



TẠP CHÍ KHOA HỌC ĐẠI HỌC ĐỒNG THÁP
Dong Thap University Journal of Science

Chuyên san Khoa học Tự nhiên

ISSN 0866-7675 | e-ISSN 2815-567X



DOI: <https://doi.org/10.52714/dthu.14.04S.2025.1576>

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA LÁ CÂY DỪA CẠN (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don)

Lê Thị Bạch^{1*}, Lê Thị Thanh Xuân², Phạm Thị Kim Phụng³, Bùi Mai Anh¹,
Nguyễn Thị Thúy Tâm¹ và Nguyễn Thanh Bình⁴

¹Bộ môn Hóa học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

²Khoa Sư phạm Khoa học Tự nhiên, Trường Sư phạm,
Trường Đại học Đồng Tháp, Việt Nam

³Khoa Sư phạm, Trường Đại học An Giang,
Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁴Bộ môn Khoa học sức khỏe, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

*Tác giả liên hệ, Email: ltbach@ctu.edu.vn

Lịch sử bài báo

Ngày nhận: 22/5/2025; Ngày nhận chỉnh sửa: 01/7/2025; Ngày chấp nhận: 09/7/2025

Tóm tắt

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá sơ bộ hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết phân đoạn khác nhau từ lá cây Dừa cạn (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don), qua đó lựa chọn cao chiết tiềm năng để tiếp tục nghiên cứu thành phần hóa học. Kết quả cho thấy cao chiết dichloromethane thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đáng kể đối với hai loài vi khuẩn gây bệnh phổ biến trong nuôi trồng thủy sản là *Vibrio* sp. và *Aeromonas caviae*, đặc biệt hiệu quả đối với *Vibrio* sp. với đường kính vòng ức chế đạt $17,97 \pm 0,47$ mm tại nồng độ $128 \mu\text{g/mL}$. Phân tích thành phần hóa học của cao chiết dichloromethane bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân (1D, 2D-NMR), kết hợp so sánh với dữ liệu từ các tài liệu tham khảo, đã xác định được ba hợp chất: apigenin (1), vindoline (2) và oleanolic acid (3). Các kết quả này khẳng định tiềm năng ứng dụng của lá cây Dừa cạn như một nguồn dược liệu tự nhiên với hoạt tính kháng khuẩn hiệu quả.

Từ khóa: Dừa cạn, kháng khuẩn, thành phần hóa học.

Trích dẫn: Lê, T. B., Lê, T. T. X., Phạm, T. K. P., Bùi, K. A., Nguyễn, T. T. T., & Nguyễn, T. B. (2025). Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn của lá cây dừa cạn (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don). *Tạp chí Khoa học Đại học Đồng Tháp*, 14(04S), 162-173. <https://doi.org/10.52714/dthu.14.04S.2025.1576>

Copyright © 2025 The author(s). This work is licensed under a CC BY-NC 4.0 License.

INVESTIGATING CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Catharanthus roseus* (L.) G. Don

Le Thi Bach^{1*}, Le Thi Thanh Xuan², Pham Thi Kim Phuong³, Bui Mai Anh¹,
Nguyen Thi Thuy Tam¹, and Nguyen Thanh Binh⁴

¹Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Can Tho University, Vietnam

²Faculty of Natural Sciences Teacher Education, School of Education,
Dong Thap University, Cao Lanh 870000, Vietnam

³An Giang University, Vietnam National University - Ho Chi Minh City, Vietnam

⁴Department of Health Science, College of Natural Sciences,
Can Tho University, Vietnam

*Corresponding author, Email: ltbach@ctu.edu.vn

Article history

Received: 22/5/2025; Received in revised form: 01/7/2025; Accepted: 09/7/2025

Abstract

This study provides a preliminary evaluation of the antibacterial activity of different leaf extracts from *Catharanthus roseus* (L.) G. Don and identifies the most bioactive extract for subsequent phytochemical investigation. Among the tested extracts, the dichloromethane extract exhibited significant antibacterial activity against *Vibrio* sp. and *Aeromonas caviae*, two major pathogenic bacteria in aquaculture. Notably, the dichloromethane extract showed strong inhibition against *Vibrio* sp., with an inhibition zone diameter of 17.97 ± 0.47 mm at a concentration of 128 $\mu\text{g/mL}$. Phytochemical analysis of the dichloromethane extract using nuclear magnetic resonance (1D, 2D-NMR) spectroscopy, in combination with comparison to published data, led to three compounds identified: apigenin (1), vindoline (2), and oleanolic acid (3). The results highlight the potential of *C. roseus* leaves as a promising natural source of potent antibacterial agents.

Keywords: antibacterial activity, *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, chemical composition.

1. Giới thiệu

Catharanthus roseus (L.) G. Don, được biết đến với tên gọi Dừa cạn, là một loài cây bụi thuộc họ Apocynaceae, có thể phát triển chiều cao lên đến khoảng 1 mét, với hoa có nhiều màu sắc khác nhau, điển hình là màu hồng đậm hoặc trắng. Cây chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học phân bố ở nhiều bộ phận khác nhau và đã được sử dụng trong y học dân gian để điều trị các bệnh lý như ung thư, viêm, nhiễm trùng, đái tháo đường, tăng huyết áp, đau nhức cơ và vết đốt do côn trùng. Đặc biệt, loài cây này rất giàu alkaloid, bao gồm vinblastine và vincristine, là những hợp chất quan trọng trong điều trị ung thư (Jassim & cs., 2014; Mujib & cs., 2022; Zhong & cs., 2019). *Catharanthus roseus* là loài thực vật chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học, tiêu biểu là các nhóm alkaloid, flavonoid, phenolic và terpenoid, góp phần tạo nên phổ tác dụng dược lý đa dạng, bao gồm tiềm năng chống đái tháo đường, hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn và kháng viêm (Lahare & cs., 2020; Lahare & cs., 2021; Xu & cs., 2021).

