

**VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD  
ANTIINFLAMATORIA DE CINCO  
ESPECIES VEGETALES UTILI-  
ZADAS EN MEDICINA TRADI-  
CIONAL EN EL NORTE DE  
ÁFRICA.**

*Anacyclus pyrethrum*  
*Armeria alliacea*  
*Asphodelus ramosus*  
*Capparis spinosa*  
*Rhaponticum acaule*

por  
**M. Ester Risco Rodríguez.**

*"Pensaba también en los nombres de las hierbas y se los repetía una y otra vez, como buscando en ellos el sonido de viejas historias y, lo que cada planta, entrando por los ojos, había dicho en la vida y en el corazón de los hombres..."*

(R. Sánchez Ferlosio, Industrias y andanzas de Alfanhú.)

La Medicina Tradicional se basa principalmente en la utilización de drogas vegetales. El presente estudio es etnofarmacológico. Se estudian cinco plantas, cinco plantas de entre las que se usan para tratar patologías que cursan con inflamación.

<b>INDICE.-</b>	3
<b>I.- VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA</b>	6
<b>II.1.- EDEMA INDUCIDO POR ÁCIDO ARAQUIDÓNICO         EN LA OREJA DE RATÓN.</b>	10
<b>II.2.- EDEMA INDUCIDO POR CARRAGENINA EN LA         REGIÓN SUBPLANTAR DE LA RATA.</b>	12
<b>III.- ESPECIES VEGETALES SELECCIONADAS</b>	18
<b>III.1.- Anacyclus pyrethrum</b>	19
<b>III.2.- Armeria alliacea</b>	21
<b>III.3.- Asphodelus ramosus</b>	23
<b>III.4.- Capparis spinosa</b>	28
<b>III.5.- Rhaponticum acaule</b>	30
<b>IV.- OBTENCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL</b>	32
<b>V.- ELABORACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES</b>	32
<b>VI.- PROTOCOLO DE LOS MÉTODOS EXPERIMENTALES</b>	35
<b>VI.1.- EDEMA INDUCIDO POR ÁCIDO ARAQUIDÓNICO         EN LA OREJA DE RATÓN</b>	35
<b>VI.2.- EDEMA INDUCIDO POR CARRAGENINA EN LA         REGIÓN SUPPLANTAR DE LA RATA</b>	37
<b>VII.- RESULTADOS</b>	40
<b>VII.1.- RESULTADOS DEL MODELO DEL EDEMA         INDUCIDO POR ÁC. ARAQUIDÓNICO.</b>	41
<b>VII.2.- RESULTADOS DEL MODELO DEL EDEMA         INDUCIDO POR CARRAGENINA</b>	42
<b>VIII.- DISCUSIÓN</b>	48
<b>IX.- CONCLUSIONES</b>	56
<b>X.- BIBLIOGRAFÍA</b>	59

## I.- INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO.

El presente escrito se refiere a un trabajo de investigación que se decidió para aportar algo más de claridad y un poco de apoyo científico a la Medicina Tradicional (dentro de la modestia que puede tener una Tesina de Licenciatura). Así pues, se persigue la confirmación de la acción terapéutica de plantas que han formado parte de la herencia y tradición médica de diferentes culturas. Pero dentro de sus extensos límites, éste no es más que un pequeño estudio que dirige sus miradas hacia poblaciones norteafricanas, concretamente, el país escogido como punto de inicio ha sido Marruecos.

El **OBJETIVO** principal se resume en una selección de especies, según criterio etnofarmacológico, y en la valoración de su actividad antiinflamatoria por métodos experimentales *in vivo*. Con ello se pretende verificar esta actividad bajo criterios científicos que nos lleven a separar de ellas las más activas, que continuarán en estudio para llegar, en último término, al aislamiento de las sustancias activas responsables de la acción. De este modo, y en el extremo final de esta búsqueda, estaría la incorporación en la medicina occidental de nuevas plantas medicinales desconocidas hasta ahora o no verificadas científicamente, y de gran interés terapéutico, o directamente la introducción de nuevos principios activos. Los modelos de valoración seleccionados son dos: el modelo del edema inducido por ácido araquidónico en oreja de ratón y el modelo del edema inducido por carragenina en la región subplantar de la rata. Con ambas metodologías conseguimos un amplio espectro de valoración, que es uno de los objetivos perseguidos para extractos vegetales, ya que nos encontramos en unas pruebas muy iniciales del seguimiento farmacológico. Además, con ellas se necesita poca cantidad de extracto para valorar. Y, por último, son pruebas *in vivo* al no tener conocimiento del mecanismo de acción.

La proximidad geográfica de España con el Norte de África, hace posible que especies africanas, con las que se comercializa y de las que se hace uso en la terapéutica indígena, también muestren su presencia en tierras de nuestro país, hecho que abre más las puertas para desvelar sus "secretos", que en la Medicina moderna no son más que los compuestos responsables de la actividad y el mecanismo por el que actúan.

La historia del uso de las plantas con fines medicinales es tan antigua como la de la humanidad. En el continente africano, la utilización de plantas, para uso externo o interno, ocupa el mayor porcentaje dentro de la medicina. El tratamiento de las heridas con decocciones preparadas a partir de hojas, cortezas y raíces ocurre diariamente en regiones de África, y la población conoce estas aplicaciones de la generación anterior.

Por consiguiente, es indudable que el uso de las plantas hiciera de éstas el primer protagonista en la historia de la Medicina.

Por citar un ejemplo entre todos los tesoros históricos que se poseen, conocemos que, hacia 1975, salió a la luz un descubrimiento arqueológico insólito: el hallazgo de una gruta en el sur de Asia, habitada hace 60.000 años por el hombre de Neanderthal, que dejó grabado en sus paredes rocosas un auténtico herbario, compuesto de plantas, de hojas y de frutos, reconocido actualmente como medicinal.

En nuestros días, aumenta la tendencia en reconocer las propiedades curativas de las plantas, y se progresa hacia la pérdida de la creencia que su acción se basa totalmente en la fe y en la ilusión puesta en los "curanderos" por quienes los visitan, (aunque sea indudable que el estado anímico y emocional del paciente colabore en la progresión de una enfermedad).

La utilización de las plantas medicinales constituye actualmente uno de los temas de mayor impacto social, como lo prueban las abundantes publicaciones, libros y revistas, notándose una mayor afluencia a los brujos, curanderos y fitoterapeutas, así como un aumento en el número de herboristerías. Sin embargo, en ocasiones, y por desgracia, se confunden la verdadera utilidad con la charlatanería, observándose una desviación peligrosa hacia ideas extremistas sobre la necesidad del apellido de natural para todo medicamento, y ser motivo de rechazo todo aquello que provenga de una elaboración en el laboratorio.

La **MEDICINA TRADICIONAL** se puede definir como la combinación de conocimientos y prácticas, ya sean explicables o no, usadas en diagnóstico, prevención o curación de enfermedades físicas, mentales o sociales, que pueden basarse exclusivamente en la experiencia pasada y en la observación, transmitida de generación en generación, verbalmente o por escrito [Sofowora, 1984].

En este trabajo como ya se comentó, se delimita el estudio de la Medicina Tradicional en áreas del Norte de África. En general, África es un continente enorme y muy variado, con algunas floras únicas, habitado por miles

de tribus locales distintas. Existen aún grandes y viables culturas que, a diferencia de otras partes del mundo, resisten la intromisión de influencias externas.

La práctica de un comercio de drogas vegetales es habitual, de hecho, algunos países africanos tienen una División o Departamento de Medicina Tradicional, usualmente agregado al Ministerio de Salud, [Sofowora, 1984].

En África, al igual que en todas las zonas caracterizadas por ser económicamente poco desarrolladas, predomina la práctica de la Medicina Tradicional. Y es obvio, ya que es más barata y mucho más accesible para la mayoría de las personas. Por otra parte, goza de una mayor aceptabilidad entre la población de estos países. Pero lo que es más obvio, es el resurgimiento de la etnomedicina, de la etnobotánica y de la etnofarmacología. La Medicina Tradicional nos ofrece, ciertamente, ventajas destacables para que los centros de investigación de países más desarrollados se preocupen por conocerla: interesa su potencial para ofrecer nuevos fármacos o productos para la hemisíntesis de nuevos fármacos. Esta Medicina es un sistema de siglos de conocimientos y experiencias y, normalmente, este uso durante años asegura la obtención de sustancias bien toleradas por el organismo, minimizándose la posibilidad de producir efectos no deseados.

Y nuestro objetivo, que se centraba en la búsqueda de agentes antiinflamatorios, no será cubierto si no va acompañado de una proporción favorable entre la actividad farmacológica y los efectos secundarios.

Además, en África, la Medicina Tradicional está reconocida dentro de la cultura. En algunos pueblos los "curanderos" tradicionales gozan del reconocimiento más importante de entre los trabajadores dedicados a la salud primaria.

**MÉTODOS DE VALORACIÓN  
DE LA ACTIVIDAD  
ANTIINFLAMATORIA.**

## II.- VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA.-

El proceso inflamatorio implica una serie de hechos que pueden ser provocados por numerosos estímulos (por ejemplo, agentes infecciosos, isquemia, interacciones antígeno-anticuerpo y lesiones térmicas u otras físicas). A nivel macroscópico, la respuesta suele estar acompañada por los signos clínicos de eritema, edema, hipersensibilidad (hiperalgesia) y dolor. Las respuestas inflamatorias se producen en tres fases características, cada una de las cuales parece estar mediada por mecanismos diferentes: 1) una fase aguda transitoria que se caracteriza por vasodilatación local y aumento de la permeabilidad capilar, 2) una fase subaguda, retardada, cuya característica prominente es la infiltración por leucocitos y fagocitos y 3) una fase crónica, proliferativa, en la que se produce degeneración tisular y fibrosis.

En las pruebas experimentales que se realizan en este trabajo, únicamente se estudia la actividad inhibitoria de cinco drogas vegetales, en un proceso de inflamación agudo.

Seguidamente, se hace referencia al metabolismo del ácido araquidónico. Los productos que se sintetizan en esta vía metabólica, ciertamente, colaboran en los síntomas y signos de la inflamación. Además, el conocimiento de dicho metabolismo es necesario para la interpretación de los resultados obtenidos en los experimentos.

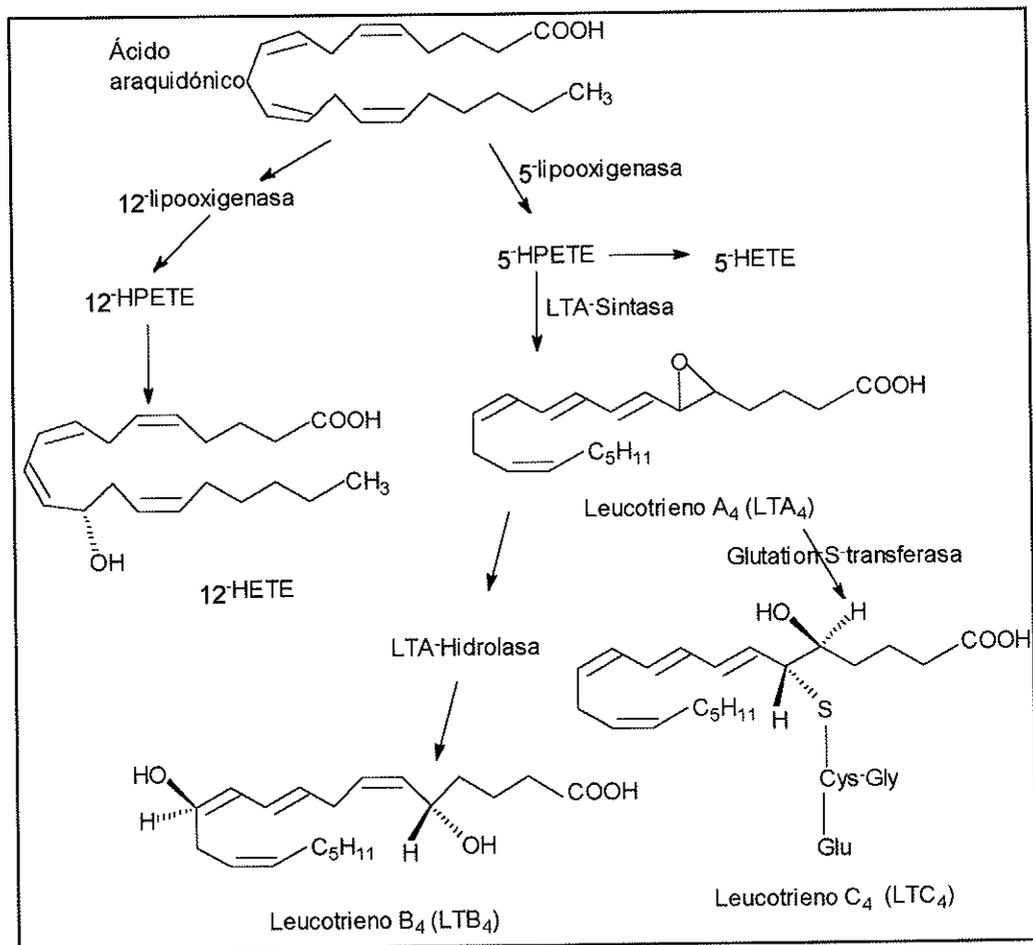
El ácido araquidónico es un compuesto biológico que constituye el precursor más abundante para la formación de eicosanoides (compuestos que intervienen directamente en el proceso inflamatorio). Deriva del ácido linoleico de la dieta o es ingerido como un constituyente de ella. El metabolismo del ácido araquidónico presenta dos vías principales: la vía de la ciclooxigenasa y la vía de la lipooxigenasa. La vía de la lipooxigenasa produce 12-HPETE, 12-HETE, 5-HPETE y leucotrienos; la vía de la ciclooxigenasa produce las endoperoxidasas cíclicas (PGG y PGH) y productos metabólicos como prostaglandinas y tromboxanos.

Las prostaglandinas (PG) y los leucotrienos (LT) se liberan en respuesta a una cantidad de agresiones mecánicas, térmicas, químicas, bacterianas y otras, contribuyendo en forma importante a la génesis de los signos y síntomas de la inflamación (Moncada y col., 1978; Samuelsson, 1983; Davis y col., 1984).

Las **lipooxigenasas** son una familia de enzimas citosólicos que catalizan la oxigenación de los ácidos grasos poliénicos a los hidroperóxidos lipídicos correspondientes (Samuelsson, 1983; Needleman y col., 1986; Yamamoto, 1989). El ácido araquidónico es metabolizado a diversos productos con el grupo hidroperoxi en posiciones diferentes.

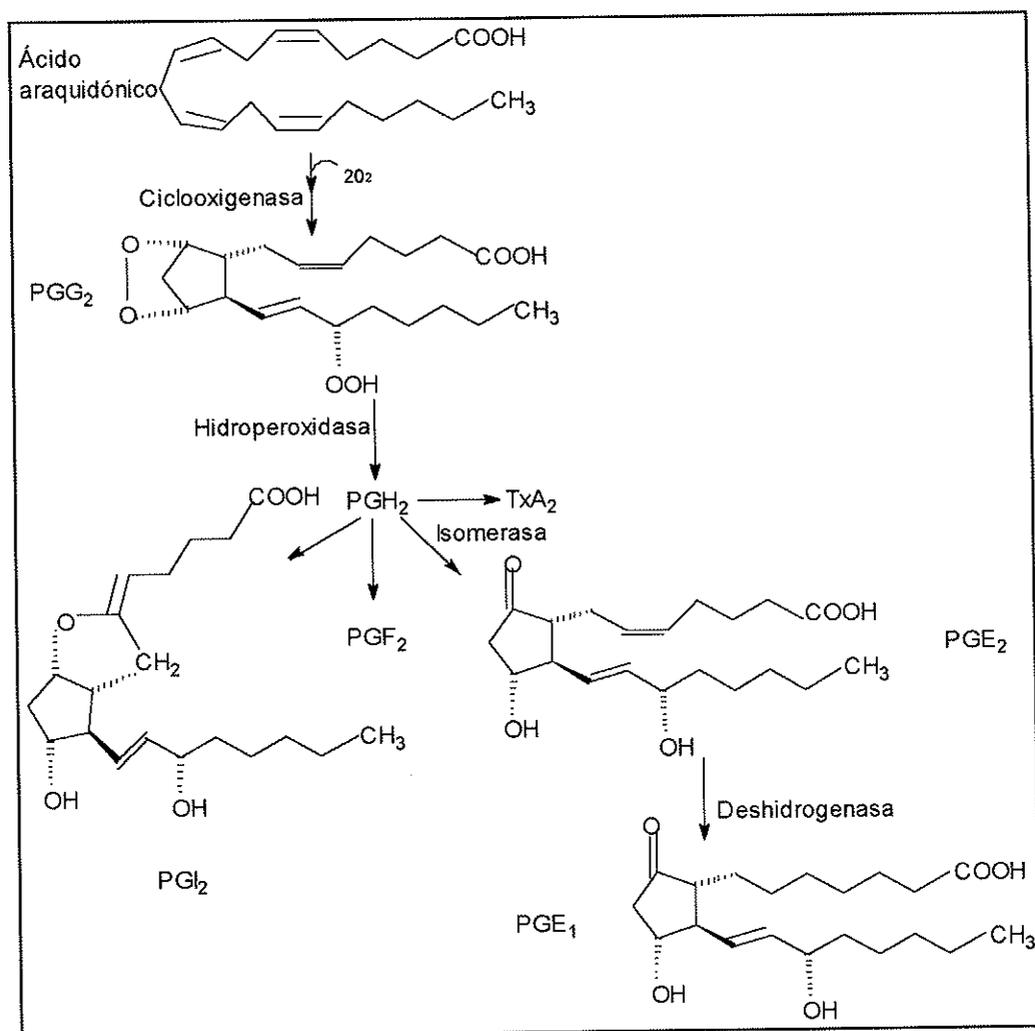
Los HPETE son intermediarios inestables, análogos a la PGG o PGH. Todos los HPETE pueden convertirse en sus correspondientes hidroxiácidos grasos (HETE), ya sea por una peroxidasa o en forma no enzimática.

La 5-lipooxigenasa, tal vez, es la más importante de estas enzimas, ya que lleva a la síntesis de los leucotrienos (LT).



**ESQUEMA II.1:** Vía de la lipooxigenasa en el metabolismo del ácido araquidónico.

Actualmente, se sabe que las enzimas conocidas como **ciclooxigenasas** (COX) se encuentran codificadas por dos genes. De esta forma se separan la COX-1 y la COX-2. La COX-1 es producida en condiciones normales, mientras que la COX-2 es sintetizada por el estímulo de agentes inflamatorios. En las enfermedades inflamatorias se observan mayores niveles de COX y agentes antiinflamatorios pueden inhibir la inducción de COX-2, [VII Annual Symposium Mediators of Inflammatory Pain, Dray & Bevan 1993].



