DOI: https://doi.org/10.59294/HIUJS.34.2025.747

Nghiên cứu thành phần hóa học lá cây Bạch đàn chanh (*Eucalyptus citriodora)*

Huỳnh Lời[1,*], Đinh Quang Dương[2] và Võ Văn Lẹo[2]

[1]Trường Đại học Bình Dương

[2]Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Eucalyptus citriodora (Hook.) (Corymbia citriodora (Hook.) K.D.Hill & L.A.S. Johnson) được dùng rộng rãi làm nước hoa, mỹ phẩm và hương liệu. Dịch chiết từ lá bằng nước nóng thường được dùng làm thuốc hạ sốt, chống viêm và giảm đau. Mục tiêu: Phân lập và xác định các thành phần chính từ lá Bạch đàn chanh. Các hợp chất phân lập này được dùng một cách có ý nghĩa nhiều mục đích như nghiên cứu hóa thực vật hoặc kiểm nghiệm dược liệu này hay các chế phẩm của nó. Nguyên liệu và phương pháp: Lá cây Bạch đàn chanh được thu hái từ tỉnh Long An vào tháng 11 năm 2019. Bột lá được chiết xuất bằng ethanol 80% và dung môi được loại bỏ để thu được cao đặc. Sau đó, cao đặc được chiết lỏng - lỏng với n-hexane, chloroform và ethyl acetate (EtOAc). Phân đoạn Ethyl acetate được tiến hành sắc ký cột mở để phân lập hợp chất. Cấu trúc được thực hiện bằng các kỹ thuật quang phổ, bao gồm UV, MS và NMR. Kết quả: Năm hợp chất (1 - 5) đã được phân lập thành công từ cao Ethyl acetate của dịch chiết lá. Cấu trúc của 5 hợp chất được xác định lần lượt là acid trans-ferulic (1), myricetin (2), acid gallic (3), myricitrin (4) và hyperosid (5). Kết luận: Năm hợp chất phân lập thành công từ lá Bạch đàn chanh. Các chất phân lập hữu ích trong kiểm nghiệm dược liệu và các chế phẩm liên quan.

***Từ khóa**: Eucalyptus citriodora, Bạch đàn chanh, acid hữu cơ, flavonoid*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi *Eucalyptus* gồm rất nhiều loài và phân bố chủ yếu ở Australia. Cây được trồng để lấy tinh dầu, được sử dùng trong lĩnh vực tẩy uế môi trường, sát khuẩn đường hô hấp, viêm nhiễm ngoài da và pha chế nước hoa. Loài Bạch đàn chanh (*Eucalyptus citriodora*, Myrtaceae) có citronellal là thành phần chính trong tinh dầu, là những loài quan trọng, có giá trị kinh tế cao, được sử dụng nhiều trong lĩnh vực y học và làm nước hoa. Bạch đàn chanh được đưa vào trồng ở Việt Nam từ những năm 1960, rải rác từ Bắc vào Nam (Vĩnh Phúc, Quảng Ninh, Long An, …) [1]. Cây được trồng với mục đích chủ yếu để lấy tinh dầu. Tinh dầu trong lá có mùi dễ chịu và có tính kháng khuẩn mạnh nên được sử dụng làm thuốc sát khuẩn trong điều trị các bệnh nhiễm khuẩn đường hô hấp trên và trong một số bệnh ngoài da. Ngoài ra, còn dùng trong công nghệ hóa mỹ phẩm, sản xuất xà phòng, các chất tẩy rửa, sát trùng da và xua đuổi côn trùng [2] . Trên thế giới, Bạch đàn chanh được nghiên cứu nhiều về thành phần tinh dầu và các tác dụng dược lý của tinh dầu, trong khi các nghiên cứu về thành phần khác ngoài tinh dầu còn nhiều hạn chế [3]. Ở Việt Nam, các nghiên cứu cũng tập trung về chiết xuất tinh dầu, định tính, định lượng các cấu tử chính của tinh dầu, rất hiếm đề tài nghiên cứu về hợp chất khác từ lá của cây này [4, 5]... Do đó, nghiên cứu này được tiến hành với các mục tiêu chiết xuất, phân lập các hợp chất khác ngoài tinh dầu và xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được bằng các phương pháp phổ nhằm góp phần tiêu chuẩn hóa cây thuốc và bổ sung thêm dữ liệu hóa học cho Bạch đàn chanh trồng ở Việt Nam.

Tác giả liên hệ: TS.DS. Huỳnh Lời

Email: huynhloi@bdu.edu.vn

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu là lá *Eucalyptus citriodora* (Hook.) thu hái tại Long An vào tháng 11 năm 2019, lá sau thu hái được rửa sạch, phơi khô và xay nhỏ đến dạng bột thô, khối lượng khoảng 5 kg. Mẫu dược liệu được bảo quản trong bao bì kín, nơi khô mát trước khi chiết xuất. Mẫu được định danh bằng cách so sánh đặc điểm hình thái với tài liệu chuyên ngành [2].

2.1.2. Dung môi, hoá chất, thuốc thử

Dung môi được dùng đạt tiêu chuẩn phân tích (AR), bao gồm: *n*-hexane, chloroform, methanol (MeOH), *n*-butanol, diethyl ether, ethyl acetate sản xuất bởi ChemSol (Việt Nam) hoặc Xilong (Trung Quốc). Các thuốc thử gồm vanillin - sulfuric acid (VS), $FeCl_3$ 1%/ ethanol. Silica gel 60 (40 - 63 µm) (Merck - Đức) dùng cho sắc ký cột.

Dụng cụ, trang thiết bị bao gồm bình chiết ngấm kiệt, máy cô quay chân không Rotavapor R-210 (Buchii), tủ sấy, tủ sấy chân không, bơm chân không (Jeiotech, Model UV-12 (oven)/TRP-6 (pump), bếp cách thủy (Memmert, Model ULM 500), cân kỹ thuật 2 số lẻ (Sartorious), cân phân tích 4 số lẻ (Sartorious), cân xác định độ ẩm MA-45 (Satorius), bể siêu âm Sonorex RK-1208H (Bandelin), đèn UV 2 bước sóng 254 nm và 365 nm (Vilber Lourmat CN-15-LC), cột sắc ký bằng thủy tinh trung tính có khóa nhựa (sắc ký cột nhanh, sắc ký cột cổ điển, sắc ký cột Sephadex LH-20).

