



**INSTITUTO LATINOAMERICANO DE CIENCIAS DE
LA VIDA Y DE LA NATURALEZA (ILACVN)**

**PROGRAMA DE POSGRADUACIÓN EN
BIOCIENCIAS**

**ESTUDIO DE LAS HOJAS DE *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv Y SU EFECTO
ANTITUMORAL**

JOHANA ESTHER REGALADO MARTÍNEZ

Foz de Iguazú, Estado de Paraná
2024



**INSTITUTO LATINOAMERICANO DE CIENCIAS DE
LA VIDA Y DE LA NATURALEZA (ILACVN)**

**PROGRAMA DE POSGRADUACIÓN EN
BIOCIENCIAS**

**ESTUDIO DE LAS HOJAS DE *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv Y SU EFECTO
ANTITUMORAL**

JOHANA ESTHER REGALADO MARTÍNEZ

Disertación de maestría presentada al Programa de Posgraduación en Biociencias, del Instituto Latinoamericano de Ciencias de vida y de la naturaleza de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, como requisito parcial para la obtención del título de Maestría en Biociencias.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Luís Maria Ruiz;
Coorientadora: Profa. Dra. Marcela Boroski.

Foz de Iguazú, Estado de Paraná
2024

JOHANA ESTHER REGALADO MARTÍNEZ

**ESTUDIO DE LAS HOJAS DE *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv Y SU EFECTO
ANTITUMORAL**

Disertación de maestría presentada al Programa de Posgraduación en Biociencias, del Instituto Latinoamericano de Ciencias de vida y de la naturaleza de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, como requisito parcial para la obtención del título de Maestría en Biociencias.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jorge Luís María Ruiz
Orientador
UNILA

Prof. Dr. Tiago Rodrigues
Examinador
UFABC

Dr. Andrés Hernán Mojoli Le Quesne
Examinador
UFSC

Foz de Iguazú, Estado de Paraná, 30 de agosto de 2024.

Catálogo elaborado pelo Setor de Tratamento da Informação
Catálogo de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - CENTRAL

R333

Regalado Martinez, Johana Esther.

Estudio de las hojas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv y su efecto antitumoral / Johana Esther Regalado Martinez. - Foz do Iguaçu, 2024.
133 f.: il., color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, Programa de Pós-Graduação em Biociências. Foz do Iguaçu - PR, 2024.
Orientador: Jorge Luis Maria Ruiz.
Coorientador: Marcela Boroski.

1. Plantas medicinais. 2. Tumores. 3. Plantas medicinais - *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv. 4. Antioxidantes. 5. Ácidos graxos. I. Ruiz, Jorge Luis Maria. II. Boroski, Marcela. III. Título.

CDU 633.88:616-006

Dedicó este esfuerzo a YHWH el Dios que me recuerda, quien rescata de la angustia mis días, al Padre de toda misericordia y Dios de toda consolación, quien sacia con bien mis anhelos de modo que me llena de vida.

AGRADECIMIENTOS

Antes de escribir algo, doy gracias a Dios por ser la luz que trajo a vida las semillas que dejó en mi espíritu desde antes de la fundación del mundo, le agradezco por iluminar mi entendimiento y revelar quién soy en Él.

Quiero agradecer a Jesús por ser mi compañero, mi colega, mi hermano mayor, por adoptarme en su familia, por permitirme vivir con él, por ser paz, luz, camino y vida, por enderezar mi camino y guiarme en caminos desconocidos para mí.

Por someter mi miedo a su amor, por acordarse de mí aún en los momentos más bajos, por llenarme de su bondad, de sus cuidados, por buscarme y llevarme de regreso al camino. Por permitirme vivir en su vida abundante y disfrutar de sus moradas.

Al Espíritu Santo que vive en mí, por llenarme de fortaleza, de aliento y ánimo, por enseñarme a creer en sus promesas, por ser la garantía de que sus palabras se cumplirán en mi vida. Por ser el mejor consejero que puedo tener, por ser el consuelo en los momentos de debilidad, por hacerme consciente del Padre, del Hijo y por convencerme de la verdad, la justicia y el juicio, que me dan seguridad de su amor.

A la familia que formaré que tiene nombre en la eternidad, la familia que Dios cuida y preserva incluso de mí misma, porque son la razón por la que pongo tanta ilusión en las cosas que hago, ustedes son mi mayor sueño y la recompensa más deseada.

A mis padres por cuidarme a la distancia, por todo lo que me enseñaron cuando estaba en casa, por crear las bases de un espíritu inquebrantable, por enseñarme que todo se puede lograr con esfuerzo y dedicación. Por enseñarme a volar alto, por la luz de sus ojos cuando me ven, por ser el lugar seguro al que puedo correr, por su amor incondicional, los amo profundamente, muchas gracias.

A mis hermanas Diana, Andrea y Esteban. A Diana por sus consejos, por enseñarme a no tener miedo de hacer la voluntad del Padre, por las ideas que me dio, por ser un ejemplo de mujer, por la fuerza que me transmite y por enseñarme que se pueden alcanzar muchas cosas luchando. A su familia por su cariño, por ser parte de mi vida, aunque sea a la distancia.

A Andrea por amarme, y hacerme sentir amada, por cada palabra de alivio que pronuncio, por hacerme feliz, por su amor sincero, por escucharme con paciencia, por su disposición hacia mí, por estar siempre cuando la necesito, te amo; y a mi hermano Esteban por enseñarme liderazgo, trabajo en equipo, amistad, cuidado y protección.

A mi orientador Dr. Jorge Ruiz, por creer en mí y en mis capacidades, por mostrarme justicia, misericordia y lealtad, por guiar este proyecto, por los retos desafiantes que me planteo, que me hicieron crecer como científica, gracias.

A mi coorientadora Dra. Marcela Boroski y a Daniela Pedroso, por introducirme en el mundo de la química y enseñarme a sobrevivir en el intento, por su tiempo para enseñarme, por ayudarme a trazar un nuevo camino que no conocía, muchas gracias por la experiencia y la ayuda.

A mis amigos, pastores, colegas, a mi lámpara, por su compañía, por sus palabras de aliento, por escucharme y porque contar con ustedes cuando fue necesario, agradezco por su vida.

A la Universidad Federal para la Integración Latinoamericana (UNILA) representada en el Programa de Bolsa Institucional (PROBIU) por la beca de investigación del Programa Demanda Social (DS), porque me hizo dedicarme de tiempo completo a esta investigación, y me dio la tranquilidad para explotar mis talentos.

A los profesores de la banca evaluadora Dr. Tiago Rodrigues y Dr. Andrés Hernán Mojoli Le Quesne por su disposición y tiempo para leer y corregir mi trabajo.

“Te ordeno: ¡crece y consolídalo! No te desalientes ni te acobardes, porque Jehová tu Dios está contigo en todo el recorrido.” Josué 1:9.

KITTEL, 1977, p.190, traducción propia, 2023.

MARTÍNEZ, Johana Esther Regalado. 2024. **Estudio de las hojas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv y su efecto antitumoral**. Asesores: RUIZ, Jorge Luis Maria (asesor); BOROSKI, Marcela (co-asesora). 133 h. Disertación (Maestría) - PPG-BC (Programa de Postgrado en Biociencias), UNILA (Universidad Federal de la Integración Latinoamericana), Foz de Iguazú.

RESUMEN

El cáncer es una patología compleja, que afecta al paciente, su familia, sociedad y sistema de salud. El cáncer tiene altas tasas de incidencia, haciéndolo un problema de orden mundial y aunque existen tratamientos, ellos tienen efectos secundarios. Las plantas medicinales son fuente de terapéuticos de bajo costo, y de fácil acceso. Entre ellas esta *A. ficoidea* (L.) P. Beauv (*A.f*) o “periquito amarillo”, abundante en la triple frontera entre Brasil, Argentina y Paraguay, en el saber popular se asocia a beneficios para la salud, aunque no se han hecho estudios que concreten sus efectos. Por tanto, este trabajo busco investigar químicamente los compuestos de las hojas de *A.f*, usando dos extracciones: una hidroalcohólica (EH) 70% (v/v) y otra de fracción lipídica (FL) usando cloroformo, metanol y agua, 2:2:1 (v/v/v); para evaluar sus efectos antiproliferativos y en la estructura celular de células cancerígenas (MIA PaCa-2), y células no cancerígenas (MRC-5, HBMEC). Se realizaron análisis de compuestos fenólicos totales, flavonoides y la evaluación del potencial antioxidante del EH. El perfil de ácidos grasos (AG) presentes de FL se determinó por cromatografía en fase gaseosa acoplada a espectrofotometría de masas (GC-MS). Para los ensayos de proliferación celular y encontrar IC₅₀ se usó MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-di-fenil brometo de tetrazolina), y microscopia de fluorescencia como ensayo confirmatorio. El rendimiento de EH fue de 19,90 % (m/m). Los antioxidantes fueron: compuestos fenólicos 9,04 mg EAG g⁻¹ muestra, flavonoides 0,30 mg EQ g⁻¹ muestra. Y la capacidad antioxidante en ABTS fue 0,395 μmol TE g⁻¹ muestra; DPPH, 21,72 μmol TE g⁻¹ muestra; y FRAP, 71,85 μmol Fe (II) g⁻¹ muestra. En el MTT, para las células el IC₅₀ fue: MIA PaCa-2, 52,51 % (v/v); MRC-5, 41,66 % (v/v); HBMEC, 50,16 % (v/v). En la microscopia de fluorescencia se observó alteraciones en la morfología, desprendimiento y redondeamiento celular; y se confirmó que el EH en concentración de 50 % (v/v) disminuye la proliferación celular en HBMEC y en el tamaño de los núcleos de forma significativa ($p < 0,0001$), con respecto al control. En FL el rendimiento fue de 3,86 % (m/m). Los AG mayoritarios fueron ácido alfa linoléico (ALA) 3,16 mg g⁻¹ muestra; ácido palmítico, 1,34 mg g⁻¹ muestra; ácido linoleico, 1,18 mg g⁻¹ muestra. El ALA se encontró en el 56,71 % (m/m). En el MTT, para las células el IC₅₀ fue: MIA PaCa-2, 1,045 μg μL⁻¹; MRC-5, 1,123 μg μL⁻¹; HBMEC, 0,472 μg μL⁻¹. En la microscopia de fluorescencia, el efecto antiproliferativo de la FL se verificó en concentraciones de 2,5 y 50,0 μg μL⁻¹ en las tres líneas celulares, siendo significativo para MIA PaCa-2 y MRC5 ($p < 0,0001$), y no significativo para HBMEC. Los cambios de tamaño observados fueron variables. Los resultados generados en este trabajo muestran los efectos antiproliferativos de las extracciones de *A.f* en las células utilizadas.

Palabras clave: plantas medicinales; neoplasia; *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv; antioxidantes; ácidos grasos.

MARTÍNEZ, Johana Esther Regalado. 2024. **Estudo das folhas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv e seu efeito antitumoral**. Orientadores: RUIZ, Jorge Luis Maria (orientador); BOROSKI, Marcela (coorientadora). 133 f. Dissertação (Mestrado) - PPG-BC (Programa de Pós-Graduação em Biociências), UNILA (Universidade Federal da Integração Latino-Americana), Foz do Iguaçu.

RESUMO

O câncer é uma patologia complexa que afeta o paciente, sua família, a sociedade e o sistema de saúde. O câncer apresenta altas taxas de incidência, tornando-se um problema mundial e embora existam tratamentos, eles apresentam efeitos colaterais. As plantas medicinais são uma fonte de compostos terapêuticos de baixo custo e de fácil acesso. Entre as plantas está a *A. ficoidea* (L.) P. Beauv (A.f) ou “periquito amarelo”, nativo do tríplice fronteira entre Brasil, Argentina e Paraguai, no conhecimento popular ela se-associa a benefícios à saúde, embora não tenha sido feitos estudos que especifiquem seus efeitos. Portanto, este trabalho buscou-se investigar quimicamente os compostos das folhas secas de A.f, utilizando duas extrações: uma hidroalcóolica (EH) a 70% (v/v) e outra referente a fração lipídica (FL) obtida utilizando clorofórmio, metanol e água, 2:2:1 (v/v/v) para avaliar os seus efeitos antiproliferativos e na estrutura de células cancerígenas (MIA PaCa-2) e células não cancerígenas (MRC-5, HBMEC). Realizaram-se as análises de compostos fenólicos totais, flavonoides e a avaliação do potencial antioxidante em EH. O perfil dos ácidos graxos presentes na FL foi determinado empregando cromatografia em fase gasosa acoplado ao espectrofotômetro de massas (GC-MS). Para ensaios de proliferação celular e determinação de IC_{50} , usou-se MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil tetrazolina bromo) e microscopia de fluorescência como ensaio confirmatório. O rendimento de EH foi de 19,90 % (m/m). Os antioxidantes foram: compostos fenólicos 9,04 mg EAG g^{-1} amostra é flavonoides 0,30 mg EQ g^{-1} amostra. E a capacidade antioxidante no ABTS foi de 0,395 $\mu\text{mol TE } g^{-1}$ amostra; DPPH, 21,72 $\mu\text{mol TE } g^{-1}$ amostra; e FRAP, 71,85 $\mu\text{mol Fe (II) } g^{-1}$ amostra. No MTT, para as células o IC_{50} foi: MIA PaCa-2, 52,51 % (v/v); MRC-5, 41,66 % (v/v); HBMEC, 50,16 % (v/v). Na microscopia de fluorescência foram observadas alterações na morfologia celular, descolamento e arredondamento; e foi confirmado que o EH na concentração de 50 % (v/v) diminui significativamente a proliferação celular em HBMEC e o tamanho dos núcleos ($p < 0,0001$), em comparação ao controle. Na FL o rendimento foi de 3,86 % (m/m). Os ácidos graxos majoritários formam o ácido alfa linolênico (ALA) 3,16 mg g^{-1} amostra, ácido palmítico, 1,34 mg g^{-1} amostra; ácido linoleico, 1,18 mg g^{-1} amostra. O ALA foi encontrado em 56,71 %. No MTT, para as células o IC_{50} foi: MIA PaCa-2, 1,045 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$; MRC-5, 1,123 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$; HBMEC, 0,472 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$. Na microscopia de fluorescência, o efeito antiproliferativo do AG foi verificado nas concentrações de 2,5 e 50,0 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ nas três linhagens celulares, sendo significativo para MIA PaCa-2 e MRC5 ($p < 0,0001$), e não significativo para HBMEC. As alterações observadas no tamanho foram variáveis. Os resultados gerados neste trabalho mostram os efeitos antiproliferativos das extrações de A.f, nas células usadas.

Palavras-chave: plantas medicinais; neoplasia; *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv; antioxidantes; ácidos graxos.

MARTÍNEZ, Johana Esther Regalado. 2024. **Study of *Alternanthera phycoidea* (L.) P. Beauv leaves and their antitumor effect.** Advisors: RUIZ, Jorge Luis Maria (advisor); BOROSKI, Marcela (co-advisor). 133 s. Master's thesis (Master's Degree) - PPG-BC (Postgraduate Program in Biosciences), UNILA (Federal University of Latin American Integration), Foz do Iguaçu.

ABSTRACT

Cancer is a complex pathology that affects the patient, their family, society and health system. Cancer has high incidence rates, making it a worldwide problem and although there are treatments, they have side effects. Medicinal plants are a source of low-cost and easily accessible therapeutics. Among them is *A. phycoidea* (L.) P. Beauv (A.f) or "parrot leaf", abundant in the triple border between Brazil, Argentina and Paraguay, is associated with health benefits in popular knowledge, although no studies have been done to specify its effects. Therefore, this work sought to chemically investigate the compounds of the A.f. leaves, using two extractions: a hydroalcoholic (EH) 70 % (v/v) and a lipid fraction (LF) using chloroform, methanol and water, 2:2:1 (v/v/v); to evaluate their antiproliferative effects and on the cellular structure of cancer cells (MIA PaCa-2), and non-cancerous cells (MRC-5, HBMEC). Analyses of total phenolic compounds, flavonoids and the evaluation of the antioxidant potential of EH were performed. The fatty acid (FA) profile of LF was determined by gas chromatography coupled to mass spectrophotometry (GC-MS). MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromine) and fluorescence microscopy were used as confirmatory assays for cell proliferation and IC₅₀. The yield of EH was 19.90 % (m/m). The antioxidants were: phenolic compounds 9.04 mg EAG g⁻¹ sample, flavonoids 0.30 mg EQ g⁻¹ sample. And the antioxidant capacity in ABTS was 0.395 μmol TE g⁻¹ sample; DPPH, 21.72 μmol TE g⁻¹ sample; and FRAP, 71.85 μmol Fe (II) g⁻¹ sample. In MTT, for cells, the IC₅₀ was: MIA PaCa-2, 52.51 % (v/v); MRC-5, 41.66 % (v/v); HBMEC, 50.16 % (v/v). In fluorescence microscopy, alterations in cell morphology, detachment and rounding were observed; and it was confirmed that EH at a concentration of 50 % (v/v) significantly decreases cell proliferation in HBMEC and in nucleus size (p < 0.0001), compared to control. In FL the yield was 3.86 % (m/m). The majority FA were alpha-linolenic acid (ALA) 3.16 mg g⁻¹ sample; palmitic acid, 1.34 mg g⁻¹ sample; linoleic acid, 1.18 mg g⁻¹ sample. ALA was found in 56.71 % (m/m). In MTT, for cells, IC₅₀ was: MIA PaCa-2, 1.045 μg μL⁻¹; MRC-5, 1.123 μg μL⁻¹; HBMEC, 0.472 μg μL⁻¹. In fluorescence microscopy, the antiproliferative effect of LF was verified at concentrations of 2.5 and 50.0 μg μL⁻¹ in the three cell lines, being significant for MIA PaCa-2 and MRC5 (p < 0.0001), and not significant for HBMEC. The size changes observed were variable. The results generated in this work show the antiproliferative effects of the A.f extractions in the cells used.

Keywords: medicinal plants; neoplasia; *Alternanthera phycoidea* (L.) P. Beauv; antioxidants; fatty acids.

ÍNDICE DE IMAGENES

Imagen 1. Carcinogénesis	22
Imagen 2. Iniciación - Carcinogénesis	23
Imagen 3. Características del cáncer	26
Imagen 4. Modelo de efectos de especies reactivas de oxígeno en las células	38
Imagen 5. Ilustración molecular de ALA.....	40
Imagen 6. <i>A. ficoidea</i> (L.) P. Beauv.....	41
Imagen 7. Anatomía vegetal de <i>A. ficoidea</i> (L.) P. Beauv	42
Imagen 8. Distribución de <i>A. ficoidea</i> (L.) P. Beauv. en el mundo.....	43
Imagen 9. Obtención y deshidratación de las hojas de <i>Alternanthera ficoidea</i> (L.) P. Beauv	47
Imagen 10. EH de hojas de <i>Alternanthera ficoidea</i> (L.) P. Beauv por maceración.....	48
Imagen 11. Evaporación de etanol del EH de <i>Alternanthera ficoidea</i> (L.) P. Beauv.....	49
Imagen 12. Esterilización del EH	50
Imagen 13. Extracción de FL de hojas secas de <i>Alternanthera ficoidea</i> (L.) P. Beauv	55
Imagen 14. Esterificación de ácidos grasos para cromatografía gaseosa	56
Imagen 15. Esterilización de la dilución de FL de <i>Alternanthera ficoidea</i> (L.) P. Beauv en DMSO	58
Imagen 16. Linajes celulares MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC	59
Imagen 17. Distribución de la concentración final del EH en placa de 96 pozos	61
Imagen 18. Distribución de la concentración final de la dilución de FL en placa de 96 pozos	62
Imagen 19. Ensayo de citotoxicidad con MTT de EH en MIA PaCa-2	67
Imagen 20. Ensayo de citotoxicidad con MTT de EH en MRC-5	68
Imagen 21. Ensayo de citotoxicidad con MTT de EH en HBMEC	69
Imagen 22. Análisis morfológico del núcleo y citoesqueleto de las células MIA PaCa-2 tratado con EH.....	71
Imagen 23. Análisis morfológico del núcleo y citoesqueleto de las células MRC-5 tratado con EH.....	72
Imagen 24. Análisis morfológico del núcleo y citoesqueleto de las células HBMEC tratado con EH.....	73
Imagen 25. Núcleos de las células HBMEC tratado con EH y con coloración DAPI	74
Imagen 26. Análisis estadístico de núcleos de MIA PaCa-2, tratados con EH.....	75
Imagen 27. Análisis estadístico de núcleos de MRC-5, tratados con EH	76

Imagen 28. Análisis estadístico de núcleos de HBMEC, tratados con EH	77
Imagen 29. Análisis estadístico de núcleos de HBMEC, tratados con EH	78
Imagen 30. Ensayo de citotoxicidad con MTT de FL en MIA PaCa-2	80
Imagen 31. Ensayo de citotoxicidad con MTT de FL en MRC-5	81
Imagen 32. Ensayo de citotoxicidad con MTT de FL en HBMEC	82
Imagen 33. Núcleos de las células MIA PaCa-2 tratados con FL y con coloración DAPI ..	84
Imagen 34. Núcleos de las células MRC-5 tratados con FL y con coloración DAPI	85
Imagen 35. Núcleos de las células HBMEC tratados con FL y con coloración DAPI.....	86
Imagen 36. Análisis estadístico de núcleos de MIA PaCa-2, tratados con FL	87
Imagen 37. Análisis estadístico de núcleos de MRC-5, tratados con FL	88
Imagen 38. Análisis estadístico de núcleos de HBMEC, tratados con FL.....	89

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Curva de calibración con ácido gálico con lectura $\lambda = 725$ nm para determinar compuestos fenólicos	129
Gráfico 2. Curva de calibración con quercetina con lectura $\lambda = 425$ nm para determinar flavonoides.....	130
Gráfico 3. Curva de calibración con trolox con lectura $\lambda = 734$ nm para análisis de ABTS	131
Gráfico 4. Curva de calibración con trolox, lectura $\lambda = 517$ nm para análisis de DPPH...	132
Gráfico 5. Curva de calibración de ácido gálico, lectura $\lambda = 593$ nm para medir FRAP...	133

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diferencias y características de células no cancerosas y células cancerosas	24
Tabla 2. Resumen de los componentes del microambiente tumoral y su función en el cáncer	31
Tabla 3. Resumen tipos de tratamientos para el cáncer	35
Tabla 4. Ubicación taxonómica de <i>Alternanthera ficoidea</i> (L.) P. Beauv	40
Tabla 5. Datos del proceso de EH	65
Tabla 6. Determinación de CF, F, y actividad antioxidante <i>in vitro</i> del EH.....	65
Tabla 7. Rendimiento de la extracción de FL de la muestra	79
Tabla 8. Ácidos grasos detectados en las hojas secas de <i>A. ficoidea</i> (L.) P. Beauv	79

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS

ROS	Concentración de ROS
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AG	Ácidos grasos
AL	Ácido linoleico
AO	Ácido oleico
AP	Ácido palmítico
C1	Concentración uno
C1-EH	Concentración uno de extracto hidroalcohólico 0,391 % (v/v)
C1-FL	Concentración uno de fracción lipídica 2,5 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ (m/v)
C2	Concentración dos
C2-EH	Concentración uno de extracto hidroalcohólico 0,781 % (v/v)
C2-FL	Concentración dos de fracción lipídica 10 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ (m/v)
CAT	Catalasa
CF	Compuestos fenólicos
CIS	Cisplatino
col	Columnas
COX2	Ciclooxigenasa-2
CT	Control
DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindol, 2-(4-amidinofenil)-6-indolcarbamidina
DMBA	7,12-dimetilbenz (a) antraceno
DMEMc	<i>Minimal Essential Medium complete</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvió patrón
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EH	Extracción hidroalcohólica
FAMEs	Esteres metílicos de AG
FASN	Sintasa de ácidos grasos
FL	Fracción lipídica
FXR	Receptor farnesoide X
G	Núcleos grandes
GC-MS	Cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas
GLOBOCAN	Observatorio de Cáncer Global
HBMEC	Células endoteliales microvasculares del cerebro humano

IC ₅₀	Concentración inhibitoria del 50 %
INCA	Instituto Nacional de Cáncer
iNOS	Proteína óxido nítrico sintasa inducible
MIA PaCa-2	Células de carcinoma pancreático
MRC-5	Línea celular diploide de fibroblastos del tejido pulmonar
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-di- fenil brometo de tetrazolina
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	<i>Odds ratios</i>
P	Núcleos pequeños
PBS	Solución salina tamponada con fosfato 1x
PBT	PBS con 0,1% de Tritón X-100
PhRMA	<i>The Pharmaceutical Research and Manufactures of America</i>
PI	Patrón interno
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SFB	Suero fetal bovino
SOD	Superóxido dismutasa
TE	Equivalente de Trolox
TNF- α	Factor de necrosis tumoral- α
TPTZ	Solución de 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina
UNILA	Universidad Federal de la Integración de Latino América
VC	Viabilidad celular

SUMÁRIO

RESUMEN	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
ÍNDICE DE IMAGENES	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xiii
ÍNDICE DE TABLAS	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS	xv
1 INTRODUCCIÓN	19
1.1 Marco Conceptual	20
1.1.1 Cáncer.....	20
1.1.2 Carcinogénesis.....	22
1.1.2.1 <i>Iniciación</i>	22
1.1.2.2 <i>Promoción</i>	24
1.1.2.3 <i>Progresión</i>	25
1.1.3 Características del cáncer.....	25
1.1.3.1 <i>Características de origen</i>	27
1.1.3.2 <i>Características emergentes</i>	29
1.1.3.3 <i>Factores habilitantes</i>	29
1.1.4 Microambiente tumoral.....	30
1.1.5 Genes relacionados al cáncer.....	32
1.1.6 Tipos de tumores y de cáncer.....	32
1.1.7 Cáncer de páncreas.....	33
1.1.8 Incidencia del cáncer.....	34
1.1.9 Medicina alopática y tratamientos para el cáncer.....	35
1.1.10 Medicina complementar y plantas medicinales.....	35
1.1.10.1 <i>Bioactivos aplicados al cáncer</i>	36
1.1.10.2 <i>Antioxidantes y su actividad contra el cáncer</i>	36
1.1.10.3 <i>Ácidos grasos y ácido alfa-linolénico en el cáncer</i>	39
1.1.11 <i>Alternanthera ficoidea</i> (L.) P. Beauv.....	40
1.1.11.1 <i>Características botánicas y de crecimiento</i>	41
1.1.11.2 <i>Ubicación y distribución geográfica</i>	42
1.1.11.3 <i>Descripción química</i>	43
1.2 Justificación	44
1.3 Pregunta norte	45
1.4 Hipótesis Nula	45
2 OBJETIVOS	46
2.1 General	46
2.2 Específicos	46
3 MATERIALES Y MÉTODOS	47

3.1 Recolección de las hojas <i>Alternanthera ficoidea</i> (L.) P. Beauv	47
3.2 Extracción hidroalcohólica de <i>Alternanthera ficoidea</i> (L.) P. Beauv	48
3.2.1 Antioxidantes	50
3.2.1.1 <i>Compuestos fenólicos</i>	50
3.2.1.2 <i>Flavonoides</i>	51
3.2.2 Capacidad antioxidante	51
3.2.2.1 <i>Método ABTS</i>	51
3.2.2.2 <i>Método DPPH</i>	52
3.2.2.3 <i>Método FRAP</i>	53
3.3 Extracción de la FL	54
3.3.1 Esterificación de fracción lipídica	55
3.3.2 Análisis de cromatografía gaseosa con espectrometría de masas – GC-MS	56
3.3.3 Dilución de FL	57
3.4 Ensayos en cultivo celular	59
3.4.1 Descongelamiento y cultivo celular	60
3.4.2 Ensayo de citotoxicidad celular	60
3.4.3 Evaluación del citoesqueleto y ADN con faloidina y DAPI	63
4 RESULTADOS	65
4.1 Extracción hidroalcohólica de <i>Alternanthera ficoidea</i> (L.) P. Beauv	65
4.1.1 Antioxidantes y capacidad antioxidante	65
4.1.2 Ensayos de citotoxicidad celular para EH	66
4.1.3 Evaluación del citoesqueleto y núcleo, aplicando EH	70
4.2 Fracción lipídica de <i>Alternanthera ficoidea</i> (L.) P. Beauv	79
4.2.1 Perfil de ácidos grasos	79
4.2.2 Ensayo de citotoxicidad celular para FL	79
4.2.3 Evaluación del núcleo aplicando FL y DAPI	83
5 DISCUSIÓN	91
6 CONSIDERACIONES FINALES	99
7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
APÉNDICES	126
Apéndice A – Cromatograma de la separación e identificación de 34 ácidos grasos en hojas secas de <i>A. ficoidea</i> (L.) P. Beauv., por medio de CG/EM	126
ANEXOS	127
Anexo A – Ranking Nacional de Cáncer como Causa de Muerte en Edades <70 Años en 2019	127
Anexo B – Permiso de investigación científica	128
Anexo C – Curva patrón de ácido gálico para medir compuestos fenólicos	129
Anexo D – Curva patrón de quercetina para medir flavonoides	130
Anexo E – Curva patrón de trolox para análisis ABTS	131
Anexo F – Curva patrón de trolox para análisis DPPH	132
Anexo G – Curva patrón de ácido gálico para medir FRAP	133

1 INTRODUCCIÓN

El cáncer es una patología que reúne más de 100 enfermedades, que tienen en común que células sanas, por alteraciones genéticas, se transformen en células tumorales (BROWN *et al.*, 2023). Este proceso se conoce como carcinogénesis y pasa por las etapas de iniciación, promoción y progresión; lo que resulta en un crecimiento más rápido, desordenado, agresivo y descontrolado de las células tumorales comparado con el de células no tumorales (ELDRIDGE, 2023).

La cura del cáncer es un desafío que ocupa las más diversas áreas, con registros documentados desde la antigüedad (CHABNER; ROBERTS, 2005). Para el 2023, *The Pharmaceutical Research and Manufactures of America* (PhRMA) desarrolló innovaciones biotecnológicas, registrando la producción de 1.300 medicamentos y vacunas para diversos tipos de cáncer. Pese a los esfuerzos farmacéuticos, los medicamentos producidos aún generan numerosos efectos colaterales que afectan la salud humana (NORAWONG, 2023; SHARMA *et al.*, 2022).

Otra razón para buscar la cura al cáncer radica en que las neoplasias son mortales, siendo que para el 2019, el cáncer, se presentó como la primera causa de muerte, según la OMS (Organización Mundial de la Salud) (SUNG *et al.*, 2021). Para el 2020, el cáncer cobró la vida de 10 millones de personas alrededor del mundo, de las cuales 259.949 fueron de Brasil, según el Instituto Nacional de Cáncer (INCA) (2020).

En consecuencia, se buscan nuevas moléculas terapéuticas con actividad citotóxica diferencial que afecten a células cancerígenas y no a células no cancerígenas, disminuyendo los efectos adversos del tratamiento (HUANG; LU; DING, 2021; VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Las plantas medicinales son una opción para descubrir nuevos compuestos, porque el 25 % de los fármacos existentes y el 75 % de los medicamentos antitumorales se derivan de ellas, además de ser una fuente de bajo costo y de fácil acceso (HASSAN, 2020; NEWMAN; CRAGG, 2016).

Entre la diversidad de las plantas medicinales que se conocen popularmente del sur de Brasil está la *A. ficoidea* (L.) P. Beauv., que se encuentra específicamente en la triple frontera de Argentina, Brasil y Paraguay (BAYÓN; GIULIANO; VERA BAHIMA, 2022). Ella es conocida popularmente como: dipirona, periquito, periquito amarillo, pico de loro amarillo y apaga fuego (DOS SANTOS; MACHADO, 2012). Se usa de forma ornamental, medicinal y ecológica (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Los usos medicinales y nutricionales de la *A. ficoidea* (L.) P. Beauv. se basan en la infusión de las hojas, para controlar problemas gastrointestinales como infecciones del tracto urinario, cólicos abdominales, gastritis, así mismo como analgésico y tranquilizantes para dolores de cabeza, musculares y dentales (MARQUES, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2019; ZAMBRANO *et al.*, 2022).

De los estudios existentes de esta planta está el de Reshma y Basavaraj (2019), quienes muestran que hay una mayor concentración de antioxidantes en las hojas de esta planta que en tallos o raíces, asociando los antioxidantes de las hojas de *A. ficoidea* (L.) P. Beauv. con el uso en los tratamientos de problemas cardíacos y del cáncer. Esta planta presenta pocos estudios sobre sus características químicas que le confieran validez y que sean concluyentes con los efectos terapéuticos a los que se la asocia; por esto, se hace interesante su estudio.

Considerando el potencial farmacológico de esta especie nativa y la gran problemática que supone el cáncer, se hacen necesarios las pruebas de verificación de citotoxicidad de bioactivos almacenados en sus hojas sobre linajes celulares neoplásicos.

Por ello, en la presente investigación de la planta *A. ficoidea* (L.) P. Beauv; se usaron hojas secas obtenidas del refugio biológico de ITAIPU, de las cuales se obtuvieron dos extracciones: una extracción de la fracción lipídica (FL) y una extracción hidroalcohólica (EH), las cuales se analizaron químicamente por separado; la primera para determinar el perfil lipídico en ácidos grasos (AG) y la segunda para determinar antioxidantes.

Los extractos FL y EH se aplicaron en los linajes celulares MIA PaCa-2, HBMEC y MRC-5; el primero como modelo de células cancerígenas y los otros dos como modelo de células no cancerígenas. Se evaluó la proliferación celular con los tratamientos, usando el ensayo de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) para encontrar la concentración inhibitoria del 50 % (IC₅₀). Asimismo, se evaluó si los extractos influían en la morfología del citoesqueleto y el núcleo celular de los linajes mencionados, realizando un examen de fluorescencia con los marcadores DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol, 2-(4-amidinofenil)-6-indolcarbamidina) y faloidina (un marcador de actina).

1.1 Marco Conceptual

1.1.1 Cáncer

El cáncer es una patología que afecta a individuos de diferentes edades, sexos, etnias, grupos sociales y que por lo tanto tiene un gran impacto en la sociedad. Cáncer

viene del griego *karkinos* y significa cangrejo; este término fue utilizado por primera vez por Hipócrates 400 a.C. puesto que él veía el cáncer como una masa de forma irregular semejante a un cangrejo. Él llamó cáncer a un tumor maligno ulcerado y carcinoma a un tumor maligno (HAJDU, 2011; INCA, 2020).

Aunque fue Hipócrates quien le designó el nombre al cáncer, se han encontrado otros escritos sobre esta enfermedad, como el papiro de Edwin Smith, con datación de 3000 a.C. aproximadamente, en el cual evidencia la extracción de cáncer de mama en unos pacientes en Egipto, por lo que se infiere que desde entonces no existía tratamiento para esta patología. El Papiro de Ebers, con fecha de 1500 a.C. también, es un registro de la caracterización de diferentes tumores (HAJDU, 2011).

Además de los escritos, se han encontrado restos de tumores en momias egipcias y en restos de cadáveres chinos, sumerios, hebreos, persas e indios (BINDER *et al.*, 2014). Entre los casos que llaman la atención está el de un homínido en Sudáfrica con osteosarcoma que data de hace 1,7 millones de años (ODES *et al.*, 2016).

Por lo que se puede decir que, el cáncer ha afectado al ser humano por miles de generaciones y civilizaciones. Aunque aún no se encuentra evidencia de un tratamiento definitivo, paralelamente se ha avanzado en varias disciplinas del conocimiento que han permitido entenderla mejor (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018).

Un adelanto notable es en las cirugías; ya que Giovanni Morgagni de Padua en 1761 realizó la primera autopsia, relacionando la enfermedad del paciente con lo obtenido de la muestra patológica después de la muerte (HUGHES; NAKAYAMA, 2021). Este fue el comienzo de la investigación científica en oncología y es de tal relevancia que aún se utiliza rutinariamente hoy en día (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018).

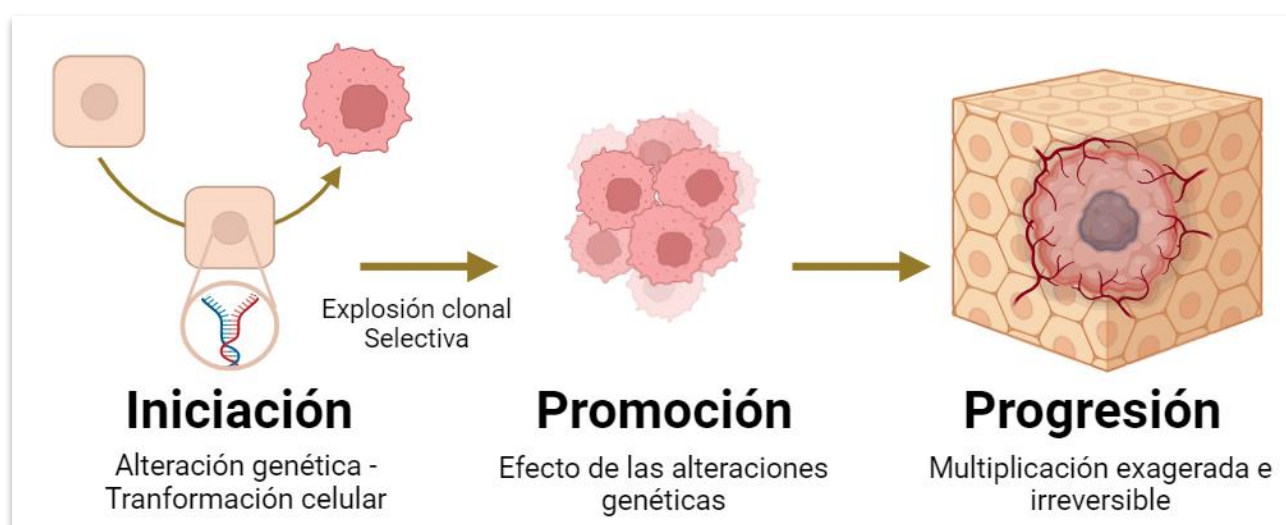
A medida que se ha ido comprendiendo esta enfermedad, la definición se ha actualizado. Por ello, se ha pasado a definir al cáncer según el INCA (2020), como «una enfermedad en la que algunas células del cuerpo crecen sin control y se propagan a otras partes del cuerpo» (BROWN *et al.*, 2023; NIH, [s.d.]); a definirla actualmente como «el cáncer es una enfermedad de proliferación incontrolada de células transformadas sujetas a evolución por selección natural» (BROWN *et al.*, 2023).

Su definición actual considera no solo el estado inicial de las células cancerosas, sino su progreso y comportamiento en el tiempo. El cáncer entonces es una patología que reúne más de 100 enfermedades, caracterizadas por el crecimiento desordenado de células anormales que pueden invadir tejidos y órganos vecinos (INCA, 2020).

1.1.2 Carcinogénesis

La carcinogénesis es el proceso de formación del cáncer; este se divide en tres partes: iniciación, promoción y progresión (Imagen 1) (NIH, [s.d.]). Comienza en la iniciación con la transformación celular; continúa en la promoción con el efecto de las alteraciones; y finaliza en la progresión, donde las células tumorales se replican constantemente (CIVETTA; CIVETTA, 2011).

Imagen 1. Carcinogénesis



Nota: proceso de carcinogénesis, comienza con la iniciación, caracterizado por alteraciones genéticas y transformaciones celulares. Durante esa fase, las células transformadas presentan una expresión clonal selectiva que desencadenan en la promoción, en donde las células comienzan a proliferarse. En seguida, se da la progresión con una multiplicación exagerada e irreversible de células malignas.

Fuente: (INCA, 2020). adaptación propia, 2023. (Creado en *BioRender.com*).

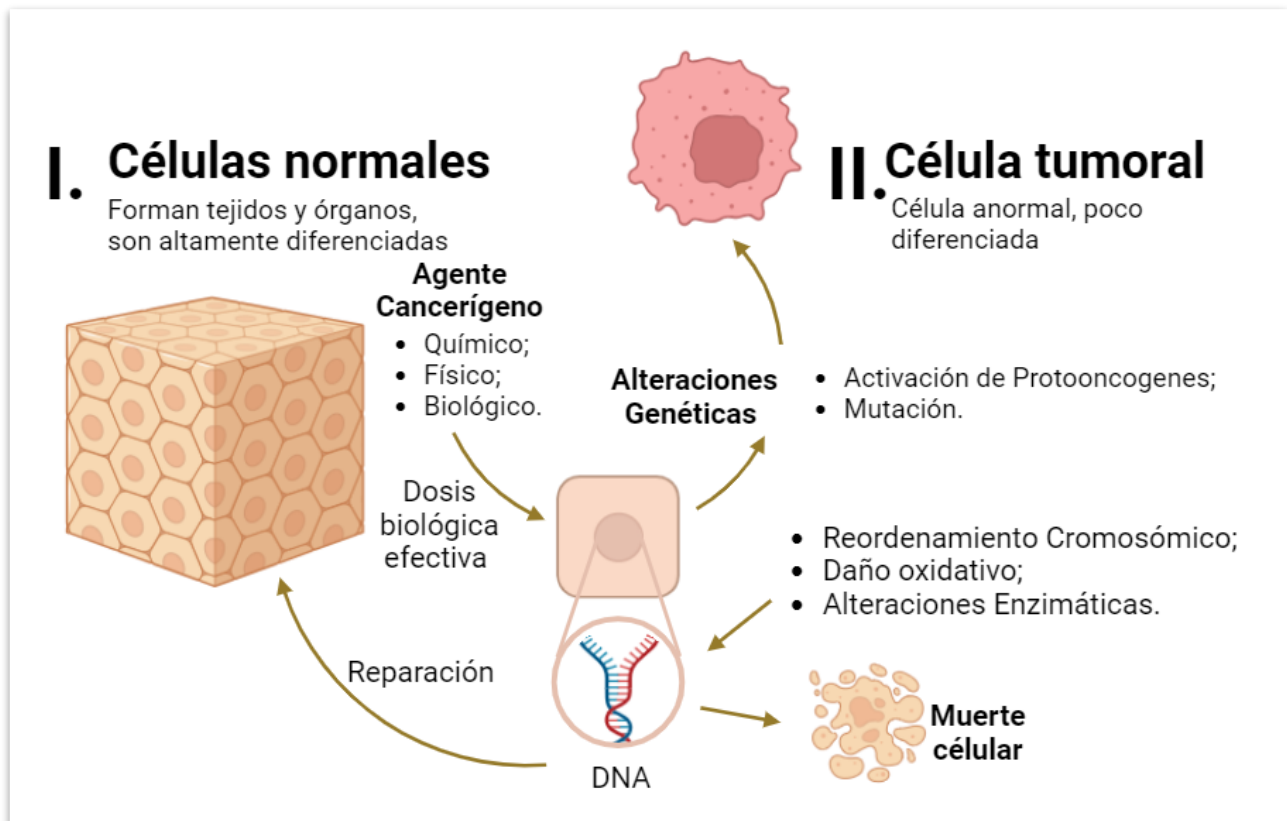
1.1.2.1 Iniciación

En la iniciación ocurre la transformación de células normales en células anormales o cancerígenas (Imagen 2) (OPAS, 2020). Los cambios se deben principalmente a alteraciones genéticas en la célula. Comienzan cuando hay una interacción entre factores genéticos en el ADN celular y la exposición a factores externos carcinogénicos que pueden ser físicos, biológicos o químicos (Imagen 2-I) (OPAS, 2020).

Estos factores, bajo una dosis biológica efectiva o cantidad suficiente, pueden provocar alteraciones en el ADN celular, causando cambios genéticos llamados mutaciones celulares y activación de genes promotores de tumores (MERK, 2022).

La célula también puede sufrir inestabilidad genómica producto de daño oxidativo, reordenamiento cromosómico y/o alteraciones enzimáticas, que desencadena alteraciones genéticas (Imagen 2-II) (INCA, 2020).

Imagen 2. Iniciación - Carcinogénesis



Nota: iniciación de la carcinogénesis. I. Las células normales organizadas son atacadas por un agente cancerígeno (químico, biológico y/o físico), que bajo una dosis biológica efectiva llega hasta el ADN. Al mismo tiempo el ADN puede sufrir daño oxidativo, reordenamiento cromosómico y/o alteraciones enzimáticas. Por lo que la célula sana puede repararse, morir o comenzar la transformación. II. En la transformación la célula sufre alteraciones genéticas, tanto mutaciones como activación de protooncogenes; que se reflejan en la estructura de toda la célula, formando la primera célula tumoral.

Fuente: Autoría propia, 2023. (Creado en *BioRender.com*).

Entonces, las células normales se transforman en células tumorales, que no tienen control de crecimiento normal y carecen de regulación, presentando falta de diferenciación celular, apoptosis, inestabilidad genómica y metástasis (MERK, 2022). Las células normales y las células tumorales tienen características distintivas que se mencionan en la tabla 1.

Aunque no todas las alteraciones genéticas producen cáncer, todos los cánceres son producidos por alteraciones genéticas. Estas afectan la expresión y regulación de genes

relacionados con el cáncer, incluyendo los genes promotores del cáncer, proto-oncogenes y los genes supresores de tumores, que inhiben el crecimiento del tumor (MERK, 2022).

