

CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL FROM THE LEAVES AND TWIGS OF (*PODOCARPUS NERIIFOLIUS* D.DON) IN SON LA PROVINCE

Dao Viet Hung¹, Tran Huy Thai^{2*}, Nguyen Thi Hien², Dinh Thi Thu Thuy³, Tran Thi Tuyen³, Ngu Truong Nhan⁴

¹TNU - University of Agriculture and Forestry, ²Institute of Ecology and Biological Resources – VAST,

³Institute of Natural Products Chemistry - VAST, ⁴Tay Nguyen University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Received: 31/10/2022</p> <p>Revised: 16/5/2023</p> <p>Published: 16/5/2023</p>	<p>The essential oil from the leaves and twigs of the <i>Podocarpus neriifolius</i> was collected in Xuan Nha Nature Reserve, Son La province was obtained by steam distillation. The content of essential oil from leaves and branches of Longleaf pine species reached 0.019% and 0.013% (according to air-dried materials). Essential oils are pale yellow, lighter than water. By means of chromatography-mass spectrometry (GC/MSD), 33 constituents from the essential oil leaves of Long-leaf pine have been identified, accounting for 88.63% of the total crystal content, the main constituents were β-caryophyllene (29.08%), α-humulene (7.03%), beyerene (5.52%), bicyclogermacrene (4.64%), germacrene D (3.90%); 46 constituents from the branches of the twigs of the twigs of the longleaf pine species have been identified, accounting for 97.13% of the total essential oil, the main components of the essential oil include: α-pinene (18.2%), β-caryophyllene (26.48%), E-4,8-dimethylnona-1,3,7-triene (6.13%), α-humulene (6.07%), α-copaene (5.14%), germacrene D (3.73%). This is the first study on the chemical constituents of essential oils from the leaves and twigs of <i>Podocarpus neriifolius</i> in Vietnam.</p>
<p>KEYWORDS</p> <p>Oil</p> <p>Podocarpus neriifolius D.Don</p> <p>Caryophyllene</p> <p>α-humulene</p> <p>Son La</p>	

THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TINH DẦU TỪ LÁ VÀ CÀNH LOÀI THÔNG TRE LÁ DÀI (*PODOCARPUS NERIIFOLIUS* D.DON) Ở SƠN LA

Đào Việt Hùng¹, Trần Huy Thái^{2*}, Nguyễn Thị Hiền², Đinh Thị Thu Thủy³, Trần Thị Tuyền³, Ngũ Trường Nhân⁴

¹Trường Đại học Nông Lâm - ĐH Thái Nguyên,

²Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn lâm khoa học công nghệ Việt Nam

⁴Đại học Tây Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
<p>Ngày nhận bài: 31/10/2022</p> <p>Ngày hoàn thiện: 16/5/2023</p> <p>Ngày đăng: 16/5/2023</p>	<p>Tinh dầu được chưng cất bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước có hồi lưu từ lá và cành của loài Thông tre lá dài, mẫu được thu tại khu bảo tồn thiên nhiên (KBT TN) Xuân Nha, Sơn La. Hàm lượng tinh dầu từ lá và cành loài Thông tre lá dài đạt 0,019% và 0,013% (theo nguyên liệu khô không khí). Tinh dầu có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước. Bằng phương pháp sắc ký khối phổ (GC/MSD) đã xác định được 33 cấu tử từ lá tinh dầu loài Thông tre lá dài chiếm 88,63% tổng lượng tinh, những thành phần chính của tinh dầu gồm: β-caryophyllene (29,08%), α-humulene (7,03%), beyerene (5,52%), bicyclogermacrene (4,64%), germacrene D (3,90%). Đã xác định được 46 cấu tử từ cành của tinh dầu loài Thông tre lá dài chiếm 97,13% tổng lượng tinh dầu, những thành phần chính của tinh dầu gồm: α-pinene (18,2%), β-caryophyllene (26,48%), E-4,8-dimethylnona-1,3,7-triene (6,13%), α-humulene (6,07%), α-copaene (5,14%), germacrene D (3,73%). Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học của tinh dầu loài Thông tre lá dài ở Việt Nam lần đầu tiên được công bố.</p>
<p>TỪ KHÓA</p> <p>Tinh dầu</p> <p>Thông tre lá dài</p> <p>Caryophyllene</p> <p>α-humulene</p> <p>Son La</p>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6829>

