

## Senyawa Isoflavonoid dari Akar Gitaan (*Willughbeia coriacea* Wall.)

Jamarlia Aprenesya, Puji Ardiningsih, dan Rudiyanasyah\*

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura Pontianak, Indonesia

Corresponding Author:  
Rudiyanasyah  
rudiyanasyah@chemistry.untan.a  
c.id

Received: February 2024  
Accepted: March 2024  
Published: March 2024

©Rudiyanasyah et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

### Abstract

Gitaan (*Willughbeia coriacea* Wall.) is an endemic plant that grows wild in the forests of Kalimantan. Traditionally, parts of this plant have been applied for folk-lore medication in Dayak tribe. However, scarce information both for secondary metabolites and biological activities of this plant has been reported, especially for flavonoids. This research was conducted to determine structure of flavonoid from ethyl acetate fraction of gitaan roots by spectroscopy analysis. The ethyl acetate fraction was purified by several chromatography techniques in order to isolate compound **1**. On the basis of NMR analysis including DART-HRMS data and comparison with literature, an isoflavonoid obtained from the ethyl acetate fraction of gitaan roots is formononetin.

**Keywords:** *Willughbeia coriacea* Wall, Apocynaceae, formononetin, isoflavonoid

### Pendahuluan

Gitaan (*Willughbeia coriacea* Wall.) merupakan tumbuhan endemik dari famili Apocynaceae yang tumbuh liar di hutan Kalimantan. Gitaan telah lama dikenal masyarakat Kalimantan melalui rasa buahnya yang manis asam seperti manggis bercampur susu, sehingga memberikan sensasi yang khas dan enak untuk dikonsumsi. Gitaan juga dimanfaatkan oleh masyarakat di Kalimantan sebagai obat tradisional. Masyarakat suku Dayak Iban, desa sungai Mawang, Kalimantan Barat memanfaatkan tumbuhan gitaan sebagai obat panas dalam dengan cara meminum air rebusan batangnya<sup>[1]</sup>.

Beberapa senyawa dari golongan fenolik pada tumbuhan famili Apocynaceae yang telah dilaporkan diantaranya adalah kumarin<sup>[2]</sup>,

flavonoid<sup>[3]</sup>, dan lignan<sup>[4]</sup>. Senyawa flavonoid kalikosin, formononetin, dan farnisin telah diisolasi dari akar tumbuhan *Tabernaemontana divaricate*<sup>[5]</sup>. Dari famili yang sama, senyawa proantosianidin ditemukan dari batang tumbuhan *Ecdysanthera utilis*<sup>[6]</sup>, antosianin diisolasi dari bunga *Plumeria rubra*<sup>[7]</sup>, flavonoid glikosida telah diidentifikasi dari beberapa tumbuhan genus *Pergularia*, *Gomphocarpus*, dan *Calotropis*<sup>[8]</sup>, dan senyawa isoflavonoid dikarakterisasi dari tumbuhan *Trachelospermum jasminoides*<sup>[9]</sup>. Sementara itu dari genus *Willughbeia*, senyawa golongan alkaloid, fenolik, flavonoid, dan terpenoid telah diketahui<sup>[10]</sup>. Senyawa golongan fenolik seperti lignan dan kumarin dari kulit batang dan akar tumbuhan *W. coriacea* telah berhasil diisolasi dan ditentukan strukturnya<sup>[11],[12]</sup>. Edwinder (2022) melaporkan golongan metabolit sekunder dari ekstrak dan fraksi-fraksi akar

gitaan (*W. coriacea*) yaitu senyawa flavonoid, fenolik, dan alkaloid. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode *2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) terhadap ekstrak serta fraksi-fraksi akar gitaan juga telah dilakukan dimana fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai  $IC_{50}$  57,25 ppm<sup>[13]</sup>. Pada penelitian terkini, senyawa isoflavonoid formononetin (1) dari akar tumbuhan gitaan telah berhasil ditemukan dan ditentukan strukturnya menggunakan spektrometer *Nuclear Magnetic Resonance Proton* (<sup>1</sup>H-NMR) dan spektrometer massa (SM).

## Metodologi Penelitian

### Bahan Kimia

Fraksi etil asetat akar gitaan (19,30 gram), etil asetat (CH<sub>3</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>), metanol (CH<sub>3</sub>OH), *n*-heksana (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>), asam klorida (HCl), serbuk logam Mg, kertas saring, plat alumunium silika gel 60 F<sub>254</sub> Merck, silika gel 60 (0,2-0,5 mm, Merck), silika gel 60 G (Merck), dan silika gel 60 (230-400 mesh, Merck).

### Peralatan

Alat instrumentasi yang digunakan yaitu Kolom gelas kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom gravitasi (KKG), lampu UV 254/366 nm UVP UVGL-55 *Analytik Jena*, neraca analitik *Ohaus Pioneer PX 224/E*, spektrometer NMR Bruker Avance III HD600 dengan *prodigy liquid nitrogen cryoprobe*, dan DART spektrometer massa *exactive plus orbitrap*.

