

NGHIÊN CỨU CHUYỂN HÓA XANH CINNAMALDEHYDE TỪ TINH DẦU QUẾ THÀNH BENZALDEHYDE SỬ DỤNG XÚC TÁC 2-HYDROXYPROPYL- β -CYCLODEXTRIN

HOÀNG THỊ HẠ TRANG¹ - TRẦN VŨ TRỌNG¹ - BÙI THANH NHÃ¹ - HOÀNG HỮU HIỆP¹ -
NGUYỄN VĂN ANH¹ - NGUYỄN TRUNG DŨNG¹ - CAO HỒNG HÀ^{1,*}

¹Trường Hóa và Khoa học Sự sống, Đại học Bách khoa Hà Nội

¹School of Chemistry and Life Sciences, Hanoi University of Science and Technology

Email: ha.caohong@hust.edu.vn

Ngày nhận bài: 18/5/2026

Ngày sửa bài: 8/6/2026

Ngày duyệt đăng bài: 19/6/2026

Tóm tắt:

Nghiên cứu nhằm xây dựng quy trình chuyển hóa xanh trans-cinnamaldehyde (CA) từ tinh dầu quế thành benzaldehyde (BA) sử dụng xúc tác 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (2-HP- β -CD). Xúc tác được tổng hợp từ β -cyclodextrin và đặc trưng bằng phổ hồng ngoại FT-IR. Phản ứng oxy hóa sử dụng H_2O_2 được thực hiện nhằm chuyển hóa CA thành BA, đồng thời khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ, thời gian phản ứng, tỷ lệ mol H_2O_2 :CA, lượng xúc tác và dung môi propylene glycol (PG) để xác định điều kiện tối ưu. Kết quả cho thấy điều kiện thích hợp là 70°C, 90 phút, tỷ lệ mol H_2O_2 :CA là 3:1 và tỷ lệ khối lượng xúc tác/CA là 1,5:1 trong môi trường có PG. Ở điều kiện này, độ chuyển hóa CA đạt 62%, độ chọn lọc BA đạt 54% và hiệu suất thu hồi BA đạt 33%. Hệ xúc tác 2-HP- β -CD kết hợp với PG cải thiện khả năng hòa tan CA, nâng cao hiệu quả chuyển hóa và cho thấy tiềm năng ứng dụng trong tổng hợp benzaldehyde theo định hướng hóa học xanh từ nguồn nguyên liệu tự nhiên.

Từ khóa: cinnamaldehyde, benzaldehyde, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, chuyển hóa xanh.

Green conversion of cinnamaldehyde from cinnamon essential oil into benzaldehyde using 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin as a catalyst

Abstract:

This study aims to develop a green process for converting trans-cinnamaldehyde (CA) derived from cinnamon essential oil into benzaldehyde (BA) using 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (2-HP- β -CD) as a catalyst. The catalyst was synthesized from β -cyclodextrin and characterized by Fourier-transform infrared spectroscopy. An oxidation reaction using H_2O_2 was conducted to convert CA into BA, while the effects of temperature, reaction time, H_2O_2 -to-CA molar ratio, catalyst amount, and propylene glycol (PG) as a solvent were investigated to determine the optimal conditions. The results show that the appropriate conditions are 70°C, a reaction time of 90 minutes, an H_2O_2 -to-CA molar ratio of 3:1, and a catalyst-to-CA mass ratio of 1.5:1 in the presence of PG. Under these conditions, CA conversion reached 62%, BA selectivity reached 54%, and BA yield reached 33%. The combination of 2-HP- β -CD and PG improved the solubility of CA, enhanced conversion efficiency, and demonstrated potential for the green synthesis of benzaldehyde from natural feedstocks.

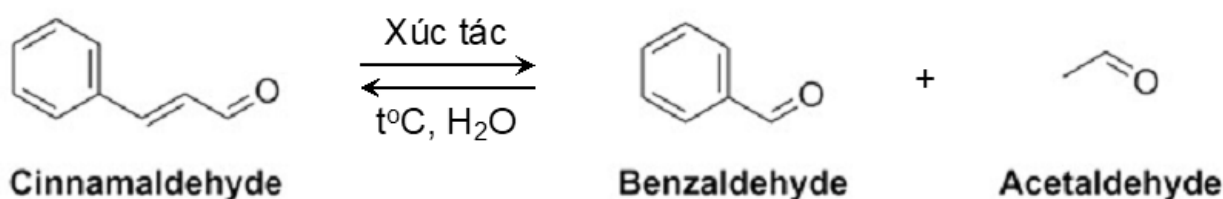
Keywords: cinnamaldehyde, benzaldehyde, 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin, green conversion.

1. Đặt vấn đề

Benzaldehyde (BA) từ tự nhiên hoặc qua quá trình chuyển hóa xanh từ nguyên liệu tự nhiên là aldehyde thơm đơn giản nhất và là hương liệu được tiêu thụ phổ biến thứ hai trên thế giới (chỉ sau vanilla). Benzaldehyde là nguyên liệu đóng vai trò quan trọng trong ngành công nghiệp thực phẩm, mỹ phẩm và dược phẩm. Phần lớn BA trên thị trường hiện nay được sản xuất thông qua các con đường hóa dầu truyền thống như oxy hóa toluene pha lỏng hoặc clo hóa, tạo ra các phụ phẩm độc hại không đáp ứng được tiêu chuẩn an toàn cho thực phẩm (Hardy, 1948). Trong bối cảnh hướng tới sự phát triển bền vững, xu hướng tổng hợp BA có nguồn gốc tự nhiên từ sinh khối đang thu hút nhiều sự quan tâm (Buck et al., 1987).

Trans - Cinnamaldehyde (CA), thành phần chính chiếm từ 70-95% tinh dầu quế (*Cinnamomum cassia*), là một tiền chất lý tưởng để tổng hợp BA tự nhiên thông qua quá trình phân cắt retro-aldol hoặc oxy hóa (Buck et al., 1987; Wright & Abbot, 1993), Hình 1.

Hình 1. Phản ứng chuyển hóa cinnamaldehyde thành benzaldehyde



Trong đó, quá trình oxy hóa sử dụng hydrogen peroxide (H_2O_2) được đánh giá là con đường “hóa học xanh” ưu việt do sản phẩm phụ duy nhất sinh ra là nước. Mặc dù vậy, hạn chế lớn nhất của CA là tính kỵ nước mạnh, gây ra hiện tượng tách pha trong môi trường phản ứng nước, dẫn đến tốc độ phản ứng chậm và hiệu suất thấp (Buck et al., 1987; Wright & Abbot, 1993). Để giải quyết vấn đề này, β -cyclodextrin (β -CD) và các dẫn xuất của nó, với cấu trúc hình nón cụt rỗng mang “khoang” kỵ nước và bề mặt ưa nước, được sử dụng như những xúc tác siêu phân tử ưu việt (Chen & Ji, 2010; Nie et al., 2014; Xu et al., 2016). Quá trình tạo phức giữa β -CD và CA giúp hòa tan các phân tử CA vào pha nước, đồng thời định hướng không gian phản ứng, thúc đẩy tính chọn lọc và giảm năng lượng hoạt hóa. Trong nghiên cứu này, tác giả tiến hành biến tính β -CD thành 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (2-HP- β -CD) nhằm cải thiện hoạt tính xúc tác nhờ cải thiện tính ưa nước của β -CD. Ngoài ra, việc kết hợp với dung môi propylen glycol (PG) giúp chuyển phản ứng chuyển hóa CA gần như đồng thể thay vì dị thể dạng nhũ tương trong pha lỏng. Các nghiên cứu chi tiết các yếu tố động học, như: thời gian, nhiệt độ, dung môi, tỷ lệ tác nhân trong hỗn hợp phản ứng nhằm tối ưu hóa quy trình chuyển hóa xanh CA thành BA.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Hóa chất và dụng cụ

Cinnamaldehyde (CA) 99 % và benzaldehyde 99% tinh chế từ tinh dầu quế Lào Cai, Việt Nam, β -cyclodextrin 99% (Trung Quốc); Propylene oxide (PO) (Trung Quốc); Propylene glycol (PG) (hãng Dow, Mỹ); Hydrogen peroxide (30%) (Trung Quốc); Sodium hydroxide (NaOH); Isopropyl alcohol (IPA) 99,8% (VWR, Pháp). Thiết bị phân tích chính bao gồm máy quang phổ UV-Vis DR 6000 (HACH, Mỹ); máy phân tích phổ hồng ngoại FT-IR, Nicolet iS20.

