

ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH ỨNG ỨNG TYROSINASE, CHỐNG OXY HÓA IN VITRO VÀ TÁC DỤNG KHÁNG VIÊM IN VIVO CỦA CHẾ PHẨM GEL DÙNG NGOÀI TỪ CAO DIỄP CÁ (*HOULTUYNIA CORDATA*)

Nguyễn Công Minh¹, Trần Lê Tuyết Châu², Huỳnh Ngọc Trinh²

ABSTRACT

Đặt vấn đề: Trong những năm gần đây, Diệp cá thường được dùng ngoài da để điều trị viêm da, mụn trứng cá, bảo vệ da khỏi bức xạ tia cực tím.

Mục tiêu: Đề tài nhằm khảo sát hoạt tính ức chế tyrosinase, chống oxy hóa và tác dụng kháng viêm của gel dùng ngoài từ cao toàn phần Diệp cá.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Cao toàn phần Diệp cá, hệ vận chuyển thuốc dạng vi tự nhũ (self-microemulsifying drug delivery system - SMEDDS) chứa cao Diệp cá và gel dùng ngoài từ hệ SMEDDS do bộ môn Hóa lý, Khoa Dược, ĐHYD TP. HCM điều chế. Tác động ức chế tyrosinase in vitro được tiến hành qua phản ứng với L-DOPA, từ đó xác định IC_{50} của chế phẩm gel và so sánh với acid kojic. Khả năng chống oxy hóa đánh giá qua khả năng đánh bắt DPPH so với quercetin. Hoạt tính kháng viêm được khảo sát trên mô hình gây phù tai chuột nhắt bằng dầu Ba đậu và đối chứng với kem clobetasol 0,05%.

Kết quả: Gel dùng ngoài Diệp cá có hoạt tính ức chế tyrosinase rõ với IC_{50} là 3,12 mg/mL, tương ứng với nồng độ cao Diệp cá là 0,91 mg/mL so với acid kojic là 0,16 mg/mL. Gel này cũng thể hiện khả năng chống oxy hóa (IC_{50} = 187,59 μ g/mL) nhưng kém hơn so với quercetin (IC_{50} = 3,21 μ g/mL). Tác dụng kháng viêm của gel Diệp cá thể hiện rõ rệt qua hiệu quả làm giảm độ sưng phù tai chuột. Tác động này khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nhóm điều trị bằng clobetasol về mức độ giảm viêm ($p > 0,05$).

Kết luận: Gel dùng ngoài Diệp cá có tác động ức chế tyrosinase, chống oxy hóa và kháng viêm, trong đó, tác dụng kháng viêm in vivo thể hiện rõ nhất và tương đương với clobetasol.

Từ khóa: *Houttuynia cordata*, SMEDDS, tyrosinase, DPPH, dầu ba đậu

ABSTRACT

EVALUATION OF IN VITRO TYROSINASE INHIBITION, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND IN VIVO ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF TOPICAL GEL CONTAINING HOULTUYNIA CORDATA EXTRACT

Nguyen Cong Minh, Tran Le Tuyet Chau, Huynh Ngoc Trinh

* Ho Chi Minh City Journal of Medicine * Vol. 25 - No. 6 - 2021: 55 - 61

Introduction: In recent years, *Houttuynia cordata* is often used topically to treat dermatitis, acne and protect the skin from ultraviolet radiation.

Objectives: This work aimed at investigating the tyrosinase inhibitory and antioxidant activity and anti-inflammatory effects of topical gel containing *H. cordata* extract.

Materials and methods: Total extract of *H. cordata*, self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) containing total extract and the topical gel from the SMEDDS prepared by Department of Physical Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City. In vitro inhibitory activity of tyrosinase was performed through the reaction with L-DOPA; the IC_{50} of the topical gel was then determined and compared to that of kojic acid. Antioxidant capacity was assessed by DPPH scavenging effect in

¹Khoa Y, Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh

²Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Tác giả liên lạc: PGS.TS.DS. Huỳnh Ngọc Trinh

ĐT: 0907733259

Email: hntrinh@ump.edu.vn

comparison with quercetin. Anti-inflammatory effect was investigated in croton oil-induced ear edema model and compared with that of 0.05% clobetasol cream.

