

Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính gây độc tế bào ung thư của rễ cây bông giấy *Bougainvillea spectabilis*

Investigation on chemical composition and cytotoxicity of the roots of *Bougainvillea spectabilis*

Trần Bạch Như Ý^{a,b}, Nguyễn Thị Kiều Phương^{a,b,*}
Tran Bach Nhu Y^{a,b}, Nguyen Thi Kieu Phuong^{a,b,*}

^aPhòng Thí nghiệm Vật liệu & Thiết bị Tương lai, Viện Khoa học Cơ bản và Ứng dụng, Trường Đại học Duy Tân, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam.

^aFuture Materials & Devices Laboratory (FM&D Lab), Institute of Fundamental and Applied Sciences, Duy Tan University, Ho Chi Minh City, Vietnam.

^bKhoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam.

^bFaculty of Natural Sciences, Duy Tan University, 550000, Da Nang, Vietnam.

(Ngày nhận bài: 23/11/2020, ngày phân biện xong: 03/12/2020, ngày chấp nhận đăng: 18/12/2020)

Tóm tắt

Từ rễ cây bông giấy – *Bougainvillea spectabilis* thu hái ở tỉnh Tiền Giang, nghiên cứu đã cô lập được 4 hợp chất gồm: ba hợp chất flavonoid 5,7-dihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (**1**), 2',5,7-trihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (**2**), 6'-hydroxymethyl-2',5,7-trihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (**3**) và một hợp chất isoflavonoid 2',5,7-trihydroxy-6,8-dimethylisoflavone (**4**). Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định bằng các phương pháp phân tích phổ hiện đại như phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR, và phân tích khối phổ HR-ESI-MS. Ngoài ra, hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất này đã được khảo sát trên 4 dòng tế bào ung thư: HeLa, NCI-H460, MCF-7 và HepG2. Kết quả bước đầu cho thấy các hợp chất này thể hiện phần trăm gây độc tế bào đáng kể so với chứng dương camptothecin.

Từ khóa: *Bougainvillea spectabilis*; Flavonoids; Hoạt tính gây độc.

Abstract

From the roots of *Bougainvillea spectabilis*, collected at Tien Giang province, four compounds were isolated, including three flavonoid compounds 5,7-dihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (**1**), 2',5,7-trihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (**2**), 6'-hydroxymethyl-2',5,7-trihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (**3**), together with one isoflavonoid compound 2',5,7-trihydroxy-6,8-dimethylisoflavone (**4**). The chemical structure of these compounds was elucidated by NMR and HR-ESI-MS spectral analysis. Moreover, all of the isolated compounds (**1–4**) were tested for cytotoxic activities against four cancer cell lines: HeLa, NCI-H460, MCF-7, and HepG2. Preliminary results showed that these compounds displayed a significant percentage of cytotoxicity when compared with camptothecin-positive control.

Keywords: *Bougainvillea spectabilis*; Flavonoids; Cytotoxicity.

* Corresponding Author: Nguyen Thi Kieu Phuong, Future Materials & Devices Laboratory (FM&D Lab), Institute of Fundamental and Applied Sciences, Duy Tan University, Ho Chi Minh City, Vietnam; Faculty of Natural Sciences, Duy Tan University, 550000, Da Nang, Vietnam.

