

DOI:10.22144/ctu.jvn.2022.160

## BẢO CHẾ VÀ KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA CỦA HỆ VI HẠT TỪ FIBROIN TƠ TẦM CHỨA DỊCH CHIẾT HOA *Wedelia trilobata* L.

Huỳnh Quốc Cường<sup>1</sup>, Nguyễn Việt Bách<sup>2</sup> và Phạm Duy Toàn<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Bộ môn Hóa học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Bộ môn Công nghệ Hóa học, Khoa Công nghệ, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Phạm Duy Toàn (email: pdtoan@ctu.edu.vn)

### ABSTRACT

This study aimed to evaluate the ability to load polyphenol compounds from the flower extract of *Wedelia trilobata* L. (WT) into silk fibroin microparticles, and investigate the antioxidant activity of the products, using the DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. The WT extract was loaded into the microparticles by co-condensation method. The extract loaded fibroin microparticles possessed an average size of 7.11  $\mu\text{m}$ , a high entrapment efficiency (74.10%), and an ability to control the drug release rate in the buffer pH 7.4. Moreover, the WT extract had a very high antioxidant activity ( $IC_{50} = 8.67 \mu\text{g/mL}$ ) and the extract loaded microparticles also retained their antioxidant capacity (27.89%, 44.75%, and 52.61%, after 30, 90, and 180 min of incubation, respectively). Due to the ability of microparticles to sustain release the active ingredients into the dispersion medium, their ability to scavenge free radicals was time-dependent. Conclusively, the WT extract loaded fibroin microparticles is a potential application for utilizing in controlled-release formulations.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá khả năng tải các hợp chất polyphenol từ dịch chiết hoa sài đất ba thùy (*Wedelia trilobata* L. - WT) vào vi hạt fibroin tơ tằm và khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của các sản phẩm, sử dụng phương pháp DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl). Dịch chiết được nạp vào vi hạt bằng phương pháp đồng ngưng tụ. Hệ vi hạt fibroin chứa dịch chiết có kích thước trung bình là 7,11  $\mu\text{m}$ , hiệu suất tải dịch chiết khá cao (74,13%) và có khả năng kiểm soát quá trình giải phóng polyphenol trong hệ đệm pH 7,4. Hơn nữa, dịch chiết WT có hoạt tính kháng oxy hóa rất cao ( $IC_{50}=8,67 \mu\text{g/mL}$ ) và vi hạt sau khi được tải dịch chiết cũng giữ được khả năng kháng oxy hóa (ở các mốc thời gian 30, 90, 180 phút, lần lượt là 27,89%, 44,75%, 52,61%). Do hệ vi hạt có khả năng giải phóng hoạt chất có kiểm soát, dẫn đến khả năng kháng oxy hóa của hệ phụ thuộc vào thời gian. Tóm lại, hệ vi hạt chứa cao WT là một ứng dụng tiềm năng cho các dạng thuốc phóng thích có kiểm soát.

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 18/02/2022

Ngày nhận bài sửa: 10/03/2022

Ngày duyệt đăng: 14/03/2022

### Title:

Development and antioxidant activity investigation of *Wedelia trilobata* L. extract loaded silk fibroin microparticles

### Từ khóa:

Kháng oxy hóa, sài đất ba thùy, tơ tằm, vi hạt

### Keywords:

Antioxidant, microparticles, silk, *Wedelia trilobata* L.

## 1. GIỚI THIỆU

Việc đánh giá tác dụng sinh học của các cây thuốc thảo dược và các thành phần của chúng đã

giúp chuyển đổi y học cổ truyền thành một ngành công nghiệp hiện đại, đóng góp đáng kể vào dịch vụ chăm sóc sức khỏe (Ekpo et al., 2011). Sự quan tâm

đối với các loại thuốc có nguồn gốc từ thực vật hiện nay trở nên phổ biến do con người ngày càng có niềm tin rằng “thuốc xanh” là an toàn và hiệu quả hơn về mặt lâm sàng, ít tốn kém và có hiệu quả cao (Joseph & Raj, 2011; Pradhan et al., 2009). Trong hầu hết các cây thuốc, nhóm hợp chất polyphenol thường được quan tâm do chứa nhiều hoạt tính có lợi như kháng viêm, kháng khuẩn, chống nhiễm trùng và kháng oxy hóa (Bazzaz et al., 2013).

Nghiên cứu và ứng dụng của polyphenol gần đây đã thu hút sự quan tâm lớn trong ngành công nghiệp thực phẩm chức năng, dinh dưỡng và dược phẩm, do những lợi ích sức khỏe tiềm ẩn của chúng đối với con người (Desai & Jin Park, 2005; Petti & Scully, 2009; Banothu, 2016).

Trong số các loài thực vật phổ biến ở Việt Nam, hoa sài đất ba thùy (*Wedelia trilobata* L. - WT) được biết đến như một nguồn polyphenol tốt, chứa nhiều eudesmanolide lacton và luteolin với nhiều hoạt tính sinh học cao (Ghaeli et al., 2017). WT thuộc họ cúc, là một loại cỏ dại, dây leo đất và thường tạo thành thảm dày, mọc phổ biến ở Việt Nam, nở hoa dường như liên tục quanh năm (Thaman, 1999). Từ lâu, WT đã được sử dụng làm thuốc thảo dược truyền thống ở Nam Mỹ, Trung Quốc, Nhật Bản, Ấn Độ, Việt Nam để điều trị nhiều loại bệnh (Balekar et al., 2014). Một số nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng trong chiết xuất từ hoa WT có chứa tanin, saponin, flavonoid, phenol, terpenoid tạo thành nhóm hợp chất polyphenol chính của loài này (Balekar et al., 2014). Các báo cáo dược lý cho thấy WT có tác dụng kháng oxy hóa, giảm đau, kháng viêm, kháng khuẩn, chữa lành vết thương, diệt ấu trùng, kháng ung thư, bảo vệ gan, chữa lành vết thương, điều trị tiêu đường và các vấn đề sinh sản ở phụ nữ (Balekar et al., 2014). Tóm lại, WT là một loại thảo dược có tiềm năng lớn để nghiên cứu sâu hơn về các hoạt động sinh học, đặc biệt là khả năng kháng oxy hóa tiềm năng của loài thực vật này.