Tabla 1. Diferencias y características de células no cancerosas y células cancerosas

Características	Células no cancerosas	Células cancerosas
Crecimiento	Crecen de forma limitada a la regulación de señales externas.	Crecen descontroladamente, a tasas muy altas, por la evasión de la regulación.
Comunicación	Reconocen las señales de otras células y las siguen.	Ignoran las señales de otras células o las evaden.
Reparo celular/Muerte	Las células con daños o envejecidas, se reparan o se eliminan, para ser reemplazadas. Por lo que regeneración celular es controlada.	Promueven la expansión de células mutadas que se adapten mejor al medio. Por lo que tienen tasas de regeneración elevadas.
Genética	Cuando la célula sana detecta cambios genéticos irreversibles, programa su muerte.	Guardan cambios genéticos, que hace que las células sean altamente resistentes.
Unión/Movilidad	Las células se unen organizadas para formar tejidos y órganos, haciendo que permanezcan juntas. La mayoría de las células no se mueven.	Se agrupan deforme. Y al crecer lo suficiente pueden invadir tejidos y órganos.
Morfología/Núcleo	Forma definida y uniforme de acuerdo con el tipo celular. Su núcleo es ovalado, conservando mismo número de cromosomas organizados.	Varían en tamaño y forma. El núcleo es largo y más oscuro que el normal, tiene un número anormal de arreglos cromosómicos y desorganizados.
Diferenciación	Son altamente diferenciadas.	Pierden la diferenciación, entre mayor sea está perdida más agresivo será el cáncer.
Respuesta al Sistema Inmune	Responden a los estímulos del sistema inmunitario, incluyendo las señales de muerte.	Evaden el sistema inmunológico y crecer ininterrumpidamente.
Función	Realizan tareas designadas.	No realizan tareas designadas.
Suministro de Sangre	No forman vasos sanguíneos, pues los que existen suministran los nutrientes suficientes, para alimentar las células, el crecimiento normal y ayudar en las reparaciones.	Estimulan la formación de vasos sanguíneos (angiogénesis), pues la cantidad de nutrientes que necesitan es exagerada.

Fuente: (ELDRIDGE, 2023; NIH, [s.d.]), adaptación propia, 2023.

1.1.2.2 Promoción

En la promoción, la célula tumoral pierde el control de la replicación, y continúa recibiendo el estímulo del agente carcinogénico que la formó, para seguir replicándose. Dado que las divisiones celulares no son reguladas, estas pueden comenzar antes que la célula alcance su madurez (SARIA, 2018).

Se recalca que solo las células tumorales que consigan evadir eficientemente el sistema inmunológico y las adversidades del medio sobrevivirán y continuarán dividiéndose; esto se denomina explosión clonal selectiva (Imagen 1) (NIH, [s.d.]).

La replicación constante resulta en la formación de pequeños grupos de células malignas o masas llamadas tumores. A pesar de que la tasa de replicación de las células cancerígenas es significativamente más alta en comparación con células normales, en la mayoría de los casos, los tumores solo son masas visibles después de varios años (MERK, 2022).

1.1.2.3 Progresión

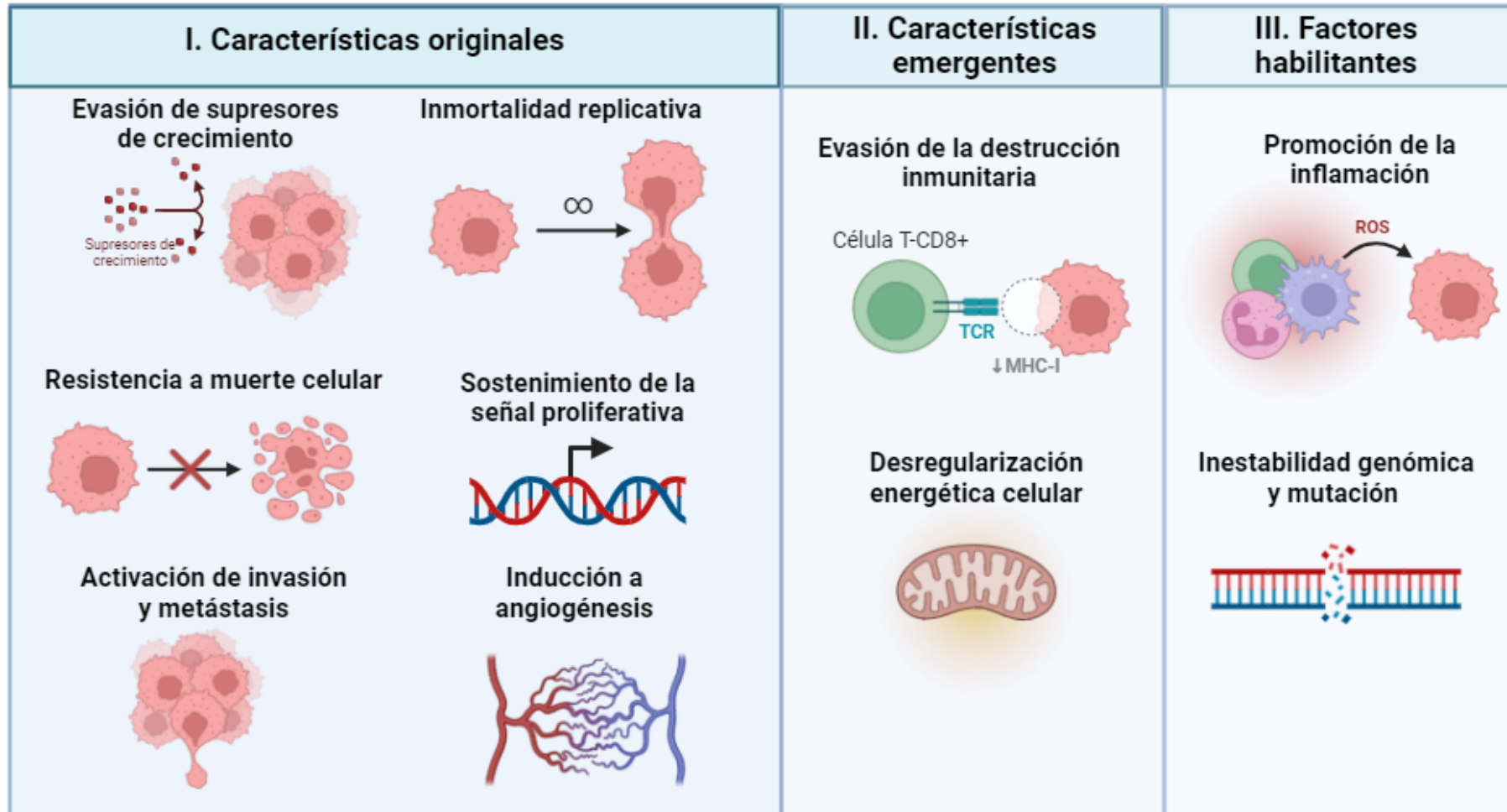
En este punto, la población de células tumorales es grande y todas ellas necesitan de recursos, lo que hace que los recursos sean limitados por lo que deben competir por ellos (MADAN *et al.*, 2022). Las células no aptas morirán, pero las células tumorales que generen nuevas mutaciones con ventajas selectivas y de replicación van a permanecer (SARIA, 2018).

La población de células en un tumor termina siendo genéticamente heterogénea y fuertemente agresiva. En este punto se da una multiplicación descontrolada de las células, que pueden invadir tejidos y órganos (metástasis) (Imagen 1) (MCGRANAHAN; SWANTON, 2015).

1.1.3 Características del cáncer

En la carcinogénesis existen múltiples variaciones que moldean un ambiente tumoral que garantiza los recursos necesarios para nutrir la vida y el comportamiento celular divergente. Aunque existen ciertas características de origen, con el tiempo las variaciones del medio dan lugar a características emergentes y factores habilitantes celulares (Imagen 3) (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Imagen 3. Características del cáncer



Nota: las características del cáncer se clasifican en I. Características generales: Evasión de supresores de crecimiento; Inmortalidad replicativa; Resistencia a muerte celular; Sostenimiento de la señal proliferativa; Activación de invasión y metástasis; e Inducción a angiogénesis. II. Características emergentes: Evasión de la destrucción inmunitaria y Desregulación energética celular. III. Factores habilitantes: Promoción de la inflamación e Inestabilidad genómica y mutación.

Fuente: (ELDRIDGE, 2023; HANAHAN; WEINBERG, 2011), adaptación propia, 2023.

1.1.3.1 Características de origen

I. Mantenimiento de las señales proliferativas: las señales proliferativas son reguladas en todas las partes del cuerpo por las células vecinas y la matriz extracelular, para mantener la homeostasis y la arquitectura en los tejidos y en el organismo. Las células normales reciben señales externas por los receptores tirosina quinasa que se dimerizan con un receptor de factor de crecimiento, de esta manera se controla la proliferación y supervivencia de las células (LEMMON; SCHLESSINGER, 2010). En células cancerígenas se forman mutaciones conductuales que les otorgan ventajas de proliferación, como la sobreexpresión de factores de crecimiento, que interrumpe el mecanismo de retroalimentación negativo y evade los supresores de crecimiento (WITSCH; SELA; YARDEN, 2010). Además, en el cáncer se ha visto que fibroblastos deficientes envían y aumentan la difusión de señales proliferativas (CHENG *et al.*, 2008).

II. Evasión de supresores de crecimiento: los supresores de crecimiento son mecanismos que restringen la cantidad de células; ellos usan vías como senescencia, apoptosis, autofagia y necrosis, sostenidas por genes supresores de tumor (D'ARCY, 2019; HANAHAN; WEINBERG, 2011). Las células cancerígenas logran escapar o bloquear su expresión genética de los genes principales asociados a estas vías, que son: RB (asociada a retinoblastoma) y TP53, encargados de regular la capacidad proliferativa (SHERR; MCCORMICK, 2002). RB es el gen encargado de decidir el ciclo celular y división o bloquea la replicación; por lo que si este gen está inactivo, contribuye a la prolongación del cáncer (BURKHART; SAGE, 2008). TP53 da origen al factor de transcripción p53 conocido como guardián del genoma, porque responde a variaciones en las condiciones, inhibiendo el crecimiento o activando vías de muerte celular (GIACCIA; KASTAN, 1998).

III. Resistencia a muerte celular: la muerte en células normales se da por apoptosis, cuando el control del ciclo celular está comprometido. La apoptosis no genera lesiones en las células vecinas (YING *et al.*, 2011). La célula activa la apoptosis por la presencia de Bax y Bak, por dos caminos: extrínseco por señales extracelulares como el estrés; e intrínseco por señales intracelulares en la mitocondria. Independientemente del camino se activará las cisteínas proteasas (caspasa 3 y 9, respectivamente), encargadas de desmontar cuidadosamente la célula (ADAMS; CORY, 2007). En las células cancerígenas se activa la familia de proteínas Bcl-2, que son oncoproteínas que actúan como interruptores de vida y muerte, inhibiendo Bax y Bak, y activando la supervivencia

celular, lo que deteriora el proceso apoptótico (CORY; ADAMS, 2002; LOWE; CEPERO; EVAN, 2004).

IV. Inmortalidad replicativa: se produce porque las células malignas no pierden los telómeros, conservando así la integridad genómica (GUTERRES; VILLANUEVA, 2020). Los telómeros son estructuras que se encuentran al final de los cromosomas, por ello acumulan daño oxidativo y se pierden con cada replicación, limitando el número de replications e indicando la senescencia celular (VAN STEENSEL; SMOGORZEWSKA; DE LANGE, 1998). Estas estructuras son repuestas por la acción de las telomerasas en células no cancerígenas, en cambio en células malignas se manifiesta una distorsión en la función de las telomerasas, lo que les permite escapar del proceso oxidativo natural y replicarse sin límite (FAGAGNA *et al.*, 2003).

V. Inducción a la angiogénesis: la angiogénesis es el proceso de formación de vasos sanguíneos; en un estado saludable, este mecanismo solo se activa para la cicatrización que permite la reparación del tejido. Sin embargo, en el cáncer, debido al crecimiento celular, este mecanismo es estimulado para suplir su demanda de nutrientes y oxígeno, y la necesidad de evacuar productos del metabolismo celular (WITSCH; SELA; YARDEN, 2010). Esta vía es regulada por proteínas de señalización: inductores como el factor de crecimiento endotelial vascular A; e inhibidores como la trombospondina-1, además de los pericitos que son células encargadas de extender el tejido vascular (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

VI. Activación de invasión y metástasis. las células normales se unen entre sí y con la matriz extracelular por proteínas como las cadherinas; esto produce polaridad y diferenciación celular. En la desdiferenciación de células cancerígenas, la producción de cadherinas disminuye, haciendo que se pierda el formato y la adhesión celular (BERX; VAN ROY, 2009). Cuando las células se desprenden y migran de su lugar, viajando por los vasos sanguíneos y linfáticos, para invadir tejidos y órganos vecinos o incluso distantes del cuerpo (CAVALLARO; CHRISTOFORI, 2004). Una vez en el nuevo sitio, las células colonizan el lugar y reanudan el crecimiento del tumor, e interrumpen la función normal de los tejidos y órganos, y así continúa el proceso (MERK, 2022). Este proceso se conoce como metástasis y forma parte de una etapa maligna y avanzada del cáncer (SARIA, 2018).

1.1.3.2 Características emergentes

I. Evasión de la destrucción inmunitaria: existen múltiples estrategias en las que el tumor utiliza para evadir el sistema inmune, entre ellas están: atacar la función de las células T o sus productos, la presentación de antígenos, la alteración de la producción de mediadores inmunosupresores, la tolerancia y la desviación inmune (VINAY *et al.*, 2015). El sistema inmunológico está en constante vigilancia, por lo que, en el comienzo del cáncer, ataca las células con mutaciones. Sin embargo, como la tasa de mutación es alta en células cancerígenas, el sistema inmunológico se sobrecarga y su función queda comprometida, además de que las células cancerígenas en el proceso pierden el antígeno con que el sistema inmune las identificaba (VINAY *et al.*, 2015). Por otra parte, cuando existen deficiencias en linfocitos T citotóxicos CD8+, células T auxiliares CD4+ Th1 o células asesinas naturales, la incidencia del tumor aumenta (KIM; EMI; TANABE, 2007). Además, ahora se sabe que, si el cáncer es atacado, pero no se logra eliminar, el tumor crece con inmunogenicidad reducida, por lo que puede escapar del reconocimiento y la destrucción inmunológica (SMYTH; DUNN; SCHREIBER, 2006).

II. Desregulación energética celular: la carcinogénesis requiere un aumento en el consumo energético; aunque mantienen el mecanismo de respiración aerobia como las células normales, las células cancerígenas optan por glucólisis aeróbica, que les permite mantener un metabolismo desbordado para absorber nutrientes en exceso (FINLEY, 2023; WARBURG, 1956). El gasto energético se activa por mutaciones oncogénicas al amplificar los genes de los receptores: el receptor tirosina quinasa, el receptor de factor de crecimiento, el receptor erb-b2 y el receptor de tirosina quinasa c-Met, que se encargan de la absorción de nutrientes y proliferación (PAVLOVA; ZHU; THOMPSON, 2022).

1.1.3.3 Factores habilitantes

I. Promoción de la inflamación: la inflamación es el proceso por el cual se da la reparación de daños en los tejidos; en el cáncer, este proceso tiene varias alteraciones (GALDIERO; MARONE; MANTOVANI, 2018). A medida que el tumor crece, puede adquirir células inmunes (células T) deficientes que generan inflamación en el tejido no neoplásico. La inflamación crónica bloquea la inmunidad antitumoral e incentiva la formación del tumor con la emisión de señales proliferativas (PAGÈS *et al.*, 2010). Aparte, existen tumores con pocas células inmunitarias, y que regulan positivamente mediadores inflamatorios y

reclutan células inmunes, esta inflamación se denomina “inflamación promotora del cáncer” e influye fuertemente en la formación del microambiente tumoral (GRETEN; GRIVENNIKOV, 2019).

II. Inestabilidad genómica y mutación: las células cancerígenas sufren constantes alteraciones genómicas que les confieren ventajas selectivas para sobrevivir. Las mutaciones se deben a la pérdida de los genes de la maquinaria de reparación del ADN, que causan deficiencia en este proceso (TUBBS; NUSSENZWEIG, 2017). Uno de los genes más conocidos en el cuidado del genoma y su reparación es el de la proteína p53 ya mencionado, este es el más notorio; aunque existen más (GIACCIA; KASTAN, 1998; WILLIAMS; SCHUMACHER, 2016). Estos genes se encargan de identificar el daño, impulsar los mecanismos de reparación para actuar y hacer oposición a agentes mutagénicos. En el cáncer, estos genes se van perdiendo porque actúan como supresores de tumores (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

1.1.4 Microambiente tumoral

La comprensión de la biología del cáncer se ha ampliado, considerando que las células que conforman el tumor no actúan solas ni son homogéneas. Por lo que actualmente también se tiene en cuenta en esta patología, una red de células estromales compuesta por fibroblastos asociados al cáncer, células vasculares y células inmunitarias inflamatorias (ARNETH, 2019; GRETEN; GRIVENNIKOV, 2019).

El tumor existe en medio de vasos sanguíneos, matriz extracelular y moléculas de señalización; estas condiciones son altamente complejas y dinámicas que, junto con las células, forman el microambiente tumoral (Tabla 2) (ARNETH, 2019).

El microambiente tumoral se encuentra en un estado de desbalance dinámico, donde procesos fisiológicos que estaban en homeostasis se encuentran desregulados (PHANIENDRA; JESTADI; PERIYASAMY, 2015). Uno de ellos es el proceso oxidativo en la respiración, que produce radicales libres, los cuales en condiciones normales serán retirados (FERRARI *et al.*, 2011; QAZI; MOLVI, 2018).

En las neoplasias, los radicales libres permanecen y se acumulan (RANDHIR; LIN; SHETTY, 2004). Estas moléculas son inestables y reactivas, y pueden ocasionar daños en los ácidos nucleicos, proteínas y enzimas, lípidos, carbohidratos, y tejidos (QAZI; MOLVI, 2018).

Tabla 2. Resumen de los componentes del microambiente tumoral y su función en el cáncer

Componente	Función en el cáncer
Linfocitos T	Algunos son protumorales y otros antitumorales.
Linfocitos B	Regulan la supervivencia, proliferación, resistencia, evasión y alteración de la respuesta al ataque inmune.
Células asesinas naturales	En ambientes sanos, identifican células para matar.
Macrófagos M1 y M2	M1 actúan como antitumorales; y M2 actúan como inmunosupresores, que conforman el estroma, para invadir y expandir el tumor.
Fibroblastos asociados al cáncer	Ayudan en la conservación de señales de propagación y en la metástasis.
Células madre cancerosas	Son protegidas por el microambiente tumoral, debido a que dan origen a otras células, promueven la heterogeneidad del tumor, inducen la tolerancia inmune y la angiogénesis. Además, producen exosomas que promueven la invasión y dan apoyo a la colonización.
Quimiocinas	Son moléculas que expresan exageradamente miofibroblastos y células mioepiteliales, que aumenta la migración, invasión y proliferación celular.
Integrinas	Moléculas que se unen a la matriz extracelular en el ambiente tumoral, aumentando las fuerzas biofísicas, que regulan bioquímica y fenotípicamente la progresión del cáncer.
Selectinas	Son moléculas vitales de adhesión vascular que influyen en el desarrollo celular.
Cadherinas	Ayudan en la adhesión celular por la formación de enlaces homófilos dependientes de calcio.
Células Treg	En el cáncer evitan que las células de defensa destruyan las células cancerígenas. En células no cancerígenas activan la función de células T de memoria CD8+.
Superfamilia de inmunoglobulinas	Intervienen en la formación de enlaces heterófilos y homófilos.
Células derivadas de la médula ósea	Son promotoras del crecimiento tumoral, expresando factores de crecimiento; y mediando en la extensión de vasos tumorales y en la formación de nichos de células madre tumorales.
Células supresoras derivadas de mieloides	Tienen actividad inmunosupresora, sobre todo en las células mieloides.
Entorno dinámico del tumor: células.	Permite el reclutamiento activo y la modulación de diversos fenotipos y funciones celulares, para bloquear la acción inmune y mejorar la tolerancia. Además de incentivar la maduración de células estromales a pericitos y el reclutamiento de fibroblastos, por el factor de crecimiento endotelial vascular A.
Entorno dinámico del tumor: moléculas.	Moléculas de señalización peptídica como: factor 1 derivado de células estromales, proteína quimioatrayente de monocitos 1, leucina-37 y factor de crecimiento transformante β . Moléculas de señalización como el óxido nítrico (NO) y exosomas.

Fuente: (ARNETH, 2019; HANAHAN; WEINBERG, 2011), adaptación propia, 2023.

1.1.5 Genes relacionados al cáncer

El cáncer tiene bases moleculares. En esta patología se adquieren variaciones genéticas; los genes alterados actúan modificando los niveles y las funciones proteicas que derivan de ellos (NENCLARES; HARRINGTON, 2020). Ellos son los responsables del crecimiento descontrolado de las células cancerígenas, debido a que controlan la frecuencia de la división celular y el grado de diferenciación que las células pueden alcanzar (JAN; CHAUDHRY, 2019). Los genes relacionados al cáncer se clasifican en proto-oncogenes y genes supresores de tumores.

Los proto-oncogenes son genes de expresión regulada en células normales; ellos pueden activarse por translocación cromosómica, mutación puntual o amplificación genética. Los proto-oncogenes activos sin control son llamados oncogenes y provocan cambios en la estructura de la proteína o desregulan la expresión proteica (KONTOMANOLIS *et al.*, 2020).

Por otro lado, los genes supresores de tumores permanecen activos en células sanas y son inactivados, alterados o eliminados en células cancerígenas (NENCLARES; HARRINGTON, 2020). Su papel principal es bloquear el crecimiento celular, por lo que regulan la división celular, reparan errores en el ADN, y controlan la muerte celular (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018; MERK, 2022).

1.1.6 Tipos de tumores y de cáncer

Según la agresividad del tumor, se clasifica en benigno y maligno/cáncer. Los tumores benignos se componen de células altamente diferenciadas, que presentan un crecimiento lento, expansivo, organizado o con bordes bien definidos, lo que permite que sea más fácil de tratarlo, extraerlo y controlarlo. Aunque no presentan el riesgo de invadir a otros órganos, el aumento del volumen del tumor en el lugar donde se encuentra generará compresión en los vasos sanguíneos y en otros órganos (IBRAHIM; AL-MAGHRABI, [s.d.]).

En cambio, los tumores malignos contienen células menos diferenciadas, con crecimiento desordenado y exponencial, que hacen que el tumor tenga mayor grado de autonomía, con el riesgo de provocar metástasis, por lo que son difíciles de tratar (SINHA, 2018).

Por otra parte, los tumores se pueden clasificar de acuerdo con el lugar en donde están ubicados y al tipo de células que afectan, debido a que esto determinará las

características de crecimiento, desarrollo, nutrición y morfología del tumor (INCA, 2020; WALDUM *et al.*, 2008).

El cáncer entonces recibirá el nombre por su ubicación y según el tipo de celular donde se origina. Por ejemplo, carcinoma, si tuvo origen en células epiteliales como la piel o el recubrimiento de los órganos internos; sarcoma, si tuvo origen en células del tejido conectivo o de soporte; leucemia, si se da en los glóbulos blancos o en células de la sangre; linfoma y melanoma, si tuvo origen en los linfocitos y melanocitos, respectivamente; y cáncer del sistema nervioso central, si surgió en las células madre neurogliales o de las membranas que rodean el cerebro – meninges (CANCER RESEARCH UK, 2023).

1.1.7 Cáncer de páncreas

El cáncer de páncreas es un carcinoma con origen en el conducto pancreático, que ataca a las células ductales y a las células acinares (PUCKETT; GARFIELD, 2023). Molecularmente, el cáncer de páncreas se origina de tres formas: por la activación de oncogenes, como el oncogén K-ras, en 90 % de los casos; por la inactivación de genes supresores de tumores, como el gen p-53, en 60 % de los casos; y por defectos en los genes de reparación del ADN, en el 5 % de los casos (DRESSLER *et al.*, 2013).

Este cáncer puede localizarse en la cabeza, en el cuerpo o en la cola del páncreas y, aunque puede ser tratado por el procedimiento de *Whipple* o por resección distal, solamente el 20 % de los tumores pueden ser retirados, por ser de difícil acceso (LEE *et al.*, 2018).

En el 70 % de los pacientes presentan ictericia indolora; en el 90% pierden peso y en el 75 % hay un dolor abdominal. Además de la probabilidad de presentar diabetes asociadas al cáncer y daños en la función hepática y en la producción hormonal (PUCKETT; GARFIELD, 2023).

Entre los factores de riesgo están: el consumo de tabaco, el sobrepeso, la diabetes, la pancreatitis crónica, la exposición a ciertos químicos de limpieza en seco y metalurgia; y a factores como la edad (más de 45 años), el sexo (hombre), la raza (personas afrodescendientes) y el historial familiar (genética) (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2020).

Los tratamientos para el cáncer de páncreas aún contemplan restricciones, debido a que el pronóstico general es malo y la comprensión de esta enfermedad es limitado. El tratamiento más común es la extracción del tumor, existen otros tratamientos dirigidos específicamente al cáncer como la quimioterapia, la quimioterapia adyuvante, la terapia

neoadyuvante y la radiación. Los tratamientos dirigidos a la metástasis del cáncer son la resección y la terapia inmunológica (KOLBEINSSON *et al.*, 2023).

La pancreatoduodenectomía es un tipo de cirugía mínimamente invasiva que se realiza por vía laparoscópica (KOLBEINSSON *et al.*, 2023). Este procedimiento tiene una mortalidad del 1-3 % y generalmente va acompañado de quimioterapia, juntas tienen una tasa real de supervivencia a 5 años, superior al 50 % (STROBEL *et al.*, 2022).

El cáncer de páncreas es la séptima causa de muerte en relación con el cáncer (STOFFEL; BRAND; GOGGINS, 2023). Siendo su tasa de supervivencia a 5 años, aproximadamente del 10%, en el 2020, esto debido a que la mayoría de los pacientes (>80%) son diagnosticados en una etapa avanzada (SIEGEL *et al.*, 2021).

1.1.8 Incidencia del cáncer

El cáncer es un problema de orden mundial en la salud pública, por sus consecuencias mortales y porque la situación no ha mejorado, sino que ha empeorado en los últimos diez años debido a un incremento del 20% en su incidencia (SANTOS *et al.*, 2023).

Según los datos de la OMS, en 2019 el cáncer representó la primera o segunda causa de muerte antes de los 70 años en 112 países y fue la tercera o cuarta causa de muerte en 23 países (Anexo A) (SUNG *et al.*, 2021).

Según los datos del Observatorio global del cáncer (GLOBOCAN) de la OMS, para el 2022 hubo 19.976.499 nuevos casos de cáncer, 9.743.832 muertos y una prevalencia de los casos por más de cinco años de 53.504.187 de personas.

Para el mismo año (2022), en Brasil las muertes por neoplasias representaron la segunda causa de muerte, después de las enfermedades cardiovasculares, con 627.193 nuevos casos y un número de muertos de 278.835 (GLOBOCAN, 2024; SUNG *et al.*, 2021). Estas cifras pueden disminuir si se cuenta con un diagnóstico, y tratamiento precoz (FITZMAURICE *et al.*, 2019).

Las perspectivas para el país no son mejores, ya que entre los años 2023-2025 el INCA estima que en Brasil habrá 704.000 casos nuevos de cáncer por año, y que el 70 % estarán concentrado en la regiones sur y sudeste (INCA, 2022; SANTOS *et al.*, 2023).

1.1.9 Medicina alopática y tratamientos para el cáncer

En los últimos años, ha habido grandes avances en el descubrimiento y modernización en el tratamiento del cáncer; por eso, hoy en día se cuenta con varias opciones (HOSSEINZADEH; BANAEI; NEDAIE, 2017). Entre ellas, mostradas en la tabla 3, que se escogen de acuerdo con los requerimientos de cada paciente.

Tabla 3. Resumen tipos de tratamientos para el cáncer

Tratamiento	Descripción
Pruebas de biomarcadores	Busca encontrar genes proteínas o sustancias, relacionadas al cáncer, para su diagnóstico y tratamiento.
Quimioterapia	Emplea medicamentos para destruir las células cancerosas.
Terapia hormonal	Usa hormonas para detener o retardar el crecimiento de los cánceres que requieren de hormonas. Además, se usa para aliviar los síntomas de pacientes que no pueden someterse a cirugía o radioterapia.
Hipertermia	O terapia térmica, en la cual, se calienta el tejido corporal hasta 45 °C, con sondas, láseres, ultrasonido, otros, afectando las células cancerosas, sin dañar el tejido sano.
Inmunoterapia	Es un tipo de terapia biológica, que usa compuestos a base de organismos vivos, para ayudar al sistema inmunológico a combatir el cáncer.
Terapia fotodinámica	Usa un fármaco que puede ser activado con la luz (fotosensibilizador), para afectar o matar las células cancerosas.
Radioterapia	Usa altas dosis de radiación para matar células cancerosas y reducir los tumores.
Trasplante de células madre	Este trasplante ayuda a restaurar las células madre afectadas por altas dosis de quimioterapia o radioterapia.
Cirugía	Extirpación del cáncer.
Terapia dirigida	Busca afectar con fármacos de moléculas pequeñas o anticuerpos monoclonales a las proteínas de las células cancerígenas que les permite crecer, dividirse y propagarse.

Fuente: (NIH, [s.d.]), adaptación propia, 2024.

1.1.10 Medicina complementaria y plantas medicinales

Debido a los altos costos médicos para tratar el cáncer, en todo el mundo se han usado tratamientos alternativos basados en conocimiento empírico popular de extractos de plantas medicinales (CAO *et al.*, 2015; KUMAR, 2017).

La OMS definió en 1998 que las plantas medicinales son «todo y cualquier vegetal que posea, en uno o más órganos, sustancias que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos y que sean precursores de fármacos semisintéticos» (RESHMA; BASAVARAJ, 2019; VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

Las sustancias a las cuales la OMS hacía referencia se denominan “biomoléculas” o “bioactivos” y si, su efecto medicinal es comprobado, se les denomina “ingrediente activo” o

“principio activo” (NEWMAN; CRAGG, 2016). Con el avance en la ciencia y la investigación, se han perfeccionado diferentes técnicas de extracción, purificación y estudio del principio activo de las plantas (GARMUS *et al.*, 2019; NEWMAN; CRAGG, 2016).

El uso de estos compuestos para el tratamiento del cáncer es muy prometedor porque, aunque hoy se cuenta con varios tipos de tratamientos, los medicamentos existentes tienen baja selectividad, afectando tanto a células no cancerígenas como a células cancerígenas, lo que hace que sean poco eficaces y generen efectos secundarios (KOOTI *et al.*, 2017; RAFIEIAN-KOPAIE; NASRI, 2015).

1.1.10.1 Bioactivos aplicados al cáncer

Las plantas producen una amplia gama de compuestos químicos, clasificados en metabolitos primarios encargados del crecimiento de la planta y metabolitos secundarios como alcaloides, pigmentos, taninos, terpenoides y flavonoides (AZMIR *et al.*, 2013). Los metabolitos secundarios en el organismo humano han probado tener efectos, antiinflamatorios, anticancerígenos, anticonceptivos y en la disminución de trastornos cardíacos, entre otros (KOOTI *et al.*, 2017; NCUBE; VAN STADEN, 2015).

Se ha visto que la actividad anticancerígena de los bioactivos de las plantas se centra en el bloqueo o neutralización de la maquinaria del cáncer, en la estimulación de las enzimas de reparación del ADN, en el aumento de la inmunidad del cuerpo y de la producción de proteínas antitumorales, y en los efectos antioxidantes contra el cáncer (KOOTI *et al.*, 2017; RIAZ *et al.*, 2023).

1.1.10.2 Antioxidantes y su actividad contra el cáncer

Algunos de estos metabolitos secundarios son antioxidantes; aunque ellos también son producidos por el cuerpo humano de forma endógena, pueden ser ingeridos por fuentes exógenas. Los antioxidantes pueden tener origen natural o sintético (RAFIEIAN-KOPAIE; NASRI, 2015).

La actividad antioxidante se conoce por su función protectora, que regula cascadas de reacciones enzimáticas y se encarga de secuestrar radicales libres, tales como las especies reactivas de oxígeno (ROS), para mantener el equilibrio reducción-oxidación (MOLONEY; COTTER, 2018; QUEIROZ, 2019; RUFINO *et al.*, 2011).

Los antioxidantes pueden actuar como: primarios, en la ruptura en cadena de oxidación y secundarios, previniendo la formación de especies reactivas (FERNANDES; TRINDADE; DE MELO, 2018).

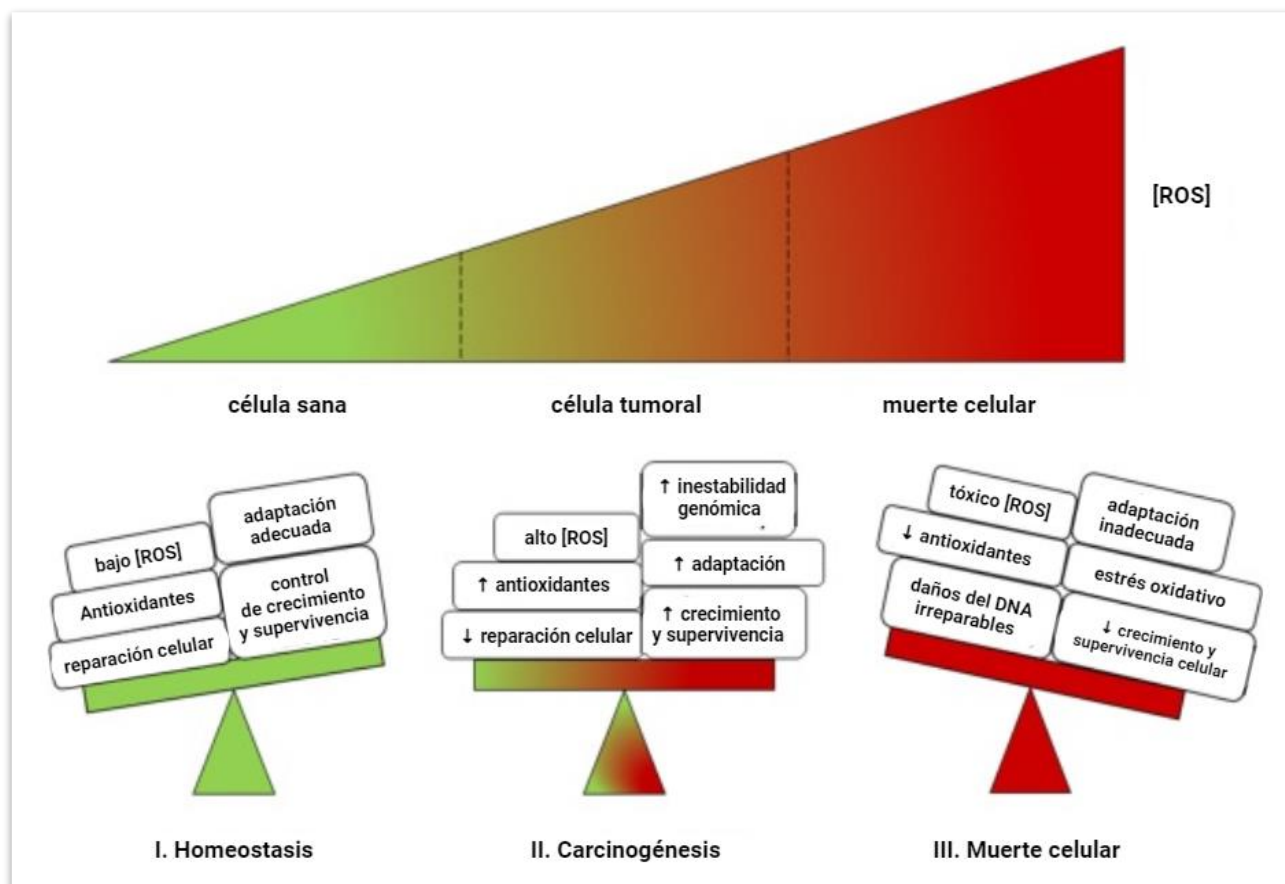
Los ROS son producto de las vías metabólicas, y del estrés oxidativo. Por lo tanto, es común encontrar ROS en el cuerpo; sin embargo, altas concentraciones generan daños y lesiones en los tejidos, e inducen inestabilidad genómica y resistencia a medicamentos (Imagen 4) (KEDARE; SINGH, 2011; RESHMA; BASAVARAJ, 2019).

En el cáncer, las células tumorales se encargan de mantener altos los niveles de ROS haciendo que sean parte del microambiente tumoral con efecto procancerígeno (PELICANO; CARNEY; HUANG, 2004). Sin embargo, el aumento excesivo de ROS puede llegar a niveles tóxicos que también pueden afectar el cáncer, inducir a la apoptosis y matar selectivamente células cancerosas (MOLONEY; COTTER, 2018; TRACHOOTHAM *et al.*, 2006).

Por lo tanto, los antioxidantes juegan un papel importante en el tratamiento del cáncer en la medicina actual, ya sea manteniendo las concentraciones excesivamente bajas de ROS o creando un ambiente tumoral tóxico con concentraciones excesivamente elevadas de ROS (BERGER *et al.*, 2012; RANDHIR; LIN; SHETTY, 2004).

Los antioxidantes son muy importantes en la homeostasis y nutrición del organismo, ya que han demostrado prevenir enfermedades cardiovasculares, cáncer, y cataratas (BERGER *et al.*, 2012). Algunos antioxidantes son:

Imagen 4. Modelo de efectos de especies reactivas de oxígeno en las células



Nota: [ROS]: concentración de ROS. (I) Las células sanas están en un equilibrio homeostático, en donde la actividad antioxidante es suficiente para la reparación celular manteniendo concentraciones bajas de ROS, que permiten la supervivencia y la proliferación celular regulada. (II) En la carcinogénesis la actividad metabólica de las células tumorales eleva las concentraciones de ROS que aumentan la supervivencia y la proliferación celular, llevando a la inestabilidad genómica, por el daño genómico y la disminución de la reparación celular. La elevación de ROS en células tumorales genera adaptaciones y la activación de vías alternativas de reparación celular, las células tumorales desarrollan una mayor actividad antioxidante que elimina el exceso de ROS: (III) Sin embargo, el aumento excesivo de la concentración de ROS es tóxico, y produce la disminución de antioxidantes, de crecimiento y de la supervivencia celular, lo que provoca la muerte celular debido a los daños irreparables en el ADN y adaptación inadecuada (MOLONEY; COTTER, 2018).

Fuente: (MOLONEY; COTTER, 2018), adaptación propia, 2024.

I. Compuestos fenólicos (CF): se caracterizan por tener un anillo aromático, con uno o más grupos hidroxilo (BABBAR *et al.*, 2014; LIN *et al.*, 2016). Actúan donando átomos de hidrógeno a los radicales lipídicos, que producen derivados lipídicos y radicales antioxidantes estables, los cuales son indisponibles para oxidación y que buscan su autooxidación (KIOKIAS; VARZAKAS; OREOPOULOU, 2008; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

II. Flavonoides (F): son un tipo de CF, ellos son pigmentos naturales que se producen exclusivamente en plantas y tienen una gran capacidad antioxidante (TIVERON,

2010). Están formados por 15 carbonos, organizados en dos anillos aromáticos, unidos por un anillo pirano; esta estructura puede presentar diversas variables (SCHAFRANSKI, 2019). Por su estructura tienen propiedades reductoras, donando grupos hidroxilo y metilo, esta transferencia inhibe y estabiliza los radicales libres para que rápidamente sean eliminados (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002; MACHADO *et al.*, 2008; ZANOTI *et al.*, 2016). En algunos estudios, los F han evidenciado actividad antimicrobiana, citotóxica, anticancerígena, antimutagénica, antiinflamatoria, quelante de metales de transición, entre otras (QUEIROZ, 2019; SCHAFRANSKI, 2019).

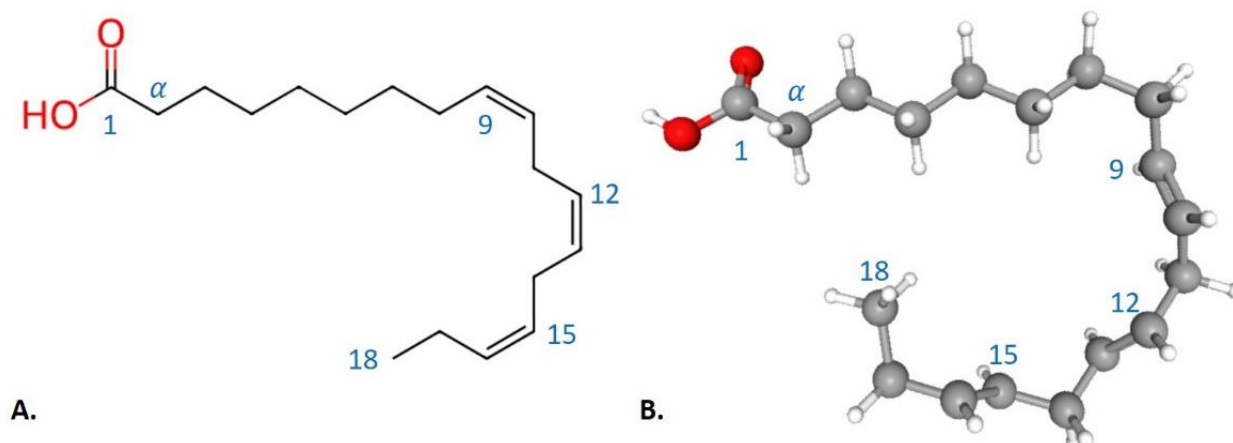
La actividad antioxidante de un compuesto se puede medir a través del secuestro de radicales libres como DPPH• (radical α -difeníl- β -picrilhidrazilo) y ABTS•⁺ (radical del catión 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfónico), o por la reducción de un metal como el hierro: poder antioxidante reductor férrico (FRAP) (RUFINO *et al.*, 2011).

1.1.10.3 Ácidos grasos y ácido alfa-linolénico en el cáncer

Los AG se producen en los sistemas biológicos, ellos son necesarios en la estructura celular, en el almacenamiento de energía y en la señalización molecular (DE CARVALHO; CARAMUJO, 2018). Existen AG que solo pueden ser sintetizados en plantas como el ácido alfa-linolénico (ALA), producido por *A. ficoidea* (L.) *P. Beauv* (POLI; AGOSTONI; VISIOLI, 2023). El ALA está compuesto por 18 carbonos y tres dobles enlaces cis (C18:3n-3) (Imagen 5) (EDEL *et al.*, 2016; YUAN *et al.*, 2022). El ALA es un ácido poliinsaturado n-3, que al ser metabolizado por desaturasas y elongasas; forma metabolitos de cadena larga (BAKER *et al.*, 2016; EDEL *et al.*, 2016; TAKIC *et al.*, 2022).

El ALA se puede encontrar en: la linaza, frutos secos, legumbres, centeno, entre otros (BAKER *et al.*, 2016; EDEL *et al.*, 2016; TAKIC *et al.*, 2022). Actualmente ALA se ha estudiado para tratar el cáncer en modelos animales, modelos celulares y estudios humanos (MOON; BATIREL; MANTZOROS, 2014).

Imagen 5. Ilustración molecular de ALA.



Nota: A. 2D. B. 3D. Círculos rojos – oxígeno; círculos grises – carbono; círculos blancos – hidrógeno.
Fuente: ChEMBL, n.d.; PubChem, 2023; adaptación propia, 2023.

1.1.11 *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv.

La *A. ficoidea* (L.) P. Beauv. es una planta considerada una maleza exótica (Imagen 6) (RESHMA; BASAVARAJ, 2019). El sinónimo homotípico más cercano es, la *Achyranthes ficoidea* (L.) Lam. y el sinónimo heterotípico más conocido es la *A. tenella* Colla, con la que eventualmente se confunde (“*Alternanthera ficoidea* (L.) P.Beauv.”, 2017).

Popularmente, esta especie es conocida como dipirona, periquito, periquito amarillo, pico de loro amarillo y apaga fuego (DOS SANTOS; MACHADO, 2012). La planta se utiliza de forma ornamental, medicinal, nutricional y ecológica (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

La *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv, es una planta que según sus características botánicas y genómicas tiene la clasificación taxonómica que se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Ubicación taxonómica de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv

Dominio	<i>Eukaryota</i>
Reino	<i>Plantae</i>
Filo	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida (= Dicotyledoneae)</i>
Orden	<i>Caryophyllales</i>
Familia	<i>Amaranthaceae</i>
Genero	<i>Alternanthera</i>
Especie	<i>ficoidea</i>

Fuente: (BAYÓN; GIULIANO; VERA BAHIMA, 2022; FOUNDATION GALAPAGOS, 2013), adaptación propia, 2023.

