

MỘT SỐ HỢP CHẤT PHÂN LẬP TỪ CỎ LÁ HẸ (*HALODULE UNINERVIS*)

Đến tòa soạn: 10-07-2025

Hồ Xuân Thủy¹, Nguyễn Thị Kim Liên², Phạm Nguyễn Kim Tuyền², Lê Đức Giang¹,
Trần Đình Thắng³, Đoàn Lan Phương^{4,*}

¹Khoa Hóa học, trường ĐH Vinh

²Khoa Kỹ thuật và Công nghệ, Trường Đại học Sài Gòn, Việt Nam

³Viện Công nghệ Sinh học & Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁴Viện Hóa học, Viện hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Việt Nam

*E-mail: doanlanphuong75@gmail.com

SUMMARY

SOME COMPOUNDS ISOLATED FROM THE SEAGRASS *HALODULE UNINERVIS*

From the methanol extract of the seagrass *Halodule uninervis*, five pure compounds were isolated for the first time from this species using a combination of various chromatographic techniques. The chemical structures of these compounds were elucidated based on the analysis of mass spectrometry data (ESI-MS) and nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, HMBC, HSQC, and COSY), in conjunction with comparisons to previously published literature. The identified compounds include 3,3',4'-tri-O-methylellagic acid, catechin, naringenin-4',7-dimethyl ether, quercetin and quercetin-3-O-rutinoside

Keywords: *Halodule uninervis*; 3,3',4'-tri-O-methylellagic acid, catechin, quercetin-3-O-rutinoside, quercetin

1. MỞ ĐẦU

Cỏ hẹ *Halodule uninervis* là một loài cỏ biển trong họ Cymodoceaceae [1]. Loài này có nguồn gốc từ phía tây Thái Bình Dương và Ấn Độ Dương [2]. Ở Việt Nam, chúng được tìm thấy ở một số vùng như Hải Phòng, Nghệ An, Hà Tĩnh, Thừa Thiên Huế, Nha Trang, Ninh Thuận. Hầu hết các hợp chất cô lập từ cỏ hẹ *Halodule uninervis* có hoạt tính sinh học cao. Chiết xuất nước *Halodule uninervis* đã được sử dụng như một tác nhân khử cho quá trình tổng hợp xanh các hạt nano bạc (AgNP) [3] tạo hoạt tính kháng khuẩn [4], hoạt tính diệt ấu trùng muỗi đáng kể,... những kết quả này nhân mạnh tiềm năng trong quá trình tổng hợp xanh các hạt nano, đảm bảo việc nghiên cứu sâu hơn, đặc biệt là do hoạt tính mạnh của chúng ngay

cả ở liều thấp [5]. Cỏ hẹ *Halodule uninervis* còn được thử nghiệm chống lại chuột mắc bệnh tiểu đường do STZ gây ra, nghiên cứu này cho thấy tiềm năng của cỏ hẹ có tác dụng như một thuốc trị đái tháo đường và chứng minh cho việc sử dụng truyền thống này làm dược liệu [6], [7]. Chiết xuất methanol của *Halodule uninervis* cho thấy hoạt động dọn gốc mạnh mẽ đối với gốc 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), cho thấy sự hiện diện của chất chống oxy hóa [8], nghiên cứu trong tương lai nên tập trung vào việc triển khai các phương pháp *in vivo* để đánh giá các hoạt động chống oxy hóa [9], [10]. Bên cạnh đó, hoạt động chống ung thư của *H. uninervis* đã được đánh giá bằng cách sử dụng chiết xuất ethyl acetate đối với một số dòng tế bào ung thư trong ống nghiệm, bao gồm khối u ác

tính A375, ung thư phổi A549, ung thư biểu mô cổ tử cung HeLa và tế bào ung thư biểu mô đại tràng HT29. Một số nghiên cứu đã đánh giá hiệu quả của chiết xuất *H. uninervis* như các tác nhân kháng khuẩn [11], hoạt động diệt ấu trùng muỗi của chiết xuất ethyl acetate *H. uninervis* đối với *Culex pipiens* [12], được xem như là một tác nhân thân thiện với môi trường đầy hứa hẹn để kiểm soát các loài vật trung gian truyền bệnh như muỗi. Mặc dù vậy, thành phần hóa học của cỏ lá hệ chưa được nghiên cứu rộng rãi, đồng thời chưa có bất kỳ nghiên cứu nào tập trung vào các hợp chất flavonoid phân lập từ lá của loài này. Vì vậy trong nghiên cứu này, 4 hợp chất flavonoid và 1 hợp chất coumarin (hoặc phenolic) lần đầu được phân lập từ cỏ lá hệ (*H. uninervis*) và cấu trúc của chúng được xác định bằng các phương pháp phổ hiện đại.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Mẫu thực vật

Cỏ lá hệ *Halodule uninervis* (Forssk.) Ascherson, được thu hái vào tháng 07 năm 2023 ở Phá Tam Giang, huyện Quảng Điền – tỉnh Thừa Thiên Huế, Việt Nam, được định danh bởi PGS.TS Đàm Đức Tiến Viện Tài nguyên và Môi trường biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu tiêu bản (HU0621-DHV) được bảo quản và lưu giữ ở Viện Hóa học, VAST.

2.2. Thiết bị và hóa chất

Sắc kí lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn (60 F254, Merck). Phát hiện chất dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm hoặc 368 nm và phun thuốc thử sulfuric acid 10%, vanillin 10% và ceri sulfate, sấy bản mỏng ở 105°C đến khi các vết hiện rõ. Pha tĩnh dùng trong sắc kí cột (CC) gồm silicagel pha thường (230-400 mesh ASTM, Merck), silicagel pha đảo (YMC

Gel ODS-A), RP-18.

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) được phân tích trên hệ thống Bruker AvanceNEO ¹H NMR và 150MHz cho ¹³C NMR (chất chuẩn nội là TMS - Tetramethyl Sillane) tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Khối phổ phun mù điện (ESI-MS) được đo trên hệ thống Thermo LCQ Fleet (Thermo Scientific, Hoa Kỳ).

