

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA

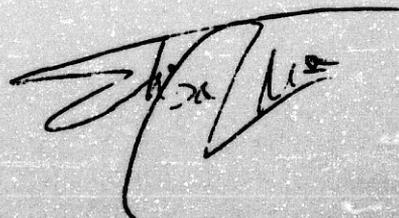
FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE GRANADA

ESTUDIO DE ANTIINFLAMATORIOS Y ANTIULCEROSOS
DE DIFERENTES ESPECIES DEL GENERO SIDERITIS L.

Trabajo de Tesina para aspirar
al Grado de Licenciado, presen
tado por:

Elisa M^a García Ruiz

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Elisa M. García Ruiz', is written over the printed name.



UNIVERSIDAD
OR
GRANADA

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA

EL PROF. DR. D. JOSE JIMENEZ MARTIN, CATEDRATICO-DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA DE LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.

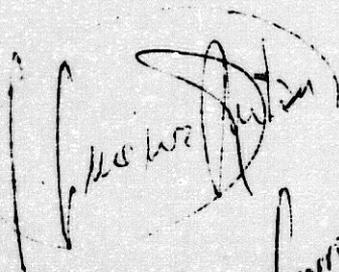
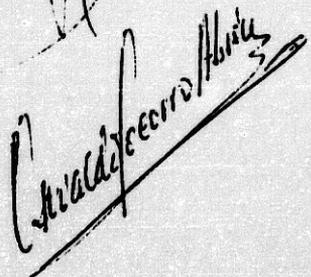
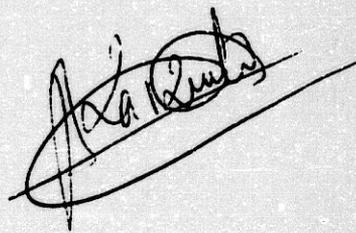
HACE CONSTAR: Que Elisa M^a García Ruiz, ha realizado en los laboratorios de este Departamento su trabajo para obtener el Grado de Licenciada en Farmacia titulado: "Estudio de antiinflamatorios y antiulcerosos de diferentes especies del género Sideritis L."

El presente trabajo ha sido ejecutado bajo mi dirección y la de los Doctores Don Antonio Zarzuelo Zurita y Don Oswaldo Socorro Abreu, Profesores Titulares de los Departamentos de Farmacología y Biología Vegetal, respectivamente.

Y a los efectos legales se firma la siguiente constancia en Granada, a once de Mayo de mil novecientos ochenta y ocho.

Fdo: Dr. D. José Jiménez Martín

El presente trabajo de Tesina se ha realizado en los Departamentos de Farmacología y Biología Vegetal, bajo la dirección conjunta del - Prof. Dr. D. José Jiménez Martín, Catedrático y los Profesores Titulares Dr. D. Antonio Zarzuelo Zurita y Dr. D. Oswaldo Socorro Abreu.

A mi madre y hermano.

Deseo expresar mi agradecimiento:

- Al Prof. Dr. D. José Jiménez Martín por haber hecho posible la realización de este -- trabajo, que ha permitido que me inicie en el campo de la investigación.

- A los Profs. Drs. D. Antonio Zarzuelo y D. Oswaldo Socorro por su constante orienta-- ción y ayuda, y por los conocimientos que - gracias a ellos he adquirido. Espero haber sido merecedora de la confianza que deposi- taron en mí.

- A la Prof. Dra. D^a. M^e Angeles Ocete por ha- ber podido contar siempre con su ayuda y -- útiles consejos, importantes sobre todo ---- cuando inicié mi trabajo.

- A todos mis compañeros del Departamento por su disponibilidad y apoyo, que hicieron muy agradable mi labor durante este tiempo.

SUMARIO

OBJETO..... 1

BOTANICA

I. INTRODUCCION

I.1.- SITUACION TAXONOMICA 3

I.2.- DESCRIPCION DE LA FAMILIA 3

I.3.- DESCRIPCION DEL GENERO 4

I.4.- DELIMITACION DE SUBGENEROS Y SECCIONES 5

II. PARTE EXPERIMENTAL

II.1.- GINODIOECIA 10

II.2.- POLINIZACION 11

II.3.- PALINOLOGIA

II.3.1.- ANTECEDENTES 12

II.3.2.- MATERIAL Y METODOS 15

II.3.2.1.- Acetolisis 15

II.3.2.2.- Microscopía óptica 18

II.3.3.- CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE LOS
GRANOS 19

II.4.- TAXONOMIA

II.4.1.- MATERIAL Y METODOS 20

II.4.1.1.- Labor de campo 21

II.4.1.2.- Labor de laboratorio 21

II.4.2.- DESCRIPCION DE LOS TAXONES 24

FARMACOQUIMICA

I.- <u>INTRODUCCION</u>	pag.
I.1.- <u>DITERPENOS</u>	33
I.2.- <u>FLAVONOIDES</u>	35
II.- <u>MATERIAL Y METODOS</u>	
II.1.- <u>MATERIAL</u>	38
II.1.2.- MUESTRAS UTILIZADAS	39
II.2.- <u>METODOS</u>	
II.2.1.- DETECCION DE LIPIDOS Y CERAS	40
II.2.2.- DETECCION DE ESTERCOLES Y TRITERPENOS	40
II.2.3.- DETECCION DE CAROTENOIDES	41
II.2.4.- DETECCION DE ALCALOIDES	41
II.2.5.- DETECCION DE H. CARDIOTONICOS	42
II.2.6.- DETECCION DE TANINOS	43
II.2.7.- DETECCION DE FLAVONOIDES	43
II.2.8.- DETECCION DE ANTRAQUINONAS	44
II.2.9.- DETECCION DE SAPONINAS	45
II.2.10.- DETECCION DE GOMAS Y MUCILAGOS	45
II.2.11.- DETECCION DE AZUCARES	46
II.2.12.- DETECCION DE ESENCIAS	46
III.- <u>RESULTADOS Y DISCUSION</u>	
III.2.- <u>DISCUSION DE RESULTADOS</u>	51

FARMACODINAMIA

<u>I.- INTRODUCCION</u>	pag.
I.1.- <u>ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA</u>	53
I.1.1.- FRENTE A LA INFLAMACION AGUDA	54
I.1.2.- FRENTE A LA INFLAMACION SUBCRONICA	55
I.1.2.1.- <u>Granuloma inducido por algodón</u> ..	56
I.1.2.2.- <u>Bolsas granulomatosas</u>	57
I.2.- <u>ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIULCEROSA</u>	58
I.2.1.- ULCERA PRODUCIDA POR AGENTES ULCOGENOS	59
I.2.2.- ULCERA INDOCIDA POR STRESS	59
<u>II.- MATERIAL Y METODOS</u>	
II.1.- <u>MATERIAL</u>	61
II.1.1.- ANIMALES DE EXPERIMENTACION	61
II.1.2.- MUESTRAS UTILIZADAS	61
II.1.3.- ADMINISTRACION DE LA MUESTRA	61
II.2.- <u>METODOS</u>	62
II.2.1.- ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA	62
II.2.1.1.- <u>Frente a la inflamación aguda</u>	62
II.2.1.2.- <u>Frente a la inflamacion sub-</u> <u>crónica</u>	64
II.2.2.- ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIULCEROSA	67
II.2.2.1.- <u>Frente a la úlcera expe-</u> <u>rimental por indometacina</u>	67

	pag.
II.2.2.2.- Frente a la úlcera experimental por stress	69
III.- <u>RESULTADOS Y DISCUSION</u>	
III.1.- <u>ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA</u>	71
III.1.1.- FRENTE A LA INFLAMACION AGUDA	71
III.1.1.1.- <u>Vía intraperitoneal</u>	71
III.1.1.2.- <u>Vía oral</u>	79
III.1.1.3.- <u>Discusion general de resultados</u>	88
III.1.2.- FRENTE A LA INFLAMACION SUBCRONICA	90
III.2.- <u>ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIULCEROSA</u>	97
III.2.1.- FRENTE A LA ULCERA EXPERIMENTAL POR INDOMETACINA	97
III.2.2.- FRENTE A LA ULCERA EXPERIMENTAL POR STRESS	104
III.2.3.- DISCUSION GENERAL DE RESULTADOS	111
 CONCLUSIONES	 113
BIBLIOGRAFIA	116

OBJETO

Los fármacos antiinflamatorios son unos de los más utilizados en la terapéutica actual, sin embargo se está muy lejos de conseguir el fármaco ideal, ya que éstos presentan un elevado número de efectos secundarios, destacando entre ellos los efectos ulcerígenos.

En distintas zonas de España se utilizan de manera empírica diferentes especies del género Sideritis como remedio popular en diversas afecciones inflamatorias, presentando además la ventaja de poseer también cierta acción antiulcerosa, e incluso en algunas especies del género han sido constatados estos efectos - farmacodinámicos (41). Por ello creemos muy interesante ratificar la presencia o no de estas dos acciones, - lo cual supondría un gran avance, puesto que junto a su acción antiinflamatoria se uniría no sólo el no presentar acción ulcerígena, sino también el ser antiulcerosas.

El objeto de esta Tesina es el estudio farmacognóstico de diversas especies de Sideritis recolectadas en la Provincia de Granada.

- En primer lugar se trata de identificar las muestras en estudio desde un punto de vista botánico

debido a la existencia de ecotipos e hibridación que se originan entre ellas dando lugar a una variabilidad de individuos que lleva en una gran cantidad de casos a interpretaciones erróneas.

- En segundo lugar se intentan determinar los grupos químicos más significativos de las muestras en estudio, con la finalidad de poder correlacionar en un futuro estos grupos o alguno de sus componentes, tanto con las acciones farmacodinámicas, que son la base de su empleo fitoterapéutico, como aportar datos que nos permitan confirmar las identificaciones de las especies botánicas de este género.

- Por último determinación de los efectos antiin_{fl}amatorios y antiulcerosos que nos permitan constatar su empleo fitoterapéutico.

BOTÁNICA

INTRODUCCIÓN

I.1.- SITUACION TAXONOMICA

Desde el punto de vista sistemático, y siguiendo el criterio de Cronquist (1), el enclave botánico del género Sideritis L. es el siguiente:

División: MAGNOLIOPHYTA

Subdivisión: MAGNOLIOPHYTINA

Clase: MAGNOLIOPSIDA

Subclase: ASTERIDAE

Superorden: LAMIANAE

Orden: LAMIALES

Familia: LAMIACEAE (= LABIATAE)

I.2.- DESCRIPCION DE LA FAMILIA

La familia LAMIACEAS está constituida aproximadamente por unas 3.000 especies de plantas herbáceas o arbustivas, frecuentemente glandulares y aromáticas, -- distribuidas por todos los países cálidos y templados del globo, pero con especial representación en la región mediterránea.

Presentan tallos de sección cuadrangular y hojas opuestas y decusadas.

Las flores, en general son hermafroditas, zigomorfas y pentámeras, dispuestas normalmente en espiga de verticilastros; verticilastros compuestos por dos - cimas dicasiales opuestas protegidas por sendas brácteas. Cáliz gamosépalo con 5 ó 4 lóbulos, frecuentemente bilabiado, a veces con un anillo de pelos en la garganta (carpostegio). Corola gamopétala con 5, rara vez 4, lóbulos, bilabiada, con el labio superior bilobado y el inferior trilobado, a veces con un solo labio o más o menos actinomorfa. Androceo con 4 estambres, normalmente didínamos, libres o con 2 estambres libres, epipétalo. Disco (ginóforo) más o menos desarrollado. Ovario súpero, bicarpelar, tetralocular, con un primordio seminal por cavidad. Estilo ginobásico. Fruto tetranúcula, rara vez con núculas carnosas

I.3.- DESCRIPCION DEL GENERO

Matas leñosas o hierbas perennes o anuales. Flores en espigas de verticilastros laxas o densas. Cáliz tubuloso-campanulado, con 5 dientes espinosos o subespinosos, iguales o subiguales o el superior más largo y ancho que los 4 inferiores; garganta frecuen

temente con una corona de pelos. Corola con tubo más corto que el caliz, bilabiada, con labio superior -- recto, subplano, entero o cortamente bilobado; el inferior trilobado, con lóbulo central más grande. Androceo didínamo, con 4 estambres, incluidos en el tubo de la corola. Estilo con ramas subiguales. Núculas con ápice redondeado-obtuso.

I.4.- DELIMITACION DE SUBGENEROS Y SECCIONES

Willdenow (2) subdividió el género Sideritis - en tres grupos: en el primero reúne las especies consideradas por él como desprovistas de brácteas, "Ebrae teatae"; el segundo agrupa a las de brácteas enteras y el tercero incluye las de brácteas dentadas. Estos dos últimos grupos son bastante naturales y pueden - mantenerse aún en la actualidad.

Bentham (3) lo considera subdividido en cuatro secciones: Marrubiastrum, Empedoclea, Eusideritis y Hesiodia. Briquet (4) subdivide la sección Hesiodia - en Hesiodia p.d. y Burdsdorfia. Willkomm (5) mantiene las secciones consideradas por Bentham. Font Quer

(6) subdivide a la sección Eusideritis en dos subsecciones: Gymnocarpe (sin carpostegio) y Carpostegiatae (con carpostegio).

Por último, Mendoza-Heuer (7) fundamentándose básicamente en la estructura de la inflorescencia y morfología de la flor, ratifica lo propuesto por Huynh (8), y agrupa las especies en dos subgéneros que --
diagnostica de la siguiente forma:

SUBGENERO SIDERITIS

Con pelos sencillos, pluricelulares, bracteolas ausentes, plantas anuales herbáceas o perennes sufruticosas.

- Sección Hesiodia (Moench) Bentham, Lab. Gen. Sp. 582 (1834) Bass.: Hesiodia Moench, Mth. Plant. 391 (1794).

Brácteas foliáceas, pecioladas o al menos estrechadas en la base. Hojas superiores estériles, en general ausentes. Cáliz bilabiado, con 3 sépalos superiores, cortos y 2 inferiores mayores. Plantas anuales polen tricolpado.

Especie tipo: Sideritis montana L. (= Hesiodia bicolor Moench).

Distribución: Europa mediterránea, desde el sur de Rusia hasta España y Norte de Africa.

- Sección Burgsdorfia (Moench) Briq., Lab. Alp. --

Marit. 349 (1893). Bass.: Burgsdorfia Moench, Mth. Plant.
392 (1794).

Brácteas foliáceas, pecioladas o estrechándose en la base. Hojas superiores estériles, en general ausentes. Cáliz bilabiado con un sépalo superior más ancho y largo, y 4 inferiores más cortos, o raramente iguales todos. Plantas anuales. Polen tetracolpado.

Especie tipo: Sideritis romana L. (= Burgsdorfia rigida Moench).

Distribución: Ampliamente representada en países europeos y africanos de la cuenca mediterránea, desde Siria a Portugal.

- Sección Sideritis: Bass.: Eusideritis Benth --

Lab. Gen. Sp. 572 (1834).

Brácteas sésiles, con base ancha, amplexantes, dentadas, siempre distintas de las hojas inferiores. Hojas superiores estériles, generalmente sésiles. Plantas perennes con base leñosa. Polen tetracolpado.

Especie tipo: Sideritis hyssopifolia L.

Distribución: Región mediterránea, particularmente fre--

cuentemente en la parte occidental de la misma, más concretamente en la Península Ibérica.

- Sección Empedoclea (Rafin) Bentham, Lab. Gen. Sp. 574 (1834). Bass.: Empedoclea Rafin, Caratt. Gen. Sic. 78 (1810).

Brácteas sésiles, con base ancha, amplexantes, enteras, diferentes de las hojas inferiores, más alargadas. Hojas superiores, frecuentemente sésiles. Plantas perennes con base leñosa. Polen 6-pantocolpado.

Especie tipo: Sideritis syriaca L. (= Empedoclea montana Rafin).

Distribución: Región mediterránea oriental, fundamentalmente Grecia, Asia Menor, Crimea, Siria,...

SUEGENERO MARRUBIASTRUM (Moench) Mendoza-Heuer, - Botánica Macar. 3:70 (1977).

Con pelos ramificados pluricelulares, bracteolas -- presentes, plantas perennes, en general arboreiformes.

- Sección Marrubiastrum (Moench) Bentham, Lab. Gen. Sp. 573 (1834). Bass.: Marrubiastrum Moench, Mth, Plant, 391 (1794).

Brácteas la mayoría con peciolo, o al menos es

trechamiento en la base, semejantes a la hojas basales
Hojas superiores estériles, si aparecen, por encima de
los paracladios. Plantas perennes, arboreiformes. Polen
tetracolpado.

Especie tipo: Sideritis canariensis L. (= Marrubiastrum to-
mentosum Moench).

Distribución: Región macaronésica (Archipiélagos de Ca--
narias y Madeira).

- Sección Empedocleopsis Huynh, Bull. Mus.Nat. Hist.
Nat. (Paris) 45:12 (1972).

Brácteas sésiles, con base ancha, amplexantes, en
terras, diferentes de las hojas inferiores, más alargada-
das. No hay paracladios. Hojas superiores estériles,
la mayoría sésiles. Plantas perennes, arboreiformes. Po-
len tetracolpado.

Especie tipo: Sideritis gomerae Bolle.

Distribución: Islas Canarias (solamente representada en
la Isla de la Gomera, dentro de la cual
está muy localizada).

Los distintos táxones estudiados se incluyen en
la sección Sideritis.

PARTE

EXPERIMENTAL

II.1.- GINODIOECIA

La ginodioecia es una modalidad de la poligamia consistente en que unos pies de planta tienen flores hermafroditas mientras otros las tienen femeninas (9). El término "ginodioecia" se debe a Darwin (10), que observó este fenómeno en Thymus vulgaris L. Esta modalidad de dioecia se presenta con relativa frecuencia en las Lamiaceas (Labiadas). Autores como Pérez de Paz (11) y Ietswaart (12), entre otros, han estudiado este fenómeno en Micromeria y Origanum respectivamente. Ha sido descrito en el género Thymus por otros autores (13, 14, 15, 16,17,18).Jalas subraya que este fenómeno es habitual en los tomillos, implicando el mismo reducción del tamaño de los cálices y de las corollas de las flores anandras o femeninas.

Hasta el momento, y de acuerdo con la bibliografía consultada, la ginodioecia, tan frecuente en la familia, no ha sido denunciada en las Sideritis. Con la excepción de Sideritis hirsuta, en las poblaciones de los restantes táxones estudiados hemos podido apreciar la presencia de pies hermafroditas y de pies femeninos. En estos últimos se observa una reducción

de tamaño de sus flores (cálices y corolas), y, o bien no llevan estambres o bien si los llevan no producen polen.

El tanto por ciento de plantas femeninas en la población de Sideritis incana var. virgata es muy bajo, aproximadamente oscila entre el 1 y el 3%, siendo algo mayor, 5 - 10%, en Sideritis funkiana s.l. Probablemente la variación de esas proporciones está ligada a factores ambientales y dependen de la densidad de población, ya que hemos observado como un aumento en el número de individuos en la población, trae consigo un incremento de dichas proporciones.

II.2.- POLINIZACION

Las Sideritis son plantas de polinización entomófila, con una mediana producción de polen. Estos caracteres los hemos observado en los distintos táxones estudiados, pero también una producción no muy alta de néctar, que es lo que fundamentalmente buscan los animales. Aunque hemos visto con frecuencia hormigas y abejas polinizando a dichos táxones, también se han observado otros himenópteros voladores como avispas y

abejorros.

Los nectarios, responsables de la producción de ese jugo o néctar, más o menos rico en diversos -- azúcares, se presentan en las Sideritis, y en general en las Lamiaceas, a manera de disco en la base del ovario.

En los distintos taxones estudiados hemos podido observar como las flores eran visitadas principalmente en el periodo comprendido entre las 10 y 14 hora solar; lo que implica que en esas horas se produce una mayor secreción de néctar.

II.3.- PALINOLOGIA

II.3.1.- ANTECEDENTES

Aunque en el polen de la familia Lamiaceae se viene trabajando desde el siglo XIX (19) ya en la primera mitad del siglo XX Risch (20) propone la separación de subfamilias y tribus en esta familia basada en la morfología del polen; donde primero encontramos algunos datos concretos en la bibliografía consultada referidos a Sideritis es en un trabajo posterior de dicho autor (22), y en el de Leitner (21): este

Último incluye a Sideritis en los "granos binucleados" y en los "trinucleados". Este último trabajo revela una correlación entre el número de núcleos en el grano de polen de Lamiaceas y el número de colpos de su exina, hecho que induce a Erdtman (1945) a dividir eventualmente a esta familia en dos grupos de acuerdo con la subdivisión de Briquet (1894-95):

a) Granos tricolpados (excepcionalmente tetracolpados) y binucleados.

- Ajugoideae (exceptuando Rosmarineae)
- Prostantheroideae
- Prasioideae
- Scutellarivideae
- Stachyoideae
 - Marrubieae
 - Perilomieae
 - Stachyeae
 - Melittineae
 - Brazoria
 - Pogostemon

b) Granos hexacolpados y trinucleados.

- Ajugoideae: Rosmarineae
- Lavanduloideae
- Stachyoideae
 - Nepeteae
 - Stachyeae
 - Branellineae (exceptuando Brazoria)
 - Salvieae
 - Meriandreae
 - Monardeae
 - Hormineae

b) Granos hexacolpados y trinucleados. (continuación)	[Stachyoideae	[Glechoneae
		(continuación)		Saturejeae
				Pogostemoneae (exceptuan do Pogostemon)
		Ocimoideae		
		Catopherioideae		

Años más tarde, Wunderlich (23) , tratando a nuestro género como un componente más de la familia Lamiaceae (subfam. Stachyoidea, tribu Marrubieae), define el polen de Sideritis como granos "trinucleados y hexacolpados" y "binucleados, tri o tetracolpados".

La siguiente cita bibliográfica, en la que se relaciona el número de colpos en los granos de polen y el tipo de estomas, data de 1968 (24) situando a Sideritis en el "Grupo I: Polen hexacolpado, estomas predominantemente diacíticos" y en el "Grupo II: Polen tricolpado, estomas anomocíticos y/o anisocíticos (subgrupo primero), o estomas predominantemente diacíticos (subgrupo segundo).

Por último destacar el trabajo de Huynh (1972), en el que se indica el tipo de polen existente en cada sección del género, y se establecen una serie de consideraciones filogenéticas, fundamentalmente en -

base a la morfología del polen.

II.3.2. MATERIAL Y METODOS

El material estudiado procede de los ejemplares herborizados en el campo, que posteriormente han sido incorporados en el herbario GAD. Por tanto, su procedencia es conocida.

