



**INSTITUTO LATINOAMERICANO DE CIENCIAS DE
LA VIDA Y LA NATURALEZA**

PROGRAMA DE POSGRADO EN BIOCIENCIAS

**EFEECTO ANTITUMORAL *IN VITRO* DEL ACEITE ESENCIAL DE ÑANDYPÁ (*Genipa
americana* L.) SOBRE LÍNEAS CELULARES DE CARCINOMA PANCREÁTICO
HUMANO (MIA PaCa2)**

EVA RUZENA MONTIEL FERNÁNDEZ

Foz do Iguaçu, Estado de Paraná

2023

EFEECTO ANTITUMORAL *IN VITRO* DEL ACEITE ESENCIAL DE ÑANDYPÁ (*Genipa americana* L.) SOBRE LÍNEAS CELULARES DE CARCINOMA PANCREÁTICO HUMANO (MIA PaCa2)

EVA RUZENA MONTIEL FERNÁNDEZ

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Jorge Luis Maria Ruiz

Coorientador(a): Prof(a). Dr(a). Jociani Ascari

Foz do Iguaçu, Estado de Paraná

2023

EFFECTO ANTITUMORAL *IN VITRO* DEL ACEITE ESENCIAL DE ÑANDYPÁ (*GENIPA AMERICANA* L.) SOBRE LÍNEAS CELULARES DE CARCINOMA PANCREÁTICO HUMANO (MIA PACA2)

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

BANCA EXAMINADORA

Dr(a). Jorge Luis Maria Ruiz
Orientador(a)
UNILA

Dr(a). Kevilson Fernandes Viana
Examinador(a)
UNILA

Dr(a). Hilda Inés Ucedo Saucedo
Examinador(a)
UC

Foz do Iguaçu, Estado de Paraná, 09 de junho de 2023.

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

M791

Montiel Fernández, Eva Ruzena.

Efeito antitumoral *in vitro* do óleo essencial de Ñandypá (*Genipa americana L.*) sobre linhas celulares de carcinoma pancreático humano (MIA PaCa2) / Eva Ruzena Montiel Fernández. - Foz do Iguaçu, 2023.

79 f.: il.

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, 2023.

Orientador: Jorge Luis Maria Ruiz.

Coorientador: Jociani Ascari.

1. *Genipa americana L.* 2. Câncer. 3. Pâncreas. I. Ruiz, Jorge Luis Maria. II. Título.

CDU 616-006

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco infinitamente a mi orientador por su paciencia y por darme la oportunidad de conocer el mundo de la genética. Seguidamente, a mi co orientadora por recibirme tan amablemente en su casa de estudios. A todo el plantel de profesores del posgrado en Biociencias, que abrieron mi mente a un sin fin de posibilidades.

Un especial agradecimiento a la Entidad Itaipu Binacional (IB) y a la Dra. Carmen Coronel; encargada del Dpto. De Plantas Medicinales de la entidad IB, por toda su ayuda y gestión en el proceso de recolección de las muestras de *Genipa americana* L..

MONTIEL FERNÁNDEZ, Eva Ruzena. 2023. **Efeito antitumoral in vitro do óleo essencial de Ñandypá (Genipa americana L.) sobre linhas celulares de carcinoma pancreático humano (MIA PaCa2)**. Orientadores: Dr. Jorge Luis Maria Ruiz (orientador); Dra. Jociani Ascari (coorientador). 79 f.. Dissertação (Mestrado) - PPG-BC (Programa de Pós-Graduação em Biociências), UNILA (Universidade Federal da Integração Latino-Americana), Foz do Iguaçu.

RESUMO

A biodiversidade sudamericana ainda é um reservatório de compostos novos com possível ação terapêutica. Atualmente, o câncer é uma das maiores problemáticas a nível mundial, com as maiores taxas de morbidade e mortalidade, e com poucos tratamentos, muitos deles só paliativos. A Ñandypá tem sido relatada como uma planta medicinal com variadas propriedades. Neste trabalho, o objetivo foi determinar o efeito antitumoral in vitro de um óleo essencial de Ñandypá sobre linhagens celulares de carcinoma pancreático humano (MIA PaCa2). As folhas de Ñandypá foram secas e trituradas, esse material foi utilizado para a preparação do óleo essencial. Células tumorais pancreáticas e células fibroblásticas normais foram submetidas à avaliação da atividade antitumoral do óleo de Genipa americana L. Foram feitas diluições seriadas de 0,1% - 0,5% - 1% - 1,5% -5% e 10% do aceite essencial e os efeitos da viabilidade celular foram avaliados usando o ensaio MTT. Por fim, os resultados foram lidos em espectrofotômetro a 570nm e 630nm. Os resultados da exposição das células a quatro horas de tratamento com as diferentes concentrações mostraram uma alta taxa de mortalidade celular, sendo mais pronunciada em altas concentrações do óleo G. americana L. Desta forma apresentamos evidências de que o óleo poderia vir a ter potencial como droga terapêutica para tratar o câncer pancreático. No entanto, ainda não se sabe qual componente exato do óleo é o que produz o efeito antitumoral.

Palavras-chave: Genipa americana L.; câncer; pâncreas; antitumoral.

MONTIEL FERNÁNDEZ, Eva Ruzena. 2023. **Efecto antitumoral in vitro del aceite esencial de Ñandypá (*Genipa americana* L.) sobre líneas celulares de carcinoma pancreático humano (MIA PaCa2)**. Asesores: RUIZ, Jorge Luis Maria (asesor); ASCARI, Jociani (co-asesor). 79 h.. Disertación (Maestría) - PPG-BC (Programa de Postgrado en Biociencias), UNILA (Universidad Federal de la Integración Latinoamericana), Foz do Iguaçu.

RESUMEN

La biodiversidad sudamericana sigue siendo un reservorio de nuevos compuestos con posible acción terapéutica. Actualmente, el cáncer es uno de los mayores problemas a nivel mundial, con las mayores tasas de morbilidad y mortalidad, y con pocos tratamientos, muchos de ellos únicamente paliativos. Ñandypá ha sido reportada como una planta medicinal con variadas propiedades. En este trabajo, el objetivo fue determinar el efecto antitumoral *in vitro* de un aceite esencial de Ñandypá sobre líneas celulares de carcinoma pancreático humano (MIA PaCa2). Se secaron y trituraron hojas de Ñandypá, este material se utilizó para preparar el aceite esencial. Las células tumorales pancreáticas y las células de fibroblastos normales se sometieron a evaluación de la actividad antitumoral del aceite de *Genipa americana* L.. Se realizaron diluciones seriadas de 0.1% - 0.5% - 1% - 1.5% -5% y 10% de aceite esencial y se evaluaron los efectos de la viabilidad celular usando el ensayo MTT. Finalmente, los resultados se leyeron en un espectrofotómetro a 570nm y 630nm. Los resultados de exponer las células a cuatro horas de tratamiento con las diferentes concentraciones mostraron una alta tasa de mortalidad celular, siendo más pronunciada en altas concentraciones del aceite de *G. americana* L.. De esta forma, presentamos evidencia de que el aceite esencial podría tener potencial como fármaco terapéutico para tratar el cáncer de páncreas. Sin embargo, aún no se sabe qué componente exacto del aceite es el que produce el efecto antitumoral.

Palabras clave: *Genipa americana* L.; cáncer; páncreas; antitumoral.

MONTIEL FERNÁNDEZ, Eva Ruzena. 2023. *In vitro antitumor effect of Ñandypá essential oil (Genipa americana L.) on human pancreatic carcinoma cell lines (MIA PaCa2)*. Advisors: RUIZ, Jorge Luis Maria (advisor); ASCARI, Jociani (co-advisor). 79 s.. Master's thesis (Master's degree) - PPG-BC (Graduate Program in Biosciences), UNILA (Federal University of Latin American Integration), Foz do Iguaçu.

ABSTRACT

South American biodiversity continues to be a reservoir of new compounds with possible therapeutic action. Currently, cancer is one of the biggest problems worldwide, with the highest morbidity and mortality rates, and with few treatments, many of which are only palliative. Ñandypá has been reported as a medicinal plant with various properties. This work aimed to determine the *in vitro* antitumor effect of essential oil from Ñandypá on human pancreatic carcinoma cell lines (MIA PaCa2). Ñandypá leaves were dried and crushed, this material was used to prepare the essential oil. Pancreatic tumor cells and normal fibroblast cells were subjected to evaluation of the antitumor activity of the oil of *Genipa americana* L. Serial dilutions of 0.1% - 0.5% - 1% - 1.5% -5% and 10% of essential oil were made and the effects were evaluated. of cell viability using the MTT assay. Finally, the results were read in a spectrophotometer at 570nm and 630nm. The results of exposing the cells to four hours of treatment with the different concentrations showed a high cell mortality rate, being more pronounced in high concentrations of *G. americana* L. oil. Thus, we present evidence that essential oil could have potential as a therapeutic drug to treat pancreatic cancer. However, it is not yet known which exact component of the oil is the one that produces the antitumor effect.

Keywords: *Genipa americana* L., cancer, páncreas, antitumor.

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1. Árbol de <i>G. americana</i> L.	15
Imagen 2. Hojas, flor y fruto de <i>Genipa americana</i> L.	16
Imagen 3. Zonificación para arborización según tipo de suelo para el Área Metropolitana de Asunción	17
Imagen 4. Mapa de distribución en Brasil	18
Imagen 5. Esquema de los lípidos del aceite esencial de <i>Genipa americana</i> L. hallados en la literatura	21
Imagen 6. Esquema de los compuestos fenólicos del aceite esencial de <i>Genipa americana</i> L. hallados en la literatura	22
Imagen 7. Tasas mundiales estandarizadas de incidencia por edad, masculino (gama de colores marinos) y femenino (gama de color rosa)	28
Imagen 8. Distribución de casos y muertes por los 10 principales tipos de cáncer en 2018 para ambos sexos	29
Imagen 9. Incidencia, mortalidad y prevalencia del cáncer en Latinoamérica	31
Imagen 10. Perfil de país con cáncer de Paraguay	31
Imagen 11. Perfil de país con cáncer de Brasil	32
Imagen 12. Máquina utilizada para determinar aceites volátiles (mm)	37
Imagen 13. Configuración típica de GC	39
Imagen 14. Secado de las hojas de <i>G. americana</i> L. en estufa	76
Imagen 15. Vista de cerca del secado de las hojas de <i>G. americana</i> L. en estufa	76
Imagen 16. Molienda de las hojas secas de <i>G. americana</i> L.	77
Imagen 17. Hojas secas y molidas de <i>G. americana</i> L.	77
Imagen 18. Rendimiento del aceite esencial de <i>G. americana</i> L.	78
Imagen 19. Extracción del aceite esencial de <i>G. americana</i> L.	78
Imagen 20. Equipo utilizado para la extracción del aceite esencial de <i>G. americana</i> L.	78
Imagen 21. Ensayo MTT en placa con 96 pocillos, vista panorámica.	79
Imagen 22. Ensayo MTT en placa con 96 pocillos, vista aumentada.	79

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Regresión lineal de relación de viabilidad celular y concentración	42
Gráfico 2. Gráfico de sedimentación para dos variables de relación de viabilidad celular y concentración	43
Gráfico 3. Gráfico de barras para dos variables de relación de viabilidad celular y concentración	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Usos y preparación de <i>G. americana</i> L.	19
Tabla 2. Antecedentes sobre identificación de los componentes del aceite esencial de <i>Genipa americana</i> L.	23
Tabla 3. Composición relativa (%) de los componentes identificados en los análisis	44
Tabla 4. Relación de los compuestos químicos con propiedades terapéuticas encontrados en la literatura	70

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	13
1.1. Referencial teórico	13
1.1.1. Características botánicas del Ñandypá (<i>Genipa americana</i> L.)	14
1.1.1.1. <i>Taxonomía vegetal</i>	14
1.1.1.2. <i>Hábitat</i>	14
1.1.1.3. <i>Descripción dendrológica</i>	14
1.1.1.4. <i>Anatomía vegetal de las hojas</i>	15
1.1.2. Área de distribución natural y de naturalización del Ñandypá (<i>Genipa americana</i> L.)	16
1.1.2.1. <i>En Paraguay</i>	16
1.1.2.2. <i>En Brasil</i>	17
1.1.3. Etnofarmacología	18
1.1.4. Aceite esencial	19
1.1.5. Química extractiva y estructural del Ñandypá (<i>G. americana</i> L.)	20
1.1.6. Concepto de cáncer	25
1.1.7. Carcinogénesis	25
1.1.8. Mecanismo de acción de las células tumorales	26
1.1.8.1. <i>Necrosis</i>	26
1.1.8.2. <i>Apoptosis</i>	26
1.1.8.3. <i>Autofagia</i>	26
1.1.8.4. <i>Metástasis</i>	27
1.1.9. Clasificación del cáncer	27
1.1.10. Epidemiología del cáncer	27
1.1.11. Clasificación del cáncer de páncreas	30
1.1.12. Epidemiología del cáncer de páncreas	30
1.1.13. Terapias contra el cáncer de páncreas	33
1.2. Justificación	34
1.3. Pregunta guía	34
2. OBJETIVOS	35
2.1. General	35
2.2. Específicos	35
3. MATERIAL Y MÉTODOS	36
3.1. Aceite esencial de Ñandypá (<i>Genipa americana</i> L.)	36

3.1.1. Técnica de extracción del aceite esencial de Ñandypá (<i>Genipa americana</i> L.)	36
3.1.2. Caracterización de las moléculas constituyentes del aceite esencial de Ñandypá (<i>Genipa americana</i> L.)	37
3.1.2.1. <i>Análisis cromatográficos</i>	37
3.2. Líneas celulares del carcinoma pancreático humano (MIA PACA2)	39
3.2.1. Métodos de cultivo celular	39
3.2.1.1. <i>Cambio de medio</i>	39
3.2.1.2. <i>Cultivo de células tumorales derivadas de cáncer de páncreas</i>	40
3.2.2. Método para la evaluación de la actividad antitumoral	40
4 RESULTADOS	42
4.1 Efecto antitumoral del aceite de <i>Genipa americana</i> L.	42
4.2. Identificación de componentes de aceites esenciales	44
4.3. Conceptos básicos de los componentes del aceite esencial de <i>Genipa americana</i> L.	45
5. DISCUSIÓN	47
6. CONSIDERACIONES FINALES	50
7. REFERENCIAS	51
APÉNDICES	69
Apêndice A – Permiso para la recolección de las muestras	69
ANEXOS	70
Anexo A – Componentes químicos	70
Anexo B – Proceso de extracción del aceite esencial de <i>G. americana</i> L.	76
Anexo C – Ensayo MTT	79

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Referencial teórico

El ñandypá (*Genipa americana* L.) cuyo nombre en el idioma guaraní (lengua de la familia tupí guaraní) proviene de “ñandy” que significa grasa y “pá” que significa terminar, palabra que deriva de sus propiedades de disminuir los niveles de colesterol atribuidas por la etnofarmacología paraguaya.

Esta planta es igualmente conocida por los nombres vernáculos de: jenipapero, jenipapo, jenipaba (Brasil); Bigrande, bí (Bolivia); jago (Colombia); guaifil (Costa Rica); irayol, tinadientes (El Salvador y Guatemala); maluco, tejoruco (México); Gigualti, tapaculo, ygualti (Nicaragua); guayatil blanco, jagua blanca, jagua de montana, jagua negra (Puerto Rico); taproepa, tapoeripa (Surinam); bois de fer (Guyana Francesa) y Marmalade box, Guianas tree (Estados Unidos) (SILVA, 1977).

Es un árbol cultivado desde tiempos pre-colombinos de tamaño medio con corteza liza, de color claro, tronco recto, ramas en verticilos, hojas de color verde oscuro y fruta con una fragancia y color parecidos a la pera (FRANCIS; LOWE, 2000). La actividad antiséptica del ñandypa ha sido reportada por investigadores (BRANDÃO *et al.*, 2017; CÁCERES A; MACHAÍN SINGER, 2001; GONZALEZ, 2009), dentro de las culturas que rondaban el Amazonas (indígenas peruanos y guaraníes).

La actividad antimicrobiana sobre *Bacillus subtilis* y *Kloeckera apiculata* fue reportada por Ojeda (1966). Por su parte, De Almeida Barbos (2008) demostró que el aceite de *Genipa* exhibió una gran actividad sobre varios microorganismos evaluados (Gram positivos: *S. epidermis*, *S. aureus*, *S. aureus MRSA*, *E. faecium*; Gram negativos: *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. Coli* e *levadura: C. albicans*), siendo más eficaz contra las bacterias Gram positivas.

En relación a la cantidad de las hojas del Ñandypá, Soria; Ramos (2015) expresan que la dosis a ser utilizada depende del órgano de la planta variando desde 1 g cuando se utilizan flores, 5 g hojas, hasta un máximo de 50 g cuando se emplean corteza o raíces.

Considerando que el Ñandypá es común en la región de la Triple Frontera (Argentina, Brasil y Paraguay) y que ya ha sido descrito en la Medicina Tradicional como capaz de combatir infecciones bacterianas y parasitarias (MANGO MAMANI; DURAND ALDAVA, 2018), en este proyecto se propone evaluar la actividad antitumoral *in vitro* de un aceite esencial de Ñandypá sobre líneas celulares de carcinoma pancreático humano (MIA PaCa 2).

1.1.1. Características botánicas del Ñandypá (*Genipa americana* L.)

1.1.1.1. Taxonomía vegetal

El Ñandypá según la clasificación Cronquist (de las plantas vasculares con flores y frutos o angiospermas) proviene de la clase *Equisetopsida* C. Agardh, subclase *Magnoliidae* Novák ex Takht., superorden *Asteranae* Takht., orden *Gentianales* Juss. ex Bercht. & J. Presl, familia *Rubiaceae* Juss., del género *Genipa* L. y de la especie *Genipa americana* L. (MISSOURI BOTANICAL GARDEN, 2021).

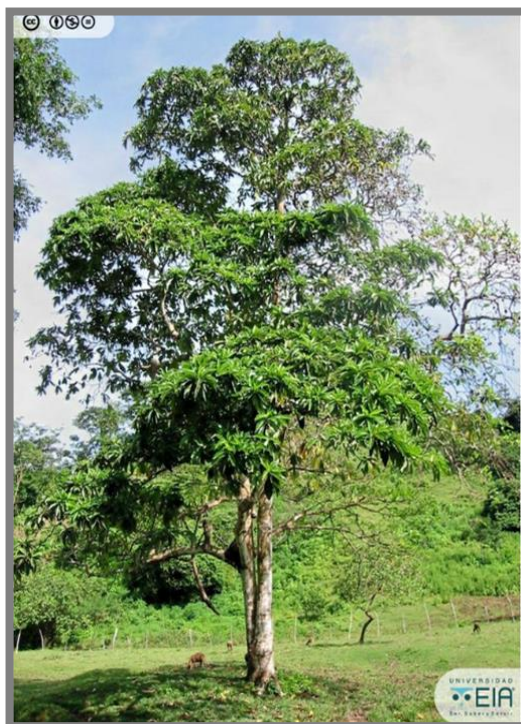
1.1.1.2. Hábitat

Crece en bosques abiertos, suelo de zona baja y de transición bosque abierto/sabana, preferentemente sobre arena de color claro, arcilla o ricos suelos de origen fluvial de la varzea (ecosistema forestal de la cuenca amazónica) sin necesidad de drenaje siempre y cuando el agua no sea estancada (FAO, 1986; MADES/PNUD/FMAM, 2019).

1.1.1.3. Descripción dendrológica

Árboles de tamaño pequeño a mediano, tiene un altura de 8 a 20 m y 0,2 a 0,5 m de diámetro; el fuste es recto, algo corto y cilíndrico, en ocasiones con ramificación principal pseudo-verticilada ; la copa es ancha, alargada y formada por ramas casi horizontales; el follaje es verde oscuro, esparcido cerca del tronco, denso en la parte exterior de la copa y dispuesto en estratos distintos (Imagen 1); la cara externa de la corteza es lisa de color gris a castaño con arrugas horizontales; la corteza es blanco crema de 1,5 a 2 cm de espesor, blanda y arenosa; la albura es blanca y dura y la madera amarillenta, blanda y medianamente pesada (ORTEGA TORRES; STUTZ DE ORTEGA; SPICHIGER, 1989; PALACIOS, 2011; PIN *et al.*, 2009).

Imagen 1. Árbol de *G. americana* L.



Fuente: Universidad EIA, 2018.

1.1.1.4. Anatomía vegetal de las hojas

Características macroscópicas: Hojas opuestas, simples, coriáceas, espatulada, margen entero-sinuoso con punta larga y borde entero (Imagen 2). Las hojas se encuentran agrupadas en los extremos de las ramas; estípulas ampliamente triangulares, 8-12 de medio largo; pecíolo 15 mm de largo, casi cilíndrico, hoja obovoide a oblongo-obovoide, 10-35 cm de largo por 7-10 cm de ancho, ápice agudo a acuminado, base decurrente, discoloras, atenuada, penninervia y pubescentes en el dorso, márgenes enteros, nervios subcoriáceos, glabros, laterales casi paralelos. (FAO, 1986; GONZÁLEZ DE GARCÍA *et al.*, 2011; ORTEGA TORRES; STUTZ DE ORTEGA; SPICHIGER, 1989; PIN *et al.*, 2009).

