



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

INSTITUTO DE HORTICULTURA

COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN BRÁCTEAS DE *Euphorbia pulcherrima* Y ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LA VARIEDAD “Amanecer Navideño”

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Presenta:

KARLA ELIZABETH GONZÁLEZ GARCÍA

Bajo la supervisión de:

DRA. MARÍA TERESA BERYL COLINAS LEÓN



**INSTITUTO DE
HORTICULTURA**



APROBADA

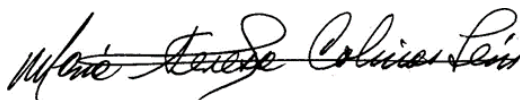


Chapingo, Estado de México, abril de 2021

COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN BRÁCTEAS DE *Euphorbia pulcherrima* Y ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LA VARIEDAD “Amanecer Navideño”

Tesis realizada por **KARLA ELIZABETH GONZÁLEZ GARCÍA**, bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

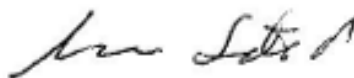
DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA



DIRECTOR: DRA. MARÍA TERESA BERYL COLINAS LEÓN



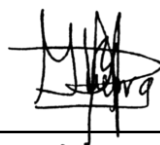
ASESOR: DRA. MARÍA DEL ROSARIO GARCÍA MATEOS



ASESOR: DR. RAMÓN MARCOS SOTO HERNÁNDEZ



ASESOR: DRA. MARÍA EUGENIA GARÍN AGUILAR



LECTOR EXTERNO:

DRA. DIANA GUERRA RAMÍREZ

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
DEDICATORIA	viii
AGRADECIMIENTOS	ix
DATOS BIOGRÁFICOS	xii
RESUMEN GENERAL	xiii
GENERAL ABSTRACT	xiv
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1 Objetivos.....	2
1.1.1 Objetivo general	2
1.1.2 Objetivos específicos.....	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1 Descripción de <i>Euphorbia pulcherrima</i> Willd. Ex Klotzsch.....	2
2.2 Producción mundial	3
2.3 Producción en México	3
2.4 Importancia de la nochebuena de sol en México.....	4
2.5 Importancia para consumo humano	4
2.6 Metabolitos secundarios de plantas.....	5
2.6.1 Compuestos fenólicos	7
2.7 Actividad antioxidante en plantas	10
2.7.1 Compuestos naturales que proporcionan capacidad antioxidante.....	10
2.7.2 Técnicas para determinar capacidad antioxidante.....	12
2.8.1 Cromatografía de líquidos en plantas	13
2.9 Propiedades medicinales de la Nochebuena.....	14
2.9.1 Antecedentes empíricos de <i>Euphorbia pulcherrima</i> (Nochebuena).....	14
2.9.2 Antecedentes experimentales de <i>Euphorbia pulcherrima</i> (Nochebuena)	14

2.10 Literatura Citada	15
3. ANTIOXIDANT PROPERTIES IN BRACTS OF SUN POINSETTIA (<i>Euphorbia pulcherrima</i>) FROM MÉXICO	19
3.1 Resumen	19
3.2 Abstract	20
3.3 Introduction.....	21
3.4 Materials and methods	22
3.4.1 Plant material	22
3.4.2 Extraction method	22
3.4.3 Total phenolic and flavonoids evaluation.....	22
3.4.4 Antioxidant capacity evaluation	22
3.5 Results and Discussion	23
3.5.1 Total phenolic and flavonoids	23
3.5.2 Antioxidant capacity.....	25
3.6. Conclusions	26
3.7 Literature cited	26
4. ACIDOS FENÓLICOS Y FLAVONOIDES IDENTIFICADOS POR CLAR EN BRÁCTEAS DE CINCO VARIEDADES DE <i>Euphorbia pulcherrima</i>	29
4.1 Resumen	29
4.2 Abstract	30
4.3 Introducción	31
4.4 Materiales y Métodos.....	32
4.4.1 Material vegetal	32
4.4.2 Método de extracción	33
4.4.3 Determinación de ácidos fenólicos y flavonoides libres por CLAR	33
4.4.4 Analisis estadístico	34
4.5 Resultados y Discusión	34
4.5.1 Ácidos fenólicos	34
4.5.2 Flavonoides	36

4.6 Conclusiones	39
4.7 Literatura Citada	42
5. PROPIEDADES QUÍMICAS, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO METANÓLICO DE BRÁCTEAS DE <i>Euphorbia pulcherrima</i>.....	45
5.1 Resumen	45
5.2 Abstract	46
5.3 Introducción	47
5.4 Materiales y Métodos.....	50
5.4.1 Material vegetal	50
5.4.2 Método de extracción	50
5.4.3 Pruebas químicas.....	51
5.4.4 Evaluación de la actividad antiinflamatoria.....	52
5.5 Resultados y Discusión	54
5.5.1 Material vegetal	54
5.5.2 Método de extracción	54
5.5.3 Pruebas químicas.....	54
5.5.4 Evaluación de la actividad antiinflamatoria.....	59
5.6 Conclusiones	63
5.7 Perspectivas	63
5.8 Literatura Citada	63

LISTA DE CUADROS

Table 1. Total phenolic (CFT), total flavonoids (FT) and antioxidant capacity (ABTS, DPPH, FRAP) in bracts from five varieties of sun euphorbias.....	24
Cuadro 2. Identificación y cuantificación de ácidos fenólicos mediante CLAR en extractos metanólico-acuosos de <i>Euphorbia pulcherrima</i>	40
Cuadro 3. Identificación y cuantificación de flavonoides mediante CLAR en extractos metanólico-acuosos de <i>Euphorbia pulcherrima</i>	41
Cuadro 4. Contenido de fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidante del extracto metanólico de brácteas de <i>Euphorbia pulcherrima</i> variedad “Amanecer Navideño”	56
Cuadro 5. Ácidos fenólicos identificados en el extracto metanólico de brácteas de la variedad “Amanecer Navideño” por CLAR	57
Cuadro 6. Flavonoides identificados en el extracto metanólico de brácteas de la variedad “Amanecer Navideño” por CLAR.....	58
Cuadro 7. Efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de brácteas de <i>Euphorbia pulcherrima</i> variedad “Amanecer Navideño”	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diversos platillos elaborados con brácteas de nochebuena.	5
Figura 2. Relaciones entre el metabolismo primario y secundario de las plantas, origen biosintético de los principales grupos de metabolitos secundarios (Azcón-Bieto & Talón, 2013)	6
Figura 3. Estructura química del fenol. (Peñarrieta <i>et al.</i> , 2014)	8
Figura 4. Ejemplos de ácidos fenólicos simples, biosintetizados a partir del ácido benzoico y del ácido cinámico. 1) ácido gálico, 2) ácido protocatecuico, 3) ácido p-hidroxibenzoico, 4) ácido salicílico, 5) ácido p-cumarico, 6) ácido cafeico, 7) ácido ferulico, 8) ácido sinapico. Tomado y modificado de Marchiosi et al. (2020).	8
Figura 5. Estructura básica de los flavonoides, sus clases y subclases. Raffa et al. (2017).	9
Figura 6. Compuestos fenólicos que confieren actividad antioxidante. Tomado y modificado de Shahidi & Ambigaipalan (2015).	11
Figure 7. Total phenolic content (CFT) and total flavonoids (FT) in bracts of five varieties of sun Poinsettia	26
Figura 8. Estructuras de los ácidos fenólicos detectados en variedades de <i>Euphorbia pulcherrima</i>	36
Figura 9. Estructuras de los flavonoides detectados en variedades de <i>Euphorbia pulcherrima</i>	38
Figura 10. Medias de los porcentajes de inflamación obtenidos con el modelo auricular inducido por TPA, los valores con la misma letra son similares estadísticamente (HSD de Duncan, $p \geq 0.05$) $\pm$ error estándar de la media.....	59

DEDICATORIA

A mi madre: **Patricia García Espejel,**

mi ejemplo a seguir y pilar importante en mi vida,
tu amor y apoyo incondicionales me han impulsado a obtener todo lo que me
propongo.

A mi padre: **Carlos González Flores**

mi guardián y pilar importante en mi vida,
tu amor y orientación en todo momento me han ayudado para perseguir mis
sueños.

A mi hermano: **Arturo Iván González García**

mi compañero de aventuras y pilar importante en mi vida,
tu amor y momentos de alegría fueron fundamentales para alcanzar este logro,
estoy orgullosa de ser tu hermana.

A mi **Juan**, gracias por llegar a mi vida y llenarla de alegría, tus muestras de
cariño y de apoyo fueron cruciales en este proceso, muchas gracias mi amor.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, por aceptarme en su matrícula académica y permitirme alcanzar mis mayores logros profesionales.

Al Posgrado en Ciencias en Horticultura del Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Fitotecnia por darme la oportunidad de realizar el doctorado y brindarme las herramientas necesarias para lograrlo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico que me fue otorgado y que hizo posible alcanzar un grado más en mi formación profesional.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), especialmente a la Dra. María Eugenia Garín Aguilar por el apoyo brindado en la fase experimental en el Laboratorio de Farmacobiología de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

A mis asesores:

Dra. María Teresa Beryl Colinas León por permitirme ser su alumna y por todas las valiosas orientaciones y aportaciones para realizar el presente trabajo de investigación, pero sobre todo por brindarme su amistad y apoyo incondicionales que hicieron posible que lograra este objetivo.

Dra. María del Rosario García Mateos por sus invaluable conocimientos y aportaciones al presente trabajo de investigación, pero sobre todo por su cariño y apoyo en todo momento.

Dr. Marcos Ramón Soto Hernández por guiarme y brindarme sus invaluable conocimientos y asesorías que hicieron posible la realización de este trabajo, aprendí mucho de usted personal y profesionalmente.

Dra. María Eugenia Garín Aguilar por la entrega y el compromiso, sus aportaciones fueron enriquecedoras en este proyecto, pero sobre todo gracias por las muestras de afecto hacia mi persona.

Dra. Diana Guerra Ramírez por ser un pilar importante en mi formación académica y profesional durante mi estancia en Chapingo, no tengo palabras para expresarle lo mucho que agradezco haber sido su alumna y por todos los momentos en los que me brindó su amor y apoyo incondicionales.

Al Dr. Juan Guillermo Cruz Castillo por su invaluable apoyo y orientaciones durante mi estancia en Chapingo, sin usted este logro tampoco sería posible.

Al Dr. José Oscar Mascorro Gallardo por sus orientaciones y finas atenciones en el proceso de revisión y aprobación de la tesis.

A los profesores del posgrado en Horticultura, por aportarme nuevos conocimientos y enseñanzas valiosas en mi formación académica.

Al personal administrativo Rogelio, Angie, Anita y Químico Cecilio por su amabilidad y las facilidades otorgadas en los trámites durante mi estancia en el posgrado.

Al M.C. Rubén San Miguel Chávez por su amabilidad y apoyo en el laboratorio de cromatografía de líquidos del área de Fitoquímica.

A mis compañeros del laboratorio de Productos Naturales del Departamento de Preparatoria Agrícola; Cunill, Maty, Jessie, Guille, Maggie, Chelita, Paola, Uli, Anselmo y Néstor, por brindarme su amistad y apoyo en todo momento y por hacer más amena mi fase experimental.

A mis amigos del laboratorio de Farmacobiología de la Fes- Iztacala (UNAM); Itzel, Larissa, Yarumi, Eli, y especialmente a Josué por todas las facilidades y apoyo durante mi estancia en el Laboratorio.

A mis amigos; Mitzy, Cecy, Oli, Linda, Víctor, Yamir, Naty, Yutzill, Alonso, gracias por las vivencias adquiridas y momentos inolvidables durante mi estancia en Chapingo.

A mis compañeros de posgrado; Carito, Julio, Monse, Violeta, Charlie, Cristian, Rubí, Liz, Ángel, Silvia, Claudia e Ismael gracias por brindarme su amistad y apoyo incondicional durante mi estancia en el doctorado.

A mis amigos del Colegio de Postgraduados, campus Montecillo; Rafita, Martha, Sarita, Iván, Beto, Viridiana, Mariquita, Elisa, gracias por su apoyo académico y muestras de cariño.

A mi amiga de la infancia, Marianita, te agradezco por que fuiste la primera en impulsarme a alcanzar estos logros, te quiero mucho.

A Dios y a la vida por permitirme concluir esta etapa con éxito.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre: Karla Elizabeth González García

Fecha de nacimiento: 7 de noviembre de 1991

Lugar de nacimiento: Huatusco de Chicuellar, Veracruz.

CURP: GOGK911107MVZNRR09

Profesión: Maestro en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria

Cédula profesional: 10643804

Desarrollo académico

Preparatoria: Bachilleres Huatusco

Licenciatura: Facultad de Nutrición, Universidad Veracruzana

Maestría: Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo

RESUMEN GENERAL

COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN BRÁCTEAS DE *Euphorbia pulcherrima* Y ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LA VARIEDAD “Amanecer Navideño”

La nochebuena silvestre (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotsch) es una de las plantas ornamentales más representativas de México. Actualmente se encuentran registradas distintas variedades las cuales son de gran importancia cultural y económica. La nochebuena de sol es una de las variantes ampliamente cultivada en el sector ornamental. Desde la época prehispánica la nochebuena se ha empleado con fines alimenticios y medicinales, sin embargo, existe escasa información que respalde estos usos. En este estudio se cuantificó el contenido total de compuestos fenólicos (CFT) y flavonoides (FT), se identificaron algunos ácidos fenólicos y flavonoides por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) y se determinó la capacidad antioxidante mediante los métodos de FRAP, DPPH y ABTS en los extractos metanólicos de las brácteas de cinco variedades de nochebuena de sol. Además, se evaluó la actividad antiinflamatoria de la variedad “Amanecer Navideño” mediante el modelo de edema auricular inducido por 12-O-Tetradecanoilforbol-13-acetato TPA. La variedad “Corona” presentó la mayor concentración de CFT (87.56 ± 2.54 mg EAG mg EC g⁻¹ bs); mientras que la variedad “Amanecer Navideño” superó el contenido de los FT (14.39 ± 1.04 mg EC g⁻¹ bs) en comparación a las variedades restantes y mostró la mayor capacidad antioxidante, propiedad asociada al contenido de flavonoides totales (correlación de Pearson). Los análisis cromatográficos mostraron que los ácidos fenólicos gálico y siríngico, así como el flavonoide rutina fueron los metabolitos con las concentraciones más altas en las variedades analizadas. La dosis de 750 µg/10µL del extracto metanólico de brácteas de la variedad “Amanecer Navideño” presentó actividad antiinflamatoria moderada, inhibiendo el edema en 49.08 %. Los resultados de este estudio sustentan el uso tradicional de *Euphorbia pulcherrima* como antiinflamatorio tópico, efecto relacionado con el contenido de metabolitos secundarios detectados en el extracto metanólico de las brácteas.

Palabras clave: *Euphorbia pulcherrima*, capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, actividad antiinflamatoria

GENERAL ABSTRACT

ANTIOXIDANT COMPOUNDS ON BRACTS FROM *Euphorbia pulcherrima* AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY FROM THE “Amanecer Navideño” VARIETY

The poinsettia willd (*Euphorbia pulcherrima* Willd. Ex Klotsch) is one the most representative ornamentals plants of Mexico. Nowadays, there are different registered varieties registered which are of great cultural and economic importance. The Sun-poinsettia is one of the widely cultivated varieties in the ornamental sector. Since pre-Hispanic times, poinsettia has been used for food and medicinal purposes; however, there is little information that supports these uses. In the present study the total phenolic compounds (CFT) and flavonoids (FT) were quantified, some phenolic acids and flavonoids were identified by high-performance liquid chromatography (HPLC) and the antioxidant capacity was determined using the FRAP, DPPH and ABTS assays in the methanolic extracts of bracts from five varieties of Sun-poinsettia. Anti-inflammatory activity on the “Amanecer Navideño” was also evaluated using the 12-Tetradecanoylphorbol-13-acetate TPA-induced ear oedema model. The “Corona” variety presented the highest concentration of CFT (87.56 ± 2.54 mg EAG mg EC g⁻¹ bs); the “Amanecer Navideño” variety exceeded the content of FT compared to the remaining varieties (14.39 ± 1.04 mg EC g⁻¹ bs) and it showed the highest antioxidant capacity, property associated to the total flavonoid content (Pearson correlation). Chromatographic analysis showed that gallic and syringic phenolic acids, as well as rutine flavonoid were the metabolites that presented the highest concentrations in the analyzed varieties. The dose of 750 µg/10µL from the methanolic extract of bracts from the variety “Amanecer Navideño” showed moderate anti-inflammatory activity, with an inhibition edema percentage of 49.08%. The results of the present study sustain the traditional use of *Euphorbia pulcherrima* as topical anti-inflammatory, this effect is related to the content of secondary metabolites detected in the methanolic extract from the bracts.

Key words: *Euphorbia pulcherrima*, antioxidant capacity, phenolic compounds, anti-inflammatory activity

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

En los últimos años se ha despertado un creciente interés en el consumo de alimentos no procesados que además de aportar los nutrientes necesarios, contengan compuestos benéficos a la salud humana (Grabowska et al., 2019). Actualmente se ha retomado el consumo de diversas fuentes de origen vegetal ya que de ellas se obtienen un alto contenido de compuestos bioactivos. Tal es el caso de las flores comestibles, que además de contribuir a la apariencia estética de los alimentos también son una rica fuente de compuestos benéficos a la salud (Mlcek & Rop, 2011). La florifagia, es decir el consumo de flores, es una práctica milenaria en países del medio oriente, así como en nuestro país (Lara-Cortés et al., 2013). México cuenta con una amplia variedad de flores que se consumen principalmente en las localidades, sin embargo, no existe suficiente información acerca de su valor nutrimental (Sotelo et al., 2007) un claro ejemplo de ello es la flor de pascua, *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotsch (Euphorbiaceae), mejor conocida como nochebuena (Gonzalez et al., 2020). Esta planta crece de manera silvestre en los bosques tropicales mexicanos y comparada con las plantas domesticadas, las plantas silvestres de nochebuena tienen tallos altos, brácteas más estrechas, flores más numerosas y grandes y presenta tres variantes de colores: blanco, rosa y amarillo (Trejo et al., 2012). Una de las variantes ampliamente cultivada en México es la nochebuena de sol, esta variante es el resultado de la selección, reproducción y modificaciones realizadas por algunos viveristas a partir de la nochebuena silvestre (Galindo-García et al., 2012), dando origen a las variedades de dominio público, actualmente producidas para su uso comercial (Galindo-García et al., 2012). Estas variedades solo son conocidas y producidas por su potencial ornamental, sin embargo, existe poca información acerca de su consumo y beneficio a la salud. Debido a esto, la investigación de sus propiedades antioxidantes y medicinales es relevante para seguir explorando otros potenciales en futuras investigaciones.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Evaluar las propiedades antioxidantes y medicinales presentes en las brácteas de variedades de nochebuena de sol (*Euphorbia pulcherrima* Will. Ex Klotzsch).

1.1.2 Objetivos específicos

1. Determinar los contenidos de los compuestos fenólicos totales y de flavonoides totales presentes en las brácteas, así como, cuantificar las concentraciones de algunos ácidos fenólicos y flavonoides mediante CLAR.
2. Evaluar la capacidad antioxidante de las brácteas mediante los métodos DPPH, FRAP y ABTS.
3. Determinar la actividad antiinflamatoria de las brácteas mediante el modelo de edema auricular inducido por 12-O-Tetradecanoilforbol-13-acetato TPA.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Descripción de *Euphorbia pulcherrima* Willd. Ex Klotzsch

Con cerca de 200 especies y una distribución subcosmopolita, una de las más largas y complejas subtribus es Euphorbiinae, dominada por el género *Euphorbia* (Steinmann & Porter, 2002). Este género cuenta con el 80 % de las especies que se encuentran en el rango geográfico de la subtribu, y es ampliamente identificado por la nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) (Steinmann & Porter, 2002). Las plantas silvestres de nochebuena crecen de manera natural en los bosques tropicales subcaducifolios, desde Sinaloa, en México hasta Guatemala (Trejo-Hernández et al., 2015). En comparación con las plantas domesticadas, las plantas silvestres tienen tallos altos y no ramificados con entrenudos largos, las brácteas son mucho más estrechas y menos brillantes (Trejo et al., 2012).

