



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

**Perfil antioxidante de tres variedades del
clavel mexicano (*Dianthus caryophyllus* L).**

Tesis para obtener el título de
LICENCIADO QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

Presenta:

Esmeralda Aquino Miguel

Director Tesis:

Dr. Alan Carrasco Carballo

Co-director de Tesis:

Dr. Jesús Sandoval Ramírez



FEBRERO 2024





El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Elucidación y Síntesis en Química Orgánica, en las divisiones de productos naturales y antioxidantes, bajo la dirección del Dr. Alan Carrasco Carballo y el Dr. Jesús Sandoval Ramírez.



OFICIO C.Q./CT 003A/2024

Dr. Jorge R. Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Los que suscriben, integrantes de la Comisión Revisora de Tesis de la alumna de la Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Esmeralda Aquino Miguel

comunican a Usted la autorización para la publicación del trabajo de tesis bajo la dirección del Dr. Alan Carrasco Carballo y del Dr. Jesús Sandoval Ramírez, con el siguiente título:


“Perfil Antioxidante de tres variedades del clavel mexicano (*Dianthus caryophyllus* L)”


Se extiende la presente, para los usos que al interesado convengan el día 13 de febrero de 2024.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. Puebla de Z., a 13 de febrero de 2024


Dra. Ivonne Pérez Xochipa, Presidente


Dr. Joel Luis Terán Vázquez, Secretario


Dr. Victorino Gilberto Serafín Atáriste Bueno, Vocal

c.c.p. Archivo

Cadena digital: 2Ng*Ud,Yq-Bd&Gm'Pu'Of*Oy''Xu!Mx/Ps)Kr)We'Kz+Sv-Up,Mc&Ju/Ov!Qz&Ua*Fn,Zf)Bs(Mt\$Cx-Cb\$Rn''Uv''Ej''Fm''Pe!Yz/lz''Xa(Rp-Tc*Xk)Cr*Xb,Tl''Ja''Eh#Ag''Ld)Dk/On''Lq&Qj)Ts+Vk.Og+Ta!Pg.Ex&Tq''Nw''Pu&Sl'Sf)Bn#Rw&Lw!Kb#Ns&Ym''Xf\$Wk-Jk.Pb-Un*Gp*Pl!Nv/Nh.Uc+Bh*Cn*Ws-Lw%Wn&Jq*Nk+Oh''Ic!Dk.On+Op.Sm-Nm.Bi''Ok#

Facultad
de Ciencias
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 5500 Ext.7390

Dedicatoria

A mis padres Fortino Aquino León y Alejandra Miguel Santiago.

A mi hermano Gilberto Aquino Miguel.

A Juan Alex Hernández Rivera.

Al Laboratorio de Elucidación y Síntesis en Química Orgánica.

Agradecimientos

A Alan Carrasco Carballo por guiarme y transmitirme un poco de sus conocimientos durante la elaboración de esta tesis.

Al Laboratorio de Elucidación y Síntesis en Química Orgánica por abrirme las puertas y acogerme en su gran equipo de trabajo.

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por permitirme pertenecer a su gran casa de estudios.

A la Facultad de Ciencias Químicas y a todos los docentes que me formaron como profesional.

A Carolina por ser una gran amiga, por su apoyo incondicional y acompañarme en toda la etapa universitaria.

A Guiee Niza y Alberto por su paciencia y transmitirme los conocimientos necesarios para la elaboración de este trabajo.

A Juan Alex por ser un gran apoyo durante años y alentarme a cumplir todos mis sueños y metas.

Índice

Resumen	XIII
Antecedentes.....	1
1.1 El Clavel y las Plantas Medicinales.....	1
1.2 Plantas Medicinales y la cicatrización.....	9
1.3 La Cicatrización.....	11
1.4 Los antioxidantes.....	12
1.5 Determinación del potencial antioxidante	15
1.6 Mecanismos antioxidantes en la cicatrización.....	17
1.7 El clavel como objeto de estudio.....	20
Objetivos.....	22
Objetivo general	22
Objetivos particulares	22
Metodología.....	23
Extracción diferencial mediante equipo Soxhlet.....	23
Construcción de curva de calibración.....	23
Prueba de captación del radical libre DPPH.....	23
Contenido fenólico total	24
Método de pH diferencial.....	24
Discusión de resultados	25
Extracción diferencial por Soxhlet.....	25
Capacidad Antioxidante	34
Contenido de antioxidantes: Flor vs Tallo.....	36
Contenido de antioxidantes: Efecto de la Polaridad del Disolvente.....	38
Contenido de antioxidantes: Influencia del Pigmento.....	41
Contenido de antioxidantes: Clavel Rojo y Morado vs Blanco.....	44
Contenido de antioxidantes: Polar vs Apolar.....	47
Contenido de antioxidantes: Disolvente Polar vs Flor Morada y Roja.....	52
Conclusiones.....	59
Bibliografía.....	60

Símbolos y abreviaturas

Abreviatura	Significado	Abreviatura	Significado
TGF	Factor de crecimiento transformante	NF-kB	Factor nuclear kappa B
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos	PPARγ	Receptor de peroxisoma proliferador activado gamma.
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular	NRF2	Factor nuclear eritroide 2
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas	t-PA	Activador tisular del plasminógeno
IGF	Factor de crecimiento similar a insulina	ROS	Especies reactivas de oxígeno
KGF	Factor de crecimiento de queratinocitos	TNF	Factor de necrosis tumoral
u-PA	Activador del plasminógeno urocinaasa	EGF	Factor de crecimiento epidérmico
MMP	Metaloproteasa de matriz.	bFGF	Factor de crecimiento de fibroblastos básico
IL	Interleucina		

Índice de figuras

Figura 1. Morfología de <i>Dianthus caryophyllus</i> L.....	1
Figura 2. Estructuras de los glucósidos que lo proporcionan la variedad de colores a <i>Dianthus caryophyllus</i> L.	2
Figura 3. Flores utilizadas en el estudio de perfiles antioxidantes.	2
Figura 4. Resultados de evaluación de DPPH (A), evaluación de ABTS (B), viabilidad celular contra las líneas celulares cancerosas A549 (C) y U2OS (D).	3
Figura 5. Estructuras de los ácidos fenólicos identificados en pétalos de clavel.	4
Figura 6. Actividad antibacteriana del extracto metanólico contra <i>E. coli</i> (A) y <i>P. aeruginosa</i> (B). Las concentraciones se encuentran en mg/mL.	4
Figura 7. Actividad anti-candidiasis de extractos de terpenoides (A) y de flavonoides (B)...	5
Figura 8. Países con investigaciones sobre plantas medicinales.	6
Figura 9. Utilización de plantas como biorreactores para la producción de DNA.	7
Figura 10. Estructura de componentes de los aceites esenciales.	8
Figura 11. Lesiones tratadas con gel de eucalipto (A) y lesiones tratadas con extracto hidroalcohólico de siempreviva mayor (B).	9
Figura 12. Células participantes en la fase inflamatoria de cicatrización.	10
Figura 13. Células participantes en la fase proliferativa de cicatrización.	11
Figura 14. El galato de epigallocatequina (EGCG) inhibe el reclutamiento de células inmunes inflamatorias mediante la unión a los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGF) y del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF).	12
Figura 15. Clasificación de los antioxidantes.	13
Figura 16. Estructura del ácido benzoico y del ácido cinámico.	14
Figura 17. Estructura del flavonol quercetina (A), de la flavanona hesperetina (B), del flavanonol taxifolina (C) y de la isoflavonoide genisteína (D).	14
Figura 18. Estructura de las 6 antocianinas más comunes.	15
Figura 19. Estructura del β -caroteno.	15
Figura 20. Reacción entre el ácido gálico y el reactivo de Folin-Ciocalteu.	16
Figura 21. Reacción del radical DPPH con una molécula donadora de radical hidrógeno. .	16
Figura 22. Variación de las formas estructurales de las antocianinas con respecto al pH. ...	17
Figura 23. Interacción de un flavonoide con un radical libre.	18
Figura 24. Durante la cicatrización la astaxantina y la curcumina estimulan las vías de VEGF y del factor de crecimiento transformante β 1 (TGF- β 1) mejorando la diferenciación de fibroblastos, la migración de queratinocitos, la formación de tejido de granulación y la angiogénesis; por el contrario, la delfinidina inhibe a VEGF, siendo ideal su utilización en cicatrices hipertróficas (A). Durante la remodelación la astaxantina y curcumina estimulan la expresión de bFGF y TGF- β 1 modulando la producción de colágeno y maduración de cicatrices (B).	19
Figura 25. Apósito antioxidante Reoxcare®.	20
Figura 26. Compuestos antioxidantes presentes en el clavel.	21

Figura 27. Metodología realizada.....	25
Figura 28. Gráfica de la prueba de normalidad de Anderson Darling para la cantidad de extracto por material vegetal seco.	26
Figura 29. Gráfica del contenido de extracto con respecto al color del clavel.....	27
Figura 30. Gráfica del contenido de extracto con respecto a la parte de la planta y al color del clavel.....	28
Figura 31. Gráfica del contenido de extractos con respecto al disolvente utilizado.	29
Figura 32. Gráfica del contenido de extracto con respecto al hexano.....	30
Figura 33. Gráfica del contenido de extracto con respecto al acetato de etilo.	30
Figura 34. Gráfica del contenido de extracto con respecto al DCM.	30
Figura 35. Gráfica del contenido de extracto con respecto a la acetona.	31
Figura 36. Gráfica del contenido de extracto con respecto al etanol.....	31
Figura 37. Gráfica del contenido de extracto con respecto al metanol.....	31
Figura 38. Gráfica del contenido de extracto con respecto al agua.....	32
Figura 39. Gráficas de normalidad del porcentaje de inhibición, contenido fenólico total y contenido de antocianinas.	35
Figura 40. Gráfica del porcentaje de inhibición con respecto a la parte de la planta.	36
Figura 41. Gráfica del contenido fenólico total con respecto a la parte de la planta.....	37
Figura 42. Gráfica del contenido de antocianinas con respecto a la parte de la planta.	38
Figura 43. Gráfica del porcentaje de inhibición con respecto a la polaridad del disolvente.....	39
Figura 44. Gráfica del contenido fenólico total con respecto a la polaridad del disolvente.....	40
Figura 45. Gráfica del contenido de antocianinas con respecto a la polaridad del disolvente.....	41
Figura 46. Gráfica del porcentaje de inhibición con respecto al color del clavel.....	42
Figura 47. Gráfica del contenido fenólico total con respecto al color del clavel.	43
Figura 48. Gráfica del contenido de antocianinas con respecto al color del clavel.....	44
Figura 49. Gráfica del porcentaje de inhibición con respecto a la parte de la planta y el color del clavel.....	45
Figura 50. Gráfica del contenido fenólico total con respecto a la parte de la planta y color del clavel.....	46
Figura 51. Gráfica del contenido de antocianinas con respecto a la parte de la planta y color del clavel.....	47
Figura 52. Gráfica del porcentaje de inhibición con respecto al disolvente y al color del clavel.....	49
Figura 53. Gráfica del contenido fenólico total con respecto al disolvente y al color del clavel.....	50
Figura 54. Gráfica del contenido de antocianinas con respecto al disolvente y al color del clavel.....	52
Figura 55. Gráfica del porcentaje de inhibición con respecto al disolvente, parte de la planta y color del clavel.....	54

Figura 56. Gráfica del contenido fenólico total con respecto al disolvente, parte de la planta y color del clavel.....	56
Figura 57. Gráfica del contenido de antocianinas de acuerdo con el disolvente, parte de la planta y color del clavel.	58

Índice de tablas

Tabla 1. Ejemplos de principios activos provenientes de plantas y su actividad biológica. ..	6
Tabla 2. Algunos ejemplos de plantas medicinales usadas en Teziutlán, Puebla.	8
Tabla 3. Moléculas pertenecientes a especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno.	18
Tabla 4. Prueba de Kruskal Wallis en la determinación de la cantidad de extracto con respecto a la parte de la planta.....	27
Tabla 5. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al color del clavel.....	27
Tabla 6. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto a la parte de la planta y color del clavel.	28
Tabla 7. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al disolvente.....	29
Tabla 8. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al hexano, parte de la planta y color del clavel.....	32
Tabla 9. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al acetato de etilo, parte de la planta y color del clavel.	32
Tabla 10. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al DCM, parte de la planta y color del clavel.	33
Tabla 11. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto a la acetona, parte de la planta y color del clavel.	33
Tabla 12. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al etanol, parte de la planta y color del clavel.	34
Tabla 13. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al metanol, parte de la planta y color del clavel.	34
Tabla 14. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al agua, parte de la planta y color del clavel.....	34
Tabla 15. Prueba de Kruskal-Wallis en la determinación del porcentaje de inhibición.....	36
Tabla 16. Prueba de Kruskal-Wallis en la determinación del contenido fenólico total.	36
Tabla 17. Prueba de Kruskal-Wallis en la determinación de Antocianinas.	37
Tabla 18. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del porcentaje de inhibición con respecto a los disolventes.	39
Tabla 19. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido fenólico total con respecto a los disolventes.	40
Tabla 20. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney de antocianinas con respecto a los disolventes.	41
Tabla 21. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del porcentaje de inhibición con respecto al color del clavel.	42
Tabla 22. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido fenólico total con respecto al color del clavel.	42

Tabla 23. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido de antocianinas con respecto al color del clavel.....	43
Tabla 24. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del porcentaje de inhibición con respecto a la parte de la planta y al color del clavel.	44
Tabla 25. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido fenólico total con respecto a la parte de la planta y al color del clavel.	45
Tabla 26. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido de antocianinas con respecto a la parte de la planta y al color del clavel.	46
Tabla 27. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del porcentaje de inhibición con respecto al disolvente y al color del clavel.	48
Tabla 28. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido fenólico total con respecto al disolvente y al color del clavel.	49
Tabla 29. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido de antocianinas con respecto al disolvente y al color del clavel.	51
Tabla 30. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del porcentaje de inhibición con respecto al disolvente, parte de la planta y color del clavel.	52
Tabla 31. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido fenólico total con respecto al disolvente, parte de la planta y color del clavel.	54
Tabla 32. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido de antocianinas con respecto al disolvente, parte de la planta y color del clavel.	56

Resumen

El clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) es una planta ornamental con gran variedad de colores, producida en México a gran escala; su importancia en el folclore mexicano va desde arreglos florales para el día de la madre, su utilización en los tapetes florales, su presencia simbólica en Semana Santa, decoración en el altar de muertos, entre otros; sin embargo, esto origina una gran cantidad de desechos vegetales que no tienen un uso secundario. El potencial uso de los desechos de plantas medicinales depende de los metabolitos que ésta contenga. El análisis de dichos metabolitos se realiza en primera instancia con base a la revisión bibliográfica del género, además de sus propiedades morfométricas y particularidades de la flor, de donde puede lanzarse la hipótesis, por ejemplo, de tener un gran potencial antioxidante y por ende capacidad acelerante de la cicatrización. En el presente proyecto se determinó la actividad antioxidante del tallo y flor del clavel blanco, rojo y morado en la ciudad de Puebla. Se realizaron extracciones consecutivas con 7 disolventes de diferente polaridad mediante Soxhlet, en forma diferencial desde el menos polar (hexano) hasta el más polar (agua), separando modelo de flor y tallo por variedad de flor. La actividad antioxidante se determinó mediante la prueba de captación de radicales libres con DPPH, la determinación de contenido fenólico total (que es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos) mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu y el método de pH diferencial (que determina la presencia de antocianinas). Se demostró que los extractos con mayor actividad antioxidante son el de acetato de etilo de flor blanca y morada, los extractos polares (acetona y agua) pertenecientes a flor. Esto último sugiere que la flor blanca y morada contienen compuestos antioxidantes metilados en vez de grupos hidroxilo, lo que le confiere características lipofílicas y que facilita su extracción en disolventes apolares. Los extractos con mayor cantidad de compuestos fenólicos pertenecen a extractos acuosos, etanólicos y metanólicos de flor del clavel, siendo los más relevantes los extractos acuosos de flor morada y roja. Esto se origina debido a la presencia de antocianinas, las cuales se observan en mayor cantidad en los mismos extractos correspondientes a flor de clavel morada y roja. Las tres variedades del clavel contienen compuestos antioxidantes fenólicos que poseen la capacidad de inhibir radicales libres, posicionándola como planta medicinal.

Antecedentes

1.1 El Clavel y las Plantas Medicinales

El clavel, *Dianthus caryophyllus* L. es una planta ornamental importante a nivel mundial, considerada la flor nacional de España. [1] Su importancia radica en la decoración y adorno del hogar o festividades. [2] En cuestiones de superficie cultivada es la tercera flor cortada en el mundo. Es una planta perenne, que durante el invierno sus flores y tallos pueden secarse, pero sus raíces siguen vivas para que vuelva a emerger una flor, tienen una vida mayor a 2 años. Las flores se localizan al final de las ramas, son solitarias o en racimos, pueden ser dobles o simples; éstas contienen un cáliz cilíndrico de 20 a 30 mm. de largo, además 4 a 6 escamas en el epicáliz anchamente ovaladas, con punta corta y aguda, adpresas al cáliz, con pétalos grandes, dentados en la cima y con forma triangular, similar a un huevo invertido. Se caracteriza por tener tallos glabros, simples o ramificados, en la parte superior de 20 a 90 cm de largo, con hojas largas y angostas de margen liso o con base ciliada. (Figura 1). [3,4]

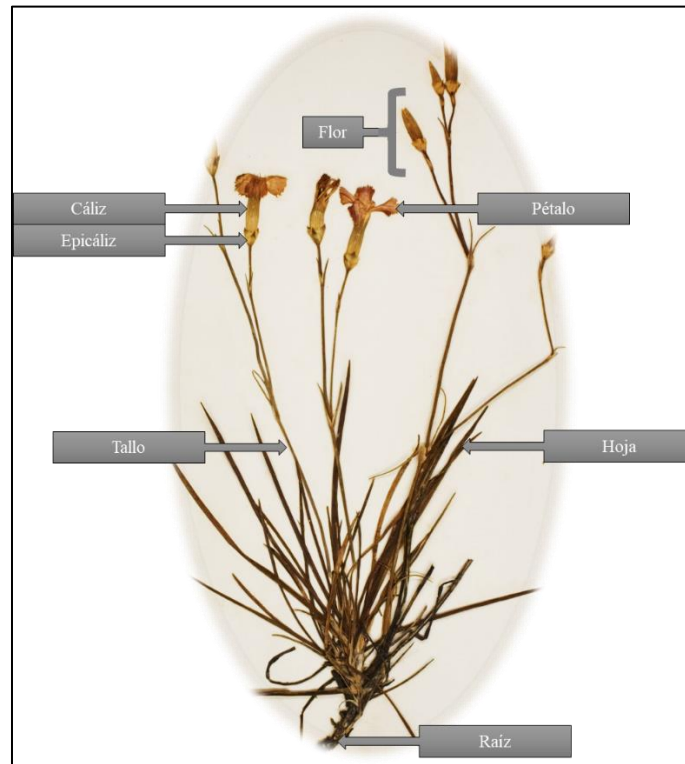


Figura 1. Morfología de *Dianthus caryophyllus* L. [5]

Dianthus caryophyllus L. tiene una gran variedad de colores (Figura 2), entre los más comunes está el blanco, rojo, rosa, amarillo, morado y bicolor, derivado de las expresiones genéticas del pigmento antocianina que se encuentra disuelto en la savia de la vacuola presente en las células de la epidermis. La acumulación de los pigmentos derivados de la antocianidina 3-glucósido como la pelargonidina 3-maliglucósido (Pg3MG), cianidina 3-

malilglucósido (Cy3MG), pelargonidina 3,5-cíclicomalil-diglucósido (Pg3,5cMdG) y cianidina 3,5-cíclicomalil-diglucósidos (Cy3,5cMdG) originan la coloración roja, rosa o violeta de las flores. [6]

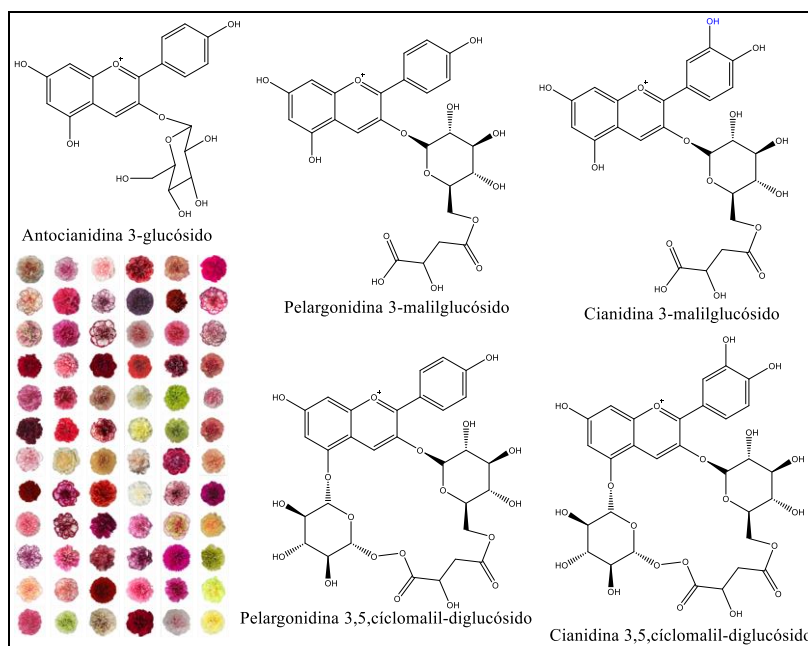


Figura 2. Estructuras de los glucósidos que lo proporcionan la variedad de colores a *Dianthus caryophyllus* L. [7]

El clavel no es tóxico al consumirse en pequeñas cantidades, considerado seguro para el ser humano y clasificado como una flor comestible; lo que implica un inmenso interés en las propiedades nutricionales y medicinales que le pueda proporcionar al ser humano. Han determinado la actividad antioxidante, el contenido fenólico total, antocianinas y flavonoides de un extracto metanólico de clavel rojo, en el que el clavel ocupa uno de los tres primeros lugares en las determinaciones de antioxidantes de 11 flores comestibles analizadas (Figura 3). [8]



Figura 3. Flores utilizadas en el estudio de perfiles antioxidantes. [8]

Se ha evaluado la actividad antioxidante y anticancerígena del clavel blanco, amarillo, verde y morado; se demostró que la actividad antioxidante era proporcional a la intensidad del color de la flor, presentando la mayor actividad antioxidante en el clavel morado y la menor en el clavel blanco. Se observó que el extracto metanólico presenta actividad inhibidora del crecimiento contra las células A549 (células de carcinoma pulmonar) [9] y U2OS (células de osteosarcoma)[10]. Analizaron el metaboloma de las flores, identificando 789 metabolitos comunes entre las 4 variedades de colores, predominando los flavonoides en un 25% (poseen estructura polifenólica, actúan como conservantes, pigmentos y antioxidantes), lípidos en un 16% (actúan como elementos estructurales y como moléculas de señal en vías de respuesta celular), ácidos fenólicos en un 15% (son compuestos fenólicos que contienen un grupo carboxilo y actúan como anticancerígenos, antimicrobianos, antiinflamatorios, etc.), aminoácidos (desempeñan funciones en la regulación sensorial y biológica) y derivados (9%), ácidos orgánicos (8%), sacáridos y alcoholes (6%), y nucleótidos y derivados (6%). El análisis de correlación de Spearman correlacionó a la 2'-desoxiguanosina con las actividades inhibitoras de las líneas celulares de cáncer y al ácido 4-piridóxico-O-glucósido con las actividades antioxidantes (Figura 4). [11,12]

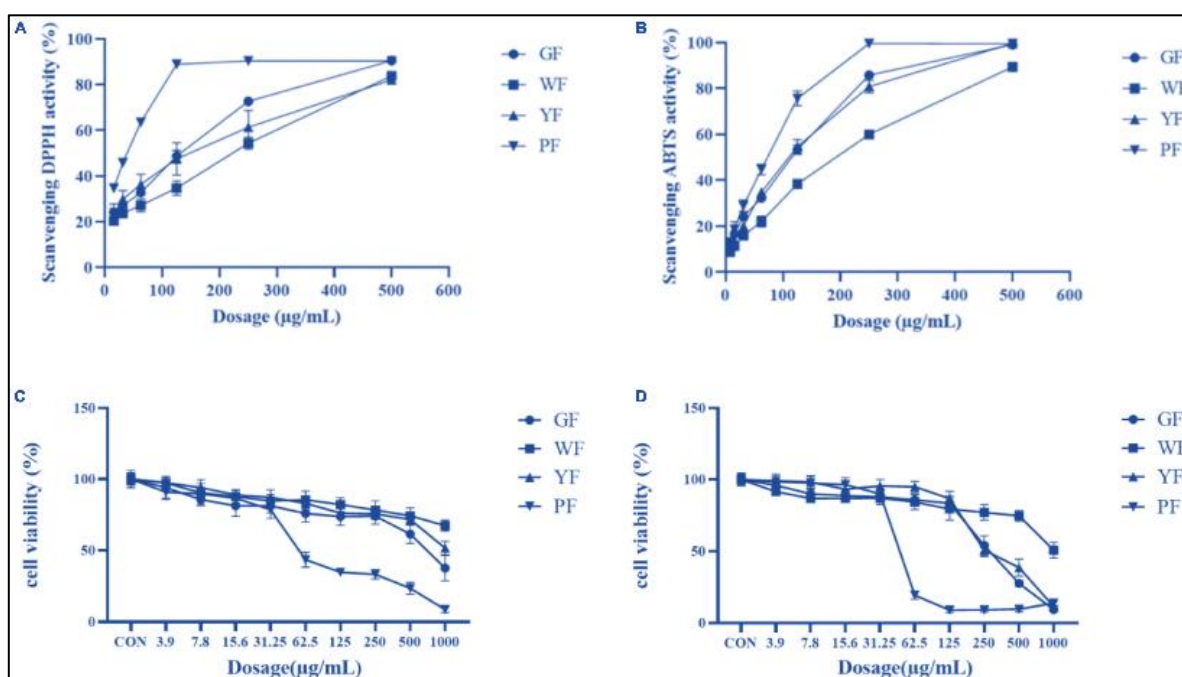


Figura 4. Resultados de evaluación de DPPH (A), evaluación de ABTS (B), viabilidad celular contra las líneas celulares cancerosas A549 (C) y U2OS (D). [11]

Los ácidos fenólicos se encuentran como metabolitos secundarios que contribuyen a las características organolépticas, principalmente al color, sabor y aroma. Poseen actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antialérgicas, antimicrobianas, antitrombóticas, anticancerígenas, cardioprotectoras e inmunorreguladoras. [13] Se clasifican como ácidos hidroxibenzoicos y como ácidos hidroxicinámicos que pueden estar disponibles como conjugados con ácidos orgánicos o con azúcares o de forma unida a los constituyentes

celulares. En los pétalos de clavel se han identificado siete ácidos fenólicos: el gálico, cafeico, clorogénico, *p*-cumárico, rosmarínico, sinápico y ferúlico (Figura 5). Los cuales poseen diversos beneficios para la salud, por ejemplo, el ácido gálico y el ácido sinápico actúan como anticancerígeno y antimicrobiano; el ácido ferúlico posee propiedades antiinflamatorias al igual que el ácido sinápico; mientras el ácido *p*-cumárico tiene beneficios anticancerígenos. [13,14]

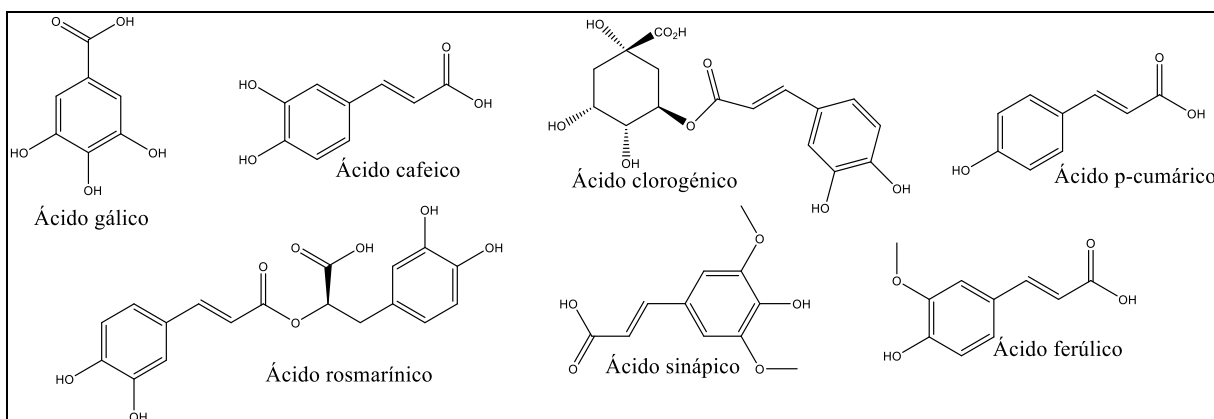


Figura 5. Estructuras de los ácidos fenólicos identificados en pétalos de clavel.