Características microscópicas: a. La superficie foliar comprende células epidérmicas poligonales de bordes ligeramente sinuosos y de paredes engrosadas; estomas restringidas a la epidermis inferior de tipo anisocítico y anomocítico; tricomas eglandulares pluricelulares cortos. Drusas en ambas epidermis. b. La sección transversal de la lámina foliar comprende epidermis superior e inferior uniestratificadas; con células epidérmicas rectangulares, de mayor tamaño las superiores con respecto a las inferiores; cutícula gruesa. Tricomas eglandulares uni y pluricelulares cortos con núcleos bien patentes en la epidermis inferior. Drusas en células idioblásticas en el mesófilo. c. La nervadura central en

transcorte es biconvexa en ambas epidermis y uniestratificada, con cutícula gruesa. d. La sección transversal del pecíolo comprende tricomas eglandulares pluricelulares cortos; epidermis uniestratificada, células parenquimáticas en la región cortical y medular (GONZÁLEZ DE GARCÍA *et al.*, 2011).

Imagen 2. Hojas, flor y fruto de *Genipa americana* L.



Fuente: BRITTON, 1934.

1.1.2. Área de distribución natural y de naturalización del Ñandypá (*Genipa americana* L.)

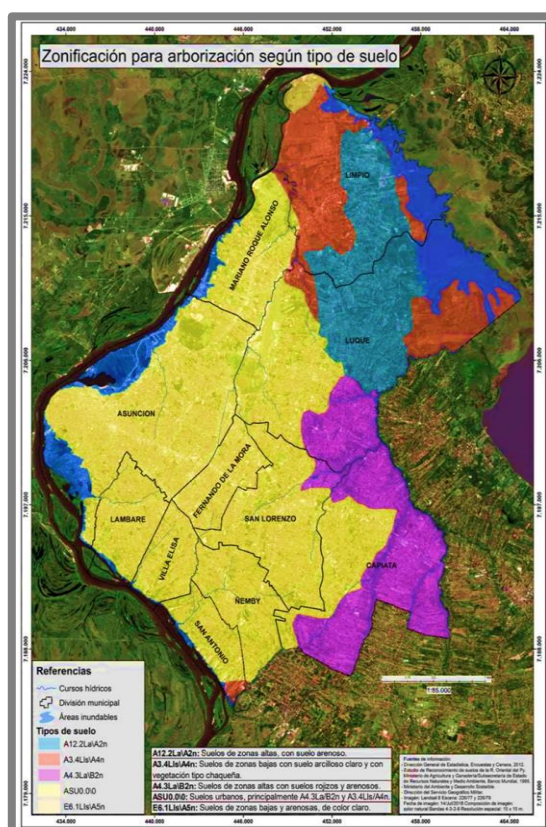
Ha sido ampliamente distribuido a través de los trópicos húmedos americanos, de transición y muchas partes de los subtrópicos americanos antes del descubrimiento de las Américas (FAO, 1986; PALACIOS, 2011).

1.1.2.1. En Paraguay

Fito fisionomía: especie típica de los bosques ripario de la cuenca del río Paraguay y Paraná (MADES/PNUD/FMAM, 2019). Según Pérez de Molas, (2016), p. 158: “Bosque Húmedo de la Región Oriental, Bosque Subhúmedo del Cerrado, Bosque Sub Húmedo Inundable del Río Paraguay, Bosque Seco Chaqueño”(Imagen 3).

Distribución: se distribuye en los siguientes departamentos: Amambay, Caaguazú, Canindeyú, Central, Concepción, Cordillera, San Pedro, Paraguari y Presidente Hayes (GONZÁLEZ DE GARCÍA *et al.*, 2011; PIN *et al.*, 2009).

Imagen 3. Zonificación para arborización según tipo de suelo para el Área Metropolitana de Asunción



Fuente: Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (MADES) *et al.*, 2019, p. 52.

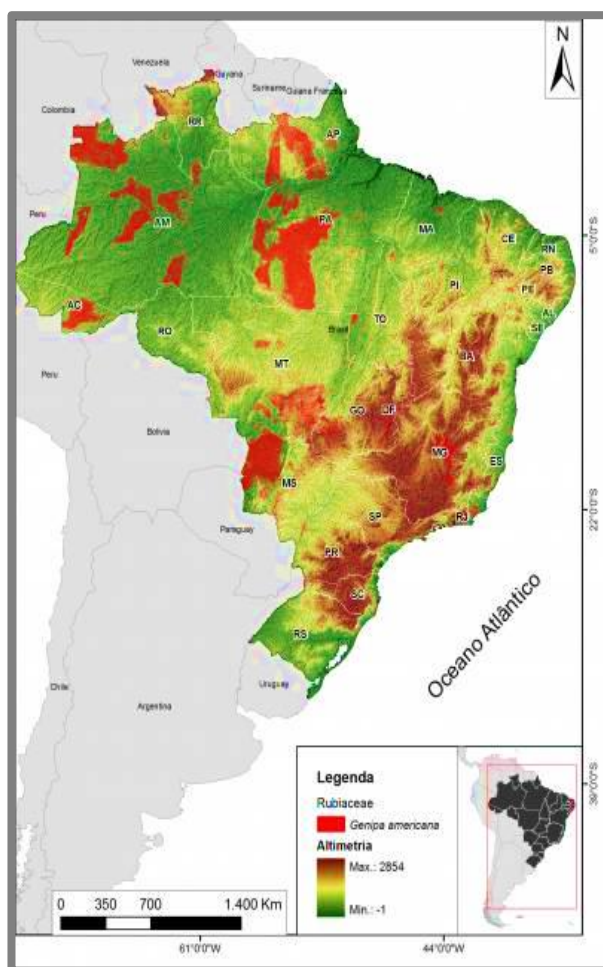
1.1.2.2. En Brasil

Fito fisionomía: área Antrópica, Caatinga (stricto sensu), Campo de Várzea, Cerrado (lato sensu), Amazonia (Floresta de Igapó, Floresta de Várzea), Cerrado (Floresta Ciliar), Mata Atlântica (Floresta Ciliar, Floresta Estacional Decidual, Floresta Estacional Perenifólia, Floresta Estacional Semidecidual), Floresta Ombrófila (= Floresta Pluvial) y Restinga. Con dominio fitogeográfico en Amazonia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica y Pantanal (INSTITUTO DE PESQUISAS ECOLÓGICAS, [s.d.]; ZAPPI, 2015).

Distribución: se distribuye en todos los estados de Brasil menos en Río Grande do Sul (Imagen 4): al Norte en Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima y Tocantins; al Noroeste en Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe; al Centro Oeste en Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul y Mato

Grosso; al Sureste en Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro y São Paulo y al Sur en Paraná y Santa Catarina (SISTEMA DE INFORMAÇÃO SOBRE A BIODIVERSIDADE BRASILEIRA (SIBBR), [s.d.]; ZAPPI, 2015).

Imagen 4. Mapa de distribución en Brasil



Fuente: Centro Nacional de Conservação da Flora, [s.d.].

1.1.3. Etnofarmacología

Las descripciones sobre conocimiento del uso y preparación de las hojas de *Genipa americana* L. por pueblos originarios y población autóctona halladas en la literatura son de efectos terapéuticos: hipolipemiante, antiséptico, antimicótico, hipoglucemiante, vermífugo, febrífugo, antibiótico, antidiarreico y quimioterápico. A continuación, en la Tabla n.º. 1 se especifican los usos según el consumidor.

Tabla 1. Usos y preparación de *G. americana* L.

Usos	Fuente
“La decocción de las hojas y la corteza del tallo se emplean como depurativo, contra el colesterol y para adelgazar”.	(BASUALDO <i>et al.</i> , 2004; FOGEL <i>et al.</i> , 2016; JAPAN INTERNACIONAL COOPERATION AGENCY, 1987; PIN <i>et al.</i> , 2009)
En los pobladores del Noreste del Brasil la infusión de las hojas es tomada para tratar enfermedades hepáticas.	(AGRA <i>et al.</i> , 2008)
Pueblos originarios de Cuna o Guna provenientes de Panamá y Colombia se usa para: a. Prevenir las quemaduras de sol. b. Una mezcla de las hojas, semillas, flores (naikpe ina) para mordedura de serpiente. c. Una mezcla de corteza, hojas, humo en el sentido de cegar a Mu furioso (pilaken ina) para enfermedades venéreas. d. Una mezcla de corteza, semillas, hojas (naka ina) para pie de atleta.	(KEELER, 1964)
Agricultores de comunidades rurales del municipio de Carlinda en el estado de Mato Grosso – Brasil. Usan las hojas de <i>G. americana</i> L. en: infusiones medicinales para el estómago, infección de garganta, intestino, riñones, útero y ovarios, tos alérgica, tratamiento de cáncer, diabetes, vermífugo, antibiótico y regulador menstrual.	(ALINE CIGOLINI RUZZA <i>et al.</i> , 2020)
En América Central el jugo extraído de las hojas se administra comúnmente como febrífugo.	(MORTON, 1987)
El zumo de la planta fresca está indicado para curar grietas y úlceras sifilíticas.	(CÁCERES A.; MACHAÍN SINGER, 2014)
Residentes de comunidades rurales de llanuras fluviales, bañadas por el río Amazonas y afluentes, en el Estado de Pará – Brasil usan en medicina para anemia e ictericia.	(BEATRIZ MARTÍNEZ; MOURÃO JUNIOR; BRIENZA JUNIOR, 2010)
El té de las hojas es usado como antidiarreico.	(OLIVEIRA, 2011)
En Asunción, Paraguay sus hojas se usan para controlar la diabetes. Los niveles del colesterol disminuyen notablemente con la infusión de su corteza y sus hojas. Es adelgazante y también hipotensor. También sirve para combatir el reumatismo y es antitumoral, así como antibacteriana.	(SCAVONE MONTALBETTI, 2017)
En Misiones, Argentina las infusiones de las hojas se utilizan para tratar la obesidad y la diabetes y disminuir los niveles de colesterol en sangre.	(BOBADILLA <i>et al.</i> , 2015)

Fuente: Del autor, 2023.

1.1.4. Aceite esencial

Los efectos farmacológicos de las plantas se deben a la presencia de metabolitos, que son compuestos orgánicos y se clasifican en metabolitos primarios y secundarios. Los metabolitos primarios como la glucosa, el almidón, los polisacáridos, las proteínas, los lípidos y los ácidos nucleicos son beneficiosos para el crecimiento y desarrollo del cuerpo humano. Considerando que las plantas producen metabolitos secundarios que incluyen alcaloides, flavonoides, saponinas, terpenoides, esteroides, glucósidos, taninos, aceites

volátiles, etc. para proteger las plantas contra infecciones microbianas o invasiones de plagas (TAIZ; ZEIGER, 2002).

Las plantas han evolucionado para sintetizar una gama extremadamente diversa de metabolitos secundarios que no tienen un papel aparente en los procesos primarios de crecimiento y desarrollo de las plantas, por lo que son exclusivos de las plantas de una sola especie y aumentan durante épocas de alto estrés como la sequía, la temperatura y la infección bacteriana. Muchos de estos compuestos exhiben propiedades antimicrobianas, antioxidantes, citotóxicas y otras propiedades medicinales útiles (AHMAD KHAN; AHMAD, 2019).

Estas propiedades se pueden atribuir a la presencia de una variedad de constituyentes fitoquímicos, que se pueden dividir en tres grupos principales químicamente distintos: terpenos, fenoles y compuestos que contienen nitrógeno (alcaloides) (GHORBANPOUR *et al.*, 2017).

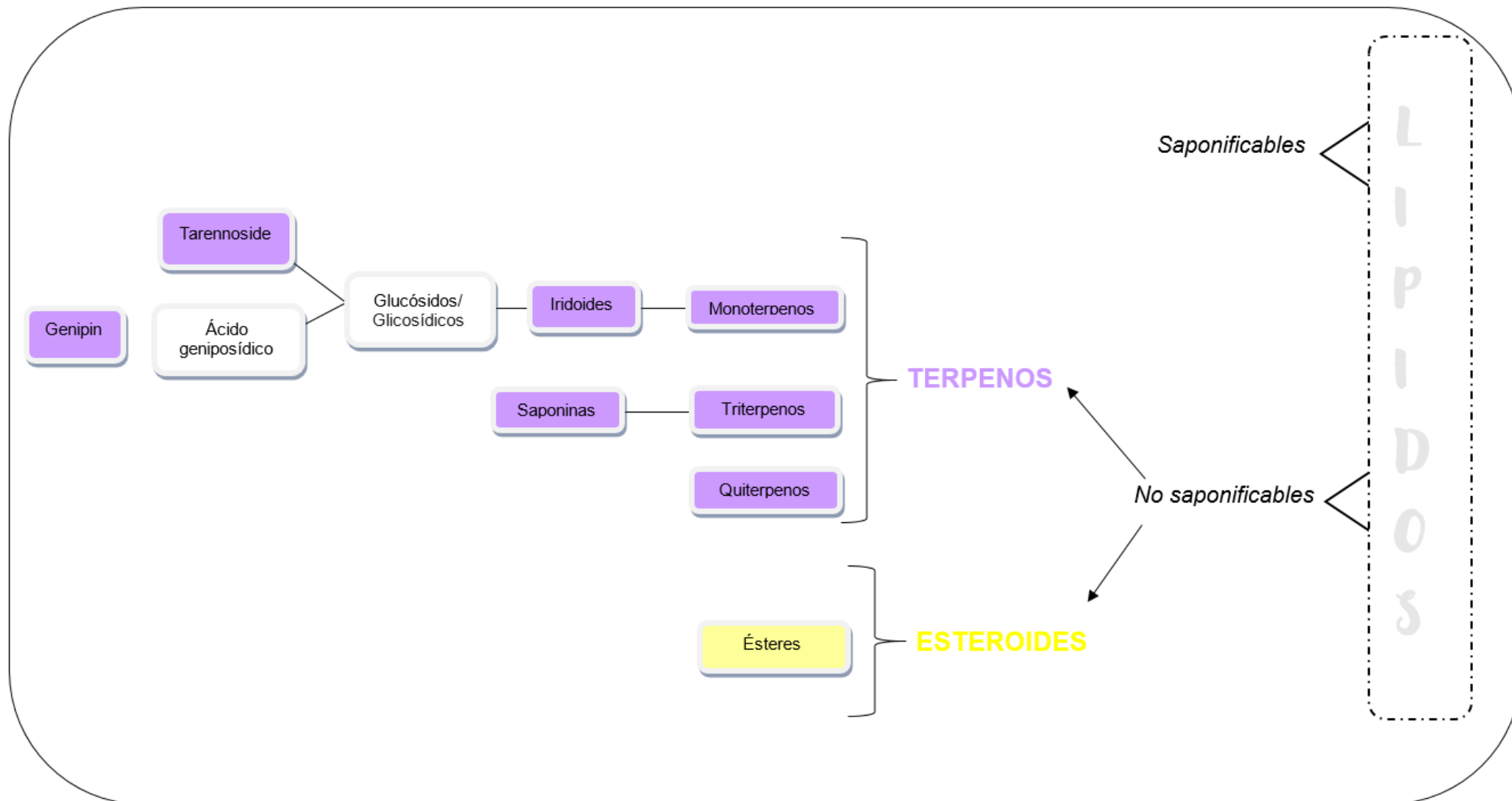
Según HANIF *et al.*, (2019) los aceites esenciales pueden clasificarse en: a) Fracción volátil: La fracción volátil tiene entre el 90 y el 95 % del peso total del aceite que se constituye de monoterpenos, sesquiterpenos y sus derivados oxigenados, además, los alcoholes, ésteres y aldehídos alifáticos también pueden estar presentes en la fracción volátil. b) Residuo no volátil: El residuo no volátil es del 1 al 10 % del peso total del aceite esencial que contiene ácidos grasos, hidrocarburos, esteroides, ceras, flavonoides y carotenoides.

De tal modo que, por la diversidad estructural y biológica de los constituyentes, las plantas medicinales ofrecen un recurso único y renovable para el descubrimiento de potenciales nuevos fármacos y entidades biológicas.

1.1.5. Química extractiva y estructural del Ñandypá (*G. americana* L.)

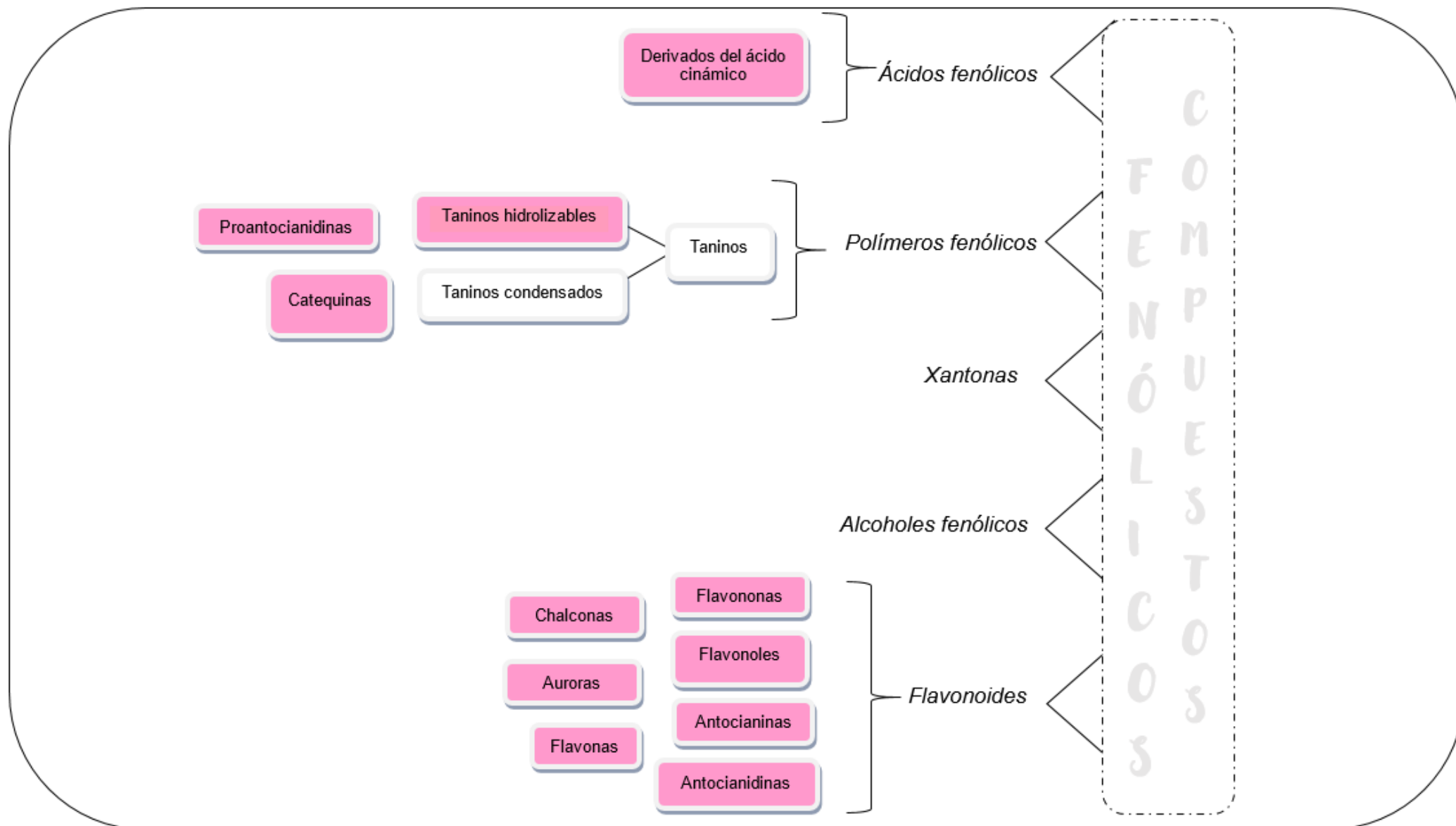
En la revisión de la literatura no se hallaron antecedentes de estudios sobre identificación de los componentes del aceite esencial de *Genipa americana* L. Por consiguiente, se indican en los siguientes esquemas de flechas resaltados en colores lila, amarillo y rosa los principios activos encontrados en los extractos hidroalcohólicos y acuosos de las hojas de *G. americana* L. como principales antecedentes (Imágenes 5 y 6):

Imagen 1. Esquema de los lípidos del aceite esencial de *Genipa americana* L. hallados en la literatura.



Fuente: del autor, 2023.

Imagen 2. Esquema de los compuestos fenólicos del aceite esencial de *Genipa americana* L. hallados en la literatura.



En cuestión a los principios activos indicados, seguidamente, se mencionan los estudios científicos correspondientes (**Tabla 2**):

Tabla 2. Antecedentes sobre identificación de los componentes del aceite esencial de *Genipa americana* L.

Fuente	Antecedentes	Principios activos	Grupo de sustancias químicas
(UEDA; IWAHASHI; TOKUDA, 1991)	Los cultivos de callo y suspensión celular de <i>G. americana</i> L. producen tarennoside, ácido geniposídico y gardenoside. A través de la embriogénesis producen solo ácido geniposídico. De los cuatro iridoides glucósidos, tarennoside es el más activo, y la actividad disminuye con el progreso del metabolismo. Aunque la actividad del genipósido es más bajo que el del ácido geniposídico, su aglicona genipina es notablemente activa.	Tarennoside Ácido geniposídico Gardenoside Genipina	Terpenos
(OMENA <i>et al.</i> , 2012)	Además de los iridoides, la <i>G. americana</i> L. también es una fuente de compuestos fenólicos con alto potencial antioxidante.	Iridoides	Terpenos
(NOGUEIRA <i>et al.</i> , 2014)	El análisis fitoquímico del extracto acuoso de <i>G. americana</i> L. confirmó la presencia de flavonoides y taninos. La adición de ácido acético glacial al acetato de plomo indicó el predominio de taninos solubles, ya que esta reacción es específica de los taninos hidrolizables.	Compuestos fenólicos Flavonoides Taninos Taninos hidrolizables	
(SOUZA <i>et al.</i> , 2018)	La extracción de polisacáridos de hojas de <i>G. americana</i> L. mostró un rendimiento total de 6,5%, revelando un alto contenido de carbohidratos ('54,6%, incluyendo 21,1% de ácido urónico) y 12% de proteína.	Ácido urónico Proteína	Monosacáridos
(VASCONCELOS <i>et al.</i> , 2017b)	Se observó la presencia de iridoides, mono y quiterpenos, triterpenos y esteroides en el extracto obtenido de las hojas de <i>G. americana</i> L. Las pruebas revelaron la presencia de taninos hidrolizables, proantocianidinas, derivados cinámicos y fenilpropanoglucósidos.	Iridoides, Mono y Quiterpenos, Triterpenos Taninos hidrolizables Proantocianidinas Derivados cinámicos Fenilpropanoglucósidos	Terpenos Polímeros fenólicos Ácidos fenólicos
(ALVES <i>et al.</i> , 2017)	En las hojas de <i>G. americana</i> L. se pudieron identificar dos iridoides: 1- hidroximetil)-1,4aH, 5H, 7aH-ciclopenta [c] piran-4 -carbaldehído (1) y 7- (hidroximetil)-1- metoxi-1H, 4aH, 5H, 7aH-ciclopenta [c] piran-4-carbaldehído (2). Observándose, así, la presencia de flavonoides en el extracto de hojas y fracciones por Cromatografía de capa fina.	Iridoides	Terpenos
		Flavonoides	

Fuente: del autor, 2023.