**ESQUEMA II.2:** Vía de la ciclooxigenasa.

La síntesis de prostaglandinas se lleva a cabo en forma escalonada, mediante un complejo ubicuo de enzimas microsomales. Es un hecho comprobado que la PGE<sub>1</sub> y la PGE<sub>2</sub> producen edema cuando se inyectan en las patas traseras de las ratas, [Goodman y Gilman, 1991].

Las drogas antiinflamatorias, disponibles en la terapéutica actual, constituyen un grupo heterogéneo de compuestos, con frecuencia no relacionados químicamente. La aspirina, la indometacina o compuestos similares, inhiben la biosíntesis de prostaglandinas. Esta acción la consiguen al bloquear la actividad catalítica de la ciclooxigenasa.

Para valorar la actividad antiinflamatoria, los modelos experimentales utilizados son:

**II.1.- Edema inducido por ácido araquidónico en oreja de ratón.**

**II.2.- Edema inducido por carragenina en la región subplantar de la rata.**

El método experimental de la inflamación inducida por carragenina en la pata de la rata fue propuesto por Winter, Risley y Niss (1962). Es la valoración de la actividad antiinflamatoria más frecuentemente utilizada. Este modelo ha sido usado con éxito en el descubrimiento y evaluación de inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa. Por otro lado, el edema provocado por ácido araquidónico, en oreja de ratón, ofrece la detección de inhibidores de los dos enzimas principales en la vía metabólica del ácido araquidónico (lipooxigenasa y ciclooxigenasa). Sin embargo, los inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa suelen fracasar en la demostración de su actividad, [Young y col., 1984; Carlson y col., 1985]. Este modelo parece, también, adecuado para la detección *in vivo* de inhibidores de la lipooxigenasa [Chang y col., 1986].

Atendiendo a estas hipótesis, la combinación de ambas metodologías complementaria un amplio espectro de valoración de la actividad antiinflamatoria, con la posibilidad de detectar a la mayoría de las sustancias antiinflamatorias. Lo que es útil para unas pruebas tan iniciales como las aplicadas a extractos vegetales.

## II.1.- EDEMA INDUCIDO POR ÁCIDO ARAQUIDÓNICO EN LA OREJA DE RATÓN.

La piel es un órgano que exhibe una amplia variedad de reacciones inflamatorias y contiene significativas cantidades tanto de ciclooxigenasa como de lipooxigenasa, [Ruzicka y col., 1982; Ziboh y col., 1984]. La aplicación tópica de ácido araquidónico en la oreja de ratón induce una rápida respuesta inflamatoria, fácilmente cuantificable por la pesada del incremento de peso de la oreja edematosa. El incremento máximo de peso se alcanza una hora después de la aplicación de éste agente flogógeno.

En este modelo, los animales previamente tratados con compuestos antiinflamatorios presentarán unos incrementos menores de peso en las orejas. También son efectivos en la reducción de este tipo de edema otros compuestos como, antagonistas de la histamina, inhibidores de la fosfodiesterasa, secuestradores de radicales libres, etc., no considerados, normalmente, por la actividad antiinflamatoria, [Crummey y col., 1987].

El edema inducido por la aplicación tópica de ácido araquidónico, en la oreja de ratón es máxima entre los 30 y 60 minutos y desaparece a las 8 horas. La formación perivascular de polimorfonucleares se observó a los 30 minutos, seguida de infiltración intersticial a los 60 minutos, y alcanza niveles máximos a las 4 horas. Macrófagos y linfocitos no son frecuentes o no han sido observados. Los polimorfonucleares perivascuales no se observan, prácticamente, tras 8 horas después de la aplicación del ácido araquidónico.

A las 24 horas de la administración del ácido araquidónico, se observa la formación de una pústula epidérmica en las orejas. Las orejas se volvieron normales a los 4 días. Estas pústulas podrían indicar una ruta de una rápida aclaración de neutrófilos de la zona y sugiere la formación de metabolitos quimiotáxicos del ácido araquidónico en el epitelio epidérmico.

Todos estos hechos conducen a que la evaluación de la respuesta edematosa, por pesada de las orejas, se realice una hora después de la aplicación de este agente flogógeno.

[Griswold y col., 1987].

Hasta ahora, parece claro que leucotrienos y prostaglandinas participan en la inducción del edema por ácido araquidónico, con lo que la supresión de sus síntesis significaría una reducción de la respuesta inflamatoria. Esto respalda la hipótesis de que inhibidores de ambas vías del ácido araquidónico (lipooxigenasa y ciclooxigenasa) son efectivos en la reducción de la inflamación en este modelo. También parece ser cierto que las  $PGE_2$  tienen menor importancia como mediadores de la inflamación que los  $LTC_4$  en este modelo experimental del edema inducido por ácido araquidónico.

Todo ello justifica la mayor efectividad de este método experimental en la valoración de los inhibidores de la lipooxigenasa y de inhibidores de las dos vías, ciclo y lipooxigenasas, [Chang y col., 1986]. Este criterio, por último, tiene el apoyo de H. Inoue y col. (1988). Según estos autores, el edema es inducido, predominantemente, por  $LTC_4$  y otros productos de la lipooxigenasa, mientras que las  $PGE_2$  facilitarían el hinchazón. La farmacología de este modelo experimental muestra, generalmente, la no sensibilidad de éste para detectar los inhibidores de la ciclooxigenasa, [Young y col., 1984; Carlson y col., 1986]. Por el contrario, parece adecuado, para la detección y evaluación de drogas antiinflamatorias con nuevos mecanismos de acción. Los estudios de Opas y col. (1985) demostraron que la formación del edema y de los metabolitos del ácido araquidónico se puede modular, notablemente, con la indometacina. Carlson y col. (1986) también encontraron actividad tópica para la indometacina, pero no para otros inhibidores de la ciclooxigenasa, es decir, aspirina, ibuprofeno, piroxicam... Esto sugiere que la indometacina, al menos, poseería otro mecanismo de acción adicional a la inhibición de la ciclooxigenasa. La inhibición únicamente de la ciclooxigenasa puede llevar a un aumento en la formación de leucotrienos, tal vez por el aumento del araquidónico que está disponible para las lipooxigenasas, [Piper, 1984].

## II.2.. EDEMA INDUCIDO POR CARRAGENINA EN LA REGIÓN SUBPLANTAR DE LA PATA.-

La rata desarrolla fácilmente un edema local mediante la administración subcutánea de carragenina en la región subplantar de la pata posterior de la rata, [Bonta, 1969]. Gracias a los incrementos de volumen de la pata, a diferentes tiempos, y comparando los distintos grupos de tratamiento, conseguimos conocer el grado de inhibición del edema en las ratas tratadas respecto los controles, hecho que está relacionado con la acción antiinflamatoria.

Es éste un modelo ampliamente aceptado en investigación, tanto por su sensibilidad como porque sus resultados presentan una buena correlación con los obtenidos en clínica [Winter, 1965; Otternes & Gans, 1988].

Winter y col.. (1962), con la técnica del pletismómetro, introdujeron la carragenina como agente flogógeno para inducir el edema subplantar en rata. Estos autores desarrollaron este método en trabajos posteriores [Winter y col., 1963; Winter, 1965]. En 1964, Niemegeers, Verbruggen y Janssen, analizaron el efecto inhibitorio de la inflamación de cierto número de drogas, con o sin efecto clínico antireumático establecido. Empleando este modelo llegaron a la conclusión de que este ensayo era aceptable como valoración preeliminar de la actividad antireumática.

La exposición de sucesos producidos en la inflamación provocada por carragenina, según Vinegar y col. (1987), se describe a continuación. Veinte minutos después de la inyección subplantar de 500 microgramos de carragenina se aprecia la presencia del edema. Un examen histológico inicial del tejido inflamado no detecta cambios celulares respecto los tejidos no inyectados. A los 180 minutos después de la inyección, no obstante, se observa un gran número de neutrófilos en el tejido edematoso y una intensa *respuesta inflamatoria fagocítica*. Este hecho permite considerar los primeros 180 minutos como la *respuesta inflamatoria no fagocítica*.

En la fase no fagocítica, se produce un edema dérmico, hiperemia e hiperalgesia seguida de hipoalgesia. La hiperalgesia y el edema, provocados por intermediarios de las prostaglandinas, son sensibles a los inhibidores de la ciclooxigenasa. De hecho, en los primeros 10 minutos, tras la administración de carragenina, el edema es mediado por serotonina y metabolitos del ácido araquidónico, por lo que resultan efectivos para reducirlo los antiserotoninérgicos y los inhibidores de la ciclooxigenasa.

La fase fagocítica consiste en la movilización de neutrófilos, edema, hiperalgesia, movilización de monocitos y proliferación de fibroblastos. Los antiinflamatorios, esteroídicos y no esteroídicos, inhiben el desarrollo de la fase inflamatoria fagocítica. Los agentes antihistamínicos y antiserotoninérgicos, sin embargo, no tienen efecto en esta fase.

Di Rosa (1972), señala dos fases más. En la segunda, entre una hora y media y dos horas y media después de la inyección de carragenina, destaca la liberación de quininas. Y en la tercera fase, hasta las 6 horas tras la inyección, actúan como mediadores la histamina, la serotonina y quininas, asociadas con prostaglandinas. Además Di Rosa sugiere que la carragenina promueve la activación local del sistema del complemento.

Las dos fases que señalaban Vinegar y col., fagocítica y no fagocítica, suman un total de 43 etapas que incluyen cambios epidérmicos y algésicos, producidos por la carragenina administrada. Estas etapas se detallan a continuación:



## ETAPAS

1	_____	T <sub>0</sub> . Inyección subplantar de 500 microgramos de carragenina
2	_____	T <sub>0</sub> -T <sub>10</sub> min. Absorción de pequeñas partículas de carragenina por las células mastocitarias dérmicas.
3	_____	T <sub>0</sub> -T <sub>10</sub> min. Acción citotóxica en las células mastocitarias dérmicas.
4	_____	T <sub>2</sub> -T <sub>10</sub> min. Inicio del metabolismo del ácido araquidónico.
5	_____	T <sub>2</sub> -T <sub>10</sub> min. Síntesis de intermediarios de las prostaglandinas. Hiperalgesia.

- |    |  |  |
|----|--|--|
| 6  |  | $T_2-T_{10}$ min. Degranulación mastocitaria en la dermis.   |
| 7  |  | $T_2$ min.- $T_2$ días. Hiperemia como resultado de la vasodilatación provocada en los pequeños vasos sanguíneos por la acción de la serotonina. |
| 8  |  | $T_2-T_{60}$ min. Hipoalgesia por acción directa de la serotonina sobre las terminaciones nerviosas.   |
| 9  |  | $T_{10}-T_{50}$ min. Gradiente osmótico carragenina-dependiente, entre el lugar de inyección y el tejido dérmico próximo.                        |
| 10 |  | $T_{10}-T_{50}$ min. Contribución de fuerzas osmóticas debidas al gradiente de carragenina.  |



## ETAPAS

---

- |    |  |  |
|----|--|--|
| 11 |  | $T_{30}-T_{240}$ min. Acción citotóxica de la carragenina absorbida por el endotelio de los vasos sanguíneos dérmicos. |
| 12 |  | $T_{30}-T_{240}$ min. Liberación de interleuquina-1 por las células dañadas.   |

13		$T_{60}$ - $T_{240}$ min. Alteración del endotelio dérmico dañado por la interleuquina-1.
14		$T_{60}$ - $T_{240}$ min. Los neutrófilos se adhieren a la superficie de estas células endoteliales.
15		$T_{60}$ - $T_{240}$ min. Diapédesis de los neutrófilos adheridos.
16		$T_{60}$ - $T_{240}$ min. Los neutrófilos son atraídos por factores quimiotácticos, liberados del citoplasma de las células dérmicas dañadas, hacia la zona afectada.
17		$T_{60}$ - $T_{240}$ min. Los neutrófilos fagocitan la carragenina.
18		$T_{60}$ - $T_{240}$ min. Acción tóxica de las vacuolas de la fagocitosis.
19		$T_{60}$ - $T_{240}$ min. Fusión de lisosomas con las vacuolas fagocíticas.
20		$T_{60}$ - $T_{240}$ min. Degranulación de los lisosomas dentro de las vacuolas fagocíticas.
21		$T_{60}$ - $T_{240}$ min. Las membranas de las vacuolas son dañadas por los enzimas lisosomales.
22		$T_{60}$ - $T_{240}$ min. Liberación intracelular de enzimas lisosomales en los neutrófilos.
23		$T_{60}$ - $T_{240}$ min. La membrana de los neutrófilos es dañada por los enzimas lisosomales.

24		$T_{60}-T_{240}$ min. Liberación de los enzimas lisosomales en el tejido dérmico.
25		$T_{60}-T_{240}$ min. La fosfolipasa $A_2$ de los neutrófilos transforma los fosfolípidos del tejido dérmico en ácido araquidónico.
26		$T_{60}-T_{240}$ min. Síntesis de intermediarios de las prostaglandinas.
27		$T_{60}-T_{240}$ min. Por acción de los intermediarios de las prostaglandinas, se incrementa la permeabilidad vascular del endotelio dérmico, y sensibilizan las terminaciones nerviosas.
28		$T_{60}-T_{240}$ min. Desarrollo de edema y de hiperalgesia.
29		$T_7-T_{12}$ horas. Liberación, por los neutrófilos dañados, de agentes que alteran la configuración del endotelio dérmico.
30		$T_7-T_{12}$ horas. Los monocitos se adhieren al endotelio dérmico.
31		$T_7-T_{12}$ horas. Diapédesis de los monocitos.
32		$T_7-T_{12}$ horas. Enzimas quimiotácticos, liberados por los neutrófilos dañados, atraen a los monocitos.
33		$T_7-T_{48}$ horas. Los monocitos fagocitan a los neutrófilos en la dermis.
34		$T_7-T_{24}$ horas. Cese de la formación del edema en la dermis.

35	_____	T <sub>7</sub> -T <sub>24</sub> horas. Disminución del edema.
36	_____	T <sub>24</sub> -T <sub>72</sub> horas. Disminución de la hiperemia.
37	_____	T <sub>2</sub> -T <sub>8</sub> días. Proliferación del tejido fibroblástico y vascular en la dermis.
38	_____	T <sub>6</sub> -T <sub>15</sub> días. Incorporación de los monocitos en el nuevo tejido dérmico.
39	_____	T <sub>15</sub> días. La dermis aparece normal.

La epidermis también presenta cambios histológicos. Estos cambios se producen dentro de la **respuesta inflamatoria no fagocítica**, y se esquematizan como,

40	_____	T <sub>4</sub> -T <sub>48</sub> horas. Edema intracelular en la epidermis.
41	_____	T <sub>12</sub> -T <sub>36</sub> horas. Hiperplasia.
42	_____	T <sub>2</sub> -T <sub>20</sub> días. Hiperqueratosis.
43	_____	T <sub>20</sub> días. La epidermis aparece normal.

Por último, algunos autores, [Labrecque y col., 1981; Loubaris y col., 1983], demostraron la existencia de variaciones circadianas en el desarrollo del edema producido por carragenina en pata de rata. Las pruebas realizadas en ratas, sometidas a ciclos de luz/oscuridad de 12 horas, muestran, a dosis bajas de carragenina (125 microgramos), una intensidad del edema marcadamente superior si la carragenina es administrada a horas diurnas. A altas dosis de carragenina (500 microgramos) parece que no se aprecian variaciones en la intensidad del edema formado. La velocidad de aparición y desaparición del edema es mucho más rápido en las ratas inyectadas en la fase nocturna respecto a las inyectadas en horas diurnas.

Debido a estas marcadas variaciones circadianas en el desarrollo del método, es importante que se realice a la misma hora del día para obtener resultados comparables. En nuestro caso concreto, todos los experimentos han sido realizados a partir de las ocho de la mañana, y la carragenina se ha administrado de 11 a 11<sup>1/2</sup> de la mañana.

Los mismos autores citados, entre otros, coinciden en la existencia de importantes variaciones según el mes en el que se realiza el ensayo. En general, se observan niveles mayores de inflamación en primavera y en verano, y menores en invierno y en otoño.

Estas variaciones circadianas y circanuales, de este modelo experimental, pueden estar relacionadas con los ritmos que presentan los niveles de corticoides en el plasma.

### III.- ESPECIES VEGETALES SELECCIONADAS.

Las cinco especies estudiadas en este trabajo, tal y como se indicó, han sido seleccionadas siguiendo un **criterio etnofarmacológico**. La etnofarmacología, según Bruch y Holmsted (1981), se define como la exploración interdisciplinaria de los agentes bioactivos tradicionalmente empleados u observados en el hombre.

A continuación se presenta el nombre de las cinco especies:

ESPECIE VEGETAL	FAMILIA	ÓRGANOS EN ESTUDIO
<i>Anacyclus pyrethrum</i>	Asteráceas	Raíz
<i>Armeria alliacea</i>	Plumbagináceas	Raíz y rizoma
<i>Asphodelus ramosus</i>	Liliáceas	Raíz
<i>Capparis spinosa</i>	Caparidáceas	Fruto
<i>Rhaponticum acaule</i>	Asteráceas	Raíz y rizoma

En las páginas siguientes se describen las especies vegetales seleccionadas.

***ESPECIES VEGETALES.***

### III.1.- *Anacyclus pyrethrum* (L.) Link.

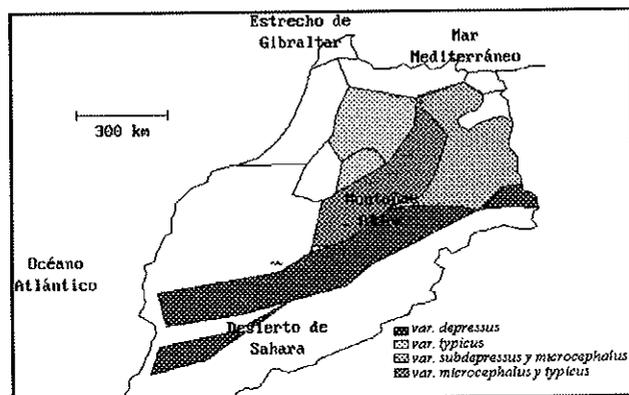
Esta especie tiene como sinónimo *Anthemis pyrethrum* L., nombre con el que se la denominaba con anterioridad. Dentro de los nombres populares destacamos: Pelitre de África y "Aoud el Athas" (en Argelia). Pertenece a la familia de las Asteráceas.