Se han empleado extractos de metanol y etanol provenientes de botones florales de clavel para realizar pruebas de susceptibilidad mediante el método de difusión en pozos de agar. Se observó una reducción en el crecimiento de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 6), la reducción en el crecimiento fue proporcional a la concentración utilizada. Mediante cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas se detectó al eugenol en los extractos de clavel. [15] El eugenol ha reportado actividades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias y anticancerígenas. [16]

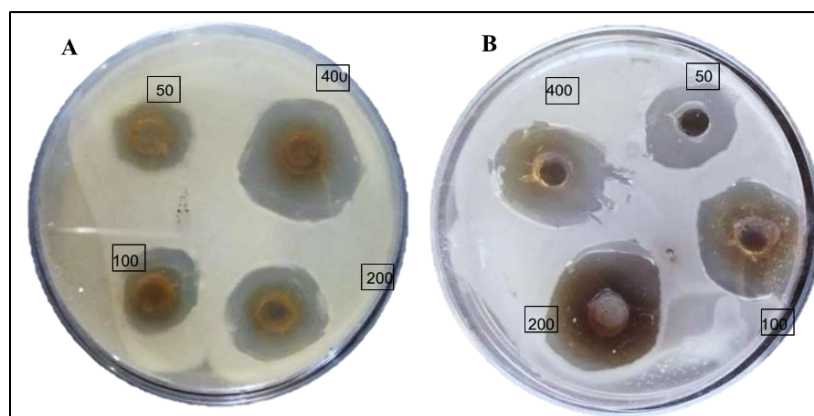


Figura 6. Actividad antibacteriana del extracto metanólico contra *E. coli* (A) y *P. aeruginosa* (B). Las concentraciones se encuentran en mg/mL. [15]

Se ha identificado actividad antifúngica contra *Cándida* aislada de boca y vagina, frente a compuestos terpenoides, flavonoides y alcaloides provenientes de clavel. Se mostro

mayor eficacia en los terpenoides y flavonoides en comparación con los alcaloides, mostrando superioridad significativa ($p < 0.05$) sobre el fluconazol cuyo halo de inhibición fue de 35 ± 1 mm (Figura 7). [17] Existe una gran variedad de flavonoides de acuerdo con los grupos funcionales adicionales que contienen su estructura, se les atribuye características antioxidantes, insecticidas, citotóxicas, cicatrizantes, antimicrobianas o antiparasitarias. Algunos flavonoides ejercen su acción antimicrobiana mediante la inhibición de los ácidos nucleicos, degradación de la membrana citoplasmática o al alterar los canales iónicos debido a reacciones de fosforilación y desfosforilación. [18] Los terpenos actúan contra los microorganismos mediante la ruptura celular, inhibición de los procesos respiratorios y transporte iónico. [19]

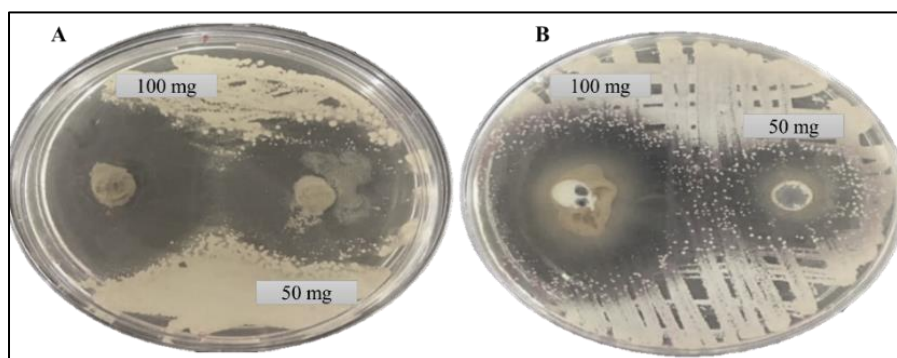


Figura 7. Actividad anti-candidiasis de extractos de terpenoides (A) y de flavonoides (B). [17]

El clavel no solo es una planta ornamental, por los descubrimientos realizados se le atribuye propiedades medicinales, siendo categorizada como una planta medicinal. Las plantas medicinales remontan desde la antigüedad, donde las propiedades farmacológicas se descubrieron a prueba y error. [20] En varias partes del mundo se sigue investigando y empleando la medicina tradicional, en la que emplean la planta completa o determinados fragmentos de ella para la prevención o tratamiento de enfermedades. En más de 120 países la medicina tradicional ha obtenido estatus oficial (Figura 8). [21] Gran variedad de los componentes activos de los medicamentos proviene de las plantas. Condiciones de estrés biótico y abiótico pueden estimular la producción de metabolitos secundarios, atribuyendo mayor cantidad de ingredientes activos. [22]

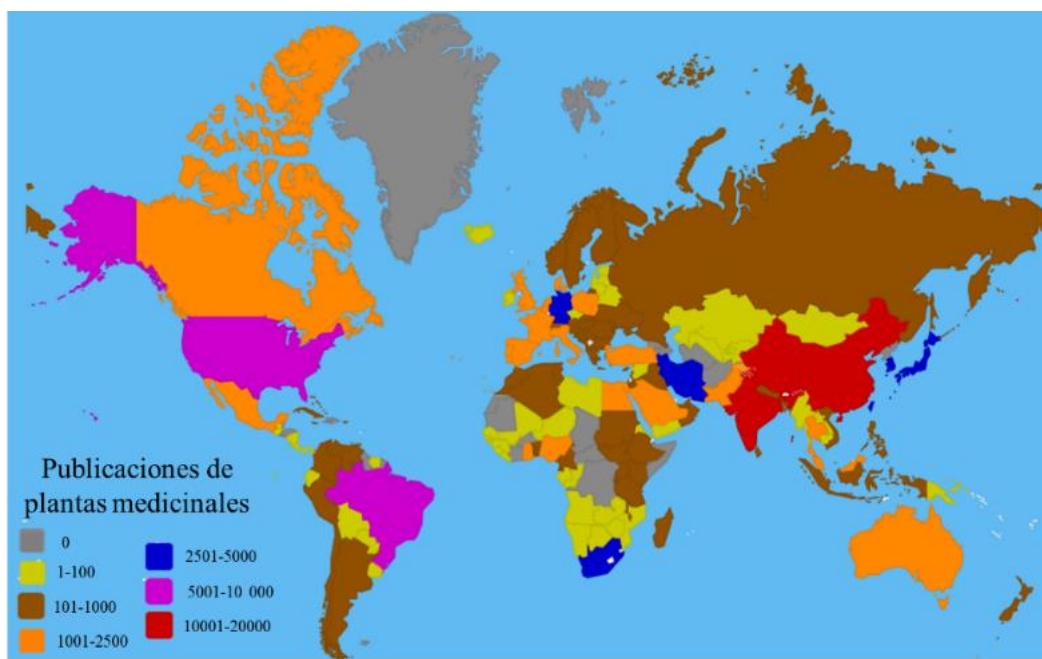


Figura 8. Países con investigaciones sobre plantas medicinales. Modificado de la referencia [21]

La evidencia del uso medicinal de las plantas data de hace 5000 años, época en las que las generaciones transmitían sus conocimientos de manera verbal. Actualmente aún hay un amplio porcentaje de plantas sin investigar, creando un gran interés farmacológico en la bioactividad proveniente de los metabolitos secundarios de las plantas medicinales, como lo es la actividad anticancerígena, antimicrobiana, antioxidante y cicatrización; dando origen a la etnofarmacología, la cual se basa en el descubrimiento, descripción e investigación de la medicina tradicional para la elaboración de nuevos fármacos (Tabla 1). [23,24]

Tabla 1. Ejemplos de principios activos provenientes de plantas y su actividad biológica. [23]

Nombre latino de la especie vegetal	Principio activo principal	Bioactividad
<i>Atropa belladonna</i> L.	Atropina	Anticolinérgico
<i>Camptotheca acuminata</i> Decne.	Camptotecina	Anticancerígeno
<i>Catharanthus roseus</i> G. Don	Vinblastina, vincristina	Anticancerígeno
<i>Centella asiática</i> Urbana	Asiaticósido	Cicatrización de la herida.
Cítricos <i>sp.</i>	Hesperidina, rutina.	Antioxidantes.
<i>Larrea divaricata</i> Cav.	Ácido nordihidroguaiarético	Antioxidante
<i>Mcuna deeringiana</i> Merr.	L-Dopa	Anti Parkinson
<i>Papaver somniferum</i> L.	Morfina	Analgésico
<i>Thymus vulgaris</i> L.	Timol	Antimicrobiano
<i>Valeriana officinalis</i> L.	Valepotriatos	Sedante

Muchos fitoquímicos presentes en las plantas poseen actividad antiviral, como se ha ido reportando a lo largo de los años y ha cobrado mayor interés tras el surgimiento de SARS-CoV-2. Por ejemplo, los extractos etanólicos del comino negro (*N. sativa*) disminuyen la

carga viral en pacientes infectados con hepatitis C; el extracto acuoso de hoja amarga (*V. amigdala*) aumenta el recuento de linfocitos CD4⁺ y glóbulos blancos; compuestos derivados de hojas de neem (*A. indica*) mostraron actividad de inhibidor mediante estudios de acoplamiento molecular hacia la membrana (M) y glicoproteínas de envoltura (E) del SARS-CoV-2. [25] En los últimos años las plantas han sido utilizadas como biorreactores para la producción de metabolitos empleados en la elaboración de vacunas, mediante sistemas *in vivo* en los que se controlan el suelo, aire, agua, temperatura, luz y nutrientes. Un ejemplo es *Nicotiana benthamiana* que es infectada por *Agrobacterium tumefaciens* mediante la técnica de agroinfiltración. [26] Esta bacteria contiene al plásmido Ti (inductor de Tumores), al cual se le remueve el sitio de restricción (T-DNA) y se le añade el DNA de interés. Por medio del nuevo plásmido recombinante se obtiene la replicación masiva del gen de interés (Figura 9). Utilizando esta técnica se ha obtenido el antígeno ESTAT-6 de *Mycobacterium tuberculosis*, la proteína L del VPH, antígenos de la gastroenteritis transmisible del cerdo, entre otros. [27]

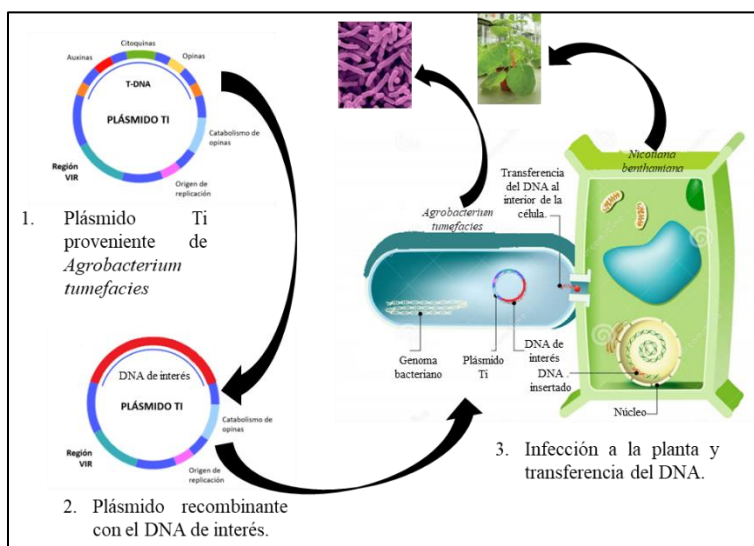


Figura 9. Utilización de plantas como biorreactores para la producción de DNA. [28,29]

Una de las mayores aplicaciones de las plantas medicinales es en la obtención de aceites esenciales. Un aceite esencial contiene compuestos volátiles con aroma producidos mediante el metabolismo secundario de las plantas. Algunos componentes principales de los aceites esenciales son los terpenos, fenilpropanoides, aldehídos, alcoholes, cetonas y ésteres (Figura 10). Los aceites esenciales poseen diversa actividad biológica atribuida a los compuestos presentes en mayor cantidad o al sinergismo entre ingredientes activos. Se ha reportado actividad antimicrobiana, antioxidante, insecticida, antiviral, antiinflamatoria, analgésica y anticancerígena.[30]

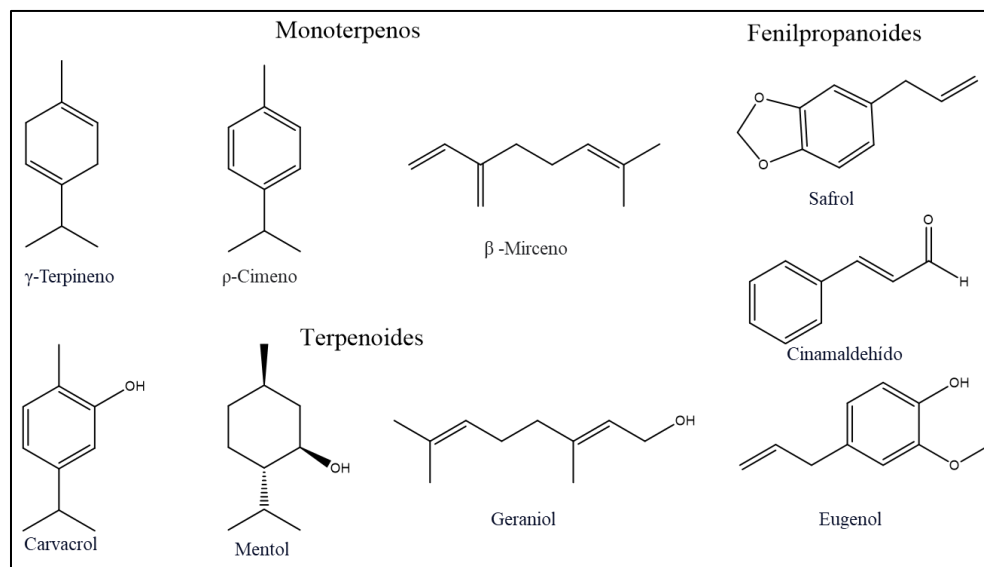


Figura 10. Estructura de componentes de los aceites esenciales.

Se ha identificado a *Dianthus caryophyllus* entre las plantas medicinales utilizadas en la región de Teziutlán, Puebla, mediante la realización de entrevistas a curanderos o médicos tradicionales de la región, (Tabla 2). Las plantas utilizadas se obtienen de huertos que los mismos curanderos poseen, en algunos casos del mercado de Teziutlán o del campo. [31]

Tabla 2. Algunos ejemplos de plantas medicinales usadas en Teziutlán, Puebla. [31]

Nombre botánico	Nombre común	Parte usada	Vía de administración	Usos medicinales
<i>Árnica montana</i>	Árnica	Parte aérea, raíz y rizoma	Oral y tópica	Bajar la presión, en heridas, mejora de la visión, várices, moretones, llagas cutáneas y bucales, desinflamar, dolor general, cicatrizante, calambres, suavizar e hidratar la piel.
<i>Bougainvillea glabra</i>	Bugambilia	Hojas y flores	Tópico y oral	Tos, resfriado, dolor muscular.
<i>Chenopodium album</i>	Quelites	Hojas	Oral	Cicatrizante, aumentar las defensas.
<i>Dianthus caryophyllus</i>	Clavel	Flores	Oral	Depresión, enfermedades cardíacas.
<i>Equisetum spp</i>	Cola de caballo	Parte aérea y tallos.	Tópico	Mal de orín y diurético.
<i>Psidium guajaba</i>	Guayaba	Hojas	Oral	Dolor estomacal, desintoxicación, enfermedades respiratorias, expulsar flemas, colitis.
<i>Tagetes lucida</i>	Pericón	Flores	Oral	Relajante, hernias, artritis, dolor estomacal.
<i>Verbecina persicifolia</i>	Huichín	Hojas	Tópico	Cicatrizante y antiséptico de heridas

En la mayoría de los casos las plantas medicinales son utilizadas para el tratamiento de heridas, especialmente por sus propiedades antimicrobianas, desinflamatorias y cicatrizantes. Se pueden aplicar en forma de ungüentos, emplastos, infusiones, geles, entre otros. La actividad cicatrizante de diversas plantas medicinales se ha comparado *in vivo*: por ejemplo, se aplicó gel cicatrizante a base de eucalipto en cobayos con heridas limpias, contaminadas e infectadas, donde se demostró un tiempo menor de cicatrización (diferencia de 4 días) y de caída de costra (diferencia de 7 días) comparado con el grupo control que no recibió el tratamiento. [32] Se ha evaluado la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico al 5% de siempre viva mayor en ratas que poseían lesiones inducidas por corte en la que se demostró que el extracto hidroalcohólico tiene el mismo tiempo de cicatrización comparado con las heridas a las que se le aplicó Repunten® (Figura 11). [33]



Figura 11. Lesiones tratadas con gel de eucalipto (A) y lesiones tratadas con extracto hidroalcohólico de siempre viva mayor (B). [32,33]

1.2 Plantas Medicinales y la cicatrización

Una herida altera la integridad celular, anatómica y funcional del tejido; puede ser causada por amenazas físicas, químicas, eléctricas, microbianas (foliculitis, ántrax, forúnculos, abscesos cutáneos, erisipela, etc), eventos quirúrgicos, entre otros. Ante una herida el organismo lleva a cabo una serie de reacciones para la restauración y cicatrización del tejido. [34] Dentro de las primeras 48 horas se llevan a cabo la fase de hemostasia, se vaso-construye el vaso sanguíneo para disminuir el sangrado, se lleva a cabo la formación de un coagulo de fibrina mediante la unión de colágeno, plaquetas y fibronectina. Se acompaña de la fase inflamatoria en la que las células inflamatorias (macrófagos, células T, mastocitos, monocitos y neutrófilos) migran al tejido, produciendo factores de crecimiento (que llevan a cabo la comunicación celular, desencadenando los procesos de proliferación, migración y diferenciación celular) y citocinas pro-inflamatorias (el factor de necrosis tumoral alfa, el interferón gamma, interleucina 1 beta, entre otros); controlar patógenos, degradar material extraño y regular a las especies reactivas de oxígeno. (Figura 12). [35–37]

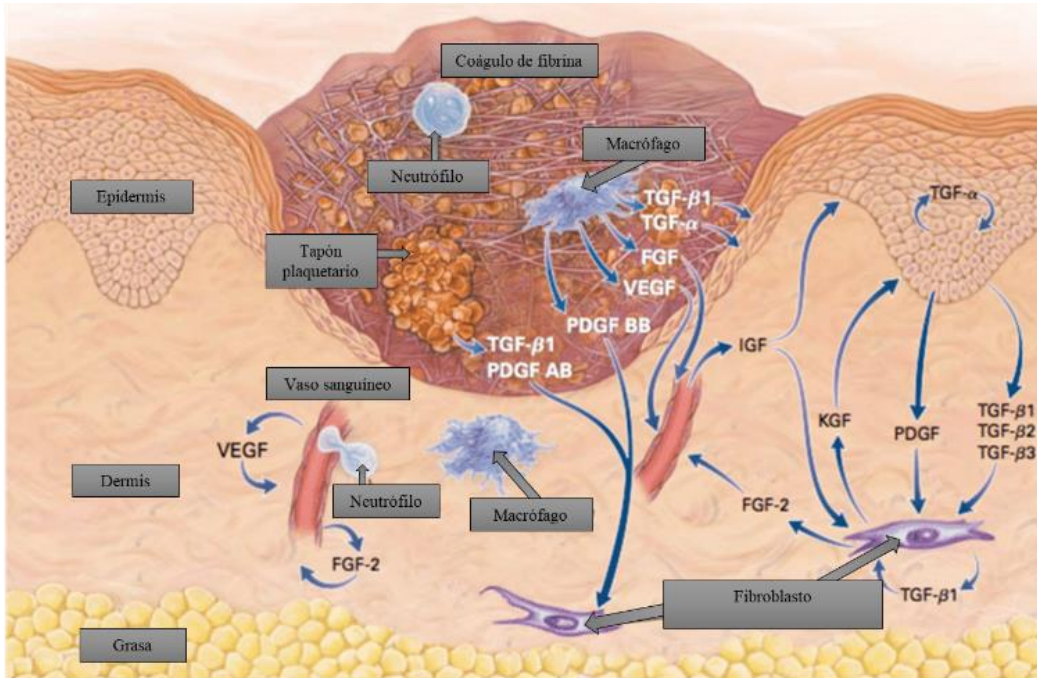


Figura 12. Células participantes en la fase inflamatoria de cicatrización. Modificado de la referencia [38]

La fase proliferativa comienza después de los 2 días de producirse la herida y dura hasta el día 10. En esta fase se efectúa la angiogénesis, la formación de tejido de granulación, la reepitelización y contracción de la herida; migran al sitio de lesión células endoteliales, fibroblastos y queratinocitos para la formación de tejido (Figura 13). Finalmente se presenta la fase de remodelación, que se presenta de 14 a 21 días después de la lesión y puede durar más de un año, las células activadas en fases posteriores mueren mediante apoptosis y los procesos activados se reducen hasta cesar. Los fibroblastos acumulados depositan colágeno para la formación de la cicatriz y secretan la metalopeptidasa de matriz para cumplir funciones de remodelamiento y fortalecimiento del tejido nuevo; la proteína también es sintetizada por las células endoteliales y macrófagos. [35–37]

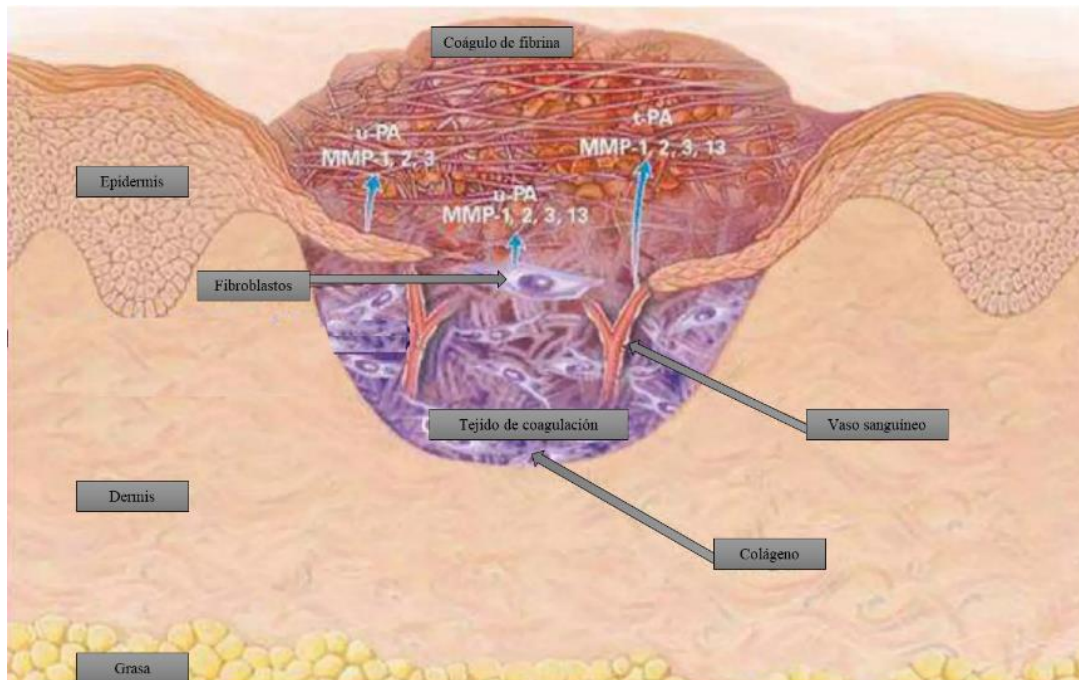


Figura 13. Células participantes en la fase proliferativa de cicatrización. Modificado de la referencia [39]

Entre los factores que afectan a la cicatrización encontramos las infecciones, las cuales ocasionan inflamación prolongada que mantiene un nivel elevado de metaloproteasas de matriz que degradan la matriz extracelular, disminuyendo a los inhibidores de proteasas naturales y originan el deterioro de los factores de crecimiento presentes en la herida. [34] En los procesos de inflamación prolongada, al combatir patógenos, en la angiogénesis, en la vasoconstricción, entre otros, se produce una liberación excesiva de radicales libres y ROS (reactive oxygen species por sus siglas en inglés), [40], las cuáles son combatidas por enzimas antioxidantes como la catalasa, superóxido dismutasa, el sistema glutatión y sistemas no enzimáticos como la tiorredoxina, entre otros. [41] En algunos casos las enzimas antioxidantes no logran combatir el estrés oxidativo excesivo originado por una producción prolongada de ROS [42], originando una inflamación prolongada que detiene el proceso de restauración de la herida. [36,43–45]

1.3 La Cicatrización

En los últimos años se ha evaluado la actividad antioxidante de las plantas medicinales para contribuir al proceso de cicatrización, su alto contenido de antioxidantes puede ser administrados de forma exógena contribuyendo a inhibir el crecimiento bacteriano, disminuyen la cantidad de radicales libre, promueven el proceso de vasoconstricción y cicatrización de la herida; inhiben la transcripción de agentes proinflamatorios como por ejemplo el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la interleucina 1 (IL-1) e IL-6 mediante el factor nuclear $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$). De igual forma regulan la inflamación desregulada de la herida,

aumentan la síntesis de colágeno, estimulan o inhiben la expresión de VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), regulan positiva o negativamente la migración y proliferación celular, entre otras propiedades (Figura 14). [46]

