



Actividad hepatoprotectora de *Mimosa lacerate* en células HepG2

Dolores Vargas Álvarez, Vianey Moreno Dimas, Noemí Waksman De Torres, Elvia Rodríguez Bátaz*, Luz del Carmen Alarcón Romero, Beatriz Hernández Carlos, Agustín Damián Nava, Francisco Palemón Alberto

Facultad de Ciencias Químicas Biológicas y Biomédicas; Universidad Autónoma de Guerrero. Avenida Lázaro Cárdenas S/N colonia la haciendita, Chilpancingo de los bravo, México C. P 39070; Facultad de ciencias química biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Universidad Tecnológica de la Mixteca; Carretera a Acatlima Km 2.5 Huajuapán de León, Oaxaca CP 69000

Autor de correspondencia. E-mail: elviarb@hotmail.com

Resumen

Introducción: El hígado es uno de los órganos más importantes que participa en la desintoxicación, por lo que a menudo se encuentra sujeto a estrés oxidativo y daño celular grave. Por esta razón debido a su riqueza natural las plantas medicinales, han sido utilizadas para obtener compuestos bioactivos que podrían aplicarse en el tratamiento de dolencias hepáticas. *Mimosa lacerata* utilizada en la medicina tradicional, sin embargo, las propiedades hepatoprotectoras de esta planta no han sido investigadas. **Objetivo:** Evaluar *in vitro* la actividad antioxidante de las fracciones de *Mimosa lacerata* en el papel hepatoprotector ante la inducción de daño hepático con CCl_4 . **Material y métodos:** Se realizó un proceso de extracción y purificación de la corteza de *M. lacerata*, así como tamizaje fitoquímico y una resonancia magnética nuclear (RMN). La actividad antioxidante se midió mediante el ensayo de eliminación de radicales libres de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). El efecto biológico de los extractos se evaluó mediante la determinación de los niveles de aspartato amino transferasa en células HepG2 tratadas con CCl_4 . **Resultados:** Se observaron compuestos polifenoles. El análisis de RMN del extracto metanólico sugiere la presencia de taninos, principalmente de polímeros de profisetidina/prorobinetidina. Se encontró una alta actividad antioxidante para el extracto metanólico (CE_{50} $4.58 \mu\text{g mL}^{-1}$) y la fracción 2 ($5.59 \pm \mu\text{g mL}^{-1}$). El tratamiento previo de células HepG2 con estos extractos mostró protección contra el daño hepático inducido por CCl_4 al reducir significativamente la actividad enzimática de AST ($p < 0.05$). **Conclusiones:** El extracto metanólico y la fracción 2 de *M. lacerata* poseen actividad biológica en células HepG2 tratadas con CCl_4 , al reducir significativamente los niveles de AST, efecto que se atribuye a sus propiedades antioxidantes.

Palabras clave: Antioxidante, hepatoprotector, estrés oxidativo, extractos naturales, *Mimosa lacerata*.

Abstract

Introduction: The liver is one of the most important organs involved in detoxification, which is why it is often subject to oxidative stress and severe cell damage. For this reason, due to their natural richness, medicinal plants have been used to obtain bioactive compounds that could be applied in the treatment of liver ailments. *Mimosa lacerata* is used in traditional medicine, however, the hepatoprotective properties of this plant have not been investigated.

Objective: To evaluate in vitro the antioxidant activity of *M. lacerata* fractions in the hepatoprotective role against the induction of liver damage with CCl₄. **Material and methods:** An extraction and purification process of the *M. lacerata* bark was carried out, as well as phytochemical screening and nuclear magnetic resonance (NMR). Antioxidant activity was measured by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging assay. The biological effect of the extracts was evaluated by determining the levels of aspartate amino transferase in HepG2 cells treated with CCl₄. **Results:** Polyphenolic compounds were observed. NMR analysis of the methanolic extract suggests the presence of tannins, mainly profisetidine/prorobinetidine polymers. A high antioxidant activity was found for the methanolic extract (EC₅₀ 4.58 µg mL⁻¹) and fraction 2 (5.59 ± µg mL⁻¹). Pretreatment of HepG2 cells with these extracts showed protection against CCl₄-induced liver damage by significantly reducing AST enzymatic activity (p < 0.05). **Conclusions:** The methanolic extract and fraction 2 of *M. lacerata* have biological activity in HepG2 cells treated with CCl₄, by significantly reducing AST levels, an effect that is attributed to its antioxidant properties.

Keywords: antioxidant, hepatoprotective, oxidative stress, natural extracts, *Mimosa lacerate*

1. Introducción

El hígado juega un papel importante en el procesamiento de fármacos capaz de detoxificar sustancias, como el alcohol, y excretar fármacos. Debido a la generación de metabolitos tóxicos o reactivos capaces de inducir toxicidad, y con un impacto considerable para generar de una lesión hepática.