*Anacyclus pyrethrum* es una planta vivaz o raramente bienal, más o menos vellosa, con cepa gruesa y roseta de hojas de cuyas axilas brotan tallos postrados de 10 a 40 cm. Hojas numerosas, próximas, oblongas, en lo alto redondeadas o espatuladas, enteras o algo festoneadas; las caulinares mucho más pequeñas que las basales, pubescentes. Brácteas involucrales ovales, algo vellosas, con margen rojizo o blanquecino. Receptáculo pequeño, convexo, con páleas anchas, ovales, obtusas y escariosas. Capítulos globosos y anchos, pedunculados y en corimbos. Lígulas grandes y oblongas. Los aquenios de las lígulas son triangulares, con alas que no llegan al borde; y los interiores presentan alas muy estrechas. [Quezel & Santa, 1962; Sagredo, 1987]. La raíz del pelitre (cuyo esquema se presenta en la figura de la derecha) es sencilla, fusiforme, de 10 a 15 cm de largo y de 1 a 3 de grosor en su parte superior, con surcos longitudinales profundos, a veces algo retorcida, exteriormente parda, dura y quebradiza, que al fracturarse desprende granos. Su sabor es acre y, además, promueve la salivación. [Ernst y col., 1942]. Probablemente una forma de cultivo de *Anacyclus pyrethrum* en Alemania sea *Anacyclus officinarum*, el pelitre alemán, cuyas raíces son más delgadas y de color más claro que el africano. [Ernst y col., 1942]

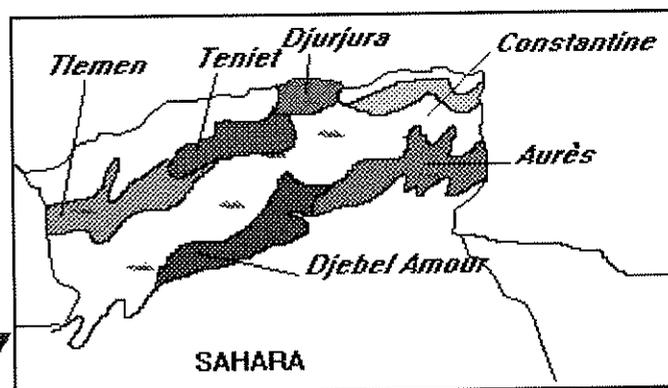


En general, es una especie muy polimorfa. Su hábitat se halla en claros de bosque, pastos de montañas, de 400 a 3100 m. Geográficamente se localiza en el Sureste de España y en el Norte de África (Argelia y Marruecos).

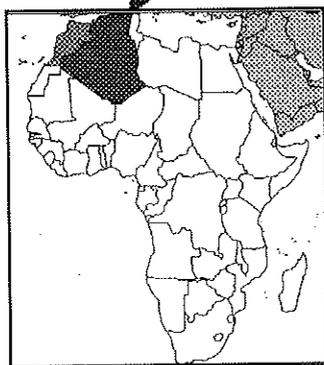
En el mapa de la figura III.1.1 se muestran las áreas de localización correspondientes a las cuatro variedades citadas para esta especie, dentro del territorio marroquí. En la figura III.1.2 se señalan las regiones principales donde se encuentra en Argelia.



*Figura III.1.1. - Localizaciones de Anacyclus pyrethrum en Marruecos.*

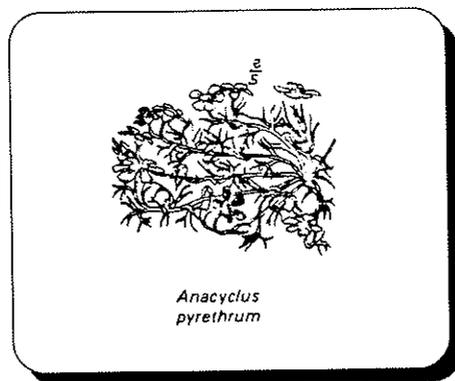


*Figura III.1.2. - Localizaciones de Anacyclus pyrethrum en Argelia.*



El género *Anacyclus* ha sido caracterizado por su composición de flavonoides, principalmente en las hojas, [Greger, 1978].

Además del uso de la raíz de *Anacyclus pyrethrum* como antiinflamatorio, los pelitres se usan como componentes de mixturas antidontálgicas y dentífricas, [Ernst y col., 1942].



Esquema de *Anacyclus pyrethrum*, donde se observa principalmente el aspecto prostrado del vegetal.

La actividad antimicrobiana del extracto alcohólico de la raíz de *Anacyclus pyrethrum* fue estudiada por Ross y col. (1980). Este extracto mostró cierta actividad antibacteriana frente *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus albus* y *Staphylococcus aureus*. No se detectó actividad antifúngica.

Por otra parte, extractos a partir de semillas de *Anacyclus pyrethrum* se valoraron respecto su actividad anticonceptiva y teratogénica, [Sethi y col., 1989], utilizando modelos *in vivo* con rata. Aunque no se le atribuye una alta actividad anticonceptiva, los neonatos sí mostraban defectos detectables; es decir, las especies presentan una positiva actividad teratogénica pero no una marcada actividad anticonceptiva, y sin embargo, un gran número de la población está expuesta a estas plantas medicinales con desconocimiento de estos hechos. Por consiguiente, sea cual sea la conclusión sobre la actividad antiinflamatoria que derive de los estudios que nos ocupan, se habrá de considerar su no prescripción durante un posible embarazo. La actividad abortiva observada fue de un 15%, esta planta está relacionada como causa de contracción uterina durante el embarazo. Como actividad teratogénica destaca, sobre todo, entre otros efectos observados en rata, retorcimiento de la cola, agrietamiento del paladar, no osificación del cráneo, defectos en las articulaciones, etc.

### **III.2. *Armeria alliacea* (Cav.) Hoffmanns & Link.**

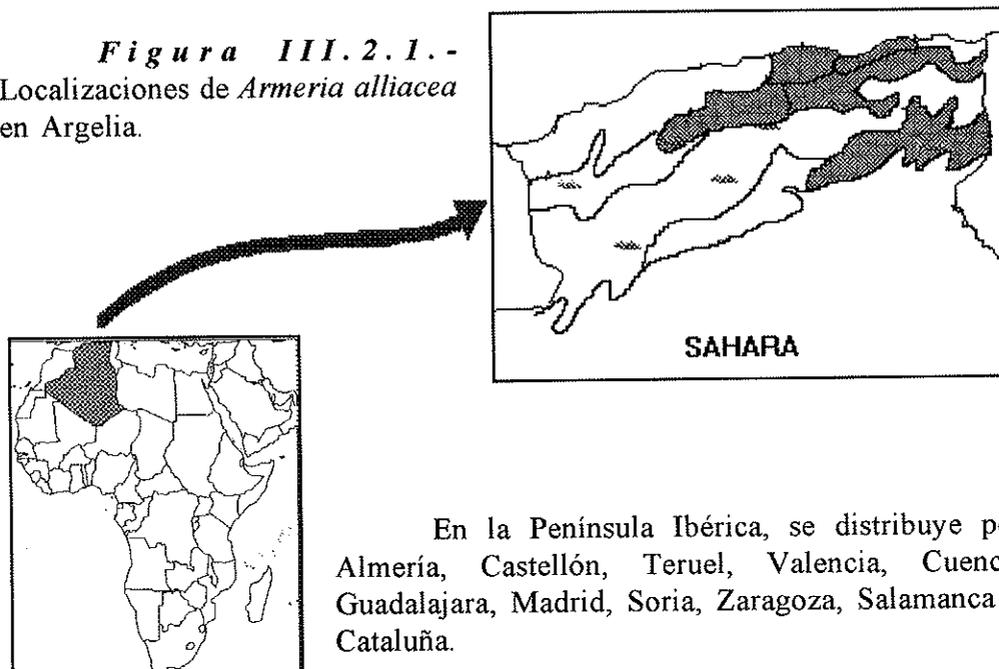
Dentro de la sinonimia de esta especie, se incluyen las denominaciones siguientes: *Statice alliacea* Cav., *Armeria allioides* Boiss, *Armeria bupleuroides* Godron y *Armeria capitella* Pau, [ Aparicio y col., 1987]. *Armeria alliacea* pertenece a la familia de las Plumbagináceas. *Armeria* es un género de gran dificultad taxonómica, debido, sobre todo, al alto porcentaje de hibridación natural que posee.

*Armeria alliacea* es una especie perenne, cespitosa, con base lignificada más o menos engrosada. Posee la raíz crasa y leñosa, presentando escapos de hasta 75 cm, glabros. Las hojas, generalmente en número reducido, son lanceoladas, linear-lanceoladas o linear-espatuladas, agudas, místicas o mucronadas, con 1-3 nervios marcados, o más o menos acalcanados, erectas o curvadas, planas, conduplicadas, rara vez convolutas, glabras, ciliadas en el margen o laxamente vilosas. Vaina de 23-45 mm. Capítulos de 13-20 mm de diámetro en la antesis. Brácteas involucrales glabras, anchamente escariosas; las externas lanceoladas o triangular-lanceoladas, acuminadas, generalmente más

largas que las medias; las medias ovadas y mucronadas; las internas obovado-espátuladas, a veces mucronadas. Bráctea del cincino de 5,5-7 mm, más cortas que el cáliz, casi enteramente escariosa. Bracteolas mucho más cortas que el cáliz, escariosas. Cáliz glabrescente o laxamente peloso en las costillas, presenta espolón. Corola blanca o purpúrea. [Aparicio, 1987]

*Armeria alliacea*, en general, se localiza en las altas montañas, bosques y pastos de las montañas por encima de 1400 m. En suelos preferentemente ácidos. Se tiene conocimiento de su existencia en la Península Ibérica, Francia, Italia, Alemania, Suiza, Argelia (Djurdjura, Babors y Aurès) y Marruecos. En Marruecos, las citas bibliográficas sitúan a esta especie en bosques claros y pastos de montaña hasta los 2200 m. Los datos que disponemos sobre su aparición en Argelia permiten confeccionar el mapa de distribución de la figura III.2.1.

**Figura III.2.1.** - Localizaciones de *Armeria alliacea* en Argelia.

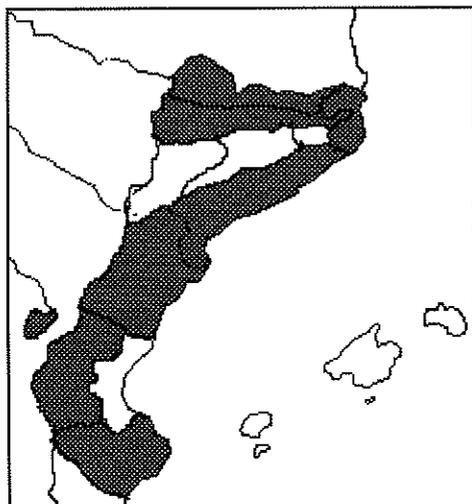


En la Península Ibérica, se distribuye por Almería, Castellón, Teruel, Valencia, Cuenca, Guadalajara, Madrid, Soria, Zaragoza, Salamanca y Cataluña.

*Armeria alliacea* es una especie que también visita nuestro territorio, y así lo confirmamos en la Flora Manual dels Països Catalans de O. de Bolòs y col. (1990), y como así se señala en el mapa que acompaña este texto. La encontramos, generalmente, como un hemcriptófito, desde la región mediterránea hasta la zona alpina, y es calificada, también, como planta de gran polimorfismo.



*Armeria alliacea*, (Cav.) Hoffmanns & Link.



**Figura III.2.2.**  
Localizaciones de  
*Armeria alliacea* en  
los Países Catalanes.

### III.3.- *Asphodelus ramosus* L.

La denominación que hemos empleado para esta especie se ve aludida en la bibliografía como nombre confuso ("*nomen confusum*") [Maire, 1952]. Se ha optado por el nombre de *Asphodelus ramosus* dado que con él fueron identificadas las muestras recolectadas, y por ser la denominación latina más amplia. El sinónimo que se deduce más claro en la mayoría de obras consultadas es *Asphodelus microcarpus* Salzm. et Viv.. Aunque, en ocasiones, también aparece como equivalente a *A. cerasiferus* J. Gay, [Aparicio y col., 1987; Vigo i Bonada, 1983], de hecho la Flora vascular de Andalucía occidental, [Aparicio y col., 1987], es la más transigente en la nomenclatura, ya que propone *A. ramosus*, *A. cerasiferus*, *A. lusitanicus* y *A. microcarpus* como sinónimos. (*A. lusitanicus* se diferencia claramente del resto en la Flora de Portugal, [Teller, 1939]).

Por otro lado, se destaca que es frecuente que en floras norteafricanas, a excepción de la nombrada en líneas precedentes, se omita el nombre de *A. ramosus*, pero se diferencie entre *A. microcarpus* y *A. cerasiferus*, [Maire & Jahandiez, 1934; Quezel & Santa, 1962] (esta diferenciación también se encuentra en la flora de África del Norte), además *A. aestivus* está como especie distinta. También, Z. Díaz Lifante y col. (1990), de la Universidad de Sevilla, distinguen *A. cerasiferus* de *A. ramosus* como especies separadas, aunque se incluyan como sinónimos en la comentada flora de Andalucía.

Siguiendo con esta revisión nomenclatural, y después de la consulta a algunas de las publicaciones italianas, se encuentra que, es más frecuente leer el nombre de *A. ramosus*, especie a la que le han dedicado diversos artículos que versan sobre su composición (fundamentalmente la de sus tubérculos), tal y como será mencionado en el apartado de antecedentes. En Francia, en algunos artículos, se opta por la única sinonimia *A. microcarpus*=*A. ramosus* (M. Abdel-Gawad & J. Raynaud, 1973).

Y, aunque, lo que pareciera más correcto fuese esta última sinonimia, ya que, de todas los artículos revisados, ninguno de ellos se refiera a *A. microcarpus* y *A. ramosus* como dos especies separadas, hecho éste que no se puede afirmar para el resto de posibles equivalencias, tampoco se puede evidenciar sin que se halle algún contrasentido. Si consultamos las floras propias de nuestro territorio, como la Flora Manual dels Països Catalans [ O. Bolós y col., 1990], los sinónimos se presentan aparejados de la siguiente forma: *A. microcarpus* y *A. aestivus* (ya hemos visto anteriormente que en floras de África se distinguía entre ambas denominaciones) y *A. ramosus* y *A. cerasiferus*; y en las Claves para la determinación de Plantas Vasculares [Bonnier, 1988], también se separa entre *A. ramosus* y *A. microcarpus*. Sin embargo, también es cierto que las diferenciaciones no están bien definidas y la mayoría de las características que se exponen son repetidas para estas especies, y en cambio no aparecen los detalles que se usan para separarlas claramente.

Tras esta reflexión, debemos hacer notar que la profundización en este dilema botánico se escapa de las pretensiones de esta investigación. Por ello, conociendo todos estos datos, bastante confusos, quizá hubiera sido más adecuado referirnos a esta especie como GAMÓN, e incluir todas aquellas especies usadas con este nombre para tratar afecciones inflamatorias, no descartando así a todas las plantas dentro de *Asphodelus* que, según la literatura popular, presentan actividad antiinflamatoria (como veremos *A. microcarpus*, *A. ramosus* y *A. cerasiferus* se utilizan en diferentes localidades por tal actividad; lo que hace pensar que todos ellos, gamones, puedan tener pequeños matices diferenciales para separarlos en una clasificación taxonómica estrictamente botánica, pero la actividad antiinflamatoria sería una propiedad común, y la gente utiliza aquella forma, aquel gamón, que crece en su territorio). El término Gamón tiene implícito en sí el concepto de actividad antiinflamatoria.

Clásicamente el asfodelo responde al nombre de "ασφοδελυσ de Diose", [ Tuhfat Al-Ahbab, 1934]. Como nombres populares para esta especie encontramos: Gamón y Asfodelo; "Bâton de St. Joseph", "Berouaga", "Ançal" y "Belouaz" (en Argelia).

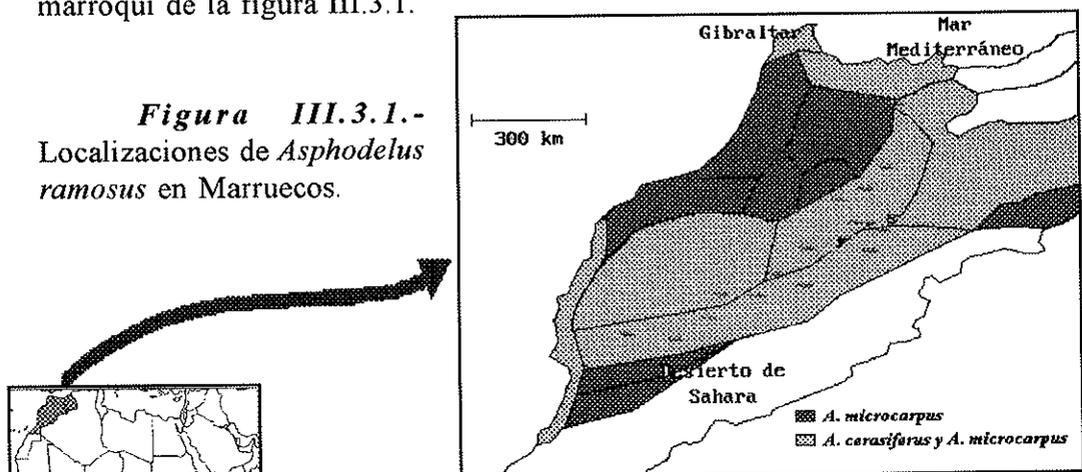
*Asphodelus ramosus* es una especie perenne, posee un rizoma rodeado de fibrillas provenientes de antiguas hojas, con raíces tuberosas, engrosadas o napiformes. Tallos floríferos escapiformes, afilos, erguidos. Todas las hojas basales, más o menos glaucas, glabras, lisas, bastante espesas y subcoriáceas, lineares, largamente atenuadas en el ápice en punta de aguja, más o menos carenadas. Panículas alargadas, pudiendo superar los 30 cm, densifloras, erguidas, desarrolladas en la axila de una bráctea más o menos membranosa, de unos 6 cm. Flores blancas o marrinosas, los tépalos son iguales, lanceolados, obtusos, blancos con la nerviación media púrpura, más o menos papilosos. Anteras ovadas u oblongas, marrones, ordinariamente estambres más cortos que los tépalos. Ovario verde con estilo blanco y largo, más corto o más

largo que el periantio. Cápsula coriácea, ovada, oblonga, obovada-subglobulosa u obovada, hexagonal, arrugada a lo ancho después de la desecación. Semillas alargadas, fusiformes, gris marronosas, finamente verrugosas, un poco arrugadas transversalmente en el frente.

