

## STRUCTURE-ANALGESIC ACTIVITY RELATIONSHIP OF SOME N-PYRROLYL ACETIC ACID DERIVATIVES

### SUMMARY

The relationship between analgesic activity (Siegmund test) and chemical structure of some N-pyrrolyl acetic acid derivatives is studied in this paper.

Starting from a N-pyrrolyl acetic acid structure, the introduction in the  $\alpha$  carbon of phenyl or benzoyl groups increased significantly the analgesic potency of this molecule. Further incorporation of a p-chlorine atom in the aromatic nucleus has also been interesting in order to improve this pharmacological action. The analgesic activity has been quantitatively related to the octanol/water partition coefficients ratio between ionized and non ionized forms ( $P_i/P_{ni}$ ):

$$1/(An. Pot.) = 0,186836 (P_i/P_{ni}) + 0,011377$$

### BIBLIOGRAFIA

- 1) KOSTER R., ANDERSON M. & DE BEER E. J. (1959). Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.* 18: 412
- 2) MIGUELEZ J., TERAN M. T., NEGRO A., SERRANO J., CABANAS F. & SANTIAGO D. (1985). Ensayo preliminar de la actividad analgésica de algunos derivados del ácido fenil acético y otros análogos estructurales. *An. Fac. Vet. León* 21: 125-132.
- 3) NEGRO A. (1985). Síntesis química, propiedades físico-químicas y farmacológicas de ácidos N-pirrol sustituidos. *Tesis Doctoral*. Universidad de León.
- 4) PACHECO H. (1973). *La pharmacologie moléculaire*. Presses Universitaires de France. Pag. 174-215.
- 5) SANTIAGO D. (1984). *Farmacología veterinaria*. Tipografía Católica. Córdoba. Pag. 54-58.
- 6) SIEGMUND E., CADMUS R. & LU G. (1957). A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Proc. Soc. Exp. Bio. Med.* 95: 729-731.
- 7) TSUJI A., KUBO O., MIYAMOTO E. & YAMANA T. (1977). Physicochemical properties of  $\beta$ -Lactam antibiotics: Oil/water distribution. *J. Pharm. Sci.* 66 (12): 1.675-1.678.
- 8) WEPIERRE J. (1981). *Abrégé de pharmacologie générale et moléculaire*. 2.ª ed. Masson. Paris. Pag. 186-199.

## VARIABILIDAD GENETICA DE LAS RAZAS Y AGRUPACIONES CAPRINAS AUTOCTONAS ESPAÑOLAS

Por M. J. Tuñón (1)  
P. González (1)  
M. Vallejo (2)

### INTRODUCCION

El análisis de los sistemas genéticos de ciertas proteínas e iones conocidos permite caracterizar, de una forma precisa, el patrimonio hereditario de las razas.

La medida de la variación de las frecuencias alélicas de los distintos loci que controlan el polimorfismo bioquímico sanguíneo, constituye un método eficaz para calcular un índice sintético de los datos que refleje los grados de semejanza o de diferencia genética global entre las poblaciones.

Los resultados de esta comparación racial aportan, por otro lado, algunas indicaciones importantes a propósito de la variabilidad genética existente en cualquier especie. Estas indicaciones son particularmente útiles, ya que el patrimonio genético de las especies de interés zootécnico tiende a empobrecerse rápidamente como consecuencia de la desaparición de ciertas razas y la homogeneización de otras.

Para estimar la variabilidad genética de las poblaciones, uno de los parámetros más utilizados es el promedio de heterocigosis por locus (Nei y Roichoudhury<sup>14</sup>).

El objetivo principal del presente trabajo ha sido cuantificar la tasa de heterocigosis existente en las razas y agrupaciones autóctonas españolas, mediante sistemas genéticos sanguíneos, y comparar, en lo posible, dichas estimas con las obtenidas para otras poblaciones caprinas extranjeras.

Dentro de nuestras limitaciones, se ha intentado estudiar el mayor número de loci posibles, sin elegir a priori tan solo aquellos en los que era previsible la existencia de polimorfismo, con el fin de no sesgar las estimaciones de la variabilidad.

