



## Obtención y evaluación de extractos etanólicos de *Dracocephalum moldavica* L. con actividad antidepresiva.

Marcos Jiménez<sup>a</sup>, Alejandro Hurtado<sup>a</sup>, Yolanda Gómez<sup>a</sup>, Esther Bautista<sup>a</sup>,

<sup>a</sup>Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Departamento de Bioprocesos, Laboratorio de Farmacología, mjimenez.zuniga@hotmail.com, alejandroj\_hm@hotmail.com ygomezipn@hotmail.com, maestherbr@gmail.com.

### RESUMEN

**INTRODUCCIÓN.** En la medicina tradicional mexicana, *Dracocephalum moldavica* L. se conoce como "Toronjil azul". Además se ha informado, que los extractos poseen actividad sedante, tranquilizante y analgésico. Los análisis de su aceite esencial revelan la presencia de Geraniol y Citral, lo que podría explicar sus propiedades tranquilizantes. **METODOLOGÍA.** De *Dracocephalum moldavica* L. se limpio y se seco a 40 °C durante 24 horas, posteriormente la planta fue molida. Se pesaron 5 g y se mezcló con 50 mL de agua:etanol (1:9), se sónico por 15 minutos para obtener los componentes activos. Finalmente el líquido fue concentrado mediante un Rotavapor. De los polvos finos se pesaron 5 g y se añadieron 40 mL de hexano y 40 mL de metanol:agua (9:1). La mezcla se sónico por 15 minutos, se filtro y se separo el extracto en dos fases una polar (metanol:agua) y no polar (hexano). Para la actividad antidepresiva se uso la prueba del destete temprano y posteriormente la Prueba de Nado Forzado un modelo para el estudio de la depresión usando un cilindro con agua de 40x18 cm. (altura/longitud) donde se introduce al animal, sin posibilidades de escapar. **RESULTADOS.** Para el tamiz fitoquímico presenta positivos alcaloides, flavonoides, azúcares reductores, taninos, glicósidos cardíacos, glicósidos cianogénicos, saponinas y esteroides. En la prueba de inmovilidad presenta 185±6.02, 171±15.39, 193.3±68.06, 238±25.23 [s/5min], para la prueba de nado 47.5±6.36, 24±5.65, 26±5.65, 13.66±7.09 [s/5min], para la prueba de escalamiento 70±13.11, 119±15.55, 115±21.21, 48.33±24.66 [s/5min], extracto 80 mg/Kg (destetados), fármaco 15 mg/Kg (destetados), extracto 80 mg/Kg (no destetados), control sin administración, respectivamente. **CONCLUSIONES.** Con la presencia de flavonoides es posible aliviar problemas causados en el Sistema Nervioso Central, ya que es conocido que estos tienen un efecto farmacológico sobre el SNC. Respecto al extracto presenta efectos como antidepresivo ya que presenta resultados semejantes al fármaco control.

### 1. INTRODUCCIÓN

La depresión es distinta a las variaciones habituales del estado de ánimo y de las respuestas emocionales breves a los problemas de la vida cotidiana. Puede convertirse en un problema de salud serio, especialmente cuando es de larga duración e intensidad moderada a grave, y puede causar gran sufrimiento y alterar las actividades laborales, escolares y familiares (OMS, 2014).

En la medicina tradicional mexicana, *Dracocephalum moldavica* L. se conoce como "Toronjil chino", "Toronjil extranjero", "Toronjil azul". Se utiliza como tranquilizante y como agente sedante. Sin embargo, su uso principal es como parte de una combinación tanto con el "Toronjil blanco" (*Agastache mexicana* ssp. *xolocotziana*) y el "Toronjil morado" (*Agastache mexicana* ssp. *mexicana*). Esta infusión conocida como "Los Tres toronjiles", se recomienda para el tratamiento de enfermedades nerviosas (Linares *et al.*, 1999).