2.3. Chiết xuất và phân lập các hợp chất

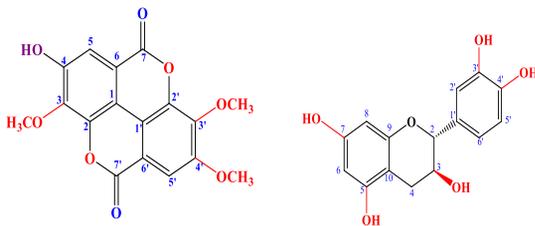
Từ 15,3 kg cỏ hệ tươi (kí hiệu: HU) sau khi thu lấy về được rửa sạch, để khô ở trong không khí trong vòng 15 ngày. Mẫu khô (4.8 kg) sau đó được cắt nhỏ và ngâm chiết với dung môi methanol bằng máy chiết siêu âm, gia nhiệt ở 50°C (thực hiện chiết 5 lần, mỗi lần 3 giờ), thu được 475 g cao methanol thô. Cao chiết methanol trên được hòa tan trong nước rồi chiết phân bố với lần lượt các dung môi hữu cơ (*n*-hexane, ethyl acetate, butanol) thu được cao chiết *n*-hexane (HUH - 11 g); cao ethyl acetate (HUE - 99 g); cao butanol (HUB- 93 g) và dịch nước (HUW - 121 g). Sử dụng sắc ký cột, sắc ký lớp mỏng để tách chất. Sử dụng các phương pháp phổ nghiệm để giải cấu trúc của các hợp chất cô lập được.

Cao ethyl acetate (HUE- 99 g) được sắc kí cột (300 g, 150 cm × 10 cm) với pha tĩnh là silica gel 60 (0,063 – 0,200 mm), pha động là hỗn hợp CHCl₃:MeOH (100:0, 20:1, 10:1, 5:1, 2:1, 1:1) thu được 10 phân đoạn (HUE1-HUE10).- Phân đoạn HUE3 (18.3 g) được tách trên sắc kí cột (300 g, 80 × 3 cm), rửa giải bằng hỗn hợp *n*-hexane:acetone (15:1, v/v) thu được 3 phân đoạn HUE3.1- HUE3.3. Phân đoạn HUE3.2 tiếp tục phân tách bằng sắc kí cột (140 g, 80 × 1.5 cm), rửa giải bằng *n*-hexane:ethyl acetate (10:1, 7:1, v/v) thu được hợp chất HU3 (22 mg). Phân đoạn HUE3.3 được tách trên

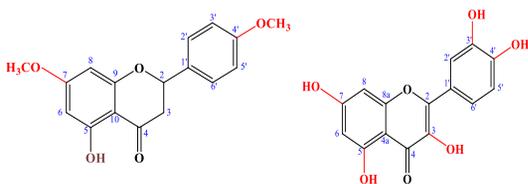
sắc kí cột (50 g, 80 cm x 1,5 cm) hệ rửa giải *n*-hexane:ethyl acetate (15:1, 7:1, v/v), thu được hợp chất HU1 (15 mg). Phân đoạn HUE7 (17.9 g) tiếp tục phân tách bằng cột pha thường, rửa giải bằng CH₂Cl₂:MeOH:H₂O (tỉ lệ 15:2:1, v/v) thu được hợp chất HU5 (17 mg).

Cao butanol (HUB-93 g) được sắc kí cột (150 cm x 10 cm) pha tĩnh là silica gel 60 (0.063 – 0.200 mm), pha động là hỗn hợp CHCl₃:MeOH:H₂O (20:1:0.05, 10:1:0.05, 7:1:0.05, 5:1:0.05, 2:10:0.05, v/v) thu được 8 phân đoạn (HUB1 - HUB8). Phân đoạn HUB2 (2.9 g) đi sắc kí cột trên silica gel (300 g, 60 x 3 cm) và rửa giải bởi CHCl₃:MeOH (15:1, 8:1) thu được chất HU2 (52 mg). - Phân đoạn HUB4 (6.3 g) được dùng sắc kí lớp mỏng (20 cm x 20 cm, độ dày 2.5 mm SiO₂), rửa giải bằng hỗn hợp CHCl₃:MeOH (8:1, 6:1) thu được hợp chất HU4 (57 mg).

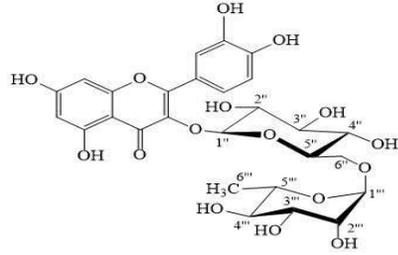
Từ cao chiết methanol của cỏ lá hẹ, năm hợp chất đã phân lập (kí hiệu lần lượt từ H1 đến H5) (Hình 1) và cấu trúc của chúng được xác định dựa trên kết quả phân tích phổ khối lượng và phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều tương ứng.



3, 3', 4'-tri-O-methyllellagic acid (HU1) Catechin (HU5)



Naringenin-4',7-dimethyl-ether (HU3) Quercetin (HU2)



Quercetin-3-O-rutinoside (HU4)

Hình 1. Cấu trúc hóa học của 5 hợp chất phân lập từ cỏ hẹ *Halodule uninervis*

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3,3',4' -tri-O-methyllellagic acid (HU1): Chất rắn dạng bột vô định hình màu trắng, có điểm nóng chảy 296-297°C, ESI- MS m/z 345 [M + H]⁺.

Phổ ¹H-NMR của hợp chất HU1 có 2 tín hiệu proton mũi đơn của vòng benzen ở δ 7.53 (1H, s, H-5) và 7.60 (1H, s, H-5'). Ngoài ra, phổ proton còn cho thấy có 3 tín hiệu của 3 nhóm methoxy tương ứng là δ 4.08 (3H, s, 3-OCH₃); 4.07 (3H, s, 3'-OCH₃), 4.00 (3H, s, 4'-OCH₃).

Phổ ¹³C-NMR có 17 tín hiệu cho thấy hợp chất có 17 cacbon với độ dịch chuyển hóa học được trình bày trong bảng 1. Trong đó có 12 tín hiệu carbon của vòng benzen với 10 tín hiệu carbon tứ cấp δC 110.9 (C-1), δC 141,1 (C-2), δC 140.1(C-3), δC 152.3 (C-4), δC 112.1 (C-6), δC 111.6 (C-1'), δC 141.2 (C-2'), δC 140.5 (C-3'), δC 153.5 (C-4') và δC 113.1 (C-6'); 2 tín hiệu carbon olefin δC 111,5 (C-5), δC 107,6 (C-5'). Ngoài ra, 2 tín hiệu carbon carboxyl tại δC 157,9 (C-7), δC 158,0 (C-7') đặc trưng cho cặp este nội vòng trong các dẫn xuất của ellagic acid và 3 tín hiệu carbon của nhóm methoxy tại δC 60,6 (3-OCH₃), δC 60,9 (3'-OCH₃), δC 56.5 (4'-OCH₃). Từ đó có thể xác định HU1 là dẫn xuất của ellagic acid.