(1) Dpto. Bioquímica y Biología Molecular, Fisiología y Farmacología  
(2) Dpto. Producción Animal (Universidad Complutense de Madrid)



## MATERIAL Y METODOS

Se han utilizado un total de 1.370 muestras sanguíneas de animales pertenecientes a 11 razas caprinas autóctonas españolas: Pirenaica (115), Verata (100), del Guadarrama (101), Granadina (101), Blanca Andaluza (100), Blanca Celtibérica (100), Murciana (100), Negra Serrana (100), Malagueña (100), Canaria (99) y Retinta (108) y a tres agrupaciones caprinas españolas: Zamorana (110), Berciana (100) y Palmera (36).

Los sistemas genéticos sanguíneos estudiados han sido 14, de ellos 9 son eritrocitarios: glutatión reducido (GSH), potasio eritrocitario (Ke), hemoglobina (Hb), diaforasa (Dia), catalasa (Ct), malato deshidrogenasa (MDH), anhidrasa carbónica (CA), proteína X (X) y purina nucleósido fosforilasa (NP), y 5 plasmáticos: fosfatasa alcalina (Alp), amilasa (Am), ceruloplasmina (Cp), transferrina (Tf) y albúmina (Al).

Los análisis del GSH se realizaron por espectrofotometría según el método descrito por Beutler *et al.*<sup>2</sup>. Los cálculos del Ke se realizaron mediante la lectura de las concentraciones sanguíneas y plasmáticas de este ión, por fotometría de llama, corregidas por el valor hematocrito, según la metodología de Evans<sup>7</sup>. El resto de los sistemas genéticos, tanto eritrocitarios como plasmáticos, se analizaron por electroforesis horizontal sobre gel de almidón, aplicándose las metodologías siguientes: Hb (Braend<sup>3</sup>); Dia (Cepica y Stratil<sup>5</sup>, Valenta *et al.*<sup>23</sup>); Ct (Thorup *et al.*<sup>19</sup>, Valenta *et al.*<sup>23</sup>); MDH (Brewer y Sing<sup>4</sup>, Valenta *et al.*<sup>23</sup>); CA y X (Kristjansson<sup>12</sup>, Tucker *et al.*<sup>21</sup>); NP (Kristjansson<sup>12</sup>, Tucker *et al.*<sup>21</sup>, Tucker y Young<sup>22</sup>); Alp (Gahne<sup>8</sup>, Rendel y Stormont<sup>17</sup>); Am (Trowbridge y Hines<sup>20</sup>); Cp (Kristjansson<sup>12</sup>, Schröfflel *et al.*<sup>18</sup>) y Tf y Al (Efremov y Braend<sup>6</sup>, Kristjansson<sup>12</sup>).

Las estimaciones de la tasa de heterocigosis y el error típico, se realizaron a partir de las frecuencias génicas, por el método descrito por Nei y Roichoudhury<sup>14</sup>.

Debemos indicar que la estimación de la variabilidad genética, en 13 de las 14 agrupaciones caprinas examinadas, se ha basado en el estudio de un número suficientemente elevado de individuos, ya que según Lucotte<sup>13</sup>, el número mínimo de individuos considerados para estas estimas, debe ser de 50, y para el presente trabajo han sido utilizados de 99 a 115 animales por raza, con la excepción de la agrupación Palmera en la que tan sólo se han analizado 36 muestras, debido a las dificultades existentes en acceder a animales de esta agrupación caprina procedente de la isla de la Palma.