Imagen 6. *A. ficoidea* (L.) P. Beauv



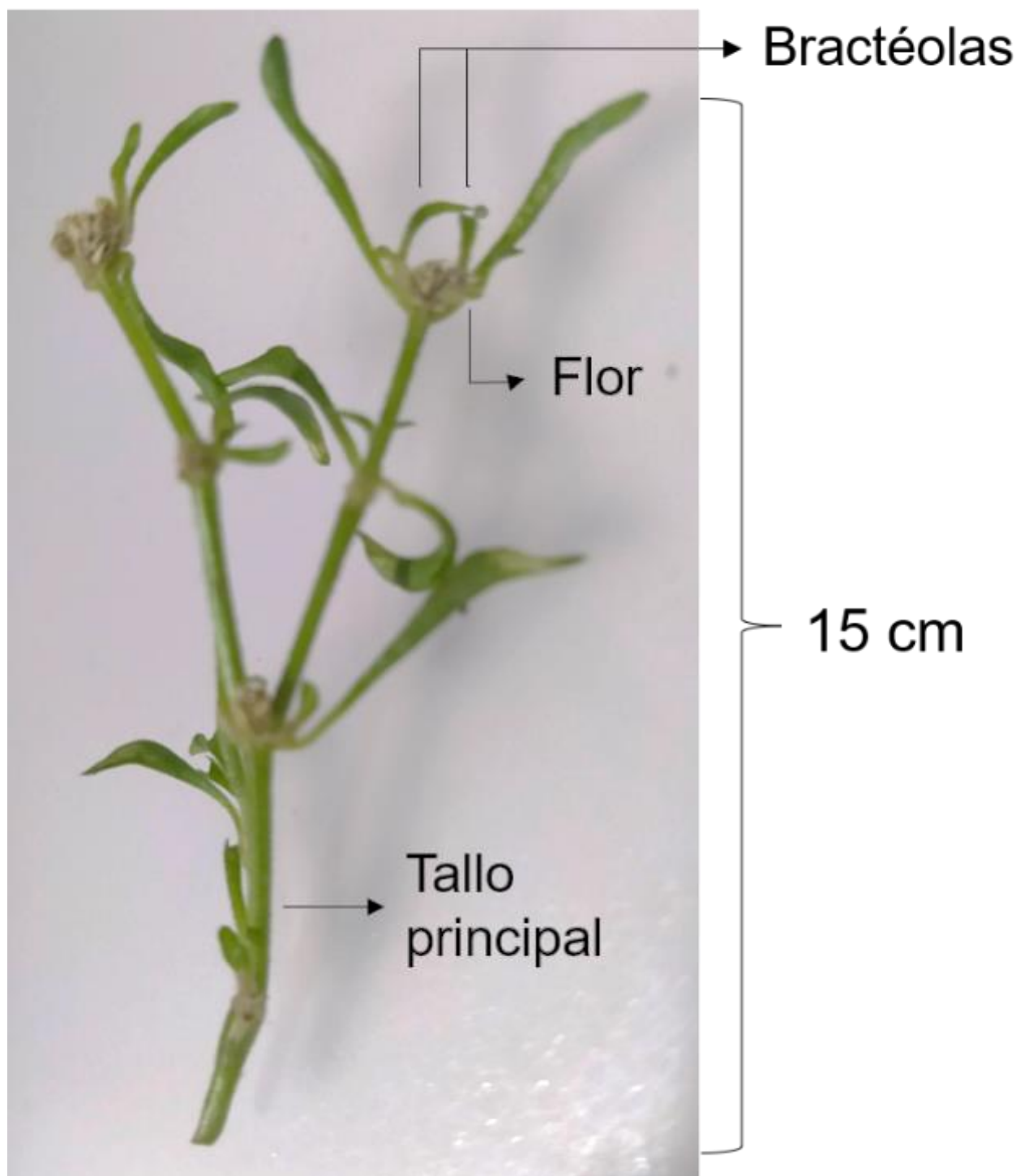
Fuente: (AGROBASE, [s.d.]).

1.1.11.1 Características botánicas y de crecimiento

A. ficoidea es un subarbusto perenne que crece erecto o postrado en el suelo, llega a medir entre 26 y 45 centímetros, y alcanza su madurez en aproximadamente cuatro meses (PATIL; KORE, 2018).

Las hojas son de color rojizo o verde claro; están manchadas de colores amarillos, naranjas, marrones, cobrizas, moradas y rojas (PATIL; KORE, 2017, 2018; ZAMBRANO *et al.*, 2022). Tiene un tallo largo central, recubierto de tricomas, es cilíndrico y ligeramente estriado, ramificado, sólido, verde, con raíces en los nudos (PATIL; KORE, 2018). Del tallo se desprenden varias hojas; en el final del tallo se encuentra una flor protegida por una bráctea y dos bractéolas (Imagen 7) (BAYÓN; GIULIANO; VERA BAHIMA, 2022).

Imagen 7. Anatomía vegetal de *A. ficoidea* (L.) P. Beauv



Fuente: Autoría propia, 2023.

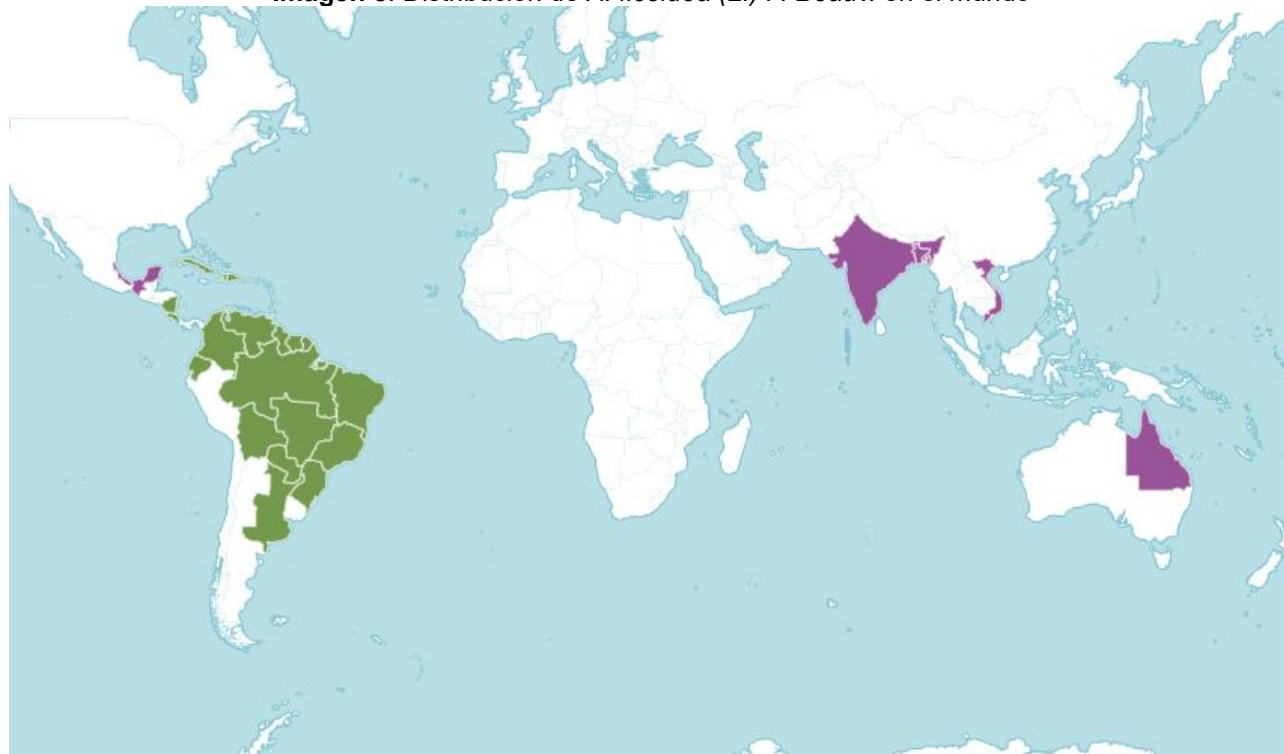
1.1.11.2 Ubicación y distribución geográfica

Esta especie es nativa de América tropical y se encuentra en abundancia en la triple frontera de Argentina, Brasil y Paraguay. La especie ha sido introducida en otros países, como la India, Filipinas e Islas del Pacífico, donde se la considera maleza exótica invasora

(Imagen 8). Ella crece preferiblemente en regiones tropicales y subtropicales, con periodos de sequía (BAYÓN; GIULIANO; VERA BAHIMA, 2022; ZAMBRANO *et al.*, 2022). Aunque prefiere la exposición al sol, se ha visto que consigue adaptarse y resistir a temperaturas cercanas a 1°C (ABBASI; TAUSEEF, 2018).

Debido a que la *A. ficoidea* (L.) P. Beauv. es una maleza, posee una alta capacidad de tolerancia al estrés abiótico; aún en condiciones extremas de escasez de nutrientes, lo que le permite prevalecer sobre otras especies (PATIL; KORE, 2018).

Imagen 8. Distribución de *A. ficoidea* (L.) P. Beauv. en el mundo



Nota: ■ Nativa: Argentina Noreste, Bahamas, Bolivia, Brasil Norte, Brasil Noreste, Brasil Sur, Brasil Sudeste, Brasil Centro-Oeste, Colombia, Costa Rica, Cuba, República Dominicana, Ecuador, Guayana Francesa, Guyana, Haití, Islas de Sotavento, Nicaragua, Paraguay, Puerto Rico, Surinam, Trinidad-Tobago, Venezuela, Islas de Barlovento. ■ Introducida: Islas Andamán, Assam, Bangladesh, Galápagos, India, Golfo de México, Sudeste de México, Islas Nicobar, Queensland, Vietnam.

Fuente: ("*Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv.", 2017), adaptación propia, 2023.

1.1.11.3 Descripción química

Se ha encontrado en la *A. ficoidea* productos farmacéuticos como taninos, saponinas, fitol, carotenoides, xantofilas y polifenoles (ZAMBRANO *et al.*, 2022). Aunque no se ha estudiado a profundidad en una extracción del aceite esencial de las hojas de esta planta, se hizo un análisis con cromatografía de gases que indicó cinco grupos de interés farmacéutico que son: el fitol (44,35 %), 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol (19.23 %), 3-

etoxi-1,1,1,7,7,7-hexametil-3,5,5-tris (trimetilsiloxi) tetrasiloxano (17,98 %), ácido 9,12,15-octadecatrienoico (13,43 %), y ácido 6,9,12,15-docosatetraenoico (5 %) (PATIL; KORE, 2017).

1.2 Justificación

El cáncer es una patología que en algunos casos es letal, ella ha afectado al ser humano desde tiempos antiguos, cobrando la vida de individuos de diferentes edades, sexos, razas, etnias y grupos sociales (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018; BINDER *et al.*, 2014; HAJDU, 2011). Las neoplasias representan un problema de orden mundial en la salud pública, siendo que en los últimos 10 años se ha incrementado la incidencia en un 20% (FITZMAURICE *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2023).

Según la OMS en 2019, el cáncer fue la primera causa de muerte (SUNG *et al.*, 2021); para el 2020 a nivel mundial se registraron 19.3 millones enfermos, de los cuales murieron 10 millones. Para el mismo año en Brasil, el cáncer fue la segunda causa de muerte, con 592.212 nuevos casos y 259.949 muertes (INCA, 2020).

Se estima que la mortalidad por cáncer genera 241,3 millones de años perdidos (KOCARNIK *et al.*, 2022). Además, el cáncer afecta económicamente el sistema público de salud y las finanzas familiares (GUNN; SORENSON; GREENUP, 2021), entre el 22 y el 64 % de los pacientes manifiestan dificultades financieras desde el diagnóstico, por los altos costos del tratamiento, la pérdida de productividad, la pérdida de riqueza, la presión y la angustia (PDQ ADULT TREATMENT EDITORIAL BOARD, 2002).

Debido al fuerte impacto económico, emocional, social y vital que tiene esta enfermedad, alrededor del mundo se han usado tratamientos alternativos basados en el conocimiento empírico de plantas medicinales (CAO *et al.*, 2015; KUMAR, 2017). Las plantas medicinales poseen en sí mismas sustancias/bioactivos que pueden ser estudiados con fines terapéuticos como el tratamiento del cáncer, estas pueden ser vistas como una fuente de bajo costo y de fácil acceso (RESHMA; BASAVARAJ, 2019; VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

Actualmente, el 25 % de los fármacos se derivan de plantas; de esta manera, los bioactivos son base para el desarrollo y producción de medicamentos nuevos, eficaces, tolerables y seguros en comparación con los existentes (HASSAN, 2020; RIAZ *et al.*, 2023). El uso de estos compuestos para tratar el cáncer es muy prometedor porque, aunque hoy se cuenta con varios tratamientos, los medicamentos existentes tienen baja selectividad,

afectando tanto a células no cancerígenas como a células cancerígenas, haciendo que sean poco eficaces y generen efectos secundarios significativos (KOOTI *et al.*, 2017; RAFIEIAN-KOPAIE; NASRI, 2015).

Brasil, y en concreto la triple frontera, cuentan con una gran biodiversidad que pueden ser utilizadas con potencial terapéutico. Una de ellas es la *A. ficoidea* (L.) P. Beauv., que se conoce empíricamente por la comunidad local y se usa de forma ornamental, ecológica, medicinal y nutricional (ABBASI; TAUSEEF, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2019; ZAMBRANO *et al.*, 2022).

Entre los estudios realizados ha mostrado la presencia de antioxidantes en las hojas de esta planta (PATIL; KORE, 2018). Los antioxidantes pueden neutralizar los radicales libres que se encuentran en el entorno microtumoral (MOLONEY; COTTER, 2018; RAFIEIAN-KOPAIE; NASRI, 2015). Según Reshma y Basavaraj (2019), las hojas de *A. ficoidea* (L.) P. Beauv. han sido utilizadas en el tratamiento de problemas cardíacos y de cáncer; sin embargo, aún no se han obtenido resultados definitivos.

Como se evidencia, *A. ficoidea* (L.) P. Beauv cuenta con pocos estudios de carácter científico que investiguen su composición química y corroboren sus efectos anticancerígenos, por lo que en esta investigación se buscó caracterizar las propiedades químicas y biológicas de las hojas de *A. ficoidea* (L.) P. Beauv, determinando la cantidad de compuestos antioxidantes, su capacidad antioxidante, el perfil de ácidos grasos y su efecto antiproliferativo en células cancerígenas y en células no cancerígenas.

1.3 Pregunta norte

¿Cuál es la actividad biológica de las hojas secas de *A. ficoidea* (L.) P. Beauv.; tanto de EH como de la FL en términos de actividad citotóxica y daños en la estructura celular de las líneas celulares MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC?

1.4 Hipótesis Nula

Los extractos EH y FL de las hojas secas de *A. ficoidea* (L.) P. Beauv. no tienen ningún efecto antitumoral significativo ni causan daños en la estructura celular de los linajes MRC-5, HBMEC y celulares MIA PaCa-2.

2 OBJETIVOS

2.1 General

- Evaluar los efectos citotóxicos y en la estructura celular de las extracciones: fracción lipídica (FL) y extracto hidroalcohólico (EH), de las hojas secas de *A. ficoidea* (L.) *P. Beauv.*, en los linajes celulares cancerígenos (MIA PaCa-2), y no cancerígenos (MRC-5 y HBMEC).

2.2 Específicos

- Obtener de las hojas secas de la planta *A. ficoidea* (L.) *P. Beauv.*, dos muestras de extractos FL y EH;
- evaluar el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides del EH de *A. ficoidea* (L.) *P. Beauv* y evaluar su capacidad antioxidante usando FRAP, ABTS y DPPH;
- determinar el perfil de ácidos grasos de la FL de *A. ficoidea* (L.) *P. Beauv.* usando cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS);
- evaluar ambos extractos de *A. ficoidea* (L.) *P. Beauv* tienen capacidad citotóxica en los linajes celulares: MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC; y
- determinar si los extractos de *A. ficoidea* (L.) *P. Beauv* tienen efectos en el citoesqueleto y núcleo celular de los linajes celulares MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Federal de la Integración de Latino América (UNILA). En el campus Jardín Universitario, en el Laboratorio de Biotecnología en Salud G004, salas de cultivo celular y de Microscopia Avanzada y en el Departamento de Laboratorio de Enseñanza, y en el campus del Parque Tecnológico Itaipu (actual itaipu parquetc), en el Laboratorio de cromatografía y preparación de muestras de la UNILA.

3.1 Recolección de las hojas *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv

La muestra de la planta *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv se recolectó el 14 de septiembre del año 2023, en las siguientes coordenadas 25°26'31.8"S 54°33'25.6"W del Refugio Biológico Bela Vista - Itaipu Binacional, Foz do Iguazú, Brasil. En el cambio de estación de invierno a primavera (Imagen 9: I y II).

Para el presente estudio se contó con el permiso del Sistema Nacional de Gestión del patrimonio genético y del conocimiento tradicional asociado, del Ministerio de Medio Ambiente de Brasil (Anexo B).

Se comenzó separando las hojas de los tallos; las hojas se pesaron (*Even*), y se dejaron secar en la estufa (*Lucadema*) a 41.0 ± 0.1 °C por 6 días, tiempo en el cual el peso dejó de disminuir, y se volvió a pesar (Imagen 9: III, IV y V).

Imagen 9. Obtención y deshidratación de las hojas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv



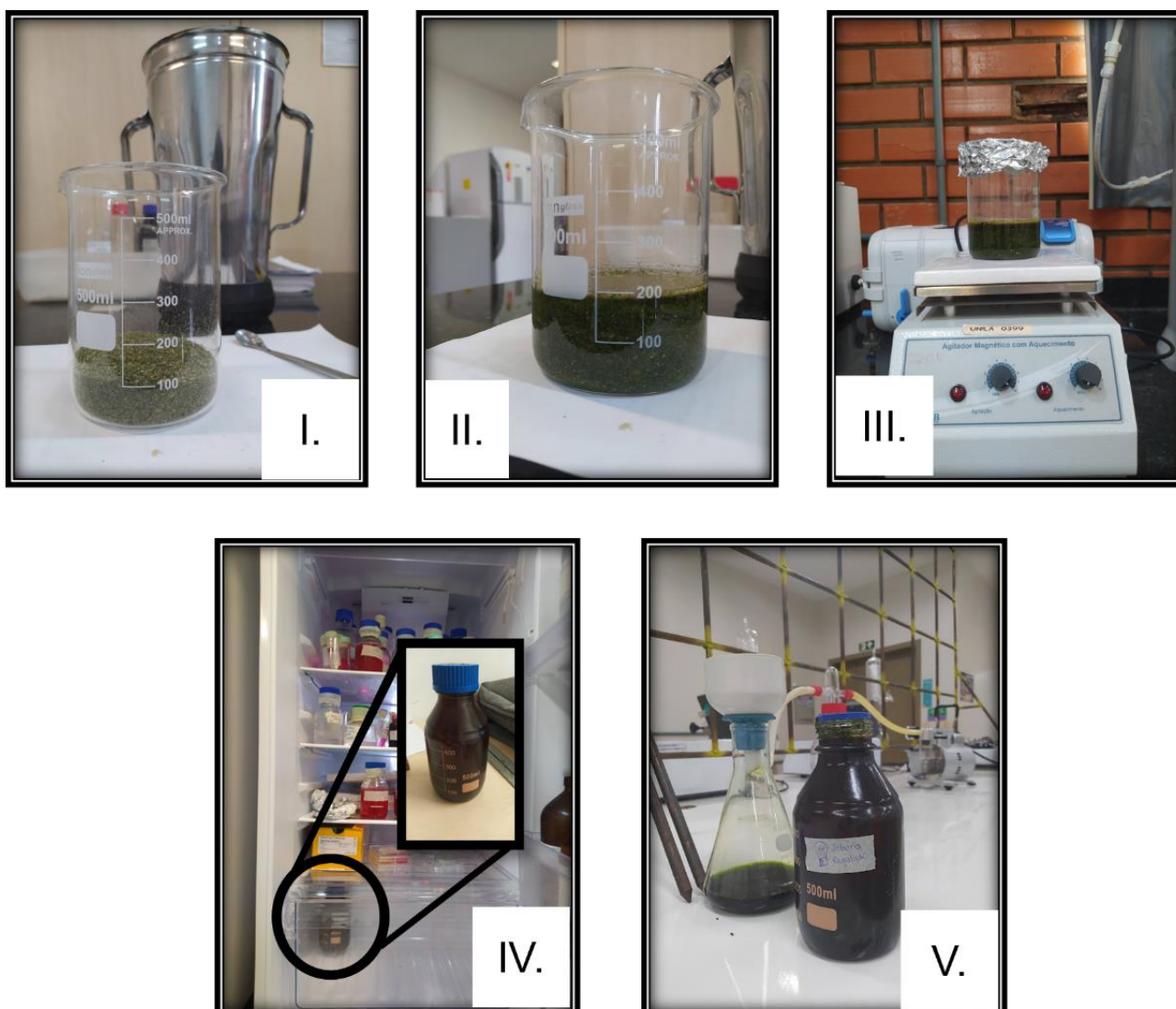
Nota: I. Refugio Biológico, lugar de donde se obtuvo la muestra. II. Muestra íntegra. III. Hojas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv. IV. Estufa de deshidratación. V. Hojas deshidratadas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv.

Fuente: autoría propia, 2023.

3.2 Extracción hidroalcohólica de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv

Las hojas deshidratadas se pulverizaron en una licuadora (Imagen 10: I). La solución hidroalcohólica se hizo con 70 % (v/v) de etanol (P.A., *Dinámica*) en agua desionizada. El polvo de hojas (22,47 g) se colocó con la solución hidroalcohólica en proporción 1:8 (Imagen 10: II). La mezcla se dejó en agitación magnética (CE-1540/P, *Cienlab*) por 3 horas a 100 rpm (revoluciones por minuto) (Imagen 10: III). La mezcla se dejó macerar por 3 días a 4 °C en el refrigerador (NR-BT55PV2X, *Panasonic*), en un frasco ámbar (Imagen 10: IV). Después, se filtró al vacío (Imagen 10: V).

Imagen 10. EH de hojas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv por maceración



Nota: proceso de extracción hidroalcohólica. I. polvo de las hojas II. polvo de hojas con solución hidroalcohólica. III. mezcla en agitación. IV. maceración en refrigeración a 4 °C V. filtración al vacío del EH.

Fuente: autoría propia, 2023.

Con el rotoevaporador (802, Fisatom), se removió el etanol de la extracción. El sistema contó con los parámetros: cubeta a 55 °C, *chiller* a 5 °C y velocidad de rotación a 50 rpm, por 20 min (Imagen 11).

Imagen 11. Evaporación de etanol del EH de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv

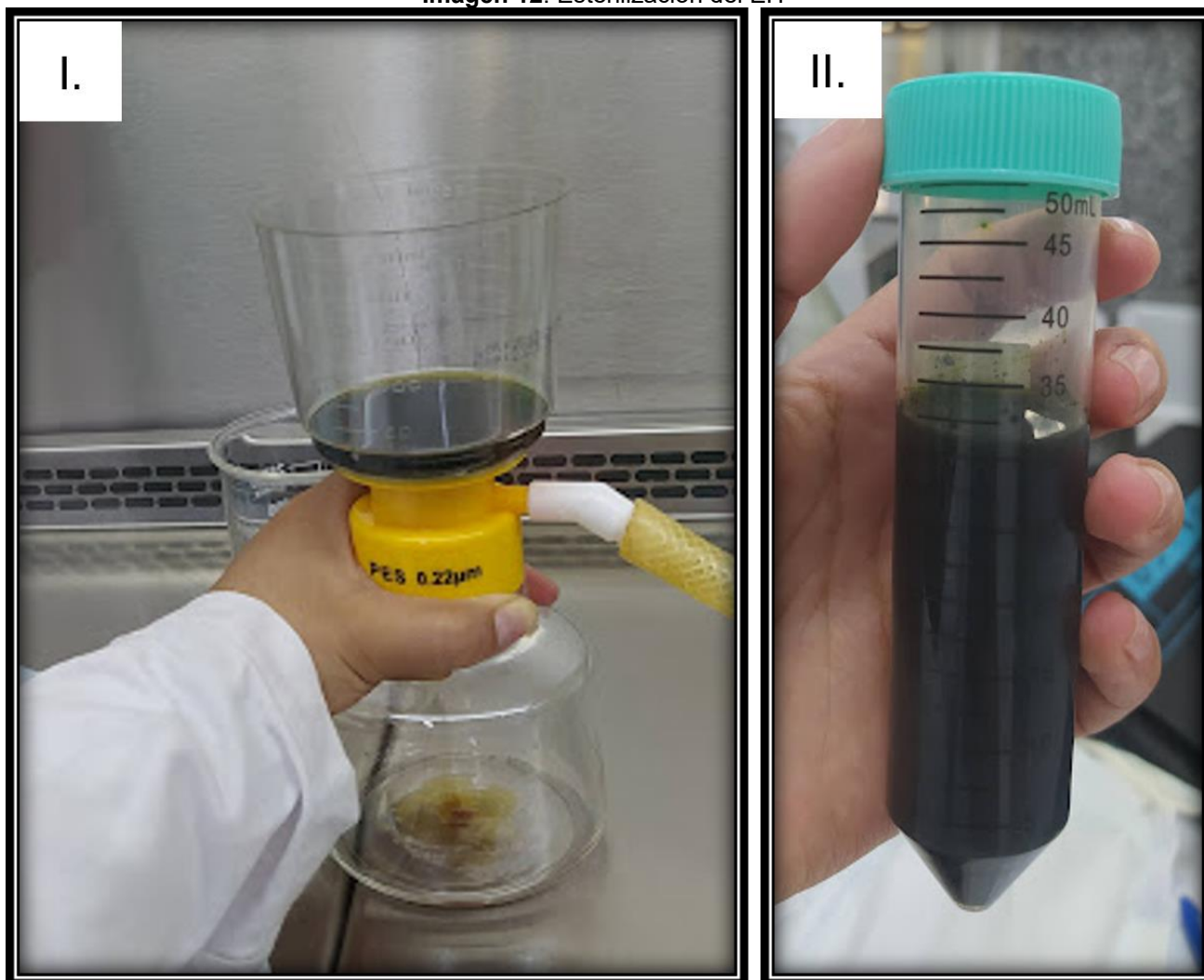


Fuente: autoría propia, 2023.

En seguida, el EH se pasó por un sistema de filtración al vacío con membrana PES 0.22 μm (K15-1500, Kasvi) (Imagen 12. I), para eliminar compuestos contaminantes; se almacenó en tubos con tapa esterilizados y se reservó en congelación (Imagen 12.II).

Para calcular el rendimiento y el porcentaje de rendimiento del EH de *A. ficoidea* (L.) P. Beauv, se usó el método presentado por Benítez *et al.*, (2020). Usando el peso inicial de las hojas secas con el que se inició y el peso final que corresponde al peso del polvo de las hojas después de la filtración, que se dejó secar a 41.0 ± 0.1 °C por 10 días.

Imagen 12. Esterilización del EH



Nota. I. Filtración del Extracto. II. EH de las hojas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv.
Fuente: autoría propia, 2023.

3.2.1 Antioxidantes

3.2.1.1 Compuestos fenólicos

Desde 1965 se ha usado la técnica de espectrofotometría usando el compuesto Folin-Ciocalteu (2N, *Imbralab*), de color amarillo; este, al ser reducido, se vuelve azul. Esta transición permite la cuantificación de la concentración de compuestos reductores presentes en la muestra (ROSA *et al.*, 2020; SINGLETON; ROSSI, 1965). Primero se hizo una curva patrón (Anexo C) con ácido gálico (99%, *Neon*).

Para cuantificar los CF del EH, en un tubo de ensayo se colocaron 250 µL de la dilución (EH al 1 % v/v), 250 µL de Folin (1:1 mL), 500 µL de solución saturada de carbonato de sodio (99%, *Éxodo Científica*) y 4 mL de agua ultrapura (Tipo II. *Purelab option Q system*,

Elga labwater), conservando el orden; se hicieron tres replicas. Para hacer el blanco en lugar de la muestra, se colocó agua ultrapura. Todos los tubos de ensayo se dejaron en reposo por 25 min a temperatura ambiente, se centrifugaron (*Rotina 380, Hettich*) a 3.000 rpm por 10 min. Por último, se midió la ABS a 725 nm en espectrofotómetro UV-Vis (*Evolution 201, Thermo Fisher Scientific*). Las concentraciones de CF se expresaron en mg EAG (equivalente de ácido gálico) g⁻¹ muestra de hojas secas (BOROSKI *et al.*, 2015).

3.2.1.2 Flavonoides

Se usó el método propuesto por Dowd (1959) con las modificaciones de Hossain & Rahman (2011). Este usa cloruro de aluminio, que en medio ácido forma compuestos complejos estables con los flavonoides de color amarillo, entre más compuestos formados será mayor la intensidad de la absorción (BOROSKI *et al.*, 2015; DOWD, 1959). Primero se hizo una curva patrón con diferentes concentraciones de quercetina (Anexo D) (99%, *Sigma-Aldrich*).

La cuantificación de flavonoides se hizo a baja intensidad de luz, por la fotosensibilidad. En un tubo de ensayo se colocó 500 µL de la muestra (EH al 1 %), 250 µL de cloruro de aluminio al 5 % (m/v) (99%, *Dinámica*) y 4,25 mL de metanol (P.A., Sal-R), conservando el orden y se hicieron tres réplicas. Para hacer el blanco en lugar de la muestra, se colocó metanol. Los tubos de ensayo se dejaron reposar por 30 min a temperatura ambiente. De ellos, se midió la ABS a 425 nm. Los F se expresaron en mg (equivalente de quercetina) EQ g⁻¹ muestra.

3.2.2 Capacidad antioxidante

3.2.2.1 Método ABTS

El método de secuestro del catión radical ABTS^{•+} fue desarrollado por Miller *et al.* 1997 y modificado por Re en 1990 (MILLER; RICE-EVANS, 1997; ROJAS; BUITRAGO, 2019). En este método se produce ABTS^{•+} de color azul, a partir de la oxidación de ABTS (ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolona-6-sulfónico) (99%, *Sigma-Aldrich*) mezclado con persulfato de potasio (99%, *Dinámica*). El ABTS^{•+} se expone a una muestra; si este se reduce, forma ABTS⁺ de color transparente.

Para encontrar el porcentaje de inhibición de ABTS^{•+} se determinó en función del Trolox, como antioxidante de referencia, del cual se obtiene una curva patrón de

concentración vs. ABS a 734 nm (Anexo E). Siguiendo a Boroski *et al.*, (2015), primero se prepararon las siguientes soluciones:

- I. solución *stock* de ABTS: se disolvieron 10 mg de ABTS en 2,6 mL de solución de persulfato de potasio 2,46 mmol L⁻¹; se homogeneizó, se transfirió a un recipiente protegido de luz, por ser fotosensible. Se preparó un día antes de ser utilizada;
- II. solución tampón 5 mM L⁻¹: se colocó 10 mL de tampón 50 mM L⁻¹ de fosfato de potasio monobásico anhidro (P.A., NEON) con fosfato de potasio dibásico anhidro (P.A, *Éxodo Científica*) en un balón volumétrico de 100 mL y se completó con agua ultrapura hasta el menisco; y
- III. solución de ABTS•+: Para preparar el radical catión ABTS•+, a la solución *stock* de ABTS se le fue adicionando poco a poco la solución tampón y se fue midiendo en el espectrofotómetro la ABS, hasta calibrar la ABS en $0.700 \pm 0,02$ nm, se mantuvo la solución en la oscuridad y se utilizó enseguida.

En un tubo de ensayo se colocaron 20 µL de la muestra (EH en metanol 1 % v/v), en 2 mL de la Solución de ABTS•+; se replicó tres veces. Para hacer el blanco en lugar de la muestra, se colocó metanol. Los tubos se dejaron reposar por 7 min, se midió la ABS a 734 nm y se encontró la capacidad antioxidante en µmol TE (equivalente de Trolox para ABTS) g⁻¹ muestra.

3.2.2.2 Método DPPH

El método de secuestro del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) (99,9%, *Sigma-Aldrich*) fue creado por BLOIS, 1958, que se ha ido modificando (DA SILVEIRA *et al.*, 2018). El DPPH• es un radical libre estable de color morado oscuro sensible a la luz; este puede ser capturado por un antioxidante que, al reducirlo, provoca DPPH-H cambiando de color a diferentes tonos de morado o hasta quedar amarillo (CONTRERAS-GUZMÁN; STRONG, 1982; KEDARE; SINGH, 2011).

El porcentaje de inhibición de DPPH se determinó en función del Trolox como antioxidante de referencia, del cual se obtiene una curva patrón de concentración vs ABS a 517 nm (Anexo F). Primero se preparó la solución DPPH, colocando 4,7 mg de DPPH en un balón de 100 mL y se completó hasta el menisco con metanol; se homogeneizó y se hizo el análisis inmediatamente. La solución de DPPH se colocó en un becker con la cual se fue ajustando el espectrofotómetro en 517 nm hasta que la ABS fue 1.0 ± 0.1 ; si la ABS era mayor al valor indicado, se agregaba más metanol para disolverlo.

En un tubo de ensayo se agregaron 25 μL de EH (EH en metanol 25 % v/v) y se le agregó 2 mL de la solución DPPH preparada; se hicieron tres réplicas. Para hacer el blanco en lugar de la muestra, se colocó metanol. Se dejó actuar por 30 min bajo condiciones normales, en una caja oscura; se midió la ABS a 517 nm y se encontró la concentración del extracto equivalente a μmol de Trolox (TE) L^{-1} . La capacidad antioxidante de DPPH se expresó en equivalente a μmol de Trolox en g^{-1} muestra.

3.2.2.3 Método FRAP

El poder antioxidante reductor férrico (FRAP) consiste en medir la reducción del complejo férrico-tripiridiltriazina $[\text{FeIII}(\text{TPTZ})]^{3+}$ en $[\text{FeII}(\text{TPTZ})]^{2+}$ de color azul intenso, por la acción de un antioxidante en medio ácido con pH de 3,6 (BIBI SADEER *et al.*, 2020; MUNTEANU; APETREI, 2021).

Para la curva de calibración de ácido gálico de FRAP, se midió la ABS a 593 nm de concentraciones conocidas de sulfato de hierro (II) (Anexo G). Se siguió la metodología presentada por Benzie y Strain (1996). El proceso fue hecho a baja intensidad de luz; y se prepararon las siguientes soluciones:

- I. solución tampón acetato de sodio 300 mmol L^{-1} , pH 3,6 (sol. 1): se disolvió 3,10 g de acetato de sodio anhidro (P.A., *Dinâmica*) en 16,0 mL de ácido acético glacial (P.A., *CRQ Química*) concentrado en 1 L de agua ultrapura. Se midió el pH; para ajustarlo si se quería aumentarlo, se usó hidróxido de sodio (P.A., *Neon*), y para disminuirlo se usó ácido clorhídrico (1,0 mol L^{-1}) (37%, *CRQ Química*);
- II. solución de 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina (TPTZ) a 10 mmol L^{-1} (sol. 2): en un balón volumétrico de 50 mL se colocó 0,16 g de TPTZ (2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina) (99%, *Sygma-Aldrich*) en 1,0 mL de ácido clorhídrico (1 mol L^{-1}), se completó con agua ultrapura y se disolvió;
- III. solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a 20 mmol L^{-1} (sol. 3): en un balón volumétrico de 50 mL se disolvió 0,16 g de cloruro férrico (99,5 %, *Dinâmica*) en agua ultrapura. Se utilizó inmediatamente. Observación: Sol. 2 y 3 son sensibles a la luz, por lo que se reservaron en frascos ámbar; y
- IV. reactivo FRAP o solución del complejo $[\text{Fe}^{+3}(\text{TPTZ})_2]\text{Cl}_3$: se adicionó 100,0 mL de sol. 1; 10 mL de sol. 2; y 10 mL de sol 3.

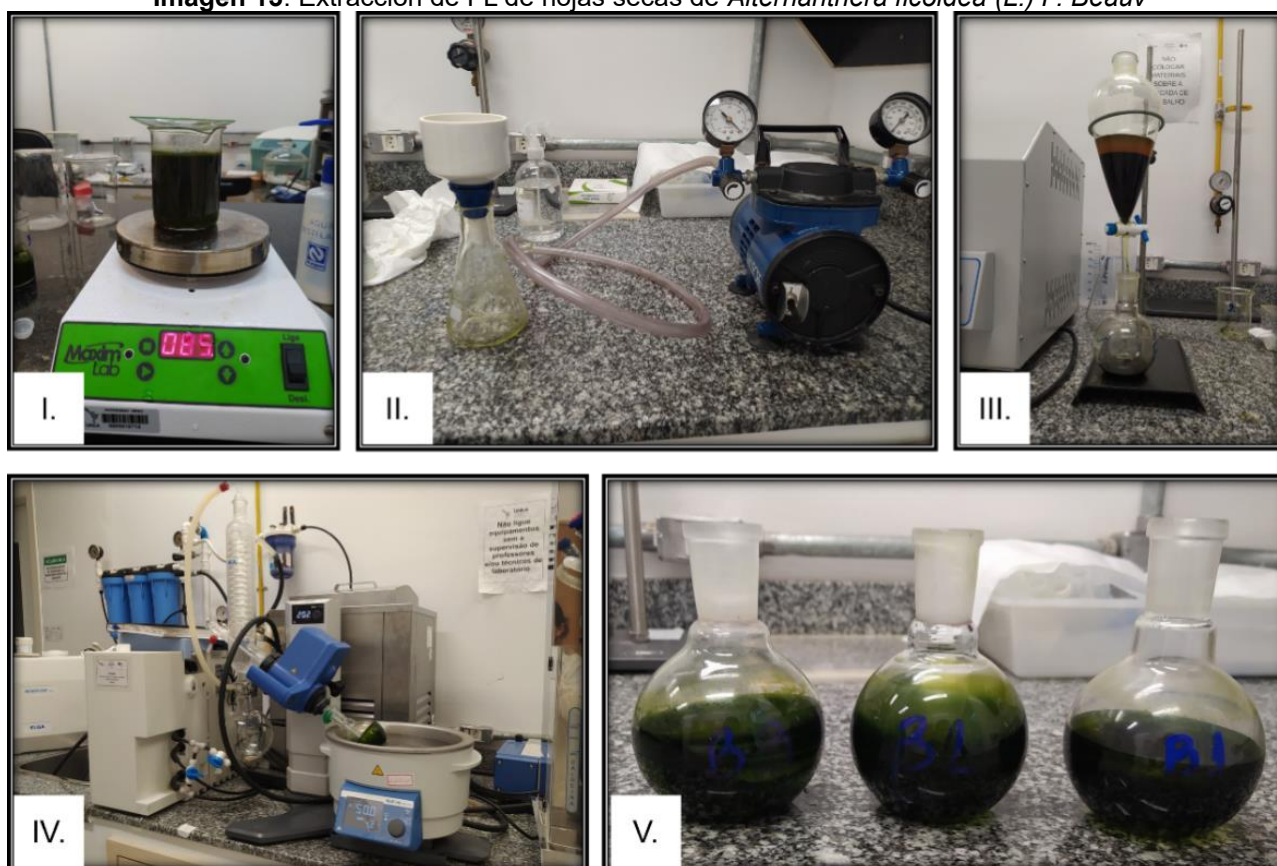
En un tubo de ensayo se colocó 3,0 mL de reactivo FRAP, 100 μ L del EH 1 % (v/v), y 300 μ L de agua ultrapura; se replicó tres veces. Para hacer el blanco en lugar de la muestra, se colocó agua ultrapura. Los tubos se dejaron reposar por 40 min bajo condiciones normales; después se centrifugaron a 3000 rpm por 5 min, se midió la ABS a 593 nm y se encontró el poder de reducción equivalente al poder de reducción en μ mol de Fe (II) L⁻¹. La capacidad antioxidante por FRAP se expresó en equivalencia a μ mol de Fe (II) en g⁻¹ muestra.

3.3 Extracción de la FL

Para la extracción de la FL, se siguió la metodología planteada por Bligh y Dyer (1959), con modificaciones en el volumen de los reactivos, debido a que se trabajó con materia vegetal seca, la cual actúa como una esponja absorbiendo líquido; sin embargo, se conserva la proporción cloroformo, metanol y agua, 2:2:1 (v/v/v). En un becker se pusieron 13 g de las hojas secas; luego se añadieron 90 mL de metanol y se dejó en agitación mecánica por 2 min bajo condiciones normales. Se colocó 45 mL de cloroformo (P.A., CHEMCO) y se agitó por 5 min. Se adicionó 45 mL de cloroformo y se agitó por 2 min. Finalmente, se agregó 45 mL de agua ultrapura y se agitó por 5 min (Imagen 13: I).

Se filtró al vacío con un embudo de Büchner; el residuo contenido que quedó en el embudo se lavó con 30 mL de cloroformo; fue agitado por 5 min. Este paso se repitió dos veces (Imagen 13: II). El residuo se filtró en un embudo de separación de 250 mL; la fase inferior, que contenía cloroformo y FL, se recogió y se colocó en un matraz de fondo plano, debidamente pesado; la fase superior se descartó (Imagen 13: III). Los matraces se llevaron a un rotoevaporador (RV 8, IKA) a 35 °C para evaporar el solvente hasta secarse (Imagen 13: IV). Se completó la evaporación en una estufa a 105 °C durante 4 horas; por último, el matraz se enfrió, los lípidos fueron pesados y se calculó el rendimiento (Imagen 13: V).

Imagen 13. Extracción de FL de hojas secas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv



Nota: proceso de extracción de fracción lipídica: I. hojas secas con reactivos en agitación mecánica. II. filtración al vacío de la muestra. III. separación de fases con embudo de separación. IV. evaporación de los solventes en rotoevaporador. V. fracción lipídica después del secado en la estufa.

Fuente: autoría propia, 2024.

3.3.1 Esterificación de fracción lipídica

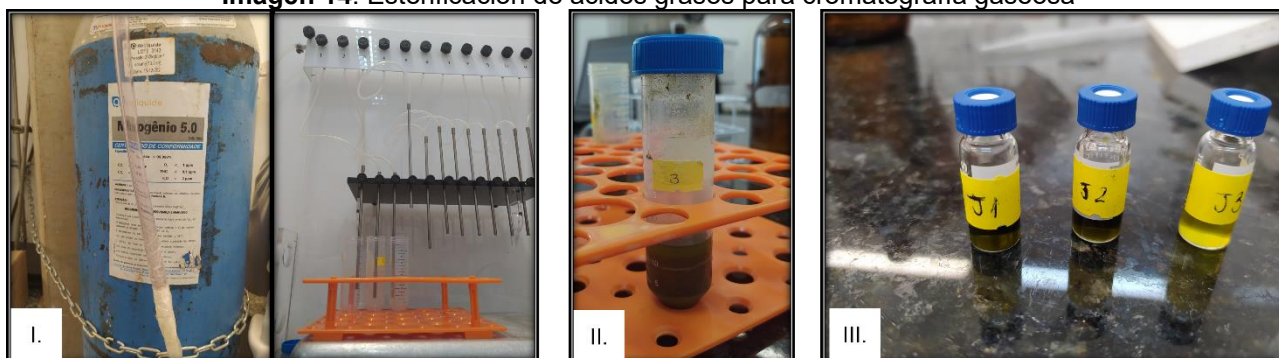
La esterificación ácida es un proceso por el cual los AG de la FL se convierten en ésteres metílicos de AG (FAMES), compuestos que son más volátiles y útiles en la cromatografía gaseosa (SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2014). Se usó el método según Hartman y Lago (1973) modificado por Santos (2014). En un tubo 50 de mL con tapa tipo falcón, se colocó 400 μL de tricosanoato de metilo a 1 mg mL^{-1} (patrón interno - PI) (99,0 % Sigma-Aldrich®) y se evaporó en flujo de nitrógeno (99,9 %, Air Liquide) (Imagen 14: I). En cada tubo se pesó 0,025 gramos de los FL usados anteriormente; se adicionó 4 mL de NaOH en metanol a 0,50 mol L^{-1} , se cerró y se llevó a baño de ultrasonido (E 120 H, *Elma Schmidbauer*®) en condiciones normales durante 5 min.

Se agregó 5 mL de reactivo de esterificación (cloruro de amonio, metanol y ácido sulfúrico, proporción 1:30:1,5 m/v/v); se cerró y se llevó a baño de ultrasonido en condiciones normales por 5 min, para que ocurra la reacción ácida. Para separar las fases, se agregó 4 mL de una solución saturada de cloruro de sodio (0,365 g mL^{-1}) (P.A., *Dinâmica*),

y se agito en un vórtex (NA 3600, *Norte Científica*) por 30 s. Se añadió 2 mL de isooctano (2,2,4-trimetilpentano) (100%, Honeywell) y se agitó por 30 s en vórtex. Se dejó en la nevera a 20 °C por 24 horas (Imagen 14: II). Se retiró la fase orgánica (parte superior) que contiene los FAMEs (Imagen 14: III). Se hicieron tres réplicas.

Para aclarar las réplicas, se realizó una dilución usando 100 µL de la muestra en 500 µL de isooctano. Los FAMEs quedaron listos para el análisis cromatográfico.

Imagen 14. Esterificación de ácidos grasos para cromatografía gaseosa



Nota: I. evaporación por nitrógeno de solución de esterificación. II. separación de fases por reactivos; la fase superior es la fase orgánica. III. fase orgánica resultante para análisis cromatográfico.

Fuente: autoría propia, 2024.