2.2. Phương pháp

2.2.1. Chiết xuất và phân lập các chất

Bột thô lá Bạch đàn chanh (5 kg) được chiết ngấm kiệt với 50 L ethanol 80%. Dịch chiết ethanol 80% được bốc hơi dưới áp suất giảm thu được cao đặc (khoảng 400 g). Cao Ethanol 80% được làm lạnh và loại bỏ tủa, sau đó pha loãng với nước cất (2 L), chiết phân bố lần lượt là *n*-hexane, chloroform và ethyl acetate thu được các cao phân đoạn là *n*-hexane (31.25 g), chloroform (73.87 g), ethyl acetate (126.24 g).

Một phần cao Ethyl acetate (76 g) được phân lập bằng sắc ký cột với cột có kích thước (6.5 cm × 50 cm), pha tĩnh gồm 350 g silica gel (40 - 63 µm), nạp mẫu khô và pha động là hệ dung môi chloroform - ethyl acetate có độ phân cực tăng dần từ (100 : 0) tăng dần đến (0 : 100). Thể tích thu 1 bình là 100 mL, tốc độ dòng là 10 mL/ phút. Các phân đoạn được kiểm tra trên sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi chloroform - ethyl acetate - acid formic (4 : 6 : 0.75), phát hiện bằng UV 254 nm, 365 m, thuốc thử vanilin-sulfuric và $FeCl_3$. Kết quả thu được 16 phân đoạn ký hiệu là EA1-EA16. Hợp chất 1 (8.1 mg) thu được từ phân đoạn EA4. Phân đoạn EA8 (160 mg) được tách bằng cột Sephadex-LH 20 (100 g; 2.5 cm × 80 cm) dùng MeOH làm pha động, thu được hợp chất 2 (6.0 mg) và hợp chất 3 (147.8 mg). Hợp chất 4 (11.1 mg) thu được bằng tinh chế 200 mg kết tủa thu được từ phân đoạn EA14 qua cột Sepahdex (50 g, 1.5 cm × 60 cm, hệ dung môi: 100% MeOH). Hợp chất 5 (73.1 mg) thu được từ phân đoạn EA15 bằng kết tinh lại trong MeOH.

2.2.2. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được

Các hợp chất tinh khiết được xác định bằng phương pháp phổ học bao gồm phổ UV, MS và NMR. Phổ UV cho thông tin cấu trúc các liên kết điện tử. Phổ MS cho thông tin tỷ lệ khối trên điện tích (mass to charge ratio: *m/z*) của các ion từ đó dự đoán công thức phân tử. Phổ NMR bao gồm phổ ^1H-NMR và ^{13}C-NMR, phổ 2D-NMR như HSQC, HMBC và COSY [6]. Các dữ liệu phổ được so sánh với tài liệu tham khảo.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Xác định cấu trúc hợp chất 1

Hợp chất 1 kết tinh hình kim không màu trong ethyl acetate, ít tan trong ethyl acetate, methanol, không tan trong *n*-hexane. Phổ MS (ESI^-) của 1 cho tín hiệu *m/z* $[M-H]^-$ = 193.45; phù hợp khối lượng phân tử là 194.45 ($C_{10}H_{10}O_4$). Dữ liệu phổ ^{13}C-CPD và phổ ^{13}C-DEPT cho thấy chất 1 có 10 tín hiệu carbon, trong đó có 5 carbon bậc III (CH) có δ_C > 90.0 *ppm,* là dấu hiệu của CH có nối đôi (=CH-), 4 carbon bậc IV (C), trong đó có 3 carbon có δ_C > 133.0 *ppm* có thể là carbon liên kết với nguyên tử có độ âm điện cao như oxy; 1 nhóm carbonyl có δ_C 168.0 *ppm,* có thể là nhóm -COOR, không có carbon bậc II (CH_2) có 1 carbon bậc I (CH_3) có δ_C 55.7 *ppm* là đặc trưng của nhóm -O-CH_3. Kết hợp với phổ MS, công thức phân tử của 1 là $C_{10}H_{10}O_4$ (Ω = 6). Dữ liệu phổ ^1H-NMR, thấy các tín hiệu 1 cặp tín hiệu: δ_H 6.35 *ppm* (*d*, 1H, *J* = 15.9 Hz) và δ_H 7.48 *ppm* (*d,* 1H, *J* = 15.9 Hz) có thể là 2 proton của nhóm olefin (-CH=CH-) ở vị trí *trans*. Bộ 3 tín hiệu: δ_H 6.78 *ppm* (*d*, 1H, *J* = 8.1 Hz); δ_H 7.07 *ppm* (*dd*, 1H, *J* = 8.1; 2.0 Hz) và δ_H 7.27 *ppm* (*d,* 1H, *J* = 2.0 Hz) đặc trưng của hệ tương tác spin ABX trong vòng thơm và 1 tín hiệu: δH 3.81 *ppm* (*s*, 3H); là đặc trưng của nhóm -O-CH_3. Kết hợp với dữ liệu phổ HMBC, HSQC, COSY, sơ bộ nhận định hợp chất 1 là acid *trans*-ferulic. So sánh phổ ^1H-NMR,

^{13}C-CPD của 1 với acid *trans*-ferulic qua Bảng 1.

Nhận xét: Tín hiệu carbon và proton của hợp chất 1 tương đồng với các tín hiệu của acid *trans*-ferulic, các tương tác HMBC, COSY phù hợp với cấu trúc của acid *trans*-ferulic, xác định hợp chất 1 chính là acid *trans*-ferulic (Hình 1).