## Prosedur penelitian

### Fraksinasi dan Pemurnian dengan Metode Kromatografi

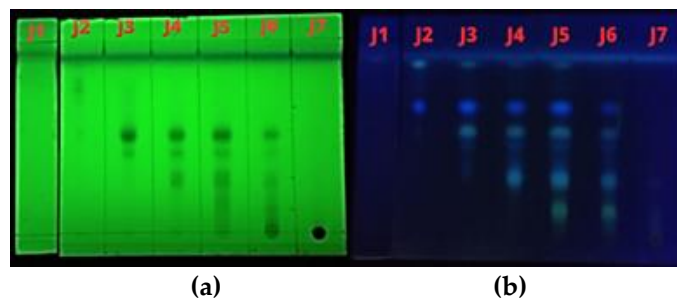
Fraksi etil asetat yang telah diimpregnasi pada silika gel 60 (0,2-0,5 mm) dimasukkan ke kolom gelas KCV (diameter 6 cm) yang telah berisi fase diam silika gel 60 G. Proses elusi dilakukan menggunakan fase gerak bergradien dimulai dengan *n*-heksana 100%, *n*-heksana:etil asetat (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9), etil asetat 100%, dan diakhiri dengan metanol 100%, sehingga dihasilkan 7 fraksi (J1-J7). Masing-masing fraksi ditimbang dan dianalisis KLT menggunakan eluen *n*-heksana:etil asetat (1:1).

Fraksi J4 (0,54 g) diimpregnasikan pada silika gel 60 (0,2-0,5 mm), lalu dimasukkan ke dalam kolom gelas KKG (diameter 2 cm) dengan fase diam silika gel 60 (230-400 mesh). Eluen sistem bergradien yang digunakan yaitu *n*-heksana 100%, *n*-heksana:etil asetat (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1, 4:6), dan etil asetat 100%, sehingga diperoleh 13 fraksi (J4A-J4M). Semua fraksi ditimbang dan dianalisis KLT menggunakan eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3). Fraksi J4G (16,8 mg) diuji flavonoid menggunakan serbuk logam Mg dan 2 tetes HCl pekat. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna spesifik sampel uji<sup>[14]</sup>. Fraksi J4G dimurnikan lebih lanjut dengan KLT preparatif (KLT-P) menggunakan plat alumunium silika gel 60 F<sub>254</sub> (20 × 20 cm). Elusi dilakukan 3 kali menggunakan fase gerak *n*-heksana:etil asetat (8:2). Pola pemisahan dideteksi dengan sinar lampu UV 254 nm dan UV 366 nm yang menunjukkan adanya 2 pita nada. Pita nada ditandai dengan pensil dan digerus. Silika yang mengandung isolat diekstraksi dengan etil asetat kemudian larutan isolat disaring. Filtrat yang mengandung isolat dikeringkan dan ditimbang. Uji kemurnian terhadap isolat murni dilakukan menggunakan plat alumunium KLT dengan 2 variasi eluen, yaitu *n*-heksana:etil asetat (7:3) dan diklorometana:etil asetat (1:1).

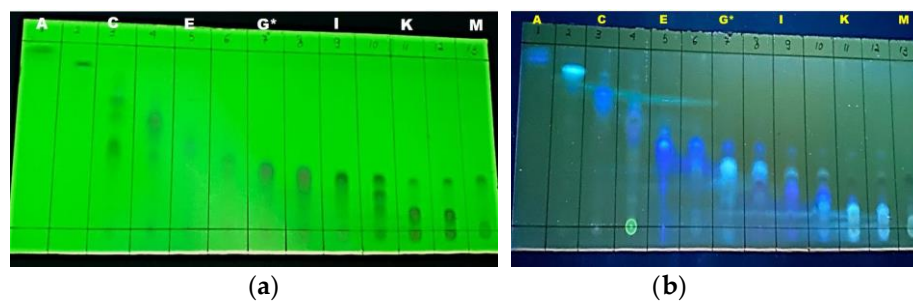
## Hasil dan Diskusi

Fraksinasi terhadap fraksi etil asetat akar gitaan menggunakan KCV menghasilkan 7 fraksi (J1-J7). Analisis menggunakan KLT dilakukan untuk melihat kompleksitas senyawa setiap fraksi (Gambar 1).

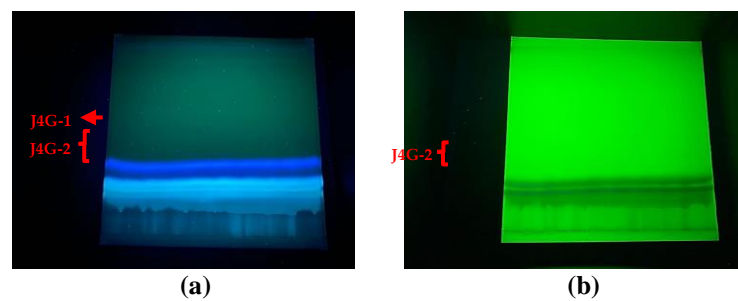
Fraksi J4 difraksinasi lebih lanjut menggunakan metode KKG menghasilkan 13 fraksi (J4A-J4M). Profil kromatogram semua fraksi dianalisis KLT menggunakan eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) seperti ditunjukkan oleh Gambar 2. Fraksi J4G yang positif mengandung senyawa flavonoid berdasarkan uji fitokimia dipilih untuk dimurnikan dengan menggunakan metode KLT-P.



