



Evaluación del efecto ansiolítico de Gardenina A

Ángel J. Alonso-Castro¹, Deisy Gasca-Martínez², Laura V. Cortez-Mendoza¹, Marco A. Ramírez-Morales¹, Clara Alba-Betancourt¹.

¹División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Farmacia, Universidad de Guanajuato. Col. Noria Alta S/N. Guanajuato, Gto. 36050. México.

²Unidad de Análisis Conductual. Instituto de Neurobiología. UNAM. Campus Juriquilla.

e-mail: c.albabetancourt@ugto.mx

Resumen

En este trabajo se describe la actividad ansiolítica de Gardenina A (GAD, 5-hidroxi, 6,7,8,30,40,5-hexametoxi flavona), flavonoide encontrado en la resina de la planta *Gadernia Gummifera*. Los efectos ansiolíticos se evaluaron en ratones de la cepa CD1 mediante tres pruebas no condicionadas: laberinto en cruz elevado, prueba de transición luz-oscuridad y campo abierto. Estas pruebas buscan medir la respuesta conductual o fisiológica ante estímulos estresantes o nuevos. Se probaron 3 diferentes concentraciones (1, 10 y 25 mg/kg de peso) de GAD, no se observaron diferencias entre los efectos ansiolíticos de las concentraciones probadas de GAD, comparadas con el clonazepam (fármaco ansiolítico) ni entre las mismas, pudiendo proponerse este compuesto como una nueva alternativa para los tratamientos de ansiedad.

Palabras clave: Gardenina A, Pruebas no condicionadas, Efecto ansiolítico.

Abstract:

This work describes the anxiolytic activity of Gardenin A (GAD, 5-hydroxy, 6,7,8,30,40,5-hexamethoxy flavone), a flavonoid found in the resin of the *Gadernia gummifera* plant. Anxiolytic effects were evaluated in CD1 strain mice by three unconditioned tests: elevated plus maze, light-dark transition test and open field. These tests seek to measure behavioral or physiological response to new or stressful stimuli. 3 different concentrations (1, 10 and 25 mg/kg weight) of GAD were tested, no differences were observed between the anxiolytic effects of the tested concentrations of GAD, compared to clonazepam (anxiolytic drug) or between them, and this compound may be proposed as a new alternative for anxiety treatments.

Keywords: Gardenina A, Unconditioned tests, Anxiolytic effect.



1. Introducción:

La ansiedad es un estado emocional que se caracteriza por sensaciones subjetivas de nerviosismo, irritabilidad, anticipación desasosegada y aprensión, a menudo, pero no siempre, con un contenido temático preciso y los acompañantes fisiológicos de una emoción intensa, es decir, uno o más de los signos o síntomas de disnea, sensación de opresión retroesternal, sensación de ahogo, palpitaciones, mayor tensión muscular, mareo, temblores, sudoración excesiva y rubor. (OMS, 2013) Los tratamientos comúnmente recomendados para este tipo de trastornos incluyen terapia cognitivo-conductual (CBT) y medicamentos, usualmente antidepresivos y benzodiacepinas, (Hidalgo, R.B., 2007) pero están relacionados con una variedad de efectos adversos. (Ashton, H., 2005).

La utilización de tratamientos alternativos, en particular remedios herbales, conocidos como medicina tradicional, han tomado una gran importancia en el tratamiento de este tipo de desórdenes.

En México, el uso de plantas medicinales se considera como parte del conocimiento tradicional que ha sido transmitido de generación en generación. En los últimos años ha habido un interés particular hacia el uso de plantas para el tratamiento de distintos padecimientos, como los son la ansiedad y la depresión. (Heinrich, M., 1998).

Hoy en día hay poca información o investigación sobre el uso y manejo de plantas medicinales mexicanas. Una validación científica exhaustiva de la eficacia de las plantas medicinales garantizaría la fiabilidad de su uso y también ayudaría a identificar aquellas plantas que son ineficaces. (López-Rubalcava, C., 2016).

Gadernia gummifera (Planta)

Gardenia gummifera Linn. pertenece a la familia Rubiaceae. Es comúnmente conocido como gardenia gomosa. (Vindhya, K., 2015).

Dikamali es la resina de goma obtenida de los brotes de hojas de *G. gummifera*. Es una rica fuente de flavonoides, la mayoría de ellos son flavonas polimetoxiladas. Diecisiete flavonas como acerosina, apigenina, 30,4'-dimetoxifogonina, 30,4'-dihidroxifogonina, gardenina A-E y nevadensina se han reportado de esta planta. (Toppo, E., 2017).