2.2 Producción mundial

La nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Will. Ex Klotzsch) es una de las líneas de plantas con flores en maceta, más importante a nivel mundial, se vende por sus coloridas inflorescencias (ciatios) y brácteas (hojas en transición) (Islam & Joyce, 2015). Los indicadores más importantes de una buena calidad pos cosecha en la nochebuena son brácteas de color uniforme, completamente formadas, turgentes y libres de imperfecciones (Islam & Joyce, 2015). Su mercado está dirigido a las regiones en donde celebran la Navidad incluidas América del Norte, Europa, Asia y Australia. Las nochebuenas en maceta tienen brácteas de color rojo, rosa o blanco (Islam & Joyce, 2015).

La nochebuena se considera un símbolo contemporáneo de la Navidad en muchas partes del mundo. La producción en los Estados Unidos y en la Unión Europea es de 50 y 100 millones de plantas por año respectivamente (Lütken et al., 2012).

2.3 Producción en México

En 2017, se establecieron en México 18.05 millones de plantas de nochebuena con un valor de producción de 576.08 millones de pesos (SIAP, 2018). Morelos es el principal estado productor de nochebuena de sol, seguido de Michoacán, Puebla, Estado de México y Distrito Federal (Galindo-García et al., 2015)

En el estado de Morelos, México, se comercializan en promedio seis millones de nochebuenas al año, mientras que a nivel país es de aproximadamente 25 millones de plantas. El productor de flor de nochebuena tiene la oportunidad de elegir para su cultivo entre más de 60 variedades e híbridos de obtención extranjera (Canul-Ku et al., 2015). Existe otra variante comúnmente cultivada en México conocida como nochebuena de sol (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) este recurso fitogenético nativo tiene gran importancia económica en el sector ornamental (Galindo-García et al., 2015)

Hasta inicios de los sesentas, la planta de nochebuena de sol comúnmente cultivada era la variedad “Valenciana” apropiada para jardines. En el municipio de Cuernavaca la producción de nochebuena de sol es de mucha tradición, el conocimiento empírico adquirido sobre el cultivo se transmite de generación en generación (Galindo-García et al., 2012)

2.4 Importancia de la nochebuena de sol en México

El uso principal de la nochebuena de sol es ornamental en jardines y otros espacios públicos, también se emplea como flor de corte, además de que se le atribuyen ciertas propiedades medicinales (Colinas et al., 2015). Actualmente se reconocen cinco variedades de nochebuena de sol registradas en el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS): ‘Valenciana’, ‘Juan Pablo’, ‘Rehilete’, ‘Belén’ y ‘Amanecer navideño’, estas se denominan como variedades de dominio público y son resultado de la selección, reproducción y modificaciones realizadas por algunos viveristas a partir de las nochebuenas criollas provenientes de : Tetela del Monte, Tepoztlán, Oaxtepec, Jiutepec y Ahuatepec, en el estado de Morelos (Colinas et al., 2015)

2.5 Importancia para consumo humano

Actualmente el consumo de flores (florifagia) está tomando fuerza entre la población, aunque se conoce que esta actividad no es reciente ya que muchas culturas milenarias han incluido las flores en su alimentación, algunas culturas como la china y la romana ya consumían flores (Lara-Cortés et al., 2013). En México aún se conserva esta costumbre ya que algunas poblaciones autóctonas siguen incluyéndolas en sus platillos. Debido a sus características, son múltiples los usos que se le dan a las flores cuando se incluyen en la gastronomía ya que se puede comer parte o toda su estructura aplicando diferentes técnicas de cocción (Lara-Cortés et al., 2013).

La elaboración de platillos en México a base de flores incluye el mayor número de sopas, cremas, tamales, guisos, ensaladas, mermeladas y postres, tal es el caso de la emblemática flor de calabaza (*Cucurbita pepo*) la cual se utiliza en diferentes platillos típicos mexicanos (Caballero-Roque et al., 2009), sin embargo

existe muy poca información acerca del consumo de *Euphorbia pulcherrima* (nochebuena) ya que se cree es tóxica, no obstante, la Nochebuena está considerada dentro de las plantas de baja toxicidad, esto debido a que después de ser consumida los signos de malestar estomacal son muy limitados (Bates, 2018)

En Taxco, Guerrero se realiza un festival en honor a la Cuetlaxochitl (Nochebuena) donde se lleva a cabo una muestra gastronómica en la cual se consumen las brácteas de la Nochebuena de sol deshidratadas incorporadas en diversos platillos y postres tales como; ensaladas, carnes, tortillas, gelatinas y pasteles (Figura 1).



Figura 1. Diversos platillos elaborados con brácteas de nochebuena.

2.6 Metabolitos secundarios de plantas

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples (Ávalos & Pérez, 2009), la mayor parte del carbono, del nitrógeno y de la energía asimilados por las plantas

termina en moléculas comunes tales como los aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos denominados metabolitos primarios (Ávalos & Pérez, 2009). Existe otro tipo de moléculas que suelen sintetizarse en las plantas para necesidades particulares denominados metabolitos secundarios (Kabera et al., 2014), al igual que los metabolitos primarios, comparten ciertos propósitos biológicos en diferentes especies, a menudo pueden ser creadas por rutas sintéticas modificadas del metabolismo primario, o comparten sustratos del mismo origen metabólico (Kabera et al., 2014).

Figura 2. Relaciones entre el metabolismo primario y secundario de las plantas, origen biosintético de los principales grupos de metabolitos secundarios (Azcón-Bieto & Talón, 2013)

microorganismos (virus, bacterias y hongos), la competencia por el espacio de suelo, la luz y los nutrientes entre las diferentes especies de plantas y la exposición a la luz solar u otros tipos de estrés abióticos (Sepúlveda-Jiménez et al., 2003). Pueden ser clasificados con base en su estructura química (por ejemplo; si tienen anillos o una glucosa), composición (si contienen nitrógeno o no), su solubilidad en varios solventes, o de la ruta metabólica de la cual fueron sintetizados (Tiwari & Rana, 2015).

Se pueden agrupar en cuatro grandes categorías tales como; terpenoides (carotenoides, esteroides, glicósidos cardiacos y compuestos volátiles), fenoles (lignanoides, ácidos fenólicos, taninos, cumarinas, ligninas, estilbenos y flavonoides) compuestos que contienen nitrógeno (aminoácidos no proteicos, glucósidos cianógenos y alcaloides) y compuestos que contienen azufre tales como glucosinolatos (Ahmed et al., 2017) sulfuros orgánicos (Vélez-Terranova et al., 2014) y tiofenos acetilénicos (Zeni et al., 2001).

2.6.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos, son uno de los grupos de fitoquímicos ampliamente presentes y de considerable importancia fisiológica y morfológica en las plantas (Balasundram et al., 2006). Algunos compuestos fenólicos se encuentran distribuidos en el reino vegetal, mientras que otros son específicos de ciertas familias, o solo es posible encontrarlos en algunas estructuras anatómicas al igual que en diferentes etapas del desarrollo de las plantas (Cheynier, 2012).

El fenol es la estructura base de los compuestos fenólicos (Figura 3), se compone de un anillo aromático (fenilo) unido a un grupo hidroxilo (OH) (Peñarrieta et al., 2014). La presencia del anillo aromático hace que los ácidos débiles generen un efecto inductivo en el hidrogeno del grupo hidroxilo, el anillo aromático juega un papel importante en las propiedades antioxidantes (Peñarrieta et al., 2014).

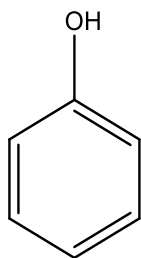


Figura 3. Estructura química del fenol. (Peñarrieta *et al.*, 2014)

En general los compuestos fenólicos se pueden agrupar en; polifenoles como la lignina y taninos; oligofenoles por ejemplo; los flavonoides, estilbenos y cumarinas y en monofenoles (ácidos fenólicos simples) los cuales se subdividen en derivados del ácido benzoico (ácidos hidroxibenzoicos) y derivados del ácido cinámico (ácidos hidroxicinámicos) (Figura 4) (Marchiosi *et al.*, 2020).

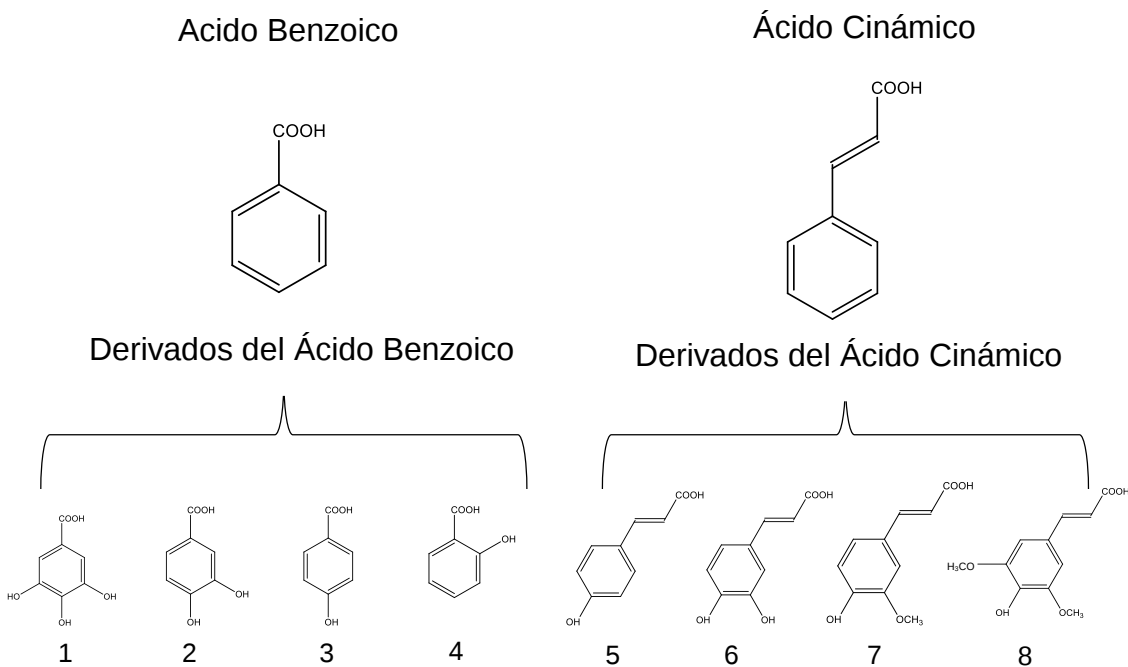


Figura 4. Ejemplos de ácidos fenólicos simples, biosintetizados a partir del ácido benzoico y del ácido cinámico. 1) ácido gálico, 2) ácido protocatecuico, 3) ácido *p*-hidroxibenzoico, 4) ácido salicílico, 5) ácido *p*-cumarico, 6) ácido cafeico, 7) ácido ferulico, 8) ácido sinapico. Tomado y modificado de Marchiosi *et al.* (2020).

Los ácidos fenólicos son de los grupos de metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Ghasemzadeh & Ghasemzadeh, 2011), presentan funciones que han sido objeto de investigación de muchas áreas como la agricultura, biología, química y medicina (Ghasemzadeh & Ghasemzadeh, 2011).

Otro de los grupos de compuestos fenólicos ampliamente distribuidos son los flavonoides (Raffa et al., 2017), estos compuestos se denominan esenciales debido a que los animales y humanos no los pueden sintetizar, por lo tanto deben ser obtenidos en la dieta, además poseen potenciales efectos terapéuticos (Raffa et al., 2017).

Su estructura química es un esqueleto de 15 carbonos que consiste en dos anillos de fenilo llamados A y B ligados vía heterocíclica a un anillo 4H-pirano llamado C, las modificaciones de la estructura básica a través de los diferentes niveles de oxidación y sustituyentes del anillo C, da como resultado a diferentes clases de flavonoides (Raffa et al., 2017).

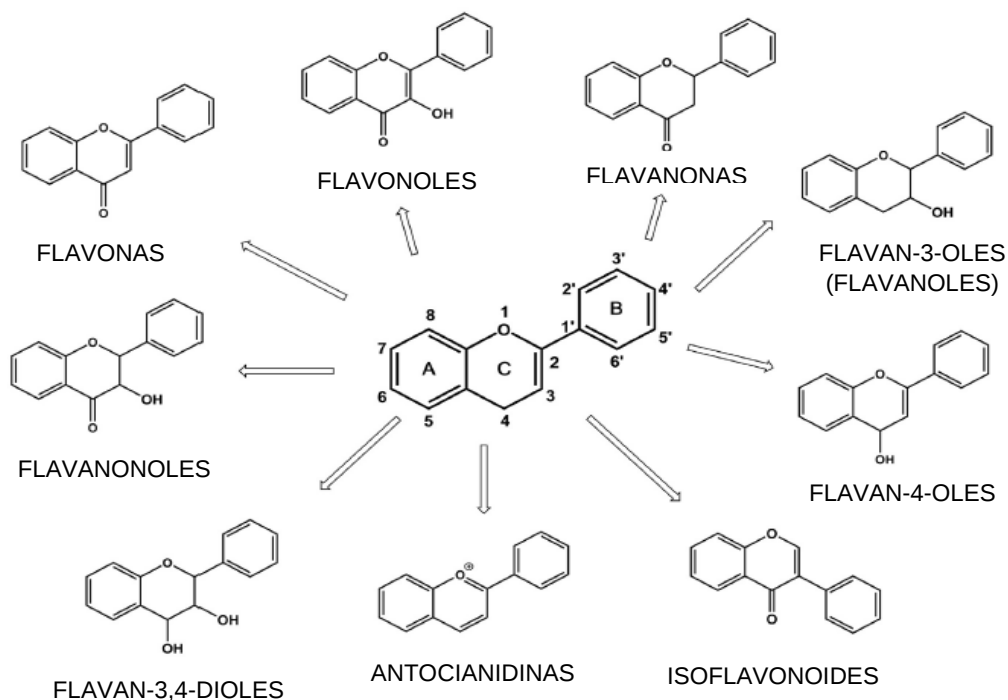


Figura 5. Estructura básica de los flavonoides, sus clases y subclases. Raffa et al. (2017).

2.7 Actividad antioxidante en plantas

Las especies reactivas de oxígeno (EROS) se encuentran en todo tipo de organismos desde microbios hasta plantas superiores y animales (Hamilton et al., 2012), se consideran subproductos del metabolismo en procesos como la fotosíntesis y respiración y son responsables de generar un estrés biótico y abiótico (Hamilton et al., 2012). Los antioxidantes varían en términos de cantidad dependiendo del tejido vegetal en el que se encuentren y la cantidad de EROS generados (Hamilton et al., 2012).

Los compuestos antioxidantes que se sintetizan en las plantas son conocidos como metabolitos secundarios, su principal función es actuar en los mecanismos de defensa de la planta y contrarrestar las especies reactivas de oxígeno (EROS) para poder evitar un daño oxidativo (Nićiforović et al., 2010). Existe un creciente interés en los estudios de los extractos de las plantas y aceites esenciales debido a su potencial antioxidante (Nićiforović et al., 2010).

La síntesis y acumulación de antioxidantes no enzimáticos (p.ej. carotenoides, ácidos fenólicos y flavonoides) en las plantas puede deberse a dos principales razones (Kasote et al., 2015); la primera es la habilidad innata de sintetizar una amplia variedad de fitoquímicos que actúan en las funciones fisiológicas normales o protegiendo a la planta de los patógenos y animales herbívoros y la segunda es la tendencia natural que tienen las plantas de sintetizar fitoquímicos que actúan como reductores en respuesta a las condiciones de estrés abiótico (Kasote et al., 2015).

2.7.1 Compuestos naturales que proporcionan capacidad antioxidante

Los compuestos que proporcionan capacidad antioxidante de origen natural son de naturaleza no enzimática, también conocidos como antioxidantes naturales, los podemos encontrar en la dieta, incluyendo al glutatión, tocoferol (vitamina E), vitamina C, β -caroteno y los compuestos fenólicos (Shalaby & Shanab, 2013).

Los fenoles son los compuestos de mayor importancia en cuanto a su potencial antioxidante, ya que su actividad se ha comprobado en estudios *in vivo* e *in vitro* (Kasote *et al.*, 2015). Los antioxidantes de tipo fenólico interfieren con los procesos de oxidación, inhibiendo los radicales libres y en algunas ocasiones como quelantes de metales, estos a su vez se pueden clasificar de acuerdo a la ruta biosintética de origen (Figura 6) (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

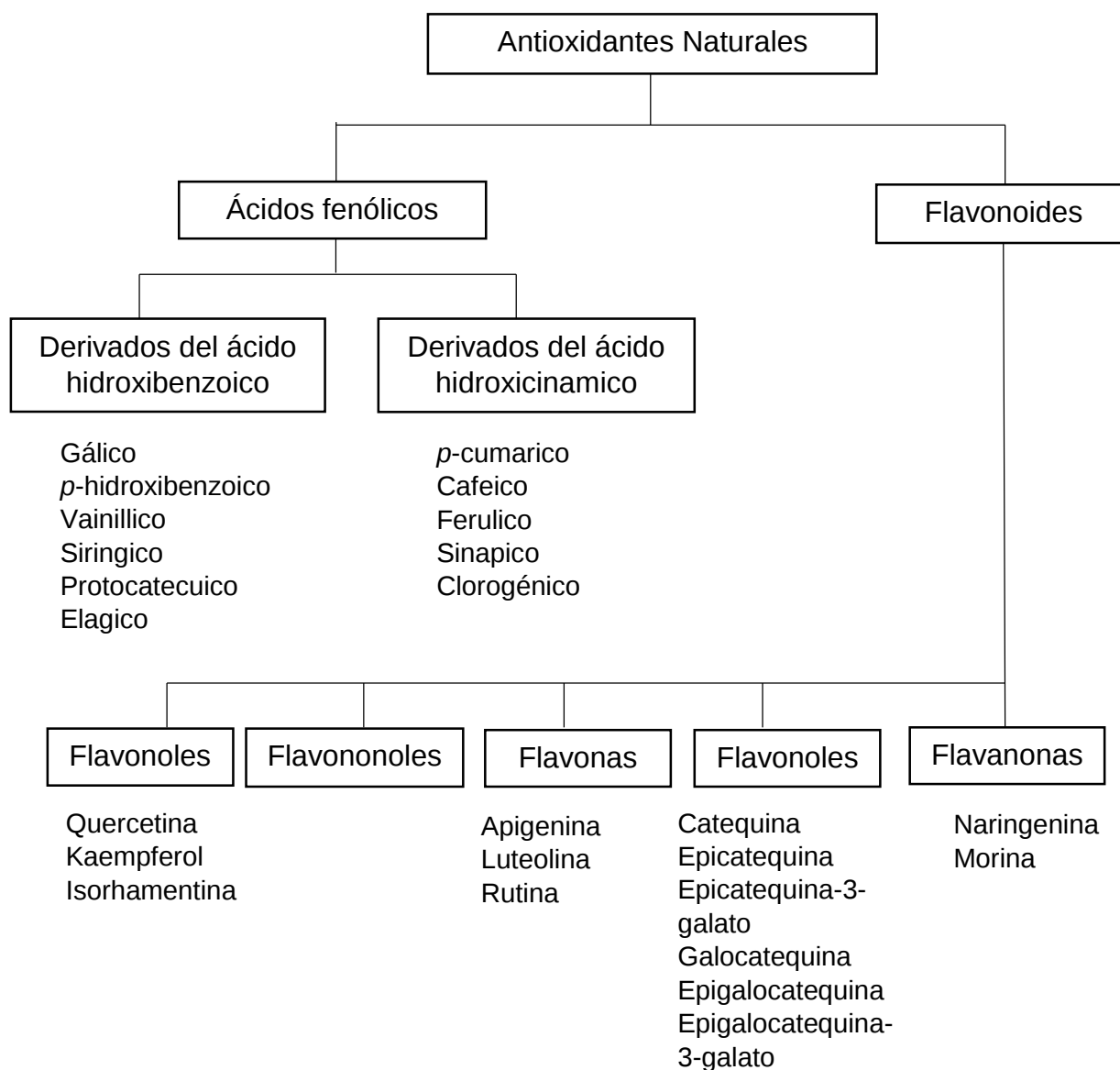


Figura 6. Compuestos fenólicos que confieren actividad antioxidante. Tomado y modificado de Shahidi & Ambigaipalan (2015).