Tabla 2. Antecedentes sobre identificación de los componentes del aceite esencial de *Genipa americana* L. (continuación)

Fuente	Antecedentes	Principios activos	Grupo de sustancias químicas
(SILVA <i>et al.</i> , 2018)	El extracto hidroetanólico (HE) obtenido de hojas de <i>G. americana</i> L. en el HPLC-MS/MS reveló la presencia de varios picos mayoritarios y permitió sugerir las estructuras de 13 compuestos, incluidos cinco flavonoides: Coniferina, Asistasiósido D, Ácido geniposídico, tarenosida, Ácido logánico, Ácido clorogénico, Kaempferol-3-O -hexósido-desoxihexósido-7- O -desoxihexósido, Isorhamnetin-3- O -hexósido-desoxihexósido-7- O -desoxihexósido, Quercetina-3- O -hexósido-desoxihexósido, 1,3-Di-O-caffeoylquinic acid, Teneoside A, Kaempferol-3- O -hexósido-desoxihexósido y Isorhamnetin-3- O -hexósido-desoxihexósido.	Quercetin-3-O-robinoside Kaempferol-3-O-robinoside Isorhamnetin-3-O-robinoside Kaempferol-3-O-robinoside-7-O-rhamnoside Isorhamnetin-3-O-robinoside -7-O-ramnósido	Flavonoides
(MADEIRA <i>et al.</i> , 2018)	Los glicoconjugados extraídos de hojas de <i>G. americana</i> L. (PE-Ga) se separaron en dos fracciones, denominadas PFI y PFII (carbohidrato total: 23-36% / ácido urónico: 9-30%; proteína: 4-5%; polifenoles: 0,776- 0,812 mg / g), compuesto principalmente por arabinosa, galactosa y ácido urónico y presentando peso molecular alto (PFI) y bajo (PFII).	Ácido urónico Galactosa Arabinosa	Monosacáridos
(LIMA <i>et al.</i> , 2020)	Del análisis fitoquímico del extracto acuoso de <i>G. americana</i> L. se pudo evaluar la presencia de compuestos fenólicos, taninos, antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavonoles, xantonas, chalconas, auronas, catequinas, flavononas, esteroides, triterpenoides y saponinas.	Proteína	
		Polifenoles	
		Taninos Catequinas	Polímeros fenólicos
		Antocianinas Antocianidinas Flavonas Flavonoles Chalconas Auronas Flavononas	Flavonoides
		Xantonas	
Esteroides			
Triterpenoides Saponinas	Terpenos		

Fuente: del autor, 2023.

1.1.6. Concepto de cáncer

Según la Organización Mundial de la Salud el cáncer es un término genérico que designa un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo; también se habla de «tumores malignos» o «neoplasias malignas» (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, 2022). Igualmente, es mencionado como un grupo de enfermedades genéticas complejas caracterizadas por el crecimiento descontrolado y la diseminación de células anormales y en proliferación que han sufrido una gran cantidad de cambios en múltiples genes (CAO *et al.*, 2011).

Relatan Khuda-Bukhsh; Samadder; Saha, (2020) que es un problema persistente de atención de la salud pública de la vida moderna que plantea un desafío mundial debido al desarrollo de resistencia a las terapias convencionales y la recurrencia de la enfermedad.

1.1.7. Carcinogénesis

La carcinogénesis es un proceso de múltiples pasos extensos que implican la iniciación donde la célula iniciada se forma y selecciona. La promoción es un paso en el que la célula iniciada se expande selectivamente. La progresión se produce como resultado de un desequilibrio entre la proliferación celular y la apoptosis, que además conduce a la invasión y la metástasis (RASHID, 2017a).

El cambio en la vía de señalización conduce a una división celular anormal, las mutaciones en el ADN producen una proteína defectuosa que interrumpe la red de diferenciación y proliferación celular, lo que da como resultado el crecimiento del cáncer. el ciclo celular se activa y las células pasan por una serie de fases, cada una de las cuales sirve en última instancia para replicar el material genético y, en última instancia, para formar dos células hijas idénticas. Estas fases son G1 (fase Gap1, subdividida en G1a, G1b, G1c y G1d), fase S (fase de síntesis de ADN), fase G2 (Gap2) y por último la fase de mitosis (M). Mientras el mitógeno proceda en las células hijas, el ciclo se repite, en cambio, si no procede, la célula entrará en la fase de reposo G0. De este modo, un cambio a nivel celular, molecular, bioquímico y genético convierte una célula normal en una cancerosa (KONTOMANOLIS *et al.*, 2021; RAJAWAT; MISRA, 2021).

Las células cancerosas no obedecen las leyes y reglas que rigen la corporación intracelular necesaria para la homeostasis en un organismo multicelular. En consecuencia, las células cancerosas se esfuerzan por adaptarse, proliferan para invadir los tejidos

cercanos y combaten el sistema de defensa a través de su agresividad invasiva (DIORI KARIDIO; SANLIER, 2021).

1.1.8. Mecanismo de acción de las células tumorales

1.1.8.1. Necrosis

Los cánceres que contienen altos niveles de necrosis a menudo tienen un mal pronóstico a causa de que crecen tan rápido que superan su suministro de sangre. Otro aspecto importante de la necrosis es que el contenido de las células moribundas libera mediadores que desencadenan respuestas inflamatorias. La inflamación en sí misma daña los tejidos y puede causar ciclos de reparación y proliferación que involucran factores de crecimiento que pueden promover la oncogénesis y la expansión del tumor. En muchos cánceres de adultos, la inflamación puede ser un componente principal del proceso que promueve la tumorigénesis (WHITE; GREEN; LETAI, 2015).

1.1.8.2. Apoptosis

Las mutaciones que impulsan la progresión incontrolada del ciclo celular son eventos necesarios en la tumorigénesis. Pero la evolución ha instalado en los programas proliferativos de las células de mamíferos una variedad de mecanismos supresores de tumores innatos que desencadenan la apoptosis o la senescencia, en caso de que la proliferación se vuelva aberrante (LOWE; CEPERO; EVAN, 2004).

1.1.8.3. Autofagia

Las células, los tejidos y los mamíferos normales, así como las células tumorales requieren autofagia para mantener el metabolismo en la inanición, pero debido a que las células tumorales a menudo residen en un entorno metabólicamente estresado, su necesidad de autofagia a menudo aumenta en comparación con las células normales. Estas células tumorales deficientes en autofagia mueren por necrosis o apoptosis, lo que indica que la insuficiencia metabólica es incompatible con la supervivencia y es independiente de un mecanismo específico de muerte celular (WHITE; GREEN; LETAI, 2015).

1.1.8.4. Metástasis

La metástasis se define como el crecimiento de clones de células cancerosas primarias en otro sitio anatómico distinto que implica una secuencia compleja de pasos: invasión local, intravasación, diseminación, extravasación, micrometástasis y colonización (SPANO *et al.*, 2012).

1.1.9. Clasificación del cáncer

Cuando una célula presenta alguna anomalía o ha envejecido, por lo general la célula perece. El cáncer surge cuando algo sale mal en este proceso, ocasionando que las células anormales se reproduzcan y las células viejas no perecen como debería suceder. Las células anormales son denominadas “tumores” que derivan de una masa o protuberancia en crecimiento. Los tumores pueden ser benignos o malignos con células cancerosas (SOCIEDAD AMERICANA CONTRA EL CÁNCER, 2020).

Los cánceres se clasifican según el tipo de células o tejidos involucrados en (SHAIKH *et al.*, 2021): A) Carcinoma: células neoplásicas en la piel y tejidos en el revestimiento de los órganos internos. B) Sarcoma: cáncer en tejidos conectivos como huesos, cartílagos, vasos sanguíneos y músculos. C) Leucemia: células cancerosas en la médula ósea, lo que conduce a la formación de células sanguíneas anormales. D) Linfoma: cáncer de las células inmunitarias.

Los tumores malignos son generalmente de crecimiento rápido e invaden el tejido circundante y colonizan extensamente órganos distantes. La capacidad de las células tumorales de separarse de la masa original (el tumor primario) y extenderse a otros órganos configura la metástasis (RASHID, 2017b).

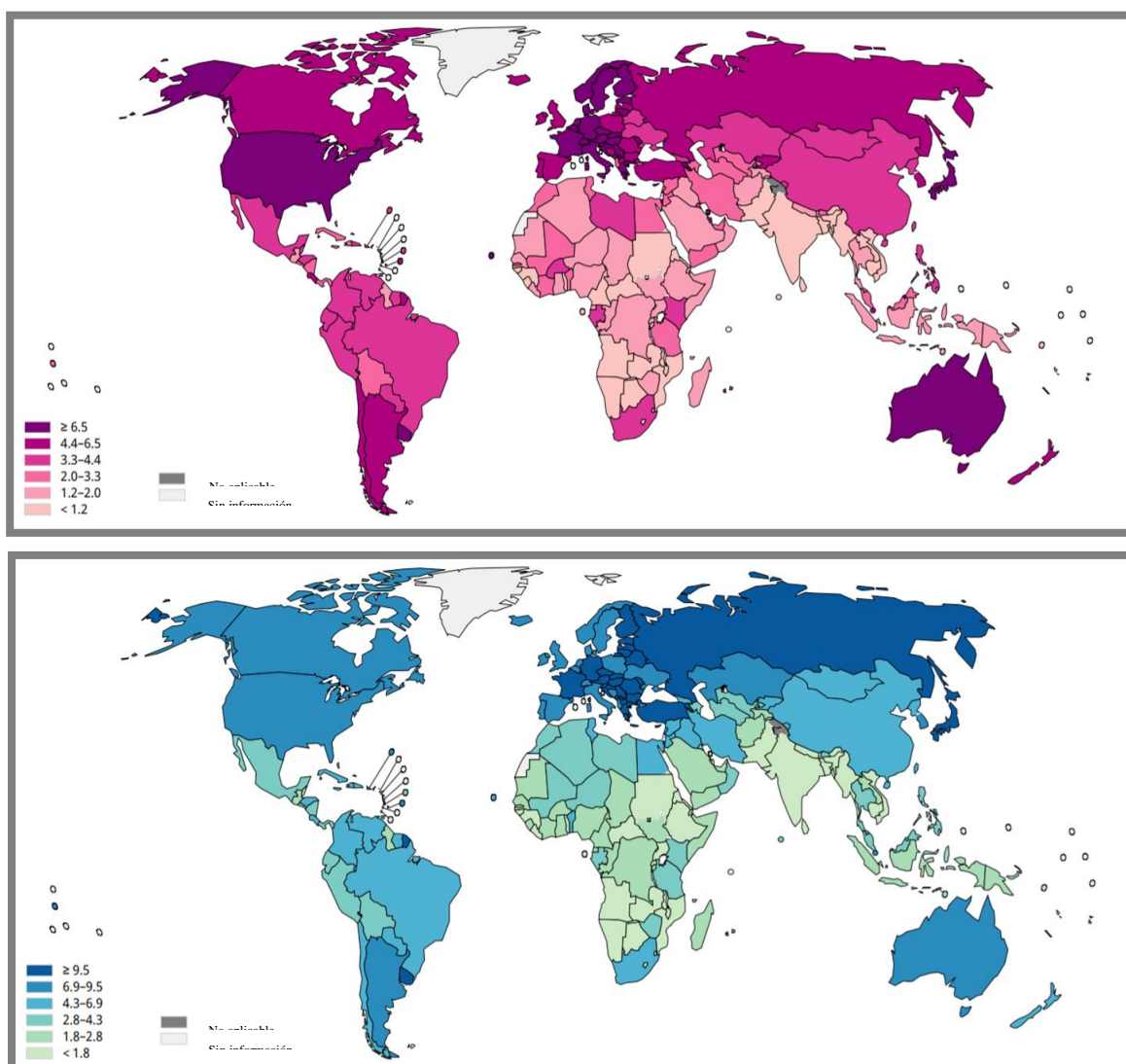
1.1.10. Epidemiología del cáncer

Las Enfermedades no transmisibles (ENT) son la principal causa de muerte a nivel mundial, responsables del 71% de todas las muertes en 2016. El cáncer es la primera o la segunda causa principal de muerte prematura en 134 de los 183 países del mundo (MURILLO; ROBLES, 2019; SIROHI *et al.*, 2018). En 2018, se estima que hubo 18 millones de nuevos casos de cáncer y 10 millones de muertes por cáncer en todo el mundo. La carga

mundial prevista se duplicará a unos 29-37 millones de nuevos casos de cáncer para 2040, con aumentos en los países de ingresos bajos y medianos.

Los casos de cáncer y las muertes ocurren de manera desigual. Los países con ingresos más bajos tienen resultados demográficos significativamente peores y, dentro de los países, las personas en los niveles económicos más bajos tienen peores resultados de cáncer y son más propensas a sufrir dificultades financieras (Imagen 7). De los 15 millones de muertes entre las edades de 30 y 69 en 2018, 4,5 millones se debieron al cáncer (WHO, 2020).

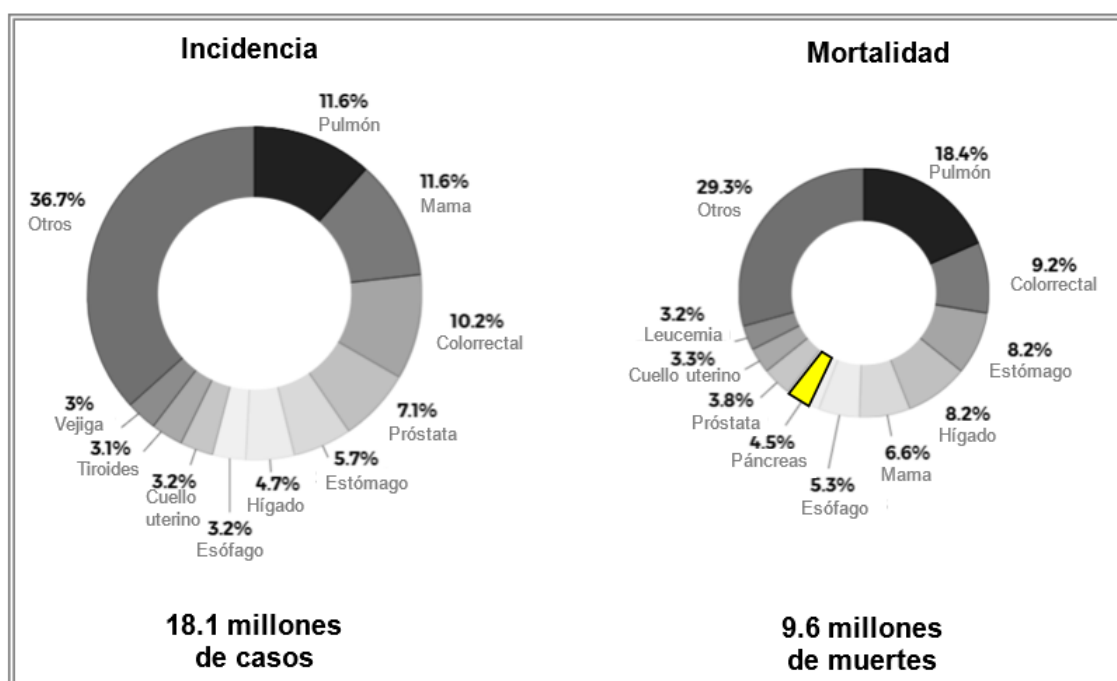
Imagen 7. Tasas mundiales estandarizadas de incidencia por edad, masculino (gama de colores marinos) y femenino (gama de color rosa)



Fuente: The Global Observatory, 2021.

El cáncer de páncreas es uno de los principales tipos de cáncer causante de muerte relacionada con el cáncer porque son inusuales los sobrevivientes de cáncer de páncreas histológicamente probados (Imagen 8). Las principales razones son: el diagnóstico en estadios tardíos, biología agresiva, fracaso del tratamiento quirúrgico, alta resistencia inherente frente a la quimioterapia convencional, la falta de biomarcadores y las insuficientes opciones de tratamiento condicionan su mal pronóstico (DARIYA; ALAM; NAGARAJU, 2019; GRÜTZMANN, 2014a).

Imagen 3. Distribución de casos y muertes por los 10 principales tipos de cáncer en 2018 para ambos sexos.



Fuente: WHO, 2020, p.26.

1.1.11. Clasificación del cáncer de páncreas

Se divide en subtipos, que incluyen adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC), carcinoma coloide (CC), pancreatoblastoma, cistoadenocarcinoma y tipos histológicamente mixtos, siendo, PDAC el subtipo más común y agresivo, que comprende el 95% de los casos de cáncer de páncreas (TAUCHER; HAYBAECK, 2017).

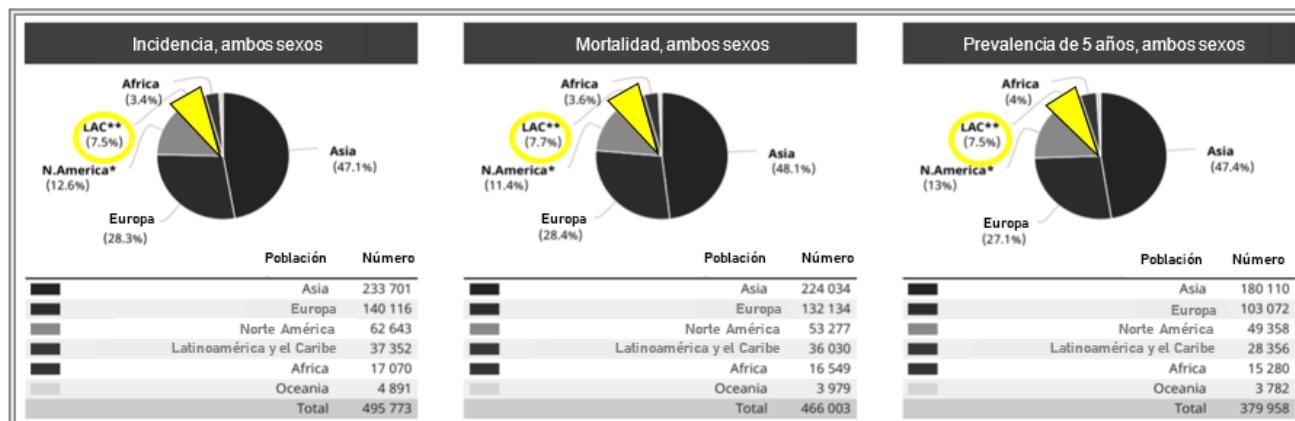
1.1.12. Epidemiología del cáncer de páncreas

El cáncer de páncreas, aunque infrecuente, tiene un pronóstico muy precario, lo que lo convierte en la cuarta causa de mortalidad por cáncer en los países desarrollados en la actualidad. Su incidencia varía mucho entre las regiones, lo que sugiere que los factores del estilo de vida juegan un papel importante en su etiología. Debido a que el cáncer de páncreas depende en gran medida de la edad, el aumento de la longevidad y el envejecimiento de la población conducirá a un aumento de la carga mundial de cáncer de páncreas en las próximas décadas. De hecho, se prevé que el cáncer de páncreas pasará de la cuarta a la segunda causa principal de muerte por cáncer en los Estados Unidos para 2020 (MAISONNEUVE; LOWENFELS, 2018).

En los Estados Unidos para 2021 las estimaciones de la Sociedad Estadounidense del Cáncer para el cáncer de páncreas son aproximadamente: a) 60.430 personas (31.950 hombres y 28.480 mujeres) serán diagnosticadas con cáncer de páncreas. b) 48.220 personas (25.270 hombres y 22.950 mujeres) morirán de cáncer de páncreas. c) El cáncer de páncreas representa aproximadamente el 3% de todos los cánceres en los EE. UU. d) El 7% de todas las muertes por cáncer (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2021).

En América del Sur, la incidencia del cáncer con tasas estandarizadas por edad (por 100 000) tienden desde 143 (Bolivia) a 251 (Uruguay). La incidencia general (134 y 191 respectivamente) es más baja que en la gran Europa cuya tasa estandarizada por edad (TEE) es 255 y América del Norte (TEE: 316). Si bien las TEE correspondientes a la mortalidad en la región oscilan entre 71 (en Puerto Rico) y 144 (en Uruguay), en la mayoría de los países son similares a las de Europa (TEE: 113) y América del Norte (TEE: 106). Como resultado, las razones de incidencia de mortalidad son altas en América Latina (Imagen 9), particularmente para los cánceres que están asociados con la detección temprana, como el cáncer de mama femenino (MARION PIÑEROS *et al.*, 2017).

