

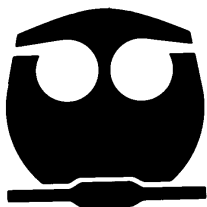


**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**COMPUESTOS BIOACTIVOS DE**  
*Prunus serotina* Ehrh.

**TESIS MANCOMUNADA**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**  
P R E S E N T A N:  
**GÓMEZ BOLAÑOS ELENA**  
**LÓPEZ GUZMÁN ARTURO**



MÉXICO, D.F.

2007



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

Presidente	Dra. María Isabel Aguilar Laurents
Vocal	Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda
Secretario	Dr. José Fausto Rivero Cruz
1er. Suplente	Dr. Andrés Navarrete Castro
2do. Suplente	Q.F.B. Sergio Ismael Martínez Luis

Sitio en donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 124. Edificio E.  
Facultad de química. UNAM.

Asesor:

---

Dr. José Fausto Rivero Cruz

Sustentantes:

---

Gómez Bolaños Elena

---

López Guzmán Arturo

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México por nuestra formación como profesionistas.

Al Dr. Fausto Rivero Cruz por el tiempo invertido en este trabajo y hacer realidad este proyecto de investigación, por guiarnos con paciencia en nuestro camino hasta la culminación de esta meta.

Un agradecimiento especial a los Doctores Alejandra Rojas Molina y César Ibarra del Departamento de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro por la realización de los ensayos biológicos y su apoyo durante la realización de este proyecto de investigación.

Este trabajo se realizó con el apoyo económico de los proyecto PAPIIT IN 208207.

Al personal técnico de la USAI por el registro y análisis de los distintos espectros utilizados en el presente proyecto.

## ÍNDICE

	Pág
<b>Lista de Cuadros</b>	III
<b>Lista de Figuras</b>	IV
<b>Lista de Esquemas</b>	IV
<b>Lista de Abreviaturas</b>	V
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>2. OBJETIVOS</b>	3
<b>3. ANTECEDENTES</b>	4
3.1 Antecedentes botánicos y etnobotánicos sobre el genero <i>Prunus</i> .	4
3.2 Antecedentes botánicos y etnobotánicos de la especie <i>Prunus serotina</i> .	4
3.3 Antecedentes químicos sobre el género <i>Prunus</i> .	5
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL</b>	45
4.1 Procedimientos Generales.	45
4.1.1 Análisis Cromatográficos.	45
4.1.2 Equipos utilizados en los estudios de espectroscopía, espectrometría y para la determinación de constantes físicas.	46
4.2 Material vegetal.	46
4.3 Ensayos Biológicos.	47
4.3.1 Actividad relajante en músculo liso de aorta de rata.	47
4.4 Estudio fitoquímico de <i>Prunus serotina</i> .	48
4.4.1 Preparación del extracto <i>Prunus serotina</i> .	48

## ÍNDICE (continuación)

	<b>Pág</b>
4.4.2 Fraccionamiento primario de <i>Prunus serotina</i> .	48
4.4.3 Fraccionamiento secundario de la fracción F002.	48
4.4.4 Aislamiento de la prunasina a partir de la fracción F002-VII.	50
4.4.5 Aislamiento del ácido ursólico a partir de la fracción terciaria F002-III.	51
4.4.6 Fraccionamiento secundario de la fracción F003.	55
4.4.6.1 Aislamiento del hiperina a partir de la fracción F003.	55
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>57</b>
<b>6. RESUMEN Y CONCLUSIONES</b>	<b>63</b>
<b>7. PERSPECTIVAS</b>	<b>64</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>65</b>

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Contenido</b>	<b>Pág</b>
1	Metabolitos secundarios aislados del género <i>Prunus</i> .	7
2	Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina.	45
3	Resumen del fraccionamiento secundario de la fracción F002 por cromatografía en columna al vacío de gel de sílice obtenida a partir del extracto de las hojas de <i>Prunus serotina</i> .	50
4	Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F002-VII.	51
5	Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F002-III.	53
6	Resumen del fraccionamiento cuaternario de la fracción F002-III-3.	54
7	Resumen del fraccionamiento de la fracción F002-III-3-2.	54
8	Resumen del fraccionamiento secundario de la fracción F003.	56
9	Compuestos aislados de la especie <i>Prunus serotina</i> .	59
10	Efecto relajante de los compuestos aislados sobre la contracción inducida por fenilefrina en anillos de aorta intactos.	60

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Contenido</b>	<b>Pág</b>
Figura 1	Principales causas de muerte general en México (2005).	2
Figura 2	<i>Prunus serotina</i> . (árbol, hojas y flores)	6
Figura 3	Efecto sobre la musculatura lisa arterial de diferentes extractos de <i>Prunus serotina</i> .	58
Figura 4	Comparación de las curvas concentración respuesta del efecto relajante de la quercetina, empleada como control positivo, la hiperina y la prunasina en segmentos de aorta intactos de rata.	61

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema</b>	<b>Contenido</b>	<b>Pág</b>
1	Extracción y fraccionamiento preliminar del extracto total de las hojas de <i>Prunus serotina</i> .	49



## LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
AcOEt	acetato de etilo
CaCl <sub>2</sub>	cloruro de calcio
°C	grados Celsius
cm	centímetro
CD <sub>3</sub> OD	metanol deuterado
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	diclorometano
CH <sub>3</sub> COCl	cloruro de acetilo
CE 50	concentración efectiva media
d	doblete
dd	doble de dobles
DMSO	dimetilsulfoxido
E <sub>max</sub>	efecto máximo
eV	electron volts
FAB <sup>+</sup>	bombardeo rápido de átomos modalidad positiva
g	gramo
µg	microgramo
HETCOR	Correlación heteronuclear
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	constante de acoplamiento
KCl	cloruro de potasio
Kg	kilogramo
m	multiplete
M <sup>+</sup>	ion molecular
MeOH	metanol
mg	miligramos
MgCl <sub>2</sub>	cloruro de magnesio
MHz	megaHertz
min	minutos
mL	mililitros

## LISTA DE ABREVIATURAS (continuación)

mM	milimolar
mm	milímetro
<i>m/z</i>	relación masa-carga
NaHCO <sub>3</sub>	bicarbonato de sodio
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	fosfato diácido de sodio
N <sub>2</sub>	nitrógeno
nM	nanomolar
O <sub>2</sub>	oxígeno
p.f.	punto de fusión
ppm	partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN <sup>1</sup> H	Resonancia Magnética Nuclear Protónica
RMN <sup>13</sup> C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
s	singulete
SINAIS	Sistema Nacional de Información de Salud
SSA	Secretaría de Salud
SSP	Secretaría de Salud Pública.
TMS	tetrametilsilano
µg	microgramos
µM	micromolar
UAQ	Universidad Autónoma de Querétaro
UV	ultravioleta

## 1.INTRODUCCIÓN

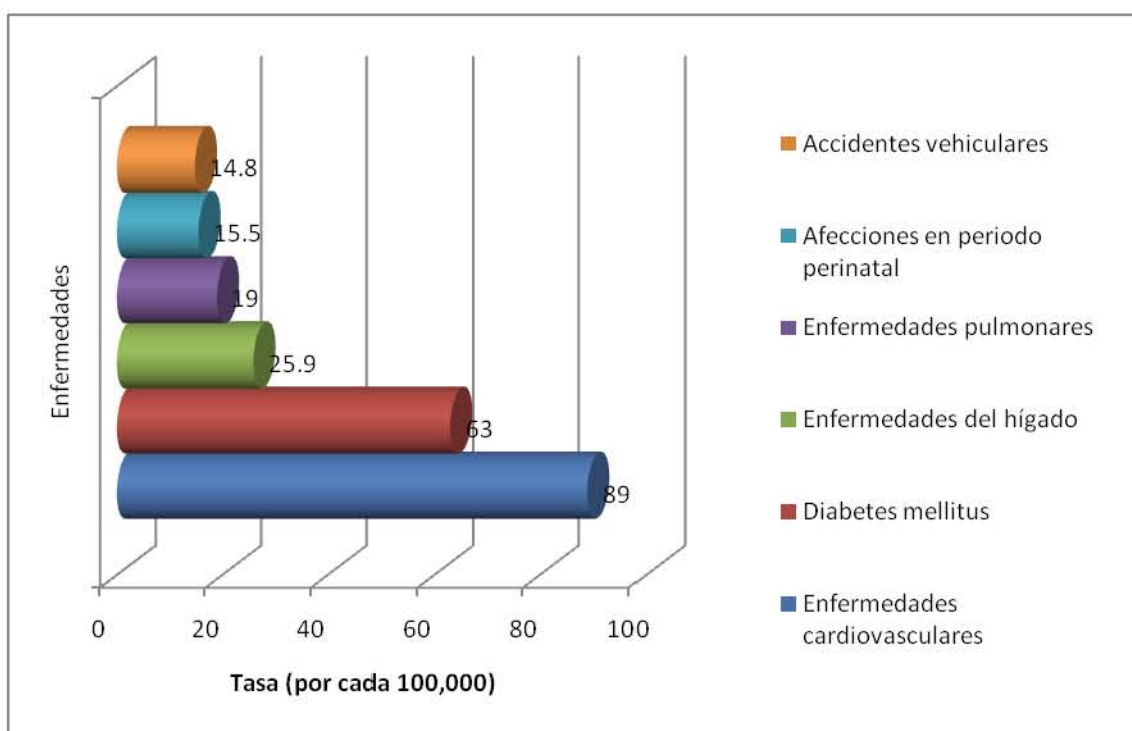
Los productos naturales han sido utilizados por el ser humano desde su aparición en el planeta, con diversos usos que van desde su alimento y vestimenta hasta su incorporación en los novedosos fitofármacos. Las plantas han constituido la base para el desarrollo de la medicina tradicional desde hace miles de años (Guasch e Hinostroza, 2005; Mitscher *et al.*, 2000); los chinos, por ejemplo, han aportado sus conocimientos desde hace más de 4000 años en el uso del antimalárico Chaáng Shan (*Dichroa febrifuga*) (Romo, 1999).

En México el uso de plantas medicinales está ligado al desarrollo de las culturas prehispánicas, donde su comercialización fue de gran importancia (Legorreta, 1989). En las crónicas de la Nueva España, se relata el uso y comercialización de raíces y hierbas medicinales (Rodríguez, 1975). El registro más antiguo de las plantas medicinales es el “*Libellus de medicinalibus indorum herbis*”, escrito en 1522 por Martín de la Cruz, y traducido al latín por Juan Badiano. Sin embargo el registro más importante que se conoce proviene de Francisco Hernández, quien llegó a la entonces Nueva España con la finalidad de identificar todas las hierbas, árboles y plantas medicinales existentes, y conocer el tipo de enfermedades que curaban y la forma de hacerlo y como resultado de su estudio, logró describir 3076 plantas y sus usos medicinales (Argueta *et al.*, 1994; Romo, 1999).

Se estima que en México existen cerca de 30,000 especies vegetales, de las cuáles en 1997 el Instituto Nacional Indigenista reportó que 3,000 tienen usos medicinales. Esto representa el 10 % del total de la riqueza florística del país (Linares *et al.*, 1994; Lozoya, 1999; Aguilar, 2001). En 1994 se elaboró el Atlas de Plantas Medicinales de México, que representa una recopilación muy amplia de especies vegetales que tienen un potencial terapéutico benéfico y que son empleadas por diversos grupos étnicos de nuestro país (Argueta *et al.*, 1994). A partir de la información contenida en este Atlas y de diversas encuestas realizadas por investigadores del Instituto Mexicano del Seguro Social durante la última década, sobre el uso de plantas usadas en la medicina tradicional mexicana, se tiene información que indica que aproximadamente el 78% de las plantas que prescriben los médicos tradicionales se emplean para tratar enfermedades cardiovasculares, infecciones respiratorias y de la piel, desórdenes gastrointestinales, dolor y diabetes (Bye, 1995; Lozoya, 1999).

Las enfermedades cardiovasculares representan la causa número uno de muertes en México (Figura 1). Los principales factores de riesgo cardiovascular modificables son: hipertensión arterial, dislipidemias, la obesidad y el consumo de tabaco.

Además, se pueden considerar otros factores de riesgo como la diabetes mellitus, el sedentarismo y el consumo excesivo de alcohol. Estos factores de riesgo se potencian entre si y se encuentran frecuentemente asociados (Programa de Acción de Enfermedades Cardiovasculares e Hipertensión Arterial. SSA 2001).



**Figura 1.** Principales causas de muerte general en México. Fuente: SSP SINAIS 2005.

En México, desde épocas prehispánicas, las plantas se han utilizado para tratar enfermedades cardiovasculares, destacando especies como *Chiranthodendron penthadactylon*, *Talauma mexicana* y *Prunus serotina* (Argueta *et al.*, 1994). Por otro lado, es importante destacar que gran parte de la población indígena y de escasos recursos en nuestro país recurren al uso de la medicina tradicional (Lozoya, 1999). Sin embargo, poco o nada se sabe acerca de la composición química de muchas de las especies que se utilizan. Por lo tanto es necesario desarrollar investigaciones conducentes a determinar la composición química y las posibles actividades de las plantas medicinales utilizadas por la población mexicana.

## 2. OBJETIVOS.

El objetivo principal de esta investigación es el aislamiento y la caracterización de algunos de los principios activos responsables de la actividad relajante de músculo liso de aorta de rata determinada en evaluaciones previas a partir del extracto íntegro de las hojas secas de *Prunus serotina*.

Los objetivos particulares de este proyecto son:

- Preparar el extracto íntegro de las hojas de *Prunus serotina* mediante un proceso de maceración.
- Realizar el fraccionamiento del extracto total, utilizando técnicas convencionales de fraccionamiento.
- Separar los principios activos de interés de al menos dos de las fracciones activas mediante la aplicación de técnicas cromatográficas convencionales.
- Caracterizar los compuestos aislados mediante la utilización de métodos espectroscópicos y espectrométricos.
- Evaluar el efecto relajante potencial en músculo liso de los extractos, fracciones y compuestos puros, aislados de *Prunus serotina*.

### 3. ANTECEDENTES.

#### 3.1 Antecedentes botánicos y etnobotánicos del género *Prunus*.

El género *Prunus* pertenece a la familia Rosaceae, es originario de América boreal, habita en climas cálido, semicálido, semiseco y templado (Argueta *et al.*, 1994). Las frutas de este género se han utilizado en la medicina tradicional coreana para los males cardíacos, mareos, mastitis, dolor de dientes y como emenagogo (Jung *et al.*, 2005); también, para la detoxificación, relajación y como antitusivo (Jung *et al.*, 2002). Estas especies poseen propiedades sedantes, antiinflamatorias, antihiperlipídicas, antitumorales y antioxidantes (Jung *et al.*, 2005). Las especies de *Prunus* han sido utilizadas medicinalmente en la India en combinación con otras drogas para el tratamiento de leucorrea, menstruación irregular, debilidad muscular y, en años recientes, como un alimento saludable (Kayano *et al.*, 2004). En la medicina tradicional China también se han utilizado como antitusivo, expectorante y como laxante (Lv *et al.*, 2005). El preparado con flores de *Prunus mume* se ha utilizado para el dolor de ojos y problemas de la piel (Yoshikawa *et al.*, 2002). Se ha demostrado que una dieta con alto consumo de almendras de *Prunus dulcis* disminuye la cantidad de triglicéridos y de colesterol LDL en el plasma, reduciendo de manera significativa los riesgos de enfermedades cardíacas (Wijeratne *et al.*, 2006).

#### 3.2 Antecedentes botánicos y etnobotánicos de la especie *Prunus serotina*.

*Prunus serotina* Ehrh. sp. *capuli*, es un árbol de 10 a 15 m de altura de corteza rojiza o café, de hojas lanceoladas y aserradas, y de flores blancas agrupadas en racimos (Figura 2). Tiene un fruto globuloso de color rojo o negro, de 1.5 cm de diámetro, con semilla y fructifica de mayo a agosto (Lara y Márquez, 1996; Argueta *et al.*, 1994). Se distribuye ampliamente por la República Mexicana, en los estados de Baja California Sur, Coahuila, Colima, Chiapas, Chihuahua, Distrito Federal, Durango, Estado de México, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Sonora, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas (Lara y Márquez, 1996).