Bảng 1. Bảng dữ liệu phổ NMR của 1 (DMSO - d_6, 125/500 MHz) so sánh với dữ liệu phổ NMR của acid *trans*-ferulic (DMSO - d_6, 62.5/250 MHz)

C	DEPT	Hợp chất 1				Acid *trans*-ferulic [7]	
		δ_C ppm	δ_H ppm; m; (J, Hz)	HMBC	COSY	δ_C ppm	δ_H ppm; m; (J, Hz)
1	C_{IV}	125.8	-			125.8	-
2	=CH-	111.2	7.27; *d*; (2.0)	4; 6; 7		111.1	7.29; *d*; (1.9)
3	C_{IV}	147.9	-			147.9	-
4	C_{IV}	149.1	-			149.0	-
5	=CH-	115.7	6.78; *d*; (8.1)	1; 3	6	115.6	6.83; *d*; (8.2)
6	=CH-	122.8	7.07; *dd*; (8.1; 2.0)	2; 4; 7	5	122.7	7.10; *dd*; (8.2; 1.9)
7	=CH-	144.4	7.48; *d*; (15.9)	2; 6; 8; 9	8	144.4	7.53; *d*; (15.9)
8	=CH-	115.5	6.35; *d*; (15.9)	1; 9	7	115.5	6.39; *d*; (15.9)
9	-COOR	168.0	-			167.9	-
10	$-O-CH_3$	55.7	3.81; *s*			55.6	3.84; *s*

3.2. Xác định cấu trúc hợp chất 2

Hợp chất 2 là dạng bột vô định hình màu vàng, tan trong methanol, ít tan trong ethyl acetate, không tan trong *n*-hexane. Phổ MS (ESI$^-$) cho tín hiệu *m/z* $[M-H]^-$ = 317.19; suy ra khối lượng phân tử hợp chất 2 là 318.19. Dữ liệu phổ ^{13}C-CPD và phổ ^{13}C-DEPT cho thấy chất 2 có 13 tín hiệu carbon, đều có δ_c> 90 *ppm*, có 10 tín hiệu carbon bậc IV, trong đó: 2 tín hiệu δ_c 135.9 *ppm* và δ_c 135.8 *ppm* bị chồng lấn; 1 tín hiệu δ_c 145.7 *ppm* đối xứng; 1 tín hiệu carbonyl δ_c 175.7 *ppm* có thể là nhóm >C=O của flavonol; 3 tín hiệu carbon =CH-, trong đó 1 tín hiệu δ_c107.2 *ppm* đối xứng; 2 tín hiệu δ_c 93.2 *ppm* và δ_c 98.2 *ppm* lần lượt là của C8 và C6 do bị kẹp giữa các ortho oxy nên bị upfield dẫn đến δ_c< 100 *ppm*. Vậy (2) có 15 nguyên tử carbon, định hướng chất 2 là một flavonol aglycon.

Ngoài ra, trên phổ carbon (2) có 8 tín hiệu trong vùng δ_c130 - 165 *ppm*, cho thấy những carbon này liên kết với nguyên tử có độ âm điện cao mà cụ thể là oxy, ngoại trừ 2 carbon liên kết với oxy pyron, còn lại 6 carbon liên kết với nhóm OH. Do đó (2) được dự đoán có 8 nguyên tử oxy. Kết hợp với phổ MS suy ra công thức phân tử của 2 là $C_{15}H_{10}O_8$ (Ω = 11). Kết hợp dữ liệu phổ ^{1}H-NMR, HMBC, HSQC, sơ bộ nhận định chất 2 là myricetin. So sánh phổ ^{1}H-NMR, ^{13}C-CPD của 2 với myricetin qua Bảng 2.

Nhận xét: Tín hiệu phổ carbon và proton của hợp chất 2 tương đồng với các tín hiệu của myricetin (Bảng 2), các tương tác HMBC, phù hợp với cấu trúc của myricetin, khẳng định 2 chính là myricetin (Hình 1).

Bảng 2. Bảng dữ liệu phổ NMR của 2 (DMSO - d_6, 125/500 MHz) so sánh với dữ liệu phổ NMR của myricetin (DMSO - d_6, 75/300 MHz)

C	DEPT	Hợp chất 2			Myricetin [8]	
		δ_C ppm	δ_H ppm; m; (J, Hz)	HMBC	δ_C ppm	δ_H ppm; m; (J, Hz)
2	C_{IV}	146.8	-	-	146.8	-

C	DEPT	Hợp chất 2			Myricetin [8]	
		δ_C ppm	δ_H ppm; m; (J, Hz)	HMBC	δ_C ppm	δ_H ppm; m; (J, Hz)
3	C_{IV}	135.8	-	-	135.8	-
4	>C=O	175.7	-	-	175.7	-
5	C_{IV}	160.7	12.49; *s* (OH)	6; 10	160.7	12.45; *s* (OH)
6	=CH-	98.2	6.18; *d*; (2.1)	5; 7; 8; 10	98.1	6.18; *d*; (2.1)
7	C_{IV}	163.9	-	-	163.8	-
8	=CH-	93.2	6.37; *d*; (2.1)	6; 7; 9; 10	93.2	6.37; *d*; (2.1)
9	C_{IV}	156.1	-	-	156.1	-
10	C_{IV}	103.0	-	-	103.0	-
1’	C_{IV}	120.8	-	-	120.8	-
2’	=CH-	107.2	7.24; *s*	2; 1’; 4’; 6’	107.2	7.24; *s*
3’	C_{IV}	145.7	-	-	145.7	-
4’	C_{IV}	135.9	-	-	135.8	-
5’	C_{IV}	145.7	-	-	145.7	-
6’	=CH-	107.2	7.24; *s*	2; 1’; 4’; 2’	107.2	7.24; *s*

