

HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HOÁ CỦA VẬT LIỆU COMPOSITE COLLAGEN/CHITOSAN/ CAO CHIẾT MÁN ĐĨA

Nguyễn Hoàng Lương Ngọc^{1,2}, Trần Thị Văn Thi¹, Lê Lâm Sơn¹, Nguyễn Minh Nhung¹,
Nguyễn Quang Mẫn³, Hồ Xuân Anh Vũ¹, Trần Thanh Minh¹, Nguyễn Việt Thắng⁴, Nguyễn Thị Như¹,
Nguyễn Thị Hồng Hạnh¹, Lê Trung Hiếu^{1*}

¹ Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, 77 Nguyễn Huệ, Huế, Việt Nam

² Trường Đại học Công thương Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

³ Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế, 6 Ngô Quyền, Huế, Việt Nam

⁴ Khoa Sinh, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, 77 Nguyễn Huệ, Huế, Việt Nam

* Tác giả liên hệ Lê Trung Hiếu <lthieu@hueuni.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 13-01-2024; Hoàn thành phản biện: 07-03-2024; Ngày chấp nhận đăng: 08-04-2024)

Tóm tắt. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tổng hợp một vật liệu mới có hoạt tính chống oxy hóa tốt. Lần đầu tiên cao chiết Mán đĩa được đưa vào hỗn hợp collagen/chitosan/TEOS, vật liệu tạo thành có khả năng chống oxy hóa trong ba mô hình: tổng khả năng chống oxy hóa theo mô hình phospho-molybden, khả năng bắt gốc tự do DPPH, bắt gốc ABTS, với giá trị IC₅₀ thấp (IC₅₀ = 43,60 µg/mL và 46,57 µg/mL, tương ứng với khả năng bắt gốc DPPH và ABTS) và hàm lượng các chất chống oxy hóa khá cao 83,06 ± 0,56 mg GA/g. Hàm lượng tổng các hợp chất phenol và flavonoid trong composite Coll-Cs-TEOS-MD 0,5 là 36,87 ± 0,18 mg GA/g và 28,12 ± 0,15 mg QE/g. Vật liệu được đặc trưng thông qua phổ hồng ngoại (IR) và hiển vi điện tử quét (SEM). Vật liệu Coll-Cs-TEOS-MD 0,5 cho thấy khả năng chống oxy hóa tốt và là vật liệu tương thích sinh học rất hứa hẹn cho các ứng dụng y sinh.

Từ khóa: collagen, chitosan, Mán đĩa, collagen/chitosan/TEOS/Mán đĩa

Antioxidant activity of collagen/chitosan/ *Archidendron clypearia* extract composite materials

Nguyen Hoang Luong Ngoc^{1,2}, Tran Thi Van Thi¹, Le Lam Son¹, Nguyen Minh Nhung¹,
Nguyen Quang Man³, Ho Xuan Anh Vu¹, Tran Thanh Minh¹, Nguyen Viet Thang⁴, Nguyen Thi Nhu¹,
Nguyen Thi Hong Hanh¹, Le Trung Hieu^{1*}

¹ Faculty of Chemistry, University of Sciences, Hue University, 77 Nguyen Hue St., Hue, Vietnam

² Ho Chi Minh City University of Industry and Trade, Vietnam

³ University of Medicine and Pharmacy, Hue University, 6 Ngo Quyen St., Hue, Vietnam

⁴ Faculty of Biology, University of Sciences, Hue University, 77 Nguyen Hue St., Hue, Vietnam

* Correspondence to Le Trung Hieu <lthieu@hueuni.edu.vn>

(Received: 13 January 2023; Revised: 07 March 2024; Accepted: 08 April 2024)

Abstract. In this study, we have synthesized a new material with good antioxidant activity. For the first time, *Archidendron clypearia* extract was included in the collagen/chitosan/TEOS mixture, the resulting material had antioxidant capacity evaluated through DPPH and ABTS radical scavenging and the total antioxidant capacity method, with low IC₅₀ values (IC₅₀ = 43.60 µg/mL and 46.57 µg/mL

for DPPH and ABTS radical scavenging capacity) and the total antioxidant capacity was 83.06 ± 0.56 mg GA/g. The total content of phenolic and flavonoid compounds in Coll-Cs-TEOS-MD 0.5 is 36.87 ± 0.18 mg GA/g and 28.12 ± 0.15 mg QE/g, respectively. Material characteristics are examined through infrared spectroscopy (IR) and scanning electron microscope (SEM). Coll-Cs-TEOS-MD 0.5 material shows good antioxidant activities, which is very promising as a biocompatible material for biomedical applications.