Tuy nhiên, cấu trúc của các hợp chất polyphenol trong WT có những liên kết không bão hòa, điều đó khiến chúng dễ dàng bị oxy hóa khi tiếp xúc với ánh sáng, nhiệt độ, pH, nước và enzyme (Saenz et al., 2009). Do đó, độ ổn định của các hợp chất polyphenol nên được tăng lên bằng cách bảo vệ khỏi các tác hại vật lý và hóa học trước khi ứng dụng chúng. Một trong những cách tiềm năng là bao gói những hợp chất polyphenol này trong các vật liệu sinh học để bảo vệ chúng khỏi các tác nhân có hại từ môi trường (Desai & Jin Park, 2005).

Trong số những vật liệu sinh học đã được nghiên cứu, fibroin là một loại protein rất linh hoạt và được

sử dụng nhiều trong các ngành công nghiệp dược phẩm qua nhiều thập kỷ. Cấu trúc có nhiều liên kết hydro, bản chất lưỡng tính và mức độ kết tinh linh hoạt của fibroin góp phần vào sự ổn định của vật liệu tơ sinh học (Altman et al., 2003). Fibroin đã được ứng dụng phổ biến trong y dược học như hỗ trợ kỹ thuật mô (Omenetto & Kaplan, 2010; Yucel et al., 2014) và đặc biệt là chất mang và dẫn truyền các phân tử chống oxy hóa như resveratrol (Lozano-Pérez et al., 2014), quercetin (Lozano-Pérez et al., 2017), curcumin (Montalbán et al., 2018; Crivelli et al., 2019), alpha mangostin (Pham et al., 2019) và các hợp chất dễ bay hơi (Elia et al., 2015). Trong lĩnh vực dẫn truyền dịch chiết dược liệu, có rất ít công bố về khả năng của fibroin trong vấn đề này: chiết xuất từ lá olive được bao bọc trong vi hạt fibroin được báo cáo bởi Bayraktar et al. (2019) và chiết xuất từ cây hương thảo được bao bọc trong hạt nano tơ tằm được báo cáo bởi Hcini et al. (2021).

Từ những hạn chế trên, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát khả năng dẫn truyền polyphenol từ chiết xuất methanol hoa WT của vi hạt fibroin (fibroin micro-particles, FMPs), đồng thời định lượng hàm lượng polyphenol tổng trong dịch chiết, trong vi hạt và khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết hoa WT cũng như của vi hạt tải được tải polyphenol từ chiết xuất methanol hoa WT.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu

Hoa WT được thu hái vào tháng 9 năm 2021, tại thành phố Cần Thơ, Việt Nam. WT được xác định dựa vào đặc điểm hình thái theo hệ thống phân loại Cây cỏ Việt Nam dưới sự hỗ trợ của TS. Phạm Duy Toàn, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ. Giống tơ tằm M45 được thu thập từ xã Phương Định, huyện Trục Ninh, tỉnh Nam Định.

Thiết bị được sử dụng để phục vụ cho nghiên cứu bao gồm: cân phân tích (Mettler Toledo, Switzerland), máy UV-VIS (Jasco V-730), máy lắc ngang, máy ly tâm lạnh (Hettich, Đức), máy vortex (RS-VA10 Phoenix, Đức), máy đo pH, máy siêu âm đứng, máy siêu âm, máy ly tâm, máy đo kích thước hạt (MicroTrac S3500), máy khuấy từ, máy cô quay (Buchi R300, Thụy Sĩ) và một số thiết bị khác.

Hóa chất gồm: acid ascorbic (99%, Merck, Đức), gallic acid (Trung Quốc), folin-ciocalteu (Merck), DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, 95%, Alfa Aesar, Merck, Đức), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 99,8%, ethanol 96%, methanol 96%, HCl, NaOH, đệm phosphate (pH= 7,4) và một số hóa chất khác.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Phương pháp điều chế dịch chiết *Wedelia trilobata* L.

Mẫu hoa tươi sau khi thu hái được làm sạch với nước, để khô tự nhiên, xay nhuyễn thành bột. Bột được liệu được bảo quản ở nhiệt độ 4°C. Hai mươi gram bột khô được ngâm dầm với methanol với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:60 (w/v) trong thời gian 72 giờ, sau đó mẫu được đánh siêu âm ở 50°C trong thời gian 60 phút, lặp lại 3 lần với tỷ lệ dung môi như ban đầu để chiết kiệt. Sau đó, dịch chiết được gom lại và cô quay chân không thu hồi dung môi dưới áp suất thấp và nhiệt độ 45°C (Mardina et al., 2020).

### 2.2.2. Khảo sát hàm lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol có trong dược liệu được xác định bằng phương pháp đo quang sau khi phản ứng với thuốc thử Folin-Ciocalteu (Tailor & Goyal, 2014) ở bước sóng cực đại 765 nm. Thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện tránh sáng. Theo đó, 2,5 mL Folin-Ciocalteu 10% được thêm vào 0,5 mL dịch chiết; ủ 3-8 phút ở 25°C. Sau đó, hỗn hợp 2 mL dung dịch Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10% được thêm vào. Hỗn hợp được ủ 1 giờ trong bóng tối, đo mật độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng cực đại 765 nm. Đường chuẩn được xây dựng bằng cách sử dụng các nồng độ khác nhau 0, 2, 4, 6, 8, 10 µg/mL với chất chuẩn là gallic acid. Hàm lượng polyphenol tổng được biểu thị bằng mg gallic acid đương lượng/trọng lượng bột khô (mg GAE/g DPW). Các quá trình được thực hiện 3 lần.

