

CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL FROM THE LEAVES AND TWIGS OF (*PODOCARPUS PILGERI* FOXW.) IN SON LA PROVINCE

Tran Huy Thai¹, Vu Thi Thu Le^{3*}, Dao Viet Hung³, Nguyen Thi Hien¹

Dinh Thi Thu Thuy², Trinh Xuan Thanh¹

¹Institute of Ecology and Biological Resources – VAST,

²Institute of Natural Products Chemistry – VAST,

³TNU - University of Agriculture and Forestry

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 23/8/2022	The essential oil from the leaves and twigs of the <i>Podocarpus pilgeri</i> was collected in Xuan Nha Nature Reserve, Van Ho, Son La province was obtained by steam distillation. The yield of essential oil from the leaves and twigs was 0.057% and 0.073% in term of air-dry material. Essential oil are pale yellow and lighter than water. By using GC/MS analysis, there were 38 constituents from leaves were identified accounted for 99.87% of essential oil by weight. The main constituents were α -pinene (32.83%), β -caryophyllene (8.40%), dolabradene (10.96%), 16-kaurene (19.94%). Similarly, 47 constituents from twigs were identified and accounting 98.27% of essential oil. The main constituents of the essential from twigs were α -pinene (56.37%), β -caryophyllene (5.80%), dolabradene (4.26%), α -copaene (3.86%). Research results on chemical composition of leaves and branches of short-leaf pine essential oil were first published in Vietnam.
Revised: 26/10/2022	
Published: 26/10/2022	
KEYWORDS	
Oil	
Short-leaf pine	
Dolabradene	
16-kaurene	
Son La	

THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TINH DẦU TỪ LÁ VÀ CÀNH LOÀI THÔNG TRE LÁ NGẮN (*PODOCARPUS PILGERI* FOXW.) Ở SƠN LA

Trần Huy Thái¹, Vũ Thị Thu Lê^{3*}, Đào Việt Hùng³, Nguyễn Thị Hiền¹

Dinh Thị Thu Thủy², Trịnh Xuân Thành¹

¹Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Trường Đại học Nông Lâm - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 23/8/2022	Tinh dầu từ lá và cành của loài Thông tre lá ngắn (<i>Podocarpus pilgeri</i>) thu mẫu tại Khu bảo tồn thiên nhiên (KBT TN) Xuân Nha, Vân Hồ, Sơn La, được chưng cất bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước. Hàm lượng tinh dầu từ lá và cành loài Thông tre lá ngắn tương ứng đạt 0,057% và 0,073% (theo nguyên liệu khô không khí). Tinh dầu có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước. Bằng phương pháp sắc ký khối phổ (GC/MS) đã xác định được 38 cấu tử từ tinh dầu lá loài Thông tre lá ngắn, chiếm 99,87% tổng lượng tinh dầu, những thành phần chính của tinh dầu gồm: α -pinen (32,83%), β -caryophyllene (8,40%), dolabradene (10,96%), 16-kaurene (19,94%); tương tự xác định được 47 cấu tử từ tinh dầu cành loài Thông tre lá ngắn chiếm 98,27% tổng lượng tinh dầu; những thành phần chính của tinh dầu gồm: α -pinen (56,37%), β -caryophyllene (5,80%), dolabradene (4,26%), α -copaene (3,86%). Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học lá và cành của tinh dầu loài Thông tre lá ngắn lần đầu tiên công bố ở Việt Nam.
Ngày hoàn thiện: 26/10/2022	
Ngày đăng: 26/10/2022	
TỪ KHÓA	
Tinh dầu	
Thông tre lá ngắn	
Dolabradene	
16-kaurene	
Sơn La	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6392>