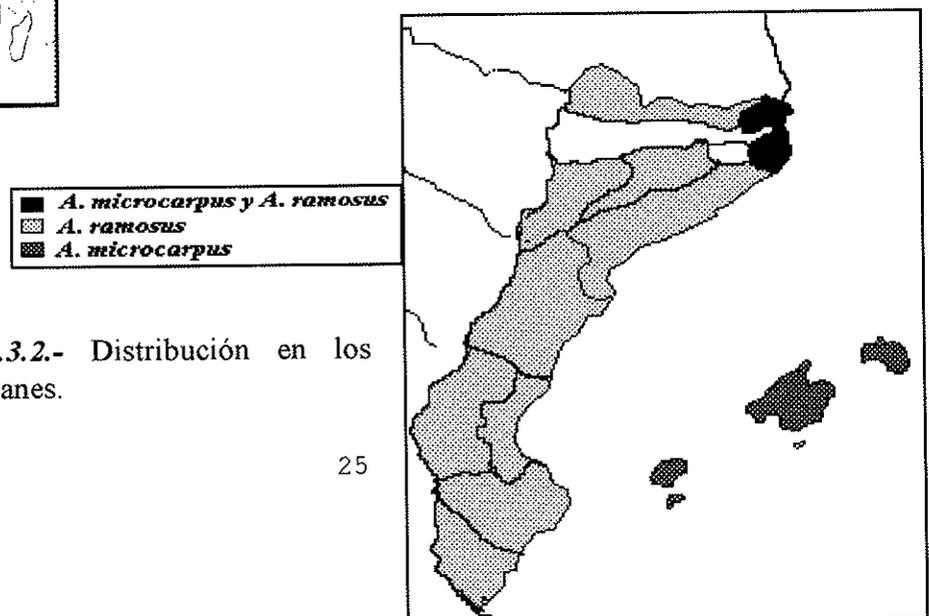
Como hábitat se destaca su presencia en bosques claros, pastos arenosos y rocosos. Pastizales y baldíos. Termófilo. Abunda, sobre todo, en la periferia de zonas áridas.

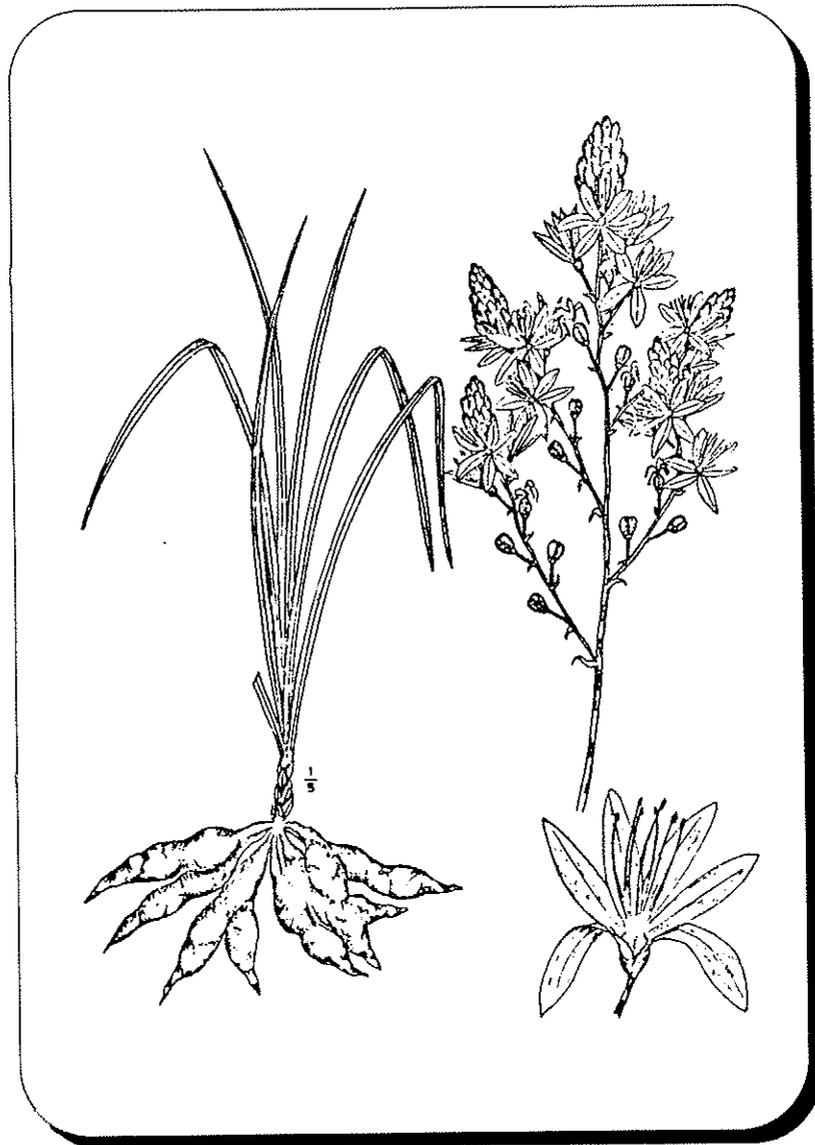
De forma global se distribuye por Europa meridional (Sur de Francia, Península Ibérica, Córcega, Balcanes...), Asia occidental, África septentrional y Canarias. Las zonas de localización en el norte africano han de ser referidas para *A. microcarpus* y *A. cerasiferus*, que son los nombres que aparecen en las floras norteafricanas; de esta forma, vemos el extenso territorio por donde se reparten dentro del mapa marroquí de la figura III.3.1.

**Figura III.3.1.-** Localizaciones de *Asphodelus ramosus* en Marruecos.



**Figura III.3.2.-** Distribución en los Países Catalanes.



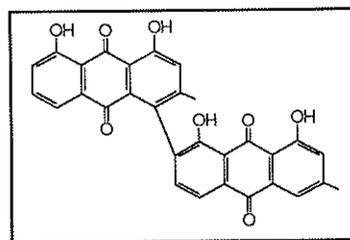


*Asphodelus ramosus* L.

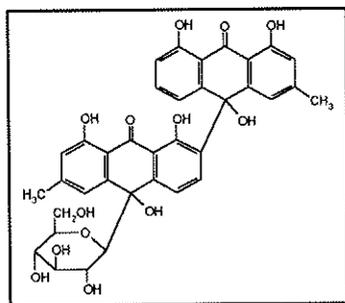
Ciertas pruebas fitoquímicas revelaron la presencia de aceites, carbohidratos (azúcares libres y mucílagos), sustancias fenólicas y alcaloides, [Fell, 1968]. Se evidenció la presencia de  $\beta$ -sitosterol y de  $\beta$ -amirina, aislados de las semillas de *A. microcarpus* y de *A. fistulosus*, también, en menor cantidad, estaban presente campesterol y estigmasterol. Además, se identificaron en estas especies los ácidos mirístico, palmítico, esteárico, oleico y linoleico. Por otra parte, sacarosa, rafinosa y estaquiosa son indicativos en las semillas de ambas especies.

En general, *Asphodelus* contiene compuestos antraquinónicos. En los tubérculos de *A. microcarpus* han sido identificados: crisofanol, aloemodina, 1,8-dihidroxiantraquinona, 5-5'-bicrisofanol, asfodelina y microcarpina, [Risk y col. 1972]. El primer C-glicósido encontrado en la familia de las liliáceas fue hallado en hojas de *A. microcarpus* y es el C-glicosil-6-luteolina (homoorientina), [Abdel-Gawad y col., 1973], ya que hasta esa fecha tan solo se habían identificado algunos flavonol O-glicósidos en esta familia.

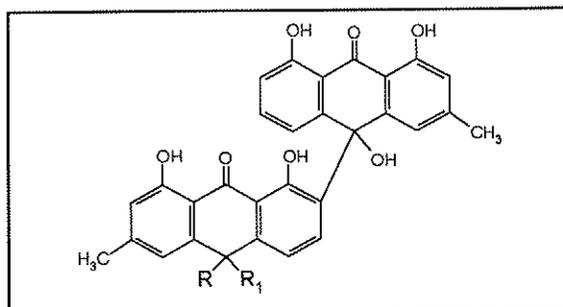
Abdel-Gawad y col. (1976) en el estudio de la composición de antraquinonas libres propusieron la estructura de la asfodelina como la 1,1',8,8'-tetrahidroxi-3,3'-dimetil-4,7'-biantraquinona, que se muestra en la figura de la derecha.



En 1989 se aisló una biantrona C-glicósido en los tubérculos de *A. ramosus*, llamado ramosina, [M. Adinolfi y col., 1989], cuya estructura corresponde a la figura inferior. Con estructuras muy similares se conocen otras biantronas C-glicósidos [R. Lanzetta y col, 1990], como: (-)-10'-C-[ $\beta$ -D-xilopiranosil y (-)-10'-C-[ $\beta$ -D-glucopiranosil-(14)- $\beta$ -D-glucopiranosil]-1,1',8,8',10,10'-hexahidroxi-3,3'-dimetil-10,7'-biantraceno -9,9'-diona y 10'-deoxi-10-epi-ramosina.



En 1991, Adinolfi y col., identificaron seis nuevos 7'-(crisofanol-4-il) 9-crisofanol-10'-antrona 10-C-glicósidos para *A. ramosus*.



**I.** R=H, R<sub>1</sub>= α-L-ramosil; **II.** R=H, R<sub>1</sub>= β-D-xilosil; **III.** R=H, R<sub>1</sub>= β-D-antiarosil; **IV.** R=H, R<sub>1</sub>= α-L-arabinosil; **V.-** R= β-D-xilosil, R<sub>1</sub>=H; **VI.-** R=H, R<sub>1</sub>= β-D-quinosil.

La composición de antraquinonas en los tubérculos de especies de *Asphodelus* varía marcadamente a lo largo del año. Estudios que aluden concretamente a *A. microcarpus* muestran que la concentración máxima se produce en marzo (2,31%) y, en cambio, en septiembre los tubérculos contienen un porcentaje mucho menor (1,1%). Por otra parte, el glicósido de crisofanol, en los tubérculos recogidos en verano (julio y agosto) representa altos porcentajes comparados con otros meses. Estos cambios sólo pueden referirse a variaciones en factores climáticos, edáficos y bióticos dentro del área en la que se obtengan los ejemplares, [F. M. Hammounda y col, 1974].

Ya se ha comentado, en el inicio del apartado dedicado a esta especie, que el término gamón es bastante amplio, pero que él en sí posee implícito el uso como antiinflamatorio. Pues bien, aún hay otra especie, que en este caso sí es considerada totalmente diferente, pero que también se incluye bajo este nombre, y se trata de *A. albus* (conocida también como gamonito o asfodelo blanco). De él también se emplean los tubérculos contra los eczemas en la medicina popular de Extremadura. Para ello, se cortan longitudinalmente y se tocan los eczemas con las partes frescas resultantes, repitiendo esta operación siete u ocho veces al día; en cada ocasión se parten nuevas rodajas de los tubérculos. El jugo de los tubérculos mezclado con agua o la decocción se pueden emplear para lavar las hemorroides. Esta decocción de los tubérculos también se puede emplear para lavar la cabeza, contra las escamaciones y afecciones del cuero cabelludo. [Pizarro, 1988]. Un mismo proceder se remite para cada uno de los gamones comentados según las diferentes bibliografías de cada región.

Existe un antecedente de virtudes parecidas en el "Libro de Medicina, llamado Tesoro de Pobres", en cuyo primer capítulo (página 1) dice así: "Si quieres guarecer de las postillas en la cabeza, dice maestro Macedo que te laves muchas veces con el caldo de los gamones, mojados y cocidos, y sanarás". En el Dioscórides (Libro II, cap. 159) hallamos orígenes más antiguos: "Aplicad la raíz, extirpad los albarazos, siendo fregados, primero al sol, con un paño de lienzo".

Por otro lado, tras aislar 12 compuestos de las hojas de *A. microcarpus*: 1 flavona C-glicósido, 1 antraquinona, 3 antraquinoglicósidos y 7 biantraquinonas. Dos de ellos, 1,1'-dihidroxi 3,3',8,8'-tetrametilbiantraquinona y dimetilntraquino  $\alpha$ -galactósido se han descrito como nuevos compuestos. Todos ellos han sido valorados, obteniendo resultados positivos de actividad antibacteriana, [O. Nihal, 1985].

### III.4.- *Capparis spinosa* L.

Alcaparrera, alcaparro, alcaparra. En catalán: taparera, taparer, taperoter, tapener, tapenera, traperera; el capullo: tàpera; el fruto: taperot. *Kemeb* y *Charanek* (en Argelia). En árabe: *Kabbar*; en berberí: *Teiloulout*. [Quezel & Santa, 1962; Jansà i Gran, 1985].

*Capparis spinosa* es un arbusto muy ramoso, que arroja vástagos de un metro, o más largos, tendidos o colgantes. Hojas ovales, glabras, con limbo elíptico, enteras, obtusas o emarginadas, con peciolo corto y estípulas en espina uncinulada, persistentes o caducas. Se la define como planta muy polimorfa [Maire, 1965]. Los capullos o botones florales se conocen como alcaparras. Las flores axilares solitarias son grandes y largamente pecioladas. Posee cuatro sépalos ovales u oblongos, cóncavos interiormente, el inferior más grande, todos verdosos. Corola de hasta 8 cm de diámetro, con cuatro pétalos ovales, redondeados en el extremo, de color blanco o rosado, que sobrepasan el cáliz. Estambres muy numerosos y tienen unos largos filamentos de un violado purpúreo, con las anteras amarillas, que sobrepasan los pétalos. Ovario en la extremidad de un ginóforo delgado que puede sobrepasar a los estambres, estigma sésil. El pistilo, y luego los frutos (conocidos como alcaparrones), están sostenidos en lo alto de un prolongado cabillo que arranca del centro de la propia flor. El fruto es una gran baya ovoide-oblonga, carnosa, de 3,5-4,5 cm, con pulpa rosada y semillas reniformes de color púrpura oscuro, atenuado en la base y un poco ensanchado en lo alto. [Maire, 1965; Quezel & Santa, 1962; Sagredo, 1987; Font i Quer, edición de 1992].



FIG. 41. — *Capparis spinosa* :  
 Ssp. eu-spinosa ; var. genuina ; A, Rameau fleuri ; B, Baie ; var.  
 rupestris ; C, Rameau fleuri ; D, Baies et graines.

*Capparis spinosa*, subsp. *eu-spinosa*.

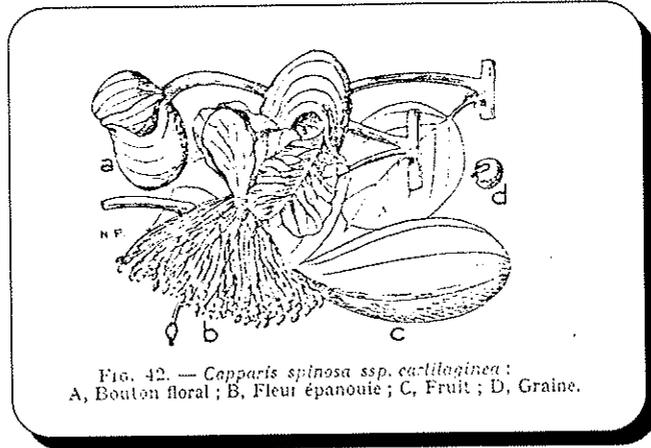


FIG. 42. — *Capparis spinosa* ssp. *cartilaginea* :  
 A, Bouton floral ; B, Fleur épanouie ; C, Fruit ; D, Graine.

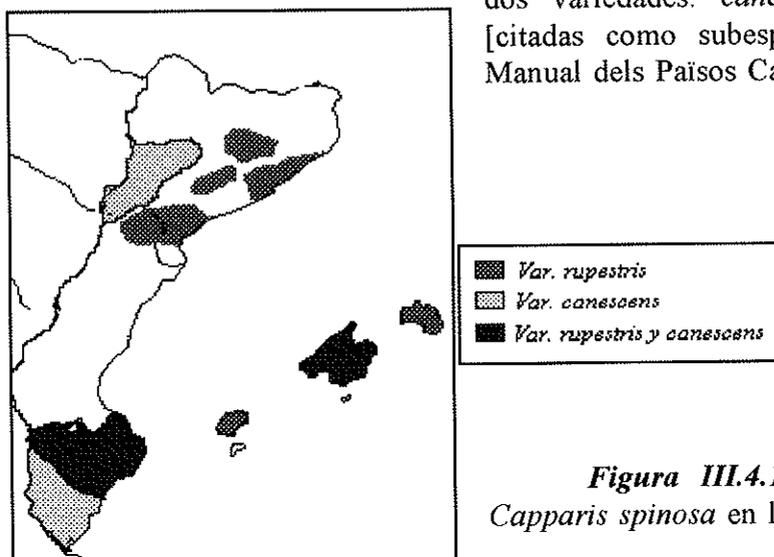
*Capparis spinosa*, subsp. *cartilaginea*.

Respecto al hábitat, se localiza en rocas y baldíos del litoral. En general, crece en terrenos calcáreos, arcillosos, áridos y soleados. A menudo, la encontramos en peñascos, en los muros de los viejos castillos, torres e iglesias, en las murallas, etc. En las montañas se eleva hasta los 2000 m.

Como ejemplo de lo anterior, comentar que la alcaparra nos visita muy próxima a nuestra ubicación, ya que en los viejos muros del Monasterio de Pedralbes se pueden distinguir algunos ejemplares de esta especie.

Pero, además, nos encontramos ante una especie que es extensamente cultivada, lo que condiciona directamente su propia distribución geográfica.

Es típica de la región mediterránea. De forma general, se distribuye por el Sur de Europa, Norte de África, Suroeste de Asia y Canarias. En los Países Catalanes, se encuentra la representación e dos variedades: *canescens* y *rupestris*, [citadas como subespecies en la Flora Manual dels Països Catalans].



**Figura III.4.1.-** Localización de *Capparis spinosa* en los Países Catalanes.

La principal diferencia entre estas dos subespecies se refiere a la presencia o no de espinas. La *canescens* posee estípulas en espina, vive en suelos extremadamente áridos y soleados, en territorios mediterráneos de tendencia estépica, en Cataluña está en el territorio sicórico (Segrià, Baix Cinca). La *rupestris* es una planta no espinosa, que aparece en las paredes viejas soleadas de regiones mediterráneas marítimas. La encontramos en las comarcas litorales (del Rosellón al Baix Ebre), penetra hasta el Bages y en l'Alt Camp.

Se conoce la presencia de quercetina y de kempferol, de rutina, pectina y saponinas. Los poliprenoles homólogos capaprenol-12, capaprenol-13 y capaprenol-14, con 12, 13 y 14 isoprenos unidos respectivamente, se aislaron mediante HPLC del extracto alcohólico de las hojas de *Capparis spinosa*. Únicamente el segundo de los citados se obtuvo en cantidad suficiente para valorar *in vivo* la actividad antiinflamatoria, utilizando el método experimental

del edema inducido por carragenina. El resultado fue de un 44% de inhibición respecto al 67% para la oxifenbutazona como control activo. Esta fue la primera publicación que atribuye tal actividad a poliprenoles. El extracto etanólico se había valorado a una dosis de 500 mg/Kg y mostró un 40% de inhibición respecto un 71% para el control activo valorada a 100 mg/Kg.