Keywords: collagen, chitosan, *Archidendron clypearia*, collagen/chitosan/TEOS/ *Archidendron clypearia*

1 Mở đầu

Vật liệu tương thích sinh học đang nhận được sự quan tâm ngày càng tăng trong vài thập kỷ qua, với nhiều tiềm năng trong việc cải thiện sức khỏe và điều trị các bệnh [1-3]. Các vật liệu như glucomannan, chitosan, cellulose, collagen và các dẫn xuất của chúng, được xem là các vật liệu tương thích sinh học và không độc hại [4-6]. Đặc biệt, collagen và chitosan là những vật liệu hấp dẫn nhất cho các ứng dụng y phẩm và dược phẩm [7]. Thực tế, chitosan đã được coi là nguồn sinh khối phong phú nhất trong tự nhiên sau cellulose. Các dạng khác nhau của chitosan (ví dụ: màng, hạt, nanoparticle, microsphere, hydrogel, nanofiber và nanocomposite) đã thể hiện những đặc tính như chống oxy hóa, chống đông, chống vi khuẩn, chống ung thư, chống ô nhiễm, chống nấm, xuất phát từ diện tích bề mặt riêng cao, khả năng hấp phụ tốt và khả năng phân hủy sinh học [8]. Bên cạnh đó, collagen, một protein quan trọng trong cấu trúc ma trận tế bào ngoại vi, phổ biến trong xương, da, dây chằng, gân và các mô nối khác, cũng đã thu hút nhiều sự quan tâm [9]. Với tính năng phân giải sinh học tốt, không gây dị ứng, không độc hại, tương thích sinh học, và các hoạt tính sinh học quý khác như chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm [10].

Để tăng cường hoạt tính của những vật liệu tương thích sinh học như composite chitosan/collagen, các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa được thêm vào composite trên để đạt được hoạt tính tốt hơn [11, 12]. Mán đĩa là một loài được liệu có hoạt tính chống oxy hóa mạnh [13-15]. Các nghiên cứu trước chỉ ra rằng, cao

chiết Mán đĩa có khả năng chống oxy hoá, bảo vệ gan, dập tắt các gốc tự do, chống tăng trưởng tế bào ung thư tử cung, ức chế biểu hiện iNOS và sản sinh NO trong tế bào [15, 16]. Do đó, có thể kỳ vọng vào sự kết hợp cao chiết Mán đĩa sẽ tăng cường đáng kể hoạt tính chống oxy hoá của vật liệu này.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã điều chế vật liệu tổ hợp dựa trên nền chitosan/collagen kết hợp cao chiết Mán đĩa (ký hiệu là Coll-Cs-TEOS-MD) thành vật liệu có khả năng chống oxy hóa cao. Thật vậy, các mẫu Coll-Cs-TEOS-MD được đánh giá có hiệu quả chống oxy hoá tốt trong các mô hình DPPH và ABTS với giá trị IC_{50} thấp (IC_{50} từ 43,60 μ g/mL đến 87,49 μ g/mL trong mô hình DPPH và IC_{50} từ 50,50 μ g/mL đến 94,22 μ g/mL trong mô hình ABTS). Tổng hàm lượng chống oxy hoá được tìm thấy dao động từ $27,98 \pm 0,28$ mg GA/g đến $83,06 \pm 0,56$ mg GA/g. Vật liệu thu được được đặc trưng thông qua phổ hồng ngoại (IR) và hiển vi điện tử quét (SEM).

2 Thục nghiệm

2.1 Nguyên liệu, hóa chất và dụng cụ

Nguyên liệu: phần trên mặt đất của cây Mán đĩa (*Archidendron clypearia*) được thu hái tại Vườn Quốc gia Bạch Mã. Mẫu nghiên cứu được ThS. Nguyễn Việt Thắng, khoa Sinh học, trường Đại học Khoa học, Đại học Huế xác định tên khoa học. Mẫu tiêu bản hiện được lưu giữ tại khoa Hóa học, trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.