* Corresponding author. Email: vuthithule@tnu.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], [2]. Ở Việt Nam, vẫn có những quan điểm khác nhau về số lượng loài của chi này. Theo tài liệu của Phạm Hoàng Hộ (1999), chi *Podocarpus* có 4 loài (*Podocarpus imbricatus*, *Podocarpus brevifolius*, *Podocarpus neriifolius*, *Podocarpus annamensis*) [3]. Tác giả Phan Kế Lộc (2001) cho rằng, chi này có 3 loài (*Podocarpus macrophyllus*, *Podocarpus neriifolius* và *Podocarpus pilgeri* syn) [4]. Theo Nguyễn Đức Tố Lưu và Nguyễn Tiến Hiệp (2005), chi *Podocarpus* có 2 loài (*Podocarpus neriifolius* và *Podocarpus pilgeri*) và một số loài như *Podocarpus brevifolius*, *Podocarpus annamensis*, *Podocarpus tixieri* đã từng được ghi nhận ở Việt Nam [5], [6]. Loài *Podocarpus pilgeri* là cây gỗ nhỏ, cao 10-15 m, lá mọc cách, thường mọc chụm ở đầu cành, hình bầu dục mác, dài 1,5-5,0 cm, rộng 0,3-1,2 cm, mép nguyên, tròn, đôi khi nhọn ở đầu. Cây đơn tính khác gốc, nón đực mọc đơn độc hay chụm 2 hình trụ, dài 1,5-5 cm, gần như không cuống, nón cái mọc đơn độc ở nách lá, có cuống dài 3-13 mm. Hạt hình cầu, đường kính 7-10 mm. Cây phân bố ở các vùng núi thấp của núi đá vôi như Lào Cai, Sơn La, Hà Giang, Cao Bằng, Hoà Bình, Quảng Ninh, có thể có ở những vùng núi đá vôi khác ở miền Bắc Việt Nam. Trên thế giới, loài này có 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 *Podocarpus neriifolius* được sử dụng làm thuốc thấp khớp, đau xương khớp và làm cảnh [5]-[7].

Đã có một số công trình trên thế giới nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của tinh dầu một số loài trong chi *Podocarpus*. Nghiên cứu về thành phần hóa học của loài *Podocarpus imbricatus*, S. Gu và cộng sự (1995) đã xác định được 12 hợp chất thuộc nhóm flavonoid như imbricataflavone A, imbricataflavone B, robustaflavone, podocarpus flavone A từ loài [8]. 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 enzyme tyrosinase và điều chỉnh các protein và mRNA liên quan đến men tyrosinase trong các tế bào biểu mô ở người [9].

Seham El-Hawary và cộng sự (2015) đã nghiên cứu thành phần hóa học của tinh dầu 3 loài trong chi Podocarpus. Thành phần chính trong tinh dầu từ lá loài *Podocarpus macrophyllus* là β -pinene (3,17%), β -caryophyllene (41,81%), humulene (9,69%), τ -elemene (14,63%); với loài *Podocarpus gracilior* thành phần chính là α -pinene (6,12%), β -caryophyllene (23,54%), germacreneD (12,06%), α -muurolene (7,22%), δ -cadinene (6,49%), loài *Podocarpus elongates* thì β -caryophyllene (9,88%), germacrene D (14,36%), α -muurolene (7,33%) [10]. Các hợp chất thuộc nhóm sesquiterpene là thành phần chính của tinh dầu 3 loài nói trên chiếm từ 72,5 - 84,6% tổng lượng tinh dầu. Tinh dầu từ 3 loài trên đều có tác dụng kháng vi sinh vật kiểm định, trong đó tinh dầu loài *Podocarpus macrophyllus* và *Podocarpus gracilior* có hoạt tính kháng *Staphylococcus aureus* và *Salmonella typhimurium* với MIC lần lượt là 1,13 mg/mL và 1,09 mg/mL [10].

Theo Yang Yang và cộng sự (2018), thành phần hóa học chính của tinh dầu từ lá loài *Podocarpus nagi* ở Quảng Đông, Trung Quốc, đã xác định 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%). Ngoài tinh dầu còn có một số nhóm chất khác được tách từ thân cây như flavonoids, steroid, lactone. Tinh dầu thu được từ lá của loài này có khả năng kháng tế bào ung thư vòm họng, kháng khuẩn *saccharomyces cerevisiae*, *blastomyces albicans* [11].

Tuy vậy, chưa có công trình khoa học nào trên thế giới và trong nước nghiên cứu về thành phần hóa học tinh dầu của loài *Podocarpus pilgeri*. 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 ngắn thu mẫu tại Khu bảo tồn thiên nhiên Xuân Nha, Vân Hồ, 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 ngắn (*Podocarpus pilgeri*), thu vào tháng 01/2022 tại KBTTN Xuân Nha, Vân Hồ, Sơn La. Mẫu được kí hiệu là TNTV 15, 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 (%) tính theo nguyên liệu khô không khí (khô ngoài không khí), 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 và định lượng theo phương pháp sắc ký khí khối phổ (GC/MS). Tinh dầu được làm khan bằng Na_2SO_4 và để trong tủ lạnh ở nhiệt độ $< 5^\circ\text{C}$. Thiết bị GC-MSD: Sắc ký khí Agilent 7890A ghép nối với Mass Selective Detector Agilent 5975C, cột HP-5MS có kích thước (60 m $\times$ 0,25 mm $\times$ 0,25 μm). Chương trình nhiệt độ với điều kiện 60°C tăng nhiệt độ $4^\circ\text{C}/\text{phút}$ 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 (HPCHEM1607, NIST08, Wiley09). Hàm lượng tương đối của các thành phần được tính toán dựa trên diện tích pic thu được từ sắc ký đồ. 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

Hàm lượng tinh dầu từ lá và cành loài Thông tre lá ngắn đạt 0,057% và 0,073% (theo nguyên liệu khô không khí). Tinh dầu là chất lỏng có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước.

