

PHÂN LẬP CÁC GERANYL FLAVONOID VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG OXI HÓA CỦA CAO CHIẾT LÁ SA KÊ (ARTOCARPUS ALTILIS)

Đến tòa soạn 27-2-2017

Nguyễn Trọng Tuấn, Mai Văn Hiếu, Lê Thị Bích Tuyền
Bộ môn Hóa học, Khoa Khoa Học Tự Nhiên, Đại học Cần Thơ

SUMMARY

ISOLATION OF GERANYL FLAVONOID AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF BREADFRUIT LEAF EXTRACT (ARTOCARPUS ALTILIS)

Breadfruit is widely cultivated and used as a traditional medical for treating various diseases. From the ethyl acetate extract of breadfruit leaf, three geranyl flavonoid were isolated comprising 2-geranyl-3,4,2',4'-tetrahydroxydihydrochalcone AA1, 1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-[8-hydroxy-2-methyl-2-(4-methyl-3-pentenyl)-2H-1-benzopyran-5-yl]-1-propanone AA2 and (S)-Sophoraflavanone A AA3. The biosynthesized pathway of these isolated compounds were proposed through the key step condensation between geranyl pyrophosphate and flavonoid moiety. The in vitro antioxidant activities revealed both methanol and ethyl acetate extract possessed antioxidant effect and the ethyl acetate extract was the most effective with IC₅₀ value 79.3 and 9.32 µg/mL in comparison to positive control, Vitamin C with IC₅₀ value 4.39 and Trolox 11.80 µg/mL in both DPPH and ABTS methods, respectively.

Keywords: *Artocarpus altilis*, breadfruit, geranyl flavonoid, DPPH, ABTS.

1. MỞ ĐẦU

Sa kê (*Artocarpus altilis*, tiếng Anh: Breadfruit) là một trong khoảng 50 loài thuộc chi *Artocarpus* phân bố chủ yếu ở các vùng nóng ẩm như Đông Nam Á và các đảo ven Thái Bình Dương [1]. Sa kê là một loài cây thân gỗ, quả sa kê có thể ăn được và rất giàu dinh dưỡng. Trong dân gian, lá sa kê được cho là có tác dụng kháng viêm, kháng sinh, lợi tiểu, trị tiêu chảy, cao huyết áp, sỏi

thận, bệnh gout, viêm gan [2]. Các công trình nghiên cứu trên thế giới cho thấy các dịch trích từ sa kê có nhiều hoạt tính sinh học như kéo dài giai đoạn G1 trong chu kì tế bào ở dòng tế bào ung thư vú ở người [3], chống xơ vữa động mạch [4], ức chế hoạt tính enzyme chuyển đổi angiotensin, một enzyme đóng vai trò quan trọng trong điều hòa áp lực máu [5]. Các nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy sa kê có chứa nhiều

triterpene, stibene, chalcone và flavonoid [6-8]. Trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng oxi hóa của các cao chiết từ lá sa kê đã được đánh giá bằng phương pháp sử dụng gốc tự do DPPH, ABTS. Bên cạnh đó, thành phần hóa học cao chiết cũng được khảo sát và đã phân lập được 3 hợp chất thuộc nhóm prenyl flavonoid **AA1-3**.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất và thiết bị

Silica gel sắc ký cột cỡ hạt 0,040 – 0,063 mm và bản mỏng Silicagel 60–F₂₅₄ của hãng Merck, Đức. Các dung môi gồm hexane (H), chloroform (C), ethyl acetate (EA), methanol (Me) từ hãng Chemsol. Phổ NMR được ghi trên máy Bruker Advance 600 MHz. Khối phổ MS được ghi trên máy Bruker microOTOF-Q. Các phân tích này được thực hiện tại Viện Khoa học công nghệ Kyoto, Nhật Bản.

2.2. Nguyên liệu

Mẫu lá cây sa kê được thu hái ở huyện Phong Điền, thành phố Cần Thơ. Mẫu lá cây sau khi thu hái được loại bỏ phần sâu bệnh và phần bị hư, rửa sạch bằng nước, cắt nhỏ rồi sấy khô ở nhiệt độ 60°C đến khối lượng không đổi, rồi nghiền mịn thu được bột lá sa kê khô.