El tetracloruro de carbono (CCl₄) es una hepatotóxica común que se usa ampliamente para inducir lesiones hepáticas asociadas a estrés oxidativo *in vivo* o, así como para evaluar las propiedades protectoras de los ingredientes activos de plantas (Ma *et al.*, 2014). Los radicales triclorometilo (CCl₃*), derivados del metabolismo del CCl₄, se pueden biotransformar en triclorometilperoxi (CCl₃OO*) (Tsenget *al.*, 2018), que atacan las estructuras celulares, incluidas las proteínas y fosfolípidos, lo que conduce a la apoptosis y necrosis celular, comprometiendo la salud y viabilidad celular, que puede conducir a la muerte celular por necrosis o apoptosis (Teschke, 2018). Sin embargo, este efecto puede ser inhibido o retardado por la presencia de compuestos antioxidantes, para la eliminación de especies reactivas.

Los antioxidantes ingeridos a través de la dieta abarcan diferentes clases de compuestos. Siendo las plantas medicinales consideradas como una fuente rica de nuevos medicamentos efectivos (Shehabet *al.*, 2015), y aquellas plantas consumidas en la protección del hígado de efectos nocivos de las hepatotóxicas, han sido llamadas agentes hepatoprotectores, pues ocupan un lugar clave en el tratamiento de prácticamente todas las demás enfermedades hepáticas, ayudando a la restauración de sus funciones (Karamalakova *et al.*, 2019).

Actualmente existen en el mercado medicamentos con actividad hepatoprotectora registrados como Simarin plus®, compuesto por silimarina. La silimarina es el extracto obtenido de *Silybum marianum*, o cardo mariano, y consta de siete flavonoglignanos (silibinina, isosilibinina, siliquistina, isosilistristina y silidianina) y un flavonoide (taxifolina). Entre estas sustancias, la silibinina prevalece principalmente y tiene el efecto biológico más importante (Federico *et al.*, 2017).

Por otra parte, el estudio de *Mimosa lacerata* ha sido escaso. Se trata de una planta del género

Mimosa perteneciente a la familia Fabacea, subfamilia Mimosoideae, ubicado en la tribu Mimoseae. Comúnmente conocida como íacalhuixtle, mezquite ytecolhuixtle, uña de gato. Ubicada en estados como Hidalgo, Jalisco, Michoacan, Oaxaca, Estado de Mexico, Morelos, Querétaro, Tlaxcala y parte del estado de Guerrero (Camargo *et al.*, 2001).

En el 2001 *M. lacerata* se enlista dentro de una de las especies más útiles del género *Mimosa* en México, utilizada como fuente de combustible, forraje y planta medicinal de uso tradicional en padecimientos como traumatismos de la piel, erupciones en la boca y fuegos (Camargo *et al.*, 2001). Para el 2016 se reporta el uso de la corteza de esta planta con una actividad antimicrobiana para, *Avibacterium paragallinarum* y *Pasteurella multocida* (Mayo *et al.*, 2018).

Por lo que, en este trabajo se busca relacionar la actividad biológica de *Mimosa lacerata* como un posible agente hepatoprotector.

2. Materiales y métodos

2.1 Material vegetal.

La corteza de *Mimosa lacerata* fueron otorgados por el laboratorio de Producción Integral de Alimentos de la Facultad Académica de Ciencias Químico Biológicas, de la Universidad Autónoma de Guerrero. La muestra fue secada y macerada en un ambiente fresco y seco para su posterior almacenamiento.

2.2 Obtención de extractos

Se pesaron 30 g de muestra macerada de *M. lacerata* para su extracción sólido-líquido (maceración secuencial) con el equipo Soxhlet, utilizando como disolventes: metanol (MeOH) y acetato de etilo:hexano (AcOEt:Hexano) (50:50). Posteriormente, se retiró el disolvente en un rotavapor a 80 rpm a una temperatura de 35°C para la obtención de los extractos, que fueron depositados en recipientes de cristal para secarlos a temperatura ambiente.

2.2 Hidrólisis ácida

Para la obtención de flavonoides libres se realizó la prueba de hidrólisis ácida según la metodología descrita por Vargaset *al.* (2006). A 3 g de extracto metanólico, se adicionó 300 mL de HCl 1.2 M en metanol acuoso al 50% durante 2 h a 98 °C en reflujo.

2.3 Fraccionamiento

La metodología a seguir se realizó de acuerdo a una modificación de lo descrito por Revathy, *et al.* (2011). Se montó una columna de 46 x2 empacada con 8 g de gel de sílice y 1 g del extracto metanólico. Se eluyó de acuerdo a una polaridad creciente: a) metanol, b) AcOEt:hexano (50:50) y c) hexano. A todas las fracciones recogidas se eliminó el solvente orgánico mediante un evaporador rotatorio.

2.4 Tamizaje

Las muestras obtenidas del rotavapor se analizaron por cromatografía en capa fina (CCF) en la fase estacionaria de gel de sílice 60. Los sistemas de elución utilizados fueron metanol:diclorometano (7:3) y acetato de etilo:ácido acético:ácido fórmico:agua (25:1:1:2). Se utilizó al radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) como revelador cualitativo de actividad antioxidante, además de reveladores como el cloruro de aluminio (AlCl₃), cloruro férrico (FeCl₃), dragendorff y vainillina; para evidenciar flavonoides, fenoles, alcaloides y terpenos respectivamente.

La lectura de las placas se llevó a cabo en una lámpara de UV a 340nm.