## 2. PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1. Extracción de los metabolitos secundarios del extracto total

De la parte aérea de *Dracocephalum moldavica* L. (20 g) se limpiaron y se sometieron a secado en una estufa a una temperatura máxima de 40 °C durante 24 horas. La planta fue molida hasta obtener polvos finos. Los componentes activos fueron extraídos usando una mezcla hidroalcohólica (10:90), se sometió a sonicación durante 15 minutos para obtener el 95% de los componentes activos. El extracto se filtro, mientras que a los sólidos se les sometió a una segunda extracción para obtener el 5% restante. Finalmente el líquido fue concentrado en un Rotavapor, para eliminar la mayor parte del etanol.

De *Dracocephalum moldavica* L. se pesaron 5 g de la planta y se añadieron 40 mL de hexano y 40 mL de solución metanol-agua (9:1). La mezcla se sometió a sonicación durante 15 minutos, se filtro el líquido y se separo el extracto en dos fases una polar (metanol-agua) y otra no polar (hexano). Para la pruebas de identificación se uso la parte polar con excepción para la prueba de saponinas y esteroides.

### 2.2. Pruebas de modelos antidepresivos in vivo

El destete temprano se realizo a los 15 días de nacidos los animales, los cuales fueron separados 25 días, se agruparon n=3 bajo las mismas condiciones ambientales a las que se encuentran cuando están con la madre, posteriormente se comenzó la separación materna siguiendo un protocolo de separación de 2 horas diarias entre las 12 pm y las 3 pm, una vez que se cumplía el tiempo de separación se regresan con la madre. Posteriormente se les provoco la depresión siguiendo el modelo de Porsolt *et. al.* 1977, que desarrollo un modelo para el estudio de la depresión usando un cilindro con agua de 40 cm. x 18 cm. (altura/longitud) donde se introduce al animal, sin posibilidades de escapar. Luego de un período de movimiento vigoroso, el animal se acomoda en una postura inmóvil, dejando la cabeza fuera del agua como para respirar. Esta inmovilidad representa un estado de depresión y desesperación que puede ser revertida mediante un tratamiento con antidepresivos.

Cada animal permanecerá 15 minutos en el agua (Temperatura 25 °C) y luego otros 15 minutos en un ambiente a 32 °C para secarse antes de volver a su jaula. Se entiende como un momento altamente ansiogeno, que usaremos en nuestro experimento como el segundo estresor del modelo. La inmovilidad está definida como el periodo en el que el roedor solo hace los movimientos necesarios para mantener la cabeza sobre el nivel del agua y no hace intentos para escapar (Ej.: swimming, paddling, climbing, diving). Estos intentos de escape o conductas activas (específicamente el climbing y el swimming) fueron susceptibles a tratamientos con fármacos, y se reconocieron los neurotransmisores mediadores. Esto indicaría que las conductas activas de la Prueba de Nado Forzado son factibles de ser cuantificadas.

Los ratones fueron colocados individualmente en cilindros de vidrio (altura: 21 cm, diámetro: 14,5 cm) que contienen 15 cm de agua a 23±1 °C. Todos los animales se ven obligados a nadar por un período de 15 minutos (pre-test), seguidas de una sesión de 5 minutos (prueba) a las 24 horas después (Murakami et al., 2009). Sobre esta base, cuatro grupos independientes de ratones (n=3 por grupo) se utilizaron en este experimento. Un grupo fue administrado con Toronjil azul a 80 mg/Kg 24, 6 y 1 hora antes de la prueba, otro grupo fue administrado a 15 mg/Kg del fármaco Imipramina 24, 6 y 1 hora antes de la prueba, mientras que un grupo independiente se utilizo como control negativo.



Después de las sesiones de natación, los ratones fueron retirados del cilindro, secan cuidadosamente, colocaron en jaulas caliente durante 20 min y luego devueltos a sus jaulas. Todas las sesiones de prueba fueron grabados en vídeo y después el tiempo de inmovilidad acumulada durante la prueba de tiempo se registró (Porsolt *et. al*, 1977a, b;. Xu *et. al*, 2005;. Schürmann da Silva *et. al*, 2006).