2.2. Tổng hợp xúc tác 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (2-HP- β -CD)

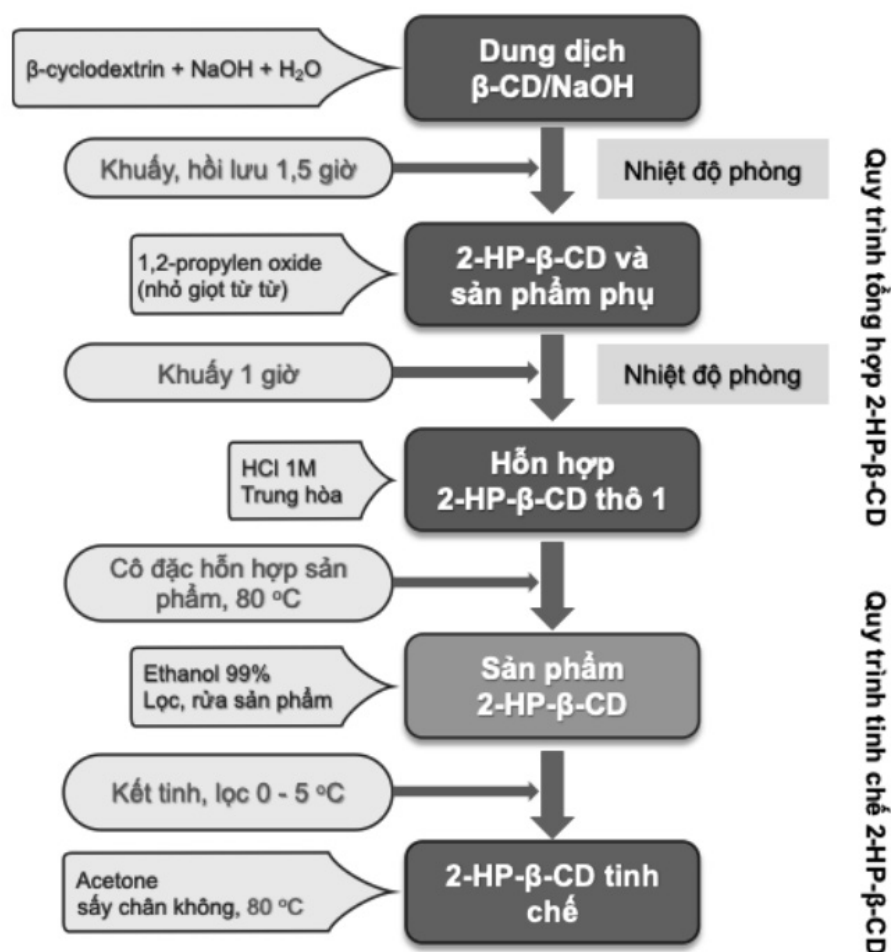
Hòa tan 1,5 g NaOH trong 100 mL nước cất, sau đó bổ sung 5,79 g β -CD và khuấy từ trong 1,5 giờ. Tiếp theo, 2,83 mL propylene oxide (PO) được thêm từ từ vào hỗn hợp. Phản ứng được duy trì ở nhiệt độ phòng với tốc độ khuấy 1000 vòng/phút trong 24 giờ. Kết thúc phản ứng, hỗn hợp được trung hòa lượng NaOH dư bằng dung dịch HCl loãng cho đến pH = 7. Hệ được cô quay chân không để loại bỏ dung môi, thu được xúc tác dạng gel lỏng, sau đó đem sấy ở 180°C trong 5 giờ và nghiền mịn, thu được 2-HP- β -CD

thô. 2-HP- β -CD thô được đưa đi tinh chế theo sơ đồ thí nghiệm Hình 2.

Đầu tiên, 2-HP- β -CD thô được hoàn tan vào ethanol 99,5% với lượng vừa đủ, sau đó, khuấy đều hỗn hợp trong khoảng 30 phút. Trong môi trường ethanol, muối NaCl không tan sẽ dần kết tủa. Hỗn hợp được lọc để loại bỏ hoàn toàn phần muối không tan này. Dịch lọc thu được tiếp tục được làm lạnh, sau đó thêm acetone và khuấy trong khoảng 30 phút ở nhiệt độ từ 0 đến 5°C cho đến khi sản phẩm kết tủa hoàn toàn.

Phần kết tủa được thu bằng phương pháp lọc, sau đó hòa tan lại trong lượng tối thiểu ethanol 99% và tiếp tục cho acetone vào để kết tủa lại. Quá trình hòa tan kết tủa này được lặp lại nhiều lần nhằm nâng cao độ tinh khiết của sản phẩm, cho đến khi thu được kết tủa dạng bột mịn, màu trắng. Cuối cùng, sản phẩm được sấy khô chân không ở 80°C cho đến khi đạt độ ẩm theo yêu cầu.

Hình 2. Quy trình tổng hợp và tinh chế 2-HP- β -CD từ β -CD



2.3. Quy trình chuyển hóa cinnamaldehyde thành benzaldehyde

Phản ứng oxy hóa được thực hiện như sau: cinnamaldehyde, propylene glycol, xúc tác (2-HP- β -CD) được thêm vào bình phản ứng ba cổ gắn sinh hàn hồi lưu. Hỗn hợp được khuấy trộn ở nhiệt độ phòng trong 10 phút trước khi tiến hành bổ sung hydrogen peroxide (H_2O_2) theo phương pháp nhỏ giọt. Sau đó, hệ phản ứng được gia nhiệt đến nhiệt độ đã định và duy trì khuấy liên tục. Mẫu phản ứng được thu tại các thời điểm được đưa đi phân tích bằng phương pháp phổ UV-Vis nhằm xác định nồng độ của cinnamaldehyde (CA) và benzaldehyde (BA).

Các thí nghiệm nghiên cứu động học phản ứng chuyển hóa được tiến hành bằng cách nghiên cứu các yếu tố: nhiệt độ, thời gian phản ứng, nồng độ xúc tác, nồng độ chất oxy hóa, tỷ lệ dung môi,... (Bảng 1)

Bảng 1. Các tham số nghiên cứu động học phản ứng chuyển hóa CA thành BA

Thông số khảo sát	Giá trị thay đổi				
Thời gian (phút)	0	30	60	90	120
Nhiệt độ (°C)	60	70	80	-	-
Tỉ lệ mol H ₂ O ₂ :CA	1:1	2:1	3:1	4:1	-
Tỉ lệ khối lượng xúc tác:CA	3:2	1:1	1:2	-	-
Tỷ lệ mol NaHCO ₃ :CA	1:1	2:1	3:1	4:1	-

Hiệu quả xúc tác của phản ứng được đánh giá qua ba thông số chính: Độ chuyển hóa CA (CH %); hiệu suất thu hồi (H %); độ chọn lọc (CL %), được xác định theo các công thức sau:

Trong đó: n_{CA} : là nồng độ của CA tại thời điểm lấy mẫu; n_{CA_0} : là nồng độ CA ban đầu; n_{BA} : nồng độ

$$\text{Độ chuyển hóa CA (CH\%): } CH\% = \left(1 - \frac{n_{CA}}{n_{CA_0}}\right) \times 100\%$$

$$\text{Độ chọn lọc BA (CL\%): } H\% = \frac{n_{BA}}{n_{CA_0}} \times 100\%$$

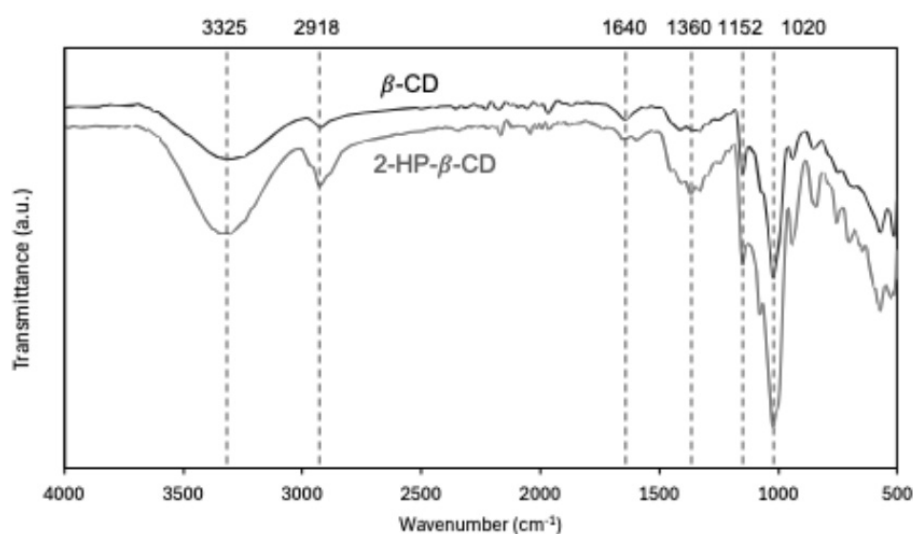
$$\text{Hiệu suất thu hồi BA (H\%): } CL\% = \frac{H\%}{CH\%}$$

BA tại thời điểm lấy mẫu.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Đặc trưng cấu trúc xúc tác 2-HP-β-CD

Kết quả phân tích cấu trúc của β-CD và 2-HP-β-CD bằng phổ hồng ngoại FT-IR được trình bày trong Hình 3.

Hình 3. Phổ hồng ngoại FT-IR của mẫu β-CD và 2-HP-β-CD

Kết quả trên Hình 3 cho thấy, các đỉnh peak của β-CD và 2-HP-β-CD gần như trùng nhau. Điều này là do một phần nhóm -OH trên vòng cyclodextrin đã được thay thế bằng nhóm -CH₂-CHOH-CH₃ (hydroxypropyl). Vì vậy phổ FTIR của hai chất rất giống nhau ở phần khung glucopyranose, nhưng 2-HP-

β -CD xuất hiện thêm các dao động đặc trưng của nhóm hydroxypropyl (Yuan et al., 2015).

Các dấu hiệu đáng tin cậy từ phổ FT-IR có thể chứng tỏ vật liệu 2-HP- β -CD đã tổng hợp thành công:

- Xuất hiện một dải hấp thụ rộng và mạnh ở 3325 cm^{-1} , đặc trưng cho dao động kéo giãn của nhóm hydroxyl (-OH). Trong đó, peak của β -CD có cường độ nhỏ hơn so với peak này của 2-HP- β -CD.
- So với β -CD ban đầu, sự xuất hiện của peak tại 2918 cm^{-1} đối với 2-HP- β -CD lớn và cường độ mạnh và rộng hơn so với β -CD. Đây chính là dao động kéo dẫn liên kết C-H trong nhóm hydroxypropyl, (-CH₃).
- Sự xuất hiện của peak ở 1360 cm^{-1} của mẫu 2-HP- β -CD mạnh (dao động biến dạng C-H đối xứng) là minh chứng cho sự gắn kết của nhóm hydroxypropyl (-CH₃) lên vòng cyclodextrin.

3.2. Vai trò của xúc tác và dung môi PG trong phản ứng oxy hóa

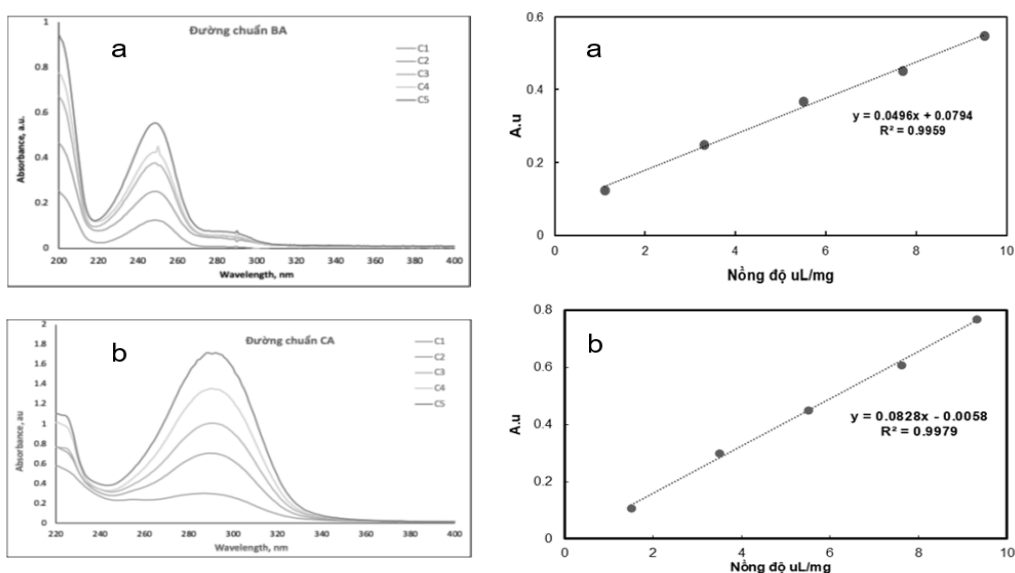
3.2.1. Xây dựng đường chuẩn nồng độ của CA và BA

Đường chuẩn nồng độ của CA và BA được xây dựng bằng phương pháp đo phổ hấp thụ phân tử UV-Vis nhằm mục đích xác định nhanh nồng độ CA và BA biến đổi trong quá trình phản ứng, Hình 4. Mẫu chuẩn cinnamaldehyde (CA) tinh khiết 99 % và benzaldehyde (BA) 99 %, được pha trong dung môi methanol với các nồng độ khác nhau. Sau đó, các mẫu được phân tích bằng phương pháp đo phổ hấp thụ UV-Vis trong dải bước sóng 190 đến 1000 nm. Từ đó xác định được bước sóng hấp thụ cực đại (λ_{max}) của BA và CA đặc trưng. Các dung dịch chuẩn C1-C5 được pha từ dung dịch gốc benzaldehyde (nồng độ $2500\text{ }\mu\text{g/mL}$ trong methanol) thành các nồng độ tương ứng của C1-C5 lần lượt là 2,5; 7,5; 12,5; 17,5 và $22,5\text{ }\mu\text{g/mL}$. Tương tự đối với xây dựng đường chuẩn cinnamaldehyde, đây dung dịch chứa cinnamaldehyde với các nồng độ 2,8 - $14,2\text{ }\mu\text{g/mL}$ được pha từ dung dịch gốc có nồng độ $2835\text{ }\mu\text{g/mL}$, (Bảng 2).

Bảng 2. Thông số xây dựng đường chuẩn cinnamaldehyde và benzaldehyde

Mẫu chuẩn	VBA, μL	CBA, $\mu\text{g/mL}$	VCA, μL	CCA, $\mu\text{g/mL}$
C1	10	2,5	10	2,8
C2	30	7,5	20	5,7
C3	50	12,5	30	8,5
C4	70	17,5	40	11,3
C5	90	22,5	50	14,2

Hình 4. Đồ thị đường chuẩn CA (a) và BA (b)



3.2.2. Khảo sát sơ bộ hoạt tính xúc tác và vai trò của dung môi PG trong phản ứng

Để làm rõ hiệu quả của hệ xúc tác, các phản ứng đối chứng đã được tiến hành (Bảng 1). Khi phản ứng thực hiện trong môi trường không có xúc tác, sự tách pha nghiêm trọng giữa CA và pha nước chứa dẫn đến hệ nhũ tương kém bền vững, khiến độ chuyển hóa CA chỉ đạt 34%, độ chọn lọc 17% và hiệu suất BA ở mức rất thấp (6%).

Bảng 3. Kết quả khảo sát hoạt tính xúc tác trong phản ứng chuyển hoá CA thành BA, (Giá trị Độ chuyển hóa (CH%), hiệu suất thu hồi BA (H%) và độ chọn lọc BA (CL %)).