* Corresponding author. Email: nguyenthingan@tuaf.edu.vn

1. Giới thiệu

Chi Thông tre (*Podocarpus* L' Her. ex Pers.) thuộc họ Kim giao (Podocarpaceae), trên thế giới, chi này có khoảng 100 loài, phân bố chủ yếu ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới [1]. Ở Việt Nam, theo thời gian thì việc phân loại các loài trong chi vẫn có những quan điểm khác nhau. Theo tài liệu Phạm Hoàng Hộ (1999), chi *Podocarpus* có 4 loài (*P. imbricatus*, *P. brevifolius*, *P. neriifolius*, *P. annamensis*) [2]; theo Phan Kế Lộc (2001), chi này có 3 loài (*P. macrophyllus*, *P. neriifolius* và *P. pilgeri*) [3]; theo Nguyễn Đức Tô Lưu và Nguyễn Tiến Hiệp (2005), chi *Podocarpus* có 2 loài (*P. neriifolius* và *P. pilgeri*) và một số loài như *P. brevifolius*, *P. annamensis*, *P. tixieri* đã từng được ghi nhận ở Việt Nam [4], [5]. Loài Thông tre lá dài (*P. neriifolius* D. Don) là cây gỗ có kích thước trung bình, cao tới 20 m, có cành mọc quanh nhánh non màu lục. Lá mọc so le, hình dải - ngọn giáo, thon hẹp ở hai đầu, có mũi nhọn dài, dài 8-12 cm, rộng 8-12 mm, màu lục sẫm ở trên và lục mốc ở dưới, có gân lồi lên cả 2 mặt, mép lá cong xuống phía dưới, cuống lá dài 3-5 mm, có rãnh ở trên. Cây phân tính khác gốc. Hoa đực riêng rẽ hay xếp 2,3 cái một, không cuống hình trụ, dài 2,5-5 mm; hoa cái đơn độc ở đầu những cuống dài 5-10 mm. Hạt hình trứng, không cân, dài 12 mm, rộng 8 mm, có vỏ dày, nạc, dai, phía dưới có đế hoa mập màu tía, có đường kính bằng hay lớn hơn hạt. Cây phân bố rải rác trong rừng nguyên sinh ở các tỉnh như Lào Cai, Sơn La, Hà Giang, Cao Bằng, Hoà Bình, Quảng Ninh, ngoài ra có thể có ở những vùng núi đá vôi khác ở miền Bắc Việt Nam. Trên thế giới, loài này có gặp ở Ấn Độ, Nam Trung Quốc (Vân Nam), Thái Lan, Lào, Campuchia, Malaysia, Indonesia và Papua New Guinea. Lá và rễ của một số loài trong chi như loài *P. neriifolius* được sử dụng làm thuốc thấp khớp, đau xương khớp và làm cảnh [6].

Đã có một số công trình nghiên cứu trên thế giới nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của tinh dầu một số loài *Podocarpus neriifolius*. Theo Jingjing Wu và cộng sự (2017), một số hợp chất được phân lập và xác định từ lá loài *P. neriifolius* như Neriitide A, Nerilignan là các hợp chất mới cyclopeptide và lignin; ngoài ra còn có một số hợp chất khác như spathulenol, 4a,10a-epoxyaromadendrene, Blumerol C [7]. Theo Nguyen Hoang Sa và cs (2021), từ dịch chiết ethyl acetate từ gỗ loài *P. neriifolius* thu tại Lâm Đồng đã xác định 3 diterpenoids như: inumakiolD, totarol, totarol-19-carboxylic acid [8].