Hiện nay, các dòng vi khuẩn thuộc chi *Vibrio* và *Aeromonas* đang trở thành đối tượng gây lo ngại đáng kể trong lĩnh vực nuôi trồng thủy sản, do phần lớn chúng là tác nhân gây ra các bệnh lý nghiêm trọng trên tôm và cá. Đặc biệt, sự xuất hiện của các bệnh như hội chứng tôm chết sớm, hoại tử gan tụy cấp tính ở tôm thẻ chân trắng, và xuất huyết gan ở cá đã được ghi nhận có liên quan đến sự nhiễm khuẩn bởi các dòng vi khuẩn này (Santos & cs., 2020; Liu & cs., 2004). Trong bối cảnh đó, việc nghiên cứu và ứng dụng các chiết xuất từ thảo dược có khả năng ức chế hoạt động của *Vibrio* sp. và *Aeromonas* không chỉ mở ra hướng tiếp cận sinh học an toàn và hiệu quả trong phòng trị bệnh, mà còn góp phần hạn chế việc lạm dụng kháng sinh, hướng tới sự phát triển bền vững trong nuôi trồng thủy sản.

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu quốc tế về hoạt tính sinh học của *Catharanthus roseus*, nhưng tại Việt Nam, các dữ liệu liên quan đến hoạt tính kháng khuẩn đối với *Vibrio* sp. và *Aeromonas caviae* cũng như thành phần hóa học của lá cây này vẫn còn hạn chế. Nghiên cứu được thực hiện nhằm bổ sung cơ sở dữ liệu về dược liệu bản địa, đồng thời làm tiền đề cho các nghiên cứu chuyên sâu tiếp theo.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Hóa chất và thiết bị

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (1D, 2D-NMR) được ghi nhận bằng thiết bị Bruker Avance 600 MHz tại Viện Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Các dung môi sử dụng trong nghiên cứu bao gồm *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, methanol và ethanol 96%, được cung cấp bởi Chemsol (Việt Nam). Silica gel loại 60 (Merck, Đức) được sử dụng cho sắc ký cột, trong khi bản mỏng TLC phủ huỳnh quang F254 (độ hạt 0,063–0,200 mm, Merck, Đức) được sử dụng cho sắc ký bản mỏng.

Các thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn bao gồm: tủ cấy vi sinh loại II (Class II BSC, Esco, Indonesia), nồi hấp tiệt trùng (HVE-50, Hirayama, Nhật Bản), máy ly tâm (Mikro 12-24, Hettich, Đức), máy vortex (ZX3, Velp, Ý) và máy cô quay chân không (Heidolph, Đức).

2.2. Đối tượng nghiên cứu và chuẩn bị nguyên liệu

Lá cây Dừa cạn (*Catharanthus roseus*) được thu thập tại huyện Châu Thành, tỉnh An Giang, Việt Nam vào tháng 7/2024; và đã được định danh thực vật bởi TS. Nguyễn Thị Kim Huê. Mẫu cây được lưu giữ tại Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ. Nguyên liệu tươi sau khi thu hái được làm sạch, cắt nhỏ và sấy khô ở nhiệt độ 50°C. Sau khi sấy, mẫu được nghiền thành bột mịn và bảo quản ở 4°C. Hàm lượng ẩm của dược liệu

được xác định theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V (Bộ Y tế, 2017), với giá trị đo được là $8,33 \pm 0,06\%$.

Khối lượng 4,2 kg bột lá khô được chiết bằng phương pháp ngâm dầm với ethanol 96% trong 24 giờ. Dịch chiết thu được sau đó được cô đặc bằng máy cô quay chân không, thu được 457 g cao tổng ethanol từ lá *C. roseus*. Cao tổng này tiếp tục được chiết lỏng-lỏng tuần tự với các dung môi có độ phân cực tăng dần: *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate và methanol. Sau khi loại bỏ dung môi bằng cô quay dưới áp suất thấp, thu được lần lượt 64,40 g, 30,20 g, 35,73 g và 42,56 g các cao chiết phân đoạn tương ứng.

2.3. Thực nghiệm khảo sát hoạt tính kháng khuẩn

Trong nghiên cứu này, hiệu quả kháng khuẩn của các cao chiết từ lá cây Dừa cạn (*Catharanthus roseus*) được khảo sát thông qua phương pháp khuếch tán giếng thạch, với tiêu chí đánh giá là đường kính vùng ức chế sự phát triển của vi khuẩn. Hai chủng vi khuẩn được lựa chọn cho thí nghiệm là *Vibrio* sp. và *Aeromonas caviae*, những tác nhân gây bệnh chính trong ngành nuôi trồng thủy sản. Các dòng vi khuẩn Gram âm này được phân lập từ gan tụy của tôm bệnh, cá tra bị xuất huyết gan do Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ cung cấp.

Chuẩn bị mẫu thử và quy trình tiến hành: Các cao chiết từ lá cây Dừa cạn được hòa tan trong dung môi dimethyl sulfoxide (DMSO) 10% để thu được các dung dịch thử với các nồng độ 8, 16, 32, 64 và 128 $\mu\text{g/mL}$. Dịch nuôi cấy vi khuẩn được pha loãng bằng dung dịch NaCl sinh lý 0,9% để điều chỉnh mật độ tế bào đạt giá trị hấp thụ quang học $\text{OD}_{600} = 0,5$. Tiếp theo, 100 μL hỗn dịch vi khuẩn được cấy đều lên bề mặt đĩa thạch chứa môi trường Luria–Bertani Agar (LBA), sau đó để khô trong vòng 15 phút ở điều kiện vô trùng. Các giếng thạch có đường kính 7 mm được tạo trên bề mặt đĩa để chứa dung dịch thử.

Mỗi giếng thạch được bổ sung 50 μL dung dịch cao chiết ở các nồng độ khác nhau đã chuẩn bị. Kháng sinh ampicillin (500 $\mu\text{g/mL}$) được sử dụng làm đối chứng dương để so sánh hiệu quả kháng khuẩn, trong khi dung dịch DMSO 10% (dung môi hòa tan cao chiết) được dùng làm đối chứng âm nhằm đánh giá ảnh hưởng riêng lẻ của dung môi đối với sự phát triển của vi khuẩn. Các đĩa thạch sau khi xử lý được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 24 giờ. Kết quả kháng khuẩn được xác định thông qua đường kính vùng ức chế (tính bằng mm) bằng thước đo chính xác (Yeo & cs., 2014).