Esta planta se ha utilizado a lo largo de los años por distintos grupos étnicos con fines medicinales y es conocida con diversos nombres populares. Por ejemplo los zapotecas la llaman “taunday”, los mixtecas la conocen como “t-mundaya”, los coras de Nayarit la llamaban “tzu’uri”, los purépechas de Michoacán la conocen como “chencuay chengua” y en el Valle de México y Morelos se conoce como Capulín (Lara y Márquez, 1996).

En Michoacán e Hidalgo se prepara un jarabe con el fruto que se toma por cucharadas y el cocimiento de las hojas se ingiere cada cuatro horas para tratar la tos. En el Distrito Federal, se prepara un té con las hojas. En Sonora se ocupan las hojas y la corteza para tratar la diarrea, catarro, nubes en los ojos y fiebres periódicas (Argueta *et al.*, 1994). El cocimiento de su corteza puesto al sol, cura las “cámaras” de sangre. El cocimiento del fruto se utiliza para tratar el “mal de orín”. Las hojas se utilizan como antiespasmódico (Argueta *et al.*, 1994).

En el siglo XVI, Martín de la Cruz lo señala como antiprurítico, para la dermatosis y dispepsia. El Códice Florentino menciona su uso para los ojos irritados. Francisco Hernández en el mismo siglo lo señala como sedante, tónico, el cocimiento de la corteza cura los disentéricos, el polvo de la misma disuelve las nubes, aclara la vista, alivia las inflamaciones de los ojos y suaviza la lengua reseca por exceso de calor (Argueta *et al.*, 1994).

Maximino Martínez describe los siguientes usos; antidiarreico, antiespasmódico, antipalúdico, contra neumonía, enfermedades del sistema respiratorio y para tratar la disentería (Martínez, 1989).

### **3.3 Antecedentes químicos sobre el género *Prunus*.**

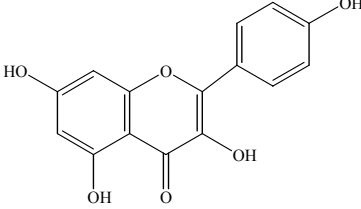
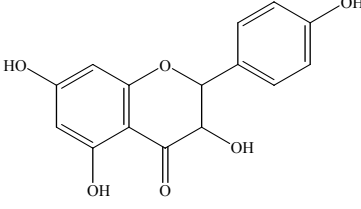
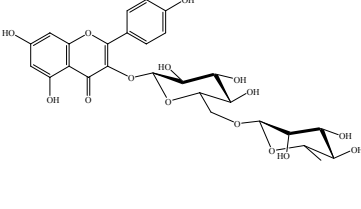
Los estudios químicos realizados sobre varias especies del género *Prunus* han permitido el aislamiento y la identificación de metabolitos secundarios como: flavonoides, glicósidos cianogénicos, compuestos fenólicos simples, cumarinas, terpenoides y lignanos. En el Cuadro 1 se ilustran las estructuras de los compuestos aislados e identificados de las especies investigadas a la fecha.



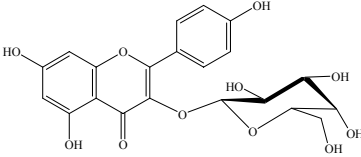
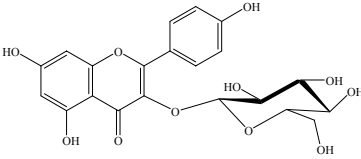
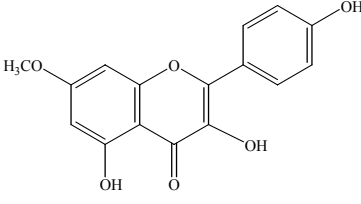
**Figura 2.** *Prunus serotina* (árbol, hojas y flores)



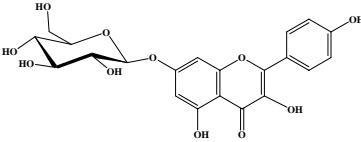
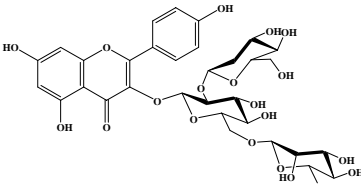
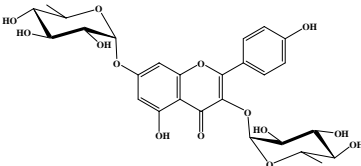
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus*.

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<p><i>P. spinosa</i> <i>P. davidiana</i> <i>P. dulcis</i></p>	 <p>camferol</p>	<p>Olszewska y Wolbis, 2001 Jung <i>et al.</i>, 2003 Milbury <i>et al.</i>, 2006</p>
<p><i>P. davidiana</i></p>	 <p>dihidrocamferol</p>	<p>Jung <i>et al.</i>, 2003</p>
<p><i>P. dulcis</i> <i>P. cerasus</i></p>	 <p>camferol-3-<i>O</i>-rutinósido</p>	<p>Wijeratine <i>et al.</i>, 2006 Wang <i>et al.</i>, 1999</p>

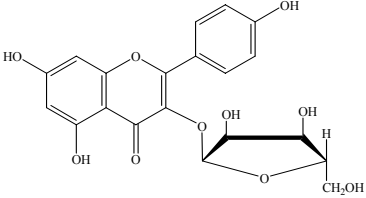
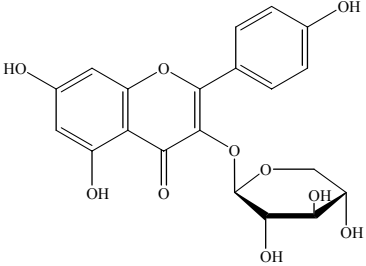
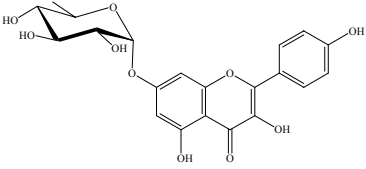
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>FLAVONOIDES</b>		
<i>P. dulcis</i>	 <p>camferol-3-<i>O</i>-galactósido</p>	Wijeratine <i>et al.</i> , 2006
<i>P. dulcis</i> <i>P. serotina</i>	 <p>camferol-3-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopiranosido (astragalina)</p>	Wijeratine <i>et al.</i> , 2006 Olszewska, 2005
<i>P. armeniaca</i>	 <p>camferol-7-<i>O</i>-metiléter</p>	Prasad, 2000

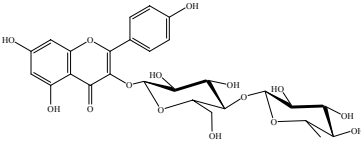
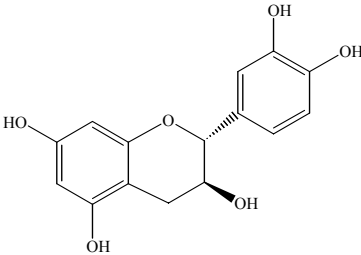
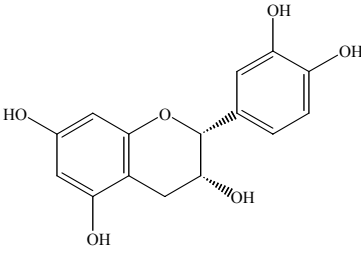
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>P. davidiana</i>	 <p>camferol-7-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucósido</p>	Jung <i>et al.</i> , 2003
<i>P. armeniaca</i>	 <p>camferol-3-<i>O</i>-rutinosil-hexósido</p>	Ruiz <i>et al.</i> , 2005
<i>P. spinosa</i>	 <p>camferol-3-7-di-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L-ramnopiranosido</p>	Olszewska y Wolbis, 2002

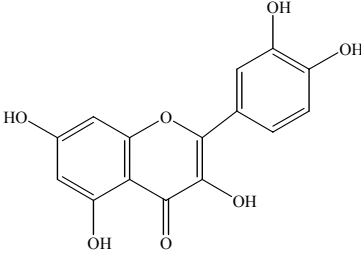
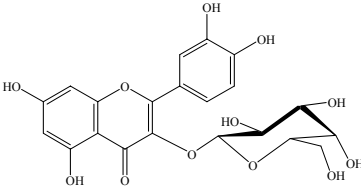
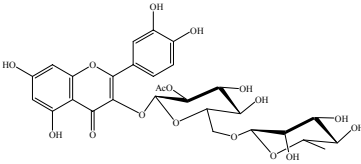
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<p><i>P. spinosa</i> <i>P. serotina</i></p>	 <p>camferol-3-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L-arabinofuranósido (juglanina)</p>	<p>Olszewska y Wolbis, 2001 Olszewska, 2005</p>
<p><i>P. spinosa</i> <i>P. serotina</i></p>	 <p>camferol-3-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-xilopiranosido</p>	<p>Olszewska y Wolbis, 2001 Olszewska, 2005</p>
<p><i>P. spinosa</i></p>	 <p>camferol-7-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L-ramnopiranosido</p>	<p>Olszewska y Wolbis, 2001</p>

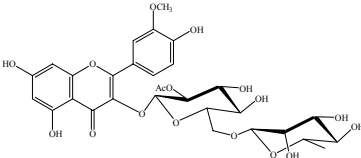
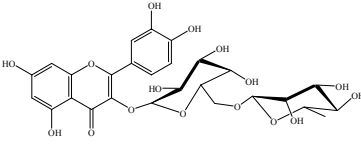
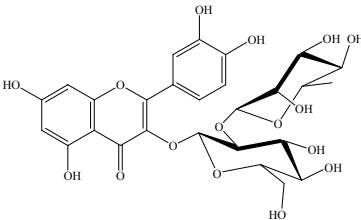
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>FLAVONOIDES</b>		
<i>P. spinosa</i>	 <p>camferol-3-<i>O</i>-(4'-<math>\beta</math>-D-glucopiranosil)-<math>\alpha</math>-L-ramnopiranosido</p>	Olszewska y Wolbis, 2002
<i>P. amygdalus</i> <i>P. davidiana</i> <i>P. dulcis</i>	 <p>catequina</p>	Sang <i>et al.</i> , 2002 Jung <i>et al.</i> , 2003 Milbury <i>et al.</i> , 2006
<i>P. domestica</i> <i>P. dulcis</i>	 <p>epicatequina</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2003 Milbury <i>et al.</i> , 2006

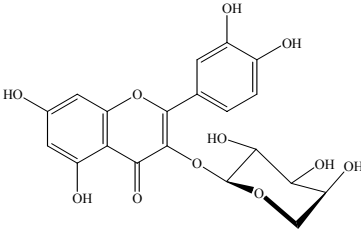
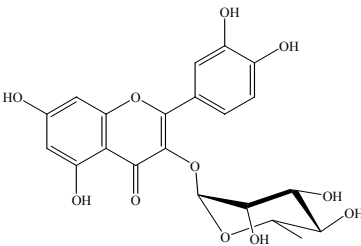
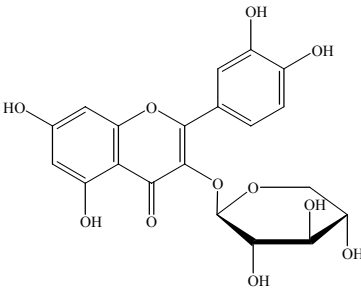
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<p><i>P. spinosa</i> <i>P. dulcis</i></p>	 <p>quercetina</p>	<p>Olszewska y Wolbis, 2001 Milbury <i>et al.</i>, 2006</p>
<p><i>P. dulcis</i> <i>P. serotina</i></p>	 <p>quercetina-3-<i>O</i>-galactósido (hiperina)</p>	<p>Wijeratne <i>et al.</i>, 2006 Olszewska, 2005</p>
<p><i>P. mume</i></p>	 <p>quercetina-2''-<i>O</i>-acetilrutina</p>	<p>Yoshikawa <i>et al.</i>, 2002</p>

**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

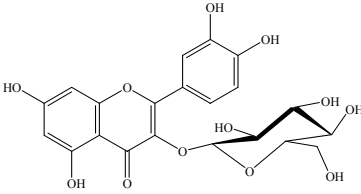
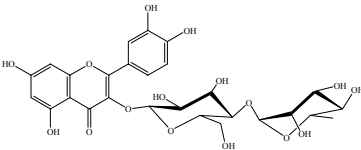
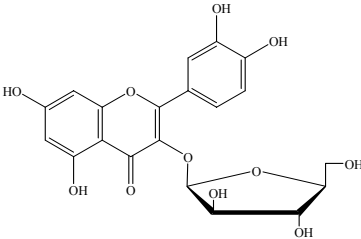
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>FLAVONOIDES</b>		
<i>P. mume</i>	 <p style="text-align: center;">quercetina-2''-<i>O</i>-acetil-3'-<i>O</i>-metilrutina</p>	Yoshikawa <i>et al.</i> , 2002
<i>P. mume</i>	 <p style="text-align: center;">quercetina-3-<i>O</i>-ramnosil (1→6) galactósido</p>	Yoshikawa <i>et al.</i> , 2002
<i>P. mume</i> <i>P. serotina</i>	 <p style="text-align: center;">quercetina-3-<i>O</i>-(2''-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L- ramnopiranosil)-<math>\beta</math>-D- glucopiranosido (neohesperósido)</p>	Yoshikawa <i>et al.</i> , 2002 Olszewska, 2005

**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

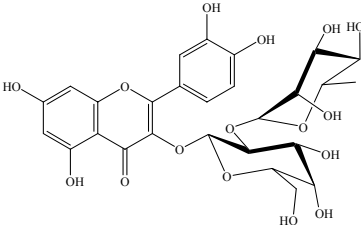
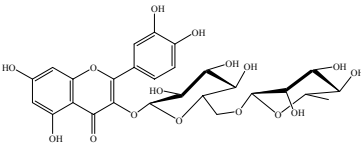
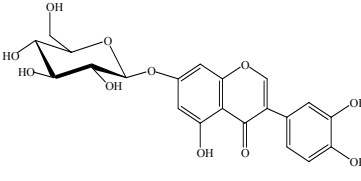
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<p><i>P. spinosa</i> <i>P. serotina</i></p>	 <p>quercetina-3-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L-arabinopiranosido (guajaverina)</p>	<p>Olszewska y Wolbis, 2002 Olszewska, 2005</p>
<p><i>P. spinosa</i> <i>P. cerasus</i></p>	 <p>quercetina-3-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L-ramnopiranosido</p>	<p>Olszewska y Wolbis, 2002 Wang <i>et al.</i>, 1999</p>
<p><i>P. spinosa</i></p>	 <p>quercetina-3-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-xilopiranosido (reinutrina)</p>	<p>Olszewska y Wolbis, 2002</p>



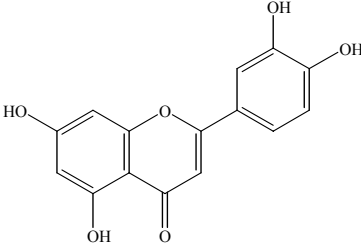
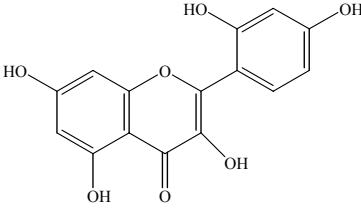
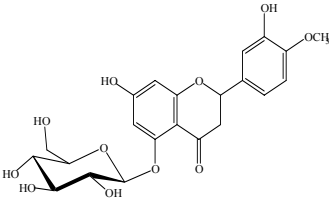
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<p><i>P. spinosa</i> <i>P. serotina</i></p>	 <p>quercetina-3-<i>O</i>-<math>\beta</math>- glucopiranosido (isoquercetrina)</p>	<p>Olszewska y Wolbis, 2002 Olszewska, 2005</p>
<p><i>P. spinosa</i></p>	 <p>quercetina-3-<i>O</i>-(4''-<math>\beta</math>-D- glucopiranosil)- <math>\alpha</math>-L- ramnopiranosido</p>	<p>Olszewska y Wolbis, 2002</p>
<p><i>P. spinosa</i> <i>P. serotina</i></p>	 <p>quercetina-3-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L-arabino furanósido (avicularina)</p>	<p>Olszewska y Wolbis, 2001 Olszewska, 2005</p>

