

Composición química y actividad antioxidante de hojas de dos variedades de *Bougainvillea glabra* Choisy

*Chemical composition and antioxidant activity of the leaves of two varieties of *Bougainvillea glabra* Choisy*

Jaramillo Jaramillo Carmita Gladys
Universidad Técnica de Machala
cjaramillo@utmachala.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-3745-8635>

Solano Maza Luiggi Oscar
Universidad Técnica de Machala
losolano@utmachala.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-8629-7516>

Campo Fernández Mercedes
Universidad Técnica de Machala
mcampo@utmachala.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-9835-6886>

Rojas de Astudillo Luisa
Universidad de oriente - Cumana-Venezuela
lrojas40@yahoo.com
<https://orcid.org/0000-0001-6667-1673>

Revista Cumbres Vol.9 N°1

Versión electrónica ISSN 1390-3365
<http://investigacion.utmachala.edu.ec/revistas/index.php/Cumbres>
<http://doi.org/10.48190/cumbres.v9n1a1>

RESUMEN

La planta *Bougainvillea glabra* Choisy presenta varias propiedades farmacológicas, entre ellas antiinflamatorias, antidiarreicas y actividad expectorante. En el presente estudio el objetivo fue evaluar la composición química y actividad antioxidante de hojas de dos variedades de *B. glabra*, aplicando métodos cromatográficos (cromatografía en capa delgada, CCD) y espectrofotométricos. Con las hojas colectadas, secas y molinadas, se prepararon extractos hidroalcohólicos al 50%, a partir de los cuales se obtuvieron los correspondientes extractos secos (ES). Los resultados obtenidos pudieron constatar que las hojas de *B. glabra* contienen compuestos fenólicos y en particular flavonoides, los que correlacionan positivamente ($p < 0,05$) con las propiedades secuestradoras del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). La variedad naranja resultó la de mayor contenido de fenoles totales y flavonoides, siendo, consecuentemente, superior la actividad antioxidante en comparación a la obtenida para la variedad morada. Este es el primer reporte de evaluación química y biológica (antioxidante) en hojas de *B. glabra* Choisy en las variedades morada y naranja, lo cual fundamentaría su posible uso con fines medicinales.

Palabras clave: *Bougainvillea glabra*, cromatografía, fenoles, flavonoides, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

The *Bougainvillea glabra* Choisy plant has various pharmacological properties, including anti-inflammatory, antidiarrheal, and expectorant activity. In the present study, the objective was to evaluate the chemical composition and antioxidant activity of leaves of two varieties of *B. glabra*, applying chromatographic (thin layer chromatography, CCD) and spectrophotometric methods. With the collected, dried and ground leaves, 50% hydroalcoholic extracts were prepared, from which the corresponding dry extracts (ES) were obtained. The results obtained were able to verify that the leaves of *B. glabra* contain phenolic compounds and particularly flavonoids, which correlate positively ($p < 0.05$) with the scavenging properties of the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). The orange variety was the one with the highest content of total phenols and flavonoids, being, consequently, the antioxidant activity higher in comparison to that obtained for the purple variety. This is the first report of chemical and biological evaluation (antioxidant) in leaves of *B. glabra* Choisy in the purple and orange varieties, which would support its possible use for medicinal purposes.

Keywords: *Bougainvillea glabra*, chromatography, phenols, flavonoids, antioxidant capacity.

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales son de gran importancia en el sistema de salud, por su bajo costo y aceptación popular en la atención primaria en salud. Además, la Organización Mundial de la Salud (OMS) promueve la utilización racional y el aprovechamiento de la medicina tradicional, plasmado en su documento: "Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023" (OMS, 2013). La planta *Bougainvillea glabra* Choisy (flor de papel), perteneciente a la familia Nictaginaceas, del orden Cariofilales, ha sido utilizada por los practicantes de medicina tradicional de Mandsaur, para una variedad de trastornos como: la diarrea, acidez, tos y dolores, siendo las hojas la parte más utilizada (Saleem et al., 2021). Se afirma que sus hojas tienen efectos antiinflamatorios, antimicrobiano, antiulceroso y antidiarreico (Bedoya et al., 2017). Elumalai et al. (2012) encontraron que el extracto metanólico crudo tenía una actividad trombolítica significativa.