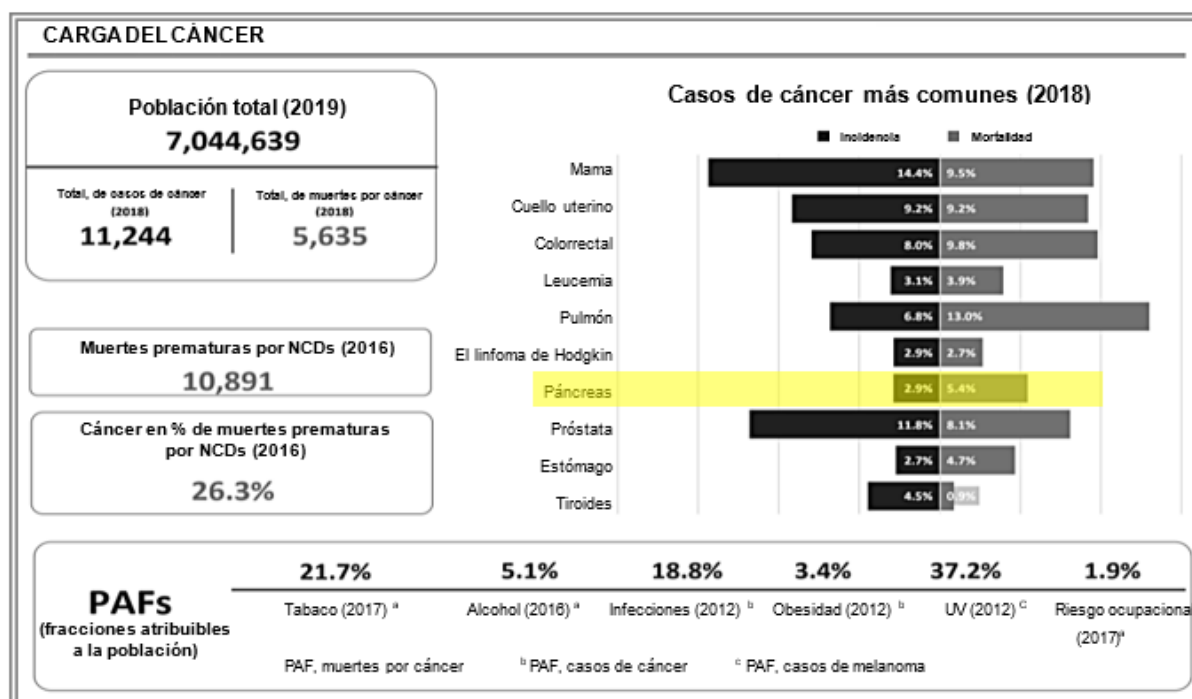
Imagen 4. Incidencia, mortalidad y prevalencia del cáncer en Latinoamérica.



Fuente: The Global Observatory, 2020.

En Paraguay ocupa el 4º lugar después del cáncer de pulmón, próstata y colon en el hombre (Imagen 10) y el 5º lugar en la mujer, luego del cáncer de útero, mama, pulmón, endometrio y ovario (WASMOSY MONTI, 2010).

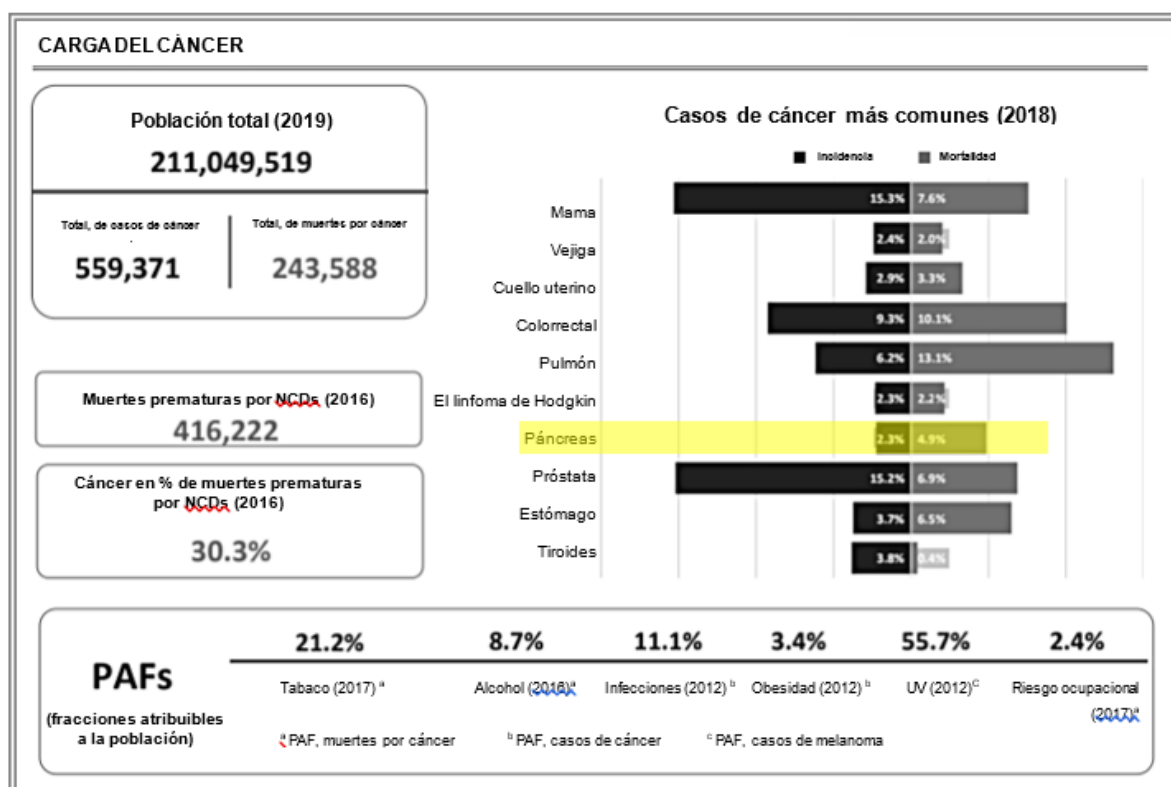
Imagen 5. Perfil de país con cáncer de Paraguay.



Fuente: WHO, 2020a.

Brasil es el 7mo tipo de cáncer más común, entre 2000 y 2014, hubo 112.533 muertes por cáncer de páncreas en Brasil (Imagen 11). Las tasas más altas se registraron para la región Centro-Oeste, para ambos sexos. Las proyecciones indicaron que, para el quinquenio 2025-2029, habrá un aumento en las tasas de mortalidad masculina en las regiones Nordeste y Centro-Oeste (RIBEIRO BARBOSA; DOS SANTOS; BEZERRA DE SOUZA, 2018).

Imagen 6. Perfil de país con cáncer de Brasil.



Fuente: WHO, 2020b.

1.1.13. Terapias contra el cáncer de páncreas

El tratamiento del cáncer se basa principalmente en tres métodos: cirugía/trasplante, radioterapia y quimioterapia. La eficacia de la terapia del cáncer se ha asociado con un enfoque multidisciplinario e implica una combinación de modalidades terapéuticas que varían según el tipo de cáncer del paciente (DIAS *et al.*, 2015).

Actualmente, la extracción quirúrgica es el único tratamiento curativo del adenocarcinoma de páncreas. Para los tumores irresecables y los pacientes que no desean someterse a una cirugía pancreática mayor o no están en condiciones médicas suficientes, las alternativas incluyen quimioterapia sistémica, quimiorradioterapia, sistemas radioquirúrgicos estereotácticos guiados por imágenes, derivación quirúrgica, terapias ablativas y colocación de *stents* biliares y gastrointestinales endoscópicos. Los últimos procedimientos mencionados son paliativos, pueden mejorar la calidad de vida de los pacientes al aliviar los síntomas como el dolor relacionado con el tumor (GRÜTZMANN, 2014b).

El tratamiento sistémico con quimioterapia es el enfoque predominante para los tumores metastásicos o progresivos. Los fármacos quimioterapéuticos convencionales presentan varios efectos secundarios que a veces conducen al empeoramiento de la situación de un paciente (RAJAWAT; MISRA, 2021).

Desde 1990, la gemcitabina es el fármaco de quimioterapia aprobado para el cáncer de páncreas y tuvo un mejor éxito en comparación con ningún tratamiento. La gemcitabina sigue siendo el fármaco de primera línea para el tratamiento. Desde entonces, se han probado otros medicamentos como nab-paclitaxel y Folfirinox solos y en combinación con gemcitabina en un esfuerzo por mejorar la eficacia del tratamiento. No obstante, estos solo han producido resultados moderados. Los estudios informaron que una combinación de gemcitabina y nab-paclitaxel aumentó la supervivencia general en 2 meses en comparación con gemcitabina sola, mientras que la combinación con Folfirinox aumentó la supervivencia en 4,4 meses (BURRIS III *et al.*, 1997; GARRIDO-LAGUNA; HIDALGO, 2015).

Empero, el tratamiento con gemcitabina solamente no parece mejorar significativamente la supervivencia global. Para aquellos pocos que pueden someterse a una cirugía resecable, se espera que la mayoría recaiga, y la quimiorresistencia plantea un desafío incluso en la recaída. El diagnóstico tardío y los problemas asociados con el tratamiento estándar es lo que hace que esta neoplasia maligna sea tan fatal (HURTADO *et al.*, 2019).

La quimiorresistencia es una fuente principal de fracaso del tratamiento entre los pacientes con adenocarcinoma de páncreas con gemcitabina. La mayoría de los pacientes se vuelven resistentes al fármaco después de ciclos consecutivos de tratamientos que resultan en el fracaso de la quimioterapia, lo que aclara los mecanismos detrás de la quimiorresistencia (SUSHMA; NAGARAJU, 2019).

1.2. Justificación

La *G. americana* L. parece tener un potencial económico razonable. Requiere más investigación sobre productos industriales para desarrollar un mercado más amplio. Se necesitan estudios agronómicos, químicos, farmacológicos y colecciones de germoplasma. La demanda local se satisface adecuadamente porque los árboles son productivos y porque hay pocos productos industriales en la actualidad (FAO, 1986).

Las múltiples propiedades etnofarmacológicas de las tribus originarias del Amazonas y demostradas científicamente, la accesibilidad, el uso medicinal ancestral de todas las partes del árbol de diferentes formas indicando su biocompatibilidad y baja toxicidad además del factor económico. Son razones suficientes para concluir que la *G. americana* L. como fuente potencial de nuevos medicamentos.

La elección de los aceites esenciales en esta discusión se basa en la disponibilidad, el precio y la presencia de un componente principal extraíble, además son una inmensa fuente de materias primas químicas orgánicas, disponibles y renovables, a diferencia de los productos petroquímicos. Los aceites esenciales y los compuestos individuales aislados y purificados están disponibles en el mercado mundial a precios que van desde unos pocos dólares (US \$ 2-5) por kilogramo, con pedidos mínimos de la tonelada métrica, que van a ser quizás de US \$ 50– Rango de 100 por kilogramo dependiendo de la pureza (BROCKSOM *et al.*, 2015).

En el presente, aunque la mayor comprensión de la naturaleza molecular del carcinoma de páncreas ha ayudado en el desarrollo de agentes eficaces, el aumento de la supervivencia global ha sido muy lento (RASHID *et al.*, 2019). Los quimioterápicos que actualmente se utilizan tiene efectos colaterales y el *G. americana* L. se presenta como una posible fuente de quimioterápico principalmente en aceite esencial.

1.3. Pregunta guía

¿Tiene efecto antitumoral *in vitro* el aceite esencial de Ñandypá (*Genipa americana* L.) sobre líneas celulares de carcinoma pancreático humano (MIA PaCa2)?

2. OBJETIVOS

2.1. General

- Determinar el efecto antitumoral in vitro de un aceite esencial de Ñandypá (*Genipa americana* L.) sobre líneas celulares de carcinoma pancreático humano (MIA PaCa2).

2.2. Específicos

- Aislar el aceite esencial de *G. americana* L.
- Comprobar el efecto antitumoral del aceite esencial de *G. americana* L. sobre líneas celulares de carcinoma pancreático humano (MIA PaCa2) e células normais.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

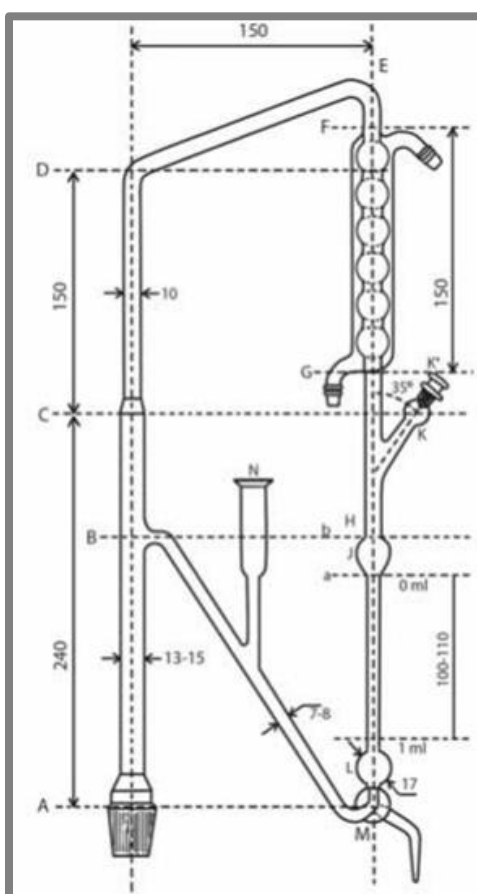
3.1. Aceite esencial de Ñandypá (*Genipa americana* L.)

3.1.1. Técnica de extracción del aceite esencial de Ñandypá (*Genipa americana* L.)

Las muestras de Ñandypá fueron recolectadas del Centro Ambiental de Itaipu Binacional ubicado en la Supercarretera en la Ciudad de Hernandarias – Paraguay (con coordenadas -25.446729484527378, -54.63425964110454) con la guía del Departamento de Plantas Medicinales perteneciente a la entidad binacional. Se seleccionaron hojas saludables que fueron enviadas al Laboratorio Multiusuario de Análisis Biológico y Químico (LABIQ-SH) de la Universidad Tecnológica Federal del Paraná en donde fueron desecadas en estufa con sistema de circulación a 40°C hasta peso constante. Luego las hojas desecadas fueron molidas obteniendo 186,63 gramos del material para luego ser almacenadas a $5 \pm 3^\circ\text{C}$ hasta su uso (Imágenes 14, 15, 16 y 17). Para la extracción del aceite esencial, se utilizó la técnica de hidrodestilación que consiste en ubicar las hojas en contacto directo flotando o inmersas en agua hirviendo por aplicación de calor que puede ser fuego directo, chaqueta de calor, bobina de vapor cerrada o bobina de vapor perforada (Imágenes 19 y 20) (GUENTHER; PH, 1949).

El equipo que se utilizó para la técnica de hidrodestilación consiste en (Imagen 12): a) Matraz de fondo redondo y cuello corto, capacidad de 500 o 1000 ml, el diámetro del interior del cuello de vidrio esmerilado es de 29 mm en el extremo más ancho. b) Quemador que permita un control fino y esté provisto de un conducto de humos o un dispositivo de calentamiento eléctrico. c) Soporte vertical con un anillo horizontal cubierto con material aislante. d) Tubo vertical (AC), de 210 a 260 mm de largo, con un diámetro externo de 13 a 15 mm. e) Tubo doblado (CDE), CD y DE, cada uno de 145-155 mm de largo, y con un diámetro externo de 10 mm. f) Condensador de bulbo (FG), 145-155 mm de largo. g) Un tubo (GH) de 30 a 40 mm de largo, con un tubo de brazo lateral (HK), en un ángulo de 30 a 40°. h) Tapón de vidrio esmerilado ventilado (K ') y un tubo (K) de diámetro interno de 10 mm, siendo el extremo ancho de vidrio esmerilado. i) Bulbo en forma de pera (J) con un volumen de 3 ml. j) Tubo con un volumen de 1 ml (JL), graduado en 100-110 mm en divisiones de 0,01 ml. k) Hinchazón en forma de bulbo (L), con un volumen de aproximadamente 2 ml. l) Grifo de tres vías (M). m) Tubo de conexión (BM), con un diámetro exterior de 7-8 mm, que se coloca en el medio con un tubo de seguridad (N); La unión (B) debe ser de 20 a 25 mm más alto que la graduación más alta (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

Imagen 12. Máquina utilizada para determinar aceites volátiles (mm).



Fuente: WHO, 2011.

3.1.2. Caracterización de las moléculas constituyentes del aceite esencial de Ñandypá (*Genipa americana* L.)

3.1.2.1. Análisis cromatográficos

Los análisis GC-EM-DIC se realizaron en el Laboratorio de Cromatografía del Colegio Regional de Blumenau en Blumenau, Santa Catarina. Para el análisis GC-MS se utilizó un cromatógrafo de gases Shimadzu GCMS-QP2010 Plus con columna no polar Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) con detector de masas. Las condiciones utilizadas en los análisis fueron la relación de división de 1/20, 250 °C para la entrada, 250 °C para la fuente de iones y 280 °C para la interfase. La temperatura inicial fue de 60 °C durante los primeros

cinco minutos y se ajustó para aumentar 3 °C por minuto hasta alcanzar una temperatura de 240 °C.

Para cuantificar los compuestos presentes en las muestras se utilizó un cromatógrafo de gases Shimadzu 2010 acoplado a un detector DIC y una columna OV-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Se utilizó gas helio como gas portador a un caudal continuo de 1 mL/min, un split rate de 1/20, y el volumen de inyección fue de 1 mL de muestra diluida en éter etílico, con el detector a 280 °C, y el inyector a 250 °C. La temperatura inicial fue de 60 °C durante los primeros cinco minutos y se ajustó para aumentar 3 °C por minuto hasta alcanzar una temperatura de 240 °C.

La identificación y cuantificación se realizó mediante el cálculo del índice de Kováts con la siguiente fórmula:

$$IK = 100 \times C + 100 \times \frac{T_a - T_b}{T_c - T_b}$$

Donde:

IK= índice de Kováts;

C = número de carbonos padrón a la izquierda;

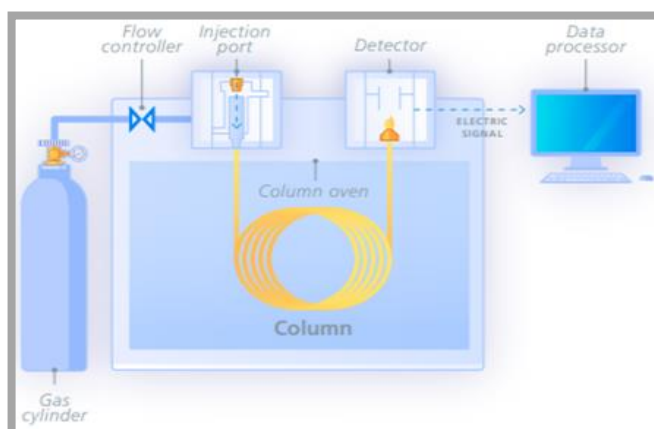
Ta = tiempo de retención del compuesto considerado;

Tb = número de carbonos padrón a la izquierda;

Tc = número de carbonos padrón a la derecha.

Los compuestos se identificaron comparando los espectros de masas obtenidos por el análisis con los espectros de masas de la base de datos del software del cromatógrafo y los datos publicados en la literatura (ADAMS, 2009). La cuantificación de los compuestos se realizó por comparación y relación de los IK de los picos de los cromatogramas obtenidos por GC-MS y GC-DIC (Imagen 13).

Imagen 13. Configuración típica de GC



Fuente: SHIMADZU, 2020.

3.2. Líneas celulares del carcinoma pancreático humano (MIA PACA2)

El material biológico utilizado fueron líneas del tipo celular epitelial del páncreas con enfermedad carcinoma provenientes de organismo humano especie *Homo sapiens* de edad 65 años, género masculino y de raza caucásica, que antes de los procedimientos estaban congeladas con morfología epitelial adherida con células redondeadas flotantes con propiedades adherentes, células individuales y grupos poco unidos de nivel 1 de bioseguridad según la clasificación de U.S. Public Health Service Guidelines en condiciones de almacenaje de fase de vapor de nitrógeno líquido (ATCC, 2020).

Adicionalmente, para comparar la citotoxicidad del aceite esencial de *G. americana* L. en células no carcinogénicas, es decir, células normales se utilizó la línea celular de fibroblastos humanos MRC-5.

3.2.1. Métodos de cultivo celular

3.2.1.1. Cambio de medio

Para el cuidado del cultivo de células monocapa en frascos, primeramente, el cultivo debe ser examinado a simple vista en el microscopio invertido para detectar signos de contaminación o deterioro y se verifican los criterios de pH y densidad o concentración para decidir si reemplazar o no el medio. En caso de ser necesario el reemplazo del medio se prepara la campana asegurándose de que esté despejada y se procede a desinfectar con

alcohol 70%, se llevan los reactivos y materiales necesarios para el procedimiento, se desinfectan las botellas con alcohol 70%, y se colocan los artículos necesarios inmediatamente en la campana. Llevar el cultivo al área de trabajo estéril (campana), se destapan los frascos, se retira el medio con una pipeta estéril, se desecha el medio en un vaso de precipitados y se descarta la pipeta. Destapar la botella de medio, con una pipeta nueva se agrega el mismo volumen de medio que se ha descartado precalentado/ambientado a 37°C, se descarta la pipeta y se vuelve a tapar el frasco y la botella de medio. Se devuelve el frasco de cultivo a la incubadora de dióxido de carbono, se retiran los materiales de la campana, se desinfecta la campana y los materiales utilizados y se guarda la botella de medio. (BOREK, 1995).