Phổ HSQC cho biết sự tương quan của proton và carbon qua một nối hóa trị giúp gắn kết các proton vào carbon tương ứng. Trong đó ta thấy có 2 tín hiệu proton của vòng benzen δ_H 7,53 (1H, s, H-5); δ_H 7,60 (1H, s, H-5') lần lượt tương quan với 2 carbon vòng thơm tại δ_C 111,5 (C-5), δ_C 107,6 (C-5'). Phổ HMBC một lần nữa giúp xác định HU1 là dẫn xuất của ellagic acid. Mũi cộng hưởng tại δ_H 7,53 (H-5) cho tương quan với các mũi tại δ_C 110,9 (C-1); δ_C 140,1 (C-3); δ_C 157,9 (C-7). Mũi cộng hưởng tại δ_H 7,60 (H-5') cho tương quan với các mũi tại δ_C 140,5 (C-3'); δ_C 113,1 (C-6'); δ_C 158,0 (C-7'). Các mũi cộng hưởng tại δ_H 4,08 (3-OCH₃), δ_H 4,07 (3'-OCH₃), δ_H 4,00

(4' -OCH₃) lần lượt cho tương quan với các mũi tại δ_C 140,1 (C- 3), δ_C 140,5 (C-3'), δ_C 153,5 (C-4'). Từ các số liệu phổ NMR của hợp chất HU1 so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất 3,3',4' -tri-O-methylellagic acid trình bày trong bảng 1 [13], cho thấy có sự tương đồng, nên hợp chất HU1 được đề nghị có cấu trúc hóa học là 3, 3', 4'-tri-O-methylellagic acid. Hợp chất 3,3',4' -tri-O-methylellagic acid HU1 đã được phân lập trước đây từ loài *Euphorbia hylonoma* ở Trung Quốc [14] nhưng đây là lần đầu tiên HU1 phân lập được từ chi Halodule. Hợp chất 3,3',4' -tri-O-methylellagic acid được biết đến với hoạt tính chống oxi hóa [15].

Bảng 1. Dữ liệu phổ NMR của HU1 và 3, 3', 4'-tri-O-methylellagic acid [13].

Vị trí	HU1 (DMSO-d ₆)			3,3',4'-tri-O-methylellagic acid (DMSO-d ₆)	
	δ_H, J (Hz)	δ_C	HMBC (¹ H → ¹³ C)	δ_H, J (Hz)	δ_C
1		110,9			111,2
2		141,1			140,9
3		140,1			140,3
4		152,3			152,5
5	7,53 (1H, s)	111,5	3, 4, 6, 7	7,54 (1H, s)	111,6
6		112,1			111,9
7		157,9			158,3
1'		111,6			112,4
2'		141,2			141,5
3'		140,5			140,8
4'		153,5			153,8
5'	7,60 (1H, s)	107,6	3', 4', 6', 7'	7,64 (1H, s)	107,5
6'		113,1			113,4
7'		158,0			158,5
3-OCH ₃	4,08 (3H, s)	60,6	3	4,06 (3H, s)	61,0
3' -OCH ₃	4,07 (3H, s)	60,9	3'	4,05 (3H, s)	61,3
4' -OCH ₃	4,00 (3H, s)	56,5	4'	4,01 (3H, s)	56,7

Catechin (HU5): Là dạng bột, màu vàng nâu, có điểm nóng chảy 257-258°C

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của HU5 bao gồm hai tín hiệu proton methine vòng thơm tại δH 5,88 (1H, d, 2.0 Hz, H-6) và 5,72 (1H, d, 2,0 Hz, H-8) ghép cặp meta với nhau cho thấy vòng A gắn 2 nhóm thế tại vị trí C-5 và C-7. Ngoài ra còn có ba tín hiệu proton vòng thơm tương tác theo kiểu ABX tại δH 6.66 (1H, d, 8,0 Hz, H-5'), 6.66 (1H, m, H-6') và 6,68 (1H, brs, H-2') cho thấy vòng B gắn 3 nhóm thế tại vị trí C-1', C-3' và C-4'. Ngoài ra trên vòng C của HU5 còn có hai tín hiệu proton methine gắn oxygen tại δH 4,73 (1H, brs, H-2) và 4,00 (1H, brd, 3,0, H-3) cùng hai tín hiệu proton methylene tại δH 2.68 (1H, dd, 16,5, 4,5 Hz, H-4a) và 2,48 (1H, dd, 16,5, 3.5 Hz, H-4b). Điều này dự đoán HU5 có khung sườn flavanol. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ kết hợp với phổ DEPT cho thấy sự xuất hiện của 15 nguyên tử carbon khung flavanol bao gồm: 1 tín hiệu carbon methylene tại δC 28,2 (C-4), 2 tín hiệu carbon methine mang oxygen tại δC 78,1 (C-2) và 64,9 (C-3) và 12 tín hiệu carbon vòng thơm bao gồm: 5 tín hiệu carbon methine mang nối đôi tại δC 118,0 (C-6'), 114,9 (C-2'), 114,8 (C-5'), 95,2 (C-6), 94.1 (C-8), 5 tín hiệu carbon tứ cấp mang nối đôi gắn oxygen tại δC 156,5 (C-5), 156.2 (C-7), 155.8 (C-9), 144,4 (C-3'), 144,5 (C-4') và 2 tín hiệu carbon olefine tứ cấp tại δC 130,6 (C-1') và 98,5 (C-10). Từ các thông tin trên có thể khẳng định chắc chắn rằng HU5 có cấu trúc khung sườn flavan-3-ol.

Phổ HSQC cho thấy các tín hiệu proton H-2 tại δH 4,73 (1H, brs) tương quan với tín hiệu carbon tại δC 78,1 (C-2), tín hiệu proton H-3 tại δH 4,00 (1H, brd, 3.0 Hz) tương quan với tín hiệu carbon tại δC 64,9 (C-3), tín hiệu proton H-4a tại δH 2,68 (1H, dd, 16,5, 4.5 Hz) và tín hiệu proton

H-4b tại δH 2.48 (1H, dd, 16,5, 3,5Hz) tương quan với tín hiệu carbon tại δC 28,2 (C-4), từ đó giúp xác định sự gắn kết của proton trên carbon tương ứng.