2.4. Phân lập các hợp chất

Trong số các cao phân đoạn thu được, cao chiết dichloromethane (30,20 g) cho thấy hiệu lực kháng khuẩn cao nhất và do đó được lựa chọn để tiếp tục khảo sát thành phần hóa học. Quá trình phân lập được thực hiện bằng phương pháp sắc ký cột, sử dụng hệ dung môi *n*-hexane:ethyl acetate với tỷ lệ thay đổi từ 9:1 đến 0:100 (v/v), thu được 9 phân đoạn chính, được ký hiệu từ DCF1 đến DCF9. Phân đoạn DCF8 (1,30 g) tiếp tục được tinh chế bằng sắc ký cột sử dụng hệ dung môi *n*-hexane:dichloromethane (tỷ lệ từ 4:6 đến 0:100, v/v), thu được 5 phân đoạn phụ, ký hiệu DCF8.1 đến DCF8.5. Từ phân đoạn DCF8.3 (30 mg), quá trình sắc ký cột tiếp theo đã phân lập thành công hợp chất (1) với khối lượng thu được là 15 mg.

Quy trình phân lập tương tự cũng được áp dụng đối với phân đoạn DCF3 (2,93 g). Phân đoạn này được phân chia thành 07 phân đoạn phụ thông qua sắc ký cột silica gel, sử dụng hệ dung môi rửa giải lần lượt là *n*-hexane:dichloromethane (tỷ lệ thay đổi từ 7:3 đến 0:100, v/v), tiếp theo là dichloromethane:methanol (tỷ lệ từ 97:3 đến 0:100, v/v). Phân đoạn DCF3.6 (530 mg) tiếp tục được tinh sạch bằng nhiều bước sắc ký cột silica gel liên tiếp, từ đó thu được hợp chất (2) với khối lượng 53 mg.

Tương tự, phân đoạn DCF2 (3,12 g) được tiếp tục phân lập bằng sắc ký cột silica gel, sử dụng hệ dung môi *n*-hexane:dichloromethane với tỉ lệ thay đổi từ 8:2 đến 5:5 (v/v), thu được 05 phân đoạn phụ, ký hiệu DCF2.1–DCF2.5. Trong số đó, phân đoạn DCF2.3 được tiếp tục xử lý bằng sắc ký cột sử dụng hệ dung môi *n*-hexane:dichloromethane (tăng dần từ 2:8 đến 0:100, v/v), kết hợp với hệ dichloromethane:ethyl acetate (95:5, v/v), từ đó thu được 05 phân đoạn tiếp theo, ký hiệu DCF2.3.1–DCF2.3.5. Quá trình tinh sạch phân đoạn DCF2.3.4 cuối cùng đã dẫn đến việc phân lập thành công hợp chất (3) với khối lượng 18 mg.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Dữ liệu thu thập được xử lý và phân tích bằng phần mềm thống kê Statgraphics Centurion 16.2 (Statgraphics Technologies, Inc., Hoa Kỳ) kết hợp với Microsoft Office 365 (Microsoft Corporation, Hoa Kỳ). Phân tích phương sai một yếu tố (One-way ANOVA) được áp dụng để đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, với mức ý nghĩa được thiết lập tại $p < 0,05$.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn

Hiệu quả kháng khuẩn của các cao chiết từ lá cây Dừa cạn (*Catharanthus roseus*) trồng tại An Giang đối với các chủng vi khuẩn *Vibrio* sp. và *Aeromonas caviae* được thể hiện ở **Bảng 1**. Kết quả cho thấy hầu hết các cao chiết đều có khả năng ức chế cả hai dòng vi khuẩn, tuy nhiên hiệu quả rõ rệt chỉ được ghi nhận ở nồng độ 128 $\mu\text{g/mL}$. Đường kính vòng kháng khuẩn tăng theo nồng độ cao chiết, nghĩa là hiệu quả kháng khuẩn gia tăng khi nồng độ cao chiết tăng. Đặc biệt, tại nồng độ 128 $\mu\text{g/mL}$, cao chiết dichloromethane từ lá cây Dừa cạn cho thấy hiệu lực kháng khuẩn mạnh nhất đối với *Vibrio* sp. ($p < 0,05$), đồng thời hiệu quả kháng *Vibrio* sp. cao hơn so với *Aeromonas caviae*.

So sánh độ nhạy cảm của vi khuẩn đối với kháng sinh cho thấy *Vibrio* sp. và *Aeromonas caviae* nhạy cảm hơn với cao chiết dichloromethane từ lá cây Dừa cạn so với kháng sinh ampicillin. Tại nồng độ 128 $\mu\text{g/mL}$, cao chiết dichloromethane thể hiện hoạt tính ức chế rõ rệt đối với cả hai chủng vi khuẩn, với đường kính vùng ức chế lần lượt là $17,97 \pm 0,47$ mm đối với *Vibrio* sp. và $11,97 \pm 0,45$ mm đối với *A. caviae*. Trong khi đó, ampicillin không cho thấy hiệu quả ức chế đối với hai chủng vi khuẩn này ở nồng độ dưới 500 $\mu\text{g/mL}$.

Kết quả khảo sát cho thấy hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết phân đoạn từ lá cây Dừa cạn có sự khác biệt rõ rệt, phụ thuộc vào bản chất của dung môi trích ly. Trong số các phân đoạn được khảo sát, cao chiết dichloromethane thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh nhất đối với cả hai chủng *Vibrio* sp. và *Aeromonas caviae*, thể hiện qua đường kính vùng ức chế lớn hơn so với các phân đoạn còn lại. Kết quả này cho thấy các hợp chất có hoạt tính sinh học trong lá Dừa cạn có xu hướng tập trung trong phân đoạn có độ phân cực trung bình, phù hợp với đặc tính của nhiều alkaloid và flavonoid đã được ghi nhận ở loài này (Van & cs., 2004).

