

Đánh giá khả năng ức chế enzyme tyrosinase, collagenase và kháng khuẩn của các cao chiết từ lá sài đất ba thùy (*Wedelia trilobata* L.)

Nguyễn Thị Mai Hương, Mai Thành Chung, Phạm Thị Thúy My,
Trương Đặng Hoài My và Bùi Thanh Phong
Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Rối loạn sắc tố da, lão hóa da và tình trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn là những vấn đề nghiêm trọng trong lĩnh vực chăm sóc sức khỏe và y học. Vì vậy, việc tìm ra hợp chất có nguồn gốc từ thực vật có khả năng ức chế các enzyme tyrosinase, collagenase và kháng khuẩn an toàn hiệu quả đang nhận được sự quan tâm của các nhà nghiên cứu trên thế giới. **Mục tiêu:** Xác định khả năng ức chế các enzyme tyrosinase, collagenase và kháng khuẩn của các cao chiết từ lá sài đất ba thùy. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Lá sài đất ba thùy (*Wedelia trilobata*) được trồng tại tỉnh Long An (Việt Nam), được thu hái, phơi khô, xay thành bột, tiến hành chiết xuất và xác định hoạt tính ức chế các enzyme gây lão hóa da như tyrosinase, collagenase và kháng khuẩn của cao chiết. Hoạt tính ức chế tyrosinase và collagenase được thực hiện theo phương pháp đo độ hấp thụ OD, khả năng ức chế vi khuẩn theo phương pháp khuếch tán giếng thạch, phương pháp pha loãng thạch. **Kết quả:** Hiệu quả ức chế tyrosinase cao nhất ở cao phân đoạn CF với giá trị IC_{50} là 6,9 $\mu\text{g/mL}$ và hiệu quả ức chế collagenase thấp nhất là ở cao phân đoạn HE với giá trị IC_{50} là 797.64 $\mu\text{g/mL}$. Khả năng kháng khuẩn cao nhất là ở cao HE (có đường kính vùng ức chế lớn nhất) và giá trị MIC của cao HE là 625 $\mu\text{g/mL}$ (đối với chủng *Sta. aureus*) và 9.7 $\mu\text{g/mL}$ (đối với *B. subtilis*). Các cao chiết của sài đất ba thùy đều không ức chế vi khuẩn Gram âm. **Kết luận:** Cao chiết lá sài đất ba thùy có khả năng ức chế enzyme tyrosinase, collagenase và kháng các vi khuẩn Gram dương nên có thể ứng dụng hỗ trợ điều trị kháng khuẩn và lão hóa da trên da.

Từ khóa: sài đất ba thùy, *Wedelia trilobata*, tyrosinase, collagenase, *E. coli*, *S. typhimurium*, *B. subtilis*, *Sta. aureus*

1. GIỚI THIỆU

Lão hóa da bên ngoài là sự tích tụ các ảnh hưởng của ánh sáng môi trường bao gồm việc tiếp xúc với tia cực tím. Bức xạ tia cực tím B (UVB) và bức xạ cực tím A (UVA) là hai yếu tố bên ngoài quan trọng nhất dẫn đến bong rít, phá vỡ cấu trúc, sắc tố da không đều và kích hoạt tyrosine để tạo ra melanin. Melanin là yếu tố quyết định màu da được sản xuất bởi các tế bào melanocytes (tế bào sản sinh melanin) có chứa enzyme tyrosinase. Tyrosinase là enzyme chủ chốt tạo ra sắc tố da. Đầu tiên, L-tyrosine được hydroxyl hóa để tạo thành 3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) bởi tyrosinase. Sau đó, L-DOPA bị oxy hóa thành DOPA quinone bởi tyrosinase. DOPA quinone được chuyển đổi tiếp thành DOPA chrome có thể chuyển đổi thành

5,6-dihydroxyindole (DHI) hoặc acid 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic (DHICA) [1]. Bên cạnh việc tái tạo các sắc tố, quy định màu da, melanin còn được xem như "lá chắn" giúp bảo vệ làn da hiệu quả. Tuy nhiên, sự hình thành và tích tụ quá mức sắc tố melanin trên da liên quan đến enzyme tyrosinase gây ra các rối loạn về da bao gồm: tàn nhang, nám da, thay đổi màu da, nếp nhăn, tăng sắc tố sau viêm dẫn đến lão hóa sớm. Các mô liên kết của da chủ yếu bao gồm collagen có khả năng chống đỡ giúp làn da luôn căng bóng, mang lại độ bền cơ học và elastin được ví như chất "cao su" giúp làn da có độ đàn hồi với protein chiếm 2-4% ma trận ngoại bào [2]. Trong trường hợp này, sự thoái hóa ma trận ngoại bào khiến