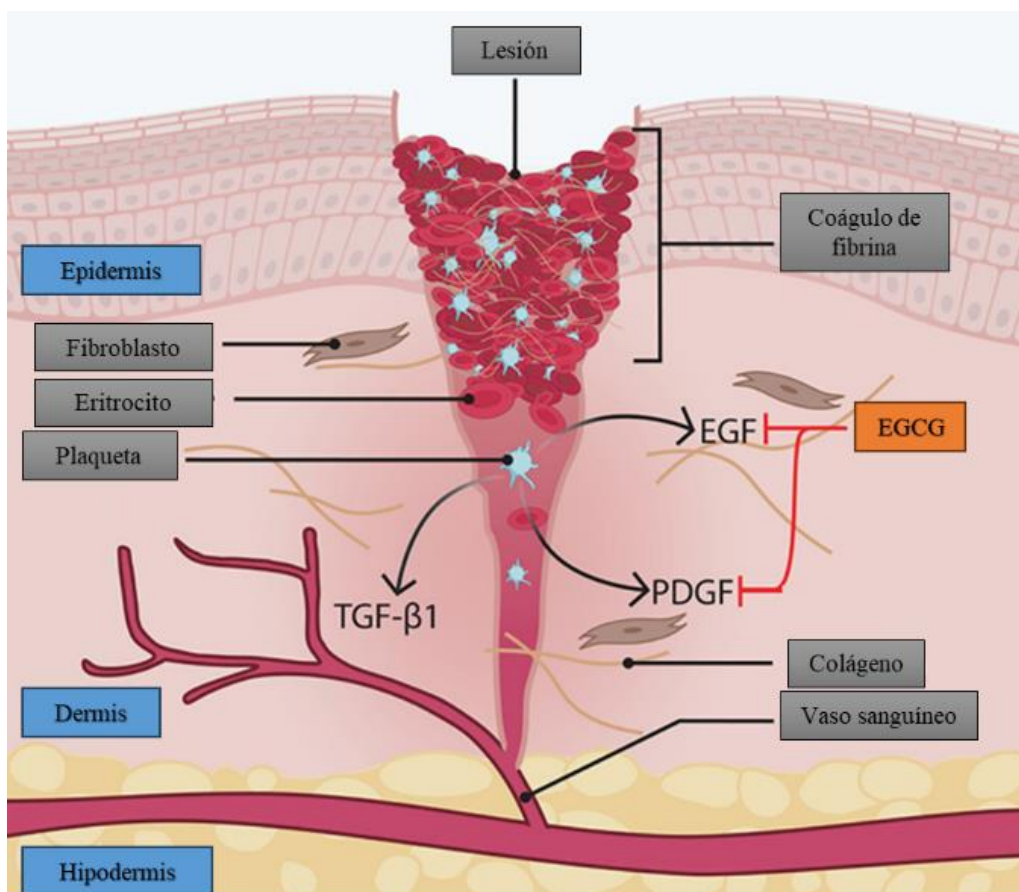


Figura 14. El galato de epigallocatequina (EGCG) inhibe el reclutamiento de células inmunes inflamatorias mediante la unión a los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGF) y del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). Modificado de la referencia [46]

1.4 Los antioxidantes

Una sustancia antioxidante es aquel compuesto que previene o retrasa el daño oxidativo y su actividad antioxidante ha sido atribuida a los grupos activos que posee como lo son los grupos hidroxilo o amino. [47,48] Poseen diversos mecanismo de acción, obteniendo antioxidantes primarios que inhiben reacciones de oxidación mediante la eliminación de ROS/RNS y a los antioxidantes secundarios que realizan la quelación de metales de transición, inducen factores protectores, inhiben a la xantina oxidasa, a la NADPH oxidasa, entre otros.[48]

Existen diversos tipos de antioxidantes, pueden ser de acuerdo con la fuente de donde provienen ya sean naturales o sintético. [49] Dentro de los antioxidantes naturales

encontramos a los endógenos que se encuentran dentro del organismo y a los exógenos que se obtienen de la dieta o de plantas medicinales. Los antioxidantes exógenos están conformados por vitaminas, oligoelementos, carotenoides y polifenoles (Figura 15). [48]

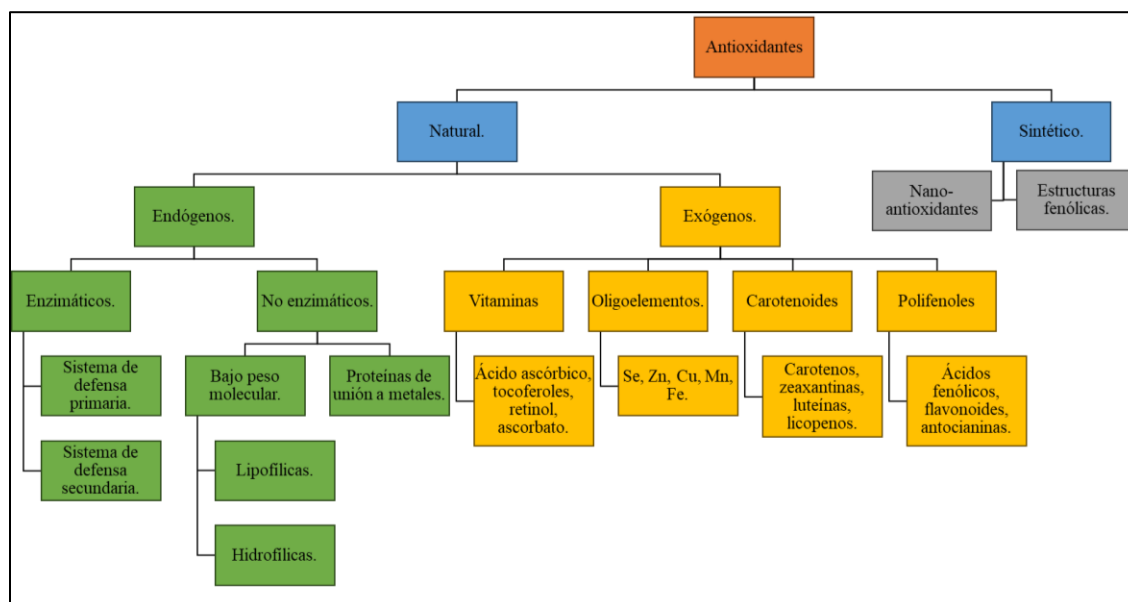


Figura 15. Clasificación de los antioxidantes.

Dentro de los antioxidantes más estudiados se encuentran los polifenoles, está conformado en su mayoría por flavonoides, taninos, lignanos, terpenos y ácidos fenólicos. [50] Proviene del metabolismo secundario de las plantas, principalmente a través de la ruta del ácido shikímico (se sintetizan aminoácidos aromáticos, ácidos cinámicos y derivados del fenilpropano) y la ruta de los poliacetatos (se sintetizan las xantonas y quinonas). [51–56] Los ácidos fenólicos se encuentran de forma libre o ligada (complejos unidos insolubles, ésteres y glucósidos) y son hidroxiderivados de ácidos carboxílicos aromáticos. Se dividen en ácidos hidroxibenzoicos y en ácidos hidroxicinámicos (Figura 16), cuya actividad antioxidante se atribuye a la posición y número de grupos hidroxilo unidos al anillo aromático, además del tipo de sustituyente o del impedimento estérico. Los ácidos cinámicos presentan la estructura básica $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{COOH}$ que confiere mayor actividad antioxidante comparado al grupo $-\text{COOH}$ del ácido benzoico, debido a la conjugación del sistema resonante, y por lo tanto, a una mejor inactivación del radical libre, ROS o RNS. [57]

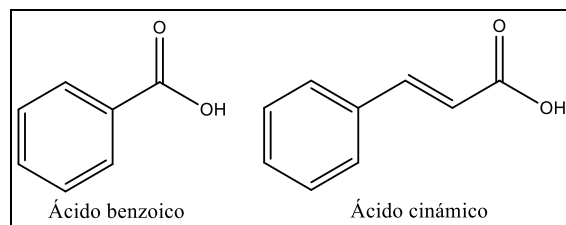


Figura 16. Estructura del ácido benzoico y del ácido cinámico.

Dentro de los compuestos fenólicos también encontramos a los flavonoides, que son un amplio grupo conformado por flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonoides y antocianinas. Su formación deriva de los aminoácidos aromáticos fenilalanina, malonato y tirosina. Su estructura se basa en el núcleo flavona que posee 15 átomos de carbono dispuestos en 3 anillos (dos anillos fenílicos y un anillo piránico), la sustitución de los anillos A y B por grupos hidroxilo da origen a los diversos compuestos (Figura 17). Las antocianinas y catequinas se forman al verse afectado el anillo de carbono heterocíclico de las flavanonas. Estos compuestos tienen la capacidad de capturar y deslocalizar un radical libre dentro del sistema aromático. [57–60]

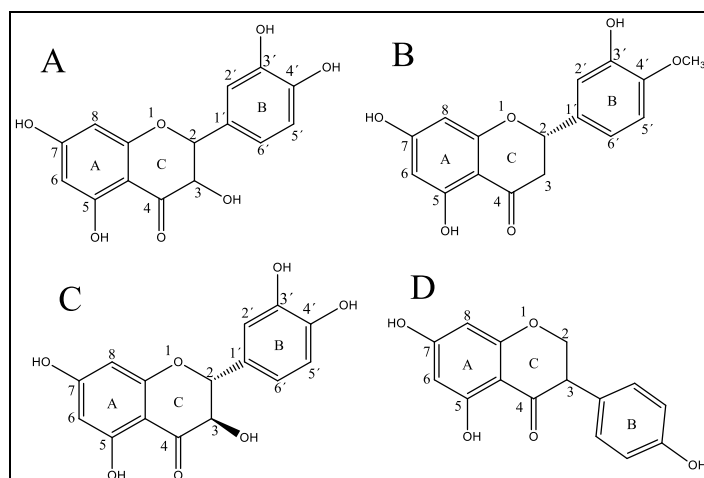


Figura 17. Estructura del flavonol quercetina (A), de la flavanona hesperetina (B), del flavanone taxifolina (C) y de la isoflavonoide genisteína (D).

Por otro lado, las antocianinas son pigmentos hidrosolubles pertenecientes a los flavonoides, cuya coloración va desde el amarillo hasta el azul y sus variaciones se relacionan con la estructura y el número de grupos hidroxilos en el anillo B; así como el pH del medio donde se encuentren. La coloración rojiza está directamente proporcional al número de metilos, en cambio la coloración azul es directamente proporcional al número de hidroxilos. Las seis antocianinas más comunes en las plantas son la malvidina, peonidina, petunidina, delphinidina, pelargonidina y cianidina (Figura 18). Se pueden encontrar en las vacuolas celulares o en el citoplasma. [61–63]

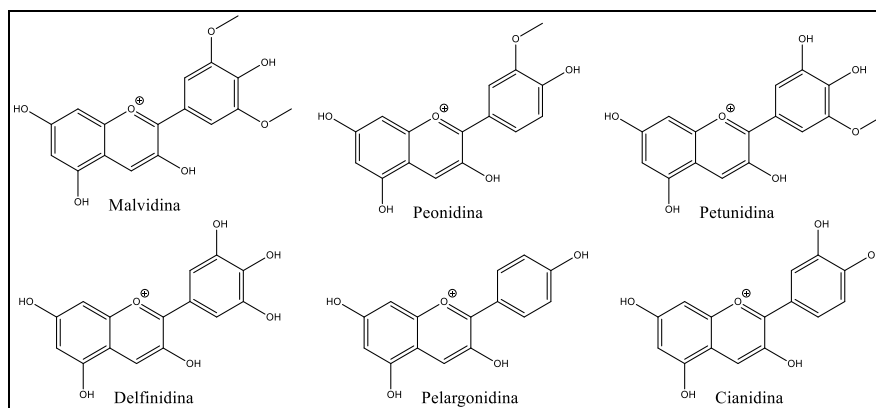


Figura 18. Estructura de las 6 antocianinas más comunes.

En contraste, los carotenoides son compuestos liposolubles, se pueden dividir en dos grupos de acuerdo con su estructura química, obteniendo a los hidrocarburos carotenoides o carotenos y a los carotenoides oxigenados o xantofilas. Los carotenoides son los responsables de la pigmentación amarilla, naranja, roja o incolora, originada por los dobles enlaces de carbono conjugados que permite la absorción de longitudes visibles de onda. Por ejemplo, el β -caroteno proporciona un color rojo-anaranjado y es biosintetizado a partir del pirofosfato de geranylgeranilo (Figura 19). [57] Se encuentran en las membranas celulares,

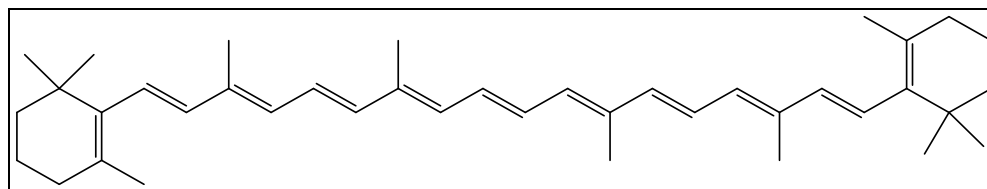


Figura 19. Estructura del β -caroteno.

1.5 Determinación del potencial antioxidante

Los métodos para medir la actividad antioxidante son diversos y cada uno nos puede dar diversas determinaciones. Se tiene la determinación de contenido fenólico total, el cual se puede expresar en términos de ácido gálico, el método más común es el ensayo de Folin-Ciocalteu, cuyo principio básico es la reducción del reactivo Folin-Ciocalteu en condiciones alcalinas produciendo un cromóforo de color azul (Figura 20). Esta reacción se debe a que los compuestos fenólicos transfieren electrones al complejo de ácido fosfomolibdico-fosfotungstico (reactivo de Folin-Ciocalteu) en medio básico, evaluando el poder reductor de los antioxidantes. [57,64,65]

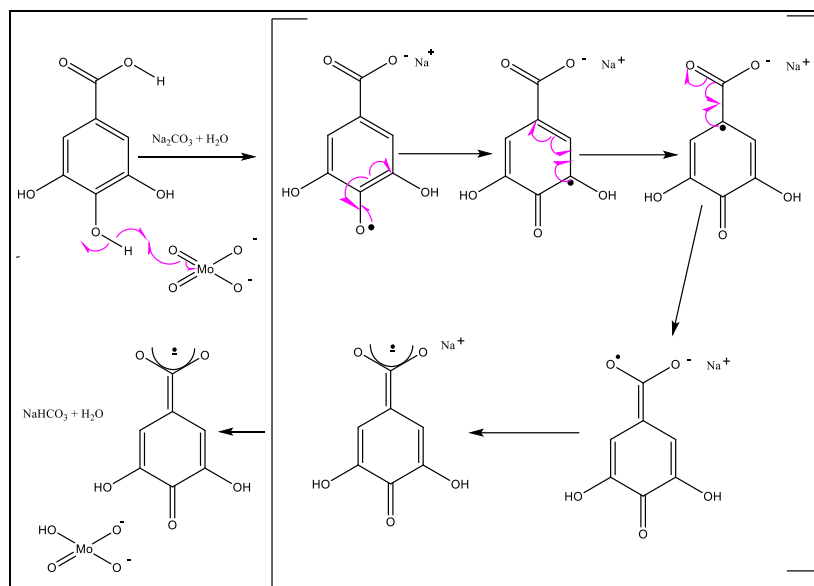


Figura 20. Reacción entre el ácido gálico y el reactivo de Folin-Ciocalteu.

Se tienen ensayos de captación de radicales libres, en los que se evalúa cómo los eliminadores de radicales eliminan los radicales peróxidos, mecanismo en el que los antioxidantes inhiben la oxidación de lípidos. Existe el ensayo de captación del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), el cual es una especie de radical de nitrógeno de color azul (posee su banda de absorción aproximadamente a 517nm), conferido por la deslocalización del electrón que también le confiere estabilidad y no le permite la dimerización. El radical DPPH al entrar en contacto con un antioxidante capaz de donar un átomo de hidrógeno o electrones toma su forma reducida, eliminando los radicales, perdiendo la coloración azul y reduciendo la absorbancia, se mide la capacidad reductora de los antioxidantes (Figura 21). La sensibilidad del ensayo puede ser afectada por la cantidad de iones hidrógeno o iones metálicos y la frescura del reactivo DPPH; al determinarse por métodos espectrofotométricos puede verse afectado por la turbidez o por los carotenoides que se absorben en la misma longitud de onda. Los resultados se expresan en porcentaje de inhibición del radical DPPH. [48,57,64–67]

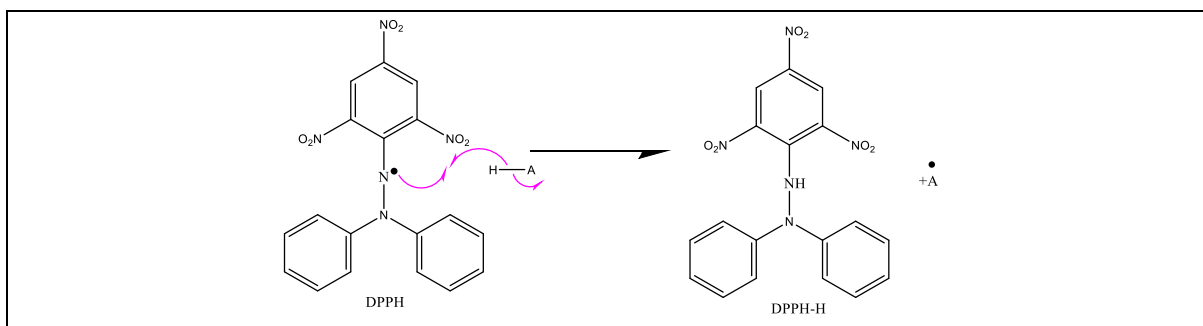


Figura 21. Reacción del radical DPPH con una molécula donadora de radical hidrógeno.

Las antocianinas se pueden determinar mediante el método de pH diferencial, en el que se utiliza un buffer de pH 1 y otro de pH 4.5. Las antocianinas a pH 1 se presentan en forma de oxonio produciendo una intensidad de color máxima, mientras que a pH 4.5 se presenta en forma de hemiacetal que es incoloro, la diferencia de ambas mediciones a una absorbancia máxima de 520 nm es directamente proporcional a la cantidad de pigmento, mientras que a 700 nm ya no son detectadas las antocianinas, por lo que esa longitud de onda es útil para eliminar interferencias y corregir la dispersión de luz que pueda ser provocada por compuestos coloidales (Figura 22). [68,69]

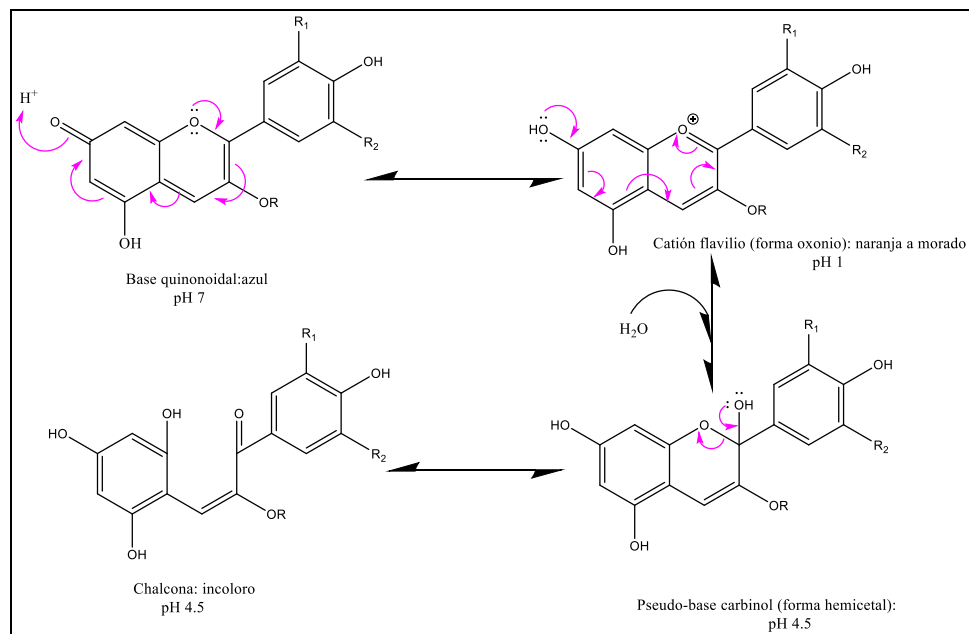


Figura 22. Variación de las formas estructurales de las antocianinas con respecto al pH.

1.6 Mecanismos antioxidantes en la cicatrización

Los antioxidantes actúan combatiendo a los radicales libres, los radicales libres son átomos o moléculas que poseen en la capa de valencia uno o más electrones desapareados, lo que le confiere actividad oxidante (acepta electrones) o reductora (dona electrones). En el cuerpo humano se obtienen de diversos procesos metabólicos o por medio de la exposición a diversos factores como lo son los rayos X, tabaquismos, contaminación ambiental, productos químicos, entre otros y son los causantes del estrés oxidativo. [48,70,71] Son especies reactivas que causan daño celular al atacar a moléculas que contienen hidroxilos fenólicos, dobles enlaces carbono-carbono o anillos aromáticos como lo son los ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos y lípidos, debido a su gran inestabilidad. Los radicales libres se agrupan de acuerdo con su componente principal, en los que también se incluyen moléculas no radicales que tienen que son potentes agentes oxidantes (Tabla 3). [57,72–74]

Tabla 3. Moléculas pertenecientes a especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno. [75]

	Especies reactivas de oxígeno	Especies reactivas de nitrógeno
Radicales	Superóxido: $O_2^{\bullet -}$ Hidroxiilo: $\bullet OH$ Radical alcoxiilo: RO^{\bullet} Radical peroxiilo: ROO^{\bullet}	Óxido nítrico: NO^{\bullet} Dióxido de nitrógeno: NO_2^{\bullet}
No radicales	Peróxido de hidrógeno: H_2O_2 Oxígeno singlete: 1O_2 Ácido hipocloroso: $HOCl$ Ozono: O_3 Peróxido orgánico $ROOH$ Ácido hipobromoso: $HOBr$	Peroxinitrito $ONOO^-$ Trióxido de dinitrógeno: N_2O_3 Tetraóxido de dinitrógeno: N_2O_4 Ácido nitroso HNO_2 Cation nitrosilo: NO^+ Anión nitroxilo: NO^- Ácido peroxinitroso: $ONOOH$ Peroxinitritos alquílicos $ROONO$

Los antioxidantes combaten a los radicales libres mediante la transferencia de electrones o átomos de hidrógeno, quelación de iones metálicos (mediante la formación de ligandos), entre otras. [48,65] Los carotenoides poseen un sistema extendido de electrones π conjugados que estabilizan a los electrones desapareados por medio de resonancia al captar radicales libres.[49] Los flavonoides tienen la capacidad de donar un átomo de hidrógeno o un electrón del grupo hidroxilo en presencia de altos niveles de iones metálicos transitorios, originando un radical flavonoide estable que puede reducir otro radical libre convirtiéndose en una quinona o formar un dímero con otro radical flavonoide (Figura 23). Poseen la capacidad de quelatar metales traza evitando que participen en la reacción de Fenton con H_2O_2 , inhiben la unión del factor nuclear kappa B (NF-kB) al elemento de respuesta nuclear de NF-kB, pueden actuar como ligandos activadores del receptor de peroxisoma proliferador activado gamma ($PPAR\gamma$) e impiden la unión de Keap1 al factor nuclear eritroide 2 (NRF2) favoreciendo a la disminución del estrés oxidativo.[59]

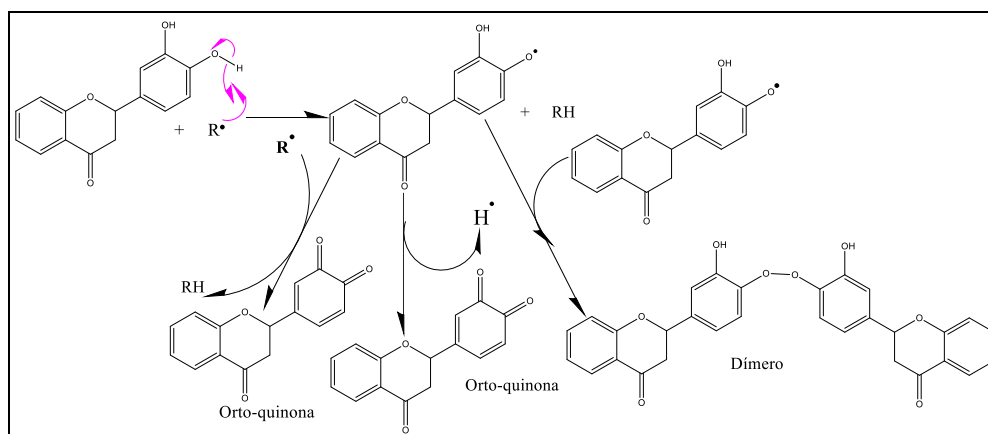


Figura 23. Interacción de un flavonoide con un radical libre.

Entre los antioxidantes exógenos que pueden contribuir a la cicatrización tenemos a los carotenoides y polifenoles. Los carotenoides controlan el estrés oxidativo mediante la eliminación de ROS. Por ejemplo, la astaxantina promueve la angiogénesis, la migración de queratinocitos, la producción de colágeno e inhibe la señalización inflamatoria y de MMP-1 (metaloproteasa de matriz 1). Dentro de los polifenoles encontramos a los flavonoides que ejercen actividad antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana, contribuyendo a la cicatrización de la herida.[76] poseen actividad antiinflamatoria al inhibir la infiltración de células inflamatoria, al reducir la biosíntesis de TNF, IL-1, IL-6 y al retrasar la expresión de genes proinflamatorios. [40] la delfidina es un flavonoide antiproliferativo que actúa como efector antiangiogénesis e inhibe la respuesta inflamatoria y la producción de ROS. La curcumina un polifenol no flavonoide inhibe la síntesis de colágeno en cicatrices hipertróficas, inhibe la angiogénesis, la formación de tejido de granulación de fibroblastos, la proliferación y diferenciación de fibroblastos, ejerciendo acciones antioxidantes, antiinflamatorias, antiinfecciosas y antiangiogénicas (Figura 24). [46]

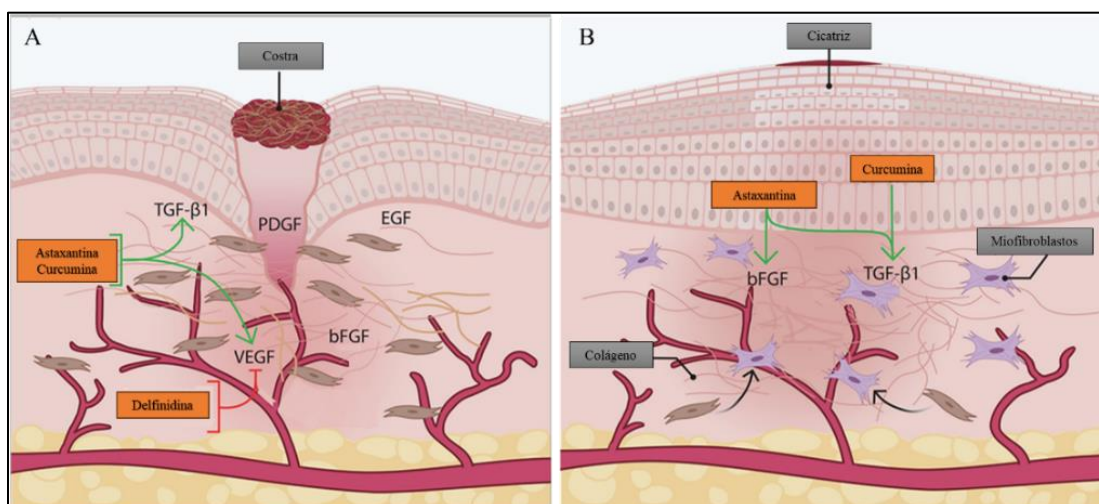


Figura 24. Durante la cicatrización la astaxantina y la curcumina estimulan las vías de VEGF y del factor de crecimiento transformante $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) mejorando la diferenciación de fibroblastos, la migración de queratinocitos, la formación de tejido de granulación y la angiogénesis; por el contrario, la delfidina inhibe a VEGF, siendo ideal su utilización en cicatrices hipertróficas (A). Durante la remodelación la astaxantina y curcumina estimulan la expresión de bFGF y TGF- $\beta 1$ modulando la producción de colágeno y maduración de cicatrices (B). Modificado de la referencia [46].