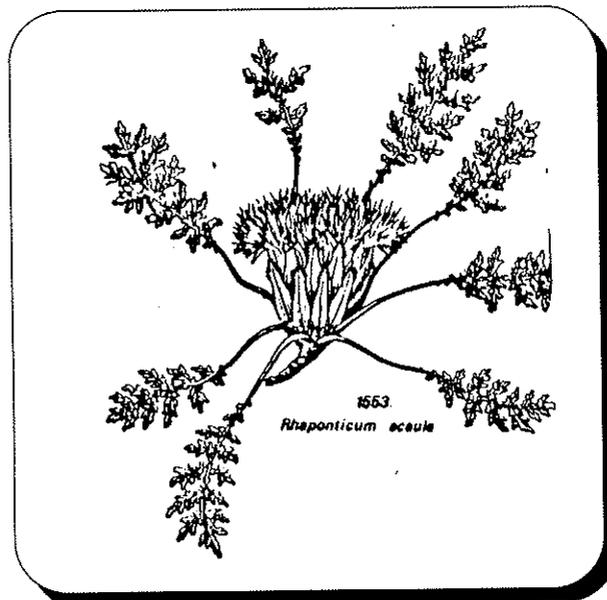
De las hojas y de las raíces se han identificado cuatro tipos de glucosinolatos [Schraudolf, 1989]. En orden decreciente de concentración se encontraron: 1-metoxi-3-indolil-metilglucosinolato, 4-metoxi-3-indolilmetilglucosinolato, 3-indolil-metilglucosinolato y únicamente trazas de 4-hidroxi-3-indolil-metilglucosinolato.

Brevard y col. (1992) identificaron 165 compuestos volátiles de los frutos considerados reponsables de las propiedades organolépticas. Destacan azufre, tiocianatos, isotiocianatos y el producto de la oxidación de éstos.

*Capparis spinosa* es una importante planta en la Medicina Tradicional egipcia. Es usada en el tratamiento de enfermedades con daño hepático. La actividad antihepatotóxica, del extracto acuoso de ciertas partes aéreas de esta especie, fue valorada de forma positiva por N. El Tanbouly y col. (1989).

### **III.5.- *Rhaponticum acaule* (L.) Dc.**

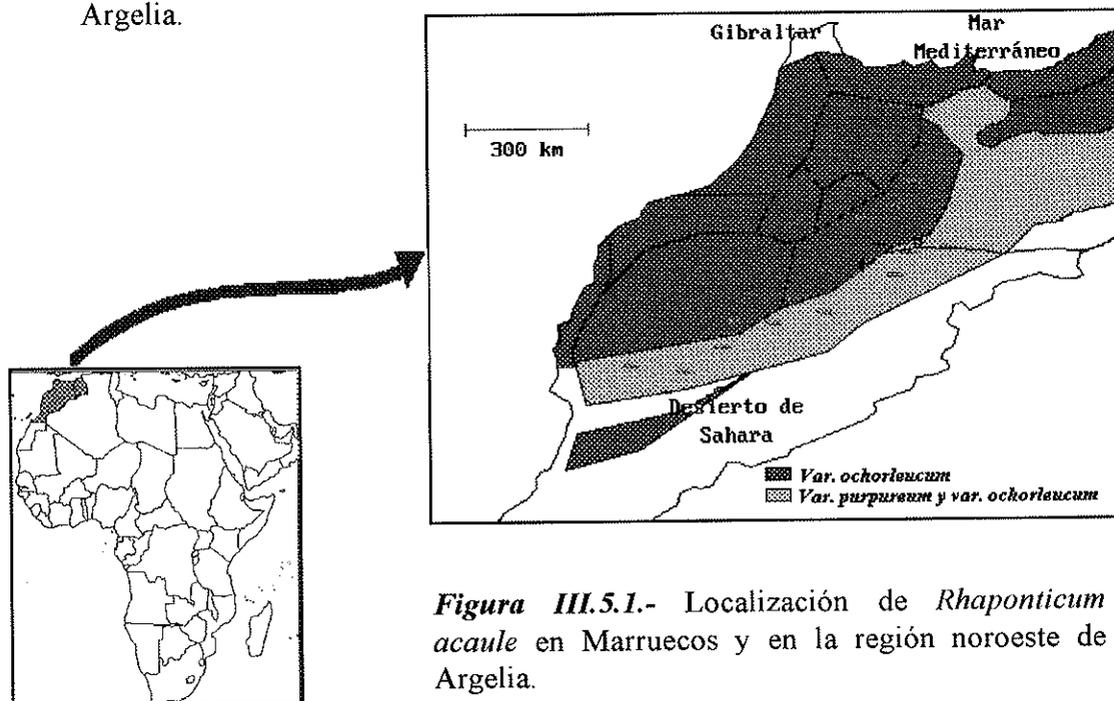
Dentro de la sinonimia se incluye el nombre *Centaurea chamaerhaponticum* Ball. Como nombres populares destacan: Alcachofa salvaje; El-rhorcheff; Tafraït (en Argelia). Pertenece a la familia de las Asteráceas. *Rhaponticum acaule* es una planta vivaz y acaule. Hojas grandes, de 10 a 15 cm de longitud, incluso hasta 20 cm, dispuestas en forma de roseta basal; verdes y con pilosidad doble y corta por el envés, blancas tomentosas por la cara inferior. Estas hojas son coriáceas, las primeras, en ocasiones enteras, obovadas u oblongas, y el resto pinnatisectas. Presenta un gran capítulo solitario, de 5 a 8 cm de diámetro, sésil, en el centro de la roseta. Brácteas involucrales lineares, provistas en el vértice de un apéndice escarioso, estrechamente marginado en el borde y lacerado. El receptáculo del capítulo es carnoso (siendo consumido como alcachofa) y velludo. Las flores tubulosas, que sobrepasan el involucro, son hermafroditas, con los estambres libres, y desprenden un delicado olor a clavel. Los aquenios son angulosos, grandes y cilíndricos, con un penacho de numerosos pelos rojizos. [Quezel & Santa, 1962; Maire & Jahandiez, 1934; Pottier-Alapetite, 1979].



Representación esquemática de *Rhaponticum acaule*, en la que se puede apreciar el único capítulo solitario, las hojas en roseta basal y una ligera visión del rizoma.

Se encuentra en campos argilo-calcareos. Pendientes de las colinas y lugares arenosos. Geográficamente se localiza en : Marruecos (Tadla y al Sur de Oum-er-Rbia); es común en el Norte y en la región media de Túnez. En general, en África del Norte, hasta Libia.

En el mapa de la figura III.5.1 se muestra la localización general de las dos variedades citadas de *Rhaponticum acaule*, en el territorio marroquí y en la parte noroeste de Argelia.



**Figura III.5.1.-** Localización de *Rhaponticum acaule* en Marruecos y en la región noroeste de Argelia.

#### IV.- OBTENCIÓN DE LAS DROGAS VEGETALES.-

Las drogas vegetales fueron adquiridas en Marruecos, por lo que llegaron ya desecadas al laboratorio de la Unidad.

La primera búsqueda para la obtención de las drogas se basó en la bibliografía conseguida en Rabat y en criterios personales de algunos miembros de la Unidad de Farmacognosia, de la Facultad de Farmacia de Rabat. A continuación, con ayuda de la supervisión del Dr. P. Jana (miembro del Hospital Militar Avicenne de Marrakech), se adquirieron las drogas en mercados de Marrakech. El Dr. P. Jana aportó información para la selección y colaboró en la identificación.

En la ciudad de Rabat, el Dr. Bellakhdar Jamal, presidente de la Asociación Marroquí de Farmacognosia de Estudios Etnomédicos y de Botánica Aplicada, confirmó la identificación de todas las drogas vegetales.

En el laboratorio de la Unidad de Farmacología y Farmacognosia, de la Facultad de Farmacia, de la Universidad de Barcelona, se conservan muestras testimonio de las cinco drogas vegetales estudiadas en este trabajo.

#### V.- ELABORACIÓN DE EXTRACTOS.-

Para la detección experimental de la actividad de la droga obtendremos tres tipos de extractos, utilizando disolventes de diferente polaridad.

Los tres tipos de extractos investigados son: acuoso, etanólico y clorofórmico. Precisamente por esta polaridad diferente los compuestos que contendrán estos tres tipos de extractos no serán coincidentes absolutamente. Con la extracción acuosa conseguimos el extracto de características más polares, algo menos lo será el extracto etanólico y, en cambio, el extracto clorofórmico poseerá características apolares.

Todos los extractos se conservarán en el frigorífico tras su elaboración.

**1. EXTRACTO ACUOSO:** La decocción acuosa es, fundamentalmente, el método de administración de estas drogas en la Medicina Tradiciona.

Se preparó una decocción acuosa. Partimos de 25 gramos de la droga pulverizada. Se realiza la decocción en un matraz con 500 ml, utilizando una manta calefactora y un tubo refrigerante.

Una vez en ebullición, se mantiene durante 30 minutos. Después, se deja enfriar a temperatura ambiente y se filtra. El extracto acuoso, que se concentra con el rotavapor, es liofilizado.

**2. EXTRACTO ALCOHÓLICO:** Se ha usado una maceración de la droga pulverizada en etanol absoluto, sometiéndolo a agitación continua.

Partimos de 25 gramos de droga pulverizada. Esta cantidad se coloca en un erlemmeyer con 250 ml de etanol absoluto. Esta extracción se repite tres días, y en cada uno de ellos se filtra el extracto, guardándose el líquido obtenido, y volviendo a sumergir el marco en maceración en el mismo volumen de etanol absoluto.

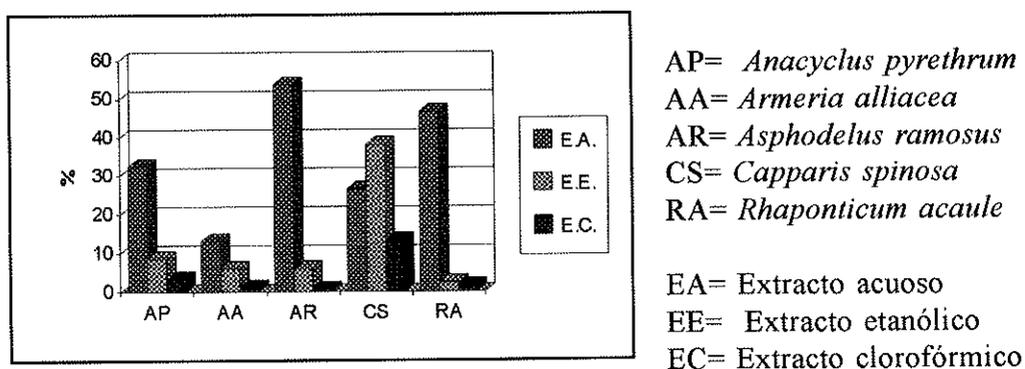
Reunidas todas las fracciones extraídas se evaporan, con ayuda del rotavapor, a residuo seco. Se redisuelve con agua destilada y se liofiliza.

**3. EXTRACTO CLOROFÓRMICO:** Realizamos la extracción mediante un Soxhlet. Después de unas doce horas y tras observar que el líquido de extracción queda ya incoloro, se concentra con el rotavapor. El extracto se traspasa a un vial previamente tarado. Seguidamente, y con objeto de evaporar totalmente el cloroformo utilizamos una corriente de nitrógeno.

En la tabla V.1 se muestran los rendimientos obtenidos en las diferentes extracciones.

ESPECIES VEGETALES	Extracto acuoso	Extracto etanólico	Extracto clorofórmico
<i>Anacyclus pyrethrum</i>	32,48%	8,48%	3,20%
<i>Armeria alliacea</i>	13,14%	5,92%	1,12%
<i>Asphodelus ramosus</i>	53,64%	5,94%	0,52%
<i>Capparis spinosa</i>	26,44%	38,18%	13,2%
<i>Rhaponticum acaule</i>	46,6%	2,28%	1,4%

**Tabla V.1.-** Resultados de los rendimientos obtenidos para los tres tipos de extractos elaborados de cada especie vegetal.



**Figura V.1.-** Gráfico representativo de los porcentajes de los extractos para cada especie, donde contrasta la gran diferencia entre acuosos y clorofórmicos. Siedo el etanólico de CS el que más destaca del resto de extractos alcohólicos.

## VI.- PROTOCOLO DE LOS MÉTODOS EXPERIMENTALES.-

### VI.1.- EDEMA INDUCIDO POR ÁCIDO ARAQUIDÓNICO EN OREJA DE RATÓN.-

#### VI.1.1.- MATERIAL E INSTRUMENTAL.-

**VI.1.1.1.- ANIMALES:** Los experimentos se han realizado con ratones macho, Swiss-Albino, de aproximadamente 20 g de peso, procedentes de Interfauna; en ayunas desde 18 horas y con agua "ad libitum".

Antes de realizar el experimento, los animales permanecieron, como mínimo, cinco días estabulados en la Facultad de Farmacia, con ciclos de luz/oscuridad de 12 horas y con control de la temperatura.

**VI.1.1.2.- EXTRACTOS VEGETALES:** Se ha valorado la actividad de los extractos etanólicos y clorofórmicos. La valoración de los extractos acuosos no se ha efectuado debido a los problemas de solubilización en un líquido suficientemente orgánico como para que mojase la superficie de la oreja.

**VI.1.1.3.- ÁCIDO ARAQUIDÓNICO:** Es el agente flogógeno que da nombre a la prueba. El producto, procedente de Sigma, tenía una riqueza del 90% y se ha empleado disuelto en acetona, a una concentración de 100 mg/ml.

**VI.1.1.4.- DISOLVENTES Y VEHÍCULOS:** Para disolver los extractos etanólicos y como vehículo para el grupo control, se ha usado etanol absoluto. Para los extractos clorofórmicos se utilizó alcohol isopropílico.

**VI.1.1.5.- MICROPIPETAS** (10 microlitros)

**VI.1.1.6.- PINZAS Y TIJERAS DE DISECCIÓN**

**VI.1.1.7.- BALANZA ANALÍTICA**

### VI.1.2.- METODOLOGÍA.-

En el inicio de la prueba, los animales son pesados y distribuidos en jaulas de manera individual. Los animales se asignan a cada grupo de tratamiento mediante partición al azar equilibrada. La homogeneidad de los grupos antes del tratamiento es analizada mediante ANOVA. Se trabaja con dos grupos de tratamiento, de 10 animales cada uno. El primero está constituido por los ratones control y el segundo por los ratones tratados con el producto problema. En el desarrollo del método se utilizó indometacina como tratamiento para el grupo control activo de referencia.

Aunque el aprovechamiento de los recursos materiales es, en principio, mayor colocando varios animales en cada jaula, se optó por colocarlos individualmente, tras apreciarse que, en ocasiones, algunos extractos provocaban que los ratones se lamieran, entre ellos, el extracto aplicado, interfiriendo, de esta forma, en los resultados.

Las jaulas de los diferentes grupos de tratamiento se ordenan alternativamente. A cada ratón se le aplican 10 microlitros del tratamiento que le corresponde en la cara externa de la oreja derecha, procurando un reparto homogéneo. Se repite el proceso aplicando otros 10 microlitros sobre la cara interna de la misma oreja.

Transcurridos 30 minutos, se aplican, a cada uno de los animales, 10 microlitros de una solución acetónica de ácido araquidónico (100 mg/ml) sobre la cara externa de la oreja derecha, y otros 10 microlitros sobre la interna.

A los 60 minutos de la aplicación del ácido araquidónico, los animales se sacrifican por dislocación cervical. Tras ello, se cortan las orejas derecha (tratada) e izquierda (no tratada) de cada animal. Los cortes se efectúan según un criterio homogéneo, como es el de seguir la línea del crecimiento del pelo. A continuación, con ayuda de un trépano, se obtienen unos círculos, de igual área, de las orejas.

El cálculo del incremento de peso entre la oreja derecha respecto de la izquierda es indicativo de la inflamación de la oreja de cada animal. Y la media de los incrementos de peso muestra la inflamación para cada grupo de tratamiento. El porcentaje de inhibición se calcula respecto al control.

## VI.2.- EDEMA INDUCIDO POR CARRAGENINA EN LA REGIÓN SUBPLANTAR DE LA RATA.-

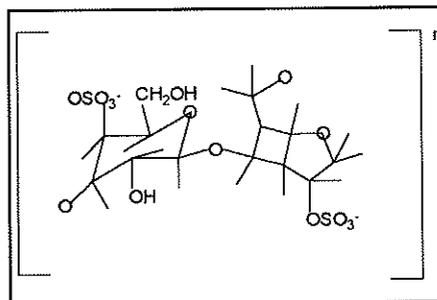
### VI.2.1.- MATERIAL E INSTRUMENTAL.-

**VI.2.1.1.- ANIMALES:** Los experimentos se han realizado con ratas hembra, Wistar, de unos 120 a 160 g de peso, procedentes de Letica; en ayunas desde 18 horas y con agua "ad libitum".

Antes de realizar el experimento, los animales permanecieron, como mínimo, cinco días estabulados en la Facultad de Farmacia, con ciclos de luz/oscuridad de 12 horas y con control de la temperatura.

**VI.2.1.2.- CARRAGENINA:** Se ha utilizado iota-carragenina de Fluka AG como **agente flogógeno**. La carragenina, al igual que el agar, es un polisacárido de naturaleza fibrosa que se obtiene a partir de las algas rojas. De ellas se consiguen sustancias muy similares químicamente y empleadas indiferentemente bajo la denominación de carrageninas. Según el grado de sulfatación se han definido los grupos existentes de carrageninas: iota ( $\iota$ ), kappa ( $\kappa$ ), lambda ( $\lambda$ ), mu ( $\mu$ ) y nu ( $\nu$ ); las dos últimas se han definido como los precursores biológicos respectivos de las dos primeras, [Bodeau-Bellion, 1983].

La principal hexosa de la carragenina es la D-galactosa con dos puentes en 1-2, posición  $\alpha$ , [Buchanan y col., 1943] y en 1-4, posición  $\beta$ , [Ress, 1979], con un grupo hidroxilo en C<sub>4</sub> esterificado por un ión sulfato, [Fohnstn y Percival, 1950]. Una estructura propuesta por Anderson y col. (1943) es la que se muestra en la figura de la derecha. Las carrageninas iota son las que poseen una mayor capacidad para provocar la formación de quininas en el plasma de rata *in vitro*, [J. Damas, 1980].