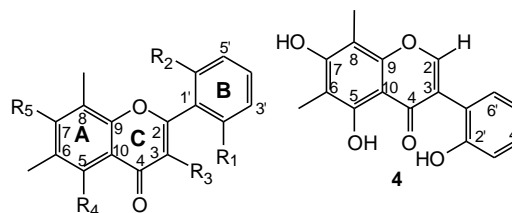
Email: nguyentkieuphuong1@duytan.edu.vn

1. Giới thiệu

Chi *Bougainvillea* thuộc họ Nyctaginaceae đã được tìm thấy rộng rãi ở các nước Châu Á, Châu Phi và Nam Mỹ, với khoảng 18 loài, trong đó có 3 loài chính: *Bougainvillea spectabilis*, *B. glabra* và *B. buttiana*. Ba loài thuộc chi *Bougainvillea* này đã được nghiên cứu và sử dụng rộng rãi như thuốc truyền thống điều trị bệnh ho và cảm cúm [1]. Những nghiên cứu về hóa thực vật bước đầu cho thấy vỏ, thân, lá và rễ của các loài này có chứa đa dạng các hợp chất như: phytosterol [2], triterpene [3-5], alkaloid [6] và flavonoid [2, 5, 7]. Ngoài ra, những nghiên cứu này cũng cho thấy hoạt tính sinh học của những hợp chất được cô lập từ các loài *Bougainvillea* như: Khả năng kháng tiểu đường [8-11], kháng khuẩn [12], kháng viêm [13-15], kháng cao mỡ máu [2], chống đông máu [16], khả năng diệt ấu trùng [17], chống vô sinh [18] và hoạt tính gây độc tế bào ung thư [19]. Nghiên cứu về thành phần hóa học của loài *B. spectabilis* cho thấy sự tồn tại các hợp chất peltogynoid, flavonoid và khả năng gây độc tế bào chống lại các dòng tế bào ung thư như KB, HeLa S-3, HT-29, MCF-7 và HepG2 [7, 19].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã cô lập và xác định cấu trúc của ba hợp chất flavonoid 5,7-dihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (**1**), 2',5,7-trihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (**2**), 6'-hydroxymethyl-2',5,7-trihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (**3**) và một hợp chất isoflavonoid 2',5,7-trihydroxy-6,8-dimethylisoflavone (**4**) (Hình 1). Ngoài ra, khả năng gây độc tế bào của các hợp chất này đã được đánh giá trên bốn dòng tế bào ung thư là HeLa, NCI-H460, MCF-7 và HepG2.

2. Thực nghiệm



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
1:	H	H	OCH ₃	OH	OH
2:	OH	H	OCH ₃	OH	OH
3:	OH	CH ₂ OH	OCH ₃	OH	OH

Hình 1. Cấu trúc hóa học các hợp chất cô lập (1-4)

2.1. Phương pháp phân tích

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR được đo đạc trên máy phân tích quang phổ Bruker Advance III (¹H NMR: 500 MHz) và (¹³C NMR: 125 MHz) và sử dụng tín hiệu dung môi làm tham chiếu: Chloroform-*d* (δ_H 7.26, δ_C 77.16) và DMSO-*d*₆ (δ_H 2.50, δ_C 39.52). Phân tích khối phổ HR-ESI-MS được ghi nhận trên máy khối phổ HR-ESI-MS LC-Agilent 1100 LC-MSD. Phương pháp phân tích sắc ký lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên các tấm silica gel 60 F₂₅₄ và 60 RP-18 F₂₅₄S (Merck). Bản mỏng TLC được phun bằng dung dịch nước H₂SO₄ 10% hoặc dung dịch clorua sắt (III) 5% và được quan sát dưới đèn UV 254 nm. Sắc ký cột (CC) được thực hiện trên silica gel mua từ Merck loại 100 (70 - 230 Mesh ASTM).

2.2. Nguồn thực vật

Rễ cây bông giầy *B. spectabilis* trồng khoảng 7 năm được thu hái ở tỉnh Tiền Giang, Việt Nam. Mẫu vật chứng (số thứ tự BS - A001) đã được lưu giữ tại Phòng thí nghiệm Vật liệu & Thiết bị Tương lai (Phòng Thí nghiệm FM&D), Viện Khoa học Cơ bản và Ứng dụng, Trường Đại học Duy Tân, Thành phố Hồ Chí Minh.

2.3. Quy trình ly trích và cô lập các hợp chất

Rễ cây bông giầy *B. spectabilis* được rửa sạch bằng nước và phơi khô dưới bóng râm ở nhiệt độ phòng. Rễ khô được nghiền thành bột

(3.8 kg) và ngâm trong methanol (MeOH, 3 × 20L) trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Phần dịch lọc được cô đặc bằng cô quay chân không ở áp suất thấp, thu được dịch chiết là cao methanol thô (270 g). Sau đó, phần cao chiết thô này được ngâm trong hỗn hợp H₂O-MeOH (9:1, v/v, 500 mL) và được phân chia thành các cao khác nhau bởi các loại dung môi như: *n*-hexane (3 × 300 mL), ethyl acetate (3 × 300 mL). Cuối cùng thu được các phần cao chiết: Cao *n*-hexane (**H**; 19 g), cao ethyl acetate (**EA**; 30 g) và phần cao nước còn lại (221g).