Se afirma que esta resina posee propiedades medicinales como antihelmíntico, antiespasmódico, carminativo, diaforético, expectorante, cardiotónico, *G. gummifera* muestra además diversas bioactividades como antioxidante, antimicrobiano, insecticida, citotóxico, hepatoprotector, anti-aterogénico, antiulceroso, cardioprotector, analgésico, antiinflamatorio, antipirético. (Prashith-Kekuda T. R., 2017).

Gardenina A

Gardenina A (GA, 5-hidroxi, 6,7,8,30,40,5-hexametoxi flavona) es una de las flavonas polimetoxiladas que se encuentran en la goma de dikamali en cantidad sustancial (1.3 - 1.5%).

Carece de actividad citotóxica contra células de cáncer de colon humano (Li, S., 2007), ejerce efecto antihiperlipidémico y hepatoprotector contra la enfermedad del hígado graso no alcohólico. (Toppo, E., 2017). Recientemente, se descubrió que ejerce efectos vasorelajantes y exhibe acciones antioxidantes. (Abdallah, H. M., 2019).

La GA es un componente importante de las plantas medicinales con efectos ansiolíticos y antidepresivos, como *Dracocephalum moldavica*, Agastache mexicana ssp. mexicana y



Agastache mexicana ssp. xolocotziana. (López-Rubalcava, C., 2016).

Modelos animales para el estudio de la ansiedad

La ansiedad ha sido estudiada extensamente en modelos animales y existen más de treinta utilizados y aunque los hay basados en respuestas fisiológicas y en respuestas inducidas con fármacos, (Gómez, C., 2002) algunos recurren a respuestas condicionadas y otros modelos que utilizan respuestas más naturales de la especie por lo cual son considerados modelos etológicos o de respuestas no condicionadas. (Polanco, L., 2011).

Modelos condicionados. Se basan en la capacidad de responder ante un estímulo con la respuesta específica a otro estímulo. Generalmente se presenta un estímulo aversivo, comúnmente un choque eléctrico, aplicado al animal quien debe emitir una respuesta determinada. Estos modelos permiten un control bastante preciso de los niveles de conducta basal por parte del experimentador, pero casi permanentemente requieren que los sujetos de experimentación sean entrenados y se incluyan en el diseño experimental varios grupos de sujetos control para descartar los efectos no específicos del tratamiento sobre aspectos como el aprendizaje, la memoria, apetito y las funciones motoras y perceptuales. (Polanco, L., 2011).

Modelos no condicionados. Buscan medir la respuesta conductual o fisiológica ante estímulos estresantes o nuevos. Algunos evalúan el miedo ante situaciones novedosas, en donde el sujeto es expuesto a un espacio abierto, alto o luces brillantes. En estos modelos se evita hacer privación de agua o comida, así como la administración de choques eléctricos y no se requiere de periodos largos de entrenamiento. (Cruz-Morales, S. E., 2003). Estos modelos poseen ciertas ventajas para su utilización: tiene cierta validez ecológica al ser una prueba rápida

y sencilla, es económica al no implicar equipos costosos, tiene cierta sensibilidad bidireccional, en cuanto a las manipulaciones de ansiedad y no se requiere de largos procedimientos de formación que impliquen la privación de alimento/agua, y/o descargas eléctricas. (Cruz-Morales, S. E., 2003).

En el presente estudio, se utilizaron tres pruebas no condicionadas: laberinto en cruz elevado, transiciones luz- oscuridad y campo abierto para evaluar el efecto ansiolítico de la Gardenina A.

2. Metodología

Se probaron tres concentraciones de un extracto de Gardenina A (1, 10 y 25 mg/kg de peso) en 3 grupos de 8 ratones de la cepa CD1, administradas por vía oral.

Los resultados se compararon con un control positivo de clonazepam (fármaco ansiolítico) y un control negativo de solución salina.