Có một số công bố về tinh dầu các loài trong chi như nghiên cứu của Yang Yang và cộng sự (2018) chỉ ra rằng thành phần hóa học của tinh dầu từ lá loài *Podocarpus nagi* ở Quảng Đông, Trung quốc đã xác định được các thành phần chính của tinh dầu gồm α -pinene (5,59%), β -elemene (9,57%), α -elemene (7,10%), caryophyllene (2,23%), α -cadinene (10,04%), 4-isopropenylidene - 1-vinylmenthene (53,82%). Tinh dầu có khả năng kháng tế bào ung thư vòm họng, kháng khuẩn *saccharomyces cerevisiae*, *blastomyces albicans* [9]. Kur-Ta Cheng và cộng sự (2007) cho thấy hợp chất mới thuộc nhóm biflavonoid từ loài *Podocarpus macrophyllus var. macrophyllus* có tác dụng kháng enzym tyrosinase và điều chỉnh các protein và mRNA liên quan đến men tyrosinase trong các tế bào biểu mô ở người [10]. Tuy nhiên, đến thời điểm này chưa có công trình khoa học nào ở trong nước nghiên cứu về thành phần hóa học tinh dầu các loài của loài Thông tre lá dài (*Podocarpus neriifolius*). Trong bài báo này chúng tôi công bố những thông tin mới về thành phần hóa học của tinh dầu từ lá và cánh loài Thông tre lá dài thu mẫu tại Khu bảo tồn thiên nhiên (KBT TN) Xuân Nha, Sơn La.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu là lá và cành của loài Thông tre lá dài (*Podocarpus neriifolius* D. Don), thu vào tháng 01/2022 tại KBT TN Xuân Nha, Sơn La. Mẫu được kí hiệu là TNTV 25, được lưu giữ và giám định bởi TS. Đỗ Văn Hải Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Hàm lượng tinh dầu (%) được tính theo nguyên liệu khô không khí (khô ngoài không khí) và nguyên liệu khô tuyệt đối (nguyên liệu đã trừ độ ẩm, được sấy ở 100 - 105°C trong thời gian khoảng 30 phút cho đến khi khối lượng nguyên liệu không đổi), được tính theo công thức $X = a.100/b$ [a: thể tích tinh dầu (ml), b: khối lượng nguyên liệu (g)] [11] và được xác định bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có hồi lưu trong thiết bị Clevenger. Định tính theo phương pháp sắc ký khí khối phổ (GC/MSD). Định lượng theo phương pháp sắc ký khí và detector ion hóa ngọn lửa (GC/FID). Tinh dầu được làm khan bằng Na_2SO_4 và để trong tủ lạnh ở nhiệt độ < 5°C. Thiết bị GC-MSD: Sắc ký khí Agilent 7890A ghép nối với Mass Selective Detector Agilent 5975C và detector ion hóa ngọn lửa FID, cột HP-5MS có kích thước (60 m × 0,25 mm × 0,25 μm). Chương trình nhiệt độ với điều kiện 60°C tăng nhiệt độ 4°C/phút cho đến 240°C. Khí mang He. Nhiệt độ buồng chuyển tiếp là 270°C, phá mảnh hoàn toàn với hiệu điện thế đầu dò là 70 eV và dây phổ 35-450Da ở 4 lần quét/giây. Các thành phần được xác định dựa trên hệ số lưu giữ của chúng (tính toán theo dãy đồng đẳng n-alkane) và so sánh phổ khối của chúng với dữ liệu phổ khối chất chuẩn lưu trong thư viện phổ (HPCH1607, NIST08, Wiley09). Hàm lượng tương đối của các thành phần được tính toán dựa trên diện tích peak thu được từ sắc ký đồ FID. Phần mềm xử lý dữ liệu được sử dụng là Chemstation và phần mềm xử lý phổ khối là Mass Finder 4.0 [12].

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

Tinh dầu thu được là chất lỏng có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước. Hàm lượng tinh dầu từ lá và cành loài Thông tre lá ngắn đạt 0,019% và 0,013% (theo nguyên liệu khô không khí).

Thành phần hóa học của tinh dầu từ lá và cành loài Thông tre lá dài được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần hóa học của tinh dầu từ lá và cành loài Thông tre lá dài

TT	RI	RI ^a	Hợp chất	Tỷ lệ %	
				Lá	Cành
1	851	854	E-hex-3-en-1-ol	0,42	-
2	939	939	α -pinene	3,30	18,2
3	977	979	1-octen-3-ol	4,61	0,94
4	978	975	sabinene	-	0,11
5	985	979	β -pinene	-	0,90
6	992	991	myrcene	0,60	1,96
7	1034	1029	limonene	0,28	1,20
8	1036	1030	β -phellandrene	0,27	0,94
9	1049	1050	E- β -ocimene	-	0,17
10	1094	1089	terpinolene	-	0,18
11	1101	1097	linalool	0,20	-
12	1105	1101	nonanal	-	0,13
13	1118	1103	E-4,8-dimethylnona-1,3,7-triene	1,27	6,13
14	1176	1169	Borneol (endo-borneol)	0,20	0,30
15	1198	1189	α -terpineol	-	0,41
16	1205	1196	methyl chavicol (estragole)	0,26	-
17	1256	1253	geraniol	1,26	-
18	1298	1287	safrole	-	0,18
19	1361	1351	α -cubebene	2,77	3,95
20	1390	1377	α -copaene	4,27	5,14
21	1401	1388	β -bourbonene	0,82	-
22	1404	1388	β -cubebene	-	0,96
23	1404	1391	cis- β -elemene	1,40	-
24	1438	1419	E-caryophyllene(β -caryophyllene)	29,08	26,48
25	1446	1434	β -gurjunene (calarene)	0,34	0,23
26	1461	1443	Z- β -farnesene	-	0,24
27	1472	1455	α -humulene	7,03	6,07
28	1491	1480	γ -muurolene	0,40	0,47