Por otra parte, Lucotte<sup>13</sup> aconseja que, para realizar las estimaciones del grado de heterocigosis media, se debería utilizar un mínimo de 15 loci, número muy próximo a los 14 loci empleados en el presente estudio.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla I se exponen los valores obtenidos de heterocigosis, por locus (h) y población (H). De su observación se desprende que los valores de heterocigosis varían ampliamente de unos loci a otros. Así, los loci Ke, X, Al y Alp, poseen unos valores relativamente altos en la mayoría de las poblaciones analizadas (del 13 al 49%, del 26 al 50%, del 3 al 50% y del 16 al 50%, respectivamente), mientras que el sistema genético amilasa posee una heterocigosis muy baja o incluso nula, en la mayoría de las poblaciones estudiadas, ya que existe una tendencia hacia la fijación del alelo Am<sup>A</sup>, al igual que sucede en todas las poblaciones caprinas a nivel mundial. Los loci GSH, Ct, MDH, CA, NP y Cp, muestran un grado de heterocigosis nulo, ya que han resultado monomórficos en todas las razas estudiadas.

Para los loci Hb, Dia y Tf, los valores de heterocigosis difieren marcadamente en las

distintas poblaciones. Así, la agrupación Zamorana y la raza Blanca Celtibérica muestran unos valores de h, para el locus Hb, que varían desde el 1% en la primera, hasta el 34%, en la segunda. Lo mismo podemos apuntar para el marcador Dia, con unos valores de h que oscilan entre el 1% (Zamorana y Negra Serrana) y el 30% (Guadarrama). Para el locus Tf, estos límites son más amplios, ya que la heterocigosis varió desde el 0% (Guadarrama, Blanca Andaluza y Canaria) hasta el 39% (Murciana).

En cuanto a la heterocigosis media (H), calculada a partir de los 14 sistemas genéticos estudiados, los valores más bajos se encontraron en las poblaciones de las razas Retinta (0,0973) y del Guadarrama (0,1121) y en la agrupación Zamorana (0,1001). Las restantes poblaciones mostraron valores de H que oscilaron entre 0,1269 (Palmera) hasta el valor más alto, 0,1690, que correspondió a la raza Verata.

Con el fin de poder establecer comparaciones entre el grado de variabilidad de las poblaciones caprinas españolas y otras poblaciones caprinas extranjeras, hemos calculado, a partir de los datos de las frecuencias génicas aportados por diversos autores, la heterocigosis media, utilizando el mayor número de loci comunes que nos fuera posible. Estos resultados se encuentran recogidos en la Tabla II.

Considerando 9 loci: Hb, Dia, Ct, MDH, Alp, Tf, Am y Cp (Tabla II), los resultados indican que la H de las poblaciones españolas al menos duplica a la indicada para las demás poblaciones comparadas, ya que el valor de H obtenido por nosotros fue, en la mayor parte de las razas, superior al 10%, mientras que fue de tan sólo el 6% en las cabras nativas de Indonesia<sup>9</sup>, del 4% en las poblaciones procedentes de Okinawa (Japón)<sup>16</sup> y en las nativas de Corea<sup>10</sup>, del 1% en cabras «Shiba» japonesas<sup>15</sup> y del 0% en la raza Japanese Saanen<sup>11</sup>.

En las únicas razas caprinas españolas estudiadas hasta el momento actual: Murciana, Granadina, Malagueña y Blanca Andaluza<sup>1</sup>, los valores de H son muy parecidos a los obtenidos por nosotros para esas mismas razas, considerando 7 marcadores sanguíneos (Hb, CA, X, Al, Alp, Tf y Am).

Concluimos pues, que a la vista de los resultados obtenidos sobre la heterocigosis media en las razas y agrupaciones caprinas españolas, se puede considerar que éstas constituyen, en conjunto, unas de las poblaciones caprinas que exhiben un mayor grado de variabilidad genética para los loci estudiados, respecto a la del resto de las poblaciones caprinas extranjeras de las que disponemos de los datos necesarios para establecer dicha comparación.

Estos datos referentes a la variabilidad genética existente en el seno de la especie caprina, creemos son particularmente útiles, ya que el patrimonio hereditario de las especies de interés zootécnico tiende a empobrecerse rápidamente, como consecuencia de la desaparición de ciertas razas y la homogenización de otras.