Phần cao *n*-hexane **H** được sắc ký cột với silica gel pha đảo (100 × 3.8cm) với hệ dung môi rửa giải H₂O-MeOH theo từng tỉ lệ (5:5, 4:6, 3:7, 1:9, và 0:1, v/v, mỗi loại 400mL) và MeOH-acetone (9:1 và 4:1, v/v, mỗi loại 400 mL), tạo thành tám phần cao chiết nhỏ (H1-H8). Phần cao H3 (1.5g) được sắc ký với silica gel với dung môi rửa giải CHCl₃-MeOH (99:1, v/v, 300mL) thu được hai hợp chất (**4**) (5mg) và hợp chất (**3**) (8mg).

Phần cao ethyl acetate **EA** được sắc ký cột bằng silica gel pha đảo bằng cách sử dụng dung môi rửa giải H₂O-MeOH (1:0, 9:1, 7:3, 5:5, và 0:1, v/v, mỗi loại 500mL), và MeOH-acetone (9:1 và 4:1, v/v, mỗi loại 500mL), tạo thành sáu phần (EA1-EA6). Phần đoạn EA1 (8.0g) được sắc ký cột silica gel với hệ dung môi rửa giải CHCl₃-MeOH (98:2, v/v, 200mL) tách được hợp chất (**1**) (40 mg). Tách phần đoạn EA4 (1.7 g) qua sắc ký cột với silica gel với dung môi rửa giải CHCl₃-MeOH (96:4, v/v, 100mL) thu được hợp chất (**2**) (5mg).

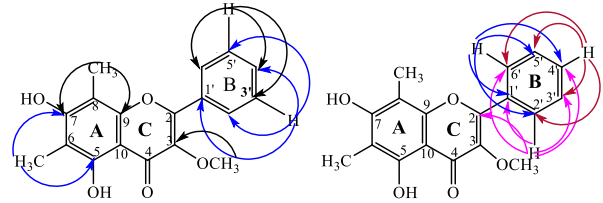
2.4. Thử nghiệm độc tính tế bào

Thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất (**1-4**) được tiến hành theo phương pháp Sulforhodamine B (SRB). [22, 23] Thí nghiệm được thực hiện trên các dòng tế bào ung thư như HeLa, NCI-H460, MCF-7, và HepG2 tại nồng độ 100 μg/mL. Camptothecin được sử dụng như

một chứng dương. Kết quả ghi nhận là giá trị trung bình của kết quả từ ba thí nghiệm.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Xác định cấu trúc các hợp chất cô lập



Hình 2. Phổ tương tác HMBC trong hợp chất (**1**)

Hợp chất (**1**): Tinh thể màu vàng, nhiệt độ nóng chảy: 202°C. Sắc ký bản mỏng TLC cho thấy một vết màu vàng với $R_f = 0,3$ khi giải ly bằng hệ dung môi chloroform: methanol (99:1) và hiển thị bằng dung dịch H₂SO₄ 10%. Phổ ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz); δ_H 12.80 (1H, *brs*, 5-OH), 5.48 (1H, *brs*, 7-OH), 8.10 - 8.12 (2H, *m*, H-2', H-6'), 7.52 - 7.53 (3H, *m*, H-3', H-4', H-5'), 3.87 (3H, *s*, 3-OCH₃), 2.33 (3H, *s*, 8-CH₃), 2.19 (3H, *s*, 6-CH₃). Phổ ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ_C 179.4 (C-4), 158.3 (C-7), 157.0 (C-5), 155.5 (C-2), 152.5 (C-9), 139.6 (C-3), 131.1 (C-1'), 131.0 (C-4'), 128.8 (C-2', C-6'), 128.5 (C-3', C-5'), 106.0 (C-6), 105.9 (C-10), 101.0 (C-8), 60.5 (3-OCH₃), 7.9 (8-CH₃), và 7.4 (6-CH₃).