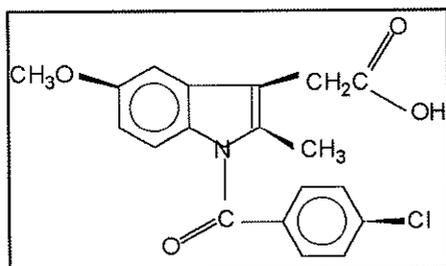
Para conseguir la suspensión de carragenina al 1% utilizamos:

iota-Carragenina .....	0,050 g
Suero fisiológico .....	5 ml

**VI.2.1.3.- DISOLVENTES Y VEHÍCULOS:** Para la valoración de los extractos acuoso y etanólico se ha empleado agua destilada como disolvente y como vehículo (administrado en los animales control). Para los extractos clorofórmicos se ha utilizado una mezcla de agua destilada (90%), Tween 80 (de Acofarma) (5%) y etanol purísimo (5%).

La concentración obtenida de la disolución de los extractos es de 20 mg/ml.

**VI.2.1.4.- CONTROL ACTIVO:** Se ha usado una solución de **INDOMETACINA**, a partir de la sal sódica (obtenida al agregar  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), como control activo de referencia, a una dosis de 3 mg/Kg.  $\text{q.tal}$  y como se aprecia en la figura, la indometacina es un derivado metilado del indol. Posee propiedades analgésicas, antipiréticas y es un antiinflamatorio muy potente.



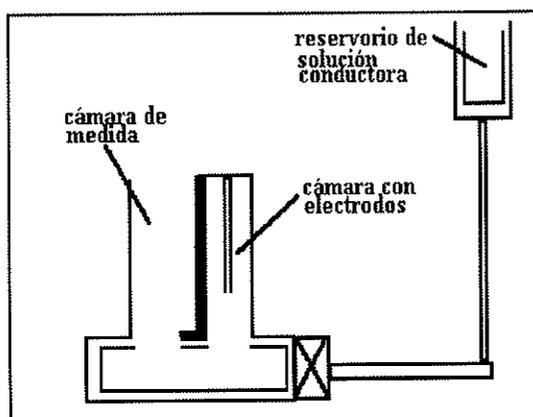
**Figura VI.2.1.2.-** Estructura química de la indometacina.

**VI.2.1.5.- EXTRACTOS.-** Se han valorado los extractos acuoso, etanólico y clorofórmico de cada droga vegetal. La dosis administrada es de 100 mg/Kg.

**VI.2.1.6.- SUERO FISIOLÓGICO:**

NaCl ..... 0,9 g  
 Agua destilada c.s.p..... 100 ml

**VI.2.1.7.- PLETISMÓMETRO DIGITAL DE AGUA:** (LI7500 de Leticia). Se trata de un instrumento diseñado para la medición de volúmenes de líquido. El pletismómetro mide el volumen de líquido que es desplazado cuando se introduce en la célula un objeto cuyo volumen interesa conocer. La introducción de este objeto produce una modificación de nivel que cambia proporcionalmente la conductividad medida entre dos electrodos de platino presentes en ella. El aparato indica directamente el volumen (en mililitros), derivando este valor de los cambios de la conductividad.



**Figura 3.-** Diagrama del transductor del volumen del pletismómetro: dispone de dos recipientes conectados entre sí. El primero de ellos, de mayor volumen, es utilizado para la introducción del objeto cuyo volumen se desea determinar. En el segundo, están situados los electrodos de platino que permiten la medición de la conductividad.

**VI.2.1.8.- SOLUCIÓN SALINA:** Se trata de la solución conductora necesaria para llenar el conjunto del sistema de medición del pletismómetro. Y ha sido preparada con NaCl (0,1% p/v) y como tensoactivo, SOLUGREEN (0,15% p/v), que es biodegradable, a diferencia del TRITON X100 (siendo éste último el aconsejado por Letica en las instrucciones del pletismómetro).

### VI.2.2.- METODOLOGÍA.-

En primer lugar, los animales se pesan y se distribuyen en grupos de seis por partición al azar equilibrada. La homogeneidad de los grupos antes del tratamiento es analizada mediante ANOVA. El volumen inicial ( $V_0$ ) se mide usando el pletismómetro digital descrito anteriormente. Los animales se hidratan por vía oral (2ml/Kg de agua destilada) una hora antes de provocar la inflamación. Con ello se pretende que todos los animales se encuentren suficiente y homogéneamente hidratados durante el experimento.

El tratamiento se administra transcurrida media hora de la hidratación. Los animales control reciben el vehículo, los animales tratados con control activo reciben indometacina (3 mg/Kg) y los animales tratados reciben el extracto (100 mg/Kg).

Una hora después de la hidratación, se efectúa la inyección subcutánea de la carragenina (0,1 ml de suspensión de iota-carragenina al 1%) en la región subplantar de la pata posterior izquierda de la rata.

A la 1, 2, 3, 4 y 5 horas después de la inyección de carragenina se mide, con el pletismómetro, el volumen de la pata tratada de cada animal.

La diferencia del Volumen inicial y final nos indica el *Volumen de Inflamación*. El *Porcentaje de Inhibición*, producido por cada extracto y el de la propia indometacina, ha sido calculado en comparación con el control.

## VII. RESULTADOS.-

A continuación, se resumen los resultados del estudio de la actividad antiinflamatoria de los extractos investigados mediante los dos métodos experimentales propuestos. Los sucesivos apartados se organizan por especies vegetales.

En las tablas, se indica el porcentaje de inhibición. Este valor informa sobre el grado de protección frente a la inflamación, provocada por la inyección de carragenina o la aplicación tópica de ácido araquidónico. Las diferencias entre los diferentes grupos se consideran significativas cuando  $P < 0,05$ . Las siglas N.S. indican diferencias estadísticamente no significativas.

El texto se ilustra con algunos gráficos que ayudan a la comparación de la evolución, de todos los grupos en el desarrollo de la experiencia.

Las diferencias entre los grupos tratados y los controles han sido determinadas por el *Análisis de la Variancia* seguido del método de *Scheffé*. Los datos han sido calculados con la ayuda del paquete estadístico de software SPSS (versión 5.0) para Windows .

**RESULTADOS.**

**VII.1.- RESULTADOS DEL MODELO DEL EDEMA INDUCIDO POR ÁCIDO ARAQUIDÓNICO EN OREJA DE RATÓN.-**

ESPECIES VEGETALES	EXTRACTO ETANÓLICO		EXTRACTO CLOROFÓRMICO	
	INHIBICIÓN	SIG.	INHIBICIÓN	SIG.
<i>Anacyclus pyrethrum</i>	53,07	p<0,005	56,84	p<0,001
<i>Armeria alliacea</i>	18,90	N.S.	48,89	p<0,05
<i>Asphodelus ramosus</i>	37,20	p<0,05	54,04	p<0,01
<i>Capparis spinosa</i>	27,98	N.S.	38,04	p<0,005
<i>Rhaponticum acaule</i>	40,47	p<0,01	52,13	p<0,01

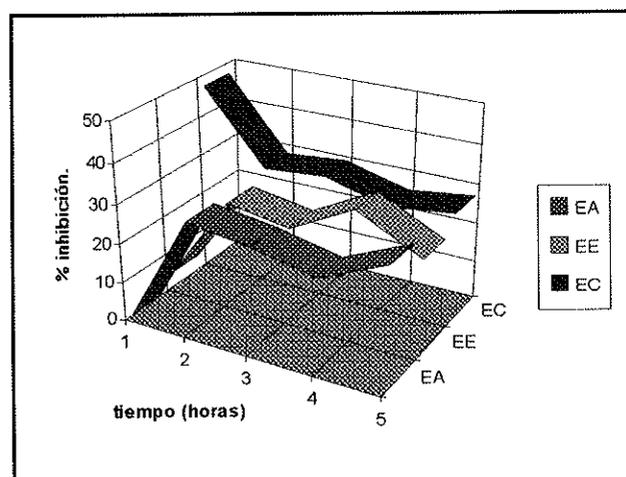
*Tabla VII.1.1.-* Efecto de la aplicación tópica de los extractos etanólico y clorofórmico de *Anacyclus pyrethrum*, *Armeria alliacea*, *Asphodelus ramosus*, *Capparis spinosa* y *Rhaponticum acaule* en la prueba del edema inducido por ácido araquidónico en ratón. El extracto fue administrado a una dosis de 150 mg/Kg. En cada grupo se emplearon 10 animales. Sig= Nivel de significación. N.S.= Estadísticamente no significativo.

**VII.2.- RESULTADOS DEL MODELO DEL EDEMA INDUCIDO PRO CARRAGENINA EN LA REGIÓN SUBPLANTAR DE RATA.-**

	<i>Anacyclus pyrethrum</i>					
	EXTRACTO ACUOSO		EXTRACTO ETANÓLICO		EXTRACTO CLOROFORM	
	%INH.	SIG.	%INH.	SIG.	%INH.	SIG.
1ª HORA	0	N.S.	3,93	N.S.	47,14	N.S.
2ª HORA	28,44	N.S.	26,25	P<0,05	28,89	N.S.
3ª HORA	26,31	N.S.	23,73	P<0,05	30,30	P<0,05
4ª HORA	22,87	N.S.	32,15	P<0,01	26,12	P<0,05
5ª HORA	30,34	P<0,05	24,11	N.S.	28,26	P<0,05
TOTAL	26,08	P<0,05	24,95	P<0,05	29,75	P<0,05

*Tabla VII.2.1.* Efecto de los extractos acuoso, etanólico y clorofórmico de *Anacyclus pyrethrum* en la prueba de la inflamación inducida por carragenina en rata. El extracto fue administrado a una dosis de 100 mg/Kg. En cada grupo se emplearon 6 animales.

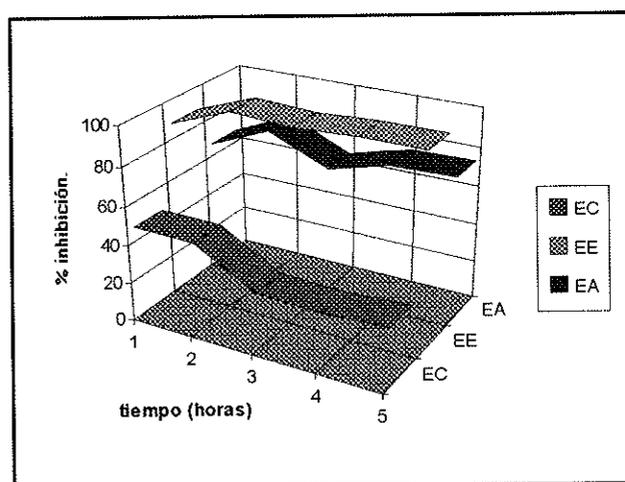
*Figura VII.2.1.* Evolución en el tiempo de la inhibición observada para los tres tipos de extractos de *Anacyclus pyrethrum*. EA= Extracto acuoso; EE= Extracto etanólico; EC= Extracto clorofórmico.



	<i>Armeria alliacea</i>					
	EXTRACTO ACUOSO		EXTRACTO ETANÓLICO		EXTRACTO CLOROFORMO	
	%INH.	SIG.	%INH.	SIG.	%INH.	SIG.
1ª HORA	66,36	p<0,01	88,21	p<0,001	47,34	N.S.
2ª HORA	79,38	p<0,001	99,86	p<0,001	46,99	P<0,01
3ª HORA	66,20	p<0,001	98,10	p<0,001	29,38	P<0,05
4ª HORA	74,53	p<0,001	100	p<0,001	28,37	P<0,05
5ª HORA	75,37	p<0,001	100	p<0,001	30,57	P<0,05
TOTAL	72,99	p<0,001	100	p<0,001	34,17	P<0,05

**Tabla VII.2.2.** Efecto de los extractos acuoso, etanólico y clorofórmico de *Armeria alliacea* en la prueba de la inflamación inducida por carragenina en rata. El extracto fue administrado a una dosis de 100 mg/Kg. En cada grupo se emplearon 6 animales.

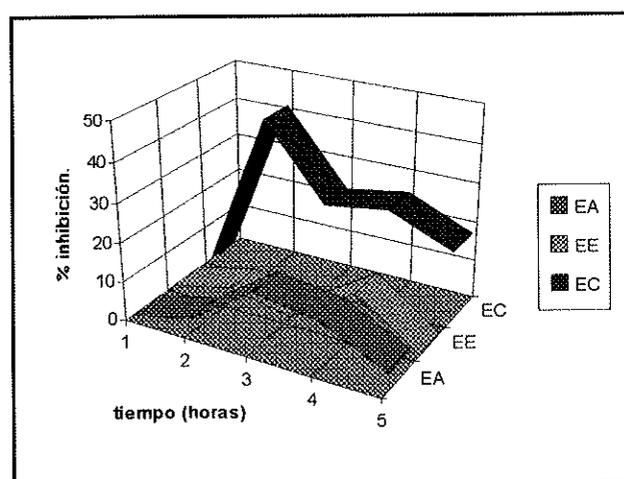
**Figura VII.2.2.** Evolución en el tiempo de la inhibición observada para los tres tipos de extractos de *Armeria alliacea*. EA= Extracto acuoso; EE= Extracto etanólico; EC= Extracto clorofórmico.



	<i>Asphodelus ramosus</i>					
	EXTRACTO ACUOSO		EXTRACTO ETANÓLICO		EXTRACTO CLOROFORM	
	%INH.	SIG.	%INH.	SIG.	%INH.	SIG.
1ª HORA	0	N.S.	0	N.S.	0,09	N.S.
2ª HORA	3,72	N.S.	3,75	N.S.	<b>41,72</b>	<b>p&lt;0,05</b>
3ª HORA	14,89	N.S.	0,58	N.S.	22,68	N.S.
4ª HORA	12,70	N.S.	11,02	N.S.	<b>25,25</b>	<b>p&lt;0,05</b>
5ª HORA	4,72	N.S.	0	N.S.	18,40	N.S.
TOTAL	7,16	N.S.	2,37	N.S.	23,57	N.S.

**Tabla VII.2.3.** Efecto de los extractos acuoso, etanólico y clorofórmico de *Asphodelus ramosus* en la prueba de la inflamación inducida por carragenina en rata. El extracto fue administrado a una dosis de 100 mg/Kg. En cada grupo se emplearon 6 animales.

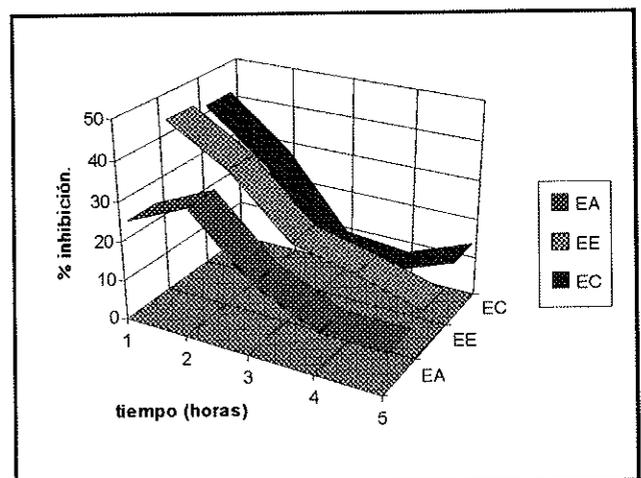
**Figura VII.2.3.** Evolución en el tiempo de la inhibición observada para los tres tipos de extractos de *Asphodelus ramosus*. EA= Extracto acuoso; EE= Extracto etanólico; EC= Extracto clorofórmico.



	<i>Capparis spinosa</i>					
	EXTRACTO ACUOSO		EXTRACTO ETANÓLICO		EXTRACTO CLOROFORM	
	%INH.	SIG.	%INH.	SIG.	%INH.	SIG.
1ª HORA	24,21	N.S.	43,46	N.S.	41,78	N.S.
2ª HORA	31,17	N.S.	<b>34,02</b>	<b>p&lt;0,05</b>	29,00	N.S.
3ª HORA	16,43	N.S.	19,30	N.S.	10,30	N.S.
4ª HORA	9,02	N.S.	15,46	N.S.	8,79	N.S.
5ª HORA	8,88	N.S.	10,77	N.S.	14,98	N.S.
TOTAL	16,35	N.S.	21,16	N.S.	17,28	N.S.

**Tabla VII.2.4.** Efecto de los extractos acuoso, etanólico y clorofórmico de *Capparis spinosa* en la prueba de la inflamación inducida por carragenina en rata. El extracto fue administrado a una dosis de 100 mg/Kg. En cada grupo se emplearon 6 animales.

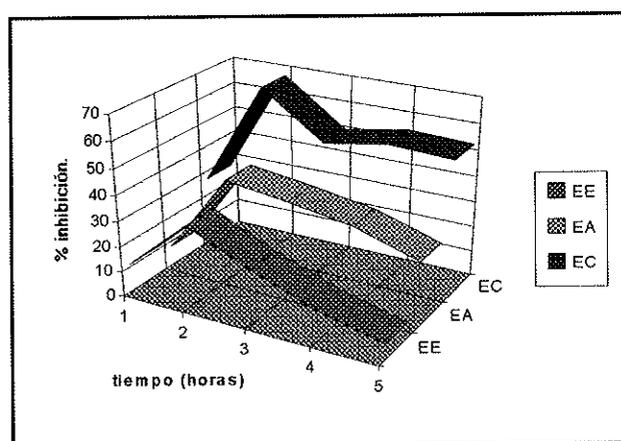
**Figura VII.2.4.** Evolución en el tiempo de la inhibición observada para los tres tipos de extractos de *Capparis spinosa*. EA= Extracto acuoso; EE= Extracto etanólico; EC= Extracto clorofórmico.