Phổ HMBC cho thấy tín hiệu H-2 tại δH 4.73 (1H, brs) tương quan lần lượt với các tín hiệu carbon tại δC 28,2 (C-4), δC 130,6 (C-1'), δC 114,9 (C-2'), δC 118,0 (C-6') và δC 155,8 (C-9) giúp xác định vòng B gắn vào vị trí C-2. Ngoài ra tín hiệu proton H-3 tại δH 4,00 (1H, brd, 3,0 Hz) tương quan với tín hiệu carbon tại δC 98,5 (C-10) giúp xác định nhóm -OH gắn vào vị trí C-3, tín hiệu proton H-4a tại δH 2,68 (1H, dd, 16,5, 4,5 Hz) và proton H-4b tại 2,48 (1H, dd, 16.5, 3.5 Hz) lần lượt tương quan với các tín hiệu carbon tại δC 78,1 (C-2), 64,9 (C-3), 156,5 (C-5), 155,8 (C-9), 98,5 (C-10) giúp xác định nhóm -OH gắn vào vị trí C-5.

Khi xét đến mối quan hệ lập thể giữa các proton H-2 và H-3 trong vòng C của khung flavan-3-ol, ta có thể phân biệt được hai dạng đồng phân lập thể chính: catechin và epicatechin.

Dựa vào hằng số ghép (J) giữa H-2 và H-3 trong phổ $^1\text{H NMR}$, ta có thể xác định đồng phân: $J = 7-10 \text{ Hz} \rightarrow \text{trans} \rightarrow \text{catechin}$; $J = 2-5 \text{ Hz} \rightarrow \text{cis} \rightarrow \text{epicatechin}$.

Từ số liệu phổ, kết hợp so sánh với các tài liệu tham khảo [16], theo tính toán thì các proton H-2 và H-3 của HU5 có hằng số ghép $J_{2,3} = 7,5$ do đó đề nghị cấu trúc của hợp chất HU5 là catechin.

Hợp chất catechin có hoạt tính sinh học kháng oxi hóa, phòng chống bệnh tiểu đường, đã từng được báo cáo trong tài liệu [16], nhưng đây là lần đầu tiên hợp chất này được tìm thấy trong chi Halodule.

Bảng 2. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất HU5 so sánh với catechin [16].

Vị trí	HU5 (DMSO- <i>d</i> ₆)			Catechin (DMSO- <i>d</i> ₆)	
	δ_H, J (Hz)	δ_C	HMBC (¹ H → ¹³ C)	δ_H, J (Hz)	δ_C
1					
2	4,47 (1H, <i>d</i> , 7,5)	78,1	4, 1', 2', 6', 9	4,48 (1H, <i>d</i> , 7.5)	78,1
3	4,00 (1H, <i>m</i>)	64,9	10	4,03 (1H, <i>m</i>)	65,0
4	4a:2,68 (1H, <i>dd</i> , 16.5, 4,5) 4b:2,48 (1H, <i>dd</i> , 16.5, 3,5)	28,2	2, 3, 5, 9,10	2.70 (<i>ax</i> , <i>dd</i> , 16.4, 4.4) 2.50 (<i>eq</i> , <i>dd</i> , 16.4, 3.5)	28,2
5		156,5			156,5
6	5,88 (1H, <i>d</i> , 2,0)	95,2	7, 8, 9, 10	5.91 (1H, <i>d</i> , 2.3)	95,2
7		156,2			156,3
8	5,72 (1H, <i>d</i> , 2,0)	94,1	6,7,9,10	5.75 (1H, <i>d</i> , 2.3)	94,2
9		155,8			155,8
10		98,5			98,6
1'		130,6			130,7
2'	6,88 (1H, <i>brs</i>)	114,9	2	6.91 (1H, <i>s</i>)	114,9
3'		144,4			144,4
4'		144,5			144,5
5'	6,66 (1H, <i>d</i> , 8,0)	114,8	1', 3', 4'	6.68 (1H, <i>d</i>)	114,8
6'	6,66 (1H, <i>m</i>)	118,0	2, 1, 4'	6.68 (1H, <i>d</i>)	118,0
3-OH	4,64 (1H, <i>d</i> , 4,5)			4.56 (1H, <i>d</i> , 4,7)	

Hợp chất naringenin-4',7-dimethyl-ether (HU3 Phổ EI-MS cho mũi ion phân tử giá $m/z = 301 [M+H]^+$

Phổ ¹H-NMR có tín hiệu ở δ_H 7,40 (2H, *d*, $J=9,0$ Hz, H-2' và H-6') và 6,95 (2H, *d*, $J=9,0$ Hz, H-3' và H-5') là tín hiệu của các nguyên tử hydro của vòng B có nhóm thế ở vị trí para, 6,06 (1H, *d*, $J=2,5$ Hz, H-8) và 5,97 (1H, *d*, $J=2,0$ Hz, H-6) là tín hiệu của hai nguyên tử hydrogen ở vòng A, còn tín hiệu 5,39 (1H, *dd*, $J=2,5; 12,5$ Hz, H-2) và 3,02 (1H, *dd*, $J=3,5; 12,5$ Hz, H-3b), 2,58 (1H, *dd*, $J=3,0; 13,0$ Hz, H-3a) là tín hiệu đặc trưng của các nguyên tử hydrogen thuộc vòng B, hai tín hiệu 3,76 (3H, *s*, 7-OCH₃) và 3,73 (3H, *s*, 4'-OCH₃) là tín hiệu của hai nhóm methyl thế ở vị trí C-7 và C-4'.

Phổ ¹³C-NMR kết hợp với phổ DEPT cho thấy tín hiệu 16 carbon bao gồm: 1 carbon

methylene, 8 carbon methine, 6 carbon bậc 4 và 2 carbon thuộc nhóm OCH₃.

Phổ ¹³C-NMR kết hợp với phổ DEPT cho thấy sự xuất hiện của 16 nguyên tử carbon khung flavanone bao gồm: 1 tín hiệu carbon carbonyl tại δ_C 187,5 (C-4), 2 tín hiệu carbon methine mang oxygen tại δ_C 77,8 (C-2) và 44,7 (C-3) và 12 tín hiệu carbon vòng thơm bao gồm: 5 tín hiệu carbon methine mang nối đôi tại δ_C 128,0 (C-6'), 128,0 (C-2'), 113,8 (C-5'), 93,3 (C-6), 95,6 (C-8), 4 tín hiệu carbon tứ cấp mang nối đôi gắn oxygen tại δ_C 164.1 (C-5), 164,3 (C-7), 162.2 (C-9), 159,3 (C-4') và 2 tín hiệu carbon olefine tứ cấp tại δ_C 131,1 (C-1') và 104.5 (C-10). Từ các thông tin trên có thể khẳng định chắc chắn rằng HU2 có cấu trúc khung sườn flavanone. Phổ HSQC cho thấy các tín hiệu proton H-2 tại δ_H 5,39 (1H, *dd*, 2.5, 12.5 Hz) tương quan với tín hiệu carbon

tại δ_C 77,8 (C-2), tín hiệu proton H-3a tại δ_H 2,58 (1H, dd, 3.0, 13.0 Hz) và tín hiệu proton H-3b tại δ_H 3,02 (1H, dd, 3,5, 12,5 Hz) tương quan với tín hiệu carbon tại δ_C 44,7 (C-3), từ đó giúp xác định sự gắn kết của proton trên carbon tương ứng.