## RESUMEN

A partir de las frecuencias génicas de 14 loci sanguíneos, se cuantificó la variabilidad genética de las razas caprinas autóctonas españolas, mediante la estimación del grado de heterocigosis media poblacional (H).

Los valores de H oscilaron entre 0,0973, en la raza Retinta y 0,1690, en la Verata.

Se comparan nuestros resultados, en cuanto a la variabilidad genética de las razas caprinas españolas, con los obtenidos por diversos autores para distintas poblaciones caprinas extranjeras.



Estimación del grado de heterocigosis por locus (h) y grado de heterocigosis media poblacional (H), en 14 agrupaciones caprinas autóctonas españolas, a partir de 14 sistemas genéticos (GSH, Ke, Hb, Dia, Ct, MDH, CA, X, NP, Alp, Am, Cp, Tf y Al)

RAZAS	LOCI	GSH	Ke	Hb	Dia	Ct	MDH	CA	X	NP	Alp	Am	Cp	Tf	Al	H	±E.T.
PIRENAICA	(n=113)	-	0,2812	0,0432	0,2618	-	-	-	0,4632	-	0,4464	0,0000	-	0,0910	0,4945	0,1487	0,0528
VERATA	(n=100)	-	0,3492	0,4032	0,2756	-	-	0,4324	-	-	0,3275	0,0000	-	0,0859	0,4916	0,1690	0,0525
CUADRAR.	(n=101)	-	0,3274	0,0000	0,2929	-	-	0,4336	-	-	0,3248	0,0000	-	0,0000	0,1705	0,1107	0,0432
ZAMORANA	(n=110)	-	0,2949	0,0090	0,0090	-	-	0,4918	-	-	0,2127	0,0000	-	0,0180	0,3657	0,1001	0,0450
BERCIANA	(n=100)	-	0,2652	0,0768	0,0296	-	-	0,4746	-	-	0,4998	0,0296	-	0,0582	0,4998	0,1381	0,0546
GRANADINA	(n=101)	-	0,3787	0,1941	0,1376	-	-	0,4843	-	-	0,3098	0,0000	-	0,2388	0,3623	0,1503	0,0493
B. ANDAL.	(n=100)	-	0,3421	0,0000	0,1387	-	-	0,4983	-	-	0,4649	0,0000	-	0,0000	0,4883	0,1381	0,0563
B. CELTT.	(n=100)	-	0,4934	0,3375	0,0198	-	-	0,4683	-	-	0,2150	0,0000	-	0,0392	0,4315	0,1432	0,0537
MURCIANA	(n=100)	-	0,3699	0,0392	0,2822	-	-	0,3492	-	-	0,1889	0,0000	-	0,3896	0,2755	0,1353	0,0436
N. SERRA.	(n=100)	-	0,3960	0,0295	0,0099	-	-	0,4954	-	-	0,3048	0,1128	-	0,1654	0,4872	0,1429	0,0519
MALAGUEÑA	(n=100)	-	0,4022	0,2588	0,1638	-	-	0,4944	-	-	0,1800	0,0099	-	0,3140	0,4278	0,1608	0,0499
CANARIA	(n=99)	-	0,3228	0,3164	0,0959	-	-	0,2593	-	-	0,2427	0,0101	-	0,0000	0,3224	0,1121	0,0385
PALMERA	(n=36)	-	0,1336	0,1050	0,0000	-	-	0,5000	-	-	0,1590	0,0000	-	0,3886	0,4904	0,1269	0,0506
RETINTA	(n=108)	-	0,3974	0,0000	0,0000	-	-	0,4107	-	-	0,4993	0,0000	-	0,0274	0,0274	0,0973	0,0493

±E.T. = Error estándar del promedio de heterocigosis (H).

Tabla II  
Heterocigosis media poblacional (H) estimada, a partir de 9 loci (Hb, Dia, Ct, MDH, Al, Alp, Tf, Am y Cp), en diferentes agrupaciones caprinas extranjeras y autóctonas españolas.