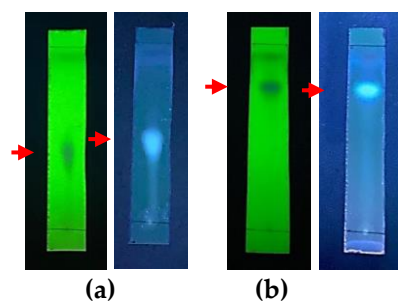
**Gambar 1.** Kromatogram fraksi J1-J7 dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (1:1) dan dideteksi di bawah sinar lampu UV 254 nm (a) dan UV 366 nm (b)



**Gambar 2.** Kromatogram fraksi J4A-J4M dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) yang dideteksi di bawah sinar lampu UV 254 nm (a) dan UV 366 nm (b)



**Gambar 3.** KLT preparatif fraksi J4G dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (8:2) yang dideteksi di bawah sinar lampu UV 366 nm (a) dan UV 254 nm (b)



**Gambar 4.** Uji kemurnian isolat J4G-2 dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) (a) dan diklorometana:etil asetat (1:1) (b), dideteksi di bawah sinar lampu UV 254 nm dan UV 366 nm

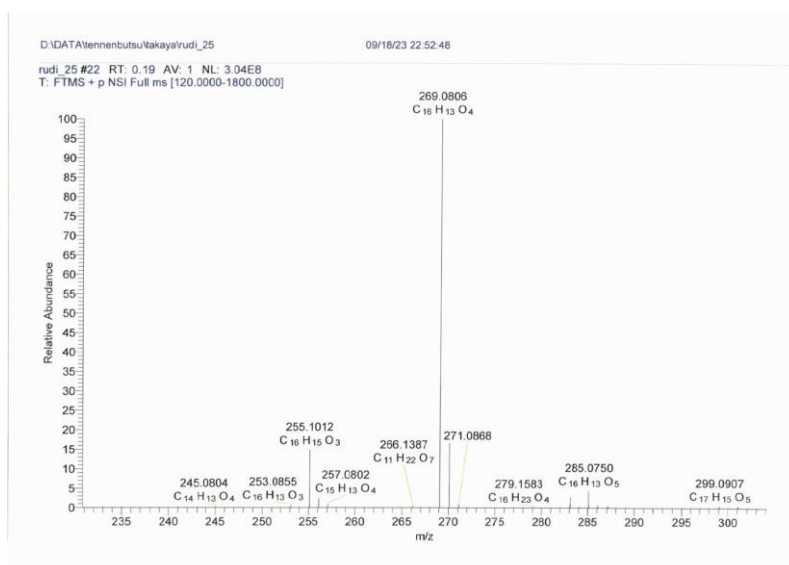
KLT-P dilakukan untuk mengisolasi senyawa tunggal pada fraksi J4G. Hasil KLT-P terhadap fraksi J4G (Gambar 3) menunjukkan 2 pita noda yang berpendar di bawah sinar lampu UV 366 nm, yaitu J4G-1 dan J4G-2. Masing-masing pita noda dikerok dan pisahkan dari plat KLT-P, dilarutkan dalam etil asetat, dan disaring. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa isolat J4G-2 positif senyawa golongan flavonoid.

Hasil uji kemurnian isolat J4G-2 menggunakan KLT (Gambar 4) menunjukkan noda tunggal di bawah sinar lampu UV 254 nm dan 366 nm dengan Rf 0,45 (eluen *n*-heksana:etil asetat 7:3) dan 0,77 (diklorometana:etil asetat 1:1) yang mengindikasikan bahwa isolat J4G-2 yang berwujud padatan berwarna kuning sebanyak 5 mg telah murni.

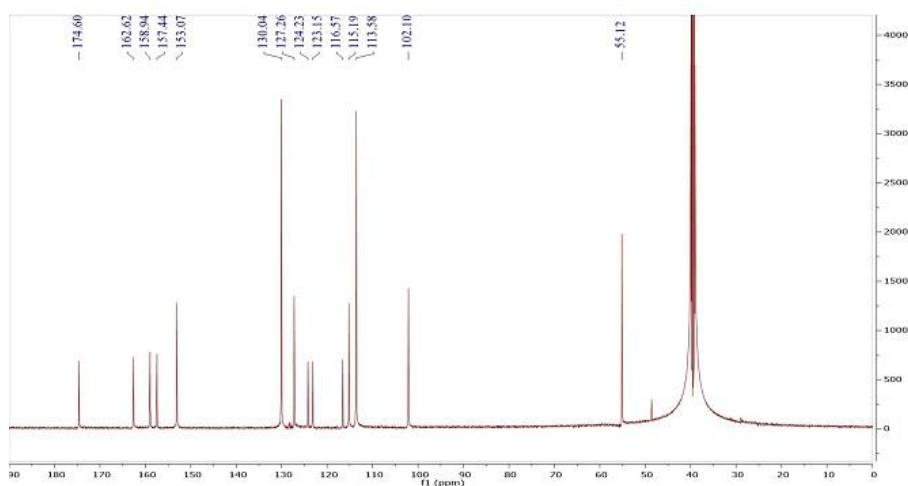
**Senyawa 1**, diperoleh dalam bentuk padatan kuning. Rumus molekul senyawa **1** adalah  $C_{15}H_{12}O_4$  diperoleh dari data spektrum DART-HRMS pada puncak ion molekul  $m/z$  269.0806  $[M+H]^+$  (Gambar 5) yang secara perhitungan sebanding dengan  $C_{15}H_{13}O_4$  dan  $m/z$  269,0814;  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 8,31 (1H, *s*, H-2), 7,97 (1H, *d*,  $J = 8.7$  Hz, H-5), 7,50 dan 6,97 (masing-masing 2H, *d*,  $J = 8,8$  Hz, H-2'/H-6' dan H-3'/H-5'), 6,94 (1H, *dd*,  $J = 8,7$  dan 2,2 Hz, H-6), 6,86 (1H, *d*,  $J = 2,2$  Hz, H-8), dan 3,78 (3H, *s*) yang karakteristik untuk gugus metoksi (OMe).