Sự hiện diện của các alkaloid như vindoline, catharanthine cùng với một số flavonoid trong phân đoạn dichloromethane có thể là yếu tố chính góp phần tạo nên hiệu quả kháng khuẩn của phân đoạn này. Nhiều nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng các hợp chất này có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn Gram âm thông qua các cơ chế như phá vỡ màng tế bào và ức chế hoạt động của các enzyme chuyển hóa nội bào (Shetty & cs., 2016).

So với các cao chiết phân đoạn khác, phân đoạn dichloromethane thể hiện hoạt tính kháng khuẩn vượt trội. Hiệu quả này có thể được lý giải bởi hiệu ứng hiệp lực giữa nhiều hợp chất có trong phân đoạn, góp phần mở rộng phổ tác dụng và tăng cường hiệu lực sinh học tổng thể (Shah & cs., 2019).

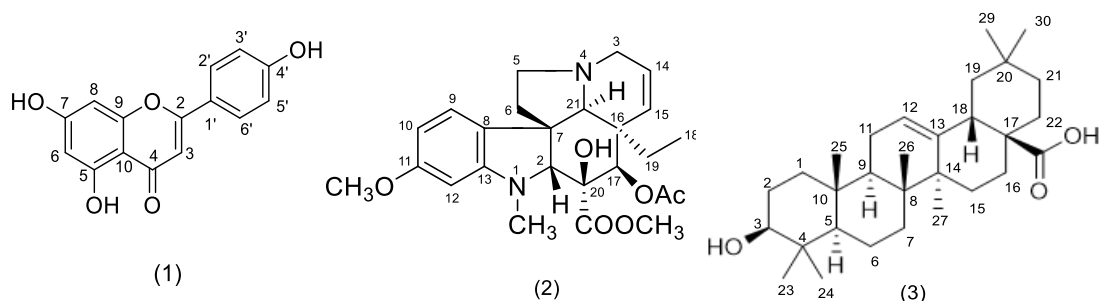
Bảng 1. Khả năng kháng khuẩn của các cao chiết lá cây Dừa cạn

Cao chiết		Đường kính vòng kháng khuẩn $d \pm SE$ (mm) ở các nồng độ khác nhau				
Nồng độ cao chiết (mg/mL)		8	16	32	64	128
Cao tổng	<i>Vibrio sp.</i>	-	-	-	-	16,80 $\pm$ 0,20 ^a
	<i>Aeromonas caviae</i>	-	-	-	8,63 $\pm$ 0,15 ^b	15,00 $\pm$ 0,50 ^a
Cao <i>n</i> -hexane	<i>Vibrio sp.</i>	-	-	-	-	13,53 $\pm$ 0,95 ^a
	<i>Aeromonas caviae</i>	-	-	-	-	12,23 $\pm$ 0,25 ^a
Cao dichloromethane	<i>Vibrio sp.</i>	-	-	-	11,97 $\pm$ 0,45 ^b	17,97 $\pm$ 0,47 ^a
	<i>Aeromonas caviae</i>	-	-	-	8,93 $\pm$ 0,12 ^b	14,83 $\pm$ 0,47 ^a
Cao ethyl acetate	<i>Vibrio sp.</i>	-	-	-	-	15,00 $\pm$ 0,50 ^a
	<i>Aeromonas caviae</i>	-	-	11,90 $\pm$ 0,37 ^c	13,10 $\pm$ 0,29 ^b	16,50 $\pm$ 0,05 ^a
Đối chứng dương						
Ampicillin (500 μ g/mL)	<i>Vibrio sp.</i>	28,00 $\pm$ 0,33				
	<i>Aeromonas caviae</i>	36,56 $\pm$ 0,56				
Đối chứng âm						
DMSO 10%	<i>Vibrio sp.</i>	-	-	-	-	-
	<i>Aeromonas caviae</i>	-	-	-	-	-

Ghi chú: “-” là không kháng khuẩn. Các giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn có các số khác nhau trong cùng một hàng thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.2. Nhận danh hợp chất

Các hợp chất được phân lập từ cao chiết dichloromethane của lá cây Dừa cạn tiếp tục được xác định cấu trúc hóa học. Quá trình nhận dạng cấu trúc, minh họa trong **Hình 1**, được thực hiện thông qua phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), kết hợp với việc đối chiếu dữ liệu phổ với các tài liệu tham khảo đã công bố.



Hình 1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được

3.3.1. Hợp chất 1

Hợp chất (1) thu được dưới dạng bột màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 348-350 °C.

¹H-NMR (600 MHz, acetone-*d*₆), δ_H (ppm): 12,98 (1H, *s*, OH-5); 7,92 (2H, *dd*, $J = 1,8$; 9,0 Hz, H-2',6'); 7,02 (2H, *dd*, $J = 1,8$; 9,0 Hz, H-3',5'); 6,62 (1H, *s*, H-3); 6,53 (1H, *d*, $J = 1,8$ Hz; H-8); 6,25 (1H, *d*, $J = 1,8$ Hz, H-6).

¹³C-NMR (150 MHz, acetone-*d*₆), δ_C (ppm): 183,1 (C-4); 165,1 (C-2,7); 163,3 (C-4'); 162,1 (C-5); 158,8 (C-9); 129,2 (C-2',6'); 123,1 (C-1'); 116,9 (C-3',5'); 105,2 (C-10); 104,0 (C-3); 99,7 (C-6); 94,7 (C-8).

Phổ **¹H-NMR** (600 MHz, acetone-*d*₆) của hợp chất 1 cho thấy tín hiệu đơn tại δ_H 12,98 ppm (1H, *s*), đặc trưng cho proton của nhóm hydroxyl liên kết với nhóm carbonyl - thường gặp tại vị trí C-5 trong hệ cấu trúc flavone. Các tín hiệu của proton thơm xuất hiện tại δ_H 7,92 (2H, *dd*, $J = 1,8$; 9,0 Hz) và 7,02 (2H, *dd*, $J = 1,8$; 9,0 Hz), cho thấy sự hiện diện của vòng thơm B đối xứng kiểu *para*, tương ứng với các vị trí H-2',6' và H-3',5'. Hằng số ghép *ortho* và *meta* xác nhận mối liên kết tương ứng giữa các proton này.