	<i>Rhaponticum acaule</i>					
	EXTRACTO ACUOSO		EXTRACTO ETANÓLICO		EXTRACTO CLOROFORM	
	%INH.	SIG.	%INH.	SIG.	%INH.	SIG.
1ª HORA	7,86	N.S.	11,23	N.S.	26,73	N.S.
2ª HORA	40,21	p<0,02	32,42	p<0,05	67,56	p<0,002
3ª HORA	37,07	p<0,02	21,39	N.S.	50,63	p<0,001
4ª HORA	33,15	p<0,05	12,35	N.S.	54,68	p<0,001
5ª HORA	25,35	N.S.	6,28	N.S.	53,64	p<0,001
TOTAL	31,15	p<0,01	16,97	N.S.	53,56	p<0,01

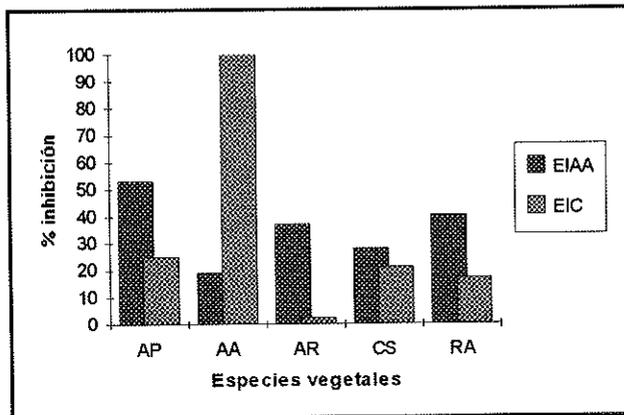
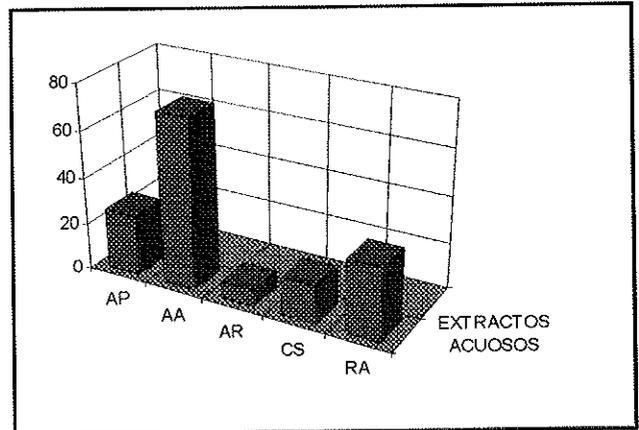
**Tabla VII.2.5.** Efecto de los extractos acuoso, etanólico y clorofórmico de *Rhaponticum acaule* en la prueba de la inflamación inducida por carragenina en rata. El extracto fue administrado a una dosis de 100 mg/Kg. En cada grupo se emplearon 6 animales.

**Figura VII.2.5.** Evolución en el tiempo de la inhibición observada para los tres tipos de extractos de *Rhaponticum acaule*. EA= Extracto acuoso; EE= Extracto etanólico; EC= Extracto clorofórmico.

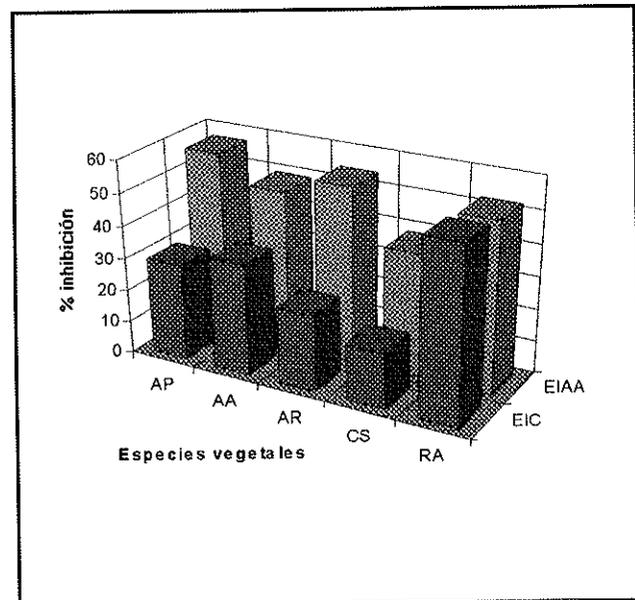


### VII.3.- COMPARACIÓN GRÁFICA DE RESULTADOS.-

Comparación de los porcentajes de inhibición de las cinco especies estudiadas y según los resultados de los dos modelos experimentales utilizado. Siendo EIC= Modelo del edema inducido por carragenina en rata; EIAA= Modelo del edema inducido por ácido araquidónico en ratón. AP= *Anacyclus pyrethrum*; AA= *Armeria alliacea*; AR= *Asphodelus ramosus*; CS= *Capparis spinosa* y RA= *Rhaponticum acaule*.



### EXTRACTOS ETANÓLICOS.



### EXTRACTOS CLOROFÓRMICOS.

## VIII.- DISCUSIÓN.

En el presente trabajo se ha estudiado la actividad antiinflamatoria de cinco especies vegetales. Estas cinco plantas, *Anacyclus pyrethrum*, *Armeria alliacea*, *Asphodelus ramosus*, *Capparis spinosa* y *Rhaponticum acaule* pertenecen a la Medicina Tradicional de poblaciones marroquíes, aunque también se utilizan en otras regiones.

Las drogas vegetales se han seleccionado bajo un criterio etnofarmacológico y proceden de muestras de los mercados de Marrakech. En estos mercados se comercia habitualmente con drogas de interés terapéutico. La selección de las plantas se efectuó atendiendo al criterio de que estuviesen indicadas para el tratamiento de afecciones que cursasen con algún tipo de proceso inflamatorio.

Se han valorado los extractos acuoso, etanólico y clorofórmico. Estos tres tipos de extractos cubren un amplio espectro de polaridades de posibles principios activos extraídos. Los métodos experimentales utilizados para la determinación de la posible actividad antiinflamatoria han sido el modelo del edema inducido por ácido araquidónico en oreja de ratón (EIAA) y el edema producido por carragenina en la región subplantar de la rata (EIC).

Los métodos experimentales se han elegido en coherencia con el objetivo de este trabajo, es decir, con el objeto de detectar actividad antiinflamatoria en extractos vegetales. Los modelos, en consecuencia, no son idóneos para establecer los mecanismos de acción de los principios activos implicados en el efecto antiinflamatorio. Así, al tratarse de modelos "in vivo", fenómenos sistémicos tales como el efecto contrairritante o la activación adrenal, o locales como el curtiente por taninos, pueden intervenir en las actividades farmacológicas encontradas. Pese a ello, el hecho de que un mismo extracto sea activo en un modelo y no en el otro sugiere un mecanismo de acción antiinflamatoria diferente y permite una primera aproximación al conocimiento de los posibles mecanismos implicados.

El método del edema inducido por carragenina es efectivo para la detección de los inhibidores de la ciclooxigenasa. En cambio, el método del edema inducido por ácido araquidónico no es adecuado para detectar a los inhibidores "puros" de la ciclooxigenasa y sí lo es, por el contrario para los inhibidores de la lipoxigenasa o los inhibidores mixtos de ésta y de la ciclooxigenasa.

Todas las plantas investigadas contienen principios con actividad antiinflamatoria. En una de ellas (*Anacyclus pyrethrum*), esta actividad se detecta en los tres tipos de extracto y mediante los dos modelos experimentales. En las restantes plantas (*Armeria alliacea*, *Asphodelus ramosus*, *Capparis spinosa* y *Rhaponticum acaule*), la actividad antiinflamatoria sólo es significativa en algunos de los extractos y/o modelos de medición empleados.

Por el método del edema inducido por ácido araquidónico, todos los extractos clorofórmicos han mostrado actividad antiinflamatoria significativa, sobre todo los de *Anacyclus pyrethrum*, *Asphodelus ramosus* y *Rhaponticum acaule* que superan el 50% de inhibición del edema. El extracto etanólico de *Anacyclus pyrethrum* también supera el 50% de inhibición. De hecho, el único extracto que no ha demostrado actividad antiinflamatoria de forma significativa ha sido el etanólico de *Capparis spinosa*, además del etanólico de *Armeria alliacea*, pero de este último extracto se explicarán más detalladamente las incidencias surgidas en la experimentación.

En cambio, en el método del edema inducido por carragenina, los resultados ofrecen más diversidad. Destacan los extractos etanólico y acuoso de *Armeria alliacea* por su alto porcentaje de inhibición, ya que el etanólico posee una inhibición del 100% con un alto grado de significación. Estos dos extractos mencionados y el clorofórmico de *Rhaponticum acaule* son los únicos que superan el 50% de inhibición. Los resultados de estos estudios también muestran que los tres extractos de *Anacyclus pyrethrum*, el acuoso de *Rhaponticum acaule* y el clorofórmico de *Armeria alliacea* también poseen actividad antiinflamatoria significativa.

La indometacina a dosis de 3 mg/kg administrada por vía intraperitoneal se ha empleado como control activo en el modelo del edema inducido por carragenina. En el intervalo de medición de la inflamación (0-5 horas), el máximo efecto antiinflamatorio se presenta, en nuestras condiciones experimentales, hacia las 2-3 horas de la inyección de carragenina. Las diferencias halladas en la repetición de los experimentos son coherentes con los factores biológicos de variabilidad.

*Anacyclus pyrethrum* es la única especie vegetal en la que todos los extractos han presentado actividad antiinflamatoria significativa. En el EIC, la acción inhibitoria del extracto acuoso sobre la inflamación, aparece en la segunda hora de medida y se mantiene a lo largo del tiempo hasta la última medición. El extracto etanólico, en el EIAA, la inhibición es del 53%, y en el EIC es del 25% y comienza a ser significativa en la segunda hora tras la administración de la carragenina. Para el extracto clorofórmico se observa un 57% de inhibición en el EIAA y un 30% en el EIC; en esta última prueba la inhibición en la primera hora ya fue de un 47%, aunque los resultados no empiezan a ser estadísticamente significativos hasta la tercera hora de media, manteniéndose después. En todas las valoraciones, se destaca el paralelismo existente entre el comportamiento del grupo tratado con el extracto y el grupo control respecto los datos del volumen de inflamación.

Por otra parte, en la valoraciones mediante el método EIC se puede apreciar que los experimentos realizados en invierno (extracto acuoso y clorofórmico) muestran unos valores de inflamación, para el grupo control, bastante inferiores a los conseguidos en primavera (extracto etanólico). Estas observaciones coinciden con las ya referidas variaciones circanuales en la introducción teórica al método.

Existen datos sobre la valoración, por miembros de nuestra Unidad, con el método del edema inducido por aceite de Croton en la oreja de ratón. Tal es así que, el extracto etanólico presenta una inhibición del 58% (aplicados 1000 Ug/animal). El extracto clorofórmico mostraba una inhibición algo mayor, del 69% (1000 Ug/animal); también disponemos de los resultados a 500 Ug/animal y 250 Ug/animal, con inhibiciones del 57% y 51% respectivamente. Dado que con este método valoramos inhibidores de las vías de la ciclo y lipooxigenasa, los resultados están en perfecta concordancia con los presentados para el método EIAA, en el que los dos extractos eran activos, observándose, también, una mayor inhibición para el clorofórmico.

Estos resultados sugieren una acción inhibitoria de los principios activos sobre las dos vías del metabolismo del ácido araquidónico. Conclusión lógica tras apreciar unos valores de inhibición mayor a partir del modelo del ácido araquidónico. Además, en toda las pruebas, la del edema inducido por ácido araquidónico, por carragenina y por aceite de Croton, siempre se observa una mayor actividad para el extracto clorofórmico, aunque sólo son ligeras diferencias, por lo que no se contempla una gran diferencia en el comportamiento de los tres extractos.

Si nos interesa la actividad antiinflamatoria aún es más interesante si esta

droga también posee propiedades antimicrobianas, como lo demuestran algunos estudios. Además, se ha de considerar que algunos procesos inflamatorios son provocados por ciertas infecciones.

Pero como ya se reveló en el apartado de antecedentes II.2.1.2 el estudio de las semillas de *Anacyclus pyrethrum* muestra efectos teratogénicos en rata, y aunque en este trabajo se estudia la raíz no está de más tener presentes estos hechos en cualquier estudio posterior.

Los resultados obtenidos para *Armeria alliacea*, en el EIC, son excepcionales en comparación con la media general de los extractos valorados de otras plantas. El extracto etanólico mostró una inhibición del 100% frente a un 29% para la indometacina, los valores de inhibición para este grupo de control activo se mantuvieron siempre muy por debajo de los resultados del extracto. Este 100% de inhibición es un porcentaje mantenido de forma temporal desde la segunda hora tras la administración de carragenina. Además, la acción antiinflamatoria se observó de forma temprana, ya que en la primera hora de medida la inhibición era del 88%. Sin embargo, los resultados de este mismo extracto, en la prueba EIAA, indican una inhibición de un 19% no significativa, pero en este caso se ha de exponer un breve comentario. La metodología utilizada para la valoración de este extracto tuvo que sufrir algunas modificaciones. La causa de ello fue la siguiente observación: la solución del extracto, aplicado en la superficie de la oreja, no se repartía homogéneamente ni era absorbida en la totalidad; además de la tinción marrón característica de la oreja por la solución del tratamiento, dicha oreja adquiriría un aspecto peculiar y se le producía un efecto curtiente, probablemente por la presencia de taninos en el extracto. Estas observaciones se traducían en un aumento de peso de la oreja tratada que, incluso, sobrepasaba el peso de las orejas de los ratones del grupo control. De esta forma, para contrarrestar este efecto, de aumento de peso por el extracto, se aplicó la solución del extractos en ambas orejas, (derecha e izquierda), a la vez que se intentaba homogenizar el reparto de la solución por la superficie de la oreja. A pesar de todo ello, los resultados siempre se observarán con precaución ante las dificultades de absorción, para este extracto en concreto, en la prueba EIAA.

El extracto acuoso también muestra una marcada inhibición del edema inducido por carragenina, un 73% como media, y es mantenido de forma constante durante las cinco horas de valoración. Respecto al extracto clorofórmico muestra un 49% de inhibición en la prueba EIAA y un 34% para la prueba EIC, en este último caso, su acción disminuye a partir de la primera y segunda hora de medida (46-47%) donde fue máxima, aunque no llegó a disminuir por debajo del 28% y se mantuvo más o menos constante del 28 al

30%.

La inhibición de un 100% contemplada por un extracto inicial, sin haberlo sometido a ningún tipo de fraccionamiento es, sin duda, muy interesante para la continuación de valoraciones en estudios a posteriori. Hemos de considerar que, en el ensayo del edema inducido por carragenina, una elevada actividad antiinflamatoria aguda es una acción que se relaciona estrechamente con la eficacia antiinflamatoria de un compuesto en la terapéutica clínica, [Winter, 1965; Otternes y Gans, 1988].

Igualmente, como en el caso anterior, no podemos descartar la inhibición de ambas enzimas de las principales vías del metabolismo del ácido araquidónico y considerar la cierta incógnita respecto los resultados del extracto etanólico en la experiencia del edema inducido por ácido araquidónico.

De todas formas, existe una mayor decantación a considerar, dada la marcada deplección del edema inducido por carragenina, la inhibición de la ciclooxigenasa. Y al presentarse esta actividad en el extracto etanólico (100%) y un 73% para el acuoso, nos dirige a pensar en principios activos de una considerable polaridad.

Debido a esta elevada actividad, estas investigaciones justifican plenamente el uso de esta planta en el tratamiento de la inflamación.

Para *Asphodelus ramosus* todas las valoraciones de los extractos, realizadas con el modelo EIC, no han demostrado actividad antiinflamatoria significativa. Únicamente, el extracto clorofórmico presenta unos valores ligeramente inferiores al margen de significación. De hecho, destaca un 42% de actividad inhibitoria, estadísticamente significativa, y que se instaura repentinamente en la segunda hora de medida, dado que en la primera hora la inhibición es totalmente nula (0%).

El resto de los extractos muestran unos porcentajes de inhibición muy pequeños en todos los tiempos medidos. Incluso, la inflamación a lo largo del tiempo, para el extracto etanólico, es prácticamente idéntica a la observada para el grupo control.

Sin embargo, por el método EIAA, los extractos etanólico y clorofórmico presentan inhibiciones del 37% y 54% respectivamente. También, para esta especie se disponen de resultados por el modelo del edema inducido por aceite de Croton: 40% (1000 Ug/animal) para el extracto acuoso; 29% (1000 Ug/animal) para el etanólico y 51% (1000 Ug/animal) y 69% (500 Ug/animal)

para el clorofórmico. También, en este caso, existe una gran correlación con los resultados de ambas metodologías.

Así pues, en el caso de *Asphodelus ramosus*, la actividad no significativa en el método del edema inducido por carragenina no presupone una inhibición sobre la ciclooxigenasa, pero los resultados del ensayo con ácido araquidónico apuntan a una actuación sobre la lipooxigenasa. En un principio, pues, podemos considerar a sus principios activos como posibles inhibidores únicamente de la vía de la lipooxigenasa. La actividad antiinflamatoria se ve reforzada por los ensayos de esta droga en el método del edema inducido por aceite de Croton.

En los apartados de descripción de especies, ya se había señalado que *Asphodelus ramosus* y otras especies afines del mismo género se incluyen dentro de la denominación de Gamón. Éste es un término que lleva implícito el uso para afecciones inflamatorias. Se han dado citas en las que se enseña el proceder en la terapéutica, que desde muy antiguo, se viene realizando en muchas culturas populares.

Esta especie, por tanto, no alude sólo a la Medicina Tradicional norteafricana. En muchos pueblos peninsulares nos explicarían o relacionarían el uso de algún asfodelo en el tratamiento de la inflamación. Las investigaciones que se presentan en este trabajo demuestran, por experiencias in vivo, ese uso y sugieren un primer paso en la hipótesis del mecanismo de acción.

Por consiguiente, no es una especie desconocida sino que, desde las comunidades biológicas que forman parte del paisaje de allí donde se distribuye, hasta su composición química, es objeto de múltiples estudios. Aunque aún, no están bien definidos los límites que separarían algunas especies de otras, pero esto parece un dilema momentáneo ya que también se están realizando proyectos a este respecto.

De los extractos de *Capparis spinosa*, únicamente el clorofórmico presenta actividad antiinflamatoria, (38% de inhibición), en su valoración por el método EIAA. El resto no han mostrado actividad antiinflamatoria de forma significativa.

En la valoración del extracto etanólico, y en la primera hora de medida, se alcanzó un 43% de inhibición, en la prueba EIC, que fue desdendiendo en las horas sucesivas. Su inhibición global fue tan solo del 21%. Un comportamiento similar se observa para el extracto etanólico. A pesar de ello, prácticamente ninguno de estos valores son significativos según el procesado estadístico

efectuado.

*Capparis spinosa* tampoco es una especie desconocida, aunque más que la planta en sí, lo que se conoce es el llamado alcaparrón, el fruto de esta planta (la alcaparra), gracias a su consumo en la alimentación.

Este fruto no parece presentar capacidad para la deplección del edema inducido por carragenina en rata, lo que indica una no inhibición de la ciclooxigenasa. Tan solo el extracto clorofórmico, por la prueba del edema provocado por ácido araquidónico, muestra una ligera inhibición de la lipooxigenasa.

Sin embargo, esta falta de actividad para el fruto en el experimento con carragenina contrasta con la atribuida a las hojas de esta misma especie. Como ya se indicó en el apartado II.2.4.2, algunas referencias bibliográficas parecen demostrar actividad antiinflamatoria por en este método experimental de compuestos aislados de las hojas.

La alcaparra no presenta un exclusivo interés por la actividad antiinflamatorio, en la Medicina Tradicional también se la valora por la actividad antihepatotóxica.