Tác giả liên hệ: ThS. Bùi Thanh Phong

Email: phongbui0407@gmail.com

chức năng rào cản chậm lại, xuất hiện tình trạng da khô, nứt nẻ, có nếp nhăn liên quan đến enzyme collagenase. Các phương pháp điều trị lão hóa da hiện nay bao gồm acid hydroxyl để bóc lớp biểu bì, retinoids để giảm làn da thô ráp và chất làm đầy da bằng cách tiêm collagen vào da. Tuy nhiên, những phương pháp điều trị này có tác dụng phụ như tăng sắc tố, viêm, độc tế bào, kích ứng và nhiễm khuẩn. Chất làm trắng da phổ biến nhất là hydroquinone, có tác dụng ức chế tyrosinase, nhưng tác dụng phụ của nó bao gồm viêm da, phù nề, phản ứng dị ứng và bệnh ochronosis. Gần đây, các nhà nghiên cứu đã tập trung vào các sản phẩm tự nhiên có tác dụng ức chế ROS do tia cực tím gây ra, ức chế enzyme và giảm sự hình thành melanin để thay thế cho các phương pháp điều trị hiện tại. Vì vậy, ức chế hoạt động của enzyme tyrosinase và collagenase là một trong những giải pháp để ngăn ngừa lão hóa, giảm nếp nhăn và ngừa sạm nám trên da trong những năm gần đây.

Nhiễm trùng do vi khuẩn gây ra vẫn luôn là một trong những vấn đề sức khỏe lớn nhất trên toàn thế giới, gây đau khổ cho hàng triệu người mỗi năm. Thuốc kháng sinh có vai trò quan trọng trong cuộc chiến chống lại bệnh truyền nhiễm do vi khuẩn *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli*, *Mycobacterium tuberculosis* và các vi khuẩn khác gây ra. Trên thực tế, hầu hết các vi sinh vật đều có khả năng thích nghi, kháng lại các biện pháp trị liệu nhờ vào tốc độ tiến hóa di truyền nhanh chóng và dễ dàng của chúng. Đồng thời, việc lạm dụng kháng sinh quá mức đã dẫn đến sự gia tăng đáng kể về tốc độ bài tiết kháng sinh và làm tăng tình trạng kháng thuốc ở các chủng vi khuẩn [3]. Do đó, việc tìm kiếm các hợp chất có nguồn gốc từ thiên nhiên an toàn, giảm thiểu tình trạng kháng thuốc và giảm bớt độc tính của vi khuẩn đang nhận được sự quan tâm đặc biệt của các nhà nghiên cứu.

Sài đất ba thùy có tên khoa học là *Wedelia trilobata* (Họ Cúc) phát triển khá mạnh ở các vùng đất không canh tác và được sử dụng như một loài cây làm cảnh, trồng ven đường làm thảm xanh. *W. trilobata* là loài cây bụi rụng lá phân bố chủ yếu ở một số nước châu Á như Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật Bản, Ấn Độ và Việt Nam. Các nghiên cứu hóa thực vật trên loài này đã cho thấy thành phần hóa học chủ yếu của *W. trilobata* là flavonoid,

sesquiterpene lactone và triterpene có khả năng kháng khuẩn, chống ung thư, bảo vệ gan và ức chế hệ thần kinh trung ương [4]. Trong y học dân gian, các bộ phận của cây được sử dụng để điều trị các bệnh đau lưng, chuột rút, thấp khớp, vết thương lâu ngày, vết loét sưng tấy và đau khớp. Lá và thân được sử dụng trong quá trình sinh sản, điều trị các vết cắn, sốt và nhiễm trùng [5]. Vì vậy, đề tài nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá tiềm năng sử dụng *W. trilobata* trong các sản phẩm dược mỹ phẩm, hỗ trợ chăm sóc các vấn đề về da.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, hóa chất và thiết bị

2.1.1. Vật liệu nghiên cứu

Lá sài đất ba thùy (*Wedelia trilobata*) được trồng tại tỉnh Long An, Việt Nam. Sau đó được thu hái, phơi khô, xay thành bột và tiến hành thí nghiệm.