2.7.2 Técnicas para determinar capacidad antioxidante

Los métodos para determinar la capacidad antioxidante, van a variar de acuerdo al tipo de sustrato oxidante, a los mecanismos de reacción, a la técnica de detección y a la expresión de los resultados (Shahidi & Zhong, 2015). Existe un amplio número de ensayos disponibles para medir directamente el potencial que presenta un antioxidante (Shahidi & Zhong, 2015), dependiendo de la reacción química involucrada estos ensayos se engloban en dos categorías, la primera se basa en la reacción de transferencia de átomos de hidrogeno (HAT) y la segunda en la transferencia de un electrón (ET) (Shahidi & Zhong, 2015).

Los métodos basados en el principio de la transferencia de un electrón (ET) incluyen a un agente oxidante (sustrato) que va a extraer un electrón del agente antioxidante, causando un cambio en la coloración del sustrato (Miguel, 2010). El cambio de coloración es proporcional a las concentraciones de antioxidantes de la muestra, el punto final de la reacción se alcanza cuando se detiene el cambio de color, la pendiente de la curva del cambio de absorbancia trazado contra la concentración del antioxidante va a reflejar la actividad antioxidante (Miguel, 2010). Algunos ejemplos de estos ensayos son; el poder reductor férrico (FRAP), la capacidad antioxidante equivalente de Trolox (ABTS) y el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (Miguel, 2010).

El ensayo de ABTS (2,2-bis-azino ácido, 3-etilbenzoatiazolina-6-sulfónico) fue descrito por Re *et al.* (1999), y se basa en la generación directa de una forma estable del radical antes de la reacción con los antioxidantes, para crear una coloración azul-verdosa, la ausencia de coloración indica el porcentaje de inhibición del ABTS que va a estar determinada por la concentración y el tiempo de reacción, los resultados se van a expresar en equivalentes de Trolox (MacDonald-Wicks *et al.*, 2006).

Por otro lado, el ensayo del poder reductor férrico (FRAP) descrito por Benzie and Strain (1996), utiliza una sal férrica como agente oxidante, además de que se requieren condiciones acidificantes (pH 3.6) para su uso, este método se basa

en la capacidad reductora, por lo tanto, los antioxidantes que no actúen de esta manera no podrán ser evaluados (MacDonald-Wicks *et al.*, 2006).

El método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) genera un cambio de coloración de morado a amarillo como consecuencia de la habilidad reductora de los antioxidantes hacia el radical estable del DPPH (Miguel, 2010), por lo general en este método se emplean solventes orgánicos tales como el metanol y etanol debido a la presencia de ácidos o bases de diversos compuestos (Miguel, 2010).

Dentro de los métodos basados en los cambios de coloración también se encuentra el método del poder reductor (RP) el cual se basa en el principio del incremento de absorbancia. El compuesto antioxidante reacciona con el complejo de ferricianuro de potasio, ácido tricloroacético y cloruro férrico, mostrando color. El incremento en la absorbancia de la mezcla indica el poder reductor de la muestra. La absorbancia es medida a 700 nm (Alam *et al.*, 2013). Otro método empleado para determinar el poder antioxidante de una muestra es el denominado ORAC (capacidad de absorbancia del radical oxígeno), este método revolucionario se basa en la formación de radicales libres usando AAPH (2,2'-azobis-2- amidinopropano hidroclicida) y en la medida del decremento de fluorescencia en presencia de radicales libres. Los resultados son expresados con unidades ORAC calculados a partir de los equivalentes de Trolox (Alam *et al.*, 2013).

2.8.1 Cromatografía de líquidos en plantas

Una de las técnicas analíticas ampliamente utilizadas para la detección y cuantificación de compuestos polares presentes en las plantas, es la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) o también conocido como cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC), ya que permite separar clases de constituyentes en función de su naturaleza y número de grupos funcionales (Cert & Moreda, 2000). Esta técnica analítica se ha convertido en uno de los más populares debido a su alta confiabilidad de separación e identificación de fitoquímicos (Tsao & Deng, 2004), su versatilidad está relacionada con sus

diferentes métodos de detección ya sea mediante el detector de arreglo de diodos (DAD) o acoplado a un espectrómetro de masas (MS) (Tsao & Deng, 2004).

2.9 Propiedades medicinales de la Nochebuena

México cuenta con una ubicación geográfica privilegiada, y una amplia variedad de ecosistemas, en los que se encuentran más de treinta tipos de vegetación (Waizel-Bucay & Martínez-Rico, 2011), aproximadamente 20,000 especies han sido estudiadas y registradas de las cuales 3000 son de uso medicinal, y escasamente 10% de las mismas se han estudiado con un enfoque farmacológico (Waizel-Bucay & Martínez-Rico, 2011). Las plantas con fines medicinales en nuestro país se han utilizado desde tiempos remotos, en la época prehispánica la nochebuena llamada por los aztecas como *Cuetlaxochitl*, era empleada para usos medicinales (Colinas *et al.*, 2015).

2.9.1 Antecedentes empíricos de *Euphorbia pulcherrima* (Nochebuena)

De acuerdo con (Juárez-Vázquez *et al.*, 2013), el consumo de las hojas de nochebuena o incluso de toda la planta, mediante una infusión vía oral puede aliviar la tos, gripe y hemorragias vaginales. En otro estudio realizado por (Villarreal & Alonso, 1992), menciona que los fomentos realizados con hojas de Nochebuena contribuyen a la mejora de condiciones dermatológicas y de tumores en la piel. La Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana (2009), menciona que el consumo de la infusión de las hojas vía oral, aumenta la secreción de leche en mujeres lactantes.

2.9.2 Antecedentes experimentales de *Euphorbia pulcherrima* (Nochebuena)

El extracto metanólico hecho a partir del látex de *Euphorbia pulcherrima*, mostró una disminución en la incidencia de convulsiones con el uso del extracto, la dosis más efectiva fue de 1000 mg/kg (Singh *et al.*, 2012). Otro estudio demuestra que los triterpenoides aislados de *Euphorbia pulcherrima* presentan una inhibición a la diferenciación osteoclastica la cual ocasiona la osteoporosis (Dai *et al.*, 2019).

2.10 Literatura Citada

- Ahmed, E., Arshad, M., Khan, Z. M., Shoaib, M., Mehreen, H., Riaz, I., Sabir, S., & Ahmad, N. (2017). Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(2), 205–214.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>
- Ávalos, A., & Pérez, E. (2009). *Metabolismo secundario de plantas*. 2(3), 119–145.
- Azcón-Bieto, J., & Talón, M. (2013). *Fundamentos de Fisiología Vegetal* (J. Azcón-Bieto & M. Talón (eds.); 2a ed.). McGraw-Hill Interamericana de España, S.L.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Bates, N. (2018). Poisonous plants part 1. *Companion Animal*, 23(8), 439–447.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(292), 6107–6114. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Caballero-Roque, A., López-Zúñiga, E. J., & Medina-Vázquez, E. (2009). La flor de cuchunuc (*Gliricidia sepium*) en la alimentación de la población zoque de. *Revista avances en seguridad alimentaria y nutricional*, 1(1), 9–14.
- Canul-Ku, J., García-Pérez, F., Barrios-Gomez, C., Campos-Bravo, E., Osuna-Canizalez, F., Ramirez-Rojas, S., & Rangel-Estrada, S. (2015). Técnica para producir híbridos en Nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch). *Agroproductividad*, 8(2), 32–37.
- Cert, A., & Moreda, W. (2000). Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. *Jour*, 881, 131–148.
- Cheynier, V. (2012). Phenolic compounds: From plants to foods. *Phytochemistry Reviews*, 11(2–3), 153–177. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9242-8>
- Colinas, M. T., Espinosa, A., Mejia, J., Rodríguez, M. A., Pérez, M. L., & Alia-Tejagal, I. (2015). Cultivars of *Euphorbia pulcherrima* from Mexico. *Acta Horticulturae*, 1104, 487490. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1104.0>
- Dai, Y., Liu, S., Xu, J., Zhao, C., & Gu, Q. (2019). Triterpenoids from *Euphorbia pulcherrima* with inhibitory effects on osteoclastogenesis. *Fitoterapia*, 134(January), 355–361. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.02.028>
- Galindo-García, D. V., Alia-Tejagal, I., Andrade-Rodríguez, M., Colinas-León, M.

- T., Canul-Ku, J., & Sainz-Aispuro, M. de J. (2012). Producción de nochebuena de sol en Morelos, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(4), 751–763.
- Galindo-García, D. V., Alia-Tejacal, I., Valdez-Aguilar, L. A., Colinas-León, M. T., Villegas-Torres, Ó. G., López-Martínez, V., Sainz-Aispuro, M. J., & Guillén-Sánchez, D. (2015). Extracción de macronutrientes y crecimiento en variedades de nochebuena de sol nativas de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38(3), 305–312.
- Ghasemzadeh, A., & Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plant Research*, 5(31), 6697–6703. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.1404>
- Gonzalez, K. E., Colinas, M. T., Ramirez, D., Soto, R. M., & García, M. R. (2020). Antioxidant properties in bracts of sun poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*) from Mexico. *Acta Horticulturae*, 1288, 89–93. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2020.1288.13>
- Grabowska, M., Wawrzyniak, D., Rolle, K., Chomczyński, P., Oziewicz, S., Jurga, S., & Barciszewski, J. (2019). Let food be your medicine: Nutraceutical properties of lycopene. *Food and Function*, 10(6), 3090–3102. <https://doi.org/10.1039/c9fo00580c>
- Hamilton, C. E., Gundel, P. E., Helander, M., & Saikkonen, K. (2012). Endophytic mediation of reactive oxygen species and antioxidant activity in plants: A review. *Fungal Diversity*, 54, 1–10. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0158-9>
- Islam, M. A., & Joyce, D. C. (2015). Postharvest behavior and keeping quality of potted poinsettia: a review. *Research in Agriculture Livestock and Fisheries*, 2(2), 185–196. <https://doi.org/10.3329/ralf.v2i2.24991>
- Juárez-Vázquez, M. D. C., Carranza-Álvarez, C., Alonso-Castro, A. J., González-Alcaraz, V. F., Bravo-Acevedo, E., Chamarro-Tinajero, F. J., & Solano, E. (2013). Ethnobotany of medicinal plants used in Xalpatlahuac, Guerrero, México. *Journal of Ethnopharmacology*, 148(2), 521–527. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.04.048>
- Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., & He, X. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2, 377–392.
- Kasote, D. M., Katyare, S. S., Hegde, M. V., & Bae, H. (2015). Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *International Journal of Biological Sciences*, 11(8), 982–991. <https://doi.org/10.7150/ijbs.12096>
- Lara-Cortés, E., Osorio-Díaz, P., Jiménez-Aparicio, A., & Bautista-Baños, S. (2013). Contenido nutricional, propiedades funcionales y conservación de flores comestibles. Revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 63(3).

- Lütken, H., Clarke, J. L., & Müller, R. (2012). Genetic engineering and sustainable production of ornamentals: Current status and future directions. *Plant Cell Reports*, 31(7), 1141–1157. <https://doi.org/10.1007/s00299-012-1265-5>
- MacDonald-Wicks, L. K., Wood, L. G., & Garg, M. L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity *in vitro*: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2046–2056. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2603>
- Marchiosi, R., dos Santos, W. D., Constantin, R. P., de Lima, R. B., Soares, A. R., Finger-Teixeira, A., Mota, T. R., de Oliveira, D. M., Foletto-Felipe, M. de P., Abrahão, J., & Ferrarese-Filho, O. (2020). Biosynthesis and metabolic actions of simple phenolic acids in plants. En *Phytochemistry Reviews* (Vol. 19, Número 4). <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09689-2>
- Miguel, M. G. (2010). Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25, 291–312. <https://doi.org/10.1002/ffj.1961>
- Mrcek, J., & Rop, O. (2011). Fresh edible flowers of ornamental plants - A new source of nutraceutical foods. *Trends in Food Science and Technology*, 22(10), 561–569. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.04.006>
- Nićiforović, N., Mihailović, V., Mašković, P., Solujić, S., Stojković, A., & Muratspahić, D. P. (2010). Antioxidant activity of selected plant species; potential new sources of natural antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, 48(11), 3125–3130. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.08.007>
- Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68–81. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.5018.1840>
- Raffa, D., Maggio, B., Raimondi, M. V., Plescia, F., & Daidone, G. (2017). Recent discoveries of anticancer flavonoids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 142, 213–228. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.034>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Development and characterisation of carbon nanotube-reinforced polyurethane foams. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9/10), 12131–1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- Sepulveda-Jiménez, G., Porta-Ducoing, H., & Rocha-Sosa, M. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3), 355–363. <http://redalyc.uaemex.mx>
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820–897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>

- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>
- Shalaby, E. A., & Shanab, S. M. (2013). Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7(10), 528–539. <https://doi.org/10.5897/AJPP2013>
- Singh, K. K., Rauniar, G. P., & Sangraula, H. (2012). Experimental study of neuropharmacological profile of *Euphorbia pulcherrima* in mice and rats. *Journal of Neurosciences in Rural Practice*, 3(3), 311–319. <https://doi.org/10.4103/0976-3147.102612>
- Steinmann, V. W., & Porter, J. M. (2002). Phylogenetic relationships in *Euphorbieae* (Euphorbiaceae) based on its and ndhF sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 89(4), 453–490. <https://doi.org/10.2307/3298591>
- Tiwari, R., & Rana, C. S. (2015). Plant secondary metabolites: a review. *International Journal of Engineering Research and General Science*, 3(5), 661–670.
- Trejo-Hernández, L., Olson-Zúnica, M. E., & Bye-Boettler, R. A. (2015). Datos históricos y diversidad genética de las nochebuenas (*Euphorbia pulcherrima*) del Distrito Federal, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 86(2), 478–485. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2015.04.033>
- Trejo, L., Arroyo, T. P. F., Olsen, K. M., Eguiarte, L. E., Arroyo, B., Gruhn, J. A., & Olson, M. E. (2012). Poinsettia's wild ancestor in the mexican dry tropics: Historical, genetic, and environmental evidence. *American Journal of Botany*, 99(7), 1146–1157. <https://doi.org/10.3732/ajb.1200072>
- Tsao, R., & Deng, Z. (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 812(1–2), 85–99. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.09.028>
- Vélez-Terranova, M., Gaona, R. C., & Sánchez-Guerrero, H. (2014). Use of plant secondary metabolites to reduce ruminal methanogenesis. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17(3), 489–499.
- Villarreal, M. L., & Alonso, D. (1992). *Cytotoxic activity of some Mexican plants used in traditional medicine*. 3525.
- Waizel-Bucay, J., & Martínez-Rico, I. M. (2011). Algunas plantas usadas en México en padecimientos periodontales. *Revista de la Asociación Dental Mexicana*, 68(2), 73–88.
- Zeni, G., Nogueira, C. W., Panatieri, R. B., Silva, D. O., Menezes, P. H., Braga, A. L., Silveira, C. C., Stefani, H. A., & Rocha, J. B. T. (2001). Synthesis and anti-inflammatory activity of acetylenic thiophenes. *Tetrahedron Letters*, 42(45), 7921–7923. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)01703-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)01703-8)

3. ANTIOXIDANT PROPERTIES IN BRACTS OF SUN POINSETTIA (*Euphorbia pulcherrima*) FROM MÉXICO

3.1 Resumen

La nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*) es una ornamental muy popular en la actualidad, es cultivada y comercializada en todo el mundo. En los últimos años se ha generado un gran interés por estudiar las propiedades nutrimentales y nutraceuticas de plantas ornamentales, sin embargo, existen muy pocos estudios en México acerca de estos cultivares. El objetivo de este trabajo fue estudiar las propiedades nutraceuticas mediante su capacidad antioxidante de cinco variedades de dominio público de *Euphorbia pulcherrima*, cultivadas en un invernadero del campo experimental de la UACH, Texcoco, Edo. Méx. Se colectaron brácteas de las variedades Amanecer Navideño, Juan Pablo, Valenciana Superior, Valenciana y Corona, y se realizaron extractos metanol/agua (50:50, v/v) a los cuales se les determino su contenido fenólico total (CFT) cuantificado por el método Folin-Ciocalteu usando como estándar ácido gálico, mientras que los flavonoides totales (FT) se determinaron con base en catequina. La capacidad antioxidante fue estimada por los ensayos ABTS, DPPH y FRAP, usando Trolox como antioxidante de referencia. La variedad Corona fue la que obtuvo el mayor CFT (86.34 ± 6.27 mg EAG gbs⁻¹) de las cinco variedades de Nochebuena analizadas, en cuanto al contenido de FT la variedad Amanecer Navideño destaco en comparación a las demás variedades (0.19 ± 1.18 mg EC gbs⁻¹). Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en las cinco variedades de Nochebuena mediante los ensayos FRAP, ABTS y DPPH. La variedad Amanecer Navideño fue la que obtuvo la mayor capacidad antioxidante.

Palabras clave: *Euphorbia*, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, flavonoides

3.2 Abstract

Poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*) is a very popular ornamental, it is grown and commercialized all over the world. *Poinsettia* bracts contain resins, pigments, flavonoids, starch, glucose, essential oils and gallic acid among other compounds. In Mexico there are several sun poinsettia varieties which in recent years have been introduced in gastronomical dishes. Nowadays the interest in edible flowers is continually increasing; in addition, countries like China and Japan have been consuming flowers for many years. Sun poinsettias have recently been included in some dishes during Christmas festivities, however, there are very few studies related to their chemical composition, so there is an increased interest in knowing the nutritional and nutraceutical properties of these ornamental plants. The objective of the present work was to evaluate some nutraceutical properties of five varieties of sun poinsettia from Mexico grown under greenhouse conditions in the experimental station of the Autonomous University of Chapingo. Well-developed bracts were collected from the five varieties: 'Amanecer Navideño', 'Juan Pablo', 'Valenciana', 'Valenciana Superior' and 'Corona' from October to November. These varieties have different colors: red ('Valenciana', 'Valenciana Superior' and 'Corona'), pink ('Juan Pablo'), and white ('Amanecer Navideño'). Variables considered were total phenolic content CFT, total flavonoids FT, and antioxidant capacity. The 'Corona' variety showed the highest CFT (86.34 ± 6.27 mg EACG gbs⁻¹) meanwhile the 'Juan Pablo' variety showed the lowest CFT (72.441 ± 1.17 mg EACG gbs⁻¹). In FT 'Amanecer Navideño' had the highest value 14.39 ± 0.09 mg EC gbs⁻¹ while in 'Valenciana Superior' the lowest value was observed. 'Amanecer Navideño' also showed the highest antioxidant capacity. Among the five varieties studied there were significant differences for antioxidant capacity.

Keywords: *Euphorbia*, phenolic compounds, antioxidant capacity, flavonoids

3.3 Introduction

The poinsettia *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch (Euphorbiaceae), is native to Mexico and was introduced to the United States by Joel Poinsett in 1825 (Ecke et al., 1932). It is found in the wild form, from the state of Sinaloa till the west part of Mexico and up to Guatemala, its origin was probably in the states of Guerrero and Morelos (Steinmann 2002). Nowadays five sun varieties have been registered in the National Service for Inspection and Certification of Seeds (SNICS): 'Valenciana', 'Juan Pablo', 'Rehilete', 'Belén' and 'Amanecer navideño', these varieties are considered as of public domain and they came out as a result of selection, propagation and modification made by growers of wild poinsettias, initially collected from Tetela del Monte, Tepoztlán, Oaxtepec, Jiutepec and Ahuatepec in the state of Morelos (Colinas et al., 2015).