### 2.2.3. Chiết xuất fibroin từ tơ tằm

Fibroin được chiết xuất từ kén tơ tằm bằng phương pháp chiết nóng có hỗ trợ vi sóng (Pham et al., 2018). Mười gram kén tơ tằm được loại bỏ sericin bằng dung dịch Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,5% ở 100°C trong 1 giờ. Sau đó, sản phẩm được rửa với nước cất và làm khô tự nhiên. Sản phẩm sau khi làm khô được hòa tan vào hỗn hợp CaCl<sub>2</sub>:H<sub>2</sub>O:Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>:EtOH ở tỷ lệ khối lượng 30:45:5:20. Tiếp theo, dung dịch tơ tằm được gia nhiệt bằng lò vi sóng (900 W) trong 2 phút. Dung dịch sau gia nhiệt được thẩm phân với nước cất bằng màng lọc cellulose (10.000 MWCO) tại nhiệt độ phòng trong 3-5 ngày. Dung dịch sau thẩm phân được ly tâm tại 10.000 rpm, 4°C trong 30 phút để loại tạp. Cuối cùng, dung dịch fibroin tơ tằm được đông khô bằng máy đông khô tại nhiệt độ -55°C và áp suất 10<sup>-4</sup> Torr. Fibroin đông khô được bảo quản lạnh để sử dụng cho các thí nghiệm sau.

### 2.2.4. Điều chế vi hạt FMPs không chứa polyphenol (Blank sample, FMPs) và vi hạt được tải polyphenol từ cao *Wedelia trilobata* L. (FMPs –WT)

Bột fibroin khô với trọng lượng 0,11 g được hòa tan trong 5 mL nước cất, vortex 2 phút; sau đó ly tâm với tốc độ 4.000 vòng/phút trong 5 phút, hút lấy 2 mL dung dịch trong; nhỏ từ từ 1 mL dung dịch methanol 96% vào 2 mL dịch trong, lắc trong 1 giờ; bảo quản ở nhiệt độ 4°C trong thời gian 24 giờ; sau đó, ly tâm 6.000 vòng/phút trong 40 phút, loại bỏ phần nổi phía trên thu được FMPs. Phần rắn được đông khô và bảo quản ở nhiệt độ 4°C cho đến khi thực hiện thí nghiệm tiếp theo (Bayraktar et al., 2019; Pham et al., 2018, 2019).

Việc điều chế hạt FMPs có chứa polyphenol từ chiết xuất hoa WT được thực hiện tương tự như hạt FMPs đối chứng. Tuy nhiên, 1 mL methanol 96% được thay thế bằng dịch chiết; pha dịch chiết khô bằng methanol (w/v, 1:10), định lượng lại hàm lượng polyphenol và pha lại để được dịch chiết có nồng độ polyphenol 7 mg/mL; tiếp theo nhỏ 1 mL dung dịch vừa pha vào 2 mL dịch trong, lắc trong 1 giờ; bảo quản ở nhiệt độ 4°C trong thời gian 24 giờ; ly tâm 6.000 vòng/phút trong 40 phút, phần dịch trong được xác định lại hàm lượng polyphenol còn lại. Phần rắn được đông khô và bảo quản ở nhiệt độ 4°C cho đến khi thực hiện thí nghiệm tiếp theo (Pham et al., 2019; Hcini et al., 2021).

### 2.2.5. Xác định hiệu suất tải polyphenol (EE%)

Hàm lượng polyphenol nạp vào hạt được xác định bằng phương pháp đo quang sau khi phản ứng với thuốc thử Folin-Ciocalteu ở bước sóng cực đại 765 nm. Hàm lượng polyphenol tổng được biểu thị bằng mg gallic acid đương lượng/trọng lượng bột khô (mg GAE/g DPW); lấy tổng hàm lượng polyphenol trước khi nạp vào hạt trừ đi hàm lượng còn lại trong phần dịch trong sau ly tâm (Pham et al., 2018, 2019; Bayraktar et al., 2019).

$$EE \% = \frac{\text{Hàm lượng polyphenol trước khi tải} - \text{Hàm lượng polyphenol sau ly tâm}}{\text{Tổng hàm lượng trước khi tải}} \times 100.$$

### 2.2.6. Xác định kích thước hạt

Kích thước hạt trung bình và sự phân bố kích thước hạt (PI) được xác định bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động (DLS) sử dụng máy phân tích MicroTrac S3500. Mẫu hạt FMPs và FMPs-WT đông khô trước đó (130 mg) được tái phân bố lại trong 5 mL nước DI và phép đo được thực hiện ở 25°C ở một góc cố định là 90° (Pham et al., 2018,

2019). Các mẫu được thực hiện cùng điều kiện và phép đo.

2.2.7. Khả năng giải phóng polyphenol từ vi hạt (FMPs-WT)

Khả năng giải phóng polyphenol trong vi hạt FMPs-WT được thực hiện bằng phương pháp khuấy từ ở 37°C. Mẫu hạt được phân tán trong 50 mL dung dịch đệm phosphate (pH 7,4) với tốc độ 200 vòng/phút trong thời gian 2,5 giờ. Tại mỗi thời điểm 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 phút, 1 mL mẫu được rút ra và cùng một lượng đệm được thêm vào. Mẫu được ly tâm ở 18.000 vòng/phút trong 5 phút (Pham et al., 2018, 2019; Bayraktar et al., 2019). Hàm lượng polyphenol trong phần dịch sau ly tâm được xác định bằng phương pháp đo quang sau khi phản ứng với thuốc thử Folin-Ciocalteu, ở bước sóng 765 nm. Để xác định hàm lượng polyphenol trong dung dịch đệm phosphate, đường chuẩn được xây dựng trong khoảng nồng độ 2-10 µg/mL,  $y = Ax + B$ . Cuối cùng, phần trăm tích lũy giải phóng (%T) được tính theo (1):

$$\% T = \frac{C_t V_0 + V \sum_{i=1}^{t-1} C_i}{M_0 - \sum_{i=1}^{t-1} M_i} \times 100 \quad (1)$$

Trong đó:  $C_t$ ,  $C_i$ : nồng độ của polyphenol được giải phóng tại thời điểm  $t$  và  $i$ .

