



Evaluación de la actividad citotóxica y antioxidante de aceites derivados del fruto de seje (*Oenocarpus bataua*) en un modelo *in vitro* de hepatocarcinoma humano

Evaluation of the Cytotoxic and Antioxidant Activity of Oils Derived from the Fruit of Seje (*Oenocarpus bataua*) in an *in Vitro* Model of Muman Hepatocarcinoma.

Sara GAITÁN BLANCO^{1*}, Juan Pablo BARRERO ECHEVERRÍA¹, Sandra Johanna MORANTES MEDINA¹, Diego BALLESTEROS VIVAS²

¹ Investigación en Química Aplicada, Departamento de Química, Universidad el Bosque, Bogotá, Colombia. *
sgaitanb@unbosque.edu.co

² Grupo Alimentos, Nutrición y Salud, Departamento de Nutrición y Bioquímica, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

Presentación Poster 42

ABSTRACT

Antioxidants are essential for protecting the body from oxidative stress, which arises from an imbalance between reactive oxygen species (ROS) and the cellular antioxidant capacity ^[1]. Although ROS play vital physiological roles, their accumulation can damage lipids, proteins, and DNA, contributing to the development of chronic diseases such as cancer, cardiovascular pathologies, and neurodegenerative disorders ^[2:3]. For this reason, the use of natural antioxidants is considered a crucial preventive strategy to mitigate cellular damage. Chemical studies conducted on the fruit of the seje palm (*Oenocarpus bataua* var.), native to the South American Amazon, have demonstrated that this fruit is a rich source of tocopherols, carotenoids, polyphenols, and anthocyanins ^[4]. However, it has been shown that the method of oil extraction significantly influences its antioxidant activity, as it can alter the concentration and purity of these compounds ^[5]. This information underscores the importance of evaluating both the chemical content and the biological functionality of oils obtained through different procedures.

The objective of the present study was to evaluate, in an *in vitro* model, the cytotoxic and cellular antioxidant activities of seje oils. This approach complements previous chemical assays by incorporating biologically relevant conditions, such as pH, metabolism, and cellular penetration capacity. To achieve this, oils were obtained using two methodologies: Soxhlet (SOX) and supercritical fluids (FSC). Due to the oily nature of the samples, an emulsion was prepared using soy lecithin (2%) as a vehicle, along with a PBS phosphate buffer, resulting in an oil in water emulsion (10% oil phase and 90% aqueous phase). Cytotoxicity was evaluated in the HepG2 and L929 cell lines, employing 10 serial dilutions (1:2) starting from 5000 μ M. The results showed that neither the



emulsions nor the vehicle were cytotoxic after 24 hours, with the FSC emulsion demonstrating higher cell viability in both models.

Subsequently, the cellular antioxidant activity (CAA) assay was performed in the HepG2 cell line using the DCFH-DA reagent, which allows quantification of ROS production by intracellular fluorescence. Quercetin was used as a positive control and demonstrated a dose-dependent effect by reducing both basal ROS levels and those induced by a prooxidant. In contrast, the FSC emulsion did not exhibit an antioxidant effect, likely due to its high free fatty acid content, which is associated with hydrolytic rancidity and a loss of oxidative stability [6]. Conversely, the emulsion extracted by Soxhlet exhibited a significant antioxidant effect by reducing the ROS production induced by the prooxidant, as corroborated by its low acidity ($1.97 \pm 0.12\%$) and saponification ($226.97 \pm 3.97\%$) values, indicators of a lower presence of free fatty acids.