Adicional a la evaluación de las propiedades terapéuticas, se deben realizar estudios químicos en la materia prima vegetal que se utilizará como ingrediente activo del fitomedicamento, de esta manera se pueden determinar los metabolitos especializados asociados a la actividad terapéutica (Balekundri et al., 2020). Varios estudios fitoquímicos realizados en las brácteas de *B. glabra*, han identificado compuestos químicos con actividad farmacológica (Abarca & Petricevich, 2018; Joshny et al., 2012; Perales & Leysa 2012), sin embargo, es escasa la información química y biológica, en particular actividad antioxidante, en las hojas de las diferentes variedades de dicha especie. Por tal motivo en esta investigación, se determinó la cantidad de fenoles totales, flavonoides y la capacidad antioxidante presente en extractos secos (ES) de las hojas de *B. glabra* (variación morada y naranja), mediante técnicas estandarizadas para plantas medicinales, con el fin de ayudar al aprovechamiento de las hojas para futuras investigaciones en el desarrollo de fitofármacos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las hojas, de la planta variedad color morada se recolectaron en la ciudad de Machala, en la parroquia el cambio, latitud: -3.287791; longitud: -79.902488, con una altura de, aproximadamente, 6 m. Las hojas de la planta variedad color naranja se recolectaron en la vía principal a pasaje, cerca de la Peaña, latitud -3.317722,-79.851053, con una altura de aproximadamente 5 metros, cabe recalcar que ambas muestras fueron cosechadas el mismo día, en un clima cálido. En ambos casos se seleccionaron hojas en etapa adulta, sin alteraciones o cuerpos extraños.

Las hojas previamente lavadas se secaron a temperatura ambiente durante 48 horas, utilizando secadores artesanales. Posteriormente, fueron llevadas a una estufa (Memmert UF 55) a una temperatura de $40 \pm 2^\circ\text{C}$, con circulación de aire forzado, donde se mantuvieron por 48h. La materia vegetal seca fue triturada en un molino de cuchillas (Black & Decker) y tamizada por una malla de 1 mm de diámetro, para finalmente almacenar en fundas plásticas con cierre hermético, protegidas de la luz y humedad (OMS, 2003).

Preparación de los extractos hidroalcohólicos y secos (ES)

De la materia prima (hojas de *B. glabra*) seca y triturada, se tomaron 40 g, y se agregaron 200 mL de una disolución hidroalcohólica 50:50 (v/v) con etanol, sometándose a sonicación con la ayuda de un baño ultrasónico (ULTRASONIC BATH 5.7 L, Fischer Scientific), por 30 minutos, obteniéndose los extractos hidroalcohólicos para ambas variedades. Posteriormente, los extractos se filtraron y se concentraron hasta sequedad en un rotoevaporador (HEIDOLPH LABOROTA 4001 EFFICIENT) acoplado a un criostato (LAUDA/ALPHA RA-8) y a una bomba de vacío (VACUUBRAND PC600, Alemania), produciéndose los ES para ambas variedades. Finalmente, estos ES se almacenaron a 4°C , protegidos de la luz hasta su posterior análisis por CCD, cuantificación de fenoles totales y flavonoides, y determinar la capacidad antioxidante (Acosta et al., 2016).

Cromatografía por capa delgada (CCD)

Para el análisis por CCD, se usó como fase estacionaria placas de sílica gel (20 x 20 cm, 2 mm de espesor, Aldrich-Sigma). Sobre la fase estacionaria se aplicaron las disoluciones hidroalcohólicas al 50% de los ES con un capilar de vidrio. Como fase móvil se utilizó la mezcla butanol-ácido acético y agua (BAW) en proporciones de 65:25:10. La aplicación de la muestra se realizó a 1 cm del borde inferior y la corrida fue, aproximadamente, de 8 cm. El revelado se realizó utilizando la luz ultravioleta de 254 nm y las disoluciones de ácido sulfúrico seguido de vainillina; cloruro férrico; DPPH y ninhidrina (Rengifo Zevallos, 2018).