Phổ ¹³C NMR và HSQC hợp chất (**1**) xuất hiện 18 tín hiệu carbon, bao gồm: Một carbon carbonyl (δ_C 179.4), năm carbon sp² được gắn với oxygen (δ_C 158.3, 157.0, 155.5, 152.5, và 139.6), bốn carbon tứ cấp (δ_C 131.1, 106.0, 105.9, và 101.0), năm carbon methin hương phương (δ_C 131.1, 128.8 × 2, và 128.5 × 2), một carbon methoxy (δ_C 60.5) và hai carbon methyl (δ_C 7.9, 7.4). Phổ ¹H NMR xuất hiện các tín hiệu cộng hưởng gồm: Một tín hiệu proton hydroxyl kiềm nổi tại vị trí δ_H 12.80, năm proton hương phương (δ_H 8.10–8.12, 2H, *m* và 7.52–7.53, 3H, *m*), một tín hiệu proton methoxy tại vị trí δ_H 3.87, và hai proton methyl tại vị trí δ_H 2.33 và 2.19. Một khung sườn flavonoid

càng được thể hiện rõ hơn bởi những tương tác giữa proton và carbon xuất hiện trong phổ HMBC của hợp chất (1) (hình 2). Từ các dữ liệu phân tích trên và so sánh với bài báo đã công bố của Dietz *et al.* (1981) [20] cho phép xác định công thức của hợp chất (1) là 5,7-dihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone.

Hợp chất (2): tinh thể hình kim màu vàng, nhiệt độ nóng chảy: 209°C, sắc ký bản mỏng TLC cho thấy một vệt màu vàng với $R_f = 0,22$ khi giải ly bằng hệ dung môi CHCl_3 : MeOH (99 : 1) và hiển thị bằng dung dịch H_2SO_4 10%. Phổ ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz); δ_{H} 12.84 (1H, *brs*, 5-OH), 9.98 (1H, *brs*, 2'-OH), 9.71 (1H, *brs*, 7-OH) 7.42 (1H, *dd*, 7.6, 1.6, H-3'), 7.37 (1H, *m*, H-4'), 6.94 (1H, *m*, H-5'), 7.00 (1H, *d*, 8.2, H-6'), 3.71 (3H, *s*, 3-OCH₃), 2.11 (3H, *s*, 8-CH₃), 2.08 (3H, *s*, 6-CH₃). Phổ ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ_{C} 178.3 (C-4), 159.7 (C-7), 156.5 (C-5), 155.8 (C-2'), 155.6 (C-2), 152.3 (C-9), 138.8 (C-3), 131.8 (C-4'), 130.5 (C-3'), 118.8 (C-5'), 117.8 (C-1') 116.3 (C-6'), 106.7 (C-6), 104.6 (C-10), 101.6 (C-8), 59.9 (3-OCH₃), 8.0 (8-CH₃), và 8.0 (6-CH₃) [19]; phổ HR-ESI-MS m/z : $[\text{M}-\text{H}]^-$ 327.0880 đối với $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{O}_6$ (tính toán: $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6-\text{H}$, 327.0863). Từ những dữ kiện trên kết hợp so sánh với bài báo đã công bố của Do L.T *et al.* (2018) [19] cho phép xác định hợp chất (2) là 2',5,7-trihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (Bougainvinone I).

Hợp chất (3): Tinh thể hình kim màu vàng, nhiệt độ nóng chảy: 210°C, sắc ký bản mỏng TLC cho thấy một vệt màu vàng với $R_f = 0,28$ khi giải ly bằng hệ dung môi cloroform: methanol (9 : 1) và hiển thị bằng dung dịch H_2SO_4 10%; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz); δ_{H} 12.86 (1H, *brs*, 5-OH), 5.12 (1H, *brs*, 1'-OH), 4.38 (1H, *d*, 13.9, H-1''), 4.34 (1H, *d*, 13.9, H-1''), 6.88 (1H, *d*, 8.0, H-3'), 7.33 (1H, *t*, 7.9, H-4'), 7.04 (1H, *d*, 8.2, H-5') 3.63 (3H, *s*, 3-

OCH₃), 2.07 (3H, *s*, 8-CH₃), 2.08 (3H, *s*, 6-CH₃). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ_{C} 178.1 (C-4), 159.7 (C-7), 155.9 (C-5), 155.3 (C-2), 152.6 (C-9), 142.9 (C-6'), 139.4 (C-3), 131.1 (C-4'), 117.4 (C-5'), 115.6 (C-1'), 114.3 (C-3'), 106.8 (C-6), 104.7 (C-10), 101.6 (C-8), 59.7 (3-OCH₃), 60.5 (C-1''), 8.0 (8-CH₃), và 8.0 (6-CH₃) [19]; phổ HR-ESI-MS m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 381.0941 đối với $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$ (tính toán: $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7+\text{Na}$, 381.0945). Từ các kết quả phân tích trên và so sánh với công bố của Do L.T. *et al.* (2018) [19] cho phép xác định hợp chất (3) là 6'-hydroxymethyl-2',5,7-trihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (Bougainvinone J).