Spektrum  $^{13}C$  NMR senyawa **1** (Gambar 6) menampilkan 14 sinyal untuk 16 atom karbon, yang terdiri dari satu karbon karbonil terkonjugasi ( $\delta_c$  174,6 ppm), 14 karbon- $sp^2$ , dan 1 karbon- $sp^3$  ( $\delta_c$  55,1 ppm) yang spesifik untuk gugus metoksi (OMe). Spektrum DEPT-135 (Gambar 7) dan HSQC (Gambar 8) memperlihatkan adanya 7 sinyal untuk 8 karbon-metin aromatik pada  $\delta_c$  153,1 (CH), 130,0 (2CH), 127,3 (CH), 115,2 (CH), 113,6 (2CH), 102,1 (CH) dan 1 karbon- $sp^3$  pada  $\delta_c$  55,1 ppm (OCH<sub>3</sub>). Berdasarkan hasil uji fitokimia terhadap isolat murni serta memperhatikan jenis-jenis karbon, maka dapat disarankan bahwa senyawa **1** adalah suatu senyawa flavonoid yang mengandung satu gugus hidroksil dan satu gugus metoksi. Unit-unit struktur yang terdapat pada senyawa **1** selanjutnya diidentifikasi lebih lanjut berdasarkan sinyal-sinyal proton pada data spektrum  $^1H$  NMR (Tabel 1) serta data spektrum NMR 2 dimensi (COSY, HSQC, HMBC, dan NOESY).

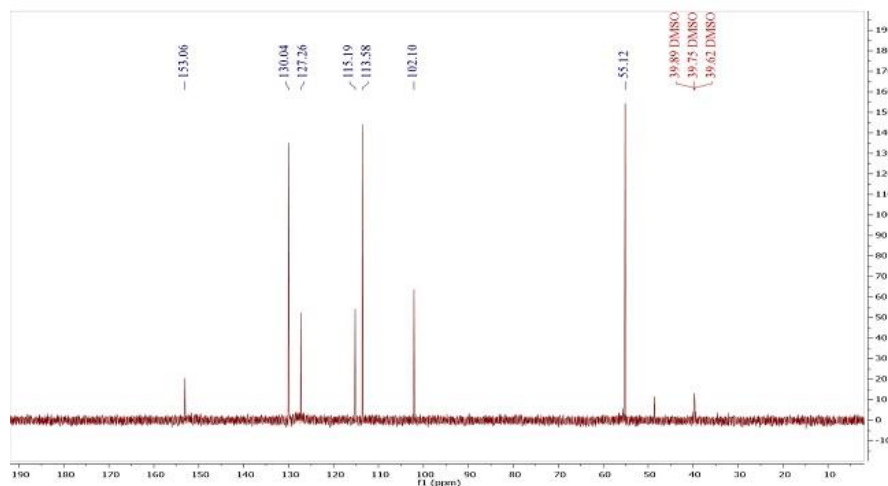
Spektrum  $^1H$  NMR senyawa **1** (Gambar 9) yang memperlihatkan sinyal yang khas pada  $\delta_H$  8,31 ppm sebagai singlet dan spektrum  $^{13}C$  NMR yang menampilkan sinyal karbon olefin teroksidasi pada  $\delta_c$  153,1 ppm dan 174,6 ppm mengindikasikan bahwa senyawa flavonoid yang diperoleh memiliki kerangka struktur isoflavonoid<sup>[15],[16]</sup>.



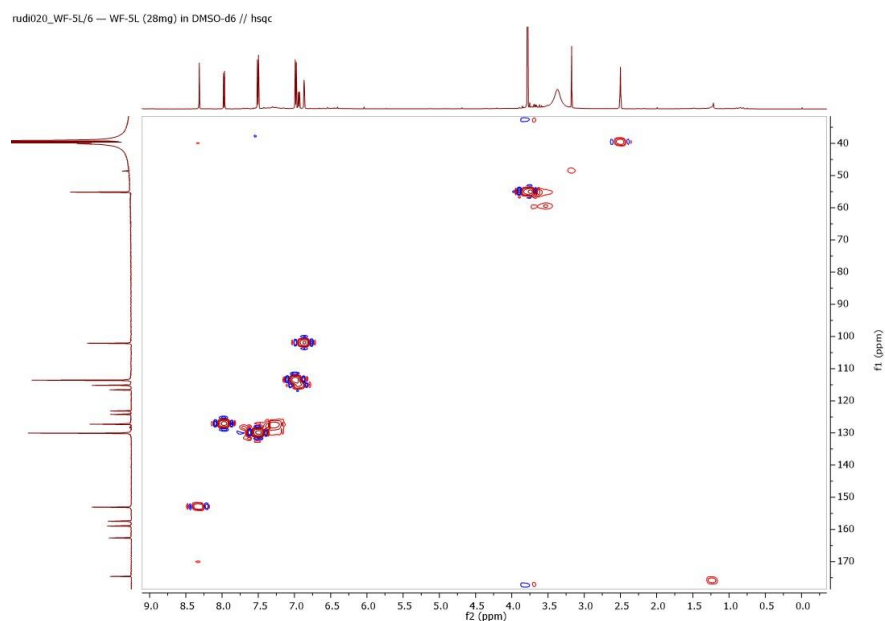
Gambar 5. Spektrum DART-HRMS senyawa formononetin (**1**)