Phản ứng	CL (%)	CH (%)	H (%)	Nhiệt độ: 60°C Thời gian phản ứng: 1h Lượng CA: 1,32g Lượng H ₂ O ₂ : 5mL Lượng PG: 5mL
Không xúc tác	17	34	6	
Có xúc tác: 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin	60	56	34	

Sự có mặt của 2-HP- β -CD đã cải thiện đáng kể động học quá trình phản ứng chuyển hóa. Kết quả này được giải thích bởi khả năng tạo phức tốt giữa xúc tác và cơ chất tham gia phản ứng. Kết quả này là cơ sở tiền đề cho các nghiên cứu chi tiết trong phần động học.

3.3. Kết quả nghiên cứu động học phản ứng chuyển hóa CA thành BA

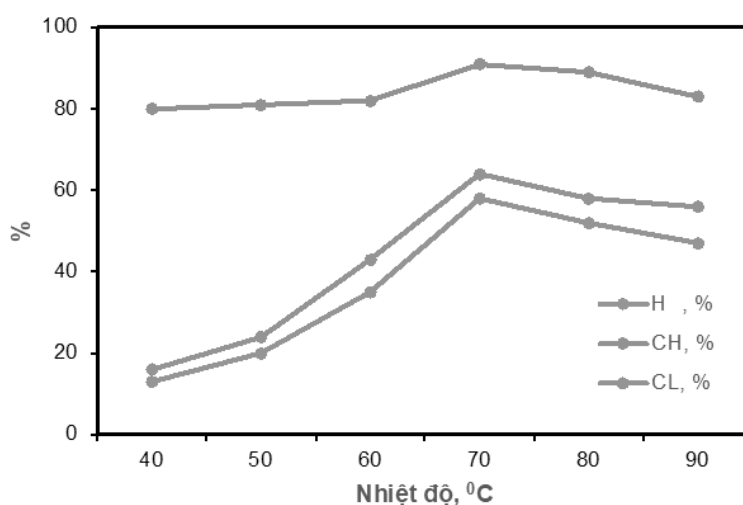
3.3.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng (yếu tố quan trọng nhất khi nghiên cứu động học) được mô tả trên Hình 5. Phản ứng được thực hiện với các thông số thực nghiệm sau:

- Lượng chất xúc tác 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin: 1,32g.
- Thể tích dung môi Propylene Glycol: 5mL.
- Lượng Cinnamaldehyde 99%: 1,32g.
- Nhiệt độ phản ứng (°C): T = 40, 50, 60, 70, 80 và 90.
- Thời gian phản ứng: t = 90 phút.
- Thể tích H₂O₂ 30% = 5 mL.

Hình 5. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất chuyển hóa CA (CH%), độ chọn lọc (CL%) và hiệu suất thu hồi BA (H%)

Khảo sát nhiệt độ từ 40 °C đến 90°C cho thấy độ chuyển hóa (CH%) CA tăng tuyến tính tỷ lệ thuận



với nhiệt độ (tăng từ 80 % lên 91%). Tuy nhiên, độ chọn lọc và hiệu suất tạo BA tăng sau đó giảm ở giá trị nhiệt độ tối ưu tại 70°C với hiệu suất thu hồi BA H% = 58%, chọn lọc BA CL% = 64%. Khi nhiệt độ

lớn hơn 70°C, sự sụt giảm hiệu suất thu (còn 47% ở 90°C) xảy ra do phản ứng quá mức. Kết quả này cho thấy, tại nhiệt độ cao, BA sinh ra dễ dàng bị oxy hóa tiếp (VD: acid benzoic) hoặc phân hủy thành các sản phẩm phụ khác. Do đó, 70°C là điều kiện nhiệt động học tối ưu cho các nghiên cứu tiếp theo.

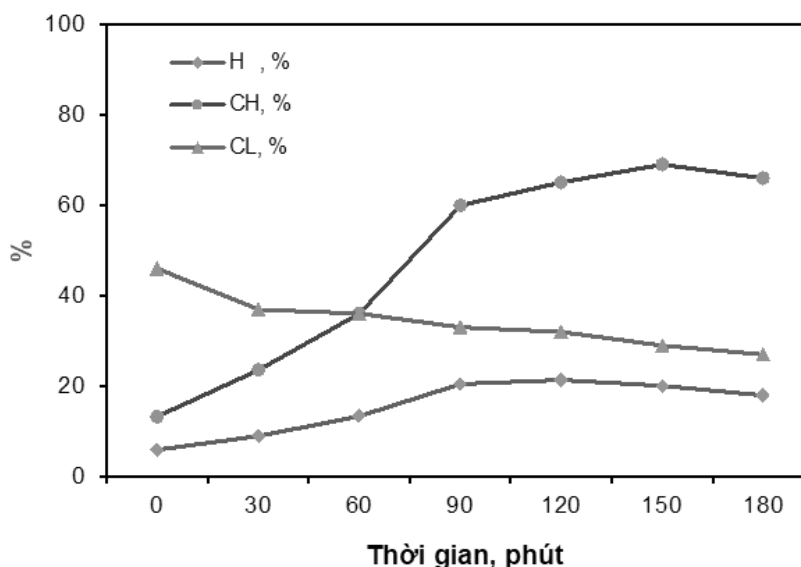
3.3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian phản ứng

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian phản ứng được mô tả trên Hình 6. Thực nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian tới phản ứng chuyển hóa CA thành BA với các điều kiện sau:

- Lượng chất xúc tác 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin: 1,32 g.
- Thể tích dung môi Propylen Glycol: 5 mL.
- Lượng Cinnamaldehyde 99%: 1,32 g.
- Thời gian phản ứng (phút): $t = 0; 30; 60; 90; 120; 150$ và 180 phút.
- Nhiệt độ phản ứng (°C): $T = 70^\circ\text{C}$.
- Thể tích H_2O_2 , 30% = 5 mL.

Hình 6. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến hiệu suất chuyển hóa CA (CH%), độ chọn lọc (CL%) và hiệu suất thu hồi BA (H%)

Kết quả trên Hình 6 cho thấy, hiệu suất chuyển hóa CA (CH %) tăng theo thời gian và đạt trạng thái ổn



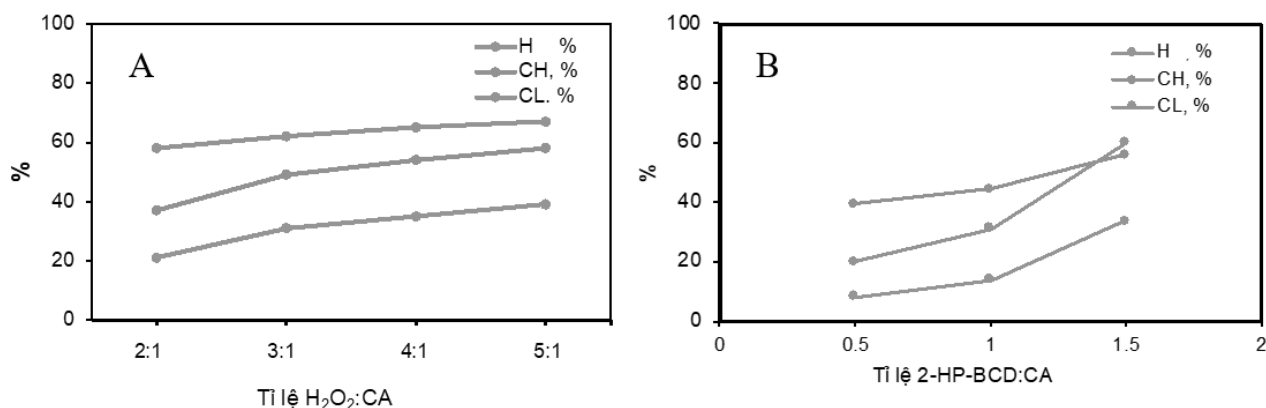
định ở khoảng thời gian từ 90 đến 150 phút. Việc kéo dài thời gian lên 180 phút dẫn đến độ chọn lọc giảm (từ 46% xuống 27%) do sự cạnh tranh của các phản ứng phụ. Do vậy, thời gian phản ứng tối ưu là 90 phút nhằm tối ưu hóa năng lượng và hạn chế sự phân hủy BA sản phẩm và duy trì độ chọn lọc (CL %) không giảm nhiều. Đồng thời, duy trì hiệu suất thu hồi BA (H %) ổn định > 21%.