3.2.1.2. Cultivo de células tumorales derivadas de cáncer de páncreas

Células de tumor pancreático (ATCC CRL- 1420) fueron cultivadas en medio DMEM (Sigma-Aldrich, EUA) contenido SFB 10% (Gibco, EUA), 100 U/ml penicilina, 100 µg/ml estreptomina, 26,4 mM bicarbonato de sodio. Estas células crecieron en incubadora con atmósfera de 5% de CO₂ a 37°C. A no ser cuando sea especificado, estas células fueron siempre mantenidas en este ambiente.

Se siguió el mismo protocolo de cultivo de células para la línea celular del carcinoma pancreático humano (MIA PACA2) y la línea celular de fibroblastos humanos (MRC-5).

3.2.2. Método para la evaluación de la actividad antitumoral

Para la evaluación de la actividad antitumoral del aceite de *Genipa americana* L. se realizaron diluciones seriadas de 0,1% - 0,5% - 1% - 1,5% -5% y 10%, seguidamente, para realizar el test de viabilidad celular en MIA PACA2 y MRC-5, fue realizado el ensayo colorimétrico, brometo de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio (MTT), adaptado de Mosmann (1983). El test MTT determina la absorción de sal por células viables y su reducción en el interior mitocondrial, de forma a originar cristales de formazan. La metodología se basó en agregar 10µL de MTT diluído en las células tratadas. Aproximadamente, luego de 4 horas de incubación, el medio fue retirado y los cristales de formazan fueron diluídos en 100µL de DMSO (MERCK KGAA, 2022). De esta forma, se determinaron las absorbancias midiéndolas para calcular el porcentaje de citotoxicidad (%C) de cada concentración del extracto de *G. americana* L. a 570 y 630 nm en un lector

de microplacas (Imágenes 21 y 22). El porcentaje de citotoxicidad se calculó dividiendo el porcentaje de reducción de las células en tratamiento y el porcentaje de reducción de las células control (EL-ABID *et al.*, 2019; FERNANDEZ *et al.*, 2011)

4 RESULTADOS

4.1 Efecto antitumoral del aceite de *Genipa americana* L.

Los cálculos de la media, la desviación estándar y el error estándar y el análisis estadístico para la comparación de cada conjunto de medias experimentales se realizaron utilizando Graph Pad Prism 5.

Los resultados de absorbancia se convirtieron en porcentaje de sobrevivencia. Se aplicó la técnica de regresión lineal para ajustar la curva de respuesta para luego determinar la concentración inhibitoria del 50%, los datos se analizaron en busca de diferencias estadísticas significativas dentro de los grupos mediante ANOVA de una vía. Al exponer las células a cuatro horas de tratamiento, la viabilidad disminuyó en concentraciones de aceite de *G. americana* L. de 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125; 0,15625 y 0,078125 μM ($p < 0,05$), con valores de IC 50 de 275 μM . Todas las concentraciones han demostrado inducción de muerte celular, que fue más pronunciada en altas concentraciones del aceite (Gráfico 1 y 2).

Gráfico 1

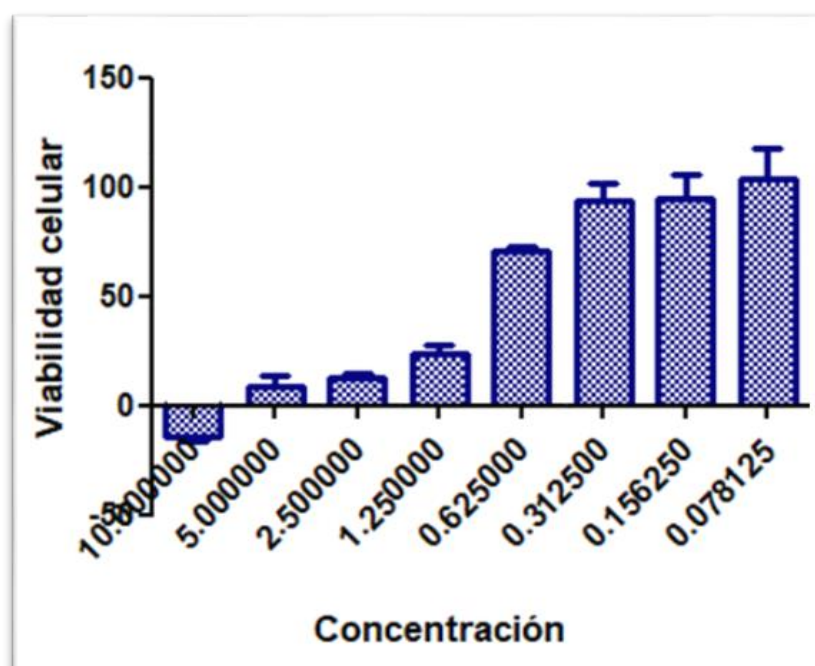


Gráfico de barras para dos variables de relación de viabilidad celular de la línea celular Mia paca y concentraciones del aceite de *G. americana* L. de 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125; 0,15625 y 0,078125 μM .

Gráfico 2

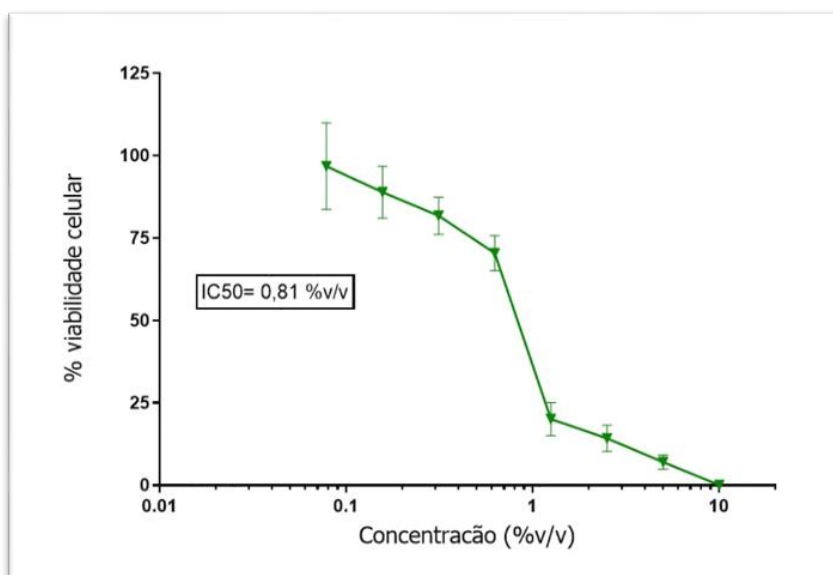


Gráfico de proliferación de la línea celular Mia paca tratada con el aceite esencial de *G. americana* L., en donde se observa con valores de IC 50, una regresión lineal entre las variables de viabilidad celular y concentración del aceite esencial de *G. americana* y como en todas las concentraciones ha demostrado una alta tasa de mortalidad celular, que fue más pronunciada en altas concentraciones del aceite.

Con respecto a los resultados de la citotoxicidad del aceite esencial de *G. americana* L. sobre la línea celular de fibroblastos humanos MRC-5, como se observa en el Gráfico 3, se infiere que el aceite esencial de *G. americana* L. no es tóxico para las células normales.

Gráfico 3

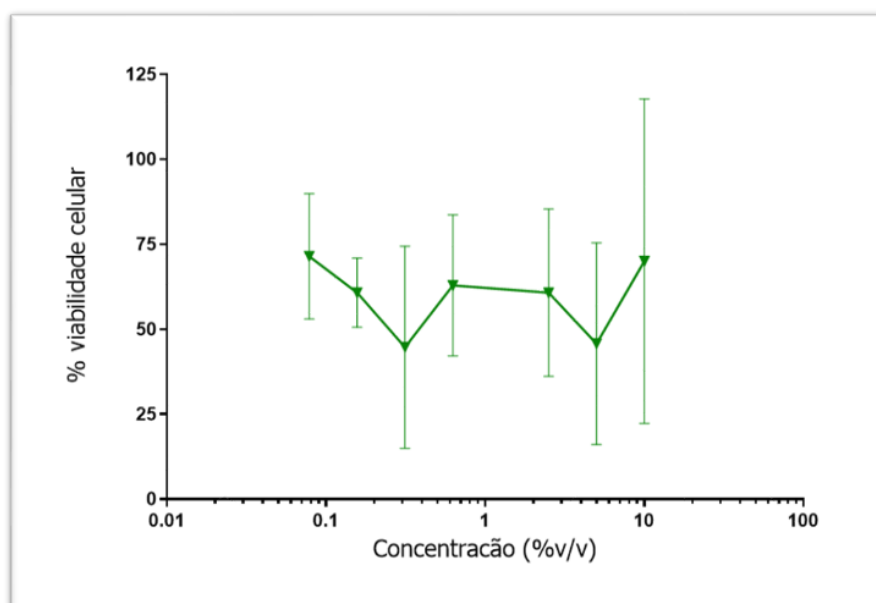


Gráfico de proliferación de MRC-5 tratada con el aceite esencial de *G. americana* L., en donde se observa que a pesar de la variabilidad del resultado, el aceite esencial de *G. americana* en todas las concentraciones no es tóxico para la línea celular MRC-5.

4.2. Identificación de componentes de aceites esenciales

El material seco y molido fue de 186,6 g, del cual la extracción resultó en 198 mg de aceite esencial (Imagen 18). Por lo cual, por cada 100 g del material se obtienen 106 mg del aceite siendo el rendimiento del 0,1%. Con respecto a el análisis GC y GC / MS dio como resultado la identificación de 22 compuestos, que representan el 39,98% de la composición total (Tabla 3). El aceite esencial obtenido de las hojas de *Genipa americana* L. era rico en 17,83% de alcoholes (*Hexenol <2E>*, *n-hexenol*, *1-Octen-3-ol*, *Alcohol bencílico*); 9,58% de aldehídos (*Hexenal*, *Hexadienal <(2E,4E)>*, *Acetaldehído de benceno* y *Hexenal <(2E)>*, *acetal de dietilo*); 5,18% de ésteres (*Salicilato de metilo*, *Benzoato de prenilo*, *Benzoato de hexenilo <(3Z)>*, *Benzoato de hexilo <(n)>*, *Benzoato de hexenilo <(2E)>* y *Benzoato de bencilo*); 4,09% de fenoles (*Hidroxitolueno butilado*); 1,26% de sesquiterpenoides (β -*cariofileno*, β -*lonone <(E)>* y *epi- α -Bisabolol*); 0,86% de monoterpeneo (α -*Pineno* y β -*Damascenona <(E)>*); 0,62% de furano (*2-pentil furano*); y 0,56 de *Isobutanoato de isobornilo <5-oxy->*.

Tabla 3. Composición relativa (%) de los componentes identificados en los análisis

Componentes	RI ^a	RI ^b	<i>Genipa americana</i>
Hexenal	844	855	8,35
Hexenol <2E>	858	862	6,38
n-hexenol	860	870	9,82
<i>Hexadienal <(2E,4E)></i>	909	909	0,5
α - <i>Pineno</i>	931	939	0,41
<i>1-Octen-3-ol</i>	977	979	0,9
<i>2-pentil furano</i>	992	988	0,62
<i>Alcohol bencílico</i>	1034	1031	0,73
<i>Acetaldehído de benceno</i>	1043	1042	0,58
<i>Hexenal <(2E)></i> , <i>acetal de dietilo</i>	1100	1098	0,15
<i>Salicilato de metilo</i>	1193	1191	0,4
β - <i>Damascenona <(E)></i>	1384	1384	0,45
β - <i>cariofileno</i>	1418	1419	0,38
<i>Benzoato de prenilo</i>	1478	1486	0,4
β - <i>lonone <(E)></i>	1486	1488	0,51
Hidroxitolueno butilado	1513	1515	4,09
Benzoato de hexenilo <(3Z)>	1570	1566	1,92
Benzoato de hexilo <(n)>	1577	1580	1,01
<i>Benzoato de hexenilo <(2E)></i>	1585	1587	0,9
<i>Isobutanoato de isobornilo <5-oxy-></i>	1596	1603	0,56
<i>epi-α-Bisabolol</i>	1684	1684	0,37
<i>Benzoato de bencilo</i>	1766	1760	0,55

Total identificado (%)			39,98
------------------------	--	--	-------

RI^a: valores de los índices de retención relativa calculados utilizando la columna RTX-5 (GCMS) y la serie de n-alcenos C8-C19. **RI^b:** índices de retención relativa publicados para la columna apolar DB-51; *: media de las composiciones relativas calculadas utilizando la columna OV-5 (GC-FID) y las series de n-alcenos C8-C19.

Fuente: Adams, R. P., 2009. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, 4th. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, USA.*

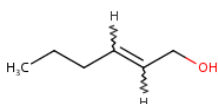
4.3. Conceptos básicos de los componentes del aceite esencial de *Genipa americana* L.

HEXENAL (C₆H₁₀O)



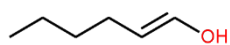
Un aldehído de ácido graso monoinsaturado que es hexeno que tiene un grupo oxo en la posición 1 (EUROPEAN MOLECULAR BIOLOGY LABORATORY, 2018).

HEXENOL <2E> (C₆H₁₂O)



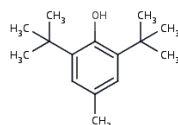
Un alcohol alílico primario que es 2-hexeno en el que un hidrógeno en la posición 1 ha sido reemplazado por un grupo hidroxilo (EUROPEAN MOLECULAR BIOLOGY LABORATORY, 2021).

N - HEXENOL (C₆H₁₂O)



Pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como enoles. Se trata de compuestos que contienen el grupo funcional enol, con la estructura HO(R)C=CR'. (BCSIR LABORATORIES CHITTAGONG, 2021).

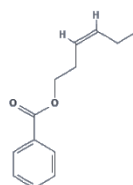
HIDROXITOLUENO BUTILADO (C₁₅H₂₄O)



Producto químico orgánico compuesto por 4-metilfenol modificado con grupos terc-butilo en las posiciones 2 y 6. El hidroxitolueno butilado (bht) inhibe la autooxidación de compuestos orgánicos insaturados. Bht se utiliza en alimentos, cosméticos y fluidos

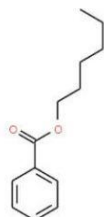
industriales para prevenir la oxidación y la formación de radicales libres. (NATIONAL CANCER INSTITUTE, [s.d.]).

BENZOATO DE HEXENILO <(3Z)> (C₁₃H₁₆O₂)



El benzoato de cis-3-hexenilo, también conocido como benzoato de (Z) -3-hexen-1-ol o fema 3688, pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como ésteres de ácido benzoico. Estos son derivados de éster del ácido benzoico. El benzoato de cis-3-hexenilo es un compuesto básico (esencialmente neutro) extremadamente débil (basado en su pKa), es un compuesto balsámico, graso y de sabor floral. Fuera del cuerpo humano, se ha detectado benzoato de cis-3-hexenilo, pero no se ha cuantificado en frutas y té. Esto podría convertir al benzoato de cis-3-hexenilo en un biomarcador potencial para el consumo de estos alimentos (THE METABOLOMICS INNOVATION CENTRE, 2019).

BENZOATO DE HEXILO <(N)> (C₁₃H₁₈O₂)



Es un éster, los ésteres reaccionan con los ácidos para liberar calor junto con los alcoholes y los ácidos. Los ácidos oxidantes fuertes pueden provocar una reacción vigorosa que sea suficientemente exotérmica para encender los productos de reacción. El calor también se genera por la interacción de ésteres con soluciones cáusticas. El hidrógeno inflamable se genera mezclando ésteres con hidruros y metales alcalinos (CAMEO CHEMICALS, 1992).

Desde el momento de la investigación hasta mediados del mes de diciembre del 2022 no se encontró disponible en la literatura la descripción de los compuestos del aceite de *G. americana* L. ni alguna composición química similar descrita, hasta finales de diciembre del 2022 cuando se disponibiliza en la web un estudio realizado en el 2019 por De Jesús, en el cual aceite esencial de hojas de *G. americana* L. se extrajo por hidrodestilación utilizando un aparato tipo Clevenger durante 180 min utilizando hexano como disolvente para luego someterlo a un análisis de (GC/MS) que identificó 42 componentes (DE JESUS *et al.*, 2019).

5. DISCUSIÓN

Con respecto al rendimiento del aceite de las hojas *G. americana* L., no se ha hallado en la literatura una investigación que la especifique, por consecuencia, se han tenido en cuenta otras técnicas de extracción y familias de plantas relacionadas. El rendimiento del extracto metanólico por infusión obtenido de las hojas de *G. americana* L. es equivalente al del aceite esencial (0,1%) (VASCONCELOS *et al.*, 2017a), por el contrario, el rendimiento es de 9×10^{-6} en la extracción del aceite esencial de la fruta de *G. americana* L. con 1 kg de pulpa utilizando 15 mL de diclorometano y se obtuvo 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de aceite (BORGES; REZENDE, 2011).

La toxicidad del aceite de *G. americana* L. en extractos etanólicos de hojas de *G. americana* L. no mostró citotoxicidad en todas las diluciones probadas, por lo tanto, se estableció la concentración de 0,2 mg/mL para uso en ensayos antivirales, la alteración tóxica en la monocapa celular varió desde la muerte celular con destrucción total de la monocapa hasta la formación de vacuolas y condensación celular (SILVA *et al.*, 2017). Así mismo, se demostró en células normales de fibroblasto, en un estudio el fibroblasto humano MRC-5 se expuso a colorante del fruto de *G. americana* L., el porcentaje de células viables fue $(95,1 \pm 1,3) \%$ a la concentración de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ del colorante, incluso a la concentración más alta probada, la muerte no fue superior al 50 % (DE MIRANDA SABINO *et al.*, 2021). En contraste, el taxol (Paclitaxel) aislado del tallo o la corteza del *Taxus brevifolia* que se emplea como un quimioterápico para varios tipos diferentes de cáncer (KURIAKOSE *et al.*, 2020), es un estabilizador de microtúbulos con numerosas indicaciones en oncología. Las toxicidades encontradas durante el tratamiento con paclitaxel incluyen toxicidades neurológicas, hematológicas, gastrointestinales y cardíacas, además de reacciones de hipersensibilidad (AL-MAHAYRI; ALAHMAD; ALI, 2021).

Los compuestos identificados por medio de la GC, en el estudio realizado por De Jesus *et al.* (2019), del aceite esencial de hojas de *G. americana* L. que identificó 42 componentes, de los cuales, los siguientes componentes difieren a los hallados en la presente investigación: Hexenal con 8,25; Hexenol <2E> con 6,38; n-hexenol con 9,82; Hexadienal <(2E,4E)> con 0,5; α -Pino con 0,41; 1-Octen-3-ol con 0,9; alcohol bencílico con 0,73; Acetaldehído de benceno con 0,58; Hexenal <(2E)>, Acetal de dietilo con 0,15; β -cariofileno con 0,38; Hidroxitolueno butilado con 4,09; Benzoato de hexenilo <(3Z)> con 1,92; Benzoato de hexenilo <(2E)> con 0,9; Isobutanoato de isobornilo <5-oxy-> con 0,56 y epi- α -Bisabolol con 0,55. En contrapartida, los otros compuestos mayoritarios son: (2E,4E)-

decadienal con 6,01; (E,E)- α -farnesene con 5,10; Pentadecanal con 11,55 y Ácido linoleico con 15,48.

La mayoría de los componentes encontrados en el aceite esencial de *Genipa americana* L. poseen múltiples efectos, entre ellos, los efectos antitumoral y antioxidante son los que se relacionan directamente con los resultados de la presente investigación. De la siguiente manera: a) Los antitumorales están relacionados con lo que impide el crecimiento anormal de las células (INSTITUTO NACIONAL DEL CÁNCER, [s.d.]). El objetivo de las terapias contra el cáncer es inducir la muerte de las células tumorales. El CDDP es uno de los compuestos más utilizados y se utiliza para un amplio espectro de neoplasias malignas humanas (ZHANG *et al.*, 2012). b) Los antioxidantes administrados a niveles elevados durante mucho tiempo parecieron retrasar ciertos procesos de envejecimiento y reducir la denominada incidencia de tumores espontáneos en determinadas condiciones. Esto se atribuyó a la presunta captura de radicales libres. (HARMAN, 1969). Por causa de la falta de estudios químicos y farmacológicos sobre los componentes y los efectos de los mismos del aceite esencial de las hojas *Genipa americana* L. A continuación, se nombrarán los antecedentes encontrados en la literatura sobre los efectos antitumoral y antioxidante de los componentes. Cabe mencionar que el genipin mencionado como uno de los principios activos más conocido por su efecto antitumoral en extractos hidroalcohólicos no fue identificado por la técnica de extracción del aceite esencial.

Primeramente, se mencionan a los componentes mayoritarios y sus respectivos efectos terapéuticos encontrados en la literatura (Anexo A y Tabla 4), basándose en la premisa de que, para garantizar la efectividad de un aceite esencial, se requiere la presencia de concentraciones suficientes de sus ingredientes activos. En este trabajo se consiguió determinar algunos componentes, y entre los mayoritarios fueron encontrados los componentes: Hexenal, Hexenol <2E> y n-hexenol. Resaltamos que no se encontraron estudios previos, utilizando estos compuestos, en el modelo celular de carcinoma pancreático con células Mia paca-2. Dado que no existen relatos de los efectos de estos compuestos, y por ser parte de los mayoritarios, resulta interesante su evaluación in vitro. Estos compuestos pueden ser sintetizados químicamente y adquiridos comercialmente para identificar su potencial citotóxico en el carcinoma pancreático.

Derivados del Hexenal, como el 2 trans Hexenal ya ha sido relatado como posible carcinógeno (NÁDASI *et al.*, 2005).