According to Colinas (2015) the main use of the sun poinsettia is as ornamental in gardens and other public spaces, it has also been used as cut flower and it also has medicinal properties. There is very few information related to its gastronomic potential. Nowadays the interest in edible flowers has been increasing, globalization has had influence in people who look for healthier properties, and edible flowers are becoming more widely used. Countries like China and Japan have been eating flowers for a long time (Rop et al., 2012; Yang and Walters, 1992).

Nutrient content such as proteins, lipids, carbohydrates and vitamins in flowers are not very different from the nutrients found in other organs of the plant, for example in parts such as leaves of vegetables (Aletor and Ipinmoroti, 2002). Quintana (1961) mentioned that poinsettia bracts contain resins, pigments, flavonoids, starch, glucose, essential oils and gallic acid among other compounds. The objective of the present study was to determine some nutraceutical properties of bracts from five varieties of sun poinsettia studying antioxidant capacity, total phenolic content and total flavonoids.

3.4 Materials and methods

3.4.1 Plant material

Well-developed fresh bracts from five sun varieties were collected from plants grown in the experimental field from the Autonomous University of Chapingo. The varieties were: Amanecer Navideño, Juan Pablo, Valenciana, Valenciana Superior and Corona.

3.4.2 Extraction method

Extracts were obtained according to the methodology of Wang et al. (2010). Bracts were liophylized and 0.500 g were taken and 10 ml of solution methanol/water (80:20, v/v) was added.

3.4.3 Total phenolic and flavonoids evaluation

Total phenolics were quantified by the method of Folin-Ciocalteu (Singleton and Rossi, 1965), adapted to the use of microplates. Results are expressed in milligrams equivalent to gallic acid per gram of dry sample ($\text{mg EAG g}_{\text{bs}}^{-1}$), total flavonoids were evaluated according to the methodology of Kubola and Siriamornpun (2011) adapted to microplates. Results are expressed in milligrams equivalent to catechine per gram of dry sample ($\text{mg EC g}_{\text{bs}}^{-1}$).

3.4.4 Antioxidant capacity evaluation

The assays of FRAP, ABTS y DPPH adapted to microplates were considered, using Trolox as reference antioxidant. Results are expressed in micromoles of Trolox per gram of dry sample ($\mu\text{mol ET g}_{\text{bs}}^{-1}$). All evaluations were done considering four replicates (Benzie and Stain ,1996; Re *et al.*, 1999; Cheng *et al.*, 2006).

3.5 Results and Discussion

3.5.1 Total phenolic and flavonoids

The phenolic compounds are common in all plants, edible or not, it has also been mentioned that they have multiple biological effects, including the antioxidant capacity. Crude extracts of fruits, plants, vegetables, cereals and other plant material are rich in phenolic compounds are of more interest in the food industry, as they retard the oxidative degradation of lipids improving nutritional quality (Kähkönen et al., 1999).

Results for total phenolic (CFT) and total flavonoid content (FT) are shown in Table 1. The data for CFT and FT for the five sun varieties of *Euphorbia* were statistically different ($p \leq 0.05$), the 'Corona' variety showed the highest CFT (87.65 ± 2.54 mg EAG g_{bs}^{-1}) compared to the other varieties.

In the methanolic extract of *E. spinidens* analyzed by Karimi et al. (2016) the CFT was of 70.03 ± 1.12 mg EAG g_{bs}^{-1} , this value is similar to the results found for the varieties 'Amanecer navideño', 'Juan Pablo', and 'Valenciana Superior'. Prosper et al. (2011) analyzed the methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa* and found a value of CFT of 29.2 ± 0.33 mg EAG g_{bs}^{-1} which is a lower than the values obtained in this study. Flavonoids are an heterogeneous group of phenolic compounds (approximately 4000) found in plants. They are responsible of all pigments and tonalities yellow, orange and red in plant flowering. They are also important factors in growth, development and immunity of plants (Di Carlo et al., 1999). In flowers the color is predetermined by many chemical compounds of which the most important are the flavonoids (Mlcek, and Rop, 2011).

Table 1. Total phenolic (CFT), total flavonoids (FT) and antioxidant capacity (ABTS, DPPH, FRAP) in bracts from five varieties of sun euphorbias

Cultivar	CFT (mg EAG g_{bs}⁻¹)	CFT (mg EC g_{bs}⁻¹)	ABTS (μmol ET g_{bs}⁻¹)	DPPH (μmol ET g_{bs}⁻¹)	FRAP (μmol ET g_{bs}⁻¹)
AN¹	76.99 cb ± 2.40	14.39 a ± 1.04	382.30 a ± 0.82	710.92 a ± 1.8	461.29 a ± 1.20
JP	72.41 c ± 1.17	9.10 b ± 0.89	281.16 b ± 0.28	522.03 d ± 2.00	301.73 e ± 1.60
VS	79.87 b ± 2.33	6.36 c ± 0.98	230.20 e ± 1.93	496.31 e ± 3.08	391.09 c ± 1.80
V	81.78 b ± 1.89	9.85 b ± 0.99	269.44 d ± 0.34	627.95 b ± 1.57	367.64 d ± 1.00
C	87.56 a ± 2.54	12.91 a ± 1.00	278.04 c ± 0.43	676.57 c ± 1.70	453.03 b ± 1.70

Values with same letter within each column are statistically similar (Tukey HSD $p \geq 0.05$) ± standard deviation

¹ “Amanecer Navideño” (AN), “Juan Pablo” (JP), “Valenciana Superior” (VS), “Valenciana” (V), “Corona” (C)

Total flavonoids were found in much lower concentrations compared to phenolic (Figure 1). 'Amanecer navideño' was the variety with the highest value of FT ($14.39 \pm 0.09 \text{ mg EC g}_{\text{bs}}^{-1}$). Basma et al., (2011) obtained higher values in flavonoids in methanolic extracts ($35.20 \pm 0.002 \text{ mg EC g}_{\text{bs}}^{-1}$) of *E. hirta* L. compared to the values obtained in this study.

3.5.2 Antioxidant capacity

Various methods have been developed in order to estimate the total antioxidant capacity in different plant materials (Guo et al., 2003). The use of these methods is based in the way they generate free radicals, the strategy in measuring the point of the inhibitor reaction, and the sensitivity towards the different reducing molecules in the sample (Roginsky and Lissi, 2005). Significant statistical differences were found in the five varieties of *E. pulcherrima* analyzed by the FRAP, ABTS, DPPH assays (Table 1). The 'Amanecer Navideño' variety was the one with the highest antioxidant capacity with the three assays, being the variety 'Valenciana Superior' the one with the lowest antioxidant capacity in ABTS ($230 \pm 1.93 \text{ } \mu\text{mol ET g}_{\text{bs}}^{-1}$) and DPPH assays ($496.31 \pm 3.08 \text{ } \mu\text{mol ET g}_{\text{bs}}^{-1}$). The lineal correlation was high ($r=0.92$) among total flavonoids of the five *Euphorbia* varieties analyzed and the antioxidant capacity of the ABTS assay, this suggests that the flavonoid variable explains the antioxidant capacity with the ABTS assay.

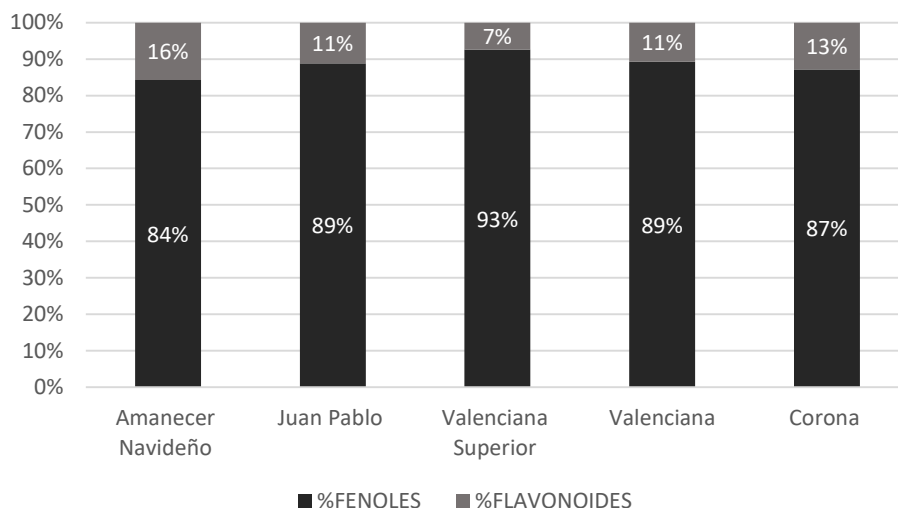


Figure 7. Total phenolic content (CFT) and total flavonoids (FT) in bracts of five varieties of sun Poinsettia

3.6. Conclusions

Statistical significant differences in total phenolic and flavonoid content among the five varieties of *Euphorbia* considered in the present study. The Corona variety showed the highest value in CFT, and the variety ‘Amanecer Navideño’ was the one with the highest content of total flavonoids. The lineal correlation ($r=0.92$) between FT and the assay of ABTS, suggest that flavonoids are closely related to the antioxidant capacity.

3.7 Literature cited

- Aletor, O., Oshodi, A., and Ipinmoroti, K. (2002). Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. *Food Chem.* 78 (1), 63–68 [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00376-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00376-4) CrossRef
- Basma A.A., Zakaria Z., Latha LY., and Sasidharan S. (2011). Antioxidant activity and phytochemical screening of the methanol extracts of *Euphorbia hirta* L. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 4 (5), 386–90 [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60109-0](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60109-0) CrossRef

- Benzie I.F.F., and Strain J.J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Anal. Biochem.*, 239 (1), 70–6 <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292> PubMed
- Cheng, Z., Moore, J., and Yu, L. (2006). High-Throughput Relative DPPH Radical Scavenging Capacity Assay. *J. Agr. Food Chem.* 54 (20), 7429–36 <https://doi.org/10.1021/jf0611668> PubMed
- Colinas-León, M.T., Espinosa-Flores, A., Mejía-Muñoz, J.M., Rodríguez-Elizalde, M.A. Pérez-Nicolas, M.L., and Alia-Tejacal, I. (2015). Cultivars of *Euphorbia pulcherrima* from Mexico. *Acta Hort.* 1104, 487-490 <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1104.70> CrossRef
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., and Capasso, F. (1999). Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.* 65 (4), 337–353 [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(99\)00120-4](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(99)00120-4) CrossRef
- Ecke, P. (1932) Paul Ecke poinsettia stock plant price and order materials. (Los Angeles, California: Paul Ecke) <https://doi.org/10.5962/bhl.title.154297>
- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., and Jiang, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutr. Res.* 23 (12), 1719–1726 <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2003.08.005> CrossRef
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.-P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., and Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agr. Food Chem.* 47 (10), 3954–3962 <https://doi.org/10.1021/jf990146l> PubMed
- Karimi, A., Mohammadi-Kamalabadi, M., Rafieian-Kopaei, M., Amjad, L., and Salimzadeh, L. (2016). Determination of antioxidant activity, phenolic contents and antiviral potential of methanol extract of *Euphorbia spinidens* Bornm (Euphorbiaceae). *Trop. J. Pharm. Res.* 15 (4), 759-764 <https://doi.org/10.4314/tjpr.v15i4.13> CrossRef
- Kubola, J., and Siriamornpun, S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chem.* 127 (3), 1138–1145 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.115> PubMed
- Mlcek, J., and Rop, O. (2011). Fresh edible flowers of ornamental plants – A new source of nutraceutical foods. *Trends Food Sci. Technol.* 22 (10), 561–569 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.04.006> CrossRef

- Prosper An, C., Esiaba, I., Ajbaye, O., and Adesuyi, A. O. (2011). Polyphenolic Content and Antioxidant Activity of *Hibiscus sabdariffa* Calyx. Res. J. Med. Plant 5 (5), 557–566 <https://doi.org/10.3923/rjmp.2011.557.566> CrossRef
- Quintana, A. (1961). Las plantas ornamentales (Floricultura) Secretaría de Agricultura y Ganadería. (México, DF) pp.144
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med. 26 (9-10), 1231–1237 [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3) CrossRef
- Roginsky, V., and Lissi, E. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. Food Chem. 92 (2), 235–254 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.004> CrossRef
- Rop, O., Mlcek, J., Jurikova, T., Neugebauerova, J., and Vabkova, J. (2012). Edible flowers—A new promising source of mineral elements in human nutrition. Molecules 17 (6), 6672–6683 <https://doi.org/10.3390/molecules17066672> PubMed
- Singleton, V. L., and Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult. 16 (3), 144-158
- Steinmann, V. W., and Porter, J. M. (2002). Phylogenetic Relationships in Euphorbieae (Euphorbiaceae) Based on ITS and ndhF Sequence Data. Ann. Missouri Bot. Gard. 89 (4), 453-490 <https://doi.org/10.2307/3298591> CrossRef
- Wang, W., Bostic, T. R., and Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. Food Chem. 122 (4), 1193–1198 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.114> CrossRef
- Yang, S.-L., and Walters, T. W. (1992). Ethnobotany and the economic role of the cucurbitaceae of china. Econ. Bot. 46 (4), 349–367 <https://doi.org/10.1007/BF02866506> CrossRef

4. ACIDOS FENÓLICOS Y FLAVONOIDES IDENTIFICADOS POR CLAR EN BRÁCTEAS DE CINCO VARIEDADES DE *Euphorbia pulcherrima*

4.1 Resumen

La nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) crece de manera silvestre en los bosques tropicales mexicanos en forma arbustiva y con llamativas brácteas rojas y con menor frecuencia presenta brácteas blancas. El uso principal de la nochebuena nativa es el ornamental, sin embargo, existen muy pocos estudios acerca de las propiedades químicas o nutrimentales. El objetivo del presente estudio fue determinar el perfil de flavonoides y ácidos fenólicos presentes en los extractos metanólico-acuosos de brácteas de cinco variedades de dominio público colectadas en el invernadero de la Universidad Autónoma Chapingo, con la finalidad de conocer sus propiedades nutrimentales y promover su consumo, tres de estas variedades están registradas en el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). Se llevó a cabo un perfil de ácidos fenólicos y flavonoides por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) acoplado a arreglo de diodos. Dentro de los ácidos fenólicos los ácidos gálico y sirínico fueron los que presentaron las concentraciones más altas en las variedades analizadas. El flavonoide rutina se encontró en altas concentraciones en todas las variedades, sin embargo, los flavonoides floridzina y fletina se encontraron en concentraciones muy bajas por lo tanto no se pudieron detectar en la variedad Juan Pablo.

Palabras clave: Euphorbiaceae, ácidos fenólicos, flavonoides

4.2 Abstract

The poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotsch) grows in wild form in the Mexican tropical forests, it is a bush with showy red bracts and less frequently with white bracts. The main use of the native poinsettia is ornamental, however, there are very few studies related to its chemical or nutrimental properties. The purpose of the present study, was to evaluate the flavonoid and phenolic acids present in methanolic-water extracts in bracts of five common used varieties, they were collected from the greenhouse in the National Agronomic University of Chapingo to determine their nutrimental properties and thereof foster their edible use. A profile of phenolic acids and flavonoids was obtained by high pressure liquid chromatography (HPLC) coupled to diode array. Within the phenolic acids gallic and syringic were found in higher concentrations in the varieties analyzed. The flavonoid rutin was found in a high concentration in all the varieties, and the flavonoids florizine and floretine were present in very low concentrations and couldn't be detected in the variety Juan Pablo.

Keywords: Euphorbiaceae, phenolic acids, flavonoids

4.3 Introducción

La nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotsch) es una planta que crece de manera silvestre y arbustiva en los bosques tropicales mexicanos, de tallo pequeño y con llamativas brácteas rojas y muy poco frecuentes brácteas blancas (Trejo et al., 2012). Una variante de las nochebuenas silvestres es la nochebuena de sol. De acuerdo con Galindo-García et al. (2012) la nochebuena de sol es un arbusto ornamental y tradicional de gran importancia económica y social, se produce de manera convencional en vivero a cielo abierto desde hace más de treinta años. En la actualidad se reconocen cinco variedades de nochebuena de sol registradas en el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS): ‘Valenciana’, ‘Juan Pablo’, ‘Rehilete’, ‘Belén’ y ‘Amanecer navideño’, se denominan variedades de dominio público y son resultado de la selección, reproducción y modificaciones realizadas por algunos viveristas a partir de las nochebuenas criollas provenientes de : Tetela del Monte, Tepoztlán, Oaxtepec, Jiutepec y Ahuatepec, en el estado de Morelos (Colinas et al., 2015). Este estudio se enfocó a las variedades: “Amanecer navideño”, “Juan Pablo”, “Valenciana” y dos aun no registradas ante el (SNICS) “Valenciana Superior” y “Corona”. De acuerdo con Steinmann (2002) muchas de las especies endémicas de la familia Euphorbiaceae a la cual pertenece la nochebuena, se cultivan para su uso medicinal, industrial, alimenticio y ornamental, sin embargo, existen muy pocos estudios acerca de las propiedades nutrimentales o nutracéuticas de la nochebuena de sol. Las hojas y brácteas de nochebuena se han empezado a introducir en diferentes platillos. Además de que, en Taxco Guerrero, en donde se festeja el 8 de diciembre como el día de la nochebuena, se hace una degustación de diferentes platillos utilizando las brácteas de la nochebuena de sol. De igual manera se comparten recetas utilizando brácteas en el festival navideño anual del Parque Ecológico de Xochitla, Estado de México. Las plantas ornamentales comestibles, pueden ser atractivas por su olor, color y sabor, sin embargo, se requiere de la evaluación de sus propiedades nutrimentales para incluirlas en la dieta. Se puede considerar a las flores comestibles y plantas ornamentales como una nueva fuente de nutracéuticos

(Mlcek & Rop, 2011). Por otro lado, las flores comestibles pueden contener compuestos fenólicos con diferentes estructuras químicas, principalmente ácidos fenólicos, flavonoides y antocianinas los cuales pueden proveer capacidad antioxidante. Los ácidos fenólicos se producen en las plantas a través de la ruta del ácido shikimico mediante la vía fenilpropanoide (Mandal et al., 2010). Las funciones de los ácidos fenólicos han sido objeto de un gran número de investigaciones relacionadas con la agricultura, biología, química y estudios medicinales. Al igual que los ácidos fenólicos, los flavonoides son metabolitos secundarios de las plantas que contienen una estructura polifenolica (Ghasemzadeh & Ghasemzadeh, 2011).

Los flavonoides son de los compuestos fenólicos ampliamente distribuidos en diferentes partes de las plantas, particularmente en las células vegetales fotosintéticas (Yao et al., 2004). Debido a sus estructuras químicas se les atribuyen diversas funciones biológicas incluyendo actividad anticancerígena, antiinflamatoria y antiviral, las cuales se deben a la capacidad que tienen los flavonoides de reducir la formación de radicales libres y quelar metales como los iones hierro (E.-R. Lee et al., 2007). Los compuestos fenólicos, ubicados en las plantas, son una parte esencial en la dieta humana y son considerados de gran interés debido a sus propiedades antioxidantes y potencial efecto en la salud (Shahidi & Ambigaipalan, 2015). El objetivo del presente estudio fue analizar el perfil de ácidos fenólicos y flavonoides de cinco variedades de dominio público de Nochebuena, con el fin de conocer sus propiedades nutrimentales y promover su consumo.