Results: Topical gel of *H. cordata* clearly showed tyrosinase inhibitory activity with IC_{50} of 3.12 mg/mL, which was equivalent to the concentration of *H. cordata* extract of 0.91 mg/mL compared to kojic acid of 0.16 mg/mL. This gel product also exhibited the DPPH free radical scavenging effect ($IC_{50} = 187.59 \mu\text{g/mL}$), but less than that of quercetin (3.21 $\mu\text{g/mL}$). The anti-inflammatory effect of *H. cordata* gel was evident by its effectiveness in reducing the mouse ear edema. This effect was not significantly different from that of clobetasol-treated group in terms of inflammation reduction ($p > 0.05$).

Conclusion: *H. cordata* gel exhibits tyrosinase inhibitory and antioxidant activity and anti-inflammatory effect, among which, the *in vivo* anti-inflammatory effect is most evident and is equivalent to 0.05% clobetasol cream.

Key words: *Houttuynia cordata*, SMEDDS, tyrosinase, DPPH, croton oil

ĐẶT VẤN ĐỀ

Diếp cá (*Houttuynia cordata* Thunb., thuộc họ Lá Giấp *Saururaceae*) thường được dùng làm rau ăn do mùi thơm dễ chịu cũng như dùng làm thuốc trong một số bài thuốc y học cổ truyền để điều trị trĩ, giảm sưng viêm, tiêu chảy do tả, lỵ, viêm ruột⁽¹⁾... Trong những năm gần đây, Diếp cá thường được dùng ngoài da để điều trị mụn trứng cá, mụn nhọt, viêm da, bảo vệ da khỏi bức xạ tia cực tím⁽²⁾... Một số thành phần hóa thực vật có trong Diếp cá đã được chứng minh tác dụng kháng viêm và chống oxy hóa như các hợp chất polyphenol (quercitrin, quercetin và hyperosid) và dầu dễ bay hơi (2-undecan, acid n-decanoic, 1-octadecanol và phytol)⁽³⁾. Tuy nhiên, phần lớn các cao chiết từ dược liệu thường có thành phần kém phân cực, khả năng hòa tan kém và phân bố kém, dẫn đến giảm hấp thu, giảm sinh khả dụng nên làm giảm hiệu quả điều trị. Do đó, các cao chiết từ dược liệu thường được phối hợp với các tá dược khác nhau để điều chế thành các dạng dùng ngoài thích hợp⁽⁴⁾.

Công nghệ nano hiện được ứng dụng và phát triển trong lĩnh vực dược nhằm khắc phục một số nhược điểm của các hoạt chất/các thuốc truyền thống như cải thiện sinh khả dụng, phóng thích hoạt chất có kiểm soát, vận chuyển thuốc đến đích tác động... Hệ SMEDDS là hệ thống vận chuyển thuốc dạng vi tự nhũ (Self-MicroEmulsifying Drug Delivery System) hay còn gọi là hệ vi tự nhũ. Đây là hệ vi nhũ tương

chứa hỗn hợp đẳng hướng của lipid, chất diện hoạt, chất đồng diện hoạt và trong nhiều trường hợp còn chứa cả đồng dung môi⁽⁵⁾. Hệ SMEDDS có nhiệt động lực học ổn định, giúp tăng cường khả năng hòa tan hoạt chất, dễ dàng tạo thành một hệ phân tán đồng nhất khi pha loãng, giúp các hoạt chất kém tan sẽ được hòa tan và tăng sinh khả dụng⁽⁶⁾.

Nghiên cứu này nhằm đánh giá tác động ức chế sự hình thành melanin thông qua ức chế enzym tyrosinase kết hợp với tác động chống oxy hóa trên *in vitro* và tác dụng kháng viêm *in vivo* của các chế phẩm chứa cao toàn phần Diếp cá.

ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các chế phẩm chứa cao Diếp cá

Cao toàn phần ethanol 70% từ bột lá Diếp cá (cao DC), hệ SMEDDS chứa 45% (w/w) cao toàn phần Diếp cá (DC-SMEEDS) và gel dùng ngoài điều chế từ DC-SMEEDS chứa 30% (w/w) cao toàn phần Diếp cá (DC-Gel) do bộ môn Hóa lý điều chế và đạt các chỉ tiêu kiểm nghiệm theo tiêu chuẩn cơ sở.