3.3.2 Análisis de cromatografía gaseosa con espectrometría de masas – GC-MS

El análisis de los FAMEs se realizó mediante GC-MS equipado con un muestreador automático TriPlus RSH (TRACE 1300, *Thermo Scientific*), un analizador de masas (ISQ Single Quadrupole MS, *Thermo Scientific*) y columna 120 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y película de 0,25 µm (TR-FAME, *Thermo Scientific*). La temperatura inicial de la columna fue 180 °C durante 12 min, seguido de calentamiento hasta 210 °C a una tasa de 2,5 °C min⁻¹, manteniendo esta temperatura durante 1 min, y un posterior calentamiento hasta 240 °C a una tasa de 2,5 °C por min, manteniendo esta temperatura durante 14 min, con un total de 45 min de corrida. Se utilizó helio (Helio 5.0, *Air Liquide*) como gas de arrastre a un flujo de 1,1 mL min⁻¹, manteniendo el inyector a 230 °C. Las inyecciones se realizaron por triplicado y el volumen de inyección fue de 1 µL. La fuente de iones se mantuvo a 200 °C y la línea de transferencia de MS se mantuvo a 240 °C.

El procesamiento de los datos se realizó mediante el software *Thermo Xcalibur*, (versión 2.2, *Thermo Scientific*). El PI y las muestras se sometieron a un monitoreo de escaneo completo, que se monitoreó m/z 50–550. Los resultados obtenidos en CG-MS se

encontraban en abundancia relativa, con la cual se calculó porcentaje de área y con el PI se cuantificó en mg g⁻¹ de muestra (AGUIAR *et al.*, 2011). Usando la fórmula 1, según el método de Joseph y Ackman (1992).

$$\text{Fórmula 1. } M_x = \frac{A_x * M_p * F_{ct}}{A_p * M_a * F_{cea}}$$

Dónde:

M_x: masa del ácido graso x en mg g⁻¹ de lípido;

M_p: masa del patrón interno en mg;

M_a: masa de la muestra de lípidos totales en g;

A_p: área de patrón interno;

A_x: área de ácido graso x;

F_{cea}: factor de conversión de éster metílico a ácido graso;

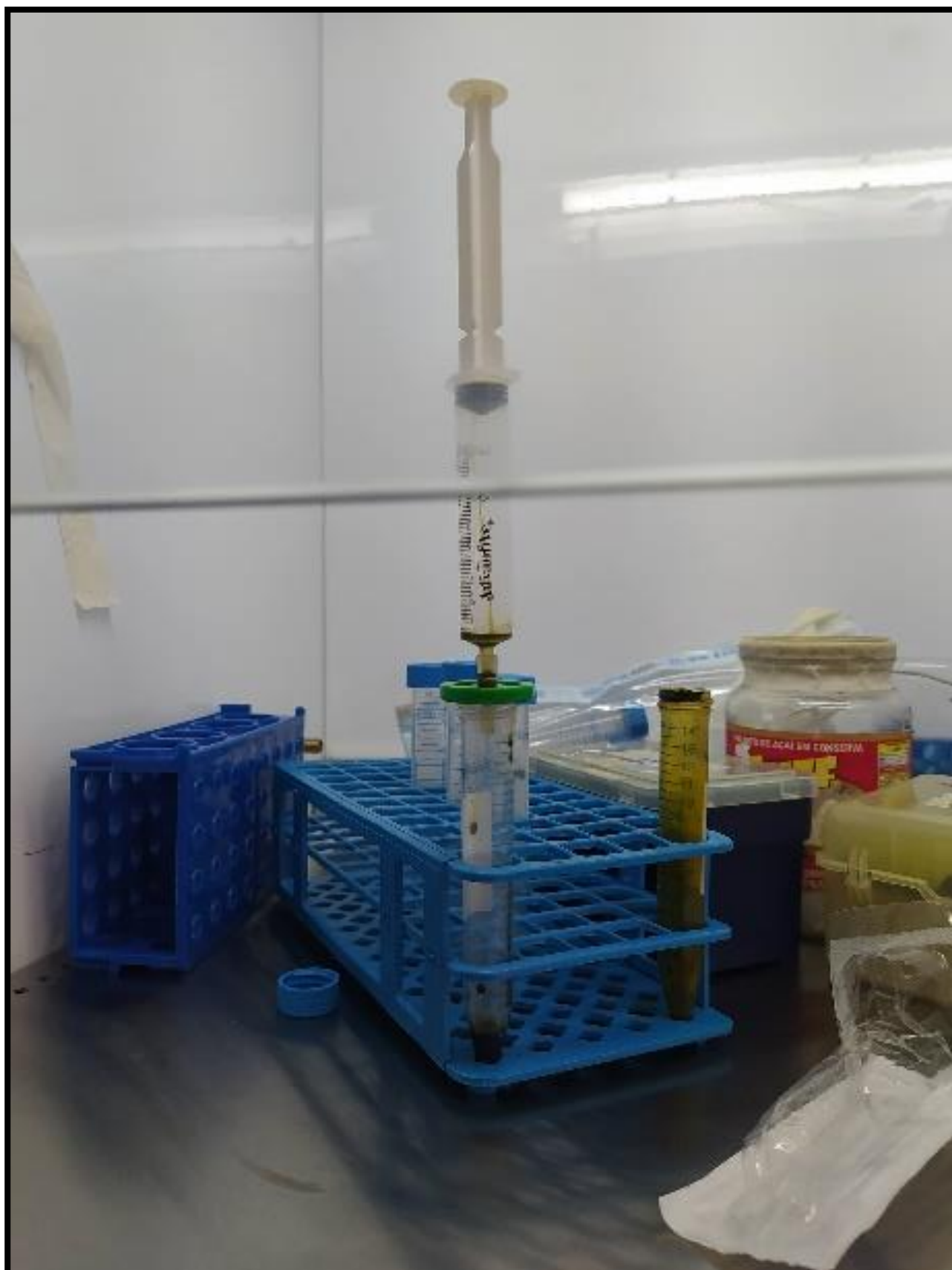
F_{ct}: factor de corrección teórico; se usó 1 porque se trata de CG-MS.

Las cantidades de los AG detectados se presentaron mg en g⁻¹ de muestra y en porcentaje de área relativa.

3.3.3 Dilución de FL

Se peso 1 g de los FL obtenidos y se diluyeron en 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) (13-0091-01, LGC Biotecnología). La concentración de FL en DMSO quedo en 1 mg μL⁻¹, la dilución puso en una jeringa con rosca (Medix Brasil) unida a un filtro PES 0.22 μm (Microlab Scientific), con lo cual se esterilizo la dilución de FL y se reservó en congelación (Imagen 15).

Imagen 15. Esterilización de la dilución de FL de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv en DMSO



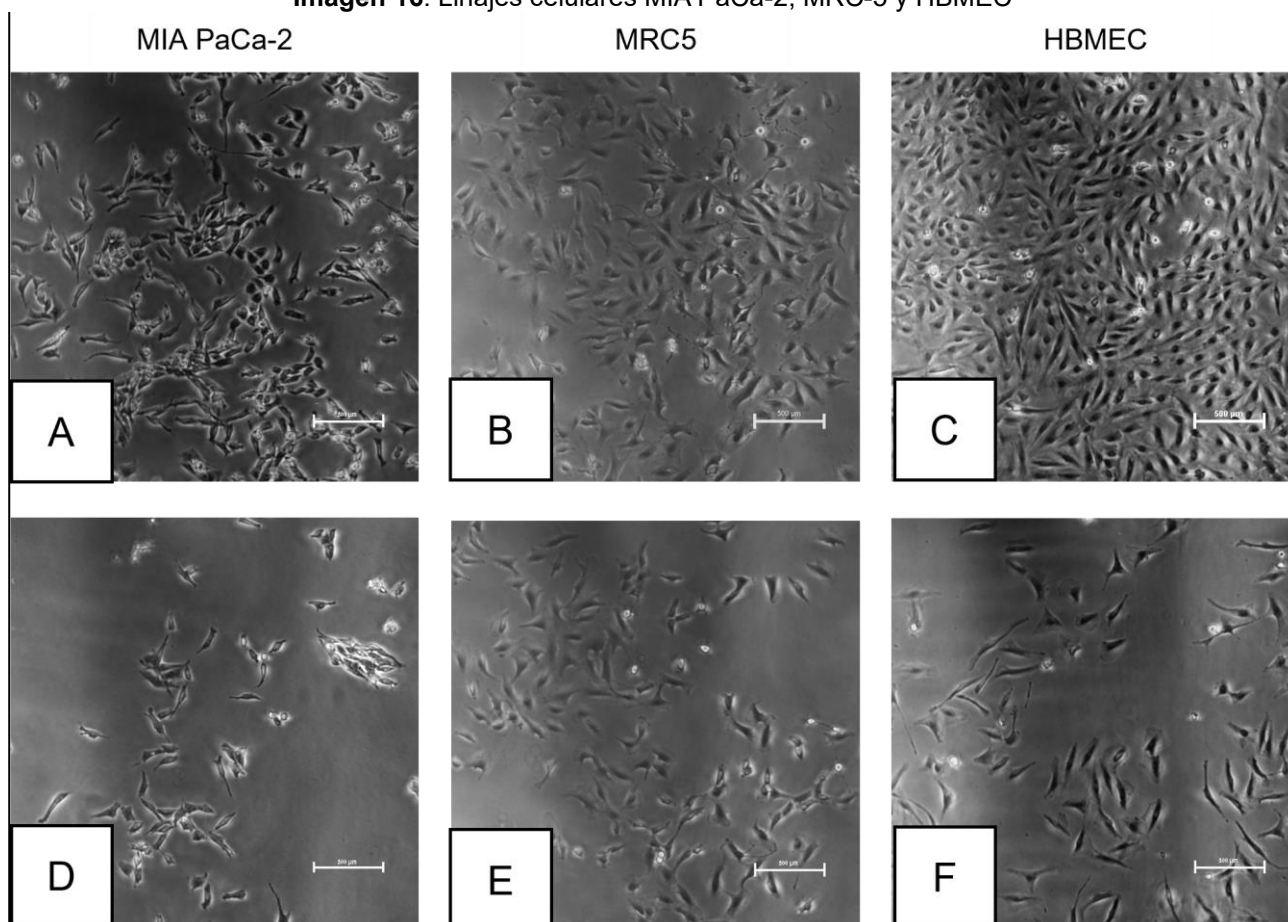
Fuente: autoría propia, 2024.

3.4 Ensayos en cultivo celular

El medio DMEMc (*minimal essential medium complete*) (D0025, *vitrocell – embriolife*) que se usó en esta investigación estaba suplementado con 1 % (v/v) de penicilina-estreptomicina (P4333, *Sigma-Aldrich®*) y con 10 % (v/v) de suero fetal bovino (SFB) (150.823JN, *Nova Biotecnología*) para inducir el crecimiento y la adhesión celular. La estufa (HF 212, *Heal Force*) usada contó con suministro de CO₂ al 5 %, para conservar el pH celular; conservó la temperatura de 37 °C y humedad atmosférica.

Los linajes celulares que se usaron fueron: células de carcinoma pancreático - MIA PaCa-2 (ATCC CRL - 1420) (Imagen 16. A y D), línea celular diploide de fibroblastos del tejido pulmonar - MRC-5 (ATCC CCL - 171) (Imagen 16. B y E), y células endoteliales microvasculares del cerebro humano – HBMEC (Imagen 16. C y F) donación del Dr. Andrés Mojoli Le-quesne.

Imagen 16. Linajes celulares MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC



Nota: Micrografías obtenidas con un microscopio invertido (Nikon Eclipse Ti-S), campo claro de observación, aumento de 4x, escala de 500 µm y edición realizada en ImageJ.

Fuente: autoría propia, 2023.

3.4.1 Descongelamiento y cultivo celular

Los tubos de criopreservación pasaron por un descongelamiento rápido del congelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ al flujo laminar horizontal (*Lucademia*). Se pasó a un tubo tipo Falcon, se centrifugó por 10 min a 800 rpm. Se descartó el sobrenadante; el *pellet* se resuspendió en 10 mL de DMEMc, que se colocó en una jarra de cultivo de 75 cm^2 (Atena Biotecnología), se supervisó el crecimiento cada tres días. Al alcanzar la confluencia del 90 %, se lavó dos veces con solución salina tamponada con fosfato 1x (PBS) (13-30262-05, LGC Biotecnología) y se tripsinizó con tripsina 0,25 % (m/v) (002-07-7, INLAB) – EDTA (ácido etilendiamino tetra-acético) al 0,1 % (m/v) (E4884, *Sigma-Aldrich*®) en PBS.

3.4.2 Ensayo de citotoxicidad celular

Se testó el efecto citotóxico de EH y los FL de *A. ficoidea* (L.) *P. Beauv* en los linajes celulares MRC-5, HBMEC y MIA PaCa-2. Para esto, se usó una placa de 96 pozos estéril (*Microlab Scientific*); en las filas A y H se colocó 100 μL de solución salina tamponada con fosfato 1x (PBS) (13-30262-05, LGC Biotecnología) y en los pozos de la columna 1 a la 11 se sembró 50 μL de DMEMc con 5×10^3 células por pozo para MRC-5 y MIA PaCa-2; y con 2×10^3 células por pozo para HBMEC, que se dejaron en la estufa durante 24 h.

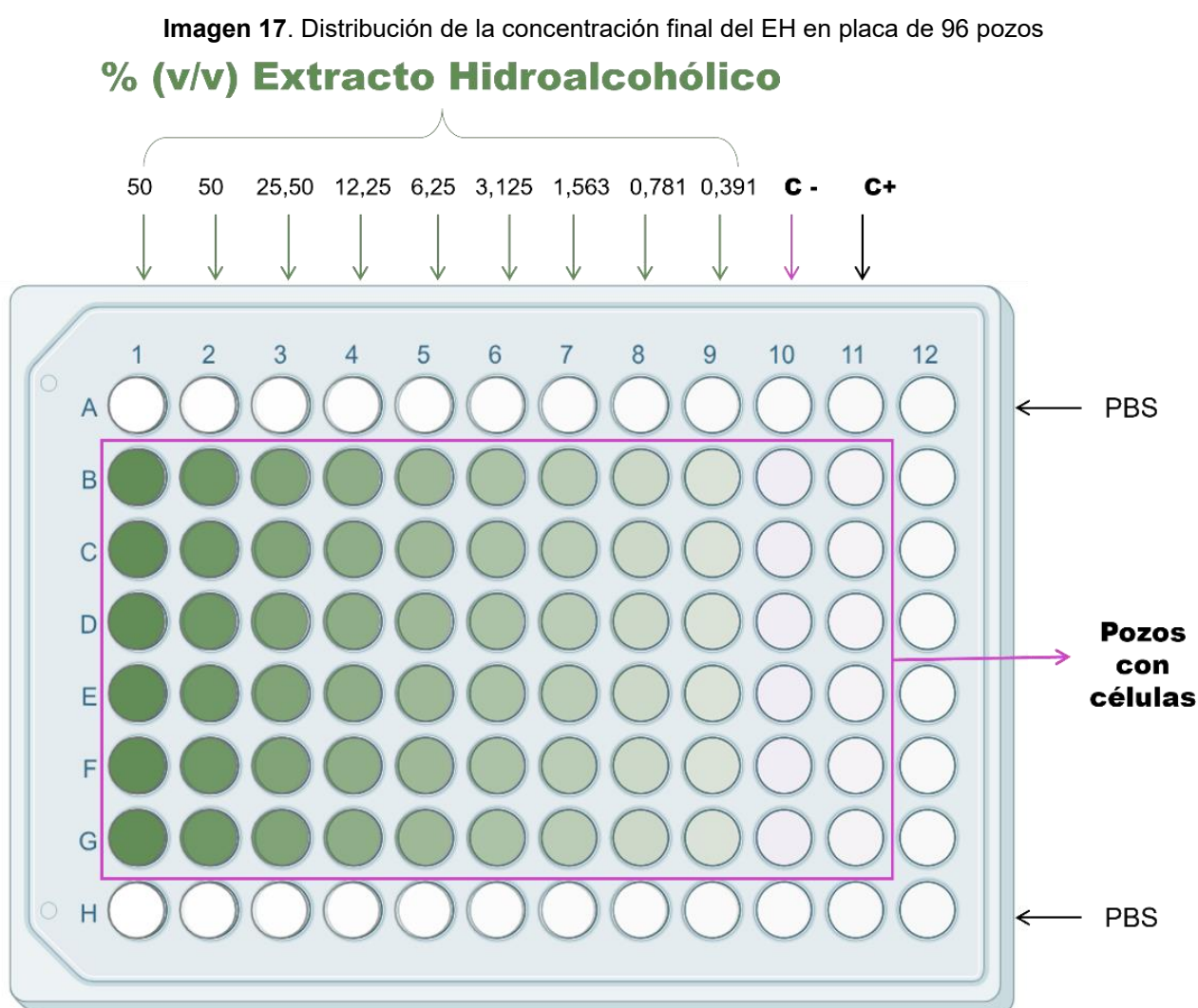
Se comprobó en el microscopio invertido (Eclipse Ti-S, Nikon) la adherencia celular y en el flujo horizontal, a cada pozo se le agregó 50 μL de las diferentes concentraciones de EH y de FL. Las concentraciones del EH en DMEMc fueron: 50,0; 25,0; 12,5; 6,25; 3,125; 1,563; 0,781 y 0,391 % (v/v). Y para la FL en DMEMc se usó 10,0; 5,0; 2,5; 1,25; 0,625; 0,312; 0,15625 y 0,078125 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ (m/v).

Para el control negativo se adicionó 50 μL de medio DMEMc y para el control positivo se empleó 50 μL de DMSO al 20 % diluido en DMEMc (v/v). Cada experimento se replicó seis veces y se dejó actuar por 24 h en la estufa. Además, se hicieron controles paralelos en las columnas 1 y 12 para comprobar que el color característico de los extractos y del MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-di-fenil brometo de tetrazolina) (298-93-1, *Sigma-Aldrich*®) no interfieren en la ABS. En el caso de la FL, se comprobó que la cantidad usada de DMSO en la máxima concentración testada no causara muerte celular.

Se tenían dudas sobre la interferencia del color de los compuestos en la lectura de la ABS, por lo que en la columna 1 se colocó la concentración máxima usada del compuesto

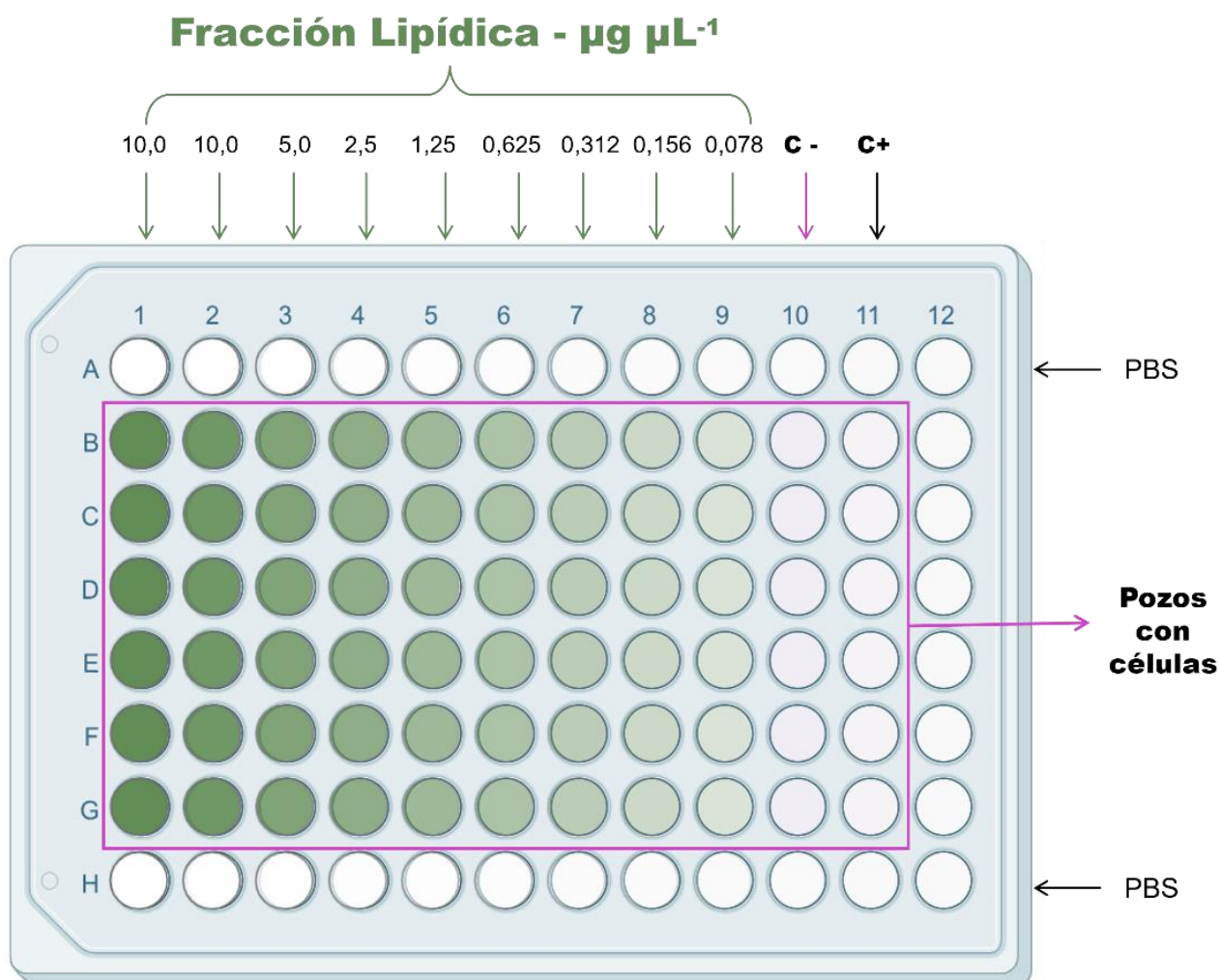
y se leyó la ABS. Las imágenes 17 y 18 muestran la distribución de las concentraciones en la placa, y sus correspondientes controles para el EH y la FL, respectivamente.

Para determinar la viabilidad celular (VC) se usó el mecanismo de reducción de MTT. Por lo tanto, en cada pozo de las columnas 2 a 10 se agregó 10 μ L de MTT, en la columna 1 no se colocó MTT, se dejó actuar por 4 h en la estufa. Después, se observó la formación de cristales, se retiró el líquido, se adiciono 100 μ L de DMSO en todos los pozos, y los cristales formados se diluyeron.



Fuente: autoría propia, 2023.

Imagen 18. Distribución de la concentración final de la dilución de FL en placa de 96 pozos



Fuente: autoría propia, 2023.

Después de la dilución se leyó la ABS en 590 nm y 630 nm, en el espectrofotómetro (LMR - 96, Loccus). Se encontró, que los datos de ABS leídos inmediatamente no coincidían con lo visto en el microscopio, por lo que se hizo una medición de ABS a la hora después de la dilución del DMSO, y se comprobó que los datos coincidieran con lo visto en el microscopio. Por ello, se tomaron fotos en el microscopio invertido en los pozos antes y después del MTT.

Se encontró la diferencia de las ABS para encontrar el porcentaje de VC (% VC) (fórmula 2).

$$\text{Fórmula 2. } \%deVC = \frac{\text{diferenciasde}[(593nm-630nm)]-\text{controlpositivo}}{\text{controlnegativo}-\text{controlpositivo}} * 100$$

Los datos de VC se procesaron en el paquete estadístico *GraphPad Prism* (versión 8.0.2., *GraphPad Software*), para hacer la curva de regresión no lineal. La curva se

construyó a partir del % VC, en función de las concentraciones logarítmicas de los compuestos testados, y así se determinó el IC₅₀. Los resultados se expresaron como media \pm desvió patrón (DP) (n=6) considerando un valor estadísticamente significativo de $p < 0,05$.

3.4.3 Evaluación del citoesqueleto y ADN con faloidina y DAPI

Para conocer los efectos de los compuestos en el citoesqueleto e integridad de ADN se usó la marcación con Faloidina Alexa Fluor™ 488 (*Termo Fisher Scientific*) y DAPI (D9542, *Sigma-Aldrich*®), respectivamente, usando microscopia de fluorescencia (H550L Eclipse Ni-U, Nikon). En una placa de seis pozos estéril (*Microlab scientific*, CN), se colocaron dos laminulas circulares (Vidrobrás) con 1,5 mL de DMEMc y 3×10^5 de células para MRC-5 y MIA PaCa-2; y con 6×10^4 células por pozo para HBMEC.

Después de 24 h en la estufa, se removió el DMEMc de cada pozo; dos pozos fueron controles (CT) y se les adicionó 1,5 mL de DMEMc, los cuatro pozos restantes se les colocó 1,5 mL del tratamiento: dos pozos con una concentración (C1) y los otros dos con otra (C2). Las concentraciones del EH en DMEMc fueron: 0,391 (C1-EH) y 0,781 (C2-EH) % (v/v); además se hizo un ensayo en HBMEC con las concentraciones 50,0 y 0,391 % (v/v), concentraciones cercanas al IC₅₀ encontrado en el MTT. Y para el tratamiento con FL se usaron las concentraciones 2,5 (C1-FL) y $10,0 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ (C2-FL) (m/v).

Cumplidas las 24 h en la estufa, a los pozos se les retiró el contenido, y se fijó colocando 1,5 mL de formaldehído (50-00-0, *Bionostic*) 4% (v/v) en PBS. Este se retiró a los 40 min; se lavaron tres veces, colocando 1,5 mL de PBT (0,1% v/v de Tritón X-100 (10K0192, *Sigma-Aldrich*®) en PBS), rotando manualmente por 5 min y retirando. A continuación, el ambiente se adaptó a baja intensidad de luz y en cada pozo se puso 0,5 mL de la solución de marcación (PBT + 2:1000 faloidina + 2:1000 DAPI), para los ensayos de EH; en los testes de FL solo se contó con DAPI (PBT + 2:1000 DAPI); en ambos casos, la marcación se dejó actuar por 12 h, en refrigeración a 4 °C.

En seguida, la solución de marcación se removió y cada pozo fue lavado tres veces colocando 1,5 mL de PBT, mezclando y retirando; luego se colocó 1,0 mL de PBS. Entonces, se prepararon láminas de 26,0 x 76,0 mm (*Precision Glass Line*), con Entellan® (HX865997161, Merck). Cada laminula se sacó de la placa, se le quitó el exceso de producto y sobre la cara anterior de las laminulas (donde se adhirieron las células), se fijaron sobre las láminas.

Una vez listas las láminas, se llevaron al microscopio de fluorescencia, donde de cada laminula del EH se tomaron 7 fotos de DAPI y 7 fotos de faloidina con aumento de 4x; en cuanto al teste de FL, por cada laminula se tomó 10 fotos de DAPI con aumento de 4x. Las imágenes obtenidas fueron procesadas conservando el formato TIF en el software ImageJ (fijiwin-64, *National Institutes of Health*) y el *plugin StarDist 2D* para conteo.

Los resultados se presentan como: número de células (número de núcleos contados), tamaño (área); número de núcleos grandes y pequeños; y proporción de núcleos grandes y pequeños. Los núcleos grandes y pequeños se definieron estableciendo la media del tamaño celular; los núcleos superiores a la media se denominaron núcleos grandes y los inferiores a la media, núcleos pequeños. La proporción de núcleos grandes y pequeños revela la distribución de los datos en estos grupos. Los datos se analizaron en *GraphPad Prism*. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de una vía y se determinó la significancia de los tratamientos.

4 RESULTADOS

4.1 Extracción hidroalcohólica de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv

A lo largo del proceso de extracción hidroalcohólica por el cual pasaron las hojas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv., resultó la tabla 5, que resume los datos obtenidos. En ella se muestra el resultado de la deshidratación de las hojas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv. como porcentaje de humedad; la concentración de la materia vegetal, que relaciona la masa (diferencia entre el peso inicial y el peso final) con el volumen final; y el rendimiento de la extracción, considerando diferencia del peso inicial menos el peso final, todo dividido por el peso inicial.

Tabla 5. Datos del proceso de EH

Descripción	Medida
Porcentaje de humedad de las hojas	83,44 % (m/m)
Concentración de materia vegetal en EH	137,56 g L ⁻¹
Rendimiento	0,19 gr gr ⁻¹
Porcentaje de Rendimiento	19,90 % (v/v)

Nota: proceso de extracción hidroalcohólica. El porcentaje de humedad refleja la diferencia obtenida de la deshidratación de las hojas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv. La concentración de la materia vegetal relaciona la masa que quedó de la extracción con el volumen final. El rendimiento de la extracción es la masa que quedó de la extracción entre el peso inicial.

Fuente: autoría propia, 2023.

4.1.1 Antioxidantes y capacidad antioxidante

Los datos presentados en la tabla 6, expresan la cantidad de antioxidantes encontrados en la muestra de hojas secas usadas para el EH y su actividad antioxidante. Los resultados se obtuvieron con las fórmulas de los anexos: para la medida de CF, anexo C; para F, anexo D; para ABTS, anexo E; para DPPH, anexo F; para FRAP, anexo G.

Tabla 6. Determinación de CF, F, y actividad antioxidante *in vitro* del EH

CF (mg EAG g ⁻¹ muestra)	F (mg EQ g ⁻¹ muestra)	DPPH (μmol TE g ⁻¹ muestra)	ABTS (μmol TE g ⁻¹ muestra)	FRAP (μmol de Fe (II) g ⁻¹ muestra)
9,04 ± 0,38	0,30 ± 0,05	21,72 ± 0,02	0,395 ± 0,001	71,85 ± 0,73

Nota: CF – compuestos fenólicos, F – flavonoides. Actividad antioxidante de un compuesto por radicales libres DPPH (α-difenil-β-picrilhidrazilo) y ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolona)-6-ácido sulfónico); y por reducción de un metal, FRAP – poder antioxidante reductor férrico. EAG – equivalente de ácido gálico. EQ – equivalente de quercetina. TE – equivalente de trolox. Fe – equivalente de hierro. Los datos son presentados como media ± DP (n=3), de las fórmulas de los anexos C, D, E, F, y G.

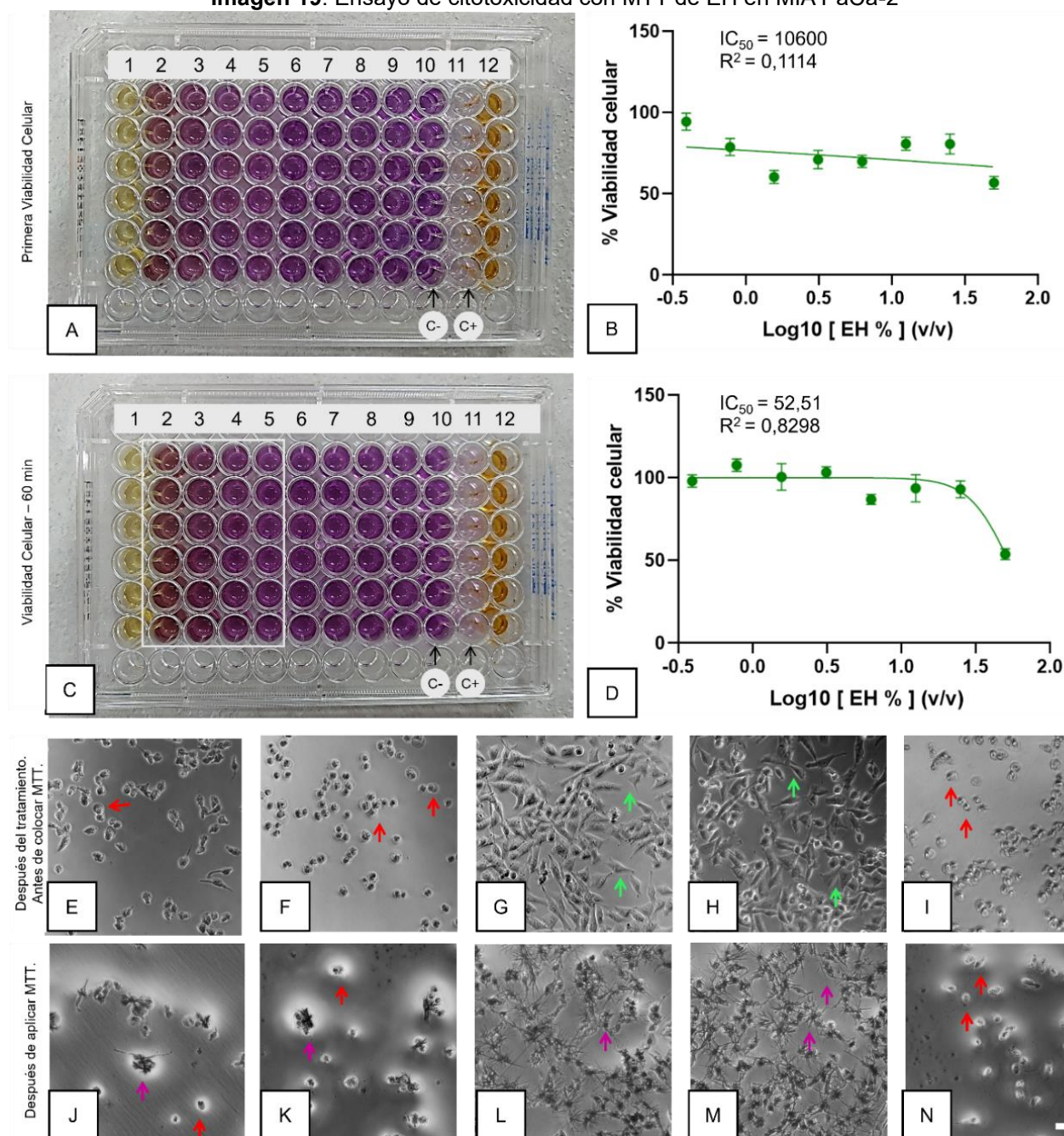
Fuente: autoría propia, 2023.

4.1.2 Ensayos de citotoxicidad celular para EH

Los ensayos de citotoxicidad con MTT para el EH en los linajes celulares MIA PaCa-2 (Imagen 19), MRC-5 (Imagen 20) y HBMEC (Imagen 21) resultaron en los datos que cuantifican la VC, junto con el valor de IC₅₀. Además, se añaden fotografías de microscopio invertido como evidencia visual de los datos.

Como se puede ver en las imágenes de citotoxicidad, los datos de la ABS se estabilizan con el tiempo, relacionándose con las imágenes de microscopia obtenidas. Por ello los datos de IC₅₀, que se tuvieron en cuenta en esta investigación son los obtenidos de la ABS medida a los 60 min, basados en la metodología de Blumenthal, (2005). Por ello el IC₅₀ del EH de las hojas secas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv. para MIA PaCa-2 es 52,51 % (v/v), para MRC-5 es 41,66 % (v/v) y para HBMEC es ~50,16 % (v/v).

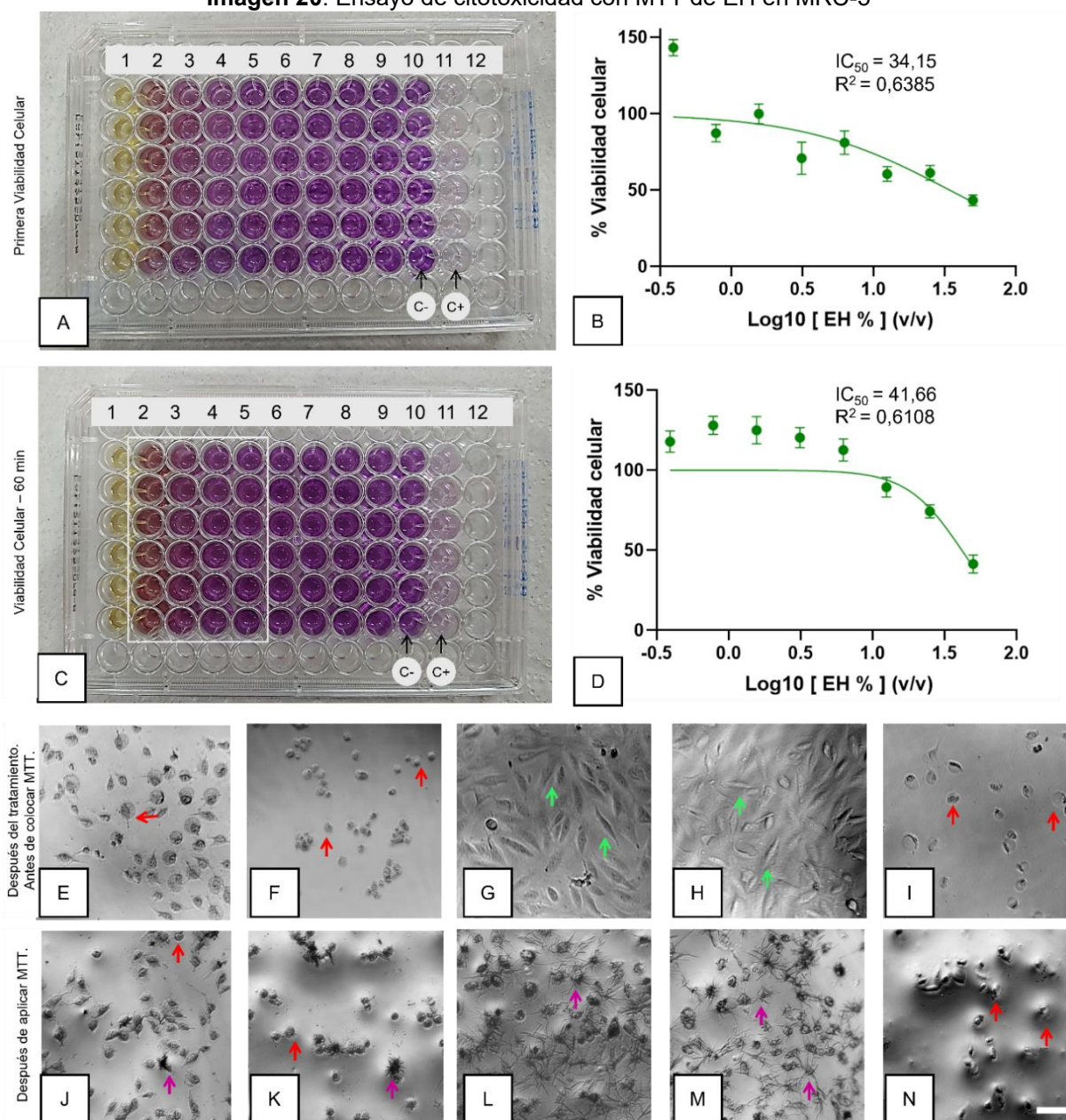
Imagen 19. Ensayo de citotoxicidad con MTT de EH en MIA PaCa-2



Nota: las placas de 96 pozos de A y C muestran el mismo experimento, con la marcación de las columnas (col.), la col. 1 es el test de color sin MTT, col. 2 a 9 son tratamientos que va en orden decreciente de izquierda a derecha, col. 10 es el control negativo, col. 11 es el control positivo y col. 12 es un control con 50 % de EH en DMSO. A. Placa después de la dilución con DMSO y B es su curva de VC de la ABS \pm DP (n=6) y el IC_{50} . C. Placa a la hora de la dilución con DMSO, revelando variaciones de color notorias en el recuadro delineado y D es su curva de VC de la ABS \pm DP (n=6) y el IC_{50} . B y D fueron creados en *GraphPad Prism 8.0.2*. E, F, G, H, I, J, K, L, M y N (Nikon Eclipse Ti-S), aumento 10x; línea blanca indica escala de 500 μ m, editadas en ImageJ. Las flechas rojas marcan el redondeamiento o muerte celular; las flechas verdes indican la morfología de las células vivas y las flechas lilas indican los cristales de formazán. E y J, pozos de la concentración de EH 50 % (v/v). F y K, concentración de EH 12,25 % (v/v). G, y L, son de la concentración de EH 0,391 % (v/v). H y M, son fotos del control negativo, con DMEMc. I y N son del control positivo, con 20 % de DMSO (v/v).

Fuente: autoría propia, 2024.

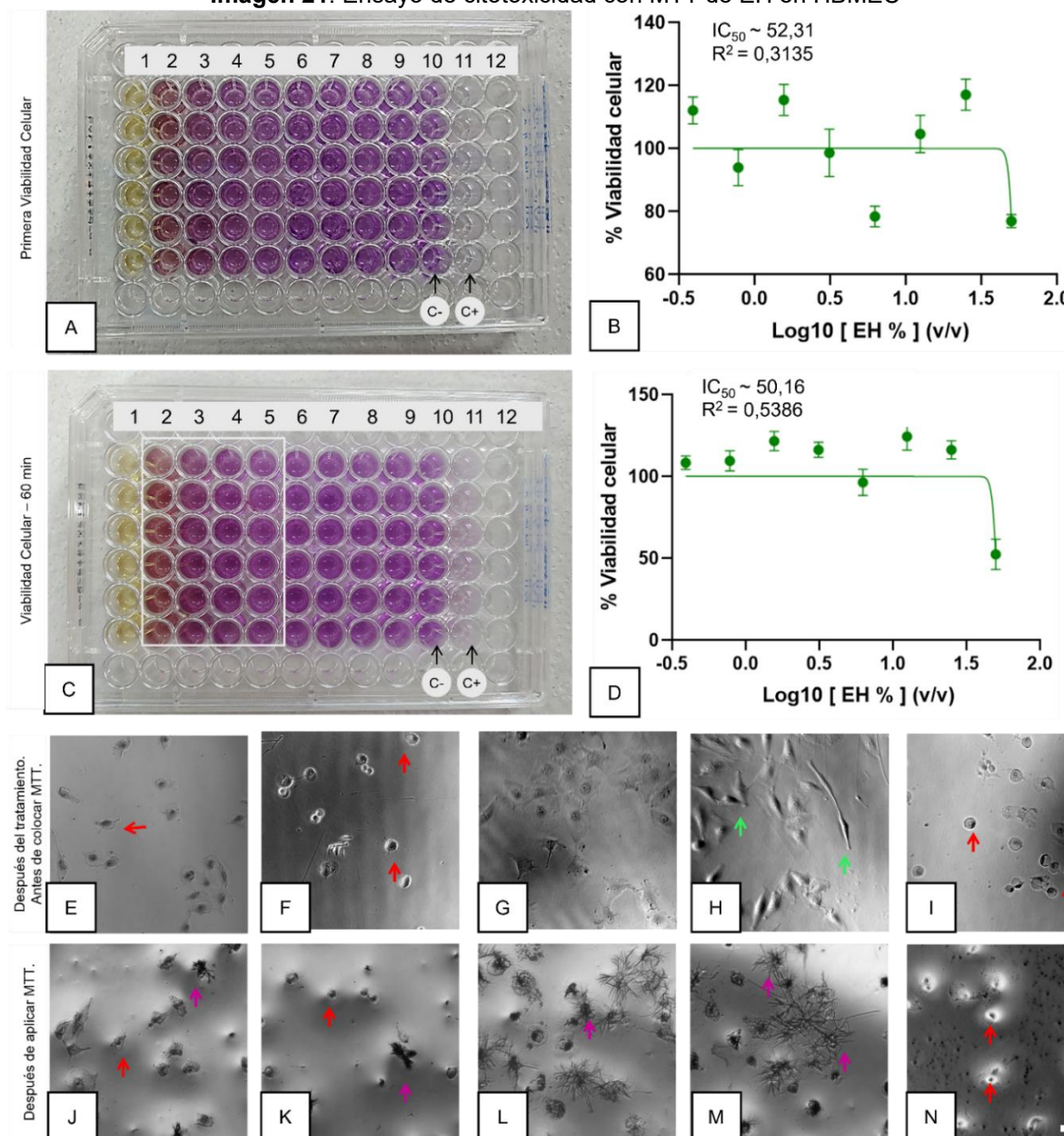
Imagen 20. Ensayo de citotoxicidad con MTT de EH en MRC-5



Nota: las placas de 96 pozos de A y C muestran el mismo experimento, con la marcación de las columnas (col.), la col. 1 es la prueba de color sin MTT, col. 2 a 9 tratamiento que va en orden decreciente de izquierda a derecha, col. 10 es el control negativo, col. 11 es el control positivo y col. 12 es un control con 50 % de EH en DMSO. A. Placa después de la dilución con DMSO y B es su curva de VC de la ABS \pm DP (n=6) y el IC_{50} . C. Placa a la hora de la dilución con DMSO, revelando variaciones de color notorias en el recuadro delineado y D es su curva de VC de la ABS \pm DP (n=6) y el IC_{50} . B y D Creado en *GraphPad Prism 8.0.2*. E, F, G, H, I, J, K, L, M y N (Nikon Eclipse Ti-S), aumento 10x, línea blanca indica escala de 500 μ m, editadas en ImageJ. Las flechas rojas marcan el redondeamiento o muerte celular; las flechas verdes indican la morfología de las células vivas y las flechas lilas indican los cristales de formazán. E y J, pozos de la concentración de EH 50 % (v/v). F y K, concentración de EH 12,25 % (v/v). G, y L, son de la concentración de EH 0,391 % (v/v). H y M, son fotos del control negativo, con DMEMc. I y N son del control positivo, con 20 % de DMSO (v/v).

Fuente: autoría propia, 2024.