2.1.2. Thiết bị sử dụng cho thí nghiệm

Máy đo quang phổ UV - Vis 1800, máy cô quay chân không, micropipette, máy vortex, bình chiết và một số thiết bị chuyên dụng khác. Tủ cấy vô trùng, ống nghiệm, đĩa Petri, que cấy, tủ ấm lắc nuôi vi khuẩn (37°C), tủ hấp tiệt trùng. Đèn cồn, que cấy kim loại. Các thiết bị cơ bản của phòng thí nghiệm vi sinh.

2.1.3. Hóa chất

Các dung môi chloroform, n-hexane, ethanol, n-butanol mua từ hãng Fisher (USA). N-[3-(2-furyl)acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA), collagenase type IA (ChC) (từ *C. histolyticum*), enzyme tyrosinase (15U/mL), EGCG, Acid kojic, Ciprofloxacin được mua từ Sigma Chemical Co. (USA). Môi trường dinh dưỡng (MHA, MHB) được mua từ Merck. Các hóa chất cơ bản dùng trong nghiên cứu nuôi cấy tế bào động vật khác đều đạt chuẩn trong nghiên cứu. Các chủng vi khuẩn được sử dụng là *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25953 được mua từ Mỹ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Quy trình chiết xuất

Lá sài đất ba thùy được rửa sạch, phơi khô, xay thô thành bột dược liệu (độ ẩm < 3%) và làm mịn qua rây 250 μ m. Sau đó làm ẩm dược liệu bằng ethanol để dược liệu trương nở hoàn toàn. Chiết

ngấm kiệt với cồn 96% với tỷ lệ 1:25 (w/v) thu được dịch chiết cồn. Cô dịch chiết cồn trên bếp cách thủy thu được cao toàn phần (TP). Tiếp đến phân tán một lượng cao toàn phần với nước, lắc phân đoạn lần lượt với các dung môi chloroform, n-hexane, n-butanol và nước. Cuối cùng thu được cao ethanol toàn phần (TP) và 4 cao phân đoạn gồm cao chloroform (CF), cao n-hexane (HE), cao n-butanol (BU) và cao nước (WA). Các cao chiết sẽ được sử dụng để thử hoạt tính.

2.2.2. Quy trình khảo sát hoạt tính ức chế tyrosinase

Theo phương pháp của Hai Xuan Nguyen và cộng sự (2016) [6]. Mẫu được hòa tan và pha loãng với dung dịch đệm Phosphate 0.1 M (pH=6,8). Cho 0.1 mL dung dịch tyrosinase (15U/mL) và 1.9 mL dung dịch đệm đã có mẫu thử được hòa tan trước đó. Ủ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau đó thêm 1mL dung dịch L-DOPA (1.5 mM pha trong đệm phosphate 0.1 M với pH=6.8) và ủ ở nhiệt độ phòng trong 7 phút. Đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 475 nm để khảo sát khả năng ức chế của enzyme tyrosinase.

Hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase được tính theo công thức sau: $[(A-B)/A].100\%$. Trong đó: A là độ hấp thụ của chứng dương và B là độ hấp thụ của mẫu thử. Chất đối chứng là Kojic acid.

2.2.3. Quy trình khảo sát hoạt tính ức chế collagenase

Theo phương pháp của Wittenauer và cộng sự (2015) [7]. Hòa tan và pha loãng mẫu với dung dịch đệm Tricine (pH = 7.5). Lấy 30 μ L mẫu dịch đã pha loãng trộn với 60 μ L dung dịch đệm Tricine (pH 7.5) và 10 μ L enzyme từ *C. histolyticum* collagenase type IA (ChC) ủ ở 37 °C trong 20 phút. Sau đó thêm 20 μ L N-[3-(2-furyl) acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) ủ ở 37 °C trong 20 phút. Đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 335 nm để khảo sát khả năng ức chế của enzyme collagenase.

Hoạt tính ức chế enzyme collagenase được tính theo công thức sau: $[(A-B)/A].100\%$. Trong đó: A là độ hấp thụ của chứng dương và B là độ hấp thụ của mẫu thử. Chất đối chứng là EGCG.