II.3.2.1.- Acetolisis

Se ha realizado en cada población la acetolisis para visualizar el polen al microscopio óptico. Esta técnica se ha utilizado por dos razones:

- Es un buen método para purificar las muestras recogidas, dejando los granos de polen con todos sus elementos esculturales limpios y consiguiéndose así mejor su visualización.
- Está convenido para efectos comparativos que los diferentes parámetros medidos en el grano de polen se realicen sobre éste acetolizado.

Obtenido el material de los pliegos recolectados, se cortan las anteras con unas pinzas y se depositan

en un tubo de centrifuga de 15 cc. Hay que cuidar - de limpiar las pinzas antes de usarlas para recoger otra muestra, con el fin de no mezclar pólenes. A cada tubo se le numera debidamente.

A continuación se sigue el método de acetolisis de Ertmann (25). Se añade a los tubos ácido acético, enrasándolos al mismo nivel para que después esté equilibrada la centrifuga. Se agita el material con varillas de vidrio con el fin de que se liberen -- bien los granos de polen de las anteras. Se introducen los tubos en la centrifugadora y se centrifuga durante 15 minutos a 2.500 r.p.m. aproximadamente. Inmediatamente después del centrifugado se vierte el líquido del tubo rápida y bruscamente, consiguiéndose -- así que la parte más densa quede en éste sin apenas líquido.

Se prepara el líquido acetolítico necesario, compuesto de 9 partes de anhídrido acético puro sobre el que se añade una parte de ácido sulfúrico concentrado (nunca al revés). Se echan en los tubos que -- contienen el sedimento de 5 cc de dicho líquido, se agitan con una varilla y se calientan al baño María

sin dejar de remover hasta que hierva, y se mantienen hirviendo durante 2 minutos.

Se vuelve a centrifugar durante 15 minutos, se decanta, se añade agua destilada, se centrifuga y se vuelve a realizar el proceso otra vez. De esta manera se consigue dejar la exina limpia y los granos de polen libres de cualquier resto de otro material.

A continuación se añade sobre el sedimento una mezcla de glicerina y agua destilada a partes iguales, se vuelve a centrifugar, se decanta, y se dejan los tubos boca abajo sobre una rejilla. Transcurridas unas 24 horas se puede realizar el montaje de las preparaciones. Para ello se pone sobre un vidrio portaobjetos una pequeña porción de glicerogelatina. Se calientan los portas en una placa hasta que se funda la glicerogelatina. Entonces con una aguja curvada de platino se rasca el tubo que contenía el sedimento y se transfiere polen a la glicerogelatina. Alrededor de esta, sobre el porta, se dispone parafina fundida y se cubre con un cubreobjetos, presionando sobre el centro con el fin de que no quede aire incluido. Inmediatamente se colocan las preparaciones

al revés para que el polen quede en la inclusión lo más cerca posible de la superficie del cubreobjetos. De esta manera se obtienen preparaciones selladas y estables.

Se han montado de 2 a 3 preparaciones de cada taxon estudiado.

II.3.2.2.- Microscopia óptica (M.O.)

Se ha utilizado un microscopio Olympus. Las medidas se han realizado con un micrómetro ocular y a un aumento de 1.000 x. Para cada taxon estudiado se han efectuado 30 mediciones de los siguientes parámetros de diferentes granos de polen: distancia polar (P) medida en c.o.m., diámetro ecuatorial (E) medido en c.o.e., y espesor aproximado de la exina (sexina + mexina) (Ex). Todas las medidas han sido realizadas en micrómetros (μm).

Se han realizado al menos cuatro microfotografías en cada taxon estudiado del grano de polen, en vista polar, en vista lateral superficial, corte óptico meridiano (c.o.m.) y corte óptico ecuatorial (c.o.e.). La cámara fotográfica utilizada es semiautomática y va in

corporada al microscopio. La película usada ha sido EKTACHROME 100.

II.3.3.- CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE LOS GRANOS

Polen isopolar, suberecto (Sideritis funkiana subsp. funkiana y subsp. talaverana) a semierecto (Sideritis hirsuta, Sideritis incana var. virgata); en visión ecuatorial rectangular y en visión polar tetralobado; de tamaño mediano raramente pequeño; tetrazonocolpado, con colpos fusiformes, terminales; exina reticulada, subtejada, con perforaciones irregularmente distribuidas.

ESPECIE	P	E	D.I.	Ex	P/E
<u>S. funk. subsp. funkiana</u>	21,6 - 28,8 26,7 ± 1,9	22,5 - 28,8 25,8 ± 1,5	10,8 - 14,4 12,4 ± 0,9	1,8 - 2,7 1,9 ± 0,2	1,06
<u>S. funk. subsp. talaverana</u>	22,5 - 27,9 25,2 ± 1,5	20,7 - 25,2 23,1 ± 1,3	9,0 - 12,6 11,0 ± 1,1	0,9 - 1,8 1,5 ± 0,3	1,09
<u>S. hirsuta</u>	30,0 - 39,0 33,6 ± 2,5	25,0 - 33,0 28,2 ± 2,1	10,8 - 14,0 12,3 ± 1,1	1,0 - 3,0 1,7 ± 0,5	1,19
<u>S. incana var. virgata</u>	28,0 - 36,0 32,4 ± 2,6	20,0 - 30,0 25,3 ± 2,2	7,2 - 9,0 8,1 ± 0,7	1,0 - 2,0 1,2 ± 0,3	1,28

TABLA 1

En la tabla 1 se expresan los caracteres del - polen en los táxones estudiados. P= longitud del eje polar en corte óptico meridiano (c.o.m.) frontal; E= longitud del diámetro ecuatorial en c.o.m. frontal; - D.I.= distancia interapertural en vista polar corte -- óptico ecuatorial (c.o.e.); Ex= grosor de la exina en vista ecuatorial c.o.m. frontal. Todas las medidas se expresan en micras, y han sido realizadas con mate-- rial procedente de las poblaciones estudiadas.

II.4.- TAXONOMIA

II.4.1.- MATERIAL Y METODOS

El material de los distintos táxones estudiados por nosotros procede de las recolecciones efectuadas en el momento de plena floración y en aquellos puntos previamente seleccionados, teniendo en cuenta para ello el que se tratasen de poblaciones puras, más o menos aisladas, y por tanto sin posibilidad de existencia en las mismas de formas híbridógenas.

Se ha seguido el método clásico en la línea - de investigación taxonómica. Podemos dividirlo en los

siguientes apartados:

II.4.1.1.- Labor de campo

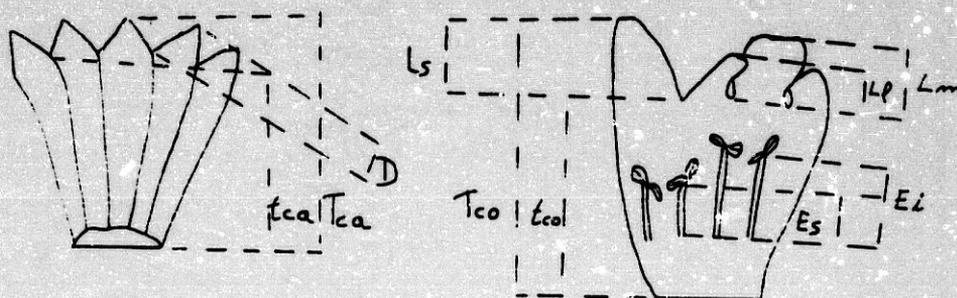
Ha consistido en estudiar todo taxon en su ambiente natural tomando para ello el mayor número posible de datos locales, observaciones morfológicas, ecológicas y fitosociológicas. Se han visitado más de una vez las estaciones donde se ha recolectado el material con el fin de seguir los aspectos fenológicos de cada taxon. En nuestras salidas al campo hemos llevado un "diario de campo" donde hemos anotado los datos a los que antes nos referíamos. También se han realizado diapositivas de los ejemplares más representativos.

II.4.1.2.- Labor de laboratorio

Una vez en el laboratorio, el material recogido en el campo fue dividido en 2 grupos. Uno se prensó para la posterior conservación de exsiccatas y el otro fue estudiado en fresco. Cuando el material no pudo ser inmediatamente estudiado, se pasó a conservar adecuadamente durante el menor tiempo posible, de for

ma que se mantuviese en condiciones óptimas y de la manera más parecida a la realidad. Para el estudio biométrico de las distintas piezas florales secas fue empleado el método iniciado en sus estudios taxonómicos por O. Socorro, consistente en el reblandecimiento de estas, cuando se trataba de material prensado, te niéndolas durante algún tiempo en agua, con lo cual la disección queda facilitada debido a la imbibición de los tejidos y al reblandecimiento de los mismos. Posteriormente las piezas son extendidas entre dos por taobjetos previo secado minucioso del exceso de agua. Las piezas así dispuestas, debidamente etiquetadas en relación al material de procedencia presentan la ventaja de que permiten una comparación bastante clara entre distintas preparaciones a lo largo del tiempo. Sin embargo, es recomendable efectuar las medidas bi métricas lo antes posible para evitar errores que pue den producirse como consecuencia de una retracción -- anormal debida a la progresiva deshidratación de los tejidos. La forma en que fueron efectuadas las medidas se explica en la figura 1.

Fig. 1.- Detalles biométricos de interés taxonómico en relación con el cáliz y la corola.



Tca = Longitud total del cáliz

tca = Longitud del tubo del cáliz

D = Longitud de los dientes calicinos

Tco = Longitud total de la corola

tco = Longitud del tubo de la corola

Ls = Longitud del lóbulo superior de la corola

Lm = Longitud del lóbulo medio de la corola

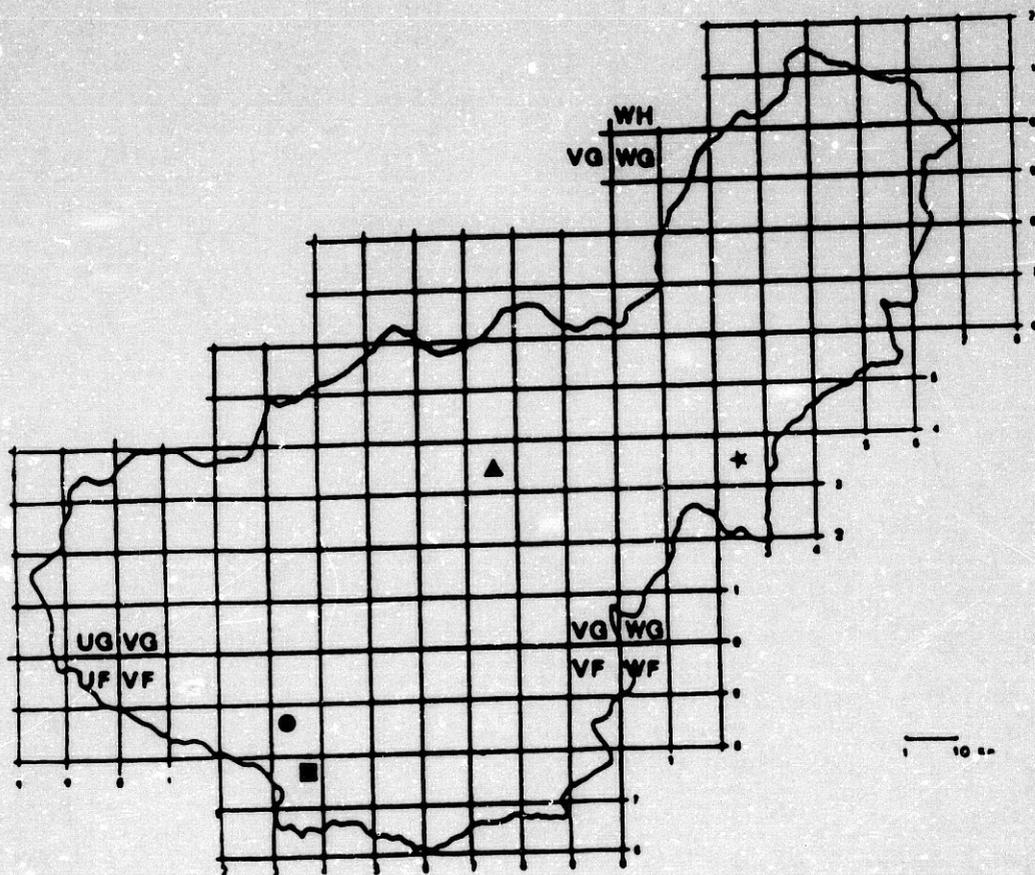
Ll = Longitud de los lóbulos laterales de la corola

Es = Longitud de los estambres superiores

Ei = Longitud de los estambres inferiores

Una vez estudiado el material, debidamente prensado, etiquetado, numerado y fichado, se incluyó en el Herbario GDA donde permanece depositado a modo de testimonio.

LOCALIZACION DE LAS POBLACIONES ESTUDIADAS



● *Sideritis hirsuta* L.

■ *Sideritis incana* L. var. *virgata* (Desf.)

▲ *Sideritis funkiana* Willk. subsp. *funkiana*

★ *Sideritis funkiana* subsp. *talaverana* Socorro & al.

Los accesorios empleados han sido los clásicos de disección, lupa binocular, útiles de dibujo, cámara fotográfica,...

Los mapas de localización de las poblaciones estudiadas corresponden a reducciones efectuadas de los mapas levantados y editados por el Servicio Geográfico del Ejército en 1968 E: 1:200.000 para la España peninsular en proyección UTM, que son los utilizados en nuestras salidas al campo.

II.4.2.- DESCRIPCION DE LOS TAXONES

Sideritis hirsuta L., Sp. Pl. 575 (1753)

Caracteres diagnósticos: Tallos de hasta 50 cm, - ramificados, con ramas vellosa-tomentosas en la base, con eje de la inflorescencia hirsuto. Hojas oblongas, ovado-oblongas u obovado-cuneiformes, crenado-dentadas, vellosa-hirsutas, glandulosas (glándulas sentadas). Inflorescencia con 6-12 verticilastros distantes. Verticilastros con 6 flores. Brácteas inciso-dentadas, con dientes espinosos o subespinosos, laxamente hirsutas, glandulosas o subglandulosas, las inferiores 6-14 x 11-

-13 mm, ovales o acorazonado-semiorbiculares. Cáliz de (5-6) 7-9 mm, campanulado, hirsuto, glanduloso (glándulas sentadas), garganta pelosa, dientes desiguales, -- lanceolados, espinosos o subespinosos. Corola (8-) 10-11 mm, con labio superior blanco e inferior amarillento.

Floración: Segunda quincena de Abril a Junio.

Ecología: Planta preferentemente calcícola. Vive en matorrales aclarados, en formaciones de matorral - alto, como romerales, conviviendo con Ulex parviflorus y Rosmarinus officinalis, y en los pinares de Pinus halepensis o Pinus pinaster. Fitosociológicamente forma parte de matorrales de la clase Ononido-Rosmarinetea, preferentemente en comunidades de Rosmarinetaia.

Distribución: Endemismo del SW de Europa.

Población estudiada: Granada, Sierra de Cázulas, próx. a la Escuela Hogar, 30SVF38, 1200 m, 4-VI-1987, J. Jiménez, C. Navarro & O. Socorro (GDA 20.529).

Sideritis funkiana Willk., Bot. Zeit. 17:282 y 290(1859)

Caracteres diagnósticos: Planta sufruticosa, ramificada, ramas ascendentes, erectas o flexuosas, glandulosas (glándulas sentadas), en la base vellosas con

pelos incurvados y flexuosos de 0,10 - 2 mm, entre verticilastros muy vellosos a incano-tomentosos con pelos flexuosos entremezclados de hasta 2,5 mm. Hojas lineares a lanceolado-lineares, 7-22 x 1-2 mm, uninerviadas. Verticilastros, 5-12, aproximados o distantes, 6 flores. Brácteas glandulosas (glándulas sentadas), vellosas con pelos cortos incurvados aplicadas, inciso-dentadas, dientes espinosos o subespinosos, las inferiores ovales u oval-lanceoladas con diente terminal largo, igualando o sobrepasando los cálices. Cálices 6-8 mm, campanulados, vellosos, glandulosos (glándulas sentadas), -- dientes triangulares, subespinosos o espinosos, de 1/4 - 1/2 de la longitud total del cáliz. Corola 6-8 mm, amarilla o amarillenta.

Variabilidad: Socorro y al. (1988) han podido -- comprobar que Sideritis funkiana en la bibliografía - (26, 27, 28) y en las determinaciones de diversos autores en los herbarios consultados, ha sido tradicionalmente subordinada a Sideritis angustifolia Lag., y los cuales opinan, en base a diversos caracteres: tipo de indumento y tomento, nerviación de las hojas, forma de las brácteas, longitud de cáliz y corola, ... que

no deben ser subordinadas.

Dichos autores (Socorro y al, l.c.) atendiendo a la variabilidad observada en el material estudiado y que afecta a ramas, hojas, relación de los dientes calicinos con respecto a la longitud total del cáliz y fundamentalmente a sus brácteas, consideran a las distintas poblaciones integradas en un sola especie. - Ahora bien, reconocen dentro de la misma dos grupos a los que otorgan categoría de subespecie. Ambos grupos solapan en parte su área en la depresión de -- Guadix-Baza; las diferencias existentes en cuanto a los caracteres señalados, permiten su tratamiento subespecífico.

Clave de las subespecies

Ramas en su ápice flexuosas; hojas lineares; inflorescencia en espigas largas con 7-12 verticilastos brácteas superiores que igualan o frecuentemente excediendo los cálices y con diente terminal largo.....
.....subsp. funkiana

Ramas erectas; hojas lanceolado-lineares; inflorescencia en espigas cortas con 5-8 (-10) verticilastos; brácteas superiores poco más cortas o iguales a los

cálices y sin diente terminal largo...subsp. talaverana.

Subsp. funkiana

S. lagascani Lag. var. funkiana (Willk.) Amo, Fl.Iber.3:197
(1872)

S. angustifolia Lag. var. lagascani (Willk.) Font Quer sub-
var. funkiana (Willk.) Font Quer, Trab. Mus. Ci. Nat. Barce-
lona 5(4): 31 (1924).

S. angustifolia Lag. var. lagascani (Willk.) Font Quer fma.
funkiana (Willk.) Font Quer, Broteria (Bot) 22: 95 (1926).

S. angustifolia Lag. subsp. funkiana (Willk.) Rivas Goday &
Rivas Martínez, Anal. Inst. Bot. A.J. Cavanilles Madrid 25:
172 (1967).

S. linearifolia Lag. ex. Funk, Pl. Hisp. (1848), nomem in Herb

Planta sufruticosa, ramificada, ramas ascendentes, flexuosas en su ápice. Hojas lineares 12-22 x 1 (-1,3) mm. Inflorescencia en espigas largas con 7-12 verticilastros, distantes. Brácteas todas ovales u oval-lanceoladas con el diente terminal largo, las inferiores constantemente sobrepasando los cálices, las superiores superándolos o menos frecuentemente igualándolos. Dientes de los cálices 1/2 (-1/3) de la longitud total.

Floración: Segunda quincena de Mayo, Junio y Julio.

Ecología: Vive sobre calizas y margas, a veces yesosas. Es una planta no dominante que coloniza los

claros de matorral, taludes y terrenos alterados, vi-
viendo más raramente en el sotobosque de encinares -
poco densos. Forma parte de los matorrales y tomilla
res basófilos de la clase Onico-Rosmarinetea.

Distribución: Endemismo del NE de la provincia
de Granada.

Población estudiada: Granada, Sierra de Harana,
próx. de los Villares, 25-VII-1975, O. Socorro & J. Hur-
tado (GDA 7548 y 7829, MA 256256).

Subsp. talaverana Socorro, Cano & Espiner nom. nov.
Acta Bot. Malacitana (en pr.).

S. lagascana Willk., Bot. Zeit. 17:282 y 290 (1859) excl. S.
angustifolia Lag.

S. linearifolia Cosson in Bourgeau, Pl. Esp. 1424 (1851) nom.
in schaed.

Planta sufruticosa, ramificada, ramas ascendentes,
erectas. Hojas lanceolado-lineares 7-14 (15) x 1,5-2 mm.
Inflorescencia en espigas cortas con 5-8 (-10) vertici-
lastros, aproximados o distantes. Brácteas inferiores
ovales u oval-lanceoladas con el diente terminal largo
sobrepasando o igualando los cálices, las superiores
acorazonado-ovales con el diente terminal corto, más
cortas o igualando los cálices. Diente de los cálices
1/3-1/4 de la longitud total.

Floreación: De mediados de Mayo a Julio, sobre todo en Junio.

Ecología: Vive sobre suelos ricos en bases, sobre todo en calizas y margas; también en terrenos yesosos cuando la influencia de éste no es muy acusada. Fitosociológicamente forma parte de los matorrales y tomillares de la clase Onido-Rosmarinetea.

Distribución: S de la provincia de Albacete, SE de la provincia de Jaen y NE de la provincia de Granada.

Población estudiada: Caniles, base de la Sierra de Baza, 27-VI-1982, C. Socorro (GDA 16.299).

Sideritis incana L., Sp. Pl. ed. 2: 802 (1763).
var. virgata (Desf.) Font Quer Bol. Soc. Esp. Hist. Nat. 25: 461 (1925).

S. virgata Desf., Fl. Alt. 2: 15 (1798).

S. incana L. subsp. virgata (Desf.) Malagarriga Collect Bot. (Barcelona) 7: 681 (1968).

Caracteres diagnósticos: Practicamente inodora. Tallos de hasta 50 cm., muy ramificados, niveo-tomentosos, con ramas erectas, ascendentes, delgadas, con caras blanco-tomentosas y ángulos glabros. Hojas enteras densamente niveo-tomentosas a blanco-tomentosas, las inferiores espatuladas, trinervadas, las superiores linear-

-lanceoladas o lineares, uninervadas. Inflorescencia --
con 5-10 verticilastros aproximados o subimbricados. -
Brácteas 5-6 (-6,5) x 6-7 mm, ovadas, frecuentemente aco
razonadas, dentadas, subespinosas, tomentosas por el -
haz y glabras por el envés. Cáliz de 7-8 mm, campa-
nulado, blanco-tomentoso, garganta sin pelos, con dieno
tes de 2,5-3 mm, triangulares, aristado-subespinosos. -
Corola 8-9 (-10) mm, amarilla.

Floración: Mayo, Junio y primera quincena de Ju-
lio.

Ecología: Se encuentra sobre dolomías, arenas de
dolomías cristalinas, formando parte de los matorra-
les del orden Rosmarinetalia.