Imagen 21. Ensayo de citotoxicidad con MTT de EH en HBMEC



Nota: las placas de 96 pozos de A y C muestran el mismo experimento, con la marcación de las columnas (col.), la col. 1 test de color sin MTT, col. 2 a 9 tratamiento que va en orden decreciente de izquierda a derecha, col. 10 es el control negativo, col. 11 es el control positivo y col. 12 es un control con 50 % de EH en DMSO. A. Placa después de la dilución con DMSO y B es su curva de VC de la ABS \pm DP (n=6) y el IC_{50} . C. Placa a la hora de la dilución con DMSO, revelando variaciones de color notorias en el recuadro delineado y D es su curva de VC de la ABS \pm DP (n=6) y el IC_{50} . B y D Creado en *GraphPad Prism 8.0.2*. E, F, G, H, I, J, K, L, M y N (Nikon Eclipse Ti-S), aumento 10x, línea blanca indica escala de 500 μ m, editadas en ImageJ. Las flechas rojas marcan el redondeamiento o muerte celular; las flechas verdes indican la morfología de las células vivas y las flechas lilas indican los cristales de formazán. E y J, pozos de la concentración de EH 50 % (v/v). F y K, concentración de EH 12,25 % (v/v). G, y L, son de la concentración de EH 0,391 % (v/v). H y M, son fotos del control negativo, con DMEMc. I y N son del control positivo, con 20 % de DMSO (v/v).

Fuente: autoría propia, 2024.

4.1.3 Evaluación del citoesqueleto y núcleo, aplicando EH

Para evaluar el efecto de EH en las células, en el núcleo y en el citoesqueleto, se usaron los marcadores DAPI y faloidina, respectivamente. Los resultados visuales de los experimentos se muestran en las imágenes 22, 23 y 24/25, que corresponden a los linajes celulares MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC.

Las imágenes 22, 23, 24 y 25 de fluorescencia en células tratadas con EH muestran una menor cantidad de células en división y un mayor desprendimiento celular, acompañado de variaciones en la forma del citoplasma. Esto interrumpe la uniformidad de la red celular y crea agrupamientos de células redondas, diferentes al control. Este fenómeno se presentó en los tres linajes celulares: MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC, aunque fue más notorio en MIA PaCa-2.

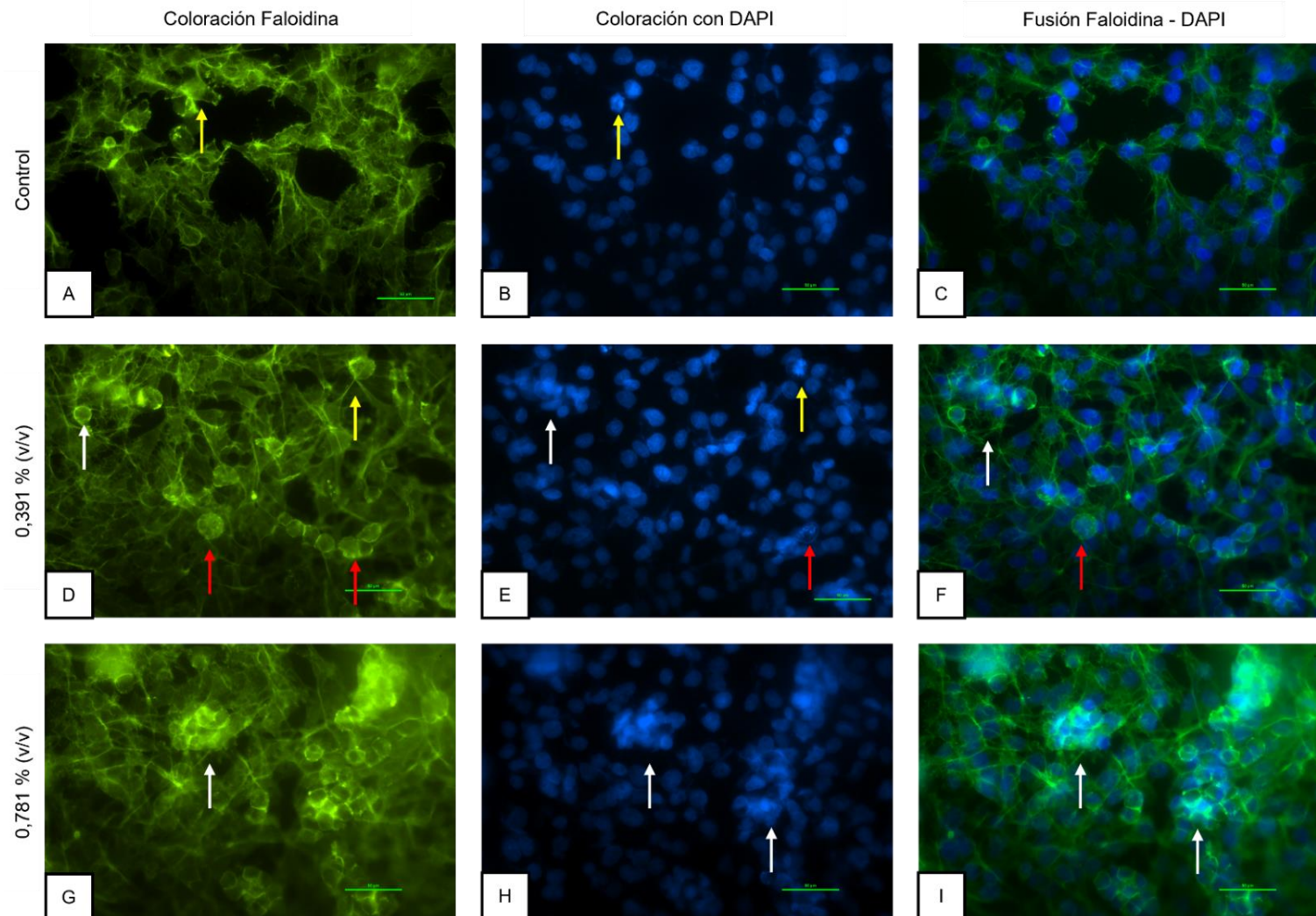
Los resultados cuantitativos del número de células, tamaño y proporción de núcleos grandes y pequeños se encuentran en las imágenes, 26, 27 y 28/29, que corresponden a los linajes celulares MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC tratados con EH.

Debido a la variabilidad de los resultados, que no muestran una relación lineal entre el número celular y las concentraciones, se puede decir que 0,391 % y 0,781 % (v/v) de EH para MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC no afecta el número, área nuclear y la proporción de células grandes y pequeñas, de forma significativa.

La imagen 28 muestra que existe una relación inversamente proporcional entre la concentración de EH y el número de células representadas por los núcleos, así como el tamaño en HBMEC. Siendo que a mayor concentración de EH, hay menos células que son de menor tamaño; esta relación es clara y significativa al compararse con el control. En HBMEC, EH reduce el número celular en un 38,62 % y 42,10 %; el tamaño se redujo en 10,10 % y 58,94 % para las C1 y C2 respectivamente, en comparación con el control.

La relación de la proporción de núcleos grandes y pequeños es variable, por tanto, no significativa. En cuanto a la dispersión de los núcleos grandes y pequeños, se observa que los datos son similares, por lo que pueden ser comparados. En el CT los datos se encuentran más concentrados que los de C1 y C2, que muestran mayor variabilidad que el control.

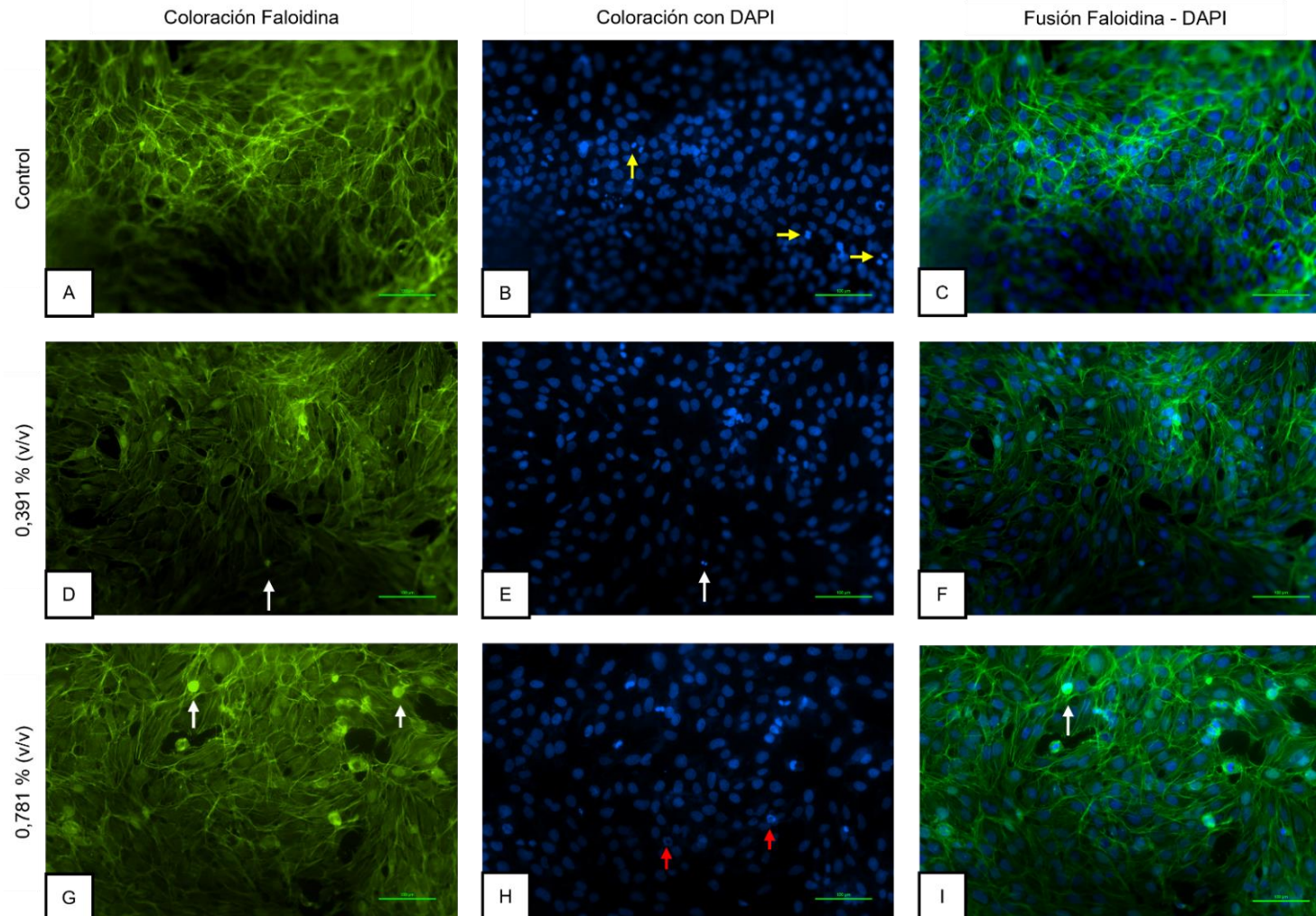
Imagen 22. Análisis morfológico del núcleo y citoesqueleto de las células MIA PaCa-2 tratado con EH



Nota: las Imágenes de fluorescencia se obtuvieron del microscopio Nikon Eclipse Ni-U, H550L, a escala 50 μm . A, B, C. Células control cultivadas solo con DMEMc. D, E, F. Células tratadas con 0,391 % (v/v) de EH. G, H, I. Células tratadas con 0,781 % (v/v) de EH. Las flechas blancas indican el desprendimiento y agrupamiento celular; las amarillas, división celular; y las rojas, deformaciones celulares.

Fuente: autoría propia, 2024.

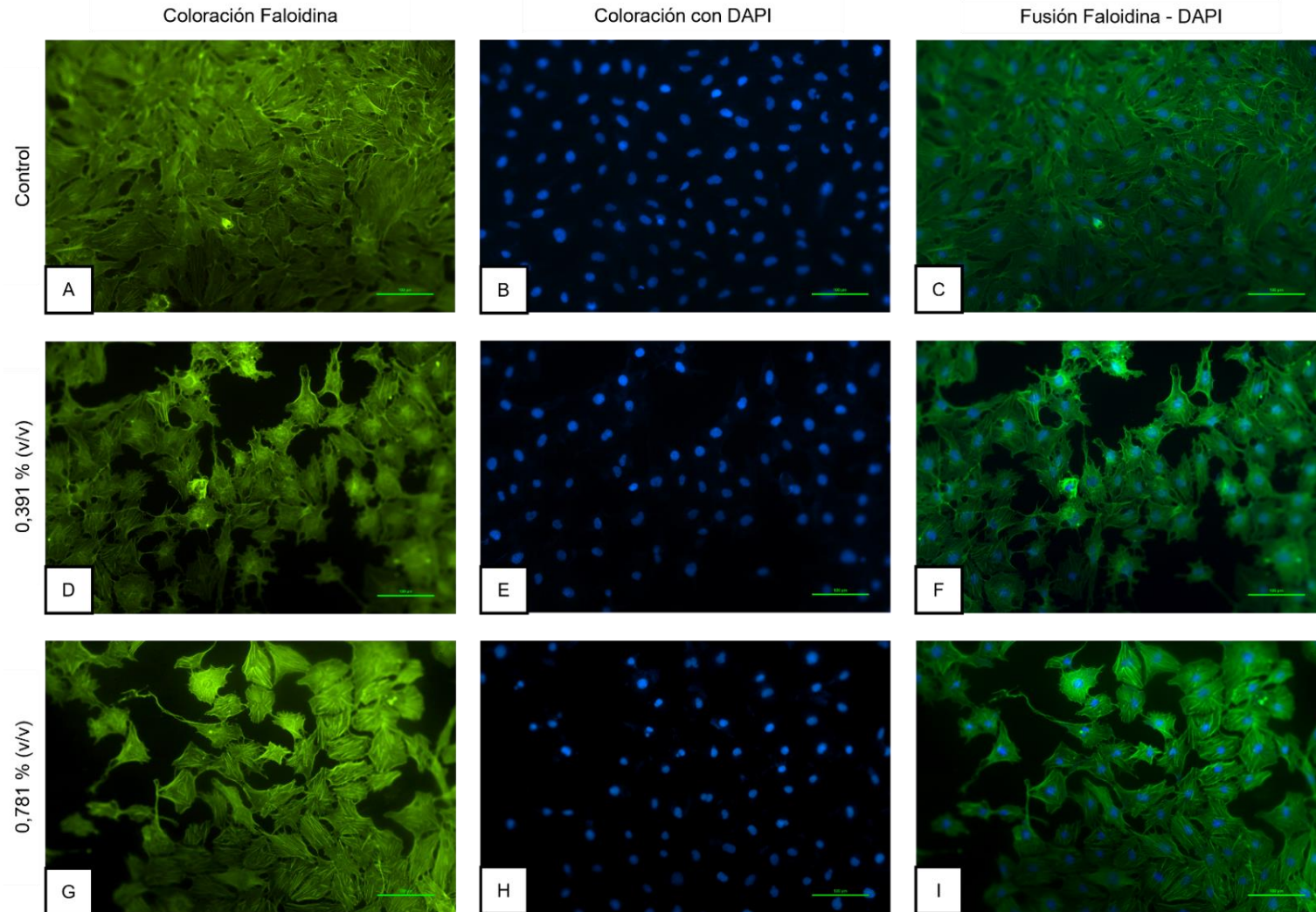
Imagen 23. Análisis morfológico del núcleo y citoesqueleto de las células MRC-5 tratado con EH



Nota: las Imágenes de fluorescencia se obtuvieron del microscopio Nikon Eclipse Ni-U, H550L, a escala 100 μm . A, B, C. Células control cultivadas solo con DMEMc. D, E, F. Células tratadas con 0,391 % (v/v) de EH. G, H, I. Células tratadas con 0,781 % (v/v) de EH. Las flechas blancas indican el desprendimiento celular; las amarillas, división celular; y las rojas, deformaciones celulares.

Fuente: autoría propia, 2024.

Imagen 24. Análisis morfológico del núcleo y citoesqueleto de las células HBMEC tratado con EH



Nota: las Imágenes de fluorescencia se obtuvieron del microscopio Nikon Eclipse Ni-U, H550L, a escala 100 μm . A, B, C. Células control cultivadas solo con DMEMc. D, E, F. Células tratadas con 0,391 % (v/v) de EH. G, H, I. Células tratadas con 0,781 % (v/v) de EH.

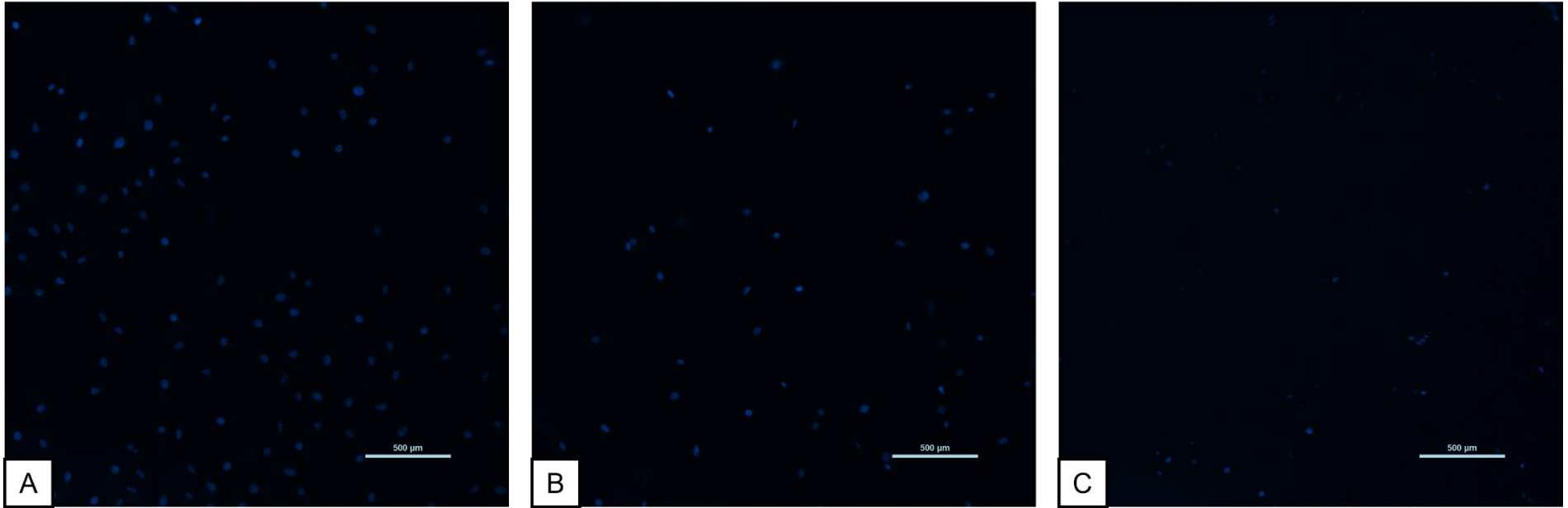
Fuente: autoría propia, 2024.

Imagen 25. Núcleos de las células HBMEC tratado con EH y con coloración DAPI

Control

0,391 % (v/v)

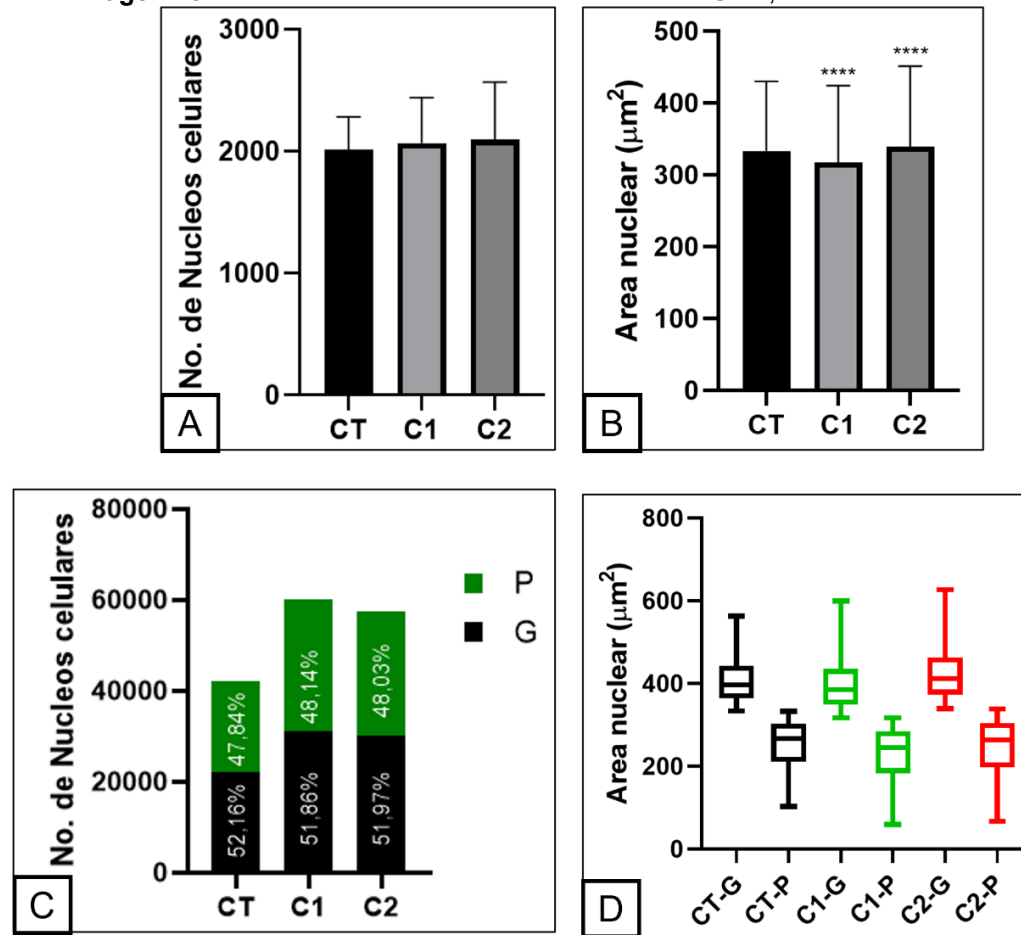
50,0 % (v/v)



Nota: Las Imágenes de fluorescencia se obtuvieron con DAPI en el microscopio Nikon Eclipse Ni-U, H550L, a escala 500 μm.

Fuente: autoría propia, 2024.

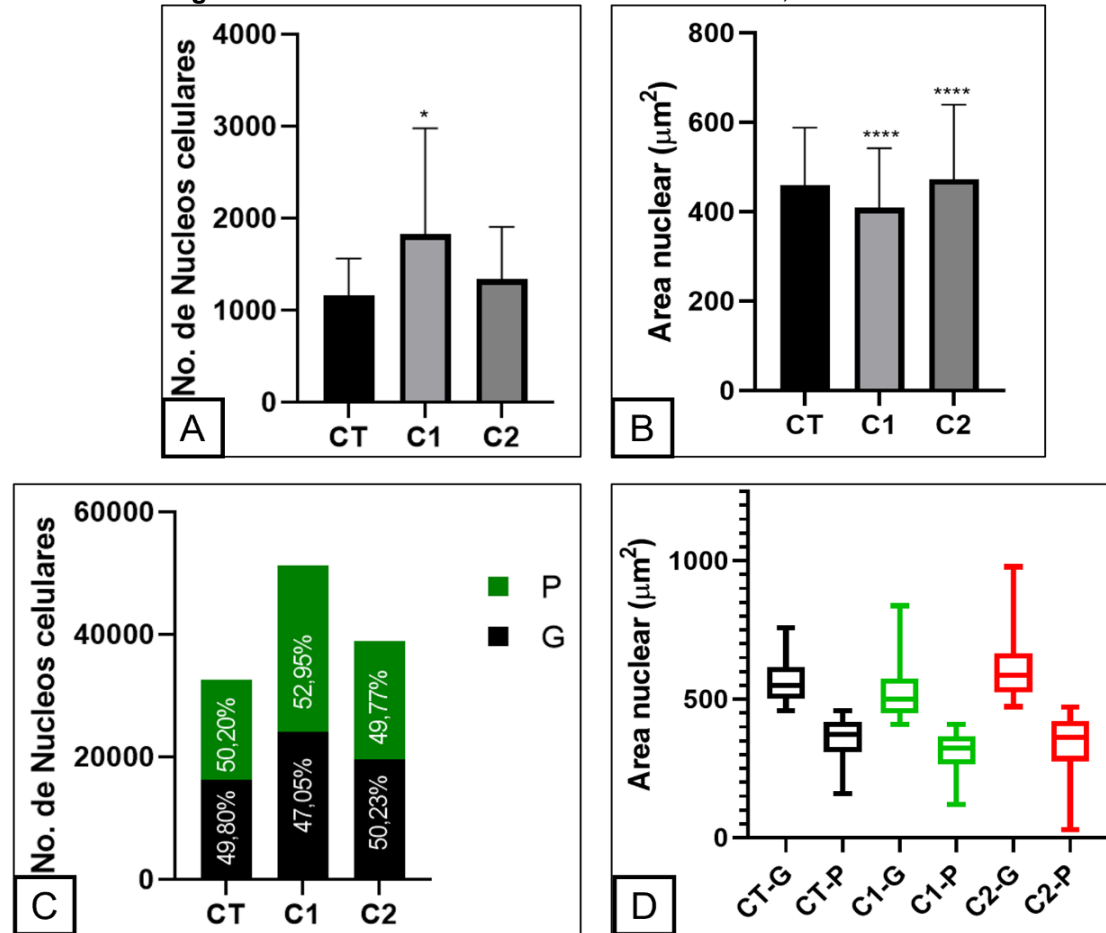
Imagen 26. Análisis estadístico de núcleos de MIA PaCa-2, tratados con EH



Nota: CT – Control; C1 – Concentración uno 0,391 % (v/v); C2 – Concentración dos 0,781 % (v/v); P – núcleos pequeños y G – núcleos grandes. A. Número de núcleos contados en cada foto; los datos se muestran como media y barras de DP (n=4). B. Área de los núcleos contados en μm^2 ; los datos se muestran como media y barras de DP (n=4) y **** $p < 0,0001$ en comparación con el control. C. Porcentaje de G y P del total contados. Los G y P se definieron estableciendo la media del tamaño celular; los núcleos superiores a la media se denominaron G y los inferiores a la media, P. D. Dispersión de G y P: representa la distribución de los datos de G y P, según el parámetro de C.

Fuente: autoría propia, 2024.

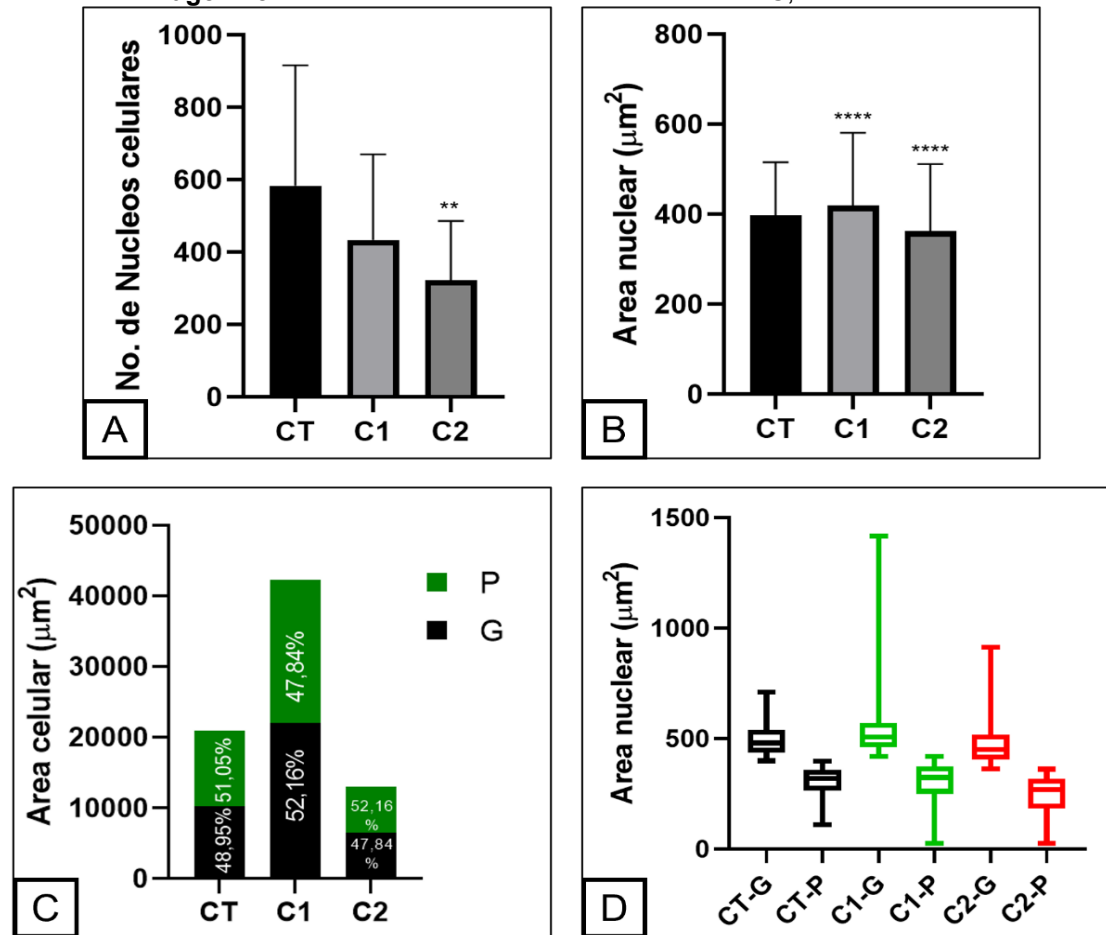
Imagen 27. Análisis estadístico de núcleos de MRC-5, tratados con EH



Nota: CT – Control; C1 0,391 % (v/v); C2 0,781 % (v/v); P– núcleos pequeños y G – núcleos grandes. A. Número de núcleos contados en cada foto; los datos se muestran como media, barras de DP (n=4) y * $p < 0,0182$ en comparación con el control. B. Área de los núcleos contados en μm^2 , los datos se muestran como media, barras de DP (n=4) y **** $p < 0,0001$ en comparación con el control. C. Porcentaje de G y P del total contados. Los G y P se definieron estableciendo la media del tamaño celular; los núcleos superiores a la media se denominaron G y los inferiores a la media, P. D. Dispersión de G y P: representa la distribución de los datos de G y P, según el parámetro de C.

Fuente: autoría propia, 2024.

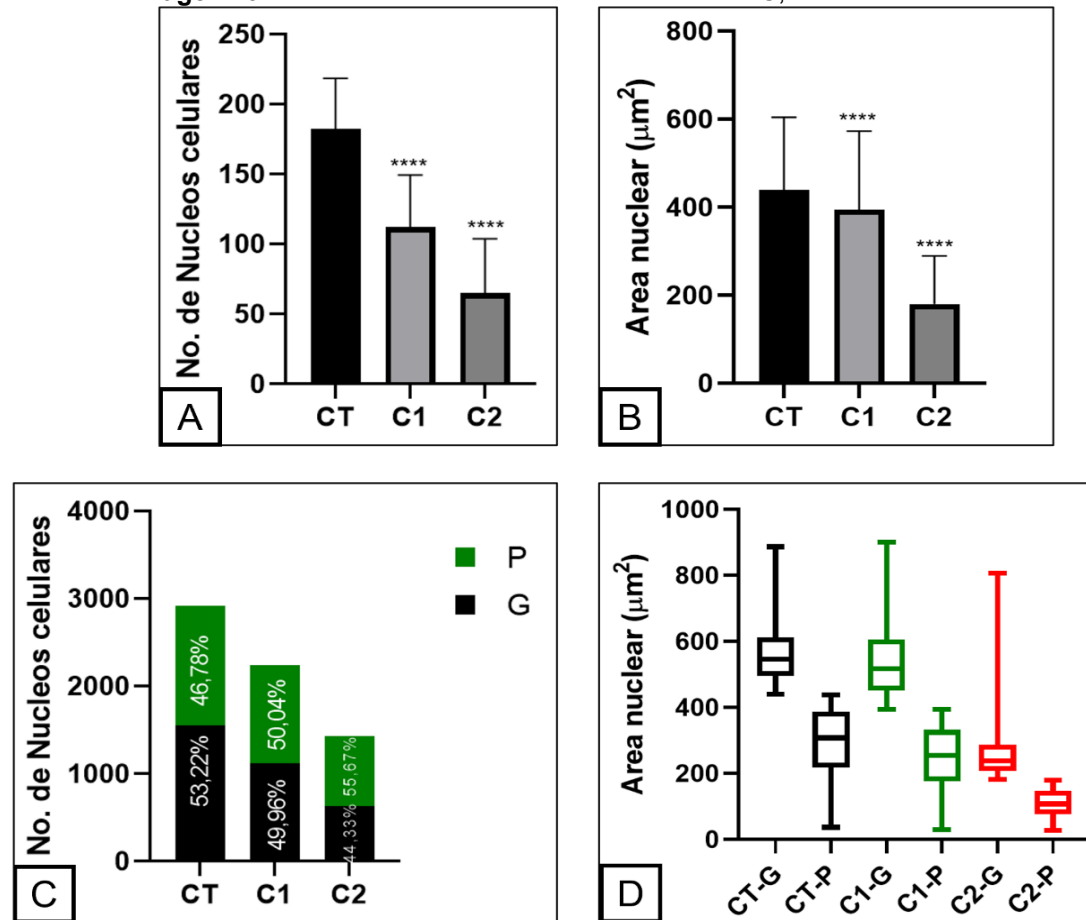
Imagen 28. Análisis estadístico de núcleos de HBMEC, tratados con EH



Nota: CT – Control; C1 – Concentración uno 0,391 % (v/v); C2 – Concentración dos 0,781 % (v/v); P – núcleos pequeños y G – núcleos grandes. A. Número de núcleos contados en cada foto; los datos se muestran como media, barras de DP (n=4) y ** $p < 0,0041$ en comparación con el control. B. Área de los núcleos contados en μm^2 ; los datos se muestran como media, barras de DP (n=4) y **** $p < 0,0001$ en comparación con el control. C. Porcentaje de G y P del total contados. Los G y P se definieron estableciendo la media del tamaño celular; los núcleos superiores a la media se denominaron G y los inferiores a la media, P. D. Dispersión de G y P: representa la distribución de los datos de G y P, según el parámetro de C.

Fuente: autoría propia, 2024.

Imagen 29. Análisis estadístico de núcleos de HBMEC, tratados con EH



Nota: CT – Control; C1 – Concentración uno 0,391 % (v/v); C2 – Concentración dos 50,0 % (v/v); P – núcleos pequeños y G – núcleos grandes. A. Número de núcleos contados en cada foto; los datos se muestran como media y barras de DP (n=4). B. Área de los núcleos contados en μm^2 , los datos se muestran como media, barras de DP (n=4) y **** $p < 0,0001$ en comparación con el control. C. Porcentaje de G y P del total contados. Los G y P se definieron estableciendo la media del tamaño celular; los núcleos superiores a la media se denominaron G y los inferiores a la media, P. D. Dispersión de G y P: representa la distribución de los datos de G y P, según el parámetro de C.

Fuente: autoría propia, 2024.

4.2 Fracción lipídica de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv

A lo largo del proceso de extracción de la fracción lipídica por el cual pasaron las hojas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv., se obtuvo la tabla 7, que resume los datos conseguidos. En ella se muestra el rendimiento de la extracción, considerando la diferencia del peso inicial menos el peso final, todo dividido por el peso inicial.

Tabla 7. Rendimiento de la extracción de FL de la muestra

Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Rendimiento	% Rendimiento
13,6015 ± 0,0005	0,5211 ± 0,0745	0,0383 ± 0,0055	3,83 ± 0,55

Nota: el rendimiento de la extracción es la masa que quedó de la extracción entre el peso inicial. Los datos son presentados como media ± DP (n=3).

Fuente: autoría propia, 2023.

4.2.1 Perfil de ácidos grasos

La tabla 8 presenta los datos de los ácidos grasos mayoritarios en cuantificación en mg g⁻¹ de muestra y área relativa (%). El cromatograma con la detección de cada ácido graso se encuentra en el Apéndice A.

Tabla 8. Ácidos grasos detectados en las hojas secas de *A. ficoidea* (L.) P. Beauv

AG	mg g ⁻¹ de muestra	% de Area relativa
C16:0	1,34 ± 0,24	22,86 ± 0,01
C18:1n-9c	0,06 ± 0,02	1,10 ± 0,15
C18:2n6	1,18 ± 0,18	19,17 ± 1,84
C18:3n-3	3,16 ± 0,56	56,71 ± 5,36

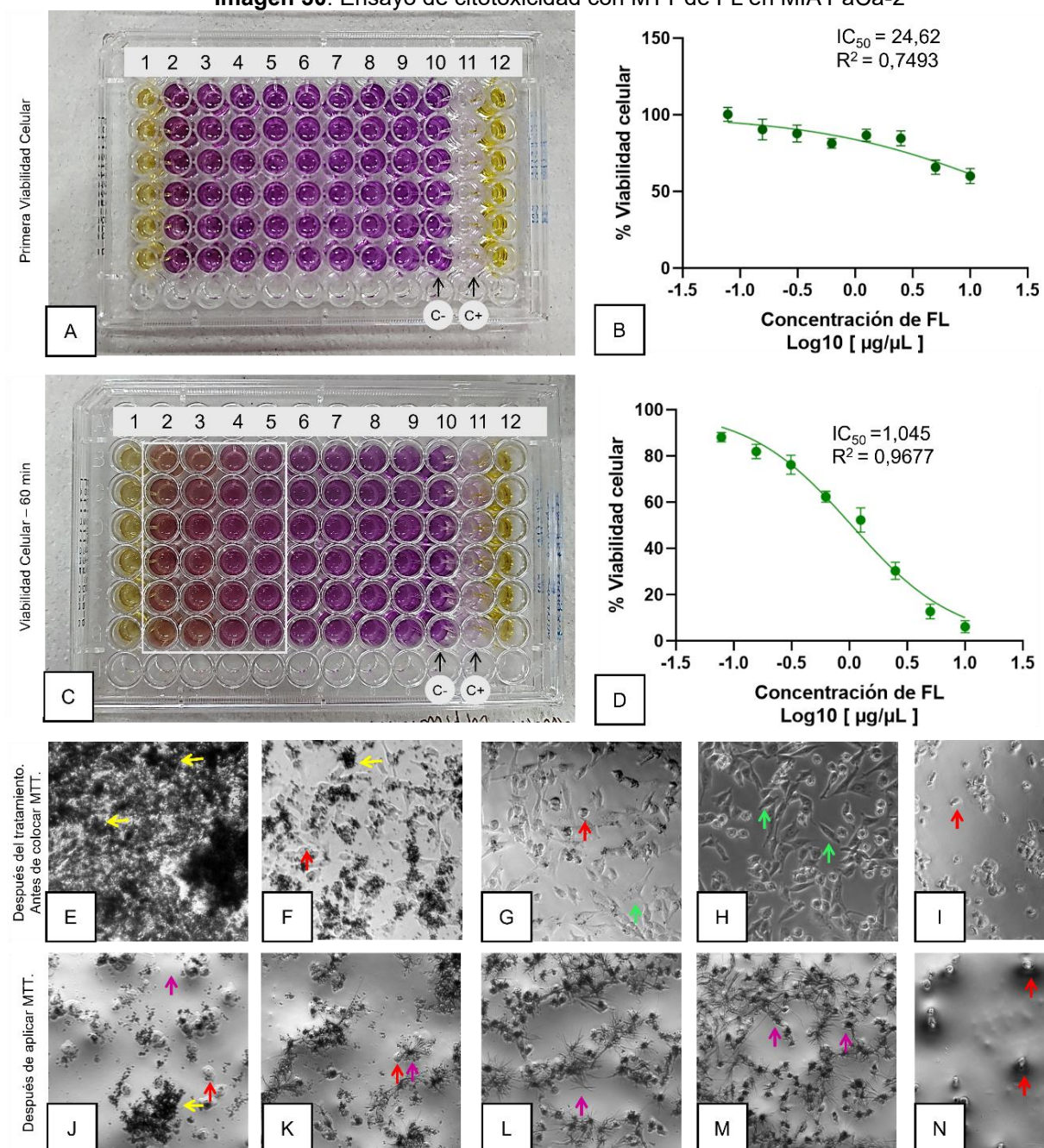
Nota: la abreviación de los AG corresponde a C16:0, ácido oleico o ácido palmítico; C18:1n-9c, ácido oleico; C18:2n6, ácido linoleico; C18:3n-3, ácido alfa linolénico. Los datos son presentados como media ± DP (n=3).

Fuente: autoría propia, 2024.

4.2.2 Ensayo de citotoxicidad celular para FL

Los ensayos de citotoxicidad con MTT para la FL en los linajes celulares MIA PaCa-2 (Imagen 30), MRC-5 (Imagen 31) y HBMEC (Imagen 32), resultaron en los datos que cuantifican la VC, junto con el valor de IC₅₀. Además, se añadieron fotografías de microscopio invertido como evidencia visual de los datos.

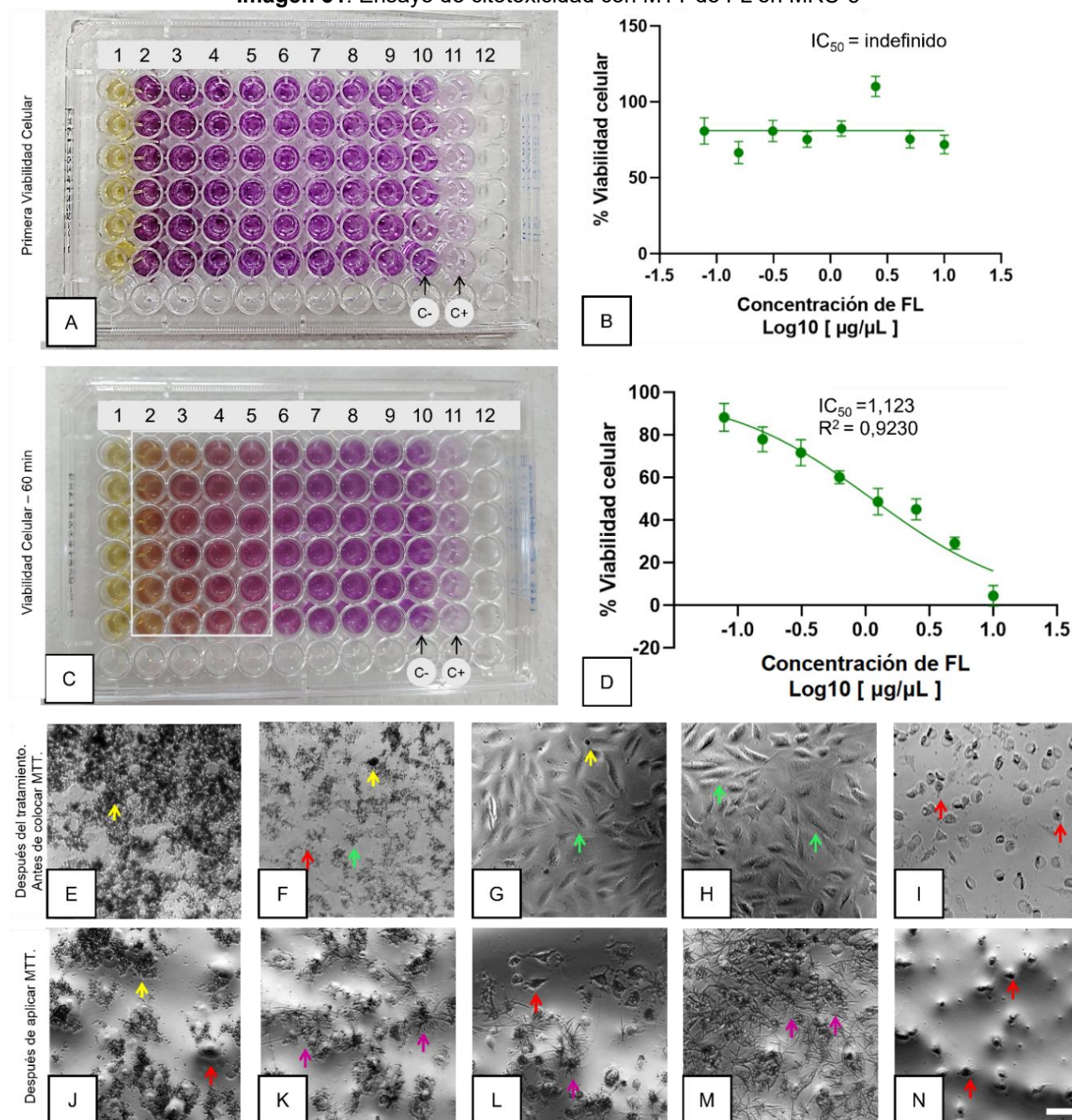
Imagen 30. Ensayo de citotoxicidad con MTT de FL en MIA PaCa-2



Nota: las placas de 96 pozos de A y C muestran el mismo experimento, con la marcación de las columnas (col.), la col. 1 test de color sin MTT, col. 2 a 9 tratamiento que va en orden decreciente de izquierda a derecha, col. 10 es el control negativo, col. 11 es el control positivo y col. 12 es un control con 50 % de EH en DMSO. A. Placa después de la dilución con DMSO y B es su curva de VC de la ABS \pm DP (n=6) y el IC_{50} . C. Placa a la hora de la dilución con DMSO, revelando variaciones de color notorias en el recuadro delineado y D es su curva de VC de la ABS \pm DP (n=6) y el IC_{50} . B y D Creado en *GraphPad Prism 8.0.2*. E, F, G, H, I, J, K, L, M y N (Nikon Eclipse Ti-S), aumento 10x, línea blanca indica escala de 500 μ m, editadas en ImageJ. Las flechas rojas marcan el redondeamiento o muerte celular; las flechas verdes indican la morfología de las células vivas, las flechas lilas indican los cristales de formazán y las flechas amarillas indican grumos formados por los FL. E y J, pozos de la concentración de EH 50 % (v/v). F y K, concentración de EH 12,25 % (v/v). G y L, son de la concentración de EH 0,391 % (v/v). H y M, son fotos del control negativo, con DMEMc. I y N son del control positivo, con 20 % de DMSO (v/v).