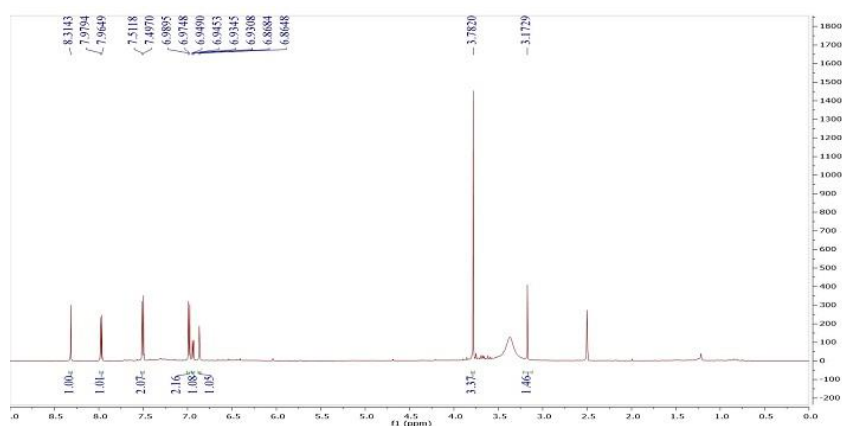
Gambar 6. Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR senyawa formononetin (1)



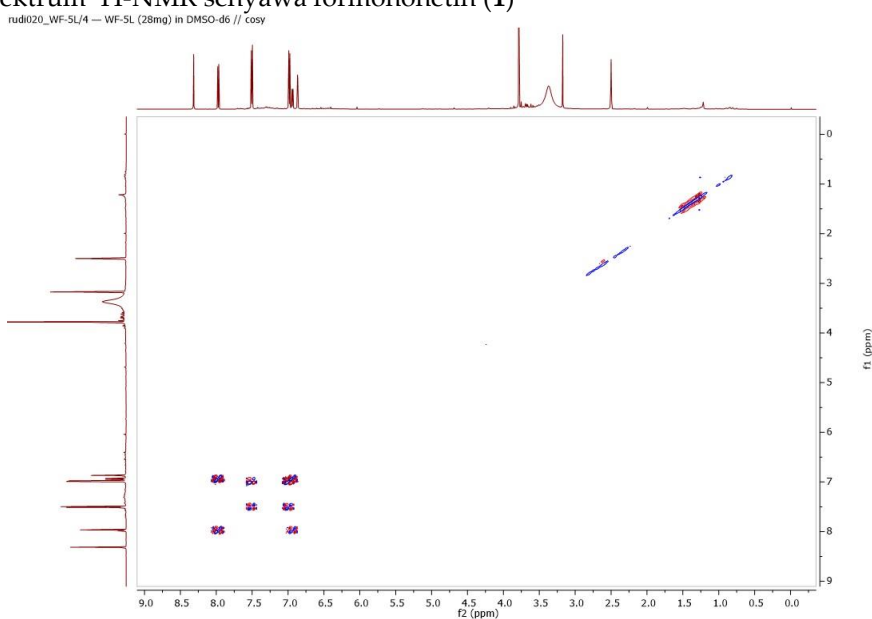
Gambar 7. Spektrum DEPT-135-NMR senyawa formononetin (1)



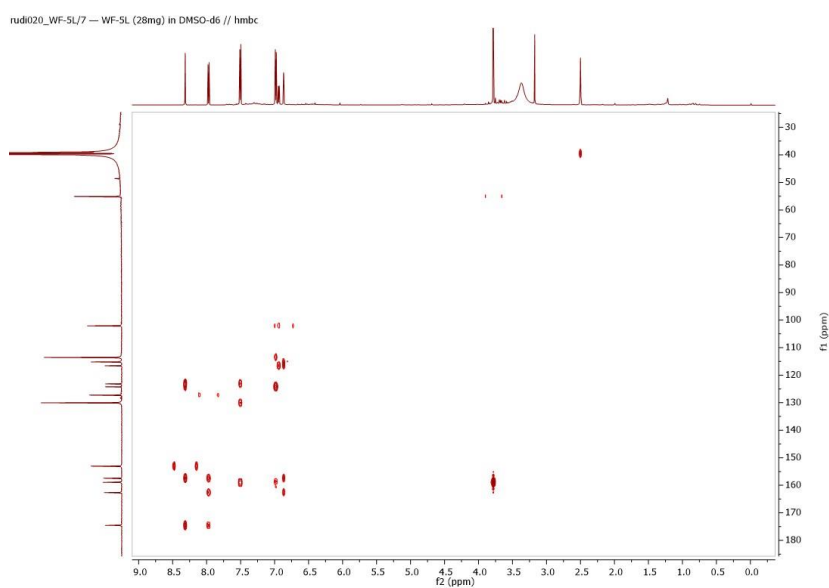
Gambar 8. Spektrum HSQC senyawa formononetin (1)