Distribución: Endemismo Ibero-Mauritánico. En la
Península Ibérica se localiza en sierras interiores -
de Andalucía Oriental, Murcia, Albacete, Valencia y -
Alicante.

Población estudiada: Granada, Sierra de Cázulas,
próx. Mirador de la Cabra Montés, 30SVF37, 1100 m, -
27-V-1987, O. Socorro (GDA 19775).

CARACTERES	<i>S. funkiana</i> s.l.	<i>S. incana</i> var. <i>virgata</i>	<i>S. hirsuta</i>
TOMENTO	Velosa a incano-tomentosa	Blanco-tomentosa	Veloso-tomentosa a hirsuta
HOJAS	Lineares a lanceolado-lineares. uninerviadas. enteras. pubescentes a vellosas. glandulosas	Las inferiores escotuladas. trinerviadas. enteras. densamente niveo-tomentosas. frecuentemente glandulares: las superiores lineal-lanceoladas o lineares. uninerviadas. enteras. blanco-tomentosas. frecuentemente eglandulares.	Oblongas. ovado-oblongas u obovado-cuneiformes. trinerviadas. crenado-dentadas veloso-hirsutas. glandulosas.
Nº VERTICILASTROS	5-12. aproximados o distantes	5-10. aproximados o subimbricados	6-12. distantes
TOMENTO EN BRAC-TEAS	Velosas y glandulosas	Tomentosas y escasamente glandulosas	Hirsutas y glandulosas o subglandulosas
FORMA DE LAS BRACTEAS	Las inferiores ovales u oval-lanceoladas. igualando o sobrepasando los cálices: las restantes acorazonado-ovales u oval-lanceoladas. más cortas o igualando o superando los cálices	Ovales. frecuentemente acorazonadas las inferiores poco más cortas que los cálices. las restantes mucho más cortas que los cálices	Las inferiores ovales o acorazonado-ovales. igualando o superando los cálices; las restantes acorazonado-seniorbiculares. más cortas que los cálices
CALIZ	6-6 mm. veloso. glanduloso	7-8 mm, blanco-tomentoso. escasamente glanduloso	(6.5-) 7-9 mm. hirsuto. glanduloso
GARGANTA O INTERIOR DEL CALIZ (CARPOSTESIO)	Con numerosos pelos largos	Sin pelos	Con numerosos pelos largos
LONGITUD DE LA COROLA	6-8 mm	8-9 (-10) mm	(8-)10-11 mm
COLOR DE LA COROLA	Amarilla o amarillenta	Amarilla	Labio superior blanco a inferior amarillento

TABLA 2.- CARACTERES COMPARADOS DE LOS TAXONES ESTUDIADOS

FARMACOQUÍMICA

INTRODUCCIÓN

Dentro de este apartado nos centraremos en el estudio de dos grupos fitoquímicos: Flavonoides y diterpenos. Este hecho lo basamos en dos motivos fundamentales:

- Son los grupos descritos más abundantemente por la bibliografía, dentro de las distintas especies de *SIDERITIS*.

- Los principios activos antiinflamatorios y antiulcerosos aislados en especies de *SIDERITIS*, pertenecen a alguno de estos grupos.

I.1.- DITERPENOS

De los distintos diterpenos aislados en diversas especies de *SIDERITIS* podemos señalar:

- La *SIDERITIS HIRSUTA* presenta ent - 15 - kaureno y ent - 16 - kaureno, así como ent - 13 - epi - manoyloxidos y ent - labdadienos. (29, 30).

- En la *S. FUNKIANA* SUBSP. *FUNKIANA* se han aislado funkiol (ent - 3 β , 6 α , 7 α - trihidroxi - 18 - acetoxikaur - 15 - ene) e isofunkiol (ent - 6 β , 7 β , 18 - trihidroxi - 3 β - acetoxikaur - 15 - ene). (31).

- El sidendrodiol (ent - 10 β , 18 - dihidroxi--

kaur - 11 - ene) está presente en la SIDERITIS DENDRO-
DRAHORRA (32).

- La SIDERITIS INCANA SUBSP.VIRGATA, posee
sideridiol, foliol e isofoliol.(33).

- La SIDERITIS CYSTOSIPHON presenta ésteres
diterpénicos, tales como 18 - palmitato de epicandican-
diol y diacetato de epicandicandiol.(32).

- La SIDERITIS INFERNALIS posee ent - kaure-
nos como canditriol, episinfernal, sinfernal, epoxisin-
fermol y sinfermol.(34).

- Linearol, sidol, foliol, 18 - acetileucan-
tol y leucantol están presentes en SIDERITIS LEUCAN-
THA. (35),

- En especies con actividad antiinflamatoria
y antiulcerosa, entre las que destacan SIDERITIS MU--
GRONENSIS y SIDERITIS ANGUSTIFOLIA, se halla presente
un componente terpénico responsable entre otros compo-
nentes de tal actividad: El borjatriol ó 7S, 14R, 15 -
- trihidroxi - 8 α - 13 - epoxi - labdano.(pag. 37) (36).

I.2.- FLAVONOIDES

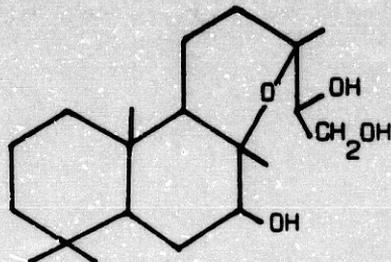
La bibliografía consultada nos señala la presencia especialmente de flavonas y de sus derivados metilados.

En 15 especies del género *SIDERITIS* presentes en España, entre ellas *SIDERITIS MUGRONENSIS*, *SIDERITIS ANGUSTIFOLIA*, *SIDERITIS FUNKIANA*, *SIDERITIS HIRSUTA*, *SIDERITIS INCANA* y *SIDERITIS LEUCANTHA*, se han encontrado:

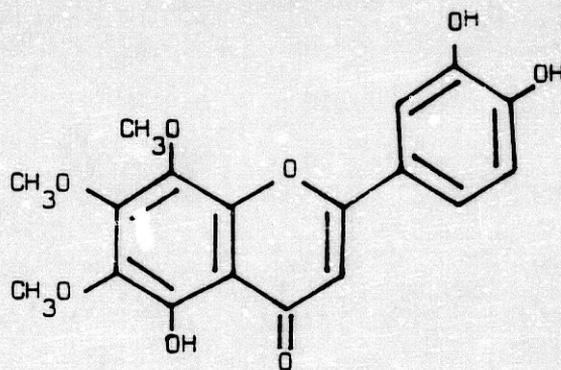
- Luteolina (5,7,3',4' - tetrahidroxi - flavona)
- Apigenina (6,7,4' - trihidroxi - flavona)
- Gardenin D (5,4' - dihidroxi - 6,7,8,3' - tetrametoxi - flavona)
- Xantomicrol (5,3' - dihidroxi - 6,7,8 - trimetoxi - flavona)
- Gardenin B (5 - hidroxio - 6,7,8,3' - tetrametoxi - flavona)
- Demetilnobiletin (5 - hidroxio - 6,7,8,3',4' - penta--metoxi - flavona)
- 8 - metoxicirsilineol (5,3' - dihidroxi - 6,7,8,4' - tetrametoxi - flavona)

- En especies con actividad antiinflamatoria y antiulcerosa se encuentran presentes, como responsables de tal actividad dos compuestos flavónicos: sideritoflavona (5,3,4' - trihidroxi - 6,7,8 - trimetoxi - flavona) e hipoletin - 8 - O - β - D - glucósido (5,7,8,3,4' - pentahidroxi - flavona - 8 - O - β - D - glucosido) (pag.37) (37, 38, 39, 40, 41, 42).

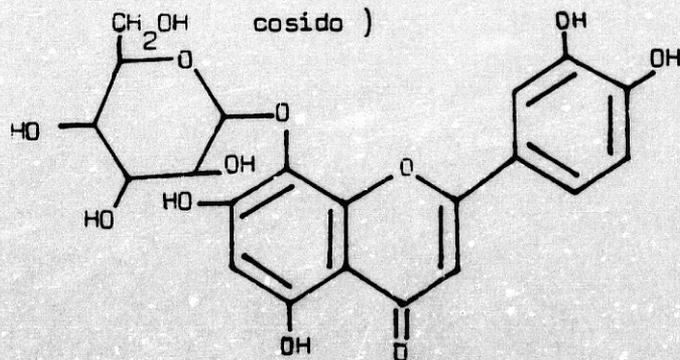
Borjatriol (7S, 14R, 15 - trihidroxi - 8 α -13 - epoxi -
labdano)



Sideritoflavona (5, 3', 4' - trihidroxi - 6, 7, 8 - trime-
toxi - flavona)



Hipoletín - 8 - O - β - D - glucósido (5, 7, 8, 3', 4' - pen-
tahidroxi - flavona - 8 - O - β - D - glu-
cosido)



MATERIAL
Y
MÉTODOS

II.1.- MATERIAL

- Aparatos "soxhlet"
- Bateria de tubos de ensayo
- Vasos de precipitado
- Pipetas, embudos, papel de filtro

II.1.2.- MUESTRAS UTILIZADAS

Las muestras utilizadas han estado constituidas por las sumidades floridas de distintas especies del género *SIDERITIS*, recolectadas en la Provincia de --- Granada (TABLA 3).

TABLA 3

<u>ESPECIE</u>	<u>LUGAR DE RECOLECCION</u>	<u>FECHA</u>
SIDERITIS HIRSUTA L	S ^a Cázulas próx. Escuela Hogar.	4 - VI - 87
SIDERITIS FUNKIANA WILLK SUBSP. FUNKIANA	Entre Diezma y Los Villares.	2 - VII - 87
SIDERITIS INCANA L	S ^a Cázulas, 2 Km antes del Mirador de la Ca- bra Montés.	4 - VI - 87
SIDERITIS FUNKIANA WILLK SUBSP. TALAVERANA	S ^a Baza. Entre Caniles y Escullar.	2 - VII - 87

Una vez recolectadas las muestras se realiza un proceso de desecación a temperatura ambiente, pulverizándolas posteriormente y conservándolas en bolsas herméticamente cerradas.

II.2.- METODOS

Sobre una muestra de la droga, se emplean sucesivamente, 3 disolventes de polaridad creciente, con el fin de extraer selectivamente los distintos grupos fitoquímicos, en base a su solubilidad.

La droga pulverizada se extrae en "soxhlet", en primer lugar con un disolvente poco polar (éter de petróleo) y en segundo lugar con un disolvente de polaridad intermedia (etanol de 96°). El marco obtenido se macera con agua durante 12 horas.

El extracto en éter de petróleo contendrá sustancias como lípidos, ceras, esteroides, carotenos,...

En el extracto etanólico se investiga la posible presencia de alcaloides, antraquinonas, taninos, flavonoides, heterósidos cardiotónicos,...

El extracto acuoso puede estar formado por sustancias como: saponines, azúcares, heterósidos,...

Con los extractos obtenidos procedemos a la detección de los compuestos que se encuentran en cada uno de ellos, por medio de sus reacciones características.(43).

II.2.1.- DETECCION DE LIPIDOS Y CERAS (43)

Se toma 1 ml de extracto correspondiente al éter de petróleo y se añade 1 ml de reactivo de SERGER (0,1 g de Molibdato sódico en 10 ml de ácido sulfúrico concentrado), recientemente preparado. El ensayo es positivo cuando la capa inferior toma una coloración gris-azulada.

II.2.2.- DETECCION DE ESTEROLES Y TRITERPENOS (44)

Se efectúa mediante la reacción de LIEBERMAN - BURCHARD, para lo cual llevamos a sequedad 1 ml de extracto (éter de petróleo) y lo redisolvemos en 1 ml de cloroformo. Añadimos 1 ml de anhídrido acético y 0,5 ml de ácido sulfúrico concentrado, el cual se deposita en el fondo del tubo de ensayo por medio

de una pipeta. Si la capa superior se colorea de verde, indica la presencia de esteroides, mientras que si se forma un anillo rojizo en la interfase, es indicativo de la existencia de triterpenos.

III.2.3.- DETECCION DE CAROTENOIDES (43)

A una pequeña porción de extracto en éter de petróleo, se le añaden I - II gotas de ácido sulfúrico concentrado; en caso positivo aparecerá un color azul.

III.2.4.- DETECCION DE ALCALOIDES (44)

La realizamos en el extracto etanólico, utilizando reactivos generales de precipitación.

- Reactivo de BOUCHARDAT: (2g de IK se disuelven en 100ml de agua; se añaden 2g de I_2 , se agita y se filtra). En caso de reacción positiva aparece un precipitado rojo ladrillo.

- Reactivo de MAYER: (13,55 g de cloruro de mercurio (II) más 50 g de IK en 1 litro de agua). Da lugar a un precipitado

blanco en presencia de alcaloides.

- Reactivo de HAGER: (solución saturada de ácido pícrico en agua). Aparición de un precipitado amarillo, en caso de reacción positiva.

III.2.5.- DETECCION DE HETEROSIDOS CARDIOTONICOS (43)

Se realiza tanto en el extracto etanólico como en el acuoso.

Reacción de LIEBERMAN-BURCHARD: Pone de manifiesto la presencia de la estructura esteróidica.

Reacción de BALJET: Es una reacción característica de lactonas pentagonales insaturadas. El reactivo de BALJET está formado por una solución etanólica de ácido pícrico al 1% y una solución acuosa de sosa al 10%, unidas en igual cantidad poco antes de la reacción.

Cuando añadimos I-II gotas de este reactivo al extracto, aparecen coloraciones que van del naranja al rojo oscuro.

III.2.6.- DETECCION DE TANINOS (44)

Se efectúa en los extractos etanólico y acuoso

Reacción del cloruro férrico: En presencia de una solución acuosa de tricloruro férrico al 1%, los taninos dan coloración o precipitado azul o verde.

Reacción de STIASNY: A 1 ml de extracto se le añade 1 ml de reactivo de STIASNY (formol al 30%, clorhídrico concentrado: 2:1)

Se calienta a baño maría durante unos 15 minutos, se filtra y se pasa a una cápsula de porcelana, añadiéndose II de Cl_3Fe .

La aparición de un precipitado en la primera parte de la reacción, se debería a la existencia de taninos catéquicos, mientras que si aparece una coloración azulada al añadirle el Cl_3Fe , es indicativo de la presencia de taninos pirogálicos.

III.2.7.- DETECCION DE FLAVONOIDES (44)

Se realiza mediante la "reacción de la cianidina"

(Reacción de WILLSTATTER o de SHINODA): A 1 ml de -

extracto etnológico se le añade un trozo de cinta de magnesio y II de ácido clorhídrico concentrado. En caso de reacción positiva pueden aparecer distintos colores:

Naranja Flavonas

Rojo-ceniza Flavonoles

Rojo-violeta Flavanonas

Da negativa con chalconas e isoflavonas.

III.2.8.- DETECCION DE ANTRAQUINONAS (43)

Se reconocen los derivados 1,8 - dihidroxiantraquinónicos libres, por la llamada reacción de BORN-TRAEGER, basada en las propiedades fisicoquímicas de estos compuestos: al estado libre son solubles en disolventes orgánicos, a los que les confieren coloración amarilla, mientras que al estado de sales (fenatos), lo son en agua, a la que colorean de rojo.

Se realiza en los extractos de éter de petróleo y etanol (antraquinonas libres y combinadas respectivamente). Para ello, se toma 1 ml de extracto en éter de petróleo, añadimos igual cantidad de sosa aproximadamente N y agitamos dejando luego reposar.

La capa acuosa toma color rojo cuando existen antraquinonas libres.

El extracto etanólico se hidroliza con ClH concentrado (I-II), calentando a baño maría durante 5 min.; se deja enfriar y a continuación se agita con éter de petróleo. Una vez decantada la fase orgánica se procede igual que anteriormente.

Quando se obtienen colores del rojo al naranja intenso, el ensayo lo damos como positivo, mientras que si el color es amarillo, lo damos como negativo.

III.2.9.- DETECCION DE SAPONINAS (44)

La detección de los compuestos saponínicos se basa en una de sus propiedades: poder afrógeno.

El poder afrógeno se estudia preparando una infusión del polvo al 10%, se filtra y recogemos varias partes alícuotas del filtrado en tubos de ensayo, las cuales se agitan durante 1 min. Se consideraran resultados positivos cuando transcurridos 30 min. persiste la espuma formada.

III.2.10.- DETECCION DE GOMAS Y MUCILAGOS (43)

La detección de estos compuestos es consecuencia

de su insolubilidad en etanol de 96°, para lo cual a una porción del extracto acuoso de la droga se le añade un exceso de alcohol. La reacción es positiva cuando se aprecia un precipitado flocculento.

III.2.11.- DETECCION DE AZUCARES (43)

Ensayamos la reacción de MOLISH. Para ello, --- mezclamos 0,5 ml de extracto acuoso con II de solu--- ción de α -naftol en etanol al 10% y 0,5 ml de ácido sulfúrico concentrado, el cual se deposita en el fondo del tubo de ensayo con ayuda de una pipeta - Pasteur. En caso de existir azúcares en el ex'racto, se formará un anillo violeta en la interfase.

III.2.12.- DETECCION DE ESENCIAS (44)

Se prepara una infusión al 10%, a partir del polvo de la droga y se comprueba la existencia de olor aromático característico de estos compuestos.

RESULTADOS
Y
DISCUSIÓN

SIDERITIS HIRBUTA

<u>GRUPO FITOQUIMICO</u>	<u>REACCION</u>	<u>RESULTADO</u>
Lípidos y ceras	Serger	(-)
Esteroles	Lieberman-Burchard	(+)
Triterpenos	"	(-)
Carotenoides	Acido sulfúrico	(-)
Alcaloides	Bouchardat	(-)
	Mayer	(-)
	Hager	(-)
Heterósidos		
cardiotónicos	Lieberman-Burchard	(-)
	Baljet	(-)
Taninos	Cloruro férrico	(+)
	Stiasny	catéquicos
Flavonoides (flavonas)	Cianidina	(+)
Antraquinonas	Borntraeger	(-)
Saponinas	Poder afrógeno	(-)
Gomas y mucílagos	Exceso de alcohol	(-)
Azúcares	Molish	(++)
Esencias	Caracteres	
	organolépticos	(+)

SIDERITIS FUNKIANA SUBSP. FUNKIANA

<u>GRUPO FITOQUIMICO</u>	<u>REACCION</u>	<u>RESULTADO</u>
Lípidos y ceras	Serger	(-)
Esteroles	Lieberman-Burchard	(++)
Triterpenos	"	(-)
Carotenoides	Acido sulfúrico	(-)
Alcaloides	Bouchardat	(-)
	Mayer	(-)
	Hager	(-)
Heterósidos		
cardiotónicos	Lieberman-Burcard	(-)
	Baljet	(-)
Taninos	Cloruro férrico	(++)
	Stiasny	catéquicos
Flavonoides (flavonas)	Cianicina	(+++)
Antraquinonas	Bomtraeger	(-)
Saponinas	Poder afrógeno	(+)
Gomas y mucílagos	Exceso de alcohol	(+)
Azúcares	Molish	(+++)
Esencias	Caracteres organolépticos	(+)

SIDERITIS INCANA

<u>GRUPO FITOQUIMICO</u>	<u>REACCION</u>	<u>RESULTADO</u>
Lípidos y ceras	Serger	(-)
Esteroles	Lieberman-Burchard	(+++)
Triterpenos	"	(-)
Carotenoides	Acido sulfúrico	(-)
Alcaloides	Bouchardat	(-)
	Mayer	(-)
	Hager	(-)
Heterósidos		
cardiotónicos	Lieberman-Burchard	(-)
	Baljet	(-)
Taninos	Cloruro férrico	(+++)
	Stiasny	catequicos
Flavonoides (flavonas)	Cianidina	(+)
Antraquinonas (combinadas)	Borntraeger	(+)
Saponinas	Poder afrógeno	(-)
Gomas y mucílagos	Exceso de alcohol	(++)
Azúcares	Molish	(+)
Esencias	Caracteres	
	organolépticos	(+)

SIDERITIS FUNKIANA SUBSP. TALAVERANA

<u>GRUPO FITOQUIMICO</u>	<u>REACCION</u>	<u>RESULTADO</u>
Lípidos y ceras	Serger	(-)
Esteroles	Lieberman-Burchard	(++++)
Triterpenos	"	(-)
Carotenoides	Acido sulfúrico	(-)
Alcaloides	Bouchardat	(-)
	Mayer	(-)
	Hager	(-)
Heterósidos		
cardiotónicos	Lieberman-Burchard	(-)
	Baljet	(-)
Taninos	Cloruro férrico	(+)
	Stiasny	catéquicos
Flavonoides (flavonas)	Cianidina	(++)
Antraquinonas	Borntraeger	(-)
Saponinas	Poder afrogeno	(-)
Gomas y mucílagos	Exceso de alcohol	(+)
Azúcares	Molish	(++)
Esencias	Caracteres	
	organolépticos	(+)

III.2.- DISCUSION DE RESULTADOS

En los resultados obtenidos tras el "screening" fitoquímico de las distintas SIDERITIS objeto de nuestro estudio, encontramos grandes semejanzas de tipo - cualitativo; las diferencias se establecen desde el -- punto de vista cuantitativo.

En este sentido podemos señalar la presencia en todas las especies de: esteroides, taninos catéquicos, flavonoides (flavonas), azúcares, gomas y mucílagos (a excepción de la SIDERITIS HIRSUTA), y esencias. Es - de destacar como diferencia cualitativa, la presencia de antraquinonas en la SIDERITIS INCANA y de saponinas en la SIDERITIS FUNKIANA SUBSP. FUNKIANA.

Como hemos indicado anteriormente las diferencias existentes entre estas especies son fundamentalmente - de tipo cuantitativo:

- Esteroides, muy abundantes en SIDERITIS -- INCANA y S. FUNK. SUBSP. TALAVERANA, siendo menos abundantes en SIDERITIS HIRSUTA.
- Taninos catéquicos, más abundantes en SIDERITIS INCANA.
- Flavonoides: son muy positivos en SIDERI-

TIS FUNKIANA SUBSP. FUNKIANA.

- Gomas y mucílagos, más abundantes en SIDERITIS INCANA, no existiendo en SIDERITIS HIRSUTA.

- Azúcares, más abundantes en SIDERITIS FUNKIANA SUBSP. FUNKIANA y menos en SIDERITIS INCANA.