Fuente: autoría propia, 2024.

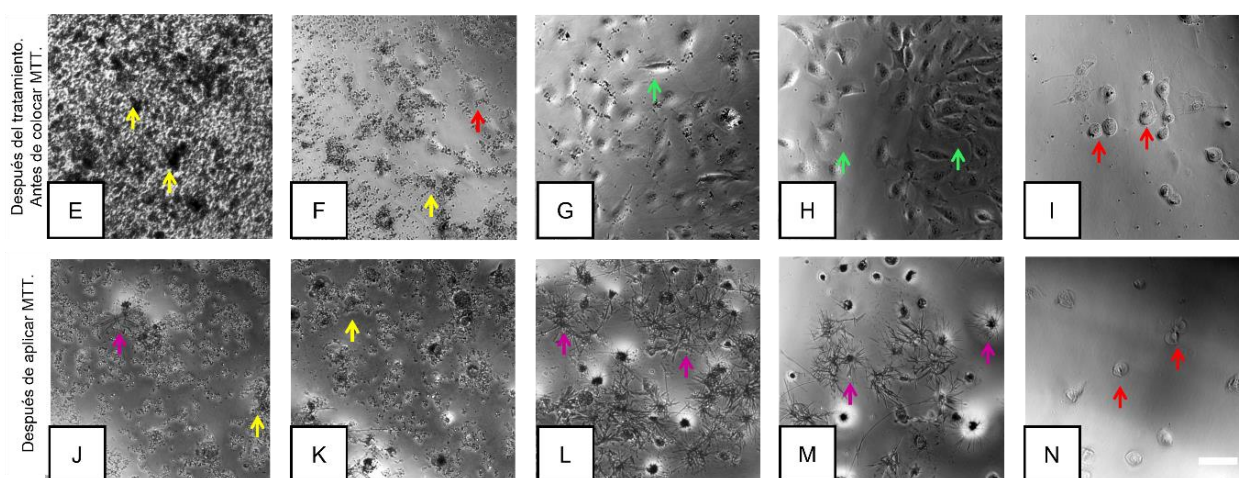
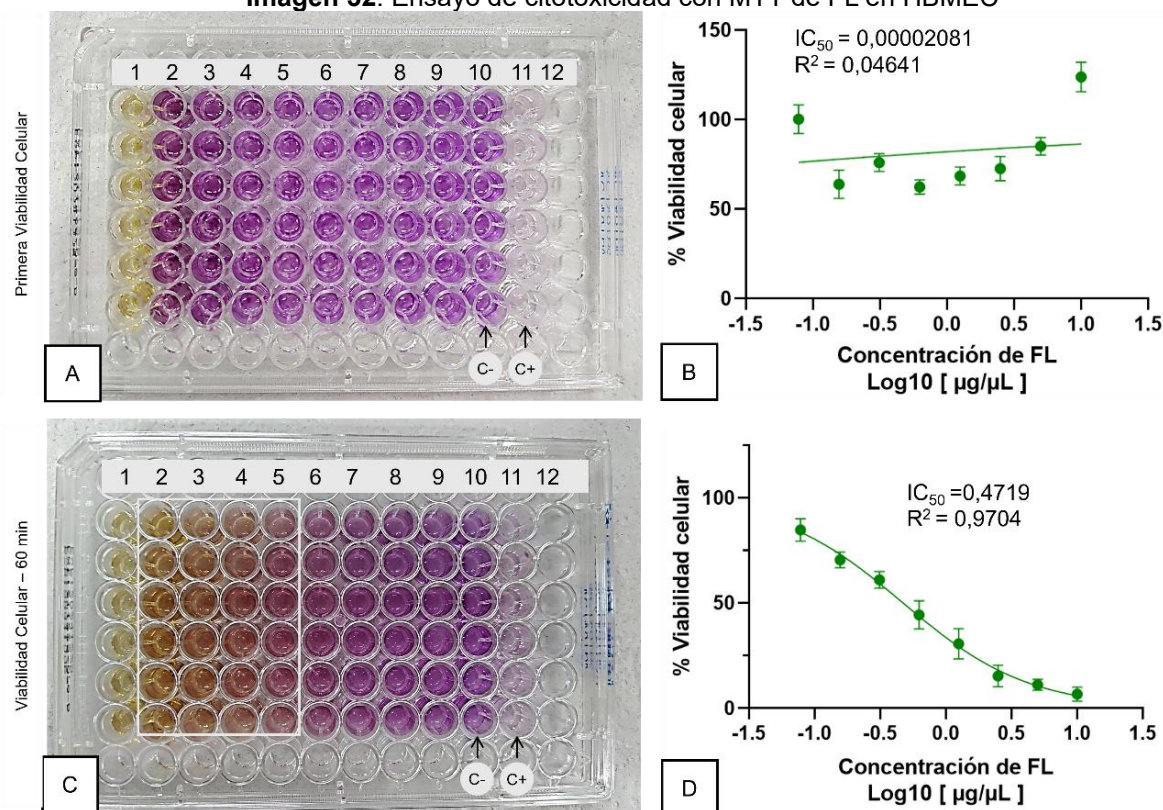
Imagen 31. Ensayo de citotoxicidad con MTT de FL en MRC-5



Nota: las placas de 96 pozos de A y C muestran el mismo experimento, con la marcación de las columnas (col.), la col. 1 teste de color sin MTT, col. 2 a 9 tratamiento que va en orden decreciente de izquierda a derecha, col. 10 es el control negativo, col. 11 es el control positivo y col. 12 es un control en DMSO. A. Placa después de la dilución con DMSO y B es su curva de VC de la ABS ± DP (n=6) y el IC_{50} . C. Placa a la hora de la dilución con DMSO, revelando variaciones de color notorias en el recuadro delineado y D es su curva de VC de la ABS ± DP (n=6) y el IC_{50} . B y D Creado en *GraphPad Prism 8.0.2*. E, F, G, H, I, J, K, L, M y N (Nikon Eclipse Ti-S), aumento 10x, línea blanca indica escala de 500 µm, editadas en ImageJ. Las flechas rojas marcan el redondeamiento o muerte celular; las flechas verdes indican la morfología de las células vivas, las flechas lilas indican los cristales de formazán y las flechas amarillas indican grumos formados por la FL. E y J, pozos de la concentración de EH 50 % (v/v). F y K, concentración de EH 12,25 % (v/v). G y L, son de la concentración de EH 0,391 % (v/v). H y M, son fotos del control negativo, con DMEMc. I y N son del control positivo, con 20 % de DMSO (v/v).

Fuente: autoría propia, 2024.

Imagen 32. Ensayo de citotoxicidad con MTT de FL en HBMEC



Nota: las placas de 96 pozos de A y C muestran el mismo experimento, con la marcación de las columnas (col.), la col. 1 test de color sin MTT, col. 2 a 9 tratamiento que va en orden decreciente de izquierda a derecha, col. 10 es el control negativo, col. 11 es el control positivo y col. 12 es un control con 50 % de EH en DMSO. A. Placa después de la dilución con DMSO y B es su curva de VC de la ABS \pm DP (n=6) y el IC_{50} . C. Placa a la hora de la dilución con DMSO, revelando variaciones de color notorias en el recuadro delineado y D es su curva de VC de la ABS \pm DP (n=6) y el IC_{50} . B y D Creado en *GraphPad Prism 8.0.2*. E, F, G, H, I, J, K, L, M y N (Nikon Eclipse Ti-S), aumento 10x, línea blanca indica escala de 500 μ m, editadas en ImageJ. Las flechas rojas marcan el redondeamiento o muerte celular; las flechas verdes indican la morfología de las células vivas, las flechas lilas indican los cristales de formazán y las flechas amarillas indican grumos formados por la FL. E y J, pozos de la concentración de EH 50 % (v/v). F y K, concentración de EH 12,25 % (v/v). G y L, son de la concentración de EH 0,391 % (v/v). H y M, son fotos del control negativo, con DMEMc. I y N son del control positivo, con 20 % de DMSO (v/v).

Fuente: autoría propia, 2024.

Como se puede ver en las imágenes de citotoxicidad, los datos de la ABS se estabilizan con el tiempo, relacionándose con las imágenes de microscopia obtenidas. Por ello, los datos de IC₅₀ que se tuvieron en cuenta en esta investigación son los obtenidos de la ABS medida a los 60 min. El IC₅₀ de la FL de las hojas de *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv. para MIA PaCa-2 es 1,045 µg µL⁻¹, para MRC-5 es 1,123 µg µL⁻¹ y para HBMEC es 0,142 µg µL⁻¹.

4.2.3 Evaluación del núcleo aplicando FL y DAPI

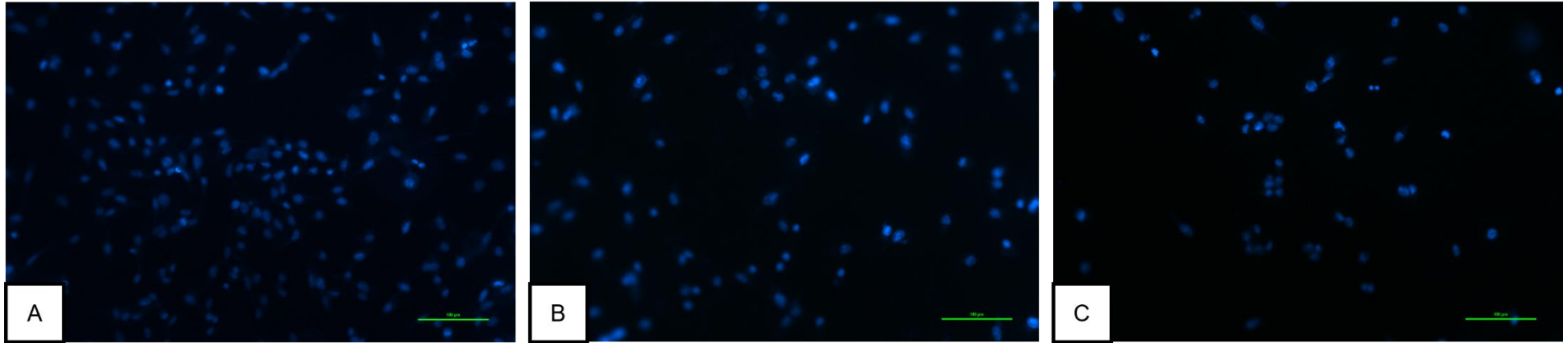
Para evaluar el efecto de la FL en las células, se usó el marcador DAPI en el núcleo. Los resultados visuales de los experimentos se muestran en las imágenes 33, 34 y 35, que corresponden a los linajes celulares MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC.

Las imágenes 33, 34 y 35 de fluorescencia en células tratadas con FL, muestran una menor cantidad de células en división, acompañadas de la variación en la forma del núcleo, que es más alargado, en comparación con el control. Este fenómeno se presentó en los tres linajes celulares: MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC.

Los resultados cuantitativos de número de células, tamaño y proporción de núcleos grandes y pequeños, se encuentra en las imágenes 36, 37 y 38, que corresponden a los linajes celulares MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC tratados con FL.

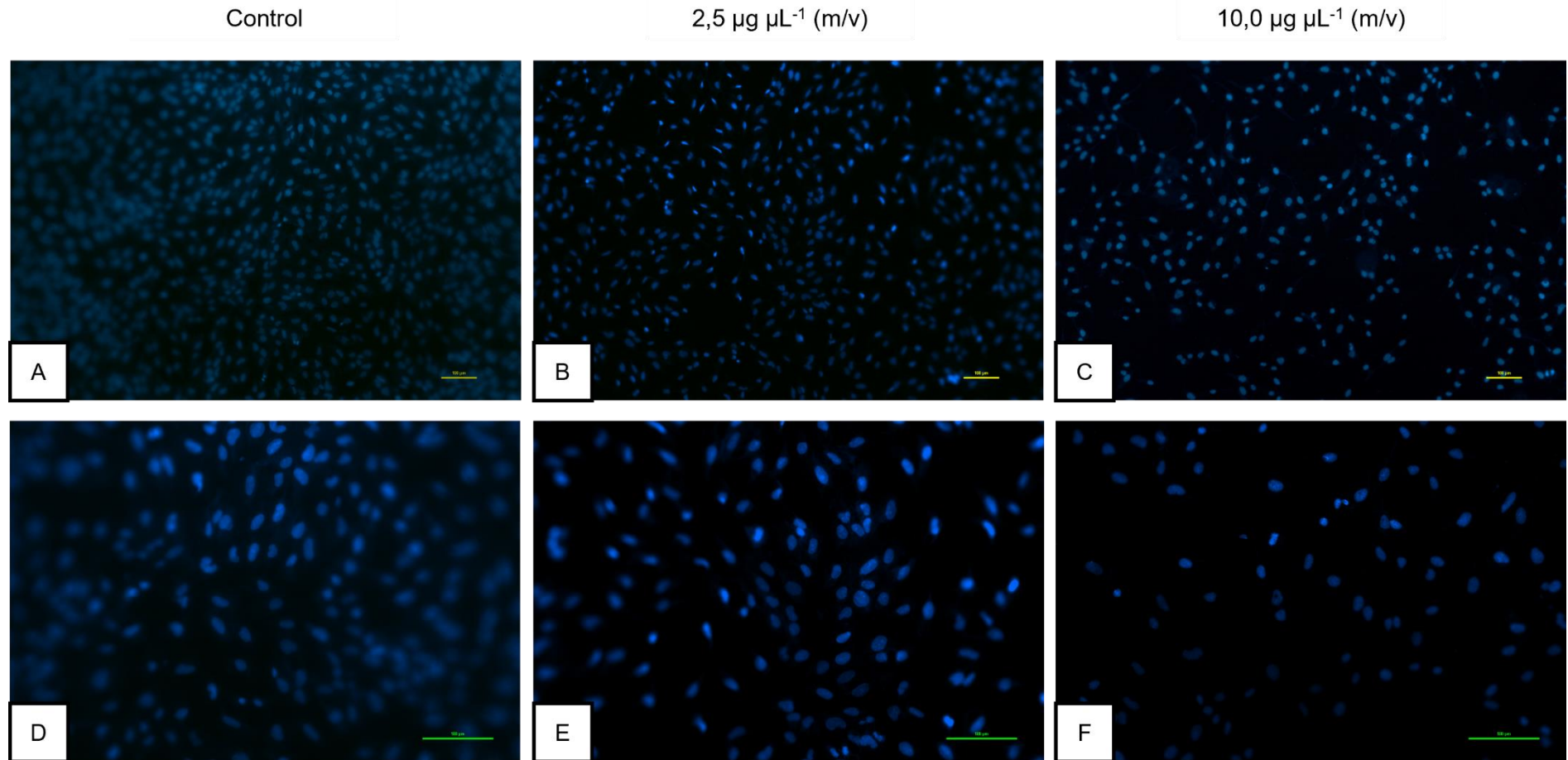
Imagen 33. Núcleos de las células MIA PaCa-2 tratados con FL y con coloración DAPI

Control

2,5 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ (m/v)10,0 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ (m/v)

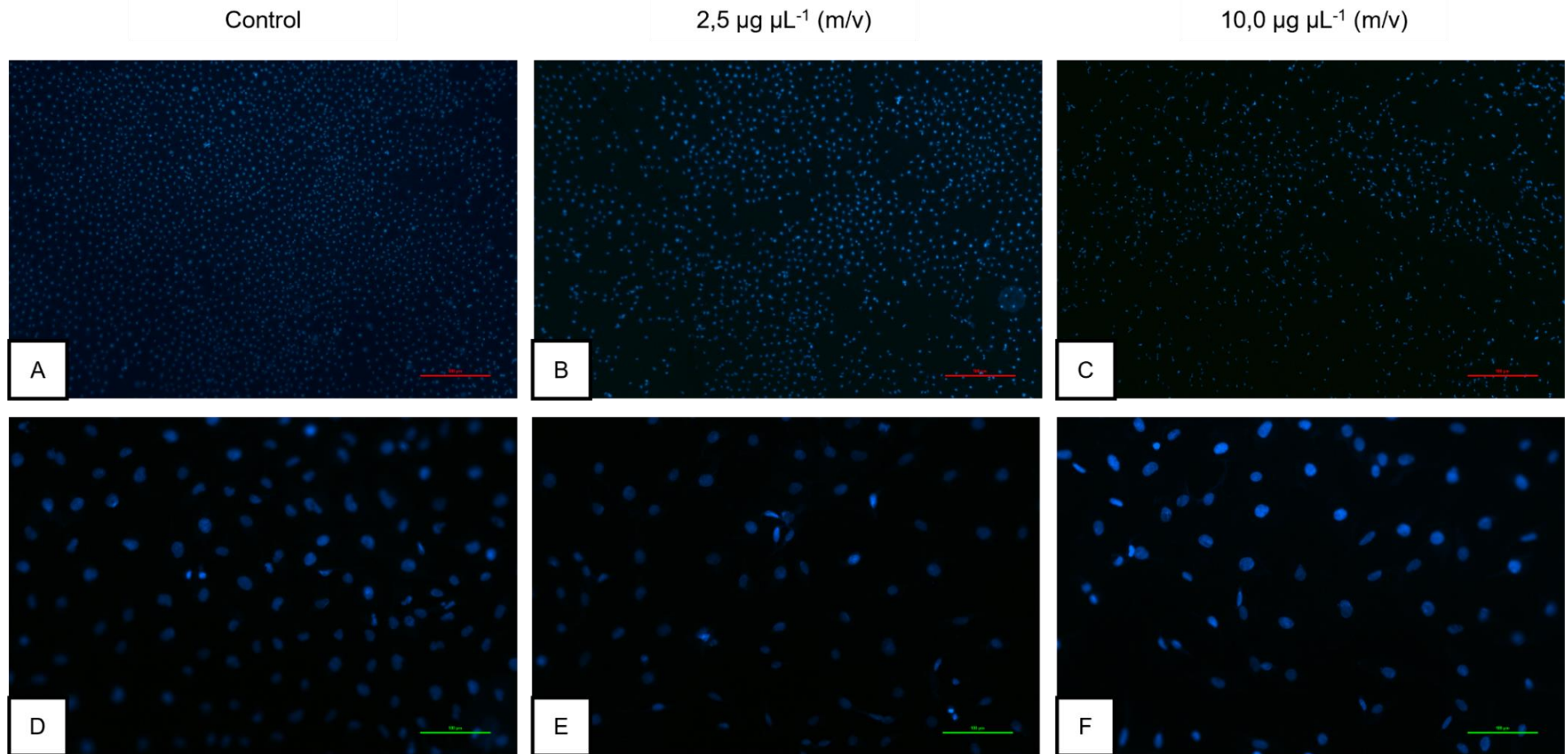
Nota: las imágenes de fluorescencia se obtuvieron del microscopio Nikon Eclipse Ni-U, H550L, a escala 100 μm .

Fuente: autoría propia, 2024.

Imagen 34. Núcleos de las células MRC-5 tratados con FL y con coloración DAPI

Nota: las imágenes de fluorescencia se obtuvieron del microscopio Nikon Eclipse Ni-U, H550L, a escala 100 μm .

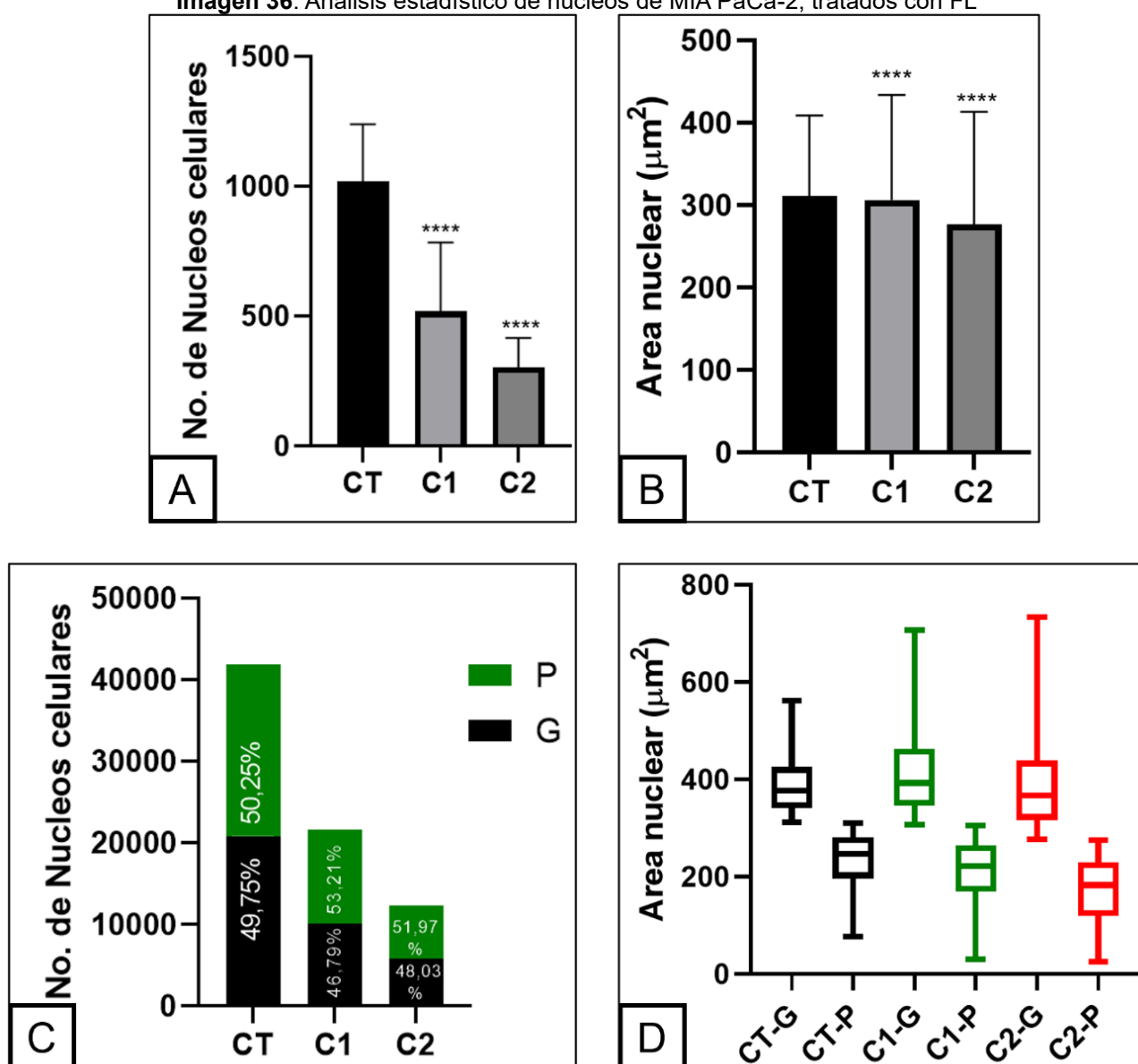
Fuente: autoría propia, 2024.

Imagen 35. Núcleos de las células HBMEC tratados con FL y con coloración DAPI

Nota: las imágenes de fluorescencia se obtuvieron del microscopio Nikon Eclipse Ni-U, H550L. A, B, C. Escala 500 μm . D, E, F. Escala 100 μm .

Fuente: autoría propia, 2024.

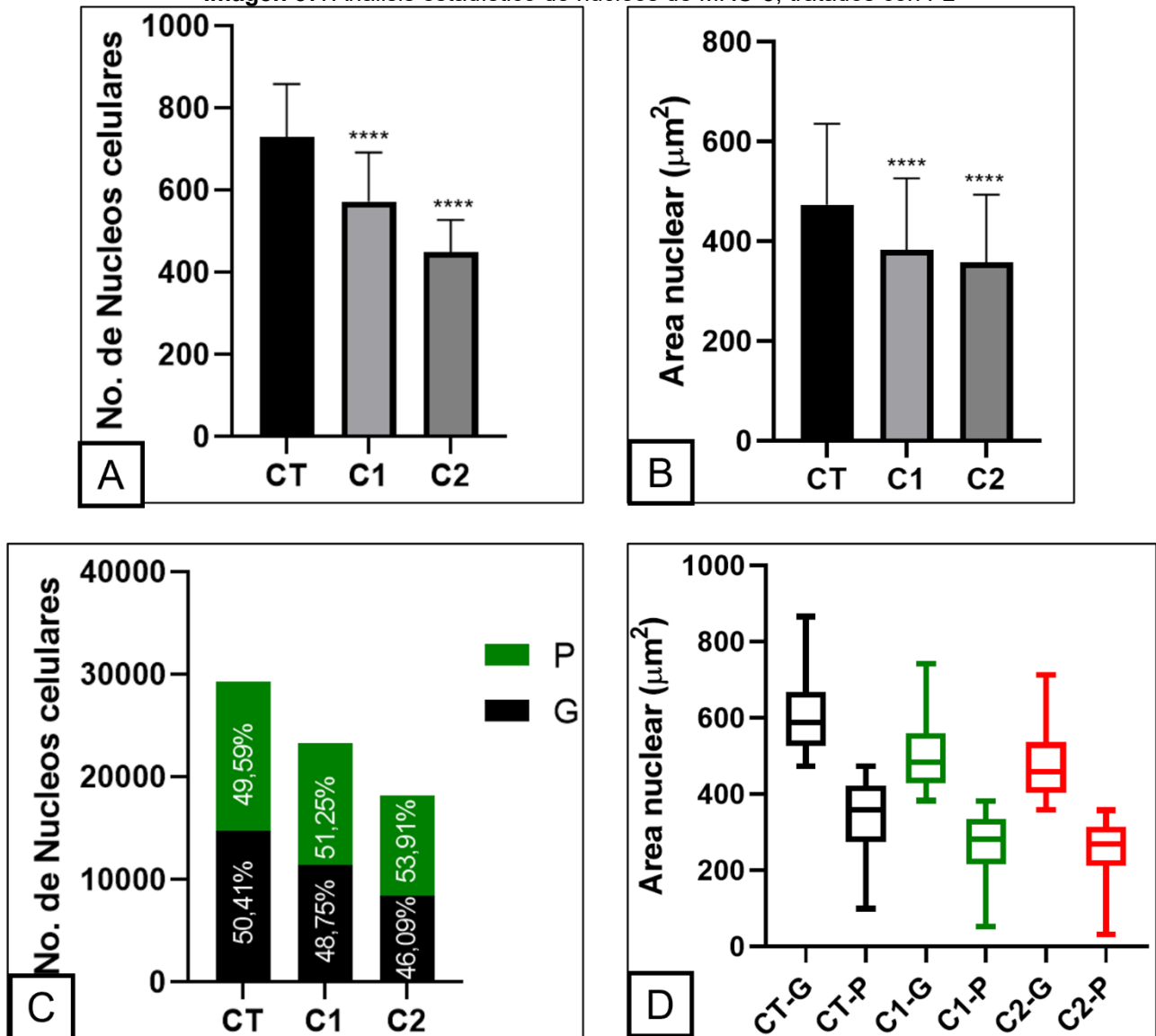
Imagen 36. Análisis estadístico de núcleos de MIA PaCa-2, tratados con FL



Nota: CT – Control; C1 – Concentración uno $2,5 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$; C2 – Concentración dos $10,0 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$, P – núcleos pequeños y G – núcleos grandes. A. Número de núcleos contados en cada foto; los datos se muestran como media, barras de DP (n=4) y **** $p < 0,0001$ en comparación con el control. B. Área de los núcleos contados en μm^2 , los datos se muestran como media, barras de DP (n=4) y **** $p < 0,0001$ en comparación con el control. C. Porcentaje de G y P del total contados. Los G y P se definieron estableciendo la media del tamaño celular; los núcleos superiores a la media se denominaron G y los inferiores a la media, P. D. Dispersión de G y P: representa la distribución de los datos de G y P, según el parámetro de C.

Fuente: autoría propia, 2024.

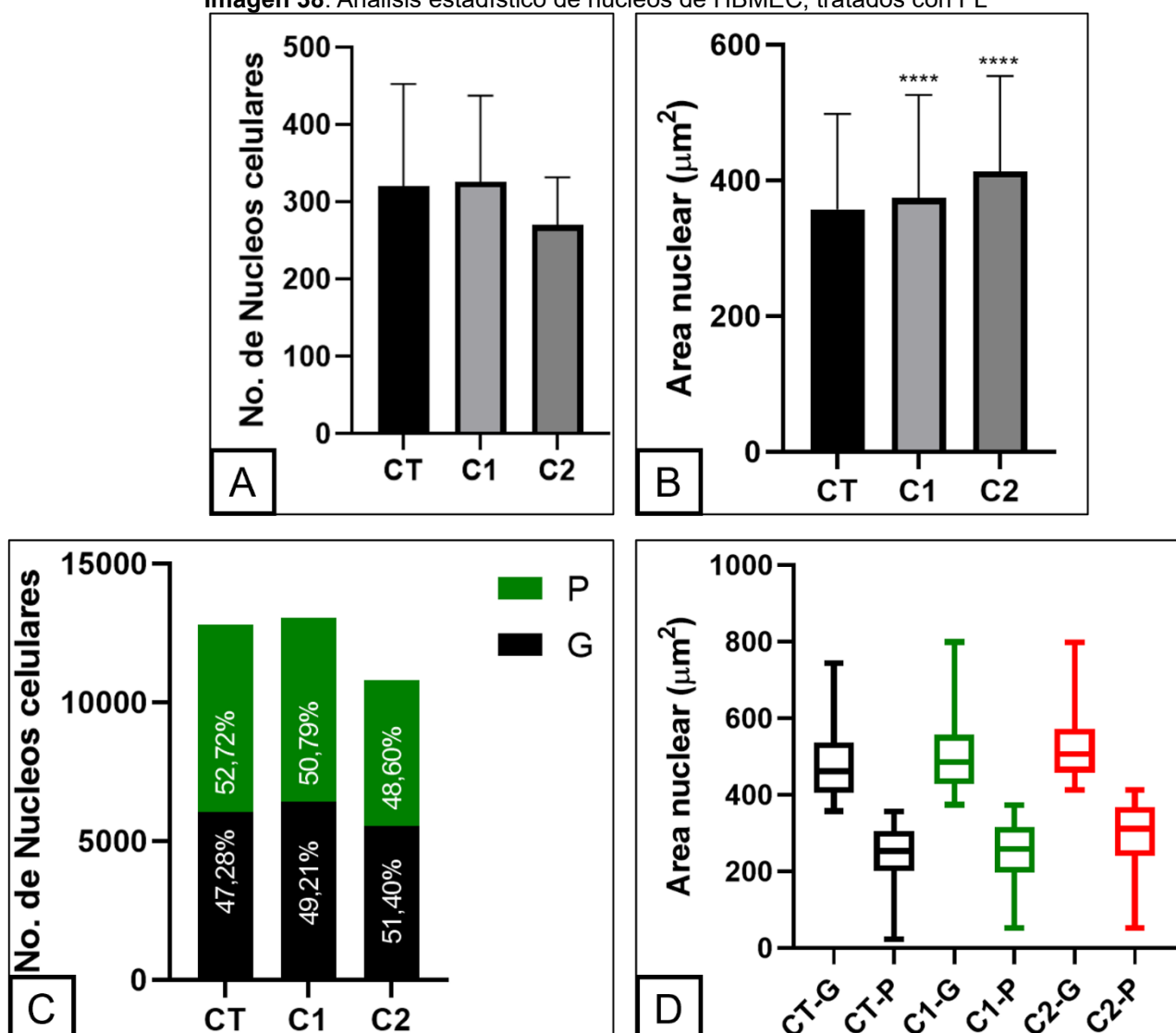
Imagen 37. Análisis estadístico de núcleos de MRC-5, tratados con FL



Nota: CT – Control; C1 – Concentración uno $2,5 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$; C2 – Concentración dos $10,0 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$, P – núcleos pequeños y G – núcleos grandes. A. Número de núcleos contados en cada foto; los datos se muestran como media, barras de DP (n=4) y **** $p < 0,0001$ en comparación con el control. B. Área de los núcleos contados en μm^2 , los datos se muestran como media, barras de DP (n=4) y **** $p < 0,0001$ en comparación con el control. C. Porcentaje de G y P del total contados. Los G y P se definieron estableciendo la media del tamaño celular; los núcleos superiores a la media se denominaron G y los inferiores a la media, P. D. Dispersión de G y P: representa la distribución de los datos de G y P, según el parámetro de C.

Fuente: autoría propia, 2024.

Imagen 38. Análisis estadístico de núcleos de HBMEC, tratados con FL



Nota: CT – Control; C1: $2,5 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$; C2: $10,0 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$, P – núcleos pequeños y G – núcleos grandes. A. Número de núcleos contados en cada foto; los datos se muestran como media y barras de DP ($n=4$). B. Área de los núcleos contados en μm^2 , los datos se muestran como media, barras de DP ($n=4$) y **** $p < 0,0001$ en comparación con el control. C. Porcentaje de G y P del total contados. Los G y P se definieron estableciendo la media del tamaño celular; los núcleos superiores a la media se denominaron G y los inferiores a la media, P. D. Dispersión de G y P: representa la distribución de los datos de G y P, según el parámetro de C.

Fuente: autoría propia, 2024.

Los resultados revelan que existe una relación inversamente proporcional entre la concentración de FL y el número de células representadas por los núcleos, así como su tamaño, en los tres linajes celulares MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC. Siendo que a mayor concentración de FL menos células de menor tamaño. Esta relación es clara y significativa al compararse con el control, excepto en el caso del linaje HBMEC, que, aunque presentó disminución del número de células a mayor concentración de FL, esta no fue significativa en ninguna de las concentraciones usadas: C1 ($p < 0,9527$) y C2 ($p < 0,0689$).

En MIA PaCa-2 FL reduce el número celular en un 48,28 y 70,60 %; el tamaño se redujo en 1,51 y 11,09 % para las C1 y C2 respectivamente, proporcionalmente al control. En MRC-5 FL reduce el número celular en un 21,42 y 38,38 %; el tamaño se redujo en 19,11 y 24,37 % para las C1 y C2 respectivamente, proporcionalmente al control. En HBMEC FL aumentó el tamaño en 15,67 % para C2, con respecto al control.

La relación de la proporción de núcleos grandes y pequeños con respecto al control es variable para los tres linajes celulares; por tanto, no es significativa. En cuanto a la dispersión de los núcleos grandes y pequeños, se observa que los datos son similares, por lo que pueden ser comparados. En el CT, los datos se encuentran más concentrados que los de C1 y C2, que muestran mayor variabilidad que el control.

5 DISCUSIÓN

El cáncer se caracteriza por su alta tasa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Específicamente, el carcinoma pancreático afecta la integridad del cuerpo al interrumpir las funciones del páncreas, siendo que solo puede ser extirpado en el 20% de los casos, presentando síntomas que deterioran la vida de los pacientes (LEE *et al.*, 2018).

El tratamiento del cáncer aún es un objetivo que se debe alcanzar, siendo las plantas medicinales un recurso que todavía se explora en diversas culturas, sobre todo en un país como Brasil, que tiene la mayor riqueza de fauna y flora del mundo. En las plantas medicinales se han encontrado compuestos como alcaloides, pigmentos, taninos, terpenoides y flavonoides (AZMIR *et al.*, 2013).

Los resultados de esta investigación muestran la relevancia de una planta medicinal, *A. ficoidea* (L.) P. Beauv., de la cual se buscó obtener dos extractos EH y FL de sus hojas secas. Del primero se determinó la cantidad de compuestos y su capacidad antioxidantes, y del segundo su perfil de ácidos grasos. Además, se encontró los efectos citotóxicos (EH: imágenes 19, 20, 21, 26, 27, 28 y 29; FL: imágenes 30, 31, 32, 36, 37 y 38) y en las estructuras celulares de células cancerígenas y en células sanas (EH: imágenes 23, 23, 24 y 25; FL: imágenes 33, 34 y 35) de las dos extracciones.

Por consiguiente, en este trabajo se describen las dos extracciones que se hicieron a partir de hojas secas. Se usaron hojas porque la investigación de Patil *et al.*, 2018 muestra que es el lugar de la planta donde más se concentran compuestos antioxidantes. Las hojas se secaron para disminuir la probabilidad de contaminación al reducir la humedad, conservando la materia vegetal, y de esta forma, se concentraron, estabilizaron y guardaron la calidad sensorial de los bioactivos y/o compuestos antioxidantes (MARTÍNEZ-LAS HERAS *et al.*, 2014; NÓBREGA *et al.*, 2015; PATIL; KORE, 2018; PHAM *et al.*, 2015). El rendimiento del secado de *A. ficoidea* (L.) para el EH fue 16,56 %, con humedad de 83,44 % (m/m), y para FL, rendimiento de 14,90 % y humedad de 85,10 % (m/m). El rendimiento de las extracciones para el EH fue 19,90 % (m/m) y para los FL fue 3,86 ± 0,55 % (m/m).

La diferencia en el rendimiento de las extracciones se basa en las condiciones y los compuestos de extracción que se utilizaron. Considerando que la EH busca extraer moléculas orgánicas que interactúen con el disolvente orgánico y no reaccionen (AZMIR *et al.*, 2013; UPOT *et al.*, 2023). Por el contrario, la extracción de FL resulta específicamente en la obtención de compuestos lipídicos que se encuentran en menores concentraciones (COELHO *et al.*, 2010). En común los dos extractos presentaron color verde tierra intenso

(Imágenes. 12. II y 13 V), relacionado con otros estudios, que hablan del alto contenido de fitol componente de la clorofila (PATIL; KORE, 2017).

Las cantidades de antioxidantes encontradas al analizar el EH fueron, en cuanto a CF, $9,04 \pm 0,38$ mg EAG g^{-1} muestra, de F, $0,30 \pm 0,05$ mg EQ g^{-1} muestra. En cuanto a la actividad antioxidante del EH, se encontró que inhibe ABTS en $0,395 \pm 0,001$ μ mol TE g^{-1} muestra; para DPPH $21,72 \pm 0,02$ μ mol TE g^{-1} muestra; y reduce el ion hierro en $71,85 \pm 0,73$ μ mol de Fe (II) g^{-1} muestra. En comparación con otros estudios en una planta del mismo género *Alternanthera*, la medición de los antioxidantes en el presente trabajo fue mayor, sobre todo en F, en donde *Alternanthera sessilis* expresó $0,20$ mg EQ g^{-1} (SHRESHTHA *et al.*, 2017).

La capacidad antioxidante de *A. ficoidea* (L.) P. Beauv, para inhibir ABTS se puede comparar al encontrado en el ajo ($0,464$ mmol ET kg^{-1}), azafrán ($0,39464$ mmol ET g^{-1}) y tomillo ($38,1$ mmol ET $100 g^{-1}$). Para inhibir DPPH es semejante al epazote, con 266 mmol ET $100 g^{-1}$. Y para reducir el ion hierro, con FRAP, se asemeja a cebolla, con $4,8 \times 10^3$ mmol ET 100^{-1} (MERCADO *et al.*, 2013).

En los ensayos de citotoxicidad celular con MTT, se observó que los datos resultantes de VC eran variables y no correspondían con lo observado en el microscopio durante y después de los tratamientos. Además, después de 1 h de la dilución con DMSO, se observaron cambios en la coloración de las placas; se descartó la interferencia del color del extracto, comprobando que la ABS y su VC no era mayor que el control positivo, por lo que se midió dos veces la ABS de las placas, una inmediatamente y otra a la hora de la dilución.

De la segunda medición se deduce que, con el tiempo, la ABS se estabiliza y el DP disminuye, por lo que estos resultados son los que se tuvieron en cuenta, los cuales muestran que el EH en el ensayo de viabilidad con MTT es citotóxico. El IC_{50} para las células es: $52,51$ % (v/v), para MIA PaCa-2; $41,66$ % (v/v), para MRC-5; $50,16$ % (v/v), para HBMEC. En la literatura existen varios protocolos para la aplicación de la prueba de MTT, en este trabajo se necesitó aplicar una modificación que resultó en la espera de estabilización de la ABS.

En las imágenes 22, 23 y 24 de fluorescencia, se hacen evidente los cambios en la morfología del citoplasma en células tratadas con EH, que manifiestan células redondas y desprendimiento celular, diferentes al control, presentado en los tres linajes celulares MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC, aunque fue más notorio en MIA PaCa-2.

En la imagen 25 de fluorescencia de HBMEC tratadas con EH, se observa una disminución en la cantidad de células en división respecto al control. En HBMEC con EH, la reducción en el número celular fue del 38,62 % y 42,10 %; y del tamaño 10,10 % y 58,94 % para las C1 - 0,391 % (v/v) y C2 - 50,0 % (v/v) respectivamente, en comparación al control.

Las deformaciones en el citoesqueleto mostradas por la unión de la faloidina a los filamentos de actina se asocian a variaciones en la genética y señalización, relacionadas con mecanismos moleculares de muerte (GALLUZZI *et al.*, 2018; PRASAD; ALIZADEH, 2019). La intensidad de coloración se debe a la unión de DAPI a regiones ricas en adenina-timina en el ADN, que destacan el contorno del núcleo y del cual se pudo extraer el tamaño celular (WALLBERG; TENEV; MEIER, 2016).

En esta oportunidad, no se logró aplicar las concentraciones de IC₅₀ encontradas en el MTT para corroborar su efecto citotóxico, y determinar si el EH esté interfiriendo en el número de células. Por consiguiente, los resultados de número de núcleos celulares, tamaño y proporción de células grandes y pequeñas son variables para las concentraciones de 0,782 % y 0,391 % (v/v) de EH; además, se puede observar cómo la distribución de los datos de las células grandes y pequeñas en estas concentraciones son semejantes a las del control.

Únicamente en el caso de HBMEC se aplicó una concentración próxima al IC₅₀ que fue del 50 % (v/v) de EH, en la cual se ratificó que el EH interfiere en el número de células viables y en el tamaño nuclear; esta relación es significativa ($p < 0,0001$), en comparación al control. La proporción de células grandes y pequeñas es variable, y la distribución de los datos de células grandes y pequeñas, en células tratadas manifiesta una mayor cantidad de células pequeñas, lo que se puede asociar a una división celular acelerada. Es decir, aunque el EH, aunque tiene efectos citotóxicos, no presenta efectos citostáticos.

Los resultados de la disminución en células cancerígenas presentados aquí por el EH se pueden justificar en la acción bioquímica y biológica de los antioxidantes encontrados, CF/F. Siendo conocidos como antiinflamatorios, antialérgicos, inmunoreguladores y anticancerígenos (POP; DIACONEASA, 2021). Los antioxidantes actúan en el bloqueo del ciclo celular, la inhibición de la cascada señalización oncogénica, la promoción de genes supresores de tumores, la eliminación de ROS y la inducción de la muerte de células tumorales (ANANTHARAJU *et al.*, 2016; MOLONEY; COTTER, 2018; RIAZ *et al.*, 2023).

Los CF/F son bioactivos que actúan en la formación del peróxido de hidrógeno, que evidenció inhibir la proliferación de células de cáncer de colon humano Caco-2, células epiteliales de hígado de ratón WB y la comunicación intercelular por unión estrecha,

importante en la organización carcinogénica (LEE *et al.*, 2005; YIN *et al.*, 2013). La capacidad antioxidante en bioactivos que tratan el cáncer es benéfica para la salud debido a que ejercen un rol protector contra el estrés oxidativo y la inflamación crónica (SABINO; PEREIRA; CARDOSO, 2023).

En cuanto a los AG de la FL encontrados por CG-MS, se identificaron los siguientes AG en mg de g⁻¹ de muestra y % de área relativa: ácido palmítico (AP), 1,34 ± 0,238, 22,86 %; ácido oleico (AO), 0,06 ± 0,016, 1,10 %; ácido linoleico (AL), 1,18 ± 0,181, 19,17 %; ácido alfa linolénico (ALA), 3,16 ± 0,56, 56,71 %.

El perfil de FL encontrados en esta extracción no se compara con los perfiles de aceites comerciales, debido a que en esta investigación se encuentra en menores cantidades el AP y AO, AG de cadena corta, y en mayor cantidad el ALA y AL, AG de cadena larga. En cuanto al AL, se encuentra en porcentaje de área relativa (19,17%) cercano al aceite de maíz (21,63 %), este compuesto es importante en la dieta y el equilibrio oxidativo (SEGURA *et al.*, 2015; WOOD *et al.*, 2018).

En los ensayos de viabilidad con MTT se comprobó que la FL extraída de las hojas secas de *A. ficoidea* (L.) P. Beauv. es citotóxica, con IC₅₀ de 1,045 µg µL⁻¹, para MIA PaCa-2; 1,123 µg µL⁻¹ para MRC-5; y 0,472 µg µL⁻¹ para HBMEC. Esta citotoxicidad parece no estar asociada a las características tumorales de las células, ya que los fibroblastos respondieron con IC₅₀ similar al de las células MIA PaCa-2.