TT	RI	RI ^a	Hợp chất	Tỷ lệ %	
				Lá	Cành
29	1499	1485	germacrene D	3,73	3,90
30	1506	1490	β -selinene	-	0,74
31	1511	1496	γ -amorphene	-	0,31
32	1513	1506	E-E- α -farnesene	0,48	0,72
33	1515	1500	α -muurolene	-	0,53
34	1515	1500	bicyclogermacrene	4,83	-
35	1532	1514	γ -cadinene	0,46	0,73
36	1532	1519	myristicine	-	0,97
37	1537	1523	δ -cadinene	1,10	0,94
38	1570	1563	E-nerolidol	2,60	1,81
39	1597	1578	spathulenol	0,83	0,40
40	1605	1583	caryophyllene oxide	1,80	1,65
41	1637	1621	dill apiole	-	0,96
42	1647	1629	1-epi-cubenol	0,42	0,40
43	1660	1642	epi- α -muurolol (T-muurolol)	-	0,69
44	1663	1646	α -muurolol (δ -cadinol)	-	0,34
45	1673	1654	α -cadinol	-	0,57
46	1673		unknown (81,236, RI 1673)	1,22	-
48	1690	1670	E-14-hydroxy-9-epi-caryophyllene	-	0,31
49	1766	1711	E-ethyl-para-methoxycinnamate	1,45	1,91
50	1961	1934	rosa-5,15-diene	2,98	0,35
51	1966	1932	beyerene	5,52	0,46
52	1973	1934	isohibaene	-	1,01
53	1997	1950	pimara-8(14),15-diene	2,46	
54	1997	1969	Sandracopimara-8(14),15-diene	-	1,22
55	2116	2088	abietadiene	-	0,66
56	2346	2311	abietal	-	0,28
			Tổng	88,63	97,13
			Các monoterpene	5,82	28,89
			Các monoterpene với dẫn xuất oxy	6,75	2,86
			Các secquiterpene	59,45	54,93
			Các secquiterpene với dẫn xuất oxy	5,65	6,82
			Các diterpenoid	10,96	3,63

Ghi chú: RI: Retention index; Chỉ số lưu giữ tính toán bằng phần mềm của mẫu thử, RI^a: Tham khảo từ thư viện HPCH 1067 (cột HP5), Koenig (cột HP1).

Từ Bảng 1 ta thấy, bằng phương pháp sắc ký khối phổ (GC/MSD), đã xác định được 33 cấu tử từ tinh dầu lá loài Thông tre lá dài, chiếm 88,63% tổng lượng tinh dầu. Những thành phần chính của tinh dầu gồm: β -caryophyllene (29,08%), α -humulene (7,03%), beyerene (5,52%), bicyclogermacrene (4,64%), germacrene D (3,90%). Trong tinh dầu, các hợp chất thuộc nhóm monoterpene và dẫn xuất chứa oxy chiếm 12,57% và các hợp chất thuộc nhóm secquiterpene và dẫn xuất chứa oxy chiếm 65,1%. Các hợp chất thuộc nhóm diterpenoid chiếm 10,96%.

Tương tự đã xác định được 46 cấu tử từ cành loài Thông tre lá dài chiếm 97,13% tổng lượng tinh dầu. Những thành phần chính của tinh dầu gồm: α -pinene (18,2%), β -caryophyllene (26,48%), E-4,8-dimethylnona-1,3,7-triene (6,13%), α -humulene (6,07%), α -copaene (5,14%), germacrene D (3,73%). Trong tinh dầu, các hợp chất thuộc nhóm monoterpene và dẫn xuất chứa oxy chiếm 31,75% và các hợp chất thuộc nhóm secquiterpene và dẫn xuất chứa oxy chiếm 61,79%, các hợp chất diterpenoid chiếm 3,63%.

Như vậy, về cơ bản những thành phần chính của tinh dầu từ lá và cành là khá giống nhau, tuy nhiên hàm lượng của từng hợp chất có sự khác nhau như α -pinene (3,30% - 18,2%), β -caryophyllene (26,48% - 29,08%), α -humulene (6,07% - 7,03%), beyerene (0,46% - 5,52%),

germacrene D (3,73% - 3,90%), *E*-4,8-dimethylnona-1,3,7-triene (1,27% - 6,13%). Tuy nhiên, số lượng hợp chất từ lá là 33 và cành là 46; một số hợp chất với hàm lượng nhỏ chỉ có ở lá như linalool, methyl chavicol, geraniol, rimuene...; một số hợp chất với hàm lượng nhỏ khác lại chỉ có ở cành như α -terpineol, abietadiene, abietal,...