3.3.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất oxy hóa và xúc tác

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chất oxy hóa (H_2O_2) và xúc tác 2-HP- β -CD được mô tả trên Hình 7. Thực nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố này đến phản ứng chuyển hóa CA thành BA với các điều kiện sau:

- Lượng chất xúc tác 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin: 0,66g (0,5%); 1,32g (1%); 1,98g (1,5%).
- Thể tích dung môi Propylen Glycol: 5 mL.
- Lượng Cinnamaldehyde 99%: 1,32 g.
- Thời gian phản ứng (phút): $t = 90$ phút.
- Nhiệt độ phản ứng (°C): $T = 70^\circ\text{C}$.
- Thể tích H_2O_2 , 30 % = 2,5 mL (tỷ lệ 2:1); 3,7 mL (tỷ lệ 3:1); 5,0 mL (tỷ lệ 4:1); 6,3 mL (tỷ lệ 5:1).

Hình 7. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ mol H_2O_2 :CA (A) và tỷ xúc tác 2-HP- β -CD:CA (B) đến hiệu suất chuyển hóa CA (CH%), độ chọn lọc (CL%) và hiệu suất thu hồi BA (H%)

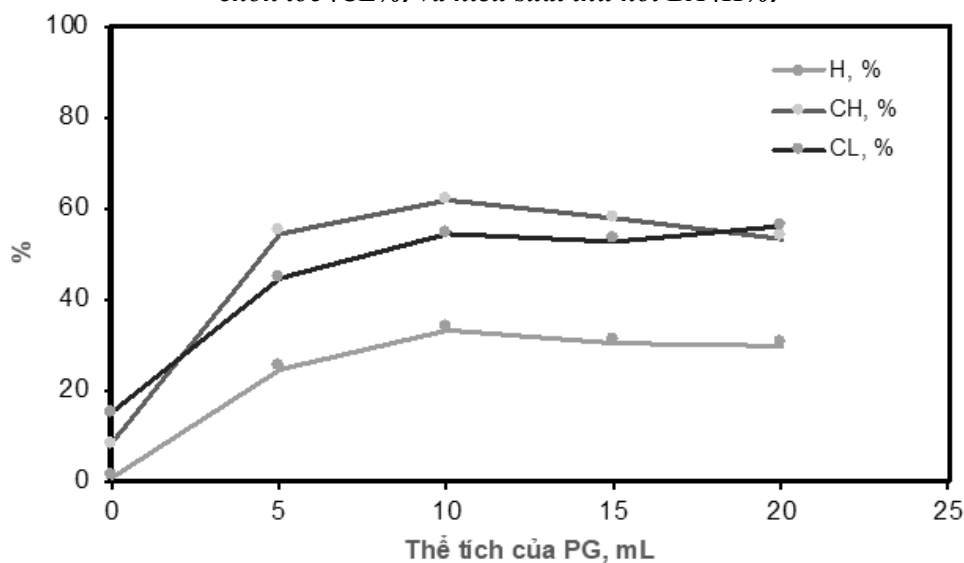


Khi tăng tỷ lệ mol H_2O_2 :CA từ 2:1 lên 3:1, hiệu suất BA tăng vọt từ 21% lên 31%. Tuy nhiên, việc tăng lên tỷ lệ 4:1 hay 5:1 chỉ mang lại sự cải thiện không đáng kể (đạt 39% ở 5:1) Hình 7 (A). Xét trên khía cạnh an toàn công nghiệp và tính kinh tế thì tỷ lệ H_2O_2 :CA là 3:1 được chọn để tối ưu hóa kinh tế. Ngoài ra, kết quả khảo sát tỷ lệ xúc tác 2-HP- β -CD:CA tối ưu được ghi nhận ở mức 1,5:1 (theo khối lượng), Hình 7 (B). Lượng xúc tác này vừa đủ để cung cấp đủ số lượng tâm hoạt tính để đạt độ chuyển hóa và độ chọn lọc tối ưu nhất.

3.3.4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của lượng dung môi PG

Dung môi có thể tác động đáng kể đến tốc độ phản ứng, dung môi thích hợp có thể giúp tạo điều kiện thuận lợi để phản ứng có độ đồng thể tối ưu (do CA và BA không hòa tan trong nước). Khi phản ứng ở trạng thái đồng thể, các tác nhân tham gia phản ứng tốt hơn và làm tăng tốc độ phản ứng, tăng hiệu suất phản ứng. Dung môi PG có khả năng hòa tan nước và CA hoặc BA, nên PG giúp tương tác với các chất tham gia phản ứng thông qua các liên kết hydro, tương tác ion hoặc các tương tác khác, những tương tác này có thể ảnh hưởng đến độ bền của các trạng thái trung gian và ảnh hưởng đến động học tổng thể của phản ứng. Do đó, khảo sát lượng dung môi là một khía cạnh quan trọng để hiểu cách dung môi tác động lên quá trình phản ứng và tối ưu hóa điều kiện phản ứng.

Hình 8. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng lượng dung môi PG đến hiệu suất chuyển hóa CA (CH%), độ chọn lọc (CL%) và hiệu suất thu hồi BA (H%)



Thực nghiệm được tiến hành với các điều kiện:

- Lượng chất xúc tác 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin: 1,98g.
- Lượng dung môi Propylen Glycol: 0; 5; 10; 15 và 20mL.
- Lượng Cinnamaldehyde 99%: 1,32 g.
- Nhiệt độ phản ứng ($^{\circ}\text{C}$): $T = 70^{\circ}\text{C}$.
- Thời gian phản ứng: $t = 90$ phút.
- Lượng H_2O_2 30% = 5 mL.

Kết quả trên Hình 8 cho thấy, khi thể tích dung môi PG tăng 5 đến 10 mL thì độ chuyển hóa CA (CH %) tăng từ 8% lên 55% và cao nhất là 62%. Độ chọn lọc BA (CL %) tăng từ 15% lên 45% và cao nhất là 54%. Hiệu suất thu hồi BA (H %) cũng tăng % lên 25% và cao nhất là 33% khi có dung môi PG. Như vậy, khi có mặt của dung môi PG giúp cải thiện đáng kể độ chọn lọc của phản ứng.

Ngược lại, khi tăng lượng dung môi từ 10 đến 20 mL, thì độ chuyển hóa CA (CH %) ảnh hưởng không đáng kể là 58% và 54%. Điều này cho thấy lượng dung môi ảnh hưởng không đáng kể đến độ chuyển hóa của phản ứng. Đồng thời, độ chọn lọc BA (CL %) đạt trạng thái ổn định trong khoảng từ 53% và 56%, còn hiệu suất thu hồi BA (H %) giảm nhẹ khi tăng lượng dung môi, từ 33% xuống 30%. Điều này cho thấy tăng lượng dung môi không ảnh hưởng nhiều đến hiệu suất thu hồi BA (H %).

4. Kết luận

Nghiên cứu đã chứng minh tính khả thi của quy trình oxy hóa xanh cinnamaldehyde thành benzaldehyde tự nhiên bằng dưới xúc tác chuyển pha 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Xúc tác được tổng hợp thành công và cấu trúc được xác nhận qua phổ FTIR. Việc tích hợp hệ xúc tác siêu phân tử và dung môi Propylene Glycol đã khắc phục hiệu quả trở ngại về khả năng hòa tan của CA, nâng cao tốc độ truyền khối và tính chọn lọc của phản ứng. Bộ thông số điều kiện tối ưu được xác định bao gồm: nhiệt độ 70°C , thời gian 90 phút, tỷ lệ 2-HP- β -CD:CA là 3:1, tỷ lệ lượng xúc tác:CA là 1,5:1 trong 10 mL dung môi PG. Tại điều kiện này, độ chuyển hóa CA CH % = 62%, độ chọn lọc BA CL % = 54 % và hiệu suất thu hồi BA H % = 33 %■

Lời cảm ơn: Kết quả nghiên cứu của đề tài được sự hỗ trợ của nhiệm vụ nghiên cứu thuộc chương trình khoa học và công nghệ cấp quốc gia KC.07/21-30, Mã số nhiệm vụ: KC.07.10/21-30.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