Cuantificación de fenoles totales

Los fenoles se cuantificaron por el método de Folin-Ciocalteu (Kamboj et al., 2015). Se utilizó como estándar para la curva de calibración una disolución de ácido gálico de Sigma Aldrich (10 mg/mL), a partir de la cual se prepararon seis disoluciones de concentración entre 0,1 - 0,9 mg/mL, las cuales se analizaron por triplicado. Se tomaron 20 μL de cada disolución, se agregó 1 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Alemania) (0,2 mol/L) y 180 μL de agua destilada. Luego de 5 minutos, se agregaron 800 μL de carbonato de sodio al 7,5% y se dejó reposar durante 2 h. La absorbancia de la disolución de ácido gálico se midió a 765 nm en un espectrofotómetro

(Evolution 201, Thermo Scientific) (Jaramillo et al. 2021). Se utilizó un blanco preparado bajo las mismas condiciones. Para el análisis de las muestras se prepararon disoluciones metanólicas al 1% a partir de los ES y se realizó el ensayo de forma similar al procedimiento descrito para la elaboración de la curva de calibración. Los datos se expresaron en miligramos equivalente a ácido gálico (EAG) por cada gramo de ES (mg EAG/g ES).

Cuantificación de flavonoides totales

Se utilizaron los métodos propuestos por Lin & Tang (2007) y Ghafar et al. (2017) con algunas modificaciones. Se usó quercetina 1 mg/mL (Sigma Aldrich) como estándar de referencia para elaborar la curva de calibración, a partir del cual se prepararon las disoluciones de entre 25 y 125 µg/mL. El ensayo de cada concentración se efectuó por triplicado, mezclando en un tubo de ensayo de 5 mL, 0,5 mL de cada disolución de quercetina con 1,5 mL de etanol al 95%. Se agregaron 0,1 mL de tricloruro de aluminio al 10%, 0,1 mL de acetato de potasio 1 mol/L y 2,8 mL de agua destilada. Se dejó a temperatura ambiente durante 40 minutos y luego se leyó en un espectrofotómetro a 415 nm, utilizando un blanco preparado en las mismas condiciones que el estándar. Para el análisis se prepararon disoluciones acuosas (1% m/v) de los ES de las muestras de las hojas de *B. glabra* naranja y morada, respectivamente. De allí se tomaron 0,5 mL y se procedió de la misma manera antes descrita para la curva de calibración. El contenido total de flavonoides se determinó por triplicado y los datos se expresaron como miligramos equivalentes de quercetina (EQ) por cada gramo de ES (mg EQ/g de ES).

Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante se evaluó utilizando el método del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), aplicando la metodología usada por Brand-Williams et al. (1995) y Markandan et al. (2016), con algunas modificaciones. Se prepararon disoluciones acuosas al 1% (m/v) de los ES, a partir de las cuales se obtuvieron disoluciones a diferentes concentraciones (0,05 -0,5) mg/L. Posteriormente, 0,5 mL de cada disolución se mezcló con 1,5 mL de disolución metanólica de DPPH a 0,1 mmol/L y se mantuvo la reacción en la oscuridad durante 30 min. Se consideró un grupo de control usando la disolución de DPPH, y se procedió a la lectura en un espectrofotómetro a 516 nm. Los ensayos se realizaron por triplicado, y se calculó el porcentaje de captación de radicales libres de DPPH con la siguiente fórmula:

$$\%DPPH = \frac{\text{Absorbancia (control)} - \text{Absorbancia (muestra)}}{\text{Absorbancia (muestra)}} \times 100$$

Con los porcentajes de secuestro de DPPH obtenidos para cada una de las concentraciones analizadas de ambas muestras, se realizó la regresión lineal y se obtuvieron las ecuaciones que facilitaron el cálculo de la concentración media inhibitoria del 50% del radical libre DPPH (CI50).