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

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

STT	RI	RI ^a	Cấu tử tinh dầu	Tỷ lệ%	
				Lá	Cành
1	928	927	tricyclene	-	0,18
2	939	940	α -pinene	32,83	56,37
3	956	954	camphene	-	0,13
4	960	960	thuja-2,4(10)-diene	-	0,17
5	976	979	1-octen-3-ol	1,01	0,36
6	978	975	sabinene	-	0,17
7	984	979	β -pinene	1,03	1,85
8	992	991	myrcene	2,04	3,39
9	1010	1003	α -phelladrene	-	0,10
10	1029	1026	0-cymene	-	0,10
11	1033	1029	limonene	1,06	1,84
12	1035	1030	β -phellandrene	0,93	1,62
13	1049	1050	Z- β -ocimene	0,61	1,05
14	1094	1089	terpinolene	0,15	0,30
15	1101	1109	linalool	0,29	-
16	1118	1103	E- 4,8-dimethylnona-1,3,7-triene	-	0,18
17	1133	1126	α -campholenal	-	0,18
18	1149	1142	trans- sabinol	-	0,24
19	1173	1170	p – mentha- 1,5-dien-8-ol	-	0,32
20	1198	1189	α -terpineol	0,28	0,47
21	1205	1196	myrtenol	0,19	0,28
22	1207	1196	myrtenal	-	0,23
23	1208	1190b	α -camphorlenol	0,13	-
24	1220	1205	verbenone	-	0,46
25	1225	1217	trans-carveol	-	0,12

STT	RI	RI ^a	Cấu tử tinh dầu	Tỷ lệ%	
				Lá	Cành
26	1256	1253	geraniol	0,22	-
27	1361	1351	α -cubebene	2,71	2,86
28	1391	1377	α -copaene	3,42	3,86
29	1404	1388	β -cubebene	0,76	0,63
30	1439	1419	<i>E</i> - caryophyllene (β - caryophyllene)	8,40	5,80
31	1462	1443	<i>Z</i> - β -farnesene	0,18	0,15
32	1466	1445b	β -barbetene	-	0,18
33	1473	1455	α -humulene	1,75	1,10
34	1482	1451	α -himachalene	-	0,88
35	1491	1477	trans-cadina-1,6-4-diene	-	0,46
36	1492	1480	γ - muurolene	0,43	-
37	1500	1485	germacrene D	2,44	2,14
38	1506	1494	α -zingiberene	0,22	0,20
39	1513	1494	trans-muurola-4(14),5-diene	0,73	-
40	1515	1506	<i>E-E</i> - α -farnesene	0,65	1,03
41	1516	1500	α -muurolene	0,56	0,45
42	1532	1514	γ -cadinene	0,14	-
43	1535	1519	myristicine	0,14	-
44	1537	1523	δ -cadinene	0,59	0,51
45	1573	1563	<i>E</i> - nerolidol	0,11	0,11
46	1608	1583	caryophyllene oxide	0,44	0,37
47	1651	1629	1-epi-cubenol	0,24	0,16
48	1660	1642	epi- α -muuronol (T- muuronol)	0,18	0,18
49	1678	1654	α -cadinol	0,21	0,10
50	1681	1666b	<i>Z</i> -heptadec-8-ene	-	0,14
51	1982	1934	rosa-5,15-diene	2,91	0,76
52	1998	1955b	pimara -8 (14),15-diene	0,58	0,15
53	2020	2010b	isopimara-7,15-diene	0,39	-
54	2069	2017b	dolabradiene	10,96	4,26
55	2081	2043	kaurene	-	1,73
56	2117	2056b	16-kaurene	19,94	
			Tổng	99,87	98,27
			Các monoterpene	38,82	67,38
			Các monoterpene với dẫn xuất oxy	2,12	2,20
			Các sesquiterpene	22,97	20,87
			Các sesquiterpene với dẫn xuất oxy	1,18	0,92
			Hợp chất diterpenoid	34,78	6,90

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.

Bằng phương pháp sắc ký khối phổ (GC/MS), 38 cấu tử của tinh dầu từ lá loài Thông tre lá ngắn đã được xác định, chiếm 99,87% tổng lượng tinh dầu (bảng 1). Những thành phần chính của tinh dầu từ lá gồm: α -pinen (32,83%), β -caryophyllene (8,40%), dolabradiene (10,96%), 16-kaurene (19,94%). Trong đó, các cấu tử thuộc nhóm monoterpene và dẫn xuất chứa oxy chiếm 40,94% và các cấu tử thuộc nhóm sesquiterpene và dẫn xuất chứa oxy chiếm 24,15%; các cấu tử diterpenoid chiếm 34,78%.