FARMACODINAMIA

INTRODUCCIÓN

Como ya indicábamos en el objeto de esta Tesina, los ensayos farmacodinámicos realizados con las diferentes muestras se han dirigido hacia la puesta de manifiesto de las acciones antiinflamatoria y antiulcerosa.

I.1.- ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

La inflamación es una reacción defensiva del organismo que se desencadena como consecuencia de un daño celular.

Las reacciones inflamatorias van a variar según sea la lesión, pudiendo englobarse estas reacciones en dos grupos: agudas y crónicas.

En la inflamación aguda la reacción inflamatoria se caracteriza por los signos clásicos de calor, rubor, dolor y tumor, debido básicamente a una serie de alteraciones vasculares, extravasación de líquido y células de la sangre, etc.

En la inflamación subcrónica, la lesión inicial desencadenante no se elimina por la reacción, por lo que persiste un estado constante de inflamación. En estos procesos hay una abundancia de tejido granulo-

matoso, monocitosis con muchas células gigantes, invasión de tejido conectivo (fibrosis),...

Por tanto, al ser diversos los procesos que se desencadenan según el tipo de inflamación, existen multitud de procesos experimentales con objeto de reproducir las reacciones inflamatorias desencadenadas en ambos procesos.

I.1.1.- FRENTE A LA INFLAMACION AGUDA

Dentro de los numerosos tipos de técnicas existentes para estudiar la capacidad antiinflamatoria frente a la inflamación aguda, el más utilizado se basa en la disminución del edema experimental provocado por la inyección de un agente flogógeno en la pata de animales de laboratorio, siendo el más usado la rata.

Como flogógenos se emplean, entre otros, el formol (45), kaolín (46), dextrano (47), ovoalbúmina, levadura,.... Nosotros hemos escogido en nuestras experiencias la carragenina, ya que ensayos previos de nuestro Departamento indicaban que era el agente con el que se obtenían unos resultados más homogéneos (48)

Todas las técnicas basadas en esta metodología tienen idéntico fundamento: cuantificar el edema producido en animales sin medicación y en los lotes de animales que han recibido un tratamiento. La diferencia entre ambas series o disminución del edema, expresada matemáticamente, dará idea de la eficacia de cada fármaco.

La cuantificación de los edemas en la pata se realiza según diferentes técnicas: aumento del grosor de la misma (49), incremento del peso de la pata (50) o en incremento de volumen de la pata, medido, este último, por el de agua (51) o mercurio (51, 52), desplazados. Este último procedimiento es el más extendido y el empleado por nosotros.

I.1.2.- FRENTE A LA INFLAMACION SUBCRONICA

Como señalábamos anteriormente, en este tipo de técnicas, al no desaparecer la lesión inicial responsable de la respuesta inflamatoria se origina la formación de un "granuloma".

Se inicia éste con una proliferación fibroblástica y de pequeños vasos sanguíneos y células de te-

jido conectivo y endotelial. Tal proliferación celular producirá el denominado "tejido de granulación". Esta masa celular ejerce varias funciones: asegurar la fagocitosis, inducir la proliferación fibroblástica, así como orientar lo que pudiera denominarse la edificación del mencionado tejido de granulación.

Se han propuesto una serie de técnicas para el estudio de la acción antiinflamatoria, basadas en la inhibición de la síntesis de nuevo tejido conectivo, y por tanto, de la disminución del tejido granulomatoso.

Experimentalmente se provoca la formación de --- granulomas introduciendo bajo la piel del animal, --- cuerpos o sustancias irritantes no reabsorbibles. Entre estos podemos destacar:

I.1.2.1.- Granuloma inducido por algodón

La técnica fue introducida en 1950 por Meier y cols (53), tras observar la formación de tejido granulomatoso tras implantar subcutáneamente en ratas el denominado "pellet" de algodón. Transcurrido un tiempo (7 días) y tras la muerte de los animales, se ex---

tirpaba el granuloma, y calculaba el peso neto del tejido granulomatoso. La diferencia entre el peso del granuloma en animales con y sin medicación nos dará idea de la actividad antiinflamatoria.

I.1.2.2.- Bolsa granulomatosa

La técnica fue propuesta en 1953 por Selye (54) y modificada por Robert y Nezamis en 1957 (55). Se crea una bolsa en el dorso de la rata por inyección de aire esteril, introduciéndose posteriormente en la misma un agente irritante, generalmente croton, para inducir la formación del tejido granulomatoso. Transcurridos entre 4 y 14 días se recoge el líquido formado en la bolsa, cuyo volumen se mide, o bien se calcula el peso de la bolsa formada.

Es una técnica de mayor resultado en antiinflamatorios esteroídicos (54, 55), en cambio los antiinflamatorios no esteroídicos únicamente ejercen un leve efecto sobre el granuloma debido a esta técnica.

I.2.- ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIULCEROSA

La úlcera gástrica se debe a una pérdida de sustancia de la mucosa de las porciones gástricas del tubo digestivo.

A pesar de las teorías e hipótesis dadas para explicar su origen, éste aún no es claro, aunque parece ser el resultado del concurso simultáneo de jugo gástrico (tanto por su cantidad como por su grado de acidez) y una alteración en la mucosa gástrica.

Por ello los medicamentos que se emplean en el ulcus gastroduodenal tratan de reducir la acidez, aumentar las defensas de la mucosa o ambas cosas.

Las técnicas utilizadas para estudiar la acción antiulcerosa de los fármacos se pueden agrupar en dos grandes apartados:

- Modelo experimental de la úlcera gástrica aguda, en el que se induce la producción de la lesión gástrica y al mismo tiempo se administra el fármaco que va a prevenir la lesión.

- Modelo experimental de la úlcera gástrica crónica, en el que se provoca en primer lugar la

ulceración y a continuación se administra el fármaco para evaluar su potencia antiulcerosa.

En nuestra Tesina hemos seleccionado 2 tipos de producción de la úlcera gástrica aguda:

I.2.1.- ULCERA PRODUCIDA POR AGENTES ULCÓGENOS

Como agentes ulcógenos destacan el ácido acetil-salicílico (56, 57, 58, 59), la indometacina (60, 61), así como asociaciones de aspirina con fenacetina, paracetamol y cafeína (62). En general se puede afirmar que la mayor parte de los fármacos antiinflamatorios no esteroidicos, producen lesiones gástricas experimentales, por lo que con frecuencia son utilizados para tal fin (63, 64, 65). Otros agentes ulcógenos son la histamina, reserpina y polimixina (66, 67, 68).

En nuestras experiencias hemos utilizado un fármaco antiinflamatorio no esteroidico, productor de úlcera, la indometacina.

I.2.2.- ULCERA INDUCIDA POR STRESS

Globalmente consiste en llevar al animal de experimentación a situaciones límite, tales como inmovilización total (69), inmovilización y posterior intro-

ducción en lugar frío (70), estímulo natatorio en —
agua fría (71),

En nuestra Tesina hemos utilizado 2 parámetros,
frío e inmovilización, para inducir úlcera por stress

MATERIAL
Y
MÉTODOS

II.1.- MATERIAL

II.1.1.- ANIMALES DE EXPERIMENTACION

Se han utilizado ratas "Wistar", hembras, con un peso de 170 ± 30 g, suministradas por el estabulario de la Universidad de Granada.

II.1.2.- MUESTRAS UTILIZADAS

Ver página 38.

II.1.3.- ADMINISTRACION DE LA MUESTRA

Para la administración de la muestra a los animales de experimentación, se realiza un cocimiento de la misma al 20% según F.E. IX (pag. 396), obteniéndose un residuo seco de:

SIDERITIS HIRSUTA L: 19,8%

SIDERITIS FUNKIANA WILLK SUBSP. FUNKIANA: 17,6%

SIDERITIS INCANA L: 13,8%

SIDERITIS FUNKIANA WILLK SUBSP. TALAVERANA: 14,1%

Las dosis administradas han sido de 1 y 2 g - de droga total por Kg de peso del animal (1 y 2 g/Kg).

II.2.- MÉTODOS

II.2.1.- ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

II.2.1.1.- Frente a la inflamación aguda

II.2.1.1.a.- Descripción de la técnica

La inflamación se provoca por administración de 0,1 ml de una solución acuosa de carregenina preparada al 1%, en la subaponeurosis plantar de la pata derecha de la rata.

Los volúmenes de las patas de los animales se miden con ayuda de un Pletismómetro de mercurio marca Ugo Basile mod. 849.

II.2.1.1.b.- Desarrollo de la experiencia

Hemos trabajado con lotes de ratas de 6 animales cada uno, sometidos a un ayuno previo de 24 -- horas.

Las dosis y vías de administración utilizadas -- han sido las siguientes:

- Administración de 1g/Kg de peso por vía intraperitoneal 1 hora antes de administrar la cerra-

genina.

- Administración de 1g/Kg de peso por vía oral, también 1 hora antes de administrar el agente flogógeno.

- Administración de 2g/Kg de peso por vía oral, 2 horas antes de la administración de la carragenina.

Las medidas del volumen de inflamación de las patas se han realizado antes de la administración -- del agente flogógeno, que nos da idea del volumen -- basal, y a las 1, 3, 5, y 24 horas de la administra-- ción del mismo.

A uno de los lotes se le administró agua -- destilada (lote en blanco), sirviendo así de punto -- de referencia.

II.2.1.1.c.-Tratamiento de resultados

Los volúmenes de inflamación (VI) se calculan -- según la siguiente fórmula:

$$VI = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100$$

Donde:

V_0 = volumen basal

V_t = volumen en el tiempo "t"

La actividad antiinflamatoria se calcula, a partir de los VI, como sigue:

$$AAI\% = \frac{V_{Ib} - V_{It}}{V_{Ib}} \times 100$$

Donde:

V_{It} = volumen de inflamación del lote tratado

V_{Ib} = volumen de inflamación del lote en blanco

La comparación entre los resultados obtenidos -- con los distintos lotes de animales se realiza por el procedimiento de la "t" de Student.

II.2.1.2.- Frente a inflamación subcrónica

II.2.1.2.a.- Descripción de la técnica

Los granulomas se originan por colocación de un fragmento de algodón (70 mg) en la zona dorsal de la rata.

Para realizar la implantación, se anestesia pre-

viamente el animal con éter etílico. Una vez anestesiados los animales, se procede a la realización de una incisión subcutánea en la región dorsal del animal, que permita la colocación del fragmento de algodón, pasando posteriormente a suturar la herida --- provocada mediante un agrafe. Seguidamente se desinfecta la zona, y se colocan los animales en jaulas individualizadas.

Al noveno día de implantar el granuloma, sacrificamos los animales y extirpamos el mismo, realizando una cuidadosa disección y eliminando las grasas y bridas que tenga adheridas.

Estos granulomas se llevan a estufa durante 24 horas; transcurrido este tiempo se pesan en balanza de precisión.

II.2.1.2.b.- Desarrollo de la experiencia

En nuestras experiencias hemos utilizado ratas - en lotes de 6 animales a los que sometemos a un - tratamiento continuo durante los 8 días siguientes a la implantación del granuloma. Las diferentes muestras se han administrado por vía oral en una sola dosis

de 1g/Kg/día, efectuándose esta siempre a la misma hora. A uno de los lotes (blanco) se le administrará agua destilada, por lo que servirá de punto de referencia.

II.2.1.2.c.- Tratamiento de resultados

La actividad antiinflamatoria frente a esta técnica se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$AAI\% = \frac{P_b - P_t}{P_b} \times 100$$

Donde:

P_b = peso medio de los granulomas en el lote blanco

P_t = Peso medio de los granulomas tratados con cada una de las distintas muestras en estudio

El estudio comparativo de las medidas se realizará por el test de la "t" de Student.

II.2.2.- ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIULCEROSA

II.2.2.1.- Frente a la Úlcera experimental por indometacina

II.2.2.1.a.- Descripción de la técnica

Los animales de experimentación son sometidos a ayuno 24 horas antes de realizar la experiencia. Tras este intervalo de tiempo, se procede a administrarles por vía oral mediante sonda esofágica 20 mg/Kg de -- peso de indometacina (72), suspendida en metil-celulosa al 1%. A las 24 horas de la administración, --- anestesiamos los animales con Nembutal al 1% administrado por vía intraperitoneal. Posteriormente efectuamos una incisión en el abdomen, y tras apartar el paquete intestinal para visualizar la vena cava, se inyectar en la misma lentamente 0,3 ml de una disolución acuosa de Azul de Evans. Transcurridos 1 ó 2 minutos se extrae el estómago junto con unos 3 cm - de duodeno. Se abre a lo largo de la curvatura menor y se lava para observar las úlceras que aparecen más nítidas gracias al colorante (si es necesario se utilizará una lupa), valorando el número, ti-

po y gravedad de las mismas.

II.2.2.1.b.- Desarrollo de la experiencia

En nuestras experiencias hemos trabajado con lotes de 8 animales cada uno a los que se les administra por vía oral los cocimientos de las diferentes muestras en estudio, previo a la administración de la indometacina. Un lote de animales recibe agua en lugar del cocimiento y servirá de lote testigo.

Las dosis administradas han sido de 1 y 2 g/Kg de peso. Una vez transcurridas las 24 horas de la administración se procede a valorar el índice de ulceración.

II.2.2.1.c.- Tratamiento de resultados

Con el fin de cuantificar los resultados hemos construido una escala propia de valoración en la que asignamos diferentes puntuaciones, según el estado en que se encuentre el estómago, abarcando dicha escala valores comprendidos entre 0 - 250.

En esta escala se asignan los siguientes valores:

- Estado preulceroso1-5 puntos
- Erosión inferior a 1 mm de diámetro6 puntos
- Erosión alargada de 2 mm.....6 puntos
- Erosión mayor de 1 mm de diámetro20 puntos
- Erosión alargada mayor de 2 mm20 puntos
- Perforación200 puntos

Los resultados obtenidos con ambos lotes se ---
comparan mediante el procedimiento de la "t" de Stu-
dent.

II.2.2.2.- Frente a la úlcera experimen- tal por "stress"

II.2.2.2.a.- Descripción de la técnica

En estas experiencias seguimos el método de Se-
nay y Levine (73) , que consiste en la producción de
ulceraciones gástricas agudas, utilizando simultáneamen-
te dos situaciones estresantes: inmovilización y frío.

Los animales de experimentación son sometidos a
ayuno 24 horas antes de la experiencia. Tras este -
periodo se procede a su inmovilización. Para ello se
introduce el animal en unos cepos cilíndricos de unos

25 - 30 cm de longitud y 4 - 5 cm de diámetro, cerrándose por sus extremos para evitar su fuga. Los animales una vez inmovilizados son colocados en frigorífico a una temperatura de 3 - 5 °C. Transcurridas 3 horas de permanencia en el mismo, se procede a extraer el estómago a los animales de experimentación, siguiendo el método descrito en la técnica anterior.

II.2.2.2.b.- Desarrollo de la experiencia

Tras el tiempo de ayuno a que se someten los animales (lotes de 8) antes de introducirlos en el frigorífico, se procede a administrar por vía oral - los cocimientos de las distintas muestras en estudio, a las dosis de 1 y 2g/Kg de peso.

La actividad antiulcerosa del lote problema se valora tras compararlo con el lote testigo, sólo sometido a inmovilización.

II.2.2.2.c.- Tratamiento de resultados

Para la valoración de los resultados, usamos la misma escala que en la técnica anterior.

La comparación entre los lotes se realiza por el procedimiento de la "t" de Student.

RESULTADOS
Y
DISCUSIÓN

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

III.1.- ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

III.1.1.- FRENTE A LA INFLAMACION AGUDA

III.1.1.1.- Via intraperitoneal

III.1.1.1.a.- Acción antiinflamatoria

Los resultados obtenidos se expresan de la siguiente forma:

<u>MUESTRAS</u>	<u>TABLAS</u>	<u>GRAFICAS</u>
SIDERITIS HIRSUTA	4	I
S. FUNK. SUBSP. FUNKIANA	5	II
SIDERITIS INCANA	6	III
S. FUNK. SUBSP. TALAVERANA	7	IV

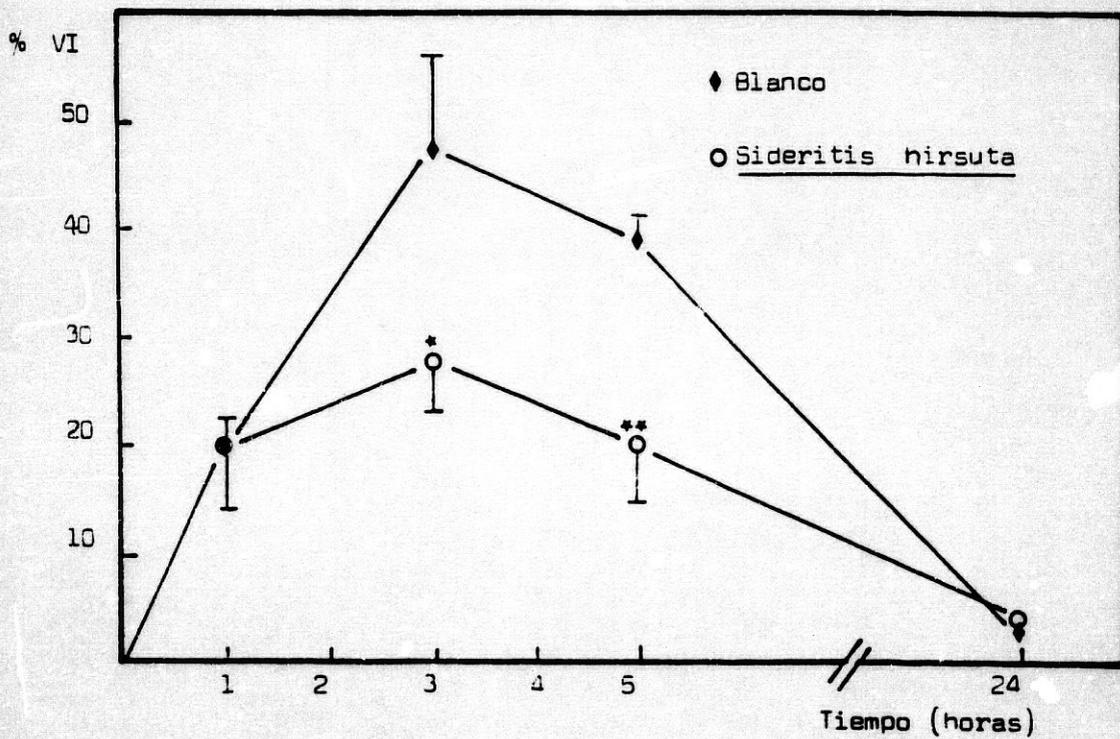
La tabla 8 representa un estudio comparativo de las actividades antiinflamatorias de las diferentes muestras utilizadas.

Actividad antiinflamatoria frente a la inflamación
aguda de la SIDERITIS HIRSUTA. Vía intraperitoneal

TABLA 4

Tiempo \ Muestra	1 h	3 h	5 h	24 h
Blanco	19,6 ± 2,4	47,9 ± 9	39,3 ± 1,8	2,6 ± 1,4
1 g/Kg	19,6 ± 4,7	27,7 ± 4,6	20,6 ± 4,9	3,7 ± 1,1

GRAFICA I



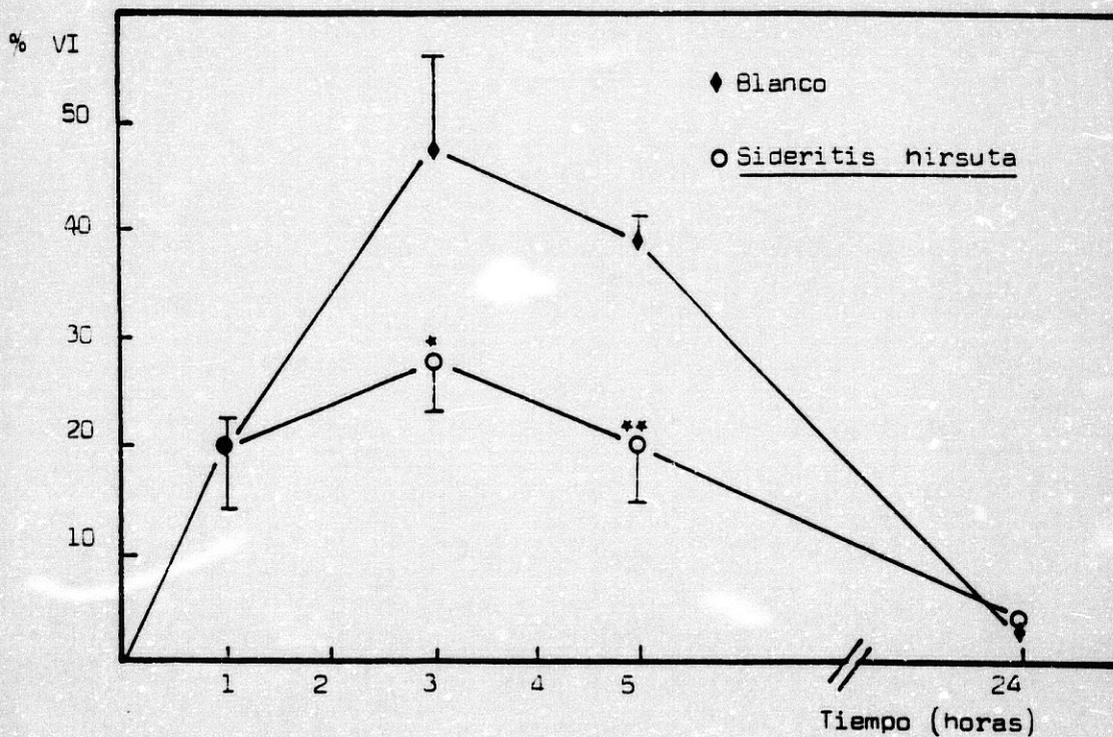
* p < 0,05 ; ** p < 0,01

Actividad antiinflamatoria frente a la inflamación
aguda de la SIDERITIS HIRSUTA. Vía intraperitoneal

TABLA 4

Tiempo \ Muestra	1 h	3 h	5 h	24 h
Blanco	19,6 ± 2,4	47,9 ± 9	39,3 ± 1,8	2,6 ± 1,4
1 g/Kg	19,6 ± 4,7	27,7 ± 4,6	20,6 ± 4,9	3,7 ± 1,1