Para la fluorescencia, aunque no se usaron las concentraciones de IC₅₀ encontradas en el MTT, si fueron próximas a el mismo. Las C1 y C2 de FL usadas fueron de 2,5 y 50,0 µg µL⁻¹. En ellas se comprobó que existe un efecto citotóxico en los tres linajes celulares de FL, siendo para MIA PaCa-2 y MRC5 significativo ($p < 0,0001$), y para HBMEC no significativo.

La reducción de FL en el número celular de MIA PaCa-2 fue 48,28 % y 70,60 %; y del tamaño, 1,51 % y 11,09 % para las C1 y C2 respectivamente, de acuerdo con el control. La reducción de FL en el número celular de MRC-5 fue 21,42 % y 38,38 %; y del tamaño, 19,11 % y 24,37 %, para las C1 y C2 respectivamente, de acuerdo con el control. En HBMEC, la FL aumentó el tamaño en 15,67 % para C2, con respecto al control. La diferencia entre células grandes y pequeñas con respecto al control fue variable y no significativa en comparación con el control.

Los efectos anti proliferativos encontrados en las células se pueden relacionar con los ácidos: AP, AO, AL y ALA de la extracción de FL, principalmente ALA, debido a que el porcentaje de área relativa fue del 56,71 %. Estos AG: AL y ALA, actúan sobre la actividad

mitocondrial en rutas oxidativas, con alta tasa de unión a proteínas plasmáticas y como agentes citotóxicos en el cáncer tanto *in vivo* como *in vitro* (BJÖRNTORP, 1968; LIANG *et al.*, 2014; RODRÍGUEZ *et al.*, 2005).

Evidencias indican que los AG son citotóxicos y promueven la apoptosis de células de cáncer de páncreas (MIA PaCa-2) y leucemia (HL-60). De las células MIA PaCa-2 tratadas con AG que perdieron la viabilidad, 80% se asoció a la apoptosis y necrosis secundaria, y 20% a la apoptosis tardía (HAWKINS; SANGSTER; ARENDS, 1998).

El ALA es conocido como omega 3 y se encuentra en diferentes alimentos, tanto de origen vegetal como animal. En un estudio que relacionaba el consumo de omega 3 encontrado en el pescado con el riesgo de diferentes cánceres en humanos, determinado por *odds ratios* (OR), se halló que el omega 3 ejerce un efecto protector contra el riesgo de cáncer en el tracto digestivo principalmente, y en otros órganos, como el páncreas (OR = 0,7) (FERNANDEZ *et al.*, 1999).

En linajes celulares, el ALA indicó seguir vías y mecanismos apoptóticos que llevaban a la muerte celular diferenciada de células tumorales. Los linajes celulares testados son: células de glándula mamaria, células de osteosarcoma, carcinoma hepatocelular, cáncer de colon rectal humano, cáncer uterino, cáncer de próstata, cáncer de la vejiga, cáncer de esófago (CHAMBERLAND; MOON, 2015; DESHPANDE; MANSARA; KAUL-GHANEKAR, 2016; FAN *et al.*, 2022; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ; ORTEA; GUILGUERRERO, 2020; KIM *et al.*, 2009; LIANG *et al.*, 2014; MOON; BATIREL; MANTZOROS, 2014; ROY *et al.*, 2017; WIGGINS *et al.*, 2015).

En esos estudios, el ALA comprobó inducir el mecanismo apoptótico, por la activación de las caspasas 3 y 9 (CHAMBERLAND; MOON, 2015; DESHPANDE; MANSARA; KAUL-GHANEKAR, 2016); regular el potencial maligno; disminuir la proliferación, la diferenciación y la migración de células cancerígenas, por el aumento de la expresión de los genes supresores de tumor p53, p21 y p27 (MOON; BATIREL; MANTZOROS, 2014; WU *et al.*, 2016; YANG *et al.*, 2013); y aumentar los efectos citotóxicos selectivamente en los linajes tumorales (LIANG *et al.*, 2014).

En células de cáncer de esófago humano (OE19 y OE33), ALA mostró regular el potencial maligno de las células, disminuyendo la proliferación celular, la migración, la formación de colonias y la adhesión celular (MOON; BATIREL; MANTZOROS, 2014). ALA activa la vía AMPK (monofosfato de adenosina - proteína quinasa activada), al aumentar la expresión de los genes supresores de tumores p53, p21 y p27, que bloquea el ciclo y el crecimiento celular (MOON; BATIREL; MANTZOROS, 2014; YANG *et al.*, 2013).

En células de cáncer de mama luminales (MCF-7, BT-474, MDA-MB-231 y MDA-MB-468), ALA limitó su crecimiento en una concentración de 50 μM (WIGGINS *et al.*, 2015). En otro estudio con las mismas células, se encontró que actúa como un antineoplásico, al aumentar la peroxidación lipídica, interrumpir el potencial de membrana mitocondrial, activar la caspasa 3 y generar apoptosis (DESHPANDE *et al.*, 2013).

En un estudio que relaciona ALA y en células de cáncer de mama (MDA-MB-231 y Hs578T), los resultados mostraron que ALA, a una concentración de 100 μM , redujo la fosforilación de Twist1 en MDA-MB-231 y aceleró su degradación. La proteína que expresa el gen Twist1 se encarga de la transición epitelio-mesenquimal y la migración en la metástasis. Además, se asocia al riesgo de cáncer y la resistencia de las células cancerígenas a fármacos (HANAHAN; WEINBERG, 2011; WANG *et al.*, 2020).

En células de osteosarcoma (MG63, 143B y U2OS), el ALA evidenció efectos antitumorales por la vía de FASN (sintasa de ácidos grasos) y la vía apoptótica (FAN *et al.*, 2022). FASN es una enzima que se encuentra en mayores cantidades en células tumorales y permite la proliferación, la migración y la metástasis de estas (MENENDEZ; LUPU, 2017; ROY *et al.*, 2017).

En un estudio que usó los linajes celulares de carcinoma hepático HepG2, Huh7 y L02; así como células no cancerígenas y células de carcinoma hepatocelular (HCC), extraídas de tejidos de pacientes sin previo tratamiento del Hospital Afiliado de la Universidad Médica de Guizhou entre julio de 2020 y enero de 2021 (FENG *et al.*, 2022). Se encontró que en las células extraídas los niveles de PUFA (ácido poliinsaturado n-3) eran menores que en las células no cancerígenas, lo que se relaciona con el metabolismo irregular de las células cancerígenas, y que β -catenina es inactiva en células no cancerígenas (SINKALA *et al.*, 2021).

En el mismo estudio, se encontró que ALA mejoró la expresión de FXR (Receptor farnesoide X), que bloquea la síntesis de ácidos biliares. FXR suprime la vía de señalización de Wnt/ β -catenina, cancelando la función de señalización de c-Myc (protooncogén myc) y ciclina D1. Por lo tanto, se concluye que el ALA, al tener efecto sobre vía FXR/Wnt/ β -catenina, disminuye el potencial maligno de las células cancerosas (ATTIA *et al.*, 2021; FENG *et al.*, 2022).

En ratones *knockout* con cáncer de próstata de origen espontáneo, alimentados con dietas ricas en ALA durante 2 meses. ALA mostró inhibir el desarrollo, el crecimiento y la progresión histopatológica del tumor, mostrando tumores de tamaños menores en

comparación con los controles. Esto se tradujo en aumento en la supervivencia y esperanza de vida de los ratones tratados (LI *et al.*, 2017).

En un estudio con 32 ratones albinos BALB/c machos (30 g), con daño en los riñones inducido por el quimioterápico cisplatino (CIS), tratados con ALA por nueve días. Se indicó que el ALA redujo la mieloperoxidasa, TNF- α (factor de necrosis tumoral- α), la COX2 (ciclooxigenasa-2) y el iNOS (proteína óxido nítrico sintasa inducible); y que volvió a los niveles normales de la enzima fosfolipasa A2. El ALA elevó las cantidades de las siguientes enzimas antioxidantes: catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa, que afectan la producción de la mieloperoxidasa, enzima que cataliza la formación de especies ROS (ROY *et al.*, 2017). COX2 y el TNF- α , son compuestos ligados al proceso inflamatorio que, en el caso del cáncer, al ser enfermedad crónica, torna este proceso fuertemente agresivo, ocasionando daño y lesiones en el tejido (HASSAN *et al.*, 2010; İSTIFLI *et al.*, 2019).

En ratones albinos BALB/c como modelos singénicos de carcinoma mamario (células LM3), alimentados con una fuente rica en ALA por 35 días. Indicaron que la incidencia y/o crecimiento tumoral, el peso, el volumen, la expresión de receptores de estrógeno alfa y el número de metástasis eran menores, que en el grupo control. Además, que el número de cuerpos apoptóticos y de linfocitos T era mayor que en ratones que no tenían la misma dieta (VARA-MESSLER *et al.*, 2017).

En un experimento con ratón con 32 ratones hembra con carcinoma de glándula mamaria inducido por 7,12-dimetilbenz (a) antraceno (DMBA), que produjo en los ratones lesiones periféricas y aumento la aparición de microvasos y nódulos. El ALA logró contrarrestar los efectos de DBMA con una reconstrucción histopatológica y pérdida de vasos tumorales. También restauró y normalizó el ambiente enzimático en las cantidades de SOD, CAT y niveles de glutatión, así como la biosíntesis de aminoácidos (ROY *et al.*, 2017).

En un estudio en mujeres caucásicas de una región central de Francia, en el que participaron 123 mujeres con carcinoma de mama invasivo no metastásico y 59 mujeres con enfermedad de mama que fueron los controles. El objetivo era encontrar relación entre ALA y sus efectos sobre el cáncer de mama. ALA mostró tener una relación inversa con el cáncer de mama, siendo que a mayor el consumo de ALA, menor será el riesgo de cáncer y viceversa, asociando ALA a un efecto protector. Aunque estos resultados no son conclusivos, si corroboran los estudios que se han venido desarrollando *in vitro* (KLEIN *et al.*, 2000).

Estudios comparativos de una planta del mismo género, *Alternanthera brasiliana*, muestran tener efectos prometedores como agentes anticancerígenos, por la reducción

significativa del volumen tumoral en ratones. Un estudio que se basó en una extracción de ácido acético, aplicado en ratones, resultó en la disminución del número de células cancerígenas y del peso tumoral; los efectos son comparables a los del 5-fluorouracilo, un medicamento quimioterapéutico citotóxico (SAMUDRALA *et al.*, 2015).

Resultados similares fueron encontrados en un extracto acuoso de *Alternanthera tenella* Colla, que manifestó un potencial de interferencia en la actividad inmune en el proceso tumoral de ratones, con dosis de 5 mg kg⁻¹, tanto en la activación como en la inhibición de anticuerpos (GUERRA *et al.*, 2003).

Otro estudio que usó tres extractos de *Alternanthera sessilis* de hojas, partes aéreas y tallo, aplicados en células de cáncer de colon humano HT-29, usando MTT, mostró una disminución en el crecimiento celular dependiente del tiempo y la dosis, sobre todo en el extracto de hojas (GOTHAI *et al.*, 2018).

Estos hallazgos sugieren que tanto el EH como la FL, tienen un gran potencial como agente terapéutico contra el cáncer, por sus efectos antiproliferativos tanto en los ensayos de MTT como en los de fluorescencia. Los efectos de los dos extractos no pueden ser comparados, debido a la diferencia en la metodología de extracción. De cualquier manera, se debe considerar que el efecto antiproliferativo de los dos extractos no solo es en células cancerígenas sino también en células no cancerígenas, por lo que se deben hacer muchas más investigaciones que evalúen qué tan ventajoso es utilizar estos extractos en modelos mayores.

Se pueden reconocer limitaciones en esta investigación debido a que se utilizó modelos *in vitro*, que, aunque representan parte de la realidad, generalizan nuestros hallazgos. Por lo tanto, sería interesante hacer tratamientos *in vivo* de organismos más complejos, en los cuales se podría analizar respuestas más complejas, eficacia y seguridad animal.

Además, se encontraron factores que afectaron esta investigación. En cuanto a los extractos, los factores de cultivo y cosecha de la hojas de la planta influyen en la variabilidad de la composición química por lo que se sugiere continuar profundizando en el estudio de *A. ficoidea* (L.) P. Beauv. En cuanto a los factores en el laboratorio, las limitaciones fueron de recursos y la contaminación de microorganismos en los linajes celulares, que afectaron el avance y la concretización de los resultados.

6 CONSIDERACIONES FINALES

En este estudio se logró investigar las hojas de *A. ficoidea* (L.) P. Beauv, con las extracciones EH y FL, explorando los agentes antioxidantes, la capacidad antioxidante e identificando los tipos de AG que contiene. Además, se corroboraron sus efectos citotóxicos en los linajes celulares MIA PaCa-2, MRC-5 y HBMEC.

Cada planta tiene condiciones de extracción específicas de acuerdo con los compuestos que esta contenga y la proporción presente de ellos, así como la afinidad de la materia vegetal con los solventes que se usen y los compuestos de interés que se quieran extraer. Por ello, se recomienda una optimización de proceso extractivo de acuerdo con las necesidades experimentales.

El género *Alternanthera* ya ha sido mencionado en la literatura con efectos anticancerígenos, lo cuales quedan ratificados en esta investigación. Se recomiendan más estudios sobre las propiedades químicas de las extracciones encontradas, además de ensayos en modelos animales más complejos que permitan una perspectiva más amplia de sus efectos.

La presencia de antioxidantes y ácidos grasos en una determinada planta no garantiza sus efectos citotóxicos en células tumorales o en células no tumorales, como se pudo observar, ya que tuvo efectos antiproliferativos en células no tumorales y cancerígenas, por lo que es necesario investigar más a fondo.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI, S. A.; TAUSEEF, S. M.. *Use of the terrestrial weed *Alternanthera ficoidea* in treating greywater in soil-less SHEFROL® bioreactors.* **Water Science and Technology**, v. 77, n. 08, p. 2005-2013, 30 abr. 2018. Disponible en: <<https://doi.org/10.2166/wst.2018.093>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

ADAMS, J. M.; CORY, S.. *The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy.* **Oncogene**, v. 26, n. 09, p. 1324-1337, 26 feb. 2007. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210220>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

AGROBASE. **Apaga-fogo (*Alternanthera tenella*).** [s.l.]: Agrobases, [s.n.]. Disponible en: <<https://agrobasesapp.com/brazil/weed/apaga-fogo>>. Acceso en: 06 dic. 2023.

AGUIAR, A. C. *et al.*. *Effects of the flaxseed oil on the fatty acid composition of tilapia heads.* **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 113, n. 02, p. 269-274, 09 feb. 2011. Disponible en: <<https://doi.org/10.1002/ejlt.201000035>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **The history of cancer.** New York/USA: American Cancer Society, 2014. Disponible en: <<https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/6055.00.pdf>>. Acceso en: 16 nov. 2023.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Pancreatic cancer risk factors.** New York/USA: American Cancer Society, 2024. Disponible en: <<https://www.cancer.org/cancer/types/pancreatic-cancer/causes-risks-prevention/risk-factors.html>>. Acceso en: 09 ene. 2024.

ANANTHARAJU, P. G. *et al.*. *An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers.* **Nutrition Journal**, v. 15, n. 01, p. 99, 01 dic. 2016. Disponible en: <<https://doi.org/10.1186/s12937-016-0217-2>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

ARNETH, B.. *Tumor microenvironment.* **Medicina (Kaunas)**, v. 56, n. 01, p. 15, 30 dic. 2019. Disponible en: <<https://doi.org/10.3390/medicina56010015>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

ATTIA, Y. M. *et al.*. *Activation of FXR modulates SOCS3/Jak2/STAT3 signaling axis in a NASH-dependent hepatocellular carcinoma animal model.* **Biochemical Pharmacology**, v. 186, p. 114497, abr. 2021. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2021.114497>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

AZMIR, J. *et al.*. *Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review.* **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 04, p. 426-436, ago. 2013. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BABBAR, N. *et al.*. *Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants.* **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2568-2575, 19 oct. 2014. Disponible en: <<https://doi.org/10.1007/s13197-012-0754-4>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BAKER, E. J. *et al.*. *Metabolism and functional effects of plant-derived omega-3 fatty acids in humans.* **Progress in Lipid Research**, v. 64, p. 30-56, oct. 2016. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.plipres.2016.07.002>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BAYÓN, N. D.; GIULIANO, D. A.; VERA BAHIMA, J.. *Revisión taxonómica de las especies de *Alternanthera* (Amaranthaceae) del Cono Sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay) y Bolivia.* **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 107, p. 160-249, 08 jun. 2022. Disponible en: <<https://doi.org/10.3417/2022679>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BENÍTEZ-BENÍTEZ, R. *et al.*. *Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales.* **Revista Facultad de Ciencias Básicas**, v. 15, n. 01, p. 31-40, 24 mar. 2020. Disponible en: <<http://dx.doi.org/10.18359/rfcb.3597>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J.. *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": the FRAP assay.* **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 01, p. 70-76, jul. 1996. Disponible en: <<https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BERGER, R. G. *et al.*. *Antioxidants in food: mere myth or magic medicine?.* **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 02, p. 162-171, feb. 2012. Disponible en: <<https://doi.org/10.1080/10408398.2010.499481>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BERX, G.; VAN ROY, F.. *Involvement of members of the cadherin superfamily in cancer. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 01, n. 06, p. a003129-a003129, 01 dic. 2009. Disponible en: <<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a003129>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BIBI SADEER, N. *et al.*. *The versatility of antioxidant assays in food science and safety: chemistry, applications, strengths and limitations. Antioxidants*, v. 09, n. 08, p. 709, 05 ago. 2020. Disponible en: <<https://doi.org/10.3390/antiox9080709>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BINDER, M. *et al.*. *On the antiquity of cancer: evidence for metastatic carcinoma in a young man from ancient Nubia (c. 1200BC). PLoS ONE*, v. 09, n. 03, p. e90924, 17 mar. 2014. Disponible en: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090924>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BJÖRNTORP, P.. *Rates of oxidation of different fatty Acids by isolated rat liver mitochondria. Journal of Biological Chemistry*, v. 243, n. 09, p. 2130-2133, mayo 1968. Disponible en: <[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)93456-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)93456-3)>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J.. *A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v. 37, n. 08, p. 911-917, 01 ago. 1959. Disponible en: <<https://doi.org/10.1139/o59-099>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BLOIS, M. S.. *Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature*, v. 181, n. 4617, p. 1199-1200, abr. 1958. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/1811199a0>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BOROSKI, M. *et al.*. *Antioxidantes: principios e métodos analíticos*. 1. ed.. Curitiba - PR: Appris, 2015. Disponible en: <<https://editoraappris.com.br/>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BROWN, J. S. *et al.*. *Updating the definition of cancer. Molecular Cancer Research*, v. 21, n. 11, p. 1142-1147, 01 nov. 2023. Disponible en: <<https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-23-0411>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

BURKHART, D. L.; SAGE, J.. *Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene. **Nature Reviews Cancer***, v. 08, n. 09, p. 671-682, 24 sep. 2008. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/nrc2399>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

CANCER RESEARCH UK. *Types of cancer*. London: Cancer Research UK, 2023. Disponible en: <<https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/what-is-cancer/how-cancer-starts/types-of-cancer>>. Acceso en: 09 ene. 2024.

CAO, P. *et al.* *Complementary and alternative medicine in cancer prevention and therapy. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine***, v. 2015, p. 01-02, 2015. Disponible en: <<https://doi.org/10.1155/2015/639372>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

CAVALLARO, U.; CHRISTOFORI, G.. *Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer. **Nature Reviews Cancer***, v. 04, n. 02, p. 118-132, 01 feb. 2004. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/nrc1276>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

CHABNER, B. A.; ROBERTS, T. G.. *Chemotherapy and the war on cancer. **Nature Reviews Cancer***, v. 05, n. 01, p. 65-72, 01 ene. 2005. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/nrc1529>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

CHAMBERLAND, J. P.; MOON, H. S.. *Down-regulation of malignant potential by alpha linolenic acid in human and mouse colon cancer cells. **Familial Cancer***, v. 14, n. 01, p. 25-30, 22 mar. 2015. Disponible en: <<https://doi.org/10.1007/s10689-014-9762-z>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

CHEMBL. *Linolenic acid*: id: ChEMBL8739. Cambridgeshire/UK: ChEMBL, 2022. Disponible en: <https://www.ebi.ac.uk/chembl/compound_report_card/CHEMBL8739/>. Acceso en: 26 ago. 2023.

CHENG, N. *et al.* *Transforming growth factor- β signaling-deficient fibroblasts enhance hepatocyte growth factor signaling in mammary carcinoma cells to promote scattering and invasion. **Molecular Cancer Research***, v. 06, n. 10, p. 1521-1533, 01 oct. 2008. Disponible en: <<https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-07-2203>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

CIVETTA, M. T. M. de; CIVETTA, J. D.. Carcinogénesis. **Salud Pública de México**, v. 53, n. 05, p. 405-414, oct. 2011. Disponible en: <<https://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/7086>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

COELHO, A. *et al.*. *Estudo comparativo de métodos de extração de lipídios totais em amostras de origem animal e vegetal*. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 01, p. 73-77, jul. 2010. Disponible en: <<http://www.pergamum.fw.uri.br/acervo/74855>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

CONTRERAS-GUZMÁN, E. S.; STRONG, F. C.. *Determination of tocopherols (vitamin E) by reduction of cupric ion*. **Journal of AOAC International**, v. 65, n. 05, p. 1215-1221, 01 sep. 1982. Disponible en: <<https://doi.org/10.1093/jaoac/65.5.1215>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

CORY, S.; ADAMS, J. M.. *The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch*. **Nature Reviews Cancer**, v. 02, n. 09, p. 647-656, 01 sep. 2002. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/nrc883>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

D'ARCY, M. S.. *Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy*. **Cell Biology International**, v. 43, n. 06, p. 582-592, 25 jun. 2019. Disponible en: <<https://doi.org/10.1002/cbin.11137>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

CARVALHO, C. de; CARAMUJO, M.. *The various roles of fatty acids*. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 2583, 09 oct. 2018. Disponible en: <<https://doi.org/10.3390/molecules23102583>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

DESHPANDE, R. *et al.*. *Alpha-linolenic acid regulates the growth of breast and cervical cancer cell lines through regulation of NO release and induction of lipid peroxidation*. **Journal of Molecular Biochemistry**, 2013. Disponible en: <<https://www.jmolbiochem.com/index.php/JmolBiochem/article/view/52>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

DESHPANDE, R.; MANSARA, P.; KAUL-GHANEKAR, R.. *Alpha-linolenic acid regulates Cox2/VEGF/MAP kinase pathway and decreases the expression of HPV oncoproteins E6/E7 through restoration of p53 and Rb expression in human cervical cancer cell lines*.

Tumor Biology, v. 37, n. 03, p. 3295-3305, 06 mar. 2016. Disponible en: <<https://doi.org/10.1007/s13277-015-4170-z>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

DOWD, L. E.. *Spectrophotometric determination of quercetin*. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 07, p. 1184-1187, 01 jul. 1959. Disponible en: <<https://doi.org/10.1021/ac60151a033>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

DRESSLER, L. *et al.*. *Sobrevida em dois anos de pacientes acometidos por câncer de pâncreas e os fatores associados*. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 42, n. 02, p. 62-69, abr. 2013. Disponible en: <<https://www.acm.org.br/revista/pdf/artigos/1230.pdf>>. Acceso en: 11 sep. 2023.

EDEL, A. L. *et al.*. *The effect of flaxseed dose on circulating concentrations of alpha-linolenic acid and secoisolariciresinol diglucoside derived enterolignans in young, healthy adults*. **European Journal of Nutrition**, v. 55, n. 02, p. 651-663, 26 mar. 2016. Disponible en: <<https://doi.org/10.1007/s00394-015-0885-2>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

ELDRIDGE, L.. *Cancer cells vs. normal cells: how are they different?*. **Verywell Health**, 2023. Disponible en: <<https://www.verywellhealth.com/cancer-cells-vs-normal-cells-2248794>>. Acceso en: 20 nov. 2023.

FAGAGNA, F. D'ADDA DI *et al.*. *A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence*. **Nature**, v. 426, n. 6963, p. 194-198, 05 nov. 2003. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/nature02118>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

FAN, H. *et al.*. *α -Linolenic acid suppresses proliferation and invasion in osteosarcoma cells via inhibiting fatty acid synthase*. **Molecules**, v. 27, n. 09, p. 2741, 24 abr. 2022. Disponible en: <<https://doi.org/10.3390/molecules27092741>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

FENG, S. *et al.*. *Alpha-linolenic acid inhibits hepatocellular carcinoma cell growth through Farnesoid X receptor/ β -catenin signaling pathway*. **Nutrition & Metabolism**, v. 19, n. 01, p. 57, 23 ago. 2022. Disponible en: <<https://doi.org/10.1186/s12986-022-00693-1>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

FERNANDES, R. DE P. P.; TRINDADE, M. A.; DE MELO, M. P. *Natural antioxidants and food applications: healthy perspectives*. In: HOLBAN, A. M.; GRUMEZESCU, A. M. **Alternative and replacement foods: a volume in handbook of food bioengineering**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 31-64. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811446-9.00002-2>>. Acceso en: 20 nov. 2023.

FERNANDEZ, E. *et al.* *Fish consumption and cancer risk*. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, n. 01, p. 85-90, jul. 1999. Disponible en: <<https://doi.org/10.1093/ajcn/70.1.85>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

FERRARI, C. K. B. *et al.* *Oxidative and nitrosative stress on phagocytes' function: from effective defense to immunity evasion mechanisms*. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 59, n. 06, p. 441-448, 05 dic. 2011. Disponible en: <<https://doi.org/10.1007/s00005-011-0144-z>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

FINLEY, L. W. S.. *What is cancer metabolism?*. **Cell**, v. 186, n. 08, p. 1670-1688, abr. 2023. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.01.038>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

FITZMAURICE, C. *et al.* *Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 29 cancer groups, 1990 to 2017*. **JAMA Oncology**, v. 05, n. 12, p. 1749, 01 dic. 2019. Disponible en: <<https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2019.2996>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

FONSECA, K. Z. *et al.* **Perguntas mais frequentes sobre flavonoides**. Cruz das Almas/Bahia: UFRB, 2016. Disponible en: <https://www2.ufrb.edu.br/ead/images/Livro_-_Perguntas_mais_frequentes_sobre_Flavonoides_ISBN.pdf>. Acceso en: 11 sep. 2023.

FOUNDATION GALAPAGOS. *Alternanthera ficoidea (L.) Sm.* **GBIF Backbone Taxonomy**, 2023. Disponible en: <<https://www.gbif.org/pt/species/7802213>>. Acceso en: 20 nov. 2023.

GALDIERO, M. R.; MARONE, G.; MANTOVANI, A.. *Cancer inflammation and cytokines*. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 10, n. 08, p. a028662, ago. 2018. Disponible en: <<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028662>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

GALLUZZI, L. *et al.*. *Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018*. **Cell Death & Differentiation**, v. 25, n. 03, p. 486-541, 23 mar. 2018. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

GARMUS, T. T. *et al.*. *Ethanollic and hydroalcoholic extracts of pitanga leaves (Eugenia uniflora L.) and their fractionation by supercritical technology*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 36, n. 02, p. 1041-1051, jun. 2019. Disponible en: <<https://doi.org/10.1590/0104-6632.20190362s20180159>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

GIACCIA, A. J.; KASTAN, M. B.. *The complexity of p53 modulation: emerging patterns from divergent signals*. **Genes & Development**, v. 12, n. 19, p. 2973-2983, 01 oct. 1998. Disponible en: <<https://doi.org/10.1101/gad.12.19.2973>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, M. J.; ORTEA, I.; GUIL-GUERRERO, J. L.. *α -Linolenic and γ -linolenic acids exercise differential antitumor effects on HT-29 human colorectal cancer cells*. **Toxicology Research**, v. 09, n. 04, p. 474-483, 01 sep. 2020. Disponible en: <<https://doi.org/10.1093/toxres/tfaa046>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

GOTHAI, S. *et al.*. *Anticancer potential of Alternanthera sessilis extract on HT-29 human colon cancer cells*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 08, n. 08, p. 394, 2018. Disponible en: <<https://doi.org/10.4103/2221-1691.239427>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

GRETEN, F. R.; GRIVENNIKOV, S. I.. *Inflammation and cancer: triggers, mechanisms, and consequences*. **Immunity**, v. 51, n. 01, p. 27-41, jul. 2019. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.06.025>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

GUERRA, R. N. M. *et al.*. *Immunomodulatory properties of Alternanthera tenella Colla aqueous extracts in mice*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 09, p. 1215-1219, sep. 2003. Disponible en: <<https://doi.org/10.1590/s0100-879x2003000900011>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

GUNN, A. H.; SORENSON, C.; GREENUP, R. A.. *Navigating the high costs of cancer care: opportunities for patient engagement*. **Future Oncology**, v. 17, n. 28, p. 3729-3742, oct. 2021. Disponible en: <<https://doi.org/10.2217/fo-2021-0341>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

GUTERRES, A. N.; VILLANUEVA, J.. *Targeting telomerase for cancer therapy*. **Oncogene**, v. 39, n. 36, p. 5811-5824, 03 sep. 2020. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/s41388-020-01405-w>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

HAJDU, S. I.. *A note from history: landmarks in history of cancer, part 1*. **Cancer**, v. 117, n. 05, p. 1097-1102, 01 mar. 2011. Disponible en: <<https://doi.org/10.1002/cncr.25553>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A.. *Hallmarks of cancer: the next generation*. **Cell**, v. 144, n. 05, p. 646-674, mar. 2011. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C.. *Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids*. **Laboratory practice**, v. 22, n. 06, p. 475-476, jul. 1973. Disponible en: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4727126/>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

HASSAN, A. *et al.*. *An α -linolenic acid-rich formula reduces oxidative stress and inflammation by regulating NF- κ B in rats with TNBS-induced colitis*. **The Journal of Nutrition**, v. 140, n. 10, p. 1714-1721, oct. 2010. Disponible en: <<https://doi.org/10.3945/jn.109.119768>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

HASSAN, B.. *Plants and cancer treatment*. In: HASSAN, B.. **Medicinal plants: use in prevention and treatment of diseases**. London/UK: Intech, 2019. Disponible en: <<https://doi.org/10.5772/intechopen.90568>>. Acceso en: 20 nov. 2023.

HAWKINS, R. A.; SANGSTER, K.; ARENDS, M. J.. *Apoptotic death of pancreatic cancer cells induced by polyunsaturated fatty acids varies with double bond number and involves an oxidative mechanism*. **The Journal of Pathology**, v. 185, n. 01, p. 61-70, mayo 1998. Disponible en: <[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9896\(199805\)185:1%3C61::aid-path49%3E3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9896(199805)185:1%3C61::aid-path49%3E3.0.co;2-8)>. Acceso en: 06 dic. 2022.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J.. *Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships*. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n. 10, p. 572-584, oct. 2002. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00208-5)>. Acesso em: 06 dic. 2022.

HOSSAIN, M. A.; RAHMAN, S. M. M.. *Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple*. **Food Research International**, v. 44, n. 03, p. 672-676, abr. 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.036>>. Acesso em: 06 dic. 2022.

HOSSEINZADEH, E.; BANAEI, N.; NEDAIE, H. A.. *Cancer and treatment modalities*. **Current Cancer Therapy Reviews**, v. 13, n. 01, p. 17-27, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.2174/1573394713666170531081818>>. Acesso em: 06 dic. 2022.

HUANG, M.; LU, J.-J.; DING, J.. *Natural products in cancer therapy: past, present and future*. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 11, n. 01, p. 05-13, 03 feb. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13659-020-00293-7>>. Acesso em: 06 dic. 2022.

HUGHES, B. D.; NAKAYAMA, D.. *Giovanni battista morgagni and the morgagni hernia*. **The American Surgeon**, p. 000313482110111, 22 abr. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/00031348211011108>>. Acesso em: 06 dic. 2022.

IBRAHIM, E. M.; AL-MAGHRABI, J. A.. **Basis of tumor imaging 1: principles of tumor pathology and biology**. [s.l.]: Springer Berlin Heidelberg, [s.d.]. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-540-47953-6_11>. Acesso em: 06 dic. 2022.

INCA. **ABC DO CÂNCER**: abordagens básicas para o controle do câncer. 6a edição revista e atualizada. Rio de Janeiro: [s.n.], 2020. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/livro-abc-6-edicao-2020.pdf>>. Acesso em: 16 nov. 2023.

INCA. **Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: [s.n.], 2024. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2023-incidencia-de-cancer-no-brasil>>. Acesso em: 06 dic. 2022.

ISTIFLI, E. S. *et al.*. *Alpha-linolenic acid confers protection on mice renal cells against cis-platin-induced nephrotoxicity*. **Cytotechnology**, v. 71, n. 05, p. 905-914, 01 oct. 2019. Disponible en: <<https://doi.org/10.1007/s10616-019-00333-2>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

JAN, R.; CHAUDHRY, G. S.. *Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics*. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 09, n. 02, p. 205-218, 01 jun. 2019. Disponible en: <<https://doi.org/10.15171/apb.2019.024>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G.. *Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: collaborative study*. **Journal of AOAC International**, v. 75, n. 03, p. 488-506, 01 mayo 1992. Disponible en: <<https://doi.org/10.1093/jaoac/75.3.488>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

KEDARE, S. B.; SINGH, R. P.. *Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay*. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 04, p. 412-422, 25 ago. 2011. Disponible en: <<https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

KEW. *Alternanthera ficoidea* (L.) P.Beauv. In: KEW. **Plants of the world online**. London: Royal Botanic Gardens, Kew, 2017. Disponible en: <<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:1078972-2>>. Acceso en: 16 nov. 2023.

KIM, J. Y. *et al.*. *Growth-inhibitory and proapoptotic effects of alpha-linolenic acid on estrogen-positive breast cancer cells*. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1171, n. 01, p. 190-195, ago. 2009. Disponible en: <<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04897.x>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

KIM, R.; EMI, M.; TANABE, K.. *Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape*. **Immunology**, v. 121, n. 01, p. 01-14, 26 mayo 2007. Disponible en: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2007.02587.x>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

KIOKIAS, S.; VARZAKAS, T.; OREOPOULOU, V.. *In vitro activity of vitamins, flavonoids, and natural phenolic antioxidants against the oxidative deterioration of oil-based systems*.

Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 48, n. 01, p. 78-93, 02 ene. 2008. Disponible en: <<https://doi.org/10.1080/10408390601079975>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

KITTEL, R.. **Biblia hebraica stuttgartensia**. 1. ed.. [s.l: s.n.], 1984.

KLEIN, V. *et al.*. *Low alpha-linolenic acid content of adipose breast tissue is associated with an increased risk of breast cancer*. **European Journal of Cancer**, v. 36, n. 03, p. 335-340, feb. 2000. Disponible en: <[https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(99\)00254-3](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(99)00254-3)>. Acceso en: 06 dic. 2022.

KOCARNIK, J. M. *et al.*. *Cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life years for 29 cancer groups from 2010 to 2019*. **JAMA Oncology**, v. 08, n. 03, p. 420, 01 mar. 2022. Disponible en: <<https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2021.6987>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

KOLBEINSSON, H. M. *et al.*. *Pancreatic cancer: a review of current treatment and novel therapies*. **Journal of Investigative Surgery**, v. 36, n. 01, 31 dez. 2023. Disponible en: <<https://doi.org/10.1080/08941939.2022.2129884>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

KONTOMANOLIS, E. N. *et al.*. *Role of oncogenes and tumor-suppressor genes in carcinogenesis. A Review*. **Anticancer Research**, v. 40, n. 11, p. 6009-6015, 27 nov. 2020. Disponible en: <<https://doi.org/10.21873/anticancer.14622>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

KOOTI, W. *et al.*. *Effective medicinal plant in cancer treatment, part 2: review study*. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, v. 22, n. 04, p. 982-995, 31 oct. 2017. Disponible en: <<https://doi.org/10.1177/2156587217696927>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

PAL, S. K.; FATIMA, H.. *Herbal cancer remedy: an alternative treatment option for cancer patients*. **Clinics in Oncology**, v. 2, 17 mayo 2017. Disponible en: <<https://www.clinicsinoncology.com/open-access/herbal-cancer-remedy-an-alternative-treatment-option-for-cancer-patients-1465.pdf>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

LEE, D. *et al.*. *Recent treatment patterns and survival outcomes in pancreatic cancer according to clinical stage based on single-center large-cohort data.* **Annals of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery**, v. 22, n. 04, p. 386, 2018. Disponible en: <<https://doi.org/10.14701/ahbps.2018.22.4.386>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

LEE, K. W. *et al.*. *Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide.* **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 06, p. 1990-1995, 01 mar. 2005. Disponible en: <<https://doi.org/10.1021/jf0486040>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

LEMMON, M. A.; SCHLESSINGER, J.. *Cell signaling by receptor tyrosine kinases.* **Cell**, v. 141, n. 07, p. 1117-1134, jun. 2010. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.011>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

LI, J. *et al.*. *Dietary supplementation of α -linolenic acid induced conversion of n-3 LCPUFAs and reduced prostate cancer growth in a mouse model.* **Lipids in Health and Disease**, v. 16, n. 01, p. 136, 11 dic. 2017. Disponible en: <<https://doi.org/10.1186/s12944-017-0529-z>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

LIANG, C. *et al.*. *Synthesis of doxorubicin α -linolenic acid conjugate and evaluation of its antitumor activity.* **Molecular Pharmaceutics**, v. 11, n. 05, p. 1378-1390, 05 mayo 2014.

LIN, D. *et al.*. *An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes.* **Molecules**, v. 21, n. 10, p. 1374, 15 oct. 2016. Disponible en: <<https://doi.org/10.3390/molecules21101374>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

LOWE, S. W.; CEPERO, E.; EVAN, G.. *Intrinsic tumour suppression.* **Nature**, v. 432, n. 7015, p. 307-315, 18 nov. 2004. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/nature03098>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

MACHADO, H. *et al.*. *Flavonoids and potential therapeutic.* **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, v. 27, n. 01/02, p. 33-39, 2008. Disponible en: <<https://periodicos.ufjf.br/index.php/boletimcbr/article/view/17024/8541>>. Acceso en: 16 nov. 2023.

MADAN, E. *et al.*. *Cell competition in carcinogenesis*. **Cancer Research**, v. 82, n. 24, p. 4487-4496, 16 dic. 2022. Disponible en: <<https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-22-2217>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

MARQUES, M. S.. **Retratos de dois momentos: plantas de uso medicinal nas comunidades da Costa da Lagoa e do Canto dos Araçás, Florianópolis, SC**. Orientadores: HANAZAKI, Natalia (orientadora). 85 f.. *Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - CG-Biologia (Bacharelado em Ciências Biológicas), UFSC (Universidade Federal de Santa Catarina), Florianópolis/SC, 2010*. Disponible en: <<https://mobile.repositorio.ufsc.br/handle/123456789/132555>>. Acceso en: 16 nov. 2023.

MARTÍNEZ-LAS HERAS, R. *et al.*. *Influence of drying method and extraction variables on the antioxidant properties of persimmon leaves*. **Food Bioscience**, v. 06, p. 01-08, jun. 2014. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2014.01.002>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

MCGRANAHAN, N.; SWANTON, C.. *Biological and therapeutic impact of intratumor heterogeneity in cancer evolution*. **Cancer Cell**, v. 27, n. 01, p. 15-26, ene. 2015. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2014.12.001>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

MENENDEZ, J. A.; LUPU, R.. *Fatty Acid Synthase (FASN) as a therapeutic target in breast cancer*. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 21, n. 11, p. 1001-1016, 02 nov. 2017. Disponible en: <<https://doi.org/10.1080/14728222.2017.1381087>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

MERCK. **Overview of cancer biology**. Rio de Janeiro: MERCK, 2023. Disponible en: <<https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/technical-documents/technical-article/research-and-disease-areas/cell-and-developmental-biology-research/overview-of-cancer-biology>>. Acceso en: 19 nov. 2023.

MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C. A.. *Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS •+ radical cation assay*. **Free Radical Research**, v. 26, n. 03, p. 195-199, 07 ene. 1997. Disponible en: <<https://doi.org/10.3109/10715769709097799>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

MOLONEY, J. N.; COTTER, T. G.. *ROS signalling in the biology of cancer*. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 80, p. 50-64, ago. 2018. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.05.023>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

MOON, H. S.; BATIREL, S.; MANTZOROS, C. S.. *Alpha linolenic acid and oleic acid additively down-regulate malignant potential and positively cross-regulate AMPK/S6 axis in OE19 and OE33 esophageal cancer cells*. **Metabolism**, v. 63, n. 11, p. 1447-1454, nov. 2014. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.07.009>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

MUNTEANU, I. G.; APETREI, C.. *Analytical methods used in determining antioxidant activity: a review*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 07, p. 3380, 25 mar. 2021. Disponible en: <<https://doi.org/10.3390/ijms22073380>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

NCUBE, B.; VAN STADEN, J.. *Tilting plant metabolism for improved metabolite biosynthesis and enhanced human benefit*. **Molecules**, v. 20, n. 07, p. 12698-12731, 13 jul. 2015. Disponible en: <<https://doi.org/10.3390/molecules200712698>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

NENCLARES, P.; HARRINGTON, K. J.. *The biology of cancer*. **Medicine**, v. 48, n. 02, p. 67-72, feb. 2020. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2019.11.001>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.. *Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014*. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 03, p. 629-661, 25 mar. 2016. Disponible en: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jnatprod.5b01055>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

NIH. **Financial toxicity and cancer treatment (PDQ®): health professional version**. Bethesda, Maryland, USA: NIH, 2024. <<https://www.cancer.gov/about-cancer/managing-care/track-care-costs/financial-toxicity-hp-pdq>>

NIH. **What is cancer?**. Bethesda, Maryland, USA: NIH, 2021. Disponible en: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>>. Acceso en: 19 nov. 2023a.

NIH. **Types of Cancer Treatment**. Bethesda, Maryland, USA: NIH, 2021. Disponible en: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>>. Acceso en: 14 ene. 2024b.

NÓBREGA, E. M. et al.. *The impact of hot air drying on the physical-chemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (Malphigia emarginata) residue*. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n. 02, p. 131-141, abr. 2015. Disponible en: <<https://doi.org/10.1111/jfpp.12213>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

NORAWONG, M.. **New report: 1,600 cancer treatments and vaccines in clinical development**. Washington, DC, USA: PhRMA, 2023. Disponible en: <<https://phrma.org/Blog/New-Report-1600-cancer-treatments-and-vaccines-in-clinical-development>>. Acceso en: 21 feb. 2024.

ODES, E. J. et al.. *Earliest hominin cancer: 1.7-million-year-old osteosarcoma from Swartkrans Cave, South Africa*. **South African Journal of Science**, v. 112, n. 07/08, p. 05, 28 jul. 2016. Disponible en: <<http://dx.doi.org/10.17159/sajs.2016/20150471>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

OLIVEIRA, G. K. DE et al.. *Etnobotânica, etnofarmacologia e farmacologia das espécies Acanthaceae, Aizoaceae, Alismataceae e Amaranthaceae*. **Revista Fitos**, v. 13, n. 04, p. 314-337, 20 dic. 2019. Disponible en: <<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2019.800>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

OPAS. **Câncer**. Washington, D.C., USA: OPAS, 2020. Disponible en: <<https://www.paho.org/pt/topicos/cancer>>. Acceso en: 19 nov. 2023.

PAGÈS, F. et al.. *Immune infiltration in human tumors: a prognostic factor that should not be ignored*. **Oncogene**, v. 29, n. 08, p. 1093-1102, 25 feb. 2010. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/onc.2009.416>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

PATIL, R. B.; KORE, B. A.. *Phytoconstituents, pigments, G.C.M.S. analysis and allelopathy effect of Alternanthera ficoidea (L.) P. Beauv.* **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 10, n. 02, p. 103, 01 feb. 2017. Disponible en: <<https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i2.14498>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

PATIL, R.; KORE, B.. *Morphoanatomy, phenology and palynology of an invasive weed *Alternanthera ficoidea* (L.) P. Beauv.* **Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 12, n. 05, p. 18-23, oct. 2018. Disponible en: <<https://doi.org/10.9790/3008-1305041823>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

PAVLOVA, N. N.; ZHU, J.; THOMPSON, C. B.. *The hallmarks of cancer metabolism: still emerging.* **Cell Metabolism**, v. 34, n. 03, p. 355-377, mar. 2022. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2022.01.007>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

PELICANO, H.; CARNEY, D.; HUANG, P.. *ROS stress in cancer cells and therapeutic implications.* **Drug Resistance Updates**, v. 07, n. 02, p. 97-110, abr. 2004. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.drug.2004.01.004>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

PHAM, H. *et al.* *Effect of extraction solvents and drying methods on the physicochemical and antioxidant properties of *Helicteres hirsuta* Lour. leaves.* **Technologies**, v. 03, n. 04, p. 285-301, 07 dic. 2015. Disponible en: <<https://doi.org/10.3390/technologies3040285>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

PHANIENDRA, A.; JESTADI, D. B.; PERIYASAMY, L.. *Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases.* **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 30, n. 01, p. 11-26, 15 ene. 2015. Disponible en: <<https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

POLI, A.; AGOSTONI, C.; VISIOLI, F.. *Dietary fatty acids and inflammation: focus on the n-6 series.* **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 05, p. 4567, 26 feb. 2023. Disponible en: <<https://doi.org/10.3390/ijms24054567>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

POP, T. D.; DIACONEASA, Z.. *Recent advances in phenolic metabolites and skin cancer.* **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 18, p. 9707, 8 sep. 2021. Disponible en: <<https://doi.org/10.3390/ijms22189707>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

PRASAD, A.; ALIZADEH, E.. *Cell form and function: interpreting and controlling the shape of adherent cells. Trends in Biotechnology*, v. 37, n. 04, p. 347-357, abr. 2019. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.09.007>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

PUBCHEM. **9,12,15-Octadecatrienoic acid**. Bethesda, Maryland, USA: NIH, 2024 (*Pub-Chem Compound Summary for CID 860*). Disponible en: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/860>>. Acceso en: 26 ago. 2023.