Hóa chất: Tất cả hóa chất và dung môi đều đạt tiêu chuẩn phân tích: gallic acid, quercetin

(Sigma-Aldrich), Na_2CO_3 , NaOH, NaNO_2 , AlCl_3 , H_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ (Guangdong, PA), 2,2-azino-bis(ethylbenzene-thiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), Folin – Ciocalteu, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Merck).

2.2 Tách chiết cao toàn phần

Mẫu nguyên liệu khô (20 gam) được chiết với $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 96 % (v/v) (mỗi lần 600 mL, 3 lần chiết) trong 4 giờ ở nhiệt độ sôi của dung môi. Mẫu được làm lạnh đến nhiệt độ phòng, lọc và sau đó tiến hành cô quay chân không, thu được cao ethanol (hiệu suất chiết khoảng 6,35%).

2.3 Chế tạo vật liệu composite chitosan/collagen/TEOS kết hợp cao chiết Mán địa

Chitosan (CS) (0,5 gam) được phân tán trong 20 mL acetic acid 0,1 M trước khi được thêm vào dung dịch chứa collagen (Col) (0,8 g), cao Mán địa (MD) (khối lượng từ 0,1 gam đến 0,5 gam) và 50 mL acetic acid 0,1 M. Sau đó, 2 mL tetraethyl orthosilicate (TEOS) được thêm vào, khuấy ở nhiệt độ phòng trong 60 phút để tạo ra gel đồng nhất. Sau đó, gel được đổ lên đĩa Petri và sấy khô ở 40 °C để thu được vật liệu mong muốn. Một quy trình tương tự đã được sử dụng để chuẩn bị mẫu không có sự hiện diện của cao chiết Mán địa.

2.4 Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa

Đánh giá tổng khả năng chống oxy hóa (total antioxidant capacity (TAC)) theo mô hình phospho molybden

Tổng khả năng chống oxy hoá được xác định bằng phương pháp mô tả bởi Nair và cộng sự [17]. Việc định lượng tổng khả năng chống oxy hoá được xác định thông qua phép đo độ hấp thụ quang. Khả năng chống oxy hóa toàn phần được biểu thị dưới dạng tương đương gallic acid (GA) hoặc ascorbic acid [18, 19].

Đánh giá tác dụng bắt gốc tự do DPPH

Hoạt tính chống oxy hóa thể hiện qua khả năng làm giảm màu của DPPH được xác định trên máy quang phổ Jasco V-630 theo phương pháp được mô tả bởi Wong và cộng sự [20]. Tác dụng bắt gốc tự do DPPH được đánh giá qua giá trị IC_{50} .

Đánh giá khả năng bắt gốc ABTS

Khả năng bắt gốc ABTS của các cao chiết được thực hiện theo phương pháp được mô tả bởi Roberta Re và cộng sự [21]. Khả năng chống oxy hóa được đánh giá qua giá trị IC_{50} . Ascorbic acid được sử dụng làm chất đối chứng dương.

2.5 Tổng hàm lượng các hợp chất phenol

Tổng hàm lượng các chất phenol được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu. Khoảng nồng độ gallic acid xây dựng đường chuẩn là từ 0,05 đến 3 mg/mL và kết quả tổng hàm lượng các chất phenol được biểu thị bằng mg đương lượng gallic acid (GA) trên 1 gam mẫu [22].

2.6 Tổng hàm lượng flavonoid

Tổng hàm lượng flavonoid được xác định bằng phương pháp trắc quang tạo màu với AlCl_3 trong môi trường kiềm theo phương pháp của Meda và cộng sự [23]. Độ hấp thụ quang của dung dịch phản ứng được đo ở bước sóng 510 nm. Quercetin được sử dụng làm chất chuẩn tham khảo. Hàm lượng quy tương đương theo số milligram quercetin /1 gam mẫu.

2.7 Đặc trưng vật liệu

Đặc tính của vật liệu được xác định bằng máy quang phổ hồng ngoại IR Prestige-21 (Shimadzu, Nhật Bản). Hình thái được đặc trưng bằng hiển vi điện tử quét (JSM-6010PLUS – JEOL, Nhật Bản).