2.5 Actividad antioxidante en microplaca

Para determinar la concentración efectiva 50 (CE₅₀) de los extractos y fracciones capaces de reducir el 50% de radicales 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH), se realizó una técnica a microescala según lo descrito por Granados-Guzmán, *et al.* (2017), por medio de

espectrofotometría UV-Vis a una longitud de onda de 517 nm en placas de 96 pozos.

Se prepararon soluciones de los extractos y fracciones a una concentración de 1 mg mL⁻¹ en etanol (EtOH) en una serie de diluciones seriadas (factor 1:2). Se agregó el reactivo DPPH (280 µM) para su posterior lectura en el lector de placas Multiskan FC (ThermoScientific).

Se utilizó una solución de quercetina 1 mg mL⁻¹ como control positivo y etanol como control negativo. Para determinar la CE₅₀ se calculó la capacidad reductora de los extractos.

2.5 Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN)

Con el fin de investigar la naturaleza química del extracto, éste se analizó por espectroscopía de RMN. Para esto fueron pesados 30 mg del extracto metanólico y se disolvieron en metanol deuterado (CD₃OD). Los espectros de ¹H y ¹³C, y de experimentos bidimensionales gHMQC y gHMBC se adquirieron en un espectrómetro Bruker Avance III HD de 400 MHz, usando TMS como referencia interna. Los datos se procesaron en el software Topspin 4.0.6.

2.6 Cultivo celular

La conservación de la línea celular se realizó según la metodología descrita por Delgado-Montemayor, *et al* (2022).

Para la obtención de la alícuota de la línea celular HepG2, fueron distribuidos en varios frascos de cultivo con medio de cultivo DMEM Advanced con 10% de suero fetal bovino (SFB), 1% de antibióticos (penicilina y estreptomycin) y 1% de L-Glutamina; una vez obtenida una confluencia del 70-80% se retiró el medio de cultivo. Posteriormente, las células fueron lavadas con buffer de fosfatos en solución salina (PBS); enseguida se agregó 1 mL de tripsina y se incubaron por 5 min a 37°C con 5% de CO₂.

Posteriormente, las células fueron suspendidas para el conteo de células viables con azul tripano.

2.7 Modelo de daño

En placas de 6 pozos agregó 1 millón de células/pozo, a las 12 h de haber agregado las células se retiró el medio y se lavaron con PBS. Se agregaron 12 µL de CCl₄ para inducir el daño en un tiempo determinado de 2 h.

Las soluciones de CCl₄ se realizaron en PBS con DMSO al 0.05%. Después de 2 h de exposición de las células con el CCl₄ se retiró el sobrenadante para llevarlo a la cuantificación de la enzima aspartato amino transferasa (AST) en el equipo Ilab 300 plus con el kit de marca Instrumentationlaboratory.

2.8 Modelo hepatoprotector

En placas de 6 pozos se sembraron 1 millón de células, se incubaron 12 h a 37°C 5% CO₂ y enseguida se retiró el medio y se lavaron con PBS. Posteriormente se agregaron las soluciones de los extractos a evaluar y silimarina al 0.1% de DMSO para obtener una concentración de 100 µg mL⁻¹. Esto se incubó durante 1 h a 37 °C y 5% de CO₂. Pasado este tiempo retiró la solución y se adicionó CCl₄; se incubaron 2 h y una vez pasado ese tiempo se retiró el sobrenadante e inmediatamente se realizó la cuantificación enzimática de AST.

Análisis estadístico

Todos los datos se presentaron como media ± desviación estándar (DE), utilizando el programa STATA versión 14.0. Se realizó un análisis estadístico de varianza (ANOVA) para determinar diferencia estadística entre los tratamientos de cada grupo, considerando un nivel de confianza del 95% y un valor de significancia del $p < 0.05$. Los datos fueron graficados utilizando el programa GraphPadPrism v.5.

3. Resultados y discusión

La hepatotoxicidad de diferentes tipos y orígenes constituye un importante problema de salud pública, por lo que la necesidad de tener nuevos

esquemas de tratamiento es un factor importante para detener el progreso de estas afecciones, tal como el uso de productos naturales que han demostrado ser una excelente fuente para la obtención de compuestos antioxidantes y coadyuvar al tratamiento de estas enfermedades (Nwiduet *et al.*, 2018).

Por esta razón, la fitoterapia ha llevado a la búsqueda de alternativas, orientadas a la protección del hígado de efectos originados por toxinas hepáticas, aumentando el número de estudios para la evaluación distintos extractos herbales (Torres-González *et al.*, 2014).

3.1 Obtención y purificación de extractos

En el presente estudio el uso de técnicas de extracción, purificación y caracterización permitió el análisis de la corteza de *M. lacerata*, con el

cual se obtuvieron un extracto metanólico (P) y un extracto de AcOEt:hexano (AC), además de 8 fracciones (fracción 1,2,3,4,5,6,7 y 8) y un extracto hidrolizado (H) a partir del extracto metanólico. Del extracto H fueron obtenidas dos fracciones más, llamadas hidrolizado 1(H1) e hidrolizado 2 (H2).