2.2.4. Quy trình đánh giá hoạt tính kháng khuẩn

2.2.4.1. Phương pháp khuếch tán giếng thạch

Cao chiết được pha loãng trong nước cất về nồng

độ 5 mg/mL. 10mL môi trường Mueller Hinton Agar (MHA) được đổ lên đĩa petri (đường kính 90 mm) vô trùng và để đông thạch. Dịch nuôi vi khuẩn (đạt nồng độ chuẩn hóa tương ứng với độ đục của thang McFarland 0.5) được chuyển lên bề mặt của đĩa petri thạch đã đông.

Dùng que đục lỗ vô trùng đục lên đĩa thạch để tạo các giếng có đường kính 6 mm. Lấy 20 μ L cao chiết được cho vào giếng trong điều kiện vô trùng (tủ cấy) và giữ ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ để cao chiết khuếch tán rồi đem đĩa petri đi ủ 37 °C trong 24 giờ.

Ciprofloxacin (30 μ g/mL) được sử dụng làm đối chứng dương. Sau 24 giờ, đo đường kính vòng ức chế (IZD). Quy trình được lặp lại 3 lần để tính giá trị trung bình của IZD.

2.2.4.2. Quy trình thực hiện phương pháp pha loãng thạch (AGAR DILUTION METHOD) [8]

Các đĩa thạch được chuẩn bị bằng cách đổ 9 mL dịch thạch MHA vào các đĩa petri vô trùng chứa 1 mL các dung dịch pha loãng khác nhau của dịch thủy phân làm cho nồng độ dịch thủy phân protein trong môi trường MHA cuối cùng trở thành 32; 16; 8; 4; 2; 1; 0.5; 0.25; 0.125; 0.0625 mg/mL. Dịch nuôi vi khuẩn (đạt nồng độ chuẩn hóa tương ứng với độ đục của thang McFarland 0,5) được chuyển lên bề mặt thạch các thể tích dịch nuôi vi khuẩn 10 μ L, mỗi loài vi khuẩn lặp lại 3 lần. Các đĩa MHA sau đó được ủ ở 37 °C trong 24 giờ và được đánh giá kết quả. Nồng độ tối thiểu của các chất được nghiên cứu ức chế hoàn toàn sự phát triển của từng vi sinh vật (vi khuẩn không phát triển thành khuẩn lạc) được lấy làm MIC. Ciprofloxacin được sử dụng làm đối chứng dương.

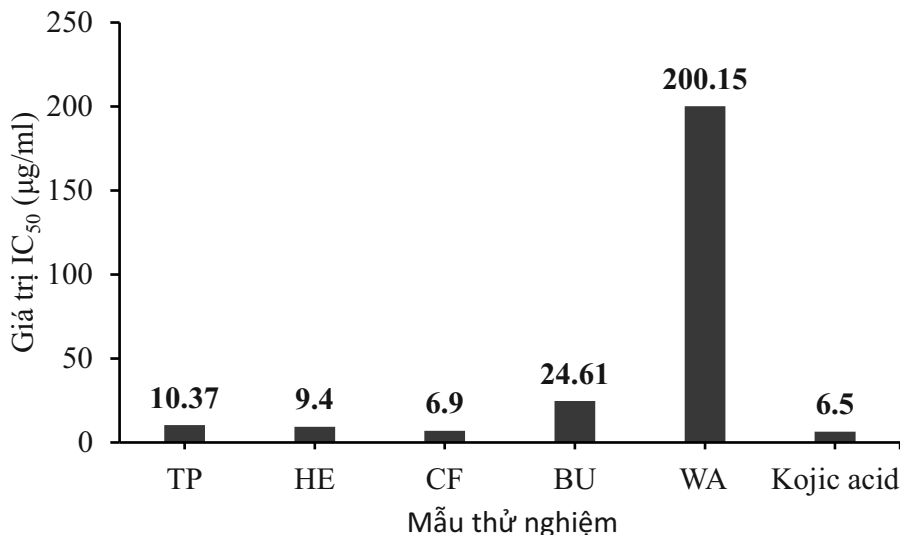
3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Khả năng ức chế enzyme tyrosinase của các cao chiết từ lá sài đất ba thùy