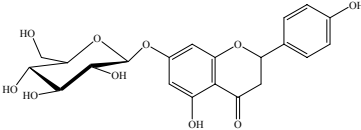
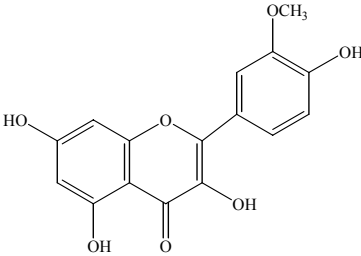
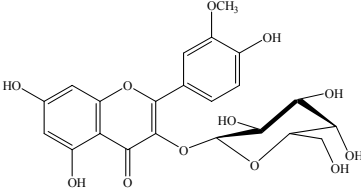
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>FLAVONOIDES</b>		
<i>P. serotina</i>	 <p>quercetina-3-<i>O</i>-(2''-<math>\alpha</math>-L-ramnopiranosil)-<math>\beta</math>-D-galactopiranosido</p>	Olszewska, 2005
<i>P. mume</i> <i>P. domestica</i> <i>P. armeniaca</i> <i>P. serotina</i>	 <p>quercetina-3-<i>O</i>-rutinósido (rutina)</p>	Yoshikawa <i>et al.</i> , 2002 Kayano <i>et al.</i> , 2004 Olszewska, 2005
<i>P. serrulata</i> var. <i>spontanea</i>	 <p>orobol-7-<i>O</i>-glucósido</p>	Jung <i>et al.</i> , 2005

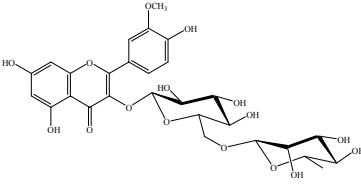
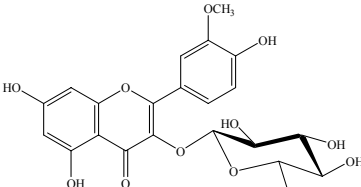
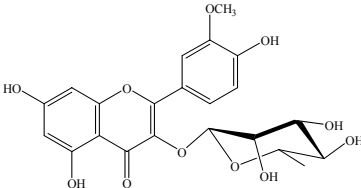
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>FLAVONOIDES</b>		
<i>P. dulcis</i>	 <p style="text-align: center;">eriodictiol</p>	Milbury <i>et al.</i> , 2006
<i>P. dulcis</i>	 <p style="text-align: center;">morina</p>	Wijeratne <i>et al.</i> , 2006
<i>P. davidiana</i>	 <p style="text-align: center;">hesperitina-5-O-β-D- glucósido</p>	Jung <i>et al.</i> , 2003

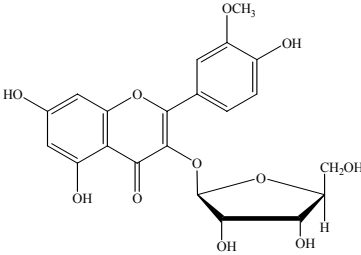
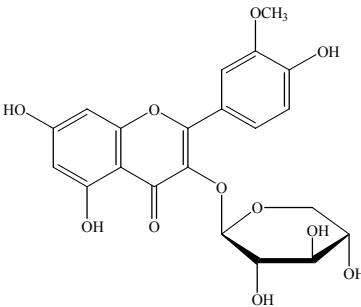
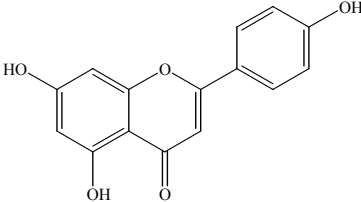
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>FLAVONOIDES</b>		
<i>P. davidiana</i>	 <p style="text-align: center;">naringenina-7-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D- glucósido</p>	Jung <i>et al.</i> , 2003
<i>P. dulcis</i>	 <p style="text-align: center;">isoramnetina</p>	Milbury <i>et al.</i> , 2006
<i>P. dulcis</i>	 <p style="text-align: center;">isoramnetina-3-<i>O</i>- galactósido</p>	Milbury <i>et al.</i> , 2006

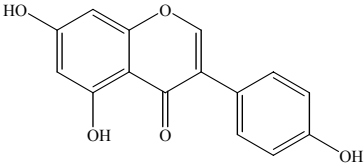
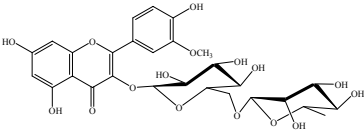
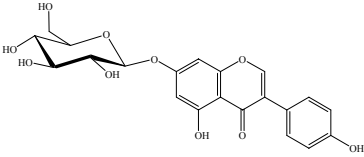
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<p><i>P. dulcis</i> <i>P. serotina</i></p>	 <p>isoramnetina-3-<i>O</i>-rutinósido</p>	<p>Milbury <i>et al.</i>, 2006 Olszewska, 2005</p>
<p><i>P. dulcis</i></p>	 <p>isoramnetina-3-<i>O</i>-glucósido</p>	<p>Milbury <i>et al.</i>, 2006</p>
<p><i>P. mume</i></p>	 <p>isoramnetina-3-<i>O</i>- ramnósido</p>	<p>Yoshikawa <i>et al.</i>, 2002</p>

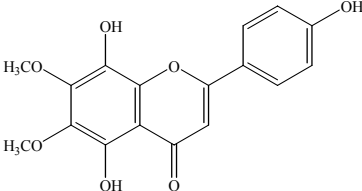
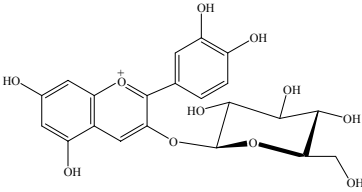
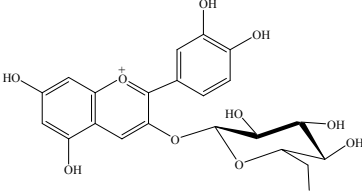
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>P. serotina</i>	 <p>isoramnetina-3-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-arabinofuranósido</p>	Olszewska, 2005
<i>P. serotina</i>	 <p>isoramnetina-3-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-xilopiranosido</p>	Olszewska, 2005
<i>P. cerasus</i>	 <p>5,7,4'-trihidroxi flavona</p>	Wang <i>et al.</i> , 1999

**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

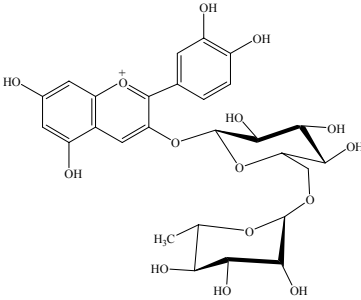
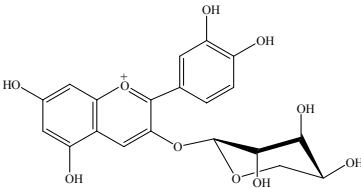
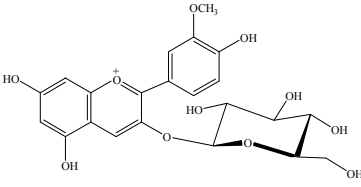
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>FLAVONOIDES</b>		
<i>P. cerasus</i>	 <p>5,7,4'-trihidroxiisoflavona</p>	Wang <i>et al.</i> , 1999
<i>P. cerasus</i>	 <p>5,7,4'-trihidroxi-3'-metoxiflavonol-3-O-rutinósido</p>	Wang <i>et al.</i> , 1999
<i>P. cerasus</i>	 <p>5,7,4'-trihidroxiisoflavona-7-O-glucósido</p>	Wang <i>et al.</i> , 1999

**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

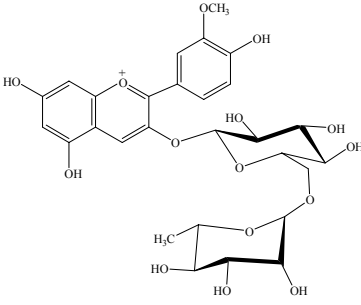
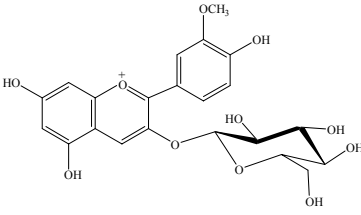
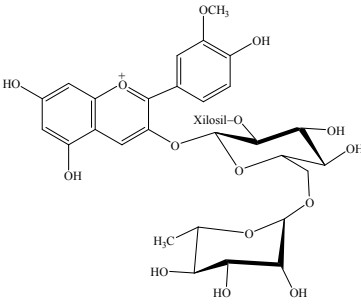
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>FLAVONOIDES</b>		
<i>P. cerasus</i>	 <p style="text-align: center;">6,7-dimetoxi-5,8,4'- trihidroxi-flavona</p>	Wang <i>et al.</i> , 1999
<i>P. serotina</i> <i>P. avium</i> <i>P. padus</i> <i>P. nucipersica</i> <i>P. persica</i> <i>P. vulgaris</i> sp. <i>nectarina</i> <i>P. domestica</i> <i>P. spinosa</i> <i>P. divaricata</i> <i>P. armeniaca</i>	 <p style="text-align: center;">cianidina-3-<i>O</i>-glucósido</p>	Ordaz <i>et al.</i> , 1999 Deineka <i>et al.</i> , 2004 Deineka <i>et al.</i> , 2005 Ruiz <i>et al.</i> , 2005
<i>P. davaricata</i>	 <p style="text-align: center;">cianidina-3-<i>O</i>-galactósido</p>	Deineka <i>et al.</i> , 2005



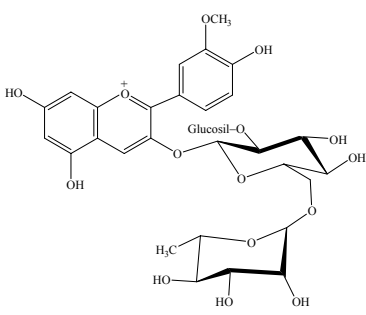
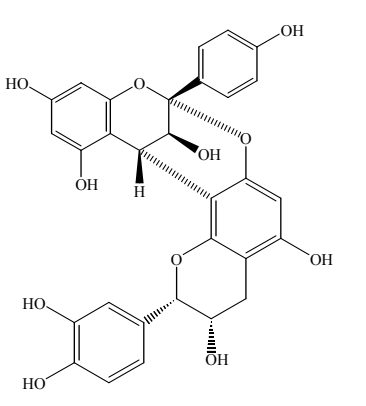
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<p><i>P. serotina</i>  <i>P. cerasus</i>  <i>P. spinosa</i>  <i>P. davaricata</i>  <i>P. armeniaca</i>  <i>P. persica</i>  <i>P. vulgaris</i> sp. <i>nectarina</i>  <i>P. domestica</i></p>	 <p>cianidina-3-<i>O</i>-rutinosido</p>	<p>Ordaz <i>et al.</i>, 1999  Deineka <i>et al.</i>, 2004  Deineka <i>et al.</i>, 2005  Ruiz <i>et al.</i>, 2005</p>
<p><i>P. davaricata</i></p>	 <p>cianidina-3-<i>O</i>-arabinosido</p>	<p>Deineka <i>et al.</i>, 2005</p>
<p><i>P. domestica</i>  <i>P. spinosa</i>  <i>P. davaricata</i></p>	 <p>peonidina-3-<i>O</i>-glucósido</p>	<p>Deineka <i>et al.</i>, 2005</p>

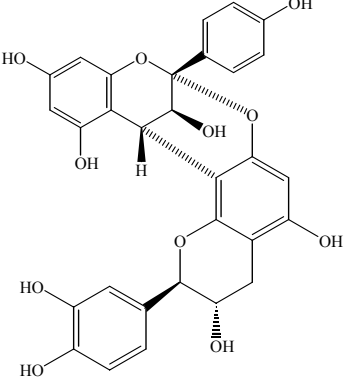
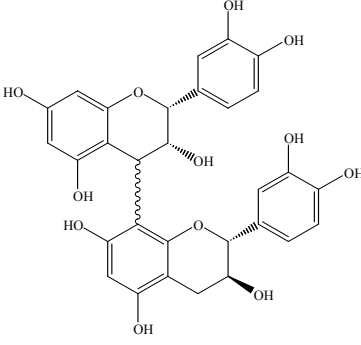
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<p><i>P. domestica</i> <i>P. spinosa</i> <i>P. davaricata</i></p>	 <p>peonidina-3-<i>O</i>-rutinosido</p>	<p>Deineka <i>et al.</i>, 2005</p>
<p><i>P. davaricata</i></p>	 <p>peonidina-3-<i>O</i>-galactósido</p>	<p>Deineka <i>et al.</i>, 2005</p>
<p><i>P. cerasus</i></p>	 <p>peonidina-3-<i>O</i>-xililirutinoso</p>	<p>Deineka <i>et al.</i>, 2004</p>

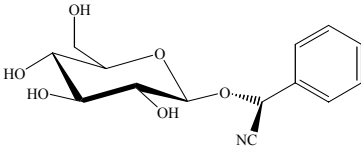
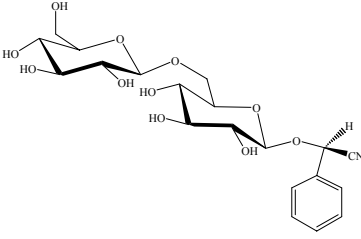
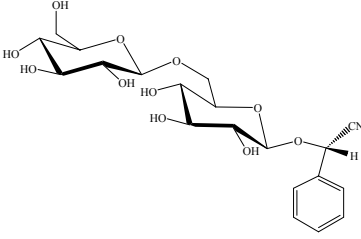
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>FLAVONOIDES</b>		
<p><i>P. cerasus</i> <i>P. avium</i> <i>P. padus</i></p>	 <p style="text-align: center;">peonidina-3-<i>O</i>- glucosilrutinosa</p>	<p style="text-align: center;">Deineka <i>et al.</i>, 2004</p>
<b>PROANTOCIANIDINAS</b>		
<p><i>P. armeniaca</i></p>	 <p style="text-align: center;"><i>ent</i>-epiafzelechin-(4<math>\alpha</math>-8,2<math>\alpha</math>- <i>O</i>→7)-(-)-epicatequina</p>	<p style="text-align: center;">Prasad, 2000</p>

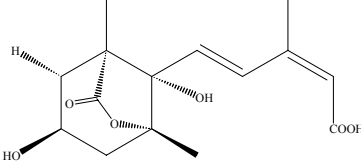
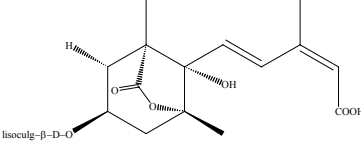
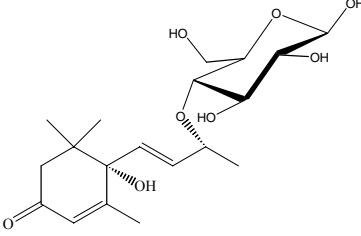
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>PROANTOCIANIDINAS</b>		
<i>P. armeniaca</i>	 <p><i>ent</i>-epiafzelechin-(4<math>\alpha</math>-8,2<math>\alpha</math>-O<math>\rightarrow</math>7)-(+)- catequina</p>	Prasad, 2000
<i>P. armeniaca</i>	 <p>procianidina B1</p>	Ruiz <i>et al.</i> , 2005