PUCKETT, Y.; GARFIELD, K.. **Pancreatic cancer**. Bethesda, Maryland, USA: NIH, 2024. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK518996/>>. Acceso en: 26 ago. 2023.

QAZI, M. A.; MOLVI, K. I.. *Free radicals and their management. American Journal of Pharmacy And Health Research*, v. 06, n. 04, p. 01-10, 20 abr. 2018. Disponible en: <<https://doi.org/10.46624/ajphr.2018.v6.i4.001>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

QUEIROZ, E. Q.. **Compostos fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante de extratos metanólicos de Senna rugosa**. Orientadores: FREITAS, Guilherme Ramos Oliveira (*orientadora*); GUERRA, Joyce Ferreira da Costa (*coorientadora*). 26 f.. *Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - CG- Biotecnologia (Bacharelado em Biotecnologia)*, UFU (Universidade Federal de Uberlândia), Patos de Minas/MG, 2019. Disponible en: <<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/27576>>. Acceso en: 26 ago. 2023.

RAFIEIAN-KOPAIE, M.; NASRI, H.. *On the occasion of world cancer day 2015; the possibility of cancer prevention or treatment with antioxidants: the ongoing cancer prevention researches. International Journal of Preventive Medicine*, v. 06, n. 01, p. 108, 2015. Disponible en: <<https://doi.org/10.4103/2008-7802.169077>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

RANDHIR, R.; LIN, Y.-T.; SHETTY, K.. *Stimulation of phenolics, antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. Process Biochemistry*, v. 39, n. 05, p. 637-646, ene. 2004. Disponible en: <[https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00197-3](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00197-3)>. Acceso en: 06 dic. 2022.

RESHMA, P.; BASAVARAJ, K.. *Potential of an invasive weed Alternanthera ficoidea (L.) P. Beauv as resource of antioxidants. International Journal of Scientific Research and Reviews*, v. 08, n. 02, p. 4041-4046, 2019. Disponible en: <<https://www.ijssr.org/voi8,issue1april-june2019.php>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

RIAZ, M. *et al.*. *Phytobioactive compounds as therapeutic agents for human diseases: a review. Food Science & Nutrition*, v. 11, n. 06, p. 2500-2529, 17 jun. 2023. Disponible en: <<https://doi.org/10.1002/fsn3.3308>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

RODRÍGUEZ, M. *et al.*. *Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. Scielo*, v. 57, n. 03, mayo 2005. Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-83762005000300010>. Acceso en: 06 dic. 2022.

ROJAS, J.; BUITRAGO, A.. *Antioxidant activity of phenolic compounds biosynthesized by plants and its relationship with prevention of neurodegenerative diseases. In: CAMPOS, Maira Rubi Segura. Bioactive compounds: health benefits and potential applications. Sawston, UK: Woodhead Publishing, 2019, p. 03-31 (Food Science, Technology and Nutrition). Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00001-3>>. Acceso en: 26 ago. 2023.*

ROSA, S. *et al.*. *Método de Folin Ciocalteu adaptado para quantificar polifenóis em extratos de erva-mate. Movimenta*, v. 13, n. 03, p. 419-426, 2020. Disponible en: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1131484>>. Acceso en: 26 ago. 2023.

ROY, S. *et al.*. *Alpha-linolenic acid stabilizes HIF-1 α and downregulates FASN to promote mitochondrial apoptosis for mammary gland chemoprevention. Oncotarget*, v. 08, n. 41, p. 70049-70071, 19 sep. 2017. Disponible en: <<https://doi.org/10.18632/oncotarget.19551>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

RUFINO, M. S. M. *et al.*. *Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. Food Research International*, v. 44, n. 07, p. 2072-2075, ago. 2011. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.002>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

SABINO, P.; PEREIRA, N.; CARDOSO, M.. *Capacidade antioxidante total da dieta de pacientes com câncer em tratamento ambulatorial*. **Revista de Enfermagem e Atenção à Saúde**, v. 12, n. 1, 31 mar. 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.18554/reas.v12i1.6560>>. Acesso em: 06 dic. 2022.

SALAS, J. M. Z. *et al.*. *In vitro micropropagation of Alternanthera Ficoidea L. by callus formation on MS medium*. **Journal of Pharmaceutical Negative Results**, v. 13, n. 03, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.47750/pnr.2022.13.03.118>>. Acesso em: 11 sep. 2023.

SAMUDRALA, P. *et al.*. *Evaluation of antitumor activity and antioxidant status of Alternanthera brasiliana against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice*. **Pharmacognosy Research**, v. 07, n. 01, p. 66, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.4103/0974-8490.147211>>. Acesso em: 06 dic. 2022.

SANTOS, M. DE O. *et al.*. *Estimativa de incidência de câncer no Brasil, 2023-2025*. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 69, n. 01, 06 feb. 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2023v69n1.3700>>. Acesso em: 06 dic. 2022.

SANTOS, R. dos; MACHADO, H.. *Quilombolas group and medicinal forest resources in southern Bahia, Brazil. Interações (Campo Grande)*, v. 13, n. 02, dec., 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1518-70122012000200002>>. Acesso em: 11 sep. 2023.

SANTOS JÚNIOR, O. O. *et al.*. *A simple, fast and efficient method for transesterification of fatty acids in foods assisted by ultrasound energy*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140166>>. Acesso em: 06 dic. 2022.

SARIA, M.. *Overview of cancer*. In: WATSON, J. L.. **Your guide to cancer prevention**. 1. ed.. Pittsburgh, Pensilvânia, USA: Oncology Nursing Society, p. 01-11, 2018. Disponível em: <<https://www.ons.org/sites/default/files/2018-10/Your%20Guide%20to%20Cancer%20Prevention%20Sample%20Chapter.pdf>>. Acesso em: 06 dic. 2022.

SCHAFRANSKI, K.. *Extração e caracterização de compostos fenólicos de folhas de amoreira preta (Morus nigra L.) e encapsulamento em esferas de alginato*.: [s.n.]. Orientadores:

CHAVES, Eduardo Sidinei (orientador). 101 f.. *Dissertação (Mestrado) – PPG-BIOTEC (Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia), UTFPR (Universidade Tecnológica Federal do Paraná), Ponta Grossa/PR*. Disponible en: <<https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/3945>>. Acceso en: 26 ago. 2023.

SEGURA-CAMPOS, M. *et al.*. *Fatty acid profile of mero (Epinephelus morio) raw and processed oil captured in the Yucatan Peninsula, Mexico*. **Nutr. Hosp.**, v. 31, n. 02, p. 928-935, 2014. Disponible en: <<https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.2.7735>>. Acceso en: 26 ago. 2023.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P.. *Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – a review*. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820-897, oct. 2015. Disponible en: <<http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.jff.2015.06.018>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

SHARMA, P. *et al.*. *Innovation in cancer therapeutics and regulatory perspectives*. **Medical Oncology**, v. 39, n. 05, p. 76, 23 mayo 2022. Disponible en: <<https://doi.org/10.1007/s12032-022-01677-0>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

SHERR, C. J.; MCCORMICK, F.. *The RB and p53 pathways in cancer*. **Cancer Cell**, v. 02, n. 02, p. 103-112, ago. 2002. Disponible en: <[https://doi.org/10.1016/s1535-6108\(02\)00102-2](https://doi.org/10.1016/s1535-6108(02)00102-2)>. Acceso en: 06 dic. 2022.

SHRESHTHA, S. *et al.*. *Study of total phenol, flavonoid contents and phytochemical screening of methanolic crude extracts of two weed plants*. **Annals of Plant Sciences**, v. 06, n. 06, p. 1645, 02 jun. 2017. Disponible en: <<https://doi.org/10.21746/1651-1654>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

SIEGEL, R. L. *et al.*. *Cancer statistics, 2021*. **Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 01, p. 07-33, 12 jan. 2021. Disponible en: <<https://doi.org/10.3322/caac.21654>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

SILVEIRA, A. da *et al.*. **Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma rápida e reprodutível.**

Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2018. (Comunicado Técnico, n. 421). Disponible en: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/188244/1/CT-421-1642-final.pdf>>.

Acceso en: 11 sep. 2023.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A.. *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 03, p. 144-158, 1965. Disponible en: <<https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

SINHA, T.. *Tumors: benign and malignant*. **Cancer therapy & Oncology International Journal**, v. 10, n. 03, 01 mayo 2018. Disponible en: <<https://doi.org/10.19080/CTOIJ.2018.10.555790>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

SINKALA, M. et al.. *Integrated molecular characterisation of the MAPK pathways in human cancers reveals pharmacologically vulnerable mutations and gene dependencies*. **Communications Biology**, v. 04, n. 01, p. 09, 04 ene. 2021. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/s42003-020-01552-6>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

SMYTH, M. J.; DUNN, G. P.; SCHREIBER, R. D.. *Cancer immunosurveillance and immunoediting: the roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity*. **Adv. Immunol.**, v. 90, p. 01-50, 2006. Disponible en: <[https://doi.org/10.1016/s0065-2776\(06\)90001-7](https://doi.org/10.1016/s0065-2776(06)90001-7)>. Acceso en: 11 sep. 2023.

STOFFEL, E. M.; BRAND, R. E.; GOGGINS, M.. *Pancreatic cancer: changing epidemiology and new approaches to risk assessment, early detection, and prevention*. **Gastroenterology**, v. 164, n. 05, p. 752-765, abr. 2023. Disponible en: <<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2023.02.012>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

STROBEL, O. et al.. *Actual five-year survival after upfront resection for pancreatic ductal adenocarcinoma: who beats the odds?*. **Annals of Surgery**, v. 275, n. 05, p. 962-971, mayo 2022. Disponible en: <<https://doi.org/10.1097/sla.0000000000004147>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

SUNG, H. *et al.*. *Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. **CA: a Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 03, p. 209-249, 04 mayo 2021. Disponible en: <<https://doi.org/10.3322/caac.21660>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

TAKIC, M. *et al.*. *Effects of dietary α -linolenic acid treatment and the efficiency of its conversion to eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in obesity and related diseases*. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4471, 13 jul. 2022. Disponible en: <<https://doi.org/10.3390/molecules27144471>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

TIVERON, A. P.. **Caracterização e identificação de compostos com atividade antioxidante de própolis orgânica brasileira**. Orientadores: ALENCAR, Severino Matias de (orientador). 123 f.. Tese (Doutorado) - PPG-Ciências (Programa de Pós-Graduação em Ciências), USP (Universidade de São Paulo), Piracicaba/SP. Disponible en: <<https://doi.org/10.11606/T.64.2017.tde-04072016-151703>>. Acceso en: 11 sep. 2023.

TRACHOOTHAM, D. *et al.*. *Selective killing of oncogenically transformed cells through a ROS-mediated mechanism by β -phenylethyl isothiocyanate*. **Cancer Cell**, v. 10, n. 03, p. 241-252, sep. 2006. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.08.009>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

TUBBS, A.; NUSSENZWEIG, A.. *Endogenous DNA damage as a source of genomic instability in cancer*. **Cell**, v. 168, n. 04, p. 644-656, feb. 2017. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.01.002>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

UPOT, N. V. *et al.*. *Advances in micro and nanoengineered surfaces for enhancing boiling and condensation heat transfer: a review*. **Nanoscale Advances**, v. 05, n. 05, p. 1232-1270, 2023. Disponible en: <<https://doi.org/10.1039/D2NA00669C>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

VAN STEENSEL, B.; SMOGORZEWSKA, A.; DE LANGE, T.. *TRF2 protects human telomeres from end-to-end fusions*. **Cell**, v. 92, n. 03, p. 401-413, feb. 1998. Disponible en: <[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80932-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80932-0)>. Acceso en: 06 dic. 2022.

VARA-MESSLER, M. *et al.*. *Increased dietary levels of α -linoleic acid inhibit mammary tumor growth and metastasis*. **European Journal of Nutrition**, v. 56, n. 02, p. 509-519, 18 mar. 2017. Disponible en: <<https://doi.org/10.1007/s00394-015-1096-6>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M.. *Plantas medicinais: cura segura?*. **Química Nova**, v. 28, n. 03, p. 519-528, jun. 2005. Disponible en: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000300026>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

VINAY, D. S. *et al.*. *Immune evasion in cancer: mechanistic basis and therapeutic strategies*. **Seminars in Cancer Biology**, v. 35, p. S185-S198, dic. 2015. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2015.03.004>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

WALDUM, H. L. *et al.*. *Classification of tumours*. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 27, n. 01, p. 70, 14 dic. 2008. Disponible en: <<https://doi.org/10.1186/1756-9966-27-70>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

WALLBERG, F.; TENEV, T.; MEIER, P.. *Analysis of apoptosis and necroptosis by fluorescence-activated cell sorting*. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 2016, n. 04, p. pdb.prot087387, 01 abr. 2016. Disponible en: <<https://doi.org/10.1101/pdb.prot087387>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

WANG, S.-C. *et al.*. *α -Linolenic acid inhibits the migration of human triple-negative breast cancer cells by attenuating Twist1 expression and suppressing Twist1-mediated epithelial-mesenchymal transition*. **Biochemical Pharmacology**, v. 180, p. 114152, oct. 2020. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114152>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

WARBURG, O.. *On the origin of cancer cells*. **Science**, v. 123, n. 3191, p. 309-314, 24 feb. 1956. Disponible en: <<https://doi.org/10.1126/science.123.3191.309>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

WIGGINS, A. K. A. *et al.*. *α -Linolenic acid reduces growth of both triple negative and luminal breast cancer cells in high and low estrogen environments*. **Nutrition and Cancer**, v. 67, n.

06, p. 1001-1009, 18 ago. 2015. Disponible en: <<https://doi.org/10.1080/01635581.2015.1053496>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

WILLIAMS, A. B.; SCHUMACHER, B.. *p53 in the DNA-damage-repair process*. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 06, n. 05, p. a026070, mayo 2016. Disponible en: <<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026070>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

WITSCH, E.; SELA, M.; YARDEN, Y.. *Roles for growth factors in cancer progression*. **Physiology**, v. 25, n. 02, p. 85-101, abr. 2010. Disponible en: <<https://doi.org/10.1152/physiol.00045.2009>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

WOOD, C. C. *et al.*. *Seed-specific RNAi in safflower generates a superhigh oleic oil with extended oxidative stability*. **Plant Biotechnology Journal**, v. 16, n. 10, p. 1788-1796, 02 oct. 2018. Disponible en: <<https://doi.org/10.1111/pbi.12915>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

WU, Y.-J. *et al.*. *Sinularin induces apoptosis through mitochondria dysfunction and Inactivation of the p13K/Akt/mTOR Pathway in Gastric Carcinoma Cells*. **Marine Drugs**, v. 14, n. 08, p. 142, 27 jul. 2016. Disponible en: <<https://doi.org/10.3390/md14080142>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

YANG, L. *et al.*. *α -Linolenic acid inhibits human renal cell carcinoma cell proliferation through PPAR- γ activation and COX-2 inhibition*. **Oncology Letters**, v. 06, n. 01, p. 197-202, jul. 2013. Disponible en: <<https://doi.org/10.3892/ol.2013.1336>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

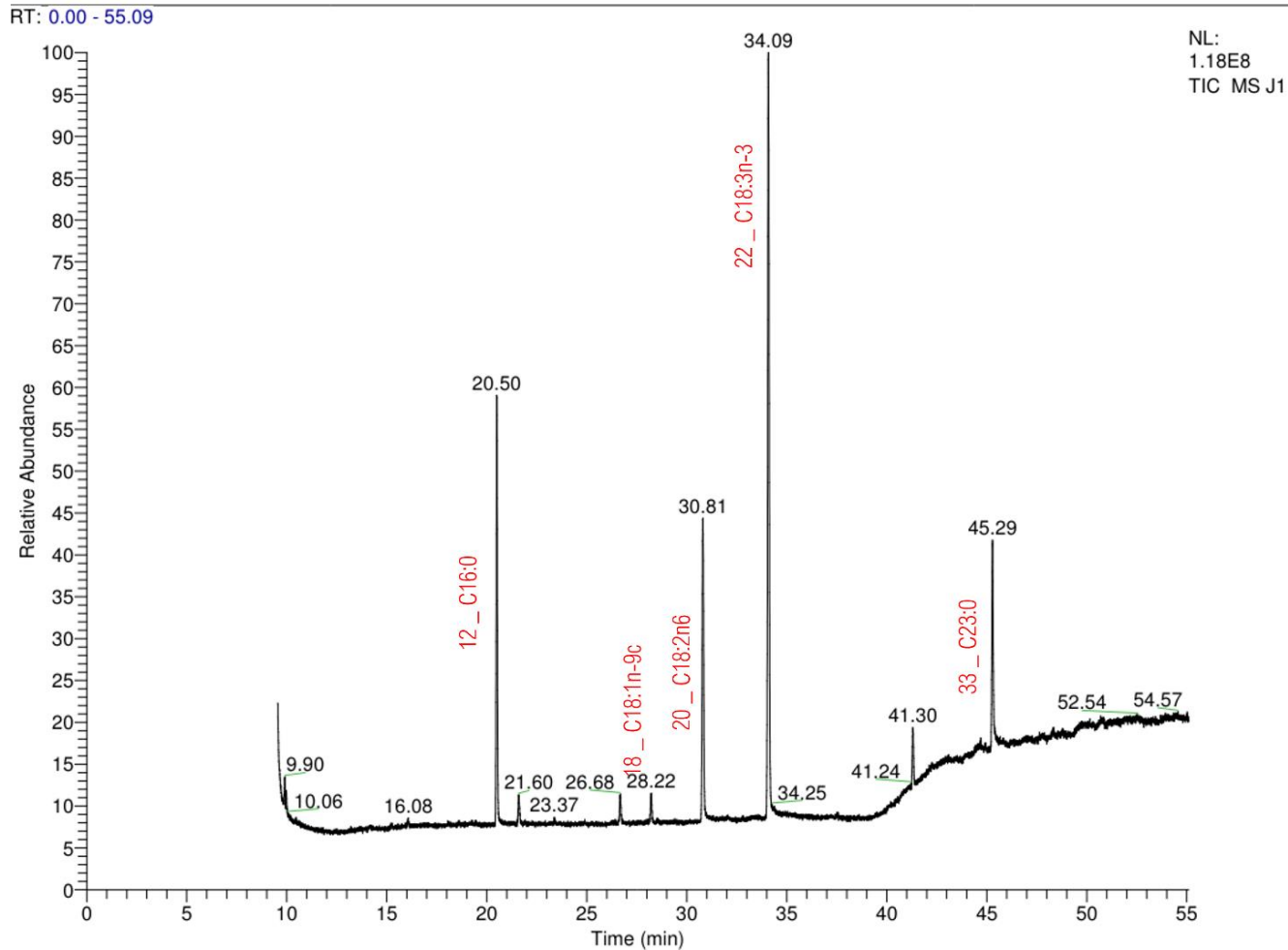
YIN, S. Y. *et al.*. *Therapeutic applications of herbal medicines for cancer patients*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 01-15, 2013. Disponible en: <<https://doi.org/10.1155/2013/302426>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

YING, J. *et al.*. *Induction of caspase-3-dependent apoptosis in human leukemia HL-60 cells by δ -elemene*. **Yakugaku Zasshi**, v. 131, n. 09, p. 1383-1394, 01 sep. 2011. Disponible en: <<https://doi.org/10.1248/yakushi.131.1383>>. Acceso en: 11 sep. 2023.

YUAN, Q. *et al.*. *The review of alpha-linolenic acid: Sources, metabolism, and pharmacology*. ***Phytotherapy Research***, v. 36, n. 01, p. 164-188, 22 ene. 2022. Disponible en: <<https://doi.org/10.1002/ptr.7295>>. Acceso en: 06 dic. 2022.

APÉNDICES

Apéndice A – Cromatograma de la separación e identificación de 34 ácidos grasos en hojas secas de *A. ficoidea* (L.) P. Beauv., por medio de CG/EM

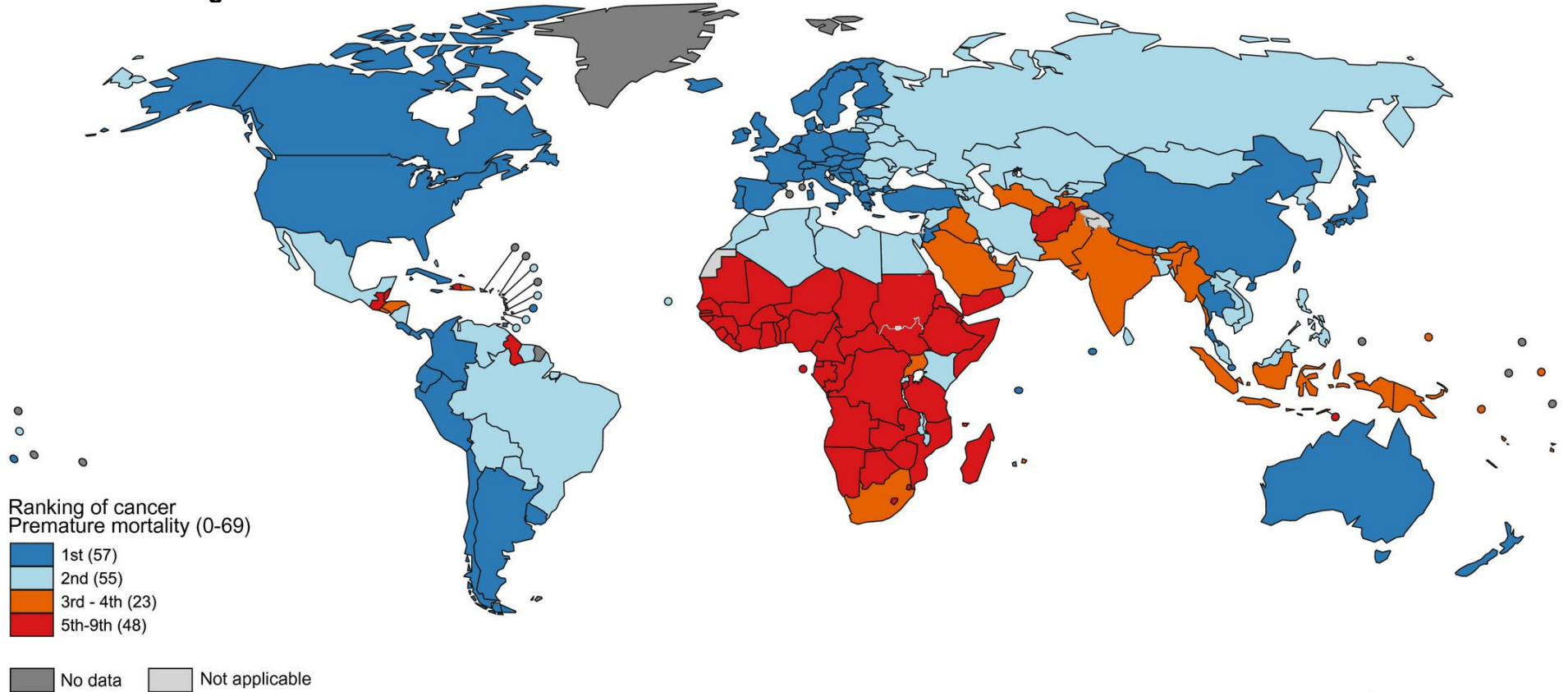


Nota: los Ácidos grasos identificados con mayor intensidad, con su numeración y nombre son: 12, ácido oleico o ácido palmítico; 18, ácido oleico; 20, ácido linoleico; 22, ácido alfa linolénico; 33, ácido tricosanoico representa el patrón interno.

Fuente: autoría propia, 2024.

ANEXOS

Anexo A – Ranking Nacional de Cáncer como Causa de Muerte en Edades <70 Años en 2019



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted and dashed lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

Data source: GHE 2020
Map production: CSU
World Health Organization



Nota: el número de países representados en cada grupo de clasificación se incluye en la leyenda.

Fuente: Organización Mundial de la Salud, 2020.

Anexo B – Permiso de investigación científica



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
Cadastro nº A6D8EEC

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético/CTA, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A6D8EEC**
 Usuário: **Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA)**
 CPF/CNPJ: **11.806.275/0001-33**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético/CTA**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico**

Espécie

Alternanthera Ficoidea (L.) P. Beauv

Fonte do CTA

CTA de origem não identificável

Título da Atividade: **ESTUDIO DE LAS HOJAS DE Alternanthera Ficoidea (L.) P. Beauv Y SU EFECTO ANTITUMORAL**

Equipe

Jorge Luis Maria Ruiz Universidade Federal da Integração Latino-Americana (U
JOHANA ESTHER REGALADO MARTÍNEZ Universidade Federal da Integração Latino Americana

Data do Cadastro: **25/07/2024 10:40:20**
 Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **10:40** de **25/07/2024**.

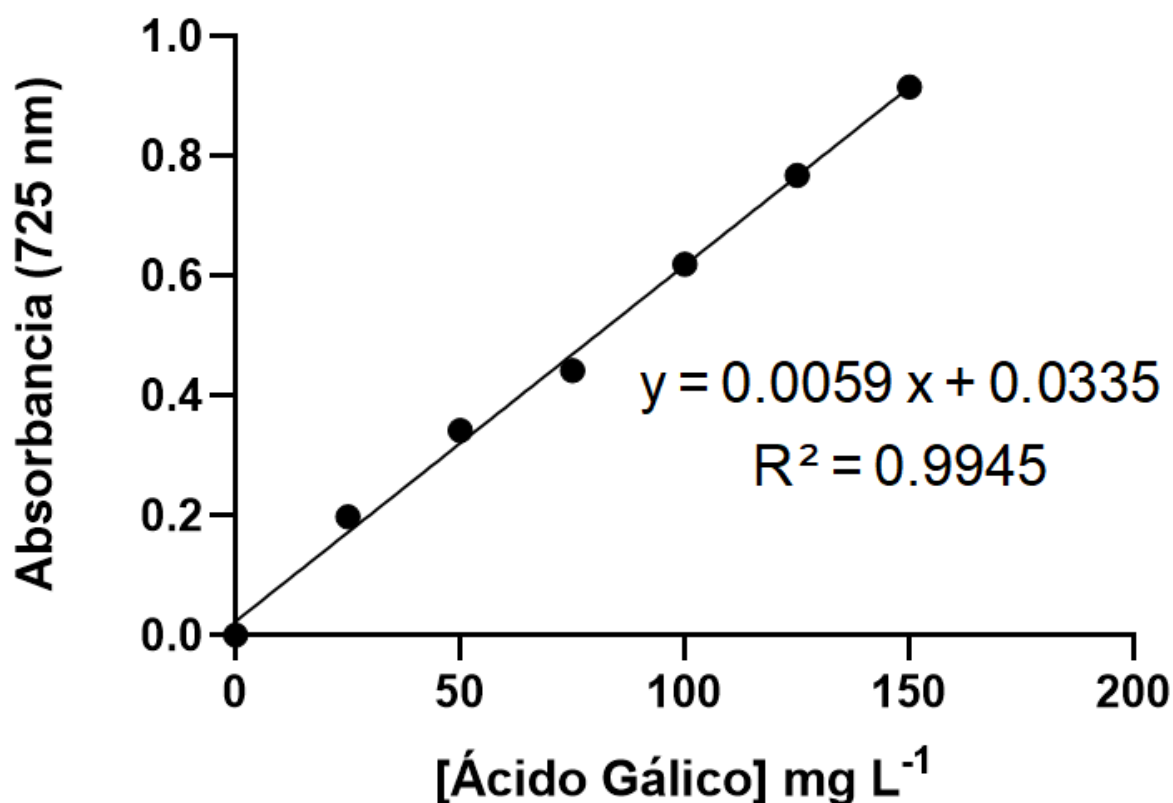


SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**

Fuente: MMA/CGen/SISGEN, 2024.

Anexo C – Curva patrón de ácido gálico para medir compuestos fenólicos

Gráfico 1. Curva de calibración con ácido gálico con lectura $\lambda = 725$ nm para determinar compuestos fenólicos

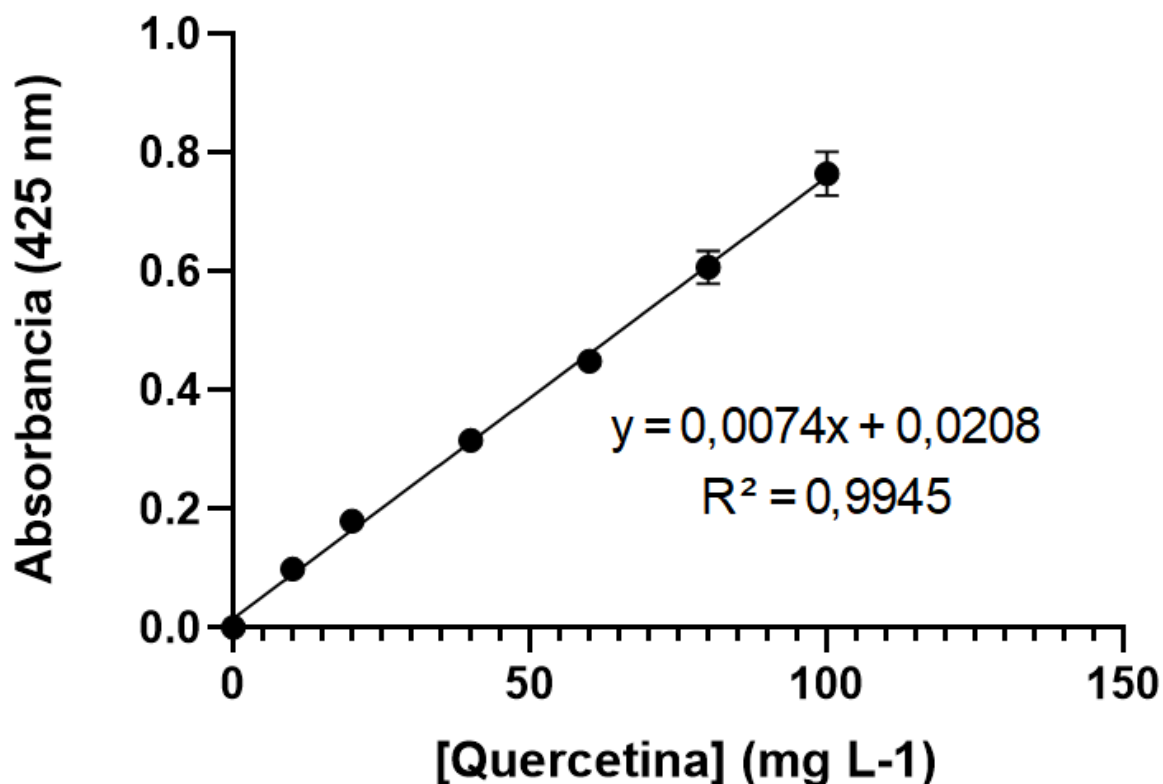


Nota: para construir la curva patrón del ácido gálico, se midió la ABS de las concentraciones conocidas de ácido gálico en un espectrofotómetro a 725 nm por triplicado. Los datos obtenidos se ven representados en el Gráfico 1, junto a la ecuación de la recta. A continuación, se muestra la ecuación de la recta. Fórmula 3 = $y = 0,0059x + 0,0335$, donde y es la ABS medida, y x representa la concentración en mg equivalente de ácido gálico L⁻¹ (mg EAG L⁻¹). Por lo que para encontrar la concentración es necesario despejar x , así: Fórmula 3 = $x = \frac{y-0.0335}{0.0059} \text{ mgEAGL}^{-1}$.

Fuente: Laboratorio cromatografía, edificio de las Aguas. ITAIPU, 2023.

Anexo D – Curva patrón de quercetina para medir flavonoides

Gráfico 2. Curva de calibración con quercetina con lectura $\lambda = 425$ nm para determinar flavonoides

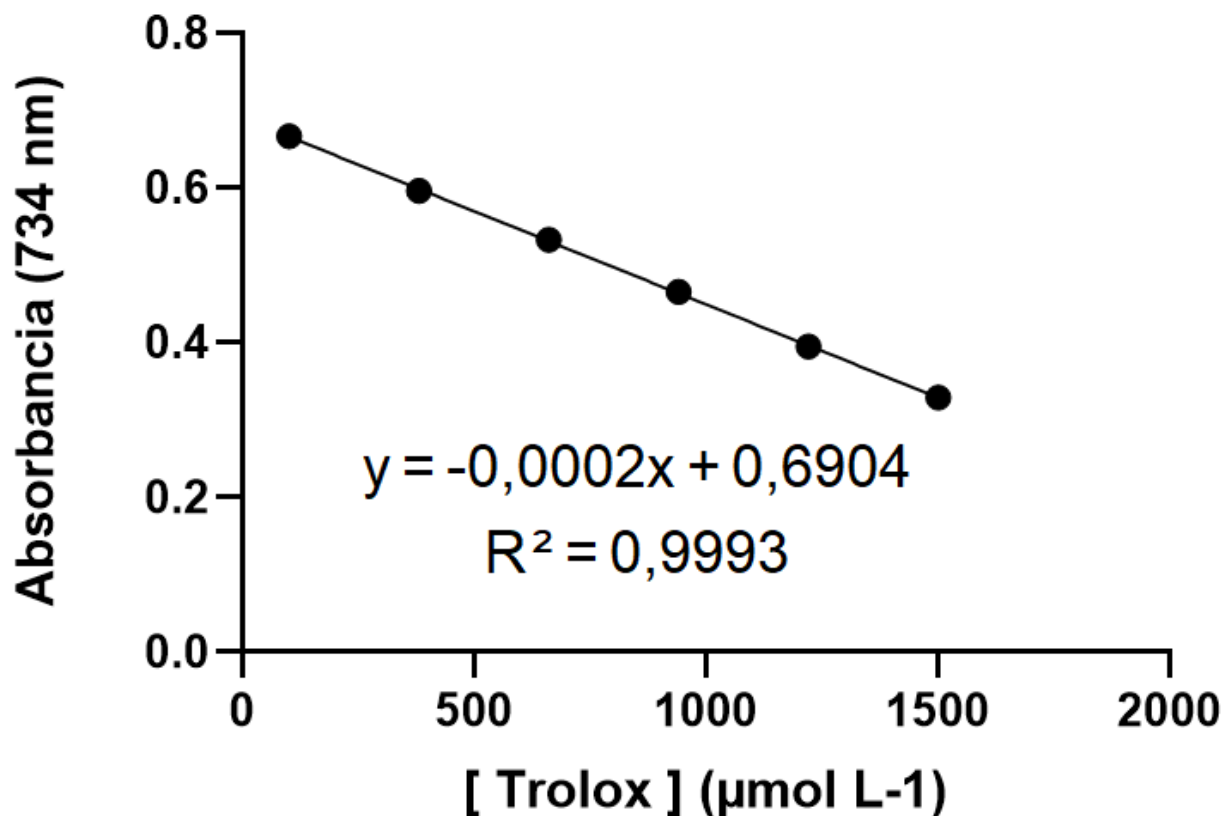


Nota: para construir la curva patrón de quercetina, se midió la ABS de las concentraciones conocidas de quercetina en un espectrofotómetro a 425 nm por triplicado. Los datos se presentan en el gráfico 2 con la ecuación de la recta. A continuación, se muestra la ecuación de la recta. Fórmula 4 = $y = 0.0074x + 0.0208$, donde y es la ABS medida, y x representa la concentración en mg equivalente de quercetina L⁻¹ (mg EQ L⁻¹). Por lo que para encontrar la concentración es necesario despejar x , así: Fórmula 4 = $x = \frac{y - 0.0208}{0.0074} \text{ mgEQL}^{-1}$.

Fuente: Laboratorio cromatografía, edificio de las Aguas. ITAIPU, 2023.

Anexo E – Curva patrón de trolox para análisis ABTS

Gráfico 3. Curva de calibración con trolox con lectura $\lambda = 734$ nm para análisis de ABTS

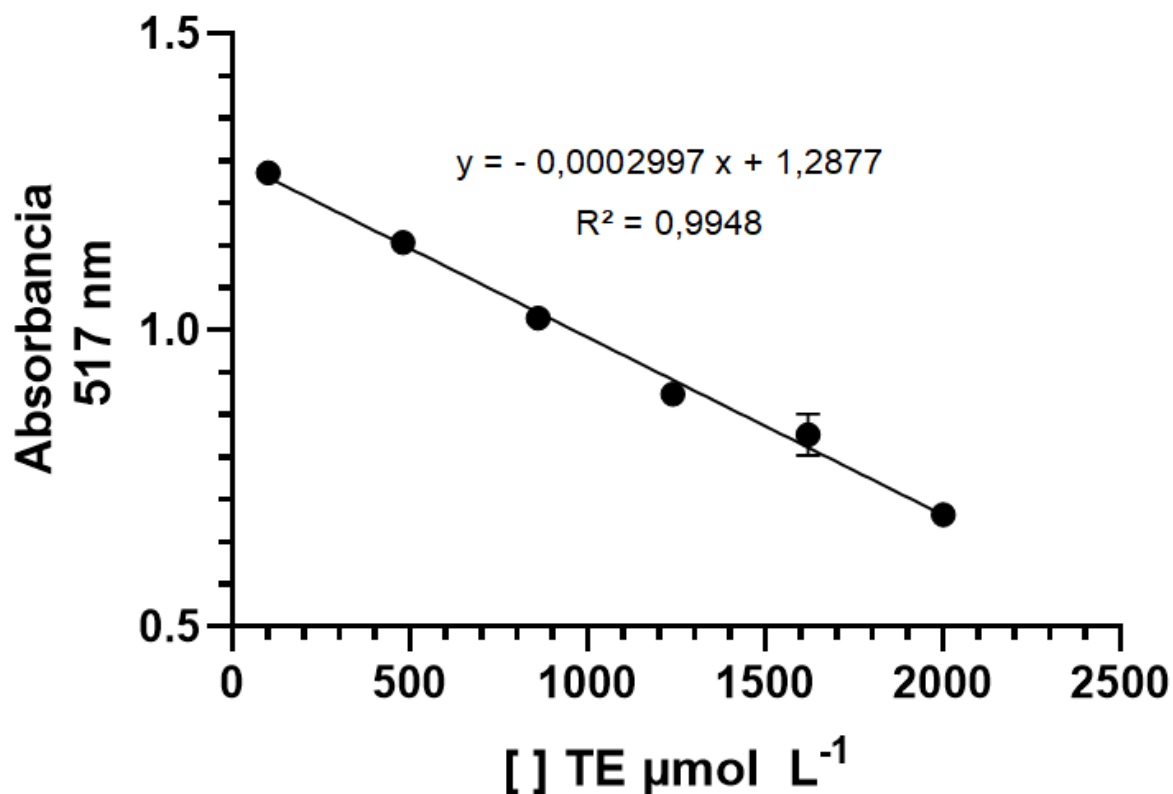


Nota: para construir la curva patrón de Trolox para análisis ABTS, se midió la ABS de las concentraciones conocidas de Trolox en un espectrofotómetro a 734 nm, por triplicado. Los datos se presentan en el gráfico 3 con la ecuación de la recta. A continuación, se muestra la ecuación de la recta. Fórmula 5 = $y = -0,0002x + 0,6904$, donde y es la ABS medida, y x representa la concentración del extracto equivalente a $\mu\text{mol TE L}^{-1}$. Por lo que para encontrar la concentración es necesario despejar x , así: Fórmula 5 = $x = \frac{y-0,6904}{-0,0002}$ [extracto] $\mu\text{mol TEL}^{-1}$.

Fuente: Laboratorio cromatografía, edificio de las Aguas. ITAIPU, 2023.

Anexo F – Curva patrón de trolox para análisis DPPH

Gráfico 4. Curva de calibración con trolox, lectura $\lambda = 517$ nm para análisis de DPPH

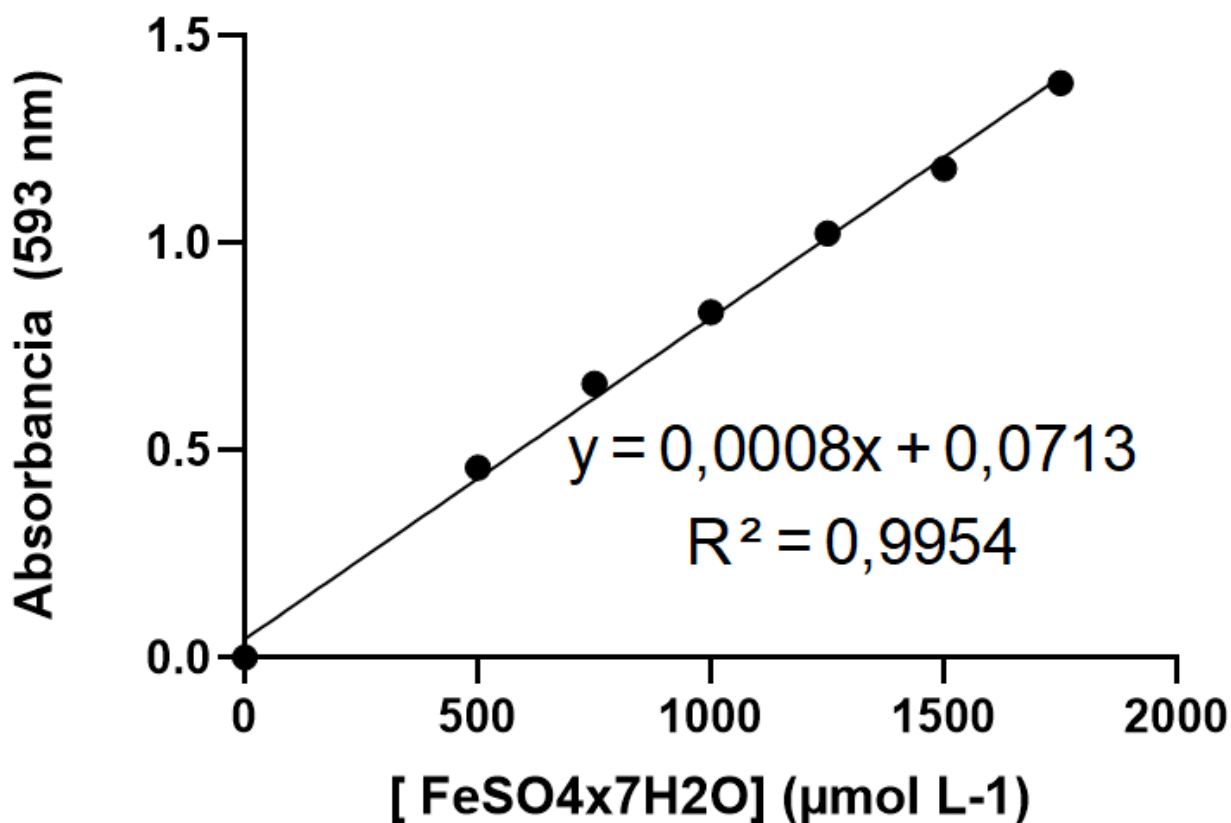


Nota: para construir la curva de calibración equivalente de Trolox para análisis DPPH, se midió la ABS a 517 nm de las concentraciones conocidas de Trolox en un espectrofotómetro por triplicado. Los datos obtenidos se ven representados en el Gráfico 4, junto a la ecuación de la recta. A continuación, se muestra la ecuación de la recta. Fórmula 6 = $y = -0,0002997x + 1,2877$, donde y es la ABS medida, y x representa la concentración del extracto equivalente a $\mu\text{mol TE L}^{-1}$. Por lo que para encontrar la concentración es necesario despejar x , así: Fórmula 6 = $x = \frac{y-1,2877}{-0,0002997} [\text{extracto}] \mu\text{mol TEL}^{-1}$.

Fuente: Laboratorio cromatografía, edificio de las Aguas. ITAIPU, 2024.

Anexo G – Curva patrón de ácido gálico para medir FRAP

Gráfico 5. Curva de calibración de ácido gálico, lectura $\lambda = 593$ nm para medir FRAP



Nota: para construir la curva de calibración del patrón de sulfato de hierro (II), para medir poder reductor de FRAP, se midió la ABS a 593 nm, de las concentraciones conocidas de sulfato de hierro (II) en un espectrofotómetro por triplicado. Los datos se presentan en el gráfico 5 con la ecuación de la recta. A continuación, se muestra la ecuación de la recta. Fórmula 7 = $y = 0,0008x + 0,0713$, donde y es la ABS medida, y x representa el poder de reducción en $\mu\text{mol de Fe (II) L}^{-1}$ del extracto. Por lo que para encontrar la concentración es necesario despejar x , así: Fórmula 7 = $x = \frac{y - 0,0713}{0,0008} \mu\text{mol de Fe (II) L}^{-1}$.

Fuente: Laboratorio cromatografía, edificio de las Aguas. ITAIPU, 2023.