$V_0$ : tổng thể tích dung dịch đệm giải phóng (50 mL).

$V$ : thể tích mẫu rút tại mỗi thời điểm (1 mL).

$M_0$ : lượng polyphenol ban đầu.

$M_i$ : tổng lượng polyphenol rút tại thời điểm  $i$ .

2.2.8. Khảo sát hoạt tính dịch chiết và vi hạt tải polyphenol (FMPs và FMPs-WT)

Hiệu quả làm sạch gốc tự do của các sản phẩm (dịch chiết và hệ vi hạt) được xác định bằng DPPH. Đối với dịch chiết, hỗn hợp gồm 0,5 mL dung dịch DPPH 0,1 mM trong ethanol được thêm vào 1,5 mL dịch chiết ở các nồng độ khác nhau (3, 6, 9, 12, 15, 18 µg/mL). Hỗn hợp phản ứng được ủ trong tối ở thời gian 30 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ của DPPH ở bước sóng 517 nm. Chất đối chứng được sử dụng là acid ascorbic và các thí nghiệm được thực hiện trong 3 lần (Tailor & Goyal, 2014). Giá trị  $IC_{50}$  của mẫu là nồng độ tối thiểu để làm sạch 50% gốc tự do DPPH.

Đối với hệ vi hạt, khối lượng hạt đem phản ứng ( $M_{pu}$ ) với DPPH được tính toán lại dựa vào biểu đồ giải phóng hoạt chất và hàm lượng polyphenol tổng

có trong dịch chiết tại  $IC_{50}$ . Khối lượng hạt được xác định theo phương trình (2):

$$M_{pu} = \frac{m_p \times M_h}{H \times m_h} \quad (2)$$

Trong đó:  $M_{pu}$ : khối lượng hạt đem phản ứng (mg).

$m_p$ : giá trị hàm lượng polyphenol tổng tại  $IC_{50}$  (µg).

$M_h$ : khối lượng hạt (mg).

$H$ : phần trăm giải phóng tại thời điểm cao nhất (%).

$m_h$ : khối lượng polyphenol có trong hạt (µg).

Mẫu FMPs-WT sau đông khô được cân chính xác theo khối lượng đã tính toán, tái phân bố lại trong nước cất để được dung dịch có nồng độ như tương đương nồng độ dịch chiết. Hỗn hợp gồm 0,5 mL dung dịch DPPH 0,1 mM trong ethanol được thêm vào 1,5 mL dịch huyền phù. Hỗn hợp được lắc với tốc độ 200 vòng/phút trong thời gian 30, 90, 180 phút. Hỗn hợp sau phản ứng được ly tâm ở 2.000 vòng/phút trong 5 phút. Đo độ hấp thụ quang phổ của DPPH ở bước sóng 517 nm. Chất đối chứng được sử dụng là acid ascorbic và FMPs, các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần.

Độ hấp thụ quang phổ thấp hơn mẫu trắng của hỗn hợp phản ứng thể hiện hoạt tính làm sạch gốc tự do. Phần trăm hiệu quả quét DPPH được tính toán bằng cách sử dụng công thức sau:

$$\text{Hiệu quả quét DPPH (\%)} = (A_0 - A_1)/A_0 \times 100.$$

Trong đó:  $A_0$  là độ hấp thụ của DPPH không chứa dịch chiết.

$A_1$  là độ hấp thụ khi có mặt của mẫu thử hoặc mẫu chuẩn.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thu mẫu, xử lý và ly trích dịch chiết từ hoa *Wedelia trilobata* L.

Hoa WT tươi (80 g) qua quá trình xử lý thu được 55 g bột dược liệu; cân 20 g bột tiến hành chiết xuất thu được 1,62 g dịch chiết với hiệu suất chiết cao là 8,12 % (Bảng 1). Dịch chiết hoa WT thu được có màu nâu vàng, dạng rắn và có mùi hương đặc trưng. Việc sấy khô mẫu giúp xác định được độ ẩm của hoa WT là  $20 \pm 0,51\%$ . Độ ẩm bột dược liệu WT được xác định là  $7,69 \pm 0,78\%$ , kết quả cho thấy nguyên

liệu có giá trị về độ ẩm nằm trong giới hạn cho phép theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V.

**3.2. Kết quả định lượng polyphenol tổng trong dịch chiết hoa *Wedelia trilobata* L.**

Hàm lượng polyphenol tổng trong dịch chiết methanol hoa WT dựa vào đường chuẩn gallic acid,  $y = 0,0984x + 0,0787$  ( $R^2 = 0,9925$ ). Kết quả cho hàm lượng là  $22,47 \pm 0,13$  mg GAE/g bột khô. Gallic acid là đại diện của nhóm hợp chất polyphenol, nhóm hợp chất này đã được nghiên cứu và chứng minh là có các hoạt tính sinh học cao, có ý nghĩa trong hoạt động kháng oxy hóa (Lozano-Pérez et al., 2014).

**3.3. Kết quả điều chế và xác định kích thước hạt FMPs và FMPs-WT**

Sau khi đông khô FMPs và FMPs-WT được cân, khối lượng hạt thu được lần lượt là 21,22 mg, 26,49 mg đối với FMPs và FMPs-WT. Kết quả cho thấy sự chênh lệch khối lượng giữa 2 mẫu hạt. Điều này

có thể góp phần chứng minh việc tải thành công polyphenol vào trong vi hạt.