- Hardy, D. V. N. (1948). Synthesis of benzaldehyde, a possible route to toluene. Journal of the Society of Chemical Industry, 67(4), 150-155.
- Buck, K. T., Boeing, J. A., & Dolfini, J. (1987). Method of producing benzaldehyde. Mallinckrodt Inc.
- Wright, P., & Abbot, J. (1993). The oxidation of cinnamaldehyde with alkaline hydrogen peroxide. International Journal of Chemical Kinetics, 25(11), 901-911.
- Nie, Y. M., et al. (2014). Highly selective oxidation of cinnamaldehyde to benzaldehyde by hydrogen peroxide in mild conditions. Applied Mechanics and Materials, 522-524, 458-464.
- Chen, H., & Ji, H. (2010). Alkaline hydrolysis of cinnamaldehyde to benzaldehyde in the presence of β -cyclodextrin. AIChE Journal, 56(2), 466-476.
- Xu, S., et al. (2016). Remarkably efficient hydrolysis of cinnamaldehyde to natural benzaldehyde in amino acid ionic liquids. Korean Journal of Chemical Engineering, 33, 3374-3380.
- Yuan, C., Liu, B., & Liu, H. (2015). Characterization of hydroxypropyl- β -cyclodextrins with different substitution patterns via FTIR, GC-MS, and TG-DTA. Carbohydrate Polymers, 118, 36-40.

ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT POTENTIAL OF *Vitex negundo* L. ESSENTIAL OIL AND RELATED PHYTOCONSTITUENTS: A REVIEW STUDY

NGUYEN BACH VAN^{1*} - TRAN THI HUYEN TRAN² - UNG QUOC DIEN²

¹Faculty of Pharmacy, College of Medicine and Pharmacy, Tra Vinh University

²Vinh Long Department of Health

¹Khoa Dược, Trường Y Dược, Đại học Trà Vinh

²Sở Y Tế Vĩnh Long

* Email: bachvannguyen@tvu.edu.vn

Ngày nhận bài: 29/5/2026

Ngày sửa bài: 17/6/2026

Ngày duyệt đăng bài: 28/6/2026

Abstract:

Vitex negundo L., a medicinal plant of the family Lamiaceae, is widely distributed across tropical and subtropical Asia and Africa. Its essential oil and phenolic-rich extracts have attracted interest as natural antimicrobial and antioxidant agents amid the growing burden of antimicrobial resistance. This concise review synthesizes available evidence across four bioactivity groups: Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria, pathogenic fungi, and oxidative stress. The strongest antibacterial effects have generally been reported against Gram-positive bacteria, particularly *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. Gram-negative bacteria are less susceptible because of their outer lipopolysaccharide membrane; nevertheless, activity has been documented against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio cholerae*, and related enteric pathogens. Recent studies also support antifungal activity against *Candida albicans*. Overall, *V. negundo* is a promising but insufficiently standardized natural source. Future research should prioritize chemical fingerprinting, standardized MIC/MBC and MIC/MFC testing, antibiofilm assessment, cytotoxicity evaluation, and formulation-based delivery.

Keywords: *Vitex negundo*, essential oil, gram-positive bacteria, gram-negative bacteria, *Candida albicans*.

Tổng quan về thành phần hóa học, hoạt tính kháng khuẩn và chống oxy hóa của tinh dầu và các hợp chất hoạt tính sinh học từ Ngũ trảo (*Vitex negundo* L.)

Tóm tắt:

Ngũ trảo (*Vitex negundo* L.) là cây dược liệu thuộc họ Lamiaceae, phân bố rộng rãi tại các khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới ở châu Á và châu Phi. Tinh dầu và các dịch chiết giàu hợp chất phenolic của loài cây này đang được quan tâm như những tác nhân kháng vi sinh vật và chống oxy hóa tự nhiên khi tình trạng kháng thuốc ngày càng gia tăng. Nghiên cứu tổng quan này tổng hợp các bằng chứng hiện có theo bốn nhóm hoạt tính sinh học: kháng khuẩn trên vi khuẩn Gram dương, vi khuẩn Gram âm, kháng nấm, khả năng chống oxy hóa của *V. negundo*. Tác dụng kháng khuẩn mạnh nhất thường được ghi nhận đối với vi khuẩn Gram dương, vi khuẩn Gram âm ít nhạy cảm hơn. Các nghiên cứu gần đây cũng cho thấy hoạt tính kháng nấm đối với *Candida albicans*. Nhìn chung, *V. negundo* là nguồn dược liệu tự nhiên giàu tiềm năng.

Từ khóa: *Vitex negundo*, tinh dầu, vi khuẩn gram dương, vi khuẩn gram âm, *Candida albicans*.

1. Introduction

The search for plant-derived antimicrobial agents has been strengthened by the continuing rise of antimicrobial resistance. Unlike single-target antibiotics, essential oils and phenolic-rich plant extracts are complex mixtures that can act simultaneously on microbial membranes, intracellular enzymes, oxidative balance and biofilm architecture. This multi-component profile does not automatically guarantee clinical efficacy, but it provides a scientific basis for screening medicinal plants as complementary antimicrobial leads (Vaou et al., 2021).

Vitex negundo L., commonly known as five-leaved chaste tree or Nirgundi, is an aromatic shrub or small tree. The currently accepted scientific name is *Vitex negundo* L., and the species is placed in the family Lamiaceae rather than the older Verbenaceae classification. Traditionally, the plant has been used for inflammatory disorders, respiratory complaints, wounds, skin infections and pain-related conditions. Pharmacological research has therefore focused on anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial, antifungal, analgesic (Kamal et al., 2022).

The previous version of this review mainly summarized antibacterial activity of *V. negundo* essential oil. In the revised version, the discussion has been shortened and broadened to include Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria, pathogenic fungi and oxidative stress (Khwaza & Aderibigbe, 2025).

To provide a clearer overview of the current evidence, this review systematically summarizes published studies on the chemical composition and biological activities of *Vitex negundo* with emphasis on antimicrobial and antioxidant properties. The available literature is synthesized according to bioactive constituents, antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, antifungal and antibiofilm effects, antioxidant capacity, and the proposed mechanisms underlying these biological activities. Current research limitations and future perspectives are also discussed to identify priorities for subsequent investigations.

Figure 1. Leaves and branches of *Vitex negundo*



Source: Rastogi et al. (n.d.)

2. Theoretical background and research methodology

2.1. Bioactive composition relevant to antimicrobial and antioxidant activity

The antimicrobial activity of *V. negundo* is closely related to its volatile terpenoids and non-volatile phenolic constituents. Essential oils obtained from leaves, flowers, fruits or seeds are usually characterized by gas chromatography-mass spectrometry. Reported volatile constituents include beta-caryophyllene, caryophyllene oxide, sabinene, alpha-pinene, beta-pinene, limonene, 1,8-cineole, terpinen-4-ol, germacrene D, valencene, alpha-copaene, eudesm-4(14)-en-11-ol and n-hexadecanoic acid (Khokra et al., 2008). However, the dominant compounds vary according to plant part, geography, harvest season, extraction method and drying conditions. This explains why inhibition zones, MIC values and target microorganisms differ among studies.

In addition to essential oil constituents, *V. negundo* leaves and seeds contain flavonoids, phenolic acids, iridoids, lignans and diterpenoids. Recent antioxidant profiling has highlighted isoorientin, chlorogenic acid, agnuside, cynaroside and scutellarin as important contributors to free-radical scavenging activity. Recent anti-candidal studies have also identified phenolic acids, including caffeic acid, chlorogenic acid, p-coumaric acid and 2,4-dihydroxybenzoic acid, as relevant molecules against *Candida albicans* (Wróblewski et al., 2024). Therefore, *V. negundo* should not be interpreted only as an essential-oil source; its antimicrobial and antioxidant potential is better understood as the combined effect of volatile and phenolic fractions.