Ba tín hiệu còn lại tại δ_H 6,62 (1H, *s*), 6,53 (1H, *d*, $J = 1,8$ Hz) và 6,25 (1H, *d*, $J = 1,8$ Hz) được gán cho các proton trên vòng A. Cụ thể, hai tín hiệu ở 6,53 và 6,25 ppm là cặp proton ghép *meta* (H-6 và H-8), trong khi tín hiệu đơn tại 6,62 ppm được gán cho H-3, nằm trên khung flavone trung tâm.

Phổ **¹³C-NMR** (150 MHz, acetone-*d*₆) ghi nhận 13 tín hiệu carbon, phù hợp với số lượng carbon trong khung apigenin. Trong đó, tín hiệu tại δ_C 183,1 ppm xác định carbonyl tại vị trí C-4, là đặc điểm đặc trưng cho hệ flavone. Năm tín hiệu tại vùng δ_C 158,8-165,1 ppm, bao gồm 165,1 (2C), 163,3, 162,1 và 158,8 ppm, được gán cho các carbon thơm mang nhóm hydroxyl hoặc nhóm ether (C-OH/C-O-) tương ứng với các vị trí C-5, C-7, C-4' và các carbon liên hợp khác trong hệ thống vòng thơm.

Các tín hiệu còn lại nằm trong vùng δ_C 94,7-129,2 ppm, đặc trưng cho các carbon sp^2 không mang nhóm thế oxy. Cụ thể, các tín hiệu tại δ_C 129,2 (2C) và 116,9 (2C) được gán cho các carbon thuộc vòng B đối xứng kiểu *para* (C-2',6' và C-3',5'). Các tín hiệu này có cường độ cao bất thường, phản ánh tính đối xứng của vòng B và hiện tượng trùng lặp hóa học, là dấu hiệu quan trọng để nhận diện cấu trúc đối xứng của apigenin. Tín hiệu tại δ_C 104,0 ppm được gán cho C-3 nằm trong khung flavone, trong khi các tín hiệu còn lại tại δ_C 105,2; 99,7 và 94,8 ppm tương ứng với các vị trí C-10, C-6 và C-8 trên vòng A, phù hợp với sự hiện diện của các proton ở những vị trí này trong phổ **¹H-NMR**.

Từ các dữ liệu phổ kết hợp với tài liệu so sánh (Lee & cs., 2012), hợp chất (1) được xác định là apigenin. Hợp chất này đã được ghi nhận rộng rãi về nhiều hoạt tính sinh học tiềm năng, đặc biệt là khả năng kháng khuẩn. Các nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng apigenin có thể ức chế hiệu quả sự phát triển của cả vi khuẩn Gram dương (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) lẫn vi khuẩn Gram âm (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) (Kumar & Pandey, 2013). Cơ chế tác động kháng khuẩn của apigenin được cho là liên quan đến việc làm suy yếu màng tế bào vi khuẩn, ức chế các enzyme thiết yếu, và ảnh hưởng đến quá trình sao chép DNA của vi khuẩn (Sharma & cs., 2020).

Đáng chú ý, apigenin còn có khả năng hiệp đồng với một số kháng sinh, qua đó giúp tăng cường hiệu quả điều trị và giảm thiểu hiện tượng kháng thuốc – một vấn đề đang ngày càng được quan tâm trong việc kiểm soát bệnh truyền nhiễm. Những phát hiện này gợi mở tiềm năng ứng dụng apigenin như một hợp chất sinh học có giá trị trong lĩnh vực dược liệu và phòng trị bệnh, đặc biệt trong bối cảnh cần tìm kiếm các hoạt chất tự nhiên thay thế hoặc hỗ trợ kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản. Apigenin có cấu trúc flavone với ba nhóm hydroxyl, khả năng tương tác với phospholipid màng tế bào và protein màng, từ đó gây rối loạn chức năng màng và dẫn đến sự chết tế bào vi khuẩn (Cushnie & Lamb, 2005).

3.3.2. Hợp chất 2

Hợp chất (2) thu được dưới dạng tinh thể màu trắng hình kim, nhiệt độ nóng chảy 216–218 °C.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃), δ_H (ppm): 9,52 (1H, *br s*, -OH); 6,89 (1H, *d*, $J = 8,4$ Hz, H-9); 6,29 (1H, *dd*, $J = 2,4$ và $8,4$ Hz, H-10); 6,08 (1H, *d*, $J = 2,4$ Hz, H-12); 5,85 (1H, *ddd*, $J = 1,8$; 3,6 và $10,2$ Hz, H-12); 5,45 (1H, *s*, H-17); 5,24 (1H, *d*, $J = 10,2$ Hz, H-15); 3,79 (3H, *s*, O-CH₃); 3,78 (3H, *s*, -COOCH₃); 3,75 (1H, *s*, H-2); 3,49 (1H, *dd*, $J = 1,2$ và $14,4$ Hz, H-3b); 3,42 (1H, *td*, $J = 4,2$ và $9,0$ Hz, H-5b); 2,82 (1H, *d*, $J = 16,2$ Hz, H-3a); 2,67 (3H, *s*, N-CH₃); 2,66 (1H, *s*, H-21); 2,52 (1H, *m*, H-5a); 2,32 (2H, *m*, H-6); 2,07 (3H, *s*, OCOCH₃); 1,65 (1H, *m*, H-19b); 1,14 (1H, *m*, H-19a); 0,49 (1H, *m*, H-19a).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃), δ_C (ppm): 171,9 (-COOCH₃); 170,8 (-OCOCH₃); 161,2 (C-11); 153,8 (C-13); 130,5 (C-15); 125,1 (C-8); 122,7 (C-9); 124,1 (C-14); 104,6 (C-10); 95,9 (C-12); 83,4 (C-2); 79,6 (C-20); 76,4 (C-17); 67,1 (C-21); 55,4 (O-CH₃); 52,8 (-COOCH₃); 52,2 (C-5); 52,0 (C-7); 51,1 (C-3); 44,1 (C-6); 43,0 (C-16); 38,2 (N-CH₃); 30,8 (C-19); 21,0 (-OCOCH₃); 7,7 (C-18).

