cáliz glabro con 5 sépalos aovados; corola con 5 pétalos alargados, libres entre sí y blancos; estambres indefinidos (alrededor de 15), insertos con los pétalos en la garganta del cáliz. Ovario súpero con un lóculo.

El fruto es una drupa (de 1 a 1,5 cm de diámetro) globulosa, de color oscuro negro - azulado y cubierto de una fina película blanco - azulada que se desprende al frotar, la pulpa es blanca verdosa, de sabor astringente y ácido. Posee un hueso, endocarpo subglobuloso polimorfo.

Florece de marzo a abril, la maduración del fruto es de agosto a octubre.

Se desarrolla en claros de bosques (fundamentalmente hayedos y robledales), cascajales, setos, espinares y laderas pedregosas de montaña. Puede encontrarse desde el nivel del mar hasta los 1500 m de altitud.

El pacharán se extiende fundamentalmente por Europa; desde el norte de la Península Ibérica hasta Escocia y sur de Escandinavia; en el sur de España es raro, aunque existe en varios núcleos y se extiende hasta el Cáucaso y zonas del Oriente Medio. Crece, también, en el norte de Argelia.

Este trabajo se ha llevado a cabo con ramas jóvenes, con flor y sin hojas, de *Prunus spinosa* recolectadas en marzo de 1986 en los

valles de Esteribar y Aranguren (Navarra). Las ramas se secaron a temperatura ambiente.

Se partió de 8,7 Kg de ramas secas de pacharán. La decocción se realizó según los datos recogidos en medicina popular para producir acción hipotensora, sobre el extracto acuoso se realizó una extracción con butanol saturado de agua.

COMPOSICION QUIMICA

La fracción butanólica se cromatógrafió en una columna de Sephadex LH-20, sobre las fracciones obtenidas se realizaron ensayos de actividad farmacológica; los ensayos realizados fueron sobre la actividad motora espontánea, potenciación del sueño por pentobarbital sódico y actividad antiagregante plaquetar. Las fracciones que poseían mayor actividad eran las que presentaban mayor complejidad en su composición química.

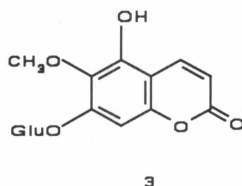
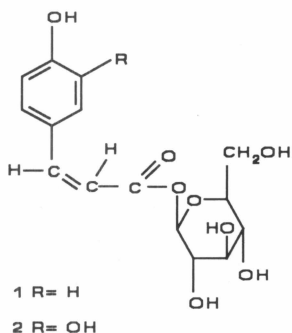
Como se ha observado en numerosos estudios, puede deducirse que al aumentar el fraccionamiento de los extractos vegetales, disminuye su actividad farmacológica, este hecho puede ser debido a efectos sinérgicos entre distintos compuestos del extracto.

Dada la poca cantidad de productos puros que se aisló, no fue posible profundizar en el estudio de actividad farmacológica.

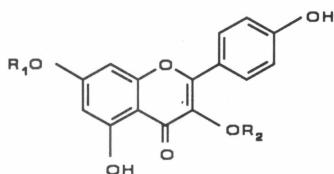
El aislamiento de los productos se llevó a cabo por métodos cromatográficos, observándose que abundan los metabolitos secundarios provenientes de la ruta biogénica del ácido sikimico. Los compo-

nentes identificados son derivados del fenilpropano, C₆-C₃, y del difenilpropano, C₆-C₃-C₆, monómeros y dímeros.

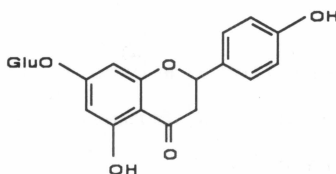
Los derivados del fenilpropano aislados son, los ya conocidos 1-O-p-cumaroil-β-D-glucopiranososa (1) y el 1-O-cafeoil-β-D-glucopiranososa (2), y el 5-hidroxi-6-metoxi-7-O-β-D-glucosil-cumarina (3), nuevo en la bibliografía científica.



Dentro de los derivados del difenilpropano se han aislado flavonoides, catequinas y dímeros de proantocianidinas. Los flavonoides identificados son, los productos ya conocidos, 3,7- diramnósido de kampfrol (4), 3-O-α-L-arabinofuranosil-kampfrol-7-O-α-L-ramnofuranósido (5) y 7-glucósido de naringenina(6).