Cao DC màu nâu sẫm, thể chất mềm và mùi thơm đặc trưng. Cao DC cho phản ứng cyanidin dương tính rõ (dung dịch chuyển màu đỏ); hàm lượng quercitrin là $1,716 \pm 0,022 \text{ mg/g}$ cao. Cao DC (45 g) được phối hợp dầu mè, tween 80 và glycerol cho đủ 100 g để điều chế hệ phân tán nano DC-SMEEDS có kích thước tiểu phân đạt $184,9 \pm 1,72 \text{ nm}$, thế zeta $-32,77 \pm 1,21 \text{ mV}$. Hệ DC-SMEEDS sau đó được phối hợp với hệ gel alginat

theo tỉ lệ 2 : 1 thu được sản phẩm DC-Gel có thể chất đồng nhất, mùi thơm đặc trưng, hàm lượng quercitrin tương ứng là $2,235 \pm 0,189$ mg/g cao.

Hóa chất và trang thiết bị

Enzym tyrosinase (*Agaricus bisporus* mushroom), L - DOPA (3,4-dihydroxy-L-phenylalanine), acid kojic, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), quercetin, dầu ba đậu (Croton oil) mua từ Sigma-Aldrich, Đức; Kem Clobetasol 0,05% (w/w) (Eumovate®) của GlaxoSmithKline; các hóa chất $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ và dung môi acetone, methanol của Trung Quốc.

Các thiết bị bao gồm: Máy đo quang ELISA iMark™ Microplate Absorbance Reader, máy quang phổ UV - Vis SP 8001, đĩa 96 giếng, thước kẹp điện tử 110-WR Series.

Động vật thử nghiệm

Chuột nhắt trắng *Swiss* khỏe mạnh, giống đực, cân nặng khoảng 25-30 g, được mua từ Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh. Chuột được nuôi bằng thức ăn viên do Viện cung cấp và cho uống nước đầy đủ. Trước khi làm thí nghiệm, chuột được nuôi ổn định từ 3-4 ngày ở nhiệt độ phòng. Các thử nghiệm trên chuột đã được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học cấp cơ sở Khoa Y – Đại học Quốc Gia TP. HCM phê duyệt theo quyết định số 02/QĐ-IRB-VN01.017 ngày 21/02/2021.

Khảo sát tác động ức chế tyrosinase *in vitro*

Cao DC, DC- SMEDDS, DC-Gel được hòa tan trong đệm natri phosphat pH 6,5 ở nồng độ tối đa có thể hòa tan là 6 mg/ml. Lần lượt cho vào các giếng của đĩa 96 giếng các thành phần phản ứng⁽⁷⁾ (Bảng 1).

Bảng 1. Thành phần phản ứng trong thử nghiệm sàng lọc hoạt tính ức chế tyrosinase

	Chứng (BE)	Trắng chứng (B)	Thử (CE)	Trắng thử (C)
Đệm phosphat pH 6,5 (μL)	90	120	80	110
Mẫu thử (μL)	-	-	10	10
Tyrosinase 100 U/ml (μL)	30	-	30	-
Ủ 5 phút ở 25 °C				
L-DOPA 10 mM (μL)	80	80	80	80

Sản phẩm sau phản ứng đo động học ở bước sóng 490 nm mỗi 10 giây trong 10 phút và tính vận tốc phản ứng của các mẫu, được tính bằng mức độ thay đổi độ hấp thụ (ΔAbs) của mẫu đo ở giai đoạn tuyến tính trong một đơn vị thời gian (phút). Ngoài ra thử nghiệm cũng thực hiện trên hệ nền SMEDDS và Gel đồng lượng so với chế phẩm DC- SMEDDS, DC-Gel; mỗi mẫu thử được lặp lại 3 lần.

Xác định phần trăm ức chế tyrosinase I (%) theo công thức:

$$I (\%) = \left(1 - \frac{v_{CE} - v_C}{v_{BE} - v_B} \right) \times 100$$

Trong đó: v_{BE} : vận tốc phản ứng của mẫu chứng; v_B : vận tốc phản ứng của mẫu trắng chứng; v_{CE} : vận tốc phản ứng của mẫu thử; v_C : vận tốc phản ứng của mẫu trắng thử.

Dựa vào kết quả sàng lọc tác động ức chế tyrosinase, tiến hành xác định IC_{50} (là nồng độ ức chế 50% hoạt tính của tyrosinase) của chế phẩm tiềm năng nhất. Chế phẩm được pha trong đệm natri phosphat pH 6,5 thành dãy nồng độ và xác định % ức chế tyrosinase ở từng nồng độ (C) theo tỷ lệ các thành phần phản ứng ở Bảng 1. Thiết lập phương trình hồi quy tuyến tính mô tả sự liên quan giữa $\log C$ với phần trăm ức chế tyrosinase; Từ đó suy ra giá trị IC_{50} của chế phẩm tiềm năng nhất và so sánh với chất đối chứng là acid kojic.

Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa *in vitro*

Chế phẩm thử được pha trong methanol thành dãy các nồng độ khác nhau và cho phản ứng với đồng lượng dung dịch DPPH 0,08 mg/ml (0,5 mL) trong eppendorf. Lắc đều hỗn hợp phản ứng, để yên trong tối ở nhiệt độ phòng trong thời gian 30 phút. Sau đó cho mẫu vào cuvet, đo độ hấp thụ (Abs) của hỗn hợp phản ứng bằng máy UV - Vis ở bước sóng 515 nm⁽⁸⁾. Mỗi mẫu thử được lặp lại 3 lần. Hoạt tính chống oxy hóa được đánh giá qua phần trăm đánh bắt gốc tự do DPPH và được tính theo công thức:

$$\% \text{Bắt giữ} = \left(1 - \frac{\text{Abs}_{CE} - \text{Abs}_C}{\text{Abs}_{BE} - \text{Abs}_B} \right) \times 100$$

Trong đó: Abs_{BE}: độ hấp thu của mẫu chứng;
Abs_B: độ hấp thu của mẫu trắng chứng; Abs_{CE}:
độ hấp thu của mẫu thử; Abs_C: độ hấp thu của
mẫu trắng thử

Thiết lập phương trình hồi qui tuyến tính mô
tả sự liên quan giữa nồng độ (logC) và phần trăm
đánh bắt DPPH từ đó suy ra giá trị IC₅₀ của các
chất khảo sát và so với chất đối chứng là quercetin.

Khảo sát hoạt tính kháng viêm da *in vivo*

Chọn ngẫu nhiên 7 tai chuột (tai trái hoặc tai
phải) ở mỗi nhóm. Ở nhóm bệnh, tai chuột chỉ
bôi 10 µL dung dịch dầu ba đậu 1 % (pha trong
acetone) vào hai mặt của tai chuột trong khi nhóm
sinh lý chỉ bôi acetone. Các nhóm điều trị được
bôi 10 µL dung dịch cao DC pha trong cồn 70 %
ở nồng độ 0,6 g/mL (tương ứng 6 mg cao DC)
hoặc 20 mg chế phẩm DC-gel (chứa 6 mg cao
Diếp cá) hay kem clobetasol 0,05 % (Eumovate);
30 phút sau, tiến hành bôi dung dịch dầu ba đậu
vào hai mặt của tai chuột.

Đo độ dày của tai chuột bằng thước kẹp tại
trước khi bắt đầu thử nghiệm và ở thời điểm 6 giờ
sau khi bôi dầu ba đậu⁽⁹⁾. Sau đó, gây ngạt chuột
bằng đá CO₂. Dùng dụng cụ đục lỗ đường kính 8
mm, đặt cung của đường tròn vào ngay tại đỉnh
tai chuột và nhấn dụng cụ xuyên qua tai thu được
những mảnh tai có kích thước như nhau. Cân
từng mảnh tai chuột trên cân phân tích.

Mức độ viêm tai chuột được tính bằng mức
độ gia tăng độ dày hay khối lượng tai chuột ở
nhóm bệnh và các nhóm điều trị so với nhóm
sinh lý; từ đó tính mức độ giảm viêm I (%) của
các lô điều trị theo công thức sau:

$$I(\%) = \frac{X_c - X_t}{X_c} \times 100$$

Trong đó: X_c: mức độ viêm của tai chứng
bệnh theo độ dày hay khối lượng tai chuột; X_t:
mức độ viêm của tai điều trị theo độ dày hay
khối lượng tai chuột.

Phân tích số liệu

Các số liệu thu được trình bày dưới dạng:
Trung bình ± Độ lệch chuẩn. Số liệu được xử lý
bằng phần mềm Minitab 17.1.0. Sự khác biệt

giữa các nhóm thử nghiệm có ý nghĩa thống kê
khi p < 0,05 với độ tin cậy 95%.