Hợp chất (4): Tinh thể hình kim màu vàng, nhiệt độ nóng chảy: 158–159 °C, sắc ký bản mỏng TLC cho thấy một vệt màu vàng với $R_f = 0,22$ khi giải ly bằng hệ dung môi CHCl_3 : MeOH (99:1) và hiển thị bằng dung dịch H_2SO_4 10%. Phổ ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz); δ_{H} 13.10 (1H, *brs*, 5-OH), 9.44 (1H, *brs*, 2'-OH), 8.30 (1H, *s*, H-2), 7.18 - 7.23 (1H, *m*, H-3', H-4'), 6.90 (1H, *dd*, 8.0, 0.6, H-6'), 6.84 (1H, *td*, 7.4, 1.1, H-5'), 2.19 (3H, *s*, 8-CH₃), 2.07 (3H, *s*, 6-CH₃). Phổ ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ_{C} 180.3 (C-4), 160.0 (C-7), 156.4 (C-5), 155.4 (C-2), 152.9 (C-9), 119.9 (C-3), 118.2 (C-1'), 129.4 (C-4'), 155.5 (C-2'), 115.6 (C-6'), 131.8 (C-3'), 118.6 (C-5'), 107.1 (C-6), 104.3 (C-10), 101.6 (C-8), 8.06 (8-CH₃), và 8.09 (6-CH₃) [21]; phổ HR-ESI-MS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 299.0928 đối với $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_5$ (tính toán: $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_5+\text{H}$, 299.0914). Từ những dữ kiện trên kết hợp so sánh với bài báo đã công bố Kuo H-T. *et al.* (2011) [21] cho phép xác định hợp chất (4) là 2',5,7-trihydroxy-6,8-dimethylisoflavone (6,8-dimethylisogenistein).

3.2. Hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất cô lập.

Tất cả các hợp chất cô lập (1–4) được tiến hành thử nghiệm phần trăm gây độc tế bào trên

bốn dòng tế bào ung thư HeLa, NCI-H460, MCF-7 và HepG2 bằng phương pháp thử nghiệm sulforhodamine B với mẫu chứng dương là camptothecin [22]. Trong Bảng 1, các hợp chất (1–4) thể hiện phần trăm ức chế đáng kể tại nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$ khi so sánh với chứng dương trong cùng điều kiện thử nghiệm. Trong đó, hợp chất (2) cho thấy phần trăm ức chế vượt trội nhất so với các hợp chất cô lập còn lại trên 3 dòng tế bào: HeLa (82.56 %), NCI-H460 (71.03 %), MCF-7 (72.41 %). Trong khi đó, hợp chất (4) thể hiện phần trăm ức chế

cao nhất trên dòng tế bào HepG2 (63.03 %). Hơn thế, hợp chất (2) còn thể hiện phần trăm gây độc tế bào lớn hơn so với stigmast-4-ene-3-one (27.12% trên dòng NCI-H460), benzyl β -D-glucopyranoside (5.43% trên dòng HeLa), và uracil (19.32% trên dòng MCF-7) được cô lập từ hoa đu đủ đực *Carica papaya* [24]. Từ đó cho thấy tiềm năng hoạt tính gây độc tế bào trên bốn dòng tế bào ung thư HeLa, NCI-H460, MCF-7 và HepG2 của các hợp chất cô lập từ rễ cây bông giấy.