2.3. Phân lập các chất

Bột lá sa kê (5 kg) được cho vào túi vải, cột kín rồi ngâm trong methanol. Sau ít nhất 24h, lọc lấy dịch chiết, cô đuổi dung môi thu được cao chiết methanol. Lặp lại 3 lần thu được khoảng 800 g cao methanol dạng sệt. Tiến hành chiết lỏng – lỏng lần lượt với các dung môi hexane, ethyl acetate rồi cô đuổi dung môi dưới áp suất thấp thu được các cao chiết lần lượt là: hexane (90 g), ethyl acetate (136 g) và nước (75 g). Tiến hành sắc ký cột nhanh cao ethyl acetate với hệ dung môi H:EA (9:1 → 0:10) rồi methanol thu được 9 phân đoạn kí hiệu **E1-9**. Phân đoạn **E6** (23 g) được tiến hành sắc ký cột bằng hệ dung môi H:EA

(9:1 → 0:10) thu được 5 phân đoạn nhỏ kí hiệu **E6.1-5**, Sắc ký cột phân đoạn **E6.2** (7,5 g) thu được hợp chất tinh khiết kí hiệu là **AA1** (230 mg) với hệ dung môi rửa giải cột là H:EA (7:1). Sắc ký cột phân đoạn **E6.3** (4,8 g) nhiều lần kết hợp với sắc ký bản mỏng điều chế thu được hai hợp chất tinh khiết **AA2** (4 mg) và **AA3** (6 mg).

Hợp chất AA1, dạng sáp màu vàng. TLC R_f 0,40 (C:Me = 95:5). HR-ESI-MS: m/z 433,1920 [M+Na]⁺ (tính toán 433,1985).

Hợp chất AA2, dạng sáp màu vàng, ESI-MS: m/z 431 [M+Na]⁺.

Hợp chất AA3, dạng sáp màu vàng nhạt, HR-ESI-MS: m/z 431,1771 [M+Na]⁺ (tính toán 431,1828).

2.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng oxi hóa

2.4.1. Phương pháp DPPH

Thử nghiệm kháng oxi hóa DPPH được tiến hành theo phương pháp của Sharma và cộng sự (2009) có thay đổi [9]. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách cho 100 µL dung dịch gốc DPPH vào 900 µL dung dịch cao chiết được pha trong methanol sao cho nồng độ sau cùng của DPPH là 100 µM và của cao chiết là từ 0-500 µg/mL. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, sau đó tiến hành đo mật độ quang ở bước sóng 517 nm. Vitamin C được dùng làm đối chứng dương trong thử nghiệm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và kết quả được biểu diễn bằng giá trị IC₅₀ µg/mL.

2.4.2. Phương pháp ABTS⁺

Thử nghiệm kháng oxi hóa ABTS⁺ được tiến hành theo phương pháp của Nenadis và cộng sự (2009) [10]. Dung dịch gốc tự do ABTS⁺ được chuẩn bị bằng cách cho dung dịch ABTS nồng độ 7 mM vào dung dịch K₂S₂O₈ nồng độ 2.45 mM với thể tích bằng nhau rồi ủ dung dịch ở bóng tối trong 16 h, sau

đó pha loãng bằng ethanol rồi điều chỉnh độ hấp thu của dung dịch ở bước sóng 734 nm đến 0.7 ± 0.05 . Dung dịch này được dùng cho thử nghiệm. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách thêm 10 μL mẫu thử vào 990 μL dung dịch gốc tự do ABTS^{•+} và ủ ở nhiệt độ phòng (khoảng 30°C) trong 6 phút. Độ hấp thu được đo ở 734 nm. Đối chứng dương được sử dụng trong thử nghiệm là Trolox với nồng độ sau cùng là 0-15 $\mu\text{g/mL}$. Thử nghiệm được lặp lại 3 lần và kết quả được biểu diễn bằng giá trị IC₅₀ $\mu\text{g/mL}$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thành phần hóa học

Từ cao chiết chloroform, bằng các kỹ thuật sắc ký cột và sắc ký bản mỏng điều chế đã phân lập được 3 hợp chất tinh khiết. Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định bằng các phương pháp phổ 1D và 2D-NMR, khối phổ độ phân giải cao HR-ESI-MS.