4.4 Materiales y Métodos

4.4.1 Material vegetal

Se colectaron brácteas en buen estado de cinco variedades de nochebuena de dominio público en el mes de enero 2019, las variedades fueron: Amanecer Navideño, Juan Pablo, Valenciana, Valenciana Superior y Corona, las cuales se mantienen bajo condiciones de invernadero en el campo experimental de la Universidad Autónoma Chapingo. Posteriormente las brácteas se deshidrataron

en una liofilizadora Free Zone 2.5 Liter Benchtop marca LABCONCO, para su posterior análisis.

4.4.2 Método de extracción

La obtención de los extractos se llevó a cabo de acuerdo con la metodología de Wang et al. (2010) en la cual se pesaron 0.500 g de brácteas liofilizadas y posteriormente se añadieron 10 mL de una disolución metanol /agua (80:20, v/v), la mezcla se agitó en un Vortex de la marca Synphony, VWE International (3000 rpm, 3 min), se sonicó por 15 min en un sonicador de la marca Ultrasonic Cleaner 8890, Cole Pamer y se agitaron durante 30 minutos a 27°C. Este procedimiento se realizó por triplicado. Los extractos se almacenaron en frascos ámbar para su posterior análisis.

4.4.3 Determinación de ácidos fenólicos y flavonoides libres por CLAR

Los análisis se realizaron en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (CLAR) modelo 1100 de la marca Hewlett Packard, acoplado a arreglo de diodos. Para la cuantificación de ácidos fenólicos se utilizó una columna Nucleosil 100 a 125 x 4.0 mm d.i., 5 µm de la marca Marcherey-Nagel. Los eluyentes usados fueron: agua (pH 2.5) con ácido trifluoroacético (A) y acetonitrilo (B). Para la fase móvil se utilizó el siguiente gradiente de elución (v/v): 85% A-15%B (0-10'), 65%A-35%B (20'), 65%A-35%B (23'). El flujo de elución se mantuvo constante a 1.0 mL/min y el volumen de inyección fue de 20 µL. La temperatura de la columna se mantuvo a 30 °C. Los tiempos de retención y los espectros se obtuvieron a 280nm.

En cuanto a la cuantificación de flavonoides se utilizó una columna Hypersil ODS 5µm de diámetro de partícula, 125 x 4.0 mm d. i. de la marca Agilent Technologies. Los eluyentes usados fueron: agua (pH 2.5) con ácido trifluoroacético (A) y acetonitrilo (B). Para la fase móvil se utilizó el siguiente gradiente de elución (v/v): 85% A-15%B (0-10'), 65%A-35%B (20'), 65%A-35%B (23'). El flujo de elución se mantuvo constante a 1.0 mL/min y el volumen de inyección fue de 20 µL. La temperatura de la columna se mantuvo a 30°C. Los tiempos de retención y los espectros se obtuvieron a 254, 316 y 365 nm.

4.4.4 Analisis estadístico

Los análisis se hicieron por triplicado y fueron expresados en miligramos de ácidos fenólicos o flavonoides por gramo de muestra en materia seca (mg g^{-1} ms). Las diferencias estadísticas fueron determinadas en un análisis de varianza (ANOVA) Todos los datos se analizaron con el paquete estadístico SAS para Windows 9.0, las medias se expresaron mediante el estadístico HSD de Tukey con una diferencia mínima significativa de $p \leq 0.05$.

4.5 Resultados y Discusión

4.5.1 Ácidos fenólicos

Los resultados del análisis de los ácidos fenólicos presentes en los extractos metanólico acuosos de brácteas de las variedades de *Euphorbia pulcherrima* se encuentran en el Cuadro 2. Las concentraciones de ácido gálico y sirínico fueron las más altas en las cinco variedades de Nochebuena, sin embargo, el ácido p-cumárico fue el que se encontró en concentraciones más bajas ($0.028\text{-}0.54 \text{ mg g}^{-1}$ ms) en todas las variedades.

En la investigación realizada por Ertas et al. (2015) el ácido gálico fue uno de los ácidos fenólicos de mayor abundancia en dos especies de *Euphorbia* analizadas, resultado similar al reportado en las variedades de Nochebuena del presente estudio. El ácido gálico, se encuentra distribuido en grandes cantidades en la mayoría de los vegetales, tales como el brócoli y el esparrago (Yeh & Yen, 2005) así como en el café, té y el vino (Nayeem et al., 2016). De acuerdo con Badhani et al. (2015) el ácido gálico provee una eficiente protección en contra del daño oxidativo causado por las especies reactivas encontradas en los sistemas biológicos incluyendo al hidroxilo, superóxido y peróxido y los no radicales como el peróxido de hidrogeno y el ácido hipocloroso.

Otro compuesto fenólico de gran abundancia en el reino vegetal es el ácido sirínico y se encuentra presente en los olivos, dátiles y especias, además exhibe propiedades útiles en el sector biomédico ya que actúa como antioxidante,

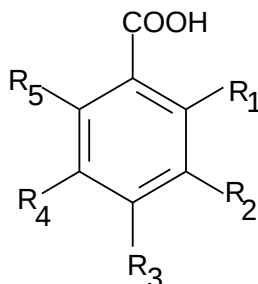
antimicrobiano, antiinflamatorio y anticancerígeno (Srinivasulu et al., 2018). Pioro-Jabrucka et al. (2011) analizaron los extractos metanólicos de *Euphorbia hirta*, reportando valores del ácido sirínigico de $0.61 \text{ mg g}^{-1} \text{ ms}$, un valor inferior al encontrado en las variedades Juan Pablo, Valenciana, Valenciana Superior y Corona del presente estudio.

La variedad Corona presentó las mayores concentraciones de los ácidos gálico, sirínigico y vainílicico con valores de 23.76 ± 3.02 , 17.37 ± 0.91 y $12.39 \pm 1.58 \text{ mg g}^{-1} \text{ ms}$ respectivamente. El ácido vainílicico (4-hidroxi-3-metoxibenzoico) es un compuesto fenólico derivado de plantas y frutos comestibles (Prince et al., 2011) varios estudios han proporcionado evidencia de la efectividad del ácido vainílicico en el manejo de las respuestas inmunes o inflamatorias (Kim et al., 2010).

En cuanto a las variedades Juan Pablo y Valenciana no se logró detectar el ácido vainílicico y en la variedad Valenciana Superior no se detectaron los ácidos p-hidroxibenzoico y cafeico debido a que se encontraron en concentraciones muy bajas. Los ácidos hidroxicinámicos, tales como el ácido ferúlico, cafeico y p-cumárico se encuentran en la mayoría de los tejidos vegetales ya sea conjugados o como ácidos libres, sin embargo, los ácidos que más se consumen en la dieta son el ácido ferúlico y el cafeico (Karakaya, 2004). Jahan et al. (2013) analizaron cinco ácidos fenólicos (gálico, clorogénico, p-cumárico, ferúlico y cafeico) presentes en extractos metanólicos de *Euphorbia tirucalli* mediante cromatografía de líquidos, los ácidos gálico, clorogénico y p-cumárico fueron los más representativos obteniendo valores inferiores de los ácidos gálico ($0.01 \text{ mg g}^{-1} \text{ ms}$) y clorogénico ($0.04 \text{ mg g}^{-1} \text{ ms}$) a los reportados en las variedades analizadas del presente estudio, siendo el ácido p-cumárico el que presentó un valor similar a lo reportado en las variedades siendo de $0.09 \text{ mg g}^{-1} \text{ ms}$.

El ácido p-cumárico se encuentra en las plantas y hongos, ya sea en su forma libre o conjugada se puede encontrar en frutas (por ejemplo: manzanas, peras, uvas, naranjas, tomates y bayas), en vegetales (por ejemplo: cebollas, frijoles y papas) y en cereales (por ejemplo: maíz, avena y trigo). Diversas investigaciones han mostrado que los conjugados del ácido p-cumárico proporcionan actividad

antioxidante, antiinflamatoria, antimutagenica, antiulcerosa y anticancerosa (Pei et al., 2016).



Ácido fenólico	Nombre IUPAC	Estructura
Gálico	3,4,5-trihidroxibenzoico	$R_3=R_4=R_5= OH$
Clorogénico	1,4,5-trihidroxiciclohexano	$R_1=R_4=R_5=OH$
Siríngico	4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzoico	$R_4=OH$; $R_3=R_5=CH_3O-$
Vainílico	4-hidroxi-3-metoxibenzoico	$R_4=OH$; $R_3= CH_3O-$
p-hidroxibenzoico	4-hidroxibenzoico	$R_4=OH$
Cafeico	3,4-dihidroxifenil	$R_3=R_4=OH$
Ferúlico	4-hidroxi-3-metoxi-fenil	$R_4=OH$; $R_3= CH_3O-$
p-Cumárico	4-hidroxifenil	$R_4=OH$

Figura 8. Estructuras de los ácidos fenólicos detectados en variedades de *Euphorbia pulcherrima*

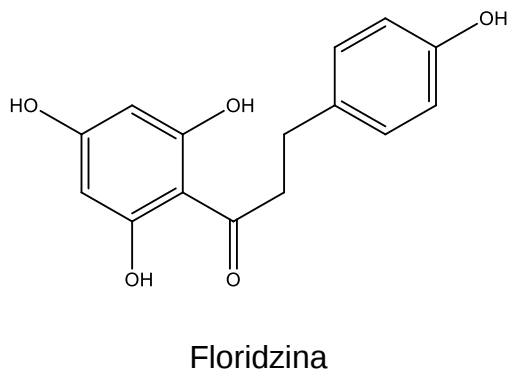
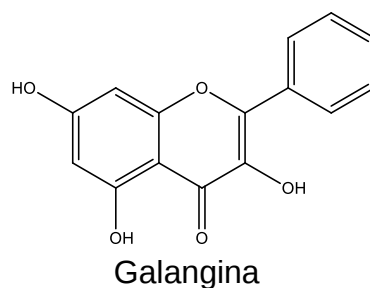
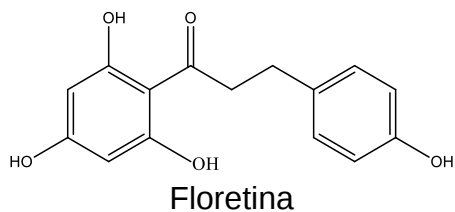
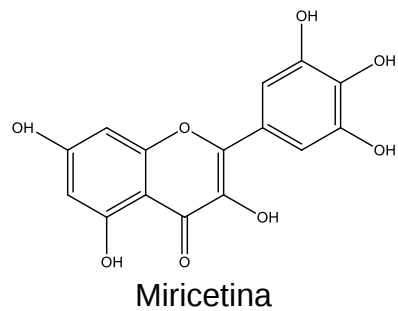
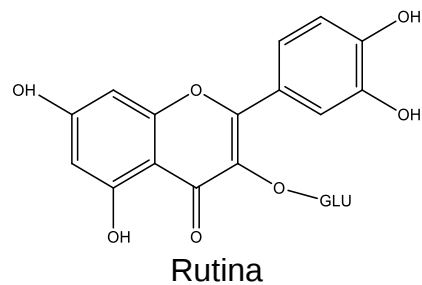
4.5.2 Flavonoides

El análisis de los flavonoides presentes en las brácteas de las variedades de *Euphorbia pulcherrima* se encuentran en el Cuadro 3. Se obtuvieron concentraciones altas de rutina en todas las variedades analizadas, las variedades Amanecer Navideño y Corona presentaron las concentraciones más altas de floridzina (44.47 ± 0.37 y 66.22 ± 0.09 mg g⁻¹ ms) respectivamente, sin embargo, en la variedad Juan Pablo no se detectaron los flavonoides floridzina y floretina debido a que se encontraron en concentraciones muy bajas. De acuerdo con la investigación realizada por Ertas et al. (2015), uno de los principales constituyentes de dos especies de *Euphorbia* analizadas fue la rutina, resultado similar al que se obtuvo en las cinco variedades de *Euphorbia pulcherrima*

analizadas en este estudio. La rutina es un derivado natural de flavona, de bajo peso molecular y se distribuye ampliamente en frutas y verduras, el trigo sarraceno es una importante fuente de rutina en la dieta, presenta diversas actividades farmacológicas tales como antiinflamatoria, vasoactiva, antitumoral, antibacteriana y antiviral (Yang et al., 2008).

Jahan et al. (2013) reportaron a la miricetina como uno de los principales flavonoides presentes en los extractos metanólicos de *E.tirucalli*, obteniendo un valor superior de 0.82 mg g⁻¹ ms a los obtenidos en la mayoría de las variedades de *E. pulcherrima* aquí analizadas, a excepción de la variedad Amanecer Navideño en la cual se encontró un valor de 9.4 mg g⁻¹ ms. Los flavonoles quercetina y miricetina, son de los flavonoides más abundantes presentes en los alimentos (Yao et al., 2004). La miricetina es un compuesto fenólico muy común en las bayas, vegetales, tés y vinos, además es producido por varias plantas, este compuesto muestra una variedad de actividades farmacológicas y actúa como antiinflamatorio, analgésico, antitumoral y hepatoprotector (Semwal et al., 2016).

Por otro lado, las chalconas son pigmentos amarillos responsables en parte del color de las flores y frutas (Peñarrieta et al., 2014) cabe mencionar que la floretina se considera una chalcona así como su glucósido la floridzina (Rezk et al., 2002). Este hecho podría explicar el por qué en la variedad Amanecer Navideño se encontraron concentraciones altas de floridzina (44.47 ± 0.37 mg g⁻¹ ms) ya que sus brácteas son de color amarillo. Las flavanonas se encuentran principalmente en cítricos y en frutas (Yao et al., 2004). La dihidroxichalcona floretina se encuentra abundantemente en la manzana y pera, demostrando tener una alta capacidad antioxidante y por lo tanto diversas propiedades biológicas (Lee et al., 2003).



Flavonoide	Nombre IUPAC	Estructura
Rutina	3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona	$R_1=R_2=R_3=OH$
Miricetina	3,3',4',5,5',7-hexahidroxiflavona	$R_1=R_4=R_5=OH$
Floretina	2,4,4',6-tetrahidroxiflavona	$R_4=OH$
Galangina	3,5,7-trihidroxiflavona	$R_4=OH; R_3=R_5=CH_3O-$
Floridzina	2,4,4'-trihidroxiflavona	$R_4=OH$

Figura 9. Estructuras de los flavonoides detectados en variedades de *Euphorbia pulcherrima*

4.6 Conclusiones

Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en las variables ácidos fenólicos y flavonoides en las cinco variedades de *Euphorbia pulcherrima* analizadas ($p \leq 0.05$), siendo los ácidos fenólicos gálico y siríngico los que presentaron las concentraciones más altas en las variedades analizadas, por otro lado, se detectó que el ácido p-cumárico fue el de las concentraciones más bajas ($0.028\text{--}0.54 \text{ mg g}^{-1} \text{ ms}$). En cuanto al análisis cromatográfico de los flavonoides, se encontraron altas concentraciones de rutina en todas las variedades, sin embargo, en la variedad Juan Pablo no se logró detectar floridzina y floretina.

Cuadro 2. Identificación y cuantificación de ácidos fenólicos mediante CLAR en extractos metanólico-acuosos de *Euphorbia pulcherrima*

ACIDO FENOLICO mg g ⁻¹ ms	VARIEDAD				
	AN ¹	JP	V	VS	C
Gálico	10.65a ± 0.76	1.81cb ± 0.16	11.5ba ± 4.28	0.13b ± 0.03	23.76a ± 3.02
Clorogénico	1.37bc ± 0.11	2.54cb ± 2.11	3.75ba ± 6.3	4.57a ± 4.5	2.75b ± 3.2
Siringico	0.27c ± 0.06	2.45b ± 2.11	12.63a ± 5.76	6.36b ± 0.08	17.37ba ± 0.91
Vainillico	0.28c ± 0.09	ND ²	ND	0.17b ± 0.26	12.3ba ± 1.58
p-hidroxibenzoico	2.41bc ± 0.21	1.65cb ± 1.08	0.15ba ± 0.14	ND	0.37b ± 0.15
Cafeico	9.47ba ± 3.1	8.7a ± 0.34	9.8ba ± 0.26	ND	0.37b ± 0.15
Ferulico	2.49bc ± 0.38	1.41cb ± 0.63	0.32ba ± 0.06	0.14b ± 0.01	0.07b ± 0.003
p-cumárico	0.54c ± 0.08	0.03c ± 0.02	0.09ba ± 0.03	0.11b ± 0.15	0.34b ± 0.14

Valores con letras iguales dentro de cada columna son similares estadísticamente (HSD de Tukey, p≥0.05) ± desviación estándar

¹ AN: “Amanecer Navideño”, JP: “Juan Pablo”, V: “Valenciana”, VS: “Valenciana Superior”, C: “Corona”

²ND: No detectado

Cuadro 3. Identificación y cuantificación de flavonoides mediante CLAR en extractos metanólico-acuosos de *Euphorbia pulcherrima*

FLAVONOIDE mg g ⁻¹ ms	VARIEDAD				
	AN ¹	JP	V	VS	C
Rutina	32.68a ± 1.43	27.3a ± 2.58	22.74a ± 3.68	27.93a ± 1.14	26.57ba ± 0.7
Floridzina	44.47bc ± 0.37	ND ²	0.37b ± 0.1	0.32b ± 0.06	66.22a ± 0.09
Miricetina	9.4a ± 0.06	0.21b ± 0.12	0.21b ± 0.02	0.17b ± 0.01	0.14b ± 0.02
Floretina	0.28c ± 0.2	ND	0.04b ± 0.01	0.28b ± 0.22	0.22b ± 0.01
Galangina	0.4a ± 0.01	0.03b ± 0.06	0.42b ± 0.04	0.33b ± 0.004	0.04b ± 0.005

Valores con letras iguales dentro de cada columna son similares estadísticamente (HSD de Tukey, p≥0.05) ± desviación estándar

¹AN: “Amanecer Navideño”, JP: “Juan Pablo”, V: “Valenciana”, VS: “Valenciana Superior”, C: “Corona”

²ND: No detectado

4.7 Literatura Citada

- Badhani, B., Sharma, N., y Kakkar, R. (2015). Gallic acid: A versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *RSC Advances*, 5(35), 27540–27557. <https://doi.org/10.1039/c5ra01911g>
- Colinas, M. T., Espinosa, A., Mejia, J., Rodríguez, M. A., Pérez, M. L., y Alia-Tejacal, I. (2015). Cultivars of *Euphorbia pulcherrima* from Mexico. *Acta Horticulturae*, 1104, 487–490. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1104.70>
- Cook, N. C., y Samman, S. (1996). Flavonoids - Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 7, 66–76. [https://doi.org/10.1016/0955-2863\(95\)00168-9](https://doi.org/10.1016/0955-2863(95)00168-9)
- Ertas, A., Yilmaz, M. A., y Firat, M. (2015). Chemical profile by LC-MS/MS, GC/MS and antioxidant activities of the essential oils and crude extracts of two *Euphorbia* species. *Natural Product Research*, 29(6), 529–534. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.954113>
- Galindo-García, D. V., Alia-Tejacal, I., Andrade-Rodríguez, M., Colinas-León, M. T., Canul-Ku, J., y Sainz-Aispuro, M. de J. (2012). Producción de nochebuena de sol en Morelos , México * Sun-poinsettia production in Morelos , Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(4), 751–763.
- Ghasemzadeh, A., y Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plant Research*, 5(31), 6697–6703. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.1404>
- Jahan, N., Ur-Rahman, K., Ali, S., y Rafiq Asi, M. (2013). Phenolic acid and flavonol contents of gemmo-modified and native extracts of some indigenous medicinal plants. *Pakistan Journal of Botany*, 45(5), 1515–1519.
- Karakaya, S. (2004). Bioavailability of phenolic compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(6), 453–464. <https://doi.org/10.1080/10408690490886683>
- Kim, S. J., Kim, M. C., Um, J. Y., y Hong, S. H. (2010). The beneficial effect of vanillic acid on ulcerative colitis. *Molecules*, 15(10), 7208–7217. <https://doi.org/10.3390/molecules15107208>
- Lee, E.-R., Kang, G.-H., y Cho, S.-G. (2007). Effect of Flavonoids on Human Health: Old Subjects but New Challenges. *Recent Patents on Biotechnology*, 1, 139–150. <https://doi.org/10.2174/187220807780809445>
- Lee, K. W. L., Kim, Y. J., Kim, D.-O., Lee, H.-J., y Lee, C. Y. (2003). Major Phenolics in Apple and Their Contribution to the Total. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6516–6520. <https://doi.org/10.1021/jf034475w>