3.2 Tamizaje

Una vez observado la actividad antioxidante en CCF con DPPH como revelador, se realizó su respectivo tamizaje fitoquímico.

Se identificó la presencia de flavonoides y fenoles en el extracto P. Asimismo, se reveló la presencia de compuestos fenólicos para las fracciones 2-7, y flavonoides en las fracciones 3-7. El resultado final del tamizaje fitoquímico se resume en el cuadro 1.

Cuadro 1. Tamizaje fitoquímico para los extractos y fracciones de *M. lacerate*

Muestra	Flavonoides	Fenoles	DPPH
Extracto P	P	P	P
Extracto AC	N	N	P
Fracción 1	N	N	P
Fracción 2	N	P	P
Fracción 3	P	P	P
Fracción 4	P	P	P
Fracción 5	P	P	P
Fracción 6	P	P	P
Fracción 7	P	P	P
Fracción 8	N	N	N
Fracción H1	N	N	P
Fracción H2	N	N	P

Prueba positiva (P), prueba negativa (N)

Para 2018, se reporta el primer estudio fitoquímico de *M. lacerata*, en el que se encontraron compuestos flavonoides, triterpenos y taninos en el extracto etanólico (Mayoet *et al.*, 2018), lo cual coincide con la presencia de flavonoides encontrados en este estudio.

La presencia de actividad antioxidante se observó en la mayoría de fracciones y extractos, a excepción de la fracción 8, la cual además no demostró la presencia de ningún metabolito buscado en este estudio.

3.3 Actividad antioxidante en microplaca

Para confirmar la actividad antioxidante de las muestras se determinó la CE₅₀, para la cual fue necesario calcular la capacidad reductora.

Los porcentajes de reducción se graficaron versus la concentración del extracto, y se determinó la concentración del extracto necesaria para obtener un 50% de reducción (cuadro2).

Cuadro2. Actividad antioxidante de los extractos y fracciones

MUESTRA	CE ₅₀ (µgmL ⁻¹)
Quercetina	4.02 ± 1.29
Extracto P	4.58 ± 2.96
Fracción 1	9.15 ± 4.11
Fracción 2	5.59 ± 1.85
Fracción 3	5.62 ± 1.12
Fracción 4	5.67 ± 4.96
Fracción 5	6.64 ± 1.47
Fracción 6	25.40 ± 7.75
Fracción 7	15.43 ± 6.02
Fracción 8	92.67 ± 8.14
Fracción H1	10.57 ± 7.21
Fracción H2	13.43 ± 6.82

Los resultados son mostrados como media ± SD n=3

Se observó una buena actividad antioxidante para las fracciones las fracciones 1-7, principalmente para las fracciones 2-5 y en el extracto metanólico.

La actividad antioxidante se mostró en las primeras fracciones y está disminuyo en las últimas fracciones. De igual manera para las fracciones hidrolizadas se mostró una buena actividad.

Los compuestos obtenidos con metanol, en especial el extracto metanólico y la fracción 2, mostraron tener mejor capacidad de reducción del radical DPPH con una CE₅₀ 4.58 µg mL⁻¹ y CE₅₀ 5.59 µg mL⁻¹ respectivamente. La actividad mostrada por ambas muestras fue muy similar a la quercetina (4.02 µg mL⁻¹), una clase de flavonoide utilizado para prevenir o retrasar

condiciones que favorecen el estrés oxidativo por radicales libres (Alía *et al.*, 2006).

Se ha reportado el uso de la corteza de esta planta como tratamiento en infecciones gastrointestinales y dolores estomacales, así como una actividad antimicrobiana para *Shigelladysenteriae* (datos no publicados), *Avibacteriumparagallinarum* y *Pasteurellamultocida* (Mayo *et al*, 2018).

La actividad antimicrobiana encontrada por Mayo, *et al* (2018) en corteza de *M. lacerata*, fue asociada a la presencia de flavonoides. La actividad antimicrobiana asociada a flavonoides ha sido bien estudiada por su capacidad de colapsar la homeostasis de la membrana de las bacterias (Songet *al*, 2021).

3.4 Identificación por RMN

Para confirmar el tamizaje fitoquímico, se obtuvieron los espectros de ^1H , ^{13}C , COSY, gHMQC y gHMBC del extracto metanólico. La selección del extracto metanólico para esta prueba fue en base a su actividad antioxidante mostrada por la técnica de DPPH en microplaca, la cual fue sobresaliente.

En la lectura correspondiente se observaron señales para carbonos aromáticos cuaternarios en δ 103.9, 126.8, 132.4, 145.4 y 156.2, carbonos CH en 105.6, 107.0, 108.8, 115.4 y 129.6; varias señales de C bases de oxígeno (metino sp^3) en δ 92.19, 83.5, 82.4, 81.1, 78.0, 74.3, 73.3, 73.0, 72.5, 72.2, 71.8, 71.3, 70.6, 61.4 y 59.5; mientras que señales de carbonos CH_2 base de oxígeno se observaron en δ 62.7, 62.0, 60.9 y 58.8. Otras señales de carbono sp^3 observadas son δ 23.7,