Đặc biệt, hợp chất diterpenoid trong tinh dầu từ cành và lá cũng khá cao từ 3,63% - 10,96%. Đây là kết quả đáng mừng cho các nghiên cứu tiếp theo.

4. Kết luận

Hàm lượng tinh dầu từ lá và cành loài Thông tre lá dài đạt 0,019% và 0,013% (theo nguyên liệu khô không khí). Tinh dầu có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước. Bằng phương pháp sắc ký khối phổ (GC/MSD), 33 cấu tử từ tinh dầu từ lá loài Thông tre lá dài chiếm 88,63% tổng lượng tinh dầu đã được xác định. Những thành phần chính của tinh dầu gồm: β -caryophyllene (29,08%), α -humulene (7,03%), beyerene (5,52%), bicyclogermanene (4,64%), germacrene D (3,90%). Có 46 cấu tử từ tinh dầu cành loài Thông tre lá dài chiếm 97,13% tổng lượng tinh dầu đã được xác định. Những thành phần chính của tinh dầu gồm: α -pinene (18,2%), β -caryophyllene (26,48%), *E*-4,8-dimethylnona-1,3,7-triene (6,13%), α -humulene (6,07%), α -copaene (5,14%), germacrene D(3,73%). Đây là nghiên cứu đầu tiên về thành phần hóa học của tinh dầu từ lá và cành loài Thông tre lá dài ở Việt Nam.

Lời cảm ơn

Công trình được thực hiện nhờ sự hỗ trợ kinh phí của Nhiệm vụ UQĐT/CB.05/22-24.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] Podocarpus – the plant list. (<http://www.the.plantlist.org>).
- [2] H. H. Pham, *Common plants in Vietnam*, vol. 1, Montreal publishing house, 1999, pp. 277-278.
- [3] L. K. Phan, T. V. Pham, K. S. Nguyen, H. T. T. Nguyen, and L. V. Averyanov, "Excerpts updated on the Conifers that grow naturally in Vietnam," *The 5th National Scientific Conference on Ecology and Biological Resources*, Agriculture Publishing House, 2013, pp. 135-143.
- [4] L. T. D. Nguyen and P. Ian Thomas, *Coniferous trees in Vietnam*. The gioi Publishing House, 2004.
- [5] H. T. Nguyen, L. K. Phan, L. T. D. Nguyen, P. Ian Thomas, A. Farjon, L. Averyanov, and J. Regarodo, *Vietnamese conifers study conservation status 2004*. Social Labor Publishing House, 2005, pp. 98-101.
- [6] C. V. Vo, *Common botanical dictionary*, vol. 2, Science and Technology Publishing House, 2004, pp. 1990-1991.
- [7] J. Wu, H. Li, G. Huang, and Y. Cheng, "A new cyclopeptide and new lignin from *Podocarpus neriifolius*," *Natural Product Research*, vol. 31, no. 2, pp. 239-244, 2017.
- [8] S. H. Nguyen, T. T. Nguyen, A. H. T. Nguyen, T. D. Dao, Q. D. Tran, P. T. Dinh, S. V. Tran, and T. T. Trinh, "Diterpenoids from the wood of *Podocarpus neriifolius*," *Viet nam Journal of Chemistry*, vol. 54, no. 4, pp. 448-490, 2016.
- [9] Y. Yang, J. Yong, and C. Lu, "Chemical and biological progress of *Podocarpus nagi*," *Biomedical Research and Reviews*, vol. 2, no. 3, pp. 1-5, 2018.
- [10] K. T. Cheng, F.-L. Hsu, S.-h. Chen, and P.- K. Hsieh, "New constituent from *Podocarpus macrophyllus* var. *macrophyllus* shows anti-tyrosinase effect and regulates tyrosinase related proteins and mRNA in human epidermal melanocytes," *Chemical & pharmaceutical Bulletin*, vol. 55, no. 5, pp. 757-761, 2007.
- [11] Ministry of Health, *Vietnam Pharmacopoeia*, vol. 1, Medicine Publishing House, pp. 733-734, 1977.
- [12] R. P. Adams, *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*, Allured Publishing Corporation, 2004.