Phổ HMBC cho thấy tín hiệu H-2 tại δ_H 5.39 (1H, dd, 2.5, 12.5 Hz) tương quan lần lượt với các tín hiệu carbon tại δ_C 187,5 (C-4), δ_C 131,1 (C-1'), δ_C 128.0 (C-2', C-6'), và δ_C 162.2 (C-9) giúp xác định vòng B gắn vào vị trí C-2. Ngoài ra tương tác xa của proton thuộc nhóm OCH₃ ở δ_H 3,94 với C-5 cho phép kết luận 1 nhóm OCH₃ được gắn với khung

flavonoid ở vị trí C-5.

Từ dữ liệu phổ so sánh với tài liệu tham khảo [17], cho phép xác định cấu trúc của chất hợp chất HU2 là naringenin-4',7-dimethyl-ether.

Hợp chất naringenin-4',7-dimethyl-ether phân lập từ loài *Nardostachys jatamansi*, một loại cây thuốc truyền thống thường được dùng để làm giảm đau ở Châu Á, đã từng được báo cáo trong tài liệu [17], nhưng đây là lần đầu tiên hợp chất này được tìm thấy trong loài cỏ họ *Halodule uninervis*

Bảng 3a. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất HU2 so với naringenin-4',7-dimethyl-ether [17].

Vị trí	HU2 (CD ₃ OD)			Naringenin-4',7-dimethyl-ether (CDCl ₃)	
	δ_H, J (Hz)	δ_C	HMBC (¹ H→ ¹³ C)	δ_H, J (Hz)	δ_C
2	5.39 (1H, dd, 2.5, 12.5)	77,8			79,0
3a 3b	2.58 (1H, dd, 3.0, 13.0) 3.02 (1H, dd, 3.5, 12.5)	44,7			43,2
4	-	187,5			196,0
5		164,1			164,1
6	6.20 (1H, d, 2.0)	93,3			95,1
7		164,3			167,8
8	6.38 (1H, d, 2.0)	95,6			94,2
9		162,2			162,9
10		104,5			103,1
1'		131,1			130,4
2'	7.40 (2H, d, 9.0)	128,0			127,7
3'	6,95 (2H, d, 9.0)	113,8			114,2
4'		159,3			160,0
5'	6,95 (2H, d, 9.0)	113,8			114,2
6'	7,40 (2H, d, 9.0)	128,0			127,7
7-OCH ₃		55,1			55,4
4'-OCH ₃		55,6			55,7

Bảng 3b. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất HU2 và HU5.

Vị trí	HU2 (CD ₃ OD)		HU5 (DMSO- <i>d</i> ₆)	
	δ_H, J (Hz)	δ_C	δ_H, J (Hz)	δ_C
2	5.39 (1H, <i>dd</i> , 2.5, 12,5)	77,8	4.47 (1H, <i>d</i> , 7.5)	78,1
3a 3b	2.58 (1H, <i>dd</i> , 3,0, 13,0) 3,02 (1H, <i>dd</i> , 3,5, 12,5)	44,7	4.00 (1H, <i>m</i>)	64,9
4	-	187,5	4a:2.68 (1H, <i>dd</i> , 16.5, 4.5) 4b:2.48 (1H, <i>dd</i> , 16.5, 3.5)	28,2
5		164,1		156,5
6	6.20 (1H, <i>d</i> , 2,0)	93,3	5.88 (1H, <i>d</i> , 2,0)	95,2
7		164,3		156,2
8	6.38 (1H, <i>d</i> , 2,0)	95,6	5.72 (1H, <i>d</i> , 2,0)	94,1
9		162,2		155,8
10		104,5		98,5
1'		131,1		130,6
2'	7,40 (2H, <i>d</i> , 9,0)	128,0	6.88 (1H, <i>brs</i>)	114,9
3'	6,95 (2H, <i>d</i> , 9,0)	113,8		144,4
4'		159,3		144,5
5'	6,95 (2H, <i>d</i> , 9,0)	113,8	6.66 (1H, <i>d</i> , 8,0)	114,8
6'	7,40 (2H, <i>d</i> , 9,0)	128,0	6.66 (1H, <i>m</i>)	118,0
7-OCH ₃		55,1		
4'-OCH ₃		55,6		

Hợp chất Quercetin (HU2)- 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone

Phổ ESI-MS cho mũi ion phân tử giả $m/z = 300,9[M-H]^-$ phù hợp với công thức tính toán lý thuyết $[C_{15}H_{10}O_7-H]^- = 301$

Phổ ¹H-NMR có sự xuất hiện tín hiệu proton hydroxyl kiềm nổi ở δ_H 12,15 (1H, *s*, 5-OH) đặc trưng cho khung

flavone, ngoài ra còn có tín hiệu của 5 proton vòng thơm riêng lẻ trong khoảng δ_H 6,26 – 7,82, cụ thể gồm có 3 tín hiệu proton vòng B của khung flavone tại δ_H 7,82 (1H, *d*, 2,5, H-2'), 7,70 (1H, *dd*, 8,5, 2,0, H-6') và 7,00 (1H, *d*, 8,5, H-5') dự đoán là vòng B có mang 2 nhóm thế ở vị trí 3' và 4'; bên cạnh đó 2 tín hiệu mũi đôi tại δ_H 6,26 (1H, *d*, 2,0, H-6) và 6,52 (1H,

d, 2,0, H-8) đặc trưng cho 2 proton ở vị trí meta trên vòng A của khung flavone đã xác định ở trên. Từ các dữ liệu phổ này cho thấy hợp chất HU3 có cấu trúc của flavone với vòng A mang 2 nhóm thế (vị trí 5, 7) và vòng B cũng mang 2 nhóm thế (vị trí 3', 4').