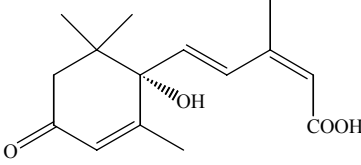
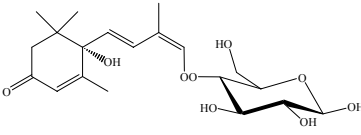
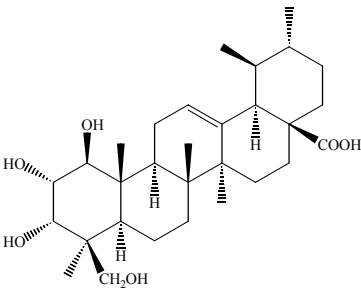
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>GLUCÓSIDOS CIANOGENÉNICOS</b>		
<p><i>P. serotina</i> <i>P. mume</i></p>	 <p style="text-align: center;">prunasina</p>	<p>Horsley y Meinwald, 1981 Yoshikawa <i>et al.</i>, 2002</p>
<p><i>P. serotina</i> <i>P. tomentosa</i> <i>P. virginiana</i> sp. <i>Padus</i> <i>P. ilicifolia</i> <i>P. lyonii</i> sp <i>laurocerasus</i> <i>P. mume</i></p>	 <p style="text-align: center;">amigdalina</p>	<p>Santamour, 1998 Lv <i>et al.</i>, 2005 Yoshikawa <i>et al.</i>, 2002</p>
<p><i>P. tomentosa</i></p>	 <p style="text-align: center;">neoamigdalina</p>	<p>Lv <i>et al.</i>, 2005</p>

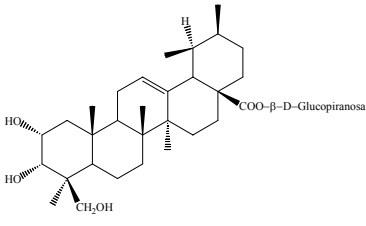
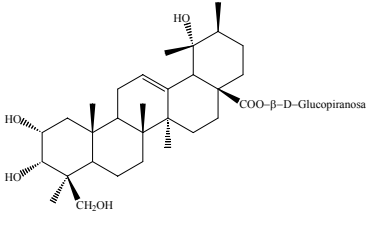
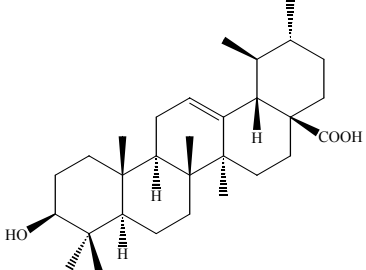
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>SESQUITERPENOS</b>		
<i>P. domestica</i>	 <p>ácido rel-5-(3<i>S</i>,8<i>S</i>-dihidroxi-1<i>R</i>,5<i>S</i>-dimetil-7-oxa-6-oxobiciclo [3,2,1]oct-8-il)-3-metil-2<i>Z</i>,4-<i>E</i>-pentadienoico</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004
<i>P. domestica</i>	 <p>ácido rel-5-(3<i>S</i>,8<i>S</i>-dihidroxi-1<i>R</i>,5<i>S</i>-dimetil-7-oxa-6-oxobiciclo [3,2,1]oct-8-il)-3-metil-2<i>Z</i>,4-<i>E</i>-pentadienoico 3'-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopiranosido</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004
<i>P. domestica</i>	 <p>6<i>S</i>,9<i>R</i>-roseósido</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004

**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

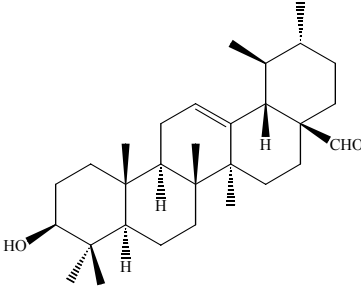
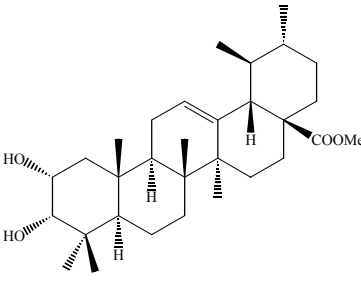
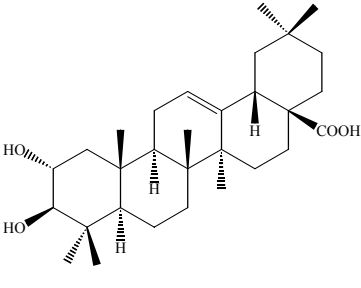
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>SESQUITERPENOS</b>		
<i>P. domestica</i>	 <p style="text-align: center;">ácido abscísico</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004
<i>P. domestica</i>	 <p style="text-align: center;">abscisato <math>\beta</math>-D- glucopiranosido</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004
<b>TRITERPENOS</b>		
<i>P. serrulata</i> var. <i>spontanea</i>	 <p style="text-align: center;">ácido 1<math>\beta</math>,2<math>\alpha</math>,3<math>\alpha</math>,24- tetrahidroxi-urs-12-en-28- oico</p>	Jung <i>et al.</i> , 2005

**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

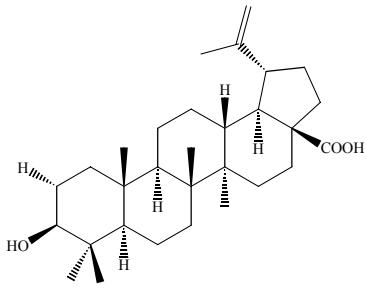
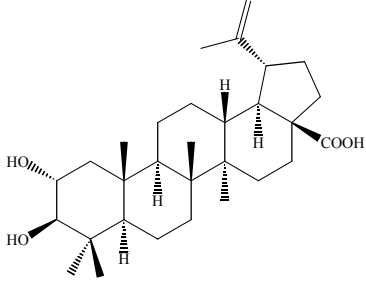
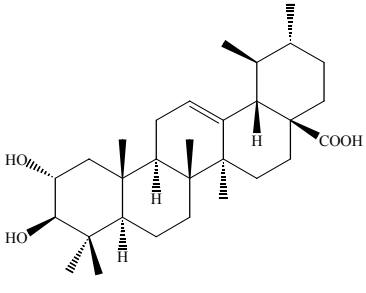
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>TRITERPENOS</b>		
<i>P. serrulata</i> var. <i>spontanea</i>	 <p>ácido 2<math>\alpha</math>,3<math>\alpha</math>,24-trihidroxi-urs-12-en-28 oico-28-O-<math>\beta</math>-D-glucopiranosil éster</p>	Jung <i>et al.</i> , 2004
<i>P. serrulata</i> var. <i>spontanea</i>	 <p>ácido 2<math>\alpha</math>,3<math>\alpha</math>,19<math>\alpha</math>,24-tetrahidroxi-urs-12-en-28 oico-28-O-<math>\beta</math>-D-glucopiranosil éster</p>	Jung <i>et al.</i> , 2004
<i>P. lusitanica</i> <i>P. serotina</i> <i>P. africana</i> <i>P. amygdalus</i> <i>P. dulcis</i> <i>P. spinosa</i>	 <p>ácido ursólico</p>	Biessels <i>et al.</i> , 1974 Hass <i>et al.</i> , 1999 Sang <i>et al.</i> , 2002 Amico <i>et al.</i> , 2006 Wolbis <i>et al.</i> , 2001



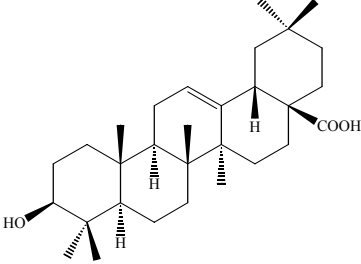
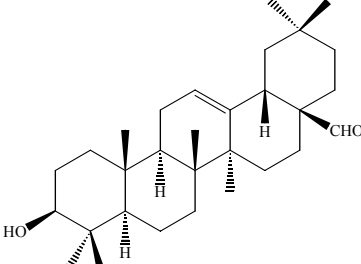
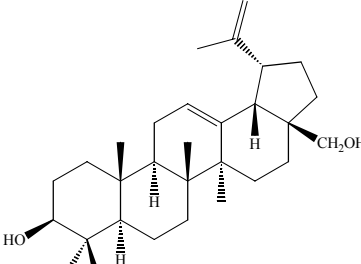
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<p><i>P. serotina</i> <i>P. lusitanica</i> <i>P. dulcis</i></p>	 <p>aldehído ursólico</p>	<p>Biessels <i>et al.</i>, 1974 Amico <i>et al.</i>, 2006</p>
<p><i>P. serotina</i> <i>P. lusitanica</i></p>	 <p>2<math>\alpha</math>,3<math>\alpha</math>-dihidroxi-urs-12-en 28-ato de metilo</p>	<p>Biessels <i>et al.</i>, 1974</p>
<p><i>P. dulcis</i></p>	 <p>ácido maslínico</p>	<p>Amico <i>et al.</i>, 2006</p>

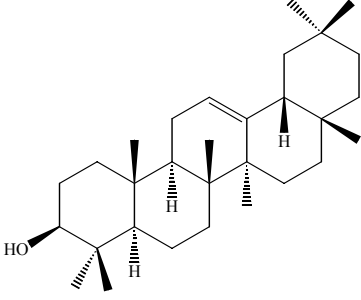
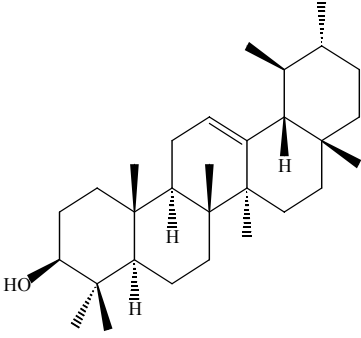
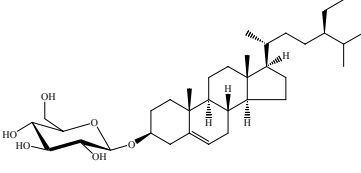
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>TRITERPENOS</b>		
<i>P. dulcis</i>	 <p style="text-align: center;">ácido betulínico</p>	<i>Amico et al.</i> , 2006
<i>P. dulcis</i>	 <p style="text-align: center;">ácido alfitólico</p>	<i>Amico et al.</i> , 2006
<i>P. dulcis</i>	 <p style="text-align: center;">ácido corosólico</p>	<i>Amico et al.</i> , 2006

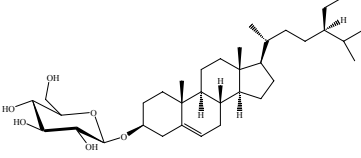
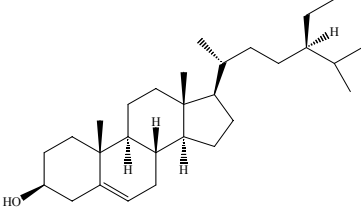
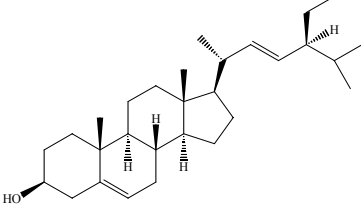
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>TRITERPENOS</b>		
<p><i>P. dulcis</i> <i>P. spinosa</i></p>	 <p style="text-align: center;">ácido oleanólico</p>	<p><i>Amico et al.</i>, 2006 <i>Wolbis et al.</i>, 2001</p>
<p><i>P. dulcis</i></p>	 <p style="text-align: center;">aldehído oleanólico</p>	<p><i>Amico et al.</i>, 2006</p>
<p><i>P. dulcis</i></p>	 <p style="text-align: center;">betulina</p>	<p><i>Amico et al.</i>, 2006</p>

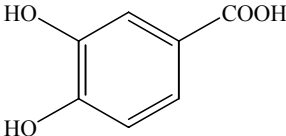
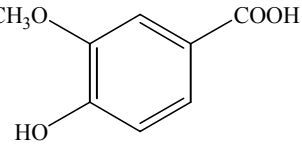
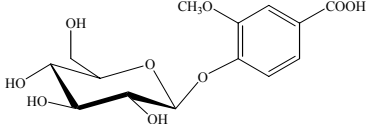
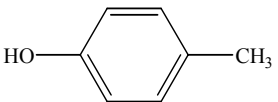
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>TRITERPENOS</b>		
<i>P. spinosa</i>	 <p style="text-align: center;"><math>\beta</math>-amirina</p>	Wolbis <i>et al.</i> , 2001
<i>P. spinosa</i>	 <p style="text-align: center;"><math>\alpha</math>-amirina</p>	Wolbis <i>et al.</i> , 2001
<b>ESTEROIDES</b>		
<i>P. dulcis</i>	 <p style="text-align: center;">daucosterol-3-O-<math>\beta</math>-D- glucopiranosido</p>	Amico <i>et al.</i> , 2006

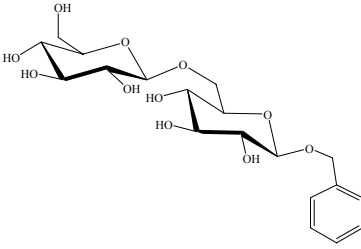
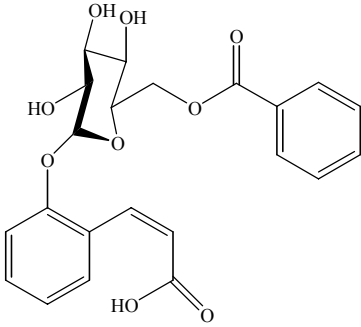
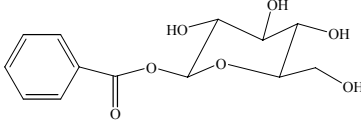
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<p><i>P. armeniaca</i> <i>P. spinosa</i></p>	 <p><math>\beta</math>-sitosterol-3-<i>O</i>-glucósido</p>	<p>Prasad, 2002 Wolbis <i>et al.</i>, 2001</p>
<p><i>P. africana</i> <i>P. spinosa</i></p>	 <p><math>\beta</math>-sitosterol</p>	<p>Hass <i>et al.</i>, 1999 Wolbis <i>et al.</i>, 2001</p>
<p><i>P. spinosa</i></p>	 <p>stigmasterol</p>	<p>Wolbis <i>et al.</i>, 2001</p>

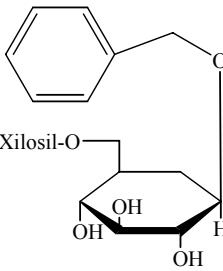
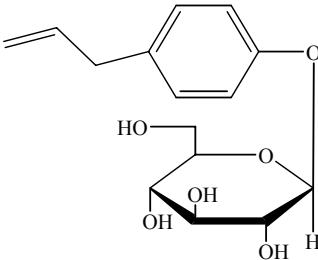
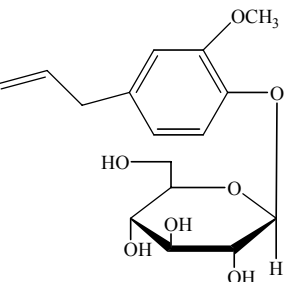
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>AROMATICOS SIMPLES</b>		
<i>P. amygdalus</i> <i>P. domestica</i> <i>P. dulcis</i>	 ácido procatequico	Sang <i>et al.</i> , 2002 Kayano <i>et al.</i> , 2004 Milbury <i>et al.</i> , 2006
<i>P. domestica</i> <i>P. dulcis</i>	 ácido vanílico	Kayano <i>et al.</i> , 2004 Milbury <i>et al.</i> , 2006
<i>P. domestica</i>	 ácido vanílico- $\beta$ -D-glucopiranosido	Kayano <i>et al.</i> , 2004
<i>P. armeniaca</i>	 metil-4-hidroxibenceno	Prasad, 2000

**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

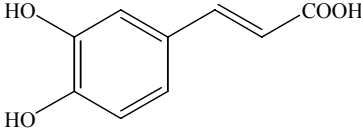
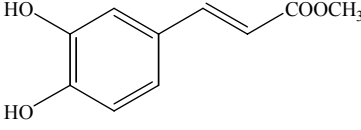
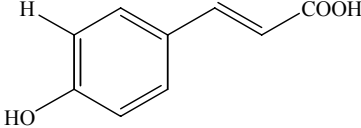
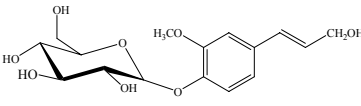
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>AROMATICOS SIMPLES</b>		
<i>P. domestica</i>	 <p style="text-align: center;">bencil <math>\beta</math>-primeverósido</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004
<i>P. serrulata</i> var. <i>spontanea</i>	 <p style="text-align: center;">pursargentósido</p>	Jung <i>et al.</i> , 2005
<i>P. serotina</i>	 <p style="text-align: center;">[<math>\beta</math>-D-glucopiranososa 1- benzoato] (glucosa-1-benzoato)</p>	Horsley y Meinwald, 1981