Bảng 1. Hoạt tính gây độc trên các dòng tế bào ung thư của các hợp chất cô lập (1–4)

Hợp chất ^a	HeLa	NCI-H460	MCF-7	HepG2
	I (%)			
1	58.13 \pm 0.98 ^b	20.16 \pm 3.39	11.88 \pm 0.07	28.17 \pm 5.94
2	82.56 \pm 1.81	71.03 \pm 1.02	72.41 \pm 4.12	38.93 \pm 3.34
3	73.40 \pm 7.70	43.19 \pm 1.95	43.64 \pm 1.41	33.87 \pm 3.30
4	24.75 \pm 3.88	29.16 \pm 2.18	50.94 \pm 1.57	63.03 \pm 2.23
Camptothecin ^b	39.41 \pm 7.56	55.54 \pm 0.60	57.24 \pm 1.92	48.59 \pm 0.50

^aHợp chất được khảo sát tại nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$. ^bChứng dương Camptothecin được khảo sát với nồng độ 1 $\mu\text{g/mL}$ trên dòng HeLa, 0.01 $\mu\text{g/mL}$ NCI-H460, 0.05 $\mu\text{g/mL}$ MCF-7 và 0.07 $\mu\text{g/mL}$ HepG2.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã cô lập bốn hợp chất bao gồm ba flavonoid 5,7-dihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (1), 2',5,7-trihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (2), 6'-hydroxymethyl-2',5,7-trihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (3) và một isoflavonoid 2',5,7-trihydroxy-6,8-dimethylisoflavone (4) từ rễ cây bông giấy *B. spectabilis*. Trong đó, cấu trúc của bốn hợp chất được xác định bằng các phương pháp phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều 1D và hai chiều 2D và phân tích khối phổ HR-ESI-MS. Hơn thế, kết quả nghiên cứu phần trăm gây độc tế bào I (%) trên các dòng tế bào ung thư HeLa, MCF-7, NCI-H460 và HepG2 cho thấy khả năng gây độc tế bào vượt trội của hợp chất

2',5,7-trihydroxy-3-methoxy-6,8-dimethylflavone (2) và 2',5,7-trihydroxy-6,8-dimethylisoflavone (4) (I > 50%). Vì vậy, chúng tôi định hướng sẽ tiếp tục thử nghiệm hai hợp chất này để xác định cụ thể giá trị IC₅₀ trên bốn dòng tế bào ung thư và tiếp tục cô lập thêm nhiều hợp chất khác có giá trị hơn từ rễ cây bông giấy.

Tài liệu tham khảo

- [1] Abarca-Vargas, R., Petricevich V. L., 2018. *Bougainvillea* Genus: A Review on Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology. Evid. Based Complementary Altern. Med. 2018, 9070927.
- [2] Jawla, S., Kumar, Y., Khan, M.S.Y., 2013. Isolation of antidiabetic principle from *Bougainvillea spectabilis* Willd (Nyctaginaceae) stem bark. Trop. J. Pharm. Res. 12, 761-765.
- [3] Ahmed, A.H., 2009. Biologically active saponins from *Bougainvillea spectabilis* growing in Egypt. Asian J. Chem. 21, 5510.