## 2.3. Resultados

### 2.3.1. Tamiz fitoquímico

Tabla 1. Metabolitos presentes en *Dracocephalum moldavica L.*

Metabolito	Reacción	<i>Dracocephalum moldavica L.</i>
Alcaloides	Dragendorff	+-
	Wagner	-
	Mayer	-
Flavonoides	Shinoda	+ Auronas y Chalconas
	Hidróxido de sodio al 10%	+ Xantonas y Flavonas
Cumarinas	Erlich	-
	Hidróxido de amonio	-
Sesquiterpenlactonas	Hidróxido férrico	-
Azúcares Reductores	Fehling	+-
	Benedict	-
Taninos	Con cloruro férrico	+ Catecol
Glicósidos cardíacos	De Legal	+
	De Baljet	-
Glicósidos cianogénicos		+-
Quinonas	Ácido sulfúrico	-
Saponinas	Lieberman-Bouchard	+ Triterpenoides
	Rosenthaler	+ Triterpenoides
Esteroides		+ Esteroides

NOTA: + presencia, +- poca presencia, - negativo.

Se obtuvo el tamiz fitoquímico de *Dracocephalum moldavica L.*, donde las pruebas positivas fueron: esteroides, cumarinas, sesquiterpenlactonas, azúcares reductores, taninos, glicósidos cardíacos, glicósidos cianogénicos, saponinas, alcaloides y flavonoides, estos últimos son los de interés farmacéutico en especial para enfermedades relacionadas con el Sistema Nervioso Central (SNC) como lo menciona Estrada-Reyes y Col. (2012).

### 2.3.2. Prueba del nado forzado, modelo *in vivo* antidepresivo

En la figura 1, 2 y 3 se muestran los parámetros evaluados del test de la Prueba de Nado Forzado los parámetros evaluados fueron (Inmovilidad, Natación y Escalamiento) se pueden observar los efectos de los extractos de *Dracocephalum moldavica L.* e Imipramina sobre la duración de las conductas activas, escalamiento y natación, y sobre el tiempo de inmovilidad en el ensayo de la prueba de nado forzado, todo respecto al grupo control.

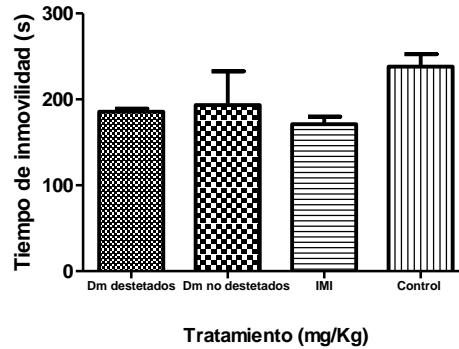


Figura 1. Evaluación de la inmovilidad del extracto de *Dracocephalum moldavica* L. (DM) 80 mg/Kg para ambos grupos (destetados) y (no destetados), Imipramina (IMI) 15 mg/Kg y el grupo control.

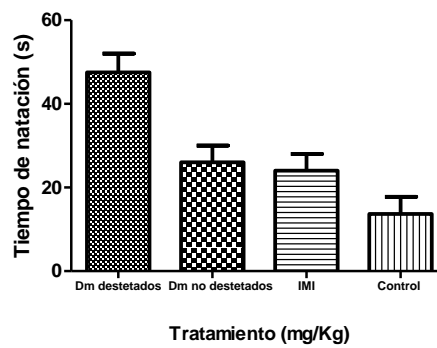


Figura 2. Evaluación de la natación del extracto de *Dracocephalum moldavica* L. (DM) 80 mg/Kg para ambos grupos (destetados) y (no destetados), Imipramina (IMI) 15 mg/Kg y el grupo control.

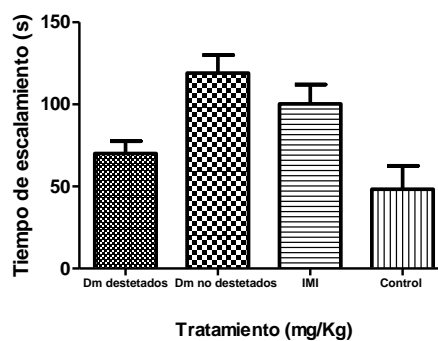


Figura 3. Evaluación del escalamiento del extracto de *Dracocephalum moldavica* L. (DM) 80 mg/Kg para ambos grupos (destetados) y (no destetados), Imipramina (IMI) 15 mg/Kg y el grupo control.