POBLACION	PROCEDENCIA	H	REFERENCIA
Okinawa (8 pobl.)	Japón	0,0438	Nozawa et al. 1978a
Shiba (4 pobl.)	"	0,0088	Nozawa et al. 1978b
Etawa (3 pobl.)	Indonesia	0,0562	Katsumata et al. 1981a
Local	"	0,0662	"
Katjang (3 pobl.)	"	0,0761	"
J. Saanen(7 pobl.)	Japón	0,0000	Katsumata et al. 1981b
Nativas (6 pobl.)	Corea	0,0389	Katsumata et al. 1982
Pirenaica	España	0,1485	Presente estudio
Verata	"	0,1760	"
Guadarrama	"	0,0876	"
Zamorana	"	0,0683	"
Berciana	"	0,1358	"
Granadina	"	0,1381	"
B. Andaluza	"	0,1214	"
B. Celtibérica	"	0,1159	"
Murciana	"	0,1306	"
N. Serrana	"	0,1233	"
Malagueña	"	0,1505	"
Canaria	"	0,1098	"
Palmera	"	0,1270	"
Retinta	"	0,0585	"



# GENETIC VARIABILITY OF THE SPANISH NATIVE BREEDS OF GOAT

## SUMMARY

The genetic variability of the Spanish native breeds of goat were quantified by the average heterozygosity (H) of a population, by using gene frequencies at 14 blood loci.

H values ranged from 0.0973 (Retinta) to 0.1690 (Verata).

We discuss comparatively our results, using H values, and results obtained for foreign goat populations.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) BARBANCHO, M. (1980). *Estructura y relaciones genéticas entre algunas razas caprinas españolas en razón a determinados polimorfismos sanguíneos*. Tesis doctoral. Univ. Córdoba.
- 2) BEUTLER, E., DURON, O. y KELLY, B. M. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.*, 61: 882-888.
- 3) BRAEND, M. (1963). Haemoglobin and transferrin types in the American buffalo. *Nature*, 197: 910.
- 4) BREWER, G. J. y SING, Ch. F. (1970). *An introduction to isozyme techniques*. Academic Press, New York, San Francisco, Londres.
- 5) CEPICA, S. y STRATIL, A. (1978). Further studies on sheep polymorphic erythrocyte diaphorase. *Anim. Blood Grps. biochem. Genet.*, 9: 239-244.
- 6) EFREMOV, G. y BRAEND, M. (1965). Haemoglobins, transferrins and albumins of sheep and goats. *IXth Europ. Conf. Anim. Blood Grps. Biochem. Polymorph.*, Prague: 313-320.
- 7) EVANS, J. V. (1954). Electrolyte concentrations in red blood cells of British breeds of sheep. *Nature*, 174: 931-932.
- 8) GAHNE, B. (1963). Genetic variation of phosphatase in cattle serum. *Nature*, 199: 305-306.
- 9) KATSUMATA, M., AMANO, T., SUZUKI, S., NOZAWA, K., MARTOJO, H., ABDULGANI, I. K. y NADJIB, H. (1981a). Morphological characters and blood protein gene constitution of Indonesian goats. En: *The origin and phylogeny of Indonesian native livestock. Part II*. (Report by Grant in Aid for overseas Scientific survey, 504-353): 55-68.
- 10) KATSUMATA, M., AMANO, T., TANAKA, K., NOZAWA, K., BAHK, K. S., PARK, B. J. y LEE, C. H. (1982). Blood protein variations of the Korean native goats. *Jap. J. zootech. Sci.*, 53: 521-527.
- 11) KATSUMATA, M., NOZAWA, K., AMANO, T., SHINJO, A. y ABE, T. (1981b). Blood protein gene constitution of the Japanese Saanen breed of goat. *Jap. J. zootech. Sci.*, 52: 553-561.
- 12) KRISTJANSSON, F. K. (1963). Genetic control of two prealbumins in pigs. *Genetics*, 48: 1.059-1.063.
- 13) LUCOTTE, G. (1977). *Le polymorphisme biochimique et les facteurs de son maintien*. Ed. Masson, Paris, New York, Barcelona, Milán.
- 14) NEI, M. y ROICHOUDHURY, A. K. (1974). Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics*, 76: 379-390.
- 15) NOZAWA, K., KANO, Y., SAWASAKY, T., NISHIDA, T., ABE, T., SHOTAKE, T. y NATSUDA, Y. (1978b). Gene constitution of miniature «Shiba» goats. *Exp. Anim.*, 27: 413-422.
- 16) NOZAWA, K., SHINJO, A. y SHOTAKE, T. (1978a). Population genetics of farm animals. III. Blood protein variations in the meat goats in Okinawa Islands of Japan. *Z. Tierzücht. ZuchtBiol.*, 95: 60-77.
- 17) RENDEL, J. y STORMONT, C. (1964). Variants of ovine alkaline serum phosphatases and their association with the R.O blood groups. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 115: 853-856.
- 18) SCHRÖFFEL, J., KUBEK, A. y GLASNAK, V. (1970). Serum ceruloplasmin polymorphism in cattle. *XIth Europ. Conf. Anim. Blood Grps. Biochem. Polymorph.*: 207-210.
- 19) THORUP, O., STOLE, W. B. y LEAVELL, B. S. (1961). A methods for the localization of catalase on starch gels. *J. Lab. Clin. Med.*, 58: 122-128.
- 20) TROWBRIDGE, C. L. y HINES, H. C. (1979). Amylase genetic variation of serum in Holstein cattle. *J. Dairy Sci.*, 62: 982-984.
- 21) TUCKER, E. M., SUZUKI, Y. y STORMONT, C. (1967). Three new phenotypic systems in the blood of sheep. *Fox Sang.*, 13: 246-262.
- 22) TUCKER, E. M. y YOUNG, J. D. (1976). Genetic variation in the purine nucleoside phosphorylase activity of sheep red cells. *Anim. Blood Grps. biochem. Genet.*, 7: 109-117.
- 23) VALENTA, M. J., HYLDGAARD-JENSEN, J. y MOUSTGAARD, J. (1967). Three lactic dehydrogenase isoenzyme systems in pig spermatozoa and the polymorphism of sub-units controlled by third locus C. *Nature*, 216: 506-507.