En la actualidad existen numerosos productos de plantas medicinales con diversos fines. Enfocándonos en el proceso de cicatrización encontramos al apósito antioxidante (Reoxcare®), compuesto de una matriz liofilizada vegetal proveniente de la goma de algarrobo galactomanano originando una gran capacidad absorbente, también contiene una solución de curcumina con *N*-acetilcisteína que confiere hidratación para reactivar la herida y propiedades antioxidantes, al igual que vasodilatadoras (Figura 25). [36]



Figura 25. Apósito antioxidante Reoxcare®.[77]

1.7 El clavel como objeto de estudio

El clavel es una planta con gran capacidad antioxidante atribuida a sus metabolitos secundarios como lo son los ácidos fenólicos, flavonoides, ácidos orgánicos, alcoholes, nucleótidos, entre otros.[11] Además de contener entre sus pigmentos a las antocianinas, las cuales poseen gran actividad antioxidante atribuida a la eliminación de radicales libres y contribuyendo a la disminución del estrés oxidativo. [78]

La flor del clavel es producida en México a gran escala; por ejemplo en el año 2020 hubo una producción de 4,462,807.00 gruesas de clavel tan solo en la Ciudad de México, [79] en consecuencia su producción le otorga la capacidad de exportar a Canadá y Estados Unidos. [80] El estado de Puebla posee 4700 hectáreas para la producción de plantas y flores de ornato, [81] el clavel es producido en todas las estaciones del año y está presente en las festividades mexicanas como lo es el día del amor y la amistad, Semana Santa, día de las madres, día de muertos, día de la virgen de Guadalupe, entre otras. Su gran comercialización origina una alta cantidad de desechos de tallos y flores de clavel a los que se les puede brindar un segundo uso.

Posicionando al clavel como objeto de estudio en la investigación de actividad antioxidante (Figura 26), anticancerígena y antimicrobiana e identificando los principales metabolitos activos de dichas actividades y elaborando posibles formas farmacéuticas, en esta tesis se analizó la actividad antioxidante de los extractos de clavel blanco, rojo y morado, mediante la determinación del contenido fenólico total, ensayo de captación de radicales libres DPPH y método de pH diferencial.

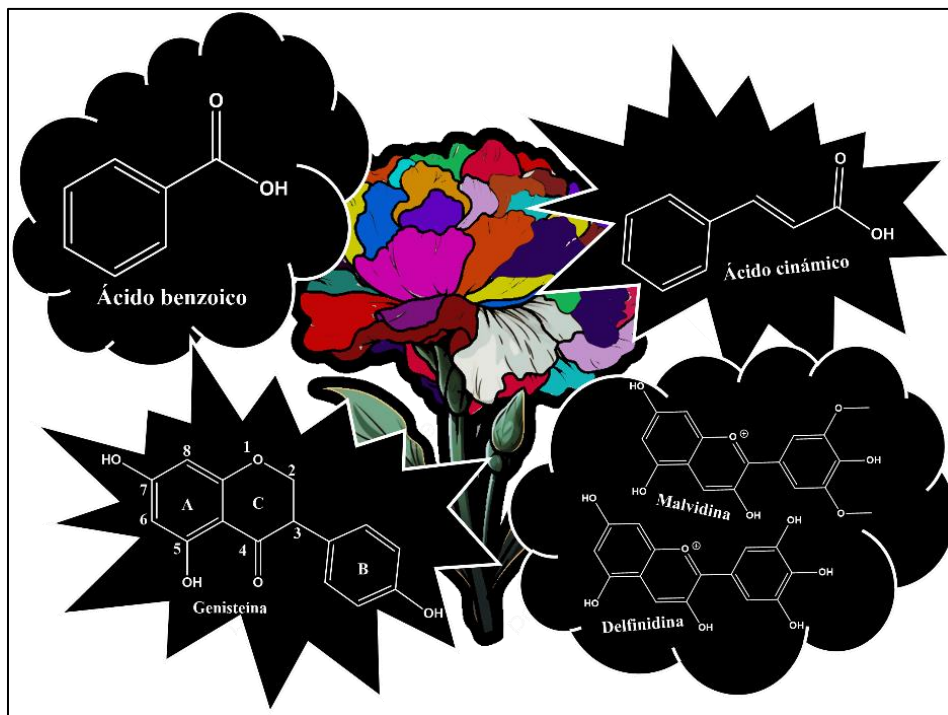


Figura 26. Compuestos antioxidantes presentes en el clavel. [82]

Objetivos

Objetivo general

Analizar el perfil antioxidante de tres variedades del clavel mexicano (*Dianthus caryophyllus* L.).

Objetivos particulares

- Extraer diferencialmente los metabolitos secundarios de tallo y flor de clavel blanco, rojo y morado mediante equipo Soxhlet.
- Determinar el ensayo de captación de radical libre DPPH de cada extracto.
- Determinar el contenido fenólico total de cada extracto.
- Determinar el método de pH diferencial.

Metodología

El clavel blanco, rojo y morado fueron adquiridos en un puesto fuera del panteón municipal de Puebla, se separó el tallo del epicáliz, se realizó extracción diferencial por Soxhlet comenzando con un disolvente no polar y culminando con un disolvente polar. El tallo se extrajo fresco y la flor se secó para disminuir su cantidad de agua y de igual forma simular las condiciones cuando se vuelve desecho. A cada extracto se le determinó la actividad antioxidante por triplicado mediante el método de pH diferencial, contenido fenólico total y ensayo de captación del radical libre DPPH. Los datos se analizaron estadísticamente mediante el programa Minitab.

Extracción diferencial mediante equipo Soxhlet.

Se seleccionaron tres variedades de clavel adquiridas en los puestos fuera del mercado municipal de Puebla, los colores a utilizar fueron blanco, rojo y morado. Se separó la flor del tallo y se colocó en la estufa para su secado a 40°C, 0% de humedad por aproximadamente 3 días, el tallo se utilizó fresco. Se realizaron 7 extracciones diferenciales por Soxhlet con disolventes de grado Q.P., iniciando con hexano, acetato de etilo, DCM, acetona, etanol y metanol; cada una con una duración de 3 horas. El disolvente se recuperó mediante destilación a presión reducida en el rotavapor a excepción de los extractos acuosos y los compuestos extraídos se disolvieron en metanol al 80%.

Construcción de curva de calibración.

Las determinaciones que se realizaron son análisis espectrofotométricos, para su cuantificación se necesitan los datos de la ecuación de la recta, para lo que se realizó una curva de calibración con los diferentes compuestos:

- Contenido fenólico total: ácido gálico 0.30-0.02 mg/ml.
- Prueba de captación de radicales libres: ácido gálico 0.10-0.02 mg/ml.

Prueba de captación del radical libre DPPH.

Se realizó mediante la modificación de la metodología descrita por Jonathan Carrasco-Sandoval et al. [98] para la adaptación a microplaca de 96 pocillos. En cada pozo de la placa ELISA se colocó 25µl de la muestra y 200µl de una solución de DPPH (con absorbancia inicial 0.750), las muestras se colocaron por triplicado y se realizaron tres mediciones diferentes. Se colocó un control positivo correspondiente 25µl de ácido gálico 0.04 mg/mL y un blanco que corresponde a 25µl de metanol al 80% o a agua con 200µl de una solución de DPPH. Se incubó durante 40 minutos en oscuridad y se midió la absorbancia con el lector de microplacas Accuris MR-9600 con un filtro de 492nm.

El porcentaje de inhibición se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \frac{\text{Abs blanco} - \text{Abs extracto}}{\text{Abs blanco}} \times 100$$

Contenido fenólico total

La determinación se realizó mediante la metodología propuesta con el reactivo de Folin Ciocalteu [99,100]. En cada celda se agregaron 150 µl de muestra, 2.25 mL de agua destilada, 150 µl del reactivo de FC, y 450µl de Na₂CO₃ al 20%. Para esta parte se trabajó con un control positivo de ácido gálico y un blanco correspondiente al disolvente de la muestra. Se incubó durante 2 horas en oscuridad y posteriormente se utilizó el espectrofotómetro de UV-VIS VE-5600uv para medir la absorbancia a 760nm. El contenido fenólico se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{mg\ EGA}{Kg\ Planta} = \left(\frac{A + b}{m}\right) * \left(\frac{1}{Concentración\ del\ extracto}\right) * \left(\frac{g\ extracto}{g\ planta}\right) * 1000$$

Método de pH diferencial.

La determinación de las antocianinas monoméricas se realizó mediante una prueba de pH diferencial [69,101], colocando 0.300 µl de cada muestra en celdas divididas en dos grupos, posteriormente se adicione a uno de los grupos 2.7 mL de buffer de acetato de sodio (pH 4.5) y al otro grupo 2.7 mL de buffer de cloruro potásico (pH 1.0), el blanco a utilizar fueron 3 mL de agua destilada. Se esperaron 15 minutos y se realizaron las lecturas a 515 nm y 700 nm, con ayuda del espectro UV-VIS VE-5600uv. Posteriormente se calculó la absorbancia siguiendo la ecuación:

$$A = (A_{515\ nm} - A_{700\ nm})_{pH:1.0} - (A_{515\ nm} - A_{700\ nm})_{pH:4.5}$$

Finalmente se calculó la concentración de antocianinas monomérico en la muestra original mediante la siguiente fórmula:

$$Antocianina\ monomérica\ \left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{(A * MW * DF * 1000)}{\epsilon * l}$$

Donde:

MW: peso molecular.

DF: factor de dilución.

ε: absortividad molar derivada de un escaneo de longitud de onda completa.

Discusión de resultados

La Figura 27 resume la metodología realizada, los resultados se muestran a continuación.

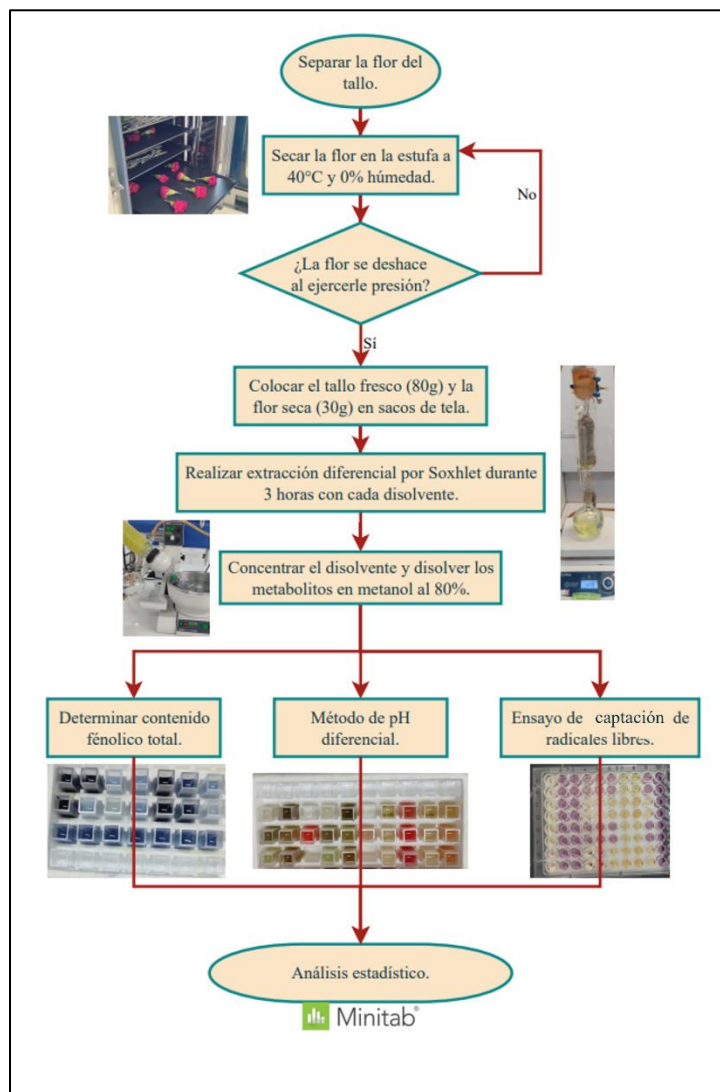


Figura 27. Metodología realizada.

Extracción diferencial por Soxhlet.

Los metabolitos del clavel fueron extraídos de tallo y flor por separado, mediante extracciones diferenciales consecutivas, se comenzó con disolventes de baja a alta polaridad en orden de hexano ($\mu=1.08$, $\epsilon=2$), acetato de etilo ($\mu=1.78D$, $\epsilon=6.02$), DCM ($\mu=1.6 D$, $\epsilon=8.93$), acetona ($\mu= 2.9D$, $\epsilon=21$), etanol ($\mu= 1.7 D$, $\epsilon=24$), metanol ($\mu= 1.7D$, $\epsilon=33$) y agua ($\mu= 1.9 D$, $\epsilon=78$); [83,84] al analizar los datos de la cantidad de extracto de flor y tallo, se observa pertenecen a una distribución no normal (Figura 28) por lo que, éstos se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis a fin de determinar si las muestras

pertencen a la misma población y posteriormente se aplicó en cada población la prueba U de Mann-Whitney para comprobar que todas las muestras dentro de esa población son estadísticamente iguales entre sí ($p=0.05$). [85]

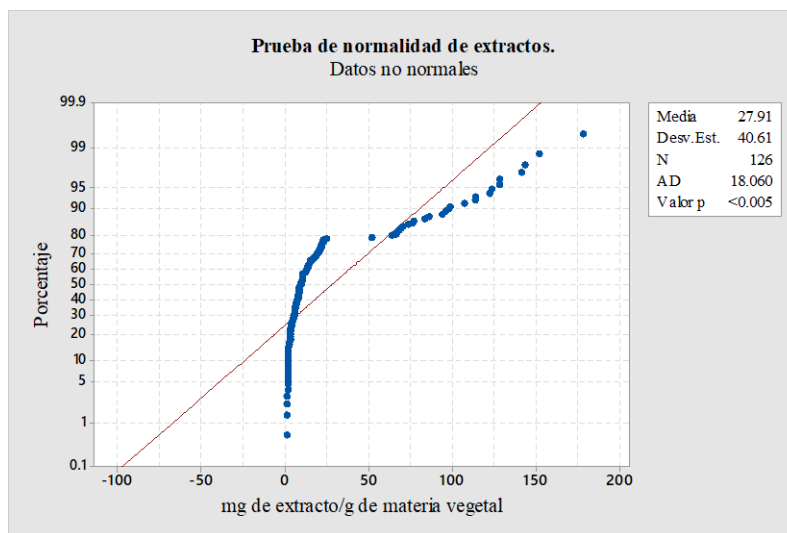


Figura 28. Gráfica de la prueba de normalidad de Anderson Darling para la cantidad de extracto por material vegetal seco.

La parte de la planta que contiene mayor cantidad de metabolitos secundarios de acuerdo con la cantidad de extracto obtenido es la flor (Tabla 4). Éstos son dependientes de factores como la cantidad de luz que influye en la producción de metabolitos secundarios (ácido hexadecanoico, ácidos fenólicos, flavonoides y alcaloides totales), además de la maduración de la planta. En cuanto a las estructuras, en los tallos se acumulan mayor cantidad de metabolitos secundarios durante su período reproductivo (fructificación), al tratarse de una planta perenne su crecimiento es proporcional al contenido de metabolitos secundarios. Las hojas acumulan y sintetizan metabolitos gracias a sus estructuras secretoras (glándulas salinas, tricomas secretores, células oleosas, nectarios, vesículas secretoras y conductos resiníferos), mientras la síntesis de los metabolitos secundarios en las flores son dependientes del nivel de transcripción y de mecanismos postraduccionales (antocianinas) y postranscripcionales, su almacenamiento se lleva generalmente en los órganos florales (estambres, cáliz, corola y pistilo) que ejercen funciones de protección, polinización, reproducción, entre otros, conteniendo gran cantidad de compuestos aromáticos volátiles. [86,87] Durante la floración el almacenamiento y síntesis de metabolitos secundarios se centran en las flores con fines reproductivos y de defensa.[88].

Tabla 4. Prueba de Kruskal Wallis en la determinación de la cantidad de extracto con respecto a la parte de la planta.

Parte de la planta	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z
Flor	63	49.2376 \pm 48.67	21.0553	85.8	6.85
Tallo	63	6.5871 \pm 5.60	5.4417	41.2	-6.85

La segunda variable de interés, tanto en tallo como en flor, son las coloraciones del clavel, mismas que son proporcionadas por diversos pigmentos, proporcionando diferentes cantidades de metabolitos secundarios. Generalmente se trata de antocianinas auto asociadas o interaccionando con copigmentos (metales, flavonas, flavonoles, ácidos fenólicos) adquiriendo diversas tonalidades gracias a la estabilización de estructuras coloreadas. [89] Esto origina que del clavel blanco se extraiga menor cantidad de metabolitos secundarios, mientras que el clavel morado es del que se extrajo mayor cantidad, seguido del clavel rojo con el que no muestra diferencia estadísticamente significativa, pero ambas poblaciones son diferentes estadísticamente con la cantidad de extracto obtenido del clavel blanco (Tabla 5, Figura 29).

Tabla 5. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al color del clavel.

Color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Blanco	42	32.9878 \pm 48.63	11.9205	68.1	0.99	A
Morado	42	26.5646 \pm 36.94	9.2107	62.9	-0.13	B
Rojo	42	24.1848 \pm 35.44	8.1378	59.5	-0.86	B

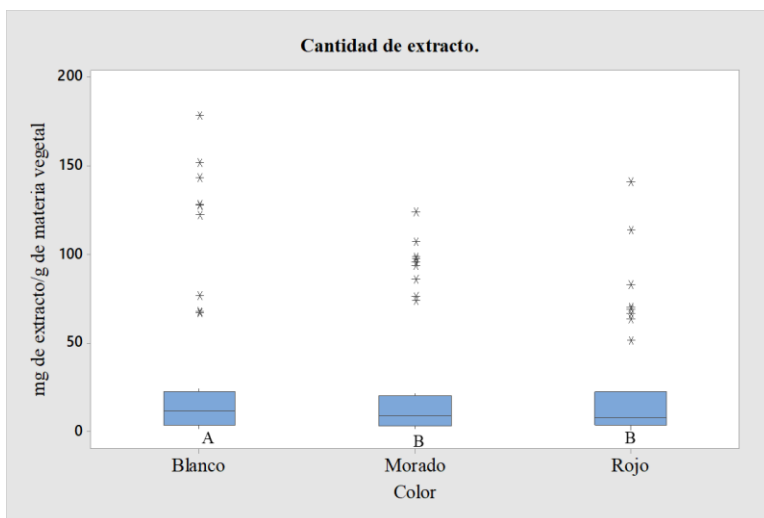


Figura 29. Gráfica del contenido de extracto con respecto al color del clavel.

La extracción de metabolitos secundarios se realizó de acuerdo con la parte de la planta y al color del clavel. Las muestras se diferencian estadísticamente en dos grupos que está conformado por flor y tallo, en las que de acuerdo con la prueba U de Mann-Whitney no existe diferencia estadísticamente significativa entre las variedades de color de clavel (Tabla 6, Figura 30).

Tabla 6. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto a la parte de la planta y color del clavel.

Parte de la planta-Color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Flor blanca	21	57.5245 \pm 59.36	21.0553	89.1	3.53	A
Flor morada	21	46.8690 \pm 4373	19.8785	84.0	2.82	A
Flor roja	21	43.3195 \pm 42.36	22.3965	84.2	2.85	A
Tallo blanco	21	8.4510 \pm 7.80	4.6084	47.0	-2.27	B
Tallo morado	21	6.2602 \pm 4.35	6.7566	41.8	-2.99	B
Tallo rojo	21	5.0502 \pm 3.33	5.4417	34.9	-3.94	B

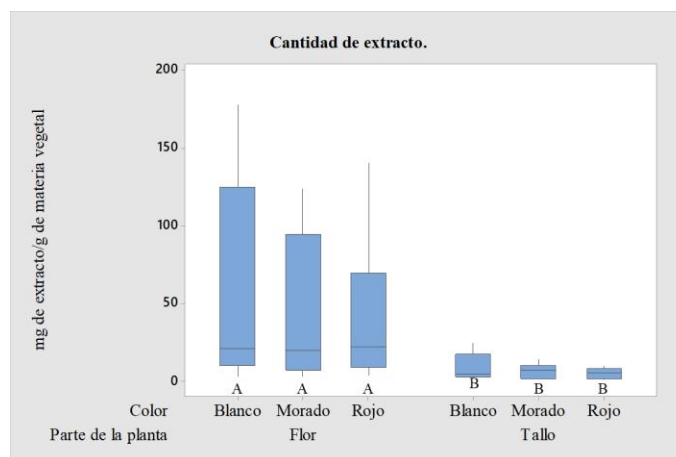


Figura 30. Gráfica del contenido de extracto con respecto a la parte de la planta y al color del clavel.

En la extracción por Soxhlet los metabolitos son arrastrados por el disolvente de acuerdo con su afinidad, por lo que es necesario emplear más de un disolvente con características diferentes para extraer la mayor cantidad de compuestos. [90] La polaridad del disolvente está relacionada con la naturaleza química de los metabolitos que extrae. Los disolventes no polares como el hexano son utilizados para extraer ceras, resinas y grasas. [91] En cambio, los compuestos antioxidantes tienen alta afinidad a los disolventes polares comparada con los disolventes no polares. [90] Con respecto a la media el agua es el disolvente que extrajo la mayor cantidad de compuestos, seguida del etanol y el metanol;

esos tres disolventes son polares y son estadísticamente iguales. Los disolventes poco polares como el hexano, acetato de etilo y DCM fueron los que extrajeron menor cantidad de compuestos con respecto a la mediana; conforman un solo grupo sin diferencias estadísticamente significativas. La acetona de acuerdo con su mediana es un grupo intermedio conformado por un disolvente polar que posee diferencia estadísticamente significativa con el etanol (Tabla 7, Figura 31).

Tabla 7. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al disolvente.

Disolvente	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Hexano	18	8.3730 \pm 7.16	6.6145	46.3	-2.15	A
Acetato de etilo	18	5.2027 \pm 3.55	4.6035	36.4	-3.40	A
DCM	18	3.0484 \pm 1.13	3.0888	24.7	-4.87	A
Acetona	18	15.2769 \pm 6.18	16.9605	77.8	1.80	B
Etanol	18	52.1319 \pm 44.66	38.0420	92.7	3.66	C
Metanol	18	45.4592 \pm 42.61	38.3246	78.3	1.86	BC
Agua	18	65.8947 \pm 62.96	43.8694	88.2	3.10	BC

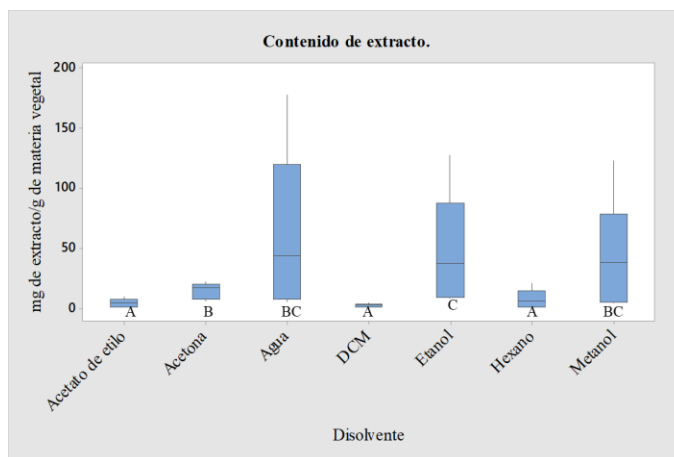


Figura 31. Gráfica del contenido de extractos con respecto al disolvente utilizado.

Los extractos se obtuvieron por parte de la planta, color del clavel y disolvente utilizado (Figura 32 a 38).

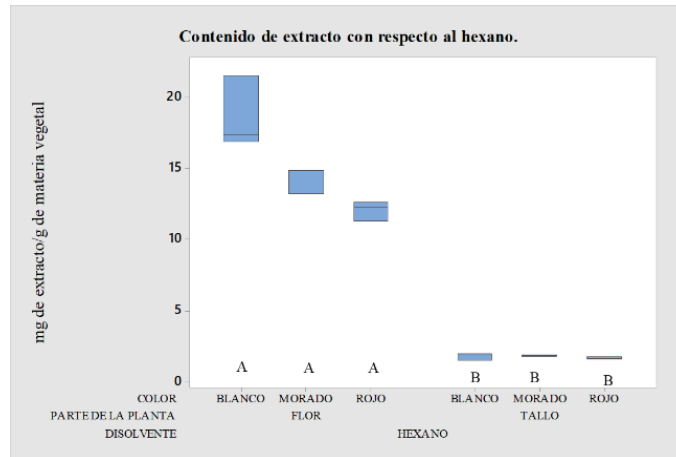


Figura 32. Gráfica del contenido de extracto con respecto al hexano.

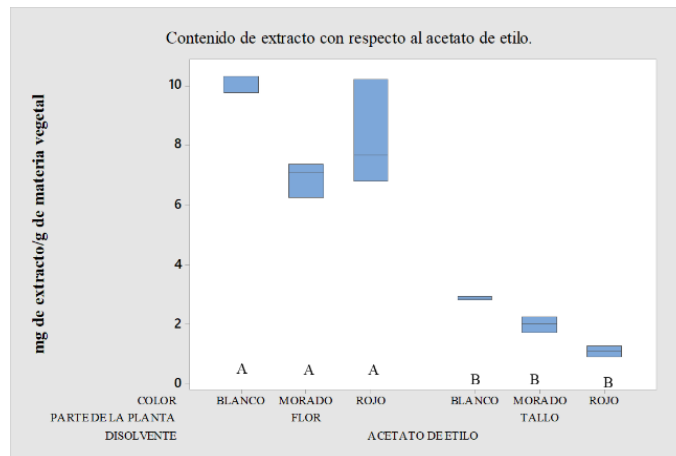


Figura 33. Gráfica del contenido de extracto con respecto al acetato de etilo.

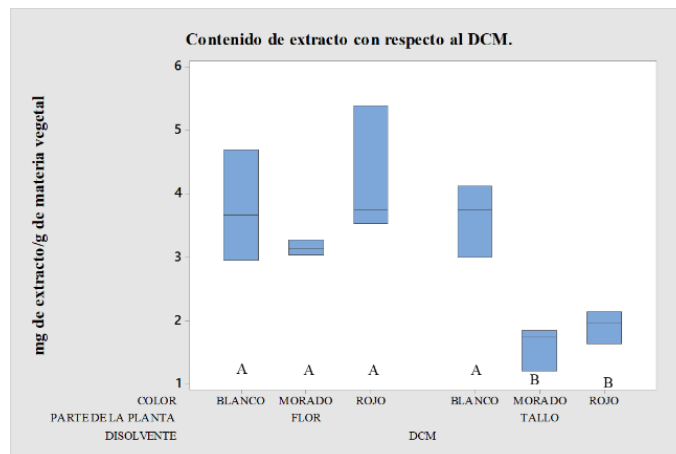


Figura 34. Gráfica del contenido de extracto con respecto al DCM.

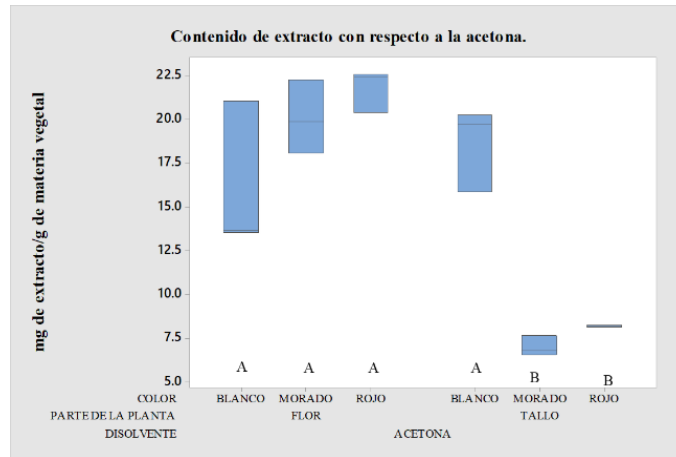


Figura 35. Gráfica del contenido de extracto con respecto a la acetona.