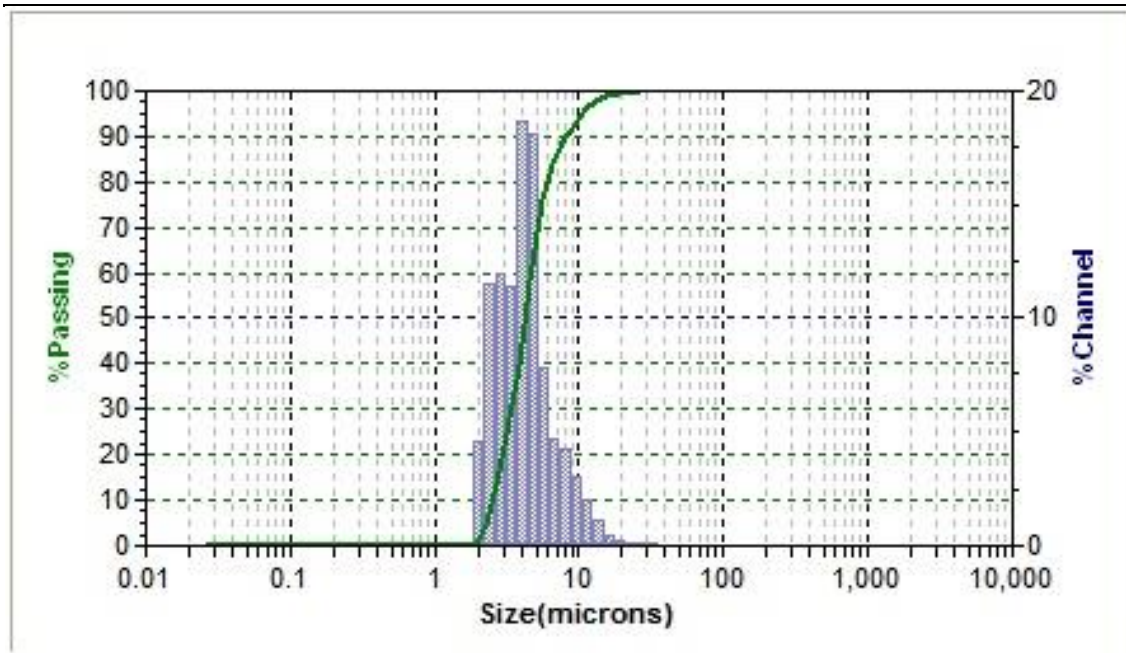
Kết quả đo kích thước hạt và sự phân bố kích thước hạt (Hình 1 và Hình 2) của cả 2 mẫu FMPs và FMPs-WT được xác định bằng phương pháp DLS. Kết quả đo cho thấy kích thước trung bình của hạt FMPs và FMPs-WT lần lượt là 4,96  $\mu\text{m}$  và 7,11  $\mu\text{m}$ . Kích thước hạt có sự thay đổi giữa trước và sau khi tải dịch chiết, sự tăng kích thước có thể do dịch chiết được tải vào FMPs.

**3.4. Kết quả xác định hiệu suất tải và giải phóng polyphenol từ FMPs-WT**

Kết quả hiệu suất tải polyphenol vào FMPs được trình bày trong Bảng 2. Sự giải phóng polyphenol được đo bằng tổng hàm lượng polyphenol được giải phóng ra khỏi FMPs-WT trong đệm phosphate pH 7,4. Đường chuẩn được xây dựng trong khoảng nồng độ 2-10  $\mu\text{g/mL}$ ,  $y = 0,0985x + 0,0363$  ( $R^2 = 0,9989$ ).

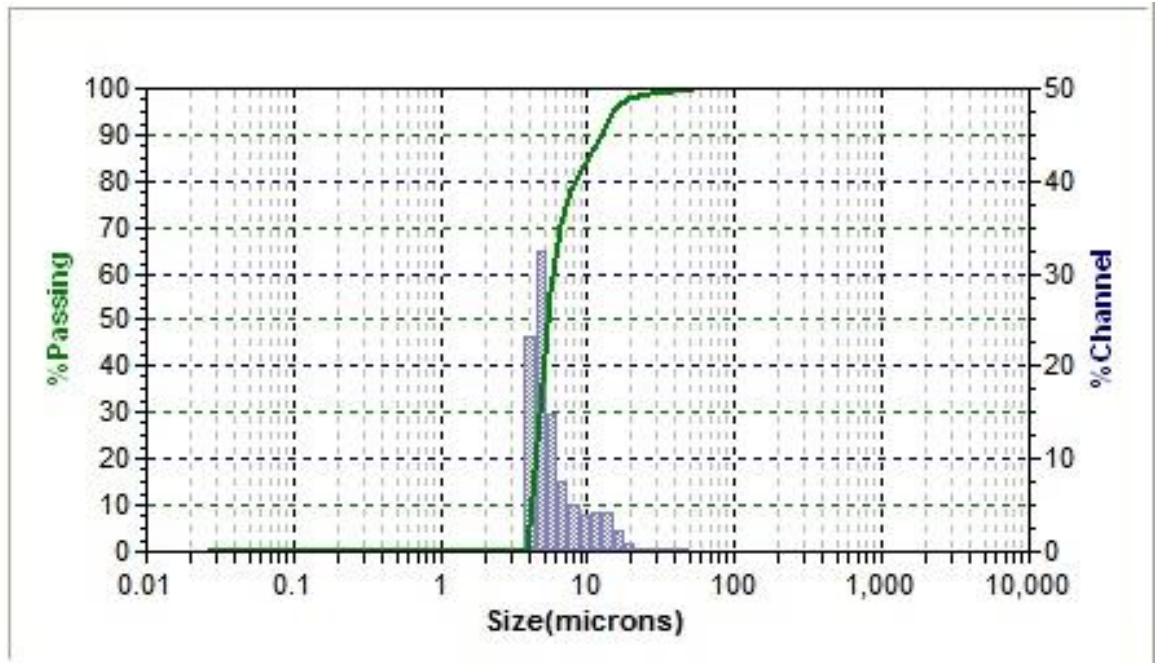
**Bảng 1. Kết quả thu mẫu, xử lý và ly trích dịch chiết hoa *Wedelia trilobata* L.**