Hợp chất **AA1** là chất rắn dạng sáp, màu vàng. Phổ HR-ESI-MS tìm thấy mũi ion giả phân tử m/z 433,1920 [M+Na]⁺, tính toán cho C₂₅H₃₀O₅Na: 433,1985, suy ra công thức phân tử là C₂₅H₃₀O₅. Phổ ¹H-NMR (600 MHz) δ ppm cho thấy có một tín hiệu proton kèm nối δ 12,79 (1H, *s*); các mũi cộng hưởng ở δ 7,6 (1H; *d*; 9Hz); 6,39 (1H; *d*; 2,4Hz) và 6,35 (1H; *dd*; 2,4Hz) đặc trưng cho hệ spin ABX của các proton vòng thơm. Các tín hiệu ở δ 6,72 (1H; *d*; 8,4 Hz) và 6,68 (1H, *d*, 7,8 Hz) thuộc về một cặp proton ở vị trí *ortho* của một vòng benzene khác. Một cặp proton khác ở δ 3,10 (2H; *t*; 7,2 Hz) và 2,98 (2H, *t*, 7,2 Hz) thuộc về 2 nhóm methylene nằm kề nhau >CH₂-CH₂<. Các tín hiệu proton còn lại bao gồm 2 proton alkenyl =CH- tại δ 5,18 (1H, *t*, 6,6Hz); 5,03 (1H, *t*, 6Hz); 3 nhóm proton methylene -CH₂- tại δ 3,41 (2H;

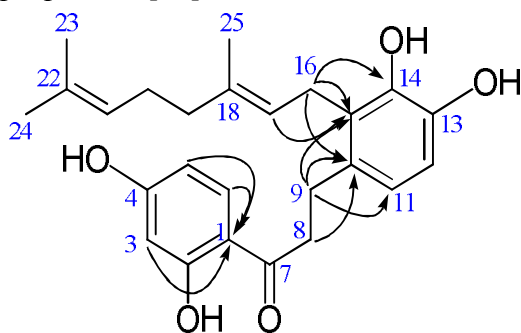
d; 6,6 Hz); 2,09 (2H; *t*; 7,2 Hz) và 2,06 (2H, *t*, 6,6 Hz) cùng với 3 nhóm methyl -CH₃ ở δ 1,79 (3H; *s*); 1,66 (3H; *s*) và 1,58 (3H; *s*) là các proton đặc trưng cho nhóm geranyl. Phổ ¹³C-NMR (150 MHz) kết hợp với phổ DEPT δ ppm cho thấy sự hiện diện của một nhóm ketone δ 203,9; bốn carbon vòng thơm kiểu >C-OH lần lượt tại δ 165,2; 162,7; 142,8 và 142,5; bảy carbon methine δ 132,3; 123,7; 121,7; 121,5; 112,9; 103,5 và 107,8; năm nhóm proton methylene δ 39,7; 39,6; 27,8; 26,3 và 25,9; ba nhóm proton methyl δ 25,7; 17,7 và 16,3. Phổ 2 chiều HSQC kết hợp với HMBC cho thấy tương tác của H8→C10 và H9→C10,11,15 cùng với các tương tác H3,5,6→C1 cho phép xác nhận sự hiện diện của khung sườn dihydrochalcone. Hơn thế nữa, các tương tác của H16→C10,14,15 và H17→C15 cho phép quy kết vị trí của nhánh geranyl là ở C15. Từ những dữ kiện thực nghiệm thu được kết hợp so sánh đối chiếu với tài liệu tham khảo, hợp chất **AA1** được xác định là 2-geranyl-3,4,2',4'-

tetrahydroxydihydrochalcone [11].