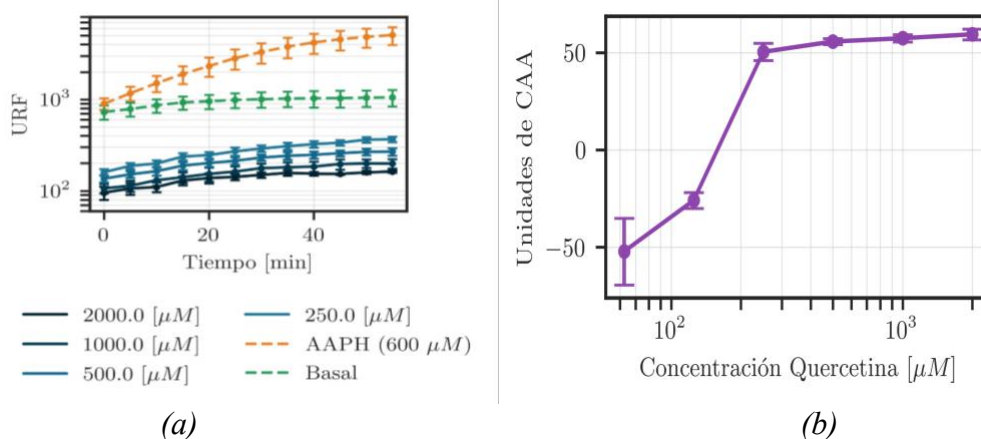


Figure 1. Quantification of Relative Fluorescence Units and Cellular Antioxidant Activity. (a). RFU of four 1:2 serial dilutions of quercetin starting at 2000 μM with respect to basal ROS production and induced with 600 μM AAPH for 1 h. (b). Dose-response curve of reactive oxygen species (ROS) inhibition of the antioxidant control (quercetin).

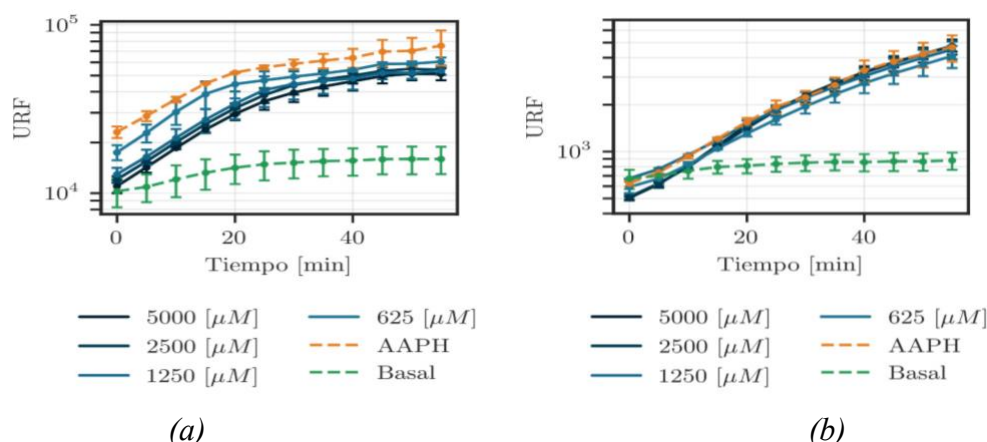


Figure 2. *Quantification of Relative Fluorescence Units.* (a) RFU of 4 serial 1:2 dilutions of SOX starting at 5000 μM relative to basal and ROS production induced with 600 μM AAPH for 1 hour. (b) RFU of 4 serial 1:2 dilutions of FSC starting at 5000 μM relative to basal and ROS production induced with 600 μM AAPH for 1 hour.

In conclusion, the assays demonstrate that although the oil extracted by FSC offers a superior safety profile—evidenced by the absence of residual solvents and greater cell viability—it does not exhibit a notable antioxidant effect. In contrast, the oil obtained via Soxhlet extraction ensures cellular safety and reduces ROS production, positioning itself as a potential source of bioactive compounds for antioxidant applications.

Key words:

Antioxidants, Essential Oils, Reactive Oxygen Species, Oxidative Stress

RESUMEN

Los antioxidantes son esenciales para proteger al organismo frente al estrés oxidativo, que se origina por el desequilibrio entre las especies reactivas de oxígeno (ROS) y la capacidad antioxidante celular ^[1]. Aunque las ROS cumplen funciones fisiológicas vitales, su acumulación puede dañar lípidos, proteínas y ADN, contribuyendo al desarrollo de enfermedades crónicas como el cáncer, patologías cardiovasculares y neurodegenerativas ^[2;3]. Por ello, el uso de antioxidantes naturales se considera una estrategia preventiva crucial para mitigar el daño celular. Estudios químicos realizados en el fruto de la palma de seje (*Oenocarpus bataua* var.), originaria de la Amazonía suramericana, han demostrado que este fruto es una fuente rica en tocoferoles, carotenoides, polifenoles y antocianinas ^[4]. Sin embargo, se ha evidenciado que el método de extracción del aceite influye significativamente en su actividad antioxidante, ya que puede alterar la concentración y pureza de estos



compuestos ^[5]. Esta información resalta la importancia de evaluar tanto el contenido químico como la funcionalidad biológica de los aceites obtenidos mediante diferentes procedimientos.