- Mandal, S. M., Chakraborty, D., y Dey, S. (2010). Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. *Plant Signaling and Behavior*, 5(4), 359–368. <https://doi.org/10.4161/psb.5.4.10871>
- Mlcek, J., y Rop, O. (2011). Fresh edible flowers of ornamental plants - A new source of nutraceutical foods. *Trends in Food Science and Technology*, 22(10), 561–569. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.04.006>
- Nayeem, N., SMB, A., Salem, H., y AHEI-Alfgy, S. (2016). Gallic Acid: A Promising Lead Molecule for Drug Development. *Journal of Applied Pharmacy*, 8(2), 1–4. <https://doi.org/10.4172/1920-4159.1000213>
- Pei, K., Ou, J., Huang, J., y Ou, S. (2016). p-Coumaric acid and its conjugates: Dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(9), 2952–2962. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7578>
- Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., y Bravo, J. A. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68–81. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.5018.1840>
- Pioro-Jabrucka, E., Pawelczak, A., Baczek, K., y Weglarz, Z. (2011). Accumulation of phenolic and sterol compounds in *Euphorbia hirta* (L.). *Herba Polonica*, 57(2), 30–37.
- Prince, P. S. M., Rajakumar, S., y Dhanasekar, K. (2011). Protective effects of vanillic acid on electrocardiogram, lipid peroxidation, antioxidants, proinflammatory markers and histopathology in isoproterenol induced cardiotoxic rats. *European Journal of Pharmacology*, 668, 233–240. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.06.053>
- Rezk, B. M., Haenen, G. R. M. M., Van der Vijgh, W. J. F., y Bast, A. (2002). The antioxidant activity of phloretin: The disclosure of a new antioxidant pharmacophore in flavonoids. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 295, 9–13. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)00618-6](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)00618-6)
- Semwal, D. K., Semwal, R. B., Combrinck, S., y Viljoen, A. (2016). Myricetin: A dietary molecule with diverse biological activities. *Nutrients*, 8(90), 1–31. <https://doi.org/10.3390/nu8020090>
- Shahidi, F., y Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820–897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Srinivasulu, C., Ramgopal, M., Ramanjaneyulu, G., y Anuradha, C. M. (2018). Syringic acid (SA) – A Review of Its Occurrence, Biosynthesis, Pharmacological and Industrial Importance. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 108, 547–557. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.069>

- Steinmann, V. W., y Porter, J. M. (2002). Phylogenetic relationships in *Euphorbieae* (Euphorbiaceae) based on its and ndhF sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 89(4), 453–490. <https://doi.org/10.2307/3298591>
- Trejo, L., Arroyo, T. P. F., Olsen, K. M., Eguiarte, L. E., Arroyo, B., Gruhn, J. A., y Olson, M. E. (2012). Poinsettia's wild ancestor in the mexican dry tropics: Historical, genetic, and environmental evidence. *American Journal of Botany*, 99(7), 1146–1157. <https://doi.org/10.3732/ajb.1200072>
- Wang, W., Bostic, T. R., y Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*, 122(4), 1193–1198. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.114>
- Yang, J., Guo, J., y Yuan, J. (2008). *In vitro* antioxidant properties of rutin. *LWT - Food Science and Technology*, 41(6), 1060–1066. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.06.010>
- Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomás-Barberán, F. A., Datta, N., Singanusong, R., y Chen, S. S. (2004). Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59(3), 113–122. <https://doi.org/10.1007/s11130-004-0049-7>
- Yeh, C.-T., y Yen, G.-C. (2005). Effect of vegetables on human phenolsulfotransferases in relation to their antioxidant activity and total phenolics. *Free Radical Research*, 39(8), 893–904. <https://doi.org/10.1080/10715760500150424>

5. PROPIEDADES QUÍMICAS, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO METANÓLICO DE BRÁCTEAS DE *Euphorbia pulcherrima*

5.1 Resumen

Euphorbia L. es uno de los géneros ampliamente estudiado debido a su relevancia farmacológica y su distribución cosmopolita. En México, una de las ornamentales más representativa del género *Euphorbia* es la nochebuena. A pesar de contar con información que reporta el uso etnomédico de la nochebuena, hasta el momento no hay estudios experimentales que respalden las propiedades químicas y antiinflamatorias de las variedades de nochebuena de sol (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch). El objetivo del presente estudio fue determinar e identificar el contenido de fenoles y flavonoides totales del extracto metanólico de brácteas de nochebuena de sol *Euphorbia pulcherrima* variedad “Amanecer Navideño” y evaluar su capacidad antioxidante y antiinflamatoria. Se colectaron las brácteas en buen estado y se realizó una extracción sucesiva metanol/agua (80:20, v/v). El contenido fenólico total (CFT) y de flavonoides totales (FT) así como la capacidad antioxidante fueron evaluados mediante métodos *in vitro*, la identificación de ácidos fenólicos y flavonoides se determinó mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), la evaluación de la actividad antiinflamatoria fue determinada mediante el modelo de edema auricular inducido por TPA. El contenido de fenoles (162.27 ± 5.8 mg EAG g⁻¹_{bs}) fue superior al contenido de flavonoides (21.98 ± 0.24 mg EC g⁻¹_{bs}) totales, en cuanto a la capacidad antioxidante los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox obteniendo un total de 2012 ± 6.8 , 1438 ± 10.9 y 2512.5 ± 6.4 (μmol ET g⁻¹_{bs}) en los métodos ABTS, DPPH y FRAP respectivamente. El extracto metanólico de brácteas de *E. pulcherrima* presentó actividad antiinflamatoria moderada en las dosis de 125, 250 y 750 μg/oreja, siendo capaces de inhibir el edema en un 41.17 %, 43.50 % y 49.08 % respectivamente. La actividad antioxidante y antiinflamatoria registradas en el extracto parecen estar relacionadas con la presencia de fenoles y flavonoides.

Palabras clave: actividad antiinflamatoria, capacidad antioxidante, *Euphorbia pulcherrima*

5.2 Abstract

The genus *Euphorbia* L. is some widely studied genera due to its pharmacological relevance and cosmopolitan distribution. In Mexico, the poinsettia is one of the most representative ornamentals of the genus *Euphorbia*. Despite information reporting the ethnomedical use of poinsettia there are no experimental studies that support the chemical and anti-inflammatory properties of Sun poinsettia varieties (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch). The objective of this study was to determine and indentify the total phenol and flavonoid content of the methanolic extract of bracts from Sun poinsettia variety "Amanecer Navideño" and to evaluate their antioxidant and anti-inflammatory activity. Well-developed bracts were collected and a successive methanol/water extraction (80:20, v/v) was performed. The total phenolic (TPC) and total flavonoid (TFC) content as well as antioxidant capacity were evaluated using *in vitro* methods, the identification of phenolic acids and flavonoids was determined by high-resolution liquid chromatography (HPLC), the evaluation of anti-inflammatory activity was determined by the TPA-induced ear oedema model. The phenol content (162.27 ± 5.8 mg EAG g⁻¹_{bs}) was higher than the total flavonoid content (21.98 ± 0.24 mg EC g⁻¹_{bs}), in terms of antioxidant capacity the results were expressed as Trolox equivalent micromoles obtaining a total of 2012 ± 6.8 , 1438 ± 10.9 and 2512.5 ± 6.4 (μmol ET g⁻¹_{bs}) in the ABTS, DPPH and FRAP methods respectively. The methanolic extract of *E. pulcherrima* bracts exhibited moderate anti-inflammatory activity at doses of 125, 250 and 750 μg/ear, being able to inhibit edema by 41.17%, 43.50% and 49.08% respectively. The antioxidant and anti-inflammatory activity recorded in the extract appears to be related to the presence of phenols and flavonoids.

keywords: antiinflammatory activity, antioxidant capacity, *Euphorbia pulcherrima*.

5.3 Introducción

La inflamación es un proceso tisular constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares de finalidad defensiva frente a agresiones físicas, químicas o biológicas. La inflamación está caracterizada por cuatro signos: Calor, Rubor, Tumor y Dolor (Bordés-González et al., 1994). El proceso inflamatorio se encuentra regulado por células del sistema inmune con la finalidad de asegurar el apropiado reclutamiento de leucocitos, estos eventos están controlados por una serie de mediadores y reguladores extracelulares (Punchard et al., 2004). Los neutrófilos polimorfonucleares (NPM), están involucrados en la mediación de la respuesta inflamatoria contra los agentes infecciosos, produciendo las especies reactivas de oxígeno (ERO), estos compuestos son cruciales para la progresión de muchas enfermedades inflamatorias (Mittal et al., 2014). Las ERO ocasionan daños irreversibles a todo tipo de biomoléculas, incluyendo lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos. El proceso mediante el cual se genera un desequilibrio entre la producción de las ERO y los mecanismos de defensa antioxidante del organismo se denomina estrés oxidativo (San-Miguel & Martin-Gil, 2009). Otro importante modulador de la respuesta inflamatoria es el factor de transcripción Nuclear kappa B (NF-kB), el cual se encuentra regulado por la producción de las ERO, siendo en extremo sensible al estrés oxidativo (Rosado-Pérez & Mendoza-Núñez, 2007).

El tratamiento farmacológico para la inflamación incluye dos principales grupos: antiinflamatorios esteroideos o glucocorticoides y los antiinflamatorios no esteroideos (AINE's). Los antiinflamatorios esteroideos son los antiinflamatorios, más potentes, actuando sobre la inflamación mediante la reducción del número de eosinófilos, o disminuyendo la cantidad de monocitos. Por otra parte, los antiinflamatorios no esteroideos son inhibidores competitivos y selectivos de las enzimas ciclooxigenasas (COX), un ejemplo de este tipo de fármaco es la Indometacina, el cual es un derivado del ácido acético (Brunton, 2012). Los AINE's son uno de los grupos de fármacos más prescritos a nivel mundial, son útiles tanto en enfermedades inflamatorias como degenerativas, sin embargo, la

mayoría de las complicaciones en el consumo de los AINE's están relacionadas con la inhibición de la síntesis de las prostaglandinas, generando una toxicidad hepática, renal o gastrointestinal aumentando el riesgo de complicaciones gastrointestinales graves tales como hemorragia digestiva alta o perforación (Gómez-de-Salazar et al., 2013) .

Existe un creciente interés científico en el uso de productos naturales para combatir distintas enfermedades humanas, entre ellas las de carácter inflamatorio (Yuan et al., 2006). Los productos naturales han sido la fuente de la mayoría de los ingredientes activos de los medicamentos , un ejemplo de ellos son los compuestos químicos derivados de las plantas (Harvey, 2008). El género *Euphorbia* L. es uno de los géneros de plantas ampliamente estudiado debido a su relevancia farmacológica y su distribución cosmopolita (Ernst et al., 2016). Un gran número de especies pertenecientes a este género, están relacionadas con alguna respuesta inflamatoria (Ernst et al., 2016) tales como *E.tirucalli* (Palit et al., 2018), *E.characias* (Özbilgin et al., 2018), *E. hirta* (Sharma et al., 2014) y *E. peplus* (Ali et al., 2013). La respuesta inflamatoria es de carácter protector ya que pretende librar al organismo de la causa inicial de la lesión celular (León-Regal et al., 2015) ya sea de toxinas bacterianas(Guzmán-Benítez & Márquez-Torres, 2010),o eliminando las consecuencias de estas lesiones como células y tejido necrótico (Ernst et al., 2016). Esta respuesta puede deberse a diversas estructuras químicas ampliamente distribuidas en la filogenia de este género (Ernst et al., 2019), principalmente esqueletos macrocíclicos y policíclicos así como ácidos aromáticos y alifáticos (Vasas & Hohmann, 2014).

Además de las propiedades antiinflamatorias, también se han estudiado las propiedades antioxidantes del género *Euphorbia*. Majid et al. (2015), mediante el modelo de edema plantar inducido por carragenina y ensayos *in vitro* de capacidad antioxidante, evidenciaron la actividad antiinflamatoria y antioxidante de los extractos de n-hexano, acetona, etanol, etanol + agua (1:1) y metanol de las partes aéreas de *E. dracunculoides* obteniendo que el extracto de n-hexano seguido del etanolico y etanol+ agua (1:1) son los que mostraron mayor actividad

antiinflamatoria. Sdayria et al. (2018) también con el modelo de edema inducido con carragenina y con ensayos *in vitro*, demostraron la actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto metanólico de hojas de *E. retusa*. En otro estudio, Ekpo & Pretorius (2007) usando el modelo murino de asma, encontraron que el extracto acuoso de las partes aéreas de *E. hirta* disminuyó los niveles de neutrófilos, eosinófilos y basófilos células activas de la inflamación. Sun et al. (2018) determinaron la actividad antiinflamatoria de los triterpenoides aislados de las fracciones del extracto metanólico de toda la planta de *E. maculata*.

En México, una de las ornamentales más representativa del género *Euphorbia* es la flor de pascua (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) (Steinmann & Porter, 2002), mejor conocida como nochebuena. Las plantas silvestres de nochebuena crecen de manera natural en los bosques tropicales subcaducifolios de la costa del Pacífico, desde Sinaloa, en México, hasta Guatemala (Trejo-Hernández et al., 2015).

Con respecto a los usos empíricos que se le dan a la nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch), destacan los siguientes: los habitantes de la comunidad de Xalpatlahuac, Guerrero, México reportaron que el consumo vía oral de una infusión preparada con las hojas o incluso de toda la planta puede aliviar la gripe y hemorragias vaginales. También se ha indicado el uso de la infusión vía oral de toda la planta de nochebuena para aliviar la tos (Alonso-Castro et al., 2017).

En el Estado de México, Guanajuato, Michoacán y Puebla, el látex de la nochebuena es aplicado directamente para tratar mezquinos, verrugas, erisipela, fuegos en la boca, llagas e infecciones cutáneas y heridas. En hinchazones por picadura de gusanos, se ponen las hojas molidas. Para las inflamaciones, se asan las hojas y se aplican lo más caliente que se tolere. Para aliviar los golpes se hierven las flores, se les exprime limón y con ellas se envuelve la zona dañada (Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).

Una de las variedades de nochebuena ampliamente cultivada en México es la denominada nochebuena de sol, este recurso fitogenético nativo tiene gran importancia económica en el sector ornamental (Galindo-García et al., 2015).

A pesar del uso etnomédico de la nochebuena para atender la hinchazón o inflamación por picadura de gusanos y de los reportes experimentales demostrando las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes de otras especies de *Euphorbia*; hasta el momento no hay estudios químicos y farmacológicos que respalden estas propiedades en la nochebuena de sol (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) y sus variedades. Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo determinar e identificar el contenido de fenoles y flavonoides totales del extracto metanólico de brácteas de nochebuena de sol *Euphorbia pulcherrima* variedad “Amanecer Navideño” y evaluar su capacidad antioxidante y antiinflamatoria.

5.4 Materiales y Métodos

5.4.1 Material vegetal

Se colectaron 220 g de brácteas en buen estado de nochebuena de sol (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) variedad “Amanecer Navideño” en el campo experimental de la Universidad Autónoma Chapingo durante el mes de noviembre del 2019. Las brácteas fueron trasladadas al Laboratorio de Productos Naturales de la sección de Preparatoria Agrícola y se liofilizaron en un equipo Free Zone 2.5 Liter Benchtop marca LABCONCO. Las brácteas liofilizadas se almacenaron en bolsas de papel para su posterior análisis.

5.4.2 Método de extracción

Se colocaron 35.7 g de brácteas liofilizadas pulverizadas en un recipiente ámbar con capacidad de 5 L, posteriormente se les añadió 350 mL de una disolución metanol/agua (80:20, v/v) y se maceraron durante 24 h. El macerado se filtró con papel Whatman No. 2 y el disolvente fue removido en un rotavapor (marca Büchi Labortechnik AG, Flawil, Switzerland) aplicando vacío y en baño de vapor a una

temperatura constante de 50°C, obteniendo así 3 extracciones sucesivas las cuales se depositaron en un recipiente de vidrio, dejándolo en la campana de extracción por unas horas, finalmente el extracto metanólico crudo fue almacenado a temperatura ambiente y protegido de la luz para llevar a cabo las pruebas químicas y farmacológicas.

5.4.3 Pruebas químicas

Preparación de extractos

Se pesó una cantidad de 125 mg del extracto crudo obtenido de la extracción sucesiva con metanol/agua (80:20, v/v), esta cantidad se colocó en un tubo falcon con capacidad de 45 mL, posteriormente se añadieron 25 mL de agua destilada, la solución se agitó en un Vortex de la marca synergy, WVE International, por 10 min a 3000 rpm, se filtró con papel Whatman No.2 y se aforó a 25 mL con agua destilada. Este procedimiento se realizó por triplicado. A esta solución se le cuantificó el contenido de fenoles totales, flavonoides totales y capacidad antioxidante.

Determinación de fenoles y flavonoides totales

Los fenoles totales se cuantificaron por el método de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965) adaptado a microplacas. El contenido de fenoles totales se expresó en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra en base seca (mg EAG g⁻¹_{bs}). Los flavonoides totales se determinaron de acuerdo al procedimiento de Kubola & Siriamornpun (2011) adaptado a microplacas, y el contenido de flavonoides totales se expresó en miligramos equivalentes de catequina por gramo de muestra en base seca (mg EC g⁻¹_{bs}).

Determinación de capacidad antioxidante

Para la determinación de la capacidad antioxidante se utilizaron los ensayos de FRAP, ABTS y DPPH adaptados a microplacas, los tres ensayos se realizaron por cuadruplicado, usando como antioxidante de referencia al Trolox. Los resultados se expresaron en micromoles equivalentes de Trolox por gramo de

muestra en base seca ($\mu\text{mol ET g}_{\text{bs}}^{-1}$) (Benzie & Strain, 1996; Cheng et al., 2006; Re et al., 1999).

Identificación de ácidos fenólicos y flavonoides por CLAR

Los análisis se realizaron en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (CLAR) modelo 1100 de la marca Hewlett Packard, acoplado a un detector de arreglo de diodos. Para la cuantificación de ácidos fenólicos y flavonoides se utilizó una columna Hypersil ODS $5\mu\text{m}$ de diámetro de partícula, $125 \times 4.0 \text{ mm d. i.}$ de la marca Thermo Scientific.

5.4.4 Evaluación de la actividad antiinflamatoria

Animales de experimentación

Se emplearon ratones macho ICR (CD-1) procedentes del Bioterio de la FES Iztacala UNAM mantenidos en condiciones estándar: luz-oscuridad (12/12h), con libre acceso de agua y alimento. El manejo de los animales se realizó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-200-1999): Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Edema auricular inducido por 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)

La evaluación de la actividad antiinflamatoria mediante el modelo de edema auricular inducido por TPA se realizó según el método descrito por Young et al. (1983), y ajustado por Payá et al., (1993). Grupos independientes de ratones macho ICR-CD1 ($n=7$) fueron pesados y distribuidos al azar. Posteriormente, fueron anestesiados con pentobarbital sódico vía intraperitoneal. Cada sujeto anestesiado, recibió en la oreja derecha (OD), por vía tópica, una solución de TPA ($2.5 \mu\text{g}/10\mu\text{L}$) y en la oreja izquierda (OI) el vehículo (acetona). Transcurridos diez minutos, en la OD se aplicó uno de los siguientes tratamientos: fármaco de referencia Indometacina ($0.8\text{mg}/10\mu\text{L}$) o extracto metanólico crudo de brácteas de la variedad “Amanecer Navideño” disuelto en agua en dosis de:

125, 250, 500 ó 750 µg/10µL. Cuatro horas después cada sujeto se sacrificó por dislocación cervical y se procedió a tomar secciones circulares de ambas orejas (7 mm de diámetro) empleando un sacabocado, los pesos de las secciones circulares de ambas orejas fueron registrados. El cálculo del edema se estimó como la diferencia de peso de las secciones circulares de la oreja tratada y la oreja no tratada:

$$Edema = W_t - W_o$$

Donde W_t es el peso de la sección circular de la oreja tratada y W_o es el peso de la sección circular de la oreja no tratada.