Phổ **¹H-NMR** của hợp chất 2 (600 MHz, CDCl₃) cho thấy các tín hiệu proton phân bố ở cả vùng trường thấp và trường cao. Một tín hiệu đơn rộng tại δ_H 9,52 ppm (1H, *br s*) được gán cho proton của nhóm hydroxyl. Ba proton thơm xuất hiện tại δ_H 6,89 (1H, *d*, $J = 8,4$ Hz), 6,29 (1H, *dd*, $J = 2,4$; $8,4$ Hz) và 6,08 (1H, *d*, $J = 2,4$ Hz), với các hằng số ghép đôi cho thấy mối liên hệ *ortho* và *meta*, gợi ý các proton này nằm trên một vòng thơm được thay thế.

Các tín hiệu tại δ_H 5,85 (1H, *ddd*, $J = 1,8$; 3,6; $10,2$ Hz), 5,45 (1H, *s*) và 5,24 (1H, *d*, $J = 10,2$ Hz) phản ánh sự hiện diện của các proton gần nguyên tử có độ âm điện cao hoặc liên kết đôi. Hằng số ghép đôi ($J = 10,2$ Hz) giữa các proton tại δ_H 5,85 và 5,24 ppm cho thấy cấu hình *-cis*.

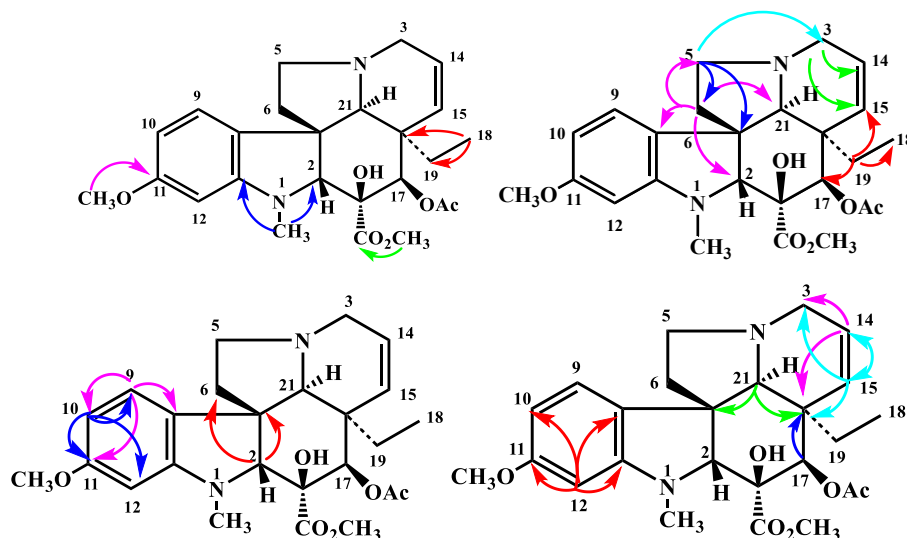
Ở vùng δ_H 0,49–3,79 ppm, các tín hiệu proton được phân loại thành ba nhóm: (i) các multiplet phức tạp thuộc về proton no, bao gồm δ_H 3,49, 3,42, 2,82, 2,52, 2,32, 1,65 và 1,14 ppm; (ii) hai tín hiệu đơn tại δ_H 3,75 và 2,66 ppm, có khả năng là các proton nằm gần dị nguyên tử hoặc trung tâm bậc bốn; và (iii) năm tín hiệu methyl tại δ_H 3,79, 3,78, 2,67, 2,07 và 0,49

ppm, trong đó tín hiệu mũi đa tại δ_H 0,49 ppm cho thấy sự hiện diện của một nhóm methyl liên kết với nhóm methylene.

Phổ ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3), với sự hỗ trợ từ phổ HSQC, ghi nhận 25 tín hiệu carbon: tám nhóm methine, bốn nhóm methylene, năm nhóm methyl và tám carbon bậc bốn. Hai tín hiệu carbonyl xuất hiện tại δ_C 171,9 và 170,8 ppm. Tám carbon thơm hoặc olefin nằm trong khoảng δ_C 95,9-161,2 ppm, bao gồm các carbon methine và carbon sp^2 không mang hydro.

Ba carbon methine có gắn nhóm hydroxyl được quan sát tại δ_C 67,1; 76,4 và 83,4 ppm. Các carbon methylene xuất hiện tại δ_C 30,8; 44,1; 51,1 và 52,2 ppm. Năm carbon methyl được ghi nhận tại δ_C 7,7; 21,0; 38,2; 52,8 và 55,4 ppm, trong đó tín hiệu tại δ_C 7,7 ppm xác nhận sự có mặt của một nhóm methyl aliphatic đơn giản. Các carbon bậc bốn còn lại được gán tại δ_C 43,0; 52,0 và 79,6 ppm.

Phổ HMBC của hợp chất vindoline thể hiện các tương quan dị hạt nhân 2–3 liên kết giữa proton và carbon giúp xác lập khung cấu trúc của hợp chất này. Một số tương quan đáng chú ý được thể hiện ở **Hình 2**.



Hình 2. Một số tương quan chính trong phổ HMBC của hợp chất (2)

Dựa trên các dữ liệu phổ và so sánh với tài liệu tham khảo (Vic & cs., 1998), hợp chất (2) được xác định là vindoline. Nguyễn Lê Tuấn và cộng sự (2012) đã phát triển quy trình bán tổng hợp vinblastine – một thuốc điều trị ung thư – từ hai alkaloid phụ có hàm lượng cao trong lá *Catharanthus roseus* là catharanthine và vindoline, do hàm lượng tự nhiên của vinblastine rất thấp. Phương pháp này được xem là một hướng tiếp cận tiềm năng nhằm nâng cao hiệu quả sản xuất. Về mặt dược lý, ngoài tác dụng kháng ung thư, vindoline cũng thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa hiệu quả, chống đái tháo đường trong điều kiện *in vitro* (Goboza & cs., 2020; Hyunseung & cs., 2023).