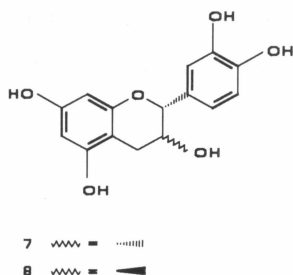


4 R₁ = Ra, R₂ = Ra
5 R₁ = Ra, R₂ = Ara



6

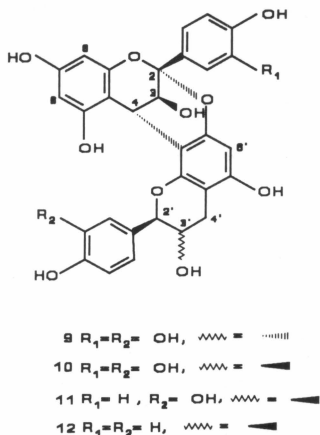
Las catequinas o monómeros catéquicos son epicatequina (7) y catequina (8). Estos productos no habían sido descritos anteriormente en el *Prunus spinosa*.



Los dímeros de proantocianidinas se aislaron en forma de sus derivados metilados, acetilados, o metilados y acetilados. La formación de derivados fue necesaria por la dificultad en la separación de este tipo de compuestos, esto es debido a que se encuentran como mezclas complejas de polifenoles, forman enlaces de hidrógeno tanto intra- como intermoleculares; se asocian con proteínas, carbohidratos y metales. Esto puede afectar la conformación y sus propiedades químicas, y por lo tanto a su comportamiento cromatográfico. Además son susceptibles de oxidación, térmicamente lábiles, y pueden, fácilmente, sufrir reordenamientos moleculares y descomponerse por catálisis ácida o básica. Por lo que, unido a su difícil separación, requieren mucho cuidado en su manipulación.

Para llevar a cabo la identificación de las proantocianidinas es necesario la formación de derivados que facilitan su estudio espectrocópico.

Se identifican dos procianidinas: ent-epicatequina-(2 α →7, 4 α →8)-catequina (9) y ent-epicatequina-(2 α →7, 4 α →8)-epicatequina (10); y dos propelargonidinas, cuyas estructuras son ent-epiafcelequina-(2 α →7, 4 α →8)-epicatequina (11) y ent-epiafcelequina-(2 α →7, 4 α →8)-epiafcelequina (12), esta última es idéntica a la de mahuanina A, que posee actividad hipotensora, aislada anteriormente de una Ephedraceae.



La identificación de todos los productos se llevó a cabo por métodos espectroscópicos, RMN ¹H, RMN ¹³C, EM, ir y uv.

La configuración absoluta del producto 9 se determinó por el método de resolución cinética de racematos, por medio de un alcohol secundario quiral, debido al Prof. Horeau²¹. Por medio de un estudio de difracción de rayos X, se determinó la configuración relativa del producto 10, la absoluta se determinó por dicroísmo circular. Para los productos 11 y 12 se determinó en base al uso combinado de dicroísmo circular y resonancia magnética nuclear.

El análisis conformacional de todos los posibles dímeros, tipo propelargonidina y procianidina, mediante el uso de la Mecánica Molecular, indica que los tres anillos flexibles en las moléculas, C, C' y el interflavanólico, poseen conformación de sobres ligeramente deformados.

El análisis de formas diastereoisoméricas de proantocianidinas diméricas tipo A, nos permite proponer un método mixto de correlacionar la configuración absoluta de la unidad flavanólica inferior con el desplazamiento químico, en RMN ^1H , del metoxilo o acetato en C₅, basándonos en el análisis conformacional, datos de Rayos X, y datos de la bibliografía.

Por último cabe señalar que el *Prunus spinosa* posee una fuerte especialización en la producción de metabolitos, procedentes de la ruta biogénica del ácido sikímico; si la ruta de transformación de proantocianidinas tipo B en tipo A es similar a la oxidación suave, realizada en laboratorio, el sistema enzimático oxidativo de esta planta es muy específico y eficaz, al menos cuando coincide la recolección del material vegetal con un período de alta actividad metabólica de la planta.