2.2. Research methodology

This review was conducted through a structured literature survey of peer-reviewed publications concerning the phytochemistry and biological activities of *Vitex negundo* L. Relevant articles were retrieved from PubMed, Scopus, Web of Science, ScienceDirect, Google Scholar, and MDPI using combinations of the keywords "Vitex negundo", "essential oil", "phytochemicals", "GC-MS", "antimicrobial activity", "Gram-positive bacteria", "Gram-negative bacteria", "Candida albicans", "antioxidant activity", and "biofilm". Peer-reviewed original articles and review papers published primarily between 2008 and 2026 were included. Studies lacking sufficient experimental information or unrelated to the objectives of this review were excluded.

3. Results and discussion

3.1. Antimicrobial activity

The literature reviewed consistently indicates that the biological activities of *Vitex negundo* are closely associated with its diverse phytochemical constituents. Although considerable variability exists among studies because of differences in geographical origin, plant organs, extraction procedures, and analytical methods, several common findings can be identified. Overall, the published evidence demonstrates stronger antimicrobial activity against Gram-positive bacteria than Gram-negative bacteria, increasing evidence for antifungal and antibiofilm activity against *Candida albicans*, and significant antioxidant potential associated with phenolic-rich fractions. The following sections summarize these findings according to each biological activity.

3.1.1. Gram-positive bacteria

Across published studies, Gram-positive bacteria have generally been more susceptible to *V. negundo* essential oil or extracts than Gram-negative bacteria. This tendency is biologically reasonable because Gram-positive bacteria have a thick peptidoglycan layer but lack the outer lipopolysaccharide membrane that restricts penetration of hydrophobic compounds (Islam et al., 2024). As a result, lipophilic terpenoids can more readily interact with the cytoplasmic membrane, disturb membrane integrity and promote leakage of intracellular components.

Staphylococcus aureus and *Bacillus subtilis* are the most frequently reported Gram-positive test

organisms. Essential oils obtained from different plant organs have shown inhibitory effects against both species, with leaf and flower oils often performing better than fruit oil. Supercritical fluid extract and hydrodistilled oil have also been reported to show prominent activity against *S. aureus* and *B. subtilis*. The activity has been associated with terpinen-4-ol, beta-caryophyllene, caryophyllene oxide and related oxygenated terpenoids. The available evidence supports *V. negundo* as a stronger candidate for Gram-positive control than for Gram-negative control, although the exact potency remains study-dependent (Ai, 2014).

From a pharmaceutical perspective, the activity against *S. aureus* is particularly relevant because this species is associated with wound, skin, respiratory and healthcare-associated infections. Nevertheless, most data remain *in vitro*, and many studies rely on agar diffusion (Hodille et al., 2017). Because essential oils diffuse poorly through agar, future studies should prioritize broth microdilution, MIC/MBC determination, time-kill curves and antibiofilm testing against clinically relevant strains, including methicillin-resistant *S. aureus*.

3.1.2. Gram-negative bacteria

Gram-negative bacteria are less susceptible to essential oils because the outer membrane, porins and efflux systems restrict the entry and retention of hydrophobic molecules. Despite this barrier, *V. negundo* has shown measurable activity against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio mimicus*, *Shigella* spp. and *Aeromonas* spp (Kamruzzaman et al., 2013). The response is usually weaker or requires higher concentrations than those needed for Gram-positive bacteria.

The most notable evidence for Gram-negative activity comes from studies on enteric pathogens, where methanolic leaf extract showed bactericidal activity against *Vibrio cholerae* and reduced bacterial burden in an infant mouse intestinal model. This suggests that non-volatile polar or semi-polar constituents may contribute to antibacterial effects beyond the essential oil fraction. Against *E. coli* and *P. aeruginosa*, essential oil and extracts have generally produced moderate inhibition (Atiar Rahman et al., 2023). Such results should be interpreted as proof of biological potential rather than direct therapeutic equivalence to standard antibiotics.

For Gram-negative applications, the most realistic future direction is not necessarily using crude oil alone, but improving delivery and combining it with permeabilizing or synergistic strategies. Nanoemulsions, lipid carriers and polymeric systems may increase dispersion of hydrophobic terpenoids, improve contact with bacterial membranes and protect volatile constituents from oxidation. Combination studies with conventional antibiotics are also warranted, particularly for resistant Gram-negative pathogens (Nano-Enabled Advances in Tea Tree Essential Oil (*Melaleuca Alternifolia*): Composition, Bioactivity, and Emerging Roles in Food Protection, n.d.).

3.1.3. Pathogenic fungi and antibiofilm potential

The earlier literature mentioned fungal inhibition only briefly, but recent studies make this part more important. *Candida albicans* is the main fungal organism investigated. Seed essential oil has shown strong antifungal potential against *C. albicans*, with one study reporting MIC at 4.0 µg/mL. More recent work on leaf phenolic acids has demonstrated both anti-candidal and antibiofilm activity, including membrane damage and biofilm eradication after treatment with caffeic acid. These findings are important because *C. albicans* biofilms are substantially more tolerant to conventional antifungal drugs than planktonic cells.

The antifungal effect of *V. negundo* is likely mediated by more than one chemical class. Essential-oil terpenoids may disrupt fungal membrane integrity, whereas phenolic acids may promote oxidative imbalance, interfere with adhesion or biofilm maturation, and affect fungal enzyme targets. *In silico* work has proposed fungal proteins such as secreted aspartic proteinase 2 as possible targets, but these predictions

still require biochemical validation. Future antifungal studies should include MIC/MFC, biofilm inhibitory concentration, mature-biofilm disruption, ergosterol interaction, ROS measurement and mammalian-cell cytotoxicity (Ravi et al., 2026).

3.2. Antioxidant activity and relationship with antimicrobial effects

Oxidative stress is relevant to this review for two reasons. First, antioxidant compounds may protect host tissue from inflammatory or infection-related oxidative injury. Second, some antimicrobial actions of phenolics and oxygenated terpenoids involve disturbance of microbial redox balance, ROS generation or oxidative damage to proteins, lipids and nucleic acids. Thus, antioxidant capacity and antimicrobial activity should be considered complementary but not identical outcomes.

Several assays have been used to evaluate *V. negundo* antioxidant activity, including DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, nitric oxide scavenging, lipid peroxidation inhibition and metal-chelating methods. Ethanol extract, supercritical fluid extract and phenolic-rich fractions have shown meaningful free-radical scavenging activity. In a recent LC-ECD/LC-MS/MS study, 39 antioxidant components were screened and 19 compounds were quantified across different batches. Agnuside, chlorogenic acid, isoorientin, scutellarin and cynaroside were highlighted as key contributors. This supports the use of chemical fingerprinting rather than only total phenolic content when standardizing *V. negundo* materials (Shahidi & Samarasinghe, 2025).

For product development, antioxidant data should be integrated with antimicrobial data. A candidate formulation would be stronger if it demonstrates: stable chemical composition, reproducible MIC values, measurable antibiofilm effect, antioxidant protection in cell-based oxidative-stress models, and low cytotoxicity. Without these endpoints, the claim should remain limited to *in vitro* antimicrobial and antioxidant potential.

Taken together, the available evidence suggests that both volatile terpenoids and non-volatile phenolic compounds contribute to the antimicrobial and antioxidant activities of *V. negundo*. Nevertheless, several methodological limitations still restrict the interpretation and translation of these findings into practical pharmaceutical applications.

3.3. Proposed mechanisms and research gaps

The proposed antimicrobial mechanisms of *V. negundo* include disruption of microbial membranes, leakage of intracellular ions and proteins, impairment of proton motive force, reduction of ATP synthesis, enzyme inhibition, ROS-related stress and antibiofilm action. Terpenoids such as alpha-pinene, sabinene, 1,8-cineole, beta-caryophyllene and caryophyllene oxide are lipophilic and can partition into microbial membranes. Phenolic acids and flavonoids may contribute through redox modulation, protein binding and interference with adhesion or biofilm formation (Patel et al., 2026).

However, important limitations remain. First, chemical profiles vary greatly among plant organs and collection sites. Second, agar diffusion methods are still overused even though they are not ideal for hydrophobic essential oils. Third, many studies do not report MIC, MBC, MFC, positive controls, solvent controls or cytotoxicity in a standardized manner. Fourth, *in vivo* antimicrobial data remain scarce. Finally, molecular mechanisms are often inferred from general essential-oil literature or *in silico* predictions rather than confirmed by membrane-permeability assays, proteomic analysis, transcriptomics or validated enzyme assays.