3.3.3. Hợp chất 3

Hợp chất (3) là chất bột màu trắng, vô định hình, nhiệt độ nóng chảy 302-304°C.

^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ_H (ppm): 5,15 (1H, *br s*, H-12); 4,27 (1H, *d*, $J = 4,8$ Hz, 3-OH); 3,00 (1H, *m*, H-3); 2,74 (1H, *dd*, $J = 9,6$ và $4,2$ Hz, H-18); 1,90 (1H, *dt*, $J = 9,6$ và $3,6$ Hz, H-16); 1,63 (2H, *m*, H-22); 1,63 (1H, *m*, H-19b); 1,50 (1H, *m*, H-9); 1,50 (1H, *m*,

H-11); 1,50 (1H, *m*, H-15b); 1,50 (1H, *m*, H-21); 1,42 (1H, *m*, H-1b); 1,42 (2H, *m*, H-2); 1,42 (1H, *m*, H-6b); 1,31 (1H, *m*, H-7b); 1,31 (1H, *m*, H-6a); 1,24 (1H, *dd*, $J = 6,6$ và $3,0$ Hz, H-1a); 1,13 (3H, *m*, H-7a); 1,05 (1H, *m*, H-19a); 1,00 (1H, *m*, H-15a); 1,09 (3H, *s*, H-27); 0,90 (3H, *s*, H-23); 0,87 (3H, *s*, H-29); 0,87 (3H, *s*, H-30); 0,85 (3H, *s*, H-25); 0,72 (3H, *s*, H-26); 0,68 (3H, *s*, H-24); 0,68 (1H, *s*, H-5).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6), δ_c (ppm): 178,6 (C-28); 143,8 (C-13); 121,5 (C-12); 76,8 (C-3); 54,8 (C-5); 47,1 (C-9); 45,7 (C-19); 45,4 (C-17); 41,3 (C-14); 40,8 (C-18); 38,8 (C-8); 38,3 (C-4); 38,0 (C-1); 36,6 (C-10); 33,3 (C-7); 32,8 (C-29); 32,1 (C-22); 30,3 (C-20); 28,2 (C-23); 27,2 (C-15); 26,9 (C-2); 25,6 (C-27); 23,3 (C-30); 22,9 (C-11); 22,6 (C-16); 18,0 (C-6); 16,8 (C-26); 16,0 (C-24); 15,1 (C-25).

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) của hợp chất (**3**) cho thấy các tín hiệu đặc trưng của khung triterpenoid. Bảy tín hiệu singlet tại δ_H 0,68; 0,72; 0,85; 0,87 ($\times 2$); 0,90 và 1,09 ppm (mỗi tín hiệu ứng với 3H, *s*) tương ứng với bảy nhóm methyl – một đặc điểm điển hình của các triterpen thuộc loại oleanane. Một tín hiệu singlet rộng tại δ_H 5,15 ppm (1H, *br s*) cho thấy sự hiện diện của một proton olefin, nhiều khả năng tại vị trí C-12. Ngoài ra, một tín hiệu doublet tại δ_H 4,27 ppm (1H, *d*, $J = 4,8$ Hz) được gán cho proton của nhóm hydroxyl gắn tại vị trí C-3.

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) được hỗ trợ bởi phân tích DEPT, cho thấy 30 tín hiệu carbon, bao gồm bảy nhóm methyl, mười nhóm methylene, năm nhóm methine và tám carbon bậc bốn. Các tín hiệu đáng chú ý bao gồm một carbon methine liên kết với nguyên tử oxy tại δ_c 76,8 ppm, các carbon olefin tại δ_c 121,5 và 143,8 ppm (C-12 và C-13), cùng một carbon của nhóm acid carboxylic tại δ_c 178,6 ppm. Các tín hiệu carbon của nhóm methyl được ghi nhận tại δ_c 15,1; 16,0; 16,8; 23,3; 25,6; 28,2 và 32,8 ppm.

Từ các đặc điểm phổ trên và đối chiếu tài liệu tham khảo (Dais & cs., 2017), kết luận hợp chất (**3**) là **oleanolic acid**. Đây là hợp chất triterpene gặp trong nhiều loài cây thuốc và đang được chú ý về tiềm năng sử dụng trong điều trị các bệnh mạn tính (Ayeleso, Matumba, & Mukwevho, 2017) và tác dụng ức chế khối u (Liu & cs., 2013).

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết dichloromethane từ lá cây Dừa cạn (*Catharanthus roseus*) trồng tại An Giang thể hiện hoạt tính kháng khuẩn vượt trội so với các phân đoạn khác, đặc biệt hiệu quả đối với hai chủng vi khuẩn gây bệnh thủy sản là *Vibrio* sp. và *Aeromonas caviae*. Từ phân đoạn có hoạt tính cao nhất, ba hợp chất đã được phân lập và xác định cấu trúc hóa học bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân (1D, 2D-NMR), bao gồm apigenin (1), vindoline (2) và oleanolic acid (3). Những kết quả này không chỉ góp phần bổ sung dữ liệu về nguồn hóa thực vật trong nước mà còn lần đầu tiên khẳng định tiềm năng ứng dụng của lá cây Dừa cạn trong việc phát triển các chế phẩm kháng khuẩn có nguồn gốc từ thực vật bản địa, với hiệu lực rõ rệt trên hai dòng vi khuẩn quan trọng trong nuôi trồng thủy sản.