3.3. Xác định cấu trúc hợp chất 3

Hợp chất 3 có dạng bột vô định hình không màu, tan trong methanol, ethyl acetate, không tan trong *n*-hexane. Phổ MS (ESI^-) cho tín hiệu *m/z* $[M-H]^-$ = 168.95 tương ứng với khối lượng phân tử là 169.95. Dữ liệu phổ ^{13}C-CPD của chất 3 có 5 tín hiệu δ_c > 100 *ppm*, trong đó có 2 tín hiệu đối xứng: δ_c 108.8 *ppm* và δ_c 145.4 *ppm*; 1 tín hiệu δ_c 167.5 *ppm* có khả năng là nhóm -COOR. Dữ liệu phổ ^1H-NMR của chất 3 có 3 tín hiệu singlet có δ_H > 8.50 *ppm*, có khả năng là các OH phenol; 1 tín hiệu singlet δ_H 6.12 *ppm* có khả năng là H của vòng thơm. Kết hợp với dữ liệu MS, suy ra công thức phân tử của 3 là $C_7H_6O_5$, sơ bộ nhận định 3 là acid gallic. So sánh dữ liệu phổ ^{13}C-CPD, ^1H-NMR của 3 với dữ liệu của acid gallic thể hiện trong Bảng 3. Cấu trúc của 3 thể hiện ở Hình 1.

Nhận xét: Tín hiệu carbon và proton của hợp chất 3 tương đồng với các tín hiệu của acid gallic, công thức phân tử $C_7H_6O_5$ phù hợp với phổ MS, chất 3 được xác định là acid gallic (Hình 1).

Bảng 3. Bảng dữ liệu phổ NMR của 3 (DMSO - d_6, 125/500 MHz) so sánh với dữ liệu phổ NMR của acid gallic (DMSO - d_6, 100/400 MHz)

C	Hợp chất 3		Acid gallic [9]	
	δ_C ppm	δ_H ppm; m; (J, Hz)	δ_C ppm	δ_H ppm; m; (J, Hz)
1	120.5	12.20; *s* (COOH)	120.9	12.24; *s* (COOH)

C	Hợp chất 3		Acid gallic [9]	
	δ_C ppm	δ_H ppm; m; (J, Hz)	δ_C ppm	δ_H ppm; m; (J, Hz)
2	108.8	6.92; *s*	109.2	6.92; *s*
3	145.4	9.17; *s* (OH)	145.9	9.20; *s* (OH)
4	138.0	8.80; *s* (OH)	138.4	8.84; *s* (OH)
5	145.4	9.17; *s* (OH)	145.9	9.20; *s* (OH)
6	108.8	6.92; *s*	109.2	6.92; *s*
7	167.5	-	167.9	-

3.4. Xác định cấu trúc hợp chất 4

Hợp chất 4 có dạng bột vô định hình màu vàng, tan trong methanol, ethyl acetate, không tan trong *n*-hexane. Phổ MS (ESI$^-$) của chất 4 cho tín hiệu *m/z* $[M-H]^-$ = 462.88; tương ứng với khối lượng phân tử của 4 là 463.88. Dữ liệu phổ ^{13}C-CPD và phổ ^{13}C-DEPT cho thấy 4 có 19 tín hiệu carbon, trong đó 2 tín hiệu δ_C 107.9 *ppm* và δ_C 145.8 *ppm* có cường độ tín hiệu cao cho thấy khả năng đối xứng ở vòng B. Ở δ_C 107.9 *ppm* có tích phân của δ_H bằng 2, suy ra hợp chất 4 có tổng cộng 21 carbon. Hợp chất 4 có 8 tín hiệu -CH-, trong đó có 4 tín hiệu carbon $\delta_C < 90$ *ppm* là cụm 4 tín hiệu δ_C 70.0 *ppm*; δ_C 70.4 *ppm*; δ_C 70.5 *ppm*, δ_C 71.3 *ppm* đặc trưng cho rhamnose. 4 tín hiệu còn lại có $\delta_C > 90$ *ppm* là dấu hiệu của nhóm =CH- vòng thơm; không có tín hiệu $-CH_2-$, nên không có đường hexose; có 1 tín hiệu δ_C 17.5 *ppm* của nhóm $-CH_3$ của đường rhamnopyranose; có 11 tín hiệu carbon bậc IV, trong đó tín hiệu carbonyl δ_C 177.8 *ppm* có khả năng là tín hiệu của C_4 flavonol; 10 tín hiệu carbon bậc IV còn lại đều có $\delta_C > 100$ *ppm* là dấu hiệu của carbon nối đôi trong vòng thơm. Sơ bộ định hướng 4 là flavonol glycosid. Phần aglycon của 4 có 2 tín hiệu đối xứng δ_C 107.9 *ppm* (không liên kết với nguyên tử có độ âm điện cao) và δ_C 145.8 *ppm* (có thể liên kết với nguyên tử có độ âm điện cao, cụ thể là oxy); kết hợp với 2 tín hiệu δ_C 93.5 *ppm* và δ_C 98.6 *ppm* có khả năng lần lượt là C8 và C6 của vòng A bị upfield do nằm giữa các ortho oxy. Phần aglycon của 4 có thể là myricetin. Tiến hành ghép các giá trị δ_C và δ_H cho phần aglycon dựa trên các dữ liệu phổ ^{13}C-CPD, ^{1}H-NMR, HSQC, HMBC. Sau khi ghép các tín hiệu như Bảng 4 cho phần aglycon thì các tín hiệu δ_C và δ_H còn lại là của đường rhamnopyranose. Nhận thấy tín hiệu δ_H 5.20 (*d*, *J* = 1.6 Hz) có tương tác HMBC với C3 của aglycon nên tín hiệu này là của H-1 anomer, dự đoán phần đường là *α*-L-rhamnopyranosid. Suy ra chất 4 có khả năng là myricetin 3-O-*α*-L-rhamnopyranosid (myricitrin). Tiến hành so sánh dữ liệu phổ ^{1}H-NMR, ^{13}C-CPD của 4 với myricitrin qua Bảng 4.

Nhận xét: Tín hiệu carbon và proton của hợp chất 4 tương đồng với các tín hiệu của myricitrin, công thức phân tử $C_{21}H_{20}O_{12}$ phù hợp với phổ MS của 4 và được xác định là myricitrin (Hình 1).