Cao toàn phần có hoạt tính ức chế tyrosinase với giá trị IC_{50} là 10.37 μ g/mL. Hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase mạnh nhất là cao phân đoạn CF, tiếp theo là cao HE, cao toàn phần và cao BU; cao có hoạt tính kém nhất là cao WA. Cao CF của lá *W. trilobata* có hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase tốt nhất với $IC_{50} = 6.9 \mu$ g/mL. So với chứng dương Kojic acid thì cao CF từ lá sài đất ba thùy gần như tương đương (chênh lệch không quá 10%), vì trong cao CF chứa nhiều hợp chất

sesquiterpene lactone có nhiều đặc tính chữa bệnh khác nhau như chống sốt rét, chống lão hóa da và kháng khuẩn [9, 10]. Do đó, cao phân đoạn CF của lá sài đất ba thùy có tiềm năng trong việc ức

chế enzyme tyrosinase tiến đến hỗ trợ điều trị một số bệnh lý về da. Đồng thời, có thể tiến hành phân lập các hợp chất tinh khiết có hoạt tính ức chế tyrosinase từ cao CF của lá sài đất ba thùy.

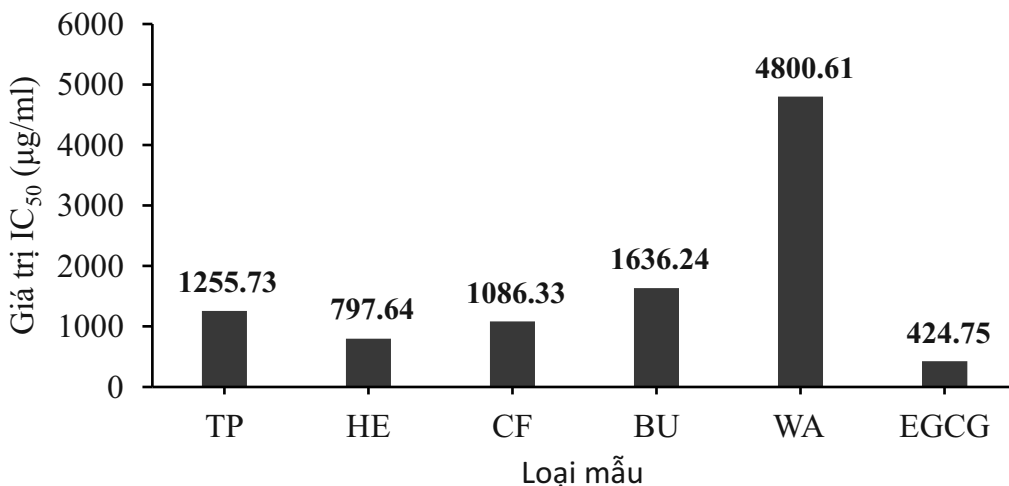


Hình 1. Hoạt tính ức chế tyrosinase của các cao chiết từ lá sài đất ba thùy và chứng dương

3.2. Khả năng ức chế enzyme collagenase của các cao chiết từ lá sài đất ba thùy

Cao HE của lá sài đất ba thùy có hoạt tính ức chế enzyme collagenase tốt nhất với IC₅₀ là 797.64 µg/mL, kế tiếp là cao CF, cao TP, cao BU và cao WA. Cao HE lại có khả năng ức chế hoạt tính thấp hơn 1.9 lần so với chứng dương EGCG (IC₅₀ là 424.75 µg/mL) do các cao chiết là hỗn hợp chứa nhiều hợp chất. Bên cạnh đó, cao hexane của *Stenocarpus sinuatus* với IC₅₀ là 60.03 µg/mL [11] có hoạt tính thấp hơn 2.4 lần so với chứng dương EGCG (IC₅₀ là

24.7 µg/mL). Vì vậy, cao HE của lá sài đất ba thùy có hoạt tính ức chế collagenase mạnh hơn cao hexan của *Stenocarpus sinuatus*. Đồng thời, hoạt tính ức chế enzyme collagenase cao TP của lá *W. trilobata* cao hơn khi so với cao ethanol (1792.75 µg/mL) của *Curcuma domestica Val - Tamarindus indica* [12] nhưng thấp hơn so với cao ethanol *Phyllanthus emblica* với IC₅₀ là 89.61 µg/mL [13]. Do đó cần tiến hành thêm những nghiên cứu khác để đánh giá chi tiết hơn về hoạt tính ức chế collagenase của cao chiết lá sài đất ba thùy.