Gambar 9. Spektrum <sup>1</sup>H-NMR senyawa formononetin (1)



Gambar 10. Spektrum COSY senyawa formononetin (1)

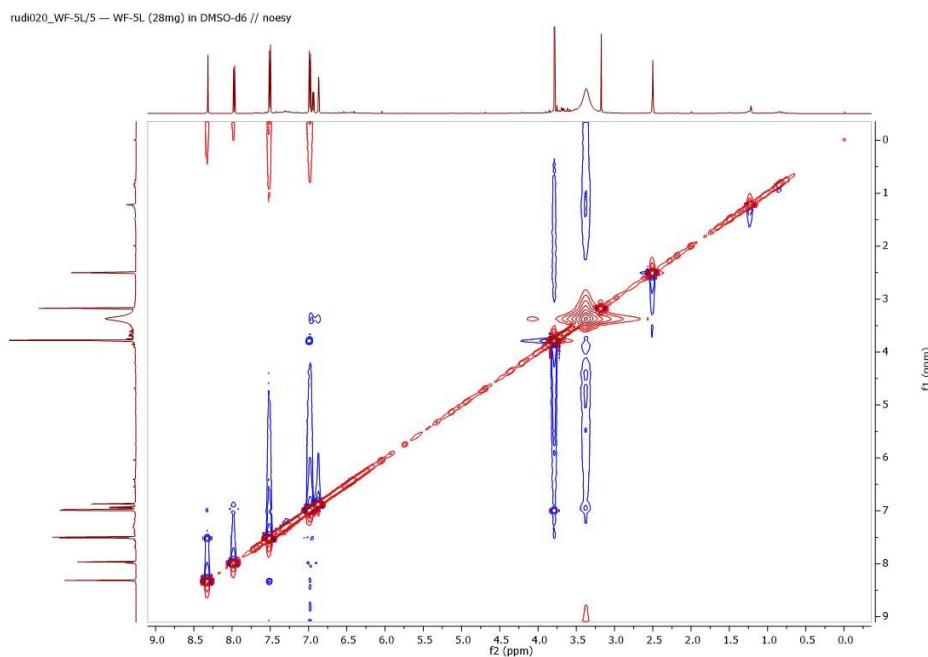


Gambar 11. Spektrum HMBC senyawa formononetin (1)

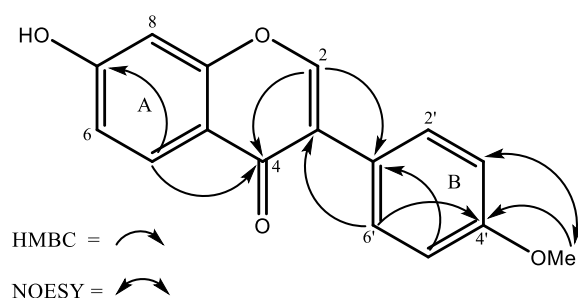
Selain itu, analisis sinyal-sinyal proton di daerah aromatik dan data COSY (Gambar 10) menunjukkan adanya unit 1,2,4-trisubstitusi benzena ( $\delta_H$  7,97, 6,94, dan 6,86 ppm) sebagai cincin A dan unit 1,4-disubstitusi benzena ( $\delta_H$  7,50 dan 6,97 ppm) yang menjelaskan kondisi cincin B. Dengan memperhatikan nilai geseran kimia sinyal-sinyal proton dari dua unit aromatik tersebut, maka diduga bahwa senyawa **1** adalah formononetin<sup>[17]</sup>.

Gugus OH yang terikat pada C-7 ( $\delta_C$  162,6 ppm) dan gugus OMe pada C-4' ( $\delta_C$  158,9 ppm) ditentukan berdasarkan data spektrum NMR 2 dimensi HMBC (Gambar 11) termasuk NOESY (Gambar 12). Dua sinyal proton pada  $\delta_H$  3,78 ppm (OMe) dan 7,50 (H-2') ppm masing-masing menunjukkan korelasi 3 ikatan terhadap karbon kuartener pada  $\delta_C$  158,9 ppm. Sinyal pada  $\delta_H$  7,50 ppm juga menampilkan

korelasi 3 ikatan terhadap geseran kimia  $\delta_C$  123,6 ppm pada posisi C-3. Spektrum HMBC juga memberikan sinyal korelasi 3 ikatan antara geseran kimia  $\delta_H$  8,31 ppm (H-2) terhadap karbonil pada  $\delta_C$  174,6 ppm dan karbon kuartener pada  $\delta_C$  124,2 ppm (C-1'). Lebih lanjut, proton pada  $\delta_H$  7,97 ppm (H-5) menunjukkan korelasi terhadap karbonil pada  $\delta_C$  174,6 ppm dan 2 karbon teroksigenasi masing-masing pada  $\delta_C$  157,4 ppm (C-8a) dan 162,6 ppm (C-7). Kemudian, data spektrum NOESY melengkapi dan memperkuat posisi gugus OMe pada C-4' dengan menunjukkan adanya korelasi antar ruang antara proton pada  $\delta_H$  6,97 ppm (H-3') dengan proton pada  $\delta_H$  3,78 ppm. Sehingga dapat ditetapkan bahwa gugus OH harus berada pada posisi C-7. Bukti-bukti korelasi dari data HMBC dan NOESY tersebut akhirnya menyimpulkan bahwa struktur senyawa **1** adalah formononetin (Gambar 13)<sup>[18]</sup>.