Bảng 4. Bảng dữ liệu phổ NMR của 4 (DMSO - d_6, 125/500 MHz) so sánh với dữ liệu phổ NMR của myricitrin (DMSO - d_6, 75/300 MHz)

C	DEPT	Hợp chất 4			Myricitrin [10]	
		δ_C ppm	δ_H ppm; m; (J, Hz)	HMBC	δ_C ppm	δ_H ppm; m; (J, Hz)
2	C_{IV}	157.5	-	-	157.47	-
3	C_{IV}	134.3	-	-	134.20	-
4	>C=O	177.8	-	-	177.77	-

C	DEPT	Hợp chất 4			Myricitrin [10]	
		δ_C *ppm*	δ_H *ppm; m; (J, Hz)*	HMBC	δ_C *ppm*	δ_H *ppm; m; (J, Hz)*
5	C_{IV}	161.3	12.68; *s*	5; 6; 10	161.30	
6	=CH-	98.6	6.20; *d*; (2.1)	5; 7; 8; 10	98.60	6.18; *d*; (1.9)
7	C_{IV}	164.1	-	-	164.20	-
8	=CH-	93.5	6.37; *d*; (2.1)	6; 7; 9; 10	93.50	6.35; *d*; (1.9)
9	C_{IV}	156.4	-	-	156.40	-
10	C_{IV}	104.0	-	-	104.01	-
1’	C_{IV}	119.6	-	-	119.59	-
2’	=CH-	107.9	6.88; *s*	2; 3’; 4’; 6’	107.88	6.87; *s*
3’	C_{IV}	145.8	-	-	145.76	-
4’	C_{IV}	136.4	-	-	136.44	-
5’	C_{IV}	145.8	-	-	145.76	-
6’	=CH-	107.9	6.88; *s*	2; 2’; 4’; 5’	107.88	6.87; *s*
1’’	-CH-	101.9	5.20; *d*; (1.6)	3; 3’’	101.93	5.20; *d*; (1.5)
2’’	-CH-	70.0	3.98; *m*	-	70.00	3.96; *dd;* (1.5; 3.3)
3’’	-CH-	70.4	3.55; *m*	-	70.37	3.6; *dd*; (3.3; 9.4)
4’’	-CH-	71.3	3.15; *m*	-	71.26	3.15; *t*; (9.4)
5’’	-CH-	70.5	3.36; *m*	-	70.55	3.46; *m*
6’’	$-CH_3$	17.5	0.84; *d*; (6.2)	-	17.50	0.83; *d*; (6.12)

3.5. Xác định cấu trúc hợp chất 5

Hợp chất 5 kết tủa màu vàng chanh. Ít tan trong methanol, ethyl acetate; tan trong hỗn hợp methanol - nước (8 : 2). Phổ MS (ESI^-) của 5 cho tín hiệu *m/z* $[M\text{-}H]^-$ = 462.87, tướng ứng với khối lượng phân tử của 5 là 463.87. Dữ liệu phổ ^{13}C-CPD và phổ ^{13}C-DEPT cho thấy có tất cả 21 tín hiệu carbon; 10 carbon bậc IV, trong đó, 1 tín hiệu δ_c 177.5 *ppm* có khả năng là nhóm carbonyl C4 flavonol ; 9 tín hiệu còn lại đều có δ_c> 100 *ppm*, có khả năng là carbon mang nối đôi ở vòng thơm; có 10 tín hiệu carbon bậc III (-CH-), trong đó có 6 tín hiệu δ_c> 90 *ppm* là dấu hiệu của carbon mang nối đôi (=CH-); 4 tín hiệu còn lại trong vùng δ_c60 - 80 *ppm* có khả năng là carbon của đường; 1 tín hiệu carbon bậc II ($-CH_2-$) có δ_c 60.1 *ppm*, có khả năng là nhóm CH_2 của đường hexose. Sơ bộ nhận định 5 là flavonol glycosid. Xét phần aglycon; từ dữ liệu phổ ^{13}C-CPD, ^1H-NMR, cho thấy 2 tín hiệu δ_c 93.5 *ppm* và δ_c 98.6 *ppm* có khả năng lần lượt là C8 và C6 của vòng A bị upfield do nằm giữa các ortho oxy nên δ_c < 100 *ppm*; không có tín hiệu carbon đối xứng; có bộ 3 tín hiệu: δ_H 6.82 *ppm* (d, 1H, *J* = 8.5 Hz); δ_H 7.67 *ppm* (*dd*, 1H, *J* = 8.5; 2.1 Hz) và δ_H 7.53 *ppm* (*d,* 1H, *J* = 2.2 Hz) đặc trưng của hệ tương tác spin ABX trong vòng thơm (vòng B), suy ra aglycon của 5 có khả năng là quercetin.