Khối lượng (g)		Độ ẩm của mẫu tươi (%)	Độ ẩm bột dược liệu (%)	Hiệu suất chiết cao (%)
Tươi	Bột dược liệu			
80	57	28,75	7,89	8,12

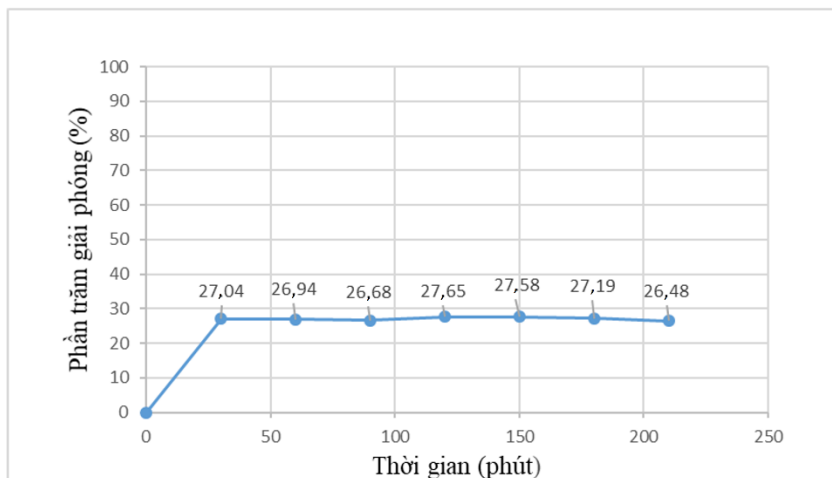


**Hình 1. Biểu đồ phân bố kích thước hạt fibroin trống (blank FMPs)**





Hình 2. Biểu đồ phân bố kích thước hạt fibroin sau khi được tải dịch chiết (FMPs-WT)



Hình 3. Sơ đồ giải phóng của hàm lượng polyphenol tổng của hệ vi hạt FMPs-WT

Hình 3 cho thấy tổng hàm lượng polyphenol được giải phóng ra khỏi hạt có sự chênh lệch tăng giảm theo thời gian, tuy nhiên, sự chênh lệch này không có ý nghĩa thống kê. Việc hàm lượng polyphenol giải phóng chậm và đạt hiệu quả giải phóng thấp cho thấy phần lớn hoạt chất (polyphenol tổng) còn nằm lại trong hạt. Do cấu trúc tâm  $\beta$  của tơ fibroin không hòa tan trong nước và có tính kỵ nước nên có tương tác đáng kể giữa fibroin và polyphenol có trong WT. Sự hiện diện của các tương tác kỵ nước giữa fibroin và polyphenol đã được báo cáo trong một số nghiên cứu trước đây (Balekar et al., 2014; Lozano-Pérez et al., 2014; Montalbán et

al., 2018). Việc này cho thấy hệ thống có khả năng kiểm soát quá trình giải phóng hoạt chất thông qua tương tác giữa cấu trúc fibroin và các polyphenol. Việc giải phóng chậm vừa có lợi trong vấn đề bảo vệ polyphenol khỏi bị phân hủy bởi các tác nhân trong môi trường xung quanh vừa là một ứng dụng tiềm năng cho các dạng thuốc phóng thích có kiểm soát.

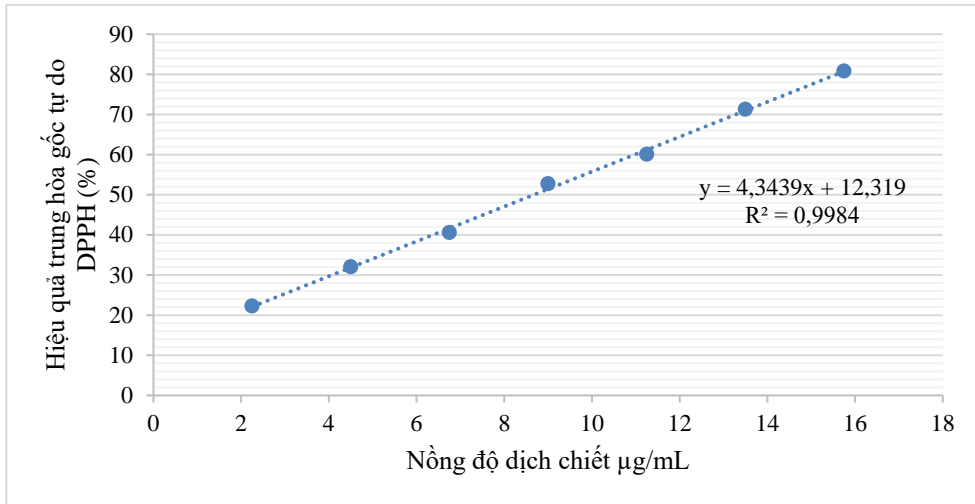
### 3.5. Kết quả khảo sát hoạt tính của dịch chiết và vi hạt (FMPs và FMPs-WT)

Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết methanol hoa *Wedelia trilobata* L. được xác định dựa vào khả

năng làm giảm độ hấp thu quang phổ của dung dịch DPPH (Hình 4).

Kết quả cho thấy khả năng trung hòa gốc tự do DPPH tỷ lệ thuận với nồng độ của dịch chiết methanol WT, nếu nồng độ của dịch chiết càng cao thì khả năng trung hòa gốc tự do càng lớn và ngược

lại. Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH của cao methanol WT ở nồng độ 18 µg/mL đạt  $80,84 \pm 0,81\%$ . Khả năng kháng oxy hóa cũng là hiệu quả trung hòa gốc tự do của dịch chiết WT và chất chuẩn vitamin C được so sánh dựa vào giá trị  $IC_{50}$  theo phương trình hồi quy tuyến tính của dịch chiết và vitamin C (Bảng 3).