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Hoạt tính chống oxy hoá và hàm lượng các hợp chất phenol của vật liệu

Hoạt tính chống oxy hoá thông qua quá trình chelating là quá trình bắt giữ ion kim loại tạo thành các hợp chất hòa tan và ổn định. Ảnh hưởng tiêu cực của sự tích tụ quá mức ion kim loại là nguyên nhân gây tổn thương mô và gây ra các bệnh lý như tiểu đường, suy tim, suy gan, tiểu đường, và tử vong. Trong phép đo TAC, Mo (VI) được khử thành Mo (V) bằng các chất chống oxy hóa. Tổng hàm lượng chất chống oxy hóa trong mẫu được quy tương đương về mg gallic acid/g mẫu (phương trình hồi quy tuyến tính của gallic

acid $Abs = 1,952 C_{GA} + 0,2372$, $R^2 = 0,9992$, ở nồng độ từ 0,1 mg/mL đến 0,5 mg/mL). Kết quả nghiên cứu cho thấy, khả năng chống oxy hóa của vật liệu composite tăng theo hàm lượng của cao chiết Mán địa. Tổng hàm lượng chất chống oxy hóa trong các mẫu thể hiện cao nhất ở nồng độ 1 mg/mL. Kết quả được thể hiện ở Bảng 1, tổng hàm lượng các chất chống oxy hóa dao động từ $27,98 \pm 0,28$ mg GA/g đến $83,06 \pm 0,56$ mg GA/g. Tổng khả năng chống oxy hóa của các mẫu có thể được sắp xếp như sau: Coll-Cs-TEOS-MD 0,5 > Coll-Cs-TEOS-MD 0,4 > Coll-Cs-TEOS-MD 0,3 > Coll-Cs-TEOS-MD 0,2 > Coll-Cs-TEOS-MD 0,1 > Coll-Cs-TEOS.

Bảng 1. Hoạt tính chống oxy hoá, tổng hàm lượng các hợp chất phenol, và tổng hàm lượng flavonoid của vật liệu collagen-chitosan- TEOS-Mán địa (ký hiệu là Coll-Cs-TEOS-MD-x)

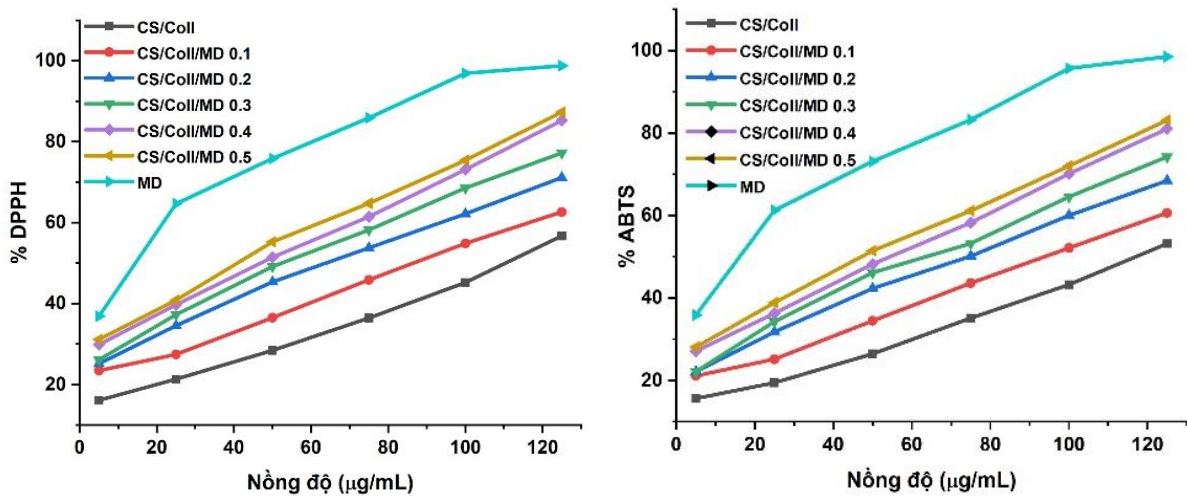
Mẫu	IC ₅₀ (µg/mL)		TAC (mg GA/g)	TPC (mg GA/g)	TFC (mg QE/g)
	DPPH	ABTS			
MD	14,43	16,13	$280,16 \pm 1,32$	$112,68 \pm 1,28$	$78,45 \pm 1,12$
Coll-Cs-TEOS	111,15	119,72	$5,31 \pm 0,16$	-	-
Coll-Cs-TEOS-MD 0,1	87,49	94,22	$27,98 \pm 0,28$	$8,12 \pm 0,12$	$5,68 \pm 0,21$
Coll-Cs-TEOS-MD 0,2	66,79	74,34	$47,07 \pm 0,31$	$15,36 \pm 0,13$	$11,61 \pm 0,14$
Coll-Cs-TEOS-MD 0,3	56,75	65,47	$54,60 \pm 0,43$	$23,56 \pm 0,24$	$17,68 \pm 0,12$
Coll-Cs-TEOS-MD 0,4	48,35	55,50	$77,82 \pm 1,13$	$30,23 \pm 0,16$	$22,36 \pm 0,24$
Coll-Cs-TEOS-MD 0,5	43,60	50,50	$83,06 \pm 0,56$	$36,87 \pm 0,18$	$28,12 \pm 0,15$