Los porcentajes de inflamación e inhibición fueron calculados con las siguientes ecuaciones:

$$\% Inflamación = \frac{W_t - W_o}{W_o} \times 100$$

$$\% Inhibición = \frac{I_c - I_t}{I_c} \times 100$$

Donde W_t es el peso de la oreja tratada con el irritante (TPA), W_o el peso de la oreja no tratada, I_c representa la media del porcentaje de inflamación del tratamiento TPA, e I_t representa la media del porcentaje de inflamación de cada grupo.

Análisis estadístico

Los datos se expresaron como la media $\pm$ error estándar de la media (ESM), para las variables dependientes edema y porcentaje de inflamación. Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SAS para Windows 9.0 y fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y prueba Post Hoc de Duncan ($p \leq 0.05$).

5.5 Resultados y Discusión

5.5.1 Material vegetal

La nochebuena de sol, variedad “Amanecer navideño” se encuentra registrada con el número de inscripción NOC-002-240211 en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (CNVV).

5.5.2 Método de extracción

El rendimiento del extracto metanólico de las brácteas de la variedad “Amanecer navideño” (*E. pulcherrima*) fue de 0.0018%.

5.5.3 Pruebas químicas

Determinación de fenoles y flavonoides totales

Los resultados del contenido de fenoles totales (CFT) y flavonoides totales (FT) del extracto metanólico de brácteas de la variedad “Amanecer Navideño” se muestran en el Cuadro 4. El contenido de fenoles totales se expresó en equivalentes de ácido gálico haciendo referencia a la curva estándar ($y=48.307x+0.0283$, $R^2=0.993$) y el contenido de flavonoides totales se expresó en equivalentes de catequina haciendo referencia a la curva estándar ($y=16.895x+0.0029$, $R^2=0.995$). El contenido de fenoles totales (162.27 ± 5.8 mg EAG g^{-1}_{bs}) fue superior al contenido de flavonoides totales (21.98 ± 0.24 mg EC g^{-1}_{bs}); estos resultados coinciden con lo descrito por Basma et al., 2011 reportando un contenido total de fenoles (206.17 ± 1.95 mg EAG g^{-1}_{bs}) superior al contenido total de flavonoides (37.97 ± 0.003 mg EC g^{-1}_{bs}) analizados en el extracto metanólico de hojas de *Euphorbia hirta*. Las diferencias en los contenidos de compuestos fenólicos pueden deberse a la diferente acumulación de los mismos dentro de los tejidos de la planta (Barriada-Bernal et al., 2014), o al manejo de la fertilidad del suelo afectando la composición nutrimental y por ende la acumulación de metabolitos secundarios incluyendo a los compuestos fenólicos (Mitchell et al., 2007). De acuerdo con Ambriz-Pérez et al., 2016. los compuestos fenólicos son capaces de inhibir la acción o producción de los mediadores pro inflamatorios, como resultado de su actividad antiinflamatoria.

Determinación de capacidad antioxidante

Los resultados de la capacidad antioxidante evaluada en el extracto metanólico de brácteas de *Euphorbia pulcherrima* mediante la reducción del DPPH (50 %), la actividad reductora del hierro (FRAP) y la inhibición de la absorbancia del catión radical 2,2-bis-azino ácido, 3-etilbenzoatiazolina-6-sulfónico (ABTS) se muestran en el Cuadro 4. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox haciendo referencia a la curva estándar de DPPH ($y=2.1987x + 4.1312$, $R^2=0.99$), FRAP ($y=0.0248x - 0.0369$, $R^2=0.991$) y ABTS ($y=0.0155x + 0.1995$, $R^2= 0.983$). Estos ensayos se han empleado para evaluar la capacidad antioxidante proveniente de otras especies del género *Euphorbia*, tal es el caso de Zengin et al. (2017), quienes analizaron la capacidad antioxidante del extracto metanólico de hojas de *Euphorbia dendiculata* reportando valores de 407.1 ± 1.40 , 223 ± 0.51 y 309 ± 2.83 $\mu\text{mol ET g}$ en los ensayos FRAP, DPPH y ABTS respectivamente. En otro estudio Sharma et al. (2007), analizaron la capacidad antioxidante del extracto metanólico de hojas de *Euphorbia hirta* reportando un valor de 247 ± 12.58 ($\mu\text{mol ET g}^{-1}_{\text{bs}}$) mediante el ensayo ABTS.

Cuadro 4.Contenido de fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidante del extracto metanólico de brácteas de *Euphorbia pulcherrima* variedad “Amanecer Navideño”

Variedad	Análisis	Cantidad
“Amanecer Navideño” (<i>Euphorbia pulcherrima</i>)	CFT (mg EAG g ⁻¹ _{bs})	162.27 ± 5.8
	FT (mg EC g ⁻¹ _{bs})	21.98 ± 0.24
	ABTS (μmol ET g ⁻¹ _{bs})	2012 ± 6.8
	DPPH (μmol ET g ⁻¹ _{bs})	1438 ± 10.9
	FRAP (μmol ET g ⁻¹ _{bs})	2512.5 ± 6.4

En general los antioxidantes son sustancias de origen natural, mineral o animal capaces de neutralizar a los radicales libres y sus acciones negativas dentro del cuerpo humano (Costantini et al., 2013). La inflamación puede ocasionar un incremento en la producción de radicales libres tales como las especies reactivas de oxígeno implicadas en el daño celular (Jyoti et al., 2016). Es por eso que resulta necesario la medición de la actividad antioxidante, ya que se enfoca en monitorear la capacidad que tienen los extractos vegetales de capturar radicales libres o inhibir la formación de los mismos (Mosquera et al., 2005).

La capacidad antioxidante de las plantas se deriva de la acción sinérgica acumulativa de una amplia variedad de antioxidantes tales como los polifenoles, principalmente de los ácidos fenólicos y los flavonoides (Pérez-Jiménez et al., 2008).

Identificación de ácidos fenólicos y flavonoides por CLAR

Los ácidos fenólicos identificados en el extracto metanólico de brácteas de la variedad “Amanecer Navideño” se muestran en el Cuadro 5. Los ácidos fenólicos gálico, rosmarínico y p-hidroxibenzoico son los que se encontraron en mayor concentración. De acuerdo con Locatelli et al. (2013), el ácido gálico es uno de los ácidos fenólicos más sobresalientes en cuanto a sus propiedades

antiinflamatorias, siendo capaz de suprimir la expresión de citocinas pro inflamatorias, quimiocinas, así como la ciclooxigenasa 2 (COX-2) (Yoon et al., 2013). Osakabe et al. (2004) describieron el efecto antiinflamatorio del ácido rosmárinico mediante dos mecanismos; el primero involucra la inhibición de la síntesis de quimiocinas y eicosanoides y el segundo involucra la inhibición del estrés oxidativo inducido por las células inflamatorias. También se han analizado los glucósidos del ácido p-hidroxibenzoico presentando efectos inhibitorios en la liberación de los mediadores de la inflamación tales como el óxido nítrico, factor de necrosis tumoral TNF- α y de la interleucina IL-6 (Liu et al., 2018).

Cuadro 5. Ácidos fenólicos identificados en el extracto metanólico de brácteas de la variedad “Amanecer Navideño” por CLAR

ÁCIDO FENÓLICO	(mg/mg de extracto)	Área [mAU*s]	Tiempo de retención (min)
Ferúlico	0.026	608.22	5.90
Rosmárinico	0.173	520.20	9.14
Protocatecuico	0.032	728.21	2.10
3,5-dihidroxibenzoico	0.004	218.69	11.28
Gálico	0.715	77797.96	1.56
Sinápico	0.033	573.32	5.93
p-hidroxibenzoico	0.067	4013.46	2.62
β -resorcílico	0.015	481.30	4.06
Siríngico	0.051	250.01	3.58

Ham et al., 2016 determinaron que una suplementación de ácido siríngico en una dieta con alto contenido en grasas, disminuye significativamente la regulación en la expresión de los genes inflamatorios tales como TLR4, MYD88, NF- κ B, TNF- α y la interleucina IL-6 en el hígado de ratones obesos. Zhang et al., 2017 evaluaron las propiedades antiinflamatorias de los derivados del ácido sinápico presentando una inhibición en la activación del factor NF- κ B y una disminución en la expresión

de las interleucinas IL-6 y IL-8 mediante un ensayo biológico utilizando células epiteliales bronquiales humanas (BEAS-2B). De igual forma se han investigado las propiedades antiinflamatorias del ácido protocatecuico, mediante ensayos de estimulación de las células microgliales BV-2, empleando como estimulante al lipopolisacárido LPS mostrando efectos inhibitorios en la producción de mediadores de la inflamación tales como TNF- α , IL-6, IL-1 β , así como la producción de la prostaglandina PGE₂, en la expresión de los genes TLR4, NF- κ B y en la activación de las quinasas MAPKs (Wang et al., 2015). Otro de los ácidos fenólicos que reporta actividad antiinflamatoria es el ácido ferúlico, presentando una actividad inhibitoria de las citocinas pro-inflamatorias IL-6 y TNF- α , así como de la COX-2 (Nile et al., 2016).

Los flavonoides identificados en el extracto metanólico de brácteas de la variedad “Amanecer Navideño” (Cuadro 6) fueron rutina, miricetina y quercetina, siendo el flavonoide rutina el que se encontró en mayor concentración.

Cuadro 6. Flavonoides identificados en el extracto metanólico de brácteas de la variedad “Amanecer Navideño” por CLAR

FLAVONOIDES	(mg/mg de extracto)	Área [mAU*s]	Tiempo de retención (min)
Miricetina	0.028	200.85	9.14
Rutina	0.63	4145.82	5.67
Quercetina	0.013	91.53	13.40

En un estudio realizado por (Selloum et al., 2003) el flavonoide rutina presentó actividad antiinflamatoria inhibiendo los procesos de migración de neutrófilos. De igual forma se ha analizado el efecto antiinflamatorio de la miricetina siendo capaz de inhibir los niveles de COX-2 y NF- κ B (Zhang et al., 2018). A pesar de que la quercetina se encontró en menor concentración, su actividad antiinflamatoria está relacionada con la disminución en la producción de especies reactivas de oxígeno y del óxido nítrico (Leyva-López et al., 2016).

5.5.4 Evaluación de la actividad antiinflamatoria

Edema auricular inducido por 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)

Las medias del porcentaje de inflamación obtenido con el modelo de edema auricular inducido por TPA se muestran en la Figura 10. El ANOVA de una vía mostró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($F_{(5,41)} = 11.18$, $p=0.05$). La prueba post hoc de Duncan formó tres grupos: el grupo “a” conformado por TPA, el grupo “b” conformado por las dosis de 125, 250 500 y 750 $\mu\text{g}/\text{oreja}$ y el grupo “c” constituido por Indometacina.

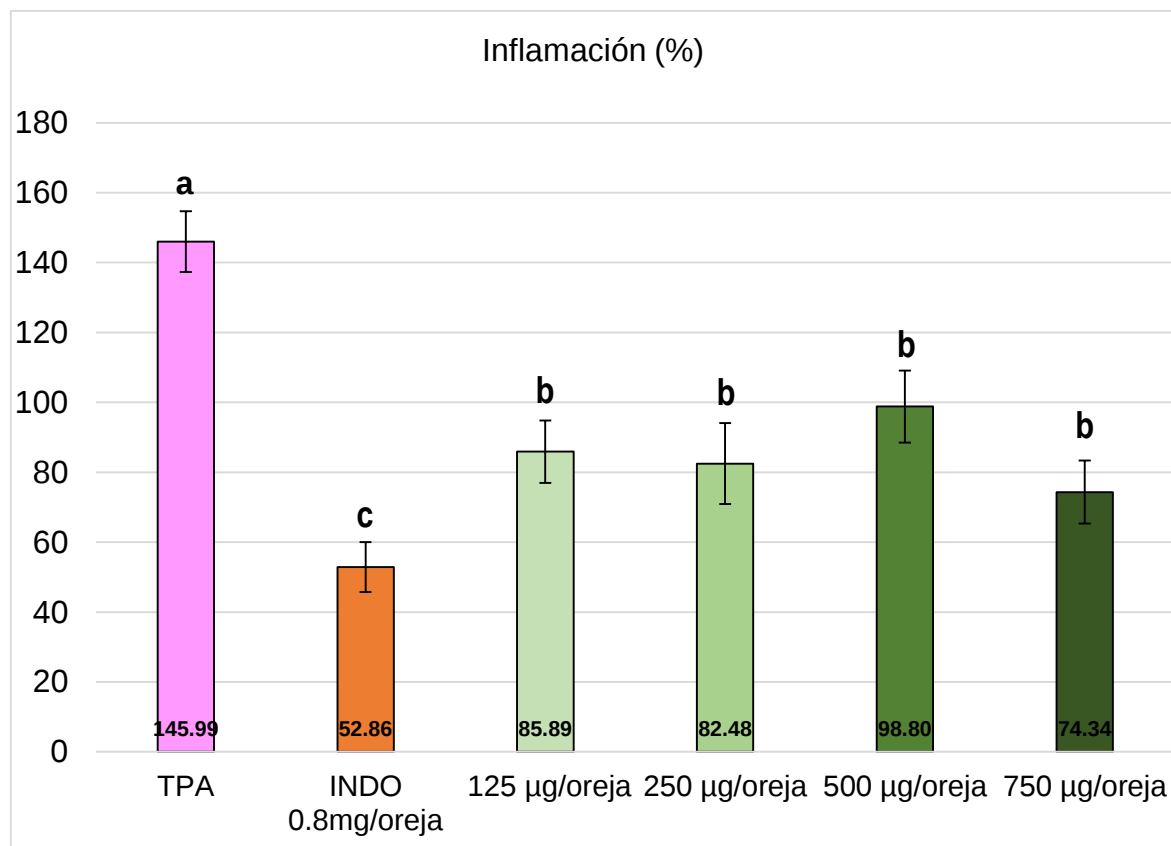


Figura 10. Medias de los porcentajes de inflamación obtenidos con el modelo auricular inducido por TPA, los valores con la misma letra son similares estadísticamente (HSD de Duncan, $p \geq 0.05$) $\pm$ error estándar de la media.

El efecto del extracto metanólico de brácteas de *E. pulcherrima* sobre el edema inducido con TPA se muestra en el Cuadro 7. Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos mediante el ANOVA de una vía ($F_{(5,41)} = 13.17$, $p=0.05$). La prueba post hoc de Duncan formó tres grupos: el grupo “a” conformado por TPA, el grupo “b” conformado por la dosis de 125, 250 500 y 750 $\mu\text{g}/\text{oreja}$ y el grupo “c” conformado por Indometacina.

El edema producido por el TPA fue superior a los demás tratamientos, lo cual coincide con su alto porcentaje de inflamación; mientras que Indometacina fármaco de referencia, presentó los valores de edema y porcentaje de inflamación más bajos. Si bien, las cuatro dosis aplicadas del extracto no tuvieron efecto semejante a Indometacina, todas lograron disminuir el edema y el porcentaje de inflamación producidos por el TPA.

Cuadro 7. Efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de brácteas de *Euphorbia pulcherrima* variedad “Amanecer Navideño”

Tratamiento	Edema $\pm$ ESM (mg)	%Inhibición
TPA	11.32a $\pm$ 0.65	-----
Indometacina	4.15c $\pm$ 0.56	63.80
Dosis 1 (125 $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}$)	6.89b $\pm$ 0.57	41.17
Dosis 2 (250 $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}$)	6.29b $\pm$ 0.86	43.50
Dosis 3 (500 $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}$)	7.25b $\pm$ 0.64	32.33
Dosis 4 (750 $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}$)	5.41b $\pm$ 0.73	49.08

Valores con letras iguales dentro de cada columna son similares estadísticamente (HSD de Duncan, $p \geq 0.05$) $\pm$ error estándar de la media

En el cuadro 7, también se muestra el porcentaje de inhibición del edema alcanzado con las dosis del extracto. De acuerdo con González-Guevara et al. (2011), se considera como actividad antiinflamatoria moderada la inhibición del edema en un 35-65 % y como buen efecto antiinflamatorio un porcentaje de

inhibición mayor al 65 %. Con base en este criterio, las dosis de 125, 250 y 750 µg/oreja tienen actividad antiinflamatoria moderada, ya que sus porcentajes de inhibición fueron de 41.17, 43.50 y 49.08 % respectivamente. La dosis de 500 µg/oreja solo inhibió el edema en un 32.33 %.

Se han realizado estudios que evidencian la presencia de actividad antiinflamatoria en otros ejemplares de la especie *E. pulcherrima*. Matiz et al. (2011) evaluaron la actividad antiinflamatoria en la fracción metanólica de las flores de *C. pulcherrima* obteniendo un porcentaje de inhibición del 46.4 % con una dosis de 1000 µg/oreja mediante el modelo de edema auricular inducido por TPA. También se ha analizado la actividad antiinflamatoria de los compuestos aislados de extractos hechos a base de especies del género *Euphorbia* empleando el modelo de edema auricular inducido por TPA, Fernandez-Arche et al. (2010), reportaron la actividad antiinflamatoria del tirucallol un triterpeno aislado del látex de *Euphorbia lactea* obteniendo un porcentaje de inhibición del 82.75 % con una dosis de 1000 µg/oreja. En otro estudio realizado por Yasukawa et al. (2000), reportaron la actividad antiinflamatoria de los compuestos triterpénicos así como de un β-sitoesterol aislados del extracto de diclorometano de las raíces de *Euphorbia kansui* obteniendo un porcentaje de inhibición del 50 % en todos los compuestos con las dosis de 200 y 1000 µg/oreja.

La presencia de actividad antiinflamatoria del extracto metanólico de brácteas de nochebuena de sol (*Euphorbia pulcherrima*) analizada en este estudio, también se encuentra reportada en otros estudios con especies del mismo género. Esta similitud pudiera atribuirse a una posible producción restringida de productos naturales con actividad biológica proveniente de organismos relacionados taxonómicamente (Singh, 2016). Por otro lado Saslis-Lagoudakis et al. (2011), sugieren que existe un patrón filogenético en las propiedades medicinales dentro de un mismo género.

El efecto antiinflamatorio observado en el extracto metanólico de brácteas de la variedad “Amanecer Navideño” puede estar relacionado a la presencia de fenoles y flavonoides, ya que estos compuestos son capaces de inhibir la producción de mediadores pro-inflamatorios (Ambriz-Pérez et al., 2016). La actividad antioxidante registrada en el extracto también puede atribuirse a la presencia de fenoles y flavonoides; estos últimos son reconocidos por su capacidad de conferir actividad antioxidante mediante la captación de radicales libres y propiedades quelantes del hierro (Ciappini et al., 2013). La respuesta inflamatoria está asociada a la producción de radicales libres y a las especies reactivas derivadas de ellos (Sdayria et al. 2018). El organismo cuenta con un sistema de defensa antioxidante integrado por enzimas; dentro de ellas se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx), cuya función es prevenir los daños ocasionados por los radicales libres. (Venereo-Gutiérrez, 2002). De acuerdo con Huang et al. (2011) los flavonoides son capaces de inhibir la producción de mediadores inflamatorios en macrófagos mediante los productos de degradación oxidativa (HOCL y $O_2^{\cdot-}$) y aumentando los antioxidantes enzimáticos tales como SOD, CAT y GPx en los tejidos. Por lo tanto, la actividad antiinflamatoria evidenciada en este estudio podría estar relacionada con la capacidad antioxidante que presentan los ácidos fenólicos y flavonoides identificados en el extracto. Específicamente, se ha reportado el efecto antiinflamatorio de los ácidos fenólicos: gálico (Yoon et al., 2013), rosmarínico (Osakabe et al., 2004), p-hidroxibenzoico (Liu et al., 2018), siríngico (Ham et al., 2016), sinápico (Zhang et al., 2017), protocatecuico (Wang et al., 2015) y ferúlico (Nile et al., 2016). También se ha demostrado la actividad antiinflamatoria de los tres flavonoides presentes en el extracto: rutina (Selloum et al., 2003), miricetina (Zhang et al., 2018) y quercetina (Leyva-López et al., 2016).