**Hình 4. Biểu đồ hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH của dịch chiết methanol hoa *Wedelia trilobata* L.**

Hiệu quả kháng oxy hóa của dịch chiết methanol WT ( $IC_{50} = 8,67 \mu\text{g/mL}$ ) thấp hơn so với vitamin C ( $IC_{50} = 2,72 \mu\text{g/mL}$ ). Một số nghiên cứu khác cho thấy  $IC_{50}$  của dịch chiết methanol WT là  $90 \mu\text{g/mL}$ , thấp hơn vitamin C  $60 \mu\text{g/mL}$  (J. Chethan, 2012);  $IC_{50}$  của dịch chiết methanol WT ở một nghiên cứu khác là  $19,072 \mu\text{g/mL}$  (Mardina et al., 2020). Giá trị  $IC_{50}$  có sự chênh lệch thay đổi có thể do hoàn cảnh địa lý, khí hậu và các nhân tố môi trường khác ảnh hưởng đến thành phần hóa học có trong thực vật.

Từ các kết quả phía trên, khối lượng hạt cần để khảo sát khả năng làm sạch gốc tự do được thể hiện ở Bảng 4. Kết quả khảo sát hiệu quả làm sạch gốc tự

do theo thời gian của vi hạt được thể hiện ở Bảng 5.

Kết quả cho thấy FMPs có khả năng làm sạch một phần nhỏ gốc tự do DPPH và FMPs-WT vẫn giữ được khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết. Tuy nhiên, để đạt được hiệu quả làm sạch gần 50% gốc tự do thì phải lấy lượng polyphenol trong hạt nhiều hơn xấp xỉ 4 lần lượng polyphenol trong hạt, do hiệu quả làm sạch phụ thuộc vào hiệu quả giải phóng hoạt chất (27,65%). Kết quả cũng cho thấy hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH của FMPs-WT có phụ thuộc vào thời gian giải phóng hoạt chất ra bên ngoài. Khả năng làm sạch gốc tự do thấp của FMPs có thể là do sự hiện diện của dư lượng tyrosine trong trình tự của tơ fibroin (Hcini et al., 2021).

**Bảng 3. Giá trị  $IC_{50}$  (µg/mL) của vitamin C và dịch chiết hoa *Wedelia trilobata* L.**

Mẫu	Phương trình tuyến tính	Giá trị $IC_{50}$ (µg/mL)
Vitamin C	$y = 16,321x + 5,561$ ( $R^2 = 0,9968$ )	2,72
Dịch chiết hoa <i>Wedelia trilobata</i> L.	$y = 4,3439x + 12,319$ ( $R^2 = 0,9984$ )	8,67

**Bảng 4. Kết quả tính toán hàm lượng hạt cần để khảo sát hoạt tính**

Hàm lượng polyphenol $IC_{50}$ (µg)	Hàm lượng polyphenol có trong hạt (µg)	Khối lượng hạt (mg)	Phần trăm giải phóng cực đại	Khối lượng hạt cần khảo sát (mg)
1,34	5.187,07	26,49	27,65	0,0247

**Bảng 5. Kết quả khảo sát hoạt tính của FMPs-WT trong thời gian 30, 90, 180 phút**

Mẫu hạt	Hiệu quả quét gốc tự do (%)		
	Thời gian (phút)		
	30	90	180
FMPs	4	5	5
FMPs-WT	27,89	44,75	52,61

Dịch chiết methanol hoa *Wedelia trilobata* L. đã được chứng minh là một nguồn polyphenol tiềm năng và hữu ích trong việc thay thế hoặc làm chất chống oxy hóa hiệu quả trong dược phẩm. Nó thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa cao IC<sub>50</sub> = 8,67 µg/mL. Từ sự thay đổi khối lượng, kích thước của hạt fibroin và khả năng làm sạch gốc tự do DPPH đã chứng minh rằng các hợp chất polyphenol đã được tải thành công vào vi hạt fibroin. Bên cạnh đó, việc giải phóng polyphenol chậm từ hệ vi hạt fibroin vừa có

lợi trong vấn đề bảo vệ polyphenol khỏi bị phân hủy bởi các tác nhân trong môi trường xung quanh, đồng thời là một ứng dụng tiềm năng cho các dạng thuốc phóng thích có kiểm soát.

**LỜI CẢM ƠN**

Nghiên cứu này được tài trợ từ đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ của Bộ Giáo dục và Đào tạo, mã số: B2022-TCT-04.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Altman, G. H., Diaz, F., Jakuba, C., Calabro, T., Horan, R. L., Chen, J., Lu, H., Richmond, J., & Kaplan, D. L. (2003). Silk-based biomaterials. *Biomaterials*, 24(3), 401–416. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00353-8](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00353-8)

Balekar, N., Nakpheng, T., & Srichana, T. (2014). *Wedelia trilobata* L.: A phytochemical and pharmacological review. *Chiang Mai Journal of Science*, 41(3), 590–605.

Banothu, V. (2016). Screening of Antimicrobial and Antioxidative Activities of the plant extracts of *Elytraria acaulis*. *Discovery*, 52(247), 1546–1552.

Bayraktar, O., Köse, M., & Baspinar, Y. (2019). Development of olive leaf extract loaded fibroin microparticles by spray drying. *Drug Discovery*, 13, 39–45.