Ghi chú x: hàm lượng cao Mán địa trong mẫu; Kết quả được biểu diễn $X_{TB} \pm S$ (n=3)

Quá trình ức chế oxy hoá lipid thường được sử dụng để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của mẫu nghiên cứu. Trong đó, phương pháp bắt gốc ABTS và gốc tự do DPPH là các phương pháp hiệu quả để xác định hoạt tính chống oxy hóa của các chất trong mẫu nghiên cứu theo khả năng cho nguyên tử hydro hoặc cho electron, dựa trên sự giảm màu của gốc ABTS và DPPH.

Kết quả ở Hình 1 cho thấy, hoạt tính bắt gốc của vật liệu tăng khi tăng nồng độ của vật liệu. Khả năng chống oxy hóa của mẫu nghiên

cứu là khá tốt thông qua giá trị IC₅₀ thấp (IC₅₀ từ 43,60 µg/mL đến 87,49 µg/mL trong mô hình DPPH, từ 50,50 µg/mL đến 94,22 µg/mL trong mô hình ABTS). Ở nồng độ 125 µg/mL, khả năng bắt gốc DPPH và ABTS của các mẫu nghiên cứu là trên 60%. Khả năng bắt gốc DPPH và ABTS của các mẫu được sắp xếp như sau: Coll-Cs-TEOS-MD 0,5 > Coll-Cs-TEOS-MD 0,4 > Coll-Cs-TEOS-MD 0,3 > Coll-Cs-TEOS-MD 0,2 > Coll-Cs-TEOS-MD 0,1 > Coll-Cs-TEOS. Như vậy, vật liệu collagen/chitosan chứa cao chiết Mán địa có hoạt tính bắt gốc vượt trội so với collagen và chitosan.



Hình 1. Hoạt tính chống oxy hoá của các mẫu vật liệu: (A) bắt gốc tự do DPPH; (B) bắt gốc ABTS

Các nghiên cứu trước đây cho thấy: các hợp chất phenol, đặc biệt các flavonoid, là thành phần quan trọng tạo nên hoạt tính chống oxy hóa của mẫu nghiên cứu [24-26]. Hàm lượng tổng các hợp chất phenol trong các mẫu nghiên cứu được xác định dựa trên đường chuẩn với chất chuẩn là gallic acid (GA) trong khoảng nồng độ từ 0,05 đến 3 mg/mL, có dạng phương trình hồi quy tuyến tính: $A (Abs) = 10,309 C_{GA} + 0,1174$, hệ số tương quan $R^2 = 0,9994$. Hàm lượng tổng flavonoid trong các mẫu nghiên cứu được xác định dựa trên đường chuẩn với chất chuẩn là quercetin (QU) trong khoảng nồng độ 0,05 đến 0,3 mg/mL, có dạng phương trình hồi quy tuyến tính: $A (Abs) = 8,9273 C_{QU} - 0,2390$, hệ số tương quan $R^2 = 0,9995$. Hàm lượng tổng các hợp chất phenol và flavonoid trong các mẫu nghiên cứu từ $8,12 \pm 0,12$ mg GAE/g đến $36,87 \pm 0,18$ mg GAE/g và từ $5,68 \pm 0,21$ mg QE/g đến $28,12 \pm 0,15$ mg QE/g. Tương tự như mô hình bắt gốc tự do DPPH và ABTS, hàm lượng tổng các hợp chất phenol và flavonoid trong các mẫu nghiên cứu được sắp xếp như sau: Coll-Cs-TEOS-MD 0,5 > Coll-Cs-TEOS-MD 0,4 > Coll-Cs-TEOS-MD 0,3 > Coll-Cs-TEOS-MD 0,2 > Coll-Cs-TEOS-MD 0,1.