GRAFICA I



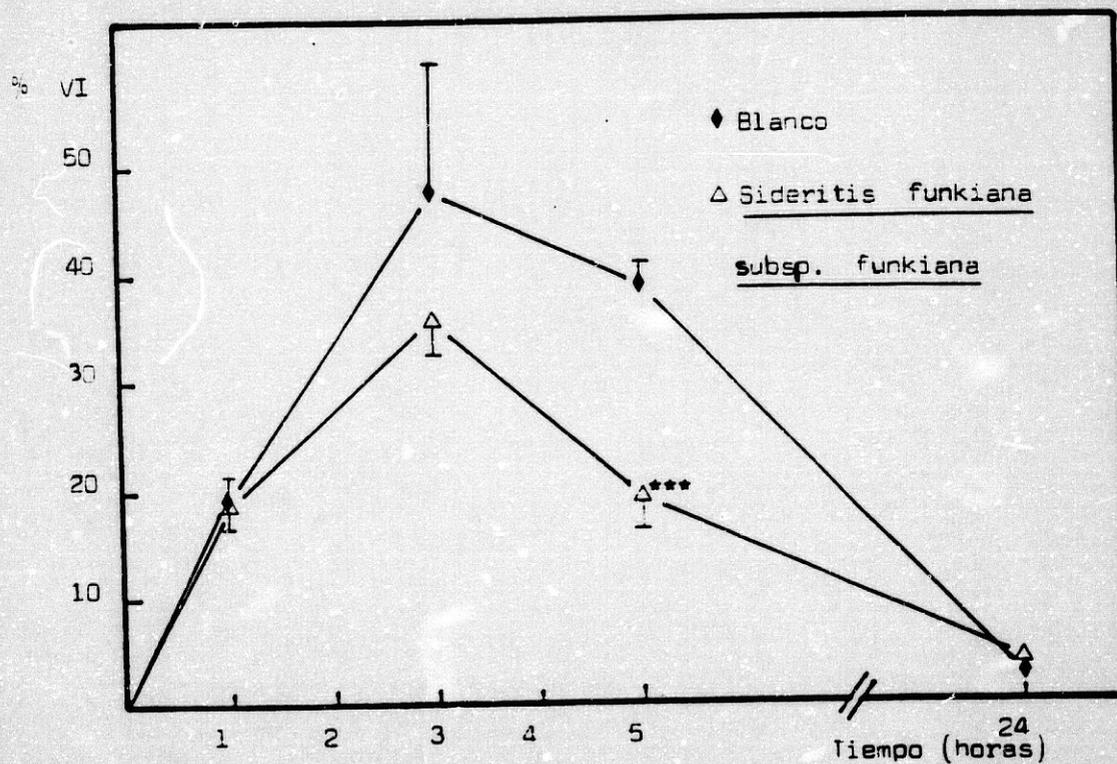
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Actividad antiinflamatoria frente a la inflamación
aguda de la S. FUNK. SUBSP. FUNKIANA. vía intraperitoneal

TABLA 5

Tiempo \ Muestra	1 h	3 h	5 h	24 h
Blanco	19,6 ± 2,4	47,3 ± 9	39,3 ± 1,8	2,6 ± 1,4
1 g/Kg	19,1 ± 1,7	35,7 ± 3,5	18,7 ± 2,7	4,1 ± 1,1

GRAFICA II



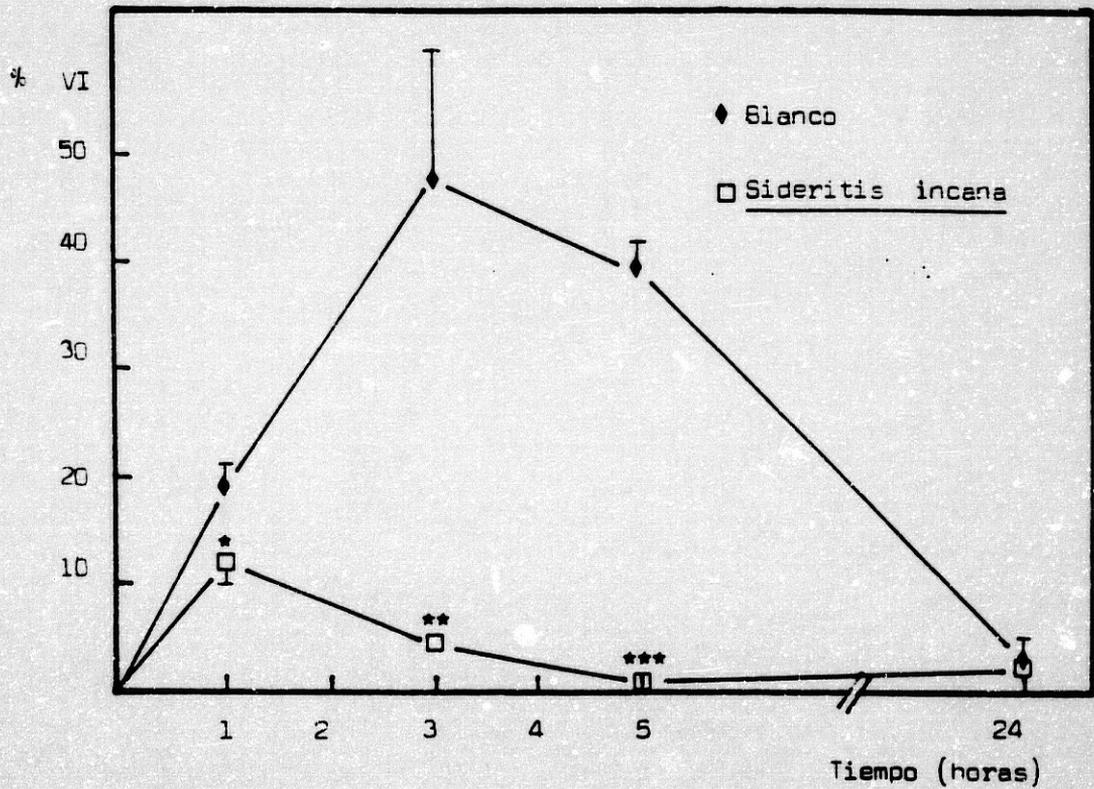
* p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001

Actividad antiinflamatoria frente a la inflamación
aguda de la SIDERITIS INCANA. Vía intraperitoneal

TABLA 6

Tiempo \ Muestra	1 h	3 h	5 h	24 h
Blanco	19,6 ± 2,4	47,9 ± 9	39,3 ± 1,8	2,6 ± 1,4
1 g/Kg	12,3 ± 1,2	4,4 ± 0,5	0,6 ± 0,6	2,3 ± 1,5

GRAFICA III

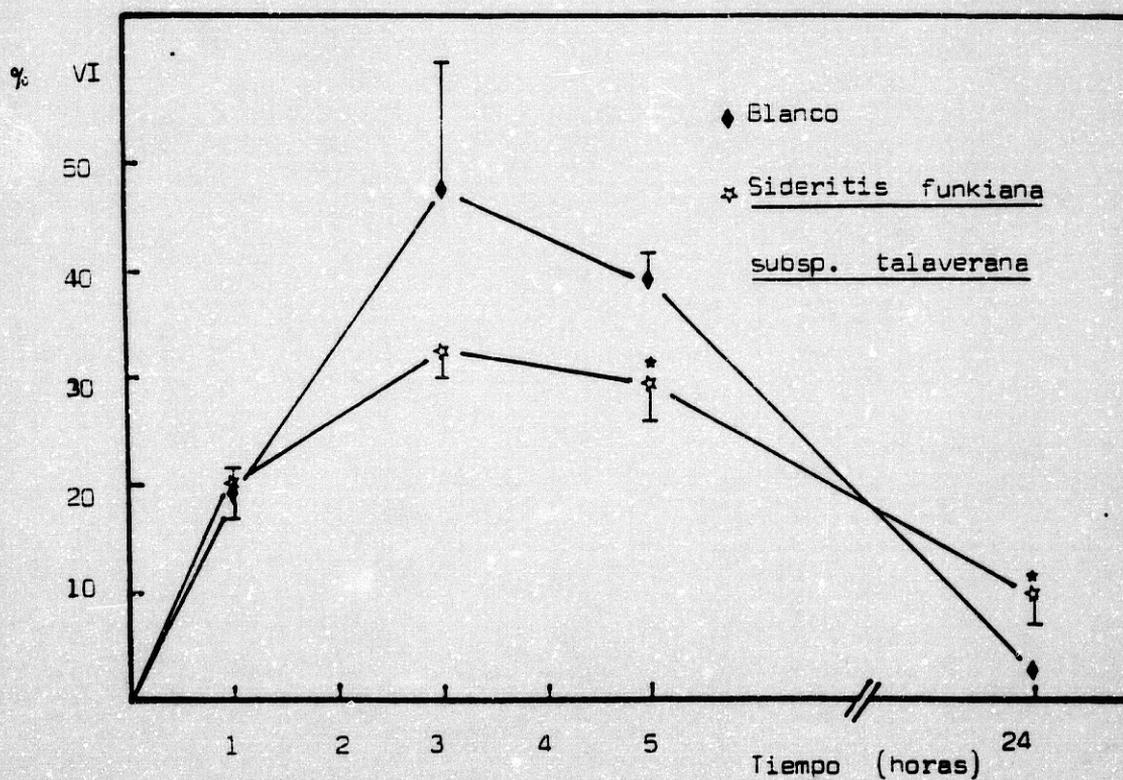


Actividad antiinflamatoria frente a la inflamación aguda de la S. FUNK. SUBSP. TALAVERANA. Vía intraperitoneal

TABLA 7

Tiempo Muestra	1 h	3 h	5 h	24 h
Blanco	19,6 ± 2,4	47,9 ± 9	39,3 ± 1,8	2,6 ± 1,4
1 g/Kg	20,7 ± 1,6	32,7 ± 2,5	29,5 ± 3,5	4,7 ± 2,4

GRAFICA IV



Estudio comparativo de la actividad antiinflamatoria
de diferentes SIDERITIS utilizadas. Vía intraperitoneal.

TABLA 8

		% Actividad antiinflamatoria			
		1 h	3 h	5 h	24 h
Muestra	Tiempo				
<u>Sideritis hirsuta</u>		0	42	47,5	-42,3
<u>S. funk. subsp. funkiana</u>		2,5	25,5	52,4	-57,7
<u>Sideritis incana</u>		37,2	90,8	98,5	11,5
<u>S. funk. subsp. talaverana</u>		-5,6	31,7	24,9	-80,7

III.1.1.1.b.- Discusión de resultados

Al comparar los distintos resultados obtenidos con las muestras en estudio, al administrarlas por vía intraperitoneal, (tablas 4, 5, 6, 7 y 8 y gráficas I, II, III, IV,) podemos resaltar los siguientes hechos:

- Todas las sumidades de SIDERITIS utilizadas han presentado actividad antiinflamatoria en alguno de los momentos que dura la experiencia, existiendo semejanzas pero también diferencias en cuanto a su comportamiento en relación al tiempo; en este sentido podemos señalar:

- . En la primera hora sólo ha presentado actividad la SIDERITIS INCANA.
- . En la tercera hora han sido activas las SIDERITIS INCANA e HIRSUTA.
- . En la quinta hora han manifestado actividad todas las muestras ensayadas, siendo además el momento en que han presentado mayor actividad tanto la SIDERITIS INCANA como la SIDERITIS HIRSUTA.
- . A las 24 horas desaparece la actividad

antiinflamatoria, siendo de destacar que los animales tratados con S. FUNK. SUBSP. FUNKIANA presentan mayor inflamación que el lote en blanco.

- Relacionando globalmente todos los resultados de actividad antiinflamatoria, podemos establecer el siguiente orden de potencia: (tabla 8)

SIDERITIS INCANA > SIDERITIS HIRSUTA > S. FUNK. SUBSP. FUNKIANA > S. FUNK. SUBSP. TALAVERANA

En esta técnica del edema por administración de carragenina en la pata de la rata, la inflamación observada en la primera hora se debe a la actuación de la histamina, y la presentada en la tercera y quinta horas a la presencia de prostaglandinas (74). Relacionando estos hechos con los resultados obtenidos por nosotros, podemos deducir que la actuación antiinflamatoria de nuestras muestras debe estar más relacionada con inhibición de la actuación de las prostaglandinas que de la histamina. Únicamente la SIDERITIS INCANA debe presentar también actividad frente a la histamina, ya que manifiesta acción antiinflamatoria significativa en la primera hora.

III.1.1.2.- Vía oral

III.1.1.2.a.- Acción antiinflamatoria

Los resultados se expresan como sigue:

<u>MUESTRAS</u>	<u>TABLAS</u>	<u>GRAFICAS</u>
SIDERITIS HIRSUTA	9	V
S. FUNK. SUBSP. FUNKIANA	10	VI
SIDERITIS INCANA	11	VII
S. FUNK. SUBSP. TALAVERANA	12	VIII

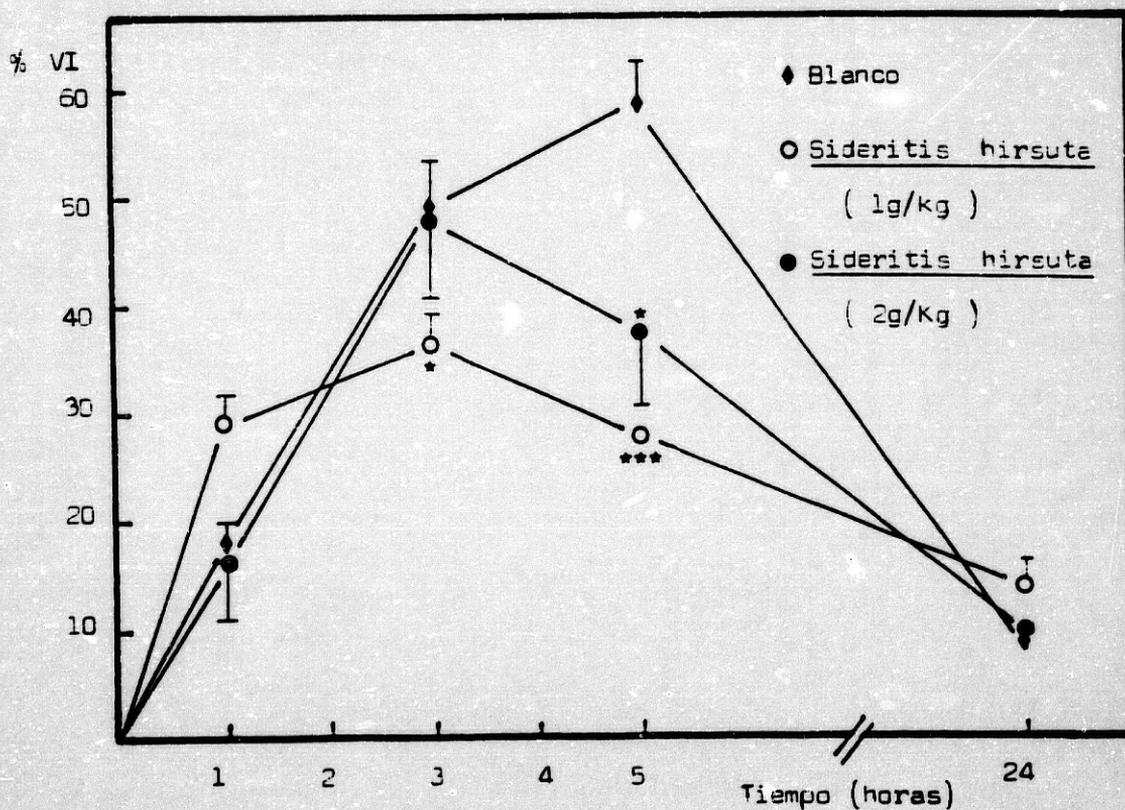
Las tablas 13 y 14 representan un estudio comparativo de las actividades antiinflamatorias de las diferentes muestras utilizadas.

Actividad antiinflamatoria frente a la inflamación
aguda de la SIDERITIS HIRSUTA. Vía oral

TABLA 9

Tiempo \ Muestra	1 h	3 h	5 h	24 h
Blanco	18,4 ± 2,2	49,5 ± 4,3	58,7 ± 3,9	8,8 ± 1,6
1 g/Kg	29,6 ± 2,5	36,8 ± 2,5	27,8 ± 0,5	13,9 ± 2,4
2 g/Kg	16,1 ± 4,6	48,1 ± 6,6	38,1 ± 7,2	9,8 ± 3,6

GRAFICA V

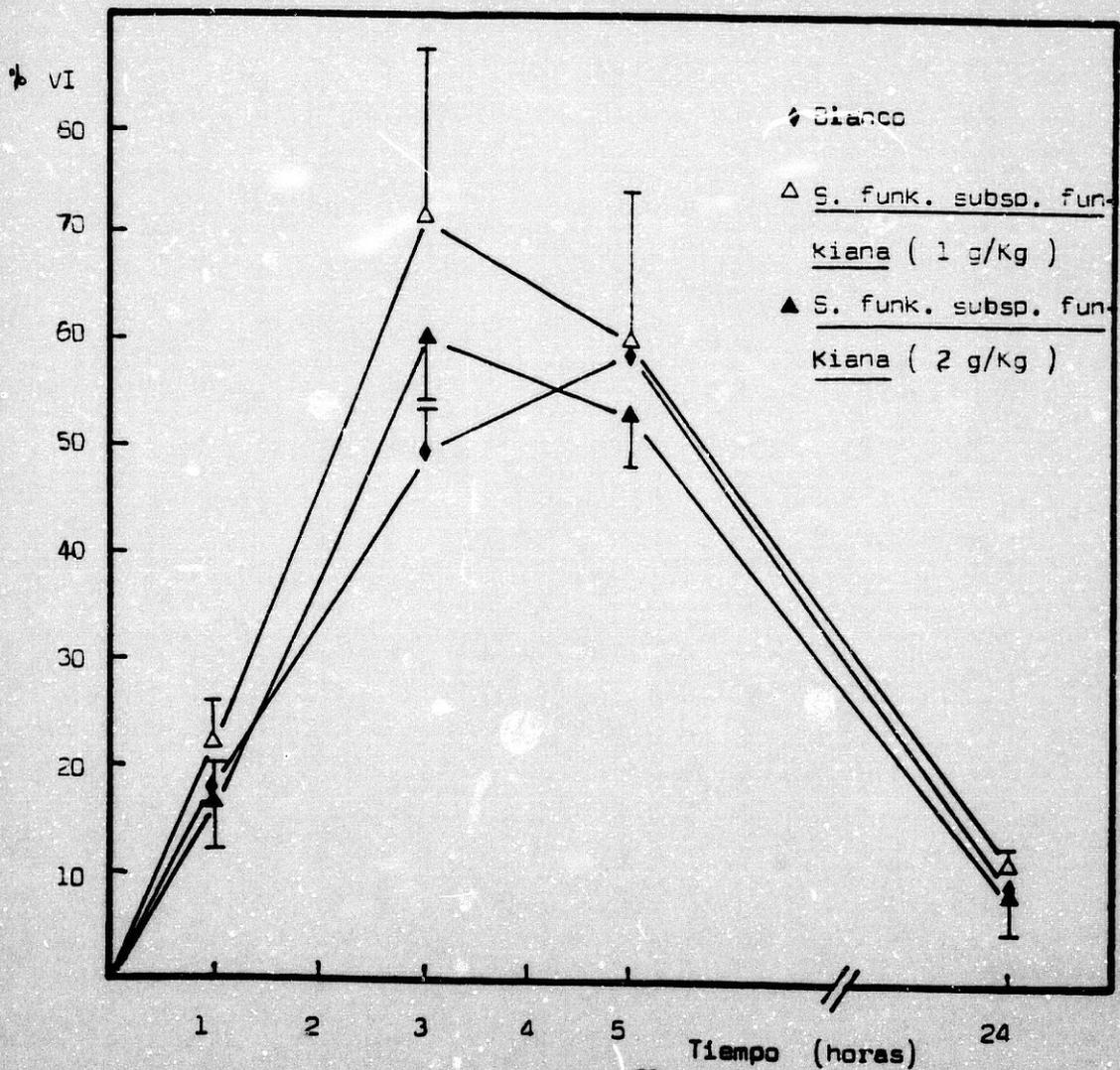


Actividad antiinflamatoria frente a la inflamación aguda de la S. FUNK. SUBSP. FUNKIANA. vía oral.