Phổ ^{13}C -NMR kết hợp với phổ DEPT có sự xuất hiện 15 tín hiệu carbon đặc trưng của khung flavone. Cụ thể gồm có 1 tín hiệu tại δC 176,6 (C-4) xác định là của carbon carbonyl; 14 tín hiệu của carbon vòng thơm, trong đó có 9 tín hiệu carbon tại δC 104, (C- 4a), 123,8 (C-1'), 136.7 (C-3), 145.8 (C-3'), 148.3 (C-4'), 147,0 (C-2), 157.8 (C-5), 162.3 (C-8a), 165.0 (C-7) xác định là của carbon tứ cấp vòng thơm và 5 tín hiệu tại δC 94,4 (C- 8), 99,2 (C-6), 115,8 (C-2'), 116,2 (C-5'), 121.5 (C-6') là của carbon nhóm methine gắn trên vòng thơm.

Phổ HSQC xuất hiện các tín hiệu các proton thơm ở δH 6.26 (H-6), 6.52 (H-8), 7.00 (H-5'), 7.70 (H-6') và 7.82 (H-2) tương quan với các carbon thơm tương ứng tại δC 99.2 (C-6), 94.4 (C-8), 116.2 (C-5'), 121.5 (C-6') và 115.8 (C-2') từ đó khẳng định sự liên kết proton trên các carbon tương ứng.

Phổ HMBC giúp nhận thấy tương quan giữa proton vòng thơm ở δH 7.82 (H-2') với các tín hiệu ở δC 148.3 (C-4'), 121.5 (C-6') và 147.0 (C-2) từ đó xác định hợp chất flavone này có vòng B gắn với vòng C tại vị trí C-2. Ngoài ra còn có các tương quan giữa proton vòng thơm ở δH 7.70

(H-6') với các tín hiệu ở δC 115.8 (C-2'), 148.3 (C- 4') và 147.0 (C-2); proton vòng thơm ở δH 7.00 (H-5') tương quan với các tín hiệu ở δC 123.8 (C-1'), 145.8 (C-3'); proton ở δH 6.52 (H-8) tương quan với các tín hiệu ở δC 104. (C-4a), 157.8 (C-5), 165.0 (C-7) và 99.2 (C-6); proton ở δH 6.26 (H-6) tương quan với các tín hiệu ở δC 104. (C-4a), 165.0 (C-7), 94.4 (C-8).

Từ các số liệu phổ NMR của hợp chất HU3 so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất quercetin [18] trình bày trong bảng 3 cho thấy có sự tương đồng. Do đó đề nghị có cấu trúc hóa học HU3 là quercetin, là một flavonoid phân lập được từ nhiều loại thực vật trong thiên nhiên.

Hợp chất quercetin đã từng được tìm thấy trong cây Thầu dầu tía *Ricinus communis* L. thu hái ở Sri Lanka [19], nhưng đây là lần đầu tiên hợp chất này được tìm thấy trong cây cỏ họ *Halodule uninervis* ở Việt Nam.

Quercetin có hoạt tính sinh học kháng viêm, kháng oxy hóa. Ngoài ra quercetin còn có tác dụng bảo vệ thần kinh và chống ung thư [19].

Quercetin-3-O-rutinoside (HU4)- Rutin

Phổ ^{13}C -NMR kết hợp với phổ DEPT của hợp chất HU4 và HU3 cho thấy có sự tương đồng với những tín hiệu đặc trưng của khung sườn quercetin trình bày trong bảng 4. Tuy nhiên, HU4 nhiều hơn HU3 12 tín hiệu carbon của hai đơn vị đường hexose gồm hai carbon acetal tại δC 100.7 (C-1' ' '), 101.2 (C- 1' ' ').

Bảng 4. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất HU3 so sánh với quercetin [18].

Vị trí	HU3 (DMSO- d_6)			Quercetin (MeOH- d_4)	
	δH , J (Hz)	δC	HMBC ($^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$)	δH , J (Hz)	δC
2		147.0			146.8
3		136.7			135.7
4		176.6			175.8
4a		104.1			103.0

5		157.8			156.1
6	6.26 (1H, d, 2.0)	99.2	8, 4a, 7	6.18 (1H, d, 2.0)	98.2
7		165.0			163.9
8	6.52 (1H, d, 2.0)	94.4	5, 6, 4a, 7	6.41 (1H, d, 2.0)	93.3
8a		162.3			160.7
1'		123.8			121.9
2'	7.82 (1H, d, 2.5)	115.8	6', 4', 2	7.67 (1H, d, 2.2)	115.0
3'		145.8			145.0
4'		148.3			147.7
5'	7.00 (1H, d, 8.5)	116.2	4', 3', 1'	6.88 (1H, d, 8.5)	115.6
6'	7.70 (1H, dd, 8.5, 2.0)	121.5	2', 4'	7.53 (1H, dd, 8.5, 2.2)	119.9
5-OH	12.48 (1H, s)			12.49 (1H, s)	

Phổ ¹H-NMR của hợp chất HU4 cho các tín hiệu đặc trưng của khung sườn quercetin gồm 5 proton vòng thơm riêng lẻ trong khoảng δH 6.20 – 7.55, cụ thể: hai mũi đôi tại δH 6.20 (1H, d, 2.0, H-6), 6.38 (1H, d, 2.0, H-8) đặc trưng cho 2 proton ở vị trí meta trong vòng A của một flavone; 3 tín hiệu proton khác tại δH 6.84 (1H, d, 8.0, H-5'), 7.54 (1H, dd, 10.5, 2.0, H-6'), 7.55 (1H, d, 2.0, H-2') cho phép dự đoán 3 proton này gắn trên vòng B mang 3 nhóm thế ở vị trí 1', 3' và 4'. Hai tín hiệu proton anomer tại δH 5.34 (1H, d, 7.5 Hz, H-1'') và 4.39 (1H, s, H-1''') lần lượt của hai đơn vị đường dạng β và dạng α. Cùng các tín hiệu proton gắn trên carbon mang oxygen của phân tử đường ở vùng từ trường tại δH 3.05 – 3.72, do đó có thể dự đoán HU4 có chứa hai phân tử đường. Trong đó, có một đường là rhamnose đặc trưng bởi tín hiệu proton rất mạnh ở δH 1.00 (3H, d, 6.5, H-6''') của nhóm -CH₃, đường còn lại là glucose. Ngoài ra còn có một tín hiệu của proton hydroxyl kiềm nổi tại δH 12.59 (5-OH) giúp xác nhận -OH gắn vào C-5 của vòng A. Các dữ kiện trên giúp dự đoán HU4 là một flavonodiglycoside có nhân quercetin.