29.1, 29.7, 42.3 y 45.7. Entre todas las señales, es posible identificar que la señal en δ 29.1 de un grupo CH_2 (^1H δ 2.89) corresponde al C-4 del anillo C de una proantocianidina (Da Silva *et al.*, 2020). En el experimento gHMBC esta señal (δ 29.1) presentó correlación con δ 7.09 (H-5), la cual se encuentra acoplada (7.3 Hz) con la señal de H-6 en δ 6.75 (COSY), ambas señales corresponden a los protones aromáticos H-5 y H-6 del anillo A; por además, se observan correlaciones entre la señal H-4 (2.89) del anillo C (H-4) con un señal de δ C-13 base de oxígeno en 58.8. Lo anterior indica la presencia de polímeros compuestos por monómeros del tipo de la fisetidina o robinetidina (figura 1), que coincide con la presencia de compuestos polifenoles encontrados en el tamizaje fitoquímico.

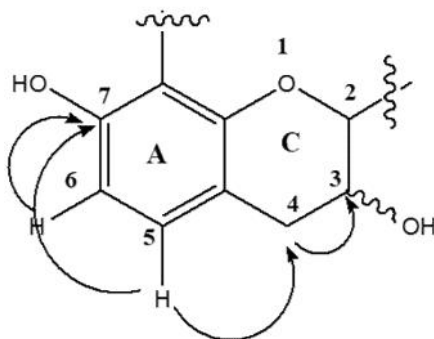


Figura 1. Correlaciones observadas en el experimento HMBC del extracto P de corteza de *M. lacerata*.

Los taninos se clasifican normalmente en taninos condensados (TC) e hidrolizables. Los TC o proantocianidinas representan más del 90% de la producción comercial mundial de taninos. Las principales unidades repetitivas de estos (también conocidos como proantocianidinas o flavonoides) incluyen: catequina y epicatequina (taninos de tipo procianidinas), prodelfinidinas, profisetinidinas y prorobinetidinas (Shirmohammadia *et al.*, 2018).

Pizzi y Stephanou (1993) al estudiar adhesivos fenólicos, se encontró la presencia de compuestos aromáticos en la corteza de acacia negra (*Acacia mearnsii*), donde se describen proantocianidinas compuestas de unidades de fisetinidina/robinetidina, al que llamaron tanino de mimosa, predominantemente de tipo prorobinetidina.

Sin embargo, la actividad hepatoprotectora de este tipo de compuestos no ha sido estudiada.

3.4 Actividad hepatoprotectora

Al evaluar la actividad hepatoprotectora del extracto P y la fracción 2 de *M. lacerata*, se observó que a una hora del pretratamiento con el extracto P y la fracción 2, con $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, redujó

significativamente ($p < 0.05$) la actividad enzimática de AST comparada con el grupo control a daño. Esta reducción, en la actividad de AST, es similar a la mostrada en el grupo tratado con silimarina a la misma concentración, como se muestra en la figura 2.

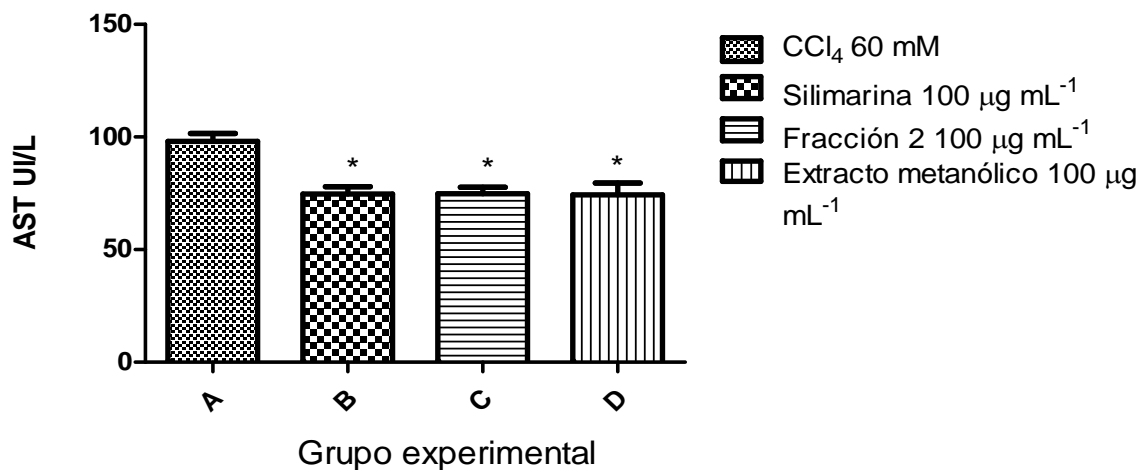


Figura 2. Efecto hepatoprotector *in vitro*. Pretratamiento a 1 hora de silimarina (B) fracción 2 (C) y el extracto P (D) en células HepG2 con daño inducido por CCl_4 a 60 mM. *significativamente diferente ($p < 0.05$), comparado con el grupo control de daño (A).