**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

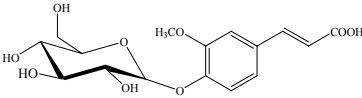
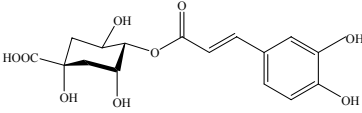
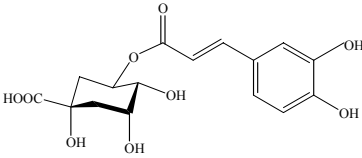
ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>AROMATICOS SIMPLES</b>		
<i>P. mume</i>	 <p data-bbox="619 840 962 929">bencil-xilopiranosil (1→6) glucopiranosido</p>	Matsuda <i>et al.</i> , 2003
<b>FENILPROPANOIDES</b>		
<i>P. mume</i>	 <p data-bbox="646 1388 933 1422">chavicol β-D glucósido</p>	Matsuda <i>et al.</i> , 2003
<i>P. mume</i>	 <p data-bbox="678 1904 901 1937">eugenilglucósido</p>	Matsuda <i>et al.</i> , 2003



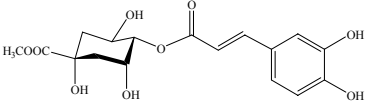
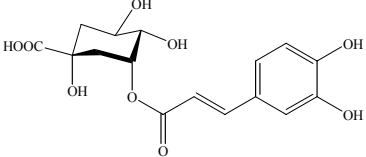
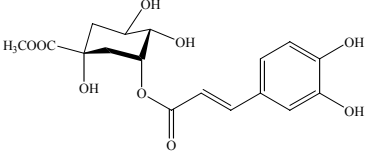
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>FENILPROPANOIDES</b>		
<i>P. domestica</i>	 <p style="text-align: center;">ácido caféico</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004
<i>P. domestica</i>	 <p style="text-align: center;">éster metílico del ácido caféico</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004
<i>P. domestica</i>	 <p style="text-align: center;">ácido <i>p</i>-cumárico</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004
<i>P. domestica</i>	 <p style="text-align: center;">coniferina</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004

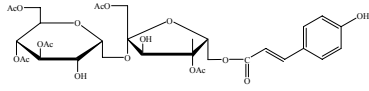
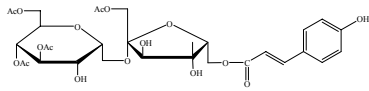
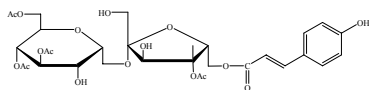
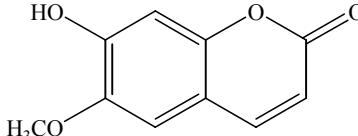
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>FENILPROPANOIDES</b>		
<i>P. domestica</i>	 <p style="text-align: center;">ácido-<math>\beta</math>-D-glucopiranosido ferúlico</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004
<i>P. dulcis</i> <i>P. domestica</i>	 <p style="text-align: center;">ácido-4-<i>O</i>-cafeoilquinico (criptoclorogénico)</p>	Takeoka <i>et al.</i> , 2003 Kayano <i>et al.</i> , 2004
<i>P. cerasus</i> <i>P. mume</i> <i>P. dulcis</i> <i>P. domestica</i> <i>P. serrulata</i> var. <i>spontanea</i> <i>P. armeniaca</i>	 <p style="text-align: center;">ácido-5-<i>O</i>-cafeoilquinico (clorogénico)</p>	Wang <i>et al.</i> , 1999 Yoshikawa <i>et al.</i> , 2002 Takeoka <i>et al.</i> , 2003 Kayano <i>et al.</i> , 2004 Jung <i>et al.</i> , 2005 Ruiz <i>et al.</i> , 2005

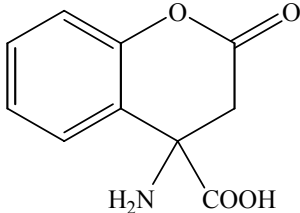
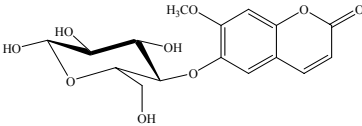
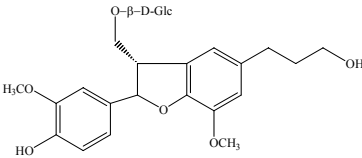
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>FENILPROPANOIDES</b>		
<i>P. domestica</i>	 <p>éster metílico del ácido-4-<i>O</i>-cafeoilquinico</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004
<i>P. dulcis</i> <i>P. armeniaca</i>	 <p>ácido-3-<i>O</i>-cafeoilquinico (neochlorogénico)</p>	Takeoka <i>et al.</i> , 2003 Ruiz <i>et al.</i> , 2005
<i>P. domestica</i>	 <p>éster metílico del ácido-3-<i>O</i>-cafeoilquinico</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004

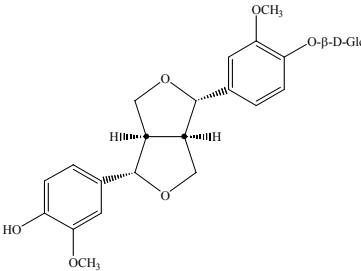
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>FENILPROPANOIDES</b>		
<i>P. mume</i>	 <p style="text-align: center;">prunosa I</p>	Yoshikawa <i>et al.</i> , 2002
<i>P. mume</i>	 <p style="text-align: center;">prunosa II</p>	Yoshikawa <i>et al.</i> , 2002
<i>P. mume</i>	 <p style="text-align: center;">prunosa III</p>	Matsuda <i>et al.</i> , 2003
<b>CUMARINAS</b>		
<i>P. domestica</i>	 <p style="text-align: center;">escopoletina</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004

**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>CUMARINAS</b>		
<i>P. domestica</i>	 <p data-bbox="619 840 960 869">4-amino-4-carboxicroman-2-ona</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004
<i>P. domestica</i>	 <p data-bbox="703 1178 874 1207">magnoliósido</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004
<b>BENZOFURANOS</b>		
<i>P. domestica</i>	 <p data-bbox="608 1615 971 1771">3-(<math>\beta</math>-D-glucopiranosiloximetil)-2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-5-(3-hidroxiopropil)-7-metoxi-(2<i>R</i>,3<i>S</i>)-dihidrobencofurano</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004

**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios aislados del género *Prunus* (continuación).

ESPECIE	COMPUESTO	REFERENCIA
<b>LIGNANOS</b>		
<i>P. domestica</i>	 <p data-bbox="667 891 911 981">pinoresinol-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopiranosido</p>	Kayano <i>et al.</i> , 2004

## 4. PARTE EXPERIMENTAL.

### 4.1 Procedimientos Generales.

#### 4.1.1 Análisis Cromatográficos.

La cromatografía analítica en capa delgada se realizó en placas de aluminio de diferentes dimensiones recubiertas con gel de sílice (60 F254 Merck, malla 3.5-7.0 ASTM) de 0.25 mm de espesor. Los compuestos se visualizaron con luz UV de longitud de onda corta (254nm) y larga (365nm) y mediante la aplicación de un agente cromógeno apropiado. Para favorecer la reacción de los constituyentes con el agente revelador fue necesario calentar las placas en una parrilla hasta la visualización de los compuestos. La cromatografía en columna abierta se realizó sobre gel de sílice Kiesegel 60 Merck (tamaño de partícula 0.063-0.200mm, 70-230 mesh ASTM) o Sephadex LH-20 (General Electric Health Sci).

**Cuadro 2.** Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina.

Agente revelador	Composición	Referencia
Sulfato cérico amoniacal	12.0 g de sulfato cérico. 22.0 ml de ácido sulfúrico concentrado. 350.0 g de hielo picado	Wagner, 1984
Vainillina sulfúrica	3.0 g de vainillina 0.5 ml de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> conc. 100.0 ml de etanol	Touchstone, 1992

#### **4.1.2 Equipos utilizados en los estudios de espectroscopía, espectrometría y para la determinación de constantes físicas.**

Los estudios de espectroscopía y espectrometría se realizaron en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) edificio B de la Facultad de Química de la UNAM.

Los espectros en el IR se obtuvieron en un espectrofotómetro FTIR de rejilla modelo 1605 marca Perkin-Elmer, en pastilla de bromuro de potasio. Los espectros en el UV se determinaron en un espectrofotómetro UV-Vis Lambda 2 utilizando metanol como disolvente. Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (RMN-  $^1\text{H}$ , 300 MHz) y de carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ , 75 MHz) se generaron en un equipo Varian VXR-300S en  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{CDCl}_3$  o piridina- $d_5$ ; los desplazamientos químicos se reportan en partes por millón (ppm) con referencia al tetrametilsilano (TMS). Los espectros de masas por impacto electrónico (70eV) se obtuvieron en un equipo Jeol JMS-SX 102A Hewlett-Packard 5890 serie II acoplado a un cromatógrafo de gases. En la modalidad de bombardeo de átomos rápidos (EM-FAB), los espectros se registraron en el mismo equipo usando alcohol nitrobenzílico como matriz. Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y se reportan sin corregir. La rotación óptica se registró en un polarímetro Perkin Elmer 241 utilizando como disolvente metanol o cloroformo.

#### **4.2 Material vegetal.**

El material vegetal, hojas del árbol del capulín, fue recolectado en San Juan del Río, Querétaro, por los investigadores Luis Hernández, Mahinda Martínez y Marisela Gómez en abril del 2006. Una muestra del material vegetal se depositó en el herbario de la Universidad Autónoma de Querétaro (QMEX), Querétaro, México. La identificación de la especie estuvo a cargo de los Drs. Luis Hernández, Mahinda Martínez y Marisela Gómez (Facultad de Ciencias Naturales, UAQ).



### **4.3 Ensayos Biológicos.**

#### **4.3.1 Actividad relajante en músculo liso de aorta de rata.**

Los ensayos para determinar la actividad relajante en el músculo liso de aorta de rata fueron realizados por el Dr. César Ibarra, Investigador del Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas, UAQ. Se emplearon ratas de la cepa Wistar (ambos sexos, 250-300 g), las cuales fueron anestesiadas con una sobredosis de pentobarbital y sacrificadas por decapitación. Se removió la aorta torácica y se colocó en una solución fría de Krebs-Heinseleit (pH 7.4; 126.8 mM NaCl, 5.9 mM KCl, 2.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1.2 mM MgCl<sub>2</sub>, 30 mM NaHCO<sub>3</sub>, 1.2 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5mM D-glucosa). Se eliminó el tejido adiposo y conectivo de la aorta y se cortaron anillos de 4-5 mm (Feelisch *et al.*, 1999; Fostermann *et al.*, 1994). En algunos casos el endotelio se removió mecánicamente (Galle *et al.*, 1999; Ibarra-Alvarado *et al.*, 2002). Los anillos de aorta se montaron en cámaras de incubación de 7 mL con solución de Krebs-Heinseleit a 37 °C, la cual se burbujeó constantemente con una mezcla de 95% O<sub>2</sub> / 5% CO<sub>2</sub>.

Las contracciones mecánicas se registraron isométricamente por medio de transductores de fuerza Grass modelo FTO3 acoplados a un polígrafo Grass de 6 canales modelo 7-8P. El tejido se sometió a una tensión de reposo (basal) de 1.5 g y se dejó equilibrar por alrededor de 90 min. Una vez que el tejido alcanzó el equilibrio, los segmentos se pre-contrajeron con KCl (100 mM) durante 15 min para estimular el músculo arterial. A continuación, se eliminó el KCl lavando 8 veces cada una de las cámaras. La aorta se dejó reposar hasta alcanzar nuevamente su tensión basal de 1.5 g. Una vez estabilizado el tejido, los segmentos de aorta se contrajeron con fenilefrina (1 µM).

Los extractos y compuestos puros de las plantas se evaluaron en un rango de concentraciones de 1 µg/mL a 1,000 µg/mL. Las diferentes concentraciones de los extractos y compuestos puros se disolvieron en agua tridestilada y se adicionaron a las cámaras de tejido aislado 20 min después de haber inducido la contracción de la aorta con la fenilefrina. La respuesta inducida por cada una de las concentraciones de los extractos y compuestos puros en la aorta se registró durante un período de 10 min. Los cambios en la tensión producidos por los extractos y compuestos puros se detectaron mediante transductores de fuerza (FTO3 Grass), acoplados a un polígrafo Grass. La información

obtenida fue procesada por el programa PolyView (Grass). Las respuestas se expresaron como el porcentaje de la contracción alcanzada al adicionar la fenilefrina (Feelisch *et al.*, 1999).

#### **4.4 Estudio fitoquímico de *Prunus serotina*.**

##### **4.4.1 Preparación del extracto de *Prunus serotina*.**

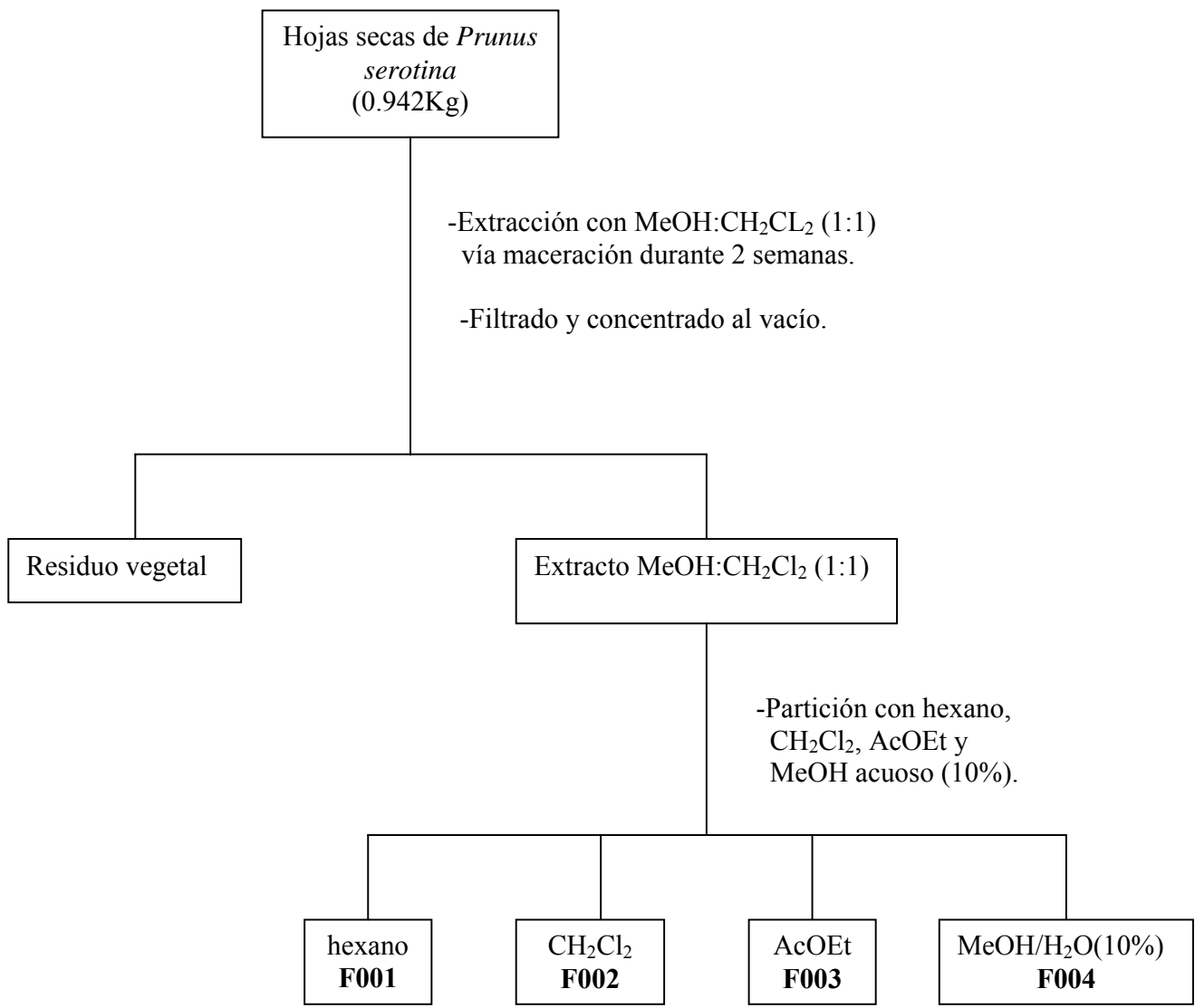
Se utilizaron 0.942 Kg de hojas de capulín molido (previamente seco), se extrajo durante 2 semanas por períodos de 3 días con una mezcla de MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1), mediante una técnica de maceración. El extracto se filtró y se concentró al vacío, obteniendo un extracto de consistencia cerosa de color verde oscuro.