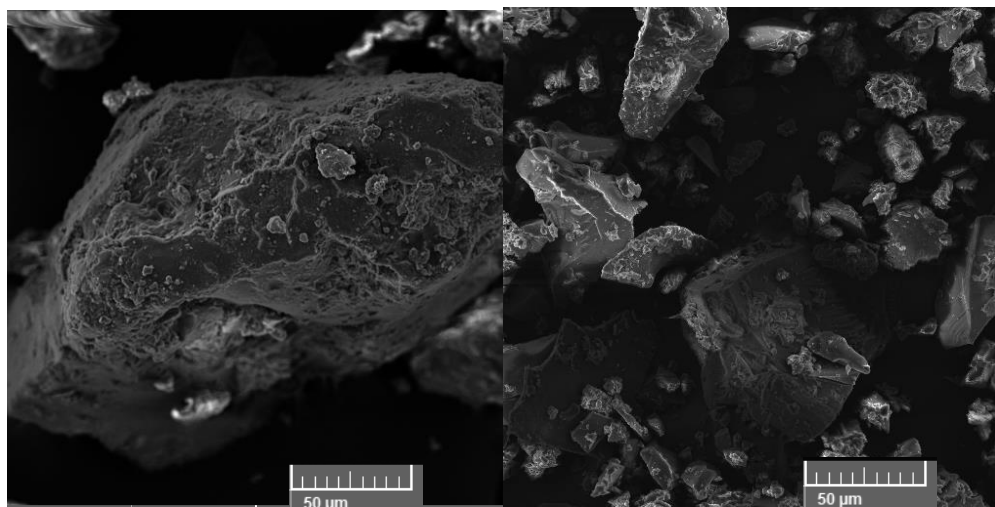
Như vậy, trong các mô hình bắt gốc tự do DPPH, ABTS, hàm lượng tổng các hợp chất

phenol và flavonoid, mẫu Coll-Cs-TEOS-MD 0,5 có hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất. Mẫu Coll-Cs-TEOS-MD 0,5 được lựa chọn để xác định các đặc trưng vật liệu.

3.2 Đặc trưng của vật liệu Coll-Cs-TEOS-MD 0,5

Hình thái của vật liệu Coll-Cs-TEOS có và không có cao chiết Mán đĩa được thể hiện ở trong Hình 2A-B cho thấy sự khác biệt đáng kể. Việc đưa thêm cao chiết Mán đĩa tạo ra vật liệu composite đa hình, đa kích thước và không đồng nhất hơn so với vật liệu Coll-Cs-TEOS ban đầu.

Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) được sử dụng để mô tả các dao động hóa học có trong vật liệu, được thể hiện ở hình 3. Các peak rộng trong khoảng số sóng $3000 - 3620 \text{ cm}^{-1}$ đặc trưng cho các dao động kéo giãn của các nhóm $-NH_2$ hoặc $-OH$. Các peak ở 1630 cm^{-1} , 1535 cm^{-1} , 1443 cm^{-1} và 1344 cm^{-1} đặc trưng cho các dao động hóa trị của các liên kết $-C=O$, $-N=H$, $-C=C-$ và $-C-H$ có trong collagen, chitosan và cao chiết Mán đĩa. Ngoài ra, sự xuất hiện của các peak ở 1078 cm^{-1} , 962 cm^{-1} , và 451 cm^{-1} là các dao động của liên kết Si-O của SiO_2 [27, 28].