Procesamiento estadístico

Los datos de los resultados obtenidos fueron procesados estadísticamente mediante el programa estadístico informático SPSS V.26 (2022). Se determinaron las medias y desviaciones estándares de los parámetros analizados.

RESULTADOS

Los resultados correspondientes al análisis cromatográfico se muestran en la figura 1. Cada muestra objeto de estudio (variedad morada y variedad naranja) se analizaron utilizando diferentes sistemas de revelados.

En la figura 1 se pueden apreciar los resultados de la CCD, de las soluciones hidroalcohólicas de los ES, para ambas variedades.

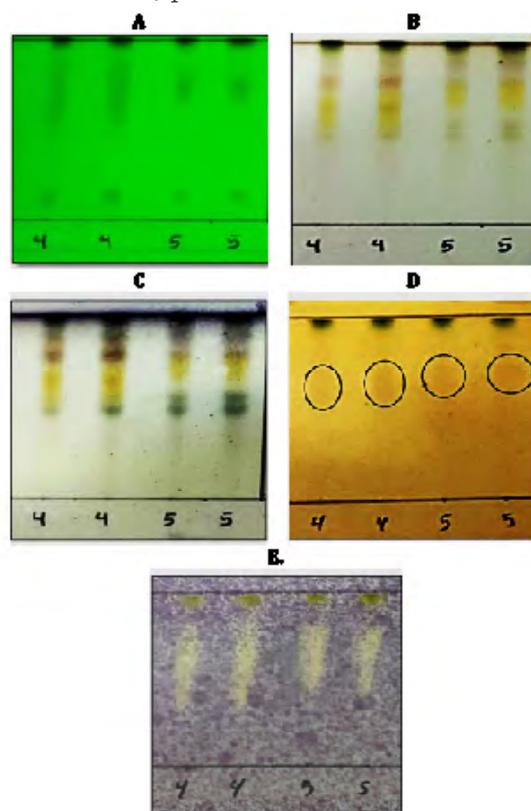


Figura 1. Cromatoplas de las dos muestras de *B. glabra*, utilizando diferentes sistemas de revelado. Revelados: A. Luz UV 254 nm; B. Ácido sulfúrico/calor; C. Ácido sulfúrico/vainillina/calor; D. cloruro férrico, E. DPPH; 4: hojas de *B. glabra* variedad morada; 5: hojas de *B. glabra* variedad naranja.

Cada una de las placas, luego del proceso de separación, se someten a la evaluación con diferentes sistemas de revelado, precisamente, buscando la detección de compuestos químicos que responden a diferentes características estructurales o propiedades físico-químicas. De esta forma se mejora la especificidad y sensibilidad de los resultados, se profundiza en la determinación de la composición química de las muestras y se propone la actividad biológica de diversos extractos. Los estudios en CCD también se han utilizado para obtener los perfiles químicos asociados a la compleja mezcla de metabolitos secundarios que están presentes en los extractos vegetales (Campo et al., 2008; Oliveira, 2010; Rengifo Zevallos, 2018).

El análisis de los resultados cromatográficos da una idea más simplificada de que camino elegir al momento de cuantificar dichos metabolitos, por ende, se comenzó revelando con luz UV (254 nm, figura 1A). Este tipo de información sugiere la presencia de compuestos químicos con grupos cromóforos conjugados en los extractos hidroalcohólicos de ambas variedades de hojas, teniendo en cuenta que revelan manchas cercanas al punto de aplicación y otras hacia valores mayores de R_f , por lo que resultan ser más afines con la fase móvil (Wagner & Bladt, 1996). Preliminarmente, la imagen obtenida sugiere que el extracto de la variedad morada, presenta una mayor complejidad química en este sentido, que el extracto de la variedad naranja. No obstante, dada que la aplicación de la muestra no fue realizada en cantidades definidas, tal resultado se deja solo como una posibilidad.