Este trabajo es la primera evidencia de la capacidad antioxidante y el potencial antiinflamatorio de nochebuena de sol (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) variedad “Amanecer Navideño” y sustenta su uso tradicional como antiinflamatorio tópico. Es necesario indagar en esta variedad la posible presencia de otros metabolitos con propiedades antiinflamatorias como esteroides

y terpenoides. Se ha reportado una fuerte actividad antiinflamatoria con las Fracciones ricas en Esteroles y Terpenoides obtenidas de *Euphorbia tirucalli* (Palit et al., 2018). En otro estudio, se vio potencializada la actividad antiinflamatoria con los derivados de un diterpenoide extraído de *Euphorbia lathyris* (Wang et al., 2020).

5.6 Conclusiones

El presente estudio evidenció las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias del extracto metanólico de las brácteas de *Euphorbia pulcherrima* variedad “Amanecer Navideño”. Estas propiedades pueden estar relacionadas con la presencia de fenoles y flavonoides en el extracto.

5.7 Perspectivas

-Determinar la posible presencia de terpenos en el extracto metanólico de brácteas de *E. pulcherrima* variedad “Amanecer Navideño”.

-Llevar a cabo un proceso de aislamiento y purificación de los fenoles, flavonoides y terpenoides relacionados con el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de brácteas de *E. pulcherrima* variedad “Amanecer Navideño”

5.8 Literatura Citada

Ali, A. A., Sayed, H. M., Ibrahim, S. R. M., & Zaher, A. M. (2013). Chemical constituents, antimicrobial, analgesic, antipyretic, and anti-inflammatory activities of *Euphorbia peplus* L. *Phytopharmacology*, 4(1), 69–80.

Alonso-Castro, A. J., Domínguez, F., Maldonado-Miranda, J. J., Castillo-Pérez, L. J., Carranza-Álvarez, C., Solano, E., Isiordia-Espinoza, M. A., Juárez-Vázquez, M. D. C., Zapata-Morales, J. R., Argueta-Fuertes, M. A., Ruiz-Padilla, A. J., Solorio-Alvarado, C. R., Rangel-Velázquez, J. E., Ortiz-Andrade, R., González-Sánchez, I., Cruz-Jiménez, G., & Orozco-Castellanos, L. M. (2017). Use of medicinal plants by health professionals in Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, 198, 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.12.038>

Ambriz-Pérez, D. L., Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., & Heredia, J. B. (2016). Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment.

- A Review. *Food Science & Technology*, 2(1), 1–14. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1131412>
- Barriada-Bernal, L. G., Almaraz-Abarca, N., Delgado-Alvarado, E. A., Gallardo-Velázquez, T., Ávila-Reyes, J. A., Torres-Morán, M. I., González-Elizondo, M. D. S., & Herrera-Arrieta, Y. (2014). Flavonoid composition and antioxidant capacity of the edible flowers of *Agave durangensis* (Agavaceae). *CYTA - Journal of Food*, 12(2), 105–114. <https://doi.org/10.1080/19476337.2013.801037>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana (2009). En Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=noche-buena>
- Bordés-González, R., Martínez-Beltrán, M., García-Olivares, E., & Guisado-Barrilao, R. (1994). El proceso inflamatorio. *Revista de enfermería UCLM*, 4(204), 11–21. <http://hdl.handle.net/10578/266>
- Brunton, L. L. (2012). *Goodman & Gilman: Las Bases Farmacológicas de La Terapéutica* (L. L. Brunton, R. Hilal-Dandan, & B. N. Knollmann (eds.); 13a ed.). McGraw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V.
- Canul, K. J., García, P. F., Osuna, C. F., Ramírez, R. S., & Barrios, G. E. (2013). Recursos genéticos de nochebuena en México, colecta de germoplasma para mejoramiento genético. *Ciencia y Tecnología Agropecaria de México*, 1(2), 20–26.
- Cheng, Z., Moore, J., & Yu, L. (2006). High-throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7429–7436. <https://doi.org/10.1021/jf0611668>
- Ciappini, M. C., Stoppani, F. S., Martinet, R., & Alvarez, M. B. (2013). Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 19, 45–51.
- Costantini, S., Colonna, G., & Castello, G. (2013). A Holistic Approach to Study the Effects of Natural Antioxidants on Inflammation and Liver Cancer. *Cancer Treatment and Research*, 159, 311–323. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-38007-5>

- Ekpo, O. E., & Pretorius, E. (2007). Asthma, *Euphorbia hirta* and its anti-inflammatory properties. *South African Journal of Science*, 103(5–6), 201–203.
- Ernst, M., Haris Saslis-Lagoudakis, C., Grace, O. M., Nilsson, N., Simonsen, H. T., Horn, J. W., & Rønsted, N. (2016). Evolutionary prediction of medicinal properties in the genus *Euphorbia* L. *Scientific Reports*, 6, 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep30531>
- Ernst, M., Nothias, L. F., van der Hooft, J. J. J., Silva, R. R., Saslis-Lagoudakis, C. H., Grace, O. M., Martinez-Swatson, K., Hassemer, G., Funez, L. A., Simonsen, H. T., Medema, M. H., Staerk, D., Nilsson, N., Lovato, P., Dorrestein, P. C., & Rønsted, N. (2019). Assessing specialized metabolite diversity in the cosmopolitan plant genus *Euphorbia* L. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00846>
- Fernandez-Arche, A., Saenz, M. T., Arroyo, M., de la Puerta, R., & Garcia, M. D. (2010). Topical anti-inflammatory effect of tirucallol, a triterpene isolated from *Euphorbia lactea* latex. *Phytomedicine*, 17(2), 146–148. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.05.009>
- Galindo-García, D. V., Alia-Tejacal, I., Valdez-Aguilar, L. A., Colinas-León, M. T., Villegas-Torres, Ó. G., López-Martínez, V., Sainz-Aispuro, M. J., & Guillén-Sánchez, D. (2015). Extracción de macronutrientes y crecimiento en variedades de nochebuena de sol nativas de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38(3), 305–312.
- Gómez-de-Salazar, J. R., Soler-Santos, G., Martín-Doménech, R., Cortés-Verdú, R., & Álvarez-Cienfuegos, A. (2013). Antiinflamatorios no esteroideos. En M. A. Belmonte, J. A. Castellano, J. A. Román, & J. C. Rosas (Eds.), *Enfermedades reumáticas: Actualización SVR*. (2a ed., pp. 469–476). Sociedad Valenciana de Reumatología.
- González-Guevara, M. C., Ospina-Giraldo, L. F., & Rincón-Velandia, J. (2011). Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones de *Myrcianthes leucoxila*, *Calea prunifolia*, *Curatella americana* y *Physalis peruviana* en los modelos edema auricular por TPA, edema plantar por carragenina y artritis inducida por colágeno. *Biosalud*, 10(1), 9–18.
- Guzmán-Benitez, A., & Márquez-Torres, M. E. (2010). Efectos de toxinas bacterianas en la señalización de la respuesta inflamatoria: MAPK, Ubiquitinación-Desubiquitinación. *REB*, 29(3), 74–81.
- Ham, J. R., Lee, H. I., Choi, R. Y., Sim, M. O., Seo, K. II, & Lee, M. K. (2016). Anti-steatotic and anti-inflammatory roles of syringic acid in high-fat diet-induced obese mice. *Food and Function*, 7(2), 689–697.

<https://doi.org/10.1039/c5fo01329a>

Harvey, A. L. (2008). Natural products in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 13(19/20), 894–901. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2008.07.004>.

Huang, M. H., Huang, S. S., Wang, B. Sen, Wu, C. H., Sheu, M. J., Hou, W. C., Lin, S. S., & Huang, G. J. (2011). Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Cardiospermum halicacabum* and its reference compounds ex vivo and in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 743–750. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.11.005>

Jyoti, A., Mishra, N., & Dhas, Y. (2016). Ageing: Consequences of excessive free radicals and inflammation. *Current Science*, 111(11), 1787–1793. <https://doi.org/10.18520/cs/v111/i11/1787-1793>.

Kubola, J., & Siriamornpun, S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chemistry*, 127(3), 1138–1145. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.115>.

León-Regal, M. L., Borges-Alvarado, A., García-Armas, J. O., Alvarado-Miranda, L., Cedeo-Varens, J. A., & Cuesta-del-Sol, J. A. (2015). Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares. *Finlay*, 5(1), 47–62.

Leyva-López, N., Nair, V., Bang, W. Y., Cisneros-Zevallos, L., & Heredia, J. B. (2016). Protective role of terpenes and polyphenols from three species of Oregano (*Lippia graveolens*, *Lippia palmeri* and *Hedeoma patens*) on the suppression of lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 macrophage cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 187, 302–312. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.051>.

Liu, Y. T., Gong, P. H., Xiao, F. Q., Shao, S., Zhao, D. Q., Yan, M. M., & Yang, X. W. (2018). Chemical constituents and antioxidant, anti-inflammatory and anti-tumor activities of *melilotus officinalis* (linn.) pall. *Molecules*, 23(2), 1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules23020271>.

Locatelli, C., Filippin-monteiro, F. B., Centa, A., & Creczinsky-pasa, T. B. (2013). Antioxidant, antitumoral and anti-inflammatory activities of Gallic Acid. En M. A. Thompson & P. B. Collins (Eds.), *Handbook on Gallic Acid: Natural Occurrences, Antioxidant Properties and Health Implications* (4th ed., Vol. 1, Número April, pp. 1–16). NovaPublishers.

Majid, M., Khan, M. R., Shah, N. A., Haq, I. U., Farooq, M. A., Ullah, S., Sharif,

- A., Zahra, Z., Younis, T., & Sajid, M. (2015). Studies on phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory and analgesic activities of *Euphorbia dracunculoides*. *BMC Complementary & Alternative Medicine*, 15(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0868-0>.
- Matiz, G. E., Franco O., L. A., & Rincón, J. (2011). Actividad antiinflamatoria de flores y hojas de *Caesalpinia pulcherrima* L. (Swartz). *Revista de la Universidad Industrial de Santander*, 43(3), 281–287. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=343835703008%0>.
- Mitchell, A. E., Hong, Y. J., Koh, E., Barrett, D. M., Bryant, D. E., Denison, R. F., & Kaffka, S. (2007). Ten-year comparison of the influence of organic and conventional crop management practices on the content of flavonoids in tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 6154–6159. <https://doi.org/10.1021/jf070344>.
- Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2014). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(7), 1126–1167. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5149>.
- Mosquera-M, O. M., Niño-O., J., Correa, Y. M., & Buitrago-Bejarano, D. C. (2005). Estandarizacion Del Método De Captura De Radicales Libres Para La Evaluación De La Actividad Antioxidante De Extractos Vegetales. *Scientia et Technica*, 1(27), 231–234. <https://doi.org/10.22517/23447214.6941>.
- Nile, S. H., Ko, E. Y., Kim, D. H., & Keum, Y. S. (2016). Screening of ferulic acid related compounds as inhibitors of xanthine oxidase and cyclooxygenase-2 with anti-inflammatory activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(1), 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.08.013>
- Osakabe, N., Takano, H., Sanbongi, C., Yasuda, A., Yanagisawa, R., Inoue, K. I., & Yoshikawa, T. (2004). Anti-inflammatory and anti-allergic effect of rosmarinic acid (RA); Inhibition of seasonal allergic rhinoconjunctivitis (SAR) and its mechanism. *BioFactors*, 21(1–4), 127–131. <https://doi.org/10.1002/biof.552210125>.
- Özbilgin, S., Acıkara, Ö. B., Akkol, E. K., Süntar, I., Keleş, H., & Işcan, G. S. (2018). In vivo wound-healing activity of *Euphorbia characias* subsp. *wulfenii*: Isolation and quantification of quercetin glycosides as bioactive compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, 224, 400–408. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.06.015>.
- Palit, P., Mukherjee, D., Mahanta, P., Shadab, M., Ali, N., Roychoudhury, S., Asad, M., & Mandal, S. C. (2018). Attenuation of nociceptive pain and inflammatory disorders by total steroid and terpenoid fraction of *Euphorbia tirucalli* Linn root in experimental in vitro and in vivo model.

- Inflammopharmacology*, 26(1), 235–250. <https://doi.org/10.1007/s10787-017-0403-7>.
- Payá, M., Ferrándiz, M. L., Sanz, M. J., Bustos, G., Blasco, R., Rios, J. L., & Alcaraz, M. J. (1993). Study of the antioedema activity of some seaweed and sponge extracts from the mediterranean coast in mice. *Phytotherapy Research*, 7(2), 159–162. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650070213>.
- Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Tabernero, M., Díaz-Rubio, M. E., Serrano, J., Goñi, I., & Saura-Calixto, F. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41(3), 274–285. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.12.004>.
- Prakash, V. (2017). Terpenoids as source of anti-inflammatory compounds. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(3), 68–76. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i3.16435>
- Punchard, N. A., Whelan, C. J., & Adcock, I. (2004). The Journal of Inflammation. *Journal of Inflammation*, 1, 1–4. <https://doi.org/10.1186/1476-9255-1-1>.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Development and characterisation of carbon nanotube-reinforced polyurethane foams. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9/10), 12131–1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3).
- Rosado-Pérez, J., & Mendoza-Núñez, V. M. (2007). Mini-revisión: Inflamación crónica y estrés oxidativo en la diabetes mellitus. *Bioquímica*, 32(2), 58–69. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57632204%0ACómo>.
- San-Miguel, A., & Martin-Gil, F. J. (2009). Importancia de las especies reactivas al oxígeno (radicales libres) y los antioxidantes en clínica. *Gaceta Médica de Bilbao*, 106(3), 106–113. [https://doi.org/10.1016/s0304-4858\(09\)74661-x](https://doi.org/10.1016/s0304-4858(09)74661-x).
- Saslis-Lagoudakis, C. H., Klitgaard, B. B., Forest, F., Francis, L., Savolainen, V., Williamson, E. M., & Hawkins, J. A. (2011). The use of phylogeny to interpret cross-cultural patterns in plant use and guide medicinal plant discovery: An example from *Pterocarpus* (Leguminosae). *PLoS ONE*, 6(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022275>.
- Sdayria, J., Rjeibi, I., Feriani, A., Ncib, S., Bouguerra, W., Hfaiedh, N., Elfeki, A., & Allagui, M. S. (2018). Chemical Composition and Antioxidant, Analgesic, and Anti-Inflammatory Effects of Methanolic Extract of *Euphorbia retusa* in Mice. *Pain Research and Management*, 11, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2018/4838413>.

- Selloum, L., Bouriche, H., Tigrine, C., & Boudoukha, C. (2003). Anti-inflammatory effect of rutin on rat paw oedema, and on neutrophils chemotaxis and degranulation. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 54(4), 313–318. <https://doi.org/10.1078/0940-2993-00260>.
- Sharma, N. K., Dey, S., & Prasad, R. (2007). In vitro antioxidant potential evaluation of *Euphorbia hirta* L. *Pharmacologyonline*, 1, 91–98.
- Sharma, N., Samarakoon, K. W., Gyawali, R., Park, Y. H., Lee, S. J., Oh, S. J., Lee, T. H., & Jeong, D. K. (2014). Evaluation of the antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities of *Euphorbia hirta* ethanolic extract. *Molecules*, 19(9), 14567–14581. <https://doi.org/10.3390/molecules190914567>.
- Singh, R. (2016). Chemotaxonomy: A Tool for Plant Classification. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 4(2), 90–93.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
- Steinmann, V. W., & Porter, J. M. (2002). Phylogenetic relationships in Euphorbieae (Euphorbiaceae) based on its and ndhF sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 89(4), 453–490. <https://doi.org/10.2307/3298591>.
- Sun, Y., Gao, L. liang, Tang, M. yue, Feng, B. min, Pei, Y. hu, & Yasukawa, K. (2018). Triterpenoids from *Euphorbia maculata* and their anti-inflammatory effects. *Molecules*, 23(9), 1–9. <https://doi.org/10.3390/molecules23092112>.
- Trejo-Hernández, L., Olson-Zúnica, M. E., & Bye-Boettler, R. A. (2015). Datos históricos y diversidad genética de las nochebuenas (*Euphorbia pulcherrima*) del Distrito Federal, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 86(2), 478–485. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2015.04.033>.
- Vasas, A., & Hohmann, J. (2014). *Euphorbia* diterpenes: Isolation, Structure, biological activity, and synthesis (2008-2012). *Chemical Reviews*, 114(17), 8579–8612. <https://doi.org/10.1021/cr400541j>.
- Venereo-Gutiérrez, J. R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 31(2), 126–133
- Wang, H. yu, Wang, H., Wang, J. huan, Wang, Q., Ma, Q. feng, & Chen, Y. yang. (2015). Protocatechuic Acid Inhibits Inflammatory Responses in LPS-Stimulated BV2 Microglia via NF-κB and MAPKs Signaling Pathways. *Neurochemical Research*, 40(8), 1655–1660. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1646-6>

- Wang, W., Wu, Y., Li, C., Yang, Y., Li, X., Li, H., & Chen, L. (2020). Synthesis of New Lathyrane Diterpenoid Derivatives from *Euphorbia lathyris* and Evaluation of Their Anti-Inflammatory Activities. *Chemistry and Biodiversity*, 17(2). <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900531>
- Yasukawa, K., Akihisa, T., Yoshida, Z. Y., & Takido, M. (2000). Inhibitory Effect of Euphol, a Triterpene Alcohol from the Roots of *Euphorbia kansui*, on Tumour Promotion by 12- O -Tetradecanoylphorbol-13-acetate in Two-stage Carcinogenesis in Mouse Skin. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 52(1), 119–124. <https://doi.org/10.1211/0022357001773607>.
- Yoon, C. H., Chung, S. J., Lee, S. W., Park, Y. B., Lee, S. K., & Park, M. C. (2013). Gallic acid, a natural polyphenolic acid, induces apoptosis and inhibits proinflammatory gene expressions in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes. *Joint Bone Spine*, 80(3), 274–279. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2012.08.010>.
- Young, J. M., Wagner, B. M., & Spires, D. A. (1983). Tachyphylaxis in 12-O-tetradecanoylphorbol Acetate- and Arachidonic Acid-Induced Ear Edema. *The Journal of Investigative Dermatology*, 80, 48–52.
- Yuan, G., Wahlqvist, M. L., He, G., Yang, M., & Li, D. (2006). Natural products and anti-inflammatory activity. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 15(2), 143–152.
- Zengin, G., Uysal, A., Aktumsek, A., Mocan, A., Mollica, A., Locatelli, M., Custodio, L., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Aumeeruddy-Elalfi, Z., & Mahomoodally, M. F. (2017). *Euphorbia denticulata* Lam.: A promising source of phyto-pharmaceuticals for the development of novel functional formulations. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 87, 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.12.063>
- Zhang, Q., Hu, J. X., Kui, X., Liu, C., Zhou, H., Jiang, X., & Zeng, L. (2017). Sinapic acid derivatives as potential anti-inflammatory agents: Synthesis and biological evaluation. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 16(4), 1405–1414. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2017.2137>
- Zhang, M. J., Su, H., Yan, J. Y., Li, N., Song, Z. Y., Wang, H. J., Huo, L. G., Wang, F., Ji, W. S., Qu, X. J., & Qu, M. H. (2018). Chemopreventive effect of Myricetin, a natural occurring compound, on colonic chronic inflammation and inflammation-driven tumorigenesis in mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 97, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.11.018>