Hợp chất **AA2** là chất rắn dạng sáp, màu vàng. ESI-MS tìm thấy mũi ion giả phân tử m/z 431,1 [M+Na]⁺ tính toán cho C₂₅H₂₈O₅Na. Phổ ¹H-NMR (600 MHz) δ ppm tương tự như hợp chất **AA1** với một tín hiệu proton kèm nối ở δ 12,75 (1H; *s*); năm tín hiệu proton vòng thơm bao gồm δ 7,57 (1H; *d*; 9,0 Hz); 6,37 (1H; *d*; 2,4 Hz); 6,34 (1H; *dd*; 9,0 và 2,4 Hz); 6,73 (1H; *d*; 8,4 Hz); 6,62 (1H; *d*; 7,8 Hz); và hai tín hiệu proton methylene δ 3,11 (2H; *t*; 7,8 Hz); 2,99 (2H; *t*; 7,6 Hz). Tất cả các tín hiệu này cho phép xác nhận sự có mặt của cấu trúc khung tetrahydroxy dihydrochalcone tương tự như **AA1**. Ngoài ra, phổ proton còn cho thấy các

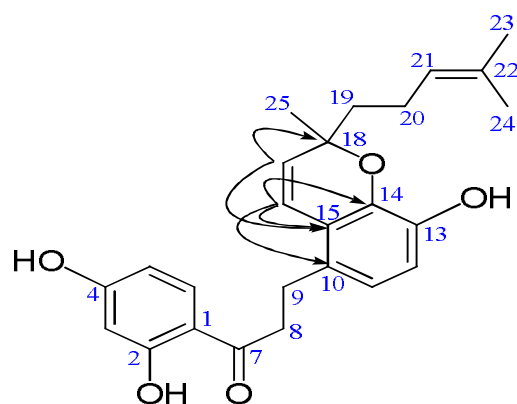
tín hiệu của 3 nhóm proton alkenyl δ 5,09 (1H; *tm*; 6,6 Hz) bao gồm một cặp proton ghép *cis* δ 6,55 (1H; *d*; 10,2 Hz); 5,64 (1H; *d*; 10,2 Hz); hai nhóm methylene δ 2,11 (2H; *m*) và 1,71 (2H; *m*) và 3 nhóm methyl δ 1,67 (3H; *s*); 1,57 (3H; *s*) và 1,40 (3H; *s*). Phổ ^{13}C -NMR (150 MHz), DEPT kết hợp cùng với HSQC cho thấy ngoài các tín hiệu đặc trưng của 15 carbon của cấu trúc khung tetrahydroxydihydrochalcone còn có các tín hiệu của 3 carbon alkenyl nhất cấp δ 130,1; 123,9 và 119,4, một carbon alkenyl tứ cấp δ 132,0; hai nhóm methylene δ 40,8 và 22,8; ba nhóm methyl δ 26,1; 25,7; 17,7 và còn lại là một carbon tứ cấp δ 78,8 thuộc loại $>\text{C}=\text{O}$. Phổ HMBC cho thấy tương quan của $\text{H16} \rightarrow \text{C10,14,15}$ và $\text{H17} \rightarrow \text{C15,18}$ [Hình 1. Các tương tác HBMC quan trọng của AA1 và AA2

] cho thấy nhánh geranyl ở AA1 đã kết hợp với nhóm $-\text{OH}$ của C14 hình thành nên vòng chromene. Từ những dữ kiện thực nghiệm kết hợp với tài liệu đã công bố cho phép xác nhận hợp chất AA2 là 1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-[8-hydroxy-2-methyl-2-(4-methyl-3-pentenyl)-2H-1-benzopyran-5-yl]-1-propanone [11].