KẾT QUẢ

Hoạt tính ức chế tyrosinase *in vitro*

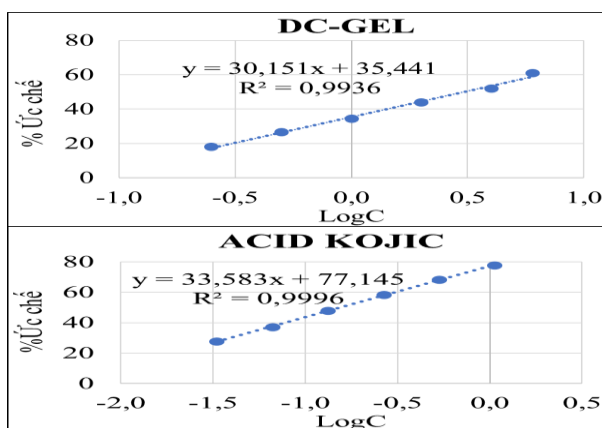
Kết quả sàng lọc hoạt tính ức chế enzym
tyrosinase của các chế phẩm Diếp cá tại nồng độ
tối đa hòa tan trong đệm natri phosphat được
trình bày trong Bảng 2.

Hệ nền SMEDDs và Gel ức chế dưới 1% hoạt
tính tyrosinase nên không ảnh hưởng đến tác
động của các chế phẩm DC-SMEDDs và DC-Gel.
Với cùng nồng độ 6 mg/mL, các chế phẩm từ cao
Diếp cá đều thể hiện hoạt tính ức chế tyrosinase.
Cao DC thể hiện hoạt tính thấp nhất và dưới 50%
(44,29% ± 7,95); tác động này được cải thiện rõ ở
chế phẩm DC-SMEDDs và DC-Gel, trong đó DC-
Gel có hiệu lực mạnh nhất với % ức chế tyrosinase
cao nhất (60,95 ± 2,51). Do đó, chúng tôi chọn chế
phẩm DC-Gel để xác định nồng độ IC₅₀.

Bảng 2. Sàng lọc hoạt tính ức chế tyrosinase của chế
phẩm từ cao Diếp cá và các hệ nền

	% ức chế enzym (%)
Cao DC	44,29 ± 7,95
DC-SMEDDs	56,15 ± 4,08
DC-Gel	60,95 ± 2,51
SMEDDs	0,67 ± 0,01
Gel	0,83 ± 0,01

Đồ thị tương quan giữa logarit nồng độ và
phần trăm ức chế tyrosinase tương ứng của chế
phẩm DC-Gel và chất đối chứng acid kojic được
trình bày ở Hình 1.



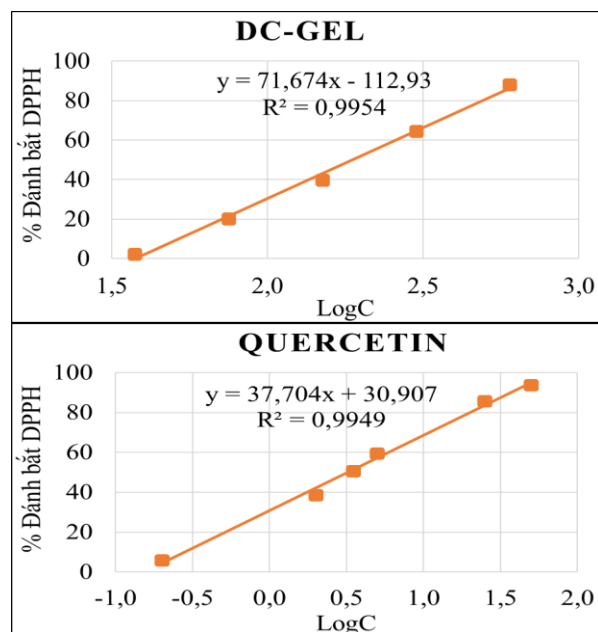
Hình 1. Đồ thị tương quan giữa logC và phần trăm
ức chế tyrosinase của DC-Gel và acid kojic

Hình 1 cho thấy tác động ức chế tyrosinase của DC-Gel và acid kojic tăng dần theo nồng độ trong khoảng nồng độ từ 0,25 đến 6,00 mg/mL đối với DC-Gel và nồng độ từ 0,033 đến 1,065 mg/ml đối với acid kojic. Từ phương trình tuyến tính thu được (Hình 1), giá trị IC_{50} của DC-Gel tương ứng là 3,04 mg/mL tương đương nồng độ cao Diệp cá là 0,91 mg/mL trong khi IC_{50} của acid kojic là 0,16 mg/mL.