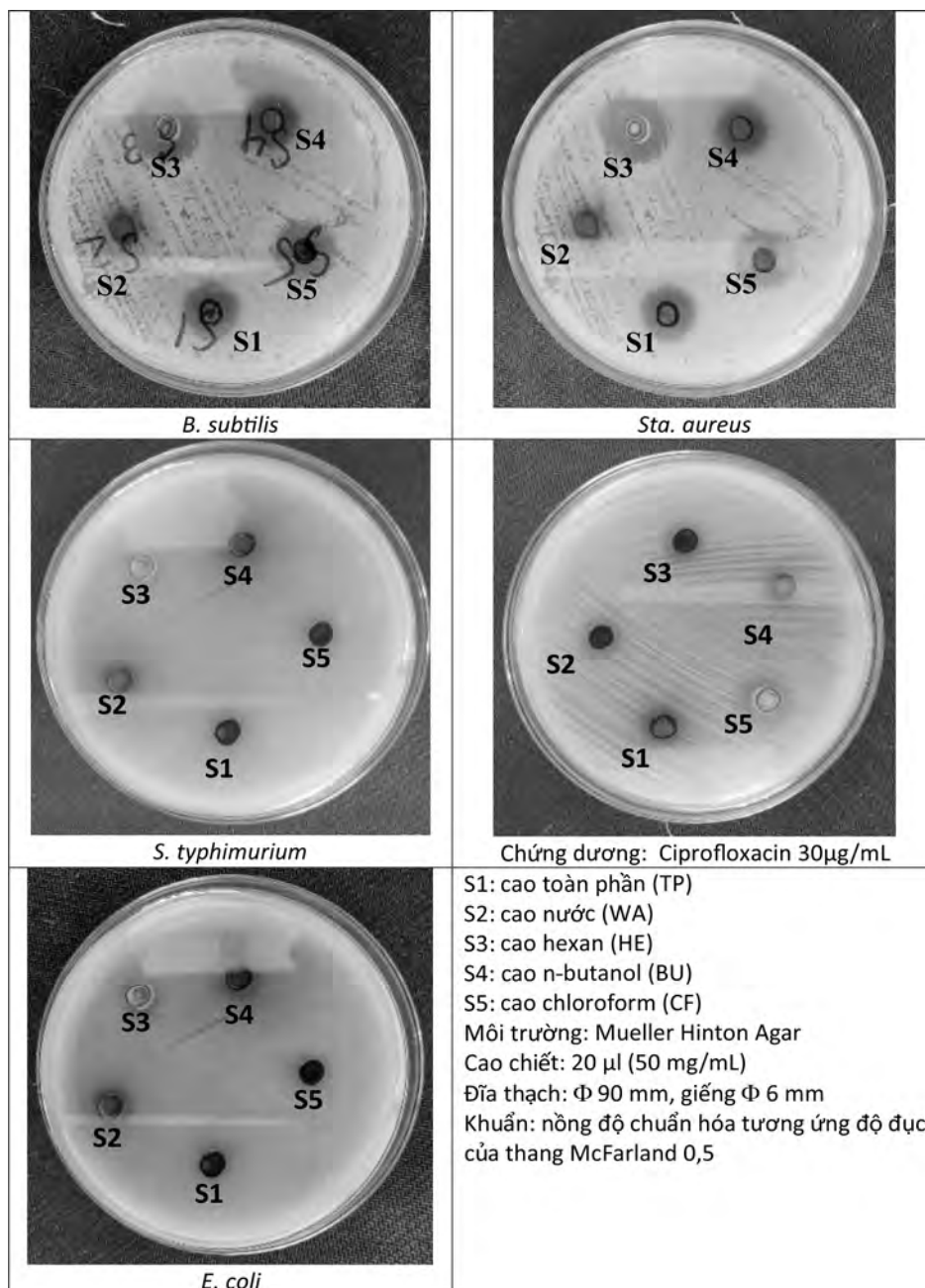


Hình 2. Hoạt tính ức chế collagenase của các cao chiết từ lá sài đất ba thùy và chứng dương

3.3. Tính kháng khuẩn của các cao chiết từ lá sài đất ba thù

Bảng 1. Đường kính vùng ức chế (mm) các mẫu cao chiết (50 µg/ml) đối với các vi khuẩn *Sta. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium* và *B. subtilis*

Cao chiết	Đường kính vùng ức chế (mm)			
	Khuẩn Gram dương		Khuẩn Gram âm	
	<i>Sta. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>
TP	-	12.33	-	-
HE	10.00	18.67	-	-
CF	8.00	17.33	-	-
BU	-	11.33	-	-
WA	-	-	-	-