**Gambar 12.** Spektrum NOESY senyawa formononetin (**1**)



**Gambar 13.** Sebagian hubungan 3 ikatan hidrogen-karbon (HMBC) dan hubungan ruang hidrogen-hidrogen (NOESY) pada struktur **1**

**Tabel 1.** Data perbandingan  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR senyawa **1** dengan data dari literatur<sup>[17]</sup>

No	$\delta_{\text{H}}$ (multiplisitas, $J$ dalam Hz)*		$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	
	1	1**	1	1**
1	-	-	-	-
2	8,31 (s)	8,34 (s)	153,1	153,6
3	-	-	123,1	123,6
4	-	-	174,4	175,1
4a	-	-	116,6	117,1
5	7,97 (d, 8,7)	7,98 (d, 8,5)	127,3	127,7
6	6,94 (dd, 8,7 & 2,2)	6,95 (dd, 8,5 & 2,5)	115,2	115,6
7	-	-	162,6	163,0
8	6,86 (d, 2,2)	6,88 (d, 2,5)	102,1	102,6
8a	-	-	157,4	157,9
1'	-	-	124,2	124,7
2'	7,50 (d, 8,8)	7,52 (d, 8,5)	130,0	130,5
3'	6,97 (d, 8,8)	7,00 (d, 9,0)	113,6	114,1
4'	-	-	158,9	159,4
5'	6,97 (d, 8,8)	7,00 (d, 9,0)	113,6	114,1
6'	7,50 (d, 8,8)	7,52 (d, 8,5)	130,0	130,5
OMe-4'	3,78 (s)	3,80 (s)	55,1	55,6

Perbandingan data  $^{13}\text{C}$  NMR (Tabel 1) antara senyawa **1** yang diisolasi dengan yang data yang sama dari literatur membuktikan adanya kesesuaian yang tinggi<sup>[17],[18]</sup>. Senyawa **1** telah diisolasi sebelumnya dari akar dan batang tumbuhan *Tabernaemontana divaricata* (Apocynaceae)<sup>[5]</sup>.

Aktifitas antioksidan yang kuat dari fraksi etil asetat dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  57,25 ppm yang dilaporkan sebelumnya<sup>[13]</sup> salah satu kemungkinan disebabkan oleh keberadaan senyawa formononetin, dimana berdasarkan literatur, senyawa **1** telah dilaporkan

menunjukkan beragam aktivitas biologis yang potensial sebagai antioksidan<sup>[17]</sup>, antibakteri<sup>[19]</sup>, anti kanker<sup>[20]</sup>, anti jamur<sup>[21]</sup>, dan antiinflamasi<sup>[22]</sup>. Sintesis turunan struktur senyawa **1** juga telah dilakukan untuk berbagai aktivitas lainnya seperti antitumor<sup>[23]</sup> dan antiparasit<sup>[24]</sup>.

## Kesimpulan

Senyawa isoflavonoid formononetin (**1**) telah berhasil diisolasi dari fraksi etil asetat akar gitaan (*W. coriacea* Wall.). Struktur formonometin ditentukan berdasarkan data-



data 1D dan 2D NMR termasuk DART-HRMS serta dibandingkan dengan data dari literatur. Struktur senyawa isoflavonoid ini baru pertama kali dilaporkan dari genus *Willughbeia*.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis berterima kasih kepada Dr. Yoshiaki Takaya pada Fakultas Farmasi, Universitas Meijo, Nagoya, Jepang atas pengukuran data NMR dan DART-HRMS.