En las cromatoplasmas B y C se utilizaron reveladores que dan una información más general de la composición química, mostrando una gama de colores significativos inherentes a metabolitos de diversa polaridad. Se puede apreciar que muchas de las manchas coloreadas en esta cromatoplasmas corresponden a múltiples metabolitos que se evidencian bajo la luz UV (254 nm). Es de resaltar que en estos sistemas de revelados químicos, además de permitir la visualización de estructuras terpénicas, también se observan compuestos que en su mayoría no presentan grupos cromóforos conjugados y, por consecuencia, no fueron observados bajo la luz UV a 254 nm. Si se aprecia con detenimiento la figura 1 (las cromatoplasmas B y C), a valores de R_f de 0,50 a 0,75 se observan una mancha para la muestra 4 y dos manchas para la muestra 5. Al comparar con la figura 1A, estas manchas no se muestran en ella, por lo que sugiere que son compuestos de mayor afinidad a la fase estacionaria y que carecen de grupos cromóforos conjugados.

Según estudios realizados por otros autores (Vieira et al., 2014; Da Silva, 2015) en la planta de *B. glabra*, hasta el momento no se ha informado la presencia de compuestos terpénicos en las hojas, por lo que correspondería profundizar en dicha dirección en trabajos posteriores.

Relacionando los resultados obtenidos en las tres primeras placas (A, B y C) con la imagen D, donde se efectuó el revelado con $FeCl_3$, se pudo apreciar que en esta última existen manchas oscuras, sugiriendo la presencia de

compuestos de naturaleza fenólica, los que sin dudas también revelan bajo la luz UV y con los reveladores mixtos ácido sulfúrico/calor y ácido sulfúrico/vainillina/calor.

Dada la sugerente presencia de compuestos fenólicos, se realizó el revelado con DPPH en metanol al 0,2% (figura 1E), actuando éste como generador de radicales libres. La imagen obtenida evidencia que en la misma zona donde revelan la mayoría de los compuestos químicos existe una fuerte decoloración, que contrasta con la coloración purpura del DPPH. Lo anterior es indicativo de que tales metabolitos serían los responsables de la capacidad secuestradora de radicales libres que ambos extractos presentan (Medić-Šarić et al.,1996; Kivrak & Kivrak, 2017).

Luego de los estudios cualitativos realizados se procedió a la cuantificación de fenoles totales, flavonoides en particular y de la capacidad antioxidante de ambos extractos, resultados que se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Cuantificación de fenoles totales, flavonoides y concentración inhibitoria media (CI₅₀) en hojas de *B. glabra* de las variedades morada y naranja.

MUESTRAS	FENOLES (MG EAG/G ES)±DS	FLAVONOIDES (MG EQ/G ES)±DS	CI ₅₀ (MG/ML)±DS
Hojas de <i>B. glabra</i> Variedad morada	363,8±0,1	47,7±0,2	280±0,3
Hojas de <i>B. glabra</i> Variedad naranja	450,6±0,2	63,2±0,4	210±0,4

Para la determinación de fenoles por el método Folin-Ciocalteu, se obtuvo una curva de calibración, donde la ecuación ($y=0,03281+1,0999x$) con una $R^2=0,982$, garantiza una fuerte correlación en el rango de concentraciones evaluado. Como se puede observar en la Tabla 1, el contenido de fenoles totales del ES de las hojas de *B. glabra* de la variedad naranja resulta significativamente mayor al de la variedad morada, con una $p<0,05$.

Para la determinación de flavonoides se obtuvo una curva de calibración con una $R^2=0,9982$ y la ecuación $y=-0,0085+0.0072040*x$ siendo también válida para la cuantificación como equivalente a quercetina. El contenido de flavonoides totales (Tabla 1) tuvo un comportamiento similar al estudio anterior, el contenido de la variedad naranja (63,2 QE/g ES) resultó ser significativamente mayor ($p < 0,05$) al de la variedad morada (47,7mg QE/g ES). Comparando los resultados anteriores con los referidos por Jaramillo et al. (2021), donde se evaluó el contenido de fenoles y flavonoides en las brácteas de *B. glabra* de las mismas variedades (naranja y morada), se puede observar que dichos valores fueron inferiores (fenoles 79,9-129,6 mg EAG/g ES; flavonoides 9,1-40,1 mg EQ/g ES, variedad morada y naranja, respectivamente) a los obtenidos en el estudio actual

Los estudios preliminares sugieren que las hojas variedad naranja tienen mayor contenido de compuestos fenólicos y de flavonoides que las hojas de la variedad morada, por lo que se sugiere continuar con estudios que permitan elucidar la composición química de la materia prima vegetal estudiada.