HMBC: $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$

AA1

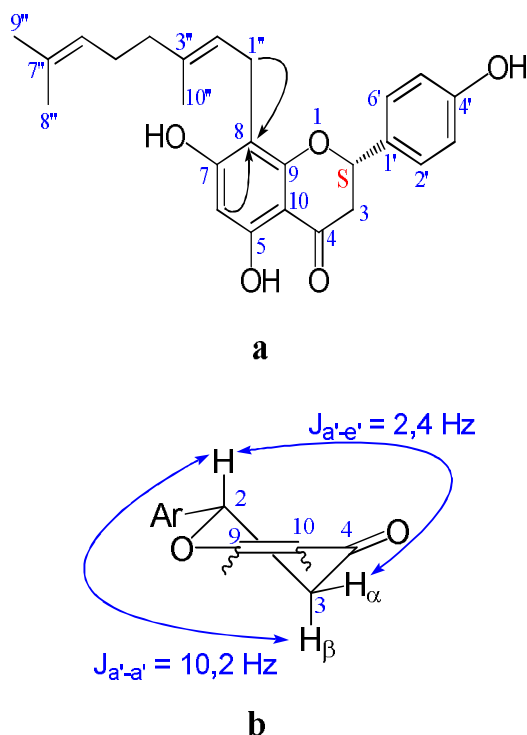


AA2

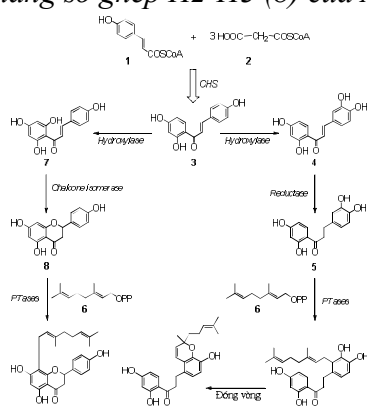
Hình 1. Các tương tác HBMC quan trọng của AA1 và AA2

Hợp chất **AA3** là chất rắn dạng sáp, màu vàng. HR-ESI-MS tìm thấy mũi ion giả phân tử m/z 431,1771 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ tính toán cho $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_5\text{Na}$: 431,1828. Phổ ^1H -NMR (600 MHz) δ ppm có một tín hiệu proton kèm nối δ 11,99 (1H, *s*); một cặp tín hiệu ở δ 7,32 (2H; *dd*; 9Hz) và 6,88 (2H; *dd*; 8,4Hz) được quy cho 4 proton của vòng benzene mang hai nhóm thế ở vị trí *para* và các tín hiệu đặc trưng của một nhánh geranyl tương tự như AA1. Phổ ^{13}C -NMR (150 MHz) kết hợp với phổ DEPT δ ppm cho thấy tổng cộng 23 tín hiệu bao gồm 10C của nhánh geranyl, 13 tín hiệu còn lại bao gồm một carbon ketone δ 196,5; bốn carbon vòng thơm mang oxy tại δ 164,0; 162,3; 159,7 và 155,9; ba tín hiệu carbon methine vòng thơm δ 127,8; 115,6 và 97,0; một tín hiệu carbon nhị cấp δ 43,2 và một tín hiệu carbon nhất cấp khác ở δ 78,8. Các tín hiệu này đặc trưng cho cấu trúc khung flavanone. Cấu hình lập thể ở vị trí C2 được xác định thông qua hằng số ghép H2-H3 , tương tác trực-trực $\text{H2-H3}\beta$ với $J = 10,2$ Hz và tương tác trực-xích đạo $\text{H2-H3}\alpha$ với $J = 2,4$ Hz cho phép xác nhận H2 nằm ở vị trí trục và cấu hình

tuyệt đối của C2 là *S* [Hình b]. Vị trí của nhóm geranyl được xác định thông qua phổ HMBC với tương quan $H1'' \rightarrow C8$. So sánh đối chiếu với tài liệu đã công bố, hợp chất AA3 được nhận danh là *8-geranyl-5,7,4'-(S)-trihydroxyflavanone* hay *(S)-SophoraflavanoneA* [12].



Hình 2. Các tương quan HMBC quan trọng (a) và hằng số ghép H2-H3 (b) của AA3



Hình 3. Con đường sinh tổng hợp các chất AA1-3

Geranyl flavonoid là dẫn xuất của các flavonoid với geranyl (10C) đóng nhiều vai trò sinh học khác hẳn với các flavonoid thông thường. Con đường sinh tổng hợp của chúng có thể chia làm hai giai đoạn là sinh tổng hợp flavonoid và geranyl hóa các flavonoid dưới sự xúc tác của enzyme aromatic prenyltransferase hay PTase [13]. Tiền chất để tổng hợp nên hầu hết các flavonoid là malonyl-CoA 2 và p-coumaroyl-CoA 1 xuất phát từ quá trình chuyển hóa của carbohydrate và từ con đường chuyển hóa phenylpropanoid. Quá trình sinh tổng hợp các geranyl flavonoid AA1-3 được đề nghị như [Hình] dưới tác dụng của một loạt enzyme oxy hóa – khử, hợp chất AA1 hình thành rồi tiếp tục vòng hóa thành AA2. Con đường hình thành AA3 cũng tương tự AA1 nhưng khác nhau ở chỗ chalcone 7 trải qua quá trình vòng hóa hình thành khung flavanone trước khi kết hợp cùng GPP 6 dưới tác dụng của chalcone isomerase [14].