Otro compuesto que fue encontrado representado por 4% en el aceite esencial fue el hidroxitolueno butilado (BHT). En estudios en ratas, la administración de 5000 ppm de

BHT disminuyó el efecto carcinogénico de varios compuestos en el hígado en un grado moderado. BHT redujo la incidencia de hepatoma en machos al 20% cuando el carcinógeno era FAA. con N-OH-FAA, BHT redujo la incidencia de tumores hepáticos al 15% y de cáncer de mama en las hembras al 35% (ULLAND *et al.*, 1973). Otros autores describen que BHT induce enzimas como la glucuronil transferasa, que aumentan la formación de ácido glucosidurónico, lo que conduce a la excreción de los metabolitos carcinógenos (MATSUSHIMA *et al.*, 1972). Además de su actividad antioxidante mediante el ensayo del modelo b-CL y el ensayo de captación de radicales libres DPPH (BABU; WU, 2008; DAWIDOWICZ; OLSZOWY; JÓŻWIK-DOLEBA, 2015), el BHT ya ha sido demostrado como citotóxico en modelos tumorales (SAITO; SAKAGAMI; FUJISAWA, 2003) en las células de eritroleucemia de ratón (OHNO *et al.*, 1984), en una línea celular de cáncer maxilar humano (YAMAMOTO *et al.*, 1996) y en la línea celular de tumor vesical humano T-24 (LU *et al.*, 2002). Finalmente, el BHT no es genotóxico ni reproducible carcinogénico, aunque en dosis altas, 250 mg / kg / día o más, se asoció con algunos aumentos no armados de neoplasmas espontáneos, no presenta riesgo de cáncer y, por el contrario, puede ser anticancerígenos en concentraciones tan bajas como 100 ppm. ejerce propiedades anticancerígenas incluso de uso de aditivos alimentarios (WILLIAMS; IATROPOULOS; WHYSNER, 1999).

De los componentes Benzoato de hexenilo <(3Z)> y Benzoato de hexilo <(n)> no se encontraron antecedentes de efecto antitumoral.

6. CONSIDERACIONES FINALES

Los componentes α -pineno, β -cariofileno, β -ionona y hidroxitolueno butilado presentaron en estudios previos efecto antitumoral, asimismo, 2-pentil-furano, β -cariofileno y hidroxitolueno butilado presentaron efecto antioxidante. Siendo del aceite esencial de *Genipa americana* L. el mayor componente de los citados anteriormente el hidroxitolueno butilado (4,09). Todos los componentes fueron ampliamente estudiados en diversos tipos de investigaciones y comprobados sus efectos con los niveles de toxicidad correspondientes.

Debido a la mayor evidencia científica y el porcentaje se podría indicar que el hidroxitolueno butilado es el componente con mayor poder antitumoral. No obstante, es preferible para futuros trabajos aislar del aceite esencial de *Genipa americana* L. : α -pineno, β -cariofileno, β -ionona y hidroxitolueno butilado para evaluar su efecto antitumoral teniendo en cuenta las dosis de toxicidad.

En síntesis, el presente estudio es el primero en demostrar el efecto terapéutico in vitro del aceite de *G. americana* L. en el cáncer de páncreas humano de las líneas celulares Mia PaCa-2, lo que indica que el aceite de *G. americana* L. es un potencial fármaco terapéutico para tratar el cáncer de páncreas. Además, no presentó toxicidad sobre línea celular de fibroblastos humanos MRC-5, lo cual indica que probablemente no tendrá un efecto negativo en las células normales. Sin embargo, todavía se desconoce qué componente exacto del aceite es el produce el efecto antitumoral, para lo cual se sugiere realizar más estudios en relación de los componentes encontrados sobre la línea celular de cáncer de páncreas humano (Mia PaCa-2).

7. REFERENCIAS

ADAMS, R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. 4th. ed.. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2009.

AGRA, M. D. F.; *et al.* *Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.

AHMAD KHAN, M. S.; AHMAD, I.. *Herbal Medicine: Current Trends and Future Prospects*. **New Look to Phytomedicine: Advancements in Herbal Products as Novel Drug Leads**, p. 03-13, 01 ene. 2019.

ALAN, F.. *Final Report on the Safety Assessment of Bisabolol 1*. **International Journal of Toxicology**, p. 33-40, 1999.

ALINE CIGOLINI RUZZA, D.; *et al.* *Etnobotânica do jenipapo (Genipa americana L., Rubiaceae) entre agricultores no município de Carlinda, Mato Grosso, Brasil*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 6118–6184, 24 ago. 2020.

AL-MAHAYRI, Z. N.; ALAHMAD, M. M.; ALI, B. R.. *Current opinion on the pharmacogenomics of paclitaxel-induced toxicity*. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 17, n. 7, p. 785–801, 2021. Disponible en: <<https://doi.org/10.1080/17425255.2021.1943358>>. Acceso en: 13 de jun. 2022.

ALVES, J. S. F.; *et al.* *Iridoids from leaf extract of Genipa americana*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, n. 05, p. 641-644, 2017.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Key Statistics for Pancreatic Cancer**. Raleigh, North Carolina, USA: American Cancer Society, 2021. Disponible en: <<https://www.cancer.org/cancer/pancreatic-cancer/about/key-statistics.html>>. Acceso en: 13 jun. 2021.

AMERICAN CANCER SOCIETY. *¿Qué es el cáncer?*. Atlanta, Geórgia, USA: ACS, 2020.

Disponible en: <<https://www.cancer.org/es/tratamiento/como-comprender-su-diagnostico/que-es-el-cancer.html>>. Acceso en: 20 dic. 2022.

API, A. M.; et al.. *RIFM fragrance ingredient safety assessment, trans-2-Hexenol, CAS Registry Number 928-95-0. Food and Chemical Toxicology*. Elsevier Ltd, 1 sep. 2018.

Disponible en:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691518304071?via%3Dihub>>

. Acceso en: 13 jun. 2021.

AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION (atcc). *MIA PaCa-2 ATCC ® CRL-1420™*

Homo sapiens pancreas carcinoma. Disponible en:

<<https://www.atcc.org/products/all/CRL-1420.aspx>>. Acceso en: 20 mayo. 2021.

BABU, B.; WU, J. T.. *Production of natural butylated hydroxytoluene as an antioxidant by freshwater phytoplankton. Journal of Phycology*, v. 44, n. 6, p. 1447–1454, dic. 2008.

BASUALDO, I.; et al.. *Plantas medicinales comercializadas en los mercados de Asunción y Gran Asunción. Parte I. Rojasiana*, v. 6, n. 1, p. 95-114, 2004.

BCSIR LABORATORIES CHITTAGONG. *N-Hexenol. GreenMoIBD*, 2021. Disponible en:

<<https://www.greenmolbd.gov.bd/compound/4448#compound-in-different-plants>>. Acceso

en: 13 jun. 2021.

BEATRIZ MARTÍNEZ, G.; MOURÃO JUNIOR, M.; BRIENZA JUNIOR, S.. *Selection of multipurpose forest species ideotypes of the floodplains in the Low Amazon Basin, Pará. Acta Amazonica*, v. 40, n. 01, p. 65-74, 2010.

BOBADILLA, C.. et al.. *Actividad antioxidante y antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de Achyrocline satureides y Genipa americana. XV Simposio Latinoamericano de Farmacobotánica. Anais...Asunción, Paraguay: 2015.*

BOREK, F.. *Culture of animal cells: a manual of basic technique*. [s.l: s.n.]. v. 183.

BORGES, E. S.; REZENDE, C. M.. *Main Aroma Constituents of Genipap (Genipa americana L.) and Bacuri (Platonia insignis M.). Journal of Essential Oil Research*, v. 12, n. 1, p. 71-74, 2011. Disponible en: <<http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2000.9712046>>. Acceso en: 13 jun. 2021.

BRANDÃO, F.; *et al.*. *Antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts from genipap, baru and taruma. Ciência Rural*, v. 47, n. 08, p. 08, 20 jul. 2017.

BRITTON, N. L.. *Flora Borinqueña. Nueva York: The New York Botanical Garden (NYBG)*, 1931. Disponible en: <<https://sciweb.nybg.org/science2/hcol/pr/florbor.asp.html>>. Acceso en: 13 de jun. 2022.

BROCKSOM, T. J.; *et al.*. *Essential oils as raw materials in the synthesis of anticancer drugs. Bioactive Essential Oils and Cancer*, 2015. p. 81-109.

BURRIS III, H. A.; *et al.*. *Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. Journal of Clinical Oncology*, v. 15, n. 66, p. 2403-2413, jun. 1997.

CÁCERES A, M. S.; MACHAÍN SINGER, M.. *Manual de uso de hierbas medicinales del Paraguay*. París, Francia: UNESCO, 2001.

CÁCERES A., M. S.; MACHAÍN SINGER, M. *Manual de uso de hierbas medicinales del Paraguay*. París, Francia: Marben Editora y Grafica, 2014.

CAMEO CHEMICALS. *Hexyl Benzoate*. [s.l.]: CAMEO Chemicals | NOAA, 2021. Disponible en: <<https://cameochemicals.noaa.gov/chemical/20482>>. Acceso en: 16 jun. 2021.

CAMPILLOS PÁEZ, M. T.; *et al.*. *Escabiosis: revisión y actualización. Medifam*, v. 12, n. 7, p. 40-54, 2002.

CAO, Y.; *et al.*. *Cancer research: past, present and future. Nature Reviews Cancer*, v. 11, n. 10, p. 749-754, 15 sep. 2011.

CENTRO NACIONAL DE CONSERVAÇÃO DA FLORA. **Genipa americana na Lista Vermelha da flora brasileira**. Rio de Janeiro, Brasil: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2012. Disponible en: <<http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Genipa%20americana>>. Acceso en: 22 mar. 2021.

DARIYA, B.; ALAM, A.; NAGARAJU, G. P.. *Biology, pathophysiology, and epidemiology of pancreatic cancer. **Theranostic Approach for Pancreatic Cancer***, p. 01-50, 01 ene. 2019.

DAWIDOWICZ, A. L.; OLSZOWY, M.; JÓŹWIK-DOLEBA, M.. *Antagonistic antioxidant effect in butylated hydroxytoluene/butylated hydroxyanisole mixture. **Journal of Food Processing and Preservation***, v. 39, n. 06, p. 2240-2248, 01 dic. 2015.

DE ALMEIDA BARBOSA, D.. **AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E FARMACOLÓGICA DE Genipa americana L. (RUBIACEAE)**. Rio de Janeiro, Brasil: Universidad Federal de Rio de Janeiro, 2008.

DE JESUS, A. S.; et al.. *Composition and bioactivity of essential oil from the leaves of Genipa americana against the coconut mite *Aceria guerreronis*. **Journal of Agricultural Science***, v. 11, n. 18, p. 197-205, 2019.

DE MIRANDA SABINO, C. V. et al. *Physicochemical Characterization, Stability and Cytotoxicity of a Blue Dye Obtained from Genipap Fruit (Genipa americana L.). **Food Technology and Biotechnology***, v. 59, n. 1, p. 103-111, 2021. Disponible en: <<https://hrcak.srce.hr/clanak/373424>>. Acceso en: 24 julio 2023.

DIAS, R. B.; et al.. *Principles of cancer pathogenesis and therapies: a brief overview. **Bioactive Essential Oils and Cancer***, p. 01-17, 10 sep. 2015.

DIORI KARIDIO, I.; SANLIER, S. H.. *Reviewing cancer's biology: an eclectic approach. **Journal of the Egyptian National Cancer Institute***, v. 33, n. 01, p. 01-17, 01 nov. 2021.

DRUGBANK. *Benzyl benzoate: uses, interactions, mechanism of action. **Drugbank online***. Edmonton, Canadá: OMx Personal Health Analytics, 2005. Disponible en: <<https://go.drugbank.com/drugs/DB00676>>. Acceso en: 16 jun. 2021.

EL-ABID, H.; *et al.*. *Chemical composition and anti-cancer properties of Juniperus oxycedrus L. essential oils on estrogen receptor-positive breast cancer cells*. **Journal of Functional Foods**, v. 59, p. 261-271, 01 ago. 2019.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Benzeneacetaldehyde.alpha-ethylidene-4411-89-6 | DTXSID20863391**. Washington, D.C., USA: EPA, 2021. Disponible en: <<https://comptox.epa.gov/dashboard/dsstoxdb/results?search=DTXSID20863391#exposure>>. Acceso en: 14 jun. 2021.

EUROPEAN CHEMICALS AGENCY. **Benzeneacetaldehyde, cyclic acetal with glycerol - toxicological information**. Helsinki, Finlandia: ECHA, 2021. Disponible en: <<https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/19840/7/3/1>>. Acceso en: 14 jun. 2021.

EUROPEAN CHEMICALS AGENCY. **Hexyl benzoate - Registration Dossier - ECHA**. Helsinki/Finlandia: ECHA, 2021. Disponible en: <<https://echa.europa.eu/es/registration-dossier/-/registered-dossier/24733/7/7/2>>. Acceso en: 16 jun. 2021.

EUROPEAN MOLECULAR BIOLOGY LABORATORY. **Hexenal (CHEBI:24578)**. Heidelberg/Alemania: EMBL, 2021. Disponible en: <<https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI:24578>>. Acceso en: 08 jun. 2021.

EUROPEAN MOLECULAR BIOLOGY LABORATORY. **2-hexen-1-ol (CHEBI:144070)**. Heidelberg/Alemania: EMBL, 2021. Disponible en: <<https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI:144070>>. Acceso en: 12 jun. 2021.

FAO. **Food and fruit-bearing forest species - Examples from Latin America**. Roma, Italia: FAO, 2020. Disponible en: <<http://www.fao.org/3/ap368e/ap368e00.pdf>>. Acceso en: 27 mayo. 2020.

FAO. **Food safety and quality: details**. Roma, Italia: FAO, 2021. Disponible en: <<http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/jecfa-flav/details/en/c/1166/>>. Acceso en: 8 jun. 2021.

FERNANDEZ, V.; *et al.*. Efecto antimitótico y citotóxico del extracto etanólico de *Genipa americana* L. sobre tejido meristemático de *Allium cepa* L. y cultivo celular NCTC-929. In: BENITEZ DE BERTONI, B. (Ed.). **Steviana**, v. 3, p. 48-53, 2011.

FOGEL, R.; *et al.*. **Propiedades medicinales de plantas: conocimiento tradicional y patentes**. Asunción/Paraguay: Conacyt, 2016. Disponible en: https://www.conacyt.gov.py/sites/default/files/upload_editores/u294/Libro-INV-470-1.pdf. Acceso en: 18 oct. 2020.

FRANCIS, J. K.; LOWE, C. A.. **Bioecología de árboles nativos y exóticos de Puerto Rico y las Indias Occidentales**. San Juan, Puerto Rico: USDA, 2000.

GARRIDO-LAGUNA, I.; HIDALGO, M.. *Pancreatic cancer: from state-of-the-art treatments to promising novel therapies*. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 12, n. 06, p. 319-334, 31 mar. 2015.

GERSHANIK, J.; *et al.*. *The Gasping Syndrome and benzyl alcohol poisoning*. **New England Journal of Medicine**, v. 307, n. 22, p. 1384-1388, 25 nov. 1982.

GERTSCH, J.; *et al.*. *Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 26, p. 9099-9104, 01 jul. 2008.

GHORBANPOUR, M.; *et al.*. *Importance of medicinal and aromatic plants in human life*. **Medicinal Plants and Environmental Challenges**, p. 01-23, 31 oct. 2017.

GOMES-CARNEIRO, M. R.; *et al.*. *Inhibition of cyclophosphamide-induced teratogenesis by β -ionone*. **Toxicology Letters**, v. 138, n. 03, p. 205-213, 03 mar. 2003.

GONZALEZ, D. M.. **Catálogo de plantas medicinales usadas en Paraguay**. Asunción, Paraguay: Servilibro, 2009.

GONZÁLEZ DE GARCÍA, M.; *et al.*. Morfoanatomía Comparativa de *Genipa americana* L. (*RUBIACEAE*) y *Sorocea bonplandii* (Baill.) W. C. Burger, Lanj. & Wess. Boer (*MORACEAE*) comercializadas en el Mercado de San Lorenzo. **Rojasiana**, v. 10, n. 01, p. 93-101, 2011.

GRÜTZMANN, R.. *Epidemiology, treatment, and outcome of pancreatic cancer*. **Molecular Diagnostics and Treatment of Pancreatic Cancer**, p. 03-09, 01 ene. 2014a.

GRÜTZMANN, R.. *Epidemiology, treatment, and outcome of pancreatic cancer*. **Molecular Diagnostics and Treatment of Pancreatic Cancer**, p. 03-09, 01 ene. 2014b.

GUENTHER, E.; PH, D.. *The essential oils*. **Nature**, v. 163, n. 4148, p. 663-663, 1949.

H, B. D.; *et al.*. *Assistant Editor Editorial Board Honorary Advisory Board Subscription enquiries and Advertising Offices*. **Food and Chemical Toxicology**, [s.l: s.n.]. Disponible en: <http://lib3.dss.go.th/fulltext/scan_ebook/food_chem_1982_v20_n6.pdf>. Acceso en: 14 jun. 2021.

HAKKIM, F. L.; AL-BULOSHI, M.; AL-SABAHI, J.. *Frankincense derived heavy terpene cocktail boosting breast cancer cell (MDA-MB-231) death in vitro*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 05, n. 10, p. 824-828, 01 oct. 2015.

HANIF, M. A.; *et al.*. *Essential oils*. **Essential Oil Research**, p. 03-17, 2019.

HARMAN, D.. *Prolongation of life: role of free radical reactions in aging*. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 17, n. 8, p. 721-735, 1 ago. 1969.

HOKENESS, K.; *et al.*. *The effects of fungal volatile organic compounds on bone marrow stromal cells*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 60, n. 01, p. 01-04, ene., 2014.

HURTADO, M.; *et al.*. *Chemoresistance in pancreatic cancer: emphasis on age and gender*. **Breaking Tolerance to Pancreatic Cancer Unresponsiveness to Chemotherapy**, p. 13-23, ene., 2019.

INAMDAR, A. A.; et al.. *Fungal-derived semiochemical 1-octen-3-ol disrupts dopamine packaging and causes neurodegeneration. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America***, v. 110, n. 48, p. 19561-19566, 26 nov. 2013.

INSTITUTO DE PESQUISAS ECOLÓGICAS. *Flora Regional - IPÊ*. Nazaré Paulista, São Paulo, Brasil: Instituto de Pesquisas Ecológicas (Ipê), 2013. Disponible en: <<http://flora.ipe.org.br/sp/206#ref-3>>. Acceso en: 22 mar. 2021.

ISAC-GARCÍA, J.; et al.. *Microscale Experiments. **Experimental Organic Chemistry***, p. 371-408, 01 ene. 2016.

IŞCAN, G.; et al.. *Biological activity and composition of the essential oils of *Achillea schischkinii* Sosn. and *Achillea aleppica* DC. subsp. *aleppica*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry***, v. 54, n. 01, p. 170-173, 11 ene. 2006.

JAPAN INTERNACIONAL COOPERATION AGENCY. *Interim Report on Cooperation in Study (Chemical and Pharmaceutical Study on Herbs) with Paraguay*. Asunción, Paraguay: JICA, 1988. Disponible en: <https://openjicareport.jica.go.jp/pdf/10409878_01.pdf>. Acceso en: 4 ene. 2021.

KEELER, C.. *Genipa americana in Native Tropical Medicine. **International Journal of Dermatology***, v. 3, n. 2, p. 104-107, abr. 1964.

KHUDA-BUKHSH, A. R.; SAMADDER, A.; SAHA, S. K.. *Introduction to cancer stem cells. **Cancer Stem Cells: New Horizons in Cancer Therapies***, p. 01-13, 2020.

KONTOMANOLIS, E. N.; et al.. *Basic principles of molecular biology of cancer cell-Molecular cancer indicators. **JBUON***, v. 26, n. 05, p. 1723-1734, 2021.

KRISHNAMURTHY, R. G.; et al.. *Identification of 2-pentyl furan in fats and oils and its relationship to the reversion flavor of soybean oil. **Journal of Food Science***, v. 32, n. 04, p. 372-374, 01 jul. 1967.

KURIAKOSE, G. C.; et al.. *Sub-acute toxicity assessment of taxol isolated from *fusarium solani*, an endophytic fungus of *taxus brevifolia*, in wistar rats and analyzing its cytotoxicity*

and apoptotic potential in lung cancer cells. **Frontiers in Oncology**, v. 10, p. 1825, 06 oct. 2020.

LANCIOTTI, R.; *et al.*. Application of hexanal, (E)-2-hexenal, and hexyl acetate to improve the safety of fresh-sliced apples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 10, p. 2958-2963, 07 mayo 2003.

LIMA, J. K. A.; *et al.*. Biototoxicity of aqueous extract of *Genipa americana* L. bark on red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst). **Industrial Crops and Products**, v. 156, p. 112874, 15 nov. 2020.

LOWE, S. W.; CEPERO, E.; EVAN, G.. Intrinsic tumour suppression. **Nature**, v. 432, n. 7015, p. 307-315, 17 nov. 2004.

LU, H. F.; *et al.*. Effects of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on DNA adduct formation and arylamine N-acetyltransferase activity in human bladder tumour cells. **Journal of Applied Toxicology**, v. 22, n. 01, p. 37-44, 2002.

MACHADO, K. DA C.; *et al.*. A systematic review on the neuroprotective perspectives of beta-caryophyllene. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 12, p. 2376-2388, 01 dic. 2018.

MADEIRA, J. C.; *et al.*. An arabinogalactan-glycoconjugate from *Genipa americana* leaves present anticoagulant, antiplatelet and antithrombotic effects. **Carbohydrate Polymers**, v. 202, p. 554-562, 2018.

MADES/PNUD/FMAM.. **Guía de Arborización Urbana para el Área Metropolitana de Asunción**. Asunción: [s.n.].

MAISONNEUVE, P.; LOWENFELS, A.. Epidemiology and prospects for prevention of pancreatic cancer. **Pancreatic cancer**, p. 03-18, 11 abr. 2018.