Đã xác định được 47 cấu tử của tinh dầu cành loài Thông tre lá ngắn, chiếm 98,27% tổng lượng tinh dầu. Những thành phần chính của tinh dầu gồm: α -pinen (56,37%), β -caryophyllene (5,80%), dolabradiene (4,26%), α -copaene (3,86%), 16-kaurene (1,73%). Trong đó, các cấu tử thuộc nhóm

monoterpene và dẫn xuất chứa oxy chiếm 69,58%; các cấu tử thuộc nhóm sesquiterpene và dẫn xuất chứa oxy chiếm 21,79%; các cấu tử diterpenoid chiếm 6,90%.

Như vậy, về cơ bản thành phần chính của tinh dầu từ lá và cành khá giống nhau, tuy nhiên hàm lượng của từng cấu tử có sự biến động ít nhiều như α -pinen (32,83% : 56,37%), β -caryophyllene (5,80% : 8,40%), dolabradene (4,26% : 10,96%), 16-kaurene (1,73% - 19,94%). Về sự sai khác, số lượng cấu tử trong tinh dầu từ lá (38 cấu tử) ít hơn so với cành (47 cấu tử); một số hợp chất với hàm lượng nhỏ chỉ có ở lá như linalool, α -campholenal, geranyl acetate...; một số hợp chất với hàm lượng nhỏ khác lại chỉ có ở cành như camphene, sabinene, o-cymene...

Đáng chú ý là hợp chất diterpene trong tinh dầu từ cành và lá cũng khá cao từ 6,90% - 34,78%. Đây cũng là sự khác biệt từ tinh dầu của loài *Podocarpus pilgeri* ở Việt Nam khác với thành phần hóa học của tinh dầu các loài trong chi *Podocarpus* mà các nhà khoa học Ai Cập và Trung Quốc đã công bố [7], [10].

4. Kết luận

Hàm lượng tinh dầu từ lá và cành loài Thông tre lá ngắn đạt 0,057% và 0,073% (theo nguyên liệu khô không khí). Tinh dầu có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước.

Đã xác định được 38 cấu tử từ tinh dầu lá loài Thông tre lá ngắn, chiếm 99,87% tổng lượng tinh dầu. Những thành phần chính của tinh dầu gồm: α -pinen (32,83%), β -caryophyllene (8,40%), dolabradene (10,96%), 16-kaurene (19,94%).

Còn với tinh dầu cành loài Thông tre lá ngắn, có 47 cấu tử chiếm 98,27% tổng lượng tinh dầu đã được xác định. Những thành phần chính của tinh dầu gồm: α -pinen (56,37%), β -caryophyllene (5,80%), dolabradene (4,26%), α -copaene (3,86%).

Đây là nghiên cứu đầu tiên về thành phần hóa học của tinh dầu từ lá và cành loài Thông tre lá ngắn được công bố ở Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] J. M. Kalwij and M. Palmer, "Review of "The Plant List, a working list of all plant species," *Journal of Vegetation Science*, vol. 23, no. 5, 2012, doi: 10.1111/j.1654-1103.2012.01407.x.
- [2] <http://www.efloras.org>. Podocarpus in flora of China.
- [3] H. H. Pham, *Common plants in Vietnam*, vol. 1, Montreal publishing house, pp. 277-278, 1999.
- [4] Hanoi National University, *List of plant species in Vietnam*, vol. 1, Agriculture Publishing House, pp. 1163-1164, 2001.
- [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, pp. 98-101, 2005.
- [6] L. T. D. Nguyen and P. Ian Thomas, *Coniferous trees in Vietnam*. The gioi Publishing House, 2004.
- [7] C. V. Vo and H. Tran, *Beneficial plants in Vietnam*, vol. 1, Vietnam Education Publishing house, pp 184-186, 1999.
- [8] S. Gu, L. Xu, and N. Sun, "Chemical compositions of *Podocarpus imbricatus*," *National Library of Medicine*, vol. 20, no. 2, pp.105-106, 1995.
- [9] 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.
- [10] S. El-Hawary, K. Taha, F. Kirillos, A. Dahab, N. Saleh, and A. El-Mahis, "Molecular identification, GC/MS and Antimicrobial activity of the essential oils and extracts of three *Podocarpus* species," *International Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, vol. 30, no. 2, pp. 1360-1369, 2015.
- [11] 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.
- [12] R. P. Adams, *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. Allured Publishing Corporation, 2004.