TABLA 10

Tiempo / Muestra	1 h	3 h	5 h	24 h
Blanco	18,4 ± 2,2	49,5 ± 4,3	58,7 ± 3,9	8,8 ± 1,6
1 g/Kg	22,2 ± 4,1	71,5 ± 16	59,5 ± 14	10,9 ± 0,8
2 g/Kg	16,6 ± 3,8	50 ± 5,8	52,8 ± 4,5	8,5 ± 2,6

GRAFICA VI

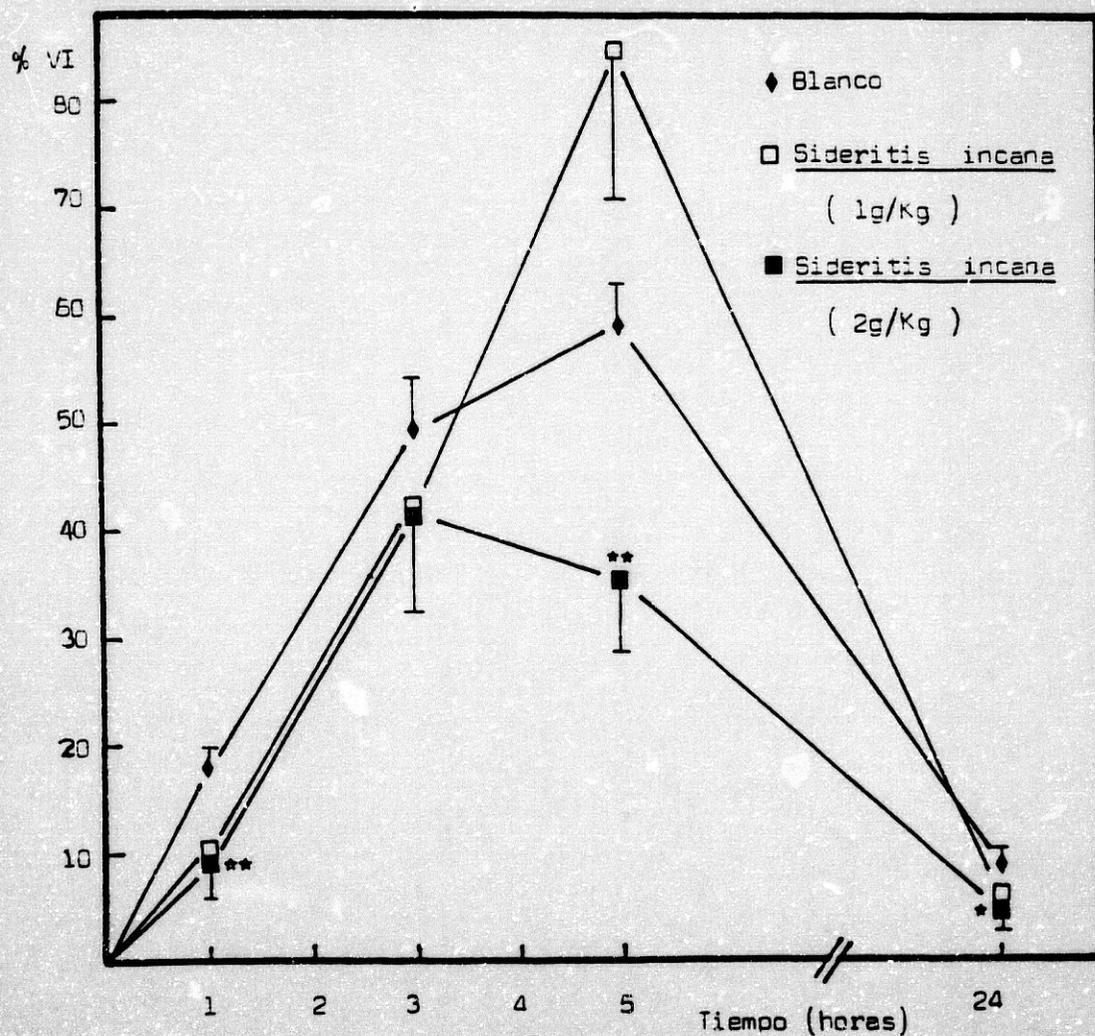


Actividad antiinflamatoria frente a la inflamación
aguda de la SIDERITIS INCANA. Vía oral

TABLA 11

Tiempo \ Muestra	1 h	3 h	5 h	24 h
Blanco	18,4 ± 2,2	49,5 ± 4,3	58,7 ± 3,9	8,8 ± 1,6
1 g/Kg	10,9 ± 4	42,1 ± 9,3	84,5 ± 14	5,5 ± 1,9
2 g/Kg	9,4 ± 1,8	41,8 ± 9,4	31,8 ± 7,2	4,2 ± 1,2

GRAFICA VII

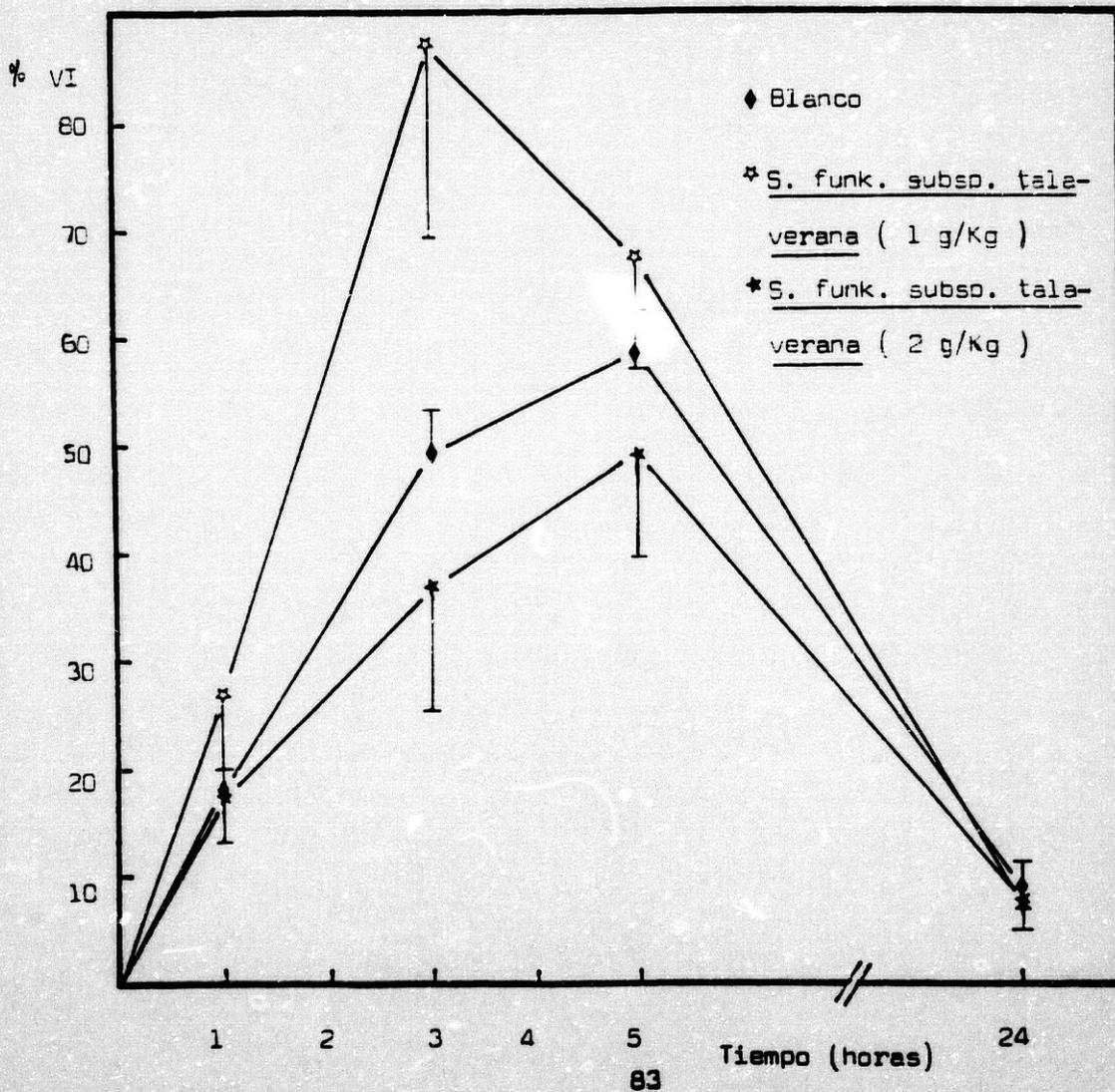


Actividad antiinflamatoria frente a la inflamación
aguda de la S. FUNK. SUBSP. TALAVERANA. Vía oral.

TABLA 12

Tiempo \ Muestra	1 h	3 h	5 h	24 h
Blanco	18,4 ± 2,2	49,5 ± 4,3	58,7 ± 3,9	8,8 ± 1,6
1 g/Kg	26,8 ± 6,9	87,4 ± 18	67,6 ± 9,9	7,4 ± 0,5
2 g/Kg	18,2 ± 4,1	35,8 ± 11	49,6 ± 9,7	8 ± 1,7

GRAFICA VIII



Estudio comparativo de la actividad antiinflamatoria

de las diferentes SIDERITIS utilizadas. Vía oral.

Dosis de 1 g/Kg.

TABLA 13

% Actividad antiinflamatoria

Muestra \ Tiempo	% Actividad antiinflamatoria			
	1 h	3 h	5 h	24 h
<u>Sideritis hirsuta</u>	-60,8	25,6	52,7	-58,7
<u>S. funk. subsp. funkiana</u>	-20,6	-44,4	-1,4	-23,8
<u>Sideritis incana</u>	40,7	14,9	-43,9	37,5
<u>S. funk. subsp. talaverana</u>	-45,6	-76,5	-15,2	15,9

Estudio comparativo de la actividad antiinflamatoria
de las diferentes SIDERITIS utilizadas. Vía oral.

Dosis de 2 g/Kg.

TABLA 14

		% Actividad antiinflamatoria			
Tiempo		1 h	3 h	5 h	24 h
Muestra					
<u>Sideritis hirsuta</u>		12,5	2,8	35,1	-11,4
<u>S. funk. subsp. funkiana</u>		9,8	-21,2	10	3,4
<u>Sideritis incana</u>		48,9	15,5	45,8	52,3
<u>S. funk. subsp. talaverana</u>		1,1	25,6	15,5	9,1

III.1.1.2.b.- Discusión de resultados

Los resultados obtenidos tras la administración de las distintas SIDERITIS, a dosis de 1g/Kg de droga total por vía oral (tablas 9, 10, 11, 12 y 13 y --- gráficas V, VI, VII, VIII) nos indican que sólo - la SIDERITIS HIRSUTA ha presentado actividad antiinfla- matoria tanto a las 3 como a las 5 horas de admi- nistrado el agente flogógeno. Sin embargo el resto - de las muestras utilizadas no han sido activas, e - incluso han presentado acción inflamatoria, especial- --- mente la SIDERITIS INCANA y la S. FUNK. SUBSP. TALAVERANA

Estos datos nos llevan a pensar que esta au- --- sencia de actividad pudiera deberse, bien a que los principios activos responsables de la actividad anti- --- inflamatoria fueran difícilmente absorbibles por vía -- oral, o bien que al administrarlos sólo 1 hora an- --- tes que la carragenina no hubiera alcanzado unos ni- veles plasmáticos suficientemente altos para presentar actividad.

De ahí que planteáramos otra experiencia en la que admistramos las distintas muestras 2 horas antes que la carragenina y a dosis doble (2g/Kg de peso).

Los resultados obtenidos (tablas 9, 10, 11, 12 y 14 y gráficas V, VI, VII, VIII) nos ponen de manifiesto que además de la SIDERITIS HIRSUTA, que sigue presentando actividad, aparece acción antiinflamatoria con la SIDERITIS INCANA. Por otra parte también se puede señalar que las otras dos muestras, si bien no han presentado actividad antiinflamatoria, tampoco son inflamatorias

III.1.1.3.- Discusión general de resultados

Relacionando globalmente los resultados obtenidos por las muestras en estudio, frente a la técnica -- escogida de inflamación aguda, al administrarlas oral e intraperitonealmente, podemos resaltar los siguientes hechos:

- Son mucho más activas las muestras administradas por vía intraperitoneal que por vía oral. Este hecho es lógico si tenemos en cuenta que en la administración oral pueden ocurrir una serie de -- procesos que hagan que los niveles plasmáticos de -- los principios activos sean menores, y por tanto no presentar actividad o bien ésta ser muy inferior.

- Las dos SIDERITIS que han presentado mayor actividad por ambas vías han sido la SIDERITIS INCANA y la SIDERITIS HIRSUTA.

- Teniendo en cuenta los procesos implica-- dos en la formación del edema en esta técnica de inflamación aguda, comentado anteriormente, y relacio-- nando estos hechos con los resultados obtenidos, pode-- mos deducir que el modo de actuación de las mues--

tras en estudio debe estar más relacionado con la -
inhibición de la actividad prostaglandínica, ya que -
todas han presentado su máxima actividad entre la --
tercera y quinta horas. Si bien en la SIDERITIS IN-
CANA, además deben estar implicados mecanismos inhibi-
dores de la histamina, al ser la única que presenta
actividad en la primera hora.

III.1.2.- FRENTE A LA INFLAMACION SUBCRONICA

III.1.2.1.- Acción antiinflamatoria

Los resultados se expresan como sigue:

<u>MUESTRAS</u>	<u>TABLAS</u>	<u>GRAFICAS</u>
SIDERITIS HIRSUTA	15	IX
S. FUNK. SUBSP. FUNKIANA	16	X
SIDERITIS INCANA	17	XI
S. FUNK. SUBSP. TALAVERANA	18	XII

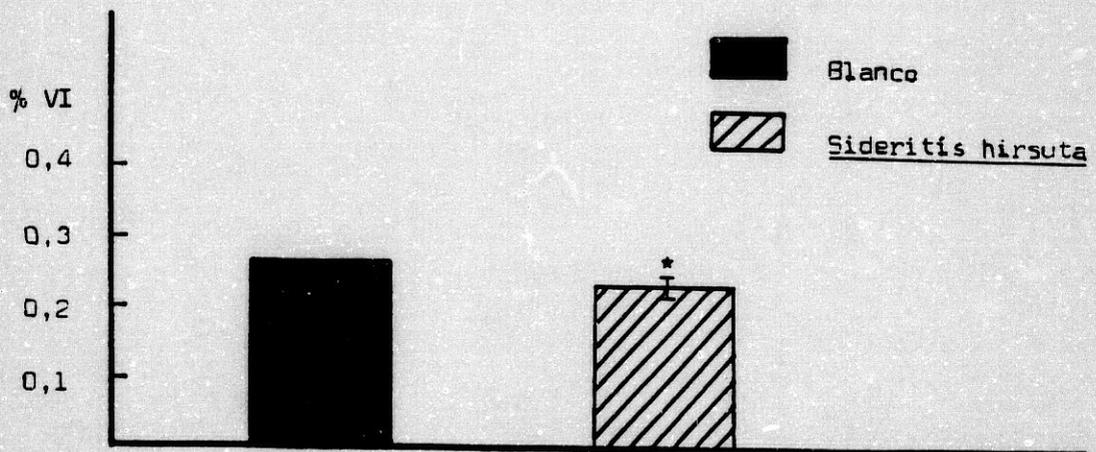
La tabla 19 representa un estudio comparativo de las actividades antiinflamatorias de las diferentes muestras utilizadas.

Actividad antiinflamatoria frente a la inflamación subcrónica de la SIDERITIS HIRSUTA.

TABLA 15

Muestra	Blanco	1 g/Kg
$\bar{x} \pm \epsilon$	$0,2638 \pm 0,005$	$0,239 \pm 0,007$

GRAFICA IX

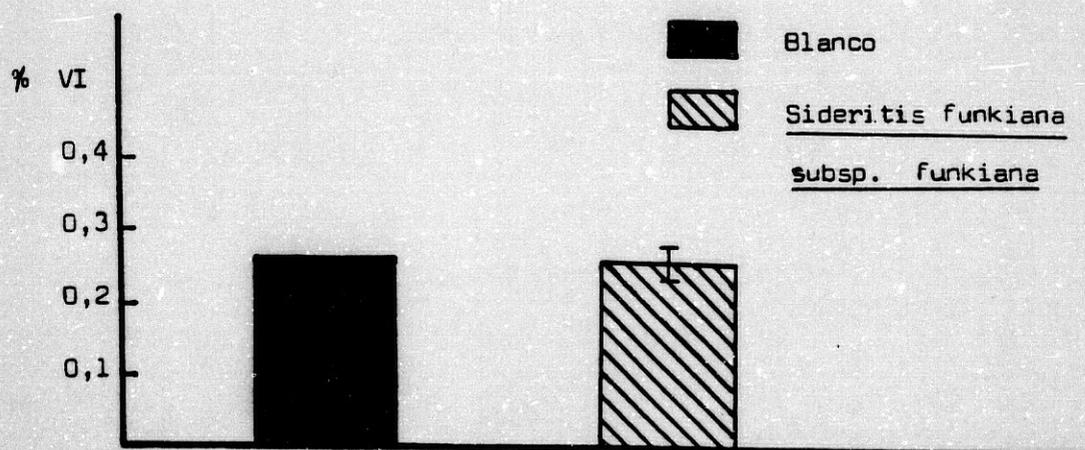


Actividad antiinflamatoria frente a la inflamación subcrónica de la SIDERITIS FUNKIANA SUBSP. FUNKIANA.

TABLA 16

Muestra	Blanco	1 g/Kg
$\bar{x} \pm \epsilon$	$0,2638 \pm 0,005$	$0,262 \pm 0,025$

GRAFICA X

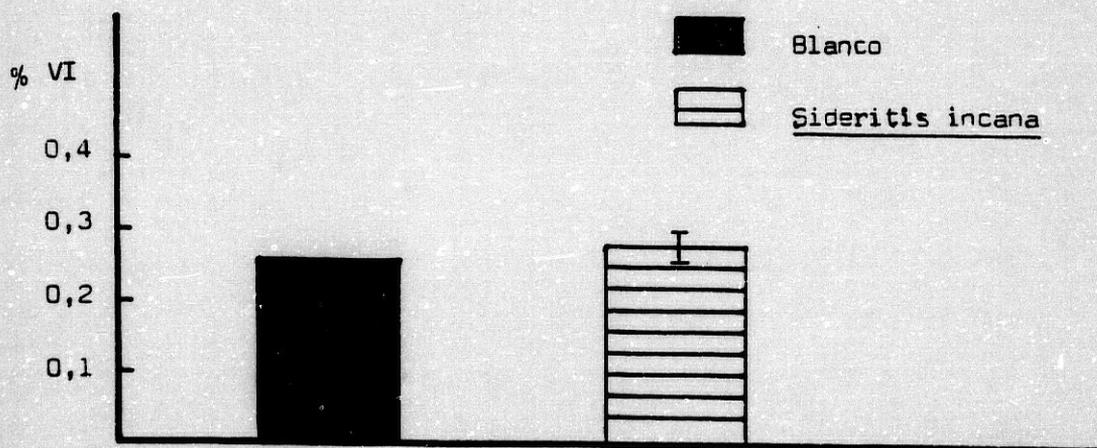


Actividad antiinflamatoria frente a la inflamación
subcrónica de la SIDERITIS INCANA.

TABLA 17

Muestra	Blanco	1 g/Kg
$\bar{x} \pm \epsilon$	$0,2638 \pm 0,005$	$0,2856 \pm 0,031$

GRAFICA XI

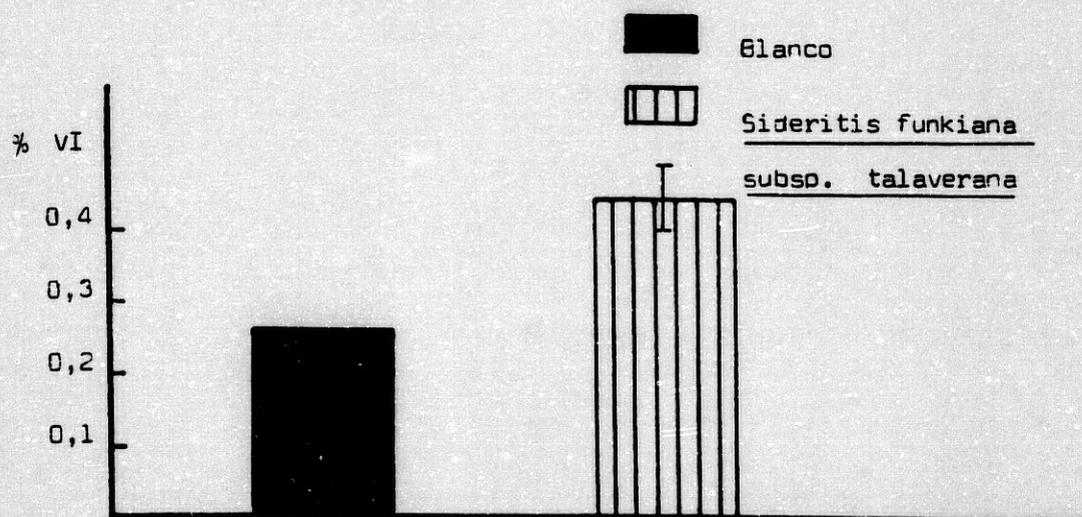


Actividad antiinflamatoria frente a la inflamación
subcrónica de la SIDERITIS FUNK. SUBSP. TALAVERANA.

TABLA 18

Muestra	Blanco	1 g/Kg
$\bar{x} \pm \xi$	$0,2638 \pm 0,005$	$0,446 \pm 0,042$

GRAFICA XII



Estudio comparativo de la actividad antiinflamatoria,
frente a la inflamación subcrónica, de las diferentes
SIDERITIS utilizadas.

TABLA 19

<u>MUESTRA</u>	<u>% AAI</u>
<u>Sideritis hirsuta</u>	9,4
<u>S. funk. subsp.</u> <u>funkiana</u>	0,7
<u>Sideritis incana</u>	-8,3
<u>S. funk. subsp.</u> <u>talaverana</u>	-69,1

III.1.2.2.- Discusión de resultados

De las diferentes muestras utilizadas sólo la SIDERITIS HIRSUTA ha presentado actividad antiinflamatoria frente a la técnica del granuloma, si bien esta actividad es muy inferior a la que presentaba frente a la técnica del edema plantar (9,17% y 52,69% respectivamente).

Respecto a las otras SIDERITIS utilizadas es de destacar el hecho de que la S. FUNK. SUBSP. TALAVERANA no sólo no ha sido activa, sino que manifiesta un claro efecto inflamatorio; hecho que guarda relación con los resultados obtenidos en la técnica de la inflamación aguda.

Relacionando globalmente todos los resultados obtenidos de actividad antiinflamatoria, con las diversas muestras utilizadas, podemos resumir que sólo la SIDERITIS HIRSUTA se ha manifestado activa en todas las experiencias realizadas.

ACTIVIDAD ANTIULCEROSA

III.2.- ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIULCEROSA

III.2.1.- FRENTE A LA ULCERA EXPERIMENTAL POR INDOMETACINA

III.2.1.1.- Acción antiulcerosa

Los resultados se expresan como sigue:

<u>MUESTRAS</u>	<u>TABLAS</u>	<u>GRAFICAS</u>
SIDERITIS HIRSUTA	20	XIII
S. FUNK. SUBSP. FUNKIANA	21	XIV
SIDERITIS INCANA	22	XV
S. FUNK. SUBSP. TALAVERANA	23	XVI

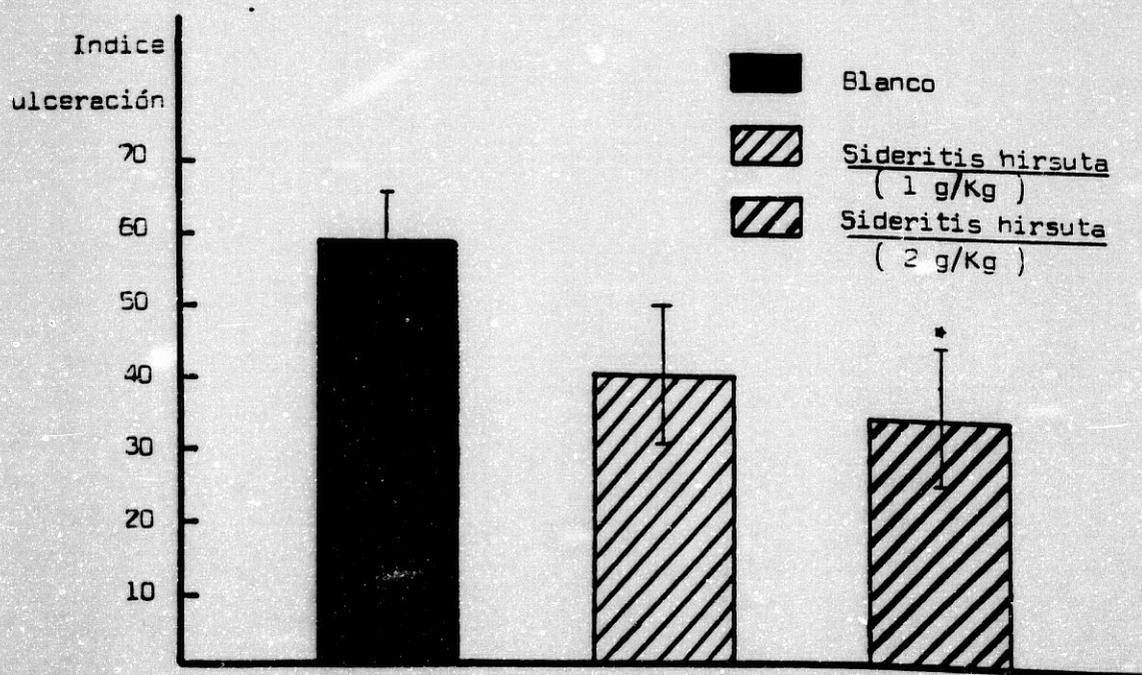
La tabla 24 representa un estudio comparativo -
de las actividades antiulcerosas de las diferentes --
muestras utilizadas.