Hình 2. Hình SEM của các vật liệu: Coll-Cs-TEOS (A); Coll-Cs-TEOS-MD 0,5 (B)

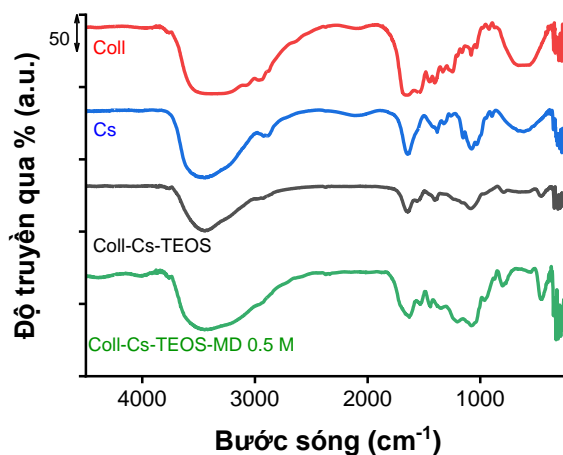


Fig. 3. Hình 3. Phổ hồng ngoại của các mẫu: chitosan, collagen, chitosan/collagen/TEOS và chitosan/collagen/TEOS/MD 0,5

4 Kết luận

Vật liệu composite chitosan/collagen/TEOS kết hợp với cao chiết Mán đĩa cho thấy khả năng chống oxy hóa trong ba mô hình: tổng khả năng chống oxy hóa theo mô hình phospho-molybden, khả năng bắt gốc tự do DPPH, bắt gốc ABTS với giá trị IC₅₀ thấp (IC₅₀ = 43,60 µg/mL và 46,57 µg/mL, tương ứng với khả năng bắt gốc DPPH và ABTS) và hàm lượng các chất chống oxy hóa khá cao: 83,06 ± 0,56 mg GA/g. Hàm lượng tổng các hợp chất phenol và flavonoid trong Coll-Cs-TEOS-MD 0,5 là 36,87 ± 0,18 mg GA/g và 28,12 ± 0,15 mg QE/g. Hình thái của vật liệu được xác

định qua ảnh SEM và các dao động đặc trưng của vật liệu được chỉ ra qua phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT- IR). Vật liệu Coll-Cs-TEOS-MD 0,5 cho thấy khả năng chống oxy hóa tốt và có nhiều tiềm năng ứng dụng trong lĩnh vực dược phẩm và mỹ phẩm.

Lời cảm ơn

Các tác giả cũng ghi nhận sự hỗ trợ từ Đại học Huế trong khuôn khổ Chương trình Nhóm Nghiên cứu tiêu biểu, mã số: NCTB.DHH.2024.09.