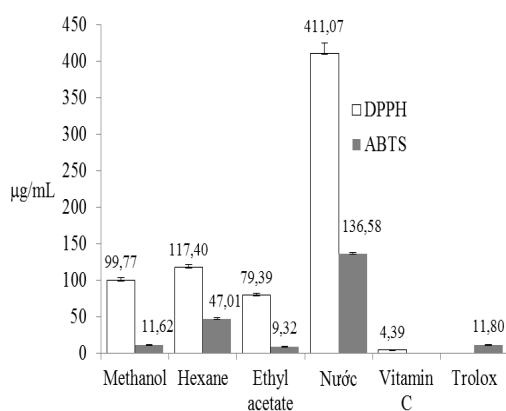
3.2. Kết quả hoạt tính kháng oxi hóa

Hoạt tính kháng oxi hóa *in vitro* của các cao chiết lá sa kê được đánh giá bằng hai phương pháp DPPH và ABTS. Trong cả 2 phương pháp [Bảng 1] và [

Hình 1], cao ethyl acetate đều thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa mạnh nhất với IC_{50} 79,39 μ g/mL trong phương pháp DPPH và 9,32 μ g/mL trong phương pháp ABTS, mạnh hơn so với đối chứng dương Trolox 11,80 μ g/mL. Ngoài ra, cao methanol cũng thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa với IC_{50} 99,77 và 11,62 lần lượt cho cả 2 phương pháp. Trái lại, các cao hexane và nước cho hoạt tính kháng oxi hóa yếu hoặc không thể hiện.

Hoạt tính kháng oxi hóa của các cao chiết trong cả hai phương pháp khá tương đồng theo thứ tự: ethyl acetate > methanol > hexane > nước. Điều này được giải thích là do cả DPPH và ABTS đều là những gốc tự do [15] nên cơ chế gây nên hoạt tính kháng oxi hóa đều là cơ chế làm sạch gốc tự do. Cao ethyl acetate có hoạt tính kháng oxi hóa cao nhất phù hợp với kết quả khảo sát thành phần hóa học khi xác định được sự hiện diện của 3 hợp chất thuộc nhóm geranyl flavonoid trong đó khung sườn flavonoid vốn được biết đến là những chất có hoạt tính kháng oxi hóa mạnh [16]. Bên cạnh đó, các nghiên cứu trước đây về thành phần hóa học của sa kê cũng cho thấy các geranyl- hay prenyl flavonoid đều thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa mạnh [17]. Bảng 1. Kết quả hoạt tính kháng oxi hóa của các cao chiết lá sa kê.

Cao chiết	IC ₅₀ (µg/mL)	
	DPPH	ABTS
Methanol	99,77 ± 3,50	11,62 ± 0,26
Hexane	117,40 ± 4,25	47,01 ± 1,49
Ethyl acetate	79,39 ± 2,42	9,32 ± 0,20
Nước	411,07 ± 14,50	136,58 ± 1,34
Đối chứng		
dương		
Vitamin C	4,39 ± 0,12	-
Trolox	-	11,80 ± 0,07



Hình 1. Khả năng kháng oxi hóa của các cao chiết lá sa kê

4. KẾT LUẬN

Từ cao chiết ethyl acetate của lá sa kê đã phân lập và xác định cấu trúc của 3 hợp chất thuộc loại geranyl flavonoid. Con đường sinh tổng hợp của các hợp chất **AA1-3** được đề nghị với chìa khóa là phản ứng ngưng tụ giữa geranyl pyrophosphate và flavonoid. Kết quả đánh giá hoạt tính kháng oxi hóa *in vitro* cho thấy cả 2 cao chiết methanol và ethyl acetate đều cho hiệu quả kháng oxi hóa, trong đó cao ethyl acetate có hiệu quả kháng oxi hóa tốt nhất với IC₅₀ 79.3 và 9.32 (µg/mL) so với chất đối chứng dương Vitamin C IC₅₀ 4.39 và 11.80 µg/mL tương ứng lần lượt với hai phương pháp DPPH và ABTS. Thứ tự khả năng kháng oxi hóa của các cao chiết lần lượt là ethyl acetate > methanol > hexane > nước.