Laberinto en cruz elevado

El aparato consta de cuatro brazos cruzados (35 cm de largo x 6 cm de ancho) y una región central (zona de decisión) (5 cm x 5 cm), además, el laberinto está elevado a 41 cm de altura. Dos brazos están cubiertos por paredes de acrílico opacas (zona segura), y dos brazos abiertos (zona de ansiedad). Pasada una hora de la administración del compuesto, el ratón fue colocado en el centro del laberinto y se evaluó su actividad durante 5 minutos utilizando el software SMART 3.0 (Panlab, Barcelona, España). Para esta prueba ha sido determinante de ansiedad la menor entrada en brazos abiertos, de manera que hay mayor ansiedad cuando hay menor exploración en estos brazos debido a la preferencia de permanecer en los brazos más protegidos (cerrados)

Transiciones luz-oscuridad

El aparato consiste en una caja con dos compartimentos comunicados entre sí. Uno de



los espacios es de acrílico color negro, que bloquea todo tipo de luz (zona segura 18 cm x 27 cm) y otro con paredes de acrílico color blanco y un sistema de iluminación tipo LED (zona de ansiedad 27 cm x 27 cm). Pasada una hora de la administración, el ratón se coloca en el espacio iluminado y se evalúa por 5 minutos, el tiempo de permanencia y número de entradas a los dos diferentes compartimentos. El principal factor ansiogénico se fundamenta en el conflicto entre el comportamiento exploratorio del ratón y la aversión natural hacia el área abierta e iluminada (brillante) de esta prueba.

Campo abierto

El aparato consiste en una caja de acrílico transparente de 42 cm x 42 cm y paredes con 30 cm de altura, el cual contiene un sistema de actividad SuperFlex Fusion. De igual manera, pasada una hora de la administración del compuesto, el ratón es colocado en el centro de la caja y se evalúa durante 5 minutos el tiempo de duración y la distancia recorrida en el área central y en el área periférica (el área central le causa ansiedad al verse desprotegido)

3. Resultados

Laberinto en cruz elevado

Los ratones tratados con el compuesto Gardenina A mostraron un comportamiento similar a los ratones tratados con clonazepam al explorar los brazos abiertos, tanto en número de veces (Figura 1A) como en el tiempo de exploración (Figura 1B). La reducción en los niveles de ansiedad se refleja en aumentos en la frecuencia y tiempo de exploración en los brazos abiertos, como fue observado con el clonazepam y las diferentes concentraciones de Gardenina. No se observaron diferencias significativas entre las concentraciones de Gardenina A.

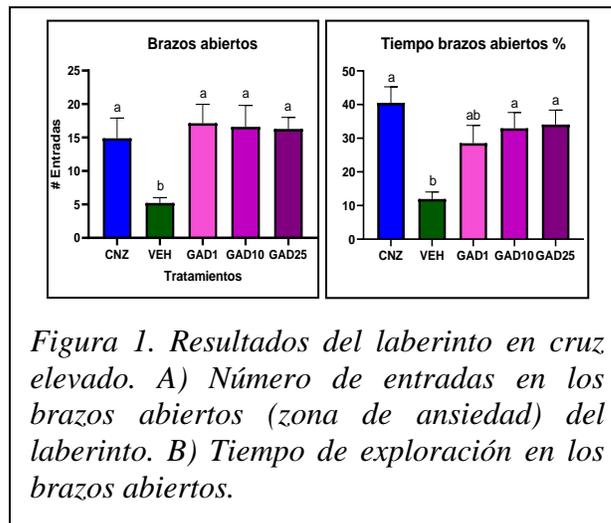


Figura 1. Resultados del laberinto en cruz elevado. A) Número de entradas en los brazos abiertos (zona de ansiedad) del laberinto. B) Tiempo de exploración en los brazos abiertos.

Corroborando el efecto ansiolítico, los ratones tratados con Gardenina A presentaron un comportamiento similar al clonazepam con respecto a la exploración y el tiempo de permanencia en los brazos cerrados del laberinto, los cuales corresponden a la zona segura y un animal ansioso tenderá a resguardarse ahí, como se observa en los ratones tratados con solución salina.

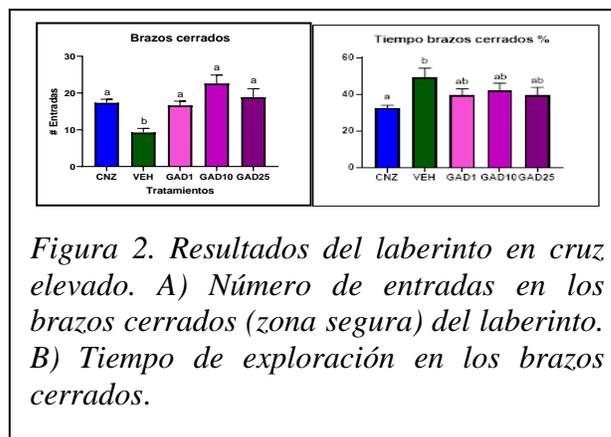


Figura 2. Resultados del laberinto en cruz elevado. A) Número de entradas en los brazos cerrados (zona segura) del laberinto. B) Tiempo de exploración en los brazos cerrados.