Phổ HSQC cho thấy hai tín hiệu proton anomer tại δH 5.34 (1H, d, 7.5, H-1'')

và 4.39 (1H, d, 1.5, H-1''') lần lượt tương quan với hai tín hiệu carbon anomer tại δC 101.2 (C-1'') và 100.7 (C-1'''). Ngoài ra, còn cho thấy các tín hiệu proton thơm ở δH 6.20 (H-6), 6.38 (H-8), 6.84 (H-5'), 7.54 (H-6') và 7.55 (H-2') lần lượt tương quan với các carbon thơm tại δC 98.6 (C-6), 93.5 (C-8), 115.2 (C-5'), 121.5 (C-6') và 116.2 (C-2') giúp xác định sự gắn kết proton trên carbon tương ứng.

Phổ HMBC cho thấy sự tương quan giữa proton anomer tại δH 5.34 (H-1'') với tín hiệu carbon tại δC 133.3 (C-3) giúp xác định phần đường glucose gắn vào khung quercetin tại C-3, proton anomer tại δH 4.39 (H-1''') tương quan với tín hiệu carbon tại δC 68.2 (C-6''), xác nhận phần đường α – rhamnose gắn vào đơn vị đường glucose tại vị trí C-6''.

So sánh số liệu phổ NMR của hợp chất HU4 với quercetin-3-O-rutinoside [20] trình bày trong bảng 5 thấy có sự tương đồng, do đó đề nghị cấu trúc của hợp chất HU4 là Quercetin-3-O-rutinoside gọi tắt là rutin.

Rutin có các hoạt tính quan trọng bao gồm chống oxy hóa, chống viêm, chống tiểu đường, chống mỡ, bảo vệ thần kinh và liệu pháp hormone [21].

Bảng 5. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất HU4 so sánh với rutin [20]

Vị trí	HU4 (DMSO- <i>d</i> ₆)			Quercetin-3- <i>O</i> -rutinoside (DMSO- <i>d</i> ₆)	
	δ_H, J (Hz)	δ_C	HMBC (¹ H → ¹³ C)	δ_H, J (Hz)	δ_C
2		156.4			156.9
3		133.3			133.8
4		177.3			177.8
4a		103.9			104.4
5		161.2			161.7
6	6.20 (1H, <i>d</i> , 2.0)	98.6	5,7,8,10	6.20 (1H, <i>d</i> , 2.0)	99.1
7		164.0			164.5
8	6.38 (1H, <i>d</i> , 2.0)	93.5	6,9,10,7	6.39 (1H, <i>d</i> , 2.0)	94.0
8a		156.6			157.1
1'		121.1			122.1
2'	7.53 (1H, <i>s</i>)	116.2	6', 2, 4', 3'	7.54 (1H, <i>s</i>)	116.7
3'		144.7			145.2
4'		148.4			148.9
5'	6.84 (1H, <i>d</i> , 8.0)	115.2	3', 1', 4', 6'	6.85 (1H, <i>d</i> , 8.5)	115.7
6'	7.54 (1H, <i>d</i> , 2.0)	121.5	2', 2, 4'	7.56 (1H, <i>d</i> , 2.0)	121.7
1''	5.34 (1H, <i>d</i> , 7.5)	101.2		5.36 (1H, <i>d</i> , 7.5)	101.6
2''	3.21-3.39 (4H, <i>m</i>)	74.0		3.22-3.30 (4H, <i>m</i>)	74.5
3''	3.30 - 3.40 (<i>m</i>),	75.9		(3.35 - 3.45 <i>m</i>)	76.4
4''	3.50 - 3.60 (<i>m</i>)	68.2		3.50 - 3.60 (<i>m</i>)	68.7
5''	3.50-3.60 (<i>m</i>)	76.4		3.50-3.60 (<i>m</i>)	76.9
6''	3.21-3.39 (1H, <i>m</i>); 3.69-3.72 (1H, <i>d</i> , 10.5)	67.0		3.22-3.30 (1H, <i>m</i>); 3.70-3.72 (1H, <i>d</i> , 10.5)	67.5
1' ' '	4.39 (1H, <i>s</i>)	100.7	6' ' ', 2' ' '	4.35 (1H, <i>s</i>)	101.2
2' ' '	3.21-3.39 (1H, <i>m</i>)	70.5		3.22-3.30 (1H, <i>m</i>)	71.0
3' ' '	3.05-3.09 (3H, <i>m</i>)	70.0		3.06-3.08 (1H, <i>m</i>)	70.5
4' ' '	3.22 - 3.20 (1H, <i>m</i>)	70.3		3.22-3.20 (1H, <i>m</i>)	70.9
5' ' '	3.06 - 3.08 (1H, <i>m</i>)	71.8		3.06-3.08 (1H, <i>m</i>)	72.3
6' ' '	1.00 (3H, <i>d</i> , 6.5)	17.7		0.99-1.00 (3H, <i>d</i> , 6.0)	18.2
5-OH	12.59 (1H, <i>s</i>)			12.60 (1H, <i>s</i>)	
7-OH	10.83 (1H, <i>brs</i>)				
3'-OH	9.15 (1H, <i>brs</i>)				
4'-OH	9.65 (1H, <i>brs</i>)				
3' ' ' -OH	5.07 (1H, <i>s</i>)				
4' ' ' -OH	5.23 (1H, <i>s</i>)				
2' ' ' -OH	5.04 (1H, <i>s</i>)				
2''-OH 3''-OH	4.35 (2H, <i>brs</i>)				

4. KẾT LUẬN

Lần đầu tiên năm hợp chất được phân lập từ cao chiết methanol của cỏ hệ *Halodule uninervis* ở Việt Nam bằng các phương pháp sắc kí. Dựa trên kết quả đo phổ MS, 1D và 2D NMR và so sánh với các tài liệu tham khảo, năm hợp chất trên đã được xác định cấu trúc, trong đó có 4 hợp chất flavonoid, bao gồm 2 hợp chất thuộc khung sườn flavonol là quercetin (HU3), quercetin-3-O-rutinoside (HU4); 1 hợp chất flavanol là catechin (HU5) và 1 hợp chất flavanone là naringenin-4',7-dimethyl-ether (HU2). Ngoài ra còn có hợp chất khác là phenolic dẫn xuất của ellagic acid là chất 3, 3', 4'-tri-O-methylellagic acid (HU1).

Trong số 5 hợp chất cô lập được, có 3 hợp chất là 3, 3', 4'-tri-O-methylellagic acid (HU1), catechin (HU5) và naringenin-4',7-dimethyl-ether (HU2) là lần đầu tiên được cô lập trong chi *Halodule*.