##### **4.4.2 Fraccionamiento primario de *Prunus serotina*.**

El extracto obtenido se sometió a un fraccionamiento primario mediante particiones con hexano, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, AcOEt y MeOH acuoso (10%). En el Esquema 1 se sintetiza el proceso de extracción y fraccionamiento primario del extracto de *Prunus serotina*.

##### **4.4.3 Fraccionamiento secundario de la fracción F002**

La fracción primaria F002 (9.02g) se sometió a un fraccionamiento cromatográfico en una columna al vacío de gel de sílice (250 g) utilizando como eluyentes CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (diversas proporciones), AcOEt-MeOH (diversas proporciones) y acetona. Con este procedimiento se obtuvieron 40 fracciones de 250 mL cada una, las cuales se reunieron de acuerdo a su similitud cromatográfica, generando un conjunto de 10 fracciones secundarias. En el Cuadro 3 se resume el fraccionamiento secundario de F002.



**Esquema 1.** Extracción y fraccionamiento preliminar del extracto total de las hojas de *Prunus serotina*.

**Cuadro 3.** Resumen del fraccionamiento secundario de la fracción F002 por cromatografía en columna al vacío de gel de sílice obtenida a partir del extracto de las hojas de *Prunus serotina*.

<b>Eluyente</b>	<b>Proporción</b>	<b>Fracciones</b>	<b>Fracción recolectada</b>	<b>Clave</b>
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	100	1-2	1-2	F002-I
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -MeOH	95:5	3-8	3-6	F002-II
	90:10	9-14	7-10	F002-III
	85:15	15-16	11-12	F002-IV
	80:20	17-20	13-14	F002-V
	80:20	21-26	15-16	F002-VI
			17-22	F002-VII
AcOEt-MeOH	75:25	27-28	27-28	F002-IX
	70:30	29-32		
	50:50	33-34		
Acetona	100	35-40	29-40	F002-X

#### **4.4.4 Aislamiento de la prunasina a partir de la fracción F002-VII**

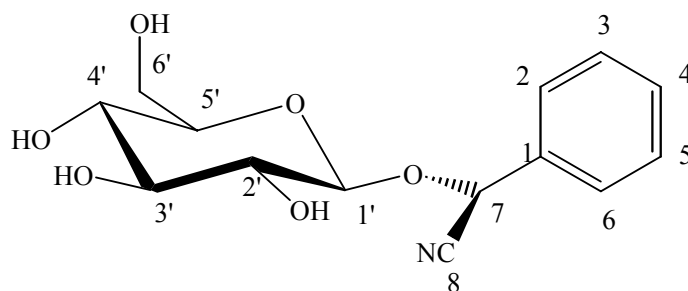
La fracción secundaria F002-VII (2.7g) fue cromatografiada nuevamente, en una columna abierta con gel de sílice (100g), empleando como eluyente AcOEt, AcOEt-MeOH (diversas proporciones), con este procedimiento se obtuvieron 56 fracciones de 50 mL cada una, las cuales se reunieron de acuerdo a su similitud cromatográfica, generando un conjunto de 8 fracciones terciarias. En el Cuadro 4 se resume el fraccionamiento terciario de F002-VII.

**Cuadro 4.** Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F002-VII.

<b>Eluyente</b>	<b>Proporción</b>	<b>Fracciones</b>	<b>Fracción recolectada</b>	<b>Clave</b>
AcOEt-MeOH	100	1-8	1-6	F002-VII-1
	99:1	9-12	7-12	F002-VII-2
	98:2	13-16	13-24	F002-VII-3
	97:3	17-20	25-32	F002-VII-4
	96:4	21-24	33-36	F002-VII-5
	94:6	25-28	37-43	F002-VII-6
	92:8	29-32	44-48	F002-VII-7
	90:10	33-36	49-56	F002-VII-8
	85:15	37-40		
	80:20	41-44		
	70:30	45-48		
	60:40	49-52		
	50:50	53-56		

De la fracción terciaria F002-VII-3 cristalizaron de manera espontanea 220 mg de un sólido color blanco (**C001**).

**Prunasina [(*O*- $\beta$ -D) glucopiranosido de 2-hidroxi-2-fenilacetitrilo]:** pf. 148-151 °C; RMN<sup>1</sup>H, (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  7.50-7.60 (2H, m, H-2, H-6), 7.40-7.50 (3H, m, H-3, H-4, H-5), 5.99 (1H, s, H-7), 5.2 (1H, sa, OH), 5.0 (1H, sa, OH), 4.9 (1H, sa, OH), 4.5 (1H, t, *J*=5.5 Hz, H-6'), 4.12 (1H, d, *J*=7.0 Hz, H-1'), 3.68 (2H, m, H-5'), 3.5-3.0 (3H, m, H-2',3',4'); RMN<sup>13</sup>C, (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  133.8 (C-1), 127.4 (C-2), 129.2 (C-3), 129.9 (C-4), 129.2 (C-5), 127.6 (C-6), 66.8 (C-7), 118.9 (C-8), 101.3 (C-1'), 73.0 (C-2'), 76.2 (C-3'), 69.6 (C-4'), 77.2 (C-5'), 66.6 (C-6') (Horsly y Meinwald, 1981).



**Prunasina**

#### 4.4.5 Aislamiento del ácido ursólico a partir de la fracción F002-III

La fracción secundaria F002-III (1.6g) fue cromatografiada nuevamente, en una columna con gel de sílice (100g) empleando como eluyente hexano-AcOEt (diferentes proporciones) y MeOH, con este procedimiento se obtuvieron 45 fracciones de 50 mL cada una, las cuales se reunieron de acuerdo a su similitud cromatográfica, generando 5 fracciones terciarias. En el Cuadro 5 se resume el fraccionamiento terciario de F002-III.

**Cuadro 5.** Resumen del fraccionamiento terciario de la fracción F002-III.

<b>Eluyente</b>	<b>Proporción</b>	<b>Fracciones</b>	<b>Fracción recolectada</b>	<b>Clave</b>
Hexano-AcOEt	90:10	1-4	1-8	F002-III-1
	80:20	5-8	9-26	F002-III-2
	70:30	9-12	27-32	F002-III-3
	60:40	13-16	33-41	F002-III-4
	50:50	17-22		
	40:60	23-32		
	30:70	33-37		
	20:80	38-41		
MeOH		42-45	42-45	F002-III-5

La fracción terciaria F002-III-3 (0.2335g) fue cromatografiada nuevamente, utilizando una columna abierta con gel de sílice (100g) empleando hexano-AcOEt (gradiente de concentración), AcOEt-MeOH (gradiente de concentración), con este procedimiento se obtuvieron 29 fracciones de 50 mL cada una, las cuales se reunieron de acuerdo a su similitud cromatográfica, generando 2 fracciones cuaternarias. En el Cuadro 6 se resume el fraccionamiento cuaternario de F002-III-3.

La fracción cuaternaria F002-III-3-2 fue cromatografiada nuevamente, utilizando una columna con gel sílice de C<sub>18</sub> (23g) empleando como eluyente MeOH, con este procedimiento se obtuvieron 4 fracciones de 50 mL cada una, las cuales se reunieron de acuerdo a su similitud cromatográfica, generando 3 fracciones. En el Cuadro 7 se resume el fraccionamiento de F002-III-3-2.

**Cuadro 6.** Resumen del fraccionamiento de F002-III-3.

<b>Eluyente</b>	<b>Proporción</b>	<b>Fracciones</b>	<b>Fracción recolectada</b>	<b>Clave</b>
Hexano-AcOEt	30-70	1-4	1-17	F002-III-3-1
	50:50	5		
AcOEt-MeOH	90:10	6-9	18-29	F002-III-3-2
	80:20	10-13		
	95:5	14-17		
	90:10	18-21		
	85:15	22-25		
	80:20	26-29		

**Cuadro 7.** Resumen del fraccionamiento de F002-III-3-2.

<b>Eluyente</b>	<b>Proporción</b>	<b>Fracciones</b>	<b>Fracción recolectada</b>	<b>Clave</b>
MeOH	100	1-4	1	F002-III-3-2-1
			2	F002-III-3-2-2
			3-4	F002-III-3-2-3

De la fracción F002-III-3-2-2 precipitaron 21.0 mg de un sólido color blanco con punto de fusión 247 °C (**C002**). El compuesto C002 se identificó como el ácido ursólico por comparación directa con una muestra auténtica y de sus constantes espectroscópicas y espectrométricas reportadas en la literatura (Mahato y Kundu, 1994).

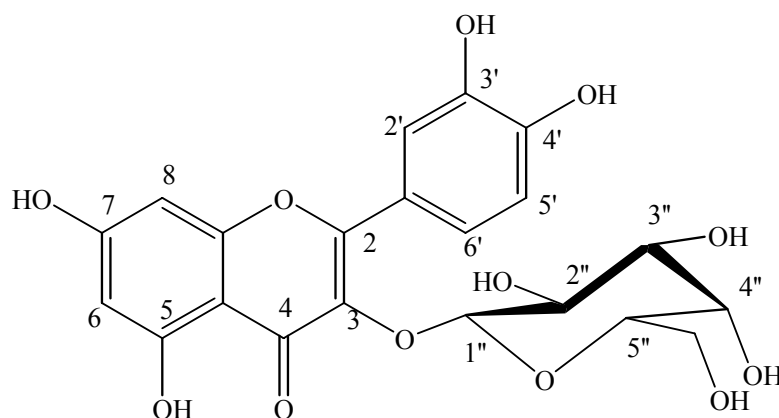


#### 4.4.6 Fraccionamiento secundario de la fracción F003

##### 4.4.6.1 Aislamiento de la hiperina a partir de la fracción F003

La fracción primaria F003 (11.75g) se disolvió en MeOH y cristalizó espontáneamente 373.6mg un sólido amarillo con punto de fusión 236 °C, el cual se identificó como hiperina (C003).

**Hiperina [(3-O-β) galactósido de quercetina]:** pf. 236 °C; IR  $\nu^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$  3430 (OH quelatado), 2900 (C-H, alifático), 1655 (C=O quelatado), 1607 (CH=CH aromático), 1086 (C-O); RMN<sup>1</sup>H, (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  5.40 (1H, d,  $J=7.0$ , H-1''), 6.20 (1H, d,  $J=1.9$ , H-6), 6.41 (1H, d,  $J=1.9$ , H-8), 6.81 (1H, d,  $J=8.4$ , H-5'), (1H, dd,  $J=8.4$ , 2.1, H-6'), 7.52 (1H, d,  $J=2.1$ , H-2'), 12.64 (1H, s, C<sub>5</sub>-OH quelatado); RMN<sup>13</sup>C, (75 MHz DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  177.5 (C-4), 164.1 (C-7), 161.2 (C-5), 156.3 (C-2, C-9), 148.4 (C-4'), 144.8 (C-3'), 133.5 (C-3), 122.0 (C-1'), 121.1 (C-6'), 116.0 (C-5'), 115.2 (C-2'), 103.9 (C-10), 101.8 (C-1''), 98.6 (C-6), 93.5 (C-8), 73.2 (C-3''), 71.2 (C-2''), 68.0 (C-4''), 75.8 (C-5''), 60.4 (C-6''); FAB<sup>+</sup> (positivo) 465 [M+H]<sup>+</sup> (C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub>) (6), 303 [M-galactosil+H]<sup>+</sup> (C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>) (18), 289 (13.5), 176 (10.5), 154 [C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>O<sub>4</sub>+H]<sup>+</sup> (100), 136 [C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (67), 107 (18.0) (Lu y Foo, 1997; Liu *et al.*, 2007).



Hiperina

La fracción primaria F003 (9.87g) se sometió a un fraccionamiento cromatográfico en una columna de Sephadex, empleando como eluyente MeOH, con este procedimiento se obtuvieron 24 fracciones de 50 ml cada una, las cuales se reunieron de acuerdo a su similitud cromatográfica, generando 5 fracciones secundarias. En el Cuadro 8 se resume el fraccionamiento secundario de la fracción F003.

**Cuadro 8.** Resumen del fraccionamiento secundario de la fracción F003.

<b>Eluyente</b>	<b>Proporción</b>	<b>Fracciones</b>	<b>Fracción recolectada</b>	<b>Clave</b>
MeOH	100	1-24	1-5 6-8 9-16 17 18-24	F003-I F003-II F003-III F003-IV F003-V

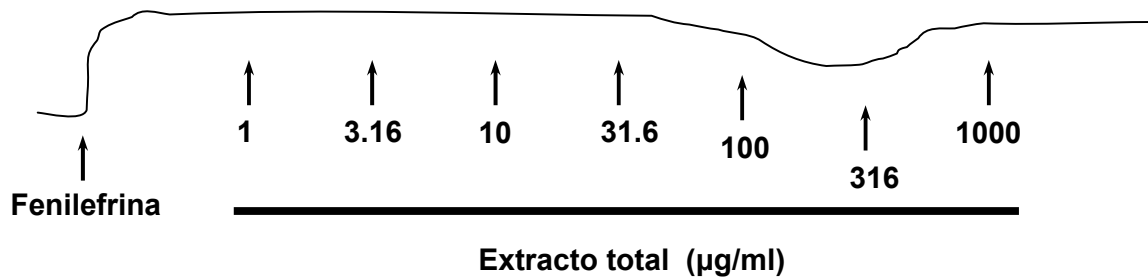
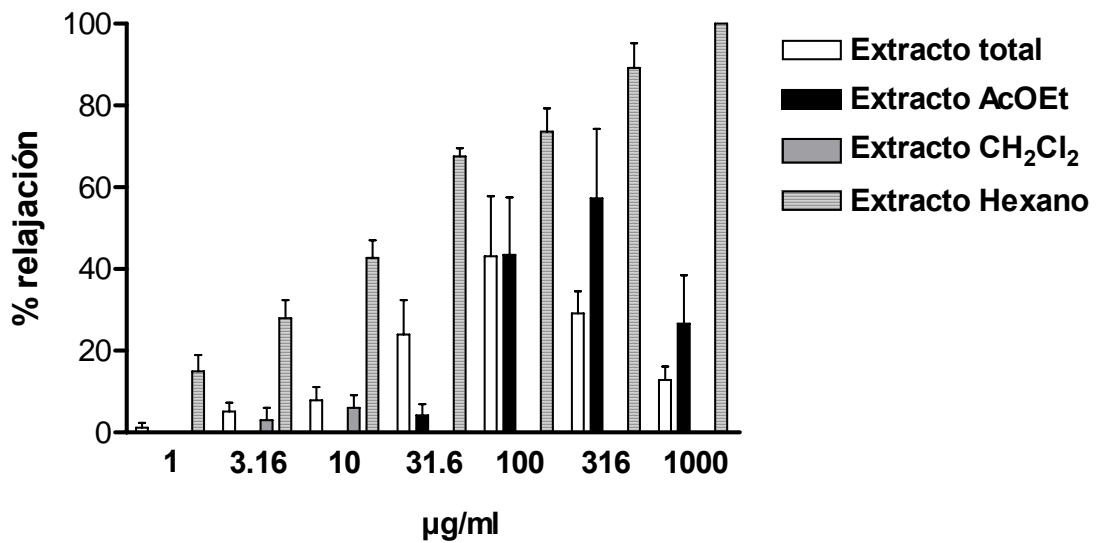
De la fracción secundaria F003-III cristalizó de manera espontánea 188.7 mg de un sólido color amarillo de punto de fusión 236 °C. Este compuesto fue idéntico a la hiperina que precipitó de la fracción F003.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la preselección de la especie *Prunus serotina* sp. *capulli*, se utilizó un criterio etnomédico, el cual constituye uno de los criterios más importantes para seleccionar las materias primas destinadas al descubrimiento de compuestos biológicamente activos (Cox y Balick, 1994; Houghton, 1999; Fabricant y Farnsworth, 2001). Esta especie es ampliamente utilizada para tratar la diarrea, la tos, las enfermedades cardiovasculares y la hipertensión.