Transiciones luz-oscuridad

En la figura 3 se observa que los ratones tratados con el compuesto mostraron un mayor número de entradas en la parte iluminada de la cámara (figura 3A), así como también permanecieron un mayor tiempo en la misma (figura 3B), lo que refleja un menor estado de ansiedad, medido con esta prueba.

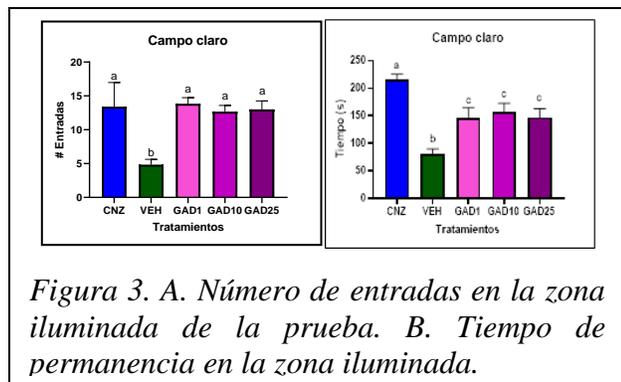


Figura 3. A. Número de entradas en la zona iluminada de la prueba. B. Tiempo de permanencia en la zona iluminada.

Por otro lado, el número de entradas en la parte cubierta y oscura (Figura 4A) también son mayores respecto a los ratones tratados con solución salina y el tiempo en esta zona (Figura 4B) disminuyó en los ratones tratados con el compuesto, respecto a los tratados con solución salina.

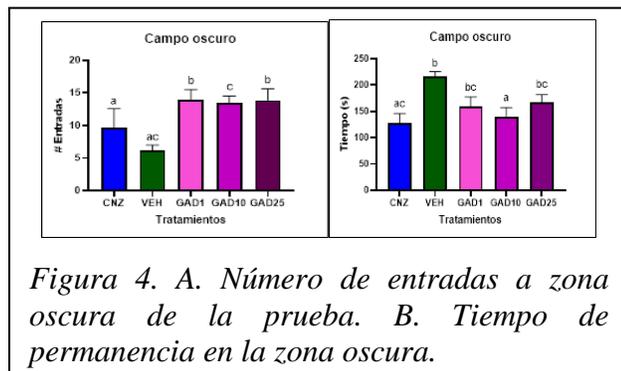


Figura 4. A. Número de entradas a zona oscura de la prueba. B. Tiempo de permanencia en la zona oscura.

Campo abierto

Los ratones tratados con Gardenina A mostraron un comportamiento similar a los tratados con clonazepam, al permanecer más tiempo en la

zona central (Figura 5A) y explorarla un mayor número de veces (Figura 5B) obtenido por la distancia recorrida en esta zona. La parte central corresponde a la zona de ansiedad de la prueba.

Por otro lado, en la zona segura de la prueba que corresponde a la periferia o la zona al margen

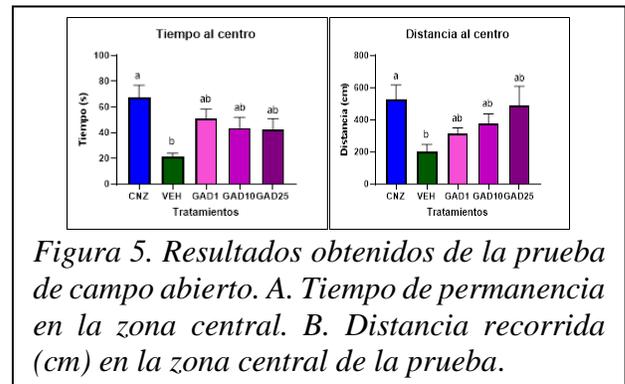


Figura 5. Resultados obtenidos de la prueba de campo abierto. A. Tiempo de permanencia en la zona central. B. Distancia recorrida (cm) en la zona central de la prueba.

(Figura 6), no se observan diferencias significativas en tiempo y distancia recorrida, entre los compuestos respecto a los controles, indicando que no hay una preferencia por esta zona.