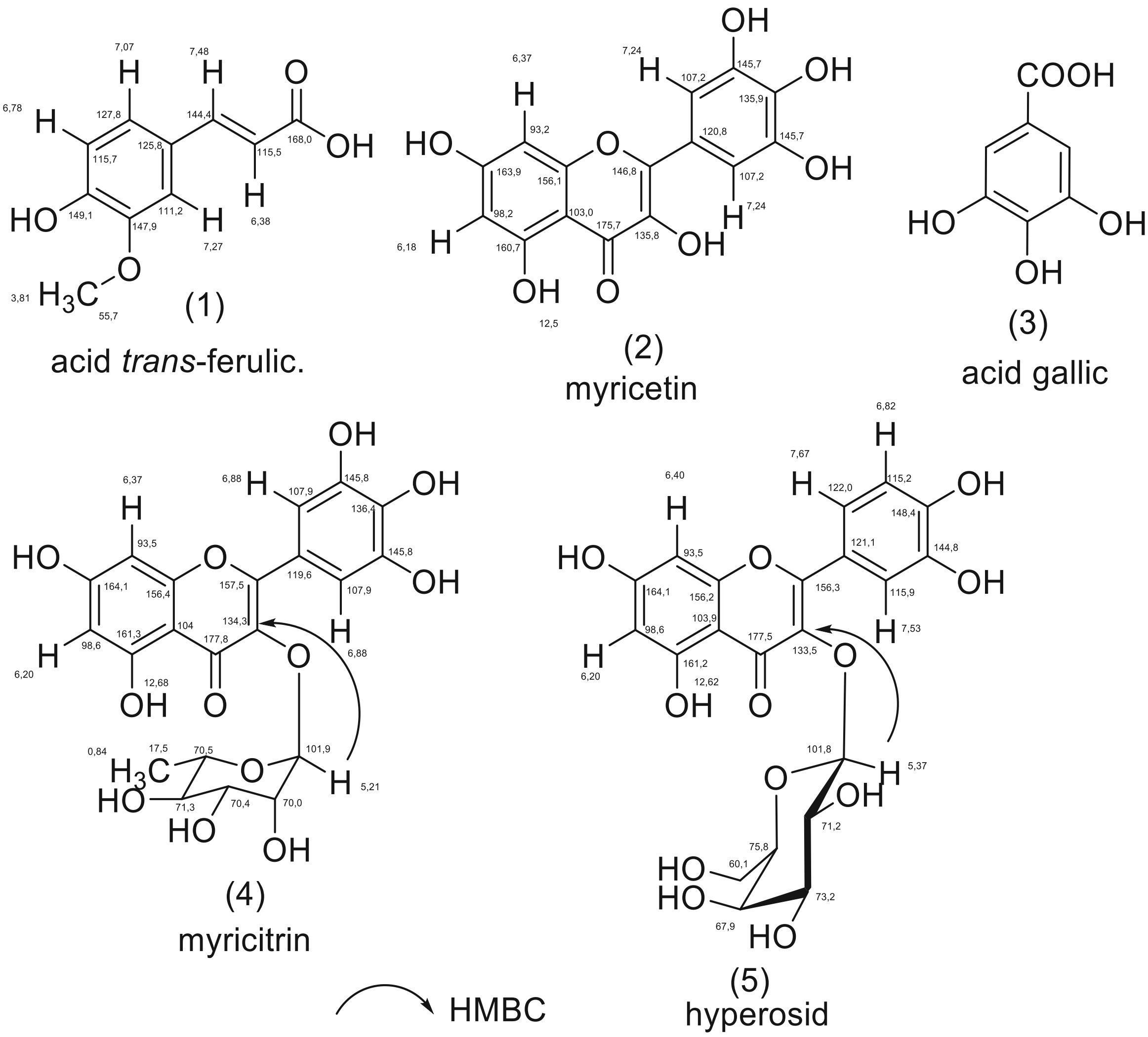
Đối với phần đường, dữ liệu phổ ^{13}C-CPD, ^{1}H-NMR, HMBC cho thấy phổ HMBC, có tương tác giữa C3 và H δ_H 5.37 *ppm* (d, *J* = 7.7 Hz), suy ra đây là tín hiệu của H-1'' anomer của đường dạng *β*. Bộ tín hiệu carbon còn lại là của đường: δ_C 101.8 *ppm*; δ_C 75.8 *ppm*; δ_C 73.2 *ppm*; δ_C 71.2 *ppm*; δ_C 67.9 *ppm*; δ_C 60.1 *ppm*. Có khả năng là glucopyranose hoặc galactopyranose. Tiến hành ghép các giá trị δ_C và δ_H cho phần đường dựa trên các dữ liệu phổ ^{13}C-CPD, ^{1}H-NMR, HSQC, HMBC, COSY thể hiện trên Bảng 5.

H-4 có tương tác tạo đỉnh *doublet* với *J* = 4.1 Hz, từ đó dự đoán phần đường là *β-D*-galactopyranosid.

So sánh dữ liệu phổ ^{1}H-NMR, ^{13}C-CPD của 5 có sự tương đồng với dữ liệu phổ của hyperosid, do đó kết luận hợp chất 5 là quercetin 3-O- *β-D*-galactopyranosid (hyperosid) (Hình 1).

Bảng 5. Bảng dữ liệu phổ NMR của 5 (DMSO - - d_6, 125/500 MHz) so sánh với dữ liệu phổ NMR của hyperosid (DMSO - d_6, 125/500 MHz)

C	DEPT	Hợp chất 5			Hyperosid [11]	
		δ_C ppm	δ_H ppm; m; (J, Hz)	HMBC	δ_C ppm	δ_H ppm; m; (J, Hz)
2	C_{IV}	156.3	-	-	156.5	-
3	C_{IV}	133.5	-	-	133.7	-
4	C_{IV}	177.5	-	-	177.6	-
5	C_{IV}	161.2	12.62; *s* (OH)	5; 6; 10	161.1	12.62; *s* (OH)
6	=CH-	98.6	6.20; *d*; (2.1)	5; 7; 8; 10	98.8	6.20; *s*
7	C_{IV}	164.1	-	-	164.2	-
8	=CH-	93.5	6.40; *d*; (2.0)	6; 7; 9; 10	93.7	6.40; *s*
9	C_{IV}	156.2	-	-	156.4	-
10	C_{IV}	103.9	-	-	104.0	-
1’	C_{IV}	121.1	-	-	121.3	-
2’	=CH-	115.9	7.53; *d*; (2.2)	2; 3’; 4’; 6’	116.1	7.53; *d*; (1.6)
3’	C_{IV}	144.8	-	-	144.8	-
4’	C_{IV}	148.4	-	-	148.4	-
5’	=CH-	115.2	6.82; *d*; (8.5)	1’; 3’; 4’	115.3	6.81; *d*; (8.5)
6’	=CH-	122.0	7.67; *dd*; (8.5; 2.3)	2; 2’; 4’	122.0	7.66; *dd*; (8.5; 1.6)
1’’	-CH-	101.8	5.37; *d*; (7.7)	-	102.0	5.37; *d*; (7.6)
2’’	-CH-	71.2	3.56; *m*	-	71.3	3.57; *t*; (8.7)
3’’	-CH-	73.2	3.37; *m*	-	73.2	3.36; *s*
4’’	-CH-	67.9	3.65; *d*; (4.1)	-	67.9	3.65; *d*; (1.5)
5’’	-CH-	75.8	-	-	75.9	3.32
6’’	$-CH_2-$	60.1	-	-	60.2	3.37



Hình 1. Cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập (1 - 5) và tương tác HMBC chính

4. BÀN LUẬN

Acid *trans*-ferulic là thành phần thường gặp trong thành tế bào thực vật, có độc tính thấp và có nhiều hoạt tính sinh học như chống viêm, chống oxy hóa, kháng khuẩn, v.v ...[12]. Hợp chất này cũng được tìm thấy trong lá Bạch đàn chanh bằng kỹ thuật phân tích HPLC [10].