Hoạt tính chống oxy hóa *in vitro*

Đồ thị biểu diễn phần trăm đánh bắt DPPH của DC-Gel ở nồng độ từ 37,5 μ g/mL đến 600 μ g/mL và phương trình hồi quy tuyến tính thu được được trình bày ở Hình 2.

Từ các phương trình tuyến tính thu được, giá trị IC_{50} của DC-Gel tính ra được là 187,59 μ g/mL, tương ứng với nồng độ cao Diệp cá trong chế phẩm là 56,28 μ g/ml. Nồng độ IC_{50} của quercetin là 3,21 μ g/ml. Như vậy, mặc dù gel Diệp cá thể hiện hoạt tính chống oxy hóa khá rõ thông qua khả năng đánh bắt gốc tự do DPPH nhưng hoạt tính này vẫn còn kém hơn so với quercetin. Giá trị IC_{50} của chế phẩm DC-Gel gấp 58,44 lần so với quercetin hay gấp 17,53 lần nếu quy đổi sang nồng độ cao có trong chế phẩm.



Hình 2. Đồ thị tương quan giữa logC và phần trăm đánh bắt DPPH của DC-Gel và quercetin

Tác động kháng viêm *da in vivo*

Khối lượng và độ dày tai của các nhóm chuột thử nghiệm được trình bày theo Bảng 3.

Bảng 3. Khối lượng và độ dày tai chuột của các nhóm thử nghiệm

Nhóm chuột	Độ dày (mm)		Khối lượng (mg)
	Ban đầu	6 giờ	6 giờ
Sinh lý	0,17 ± 0,005	0,17 ± 0,005	17,71 ± 4,75
Bệnh	0,17 ± 0,005	0,37 ± 0,016 (*)	30,76 ± 6,12 (*)
Clobetasol	0,17 ± 0,005	0,20 ± 0,005 (#)	19,37 ± 5,19 (#)
DC-Gel	0,16 ± 0,005	0,20 ± 0,008 (#)	19,53 ± 5,56 (#)
Cao DC	0,17 ± 0,005	0,23 ± 0,008 (#)	21,21 ± 5,38 (#)

(*) $p < 0,05$ so với nhóm sinh lý; (#) $p < 0,05$ so với nhóm bệnh

Ở thời điểm ban đầu, độ dày tai chuột giữa các nhóm không khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Sau 6 giờ, độ dày tai chuột ở nhóm sinh lý không thay đổi. Trong khi đó, độ dày và khối lượng tai chuột nhóm bệnh tăng rõ rệt (Bảng 3) với mức độ viêm tai của nhóm bệnh tương ứng $122,4 \pm 11\%$ theo bề dày và $78,9 \pm 28\%$ theo khối lượng. Điều trị với kem clobetasol 0,05% làm mức độ viêm giảm xuống còn $17,2 \pm 5\%$ theo bề dày và $9,9 \pm 12\%$ theo khối lượng tai chuột. Nhóm điều trị với cao DC và DC-Gel có mức độ viêm lần lượt là $37,8 \pm 8\%$ và $19,6 \pm 3\%$ theo bề dày; $19,9 \pm 11\%$ và $10,0 \pm 9\%$ theo khối lượng tai chuột.

Kết quả mức độ giảm viêm trên tai chuột theo độ dày và khối lượng tai chuột của các nhóm điều trị so với nhóm bệnh được trình bày ở Bảng 4. Theo đó, mức độ giảm viêm của cao DC kém hơn so với DC-Gel và clobetasol và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,000$). Ngoài ra, mức độ giảm viêm của nhóm DC-Gel xấp xỉ nhóm clobetasol tính theo độ dày hay khối lượng tai chuột và sự khác biệt giữa hai nhóm về mức độ giảm viêm không có ý nghĩa ($p > 0,05$). Như vậy, hiệu quả giảm viêm của DC-Gel thể hiện rõ rệt và tương đương với thuốc đối chứng clobetasol 0,05%.