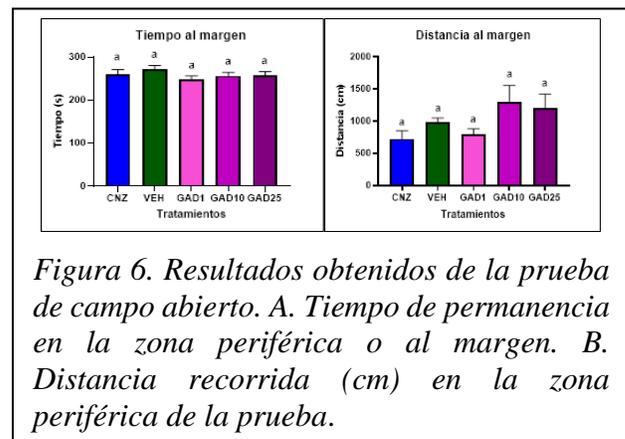


Figura 6. Resultados obtenidos de la prueba de campo abierto. A. Tiempo de permanencia en la zona periférica o al margen. B. Distancia recorrida (cm) en la zona periférica de la prueba.

4. Conclusiones

Los resultados sugieren que Gardenina A, extraída de la planta *Gardenia gummifera*, induce efectos de tipo ansiolítico en ratones sometidos a pruebas no condicionadas, ya que se observaron comportamientos similares al clonazepam (agente ansiolítico). Así como



también se determinó que el efecto ansiolítico de Gardenina A no es dependiente de la dosis, al no observarse diferencias significativas entre las concentraciones utilizadas

5. Referencias

Abdallah, H. M., Zakaria, E. M., El-Halawany, A. M., Mohamed, G. A., Safo, M. K., and El-Bassossy, H. M. (2019). Psiadia punctulata major flavonoids alleviate exaggerated vasoconstriction produced by advanced glycation end products. *PLoS One*, 14(9), e0222101.

Ashton, H. (2005) The diagnosis and management of benzodiazepine dependence. *Curr. Opin. Psychiatry*, 18, 249–255

Cruz-Morales, S. E., González-Reyes, M. R., Gómez-Romero, J. G., and Arriaga-Ramírez, J. C. P. (2003). Modelos de ansiedad. *Mexi. J. Behav. Anal.* 29, 93–105.

Gómez, C., Saldívar-González, J. A., and Rodríguez, R. (2002). Modelos animales para el estudio de la ansiedad: una aproximación crítica. *Salud Mental*, 25(1), 14-24.

Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C., Sticher, O. (1998) Medicinal plants in Mexico: healers' consensus and cultural importance. *Soc. Sci. Med.*, 47, 1859–1871.

Hidalgo, R.B., Tupler, L.A., Davidson, J.R. (2007) An effect-size analysis of pharmacologic treatments for generalized anxiety disorder. *J Psychopharmacol.*, 21, 864–72

Li, S., Pan, M. H., Lai, C. S., Lo, C. Y., Dushenkov, S., and Ho, C. T. (2007). Isolation and syntheses of polymethoxyflavones and hydroxylated polymethoxyflavones as inhibitors of HL-60 cell lines. *Bioorg. Med. Chem.*, 15(10), 3381–3389.

López-Rubalcava, C., and Estrada-Camarena, E. (2016). Mexican medicinal plants with anxiolytic or antidepressant activity:

Focus on preclinical research. *Journal of Ethnopharmacology*, 186, 377- 391.

Organización Mundial de la Salud. Salud mental un estado de bienestar. Diciembre 2013. Disponible en: http://www.who.int/features/factfiles/mental_health/es/

Polanco, L., C. Vargas-Irwin and M. Góngora. (2011). Modelos animales: una revisión desde tres pruebas utilizadas en ansiedad. *Suma Psicol.*, 18, 141-148.

Prashith-Kekuda T. R., Raghavendra H. L., Shilpa M., Pushpavathi D., Tejaswini Petkar, and Ayesha Siddiqha. (2017). Antimicrobial, Antiradical and Insecticidal Activity of Gardenia gummifera L. F. *Int. J. Pharm. Sci.*, 9(10), 265-272

Toppo, E., Darvin, S. S., Esakkimuthu, S., Stalin, A., Balakrishna, K., Sivasankaran, K., and Al-Dhabi, N. A. (2017). Antihyperlipidemic and hepatoprotective effects of Gadernin a in celular and high fat diet fed rodent models. *Chem.-Biol. Inter.*, 269. 9-17.

Vindhya, K., and Leelavathi, S. (2015) Evaluation of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of Gadernia gummifera Linn. *Sci. Rev. Res.*, 32(1), 255-261