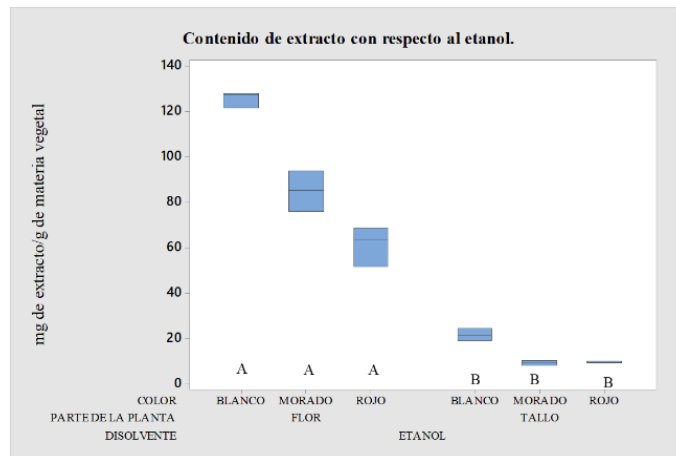


Figura 36. Gráfica del contenido de extracto con respecto al etanol.

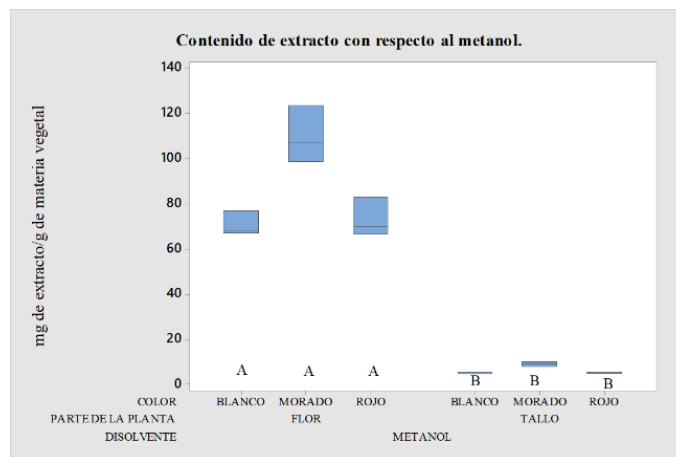


Figura 37. Gráfica del contenido de extracto con respecto al metanol.

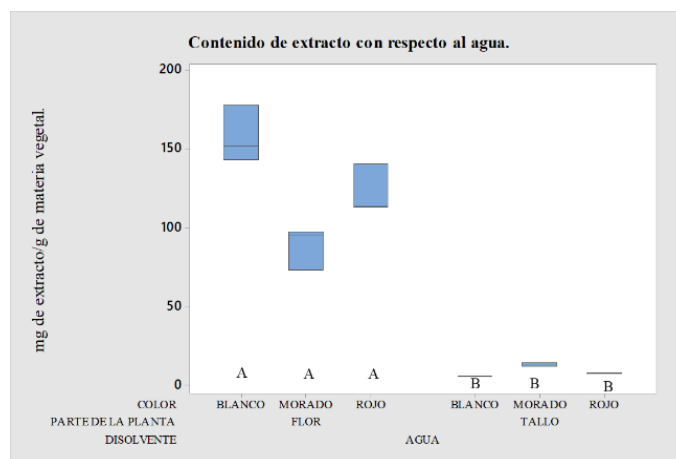


Figura 38. Gráfica del contenido de extracto con respecto al agua.

Los extractos con menor cantidad de compuestos extraídos con respecto a la media son el extracto de acetato de etilo perteneciente al tallo rojo (Tabla 9), seguido del extracto de DCM de tallo morado y el extracto de hexano de tallo rojo (Tabla 8).

Tabla 8. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al hexano, parte de la planta y color del clavel.

Disolvente- Parte de la planta y color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Hexano-FB	3	18.6111 \pm 2.58	17.3457	17.0	2.67	A
Hexano-FM	3	14.3134 \pm 0.95	14.8371	14.0	1.60	A
Hexano-FR	3	12.0584 \pm 0.71	12.2828	11.0	0.53	A
Hexano-TB	3	1.7964 \pm 0.23	1.8938	6.0	-1.24	B
Hexano-TM	3	1.8141 \pm 0.07	1.8201	5.7	-1.36	B
Hexano-TR	3	1.6449 \pm 0.12	1.6235	3.3	-2.19	B

Tabla 9. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al acetato de etilo, parte de la planta y color del clavel.

Disolvente- Parte de la planta y color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Acetato de etilo-FB	3	10.1235 \pm 0.31	10.2986	16.7	2.55	A
Acetato de etilo-FM	3	6.9035 \pm 0.57	7.0880	11.7	0.77	A
Acetato de etilo-FR	3	8.2293 \pm 1.78	7.6795	13.7	1.48	A
Acetato de etilo-TB	3	2.8794 \pm 0.07	2.8828	8.0	-0.53	B
Acetato de etilo-TM	3	1.9913 \pm 0.28	2.0270	5.0	-1.60	B
Acetato de etilo-TR	3	1.0892 \pm 0.17	1.0910	2.0	-2.67	B

El análisis estadístico en cada uno de los disolventes arroja dos grupos con diferencias estadísticamente significativas. El grupo A conformado por los extractos pertenecientes a flor y los extractos pertenecientes a tallo blanco en DCM (Tabla 10) y acetona (Tabla 11). El grupo B conformado por los extractos pertenecientes a tallo.

Tabla 10. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al DCM, parte de la planta y color del clavel.

Disolvente- Parte de la planta y color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
DCM-FB	3	3.7701 \pm 0.88	3.66622	12.3	1.01	A
DCM-FM	3	3.1529 \pm 0.12	3.13427	10.0	0.18	A
DCM-FR	3	4.2278 \pm 1.01	3.75966	15.0	1.95	A
DCM-TB	3	3.6242 \pm 0.58	3.74861	12.7	1.13	A
DCM-TM	3	1.6013 \pm 0.34	1.74868	2.7	-2.43	B
DCM-TR	3	1.9139 \pm 0.26	1.96765	4.3	-1.84	B

Tabla 11. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto a la acetona, parte de la planta y color del clavel.

Disolvente- Parte de la planta y color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Acetona-FB	3	16.0795 \pm 4.31	13.6463	10.0	0.18	A
Acetona-FM	3	20.0543 \pm 2.09	19.8785	12.7	1.13	A
Acetona-FR	3	21.7874 \pm 1.2	22.3965	16.3	2.43	A
Acetona-TB	3	18.5992 \pm 2.39	19.7027	11.0	0.53	A
Acetona-TM	3	6.9716 \pm 0.59	6.7566	2.0	-2.67	B
Acetona-TR	3	8.1692 \pm 0.06	8.1609	5.0	-1.60	B

De acuerdo con la media el agua de flor blanca es el que contiene mayor cantidad de compuestos extraídos (Tabla 14), seguido del extracto de etanol de flor blanca (Tabla 12), el extracto acuoso de flor roja y el extracto de metanol de flor morada (Tabla 13).

Tabla 12. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al etanol, parte de la planta y color del clavel.

Disolvente- Parte de la planta y color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Etanol-FB	3	125.8957 \pm 3.45	127.704	17.0	2.67	A
Etanol-FM	3	85.0318 \pm 8.83	85.533	14.0	1.60	A
Etanol-FR	3	61.3315 \pm 8.88	63.617	11.0	0.53	A
Etanol-TB	3	21.6499 \pm 2.79	21.411	8.0	-0.53	B
Etanol-TM	3	9.3533 \pm 0.92	9.587	3.3	-2.19	B
Etanol-TR	3	9.5290 \pm 0.47	9.668	3.7	-2.07	B

Tabla 13. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al metanol, parte de la planta y color del clavel.

Disolvente- Parte de la planta y color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Metanol- FB	3	70.6277 \pm 5.48	67.883	12.3	1.01	A
Metanol-FM	3	109.7828 \pm 12.68	107.151	17.0	2.67	A
Metanol-FR	3	73.0321 \pm 8.68	69.818	12.7	1.13	A
Metanol- TB	3	4.9206 \pm 0.62	4.608	3.0	-2.31	B
Metanol-TM	3	9.0469 \pm 1.1	8.835	8.0	-0.53	B
Metanol-TR	3	5.3448 \pm 0.23	5.442	4.0	-1.95	B

Tabla 14. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney en la determinación de extractos con respecto al agua, parte de la planta y color del clavel.

Disolvente- Parte de la planta y color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Agua-FB	3	157.564 \pm 18.13	151.819	17.0	2.67	A
Agua-FM	3	88.8442 \pm 13.42	95.673	11.0	0.53	A
Agua-FR	3	122.5698 \pm 15.87	113.551	14.0	1.60	A
Agua-TB	3	5.6873 \pm 0.39	5.565	2.0	-2.67	B
Agua-TM	3	13.0426 \pm 1.16	12.654	8.0	-0.53	B
Agua-TR	3	7.6604 \pm 0.31	7.674	5.0	-1.60	B

Capacidad Antioxidante

Antes de realizar un análisis estadístico es necesario determinar la normalidad de la población, para posteriormente determinar que prueba estadística se va a realizar. Se determinó la normalidad mediante la prueba de normalidad de Anderson-Darling, la cual arrojó una $p \leq 0.005$ para las tres determinaciones, indicando que los datos no pertenecen a una distribución normal (Figura 39). [92] Las gráficas muestran una distribución Weibull de 2 parámetros, perteneciente a una distribución no normal por lo que se continua el análisis

mediante la prueba no paramétrica H de Kruskal-Wallis seguida de la prueba U de Mann-Whitney. [93]

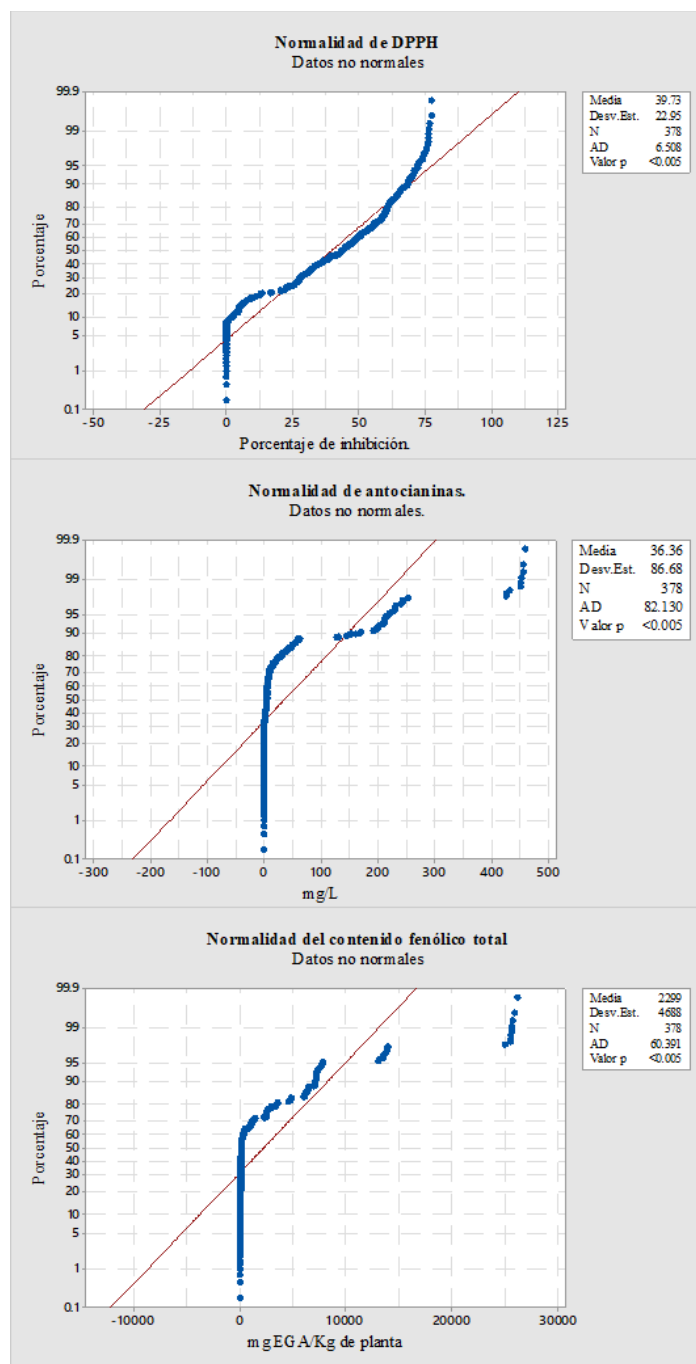


Figura 39. Gráficas de normalidad del porcentaje de inhibición, contenido fenólico total y contenido de antocianinas.

Contenido de antioxidantes: Flor vs Tallo.

De acuerdo con la cantidad de extractos obtenido de cada parte de la planta con respecto a la relación de la presencia de pigmentos y compuestos relacionados a temas reproductivos y de defensa, se espera que la flor contenga mayor actividad antioxidante en comparación con el tallo. El análisis estadístico para la determinación del porcentaje de inhibición, contenido fenólico total y contenido de antocianinas (Tabla 15 a 17), determinó un valor de $p=0.000$, aceptando la hipótesis alternativa que indica que los datos poseen una diferencia estadísticamente significativa. Gráficamente se puede observar que la mediana perteneciente a la flor en las tres determinaciones se encuentra por encima de la mediana perteneciente al tallo (Figura 40 a 42).

Tabla 15. Prueba de Kruskal-Wallis en la determinación del porcentaje de inhibición.

Parte de la planta	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Valor p
Flor	189	48.9997 \pm 21.56	55.3741	235.1	8.11	0.000
Tallo	189	30.4604 \pm 20.45	31.8727	143.9	-8.11	

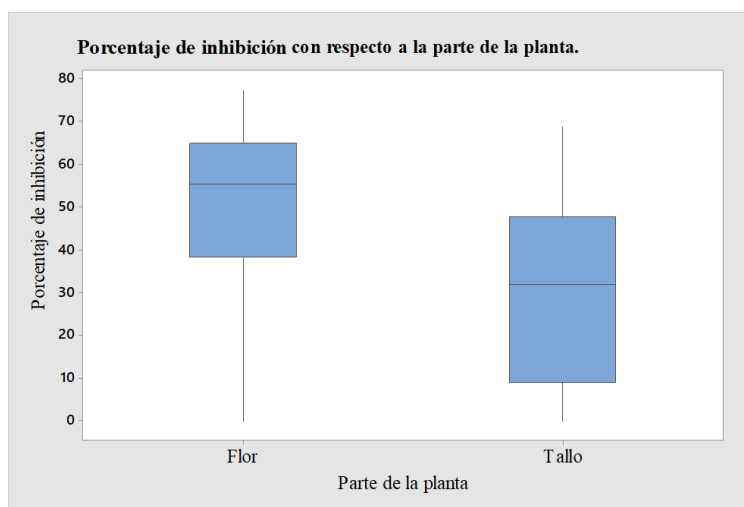


Figura 40. Gráfica del porcentaje de inhibición con respecto a la parte de la planta.

Tabla 16. Prueba de Kruskal-Wallis en la determinación del contenido fenólico total.

Parte de la planta	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Valor p
Flor	189	4486.8361 \pm 5868.96	2527.59	267.0	13.80	0.000
Tallo	189	111.5759 \pm 88.51	104.87	112.0	-13.80	

En la gráfica del contenido fenólico total y en el contenido de antocianinas se observan valores atípicos, esto se debe a que los claveles de color rojo y morado poseen algunos extractos con mayor actividad antioxidante en comparación con el clavel blanco, lo que origina que los datos se encuentren fuera del rango intercuartílico y sobre todo de los bigotes. En la determinación de contenido fenólico total los datos pertenecen al agua de flor roja (Figura 41) y en el contenido de antocianinas pertenecen a metanol, etanol y agua de flor morada y roja (Figura 42).

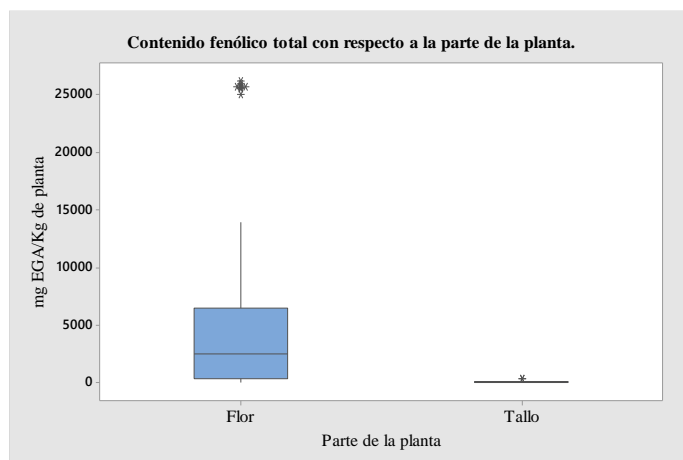


Figura 41. Gráfica del contenido fenólico total con respecto a la parte de la planta.

Tabla 17. Prueba de Kruskal-Wallis en la determinación de Antocianinas.

Parte de la planta	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Valor p
Flor	189	69.1963 \pm 113.49	8.68342	225.3	6.37	0.000
Tallo	189	3.5315 \pm 4.57	1.66989	153.7	-6.37	

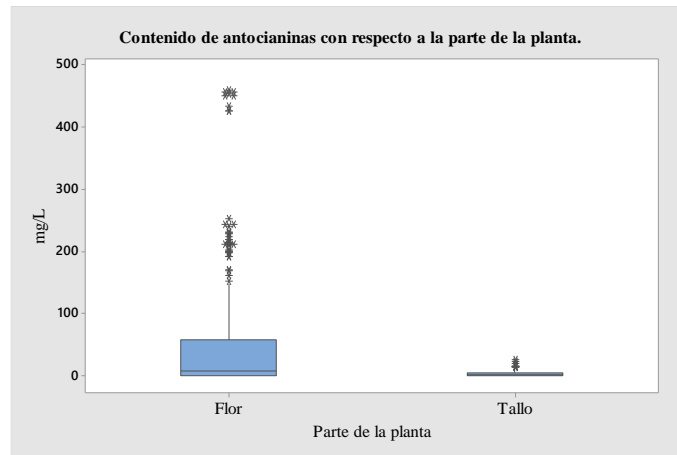


Figura 42. Gráfica del contenido de antocianinas con respecto a la parte de la planta.

Contenido de antioxidantes: Efecto de la Polaridad del Disolvente.

Los antioxidantes se encuentran presentes en las plantas en forma de vitaminas, compuestos nitrogenados, terpenoides y compuestos fenólicos. [94] Los compuestos fenólicos poseen uno o más grupos hidroxilo, confiriéndole determinada polaridad a su estructura, facilitando su extracción con disolventes polares comparada con disolventes no polares.[95] Las antocianinas al ser modificadas por glicosilación, hidroxilación, acilación y metilación le proporciona a su estructura cierta polaridad, siendo compuestos solubles en disolventes polares y principalmente en agua. [62] Los carotenoides poseen naturaleza lipofílica y su extracción da mayor rendimiento con disolventes como la acetona. Algunos flavonoides con grupos hidroxilo muy metoxilados o sin residuos de azúcar, originan que su polaridad disminuya y adquieran características lipofílicas facilitando su extracción con disolventes de mediana polaridad como la acetona o acetato de etilo [96], la solubilidad de los terpenos se da en disolventes no polares. [97] Los disolventes no polares también facilitan la extracción de aceites y gomas. Debido a que la mayoría de los compuestos antioxidantes se extraen con mayor facilidad en disolventes polares, se espera que la actividad antioxidante sea mayor en la acetona, etanol, metanol y agua en comparación con el hexano, acetato de etilo y DMC.

En la determinación del porcentaje de inhibición de acuerdo con la prueba H de Kruskal Wallis se obtuvieron dos grupos de acuerdo con su clasificación de medias, el primer grupo está conformado por el hexano y el agua, los cuales de acuerdo con la U de Mann-Whitney son estadísticamente diferentes. En el segundo grupo la acetona y el acetato de etilo no poseen diferencia estadísticamente significativa. El acetato de etilo, DCM, etanol y metanol son estadísticamente iguales (Tabla 18). La mediana de los disolventes polares a excepción del agua es mayor que la de los disolventes no polares. Gráficamente se observan varios datos atípicos en el hexano, correspondientes a la flor blanca (Figura 43).

Tabla 18. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del porcentaje de inhibición con respecto a los disolventes.

Disolvente	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Hexano	54	9.1089 \pm 16.23	1.4530	58.1	-9.55	D
Acetato de etilo	54	43.3532 \pm 22.63	34.5104	202.2	0.93	AB
DCM	54	44.3964 \pm 13.13	45.9785	201.7	0.89	A
Acetona	54	52.6655 \pm 17.81	59.8037	252.6	4.58	B
Etanol	54	47.4896 \pm 11.81	48.4784	219.2	2.16	A
Metanol	54	47.7475 \pm 13.24	48.1740	218.8	2.13	A
Agua	54	33.3493 \pm 28.91	32.0003	173.9	-1.13	C

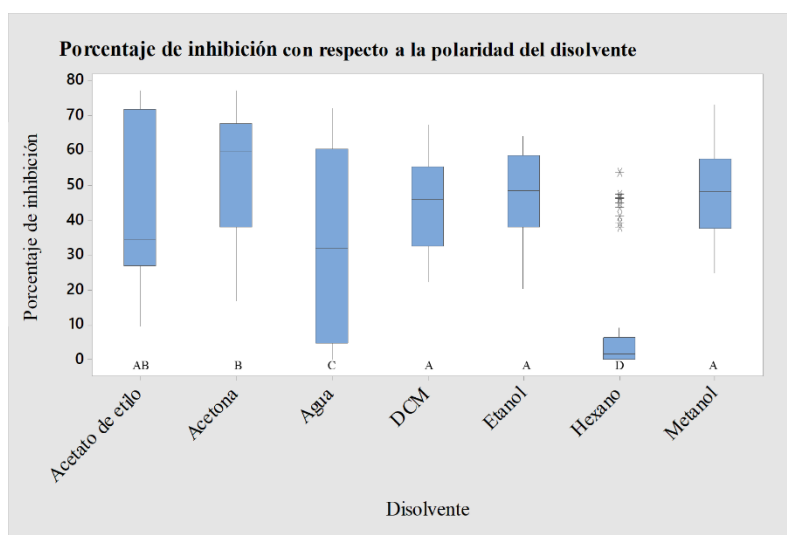


Figura 43. Gráfica del porcentaje de inhibición con respecto a la polaridad del disolvente.

El análisis de la determinación del contenido fenólico total agrupa las muestras en dos poblaciones, conformada por disolventes poco polares (hexano, acetato de etilo, DCM, acetona) y disolventes polares (etanol, metanol y agua). Las medianas y la clasificación de medias es mayor en los disolventes polares comparada con los disolventes no polares (Tabla 19). El agua es el disolvente con mayor rango intercuartílico y bigotes, en tanto que el dicloro muestra varios datos atípicos correspondientes a flor roja seguida de flor blanca (Figura 44). Debido a que la unidad de medida está en mg, existe una gran variación dentro de las poblaciones, por lo que cada disolvente pertenece a un grupo diferente y no son estadísticamente iguales entre sí.

Tabla 19. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido fenólico total con respecto a los disolventes.

Disolvente	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Hexano	54	61.4978 \pm 66.55	29.02	69.1	-8.75	F
Acetato de etilo	54	809.3453 \pm 876.27	511.58	171.8	-1.28	A
DCM	54	152.7919 \pm 143.08	112.45	127.3	-4.52	D
Acetona	54	1172.5066 \pm 1127.78	511.58	171.8	-1.28	B
Etanol	54	3331.7163 \pm 3316.45	2408.90	257.1	4.91	E
Metanol	54	2904.4901 \pm 3036.94	1785.94	221.7	2.34	G
Agua	54	7662.0940 \pm 9483.73	3224.19	254.1	4.69	C

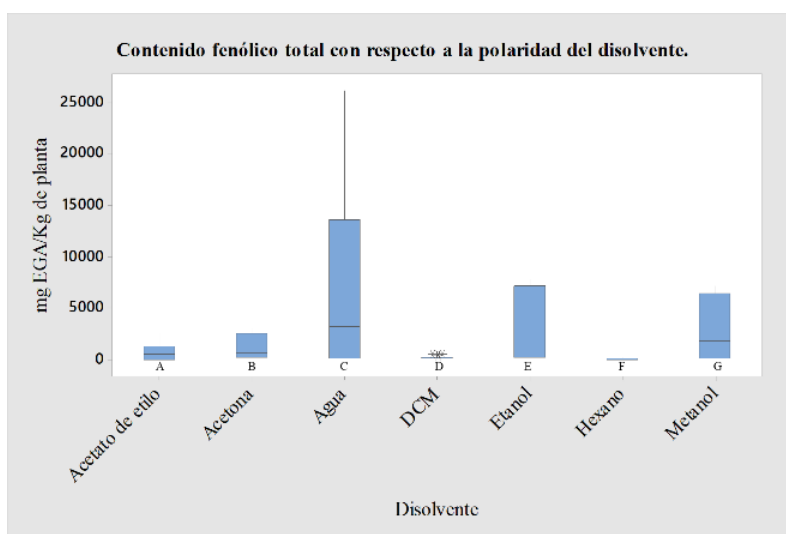


Figura 44. Gráfica del contenido fenólico total con respecto a la polaridad del disolvente.

Las antocianinas son compuestos solubles en disolventes polares, aumentando su presencia conforme aumenta la polaridad del disolvente, visualizándose desde la acetona al agua, extrayéndose en mayor cantidad en el etanol y metanol y disminuyendo su concentración en el agua. El etanol y el metanol no muestran diferencia estadísticamente significativa, ambos son estadísticamente diferentes con la acetona y el agua (Tabla 20). Se observan valores atípicos en el acetato de etilo, agua y metanol, correspondientes a extractos de flor, especialmente de color morado y rojo (Figura 45).

Tabla 20. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney de antocianinas con respecto a los disolventes.

Disolvente	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Hexano	54	1.1969 \pm 1.96	0.0000	102.7	-6.31	D
Acetato de etilo	54	5.9588 \pm 5.82	5.0097	206.6	1.24	A
DCM	54	2.2451 \pm 3.58	0.1670	125.6	-4.64	BD
Acetona	54	18.8911 \pm 23.10	5.7611	193.1	0.26	A
Etanol	54	81.7115 \pm 100.96	20.2891	270.7	5.90	C
Metanol	54	103.8439 \pm 162.98	11.0213	261.6	5.24	C
Agua	54	40.7003 \pm 75.19	0.3340	166.2	-1.69	B

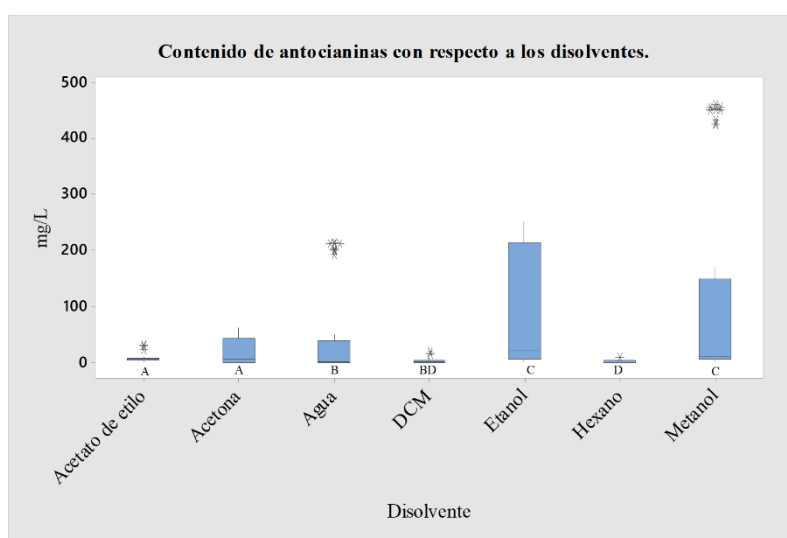


Figura 45. Gráfica del contenido de antocianinas con respecto a la polaridad del disolvente.