Bảng 4. Mức độ giảm viêm theo độ dày và khối lượng tai chuột

Nhóm thử nghiệm	Theo độ dày tai (%)	Theo khối lượng tai (%)
Clobetasol	86,1 ± 3	89,2 ± 11
Cao DC	69,2 ± 7 (*)	73,5 ± 10 (*)
DC-Gel	83,9 ± 3	86,7 ± 10

(*) $p < 0,05$ so với nhóm Clobetasol

BÀN LUẬN

Sắc tố melanin được tổng hợp và hình thành thông qua hàng loạt các phản ứng oxy hóa liên quan đến tyrosin cùng với sự xúc tác của enzym tyrosinase nên các chất ức chế tyrosinase thường là mục tiêu của các nghiên cứu hướng đến việc ngăn chặn sự hình thành sắc tố melanin trên da⁽¹⁰⁾. Bên cạnh đó, quá trình hình thành melanin còn tạo ra hydrogen peroxide (H_2O_2) và các gốc oxy hoá hoạt động (Reactive oxygen species-ROS) gây hoạt hóa tyrosinase, từ đó làm tăng quá trình sản xuất melanin⁽¹¹⁾. Vì vậy, các chất đánh bắt ROS hay ức chế sự hình thành ROS có thể làm giảm sự hình thành melanin trên da⁽¹¹⁾. Mặt khác, tăng sắc tố da sau viêm do sản xuất quá mức melanin hoặc sự phân bố sắc tố không đều là một di chứng phổ biến của bệnh viêm da, có xu hướng ảnh hưởng đến những bệnh nhân có da sẫm màu với tần suất và mức độ nghiêm trọng hơn⁽¹²⁾. Do đó, liệu pháp giảm viêm tại chỗ thường có hiệu quả đối với chứng tăng sắc tố sau viêm ở da – biểu bì⁽¹²⁾. Các chất ức chế tyrosinase, chống oxy hóa và chất kháng viêm là các thành phần phổ biến thường được phối hợp trong các mỹ phẩm làm trắng da và điều trị các bệnh lý ngoài da.

Kết quả thử nghiệm sàng lọc tác động ức chế tyrosinase cho thấy cao Diếp cá khi phân tán vào hệ SMEDDS và hoàn thiện thành chế phẩm Gel đã cải thiện đáng kể hoạt tính ức chế tyrosinase. Ngoài ra, cấu trúc của hệ SMEDDS và chế phẩm Gel ổn định, dễ dàng tạo thành một hệ phân tán đồng nhất với kích thước tiểu phân không thay đổi khi pha loãng nên không ảnh hưởng đến các kết quả thử nghiệm *in vitro*⁽⁶⁾. Trong các chế phẩm khảo sát, sản phẩm

DC-Gel có hoạt tính ức chế tyrosinase mạnh nhất. Tuy nhiên, giá trị IC_{50} của DC-Gel vẫn còn cao hơn so với chất đối chứng acid kojic, có thể do cao Diếp cá thử nghiệm là cao toàn phần nên chứa nhiều thành phần với hàm lượng thấp. Chế phẩm DC-Gel cũng thể hiện khả năng chống oxy hóa rõ nhưng IC_{50} còn cao hơn so với quercetin. Với giá trị IC_{50} của DC-Gel là 187,59 $\mu g/mL$, tương ứng với nồng độ cao Diếp cá trong chế phẩm là 56,28 $\mu g/ml$ thì hoạt tính chống oxy hóa của DC-Gel cao hơn so với cao Diếp cá chiết từ bằng methanol với $IC_{50} = 341,5 \pm 17,2 \mu g/mL$ trong nghiên cứu của Nuengchamnong và cộng sự (2009)⁽¹³⁾. Tương tự, ở nồng độ 0,06 mg/mL chế phẩm DC-Gel đánh bắt 88,11 ± 0,09% gốc DPPH trong khi cao chiết nước Diếp cá ở nồng độ 1 mg/mL trong nghiên cứu của Lingmin và cộng sự (2011) đánh bắt được 87,2% DPPH⁽¹⁴⁾.

Bên cạnh đó, chế phẩm DC-Gel cũng thể hiện tác động kháng viêm mạnh hơn so với cao Diếp cá ở cùng nồng độ trên mô hình gây viêm tai chuột bằng dầu ba đậu và khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với thuốc đối chứng chứa clobetasol 0,05% về hiệu quả giảm viêm. Điều này cho thấy khi tạo chế phẩm DC-Gel từ hệ DC-SMEDDS giúp chế phẩm gia tăng tính thẩm qua da và cải thiện sự phóng thích các thành phần hoạt chất có trong cao Diếp cá, từ đó làm tăng hoạt tính kháng viêm. Các cao chiết từ dung môi khác nhau của Diếp cá cũng đã được chứng minh hiệu quả chống viêm trong các mô hình *in vitro* cũng như ở các mô hình *in vivo* trên động vật⁽¹⁵⁾. Các nghiên cứu sâu hơn về tính an toàn của chế phẩm gel từ cao Diếp cá hay thử nghiệm đánh giá hiệu quả làm sáng da, ngăn ngừa quá trình tăng sắc tố trên da do viêm hay do tiếp xúc với tia UV có thể tiến hành trên động vật thử nghiệm để chứng minh rõ ràng hơn các tác dụng có lợi của Diếp cá cho da.