Tài liệu tham khảo

- Ayeleso, T.B., Matumba, M.G., & Mukwevho, E. (2017). Oleanolic acid and its derivatives: Biological activities and therapeutic potential in chronic diseases. *Molecules*, 22(11), 1-16. <https://doi.org/10.3390/molecules22111915>
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>

- Dais, P., Plessel, R., Williamson, K., & Hatzakis, E. (2017). Complete ^1H and ^{13}C NMR assignment and ^{31}P NMR determination of pentacyclic triterpenic acids. *Analytical Methods*, 9(6), 949-957. <https://doi.org/10.1039/C6AY02565J>
- Goboza, M., Meyer, M., Aboua, Y.G., Oguntibeju, O.O. (2020). *In vitro* antidiabetic and antioxidant effects of different extracts of *Catharanthus roseus* and its indole alkaloid, vindoline. *Molecules*, 25(23), 1-22. <https://doi.org/10.3390/molecules25235546>
- Hyunseung, L., Yihoon, K., Hira, A., Dong-Min, K., Jaewoon, L., Sujin, L., Sunhwa, J., Suyeon, H., Hyunah, C., Ghilsoo, N., Yun, K. K., Sungsu, L., Sun-Joon, M. (2023). Synthesis and biological evaluation of indane-based fluorescent probes for detection of amyloid- β aggregates in Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 95. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2023.117513>.
- Jassim, E.H., Ameen, S.K.M. (2014). Effect of sucrose and mannitol on Ajmalicine production from leaves induced callus of *Catharanthus roseus* L. G. Don *in vitro*. *Journal of Biotechnology Research Center*, 8, 27-34. DOI: <https://doi.org/10.24126/jobrc.2014.8.2.323>
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 1-16. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>
- Lahare, R.P., Yadav, H.S., Bisen, Y.K., Dashahre, A.K. (2020). An updated review on phytochemical and pharmacological properties of *Catharanthus rosea*. *Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences*, 759-766. <https://doi.org/10.36348/sjmps.2020.v06i12.007>
- Lahare, R.P., Yadav, H.S., Bisen, Y.K., Dashahre, A.K. (2021). Estimation of total phenol, flavonoid, tannin and alkaloid content in different extracts of *Catharanthus roseus* from durg district, Chhattisgarh, India. *Schizophrenia Bulletin*, 7(1), 1-6. <https://doi.org/10.36348/sb.2021.v07i01.001>
- Lee, D. G., Mok, S. Y., Choi, C., Cho, E. J., Kim, H. Y., & Lee, S. (2012). Analysis of apigenin in *Blumea balsamifera* Linn DC. and its inhibitory activity against aldose reductase in rat lens. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 1(1), 28-33. <https://doi.org/10.4236/jacen.2012.11005>
- Liu, Q., Liu, H., Zhang, L., Guo, T., Wang, P., Geng, M., & Li, Y. (2013). Synthesis and antitumor activities of naturally occurring oleanolic acid triterpenoid saponins and their derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 64, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.04.016>
- Liu, C. H., Cheng, W., Hsu, J. P., & Chen, J. C. (2004). *Vibrio alginolyticus* infection in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* confirmed by polymerase chain reaction and 16S rDNA sequencing. *Diseases of Aquatic Organisms*, 61(1-2), 169-174. <https://doi.org/10.3354/dao061169>
- Mujib, A., Fatima, S., Malik, M.Q. (2022). Gamma ray-induced tissue responses and improved secondary metabolites accumulation in *Catharanthus roseus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106 (18), 6109-6123. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12122-7>
- Nguyễn L.T., Trần V. L., Nguyễn Q. V., Trần B. D., Trần V. S. (2012). Nghiên cứu tổng hợp Vinblastin từ Catharanthin và Vindoline chiết tách từ lá Dừa cạn. *Tạp chí Hóa học*, 50(2), 211-215.

- Santos, H. M., Tsai, C. Y., Maquiling, K. R. A., Tayo, L. L., Mariatulqabtiah, A. R., Lee, C. W., & Chuang, K. P. (2020). Diagnosis and potential treatments for acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND): a review. *Aquaculture International*, 28(1), 169-185. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00451-w>
- Sharma, S., Vig, A. P., & Singh, S. (2020). Review on flavonoid apigenin: Biological activities and therapeutic potential. *Pharmaceutical and Biosciences Journal*, 8(1), 1–10.
- Shah, P., Modi, H. A., & Shukla, A. (2019). Synergistic antimicrobial activity of plant extract combinations. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(1), 158–162.
- Shetty, R., Singh, P., & Vemula, P. K. (2016). Recent advances in the antibacterial activity of plant-derived alkaloids. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 16(2), 240–255. <https://doi.org/10.1039/d2np00090c>
- Van, D. H. R., Jacobs, D. I., Snoeijer, W., Hallard, D., & Verpoorte, R. (2004). The Catharanthus alkaloids: pharmacognosy and biotechnology. *Current Medicinal Chemistry*, 11(5), 607–628. DOI: <https://doi.org/10.2174/0929867043455846>
- Vic M. I. C., Ragasa, C. Y. and Rideout, J. A. (1998). Triterpenes, hydrocarbons and an antimutagenic alkaloid from *Catharanthus roseus* (Apocynaceae). *The Asian International Journal of Life Sciences*. 7(1), 11-21. <https://www.researchgate.net/publication/235337486>
- Xu, X., Liu, A., Hu, S., Ares, I., Martínez-Larranaga, M.-R., Wang, X., Martínez, M., Anadon, A., Martínez, M.-A. (2021). Synthetic phenolic antioxidants: metabolism, hazards and mechanism of action. *Food Chemistry*, 353, 129488, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129488>
- Yeo, Y. L., Chia, Y. Y., Lee, C. H., Sow, H. S., & Yap, W. S. (2014). Effectiveness of maceration periods with different extraction solvents on *in-vitro* antimicrobial activity from fruit of *Momordica charantia* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4, 16-23. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2014.40104>
- Zhong, Z., Liu, S., Zhu, W., Ou, Y., Yamaguchi, H., Hitachi, K., Tsuchida, K., Tian, J., Komatsu, S. (2019). Phosphoproteomics reveals the biosynthesis of secondary metabolites in under ultraviolet-B radiation. *Journal of Proteome Research*, 18, 3328–3341. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.9b00267>