Tài liệu tham khảo

- Hua Y, Ma C, Wei T, Zhang L, Shen J. Collagen/chitosan complexes: Preparation, antioxidant activity, tyrosinase inhibition activity, and melanin synthesis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(1):313.
- Roy S, Rhim J-W. Fabrication of chitosan-based functional nanocomposite films: Effect of quercetin-loaded chitosan nanoparticles. *Food Hydrocolloids*. 2021;121:107065.
- Sareethammanuwat M, Boonyuen S, Arpornmaeklong P. Effects of beta-tricalcium phosphate nanoparticles on the properties of a thermosensitive chitosan/collagen hydrogel and controlled release of quercetin. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2021;109(7):1147-59.
- Kaparekar PS, Pathmanapan S, Anandasadagopan SK. Polymeric scaffold of Gallic acid loaded chitosan nanoparticles infused with collagen-fibrin for wound dressing application. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;165:930-47.
- Chuysinuan P, Thanyacharoen T, Thongchai K, Techasakul S, Ummartyotin S. Preparation of chitosan/hydrolyzed collagen/hyaluronic acid based hydrogel composite with caffeic acid addition. *International journal of biological macromolecules*. 2020;162:1937-43.
- Jangde R, Srivastava S, Singh MR, Singh D. In vitro and In vivo characterization of quercetin loaded multiphase hydrogel for wound healing application. *International journal of biological macromolecules*. 2018;115:1211-7.
- Sionkowska A, Kaczmarek B, Lewandowska K. Modification of collagen and chitosan mixtures by the addition of tannic acid. *Journal of Molecular Liquids*. 2014;199:318-23.
- Abd El-Hack ME, El-Saadony MT, Shafi ME, Zabermawi NM, Arif M, Batiha GE, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;164:2726-44.
- Nurilmala M, Hizbullaha HH, Karnia E, Kusumaningtyas E, Ochiai Y. Characterization and antioxidant activity of collagen, gelatin, and the derived peptides from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin. *Marine drugs*. 2020;18(2):98.
- Bhagwat PK, Dandge PB. Collagen and collagenolytic proteases: A review. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*. 2018;15:43-55.
- Gomathi K, Gopinath D, Ahmed MR, Jayakumar R. Quercetin incorporated collagen matrices for dermal wound healing processes in rat. *Biomaterials*. 2003;24(16):2767-72.
- Chattopadhyay S, Raines RT. Collagen-based biomaterials for wound healing. *Biopolymers*. 2014;101(8):821-33.
- Duong NT, Vinh PD, Thuong PT, Hoai NT, Bach TT, Nam NH, et al. Xanthine oxidase inhibitors from *Archidendron clypearia* (Jack.) IC Nielsen: Results from systematic screening of Vietnamese medicinal plants. *Asian Pacific journal of tropical medicine*. 2017;10(6):549-56.
- Lian WH, Sun TX, Meng X, Sun R, Hui F, Jiang Yn, et al. Overexpression of the *Panax ginseng* MYB4 gene enhances stress tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*. 2021;65(1):27-38.
- Wang Y-X, Han F-Y, Duan Z-K, Chang Y, Lin B, Wang X-B, et al. Phenolics from *Archidendron clypearia* (Jack) IC Nielsen protect SH-SY5Y cells against H₂O₂-induced oxidative stress. *Phytochemistry*. 2020;176:112414.
- Yang WS, Jeong D, Nam G, Yi Y-S, Yoon DH, Kim TW, et al. AP-1 pathway-targeted inhibition of inflammatory responses in LPS-treated macrophages and EtOH/HCl-treated stomach by *Archidendron clypearia* methanol extract. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013;146(2):637-44.
- Nair VD, Panneerselvam R, Gopi R. Studies on methanolic extract of *Rauvolfia* species from Southern Western Ghats of India-In vitro antioxidant properties, characterisation of nutrients and phytochemicals. *Industrial Crops and Products*. 2012;39:17-25.
- Megala J, Geetha A. Free radical-scavenging and H⁺, K⁺-ATPase inhibition activities of *Pithecellobium dulce*. *Food chemistry*. 2010;121(4):1120-8.
- Jayaprakasha G, Selvi T, Sakariah K. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food research international*. 2003;36(2):117-22.

20. Wong SP, Leong LP, Koh JHW. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food chemistry*. 2006;99(4):775-83.
21. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*. 1999;26(9-10):1231-7.
22. Gan R-Y, Xu X-R, Song F-L, Kuang L, Li H-B. Antioxidant activity and total phenolic content of medicinal plants associated with prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2010;4(22):2438-44.
23. Ribarova F, Atanassova M, Marinova D, Ribarova F, Atanassova M. Total phenolics and flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *JU Chem Metal*. 2005;40(3):255-60.
24. Thongchai K, Chuysinuan P, Thanyacharoen T, Techasakul S, Ummartyotin S. Characterization, release, and antioxidant activity of caffeic acid-loaded collagen and chitosan hydrogel composites. *Journal of Materials Research and Technology*. 2020;9(3):6512-20.
25. Kaczmarek B, Mazur O. Collagen-based materials modified by phenolic acids—A review. *Materials*. 2020;13(16):3641.
26. Zheng T, Tang P, Li G. Development of composite film based on collagen and phenolic acid-grafted chitosan for food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023;241:124494.
27. Lee B-S, Lin H-P, Chan JC-C, Wang W-C, Hung P-H, Tsai Y-H, et al. A novel sol-gel-derived calcium silicate cement with short setting time for application in endodontic repair of perforations. *International Journal of Nanomedicine*. 2018:261-71.
28. Le TH, Nguyen THC, Tran TVT, Le LS, Ho XAV, Tran TM, et al. Quercetin-incorporated collagen/chitosan/SiO₂ composite toward the robust antioxidant biomaterials. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 2023:1-8.