BIBLIOGRAFIA

1. FERNANDEZ, M. Las plantas en la Medicina Popular. 1. Navarra húmeda del noroeste. Ed. Sociedad de Estudios Vascos Eusko Ikaskuntza. Pamplona (1981)
2. FONT QUER, P. Plantas medicinales. ed Labor SA, Barcelona, pg 342-4 (1962)

3. BEZANGER-BEAUQUESNE, L.; PINKAS, M.; TORCK, M. y TROTIN, F. Plantas medicinales des régions tempérées. Maloine, S.A. Ed., París, pg 439 (1980)
4. WILLIAMS, P.R. y THOMSON, D.M. Guía practica ilustrada de plantas medicinales. Ed. Blume. Barcelona (1981)
5. LISEVITSKAYA, L.J.; SHINKARENKO, A.L.; BANDYNKOVA, V.A. y MAKAROV, V.A. Flavonol sustances during experimental atherosclerosis. **Aktual. vop Farm.**, 176-7 (1970). CA, 76:108079r (1972)
6. MAKAROV, V.A. Study of the flavonoids of *P. spinosa*. **Khim. Priro. Soedin.**, 4:248 (1968). BA, 46033,(1970)
7. MAKAROV, V.A. Antiphlogistic and P-vitamin activity of black-thorn flavonols. **Farmacol. Toxicol.**, 32:438-41 (1969). CA, 71:89849v (1970)
8. MAKAROV, V.A. Chemical and pharmacological study of flavonoids in *Prunus spinosa* . **Rast. Resur.**, 8:42-9 (1972). CA, 76:138196u (1972)
9. RODRIGUEZ, R.; LASHERAS, B.; FERNANDEZ, M.; CENARRUZABEITIA, E. y VEGA, F.A. Estudios farmacológico y fitoquímico de *Prunus spinosa* L. Poster presentado en el III Congreso internacional de Química Terapéutica. Pamplona (1983)
10. RODRIGUEZ, R.; LASHERAS, B. y CENARRUZABEITIA, E. Efecto sobre la presión arterial de *Prunus spinosa* L. Poster presentado en el X Congreso Nacional de la Asociación Española de Farmacólogos. Valencia (1985)
11. LASHERAS, B.; TURRILLAS, P. y CENARRUZABEITIA, E. Etude pharmacologique préliminaire de *Prunus spinosa* L., *Amelanchier ovalis* Medikus, *Juniperus communis* L. et *Urtica dioica* L. **Plant. Med. Phytothér.**, XX:219-26 (1986)

12. RODRIGUEZ, R.; LASHERAS, B. y CENARRUZABEITIA, E. Pharmacological activity of *Prunus spinosa* on isolated tissue preparations. **Planta Med.**, 52:256-9 (1986)
13. RODRIGUEZ, R. Estudio farmacológico y ensayos iniciales sobre la composición química de *Prunus spinosa* L. Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. Pamplona (1987)
14. CASTIELLA, E.; UCELAY, M.; LASHERAS, B.; FRECHILLA, D. y CENARRUZABEITIA, E. Neuropharmacological activity of *Prunus spinosa* stem extract in mice. **Phyto. Research**, 4:101-5 (1990)
15. MAKAROV, V.A. y LITVINENKO, V.I. *Prunus spinosa* flavonoids. **Aktual Vop. Farm.**, 200-1 (1970). CA, 76:108082m (1972)
16. IVANOV, V. y NIKOLOV, N. Flavonoids from the Rosaceae family. I. Isolation of flavonoid mixtures from the aerial part of *Agrimonia eupatoria* and from the flowers of *Prunus spinosa*. **Farmatsiya**, 19:36-41 (1969). CA, 72:51781z (1970)
17. TAMAS, M. Study of flavones in *Prunus spinosa* L. flowers. **Farmacia**, 33:181-6 (1985). CA, 104:222020m (1986)
18. LEKIARHIRLI, E.I. y PLATANOV, I.B. Hidroxicoumarines of blackthorn fruit juice. **Pishch. Tekhnol.**, 5:151-2 (1976). CA, 86:68366e (1977)
19. WEHEMER, C. The natural coumarins. Wiley, J. and Soons Ltd. Chicester, New York, pg 517 (1982)
20. Flora Europea vol 2, Ed. T.G. TUTIN, V.H. HEYWOOD, N.A. BURGESS, D.M. MOORE, D.H. VALENTINE, S.M. WALTERS y D.A. WEBB. Cambridge at the University Press, pg 78 (1968)
21. FIAUD, J.C.; HOREAU, A. y KAGAN, H.B. Stereochemistry Fundamentals and Method. Vol 3, Ed. H.B. KAGAN, Georg Thieme Publishers, Stuttgart. Pg 52 (1977)

Recibido: 29 de Julio de 1991