Actividad antiulcerosa frente a la Úlcera experimental por indometacina de la SIDERITIS HIRSUTA.

TABLA 20

Muestra	Blanco	1 g/Kg	2 g/Kg
$\bar{x} \pm \epsilon$	58,8 \pm 7,5	40,3 \pm 9,6	34,5 \pm 9,9

GRAFICA XIII

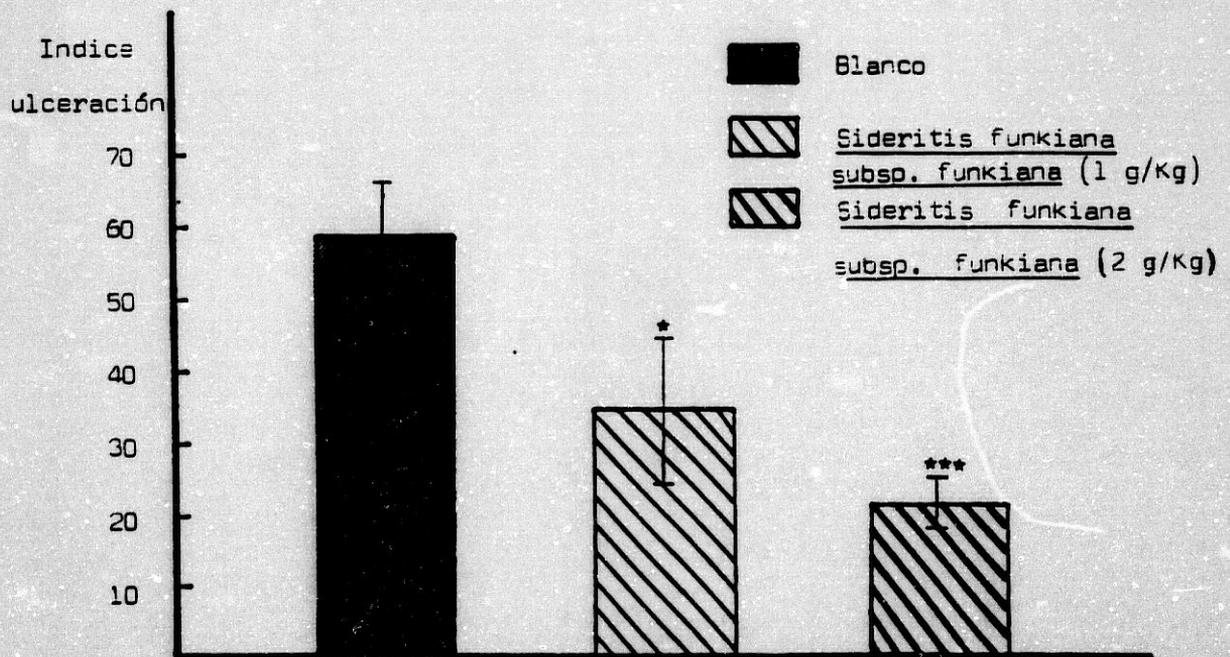


Actividad antiulcerosa frente a la úlcera experimental
por indometacina de la SIDERITIS FUNK. SUBSP. FUNKIANA

TABLA 21

Muestra	Blanco	1 g/Kg	2 g/Kg
$\bar{x} \pm \xi$	58,8 \pm 7,5	34,7 \pm 10	21,5 \pm 3,2

GRAFICA XIV

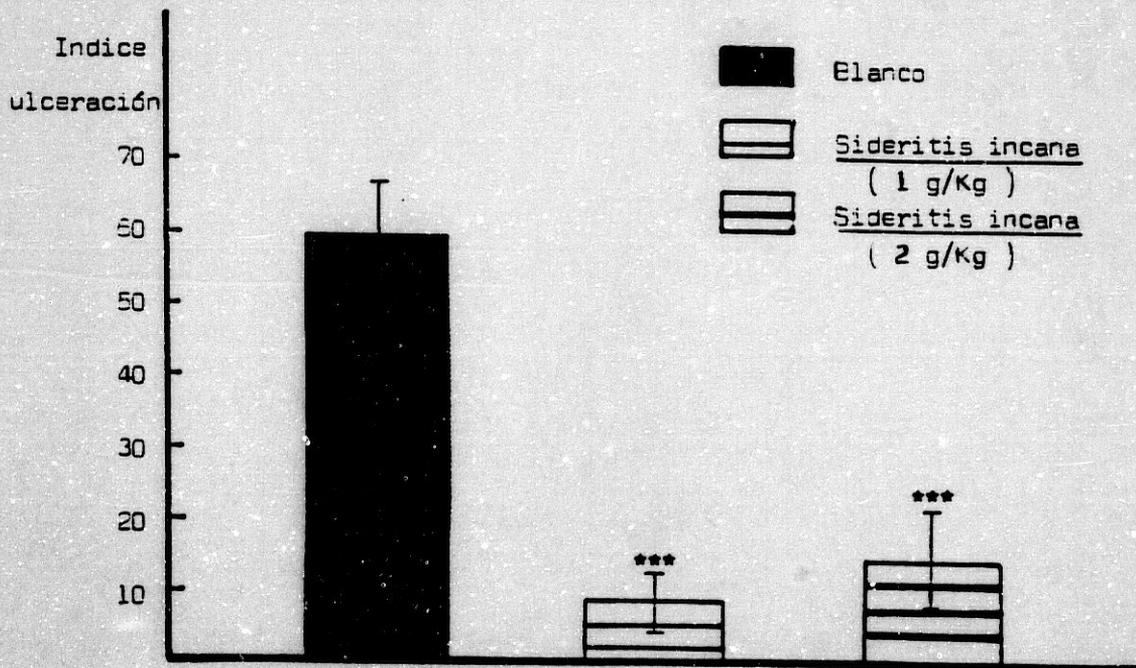


Actividad antiulcerosa frente a la úlcera experimental por indometacina de la SIDERITIS INCANA.

TABLA 22

Muestra	Blanco	1 g/Kg	2 g/Kg
$\bar{x} \pm \xi$	58,8 \pm 7,5	8 \pm 4	13,8 \pm 5,9

GRAFICA XV

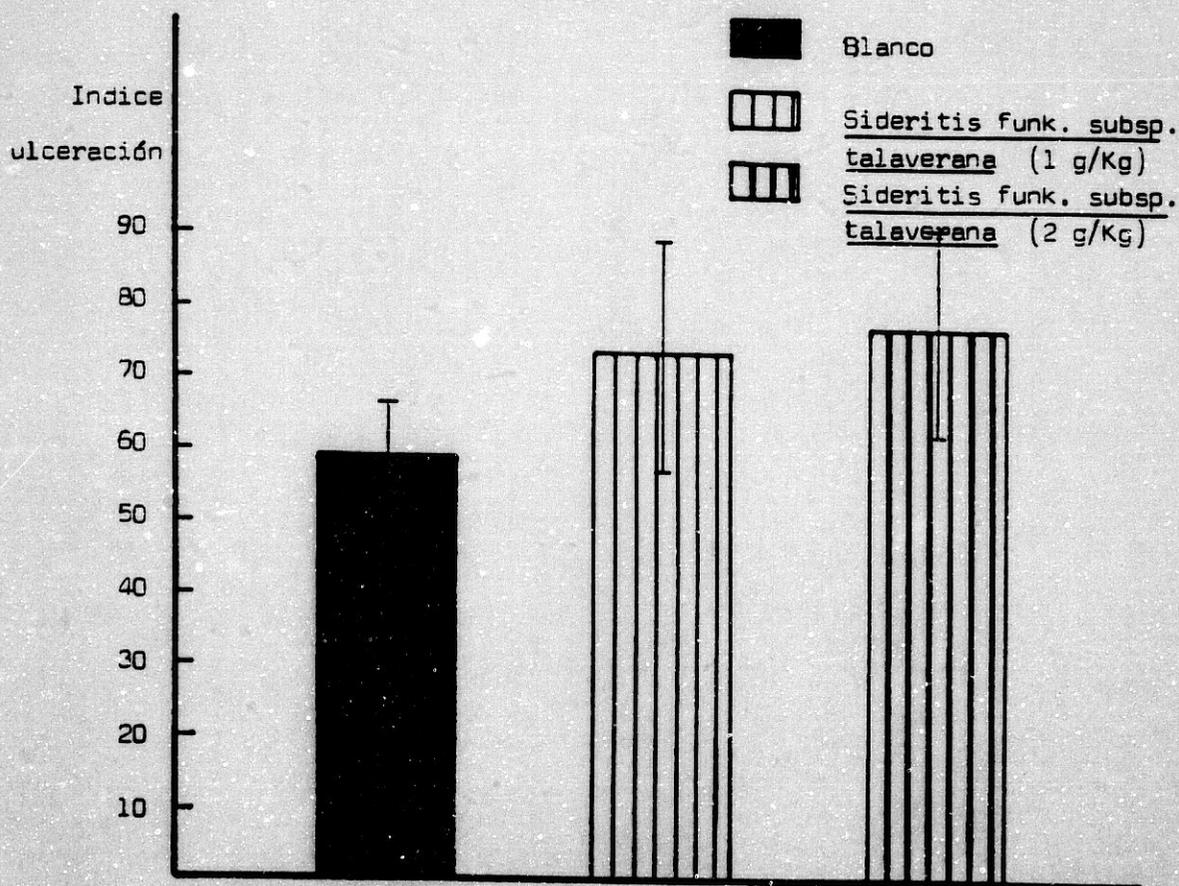


Actividad antiulcerosa frente a la úlcera experimental por indometacina de la S. FUNK. SUBSP. TALAVERANA.

TABLA 23

Muestra	Blanco	1 g/Kg	2 g/Kg
$\bar{x} \pm \xi$	58,8 \pm 7,5	73,5 \pm 16,2	77 \pm 13,9

GRAFICA XVI



Estudio comparativo de la actividad antiulcerosa, frente a la úlcera experimental por indometacina, de las diferentes SIDERITIS utilizadas.

TABLA 24

% Actividad antiulcerosa

Muestra	Dosis	
	1 g/Kg	2 g/Kg
<u>Sideritis hirsuta</u>	31,5	41,3
<u>S. funk. subsp. funkiana</u>	40,9	63,4
<u>Sideritis incana</u>	86,4	76,5
<u>S. funk. subsp. talaverana</u>	-25	-30,9

III.2.1.2.- Discusión de resultados

Los resultados obtenidos de actividad antiulcerosa frente a la técnica de ulceración por indometacina nos muestran que las diferentes SIDERITIS utilizadas han presentado actividad antiulcerosa, a excepción de la SIDERITIS FUNKIANA SUBSP. TALAVERANA.

Comparando la actividad antiulcerosa de las muestras activas, comprobamos que la SIDERITIS INCANA y la S. FUNK. SUBSP. FUNKIANA han sido activas a las dosis usadas, mientras la SIDERITIS HIRSUTA sólo ha mostrado actividad con la dosis más alta (2g/Kg de peso). Se puede establecer el siguiente orden de potencia antiulcerosa:

SIDERITIS INCANA > S. FUNK. SUBSP. FUNKIANA > SIDERITIS
HIRSUTA

III.2.2.- FRENTE A LA ULCERA EXPERIMENTAL POR
STRESS

III.2.2.1.- Acción antiulcerosa

Los resultados se expresan de la siguiente forma:

<u>MUESTRAS</u>	<u>TABLAS</u>	<u>GRAFICAS</u>
SIDERITIS HIRSUTA	25	XVII
S. FUNK. SUBSP. FUNKIANA	26	XVIII
SIDERITIS INCANA	27	XIX
S. FUNK. SUBSP. TALAVERANA	28	XX

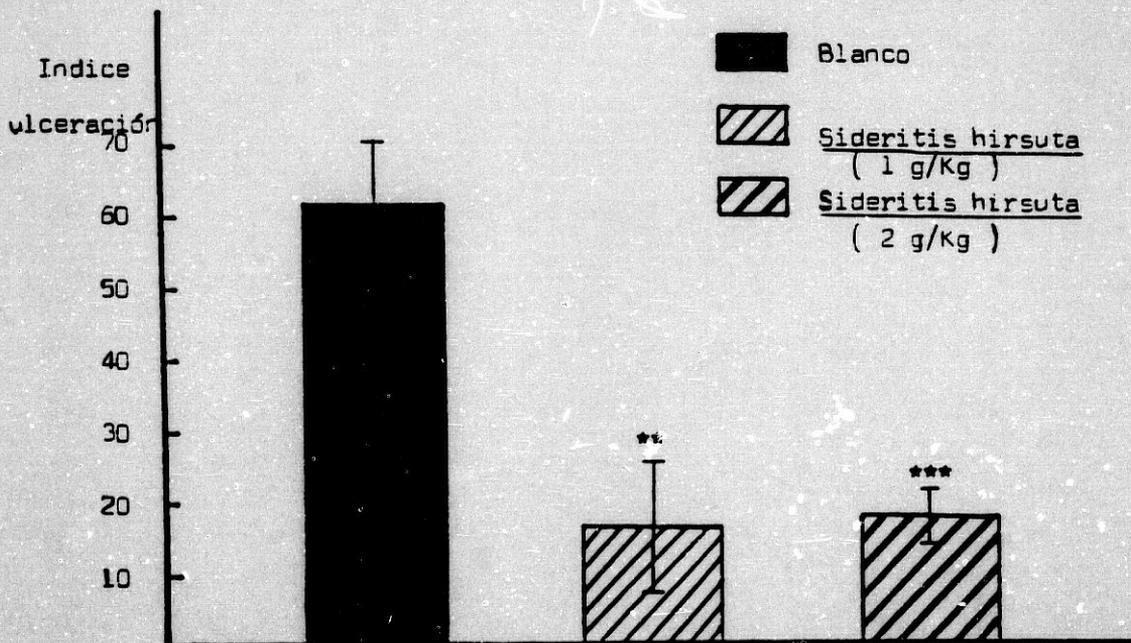
La tabla 29 representa un estudio comparativo de las actividades antiulcerosas de las diferentes muestras utilizadas.

Actividad antiulcerosa frente a la úlcera experimental por stress de la SIDERITIS HIRSUTA.

TABLA 25

Muestra	Blanco	1 g/Kg	2 g/Kg
$\bar{x} \pm \xi$	61,5 \pm 8,7	16,2 \pm 12	18,2 \pm 3,8

GRAFICA XVII

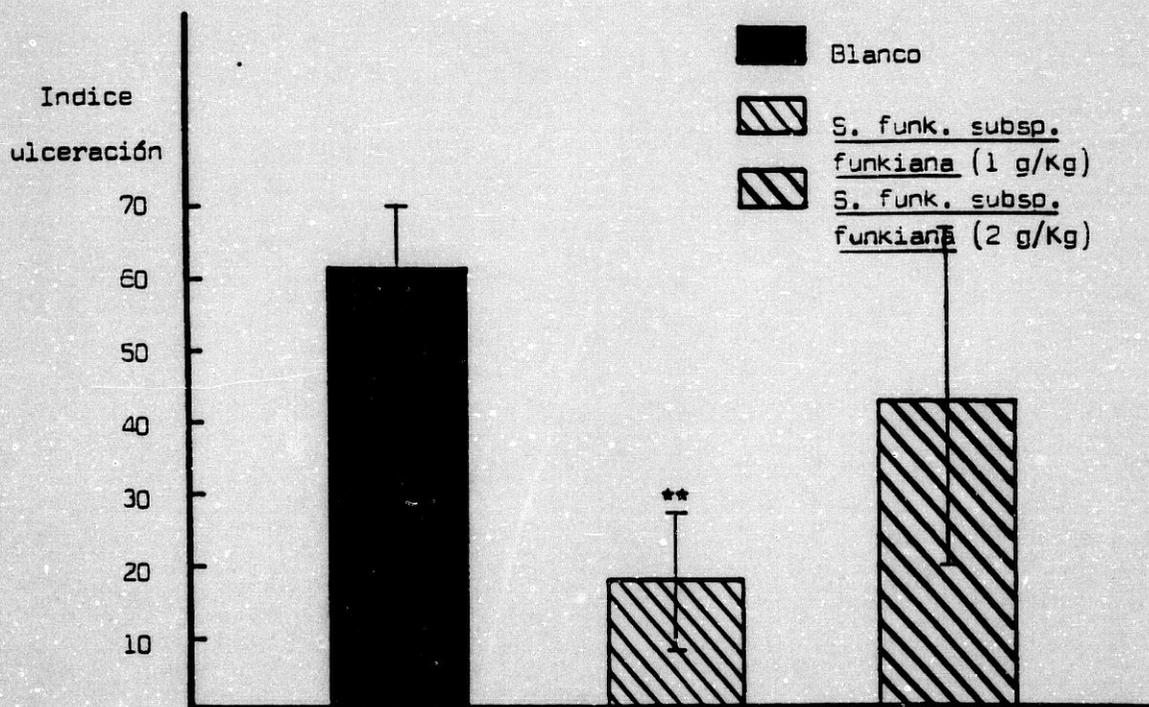


Actividad antiulcerosa frente a la úlcera experimental
por stress de la SIDERITIS FUNK. SUBSP. FUNKIANA.

TABLA 26

Muestra	Blanco	1 g/Kg	2 g/Kg
$\bar{x} \pm \xi$	61,5 \pm 8,7	18,2 \pm 9,3	43,3 \pm 23

GRAFICA XVIII

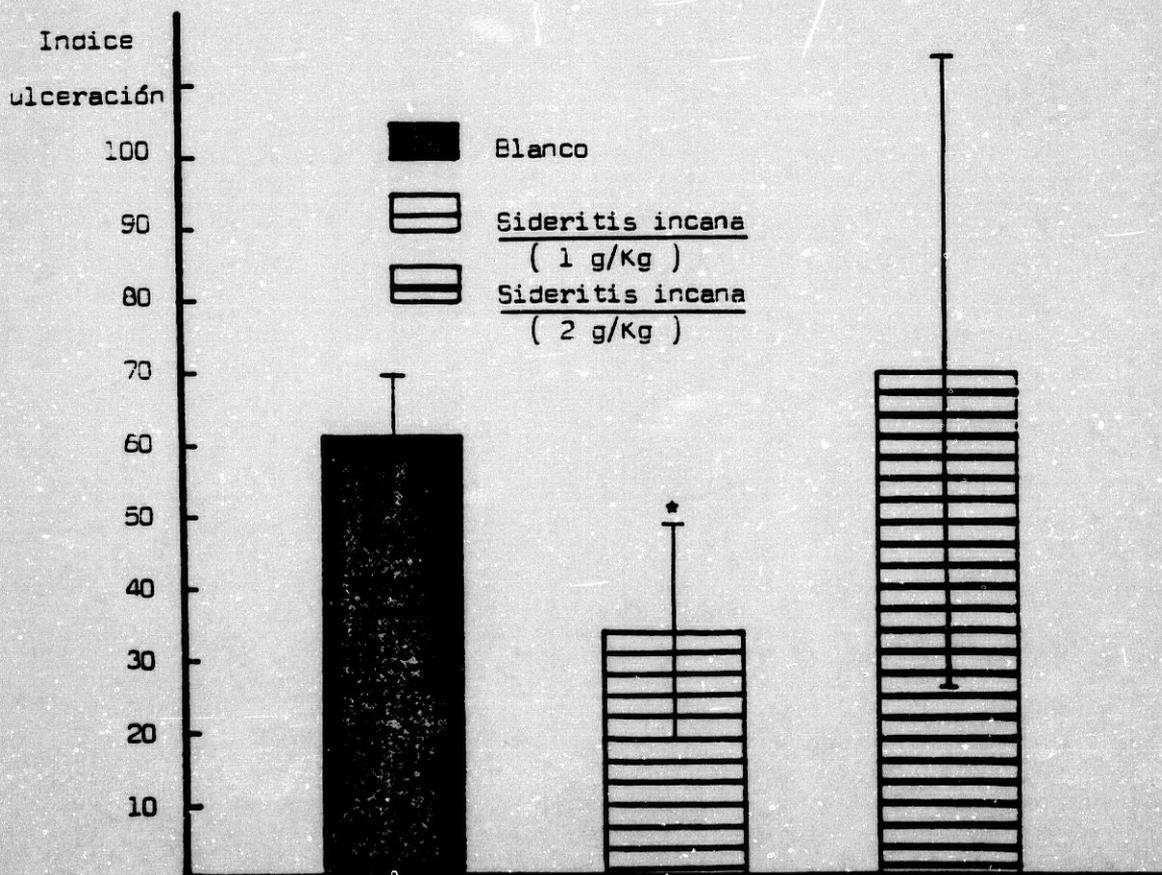


Actividad antiulcerosa frente a la úlcera experimental por stress de la SIDERITIS INCANA.