Los resultados del ensayo con el radical DPPH, guardan estrecha relación con la cuantificación de compuestos fenólicos realizada. Como se puede apreciar en Tabla 1, las disoluciones del extracto seco de las hojas de la variedad naranja, lograron inhibir el 50% del radical libre a una menor concentración que las hojas de la variedad morada. Estos resultados de CI_{50} correlacionaron negativamente con los valores obtenidos para fenoles totales y flavonoides, lo cual indica que en la medida que aumenta la cantidad de fenoles y flavonoides, disminuye el valor de CI_{50} .

Estos valores de CI_{50} son más altos que los valores obtenidos por Rao et al. (2015) para hojas de *B. glabra* de la variedad roja (0,080 mg/mL) y de los presentados por Jaramillo et al. (2021) en las disoluciones del ES de las brácteas naranjas (37 μ g/mL) de *B. glabra*. En este último caso, las brácteas de la variedad morada de *B. glabra* presentaron valores aproximados a las de las hojas de la misma variedad (270 μ g/mL). Lo antes mencionado podría atribuirse al hecho que se trata de muestras colectadas en lugares diferentes, con factores extrínsecos como el clima y el suelo, que pueden diferir, además de otros aspectos como la edad de la planta y su estado fenológico. Todos estos factores pueden incidir en que especies similares muestren variaciones de sus compuestos bioactivos (Acosta & Castro, 2010).

CONCLUSIÓN

El análisis químico realizado y la evaluación de la actividad antioxidante de los extractos de hojas de *B. glabra*, variedades morada y naranja, le otorga a la especie vegetal un potencial terapéutico. Se pudo constatar que las hojas de la variedad color naranja, en comparación con la variedad morada, tiene mayores concentraciones de fenoles totales y flavonoides y, como consecuencia, una mejor capacidad antioxidante, determinada a través de la concentración inhibitoria del 50% del radical libre DPPH.

Estudios posteriores podrían encaminarse a profundizar en la identificación de los compuestos químicos bioactivos responsables de los efectos biológicos de la materia prima vegetal, en particular los de carácter fenólico, responsables del efecto antioxidante de los extractos hidroalcohólicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarca-Vargas, R., & Petricevich, V. L. (2018). Bougainvillea genus: A review on phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, (1), 17.
- Acosta de la Luz, L., & Castro Armas, R. (2010). Cultivo, cosecha y procesamiento poscosecha de *Artemisia annua* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 15(2), 75-95.
- Acosta Esquijarosa, J., Salomón Izquierdo, S., Sevilla Fernández, I., & Nuevas Paz, L. (2016). Empleo del ultrasonido para la extracción de fracción apolar en hojas de *Mangifera indica* L. (árbol del mango). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(3), 261-271.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Balekundri, A., & Mannur, V. (2020). Quality control of the traditional herbs and herbal products: a review. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 1-9.
- Bedoya, L. C., González, C. A. R., & Maldonado, A. C. (2017). Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de *bougainvillea glabra* choisy (veranera). *Revista Nova*, 3, 39-46.
- Campo, M., Cuesta, O., Márquez, I., Pérez, A. R., & de Oca Porto, R. M. (2008). Análisis cualitativo de propóleos cubanos por cromatografía en capa delgada. *Latin American Journal of Pharmacy*, 27(3), 380-6.
- Da Silva, M., De Lima, R., Soares, R., de Almeida, A., da Silva A., Corrêa, R y Pinheiro, L. (2015). Polycarpol in *Unonopsis*, *Bocageopsis* and *Onychopetalum* Amazonian species: chemosystematical implications and antimicrobial evaluation. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(1), 11-15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.01.003>
- Elumalai, A., Eswariah, M. C., Chowdary, C. H., Kumar, R., Anusha, M., & Nares, K. (2012). Screening of thrombolytic activity of *Bougainvillea glabra* leaves extract by in-vitro. *Asian Journal of Research in Pharmaceutical Science*, 2(4), 134-136.
- Ghafar, F., Nazrin, T. T. N. N., Salleh, M., Hadi, N. N., Ahmad, N., Hamzah, A. A., ... & Azman, I. N. (2017). Total phenolic content and total flavonoid content in moringa oleifera seed. *Galeri Warisan Sains*, 1(1), 23-25.
- Jaramillo, C., Armijos, J. C., Cedeño, R., Campo, M., & de Astudillo, L. R. (2021). Comparación de la relación de fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante en brácteas de dos variedades de *Bougainvillea glabra* choisy. *infoANALÍTICA*, 9(1), 167-179.