- [4] Mariajancyrani, J, Chandramohan, G., Saravanan., Elayaraja A., 2013. Isolation and antibacterial activity of terpenoid from *Bougainvillea glabra* Choisy leaves. *Asian J. Plant Sci. Res.* 3, 70-73.
- [5] Simon, A., Tóth, G., Duddeck, H., Soliman, H.S., Mahmoud, I.I., Samir, H., 2006. Glycosides from *Bougainvillea glabra*. *Nat. Prod. Res.* 20, 63-67.
- [6] Heuer, S., Richter, S., Metzger, J.W., Wray, V., Nimtzt, M., Strack, D., 1994. Betacyanins from bracts of *Bougainvillea glabra*. *Phytochemistry.* 37,761-767.
- [7] Do, L.T., Aree, T., Siripong, P., Pham, T.N., Nguyen, P.K., Tip-pyang, S., 2016. Bougainvinones A–H, peltogynoids from the stem bark of purple *Bougainvillea spectabilis* and their cytotoxic activity. *J. Nat. Prod.* 79, 939-945.
- [8] Adebayo, G.I., Alabi, O.T., Owoyele, B.V., Soladoye, A.O., 2009. Anti-diabetic properties of the aqueous leaf extract of *Bougainvillea glabra* (Glory of the Garden) on alloxan-induced diabetic rats. *Rec. Nat. Prod.* 3, 187.
- [9] Al-Aboudi, A., Afifi, F.U., 2011. Plants used for the treatment of diabetes in Jordan: a review of scientific evidence. *Pharm. Biol.* 49, 221-239.
- [10] Bhat, M., Zinjarde, S.S., Bhargava, S.Y., Kumar, A.R., Joshi, B.N., 2011. Antidiabetic Indian plants: a good source of potent amylase inhibitors. *Evid. Based Complementary Altern. Med.* 2011.
- [11] Narayanan, C., Joshi, D., Mujumdar, A., Dhekne, V., 1987. Pinitol-a new anti-diabetic compound from the leaves of *Bougainvillea spectabilis*. *Curr. Sci.* 56, 139-141.
- [12] Umamaheswari, A., Shreevidya, R., Nuni, A., 2008. In vitro antibacterial activity of *Bougainvillea spectabilis* leaves extracts. *Adv. Biol. Res.* 2, 1-5.
- [13] Joshi, D., Mujumdar, A., Narayanan, C., 1984. Anti-inflammatory activity of *Bougainvillea spectabilis* leaves. *Indian J. Pharm. Sci.* 46, 187-188.
- [14] Mandal, G., Chatterjee, C., Chatterjee, M., 2015. Evaluation of anti-inflammatory activity of methanolic extract of leaves of *Bougainvillea spectabilis* in experimental animal models. *Pharmacognosy Res.* 7, 18.
- [15] Manivannan, E., Kothai, R., Arul, B., Rajaram, S., 2012. Anti-inflammatory activity of *Bougainvillea spectabilis* Linn. *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* 3, 642-646.
- [16] Sherwani, S.K., Khan, M.M., Zubair, A., Shah, M.A., Kazmi, S.U., 2013. Evaluation of in vitro thrombolytic activity of *Bougainvillea spectabilis* leaf extract. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 21, 6-9.
- [17] Shaiq Ali, M., Amir Ibrahim, S., Ahmed, F., Kashif Pervez, M., 2005. Color versus bioactivity in the flowers of *Bougainvillea spectabilis* (Nyctaginaceae). *Nat. Prod. Res.* 19, 1-5.
- [18] Mishra, N., Joshi, S., Tandon, V., Munjal, A., 2009. Evaluation of anti-fertility potential of aqueous extract of *Bougainvillea spectabilis* leaves in Swiss Albino mice. *Int. J. Pharm. Sci. Drug Res.* 1, 19-23.
- [19] Do, L.T., Aree T., Siripong, P., Vo, N.T., Nguyen, T.T., Nguyen, P.K., Tip-pyang, S., 2018. Cytotoxic flavones from the stem bark of *Bougainvillea spectabilis* Willd. *Planta Med.* 84, 129-134.
- [20] Dietz, V.H., Wollenweber, E., Favre-Bonvin, J., Smith, D.M., 1981. Two flavonoids from the frond exudate of *Pityrogramma triangularis* var. *triangularis*. *Phytochemistry.* 20, 1181-1182.
- [21] Kuo, H-T., Peng, C-F., Huang, H-Y., Lin, C-H., Chen, I-S., Tsai, I-L., 2011. Chemical constituents and antitubercular activity of Formosan *Pisonia umbellifera*. *Planta Med.* 77, 736-741.
- [22] Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J.T., Bokesch, H., Kenney, S., Boyd, M.R., 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.* 82, 1107-1112.
- [23] Keepers, Y.P., Pizao, P.E., Peters, G.J., van Ark-Otte, J., Winograd, B., Pinedo, H.M., 1991. Comparison of the sulforhodamine B protein and tetrazolium (MTT) assays for in vitro chemosensitivity testing. *Eur. J. Canc. Clin. Oncol.* 27, 897-900.
- [24] Vo Thi Nga, Nguyen Thi Hanh Trang, Nguyen Thi Anh Tuyet, Nguyen Kim Phi Phung, Ngo Thi Thuy Duong, Nguyen Thi Hoai Thu, 2020. Ethanol extract of the male *Carica papaya* flowers demonstrated non-toxic against MCF-7, Hep-G2, HeLa, NCI-H460 cancer cell lines. *Vietnam J. Chem.*, 58(1), 86-91.