El objetivo de la presente investigación fue evaluar, en un modelo *in vitro*, las actividades citotóxicas y antioxidantes celulares de aceites de seje. Este enfoque complementa los ensayos químicos previos al incorporar condiciones biológicas relevantes, como pH, metabolismo y capacidad de penetración celular. Para ello, se obtuvieron aceites mediante dos metodologías: Soxhlet (SOX) y fluidos supercríticos (FSC). Debido a la naturaleza oleosa, se elaboró una emulsión con lecitina de soya (2%) como vehículo, utilizando un buffer de fosfatos PBS, obteniéndose una emulsión de tipo o/w (10% fase oleosa y 90% fase acuosa). La citotoxicidad se evaluó en las líneas celulares HepG2 y L929, empleando 10 diluciones seriadas 1:2 a partir de 5000 μM . Los resultados mostraron que ni las emulsiones ni el vehículo fueron citotóxicos tras 24 horas, destacándose una mayor viabilidad celular con la emulsión FSC en ambos modelos.

Posteriormente, se realizó el ensayo de actividad antioxidante celular (CAA) en la línea HepG2 mediante el reactivo DCFH-DA, que permite cuantificar la producción de ROS por fluorescencia intracelular. Como control positivo se utilizó quercetina, la cual evidenció un efecto dosis-dependiente al reducir tanto los niveles basales de ROS como los inducidos por un prooxidante. En contraste, la emulsión FSC no mostró efecto antioxidante, probablemente por su elevado contenido de ácidos grasos libres, lo que se asocia a la rancidez hidrolítica y a la pérdida de estabilidad oxidativa ^[6]. Por otro lado, la emulsión extraída por Soxhlet presentó un efecto antioxidante significativo, corroborado por sus bajos valores de acidez ($1.97 \pm 0.12\%$) y saponificación ($226.97 \pm 3.97\%$), indicadores de menor presencia de ácidos grasos libres.

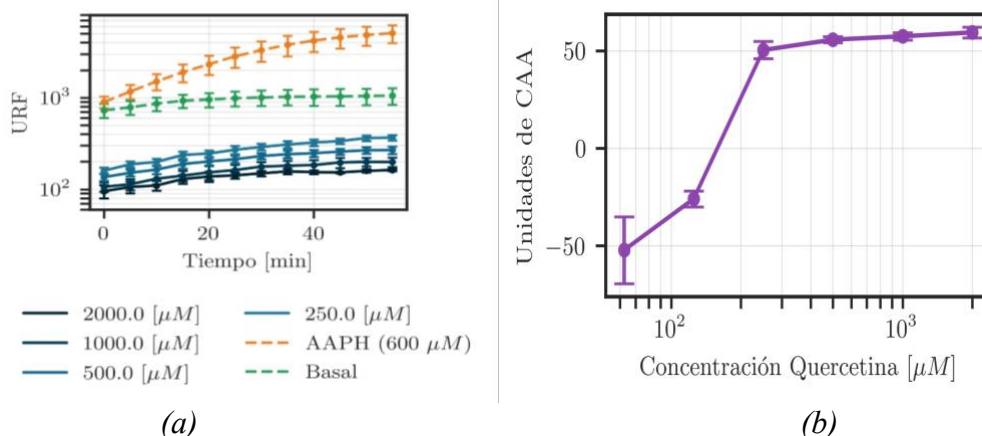


Figura 1. Cuantificación de Unidades Relativas de Fluorescencia y Actividad Antioxidante Celular. (a). URF de 4 diluciones seriadas 1:2 de quercetina partiendo de 2000 μM respecto a la producción de ROS basal e inducida con AAPH 600 μM durante 1 hora. (b). Curva dosis-respuesta de la inhibición de especies reactivas de oxígeno (ROS) del control antioxidante (quercetina).

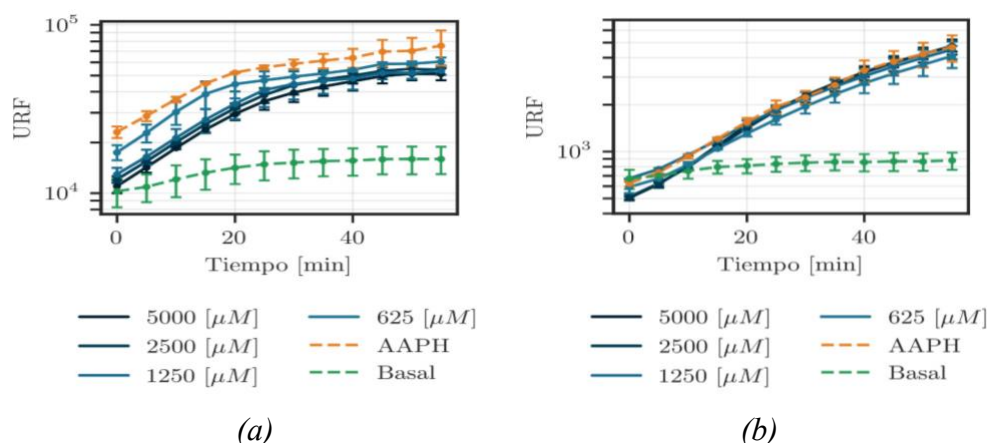
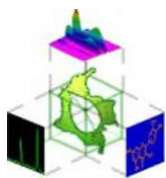