Acid gallic có đặc tính chống oxy hóa mạnh, bảo vệ tế bào, mô, cơ quan tránh bị hư hại do stress oxi hóa [13]. Acid gallic cũng có hoạt tính ức chế tyrosinase mạnh [11]. Acid gallic cũng có tác dụng ức chế tăng trưởng và thúc đẩy quá trình apoptosis trên các dòng tế bào bị ung thư như tế bào tuyến tiền liệt, phổi, gan, tế bào melanoma và được cho là có tiềm năng chống ung thư [14]. Hợp chất này cũng đã được phân lập trên lá Bạch đàn chanh và có tính chống viêm [15].

Các flavonoid myricetin, myricitrin, hyperosid đều là các flavonoid còn nhiều gốc OH phenol tự do nên có khả năng chống oxi hóa mạnh [16, 17]. Myricetin được chứng minh nhiều về tác dụng chống oxy hóa, chống ung thư trên nhiều dòng tế bào ung thư, chống kết tập tiểu cầu, kháng viêm, các bệnh về mạch máu, đái tháo đường,...[18]. Myricitrin đã được chứng minh nhiều về tác dụng chống oxy hóa, tác dụng kháng viêm. Gần đây, myricitrin còn được nghiên cứu về tác dụng hạ đường huyết. Một nghiên cứu của Liu và cộng sự (2018) đã chỉ ra rằng khả năng ức chế α-glucosidase myricitrin (IC_{50} = 80.37) mg/mL cao hơn acarbose (IC_{50} = 164.19 mg/mL), song lại thấp hơn myricetin (IC_{50} = 4.09 mg/mL). Một nghiên cứu khác về tác dụng cải thiện bệnh đái tháo đường tuýp 2 (type 2) trên chuột của myricitrin, Kim và cộng sự đã cho thấy myricitrin làm giảm đáng kể đường huyết lúc đói, cải thiện tình trạng không dung nạp glucose và tăng khối lượng tế bào hoạt động của tụy [19 - 21]. Myricetrin đã được phân lập từ Bạch đàn chanh

[22]. Hyperosid đã được nghiên cứu về nhiều tác dụng sinh học như chống oxy hóa, chống viêm, chống ung thư, bảo vệ gan, bảo vệ thần kinh, …[23]. Nhìn chung, các hợp chất phân lập được đều có hoạt tính chống oxy hóa mạnh, có các hoạt tính sinh học tiềm năng như hạ đường huyết, chống ung thư.

5. KẾT LUẬN

Từ lá Bạch đàn chanh đã phân lập được năm hợp chất đã được phân lập bao gồm hợp chất: 1 (8.1 mg), 2 (6.0 mg), 3 (147.8 mg), 4 (11.1 mg), 5 (73.1 mg) từ cao ethyl acetate bằng các kỹ thuật sắc ký cột. Dựa vào các tính chất cảm quan, hóa lý, dữ liệu phổ MS, NMR của 5 hợp chất và so sánh với dữ liệu phổ trong các tài liệu tham khảo, đã xác định được 1 là acid *trans*-ferulic, 2 là myricetin, 3 là acid gallic, 4 là myricitrin, 5 là hyperosid.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu chân thành cám ơn Dược sĩ Bùi Đắc Thắng, Giám đốc Công ty Cổ phần Nghiên cứu Bảo tồn Và Phát triển Dược liệu Đồng Tháp Mười (địa chỉ tại Khu phố 3, thị trấn Bình Phong Thạnh, huyện Mộc Hoá, tỉnh Long An) đã cung cấp nguyên liệu Bạch đàn chanh cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Mỡi L. Đ., *Tài nguyên thực vật có tinh dầu ở Việt Nam*. Nhà Xuất Bản Nông Nghiệp, 2002.

[2] Chi V. V., *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. NXB Y học, Hà Nội. 2012.

[3] W. Insuan and T. Chahomchuen, "Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil extracted from Eucalyptus citriodora leaf," *Microbiol. Biotechnol. Lett.,* vol. 48, no. 2, p. 9, 2020.

[4] T. D. Tống, X. T. Lê, T. P. N. Nguyễn, and M. T. Lê, "Chưng cất phân đoạn citronellol từ tinh dầu sả java (Cymbopogon winterianus) và tinh dầu bạch đàn chanh (Eucalyptus citriodora)," *Tạp chí công thương,* vol. 3, p. 8, 2022.

[5] N. T. T. Nhi, H. T. N. Nhung, N. N. T. Trân, and L. T. Hùng, "Xây dựng quy trình định lượng citronellal trong tinh dầu Bạch đàn chanh bằng phương pháp GC-FID (*Eucalyptus citriodora* Hook)," *Tạp chí Y Dược học Cần Thơ,* no. 28, pp. 173-179, 2020.

[6] E. Pretsch, P. Bühlmann, C. Affolter, E. Pretsch, P. Bhuhlmann, and C. Affolter, *Structure determination of organic compounds*. Springer, 2000.

[7] S. A. Ralph, J. Ralph, L. Landucci, and L. Landucci, "NMR database of lignin and cell wall model compounds," *Forest Products Laboratory: USDA Forest Service,* 2004.