Hình 3. Kết quả đo đường kính vùng ức chế vi khuẩn Gram dương (*Sta. aureus*, *B. subtilis*) và Gram âm (*E. coli*, *S. typhimurium*) của cao chiết

Trong các cao phân đoạn, cao HE và CF có hoạt tính kháng với chủng vi khuẩn *Sta. aureus* với trị số IZD lần lượt là 10 mm và 8 mm. Ngoại trừ cao WA, các mẫu cao chiết còn lại đều có hoạt tính kháng chủng *B. subtilis*. Qua khảo sát cho thấy các cao chiết của lá

sài đất ba thù có hiệu quả ức chế vi khuẩn Gram dương và không có hoạt tính ức chế khuẩn Gram âm vì màng ngoài bao quanh thành tế bào của vi khuẩn Gram âm có thể hạn chế khuếch tán các hợp chất kỵ nước thông qua lớp vỏ lipopolysaccharit của nó [14].

Bảng 2. Kết quả khảo sát MIC ($\mu\text{g/mL}$) các mẫu cao TP, HE và CF

Cao chiết	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			
	Khuẩn Gram dương		Khuẩn Gram âm	
	<i>Sta. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>
TP	-	39.1	-	-
HE	625.0	9.7	-	-
CF	1250.0	156.3	-	-

Kết quả trong Bảng 2 cho thấy cao HE của lá sài đất ba thù cho hiệu quả ức chế mạnh đối với các chủng vi khuẩn *Sta. aureus* và *B. subtilis*, với giá trị MIC lần lượt là 625.0 và 9.7 $\mu\text{g/mL}$. Đồng thời, cao HE có khả năng ức chế chủng vi khuẩn *B. subtilis* mạnh hơn gấp 3 lần so với chứng dương Ciprofloxacin (30 $\mu\text{g/mL}$). Bên cạnh đó, khả năng ức chế vi khuẩn của các cao phân đoạn từ lá sài đất ba thù còn kém hơn *Tagetes minuta* với MIC là 25.0 $\mu\text{g/mL}$ [15]. Qua đó cho thấy rằng, cao chiết lá sài đất ba thù có tiềm năng tạo ra các chế phẩm kháng khuẩn và chống lão hóa da.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng, cao phân đoạn

CF, HE, TP của lá sài đất ba thù (*Wedelia trilobata*) có khả năng ức chế enzyme tyrosinase, collagenase và các chủng vi khuẩn Gram dương *Sta. aureus*, *B. subtilis* mạnh. Từ nghiên cứu này, lá sài đất ba thù có thể được nghiên cứu sâu hơn nhằm điều chế các chế phẩm hỗ trợ ngăn ngừa lão hóa, giảm nếp nhăn và điều trị các bệnh nhiễm khuẩn. Bên cạnh đó, cần tiến hành nghiên cứu chuyên sâu ở mức độ *in vivo* để đánh giá toàn diện hơn về khả năng ứng dụng trong y học và công nghiệp dược phẩm.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng cấp kinh phí thực hiện dưới mã số đề tài GVTC17.47.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] M. Chatatikun and A. Chiabchalard, "Thai plants with high antioxidant levels, free radical scavenging activity, anti-tyrosinase and anti-collagenase activity", *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 1-9, 2017.

[2] Bhadra, B., Sakpal, A., Patil, S., Patil, S., A. Date, V. Prasad, & Dasgupta and S., "A Guide to collagen Sources, applications and current advancements," *Systematic Bioscience and Engineering*, 1(2), pp. 67-87, 2021.

[3] L. Serwecińska, "Antimicrobials and antibiotic-resistant bacteria: a risk to the environment and to public health," *Water (Basel)*, vol. 12, no. 12, p. 3313, 2020.

[4] S. Langhi *et al.*, "Pharmacognostic and phytochemical investigation of *Wedelia trilobata* leaves," *Int J Herb Med*, vol. 8, no. 4, pp. 129–133, 2020.

[5] A. Suchantabud, T. Katisart, C. Talubmook, "Acute toxicity of leaf extracts from *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski in rats", In: 2015 *International Conference on Science and Technology (TICST)*. IEEE, 2015.

[6] H. X. Nguyen *et al.*, "Tyrosinase inhibitory activity of flavonoids from *Artocarpus heterophyllous*," *Chem Cent J*, vol. 10, pp. 1–6, 2016.