- Joshny, J., Devi, R., & Hari, V. (2012). Phytochemical and in-vitro anthelmintic activity of hydro alcoholic extract of *Bougainvillea glabra*. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 4(15.7).
- Kamboj, A., Gupta, R., Rana, A., & Kaur, R. (2015). Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from extracts of *Terminalia bellerica*. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 2(3), 201-215.
- Kıvrak, Ş., & Kıvrak, İ. (2017). Assessment of phenolic profile of Turkish honeys. *International Journal of Food Properties*, 20(4), 864-876.
- Lin, J. Y., & Tang, C. Y. (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food chemistry*, 101(1), 140-147. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.014>.
- Markandan, S., Abdullah, A., Musa, K. H., Subramaniam, V., & Stockham, K. (2016, November). Determination of antioxidant activities, total phenolic and flavanoid contents in *Bougainvillea glabra* bracts at various methanol concentrations. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1784, No. 1, p. 030038). AIP Publishing LLC.
- Medić-Šarić, M., Maleš, Z., Stanić, G., & Šarić S. (1996). Evaluation and selection of optimal solvent and solvent combinations in thin-layer chromatography of flavonoids and of phenolic acids of *Zizyphus jujuba* Mill. *Croatica Chemica Acta* 69 (3) 1265-1274.
- Oliveira, C., Schenkel, E., Gosmann, G., Palazzo, J., Petrovick, P. (2010). *Farmacognosia Da Planta Ao Medicamento*. Rio de Janeiro, Brasil, 6ta ed.; UFSC, UFRGS, Eds
- Organización Mundial de la Salud (OMS) (2013). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Organización Mundial de la Salud.
- Organización Mundial de la Salud (OMS) (2003). Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales. Organización Mundial de la Salud.
- Perales Y. J. & Leysa M. (2012). Phytochemical screening and antibacterial activity of *Bougainvillea glabra* plant extract as potential sources of antibacterial and resistance-modifying agents. *Proceedings of the International Conference on Life Science and Engineering*; 2012; pp. 121-125
- Rao, K. B., Nidhi, H., Dipankar, D., Garima, D., Kumar, G., & Karthik, L. (2015). Phytochemical profile, in vitro antioxidant property and HPTLC analysis of methanol extract of *Bougainvillea glabra* (Nyctaginaceae). *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 31(2), 235-241.

- Rengifo Zevallos, D. R. (2018). Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de flavonoides y taninos del extracto etanólico de hojas de *Desmodium vargasianum* Schubert. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 84(2), 175-182.
- Saleem, H., Usman, A., Mahomoodally, M. F., & Ahemad, N. (2021). Bougainvillea glabra (choisy): A comprehensive review on botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicity. *Journal of ethnopharmacology*, 266, 113356.
- Vieira, R., Santos, D., Dias W. y SabóiasMorais, T. (2014). Cellular proliferation in the gills of guppies exposed to pequi ethanolic extracts. *Revista Biología Neotropical* 11(1): 5870
- Wagner, H. y Bladt, S. (1996). Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Springer Science & Business Media