# VARIABILIDAD GENETICA EN SIETE RAZAS BOVINAS AUTOCTONAS ESPAÑOLAS

Por P. González (1)  
M. J. Tuñón (1)  
M. Vallejo (2)

## INTRODUCCION

Las técnicas de electroforesis permiten la detección de variantes alélicas en genes individuales. El estudio de un número moderado de proteínas y enzimas en un número alto de individuos (según Lucotte<sup>10</sup>, a partir de 50), resulta suficiente para estimar la cantidad de variabilidad en el genoma completo de una población.

No todas las variantes alélicas son, sin embargo, detectables por electroforesis. Generalmente sólo aquellas sustituciones de aminoácidos que alteran la carga neta de las proteínas, cambiarán su movilidad electroforética. Si se considera el código genético y las propiedades eléctricas de los aminoácidos, se ve que, únicamente una tercera parte de todas las sustituciones de aminoácidos son detectables por electroforesis; consecuentemente, la cantidad de variabilidad genética detectada, constituye una estima por defecto.

Si bien es cierto que en los últimos doce años, el censo bovino ha experimentado un incremento, cuando analizamos la evolución del censo de nuestras razas bovinas autóctonas, se observa una evidente regresión; por lo que estimamos de gran importancia conocer la variabilidad genética de nuestras razas autóctonas, por su posible implicación en programas de mejora genética.

El objetivo de este trabajo ha sido estimar, mediante polimorfismos bioquímicos, la variabilidad genética, a partir del grado de heterocigosis, de siete de nuestras razas bovinas autóctonas.

## MATERIAL Y METODOS

Se analizaron un total de 725 animales, correspondientes a siete razas bovinas au-

(1) Departamento de Bioquímica, Biología Molecular, Fisiología y Farmacología  
(2) Departamento de Producción Animal (Universidad Complutense de Madrid)