TABLA 27

Muestra	Blanco	1 g/Kg	2 g/Kg
$\bar{x} \pm \xi$	61,5 \pm 8,7	34,3 \pm 12	69,7 \pm 44

GRAFICA XIX

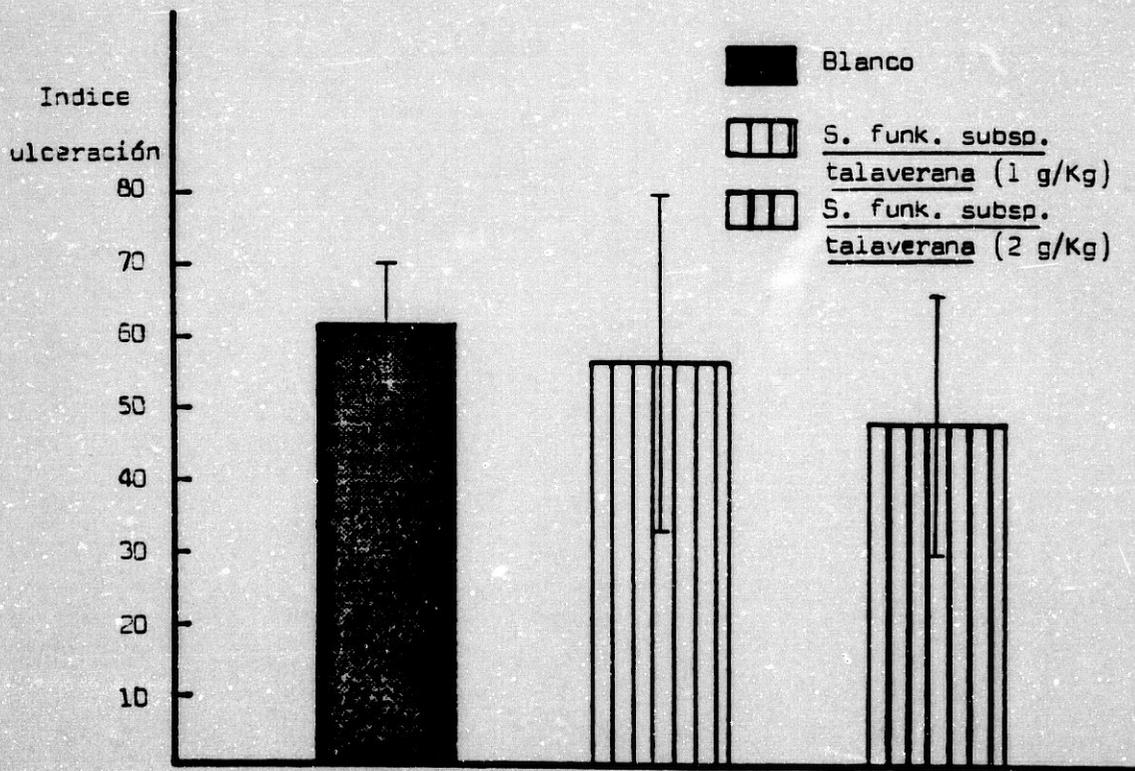


Actividad antiulcerosa frente a la úlcera experimental por stress de la SIDERITIS FUNKIANA SUBSP. TALAVERANA

TABLA 28

Muestra	Blanco	1 g/Kg	2 g/Kg
$\bar{x} \pm \xi$	61,5 \pm 8,7	56,6 \pm 23	48 \pm 18

GRAFICA XX



Estudio comparativo de la actividad antiulcerosa de
las diferentes SIDERITIS utilizadas frente a la úlce-
ra experimental por stress.

TABLA 29

% Actividad antiulcerosa

Muestra \ Dosis	1 g/Kg	2 g/Kg
<u>Sideritis hirsuta</u>	73,6	29,6
<u>Sideritis funkiana</u> subsp. funkiana	70,4	29,6
<u>Sideritis incana</u>	44,2	-13,3
<u>Sideritis funkiana</u> subsp. talaverana	7,9	21,9

III.2.2.2.- Discusión de resultados

A la vista de los resultados obtenidos se puede comprobar que, frente a la técnica de ulceración por stress, todas las muestras han presentado actividad, a excepción de la S. FUNK. SUBSP. TALAVERANA.

Se puede establecer el siguiente orden de potencia con las muestras que han presentado actividad:

SIDERITIS HIRSUTA > S. FUNK. SUBSP. FUNKIANA > SIDERITIS
INCANA

Por otra parte, también es importante señalar - el hecho de que han presentado mayor actividad las muestras cuando se administran a dosis de 1 g/Kg que a la de 2 g/Kg.

III.2.3.- DISCUSION GENERAL DE RESULTADOS

Relacionando globalmente los resultados de actividad antiulcerosa obtenidos por las diversas muestras en estudio, frente a las 2 técnicas de ulceración escogidas, podemos encontrar ciertas similitudes, pero también claras diferencias. En este sentido es de resaltar:

- Tanto la SIDERITIS INCANA, S. FUNK. SUBSP. FUNKIANA como la SIDERITIS HIRSUTA, han presentado actividad en mayor o menor medida frente a ambas técnicas de ulceración; si bien, el orden de potencia ha variado según el proceso productor de la úlcera, así cuando el agente ulcérigeno es la indometacina, es la SIDERITIS INCANA la más activa, mientras que cuando es el stress el origen de la misma, se muestra más activa la SIDERITIS HIRSUTA.

- Existe un gran paralelismo entre el comportamiento antiulceroso de la SIDERITIS INCANA y la S. FUNK. SUBSP. FUNKIANA, si bien es más activa la primera. En este sentido podemos comprobar como las dos muestras son más activas frente a la técnica por indo-

metacina que frente a la técnica por stress, e ---
igualmente se muestra más activa la dosis más baja
de las empleadas frente a esta última técnica.

- Por el contrario la SIDERITIS HIRSUTA --
presenta un comportamiento totalmente distinto, siendo
mucho más activa frente a la técnica por stress que
frente a la técnica por indometacina.

CONCLUSIONES

I.- BOTANICA

I.1.- Tras un análisis de los datos de tipo - morfológico, ecológico, fenológico y de distribución se identifican las distintas muestras recolectadas como:

- Sideritis hirsuta L.
- Sideritis incana L. var. virgata (Desf.) Font Quer
- Sideritis funkiana Willk. subsp. funkiana
- Sideritis funkiana Willk. subsp. talaverana Socorro & al.

I.2.- Los táxones estudiados quedan encuadrados en la sección Sideritis, que desde el punto de vista palinológico presenta un polen tipo tetracolpado, existiendo entre ellos diferencias en cuanto a caracteres morfológicos (P, E, Ex, D.I., P/E).

I.3.- Tras los estudios de polinización se comprueba que los distintos táxones se comportan como - entomófilos, siendo abejas y hormigas los polinizadores fundamentales.

I.4.- Se observa el fenómeno de la ginodioecia en los táxones estudiados, salvo en la Sideritis hirsuta.

II.- FARMACOQUIMICA

II.1.- Los siguientes grupos químicos son comunes en todos los táxones de Sideritis estudiados: esteroides, taninos catéquicos, flavonoides (flavonas), azúcares y esencias.

II.2.- En los distintos táxones de Sideritis anteriormente señalados, con la excepción de la Sideritis hirsuta, se detectan gomas y mucílagos.

II.3.- En la Sideritis incana se ponen de manifiesto compuestos antraquinónicos. En la Sideritis funkiana subsp. funkiana se detectan saponinas.

III.- FARMACODINAMIA

III.1.- Frente a la inflamación aguda todas las muestras en estudio poseen actividad antiinflamatoria por vía intraperitoneal. Por vía oral sólo son activas, en nuestras condiciones de trabajo, Sideritis hirsuta y Sideritis incana.

III.2.- Frente a la inflamación subcrónica sólo manifiesta actividad la Sideritis hirsuta.

III.3.- Presentan actividad antiulcerosa, frente a

las dos técnicas ensayadas : Sideritis hirsuta, Sideritis incana y Sideritis funkiana subsp. funkiana; no demostrando actividad la Sideritis funkiana subsp. talaverana.

III.4.- La Sideritis incana var. virgata y la Sideritis funkiana subsp. funkiana presentan mayor actividad antiulcerosa frente a la úlcera inducida por indometacina.

III.5.- La Sideritis hirsuta seguida de la Sideritis funkiana subsp. funkiana se muestran más activos como antiulcerosos en la úlcera originada por stress.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) - CRONQUIST, A. (1981). "An integrated system of classification of flowering plants." Columbia University Press New York.
- (2) - WILLDENOM, C. (1800). "Species Plantarum." ed. 4 (C. Linneo) 3 (1) p. 63. Berlini.
- (3) - BENTHAM, G. (1834). "Labiatarum Genera et Species." - London.
- (4) - BRIQUET, J.I. (1893), "Les Labiées des Alpes maritimes." Genève & Bale.
- (5) - WILLKOMM, M. (1868). "Labiatae, in M. WILLKOMM & J. - LANGE (eds.)." Prodomus Florae Hispaniae 2. Stuttgartiae
- (6) - FONT QUER, P. (1924). "Estudis sobre morfologia i nomenclatura de les Sideritis". Trab. Mus. Ci. Nat. Barcelona, 5, 3-35.
- (7) - MENDOZA-HEVER, I. (1977). "Datos comparativos acerca de especies mediterráneas y macaronésicas del género Sideritis L." Botánica Macaronésica. 3, 61-71.
- (8) - HUYNH, K.L. (1972). "Le pollen et la systematique

- du genre *Sideritis* L. (Labiatae)." Bull. Nation. Hist. -
Nat. 3^e ser. 45 Bot. 1, 1-28.
- (9) - FONT QUER, P. (1953). "Diccionario de Botánica". Ed.
Labor, p. 525.
- (10) - DARWIN, C. (1877). "The different forms of Flowers
on Plant of the some species". Murray, London.
- (11) - PEREZ DE PAZ, P. (1978). "Revision del género *Micro-*
meria Bentham en la región macaronésica." Inst. Est. -
Canarios. p. 43. La Laguna.
- (12) - IETSWAART, J.H. (1980). "A taxonomic revision of the
genus *Origanum* (Labiatae)." p. 14. Leidin University Press
- (13) - PAU, C. (1929). "Introducción al estudio de los tomi
llos españoles." Mem. Real Soc. Esp. Hist. Nat. 15,
65-71.
- (14) - RONNIGER, K. (1930). "Thymus L., in A. HAYEK (ed.),
Prodromus Florae Peninsulae Balcanicae, 2." Feddes Re-
pert., Beih. 30, 337-382.
- (15) - JALAS, J. (1972). "Thymus L., in T. TUTIN & al.(eds)"

Flora Europaea, 3, 172-182. Cambridge.

- (16) - VICIOSO, C. (1974). "Contribución al conocimiento de los tomillos españoles," ed. por J. RUIZ DEL CASTILLO. Anales Inst. Nac. Invest. Agrar. Ser. Recursos Nat. 1, 11-63.
- (17) - MALAGARRIGA, R. (1974). "Plantae Sennenianae V. Thymus L." Laboratorio Botánico Sennen. p.3.
- (18) - DOMMEE, B.; ASSOUAN, M.W. & VALDEYRON, G. (1978). "Natural selection and gynodioecy in Thymus vulgaris L" Bot. J. Linn. Soc. 17, 17-28.
- (19) - FRITZSCHE, J. (1837). "Über den pollen". Mem. Sav. — Etrang. Acad. Sc. St. Petersburg, 649-672.
- (20) - RISCH, C. (1956). "Die Pollenkörner der in Deutschland vor kommenden Labiatem." Verhandl. Bot. Vereins Brand. 80, 21-36.
- (22) - ERDTMAN, G. (1945). "Pollen morphology and plan taxonomy. IV. Labiatae, Verbenaceae and Avicenniaceae" Svensk. Botanisk Tidskrift. Bd. 39, H.3, 279-285.
- (21) - LEITNER, J. von (1942). "Ein Beitrag zur kenntnis der

- pollenkörner der Labiatae. Osterr. Bot. Zeitschr. 91,
29-40.
- (23) - WUNDERLICH, R. (1967). "Ein Vorschlag zu einer natür-
lichen gliederung der Labiatae auf grund der pollen-
körner, der samenentwicklung und des reifen samens."
Osterr.Bot. Zeitschr. 114, 383-483.
- (24) - EL - GAZZAR, A. & L. WATSON (1968). "Labiatae: Taxonomy
and suceptibility to Puccinia menthae Pers." New Phy-
tologist, 67, 739-743.
- (25) - ERDTMAN, G. (1969). "Handbook of Palynology." Munksgaard
Copenhagen.
- (26) - SOCORRO, O; L. CANO & M.C. ESPINAR. (1988). Contribu-
ción a la tipificación de las especies del género -
Sideritis (Labiatae)." Acta Bot. Malacitana (en prensa).
- (27) - FONT QUER, P. (1926). "Notas sobre algunas Sideritis
dos herbarios de Coimbra". Broteria (Bot.) 22, 93-96.
- (28) - RIVAS GODDY, S. & S. RIVAS MARTINEZ (1967). "Matorra-
les y tomillares de la Península Ibérica comprendidos
en la clase Ononido-Rosmarinetea". Br.-Bl. Anal. Inst.
Bot. Cavanilles, 25, 5-197. Madrid.

- (29) - LOPEZ GOMEZ, M.A.; MARQUEZ, C.; RABANAT, R.M.; VALVERDE, S. "Sideritis hirsuta diterpenes, carbon - 13 - NMR study of the ent - 15 - kaurane and ent - 16 - kaurane derivatives". An. Quim. 75, 911-915 (1979)
- (30) - CABRERA, E.; GARCIA-GRANADOS, A.; SAENZ DE BURUAGA, A.; SAENZ DE BURUAGA, J.M. "Terpenic components of Sideritis hirsuta subsp. nivalis". Phytochemistry 22, 2779-2781 (1983)
- (31) - GARCIA, G.; PARRA, A.; PENA, A.; VALVERDE, S. "Terpenoid components of Sideritis labiata. III. Funkiol and sidofunkiol, two minor products of Sideritis funkiana Willk". An. Quim. Ser. C. 75, 178-179 (1980)
- (32) - FRAGA, B.M.; HERNANDEZ, M.G.; FERNANDEZ, C.; ARTEAGA, J.M. "Diterpenes from Sideritis dendrodrahorra and Sideritis cystosiphon". Phytochemistry 26, 775-777 (1987)
- (33) - RODRIGUEZ, B. "Diterpenes from Sideritis incana L. ssp. virgata Desf.". An. Quim. 74, 157 (1978)
- (34) - FERNANDEZ, C.; FRAGA, B.M.; HERNANDEZ, M.G. "Diterpenes from Sideritis infernalis". Phytochemistry 25, 2573-2576 (1986)

- (35)- GARCIA - GRANADOS, A.; SAENZ DE BURUAGA, J.M.; SOCORRO, O. "Terpenic components of Spanish Labiatae. XII. Diterpenes of *Sideritis locaitae* Font Quer, *Sideritis almeriense* Pau, *Sideritis granatensis* (Pau) Font Quer ssp. *nijarensis* O. Socorro and I. Tarrega, *Sideritis zafrae* O. Socorro and *Sideritis leucantha* Cav. var. *incana* -- Font Quer". An. Quim. Ser. C. 79, 460 - 461 (1983).
- (36)- BARBERAN, F.A.T.; MANEZ, S.; VILLAR, A. "Identification of antiinflammatory agents from *Sideritis* species growing in Spain". Nat. Prod. 50, 313 - 314 (1987).
- (37)- VILLAR, A.; GASCO, M.A.; ALCARAZ, M.J.; MANEZ, S.; - CORTES, D. "Hypoletin - 8 - O - glucoside, an antiinflammatory flavonoid from *Sideritis mugronensis*". Planta Med. (1) 70 (1987).
- (38)- VILLAR, A.; JIMENEZ, A.; MANEZ, S. "HPLC of *Sideritis* polymethoxyflavones". Pharmazie 40, 731 (1985).
- (39)- BARBERAN, F.A.T.; NUÑEZ, T. "HPLC study of flavones from some Spanish *Sideritis* species". Phytochemistry 24, 1285 - 1286 (1985).

- (40) - VILLAR, A.; ESPLUGUES, J.; ALCARAZ, M.J. "Acute anti-inflammatory activity of *Sideritis mugronensis* flavonoid". Arch. Farmacol. Toxicol. 8, 99-106 (1982).
- (41) - VILLAR, A.; GASCO, M.A.; ALCARAZ, M.J. "Antiinflammatory and antiulcer properties of hypoletin - 8 - glucoside, a novel plant flavonoid" J. Pharmacol. 36, 820 - 823 (1984).
- (42) - BARBERAN, F.A.T.; MANEZ, S.; VILLAR, A. "Identification of antiinflammatory agents from *Sideritis* especies growing in Spain". J. Nat. Prod. 50, 313 - 314 (1987).
- (43) - SANCHEZ CARAVACA, M.A. "Contribución al estudio de drogas con flavonoides. *Helianthemum cinereum* Pers". Tesis Doct., Univ. Granada, 1981, p. 99 - 106.
- (44) - MIRO JODRAL, M. "Screening fitoquímico en plantas superiores. Detección de la actividad antiinflamatoria y antimicrobiana". Tesis Doct., Univ. Granada, 1981.
- (45) - GARCIA PEREZ, S. "Farmacología comparativa de antiinflamatorios aril-alcanoicos". Tesis Doct., Granada 1982 p. 38.

- (46) - GARCIA PEREZ, S. "Farmacología comparativa de antiin-
flamatorios aril-alcanoicos". Tesis Doct., Granada, 1982
p. 38.
- (47) - DOMENJOZ, R. "Pharmakotherapeutische weiterentwicklung
der antipyretica-antalgetica". Naunyn - Schmiedebergs Arch.
Pharmakol. Exp. Pathol. 225, 14 (1955)
- (48) - GONZALEZ MARTINEZ, A. "Antiinflamatorios: Actividad --
comparativa de salicil-salicílico (salsalato)". Tesina.
Granada, 1983, p. 116.
- (49) - BROWNLEE, G. "Effect of deoxycortone and ascorbic -
acid on formaldehyde-induced arthritis in normal and
adrenalectomised rats". Lancet, 1, 157 (1950).
- (50) - GARCIA PEREZ, S. "Farmacología comparativa de antiin-
flamatorios aril-alcanoicos". Tesis Doct., Granada, 1982,
p. 39.
- (51) - GARCIA PEREZ, S. "Farmacología comparativa de antiin-
flamatorios aril-alcanoicos". Tesis Doct., Granada, 1982,
p. 40.
- (52) - WINTER, C.A.; RISLEY, E.A.; NUSS, G.N. "Carrageenin-

-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs". Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111, 544 (1962).

(53) - GARCIA PEREZ, S. "Farmacología comparativa de antiinflamatorios aril-alcanoicos". Tesis Doct., Granada, 1982, p. 61.

(54) - SELYE, H. "On the mechanism through which hydrocortisone affects the resistance of tissues to injury. An experimental study with the granuloma pouch technique". J. Amer. Med. Ass. 152, 1207 (1953).

(55) - GARCIA PEREZ, S. "Farmacología comparativa de antiinflamatorios aril-alcanoicos". Tesis Doct., Granada, 1982, p. 63.

- (56) - LEONARD, J.R. y LEVI, G. "Gastrointestinal blood loss during prolonged aspirin administration". New England - J. Med., 289, 1020 (1973).
- (57) - COOKE, A.R. "The role of acid in the pathogenesis of aspirin - induced gastrointestinal erosion and hemo---rrhage". Amer. J. Dig. Dis., 18, 225 (1973).
- (58) - LEVY, M. "Aspirin use in patient with major upper - gastrointestinal bleeding and peptic - ulcer disease". New England J. Med. 290, 1158 (1974).
- (59) - WHITE NHOUSE, M.W. "Some biochemical and pharmacological properties of antiinflammatory". Prog. Drug. Resch. 8, 301 (1965).
- (60) - ROBIN, P.G. "Gastrointestinal erosions and the lack - of inflammatory response". J. Pharm. Pharmacol. 32, 307 (1980).
- (61) - EZER, E. y SZPORNY, L. "Comparison of the effects - of sodium salicylate with antiulcer agents in preven---ting indometacin - induced intestinal ulcer". J. Pharm. Pharmacol. 33, 250 (1981).

- (62) - SEEGERS, A.J.M.; JAGGER, L.P. y VAN NOORDIJK, J. "Gastric erosions induced by analgesic drug mixtures in the rat". J. Pharm. Pharmacol. 30, 84 (1978).
- (63) - ALONSO, S.; ARMIJO, M. y PIÑA, M. "Estudio experimental comparativo de la toxicidad aguda y tolerancia gástrica del eterilato, benosilato y ácido acetil-salicílico". Arch. de Farmacol. y Toxicol. 4, 349 (1978).
- (64) - GARCIA RAFANELL, J.; BELLES, L.; SANCHEZ, M.S. y FORN, J. "Estudio farmacológico y bioquímico de un nuevo analgésico narcótico: fosfosol (UR - 152)". Arch. Farmacol. y Toxicol. 2, 13 (1981).
- (65) - DEL CORONA, L.; PELEGATTA, C.; BURAN, V. y MASSAROLI, G. "Derivatives of 2 - imidazolylthioacetic acid". Boll. Arim. Form. 118, 661 (1979). A través de J.P.A. 17 (14), 173423 (1980).
- (66) - FRANCO - BROWDER, S.; MASSON, S.M.C. y CORCORAN, A.C. "Induction of acute gastric lesions by histamine liberators in rats". J. Allagy. 39, 1 (1959).
- (67) - GUPIA, M.B.; TANGRI, K.K. y BHARGAVA, K.P. "Mechanism of reserpine in albino rats". Eur. J. Pharmac. 27, --

269 (1974).

- (68) - OKABE, S.; TAKEUCHI, K. y TAKATA, Y. "Effects of -- quinea pig". *Digestion* 14, 325 (1976).
- (69) - BRODIE, D.A. y HANSON, H.M. "A study of the factor involved in the production of gastric ulcers by the - vestraind tecdmique". *Gastroenterology* 38, 353 (1960).
- (70) - HAYDEN, L.J.; THOMAS, G. y WEST, G.B. "Inhibition of gastric lesions in the rat". *Pharm. Pharmacol.* 30, 244 (1978).
- (71) - BRODIE, D.A.; LOFTI, B. y BAVER, T. "Drug effects - on gastric secretion and stress gastric hemmorrhage in the rat". *Emer. J. Dig. Dis.* 15, 111 (1970).
- (72) - ALCARAZ RUIZ, M. "Estudio sobre fármacos con activi-- dad antiulcerosa". Tesina. Granada, 1987, p. 53.
- (73) - GALVEZ, J. "Fármacos activos sobre receptores muscarí- nicos: Métodos de estudio". Tesina, Granada, 1986, p.122.
- (74) - ORTS, A.; VILLA, J. (1981). Antitérmicos analgésicos. - En ESPLUGUES, J. *Perspectivas Terapéuticas*, 2ª ed. Vol. V, Ed. Fundación García Muñoz, p. 428.