Contenido de antioxidantes: Influencia del Pigmento.

Las antocianinas son estructuras pertenecientes a los flavonoides que proporcionan diferentes pigmentaciones en las plantas, de acuerdo con su estructura poseen la capacidad de eliminar radicales libres convirtiéndose en potenciales antioxidantes. Con respecto a la presencia o ausencia de estos pigmentos, se espera mayor actividad antioxidante en claveles de color morado y rojo en comparación con los claveles blancos. En el porcentaje de inhibición se observa que el clavel morado es estadísticamente igual al clavel rojo y blanco. El clavel rojo y blanco muestran diferencias estadísticamente significativas. Con respecto a la mediana, el clavel morado es la planta con mayores compuestos que tienen la capacidad de eliminar radicales, seguido del clavel blanco (Tabla 21, Figura 46)

Tabla 21. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del porcentaje de inhibición con respecto al color del clavel.

Color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Blanco	126	42.9865 \pm 22.67	44.1599	203.0	1.70	A
Morado	126	39.3425 \pm 24.08	46.2001	189.5	0.00	AB
Rojo	126	36.8611 \pm 21.80	38.0693	176.0	-1.70	B

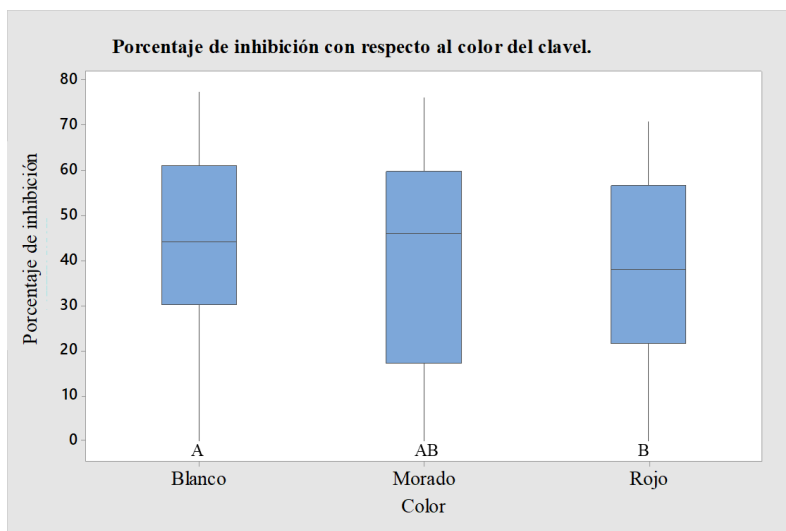


Figura 46. Gráfica del porcentaje de inhibición con respecto al color del clavel.

La determinación del contenido fenólico total muestra diferencias estadísticamente significativas del clavel rojo con el clavel morado y el clavel blanco. El clavel blanco es estadísticamente igual al morado. Con respecto a la media, el clavel con mayor contenido fenólico es el clavel rojo seguido del clavel morado (Tabla 22). Todas las coloraciones de clavel muestran valores atípicos correspondientes a etanol y agua de flor blanca; agua, etanol y metanol de flor morada; agua y etanol de flor roja (Figura 47).

Tabla 22. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido fenólico total con respecto al color del clavel.

Color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Blanco	126	1659.9924 \pm 2345.81	192.219	197.6	1.02	A
Morado	126	2207.2336 \pm 3965.26	178.454	190.8	0.16	A
Rojo	126	3030.3920 \pm 6941.02	145.841	180.1	-1.18	B

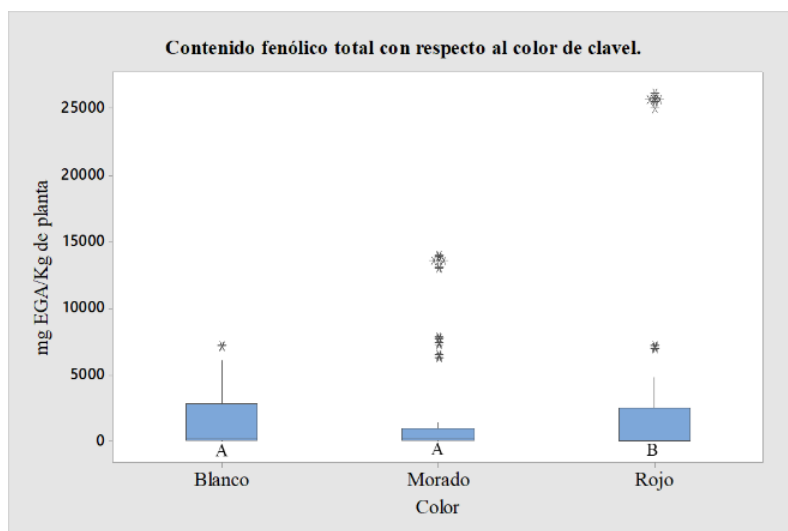


Figura 47. Gráfica del contenido fenólico total con respecto al color del clavel.

Las antocianinas están presentes en mayor cantidad en los claveles rojos y morados, proporcionando sus variedades de tonalidades, teniendo diferencia estadísticamente significativa con el clavel blanco, en el que el contenido de antocianinas es casi nulo. El clavel morado de acuerdo con su media tiene mayor cantidad de antocianinas (Tabla 23). Las tres variedades de clavel muestran datos atípicos, pertenecientes a los extractos polares de la flor, esto se debe a que en el tallo predomina la clorofila proporcionando el color verde y las antocianinas se encuentran en los pétalos de la flor y poseen afinidad a disolventes polares (Figura 48). La cantidad de antocianinas depende de la madurez de la planta, condiciones ambientales de crecimiento y condiciones de estrés, originando su variabilidad.

Tabla 23. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido de antocianinas con respecto al color del clavel.

Color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Blanco	126	4.8414 \pm 8.21 ^A	1.00193	147.0	-5.35	A
Morado	126	68.9944 \pm 128.55 ^B	4.67569	210.8	2.68	B
Rojo	126	35.2560 \pm 63.20 ^B	5.42714	210.8	2.68	B

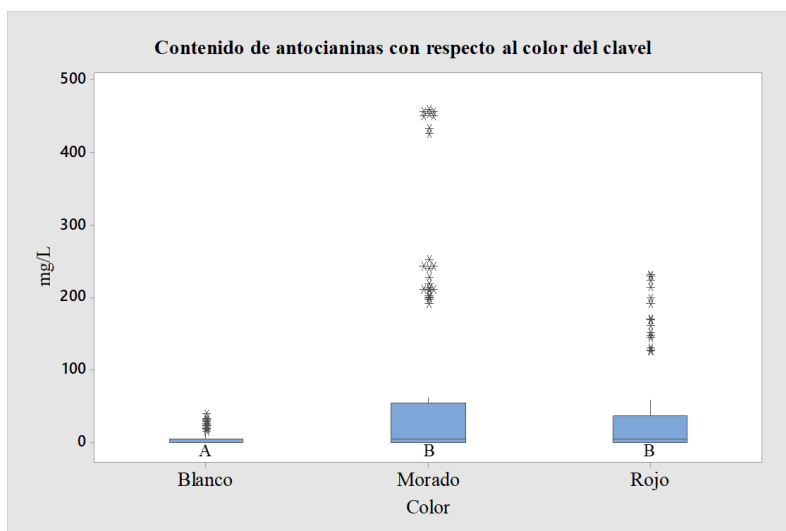


Figura 48. Gráfica del contenido de antocianinas con respecto al color del clavel.

Contenido de antioxidantes: Clavel Rojo y Morado vs Blanco.

La pigmentación de los claveles aumenta la cantidad de metabolitos secundarios presentes en sus extractos en comparación con el clavel blanco. Los pigmentos adicionales se localizan principalmente en la flor, por lo que es relevante determinar si existen diferencias estadísticamente significativas con respecto a los tallos de diversas variedades de claveles.

La flor de clavel morado y de clavel rojo son los que poseen mayor cantidad de metabolitos con la capacidad de donar un electrón o un átomo de hidrógeno, estas variedades de clavel poseen diferencia estadísticamente significativa con la flor de clavel blanco. Los metabolitos presentes en las diferentes variedades de tallo no proporcionan diferencia estadísticamente significativa entre ellos. La presencia de pigmentos influye en el porcentaje de inhibición solamente en la flor, los tallos muestran metabolitos similares (Tabla 24).

Tabla 24. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del porcentaje de inhibición con respecto a la parte de la planta y al color del clavel.

Parte de la planta-Color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Flor blanca	63	57.4503 \pm 15.34	60.5247	274.5	6.76	A
Flor morada	63	48.0096 \pm 22.68	52.9307	231.4	3.34	C
Flor roja	63	41.5393 \pm 23.01	51.6506	199.2	0.78	C
Tallo blanco	63	28.5226 \pm 19.38	32.5549	131.5	-4.61	B
Tallo morado	63	30.6754 \pm 22.40	25.3846	147.6	-3.34	B
Tallo rojo	63	32.1830 \pm 19.61	34.9795	152.7	-2.92	B

En cada variedad de clavel, la parte que contiene mayores componentes con actividad antioxidante es la flor comparada con el tallo. La flor del clavel morado muestra datos atípicos correspondientes a los extractos de hexano, en los que no se demuestra la presencia de compuestos con actividad antioxidante (Figura 49).

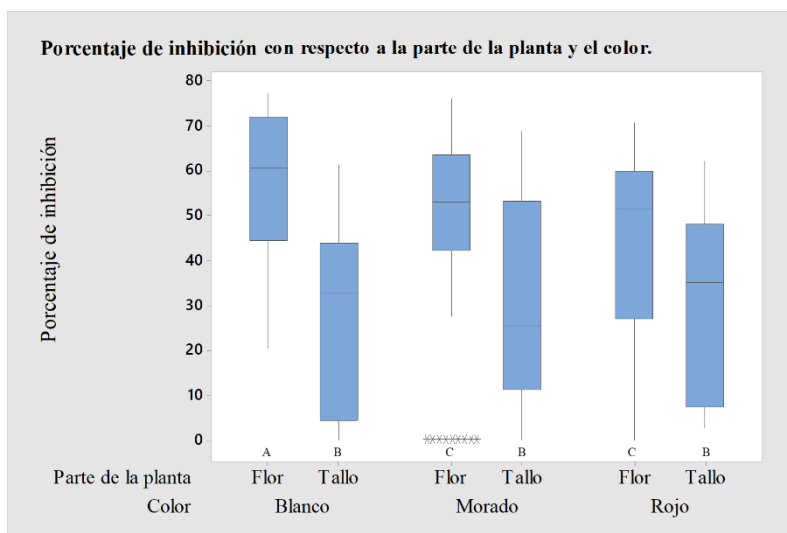


Figura 49. Gráfica del porcentaje de inhibición con respecto a la parte de la planta y el color del clavel.

Los compuestos fenólicos se encuentran en mayor cantidad en los extractos de flor, sin tener diferencias estadísticamente significativas entre las variedades de color. Los extractos de tallo contienen menor cantidad de compuestos fenólicos en especial los provenientes de tallo rojo. Con respecto a la media los extractos de flor roja son los que contienen mayor cantidad de compuestos fenólicos (Tabla 25).

Tabla 25. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido fenólico total con respecto a la parte de la planta y al color del clavel.

Parte de la planta-Color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Flor blanca	63	3200.6668 \pm 2502.96	2860.93	273.2	6.66	A
Flor morada	63	4278.8034 \pm 4792.23	1075.80	256.6	5.34	A
Flor roja	63	5981.0380 \pm 8439.28	2527.59	271.4	6.52	A
Tallo blanco	63	119.3180 \pm 75.33	106.72	122.0	-5.37	B
Tallo morado	63	135.6638 \pm 116.17	124.97	125.0	-5.13	B
Tallo rojo	63	79.7460 \pm 53.90	89.66	88.9	-8.01	C

El extracto acuoso de flor roja contiene una elevada cantidad de compuestos fenólicos que sobresalen de la concentración con el resto de los disolventes, mostrándose como valores atípicos. En la Figura 50, se observa una gran diferencia en el contenido fenólico con respecto a la flor y el tallo. La pigmentación del clavel no proporciona mayor contenido fenólico en los extractos.

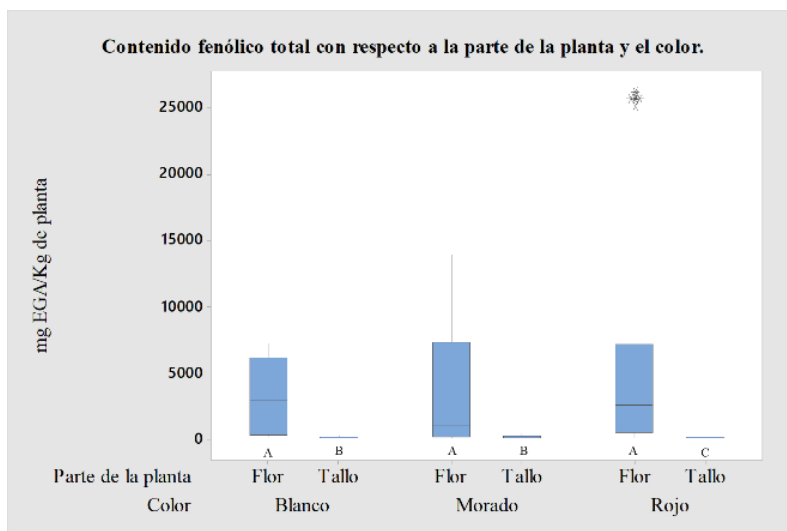


Figura 50. Gráfica del contenido fenólico total con respecto a la parte de la planta y color del clavel.

Las extracciones con mayor cantidad de antocianinas fueron las del clavel de flor morada y roja, debido a que esos pigmentos les proporcionan su coloración. En tanto que, el clavel blanco no posee una relevante cantidad de antocianinas, lo que origina que no exista una diferencia estadísticamente significativa con los tallos provenientes de los diferentes claveles. El tallo de clavel blanco es el que contiene menor cantidad de antocianinas y es estadísticamente diferente al tallo de clavel rojo, el tallo de clavel rojo es el tallo con mayor contenido de antocianinas (Tabla 26).

Tabla 26. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido de antocianinas con respecto a la parte de la planta y al color del clavel.

Parte de la planta-Color	N	Media ± SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Flor blanca	63	7.0241 ± 10.20	1.6699	161.5	-2.23	AC
Flor morada	63	134.1161 ± 157.08	55.1063	261.3	5.71	B
Flor roja	63	66.4488 ± 77.83	36.4036	253.0	5.06	B
Tallo blanco	63	2.6586 ± 4.71	0.5010	132.4	-4.54	A
Tallo morado	63	3.8727 ± 4.77	1.8369	160.2	-2.33	AC
Tallo rojo	63	4.0633 ± 4.15	3.8407	168.5	-1.67	C

En el Figura 51 se observa que los extractos de flor de clavel morado y rojo son los que contienen mayor cantidad de antocianinas. En la determinación de antocianinas se observa mayor contenido en el tallo de clavel rojo y morado. Se presentan valores atípicos correspondientes a extractos de disolvente polares y al acetato de etilo.

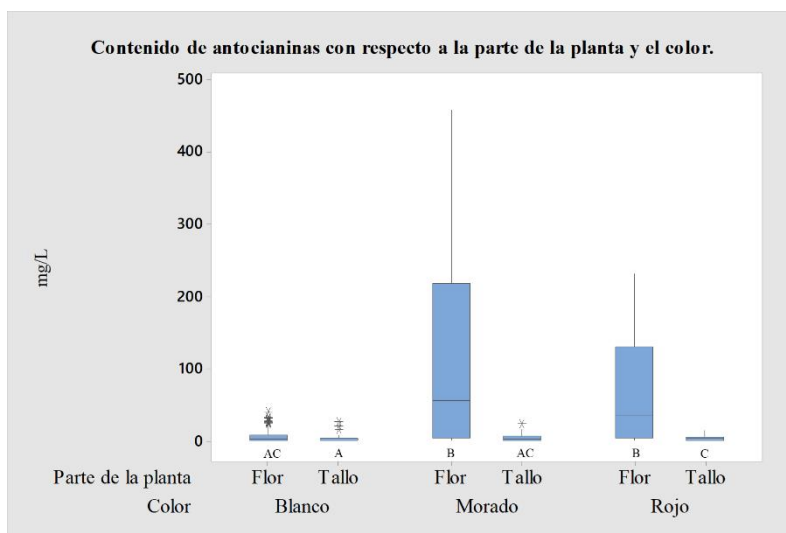


Figura 51. Gráfica del contenido de antocianinas con respecto a la parte de la planta y color del clavel.

Contenido de antioxidantes: Polar vs Apolar.

Debido a la naturaleza de los compuestos que poseen actividad antioxidante, su extracción de acuerdo con su solubilidad es mayor en disolventes polares en comparación con disolventes no polares. Sin importar la variedad del clavel, sus extractos polares deben presentar mayor actividad antioxidante.

En la prueba de captación del radical libre DPPH se observan las medianas más grandes en el acetato de etilo de clavel blanco, así como en los extractos de dicloro, acetona, etanol y metanol. Al tratarse de extracciones consecutivas, disminuye la cantidad de compuestos antioxidantes en el agua. De acuerdo con la clasificación de medias, se presenta mayor cantidad de compuestos antioxidantes en la acetona roja, acetona blanca, acetato de etilo blanco y etanol morado (Tabla 27), los cuales no poseen diferencias estadísticamente significativas (Figura 52).

Tabla 27. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del porcentaje de inhibición con respecto al disolvente y al color del clavel.

Disolvente-Color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Hexano-B	18	23.3251 \pm 22.05	22.5929	113.3	-3.03	L
Hexano-M	18	0.9661 \pm 2.45	0.0000	23.5	-6.60	I
Hexano-R	18	3.0355 \pm 2.45	4.2496	37.4	-6.05	J
Acetato de etilo-B	18	56.4507 \pm 20.04	60.9270	266.2	3.05	ADE
Acetato de etilo-M	18	45.8993 \pm 25.98	1.8369	160.2	-2.33	B
Acetato de etilo-R	18	27.7094 \pm 8.47	3.8407	168.5	-1.67	FKL
DCM-B	18	46.5988 \pm 14.24	45.0193	215.8	1.05	AD
DCM-M	18	47.5666 \pm 11.83	50.4304	217.9	1.13	A
DCM-R	18	39.0237 \pm 12.18	38.0867	171.4	-0.72	BGHL
Acetona-B	18	56.7154 \pm 16.76	62.9524	273.7	3.35	DE
Acetona-M	18	42.0261 \pm 21.75	34.0969	195.1	0.22	C
Acetona-R	18	59.2550 \pm 7.18	60.1520	288.9	3.96	E
Etanol-B	18	42.0645 \pm 12.98	40.8128	189.1	-0.02	BH
Etanol-M	18	52.6435 \pm 9.58	54.1146	248.7	2.36	ADE
Etanol-R	18	47.7608 \pm 10.74	47.6939	219.8	1.20	AD
Metanol- B	18	45.1750 \pm 15.98	44.1740	205.3	0.63	A
Metanol-M	18	51.0128 \pm 11.92	49.5904	237.5	1.91	AD
Metanol-R	18	47.0546 \pm 11.42	51.0763	213.6	0.96	A
Agua-B	18	30.5758 \pm 31.60	26.2302	157.7	-1.27	FGHJKL
Agua-M	18	35.2833 \pm 26.50	35.1640	183.3	-0.25	K
Agua-R	18	34.1889 \pm 29.88	31.9620	180.8	-0.35	FKL

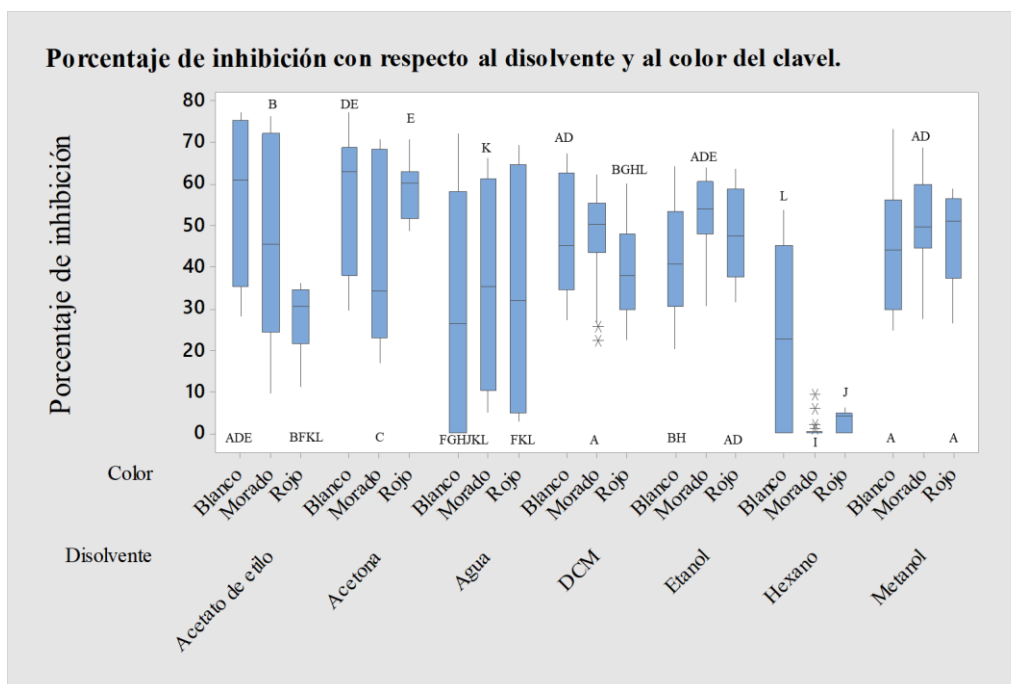


Figura 52. Gráfica del porcentaje de inhibición con respecto al disolvente y al color del clavel.

La determinación de contenido fenólico total demuestra que los disolventes polares poseen mayor cantidad de compuestos fenólicos, los extractos acuosos de clavel morado y rojo son los que presentan mayor contenido de compuestos fenólicos y éstos no presentan diferencia estadísticamente significativa con los extractos acuosos de clavel blanco, extractos etanólicos, extracto de acetona y acetato de etilo de clavel blanco. El hexano es el disolvente con menor cantidad de compuestos fenólicos, siendo estadísticamente similares con el DCM y acetato de etilo pertenecientes al clavel morado (Tabla 28, Figura 53).

Tabla 28. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido fenólico total con respecto al disolvente y al color del clavel.

Disolvente-Color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Hexano-B	18	95.3735 \pm 90.62	70.5	102.1	-3.48	Q
Hexano-M	18	42.2325 \pm 52.25	29.0	59.4	-5.18	R
Hexano-R	18	39.9382 \pm 39.43	31.5	45.7	-5.72	S
Acetato de etilo-B	18	1283.8039 \pm 1172.34	1210.3	218.1	1.14	ADEFGIJK
Acetato de etilo-M	18	496.9453 \pm 510.80	440.3	139.1	-2.01	LPQS
Acetato de etilo-R	18	642.0810 \pm 629.35	556.1	158.4	-1.24	M

Continuación tabla 28. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido fenólico total con respecto al disolvente y al color del clavel.

Disolvente-Color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
DCM-B	18	133.8503 \pm 90.27	103.2	133.6	-2.22	LMPQ
DCM-M	18	67.2701 \pm 70.21	112.5	106.0	-3.32	ORS
DCM-R	18	229.1711 \pm 207.41	201.7	142.4	-1.87	P
Acetona-B	18	1528.8577 \pm 1321.01	1458.2	254.1	2.57	BEFGHIJK
Acetona-M	18	570.0112 \pm 593.71	618.0	231.9	1.69	CFJ
Acetona-R	18	1311.8655 \pm 1251.38	1283.8	190.2	0.03	DEFJK
Etanol-B	18	3665.8539 \pm 3586.81	3648.4	265.1	3.01	HK
Etanol-M	18	3792.3661 \pm 3900.29	3740.3	266.6	3.07	ABCDEFHI
Etanol-R	18	2456.6711 \pm 2368.77	2396.5	239.5	1.99	IJK
Metanol-B	18	1802.9609 \pm 1748.17	1756.3	205.9	0.65	ABEFJK
Metanol-M	18	3217.7295 \pm 3304.11	3252.5	234.8	1.80	J
Metanol-R	18	3631.4418 \pm 3633.32	3541.4	224.5	1.39	K
Agua-B	18	3109.2466 \pm 3110.15	3087.1	204.3	0.59	EIJ
Agua-M	18	6802.8118 \pm 7003.59	6707.6	297.6	4.30	FHIJK
Agua-R	18	12901.5754 \pm 13138.59	12597.3	260.2	2.81	GHI

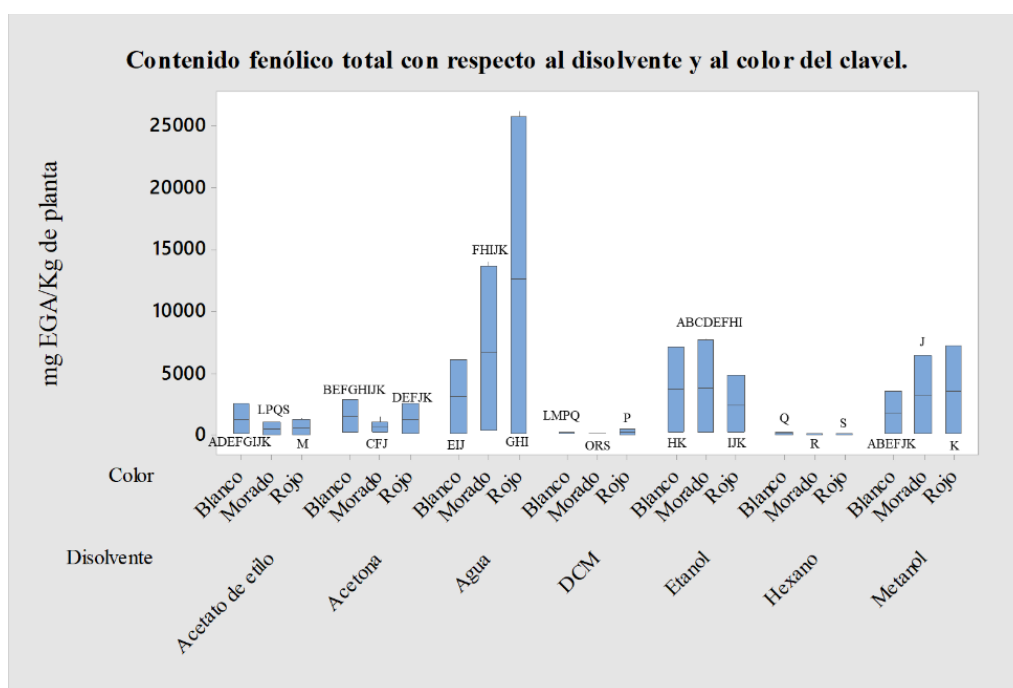


Figura 53. Gráfica del contenido fenólico total con respecto al disolvente y al color del clavel.

El extracto metanólico de clavel morado es el que contiene mayor cantidad de antocianinas y es estadísticamente similar a los extractos pertenecientes a acetona, etanol, agua de clavel morado y etanol de clavel rojo. Se observan datos atípicos pertenecientes a las determinaciones correspondiente a la flor, por lo que las antocianinas no son muy solubles en disolventes apolares como el hexano, acetato de etilo y DCM, que son los disolventes con menor cantidad de antocianinas (Tabla 29, Figura 54).