Figura 2. Cuantificación de Unidades Relativas de Fluorescencia. (a) URF de 4 diluciones seriadas 1:2 de SOX partiendo de 5000 μM respecto a la producción de ROS basal e inducida con AAPH 600 μM durante 1 hora. (b). URF de 4 diluciones seriadas 1:2 de FSC partiendo de 5000 μM respecto a la producción de ROS basal e inducida con AAPH 600 μM durante 1 hora.

En conclusión, los ensayos realizados demuestran que, aunque el aceite extraído por FSC ofrece un perfil de seguridad superior por la ausencia de solventes residuales y mayor viabilidad celular, no manifiesta un efecto antioxidante notable. En cambio, el aceite obtenido mediante Soxhlet garantiza la seguridad celular y reduce la producción de ROS, posicionándose como una fuente potencial de compuestos bioactivos para aplicaciones antioxidantes.

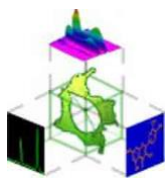
Palabras clave:

Antioxidantes, Aceites Esenciales, Especies Reactivas de Oxígeno, Estrés Oxidativo

Agradecimientos/Acknowledgements:

Agradecemos sinceramente a los Docentes Sandra Johanna Morantes Medina y Diego Ballesteros Vivas por su invaluable orientación y apoyo durante el desarrollo de esta investigación. También extendemos nuestro agradecimiento al grupo Investigación en Química Aplicada del Departamento de Química de la Universidad El Bosque y a todos sus integrantes por su colaboración y acompañamiento. De igual manera, expresamos nuestra gratitud al grupo Alimentos, Nutrición y Salud del Departamento de Nutrición y Bioquímica de la Pontificia Universidad Javeriana y a sus miembros por su apoyo en este trabajo.

Este proyecto fue financiado con recursos del semillero “Biotecnología y bioprospección farmacéutica” y el proyecto de investigación: “Obtención de aceites enriquecidos en compuestos bioactivos a partir del fruto de seje



REVISTA PRODUCTOS NATURALES

ISSN 1916-2413



Vol. 6 Núm. 1 (2025): I Congreso Colombiano de Productos Naturales

Disponible en línea en

<https://www.nozomiscience.org/index.php/rpn/issue/view/587>

doi: <https://doi.org/10.3407/rpn.v6i1pp42>



como base para la elaboración de alimentos funcionales” COD:20549 financiado por la Pontificia Universidad Javeriana.

Referencias/References

- [1] KOZLOV, A. V., *et al.* (2024). Cellular Ros and Antioxidants: Physiological and Pathological Role. *Antioxidants (Basel)* **13**(5). [\[DOI\]](#)
- [2] CHAUDHARY, P., *et al.* (2023). Oxidative Stress, Free Radicals and Antioxidants: Potential Crosstalk in the Pathophysiology of Human Diseases. *Frontiers in Chemistry* **Volume 11 - 2023**. [URL](#)
- [3] ZHOU, Y., *et al.* (2022). Deconvoluting the Complexity of Reactive Oxygen Species (Ros) in Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Neuroanatomy* **Volume 16 - 2022**. [URL](#)
- [4] JARAMILLO-VIVANCO, T., *et al.* (2022). Three Amazonian Palms as Underestimated and Little-Known Sources of Nutrients, Bioactive Compounds and Edible Insects. *Food Chemistry* **372**: 131273. [\[DOI\]](#)
- [5] OCAMPO-DURAN, Á., *et al.* (2013). Aceite De La Palma De Seje Oenocarpus Bataua Mart. Por Su Calidad Nutricional Puede Contribuir a La Conservación Y Uso Sostenible De Los Bosques De Galería En La Orinoquia Colombiana. *Orinoquia* **17**(2): 215–229. [\[DOI\]](#)
- [6] IRWIN, J. W. y HEDGES, N. 13 - Measuring Lipid Oxidation. In: STEELE, R. (ed.). *Understanding and Measuring the Shelf-Life of Food*. Woodhead Publishing, (2004). p. 289-316. [\[DOI\]](#)