Estudios previos realizados por González, *et al* (2017), han demostrado que el daño hepático causado por CCl_4 a 1.5 horas de exposición en células HepG2 se encuentra asociado con un aumento significativo de AST, esto debido a la toxicidad de sus compuestos reactivos o metabolitos (Nwidiuet *al.*, 2018), que provocan una disminución en la integridad estructural del hígado (Liu *et al.*, 2018). Este hecho, puede atribuirse a su localización en el citoplasma y mitocondria, pues un daño mitocondrial con acumulación de ROS tiende a aumentar el nivel de AST (Huet *al.*, 2014). Datos similares fueron obtenidos en este estudio en el grupo control de daño, donde las células HepG2 fueron tratadas con CCl_4 en un tiempo de 2 horas, que conllevó a un incremento en los niveles de AST, indicativo de un daño celular hepático; sin embargo, este daño fue disminuido significativamente ($p < 0.05$) con el tratamiento previo con el extracto P y la fracción 2, lo que pudiera reflejar un efecto protector a la destrucción celular causada por el CCl_4 . Este efecto puede atribuirse al alto contenido antioxidante demostrado tanto para el

extracto P como para la fracción 2, al conferirle una protección considerable contra el estrés oxidativo, pues se ha demostrado que extractos derivados de plantas, que muestran una buena actividad antioxidante son buenos agentes hepatoprotectores (Torres-González *et al.*, 2011).

La reducción significativa de AST entre el extracto P, fracción 2 y silimarina fue similar. Estudios *in vivo* han demostrado el efecto de la silimarina ante la protección contra lesiones causadas por diversos productos tóxicos (Li, 2012), debido principalmente a su alta actividad antioxidante (Anthony y Saleh, 2013). De igual manera, Gonzales *et al.* (2017), han observado que el tratamiento a $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ con silimarina reduce significativamente una lesión hepática causada por CCl_4 (40 mM), en la misma línea celular en un tiempo de 1.5 horas. Su acción se manifiesta en la modulación de la inflamación y la apoptosis, pues se ha demostrado que tiene un efecto que permite su uso en todas las causas más frecuentes de daño hepático (Federico *et al.*, 2017).

Lo anterior sugiere que aumentar la concentración del extracto metanólico o la fracción 2, así como el tiempo de exposición, podría disminuir aún más el efecto tóxico causado por el CCl_4 y por consiguiente mejorar y mantener la integridad celular del hepatocito.

El efecto biológico observado por la fracción P se atribuye a la presencia de un compuesto tanino de polímeros tipo profisetidina o prorobonetidina. En general, se ha estudiado la actividad antioxidante y anti-inflamatoria relacionada a compuestos de proantocianidinas (Xionget *al.*, 2016). De igual forma la corteza de *Acaciaseyal*, rica en polifenoles, principalmente taninos, presenta una buena actividad antioxidante y antibacteriana obtenido del extracto metanólico (Elmiet *al.*, 2020). Sin embargo, la actividad hepatoprotectora asociada a este tipo de compuestos no ha sido bien estudiada.

Las actividades biológicas más notables de los taninos se han registrado como antioxidante, antiinflamatoria, antidiabética, cardioprotectora, cicatrizante y antimicrobiana. No obstante, muchas de las actividades indicadas actúan sinérgicamente, siendo la capacidad antioxidante el eje principal de la conexión entre las diferentes propiedades biológicas, actúan como antioxidantes cediendo átomos de hidrógeno de sus grupos hidroxilo a los radicales lipídicos. La reacción produce derivados lipídicos y radicales fenólicos. La deslocalización alrededor del anillo aromático del electrón desapareado estabiliza los polifenoles oxidados. El radical antioxidante puede participar en las reacciones de terminación produciendo moléculas no radicales (Fraga-Corral *et al.*, 2021).

Estudios *in vivo* han demostrado un efecto protector antioxidante de taninos en células de hígado al disminuir enzimas oxidantes como SOD (superóxido dismutasa) y GSH peroxidasa (Tianet *al.*, 2012). Otros estudios han asociado la presencia de taninos a la disminución de diferentes biomarcadores como GSH reductasa, JNK y CAT (catalasa), así mismo el aumento de antioxidantes como el glutatión (GSH) (Fraga-Corral *et al.*, 2021), esto ha llevado a investigaciones de

extractos de plantas ricos en taninos como conservantes de alimentos, ya que mejora la estabilidad lipídica de alimentos como carnes (Fruet *et al.*, 2020).

Cabe destacar que la presencia de metabolitos interferentes observados en el tamizaje, podrían estar implicados en el efecto protector hepático, pues en ciertas ocasiones la acción biológica de una planta se debe a uno solo de sus principios activos, si no a la interacción sinérgica de las moléculas presentes, que incluso muestran una actividad más efectiva que de forma individual (Tafeshet *al.*, 2021).

La presencia de polímeros tipo profisetidina o prorobonetidina podrían jugar un papel importante al contrarrestar el efecto tóxico provocado por el CCl_4 , por lo que es de interés seguir investigando los mecanismos moleculares precisos de su acción hepatoprotectora, ya que actualmente no se conoce un mecanismo específico por el cual *M. lacerata* ejerce este efecto biológico.