[7] J. Wittenauer, S. Mäckle, D. Sußmann,... and R.

- Carle, "Inhibitory effects of polyphenols from grape pomace extract on collagenase and elastase activity," *Fitoterapia*, vol. 101, pp. 179–187, 2015.
- [8] F. A. Onyegbule, I. O. Ilouno, ... and V. U. Chigozie, "Evaluation of the analgesic, anti-inflammatory and antimicrobial activities of leaf extracts of *Breynia nivososa*," 2014.
- [9] Y. Qianga, D.-L. Dub,... and A. K. Gao., "ent-Kaurane Diterpenes and Further Constituents from *Wedelia trilobata*.," *Helvetica Chimica Acta*, vol. 94, 2011.
- [10] Y. Hui *et al.*, "Chemical constituents of the flowers of *Wedelia trilobata*," *Chem Nat Compd*, vol. 55, pp. 160–163, 2019.
- [11] M. M. Younis *et al.*, "GC/MS profiling, anti-collagenase, anti-elastase, anti-tyrosinase and anti-hyaluronidase activities of a *Stenocarpus sinuatus* leaves extract," *Plants*, vol. 11, no. 7, p. 918, 2022.
- [12] S. Mulyani, B. A. Harsodjuwono, and A. Wiraguna, "The Potential of Turmeric and Tamarind Leaves Extract (*Curcuma domestica Val-Tamarindus indica* L.) as Anti-collagenase Cream," *J Chem Pharm Res*, vol. 9, no. 12, pp. 111–118, 2017.
- [13] S. Pientaweeratch, V. Panapisal, and A. Tansirikongkol, "Antioxidant, anti-collagenase and anti-elastase activities of *Phyllanthus emblica*, *Manilkara zapota* and silymarin: An in vitro comparative study for anti-aging applications," *Pharm Biol*, vol. 54, no. 9, pp. 1865–1872, 2016.
- [14] P. M. Davidson, J. N. Sofos and A. L. Branen, *Antimicrobials in food*, CRC press, 2005.
- [15] F. Senatore, F. Napolitano,... and J. Henderson, "Antibacterial activity of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) essential oil with different chemical composition.," *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 19, no. 6, pp. 574-578, 2004.

Evaluation of tyrosinase and collagenase inhibitory and antibacterial activities of extracts from *Wedelia trilobata* leaves

Nguyen Thi Mai Huong, Mai Thanh Chung, Pham Thi Thuy My,
Truong Dang Hoai My and Bui Thanh Phong

ABSTRACT

*Background: Skin pigmentation disorders, skin aging, and bacterial antibiotic resistance are serious issues in healthcare and medicine. Therefore, finding a compound extracted from plants that can safely and effectively inhibit the enzymes tyrosinase, collagenase, and possess antimicrobial properties is receiving significant attention from researchers worldwide. Objective: Determine the ability of W. trilobata leaf extracts to inhibit the enzymes tyrosinase, collagenase and antibacterial. Materials and method: W. trilobata leaves are cultivated in Long An province, Vietnam. The leaves of W. trilobata are harvested, dried, finely ground, and subjected to experimentation to determine the inhibitory activity of the extracts on skin aging-related enzymes: tyrosinase, collagenase, and antibacterial. Extract preparation, procedures for investigating tyrosinase and collagenase inhibitory activity, agar well diffusion method, and agar dilution method. Results: The highest inhibitory effect of tyrosinase was in the CF fraction extract with an IC_{50} value of 6.9 $\mu\text{g/ml}$, and the highest collagenase inhibition effect was in the HE fractions extract with an IC_{50} value of 797.64 $\mu\text{g/ml}$. The highest antibacterial ability was in HE extracts (with the largest inhibition zone diameter), and the MIC value of HE extracts is 625 $\mu\text{g/ml}$ (*Sta. aureus*) and 9.7 $\mu\text{g/ml}$ (*B. subtilis*). The extracts of W. trilobata do not inhibit Gram-negative bacteria. Conclusion: W. trilobata leaf extract has the ability to inhibit the*

enzymes tyrosinase, collagenase and resist Gram-positive bacteria, so it can be used to support antibacterial treatment and skin aging on the skin.

Keywords: *Wedelia trilobata, tyrosinase, collagenase, B. subtilis, Sta. aureus.*

Received: 01/07/2024

Revised: 21/09/2024

Accepted for publication: 22/09/2024