De las valoraciones de la última planta en estudio, *Rhaponticum acaule*, el extracto acuoso muestra un 31% de inhibición en la prueba EIC. El extracto etanólico demuestra actividad en el método EIAA (40% de inhibición) pero no se manifiesta significativa en la reducción del edema inducido por carragenina. En el caso del extracto clorofórmico se observan resultados muy similares en ambas pruebas, 52 y 53% de inhibición en los métodos EIAA y EIC respectivamente.

Sin embargo, si observamos más detalladamente los valores de inflamación obtenidos a lo largo del tiempo, se aprecian muchas similitudes para el comportamiento de los tres extractos en el método EIC. En todos los experimentos la máxima inhibición se produce en la segunda hora de medida y es significativa, 40%, 32% y 68% de inhibición para el extracto acuoso, el etanólico y el clorofórmico respectivamente. En las siguientes horas, el volumen de inflamación aumenta lentamente por lo que disminuye el porcentaje de inhibición.

*Rhaponticum acaule* sí es, efectivamente, una especie más alejada para nuestra cultura, al menos, porque este género no posee representantes en la península ibérica.

Los resultados referentes a los extractos de esta planta son bastante positivos y sugieren un mecanismo que implique las dos vías del metabolismo de ácido araquidónico. Concretamente, el clorofómico parece implicar a ambas vías y el acuoso parece tener actividad sobre la ciclooxigenasa, en cambio, el etanólico no muestra actividad significativa en el ensayo del edema inducido por carragenina, pero sí en la prueba del edema provocado por ácido araquidónico, hecho que lo caracteriza por poseer principios activos que posiblemente pudieran inhibir a la lipooxigenasa. Todo ello, nos lleva a deducir que esta droga contiene principios activos posibles inhibidores de la ciclo y de la lipooxigenasa.

Se ha remarcado bastante, durante la exposición de este trabajo, que las plantas, objeto de estudio, son norteafricanas y se seleccionaron por el uso en la Medicina Tradicional de Marruecos. Incluso, también se ha señalado que por la semejanza climática entre el Norte de África y zonas peninsulares, existe la posibilidad de que algunas de estas especies se localicen en áreas de España.

A este respecto, existe un hecho que se añade para aumentar el interés, a priori, por *Armeria alliacea* (la especie que ha presentado una mayor actividad antiinflamatoria). *Armeria alliacea* es una especie con una distribución común por la Península Ibérica, incluida la región de los Países Catalanes. De hecho, es una planta de gran polimorfismo y complejidad taxonómica con múltiples subespecies y variedades, algunas endémicas del territorio marroquí, y podríamos encontrar razas químicas que afectaran la composición de los principios activos. Estas hipótesis son una probabilidad abierta que no se descartará en estudios más avanzados. Las circunstancias de obtención del material vegetal imposibilitan conocer algún taxón más específico que la especie (como lo serían subespecies o variedades), ya que se recordará que se trata de muestras comerciales. De todas formas, la conclusión final de este punto estaría en una continuación del estudio del material con procedencia africana y compararlo con drogas de las variedades que encontramos en nuestro territorio.

Indudablemente, la posibilidad de conseguir abastecimiento de estas drogas en regiones de España facilitará el abastecimiento de las drogas. Dentro de esta posibilidad se engloba *Anacyclus pyrethrum* que se localiza en el sur de la Península Ibérica, los gamones repartidos por todo el territorio español y *Capparis spinosa* que, además de distribuirse por amplias zonas españolas, es una especie frecuentemente cultivada con objeto de ser destinada al comercio alimentario.

## IX.- CONCLUSIONES.-

1.- Se ha estudiado la actividad antiinflamatoria de *Anacyclus pyrethrum* (raíz), *Armeria alliacea* (raíz y rizoma), *Asphodelus ramosus* (raíz), *Capparis spinosa* (fruto) y *Rhaponticum acaule* (raíz y rizoma).

2.- Todas estas drogas se utilizan en la Medicina Tradicional de poblaciones norteafricanas y se han seleccionado bajo un criterio etnofarmacológico.

3.- La valoración de la actividad antiinflamatoria se ha realizado sobre los extractos acuoso, etanólico y clorofórmico de estas drogas.

4.- Los modelos experimentales de valoración utilizados han sido: el método del edema inducido por ácido araquidónico en oreja de ratón y el método del edema inducido por carragenina en la región subplantar de la rata.

5.- En el método del edema inducido por ácido araquidónico, los extractos clorofórmicos de *Anacyclus pyrethrum*, de *Asphodelus ramosus* y de *Rhaponticum acaule* y el etanólico de *Anacyclus pyrethrum* superan el 50% de inhibición del edema. El extracto etanólico de *Armeria alliacea* muestra un 49% de inhibición.

6.- Los extractos acuoso y etanólico de *Armeria alliacea* y el clorofórmico de *Rhaponticum acaule* superan el 50% de inhibición, en el método del edema inducido por carragenina en rata.

7.- Todos los extractos de *Anacyclus pyrethrum* han presentado actividad antiinflamatoria significativa en los dos métodos experimentales de valoración.

8.- En el modelo del edema inducido por ácido araquidónico, los extractos etanólico y clorofórmico de *Anacyclus pyrethrum* presentan inhibiciones del 53% y 57%. Además, estos resultados son estadísticamente muy significativos,  $p < 0,005$  y  $p < 0,001$  respectivamente.

9.- Los datos obtenidos para *Anacyclus pyrethrum* sugieren una acción inhibitoria sobre las dos vías del metabolismo del ácido araquidónico, ciclo y lipooxigenasa.

10.- El extracto etanólico de *Armeria alliacea* presenta una inhibición del 100% en el método del edema inducido por carragenina ( $p < 0,001$ ). En la misma prueba, destaca, también, la inhibición del extracto acuoso, del 73% ( $p < 0,001$ ).

11.- El extracto clorofórmico de *Armeria alliacea* muestra actividad antiinflamatoria, estadísticamente significativa, en ambos métodos de valoración.

12.- Como conclusión a los resultados de las valoraciones de *Armeria alliacea*, se podría pensar que el mecanismo de acción se produce por una posible inhibición de las dos vías principales del metabolismo del ácido araquidónico, (49% en EIAA y 34% en EIC).

13.- *Armeria alliacea* es una especie bastante común en el territorio de la Península Ibérica, por lo que el posible abastecimiento de esta especie, para estudios posteriores, no resultará un problema.

14.- *Asphodelus ramosus* es una de las especies incluidas bajo la denominación de Gamón y se distribuye por diversas regiones de la Península Ibérica.

15.- Los extractos etanólico y clorofórmico de *Asphodelus ramosus* presentan actividad antiinflamatoria significativa en la prueba del edema inducido por ácido araquidónico, 37 y 54% respectivamente.

16.- En el modelo del edema inducido por carragenina, no se observa actividad antiinflamatoria significativa para los extractos de *Asphodelus ramosus*.

17.- Los resultados obtenidos para *Asphodelus ramosus* sugieren una posible inhibición sobre la lipooxigenasa.

18.- Estos resultados no evidencian, sin embargo, una inhibición de los extractos de *Asphodelus ramosus*, sobre la ciclooxigenasa.

19.- *Capparis spinosa* es una especie ampliamente cultivada en España. Ello es debido al consumo alimentario del fruto.

20.- Ninguno de los extractos elaborados a partir del fruto de *Capparis spinosa* muestra actividad antiinflamatoria en el modelo del edema inducido por carragenina.

21.- En el modelo del edema inducido por ácido araquidónico, el extracto clorofórmico, de *Capparis spinosa*, presenta actividad antiinflamatoria estadísticamente muy significativa ( $p < 0,005$ ).

22.- Los resultados de la valoración de los extractos de *Capparis spinosa*, a partir del fruto, sugieren una posible actividad inhibitoria de la lipooxigenasa.

23.- No obstante, el mecanismo de acción de *Capparis spinosa*, (de los extractos a partir del fruto y en las condiciones experimentales utilizadas), no parece que se produzca por la inhibición de la ciclooxigenasa.

24.- Todos los extractos de *Rhaponticum acaule*, con excepción del etanólico en el modelo del edema inducido por carragenina, muestran actividad antiinflamatoria significativa en los dos métodos de valoración empleados.

25.- Los extractos etanólico y clorofórmico de *Rhaponticum acaule*, en la prueba del edema inducido por ácido araquidónico, y los extractos acuoso y clorofórmico, en el modelo del edema inducido por carragenina, presentan actividad antiinflamatoria de forma bastante significativa ( $p < 0,01$ ). Pero, sobre todo, las mayores diferencias estadísticas, en el método del edema inducido por carragenina, se observan en las medidas individuales de cada hora:  $p < 0,001$  para el extracto clorofórmico y  $p < 0,02$  para el etanólico.

26.- El mecanismo de acción de *Rhaponticum acaule* parece implicar la posible inhibición de las dos vías del metabolismo del ácido araquidónico, lipo y ciclooxigenasa.

## X.- BIBLIOGRAFÍA.-

- Sofowora, A. Medicinal Plants and Tradicional Medicine in Africa. 1984. (Nigeria, publicado con Spectrum Books Limited).
- Samuella, B. Leukotrienes: mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. 1983. *Science*, 220: 568-575.
- Needleman, P; Jurk, J; Jakschik, BA; Morrison, AR & Lefkowitz, JB. Arachidonic acid metabolism. 1986. *Annu. Rev. Biochem.*, 55: 69-102.
- Yamamoto, S. Mammalian lipoxygenases: molecular and catalytic properties. 1989. *Prostaglandins Leukotrienes Essent. Fatty Acid*, 35: 219-229.
- Dray & Bevan. Inflammation and hyperalgesia highlighting the team effort. 1993. *TIPS*, 14: 287-290.
- Winter, CA; Risley, EA; Nuss, GW. Carrageenin induced edema in the hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. 1962. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* , 111: 544-547.
- Young, JM; Spires, DA; Bedord, CJ; Wagner, B; Bailaron, SJ & DeYoung, LM. The mouse ear inflammatory response to topical arachidonic acid. 1984. *J. Invest. Dermatol.*, 82: 367-371.
- Carlson, RP; O'Neill-Davis, L; Chang, J & Lewis, A.J. Modulation of mouse ear edema by cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors and other pharmacologic agents. *Agents & Actions*, 17: 197-204.
- Chang, J; Carlson, AJ; O'Neill-Davis, L, Lamb, B; Sharma, RN & Lewis AJ. Correlation between mouse skin inflammation induced by arachidonic acid and eicosanoid synthesis. 1986. *Inflammation*, 10: 205-214.
- Ruzicka, T & Printz, MP. Arachidonic acid metabolism in guinea pig skin. 1982. *Biochem. Biophys. Acta*, 711: 391-397.
- Ziboch, VA; Casebolt, TL; Jarcelo, CL & Voorhees, JJ. Biosynthesis of lipoxygenase products by enzyme preparations from normal and psoriatic skin.

1984. *J. Invest. Dermatol.*, 83: 426-430.
- Crummey, A; Harper, GP; Boyle, EA & Mangan, FR. Inhibition of arachidonic acid-induced ear oedema as a model for assessing topical anti-inflammatory compounds. 1987. *Agents & Actions*, 20: 69-75.
  
  - Griswold, DE; Webb, E; Schwartz, L & Hanna, N. Arachidonic acid-induced inflammation: inhibition by dual inhibitor of arachidonic acid metabolism. SK&F 86002. 1987. *Inflammation*, 11 (2): 189-199.
  
  - Piper, PJ. Formation and actions of leukotrienes. 1984. *Physiol. Rev.*, 64: 744-761.
  
  - Bonta, IL. Microvascular lesions as a target of antiinflammatory and certain other drugs. 1969. *Acta Physiol. Pharmacol.*, 15: 188-222.
  
  - Winter, CA. Anti-inflammatory testing methods: comparative evaluation of indomethacin and other agents. In: *non-steroidal anti-inflammatory drugs*, ed. Garattini, S & Dukes. M.N.G.; 190-202. 1965. Amsterdam: Excerpta Medica Foundation.
  
  - Otternes, I & Gans, DJ. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: an analysis of the relationship between laboratory animal and clinical dosis including species scaling. 1988. *J Pharmaceutical Sci.*, 77: 790.
  
  - Winter, CA, Risley, EA & Nuss, GW. Anti-inflammatory and antipyretic activities of indomethacin, 1(p-chlorobenzoyl)-5-methoxy-indole-3-acetic acid. *J. Pharmac.*, 141: 369-376.
  
  - Niemegeers, GJE; Verbruggen, FJ & Janssen, PAJ. Effect of various drugs on carrageenin-induced oedema. 1964. *J. Pharm. Pharmac.*, 16: 810-816.
  
  - Vinegar, R; Truax, JF; Selph, JL; Johnston, PR; Venable, AL & McKenzie, KK. Pathway to carrageenan-induced inflammation in the hind limb of the rat. 1987. *Federation Proc.*, 46 (1): 118-126.
  
  - Di Rosa, M; Giroud, JP & Willoughby, DA. Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. 1972. *J. Pathol.*, 104: 15-29.
  
  - Labrecque, G; Dore, F & Belanger, FM. Circadian variation of carrageenan-paw edema in the rat. 1981. *Lif Science*, 28: 1337-1343.

- Loubaris, N; Cros, G, Serrano, JJ & Boucard, M. Circadian and circannual variation of the carrageenin inflammatory effect in rat. 1982. Life Science, 32: 1349-1354.
- Ernst, G & Wilhem, B. Farmacognosia, materia farmacéutica vegetal y animal. Ed. Labor, 1942.pp 551-552.
- Quezel, P & Santa, S. Nouvelle flore de l'Algerie et des régions désertiques meridionales. 1962. Editions du Centre Nacional de la Recherche Scientifique. Paris.
- Sagredo, R. Flora de Almería. 1987. Talleres de ediciones Anel, S.A. Granada.
- Ross, SA; Megalla, SE; Bishay, DW & Awad, AH. Studies for determining antibiotic substances in some egyptian plants. 1980. Fitoterapia, 51 (6): 303-308.
- Sethi, N; Nath, D; Singh, RK & Srivastava, RK. Antifertility and teratogenic activity of some indigenous medicinal plants in rats. 1989. Fitoterapia, 61 (1): 64-67.
- Aparicio y col., Flora de Andalucía Occidental. 1987. Ed. Ketres. Barcelona.
- Ozenda, P. Flore du Sahara septentrional et central. 1958. Centre National de la Recherche Scientifique.
- Pottier-Alapetite, G. Flore de la Tunisie. 1979. Angiospermes-dicotyledones. Apetales-dialypetes.
- Maire, R & Jahandiez, E. Catalogue des plantes du Maroc. 1934. Paris.
- Maire, R. Flore de l'Afrique du Nord. 1952. Paris.
- Nègre, R. Petite flore des régions arides du Maroc occidental. 1961. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique.
- Abdel-GAwad, M & Raynaud, J. Sur la présence d'un C-glycolide dans les feuilles d'Asphodelus microcarpus Vivi. (liliaceae).3. Colloque international consacré aux plantes medicinals. 1973.
- Fell, KR; Hamomounda, FM & Rizk, AM. The constituents of the seeds of

- Asphodelus microcarpus Viviani & A. fistulosus. 1968. J. Pharm. Pharmac., 20: 646-649.
- Risk, AM; Hamomound, FM & Abdel-Gawad, MM. Anthraquinonas of Asphodelus microcarpus. 1972. Phytochemistry, 11: 2122-2125.
  - Adinolfi, M; Corsario, MM; Lanzetta, R; Parrilli, M & Scopa, A. A bianthrone C-glycoside from Asphodelus ramosus tubers. 1989. Phytochemistry, 28 (1): 284-288.
  - Lanzetta, R & Parrilli, M. Bianthrone C-glycoside: three new compounds from Asphodelus ramosus tuber. 1990. Tetrahedron, 46 (4): 1287-1294.
  - Adinolfi, M; Lanzetta, R; Marciano, EC & Parrilli, M. A new class of anthraquinona-anthrone-C-glycosides from Asphodelus ramosus tubers. 1991. Tetrahedron, 47 (25): 4435-4440.
  - Hammounda, FM; Risk, AM & Sif el-Nasr, MM. Quantitative determination and seasonal variation of the anthraquinones of certain egyptian Asphodelus species. 1974. Pharmazie, 29, H9: 609-610.
  - Nihar, O. Anthraquinones of Asphodelus microcarpus their antibacterial activity. 1985. Eczacilik Fak. Med., 21: 1-11.
  - Schraudolf, H. Indole glucosinolates of Capparis spinosa. 1989. Phytochemistry, 28 (1): 259-260.
  - Brevard, H; Brambilla, M; Chaintreau & Marien, JP. Occurrence of elemental in capers (Capparis spinosa L.) and first investigation of the flavour profile. 1992. Flavour and Fragrance Journal, 7: 313-321.
  - El-Tanbouly, N; Joyeux, M; Hanna, S; Fleurentin, J; EL-Alfy, T & Anton, R. Antihepatotoxic effect of aqueous extracts form Capparis spinosa. 1989. Planta Medica, 55: 95.
  - Pizarro, A. Plantas Medicinales en Extremadura. 1988. Artes Gráficas Boysu.
  - Bolós, O; Vigo, J; Masalles, RM & Ninot, JM. Flora Manual del Països Catalans. 1990.
  - Bonnier, G & Layens G. Claves para la determinación de plantas vasculares. 1988. Ed Omega.

- Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 1990. Ed Panamericana.
- Díaz Lifante, Z.; Díez, MJ & Fernández, I. Morfología polínica de las subfamilias Melanthioideae y Asphodeloideae (Liliaceae) en la Península Ibérica y su importancia taxonómica. 1990. *Lagascalia*, 16 (2): 211-225.
- Buchanan, J; Percival, EE & Percival EGV. The polysaccharides of carrageen moss (Chondrus crispus). Part I. The linkage of the d-galactose residues and the ethereal sulphate. 1943. *J. Chem. Soc.*, 51-54.
- Rees, DA. Double helix structure in food. 1970. *Sc. J.*, 6: 47-51.
- Johnston, R; Percival EGV. The polysaccharides of carrageen. Part III. Confirmation of the 1-3 linkage in carragenin and the isolation of l-galactose derivatives from a resistant fragment. 1950. *J. Chem. Soc.*, 3: 1994-1998.
- Anderson, NS; Dolan, TCS & Rees, DA. Carrageena. Part VII: Polysaccharides from Euchema spinosum et E. cottonin. The covalent structure of i-carrageenan. 1973. *J. Chem. Soc. (Perkin J)*, 19: 2173-2176.
- Damas, J. Activation du système kininogène-kinines, pouvoir hypotenseur et oedémogène de quelques carragénines. 1980. *Pathologie biologique*, 28 (5): 287-292.