4. Conclusiones

Los extractos y fracciones que presentaron una mejor actividad antioxidante fueron el extracto metanólico (CE_{50} de $4.58 \mu\text{g mL}^{-1}$) y la fracción 2 ($5.59 \mu\text{g mL}^{-1}$) de *M. lacerata*. El pretratamiento a 1 hora con el extracto metanólico y la fracción 2 a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, mostró un efecto protector significativo contra el daño inducido por CCl_4 en la línea celular HepG2 al evaluar la concentración de AST. Este efecto biológico se asocia a la presencia de taninos con estructura de polímeros profisetidina / prorobonetidina evidenciados por la RMN del extracto P.

Referencias

Alía, M., Mateos, R., Ramos, S., Lecumberri, E., Bravo, L., Goya, L. (2006). Influence of quercetin and rutin on growth and antioxidant defense system of a human hepatoma cell line (HepG2). *Eur. J. Nutr.* 45: 19–28. DOI: 10.1007/s00394-005-0558-7

- Anthony, K.P., Saleh, M.A. (2013). Free Radical Scavenging and Antioxidant Activities of Silymarin Components. *Antioxidants*. 2: 398–407. DOI: 10.3390/antiox2040398
- Camargo, S.L., Grether, R., Martínez, A., García, V., Barrios, S. (2001). Especies Útiles del Género Mimosa (Fabaceae-Mimosoideae) en México. *Bol. Soc. Bot. México*. 68: 33–44.
- Da Silva, H. C., Leal, A. L. A. B., De Oliveira, M. M., Barreto, H. M., Coutinho, H. D. M., Dos Santos, H. S., et al. (2020). Structural characterization, antibacterial activity and NorA efflux pump inhibition of flavonoid fisetinidol. *S. Afr. J. Bot*, 132, 140-145.
- Delgado-Montemayor, C., Cordero-Pérez, P., Torres-González, L., Salazar-Cavazos, M., Saucedo, A., Paniagua-Vega, D., et al. (2022). Development of a Hepatoprotective Herbal Drug from *Turneradiffusa*. *Evid. based Complement. Altern. Med.* 2022:1-10. DOI: 10.1155/2022/5114948
- Elmi, A., Spina, R., Risler, A., Philippot, E., Mérito, A., Duval, R., et al. (2020). Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities, Cytotoxicity of *Acacia seyal* Del Bark Extracts and Isolated Compounds. *Molecules*. 25: 1-15. DOI: 10.3390/molecules25102392
- Federico, A., Dallio, M., Loguercio, C. (2017). Silymarin/Silybin and Chronic Liver Disease: A Marriage of Many Years. *Molecules*. 22: 191-199.
- Fraga-Corral, M., Otero, P., Echave, J., Garcia-Oliveira, P., Carpena, M., Jarboui, A., et al. (2021). By-Products of Agri-Food Industry as Tannin-Rich Sources: A Review of Tannins' Biological Activities and Their Potential for Valorization. *Foods*. 10: 1-22. DOI: 10.3390/foods10010137
- Fruet, A.P.B., Giotto, F., Fonseca, M., Nörnberg, J., de Mello A. (2020). Effects of the incorporation of tannin extract from quebrachocolorado wood on color parameters, lipid oxidation, and sensory attributes of beef patties. *Foods*. 9:1-10. DOI: 10.3390/foods9050667
- González, L.T., Minsky, N.W., Espinosa, L.E.M., Aranda, R.S., Meseguer, J.P., Pérez, P.C., (2017). In vitro assessment of hepatoprotective agents against damage induced by acetaminophen and CCl₄. *BMC Complement. Altern. Med.* 17: 1-10. DOI: 10.1186/s12906-016-1506-1
- Granados-Guzmán, G., Salazar-Aranda, R., Garza-Tapia, M., Castro-Ríos, R., Waksman de Torres, N. (2017). Optimization and Validation of Two High-Throughput Methods Indicating Antiradical Activity. *Curr. Anal. Chem.* 13: 499–507.
- Hu, Z., Lausted, C., Yoo, H., Yan, X., Brightman, A., Chen, J., et al. (2014). Quantitative Liver-Specific Protein Fingerprint in Blood: A Signature for Hepatotoxicity. *Theranostics* 4: 215–228. DOI:10.7150/thno.7868
- Karamalakova, Y., Nikolova, G., Georgiev, T., Gadjeva, V., Tolekova, A. (2019). Hepatoprotective properties of *Curcuma longa* L. extract in bleomycin-induced chronic hepatotoxicity. *Drug Discov. Ther.* 13: 9–16.
- Li, Chia., Hsiang, Chien., Wu, Shih y Ho, Shih-Lu. (2012). Food and Chemical Toxicology. *Food Chem Toxicol.* 5: 1568-1575 DOI: 10.1016/j.fct.2012.05.054
- Liu, W., Wang, Z., Hou, J., Zhou, Y., He, Y., Jiang, S., et al. (2018). The Liver Protection Effects of Maltol, a Flavoring Agent, on Carbon Tetrachloride-Induced Acute Liver Injury in Mice via Inhibiting Apoptosis and Inflammatory Response. *Molecules* 23: 2120. DOI: 10.3390/molecules23092120