[8] C.-C. Shen, Y.-S. Chang, and L.-K. Ho, "Nuclear magnetic resonance studies of 5, 7-dihydroxyflavonoids," *Phytochemistry,* 1993.

[9] Y. Shen, H. Yang, G. Xia, J. Wang, B. Cai, and X. Jia, "Isolation of gallic acid and methyl gallate from folium Toonea sinensis and validated method for their quantitation using LC-based technologies," *Acta Chromatographica,* vol. 25, no. 4, pp. 687-701, 2013.

[10] I. I. Mahmoud, M. S. Marzouk, F. A. Moharram, M. R. El-Gindi, and A. M. Hassan, "Acylated flavonol glycosides from Eugenia jambolana leaves," *Phytochemistry,* vol. 58, no. 8, pp. 1239-1244, 2001.

[11] E. D. Rodrigues, D. B. da Silva, D. C. R. de Oliveira, and G. V. J. da Silva, "DOSY NMR applied to analysis of flavonoid glycosides from Bidens sulphurea," *Magnetic Resonance in Chemistry,* vol. 47, no. 12, pp. 1095-1100, 2009.

[12] K. Zduńska, A. Dana, A. Kolodziejczak, H. J. S. p. Rotsztejn, and physiology, "Antioxident properties of ferulic acid and its possible application," *Skin Pharmacology and Physiology,* vol. 31, no. 6, pp. 332-336, 2018.

[13] J. Gao, J. Hu, D. Hu, and X. Yang, "A role of gallic acid in oxidative damage diseases: a comprehensive review," *Natural Product Communications,* vol. 14, no. 8, p. 1934578X19874174, 2019.

[14] A. Subramanian *et al.*, "Gallic acid: prospects and molecular mechanisms of its anticancer activity," *Rsc Advances,* vol. 5, no. 45, pp. 35608-35621, 2015.

[15] Y. Qiujian, F. Zongcai, H. Liping, H. Jingwei, Z. Zhongliu, and L. Fang, "Ellagic acid (EA), a tannin was isolated from *Eucalyptus citriodora* leaves and its anti-inflammatory activity," *Medicinal Chemistry Research,* vol. 30, no. 12, pp. 2277-2288, 2021/12/01 2021.

[16] M. M. Silva, M. R. Santos, G. Caroço, R. Rocha,

G. Justino, and L. Mira, "Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids: A re-examination," *Free Radical Research,* vol. 36, no. 11, pp. 1219-1227, 2002.

[17] K. L. Wolfe, R. H. J. J. o. a. Liu, and f. chemistry, "Structure− activity relationships of flavonoids in the cellular antioxidant activity assay," *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* vol. 56, no. 18, pp. 8404-8411, 2008.

[18] D. K. Semwal, R. B. Semwal, S. Combrinck, and A. Viljoen, "Myricetin: A dietary molecule with diverse biological activities," *Nutrients,* vol. 8, no. 2, p. 90, 2016.

[19] H. LIU, Y. LIU, Q. CHEN, S. CAO, and X. QI, "Inhibitory Activity of Flavonoids From Myrica rubra on α- glucosidase," *Journal of Nuclear Agricultural Sciences,* no. 1, p. 10, 2018.

[20] D. Y. Kim, S. R. Kim, and U. J. Jung, "Myricitrin Ameliorates Hyperglycemia, Glucose Intolerance, Hepatic Steatosis, and Inflammation in High-Fat Diet/Streptozotocin-Induced Diabetic Mice," *International Journal of Molecular Sciences,* vol. 21, no. 5, p. 1870, 2020.

[21] I.-W. Hwang, S.-K. J. P. n. Chung, and f. science, "Isolation and identification of myricitrin, an antioxidant flavonoid, from daebong persimmon peel," *Preventive Nutrition andFfood science,* vol. 23, no. 4, p. 341, 2018.

[22] Z.-L. Zhou *et al.*, "Flavonoid glycosides and potential antivirus activity of isolated compounds from the leaves of *Eucalyptus citriodora*," *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry,* vol. 57, pp. 813-817, 2014.

[23] A. Raza, X. Xu, H. Sun, J. Tang, and Z. Ouyang, "Pharmacological activities and pharmacokinetic study of hyperoside: A short review," *Tropical Journal of Pharmaceutical Research,* vol. 16, no. 2, pp. 483-489, 2017.

Chemical study on the leaves of *Eucalyptus citriodora*

Huynh Loi , Dinh Quang Duong and Vo Van Leo

ABSTRACT

Background: Eucalyptus citriodora (Hook.) (syn. Corymbia citriodora (Hook.) K.D.Hill & L.A.S. Johnson) has been widely used in perfumery, cosmetics, and fragrance. The hot-water extracts of dried leaves have traditionally been used as antipyretic, anti-inflammatory, and analgesic agents. Objectives: This study aimed to isolate and characterize the main bioactive constituents of Eucalyptus citriodora leaves. These isolated compounds have significant applications in phytochemical studies and quality control of the plant and its preparations. Materials and method: Leaves of Eucalyptus citriodora were collected from Long An province in November 2019. The powdered leaves were extracted with 80% ethanol, and the solvent was removed to yield a concentrated extract. The extract was subsequently fractionated using liquid-liquid extraction with n-hexane, chloroform, and ethyl acetate (EtOAc). The ethyl acetate fractions were subjected to open-column chromatography for compound isolation. Structural elucidation of the isolated compounds was performed using spectroscopic techniques, including UV, MS, and NMR. Results: Five compounds (1 - 5) were successfully isolated from the ethyl acetate fraction of the leaf extract. The structures of the compounds were elucidated, and identified as trans-ferulic acid (1), myricetin (2), gallic acid (3), myricitrin (4), and hyperoside (5) respectively. Conclusion: Five compounds were successfully isolated from the leaves of Eucalyptus citriodora. The isolated compounds were useful for the quality control of this plant and its relative preparations.

Keywords: *Eucalyptus citriodora, Lemon-scented gum, organic acid, flavonoid*

Received: 05/12/2024
Revised: 25/02/2025
Accepted for publication: 11/3/2025