Lời cảm ơn: Công trình này được hỗ trợ bởi Nghị định thư Việt Nam - Cuba, mã số: NĐT/CU/22/25. Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của một số loài rong, cỏ biển và vẹm xanh của Việt Nam - Cuba, phát triển chế phẩm mỹ phẩm và chế phẩm bảo vệ sức khỏe.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Hegde M. P. K., Yi J. S., (2013). *Acacia mangium* Willd. - A Fast Growing Tree for Tropical Plantation. *Journal of Forest and Environmental Science*, **29(1)**, 1-14.
- [2] Subhan N., Burrows G. E., Kerr P. G., Obied H. K., (2018). Chapter 9 - Phytochemistry, Ethnomedicine, and Pharmacology of *Acacia*. *Studies in Natural Products Chemistry*, Atta ur R.
- [3] Batiha G. E., Akhtar N., Alsayegh A. A., Abusudah W. F., Almohmadi N. H., Shaheen H. M., Singh T. G., De Waard M., (2022). Bioactive Compounds, Pharmacological Actions, and Pharmacokinetics of Genus *Acacia*. *Molecules*, Ed., 7340-7361.
- [4] Prayogo Y. H., Syafii W., Sari R. K., Batubara I., Danu, (2021). Pharmacological Activity and Phytochemical Profile of *Acacia* Heartwood Extracts. *Scientia Pharmaceutica*, Ed., 37-47.
- [5] Pereira P. R. C, Dutra J. C. V, Costalonga S., Santos V. S. D, Trindade M. G. P, Batitucci M. D. C. P., (2022). *Acacia mangium* Willd (*Acácia*) Extract Antioxidant and Antiproliferative Activities. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **10(10)**, 1-10.
- [6] Fukunaga T., Nishiya K., Kajikawa I., Watanabe Y., Suzuki N., Takeya K., Itokawa H., (1988). Chemical Studies on the Constituents of *Hyphear Tanakae* Hosokawa from Different Host Trees. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **36(3)**, 1180-1184.
- [7] Ward R. S., (1989). Carbon-13 NMR of flavonoids. *Magnetic Resonance in Chemistry*, Amsterdam, John Wiley & Sons, Ltd.
- [8] Leite J. P. V., Rastrelli L., Romussi G., Oliveira A. B., Vilegas J. H. Y., Vilegas W., Pizza C., (2001). Isolation and HPLC Quantitative Analysis of Flavonoid Glycosides from Brazilian Beverages (*Maytenus ilicifolia* and *M. aquifolium*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49(8)**, 3796-3801.
- [9] Lee S. Y., So Y. J., Shin M. S., Cho J. Y., Lee J., (2014). Antibacterial effects of afzelin isolated from *Cornus macrophylla* on *Pseudomonas aeruginosa*, a leading cause of illness in immunocompromised individuals. *Molecules*, **19(3)**, 3173-3180.
- [10] De Oliveira Silva D., Conceição Santos M. F., De Jesus Nicácio K., Neto A. K.,

- Ghilardi Lago J. H., Chagas-Paula D. A., Dias D. F., Soares M. G., (2023). Evaluation of the anti-inflammatory activity of *Acacia polyphylla* and identification of a new apigenin-3-C-glycosylated type flavonoid. *Natural Product Research*, 1-6.
- [11] Adeniyi O., Baptista R., Bhowmick S., Cookson A., Nash R. J., Winters A., Shen J., Mur L. A. J., (2022). Isolation and Characterisation of Quercitrin as a Potent Anti-Sickle Cell Anaemia Agent from *Alchornea cordifolia*. *Journal of Clinical Medicine*, **11(8)**, 2177-2192.
- [12] Napolitano J. G., Lankin D. C., Chen S.-N., Pauli G. F., (2012). Complete ¹H NMR spectral analysis of ten chemical markers of *Ginkgo biloba*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, **50(8)**, 569-575.
- [13] Guan Ye, Hua Peng, Mingsong Fan, Cheng-Gang Huang (2007). Ellagic acid derivatives from the stem bark of *Dipentodon sinicus*. *Chemistry of Natural Compounds*, **43(2)**, 125-126.
- [14] Zengjun Guo, Ying Xu, Ling Han, Xiaoqian Bo, Chen Huang, Lei Ni (2011). Antioxidant and cytotoxic activity of the acetone extracts of root of *Euphorbia hylonoma* and its ellagic acid derivatives. *Journal of Medicinal Plants Research*, **5(23)**, 5584–5589.
- [15] Ru-Feng Wang, Wei-Dong Xie, Zhang Zhang, Dong-Ming, Yi Ding, Wei Wang, Chao Ma, Li-Jun Du (2004). Bioactive compounds from the seeds of *Punica granatum*. *Journal of Natural Products*, **67**, 2096–2098.
- [16] Jensen, P.R., Jenkins, K.M., Porter, D., Fenical, W. (1998). Evidence that a new antibiotic flavone glycoside chemically defends the sea grass *Thalassia testudinum* against zoosporic fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, **64(4)**, 1490–1496.
- [17] Bao, J., Sun, Y.L., Zhang, X.Y., Han, Z., Gao, H.C., He, F., Qian, P.Y., Qi, S.H. (2013). Antifouling and antibacterial polyketides from marine gorgonian coral-associated fungus *Penicillium* sp. SCSGAF 0023. *The Journal of Antibiotics*, **66(4)**, 219–223.
- [18] Xiao Wei Wang, Yu Mao, Nai-Li Wang, Xin Sheng Yao (2008). A new phloroglucinol diglycoside derivative from *Hypericum japonicum* Thunb.. *Molecules*, **13**, 2796–2803.
- [19] Kang, S.S.; Cordell, G.A.; Soejarto, D.D.; Fong, H.H.S. (1985). Alkaloids and flavonoids from *Ricinus communis*. *Journal of Natural Products*, **48**, 155–156, 1985.
- [20] Ramalingam Srinivasan, Devarajan Natarajan, Muthugounder Subramaniam Shivakumar (2015). Antioxidant compound quercetin-3-O- α -L-rhamnoside(1 \rightarrow 6)- β -D-glucose (Rutin) isolated from ethyl acetate leaf extracts of *Memecylon edule* Roxb (Melastamataceae). *Free Radicals and Antioxidants*, **5(1)**, 35-42.
- [21] Anna Baldisserotto, Silvia Vertuani, Alessia Bino, Daniela De Luci, Ilaria Lampronti, Roberta Milani, Roberto Gambari, Stefano Manfredini (2015). Design, synthesis and biological activity of a novel Rutin analogue with improved lipid soluble properties. *Bioorganic & medicinal chemistry*, **23(1)**, 264-271.