To strengthen future evidence, studies should be designed with authenticated plant material, voucher specimens, GC-MS or LC-MS fingerprints, standardized microdilution protocols, clinically relevant isolates, antibiofilm assays, antioxidant assays using at least two complementary methods, and mammalian-cell safety testing. Formulation studies should evaluate nanoemulsions or lipid-based systems because they may increase dispersibility and stability of hydrophobic volatile compounds.

Table 1. Summary of selected studies related to antimicrobial and antioxidant activities of *Vitex negundo*

No.	Authors/year	Title	DOI
1	Khokra et al., (2008)	Essential Oil Composition and Antibacterial Studies of <i>Vitex negundo</i> Linn. Extracts	10.4103/0250-474X.44610
2	Nagarsekar et al., (2010)	Evaluation of Composition and Antimicrobial Activity of Supercritical Fluid Extract of Leaves of <i>Vitex negundo</i>	10.4103/0250-474X.78537
3	Nagarsekar et al., (2011)	Antioxidant and Antilipid Peroxidation Potential of Supercritical Fluid Extract and Ethanol Extract of Leaves of <i>Vitex negundo</i> Linn.	10.4103/0250-474X.95629
4	Kamruzzaman et al., (2013)	In vitro and <i>in vivo</i> bactericidal activity of <i>Vitex negundo</i> leaf extract against diverse multidrug resistant enteric bacterial pathogens	10.1016/S1995-7645(13)60038-3
5	Ai et al., (2014)	Antifungal Properties and Chemical Analysis of Essential Oil from <i>Vitex negundo</i> Seeds	10.9734/BJPR/2014/7079
6	Saklani et al., (2017)	Comparative Evaluation of Polyphenol Contents and Antioxidant Activities between Ethanol Extracts of <i>Vitex negundo</i> and <i>Vitex trifolia</i> L. Leaves by Different Methods	10.3390/plants6040045
7	Balasubramani et al., (2017)	Development of nanoemulsion from <i>Vitex negundo</i> L. essential oil and their efficacy of antioxidant, antimicrobial and larvicidal activities (<i>Aedes aegypti</i> L.)	10.1007/s11356-017-9118-y
8	Wu et al., (2024)	Analysis of Antioxidant Compounds in <i>Vitex negundo</i> Leaves Using Offline 2D-LC-ECD and LC-MS/MS	10.3390/molecules29133133
9	Jaiswal & Kumar, (2025)	Identification, quantification, and bioactivity of <i>Vitex negundo</i> phenolic acids as efficacious anti-candidal and antibiofilm agents targeting <i>Candida albicans</i>	10.1016/j.mycmed.2025.101550
10	Mustafa et al., (2026)	Phytochemical profiling of <i>Vitex negundo</i> seeds via UHPLC-QTOF-MS/MS analyses with antimicrobial evaluation and <i>in silico</i> targeting of DNA Gyrase B and Secreted Aspartic Proteinase 2 (SAP2)	10.1371/journal.pone.0343965

4. Conclusion

Vitex negundo L. essential oil and related phenolic-rich extracts demonstrate consistent *in vitro* activity against Gram-positive bacteria, moderate but variable efficacy against Gram-negative bacteria, promising antifungal and antibiofilm effects against *Candida albicans*, and considerable antioxidant potential. Current evidence indicates that *V. negundo* is a valuable natural source for antimicrobial lead discovery and pharmaceutical development rather than an immediately applicable therapeutic agent. Nevertheless, further studies are required to establish standardized phytochemical profiles, validate antimicrobial efficacy using harmonized methodologies, clarify the underlying mechanisms of action, evaluate safety through comprehensive toxicological studies, and develop advanced formulation strategies. These efforts will be essential for translating the promising experimental findings into clinically relevant pharmaceutical applications■

REFERENCES:

- Ai, H.-W. (2014). Antifungal Properties and Chemical Analysis of Essential Oil from *Vitex negundo* Seeds. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 4(5), 541-548. <https://doi.org/10.9734/BJPR/2014/7079>
- Atiar Rahman, Md., Anjum, N., Khalid Juhani Rafi, Md., Saha, S., Ibne Deen, J., Uddin, M., Sharmen, F., Ferdousi, H., & Hossain, R. (2023). Pyrazoles containing organic extracts of *Litsea glutinosa* (Lour.) C. B. Rob enervate chemical-induced diarrhea in animal models evident in ligand-receptor interaction. *Arabian Journal of Chemistry*, 16(8), 104910. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.104910>
- Hodille, E., Rose, W., Diep, B. A., Goutelle, S., Lina, G., & Dumitrescu, O. (2017). The Role of Antibiotics in Modulating Virulence in *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(4), 887-917. <https://doi.org/10.1128/CMR.00120-16>
- Islam, Z., Caldeira, G. I., Caniça, M., Islam, N., & Silva, O. (2024). *Vitex* Genus as a Source of Antimicrobial Agents. *Plants*, 13(3), 401. <https://doi.org/10.3390/plants13030401>
- Kamal, N., Mio Asni, N. S., Rozlan, I. N. A., Mohd Azmi, M. A. H., Mazlan, N. W., Mediani, A., Baharum, S. N., Latip, J., Assaw, S., & Edrada-Ebel, R. A. (2022). Traditional Medicinal Uses, Phytochemistry, Biological Properties, and Health Applications of *Vitex* sp. *Plants*, 11(15), 1944. <https://doi.org/10.3390/plants11151944>
- Kamruzzaman, M., Bari, S. M. N., & Faruque, S. M. (2013). In vitro and in vivo bactericidal activity of *Vitex negundo* leaf extract against diverse multidrug resistant enteric bacterial pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6(5), 352-359. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(13\)60038-3](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(13)60038-3)
- Khokra, S., Prakash, O., Jain, S., Aneja, K., & Dhingra, Y. (2008). Essential oil composition and antibacterial studies of *Vitex negundo* linn. Extracts. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(4), 522. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.44610>
- Khwaza, V., & Aderibigbe, B. A. (2025). Antibacterial Activity of Selected Essential Oil Components and Their Derivatives: A Review. *Antibiotics*, 14(1), 68. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14010068>
- Nano-Enabled Advances in Tea Tree Essential Oil (*Melaleuca alternifolia*): Composition, Bioactivity, and Emerging Roles in Food Protection. (n.d.). Retrieved 7 July 2026, from <https://www.mdpi.com/1996-1944/19/13/2915>
- Patel, S., Agrawal, A., Mohanty, A., Sahu, A., Mohanty, B., & Patel, A. K. (2026). Antibacterial potentials of *Vitex negundo* leaf extracts and biosynthesized silver nanoparticles against bacterial pathogens isolated across-tissues of *Labeo rohita*. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 14(3), 285-297. <https://doi.org/10.22271/plants.2026.v14.i3c.2137>
- Rastogi, T., Kubde, M., Farooqui, I. A., & Khadabadi, S. S. (n.d.). A Review On Ethanomedicinal Uses And Phyto-Pharmacology Of Anti- Inflammatory Herb *Vitex Negundo*.
- Ravi, A., V. V., Krishnan, R., S, S., Padmanabhan, G., & Sathiyamoorthy, M. (2026). Evaluation of Antifungal Efficacy of *Vitex Negundo* against *Candida Albicans* and *Candida Glabrata*: An In Vitro Study. *Journal of Nepalese Prosthodontic Society*, 9(1), 37-42. <https://doi.org/10.3126/jnprossoc.v9i1.96488>
- Shahidi, F., & Samarasinghe, A. (2025). How to assess antioxidant activity? Advances, limitations, and applications of in vitro, in vivo, and ex vivo approaches. *Food Production, Processing and Nutrition*, 7(1), 50. <https://doi.org/10.1186/s43014-025-00326-z>
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2021). Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. *Microorganisms*, 9(10), 2041. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102041>
- Wróblewski, M., Wróblewska, J., Nuszkievicz, J., Mila-Kierzenkowska, C., & Woźniak, A. (2024). Antioxidant Potential of Medicinal Plants in the Treatment of Scabies Infestation. *Molecules*, 29(22), 5310. <https://doi.org/10.3390/molecules29225310>