Se realizó el estudio fitoquímico de las hojas *P. serotina* con la finalidad de aislar posteriormente los compuestos biológicamente activos. Como ensayo biológico de monitoreo de la actividad a lo largo de todo el estudio se empleó el bioensayo relajante de músculo liso de aorta de rata Wistar. Esta actividad fue comprobada previamente en el extracto íntegro. La preparación del extracto activo en gran escala se realizó mediante un proceso de maceración, tal como se mencionó en la parte experimental. Posteriormente, el extracto se sometió a un fraccionamiento primario mediante un proceso de partición. Para este proceso se utilizaron hexano (F001), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (F002), AcOEt (F003) y MeOH-acuoso (F004). Este procedimiento generó cuatro fracciones primarias que se evaluaron mediante el mismo ensayo biológico para el extracto total.

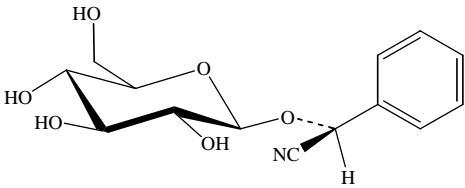
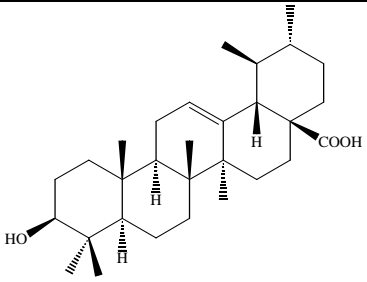
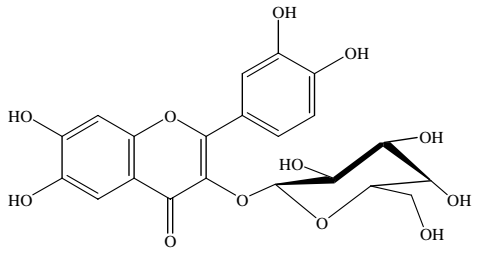
Los resultados del estudio farmacológico de la especie vegetal *Prunus serotina*, planta empleada en la medicina tradicional para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, mostraron que el extracto total y la fracción acetato de etilo (F003) produjeron una respuesta bifásica en la musculatura lisa arterial, la cual consistió en una relajación inicial que llegó a su punto máximo a la concentración de 100 µg/ml en el extracto total y 316 µg/ml en el extracto de acetato de etilo, seguida de una disminución del efecto relajante (Figura 3). Por otro lado, mientras la fracción hexánica mostró un efecto vasorelajante de la aorta aislada de rata ( $EC_{50} = 19.2 \pm 1.3$  µg/ml;  $E_{max} = 100$  %), la fracción de diclorometano no presentó un efecto significativo en todo el intervalo de concentraciones estudiado (1–1,000 µg/ml) (Figura 3).

**A****B**

**Figura 3.** Efecto sobre la musculatura lisa arterial de diferentes extractos de *P. serotina*. A) Registro representativo del efecto bifásico producido por el extracto total de *P. serotina* sobre la aorta de rata. B) Efecto vasoactivo sobre la aorta de rata de diferentes extractos de *P. serotina*.

Así, el estudio químico biodirigido del extracto íntegro de las hojas de *P. serotina* permitió el aislamiento y la caracterización de un glucósido cianogénico (prunasina), un flavonoide (hiperina) y un triterpeno (ácido ursólico). Los compuestos aislados en el presente estudio son compuestos conocidos y todos ellos han sido descritos previamente en el género *Prunus*. Todos los compuestos fueron caracterizados por comparación de sus constantes espectroscópicas y espectrométricas con aquellas reportadas en la literatura y por comparación directa con muestras auténticas. En el Cuadro 9 se muestran las estructuras de los compuestos aislados.

**Cuadro 9.** Compuestos aislados de *Prunus serotina*

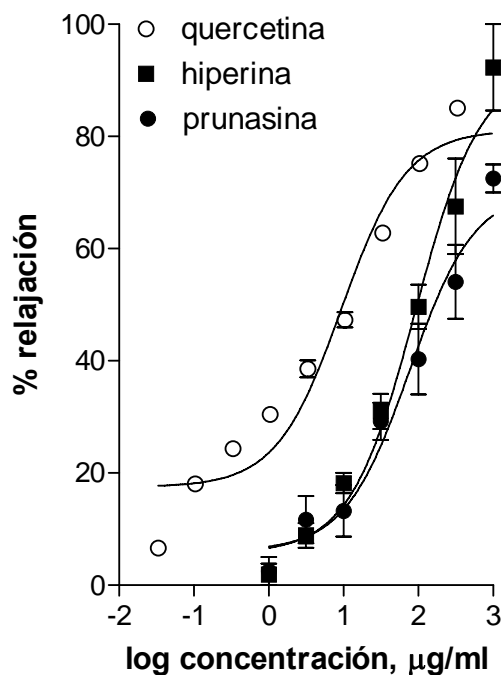
COMPUESTO	RENDIMIENTO (%)
 <p style="text-align: center;"><b>prunasina</b></p>	$2.34 \times 10^{-4}$
 <p style="text-align: center;"><b>ácido ursólico</b></p>	$2.23 \times 10^{-5}$
 <p style="text-align: center;"><b>hiperina</b></p>	$5.97 \times 10^{-4}$

Se ha reportado por otros grupos de investigación que varios flavonoides son capaces de modular el tono vascular (Chen y Pace-Asciak, 1996; Kubota *et al.*, 2001; Guerrero *et al.*, 2002; Pérez-Vizcaíno *et al.*, 2002). En esta tesis se observó que el flavonoide hiperina evaluado (C003) y el glucósido cianogénico prunasina (C001) indujeron una relajación, dependiente de la concentración, de segmentos intactos de aorta aislada de rata (Figura 5). El compuesto que presentó el efecto máximo ( $E_{\max} = 92.31 \pm 7.69 \%$ ) mayor fue la hiperina.

Este flavonoide ( $EC_{50} = 91.25 \pm 1.34 \mu\text{g/ml}$ ) resultó ser sólo 10 veces menos potente, y ligeramente más eficaz, que la quercetina ( $EC_{50} = 9.42 \pm 1.2 \mu\text{g/ml}$ ;  $E_{\max} = 79.00 \pm 4.65 \%$ ), el cual se empleó como un control positivo. La prunasina presentó un perfil de  $EC_{50}$  y  $E_{\max}$  similar al mostrado por la hiperina (Cuadro 10).

**Cuadro 10.** Efecto relajante de los compuestos aislados sobre la contracción inducida por fenilefrina en anillos de aorta intactos.

Compuestos	$EC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	$E_{\max}$ (%)
quercetina	$9.42 \pm 1.2$	$79.0 \pm 4.7$
hiperina	$91.25 \pm 1.3$	$92.3 \pm 7.7$
prunasina	$76.47 \pm 1.5$	$72.5 \pm 2.5$
ácido ursólico	$480 \pm 0.7$	$49.4 \pm 7.5$



**Figura 4.** Comparación de las curvas concentración respuesta del efecto relajante de la quercetina, empleada como control positivo, la hiperina y la prunasina en segmentos de aorta intactos de rata.

En este contexto se sabe que la prunasina, glucósido cianogénico aislado de las semillas de *Prunus persica*, presenta un potente efecto antitumoral. Ensayos realizados *in vivo* demostraron que la prunasina disminuyó la aparición de papilomas en ratón hasta en un 50% (Fukuda *et al.*, 2003). Por otra parte, el ácido ursólico tiene propiedades antihipertensivas, antioxidantes y antiescleróticas (Aguirre-Crespo *et al.*, 2006).

Los flavonoides son un grupo de metabolitos secundarios, a los que les han atribuido diversas actividades biológicas como antioxidantes, antitumorales, antiinflamatorios, antialérgico (Wang *et al.*, 1998), inhiben la agregación plaquetaria, reducen los niveles de LDL en plasma (Ajay *et al.*, 2003), vasodilatadores (Duarte *et al.*, 1993), inhiben a proteínas cinasas e inhiben a las fosfodiesterasas (Ko *et al.*, 2003).

La quercetina, un flavonoide ampliamente distribuido en plantas y altamente consumido en la dieta diaria humana, ha demostrado tener actividad relajante en la aorta de

rata dependiente de endotelio (Ajay *et al.*, 2003). Sin embargo, otros estudios han demostrado que la actividad relajante de la quercetina no depende del endotelio. El efecto vasodilatador está relacionado con la inhibición de la enzima cinasa C y a la disminución de la concentración intracelular de calcio almacenado (Duarte *et al.*, 1993).

Estudios previos han reportado que la quercetina, así como sus metabolitos camferol e isoramnetina, ejercen su efecto vasodilatador como resultado de la inhibición de la enzima cinasa ligera de miosina y de otras cinasas (Perez-Vizcaino *et al.*, 2002). También, se ha descrito que la quercetina provoca relajación en las contracciones espontáneas en el músculo liso de fleon de rata (Mata *et al.*, 1997). Por otra parte, se ha demostrado que algunos de sus derivados glicosilados, como la rutina, son más potentes que la quercetina (Mata *et al.*, 1997). De manera adicional, estas investigaciones han demostrado que la actividad relajante de los flavonoides, se debe a sus acciones antioxidantes y capacidad de contrarrestar a los radicales libres (Akdemir *et al.*, 2001).

Los estudios sobre los requerimientos estructurales de los flavonoides que presentan un efecto relajante utilizando como modelo la tráquea de cobayo, han mostrado que la actividad depende de su grado de hidroxilación, de la existencia de grupos metoxilo y de la presencia de un doble enlace entre el C-2 y el C-3 del anillo C (Ko *et al.*, 2003).



## 6. RESUMEN Y CONCLUSIONES.

El estudio químico biodirigido de las hojas secas de la especie *Prunus serotina*, permitió establecer de manera precisa los principios vasorelajantes de la planta.

De acuerdo con la potencia demostrada por los principios aislados a partir de las fracciones activas, se concluyó que la hiperina, la prunasina, y el ácido ursólico constituyen los principios activos vasorelajantes.

El aislamiento del glucósido cianogénico prunasina de las partes aéreas secas del capulín, representa el primer reporte sobre su presencia en las hojas secas. Previamente este glucósido sólo se ha descrito en las hojas frescas de la planta.

La presencia del ácido ursólico y de la hiperina podría estar relacionada con los usos en la medicina tradicional como agente antidiarreico, antidisentérico, espasmolítico, antipalúdico, contra neumonía y para enfermedades del sistema respiratorio.

## 7. PERSPECTIVAS

El presente trabajo de investigación realizado a la especie *Prunus serotina* Ehrh representa una contribución al conocimiento químico y biológico de esta especie medicinal. Sin embargo, es necesario generar mayor información acerca de esta planta. Es por ello que a partir de este trabajo hemos formulado las siguientes perspectivas:

1.- Continuar con el aislamiento y la caracterización química de los compuestos minoritarios de la fracción de acetato de etilo.

2.- Desarrollar y validar un método de cuantificación para determinar la presencia de prunasina en productos derivados del capulín.

3.- Realizar experimentos adicionales con la finalidad de establecer el mecanismo mediante el cual los compuestos aislados ejercen su efecto de vaso relajación sobre el modelo de la aorta de rata.

4.- Explorar el efecto vaso relajante de la infusión de las hojas del capulín.

5.- Realizar las pruebas de toxicidad aguda y genotoxicidad de la especie con la finalidad de determinar su inocuidad.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- Aguilar, A. (2001). Plantas medicinales del centro de México. Guías de México desconocido. México, pp. 145-147.
- Aguirre-Crespo, F., Vergara-Galicia, J., Villalobos-Molina, R., López-Guerrero, J. J., Navarrete-Vázquez, G. y Estrada-Soto, S. (2006). Ursolic acid mediates the vasorelaxant activity of *Lepechinia caulescens* via NO release in isolated rat thoracic aorta. *Life Science*, **79**, 1062-1068.
- Ajay, M., Gilani, A. H. y Mustafa, M. R. (2003). Effects of flavonoids on vascular smooth muscle of the isolated rat thoracic aorta. *Life Sciences*, **74**, 603-612.
- Akdemir, Z. S., Tatli, L., Saracoglu, I., Ismailoglu, U. B., Sahin-Erdemli, I. y Calis, I. (2001). Polyphenolic compounds from *Genarium pratense* and their free radical scavenging activity. *Phytochemistry*, **56**, 189-193.
- Amico, V., Barresi, V., Condorelli, D., Spatafora, C. y Tringali, C. (2006). Antiproliferative terpenoids from almond hulls (*Prunus dulcis*): identification and structure-activity relationships. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 810-814.
- Argueta, V. A. y Colaboradores (1994). Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Tomo I, México: Instituto Nacional Indigenista, 319-320.
- Biessels, H. W. A., Van Der Kerk-Van Hoof, A. C., Kettens-Van Den Bosch, J. J. y Salemink, C. A. (1974). Triterpenes of *Prunus Serotina* and *Prunus Lusitanica*. *Phytochemistry*, **13**, 203-207.
- Bruneton, J. (1995) Pharmacognosy, Phytochemistry and Medicinal Plants. France. Technique and Documentation Lavoisier, 1-895.
- Bye, R. (1995). Phytochemistry of medicinal plants. Recent advances in phytochemistry, **29**, 65-82.

- Chang, H. K., Shin, M. S., Yang, H. Y., Lee, J. W., Kim, Y. S., Lee, M. H., Kim, J., Kim, K. H. y Kim, C. J. (2006). Amygdalin induces apoptosis through regulation of Bax and Bcl-2 expressions in human DU 145 and LNCaP prostate cancer cells. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **29**, 1597-1602.
- Chen, C. Y., Milbury, P. E., Lapsley, K. y Blumber, J. B. (2005). Flavonoids, from almond skins are bioavailable and act synergistically with vitamins C and E to enhance hamster and human LDL resistance to oxidation. *The Journal of Nutrition*, **135**, 1366-1373.
- Chen, C. K. y Pace-Asciak, C. R. (1996). Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. *General Pharmacology*, **27**, 363-366.
- Chun, O. K., Kim, D. O. y Lee, C. Y. (2003). Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 8067-8072.
- Cox, P. A. y Balick, M. J. (1994) The ethnobotanical approach to drug discovery. *Science American*, 82-87.
- Czyzowska, A. y Pogorzelski, E. (2004). Changes to polyphenols in the process of production of must and wines from blackcurrants and cherries. Part II. Anthocyanins and flavanols. *European Food Research and Technology*, **218**, 355-359.
- Deliorman, D., Calis, I., Ergun, F., Dogan, B. S. U., Buharalioglu, C. K. y Kanzik, I. (2000). Studies on the vascular effects of the fractions and phenolic compounds isolated from *Viscum album ssp album*. *Journal of Ethnopharmacology*, **72**, 323-329.
- Deneika, V. I., Deneika, L. A. y Sirotnin, A. A. (2005). Anthocianins from fruit of certain plants of the genus *Prunus*. *Chemistry of Natural Compounds*, **41**, 230-231.
- Deneika, V. I., Grigorev, A. M., Borzenko, O. N., Staroverov, V. M. y Trubitsyn, M. A. (2004). HPLC analysis of anthocyanins: cyanidine glycosides from fruits of plants of the *Prunus* genus. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, **38**, 29-31.