Tabla 29. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido de antocianinas con respecto al disolvente y al color del clavel.

Disolvente-Color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Hexano-B	18	1.3174 \pm 2.25	0.000	104.0	-3.40	JLM
Hexano-M	18	6.9896 \pm 7.93	0.000	63.8	-5.00	JLMQR
Hexano-R	18	3.4249 \pm 1.97	2.421	140.3	-1.96	R
Acetato de etilo-B	18	5.7147 \pm 3.10	6.262	217.6	1.12	A
Acetato de etilo-M	18	8.8416 \pm 6.28	4.001	186.2	-0.13	IQ
Acetato de etilo-R	18	23.8453 \pm 16.45	5.427	215.9	1.05	BF
DCM-B	18	0.8813 \pm 1.49	0.000	96.9	-3.68	M
DCM-M	18	30.6170 \pm 39.44	0.083	119.0	-2.80	I
DCM-R	18	15.4886 \pm 14.71	3.757	160.9	-1.14	IQR
Acetona-B	18	0.8999 \pm 1.45	0.000	93.5	-3.82	JM
Acetona-M	18	138.1726 \pm 94.05	30.141	296.9	4.28	CH
Acetona-R	18	72.4120 \pm 25.58	18.202	188.8	-0.03	K
Etanol-B	18	17.6915 \pm 12.31	20.289	251.6	2.47	F
Etanol-M	18	197.3164 \pm 36.43	107.875	285.9	3.84	CG
Etanol-R	18	184.9536 \pm 33.88	103.199	274.6	3.39	GH
Metanol- B	18	7.2362 \pm 8.58	4.008	192.8	0.13	A
Metanol-M	18	287.6034 \pm 163.21	219.590	301.9	4.47	DGH
Metanol-R	18	124.4116 \pm 27.37	69.300	290.3	4.01	CE
Agua-B	18	0.1484 \pm 0.44	0.000	72.5	-4.66	JLM
Agua-M	18	274.6917 \pm 74.56	96.269	221.6	1.28	D
Agua-R	18	87.1458 \pm 50.05	16.114	204.6	0.60	E

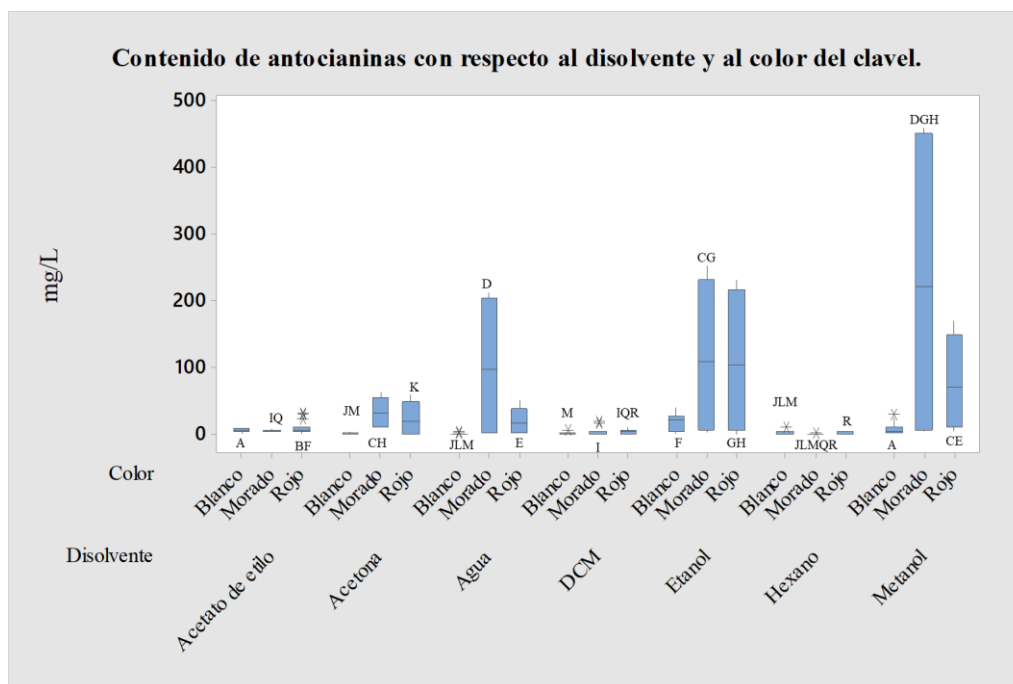


Figura 54. Gráfica del contenido de antocianinas con respecto al disolvente y al color del clavel.

Contenido de antioxidantes: Disolvente Polar vs Flor Morada y Roja.

La mayoría de los compuestos antioxidantes contienen en su estructura grupos hidroxilo, confiriendo cierta polaridad a la molécula, facilitando su extracción con esta clase de disolvente. La flor es la parte de la planta que contiene mayor cantidad de metabolitos secundarios y específicamente el clavel morado ha mostrado mayor actividad antioxidante en comparación con el clavel blanco.

En la prueba de captación de radicales se observa que los extractos con mayor actividad antioxidante son los correspondientes al acetato de etilo de flor blanca y morada, la acetona y el agua de la flor de clavel. Los extractos acuosos de tallo y los de hexano de tallo y flor roja son los que contienen menor actividad antioxidante (Tabla 30, Figura 55).

Tabla 30. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del porcentaje de inhibición con respecto al disolvente, parte de la planta y color del clavel.

Disolvente- Parte de la planta y color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Hexano-FB	9	44.4184 \pm 4.79	0.0000	23.9	-4.60	A
Hexano-FM	9	0.0000 \pm 0.00	44.7832	195.4	0.17	D
Hexano-FR	9	1.0047 \pm 1.72	0.0000	15.5	-4.84	B
Hexano-TB	9	2.2318 \pm 3.02	0.0000	31.1	-4.40	CD
Hexano-TM	9	1.9321 \pm 3.27	0.1147	31.6	-4.39	B

Continuación tabla 31. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del porcentaje de inhibición con respecto al disolvente, parte de la planta y color del clavel.

Disolvente- Parte de la planta y color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Hexano-TR	9	5.0663 \pm 0.73	4.8704	51.0	-3.85	EC
Acetato de etilo-FB	9	75.2480 \pm 1.13	75.2033	369.8	5.01	GM
Acetato de etilo-FM	9	70.5605 \pm 4.74	71.8654	351.4	4.50	HMN
Acetato de etilo-FR	9	21.1886 \pm 6.57	22.0770	93.1	-2.68	F
Acetato de etilo-TB	9	37.6535 \pm 7.57	36.1893	162.6	-0.75	AI
Acetato de etilo-TM	9	21.2382 \pm 6.57	24.9632	89.7	-2.77	F
Acetato de etilo-TR	9	34.2302 \pm 1.51	34.2761	146.9	-1.18	I
DCM-FB	9	55.8751 \pm 12.59	61.9795	269.9	2.24	JNW
DCM-FM	9	54.2760 \pm 6.19	55.3741	256.9	1.87	KNJ
DCM-FR	9	44.9871 \pm 11.00	44.0022	202.9	0.37	LPWJ
DCM-TB	9	37.3224 \pm 8.88	35.6844	161.7	-0.77	AI
DCM-TM	9	40.8571 \pm 12.56	45.6684	178.9	-0.29	AI
DCM-TR	9	33.0604 \pm 10.68	30.3995	139.9	-1.38	AI
Acetona-FB	9	70.0414 \pm 5.22	68.1013	348.8	4.43	NM
Acetona-FM	9	61.7331 \pm 10.91	67.9634	300.9	3.10	NOP
Acetona-FR	9	61.3881 \pm 8.40	61.9906	300.8	3.09	OQK
Acetona-TB	9	43.3894 \pm 13.05	38.3985	198.5	0.25	PSTUW
Acetona-TM	9	22.3190 \pm 3.50	23.1425	89.2	-2.79	F
Acetona-TR	9	57.1219 \pm 5.35	59.6208	277.1	2.43	QSUXYZ
Etanol-FB	9	43.2109 \pm 15.20	42.1274	196.7	0.20	SVWJ
Etanol-FM	9	47.1606 \pm 9.40	50.5635	214.9	0.71	TVWJ
Etanol-FR	9	52.1003 \pm 12.70	58.4502	248.3	1.63	UVWcdJ
Etanol-TB	9	40.9180 \pm 11.15	39.4982	181.4	-0.22	AI
Etanol-TM	9	58.1263 \pm 6.25	60.3624	282.6	2.59	VXYZ
Etanol-TR	9	43.4214 \pm 6.44	46.1022	191.2	0.05	WXYa
Metanol- FB	9	52.6081 \pm 17.73	53.1141	247.2	1.60	XcdJ
Metanol-FM	9	41.4559 \pm 7.37	44.8012	180.2	-0.26	AI
Metanol-FR	9	47.1660 \pm 14.67	54.8928	216.1	0.74	YJ
Metanol- TB	9	37.7418 \pm 10.21	36.4875	163.4	-0.73	AI
Metanol-TM	9	60.5697 \pm 6.49	59.6672	294.8	2.93	Z
Metanol-TR	9	46.9432 \pm 7.86	47.7154	211.1	0.60	Aj
Agua-FB	9	60.7502 \pm 8.55	57.2967	293.4	2.89	bcZ
Agua-FM	9	60.8813 \pm 2.92	61.0233	300.2	3.08	cdZ
Agua-FR	9	62.9399 \pm 5.61	64.5592	309.6	3.34	dZ
Agua-TB	9	0.4014 \pm 0.73	0.0000	21.9	-4.66	B
Agua-TM	9	9.6853 \pm 2.98	10.6696	66.3	-3.42	R
Agua-TR	9	5.4379 \pm 2.41	5.0355	52.0	-3.82	E

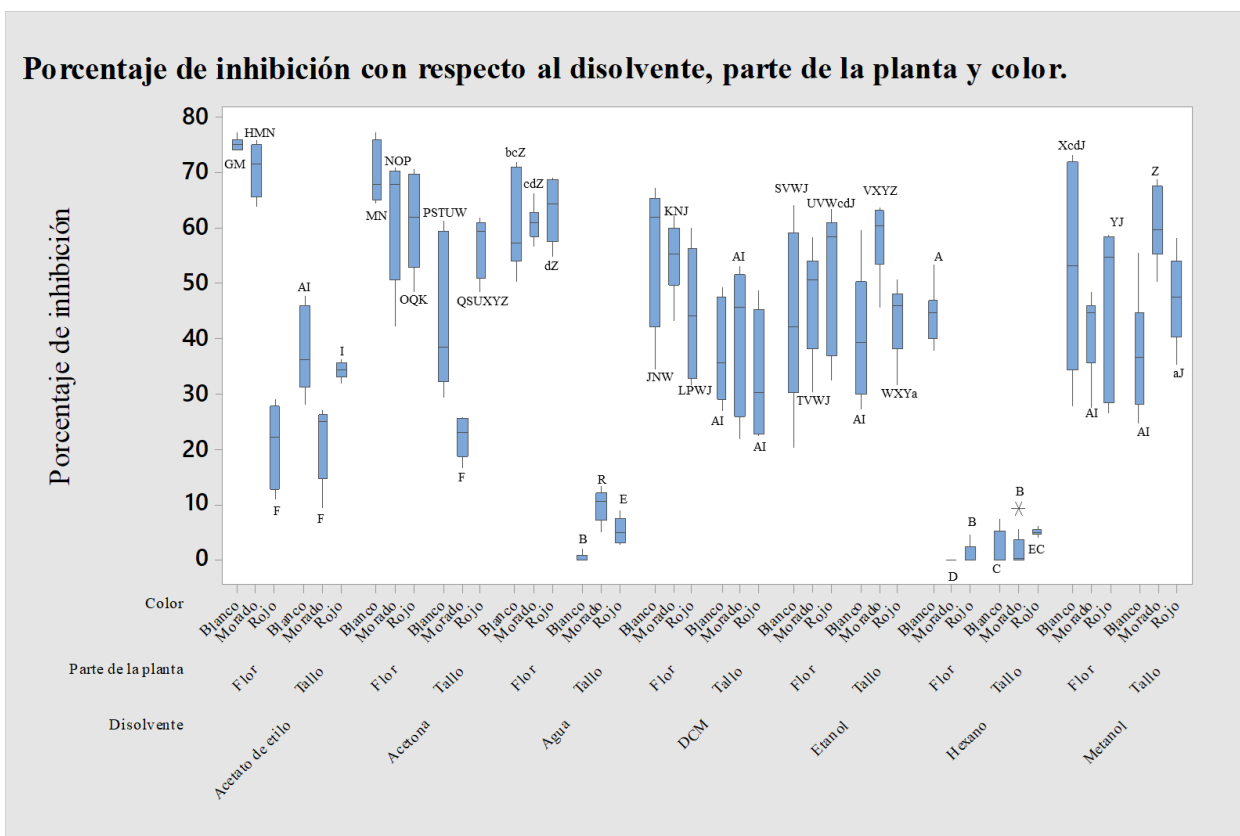


Figura 55. Gráfica del porcentaje de inhibición con respecto al disolvente, parte de la planta y color del clavel.

Los compuestos fenólicos se encuentran en mayor cantidad en los extractos acuosos de flor roja y flor morada, seguidos de los extractos etanólicos, metanólicos de flor y el extracto acuoso de flor blanca. La menor cantidad de compuestos fenólicos se encuentra en los extractos de hexano correspondientes a tallo (Tabla 31, Figura 56)

Tabla 31. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido fenólico total con respecto al disolvente, parte de la planta y color del clavel.

Disolvente- Parte de la planta y color	N	Media ± SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Hexano-FB	9	179.1787 ± 40.59	64.4	86.3	-2.87	AO
Hexano-FM	9	84.3898 ± 42.46	169.6	181.6	-0.22	BC
Hexano-FR	9	75.1418 ± 22.66	87.1	92.7	-2.69	CNU
Hexano-TB	9	11.5684 ± 1.08	11.2	22.7	-4.64	
Hexano-TM	9	0.0751 ± 0.17	12.7	26.2	-4.54	E

Continuación tabla 31. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido fenólico total con respecto al disolvente, parte de la planta y color del clavel.

Disolvente- Parte de la planta y color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Hexano-TR	9	4.7346 \pm 1.16	4.9	5.0	-5.13	F
Acetato de etilo-FB	9	2420.2567 \pm 120.09	2480.7	276.6	2.42	
Acetato de etilo-FM	9	990.3282 \pm 82	1009.3	252.0	1.74	P
Acetato de etilo-FR	9	1246.8617 \pm 136.78	1244.1	263.0	2.04	Q
Acetato de etilo-TB	9	147.3511 \pm 14.94	147.1	159.6	-0.83	AG
Acetato de etilo-TM	9	3.5624 \pm 2.27	12.7	26.2	-4.54	F
Acetato de etilo-TR	9	37.3002 \pm 2.83	37.0	53.8	-3.77	B
DCM-FB	9	211.8144 \pm 60.30	180.0	198.2	0.24	R
DCM-FM	9	134.5217 \pm 17.27	137.8	145.3	-1.23	G
DCM-FR	9	429.3689 \pm 34.55	447.9	238.8	1.37	
DCM-TB	9	55.8862 \pm 2.11	56.6	69.0	-3.35	B
DCM-TM	9	0.0186 \pm 0.06	47.0	66.7	-3.41	E
DCM-TR	9	28.9733 \pm 6.33	26.9	46.0	-3.99	
Acetona-FB	9	2809.0836 \pm 141.98	2860.9	293.0	2.88	
Acetona-FM	9	1128.4816 \pm 217.44	1006.8	256.0	1.85	PQ
Acetona-FR	9	2527.6792 \pm 40.55	2527.6	282.4	2.58	
Acetona-TB	9	248.6318 \pm 19.87	238.9	215.1	0.71	R
Acetona-TM	9	11.5408 \pm 5.15	219.1	207.9	0.51	
Acetona-TR	9	96.0518 \pm 8.55	97.5	98.0	-2.54	BN
Etanol-FB	9	7151.4648 \pm 43.34	7149.3	340.8	4.20	S
Etanol-FM	9	7580.0379 \pm 215.72	7683.1	356.0	4.63	
Etanol-FR	9	4757.9884 \pm 84.61	4777.4	311.0	3.38	
Etanol-TB	9	180.2429 \pm 18.85	190.6	189.3	-0.00	O
Etanol-TM	9	4.6942 \pm 1.71	173.1	177.2	-0.34	F
Etanol-TR	9	155.3539 \pm 15.53	165.2	168.0	-0.60	A
Metanol- FB	9	3501.2390 \pm 69.62	3525.4	302.0	3.13	
Metanol-FM	9	6428.4455 \pm 65.65	6430.0	329.0	3.88	
Metanol-FR	9	7161.8271 \pm 94.42	7203.5	344.2	4.30	S
Metanol- TB	9	104.6829 \pm 4.93	106.7	109.8	-2.22	BC
Metanol-TM	9	7.0135 \pm 3.88	125.0	140.7	-1.36	F
Metanol-TR	9	101.0566 \pm 8.78	105.6	104.8	-2.35	BC
Agua-FB	9	6131.6308 \pm 42.48	6124.5	320.0	3.63	
Agua-FM	9	13605.4194 \pm 334.60	13606.2	365.0	4.88	
Agua-FR	9	25668.3992 \pm 302.18	25700.6	374.0	5.13	
Agua-TB	9	86.8625 \pm 9.44	88.4	88.7	-2.80	B
Agua-TM	9	0.2041 \pm 0.29	347.2	230.2	1.13	
Agua-TR	9	134.7517 \pm 13.07	131.2	146.4	-1.20	G

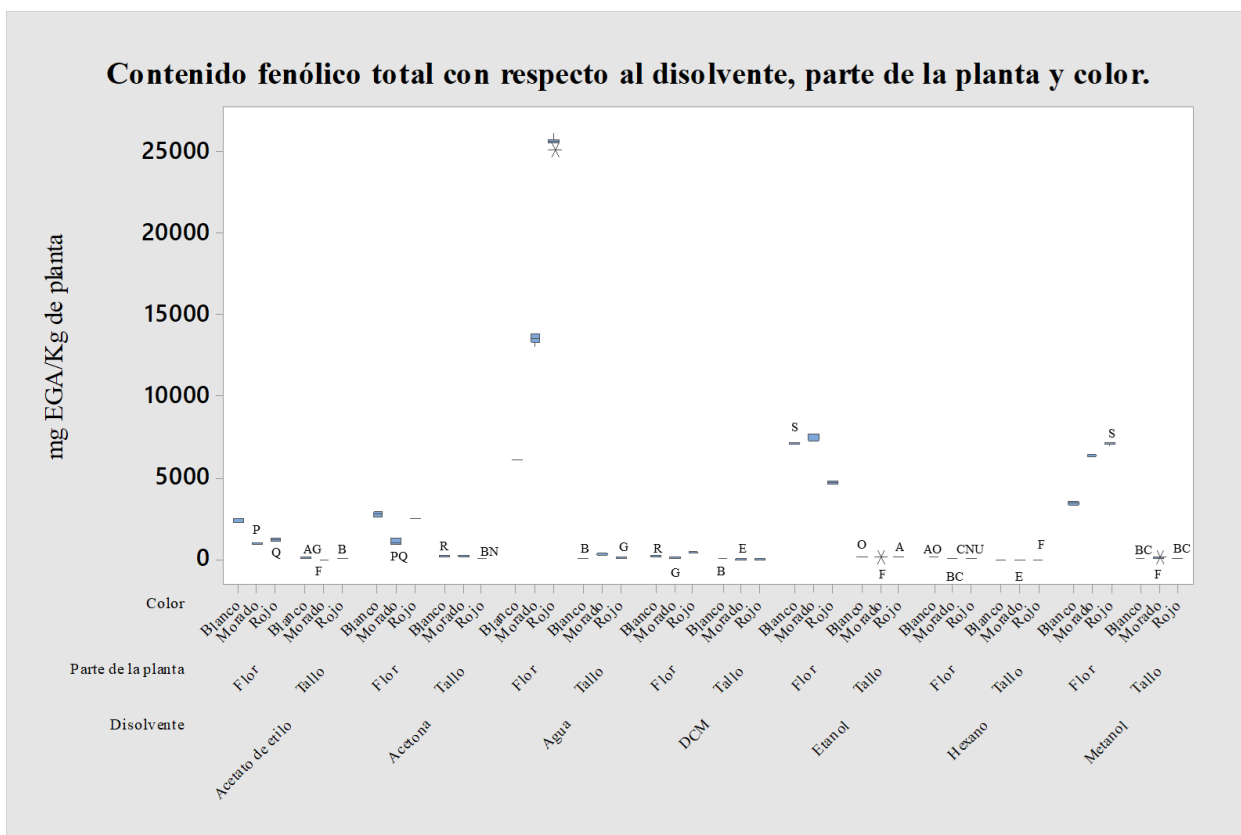


Figura 56. Gráfica del contenido fenólico total con respecto al disolvente, parte de la planta y color del clavel.

El mayor contenido de antocianinas corresponde al extracto metanólico de flor morada seguido de los extractos etanólicos de flor morada, roja, así como el extracto acuoso de flor morada y extracto metanólico de flor roja. Los extractos acuosos de tallo poseen nula cantidad de antocianinas al igual que los extractos de hexano (Tabla 32, Figura 57).

Tabla 32. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido de antocianinas con respecto al disolvente, parte de la planta y color del clavel.

Disolvente- Parte de la planta y color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Hexano-FB	9	1.8183 \pm 2.94	2.505	136.6	-1.47	AGIOQS
Hexano-FM	9	0.0000 \pm 0.00	0.000	110.1	-2.21	
Hexano-FR	9	2.1152 \pm 1.74	0.000	56.0	-3.71	AIQS
Hexano-TB	9	0.8164 \pm 1.24	0.000	97.9	-2.55	AOQS
Hexano-TM	9	13.9738 \pm 4.87	0.000	71.6	-3.28	E
Hexano-TR	9	4.7346 \pm 1.16	1.837	143.9	-1.27	IG

Continuación tabla 32. Prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney del contenido de antocianinas con respecto al disolvente, parte de la planta y color del clavel.

Disolvente- Parte de la planta y color	N	Media \pm SD	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z	Clase
Acetato de etilo-FB	9	7.0692 \pm 1.88	7.681	243.8	1.51	af
Acetato de etilo-FM	9	3.7093 \pm 0.89	4.000	187.7	-0.05	GJQ
Acetato de etilo-FR	9	10.3904 \pm 12.63	4.342	192.4	0.08	af
Acetato de etilo-TB	9	4.3603 \pm 3.57	5.845	191.4	0.05	a
Acetato de etilo-TM	9	13.9738 \pm 4.87	4.008	184.6	-0.14	E
Acetato de etilo-TR	9	37.3002 \pm 2.83	5.678	239.4	1.39	d
DCM-FB	9	0.3896 \pm 0.64	0.000	84.3	-2.92	IT
DCM-FM	9	5.0468 \pm 6.45	2.672	175.3	-0.39	AQ
DCM-FR	9	2.0039 \pm 3.26	0.000	113.3	-2.12	AQIT
DCM-TB	9	1.3730 \pm 1.94	0.000	109.5	-2.22	AIQ
DCM-TM	9	56.1872 \pm 42.33	0.000	62.7	-3.52	M
DCM-TR	9	28.9733 \pm 6.33	4.843	208.4	0.52	e
Acetona-FB	9	1.4101 \pm 1.81	0.000	109.8	-2.22	AQT
Acetona-FM	9	51.2335 \pm 8.46	55.106	324.2	3.74	fg
Acetona-FR	9	48.7723 \pm 7.74	48.093	321.7	3.67	g
Acetona-TB	9	0.3896 \pm 0.77	0.000	77.3	-3.12	OT
Acetona-TM	9	225.1116 \pm 41.46	9.184	269.7	2.23	hj
Acetona-TR	9	96.0518 \pm 8.55	0.000	56.0	-3.71	M
Etanol-FB	9	26.7924 \pm 7.02	25.549	299.3	3.05	e
Etanol-FM	9	229.4231 \pm 15.44	227.825	362.0	4.79	jk
Etanol-FR	9	214.5533 \pm 15.07	214.247	356.2	4.63	hk
Etanol-TB	9	8.5906 \pm 9.28	4.342	203.8	0.40	a
Etanol-TM	9	165.2097 \pm 16.21	5.010	209.9	0.57	mn
Etanol-TR	9	155.3539 \pm 15.53	5.344	192.9	0.10	n
Metanol- FB	9	11.6892 \pm 10.28	9.685	227.3	1.05	a
Metanol-FM	9	445.5171 \pm 13.78	450.260	374.0	5.13	
Metanol-FR	9	147.7666 \pm 16.95	147.618	338.0	4.13	n
Metanol- TB	9	2.7831 \pm 2.49	3.507	158.2	-0.87	Q
Metanol-TM	9	129.6897 \pm 17.51	6.012	229.9	1.12	
Metanol-TR	9	101.0566 \pm 8.78	10.353	242.5	1.47	
Agua-FB	9	0.0000 \pm 0.00	0.000	56.0	-3.71	
Agua-FM	9	203.8826 \pm 7.35	201.723	349.8	4.45	h
Agua-FR	9	39.5400 \pm 7.32	37.072	313.1	3.43	d
Agua-TB	9	0.2969 \pm 0.59	0.000	88.9	-2.79	ST
Agua-TM	9	345.5007 \pm 21.88	0.167	93.4	-2.67	
Agua-TR	9	134.7517 \pm 13.07	0.334	96.2	-2.59	

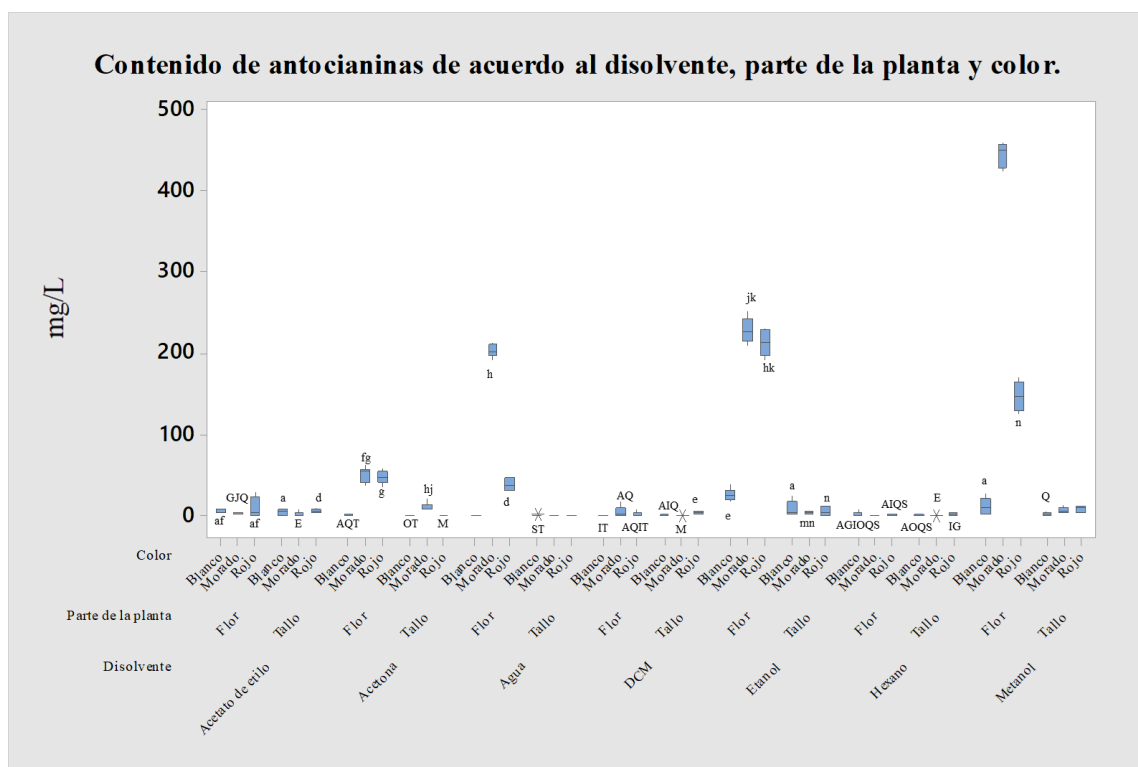


Figura 57. Gráfica del contenido de antocianinas de acuerdo con el disolvente, parte de la planta y color del clavel.