MANGO MAMANI, E. É.; DURAND ALDAVA, J.. **Obtención de polifenoles de hojas de *Genipa americana* (jagua) y evaluacion de su actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos**. Lima, Peru: Universidad Inca Garcilaso de la Vega, 2018.

MARION PIÑEROS, M.; *et al.*. *Cancer registration for cancer control in Latin America: a status and progress report*. **Rev. Panam Salud Publica**, v. 41, 2017.

MATSUSHIMA, T.; *et al.*. *Phenobarbital-mediated increase in ring- and N-hydroxylation of the carcinogen N-2-fluorenylacetamide, and decrease in amounts bound to liver deoxyribonucleic acid*. **Biochemical Pharmacology**, v. 21, n. 15, p. 2043-2051, 01 ago. 1972.

MERAD BOUSSALAH, N.. *Chemical composition and biological activities of essential oil and hydrosol extract from aerial parts of Cynoglossum cheirifolium L. from Algeria*. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 23, n. 01, p. 97-104, 02 ene. 2020.

MERCK KGAA. **Protocolo del análisis de la viabilidad y la proliferación celulares con MTT**. Darmstadt, Alemania: Merck, 1994. Disponible en: <https://www.sigmaaldrich.com/PY/es/technical-documents/protocol/cell-culture-and-cell-culture-analysis/cell-counting-and-health-analysis/cell-proliferation-kit-i-mtt>. Acceso en: 28 dic. 2022.

MISSOURI BOTANICAL GARDEN. **Genipa americana var. americana**. St. Louis, Missouri, USA: Missouri Botanical Garden, 2021. Disponible en: <https://www.tropicos.org/name/27906413>. Acceso en: 02 ene. 2021.

MORAN, E. J.; EASTERDAY, O. D.; OSER, B. L.. *Acute oral toxicity of selected flavor chemicals*. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 3, n. 3, p. 249-258, 1980.

MORTON, J.. *Genipap*. In: **Fruits of warm climates**. Miami: [s.n.]. p. 441-443, 2013.

MURILLO, R.; ROBLES, C.. *Research needs for implementing cancer prevention and early detection in developing countries: from scientists' to implementers' perspectives*. **BioMed Research International**, v. 2019, p. 9607803, 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2019/9607803>. Acceso en: 10 ene. 2021.

NÁDASI, E.; *et al.*. *Carcinogenic potential of trans-2-hexenal is based on epigenetic effect*. **In vivo**, v. 19, p. 559-562, 2005.

NAKAMURA, S.; HATANAKA, A.. *Green-leaf-derived C6-aroma compounds with potent antibacterial action that act on both gram-negative and gram-positive bacteria*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 26, p. 7639-7644, 18 dic. 2002.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. **Butylated Hydroxytoluene (Code C322)**. Bethesda, Maryland, USA: NCI, 2021. Disponible en: [https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/pages/concept_details.jsf?dictionary=NCI Thesaurus &version=21.05d&code=C322&ns=NCI Thesaurus&type=properties&key=null&b=1&n=0&yse=null](https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/pages/concept_details.jsf?dictionary=NCI%20Thesaurus&version=21.05d&code=C322&ns=NCI%20Thesaurus&type=properties&key=null&b=1&n=0&yse=null)>. Acceso en: 15 jun. 2021.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. Definición de antitumoral. In: **Diccionario de cáncer del NCI (Instituto Nacional del Cáncer)**. Bethesda, Maryland, USA: NCI, 2021. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/antitumoral>>. Acceso en: 15 jun. 2021.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Hexenal | C6H10O - PubChem**. Bethesda, Maryland, USA: NCBI, 2021. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hexenal#section=GHS-Classification>>. Acceso en: 08 jun. 2021a.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **2-Hexen-1-OL | C6H12O - PubChem**. Bethesda, Maryland, USA: NCBI, 2020. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5318042>>. Acceso en: 12 jun. 2021b.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **2,4-Hexadienal | C6H8O - PubChem**. Bethesda, Maryland, USA: NCBI, 2021. Disponible en: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_4-Hexadienal>. Acceso en: 08 jun. 2021c.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Butylated hydroxytoluene | C15H24O - PubChem**. Bethesda, Maryland, USA: NCBI, 2021. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Butylated-hydroxytoluene#section=Toxicity>>. Acceso en: 15 jun. 2021d.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **SID 135044003 - PubChem**. Bethesda, Maryland, USA: NCBI, 2023. Disponible en:

<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/?source=chemidplus&sourceid=0018318837>>. Acceso en: 20 feb. 2023.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **beta-Ionone** | **C13H20O** - **PubChem**. Bethesda, Maryland, USA: NCBI, 2023. Disponible en: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/beta-ionone#section=Toxicological-Information>>. Acceso en: 20 feb. 2023.

NOGUEIRA, F. A.; *et al.*; *Efficacy of aqueous extracts of Genipa americana L. (Rubiaceae) in inhibiting larval development and eclosion of gastrointestinal nematodes of sheep.* **Journal of Applied Animal Research**, v. 42, n. 3, p. 356-360, 3 jul. 2014. Disponible en: <<http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?show=aimsScope&journalCode=taar20#.VsXoziCLRhE>>. Acceso en: 20 feb. 2023.

OHNO, Y.; *et al.*. *Differentiation induction of murine erythroleukemia cells by butylated hydroxytoluene.* **FEBS Letters**, v. 165, n. 2, p. 277-279, 09 ene. 1984.

OJEDA, A. M.. *Antimicrobial Activities of Genipa americana on JSTOR.* **Bios**, v. 37, n. 3, p. 108-111, 1966.

OLIVEIRA, D. L.. *Viabilidade econômica de algumas espécies medicinais nativas do cerrado.* **Revista EVS - Revista de Ciências Ambientais e Saúde**, v. 38, n. 2, p. 301-332, 2011.

OMENA, C. M. B.; *et al.*. *Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits.* **Food Research International**, v. 49, n. 01, p. 334-344, 01 nov. 2012.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. **Cáncer**. Ginebra, Suiza: WHO, 2022. Disponible en: <<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>>. Acceso en: 1 mayo. 2022.

ORTEGA TORRES, E.; STUTZ DE ORTEGA, L.; SPICHIGER, R.. **Flora del Paraguay: noventa especies forestales del Paraguay.** Ginebra, Suiza: *Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève*, 1989.

PALACIOS, W. A.. **Familias y géneros arbóreos del Ecuador**. Quito/Ecuador: Ministerio del Ambiente del Ecuador (MAE) & Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), 2011.

PAN, S. P.; *et al.* *C13 megastigmane derivatives from epipremnum pinnatum: β -damascenone inhibits the expression of pro-inflammatory cytokines and leukocyte adhesion molecules as well as NF- κ B signaling.* **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, p. 1351, 28 nov. 2019.

PASSOS, G. F.; *et al.* *Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from Cordia verbenacea.* **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 02, p. 323-333, 21 mar. 2007.

PAVITHRA, P. S.; MEHTA, A.; VERMA, R. S.. *Synergistic interaction of β -caryophyllene with aromadendrene oxide 2 and phytol induces apoptosis on skin epidermoid cancer cells.* **Phytomedicine**, v. 47, p. 121-134, 01 ago. 2018.

PÉREZ DE MOLAS, L. F.. **Manual de familias y géneros de árboles del Paraguay**. San Lorenzo, Argentina: FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), 2016.

PIN, A. *et al.* **Plantas medicinales del Jardín Botánico de Asunción**. 1. ed. Asunción, Paraguay: Proyecto Etnobotanica Paraguaya, 2009.

POSTERNAK, J. M.; *et al.* *Toxicological tests on flavouring matters.* **Food and cosmetics toxicology**, v. 13, n. 4, p. 487-490, 1975.

RAJAWAT, J.; MISRA, G.. *Overview of cancer assessment, diagnostics, and therapeutics.* **Protocol Handbook for Cancer Biology**, p. 01-06, 01 ene. 2021.

RASHID, M. U.; *et al.* *Pancreatic Cancer and Possible Therapeutic Options.* **Breaking tolerance to pancreatic cancer unresponsiveness to chemotherapy**, p. 57-85, 01 ene. 2019.

RASHID, S.. *Carcinogenesis*. In: RASHID, S.. **Cancer and chemoprevention: an overview**. Singapore: Springer, p. 21-25, 2017a. Disponible en: <<https://doi.org/10.1007/978-981-10-2579-2>>. Acceso en: 1 mayo. 2022.

RASHID, S.. *Classification of Cancer*. In: RASHID, S.. **Cancer and chemoprevention: an overview**. Singapore: Springer, p. 15-16, 2017b. Disponible en: <<https://doi.org/10.1007/978-981-10-2579-2>>. Acceso en: 1 mayo. 2022.

RIBEIRO BARBOSA, I.; DOS SANTOS, C. A.; BEZERRA DE SOUZA, D. L.. *Pancreatic cancer in Brazil: mortality trends and projections until 2029*. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 55, n. 3, p. 230-236, 01 jul. 2018.

RIVAS DA SILVA, A. C.; *et al.*. *Biological activities of α -pinene and β -pinene enantiomers*. **Molecules**, v. 17, n. 6, p. 6305-6316, 2012.

ROCHA, N. F. M.; *et al.*. *Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of (-)- α -bisabolol in rodents*. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 384, n. 6, p. 525–533, 26 dic. 2011.

ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY. **(\pm)- α -Pinene | C₁₀H₁₆ | ChemSpider**. Londres, Reino Unido: RSC, 2021. Disponible en: <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.6402.html?rid=a84d7d0c-9e02-4c08-891a-9aa15409c2a1>>. Acceso en: 08 jun. 2021.

SAITO, M.; SAKAGAMI, H.; FUJISAWA, S.. *Cytotoxicity and apoptosis induction by butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT)*. **Anticancer Res**, v. 23, n. 6C, p. 4693-4701, nov. 2003.

SCAVONE MONTALBETTI, J. C.. **Propiedades medicinales de las plantas**. Asunción: Servilibro, 2017.

SCHMITT, D.; LEVY, R.; CARROLL, B.. *Toxicological Evaluation of β -Caryophyllene Oil: Subchronic Toxicity in Rats*. **American College of Toxicology**, v. 35, n. 5, p. 558-567, 29 jun. 2016. Disponible en: <<http://dx.doi.org/10.1177/1091581816655303>>. Acceso en: 08 jun. 2021.

SHAIKH, M. A.; *et al.*. *Introduction to cancer cell biology. Advanced Drug Delivery Systems in the Management of Cancer*, p. 01-07, 1 ene. 2021.

SHIMADZU. *Basics & Fundamentals Gas Chromatography*. [s.l: s.n.], 2020.

SILVA, L. M. P.; *et al.*. *Isolation and identification of the five novel flavonoids from Genipa americana leaves. Molecules: a Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry*, v. 23, n. 10, 02 oct. 2018.

SILVA, M. F.. *Nomes vulgares de plantas amazonicas*. Lisboa: CNPq/INPA, 1977.

SILVA, P.; *et al.*. *In vitro cytotoxicity and biological activities of Genipa americana (Rubiaceae) ethanolic extracts. African Journal of Microbiology Research*, v. 11, n. 9, p. 385-390, 2017.

SIROHI, B.; *et al.*. *Developing institutions for cancer care in low-income and middle-income countries: from cancer units to comprehensive cancer centres. The Lancet. Oncology*, v. 19, n. 08, p. e395-e406, 1 ago. 2018.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO SOBRE A BIODIVERSIDADE BRASILEIRA. *Genipa americana*. In: **Ficha de Espécies**. Brasília/DF: Ministério da Ciência Tecnologia e Inovação (MCTI), 2021. Disponible en: https://ferramentas.sibbr.gov.br/ficha/bin/view/especie/genipa_americana#HHabitateDistri buiE7E3o>. Acceso en: 03 ene. 2021.

SORIA, N.; RAMOS, P.. *Uso de plantas medicinales en la atención primaria de salud en Paraguay: algunas consideraciones para su uso seguro y eficaz. Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, v. 13, n. 2, p. 08-17, 20 sep. 2015.

SOUSA, O. V.; *et al.*. *Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the essential oil from Eremanthus erythropappus leaves. Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 60, n. 6, p. 771-777, 18 feb. 2010.

SOUZA, R. O. DA S.; *et al.*. Trypanocidal activity of polysaccharide extract from *Genipa americana* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 210, p. 311-317, 10 ene. 2018.

SPANO, D.; *et al.*. Molecular networks that regulate cancer metastasis. **Seminars in cancer biology**, v. 22, n. 3, p. 234-249, jun. 2012.

SUSHMA, P. S.; NAGARAJU, G. P.. Pancreatic cancer resistance to gemcitabine. **Breaking Tolerance to Pancreatic Cancer Unresponsiveness to Chemotherapy**, p. 45-56, 01 ene. 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.. **Plant Physiology**. 3^o ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2002.

TAUCHER, V.; HAYBAECK, J.. Pancreatic carcinogenesis. **Mechanisms of Molecular Carcinogenesis**, v. 2, p. 83-118, 22 mayo 2017.

THE GLOBAL CANCER OBSERVATORY. **Latin America fact sheet**. Ginebra, Suiza: WHO, 2021. Disponible en: <<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/904-latin-america-and-the-caribbean-fact-sheets.pdf>>. Acceso en: 02 sep. 2021.

THE METABOLOMICS INNOVATION CENTRE. **Cis-3-Hexenyl benzoate (HMDB0033379)**. Edmonton, Canada: HMDB, 2012. Disponible en: <<https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0033379>>. Acceso en: 16 jun. 2021.

THE NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH (NIOSH). **Benzyl alcohol - The Registry of Toxic Effects of Chemical Substances | CDC/NIOSH**. Washington, D.C.: NIOSH, 2018. Disponible en: <<https://www.cdc.gov/niosh-rtecs/DN3010B0.html>>. Acceso en: 14 jun. 2021.

THE NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH (NIOSH). **RTECS:VO4725000 - Salicylic acid, methyl ester - The Registry of Toxic Effects of Chemical Substances | CDC/NIOSH**. Washington, D.C.: NIOSH, 2018. Disponible en: <<https://www.cdc.gov/niosh-rtecs/VO481908.html>>. Acceso en: 20 feb. 2023.

UEDA, S.; IWAHASHI, Y.; TOKUDA, H.. *Production of anti-tumor-promoting iridoid glucosides in *Genipa americana* and its cell cultures.* **Journal of Natural Products**, v. 54, n. 6, p. 1677-1680, 01 nov. 1991.

ULLAND, B. M. *et al.*. *Antioxidants and carcinogenesis: butylated hydroxytoluene, but not diphenyl-p-phenylenediamine, inhibits cancer induction by N-2-fluorenylacetamide and by N-hydroxy-N-2-fluorenylacetamide in rats.* **Food and Cosmetics Toxicology**, v. 11, n. 2, p. 199-207, 01 ene. 1973.

UNIVERSIDAD EIA. **Jagua, caruto, huito, jaguo, jigua (*Genipa americana*)**. Medellín, Colombia: Universidad EIA, 2018. Disponible en: <https://catalogoarbolesurbanos.eia.edu.co/species/428>. Acceso en: 14 dic. 2022.

VASCONCELOS, A. L.; *et al.*. *Anatomical characterization of ultra-structures, biominerals and histolocalization of metabolites in leaves of *Genipa americana*.* **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, p. 541-548, 2017a.

WASMOSY MONTI, J. B.. *Cáncer de páncreas: encare diagnóstico y terapéutico.* **Tendencias en Medicina**, n. 05, p. 44-53, 2010.

WHITE, E.; GREEN, D. R.; LETAI, A. G.. *Apoptosis, necrosis, and autophagy.* **The Molecular Basis of Cancer: Fourth Edition**, e3, p. 209-228, 01 ene. 2015.

WILLIAMS, G. M.; IATROPOULOS, M. J.; WHYSNER, J.. *Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives.* **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, n. 09-10, p. 1027-1038, 01 sep. 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Quality control methods for herbal materials**. Ginebra, Suiza: WHO, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO report on cancer: setting priorities, investing wisely and providing care for all**. Ginebra, Suiza: WHO, 2020a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Paraguay cancer country profile 2020**. Ginebra, Suiza: WHO, 2020b. Disponible en:

<https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=4-cancer-country-profiles-2020&alias=51531-paraguay-cancer-profile-2020&Itemid=270&lang=es>. Acceso en: 02 sep. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Brazil cancer country profile 2020**. Ginebra, Suiza: WHO, 2020c. Disponible en: <https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=4-cancer-country-profiles-2020&alias=51555-brazil-country-profile-2020&Itemid=270&lang=es>. Acceso en: 02 sep. 2021.

YAMAMOTO, Y.; *et al.*. *Inhibitory effects of selenium, vitamin A and butylated hydroxytoluene on growth of human maxillary cancer cells in vitro*. **Auris Nasus Larynx**, v. 23, n. 1, p. 91-97, 1 ene. 1996.

YUN, L. J.; CHEN, W. L.. *SA and ROS are involved in methyl salicylate-induced programmed cell death in Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Reports**, v. 30, n. 7, p. 1231-1239, 17 feb. 2011.

ZAPPI, D.. *Genipa*. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Rio de Janeiro, Brasil: Jardim Botânico, 2015. Disponible en: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB14045>>. Acceso en: 22 mar. 2021.

ZHANG, J.; *et al.*. *Status of bi-and multi-nuclear platinum anticancer drug development*. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 4, p. 272-282, 12 ago. 2012.

APENDICES

Apéndice A – Permiso para la recolección de las muestras

Ciudad del Este, 28 de junio del 2.021.

Señor
Ing. Gustavo Ovelar
 Superintendente de Gestión Ambiental
 Presente

023084/21

28/06/2021 15:00 PM


La que suscribe Eva Ruzena Montiel Fernández con número de cédula de identidad 3.023.110 en carácter de alumna activa del Mestrado em Biociências del Programa de Pós-Graduação em Biociências de la Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA) con número de matrícula 201810800007046 y en proceso de defensa de trabajo de conclusión de curso en el área "Compuestos bioactivos y la salud" con el tema: "EFECTO ANTITUMORAL IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE ÑANDYPÁ (*Genipa americana* L.) SOBRE LÍNEAS CELULARES DE CARCINOMA PANCREÁTICO HUMANO (MIA PACA2)", me dirijo a usted para solicitar permiso para: a) La recolección de muestras de hojas del árbol de la especie *Genipa americana* L. (Ñandypá), para posteriormente realizar la extracción del aceite esencial. b) Acceso al herbario del Laboratorio de Botánica, a fin de obtener información sobre la identificación del árbol mencionado.

Para la recolección se seleccionarán cumpliendo los rangos de sostenibilidad aproximadamente 300 gr hojas sanas por medio de un corte limpio con ayuda de tijeras que serán almacenadas en un recipiente cubiertas con papel diario hasta su uso. Simultáneamente, se tomarán registros fotográficos y se anotarán los datos correspondientes a la localidad con la ayuda del GPS tomando las coordenadas y la altitud en metros sobre el nivel del mar.

Por lo expuesto, sería un honor contar con la colaboración de tan reconocida institución por su labor en el manejo sustentable de las plantas medicinales y el respeto a las características socio-culturales del entorno por medio del "Proyecto Vivero forestal y de plantas medicinales" y del "Programa N.º 247 Salud en la Frontera – Acción N.º 2268". Como manifestación de gratitud por la cooperación, es mi deseo hacerles partícipes y a su vez contribuir con de los resultados de esta investigación sin precedentes con la Entidad Binacional y la "Política y Plan Nacional de Plantas Medicinales y Fitoterapéuticos" una vez programada la defensa pública.

En la espera de una respuesta favorable, hago propicia la oportunidad de expresar mi predisposición y respeto.

P.D.: remito en conjunto la declaración de vínculo como alumna con la UNILA.



Odont. Eva Montiel

Correo electrónico: evamontielcursos@gmail.com / eva.montiel@uc.edu.py

Fuente: del autor, 2023.

ANEXOS

Anexo A – Componentes químicos

Tabla 4. Relación de los compuestos químicos con propiedades terapéuticas encontrados en la literatura

Componente	Usos con evidencia científica	Toxicidad
HEXENAL	<ul style="list-style-type: none"> ○ Es un barbitúrico que es eficaz como hipnótico y sedante (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2020b). 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ H226 (100%): Líquidos y vapores inflamables, H302 (100%): Nocivo por ingestión, H311 (100%): Tóxico en contacto con la piel, H317 (100%): Puede provocar una reacción alérgica en la piel, H319 (24,36%): Provoca irritación ocular grave y H411 (100%): Tóxico para los organismos acuáticos con efectos duraderos. (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2021d)
HEXENOL <2E>	<ul style="list-style-type: none"> ○ Efecto bactericida sobre <i>E. coli</i>, <i>O-157:H7</i>, <i>S. aureus</i>, <i>MRSA</i> y <i>Sal. Enteritidis</i> (NAKAMURA; HATANAKA, 2002). 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Rata LD50 oral 3500 mg / kg. ➤ Conejo LD50 piel 4500 mg / kg. <p>(NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2021b).</p>
N-HEXENOL		<ul style="list-style-type: none"> ➤ Toxicidad por dosis repetidas: NOAEL = 65,4 mg / kg / día. ➤ El trans-2-hexenol se evaluó en el ensayo BlueScreen y resultó negativo para la genotoxicidad en presencia de la activación metabólica de S9. ➤ Trans-2-hexenol no indujo células binucleadas con micronúcleos cuando se probó hasta niveles citotóxicos. <p>(API <i>et al.</i>, 2018)</p>
HEXADIENAL <(2E,4E)>	<ul style="list-style-type: none"> ○ Un aditivo alimentario que se utiliza para mejorar el sabor u olor de un alimento (FAO, 2003). ○ Cualquier metabolito eucariota producido durante una reacción metabólica en las plantas, el reino que incluye las plantas con flores, las coníferas y otras gimnospermas. (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2021c). 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Agente cancerígeno IARC. (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2021b)
A-PINENO	<ul style="list-style-type: none"> ○ A- pineno era altamente tóxico para <i>Candida albicans</i>, matando el 100% del inóculo en 60 min. ○ El efecto bactericida se produjo después de 6 h en <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina (MRSA). 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Rata oral LD50 3700 mg kg-1.(ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY, 2021).