LỜI CẢM Ạ

Tác giả xin chân thành cảm ơn GS. Kaeko Kamei, GS. Kenji Kanaori, Viện Công Nghệ Kyoto đã giúp đỡ đo phổ NMR và xác định cấu trúc hóa học các hợp chất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Purselove, J. W. (1968) *Tropical crops. Dicotyledons 1 and 2. Tropical crops. Dicotyledons 1 and 2.*
- Hiếu, B. C. (1999) *Dược lý trị liệu thuốc nam.* Nhà xuất bản Trẻ.
- Arung, E. T. *et al.* (2009) *Anti-cancer properties of diethylether extract of wood from sukun (Artocarpus altilis) in human breast cancer (T47D) cells. Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 8.
- Wang, Y., Deng, T., Lin, L., Pan, Y. & Zheng, X. (2006) *Bioassay-guided isolation of antiatherosclerotic phytochemicals from Artocarpus altilis. Phytotherapy Research* 20, 1052-1055.
- Siddesha, J. M., Angaswamy, N. & Vishwanath, B. S. (2011) *Phytochemical screening and evaluation*

of *in vitro* angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of *Artocarpus altilis* leaf. *Natural product research* 25, 1931-1940.

6 Altman, L. J. & Zito, S. W. (1976) Sterols and triterpenes from the fruit of *Artocarpus altilis*. *Phytochemistry* 15, 829-830.

7 Wang, Y., Xu, K., Lin, L., Pan, Y. & Zheng, X. (2007) Geranyl flavonoids from the leaves of *Artocarpus altilis*. *Phytochemistry* 68, 1300-1306.

8 Amarasinghe, N. R., Jayasinghe, L., Hara, N. & Fujimoto, Y. (2008) Chemical constituents of the fruits of *Artocarpus altilis*. *Biochemical Systematics and Ecology* 36, 323-325.

9 Sharma, O. P. & Bhat, T. K. (2009) DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry* 113, 1202-1205.

10 Nenadis, N., Wang, L.-F., Tsimidou, M. & Zhang, H.-Y. (2004) Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS+ assay. *Journal of agricultural and food chemistry* 52, 4669-4674.

11 McLean, S., Reynolds, W. F., Tinto, W. F., Chan, W. R. & Shepherd, V. (1996) Complete ^{13}C and ^1H spectral assignments of prenylated flavonoids and a hydroxy fatty acid from the leaves of Caribbean *Artocarpus communis*.

Magnetic resonance in chemistry 34, 719-722.

12 Wang, Y., Tan, W., Li, W. Z. & Li, Y. (2001) A facile synthetic approach to prenylated flavanones: First total syntheses of ($\pm$)-bonannione A and ($\pm$)-sophoraflavanone A. *Journal of natural products* 64, 196-199.

13 Kuzuyama, T., Noel, J. P. & Richard, S. B. (2005) Structural basis for the promiscuous biosynthetic prenylation of aromatic natural products. *Nature* 435, 983-987.

14 Schijlen, E. G., De Vos, C. R., van Tunen, A. J. & Bovy, A. G. (2004) Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants. *Phytochemistry* 65, 2631-2648.

15 Liu, Z.-Q. (2010) Chemical methods to evaluate antioxidant ability. *Chemical reviews* 110, 5675-5691.

16 Borges Bubols, G. *et al.* (2013) The antioxidant activity of coumarins and flavonoids. *Mini reviews in medicinal chemistry* 13, 318-334.

17 Lan, W.-C., Tzeng, C.-W., Lin, C.-C., Yen, F.-L. & Ko, H.-H. (2013) Prenylated flavonoids from *Artocarpus altilis*: antioxidant activities and inhibitory effects on melanin production. *Phytochemistry* 89, 78-88.