La flor al contener los pigmentos y metabolitos secundarios relacionados con la protección y defensa de la planta posee mayor cantidad de antioxidantes que el tallo. La capacidad antioxidante de inhibir al radical DPPH del clavel blanco y morado no tienen diferencia estadísticamente significativa, siendo los extractos de acetato de etilo de flor blanca y morada junto con los extractos de acetona y agua pertenecientes a flor los que contienen la mayor cantidad de metabolitos secundarios capaces de inhibir al radical DPPH. La extracción de los compuestos fenólicos se facilita en disolventes polares, debido a la polaridad que le confieren los grupos hidroxilo en su estructura. Los extractos acuosos de flor roja y morada contienen la mayor cantidad de compuestos fenólicos, esto es consecuencia de la polaridad del disolvente, por el contrario, el extracto de hexano es el que contiene la menor cantidad de compuestos fenólicos. Las antocianinas al ser pigmentos hidrosolubles se encuentran casi ausentes en el clavel blanco, su mayor concentración fue observada en el extracto metanólico de flor morada. El clavel morado posee extractos que obtuvieron una elevada capacidad antioxidante en las tres determinaciones realizadas, lo que indica que presenta un alto contenido de antocianinas y de compuestos fenólicos que le otorgan la capacidad de inhibir al radical DPPH. Su alto contenido antioxidante puede ser atribuido a los pigmentos que contiene, debido a que es la única característica diferente entre las tres variedades de clavel.

Conclusiones

1. Los extractos correspondientes a la flor ($Z=6.85$) del clavel poseen diferencia estadísticamente significativa con los extractos de tallo ($Z=-6.85$). El disolvente que permitió mayor extracción de metabolitos secundarios del clavel es el agua ($\bar{X} = 65.894$), por el contrario, el DCM ($\bar{X} = 3.048$) extrajo la menor cantidad de compuestos. Del clavel blanco ($\bar{X} = 32.987$) se obtuvieron la mayor cantidad de compuestos extraídos. Con respecto a las extracciones diferenciales realizadas, se obtuvo mayor cantidad de compuestos extraídos en el extracto acuoso de flor blanca ($\bar{X} = 157.564$) y la menor cantidad en el extracto de acetato de etilo correspondiente a tallo rojo ($\bar{X} = 1.089$).
2. Los compuestos antioxidantes con la capacidad de donar electrones o un radical hidrógeno al radical DPPH se presentan en mayor cantidad en la flor, su extracción se facilitó en disolventes polares (acetona, etanol, metanol) comparada con disolventes apolares (hexano, acetato de etilo, DCM). La mayor capacidad de porcentaje de inhibición fue proporcionada por el clavel blanco ($\bar{X} = 42.986$) sin diferencia estadísticamente significativa con el clavel morado ($\bar{X} = 39.342$). El extracto con mayor porcentaje de inhibición corresponde al acetato de etilo de flor blanca ($\bar{X} = 75.203$), morada ($\bar{X} = 71.865$) y los extractos de flor correspondientes a acetona y agua; por el contrario, los de menor porcentaje de inhibición corresponden a los extractos acuosos de tallo y de hexano de tallo y flor roja.
3. Los compuestos fenólicos del clavel se presentan en mayor cantidad en la flor, especialmente en disolventes polares como el etanol, metanol y agua. El clavel blanco ($\bar{X} = 192.219$) posee la mayor cantidad de compuestos fenólicos en comparación con el clavel rojo ($\bar{X} = 145.841$). Los extractos acuosos de flor roja ($\bar{X} = 25700.6$) y morada ($\bar{X} = 13606.2$) son los que contienen mayor cantidad de compuestos fenólicos, en cambio, los extractos de tallo correspondientes a hexano son los que contienen la menor cantidad.
4. Las antocianinas se encuentran presentes en mayor cantidad en la flor del clavel rojo ($\bar{X} = 4.675$) y morado ($\bar{X} = 5.427$), en comparación con el clavel blanco ($\bar{X} = 1.001$), su extracción se facilitó en disolventes polares (etanol, metanol y agua). El extracto con mayor contenido de antocianinas es el extracto metanólico de flor morada ($\bar{X} = 450.260$), seguido de los extractos etanólicos de flor morada y roja, al contrario de los extractos acuosos de tallo y los extractos correspondientes a hexano.

Bibliografía

- [1] J.A. Teixeira da Silva, A. Wicaksono, F. Engelmann, Cryopreservation of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) and other *Dianthus* species, *Planta*. 252 (2020) 105. <https://doi.org/10.1007/s00425-020-03510-2>.
- [2] D.M. Soliman, I.M. El-Sayed, Study postharvest characteristics, chemical composition and antimicrobial activity of *Dianthus caryophyllus* L., cut flowers using some essential oils, *Ornam. Hortic.* 29 (2023).
- [3] N.Y. Paniagua-Zambrana, R.W. Bussmann, C. Romero, *Dianthus caryophyllus* L. *Dianthus plumarius* L. Caryophyllaceae BT - Ethnobotany of the Andes, en: N.Y. Paniagua-Zambrana, R.W. Bussmann (Eds.), Springer International Publishing, Cham, 2020: pp. 707–713. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28933-1_98.
- [4] M. Taghizadeh, A. Khadivi, Identification of Superior Carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) Cultivars Based on Morphological Traits, *Proc. Natl. Acad. Sci. India Sect. B Biol. Sci.* 93 (2023) 245–255. <https://doi.org/10.1007/s40011-022-01391-x>.
- [5] J. Smith, Herbarium specimen: *Dianthus caryophyllus*, 1906.
- [6] H. Morimoto, T. Narumi-Kawasaki, T. Takamura, S. Fukai, Flower color mutation caused by spontaneous cell layer displacement in carnation (*Dianthus caryophyllus*), *Plant Sci.* 299 (2020) 110598. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110598>.
- [7] Sunflora Ltd, *Dianthus*, Reino Unido, 2023.
- [8] F. Gonçalves, J.C. Gonçalves, A.C. Ferrão, P. Correia, R.P.F. Guiné, Evaluation of phenolic compounds and antioxidant activity in some edible flowers, *5* (2020) 857–870. <https://doi.org/doi:10.1515/opag-2020-0087>.
- [9] R.E. Martínez Moctezuma, Efecto del material particulado (PM10) sobre los niveles del transportador MDR1 y su impacto sobre la citotoxicidad del cisplatino en células de carcinoma pulmonar A549, (2023).
- [10] Guacaneme Amaya, Nelson Orlando, Modelo matemático de desarrollo tumoral del osteosarcoma de acuerdo a línea celular de origen., Univ. Sergio Arboleda. (2021).
- [11] X. Zhou, M. Wang, H. Li, S. Ye, W. Tang, Widely targeted metabolomics reveals the antioxidant and anticancer activities of different colors of *Dianthus caryophyllus*, *Front. Nutr.* . 10 (2023).
- [12] X. Zhou, X. Yang, R. Sun, J. Wang, Y. Mao, G. Cao, M. Wang, Identification of chemical components in *Dianthus* determined by widely targeted metabolomics, *Hortic. Sci.* 49 (2022) 71–77. <https://doi.org/10.17221/27/2021-HORTSCI>.
- [13] H.B. Rashmi, P.S. Negi, Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits, *Food Res. Int.* 136 (2020) 109298. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109298>.
- [14] I. Petronova, N. Petronova, I. Ivanov, M. Todorova, Phytonutrients and Antioxidant

- Activity of Extracts from Five Edible Flowers Used in Culinary, *Bull. Univ. Agric. Sci. Vet. Med. Cluj-Napoca. Food Sci. Technol.* 77 (2020) 26. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:2020.0019>.
- [15] A.J. Kamaluldeen, M.E. Al-Defiery, Antibacterial Activity Of *Dianthus Caryophyllus* L. Against Antibiotic Resistant Pathogenic Bacteria, *Volatiles Essent. Oils.* 8 (2021) 1886–1893.
- [16] M.A. Taleuzzaman, Mohamad; Jain, Pooja; Verma, Rishabh; Iqbal, Zeenat; Mirza, Eugenol as a Potential Drug Candidate: A Review, *Curr. Top. Med. Chem.* 21 (2021) 1804–1815. <https://doi.org/https://doi.org/10.2174/1568026621666210701141433>.
- [17] Z.M. Karim, H.J. Hussein, A.F. Al-Rubaye, Evaluation of anticandidiasis efficacy of secondary metabolites extracted from *Dianthus caryophyllus* L. flower buds, *Casp. J. Environ. Sci.* 21 (2023) 143–149. <https://doi.org/10.22124/cjes.2023.6205>.
- [18] B. Rodríguez Pérez, M.M. Canales Martínez, J.G. Penieres Carrillo, T.A. Cruz Sánchez, Composición química, propiedades antioxidantes y actividad antimicrobiana de propóleos mexicanos, *Acta Univ.* 30 (2020) 1–30. <https://doi.org/10.15174/au.2020.2435>.
- [19] H.G. Durango, Composición química y actividades biológicas del género *Zanthoxylum*: una revisión., UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA, 2020.
- [20] E. Salmerón-Manzano, J.A. Garrido-Cardenas, F. Manzano-Agugliaro, Worldwide Research Trends on Medicinal Plants, *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 17 (2020). <https://doi.org/10.3390/ijerph17103376>.
- [21] S.S. Khurramovna, Z.Q.G. O'G'li, Medicinal Plants in Folk Medicine, *Eur. Sch. J.* 2 (2021) 109–112.
- [22] W. Wang, J. Xu, H. Fang, Z. Li, M. Li, Advances and challenges in medicinal plant breeding, *Plant Sci.* 298 (2020) 110573. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110573>.
- [23] I. Süntar, Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants, *Phytochem. Rev.* 19 (2020) 1199–1209. <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09629-9>.
- [24] M. Marrelli, Medicinal Plants, *Plants.* 10 (2021). <https://doi.org/10.3390/plants10071355>.
- [25] X.Y. Lim, B.P. Teh, T.Y.C. Tan, Medicinal Plants in COVID-19: Potential and Limitations , *Front. Pharmacol.* . 12 (2021).
- [26] A.A. González, A.R. Rodríguez, Vacunas basadas en plantas. Nuevos desarrollos y oportunidades emergentes, *RD-ICUAP.* 8 (2022).
- [27] J. Tremouillaux-Guiller, K. Moustafa, K. Hefferon, G. Gaobotse, A. Makhzoum, Plant-made HIV vaccines and potential candidates, *Curr. Opin. Biotechnol.* 61 (2020) 209–216. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.copbio.2020.01.004>.
- [28] N.A. Kulkarni, Ti plasmid- Definition, Structure, Types, Applications, (2023).

- [29] T.T.S. Z., *Agrobacterium tumefaciens*, Ukraine, 2018. <https://doi.org/1067589168>.
- [30] A.A. Mohamed, B.M. Alotaibi, Essential oils of some medicinal plants and their biological activities: a mini review, *J. Umm Al-Qura Univ. Appl. Sci.* 9 (2023) 40–49. <https://doi.org/10.1007/s43994-022-00018-1>.
- [31] A.L. Vargas-Vizuet, C.A. Lobato-Tapia, J.R. Tobar-Reyes, M.T. Solano-De la Cruz, A. Ibáñez Marínez, A. Romero Fernández, Medicinal plants used in the region of Teziutlán, Puebla, Mexico, *Boletín Latinoam. y del Caribe Plantas Med. y Aromáticas.* 21 (2021) 224–241. <https://doi.org/10.37360/blacpma.22.21.2.14>.
- [32] A.J.J. Chang, Valoración del efecto de un gel cicatrizante a base de Eucalipto (*Eucalyptus Globulus Labill*) en el tratamiento de heridas en Cobayos (*Cavia porcellus*), (2023).
- [33] E. Ponce Piundo, Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Sempervivum Tectorum L.* (Siempreviva Mayor) en *Rattus Rattus Var. Albinus*, Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, 2021.
- [34] A. Sharma, S. Khanna, G. Kaur, I. Singh, Medicinal plants and their components for wound healing applications, *Futur. J. Pharm. Sci.* 7 (2021) 53. <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00202-w>.
- [35] Y. Stable-García, Z. Zamora Rodríguez, A. Fernández García, Efecto cicatrizante de los aceites ozonizados sobre lesiones de la piel, *Rev. CENIC Ciencias Biológicas.* 52 (2021) 174–186.
- [36] V. Manzano, Tratamiento antioxidante Vs cuidado convencional aplicado en úlceras por presión, (2022) 12–15.
- [37] I. Saretzky, M. Cassini, Enhancing Skin Cicatrization with Natural Sources – The Role of Polyunsaturated Fatty Acids (PUFAs) and Beeswax, en: U. Ahmad, J. Akhtar (Eds.), IntechOpen, Rijeka, 2023: p. Ch. 4. <https://doi.org/10.5772/intechopen.111840>.
- [38] C. Veses, Cicatrización de heridas cutáneas., 2017. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.16818.71365>.
- [39] E. Pietro, La cicatrización de las heridas, (2024).
- [40] P.D. Mattosinhos, M.M. Sarandy, R.D. Novaes, D. Esposito, R. V Gonçalves, Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Skin Regenerative Potential of Secondary Metabolites from Plants of the Brassicaceae Family: A Systematic Review of In Vitro and In Vivo Preclinical Evidence (Biological Activities Brassicaceae Skin Diseases), *Antioxidants.* 11 (2022). <https://doi.org/10.3390/antiox11071346>.
- [41] E.M. Revilla Flores, Especies reactivas de oxígeno, importancia e implicación patológica., *Rev. Científica Cienc. Médica.* 24 (2021) 125–132.
- [42] N. Ortega T., C. Rosas C., Señalización celular asociada a especies reactivas de oxígeno y su rol en cicatrización de heridas, *J. Heal. Med. Sci.* 6 (2020) 199–205.
- [43] I.M. Comino-Sanz, M.D. López-Franco, B. Castro, P.L. Pancorbo-Hidalgo, The Role

of Antioxidants on Wound Healing: A Review of the Current Evidence, *J. Clin. Med.* 10 (2021). <https://doi.org/10.3390/jcm10163558>.

- [44] H.J. Forman, H. Zhang, Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy, *Nat. Rev. Drug Discov.* 20 (2021) 689–709. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1>.
- [45] C.-W. Li, L.-L. Li, S. Chen, J.-X. Zhang, W.-L. Lu, Antioxidant Nanotherapies for the Treatment of Inflammatory Diseases, *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8 (2020).
- [46] P. Viaña-Mendieta, M.L. Sánchez, J. Benavides, Rational selection of bioactive principles for wound healing applications: Growth factors and antioxidants, *Int. Wound J.* 19 (2022) 100–113. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/iwj.13602>.
- [47] A. Romulo, The Principle of Some In vitro Antioxidant Activity Methods: Review, *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 426 (2020) 12177. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/426/1/012177>.
- [48] J. Flieger, W. Flieger, J. Baj, R. Maciejewski, Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles, *Materials (Basel)*. 14 (2021). <https://doi.org/10.3390/ma14154135>.
- [49] J.D. Mendonça, R.D. Guimarães, V.A. Zorgetto-Pinheiro, C.D. Fernandes, G. Marcelino, D. Bogó, K.D. Freitas, P.A. Hiane, E.S. de Pádua Melo, M.L. Vilela, V.A. Nascimento, Natural Antioxidant Evaluation: A Review of Detection Methods, *Molecules*. 27 (2022). <https://doi.org/10.3390/molecules27113563>.
- [50] A. Rana, M. Samtiya, T. Dhewa, V. Mishra, R.E. Aluko, Health benefits of polyphenols: A concise review, *J. Food Biochem.* 46 (2022) e14264. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfbc.14264>.
- [51] Q. Sheng, L. Yi, B. Zhong, X. Wu, L. Liu, B. Zhang, Shikimic acid biosynthesis in microorganisms: Current status and future direction, *Biotechnol. Adv.* 62 (2023) 108073. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.108073>.
- [52] J. Płonka, A. Górny, K. Kokoszka, H. Barchanska, Metabolic profiles in the course of the shikimic acid pathway of *Raphanus sativus* var. *longipinnatus* exposed to mesotrione and its degradation products, *Chemosphere*. 245 (2020) 125616. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125616>.
- [53] S. Wu, W. Chen, S. Lu, H. Zhang, L. Yin, Metabolic Engineering of Shikimic Acid Biosynthesis Pathway for the Production of Shikimic Acid and Its Branched Products in Microorganisms: Advances and Prospects, *Molecules*. 27 (2022). <https://doi.org/10.3390/molecules27154779>.
- [54] C.C.R.J. Andrés, J.A. Douglas, Determinación de la actividad antioxidante y polifenoles totales del extracto hidroalcohólico de espigas de *Piper nigrum* (pimienta negra)., Universidad de Guayaquil, 2022.
- [55] R.C.G. Garrido, Aplicación de polifenoles bioactivos de origen natural en cosmética., Universidad de Sevilla, 2022.

- [56] O.R. Daniela, Extracción de mangiferina a partir de cáscara de mango ataulfo., Universidad Autónoma del Estado de México, 2021.
- [57] İ. Gulcin, Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview, *Arch. Toxicol.* 94 (2020) 651–715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>.
- [58] M. Harada, Pathophysiology of polycystic ovary syndrome revisited: Current understanding and perspectives regarding future research, *Reprod. Med. Biol.* 21 (2022) 1–13. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12487>.
- [59] H. Slika, H. Mansour, N. Wehbe, S.A. Nasser, R. Iratni, G. Nasrallah, A. Shaito, T. Ghaddar, F. Kobeissy, A.H. Eid, Therapeutic potential of flavonoids in cancer: ROS-mediated mechanisms, *Biomed. Pharmacother.* 146 (2022) 112442. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112442>.
- [60] N. Shen, T. Wang, Q. Gan, S. Liu, L. Wang, B. Jin, Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity, *Food Chem.* 383 (2022) 132531. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132531>.
- [61] Y.-W. Zhao, C.-K. Wang, X.-Y. Huang, D.-G. Hu, Anthocyanin stability and degradation in plants, *Plant Signal. Behav.* 16 (2021) 1987767. <https://doi.org/10.1080/15592324.2021.1987767>.
- [62] B. Alappat, J. Alappat, Anthocyanin Pigments: Beyond Aesthetics, *Molecules.* 25 (2020). <https://doi.org/10.3390/molecules25235500>.
- [63] A.M. LaFountain, Y.-W. Yuan, Repressors of anthocyanin biosynthesis, *New Phytol.* 231 (2021) 933–949. <https://doi.org/10.1111/nph.17397>.
- [64] I.G. Munteanu, C. Apetrei, Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review, *Int. J. Mol. Sci.* 22 (2021). <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>.
- [65] A. Ivanova, E. Gerasimova, E. Gazizullina, Study of Antioxidant Properties of Agents from the Perspective of Their Action Mechanisms, *Molecules.* 25 (2020). <https://doi.org/10.3390/molecules25184251>.
- [66] C.M.M. Santos, A.M.S. Silva, The Antioxidant Activity of Prenylflavonoids, *Molecules.* 25 (2020). <https://doi.org/10.3390/molecules25030696>.
- [67] F. Xiao, T. Xu, B. Lu, R. Liu, Guidelines for antioxidant assays for food components, *Food Front.* 1 (2020) 60–69. <https://doi.org/10.1002/fft2.10>.
- [68] B.-F.A. Mercedes, G.-S.J. Santos, C.-B.O. Nydia, S.-M.D. Isabel, L.-C. Jaime, B.-R.A. Karina, Validation of a micro-assay based on the pH differential method to quantify total monomeric anthocyanins in red cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata f. rubra*), *J. Food Meas. Charact.* 16 (2022) 3967–3976. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01505-z>.
- [69] M. Mónica Giusti, R.E. Wrolstad, Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-visible Spectroscopy, *Handb. Food Anal. Chem.* 2–2 (2005) 19–31. <https://doi.org/10.1002/0471709085.ch18>.
- [70] P. Chandra, R.K. Sharma, D.S. Arora, Antioxidant compounds from microbial

- sources: A review, *Food Res. Int.* 129 (2020) 108849. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108849>.
- [71] B. Huchzermeyer, E. Menghani, P. Khardia, A. Shilu, Metabolic Pathway of Natural Antioxidants, Antioxidant Enzymes and ROS Providence, *Antioxidants*. 11 (2022). <https://doi.org/10.3390/antiox11040761>.
- [72] M. Parcheta, R. Świsłocka, S. Orzechowska, M. Akimowicz, R. Choińska, W. Lewandowski, Recent Developments in Effective Antioxidants: The Structure and Antioxidant Properties, *Materials (Basel)*. 14 (2021). <https://doi.org/10.3390/ma14081984>.
- [73] J.M. Ortiz Escarza, M.E. Medina López, Estrés oxidativo ¿un asesino silencioso?, *Educ. Química*. 31 (2020) 2. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2020.1.69709>.
- [74] O.M. Ahmed, M.T. Mohammed, Oxidative Stress: the Role of Reactive Oxygen Species (Ros) and Antioxidants in Human Diseases, *Plant Arch.* 20 (2020) 4089–4095.
- [75] C.C. Carvajal, Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo, *Rev. Med. Leg. Costa Rica*. 36 (2019) 91–100.
- [76] T.F. Faria, R.F. Faria, I. Kamada, L.C.L. de S. Barreto, Topical Use of Green Propolis for Wound Healing: a Systematic Review of the Literature, *ESTIMA, Brazilian J. Enteros. Ther.* (2022) 1–11. https://doi.org/10.30886/estima.v20.1135_in.
- [77] Julio Font, Reoxcare Apósito, 2018.
- [78] N. Tena, J. Martín, A.G. Asuero, State of the Art of Anthocyanins: Antioxidant Activity, Sources, Bioavailability, and Therapeutic Effect in Human Health, *Antioxidants*. 9 (2020). <https://doi.org/10.3390/antiox9050451>.
- [79] Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural, Lista, producción nacional de flores para los festejos del Día de la Madre, Gob. México. (2021).
- [80] Equipartes Agrícolas, La industria de la Flor en México., México, 2019.
- [81] Magdiel Olano | Luisa Rentería | José Luis Prado, Puebla y su gran producción de flores de calidad, Puebla, 2021.
- [82] Emily, Clavel blanco con patrón de capullo, 2024.
- [83] labclinics, Factores de solubilidad al elegir un solvente, *Small Mol.* (2023). <https://www.labclinics.com/2020/11/16/factores-de-solubilidad-al-elegir-un-solvente/>.
- [84] J. L.G. Wade, *Química Orgánica*, Gabriela L, Pearson, México, 2012.
- [85] A. Ramírez Ríos, A.M. Polack Peña, Estadística inferencial. Elección de una prueba estadística no paramétrica en investigación científica, *Horiz. la Cienc.* 10 (2020) 191–208. <https://doi.org/10.26490/uncp.horizonteciencia.2020.19.597>.
- [86] S. Kapoor, R. Raghuvanshi, P. Bhardwaj, H. Sood, S. Saxena, O.P. Chaurasia, Influence of light quality on growth, secondary metabolites production and antioxidant

- activity in callus culture of *Rhodiola imbricata* Edgew, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 183 (2018) 258–265.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.04.018>.
- [87] Y. Li, D. Kong, Y. Fu, M.R. Sussman, H. Wu, The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants, *Plant Physiol. Biochem.* 148 (2020) 80–89.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>.
- [88] M. Erb, D.J. Kliebenstein, Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy, *Plant Physiol.* 184 (2020) 39–52. <https://doi.org/10.1104/pp.20.00433>.
- [89] V. Freitas, O mundo colorido das antocianinas, *Cienc. Elem.* 7 (2019).
<https://doi.org/http://doi.org/10.24927/rce2019.017>.
- [90] H. Nawaz, M.A. Shad, N. Rehman, H. Andaleeb, N. Ullah, Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds, *Brazilian J. Pharm. Sci.* 56 (2020).
<https://doi.org/https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000417129>.
- [91] G.A.J. Brian, Influencia de las características del solvente en la eficiencia de recuperación del betacaroteno a partir de la alfalfa (*Medicago sativa* L.), Universidad Nacional San Luis Gonzaga, 2022.
- [92] C.E. Flores Tapia, K.L. Flores Cevallos, Pruebas para comparar la normalidad de datos en procesos productivos:: Anderson-Darling, Ryan-Joiner, Shapiro-Wilk Y Kolmogórov-Smornov, *Societas.* 23 (2021) 83–106.
- [93] Minitab, (2024). <https://www.minitab.com/en-us/>.
- [94] D. Khatri, S.B.B. Chhetri, Reducing Sugar, Total Phenolic Content, and Antioxidant Potential of Nepalese Plants, *Biomed Res. Int.* 2020 (2020).
<https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2020/7296859>.
- [95] F. Bärlocher, M.A.S. Graça, Total Phenolics BT - Methods to Study Litter Decomposition: A Practical Guide, en: F. Bärlocher, M.O. Gessner, M.A.S. Graça (Eds.), Springer International Publishing, Cham, 2020: pp. 157–161.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-30515-4_18.
- [96] R.M. de J. Mex-Álvarez, M.M. Guillen-Morales, P.M. Garma-Quen, B. Sarabia-Alcocer, D. Yanez-Nava, J.L. Kantún-Haas, M.I. Novelo-Pérez, Actividad antioxidante de *Cochlospermum Vitifolium*., *Agric. Sci. Res.* 2 (2022).
<https://doi.org/10.22533/at.ed.9732152212114>.
- [97] D.A. Flores, V.F. Benavides, V.L. Castillo, I.B. Vallejo, Beristain, F. de F.R. Cárdenas, Determinación de metabolitos secundarios en especies de amaranto, *BioTecnología.* 27 (2023) 4.
- [98] J. Carrasco-Sandoval, I. Falcó, G. Sánchez, M.J. Fabra, A. López-Rubio, A. Rodríguez, K. Henríquez-Aedo, M. Aranda, Multivariable optimization of ultrasound-assisted extraction for the determination of phenolic and antioxidants compounds from

arrayan (*Luma apiculata* (DC.) Burret) leaves by microplate-based methods and mass spectrometry, *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants.* 28 (2022) 100356. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100356>.

- [99] Z. Zulfisa, R. Fika, M. Agusfina, Y. Yonrizon, A. Muhsanah, Determination of Total Phenolic Content of Ethanol Extract of Broken Bone Twigs (*Euphorbia tirucalli* Linn.) by Folin-Ciocalteu Method Spectrophotometrically, *J. EduHealth.* 14 (2023) 1326–1331. <https://doi.org/10.54209/jurnaeduhealth.v14i3.2603>.
- [100] Z. Adam, R. Razali, D.J. Arapoc, A.H.A. Aziz, N.. Marsiddi, DPPH Radical Scavenging and Folin-Ciocalteu Assays: Simple and Reliable Methods to Quantify Antioxidant Activity and Total Phenolic Content, *Proc. Nucl. Tech. Conv.* (2021) 1–8.
- [101] Z. Teng, X. Jiang, F. He, W. Bai, Qualitative and Quantitative Methods to Evaluate Anthocyanins, *eFood.* 1 (2020) 339–346. <https://doi.org/https://doi.org/10.2991/efood.k.200909.001>.