KẾT LUẬN

Chế phẩm DC-Gel từ hệ SMEDDS chứa cao toàn phần Diếp cá có khả năng ức chế enzym tyrosinase và thể hiện đồng thời hoạt

tính chống oxy hóa và tác động kháng viêm da trên chuột thử nghiệm, trong đó, hoạt tính kháng viêm trên da tương đương với thuốc đối chứng clobetasol 0,05%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fu J, Dai L, Lin Z, Lu H (2013). *Houttuynia cordata* Thunb: A Review of Phytochemistry and Pharmacology and Quality Control. *Chinese Medicine*, 4(3):101-123.
2. Korać RR, Khambholja KM (2011). Potential of herbs in skin protection from ultraviolet radiation. *Pharmacognosy Reviews* 5(10):164-73.
3. Kumar M, Prasad SK, Hemalatha S (2014). A current update on the phytopharmacological aspects of *Houttuynia cordata* Thunb. *Pharmacognosy Reviews*, 8(15):22-35.
4. Bent S, Ko R (2004). Commonly used herbal medicines in the United States: A review. *American Journal of Medicine*, 116:478-85.
5. Pattewar S, Kasture S, Pande V, Sharma S (2016). Self microemulsifying drug delivery system: A lipid based drug delivery system. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(8):506-22.
6. Zhang L, Zhang I, Zhang M, Pang Y, Li Z, Zhao A, et al (2015). Self-emulsifying drug delivery system and the applications in herbal drugs. *Drug Delivery*, 22(4):475-86.
7. Nguyễn Thị Hạnh Trúc, Nguyễn Thùy Dương, Võ Thị Diễm, Nguyễn Quốc Thái, Huỳnh Ngọc Trinh. Khảo sát tác động ức chế tyrosinase và chống oxy hóa của các cao chiết từ lá tía tô. *Y Học Thành Phố Hồ Chí Minh*, 24(3):94-99.
8. Huỳnh Ngọc Trinh, Lê Thị Mưu Huỳnh, Phạm Quỳnh Hương, Huỳnh Ngọc Thụy (2019). Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của các cao chiết từ lá tía tô thu hái tại các địa điểm khác nhau. *Dược Học*, 59(517):47-51.
9. Tống Minh Tâm, Đỗ Thị Phương Khanh, Huỳnh Ngọc Trinh (2015). Mô hình viêm tai chuột nhắt trắng bằng dầu ba đậu - Khảo sát tác động kháng viêm của cao chiết từ lá tía tô (*Perilla frutescens* L.). *Dược Học*, 55(476):55-59.
10. Kim YJ, Uyama H (2005). Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 62(15):1707-23.
11. Slominski A, Tobin DJ, Shibahara S, Wortsman J (2004). Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. *Physiological Reviews*, 84(4):1155-228.
12. Davis EC, Callender VD (2010). Postinflammatory hyperpigmentation: A review of the epidemiology, clinical features, and treatment options in skin of color. *Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, 3(7):20-31.
13. Nuengchamnong N, Kritasilp K, Ingkaninan K (2009). Rapid screening and identification of antioxidants in aqueous extracts of *Houttuynia cordata* using LC-ESI-MS coupled with DPPH assay. *Food Chemistry*, 117(4):750-6.
14. Tian L, Zhao Y, Guo C, Yang X. (2011). A comparative study on the antioxidant activities of an acidic polysaccharide and various solvent extracts derived from herbal *Houttuynia cordata*. *Carbohydrate Polymers*, 83(2):537-44.
15. Shingnaisui K, Dey T, Manna P, Kalita J (2018). Therapeutic potentials of *Houttuynia cordata* Thunb. against inflammation and oxidative stress: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 220:35-43.

Ngày nhận bài báo:	23/08/2021
Ngày phản biện nhận xét bài báo:	04/10/2021
Ngày bài báo được đăng:	20/12/2021