- Ma, J.-Q., Ding, J., Zhang, L., Liu, C.-M. (2014). Hepatoprotective properties of sesamin against CCl₄ induced oxidative stress-mediated apoptosis in mice via JNK pathway. *Food Chem. Toxicol.* 64: 41–48. DOI: 10.1016/j.fct.2013.11.017
- Mayo, R., Vargas, D., Herrera, N., Rios, R., Damián, A., Godínez, F., et al. (2018). Plant polyextracts against *Avibacterium paragallinarum* and *Pasteurella multocida*, causal agents of respiratory syndrome in chickens. *Wld. J. Pharm. Pharm. Sci.* 7: 17-29. DOI: 10.20959/wjpps20189-12115
- Nwidu, L., Elmorsy, E., Obama, Y., Carter, W. (2018). Hepatoprotective and antioxidant activities of Spondiasmombin leaf and stem extracts against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *J. Taibah Univ. Med. Sci.* 13: 262–271. DOI: 10.1016/j.jtumed.2018.03.006
- Pizzi, A. y Stephanou, A. (1993). A comparative C13 NMR study of polyflavonoid tannin extracts for phenolic polycondensates. *J. Appl. Polym. Sci.* 50: 2105-2113.
- Revathy, S., Elumalai, S., Antony, M.B. (2011). Isolation, Purification and Identification of Curcuminoids from Turmeric (*Curcuma longa* L.) by Column Chromatography. *J. Exp. Sci.* 2: 21–25.
- Shehab, N.G., Abu-Gharbieh, E., Bayoumi, F.A. (2015). Impact of phenolic composition on hepatoprotective and antioxidant effects of four desert medicinal plants. *BMC Complement. Altern. Med.* 15: 401–413.
- Shirmohammadia, Y., Efhamsisi, D., Pizzi, D. (2018). Tannins as a sustainable raw material for green chemistry: A review. *Industrial Crops and Products.* 126: 316-332 DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.10.034
- Song, M., Liu., Y., Li, T., Liu, X., Hao, Z., Ding, S. (2021). Plant Natural Flavonoids Against Multidrug Resistant Pathogens. *Adv. Sci.* 8: 1-11. DOI: 10.1002/advs.202100749
- Tafesh, A., Najami, N., Jadoun, J., Halahlih, F., Riepl., H., Azaizeh, H. (2011). Synergistic Antibacterial Effects of Polyphenolic Compounds from Olive Mill Wastewater. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011:1-10. DOI:10.1155/2011/431021
- Teschke, R. (2018). Liver Injury by Carbon Tetrachloride Intoxication in 16 Patients Treated with Forced Ventilation to Accelerate Toxin Removal via the Lungs: A Clinical Report. *Toxics.* 6: 1–32.
- Tian, Y., Zou, B., Li, C., Yang, J., Xu, S. y Hagerman, AE. (2012). El tanino de caqui de alto peso molecular es un potente antioxidante tanto ex vivo como in vivo. *Food Research International,* 45: 26–30. DOI:10.1016/j.foodres.2011.10.005
- Torres-González, L., Elsa Muñoz-Espinosa, L., María Rivas-Estilla, A., Trujillo-Murillo, K., Salazar-Aranda, R., Waksman De Torres, N., et al. (2011). Protective effect of four Mexican plants against CCl₄-induced damage on the Huh7 human hepatoma cell line. *Ann. Hepatol.* 10: 73–79.
- Torres-González, L., Torres, N.W., Pérez-Meseguer, J., Muñoz-Espinosa, L., SalazarAranda, R., Cordero-Pérez, P. (2014). Review of plants with hepatoprotective activity evaluated in Mexico. *Medicinauniversitaria.* 16: 78-86
- Tseng, T.-H., Lin, W.-L., Chang, C.-K., Lee, K.-C., Tung, S.-Y., Kuo, H.-C. (2018). Protective Effects of Morus Root Extract (MRE) Against Lipopolysaccharide-Activated RAW264.7 Cells and CCl₄-Induced Mouse Hepatic Damage. *Cell. Physiol. Biochem.* 51: 1376–1388. DOI: 10.1159/000495555
- Vargas, D., Soto, M., González, V.A., Engelman, E.M., Martínez, A. (2006). Cinética de acumulación y distribución de flavonoides en guayaba (*Psidium guajava* L.). *Agrociencia*40: 109–115.

Xiong, J., Grace, MH., Esposito, D., Wang, F., Lila, MA. (2016). Phytochemical Characterization and Anti-inflammatory Properties of *Acacia mearnsii* Leaves. *Natural Product Communication*. 11: 649-653.

DOI:10.1177/1934578x1601100524

Access this Article in Online	
	Website: www.ijarbs.com
	Subject: Medicinal Plants
Quick Response Code	
DOI: 10.22192/ijarbs.2022.09.12.011	

How to cite this article:

Dolores Vargas Álvarez, Vianey Moreno Dimas, Noemí Waksman De Torres, Elvia Rodríguez Bátaz, Luz del Carmen Alarcón Romero, Beatriz Hernández Carlos, Agustín Damián Nava, Francisco Palemón Alberto. (2022). Actividad hepatoprotectora de *Mimosa lacerate* en células HepG2. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* 9(12): 138-149.

DOI: <http://dx.doi.org/10.22192/ijarbs.2022.09.12.011>