Crivelli, B., Bari, E., Perteghella, S., Catenacci, L., Sorrenti, M., Mocchi, M., Faragò, S., Tripodo, G., Prina-Mello, A., & Torre, M. L. (2019). Silk fibroin nanoparticles for celecoxib and curcumin delivery: ROS-scavenging and anti-inflammatory activities in an in vitro model of osteoarthritis. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 137, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.02.008>

Desai, K. G. H., & Jin Park, H. (2005). Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. *Drying Technology*, 23(7), 1361–1394. <https://doi.org/10.1081/DRT-200063478>

Ekpo, M., Mbagwu, H. O. C., Jackson, C., & Eno, M. A. (2011). *Antimicrobial and wound healing activities of centrosema pubescens (leguminosae)*. *JPCS*, 1, 1–6.

Elia, R., Guo, J., Budijono, S., Normand, V., Benzédi, D., Omenetto, F., & Kaplan, D. L. (2015). Encapsulation of Volatile Compounds in Silk Microparticles. *Journal of Coatings Technology and Research*, 12(4), 793–799. <https://doi.org/10.1007/s11998-015-9668-1>

Fazly Bazzaz, B. S., Arab, A., Emami, S. A., Asili, J., Khayyat, M., & Sahebkar, A. (2013). Antimicrobial and antioxidant activities of methanol, dichloromethane and ethyl acetate extracts of *Scutellaria lindbergii* Rech.f. *Chiang Mai Journal of Science*, 40, 49–59.

Ghaeli, I., de Moraes, M. A., Beppu, M. M., Lewandowska, K., Sionkowska, A., Ferreira-da-Silva, F., Ferraz, M. P., & Monteiro, F. J. (2017). Phase Behaviour and Miscibility Studies of Collagen/Silk Fibroin Macromolecular System in Dilute Solutions and Solid State. *Molecules*, 22(8), 1368. <https://doi.org/10.3390/molecules22081368>

Hcini, K., Lozano-Pérez, A. A., Luis Cenis, J., Quílez, M., & José Jordán, M. (2021). Extraction and Encapsulation of Phenolic Compounds of Tunisian Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extracts in Silk Fibroin Nanoparticles. *Plants*, 10(11), 2312. <https://doi.org/10.3390/plants10112312>

J. Chethan. (2012). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of methanolic flower extract of *Wedelia trilobata* (L.) Hitch. *African Journal of Biotechnology*, 11(41), 9829–9834. <https://doi.org/10.5897/ajb11.3729>

Joseph, B., & Raj, S. J. (2011). A comparative study on various properties of five medicinally important plants. In *International Journal of Pharmacology*, 7(2), 206–211. <https://doi.org/10.3923/ijp.2011.206.211>

Lozano-Pérez, A. A., Rivero, H. C., Pérez Hernández, M. D. C., Pagan, A., Montalbán, M. G., Villora, G., & Cenis, J. L. (2017). Silk fibroin nanoparticles: Efficient vehicles for the natural



- antioxidant quercetin. *International Journal of Pharmaceutics*, 518(1–2), 11–19.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.12.046>
- Lozano-Pérez, A. A., Rodríguez-Nogales, A., Ortiz-Cullera, V., Algieri, F., Garrido-Mesa, J., Zorrilla, P., Rodríguez-Cabezas, M. E., Garrido-Mesa, N., Utrilla, M. P., De Matteis, L., de la Fuente, J. M., Cenis, J. L., & Gálvez, J. (2014). Silk fibroin nanoparticles constitute a vector for controlled release of resveratrol in an experimental model of inflammatory bowel disease in rats. *International Journal of Nanomedicine*, 9, 4507–4520.  
<https://doi.org/10.2147/IJN.S68526>
- Mardina, V., Mastura, Hamdani, & Sufriadi, E. (2020). Flower of sphagneticola trilobata (L.) J.F Pruski from Aceh, Indonesia: Antioxidant and cytotoxic activity on HeLa cells. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1007(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/1007/1/012182>
- Montalbán, M. G., Coburn, J. M., Lozano-Pérez, A. A., Cenis, J. L., Villora, G., & Kaplan, D. L. (2018). Production of Curcumin-Loaded Silk Fibroin Nanoparticles for Cancer Therapy. *Nanomaterials*, 8(2), 126.  
<https://doi.org/10.3390/nano8020126>
- Omenetto, F. G., & Kaplan, D. L. (2010). New opportunities for an ancient material. *Science (New York, N.Y.)*, 329(5991), 528–531.  
<https://doi.org/10.1126/science.1188936>
- Petti, S., & Scully, C. (2009). Polyphenols, oral health and disease: A review. *Journal of Dentistry*, 37(6), 413–423.  
<https://doi.org/10.1016/j.jdent.2009.02.003>
- Pham, D. T., Saelim, N., & Tiyaboonchai, W. (2018). Crosslinked fibroin nanoparticles using EDC or PEI for drug delivery: physicochemical properties, crystallinity and structure. *Journal of Materials Science*, 53(20), 14087–14103.  
<https://doi.org/10.1007/s10853-018-2635-3>
- Pham, D. T., Saelim, N., & Tiyaboonchai, W. (2019). Alpha mangostin loaded crosslinked silk fibroin-based nanoparticles for cancer chemotherapy. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 181, 705–713.  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.06.011>
- Pradhan, D., Panda, P. K., & Tripathy, G. (2009). Wound healing activity of aqueous and methanolic bark extracts of vernonia arborea Buch.-Ham. in wistar rats. *Natural Product Radiance*, 8(1), 6–11.
- Saenz, C., Tapia, S., Chavez, J., & Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114, 616–622.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.095>
- Tailor, C. S., & Goyal, A. (2014). Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of *Ageratum conyzoides* Linn. Leaves. *American Journal of Ethnomedicine*, 1, 244–249.
- Thaman, R. R. (1999). *Wedelia trilobata*: Daisy invader of the Pacific Islands - IAS Technical Report 99/2. *Garden*, 10.
- Yucel, T., Lovett, M. L., & Kaplan, D. L. (2014). Silk-based biomaterials for sustained drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 190, 381–397.  
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.05.059>