- Duarte, J., Pérez-Vizcaíno, F., Zarzuelo, A., Jiménez, J. y Tamargo, J. (1993). Vasodilator effects of quercetin in isolated rat vascular smooth muscle. *European Journal of Pharmacology*, **239**, 1-7.
- Fabricant, D. S. y Farnsworth, N. R. (2001). The value of plants used in Traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives* **109**, 69- 74.
- Feelisch, M., Kotsonis, P., Siebe, J., Clement, B. y Schmidt, H. H. (1999). The soluble guanylyl cyclase inhibitor 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3,-a] quinoxalin-1-one is a nonselective heme protein inhibitor of nitric oxide synthase and other cytochrome P-450 enzymes involved in nitric oxide donor bioactivation. *Molecular Pharmacology*, **56**, 243-53.
- Fostermann, U., Closs, E. I., Pollock, J. S., Nakane, M., Schwarz, P., Gath, I. y Kleinert, H. (1994). Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension*, **23**, 1121-31.
- Fukuda, T., Ito H., Mukainaka, T., Tozuda, H., Nishino, H. y Yoshida, T. (2003). Anti-tumor promoting effect of glycosides from *Prunus persica* seeds. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **26**, 271-273.
- Galle, J., Zabel, U., Hubner, U., Hatzelmann, A., Wagner, B., Wanner, C. y Schmidt, H. H. (1999). Effects of the soluble guanylyl cyclase activator, YC-1, on vascular tone, cyclic GMP levels and phosphodiesterase activity. *British Journal of Pharmacology*, **127**, 195-203.
- Guasch, G. y Hinostroza, L. (2005). Diagnóstico y medicina tradicional. El arte del diagnóstico en las medicinas tradicionales de Asia y América. Ed. Ocelote. México. 9-23.
- Guerrero, M. F., Puebla, P., Carrón, R., Martín, M. L. y San Roman, L. (2002). Quercetin 3,7- dimethyl ether: a vasorelaxant flavonoid isolated from *Croton shiideanus* schlecht. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **54**, 1373-1378.

- Harborne, J. B. y Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, **55**, 481-504.
- Hasebe, Y., Egawa, K., Yamazaki, Y., Kunimoto, S., Iría, Y., Ida, Y. y Nose, K. (2003). Specific inhibition of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 $\alpha$  activation and of vascular endothelial growth factor (VEGF) production by flavonoids. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **26**, 1379-1383.
- Hass, M. A., Nowak, D. M., Leonova, E., Levin, R. M. y Longhurst, P. A. (1999). Identification of components of *Prunus Africana* extract that inhibit lipid peroxidation. *Phytomedicine*, **6**, 379-388.
- Herrera, M. D., Zarzuelo, A., Jiménez, J., Marhuenda, E. y Duarte, J. (1996). Effects of flavonoids on rat aortic smooth muscle contractility: Structure-Activity relationships. *General Pharmacology*, **27**, 273-277.
- Hirvonen, T., Pietinen, P., Virtanen, M., Ovaskainen, M. L., Hakkinen, S., Albanes, D. y Virtamo, J. (2001). Intake of flavonols and flavones and risk of coronary heart disease in male smokers. *Epidemiology*, **12**, 62-67.
- Horsley, S. B. y Meinwald, J. (1981). Glucose-1-benzoate and prunasin from *Prunus serotina*. *Phytochemistry*, **20**, 1127-1128.
- Houghton, P.J. (1999) Roots of remedies: Plants, people and pharmaceuticals. *Chemistry Industry*, **1**, 15-19.
- Ibarra, M., Pérez-Vizcaíno, F., Cogollado, A., Duarte, J., Zaragoza-Arnáez, F., López-López, J. G. y Tamargo, J. (2002). Cardiovascular effects of Isorhamnetin and Quercetin in isolated rat and porcine vascular smooth muscle and isolated rat atria. *Planta Medica*, **68**, 307-310.
- Jung, H. A., Chung, H. Y., Jung, J. y Choi, J. S. (2004). A new pentacyclic triterpenoid glucoside from *Prunus serrulata* var. *spontanea*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **52**, 157-159.

- Jung, H. A., Chung, H. Y., Kang, S. S., Hyun, S. K., Kang, H. S. y Choi, J. S. (2005). A phenolic glucoside isolated from *Prunus serrulata* var. *spontanea* and its peroxynitrite scavenging activity. *Archives of Pharmacal Research*, **28**, 1127-1130.
- Jung, H. A., Jung, M. J., Kim, J. Y., Chung, H. Y. y Choi, J. S. (2003). Inhibitory activity of flavonoids from *Prunus davidiana* and other flavonoids on total ROS and Hydroxyl radical generation. *Archives of Pharmacal Research*, **26**, 809-815.
- Jung, H. A., Kim, A. R., Chung, H. Y. y Choi, J. S. (2002). In vitro antioxidant activity of some *Prunus* species in Korea. *Archives of Pharmacal Research*, **25**, 865-872.
- Kayano, S. I., Kikuzaki, H., Ikami, T., Suzuki, T., Mitani, T. y Nakatani, N. (2004). A new bipyrrrole and some phenolics constituents in prunes (*Prunus domestica* L.) and their oxygen radical absorbance capacity (ORAC). *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, **68**, 942-944.
- Kayano, S. I., Kikuzaki, H., Yamada, N. F., Aoki, A., Kasamatsu, K., Yamasaki, Y., Ikami, T., Suzuki, T., Mitani, T. y Nakatani, N. (2004). Antioxidant properties of prunes (*Prunus domestica* L.) and their constituents. *Biofactors*, **21**, 309-313.
- Kayano, S. I., Yamada, N. F., Suzuki, T., Ikami, T., Shioaki, K., Kikuzaki, H., Mitani, T. y Nakatani, N. (2003). Quantitative evaluation of antioxidant components in Prunes (*Prunus domestica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 1480-1485.
- Kim, D. O., Heo, H. J., Kim, Y. J., Yang, H. S. y Lee, C. Y. (2005). Sweet and sour cherry phenolics and their protective effects on neuronal cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 9921-9927.
- Kim, M. R., Lee, J. Y., Lee, H. H., Aryal, D. K., Kim, Y. G., Kim, S. K., Woo, E. R. y Kang, K. W. (2006). Antioxidative effects of quercetin-glycosides isolated from the flower buds of *Tussilago farfara* L. *Food and Chemical Toxicology*, **44**, 1299-1307.

- Ko, W. C., Liu, P. Y., Chen, J. L., Leu, I. J. y Shih, C. M. (2003). Relaxant effects of flavonoids in isolated guinea pig trachea and their structure-activity relationships. *Planta Medica*, **68**, 1086-1090.
- Ko, W. C., Wang, H. L., Lei, C. B., Shih, C. H., Chung, M. I. y Lin, C. N. (2002). Mechanism of relaxant action of 3-*O*-methylquercetin in isolated guinea pig trachea. *Planta Medica*, **68**, 30-35.
- Kubota, Y., Tanaka, N., Umegaki, K., Takenaka, H., Mizuno, H., Nakamura, K., Shinozuka, K. y Kunitomo, M. (2001). *Ginkgo biloba* extract-induced relaxation of rat aorta is associated with increase in endothelial intracellular calcium level. *Life Sciences*, **69**, 2327-2336.
- Kucharska, A. Z. y Oszmianski, J. (2002). Anthocyanins in fruits of *Prunus padus* (bird cherry). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **82**, 1483-1486.
- Lara, O. F. y Marquez, A. C. (1996). Plantas medicinales de México; composición, usos y actividad biológica. Universidad Nacional Autónoma de México, México, pp. 27.
- Legorreta-Arellano, I. O. (1989). Estudio comparativo de las plantas usadas para el tratamiento de la Diabetes en algunos mercados de México. Tesis para obtener el Título de Biólogo. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Linares, E., Flores, B. y Bye, R. (1994). Selección de plantas medicinales de México. 1<sup>ra</sup> Edición. Limusa, México. 10-15.
- Liu, R., Zhang, J., Liang, M., Zhang, W., Yan, S. y Lin, M. (2007). Simultaneous analysis of eight bioactive compounds in Danning tablet by HPLC-ESI-MS and HPLC-UV. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical analysis*, **43**, 1007-1012.
- Lozoya, X. (1999). Two decades of mexican ethnobotany and research in plant drugs. Research unit in pharmacology of natural products. National Center, Mexican Institute of Social Security, Mexico City Ciba Foundation Symposium, **185**, 130-152.



- Lu, Y. y Foo, Y. L. (1997). Identification and quantification of major polyphenols in apple pomace. *Food Chemistry*, **59**, 187-194.
- Lv, W. F., Ding, M. Y. y Zheng, R. (2005). Isolation and quantitation of amygdalin in Apricot-kernel and *Prunus tomentosa* Thunb. by HPLC with solid-phase extraction. *Journal of Chromatographic Science*, **43**, 383-387.
- Mahato, S., Kundu, A. (1994). CNMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids-A Compilation and some Salient Features. *Phytochemistry*, **37 (6)**, 1517-1575.
- Martínez, M., (1989). Las plantas medicinales de México, México, 6<sup>ta</sup> Edición, Botas, 61-63.
- Mata, R., Rojas, A., Acevedo, L., Estrada, S., Calzada, F., Rojas, I., Bye, R. y Linares, E. (1997). Smooth muscle relaxing flavonoids and terpenoids from *Conyza filaginoides*. *Planta Medica*, **63**, 31-35.
- Matsuda, H., Morikawa, T., Ishiwada, T., Managi, H., Kagawa, M., Higashi, Y. y Yoshikawa, M. (2003). Medicinal flowers. VIII. Radical scavenging constituents from the flowers of *Prunus mume*: structure of Prunose III. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **51**, 440-443.
- Milbury, P. E., Chen, C. Y., Dolnikowski, G. G. y Blumberg, J. B. (2006). Determination of flavonoids and phenolics and their distribution in almonds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 5027-5033.
- Mitscher, L. A., Pillai, S. y Shankel, D. M. (2000). Some Transpacific Thoughts on the Regulatory Need for Standardization of Herbal Medical Products. *Journal of Food and Drug Analysis*, **8**, 229-234.
- Olszewska, M. (2005). Flavonoids from *Prunus serotina* Ehrh. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, **62**, 127-133.

- Olszewska, M. (2005). High-performance liquid chromatographic identification of flavonoid monoglycosides from *Prunus serotina* Ehrh. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, **62**, 435-441.
- Olszewska, M. y Wolbis, M. (2001). Flavonoids from the flowers of *Prunus spinosa* L. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, **58**, 367-372.
- Olszewska, M. y Wolbis, M. (2002). Further flavonoids from the flowers of *Prunus spinosa* L. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, **59**, 133-137.
- Ordaz-Galindo, A., Wesche-Ebeling, P., Wrolstad, R. E., Rodriguez-Saona, L. y Argaiz-Jamet, A. (1999). Purification and identification of Capulin (*Prunus serotina* Ehrh) anthocyanins. *Food Chemistry*, **65**, 201-206.
- Pérez-Vizcaíno, F., Ibarra, M., Cogolludo A. L., Duarte, J., Zaragoza-Arnáez, F., Moreno, L., López-López, G. y Tamargo, J. (2002). Endothelium-independent vasodilator effects of the flavonoid quercetin and its methylated metabolites in rat conductances and rat arteries. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **302**, 66-72.
- Pinelo, M., Rubilar, M., Sineiro, J. y Núñez, M. J. (2004). Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chemistry*, **85**, 267-273.
- Prasad, D. (2000). Two A-type proanthocyanidins from *Prunus armeniaca* roots. *Fitoterapia*, **71**, 245-253.
- Rababah, T. M., Ereifej, K. I. y Howard, L. (2005). Effect of ascorbic acid and dehydration on concentrations of total phenolics, antioxidant capacity, anthocyanins, and color in fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 4444- 4447.
- Rodríguez-Domínguez, J. (1975). Antología de Ciencias de la Salud. Lecturas universitarias, Tomo 24. UNAM. México.

- Romo de Vivar, A. (1999). Química, Universo, Tierra y Vida. 2da. Edición. La ciencia para todos, No.51. Fondo de Cultura Económica. México.
- Ruiz, D., Egea, J., Gil, M. I. y Tomás-Barberán, F. A. (2005). Characterization and quantitation of phenolics compounds in New Apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 9544-9552.
- Sang, S., Lapsley, K., Jeong, W. S., Lachance, P. A., Ho C. T. y Rosen R. T. (2002). Antioxidative phenolics compounds isolated from almonds skins (*Prunus amygdalus* Batsch). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 2459-2463.
- Sang, S., Li G., Tian, S., Lapsley, K., Stark, R. E., Pandey, R. K., Rosen, R. T. y Ho, C. T. (2003). An unusual diterpene glycoside from the nuts of almond (*Prunus amygdalus* Batsch). *Tetrahedron Letters*, **44**, 1199-1202.
- Santamour, F. S. (1998). Amygdalin in *Prunus* leaves. *Phytochemistry*, **47**, 1537-1538.
- Savova, S. T., Ribarova, F. y Gerova, M. (2005). (+)-catechin and (-)-epicatechin in bulgarian fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, **18**, 691-698.
- Serrano, M., Guillén, F., Romero, D. M., Castillo, S. y Valero, D. (2005). Chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry at different ripening stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 2741-2745.
- Stewart, K. M. (2003). The african cherry (*Prunus africana*): can lessons be learned from an over-exploited medicinal tree?. *Journal of Ethnopharmacology*, **89**, 3-13.
- Tomás-Barberán, F. A., Gil, M. I., Cremin, P., Waterhouse, A. L., Hess-Pierce, B. y Kedre, A. A. (2001). HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolics compounds in nectarines, peaches and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 4748-4760.
- Touchstone, J. C. (1992). Practice of thin layer chromatography. New York, USA. John Wiley & Sons, 1-359.

- Wagner, H., Bladt, S. y Zgainski, E. M. (1984). Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas. Springer-Verlag, New York, 1-320.
- Wang, H., Nair, M. G., Strasburg, G. M., Booren, A. M. y Gray, J. I. (1999). Antioxidant polyphenols from tart cherries (*Prunus cerasus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 840-844.
- Wang, H. K., Xia, Y., Yang, Z. Y., Natschke, S. L. y Lee, K. H. (1998). Recent advances in the discovery and development of flavonoids and their analogues as antitumor and anti-HIV agents. *Advance Experimental Medical Biology*, **439**, 191-225.
- Wijeratne, S. S. K., Abou-Zaid, M. M. y Shahidi, F. (2006). Antioxidant polyphenols in almond and its coproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 312-318.
- Wolbis, M., Olszewska, M. y Wesolowski, W. J. (2001). Triterpenes and sterols in the flowers and leaves of *Prunus spinosa* L.(Rosaceae). *Acta Poloniae Pharmaceutica*, **58**, 459-462.
- Woodman, O. L. y Chan, E. C. (2004). Vascular and antioxidant actions of flavonols and flavones. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, **31**, 786-790.
- Wu, X. y Prior, R. L. (2005). Systematic identification and characterization of anthocyanines by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the United States: fruits and berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 2589-2599.
- Yoshikawa, M., Murakami, T., Ishiwada, T., Morikawa, T., Kagawa, M., Higashi, Y. y Matsuda, H. (2002). New flavonol oligoglycosides and polyacylated sucroses with inhibitory effects on aldose reductase and platelet aggregation from the flowers of *Prunus mume*. *Journal of Natural Products*, **65**, 1151-1155.
- Zhang, Y. H., Park, Y. S., Kim, T. J., Fang, L. H., Ahn, H. Y., Hong, J. T., Kim, Y., Lee, C. K. y Yun, Y. P. (2002). Endothelium-dependent vasorelaxant and antiproliferative effects of apigenin. *General Pharmacology*, **35**, 341-347.