### Daftar Pustaka

- Pradityo, T., Santoso, N., Ervival, D. & Zuhud, A. M., Etnobotani di kebun tembawang suku Dayak Iban, Desa Sungai Mawang, Kalimantan Barat. *Agustus*, **21(2)**: 183–198 (2016).
- Lin, L., Yang, L. & Chou, C., Constituents from the stems of *Ecdysanthera rosea*. *J Chin Med*, **13(4)**: 191–195 (2002).
- Jain, S., Sharma, P., Ghule, S., Jain, A. & Jain, N., In vivo anti-inflammatory activity of *Tabernaemontana divaricata* leaf extract on male albino mice. *Chin. J. Nat. Med.*, **11(5)**: 472–476 (2013).
- Wangteeraprasert, R., Lipipun, V., Gunaratnam, M., Neidle, S., Gibbons, S. & Likhitwitayawuid, K., Bioactive compounds from *Carissa spinarum*. *Phyther. Res.*, **26(10)**: 1496–1499 (2012).
- Liang, S., Chen, H.-S., Du, J.-L., Wang, H.-P., Shen, Y. & Huang, M.-Z., Study on chemical constituents of *Tabernaemontana divaricata*. *Acad. J. Second Mil. Med. Univ.*, **27(8)**: 892–4 (2006).
- Lin, L.-C., Kuo, Y.-C. & Chou, C.-J., Immunomodulatory proanthocyanidins from *Ecdysanthera utilis*. *J. Nat. Prod.*, **65(4)**: 505–508 (2002).
- Byamukama, R., Namukobe, J., Jordheim, M., Andersen, Ø. M. & Kiremire, B. T., Anthocyanins from ornamental flowers of red frangipani, *Plumeria rubra*. *Sci. Hort. (Amsterdam)*, **129(4)**: 840–843 (2011).
- Heneidak, S., Grayer, R. J., Kite, G. C. & Simmonds, M. S. J., Flavonoid glycosides from Egyptian species of the tribe Asclepiadeae (Apocynaceae, subfamily Asclepiadoideae). *Biochem. Syst. Ecol.*, **34(7)**: 575–584 (2006).
- Zhang, J., Yin, Z. Q. & Liang, J. Y., A new isoflavonoid glycoside from the aerial parts of *Trachelospermum jasminoides*. *Chin. J. Nat. Med.*, **11(3)**: 274–276 (2013).
- Bhadane, B. S., Patil, M. P., Maheshwari, V. L. & Patil, R. H., Ethnopharmacology, phytochemistry, and biotechnological advances of family Apocynaceae: A review. *Phyther. Res.*, **32(7)**: 1181–1210 (2018).
- Tanjung, M., Tjahjandarie, T. S., Saputri, R. D., Harsono, A. & Aldin, M. F., A new cinnamyl acid derivative from the roots of *Willughbeia coriacea* wall. *Nat. Prod. Sci.*, **26(1)**: 79–82 (2020).
- Harsono, A., Rahman, A., Putri, R. J., Tjahjandarie, T. S., Saputri, R. D., Ahmat, N. & Tanjung, M., Isolation of lignans from the stem bark of *Willughbeia coriacea* and their cytotoxic activity. *Trop. J. Nat. Prod. Res.*, **7(2)**: 2394–2396 (2023).
- Rudiyansyah., Edwindar, F. & Ardiningsih, P., Secondary metabolites and antioxidant activity of methanol extract and fractions from the root of gitaan (*Willughbeia coreacea* wall). *Al-Kimia*, **11(2)**: (2023).
- Sabaruddin, A., Wulandari, E. & Sulistryati, H., Isolasi dan uji antimikroba ekstrak daun kersen. *J. Mipa*, **35(02)**: 157–164 (2012).
- Gbaweng, A. J. Y., Daïrou, H., Zingué, S., Emmanuel, T., Tchinda, A. T., Frédéricich, M. & Mbafor, J. T., Excelsanone, a new isoflavonoid from *Erythrina excelsa* (Fabaceae), with in vitro antioxidant and in vitro cytotoxic effects on prostate cancer cells lines. *Nat. Prod. Res.*, **34(5)**: 659–667 (2020).
- Cheenpracha, S., Chokchaisiri, R., Laphookhieo, S., Limtharakul, T. & Thepmalee, C., Rare prenylated isoflavonoids from the young twigs of *Millettia extensa* and their cytotoxic

- activities. *RSC Adv.*, **12(47)**: 30359–30364 (2022).
17. Pu, W., Wang, D. & Zhou, D., Structural characterization and evaluation of the antioxidant activity of phenolic compounds from *Astragalus taipashanensis* and their structure-activity relationship. *Sci. Rep.*, **5(1)**: 13914 (2015).
  18. Pan, C., Wang, H., Shan, H. & Lü, H., Preparative isolation and purification of calycosin and formononetin from *Astragali radix* using hydrolytic extraction combined with high speed countercurrent chromatography. *J. Chromatogr. Sci.*, **59(5)**: 412–418 (2021).
  19. Mykhailenko, O., Kovalyov, V., Kovalyov, S. & Krechun, A., Isoflavonoids from the rhizomes of *Iris hungarica* and antibacterial activity of the dry rhizomes extract. *Ars Pharm.*, **58(1)**: 39–45 (2017).
  20. Ong, S., Shanmugam, M., Fan, L., Fraser, S., Arfuso, F., Ahn, K., Sethi, G., *et al.*, Focus on formononetin: anticancer potential and molecular targets. *Cancers (Basel)*, **11(5)**: 611 (2019).
  21. das Neves, M. V. M., da Silva, T. M. S., de Oliveira Lima, E., da Cunha, E. V. L. & Oliveira, E. de J., Isoflavone formononetin from red propolis acts as a fungicide against *Candida* sp. *Brazilian J. Microbiol.*, **47(1)**: 159–166 (2016).
  22. Yu, L., Zhang, Y., Chen, Q., He, Y., Zhou, H., Wan, H. & Yang, J., Formononetin protects against inflammation associated with cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by targeting the JAK2/STAT3 signaling pathway. *Biomed. Pharmacother.*, **149**: 112836 (2022).
  23. Ren, J., Xu, H.-J., Cheng, H., Xin, W.-Q., Chen, X. & Hu, K., Synthesis and antitumor activity of formononetin nitrogen mustard derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, **54**: 175–187 (2012).
  24. Mutai, P., Rigo, G. V. & Tasca, T., Synthesis and anti-giardial activity of formononetin analogues. *East Cent. African J. Pharm. Sci.*, **19(1–3)**: 22–7 (2019).