Como se observa en las figuras 1, 2 y 3 se muestran los datos del extracto de *Dracocephalum moldavica* L., usado la prueba del destete y posteriormente la prueba de nado forzado a los ratones una vez transcurridos 25 días de crecimiento y separarlos de la madre por 2 horas diarias.



En la figura 1 se muestran los datos de la evaluación de la inmovilidad donde podemos ver que el extracto administrado a los grupos de destetados y no destetados estadísticamente son representativos ya que se observa un tiempo de inmovilidad de  $185.6 \pm 6.02$  y  $193.33 \pm 68.06$  respectivamente, mientras que el grupo control presenta un tiempo de inmovilidad de  $238 \pm 25.23$ , este tiempo es donde el ratón permanece inmóvil y en el que no intenta ningún tipo de movimiento o escalamiento para intentar salir del tanque donde se encuentra.

Para la evaluación del nado, los datos se observan en la figura 2, donde se observa que el grupo de los destetados muestran tiempos mayores de nado de  $47.5 \pm 6.36$  respecto al grupo control que fue de  $13.66 \pm 7.09$ , al igual que el grupo de los no destetados que tiene un tiempo de nado de  $26 \pm 5.65$ , un tiempo mayor que el grupo control.

Como se muestra en la figura 3 el grupo de los no destetados son los que intentan escapar más tiempo teniendo una duración de  $115 \pm 21.21$  mientras que el grupo control presentó un tiempo de  $48.33 \pm 24.66$ , teniendo un tiempo casi doble para el caso de los destetados en el que intentan escapar del tanque. Para el grupo de los destetados se observa un tiempo de  $70 \pm 13.11$  en donde se observa un incremento del tiempo de escapatoria de los ratones respecto al grupo control.

#### 4. CONCLUSIONES

- Tras el estudio fitoquímico de *Dracocephalum moldavica L.* se determinó que contiene esteroides, cumarinas, sesquiterpenlactonas, azúcares reductores, taninos, glicósidos cardíacos, glicósidos cianogénicos, saponinas, alcaloides y flavonoides del tipo Auronas y Chalconas.
- El extracto total de *Dracocephalum moldavica L.* presenta efecto antidepresivo semejante al fármaco (Imipramina), ya que los tiempos de inmovilidad son semejantes, y esto se comprueba dado que es menor que el grupo control, reduciendo los tiempos de inmovilidad y aumentando los tiempos de nado del extracto respecto al fármaco y al grupo control.

#### 5. BIBLIOGRAFÍA

1. Estrada-Reyes, R., Ubaldo-Suárez, D., & Araujo-Escalona, A. G. (2012). Los flavonoides y el sistema nervioso central. *Salud Mental*, 35, 375-384.
2. Linares, E., Bye, R., Flores, B., 1999. *Plantas Medicinales de México, usos y remedios tradicionales*. Jardín Botánico del Instituto de Biología, UNAM, México, México, D.F.
3. Murakami, T., Yamane, H., Tomonaga, S., Furuse, M., 2009. Forced swimming and imipramine modify plasma and brain amino acid concentrations in mice. *European Journal of Pharmacology* 602, 73–77.
4. OMS, O. M. (Octubre de 2014). Organización Mundial de la Salud OMS. Obtenido de La depresión.
5. Porsolt, R.D., Le Pichon, M., Jalfre, M., 1977a. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266, 730–732.
6. Schürmann da Silva, A.F., de Andrade, J.P., Bevilacqua, L.R.M., de Souza, M.M., Izquierdo, I., Heriques, A.T., Zuanazzi, J.Â.S., 2006. Anxiolytic-, antidepressant- and anticonvulsant-like effects of the alkaloid montanine isolated from *Hippeastrum vittatum*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 85, 148–154.