○ Se evaluó la citotoxicidad de los enantiómeros positivos de pineno para macrófagos murinos, 250 µg / mL de (+) α-pineno redujo la viabilidad celular al 66,8%.

(RIVAS DA SILVA *et al.*, 2012)

○ El perfil químico de espectrometría de masas por cromatografía de gases de aceite pesado derivado de resinas frescas de incienso de Salalah reveló la presencia de terpenos como α-pineno (61,56%), α-amirina (20,6%), β-amirina (8,1%), β-felandreno (1,47%) y canfeno (1,04%). El cóctel de terpenos pesados indujo una muerte celular significativa de MDA-MB-231 en cada concentración probada (HAKKIM; AL-BULOSHI; AL-SABAHI, 2015).

1-OCTEN-3-OL

○ Ejerce toxicidad a través de la alteración de la homeostasis de la dopamina y puede representar un agente ambiental natural involucrado en el parkinsonismo. En los hongos, el 1-octen-3-ol es un producto de la degradación enzimática del ácido linoleico por la lipoxigenasa y un hidroperóxido liasa. Se produce en áreas donde ocurren concentraciones de propágulos de alta densidad, por ejemplo, en hongos y en masas conidiales de especies de *Penicillium*, sugiere que este compuesto tiene una función común como inhibidor de la germinación prematura de esporas (INAMDAR *et al.*, 2013).

○ Las células estromales de la médula ósea murina (BMS) se expusieron a los volátiles fúngicos oct-1-en-3-ol o (E) -2-octenal durante tiempos que varían de 0 a 30 minutos. Las células que fueron expuestas a oct-1-en-3-ol y trans-2-octenal murieron después de la incubación con los volátiles con los mayores efectos observados al 0.05%. La exposición a (E) -2-octenal dio como resultado una tasa de muerte celular más rápida y profunda en comparación con la que se observó en las células expuestas a oct-1-en-3-ol. A los 30 minutos posteriores a la exposición, se observó aproximadamente un 50% de supervivencia celular a la concentración más alta de oct-1-en-3-ol. (HOKENESS *et al.*, 2014).

➤ Rata LD50 oral 340 mg / kg.
 ➤ Ratón LD50 intravenoso 56 mg / kg.
 ➤ Conejo LD50 piel 3300 mg / kg.

(NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2004).

2-PENTIL FURANO	<ul style="list-style-type: none"> ○ Se identifica como un componente de los productos de descomposición volátil de los aceites de semilla de soja y algodón ligeramente autooxidados y los de oxidación térmica de aceite de maíz y aceite de semilla de algodón hidrogenado (KRISHNAMURTHY <i>et al.</i>, 1967). ○ El furano y sus derivados son los compuestos más activos contra los hongos. (MERAD BOUSSALAH, 2020) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ratón LD50 oral 1200 mg / kg. (MORAN; EASTERDAY; OSER, 1980)
ALCOHOL BENCÍLICO	<ul style="list-style-type: none"> ○ Comúnmente usado como antibacterial en formulaciones como cloruro de sodio bacteriostático y agua bacteriostática. Sin embargo, produce efectos tóxicos en neonatales. (GERSHANIK <i>et al.</i>, 1982) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Análisis citogenético ovario / hámster 4 µg / L. ➤ In Vitro / Humano, concentración de inhibidor de tumores hepáticos Baja: 46 mmol / L / 48H Estudios de toxicidad in vitro: Integridad de la membrana celular: Pérdida de enzimas citoplasmáticas. ➤ Intravenosa / Perro dosis letal más baja publicada: 50 mg / kg Comportamiento: Ataxia Pulmón, tórax o respiración: disnea Gastrointestinal: hipermotilidad, diarrea. ➤ Dosis letal oral / conejo (50 por ciento de muerte): 1040 mg / kg Comportamiento: Somnolencia (actividad deprimida general). (THE NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH (NIOSH), 2018)
ACETALDEHÍDO DE BENCENO	<ul style="list-style-type: none"> ○ Usado agente saborizante general utilizado en alimentos, como fragancia y químico en cigarrillos. (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2015) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Toxicidad oral aguda en ratas: OECD TG 401: LD50: 1993 mg / kg bw. (EUROPEAN CHEMICALS AGENCY, 1972)
HEXENAL <(2E)>, ACETAL DIETILO	<ul style="list-style-type: none"> ○ (E)-2-hexenal, respectivamente, mostraron un efecto bactericida sobre <i>L. monocytogenes</i> y exhibieron extensiones significativas de la fase de latencia de <i>E. coli</i> y <i>S. enteritidis</i> inoculados. (LANCIOTTI <i>et al.</i>, 2003) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Rata LD50 oral 1700 mg / kg. ➤ Piel de conejo LDLo 5 g / kg. ➤ Conejillo de indias LD50 piel > 5 g / kg. (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2022)
SALICILATO DE METILO	<ul style="list-style-type: none"> ○ El salicilato de metilo es un derivado de éster del ácido salicílico que se encuentra en muchas plantas. La <i>Gaultheria procumbens</i> es una de las especies con mayor concentración de este compuesto, por lo que esta molécula se conoce como aceite esencial de <i>Gaultheria</i>. Se puede utilizar como aditivo en alimentos, porque tiene un sabor similar a la menta. El aceite esencial de <i>Gaultheria</i> se utiliza 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ In vitro / humanos, células leucémicas Concentración del inhibidor (muerte del 5 por ciento): 1270 mg / L / 30M. ➤ In Vitro / Humano, Inhibidor de células leucémicas Concentración Baja: 2540 mg / L / 30M. ➤ Concentración de inhibidor in vitro / mra baja: 50 mg / L / 24H. ➤ Oral / hombre dosis letal más baja publicada: 101 mg / kg.

	<p>como antiséptico para preparar cremas y linimentos contra dolores musculares y hematomas. (ISAC-GARCÍA <i>et al.</i>, 2016)</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Después de 3 h de exposición a 100 µM de salicilato de metilo. Los resultados también mostraron que el ácido salicílico (SA) estaba involucrado en la muerte celular programada inducida por salicilato de metilo mediante el uso de una línea transgénica nahG de <i>Arabidopsis thaliana</i>. (YUN; CHEN, 2011) 	(THE NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH (NIOSH), 2019)
B- DAMASCENONA <(E)>	<ul style="list-style-type: none"> ○ El análisis farmacológico demostró que β-damascenona inhibe la inducción estimulada por LPS de ARNm que codifican citocinas proinflamatorias y moléculas de adhesión de leucocitos, como TNF-α, IL-1β, IL-8, COX-2, E-selectina, ICAM-1 y VCAM- 1 en células HUVECtert y THP-1. (PAN <i>et al.</i>, 2019) 	➤ Rata LD50 oral 2920 mg / kg (2920 mg / kg). (POSTERNAK <i>et al.</i> , 1975)
B-CARIOFILENO	<ul style="list-style-type: none"> ○ El β-cariofileno mostró un fuerte efecto antibacteriano contra: <i>B. cereus</i>, <i>B. subtilis</i>, <i>S. aureus</i>, <i>E. coli</i>, <i>K. pneumoniae</i>, <i>P. aeruginosa</i>, <i>A. niger</i>, <i>P. citrinum</i>, <i>R. oryzae</i> y <i>T. reesei</i>. (PAVITHRA; MEHTA; VERMA, 2018) ○ Se ha demostrado que BCP, a la dosis de 10 mg / kg, inhibe la transcripción de iNOS, IL-1β, IL-6 y COX-2 en células de microglía C6. (MACHADO <i>et al.</i>, 2018) ○ Se ha demostrado que el aceite esencial de <i>Erymanthos erythropappus</i>, rico en BCP, tiene propiedades antiinflamatorias en ratas Wistar. (SOUSA <i>et al.</i>, 2010) ○ El componente β-cariofileno posiblemente es responsable del efecto analgésico y antiinflamatorio del aceite esencial de las Hojas de <i>E. erythropappus</i>, <i>Achillea schischkii</i> y <i>A. aleppica</i> (IŞCAN <i>et al.</i>, 2006; PASSOS <i>et al.</i>, 2007; SOUSA <i>et al.</i>, 2010). ○ Se estudió (E) -β-cariofileno aislado del aceite esencial de <i>Cannabis sativa</i> L. Se obtuvo como resultado que el (E) -β-cariofileno volátil generalizado [(E) -BCP] se une selectivamente al receptor CB2 (Ki = 155 ± 4 nM) y que es un agonista CB2 funcional. Los cannabinoides psicoactivos de <i>Cannabis sativa</i> L. y los endocannabinoides 	➤ Vía oral , 700 mg / kg de peso corporal / día para ratas macho y hembra. (SCHMITT; LEVY; CARROLL, 2016)

	<p>derivados del ácido tearaquidónico son ligandos naturales no selectivos para los receptores cannabinoides tipo 1 (CB1) y los receptores CB2. Aunque el receptor CB1 es responsable de los efectos psicomoduladores, la activación del receptor CB2 es una estrategia terapéutica potencial para el tratamiento de la inflamación, el dolor, la aterosclerosis y la osteoporosis. (GERTSCH <i>et al.</i>, 2008)</p>	
BENZOATO DE PRENILO		<ul style="list-style-type: none"> > Rata LD50 oral 4700 mg / kg. > Conejo LD50 piel > 5 g / kg. <p>(H <i>et al.</i>, 1982)</p>
B-IONONE <(E)>	<ul style="list-style-type: none"> o Puede modular el aclaramiento y la activación metabólica de ciclofosfamida (CP) y otros xenobióticos que son sustratos de isoenzimas pertenecientes a la subfamilia CYB2B. Nuestros datos sugieren que la exposición a β-ionona permite el aclaramiento de pentobarbital (PB) y la conversión de CP en sus metabolitos embriofetales y teratogénicos. (GOMES-CARNEIRO <i>et al.</i>, 2003) 	<ul style="list-style-type: none"> > Oral / rata dosis tóxica más baja publicada: 1000 mg / kg. (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2023)
HIDROXITULUENO DE BUTILADO		<ul style="list-style-type: none"> > Análisis citogenético ovario / hámster 100 μg/L. > Daño al ADN oral / ratón 100 mg/kg. > Inhibición del ADN célula HeLa / humana 500 μmol/L. > Linfocito de inhibición de ADN / para el ser humano 20 μmol/L. > Oral / rata dosis tóxica más baja publicada: 134 g / kg / 32 W-continuo. > In Vitro / Human, células leucémicas Inhibidor Concentración Baja: 2.5 mg / L / 16H. <p>(NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2021d)</p>
BENZOATO DE HEXENILO<(3Z)>		<ul style="list-style-type: none"> > Irritante a la piel H315. > Irritante al ojo H319. <p>(EUROPEAN CHEMICALS AGENCY, 2014)</p>
EPI-A-BISABOLOL	<ul style="list-style-type: none"> o La acción antinociceptiva del (-) - α-bisabolol no está ligada a un mecanismo central, sino que está relacionada con el proceso 	<ul style="list-style-type: none"> > Los valores de LD50 oral agudo incluyen 15,1 ml / kg en ratones y 14,9 y 15,6 ml / kg en ratas machos y hembras.

	<p>inflamatorio. (-) - α-Bisabolol fue capaz de disminuir la migración de leucocitos, las extravasaciones de proteínas y la cantidad de TNF-α a la cavidad peritoneal en respuesta al carragenano. Además, el (-) - α-bisabolol redujo la desgranulación de neutrófilos en respuesta al forbol-miristato-acetato. (ROCHA <i>et al.</i>, 2011)</p>	(ALAN, 1999)
BENZOATO DE BENCILO	<p>○ Es una de las preparaciones más antiguas que se utilizan para tratar la sarna. La sarna es una infección de la piel causada por el ácaro <i>Sarcoptes scabiei</i>. Se caracteriza por una picazón intensa (especialmente durante la noche), manchas rojas y puede provocar una infección secundaria. El benzoato de bencilo es letal para este ácaro y, por lo tanto, es útil en el tratamiento de la sarna. También se utiliza para tratar la infestación de piojos en la cabeza y el cuerpo. El benzoato de bencilo no es el tratamiento de elección para la sarna debido a sus propiedades irritantes. (CAMPILLOS PÁEZ <i>et al.</i>, 2002)</p>	<p>➤ Oral, conejo: LD50 = 1680 mg / kg. ➤ Piel, conejo: LD50 = 4000 mg / kg. (DRUGBANK, 2021)</p>

Fuente: del autor, 2023.

Anexo B – Proceso de extracción del aceite esencial de *G. americana* L.

Imagen 14. Secado de las hojas de *G. americana* L. en estufa



Fuente: del autor, 2023.

Imagen 15. Vista de cerca del secado de las hojas de *G. americana* L. en estufa



Fuente: del autor, 2023.

Imagen 16. Molienda de las hojas secas de *G. americana* L.



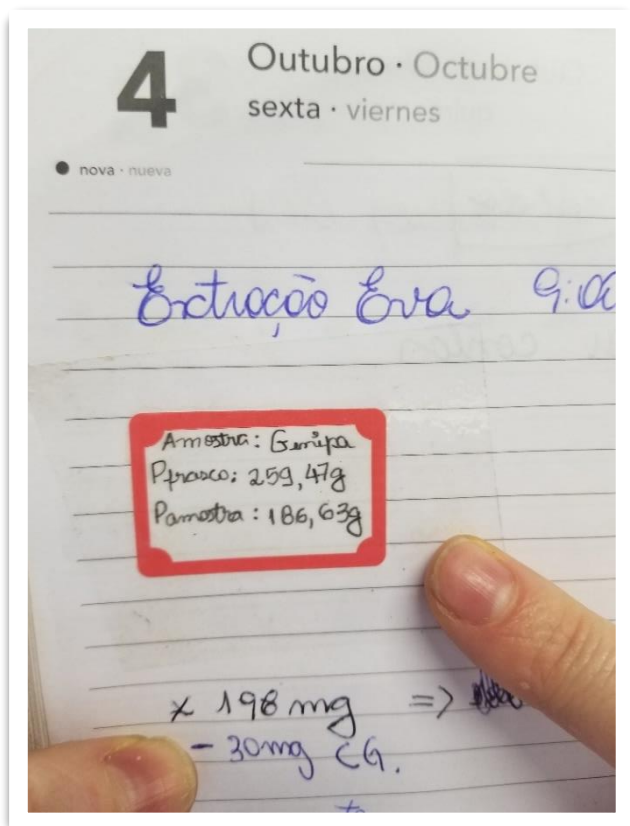
Fuente: del autor, 2023.

Imagen 17. Hojas secas y molidas de *G. americana* L.



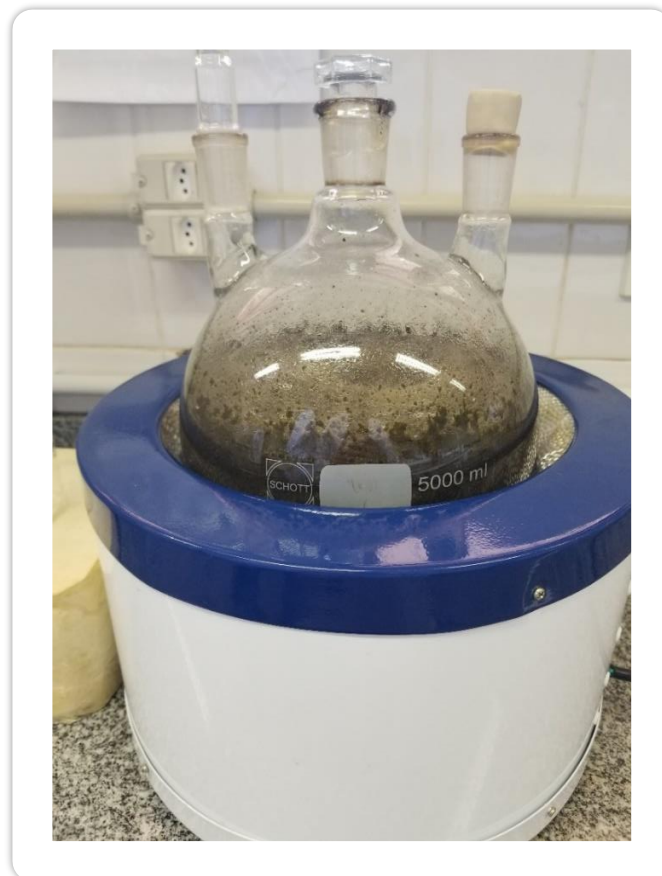
Fuente: del autor, 2023.

Imagen 18. Rendimiento del aceite esencial de *G. americana* L.



Fuente: del autor, 2023.

Imagen 19. Extracción del aceite esencial de *G. americana* L.



Fuente: del autor, 2023.

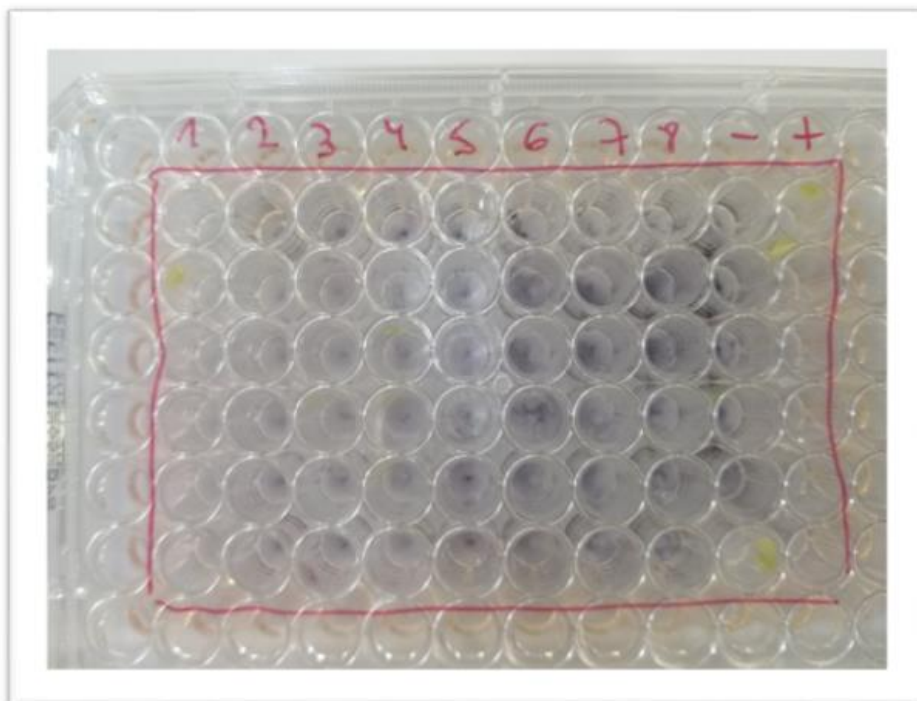
Imagen 20. Equipo utilizado para la extracción del aceite esencial de *G. americana* L.



Fuente: del autor, 2023.

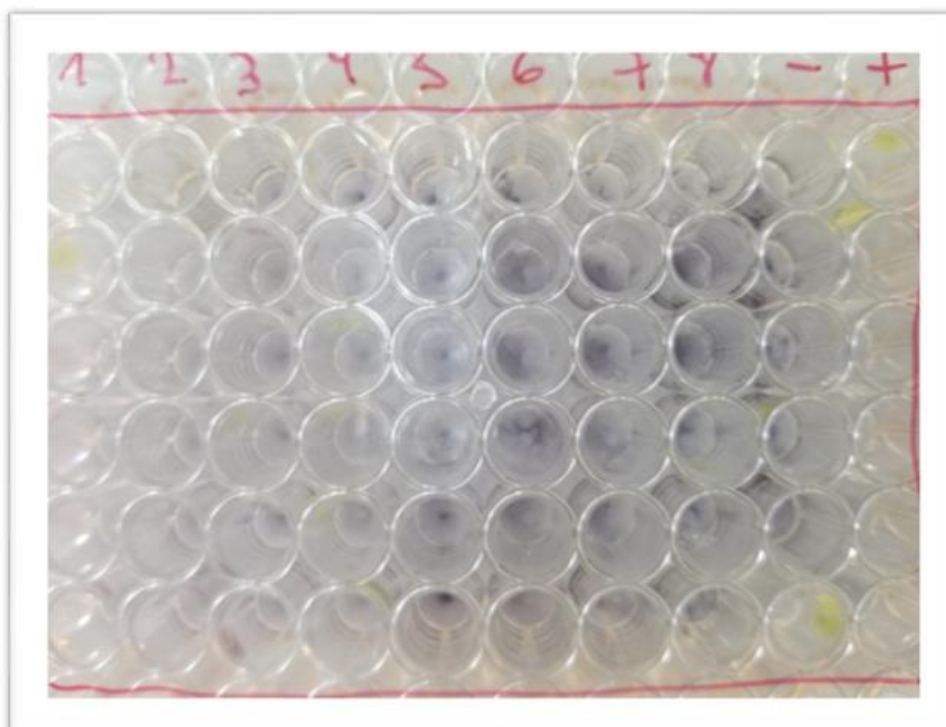
Anexo C – Ensayo MTT

Imagen 7. Ensayo MTT en placa con 96 pocillos, vista panorámica.



Fuente: del autor, 2023.

Imagen 21. Ensayo MTT en placa con 96 pocillos, vista aumentada.



Fuente: del autor, 2023.