

trị cao gấp 2,4 lần động kinh toàn thể nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê  $p > 0,05$ . Điều này có thể do hạn chế trong nghiên cứu chúng tôi là cỡ mẫu nhỏ 101 bệnh nhân và tỉ lệ bệnh nhân động kinh toàn thể chiếm khá thấp với 14 ca, trong đó 11/14 ca đáp ứng tốt và 3/14 ca đáp ứng chưa tốt với điều trị. Bên cạnh đó, nghiên cứu chúng tôi cho thấy đa số bệnh nhân không có tác dụng không mong muốn khi điều trị chiếm 66,3%, triệu chứng đau đầu chiếm tỉ lệ 17,8%, kích thích, cáu gắt chiếm 11,9%, buồn ngủ chiếm 7,9%, chóng mặt chiếm 4% và nôn ói chiếm 3%. Hầu hết các biến cố này là nhẹ, thoáng qua và tự biến mất sau khoảng 4 tuần điều trị.

## V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu trên 101 bệnh nhân động kinh từ 18 tuổi trở lên, điều trị tại Bệnh viện Đa khoa Trà Vinh trong hai năm (2021 – 2022) cho thấy:

- Động kinh lần đầu, có tiền triệu, sùi bọt mép trong cơn, mệt mỏi ngủ thiếp đi sau cơn và động kinh không rõ nguyên nhân là các biểu hiện lâm sàng thường gặp.

- Levetiracetam là thuốc chống động kinh thế hệ mới, sau điều trị 3 tháng có 88,1% bệnh nhân đáp ứng tốt với điều trị. Các tác dụng không mong muốn chủ yếu bao gồm: đau đầu 17,8% cáu gắt 11,9% và buồn ngủ 7,9%. Tuy nhiên các triệu chứng là nhẹ, thoáng qua và tự biến mất sau khoảng 4 tuần.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Lê Quang Cường (2010)**, "The incidence of epilepsy in a rural district of Vietnam: A community-based epidemiologic study", *Epilepsia* 51 (12), pp 2377-83
2. **Dương Huy Hoàng (2009)**, "Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ, lâm sàng động kinh, tình hình quản lý bệnh nhân động kinh tại tỉnh Thái Bình". Luận án Tiến sĩ Y học 2009.
3. **Bùi Thị Liên và cộng sự (2022)**, "Đặc điểm lâm sàng và chất lượng cuộc sống của người bệnh động kinh tại trung tâm Thần Kinh, bệnh viện Bạch Mai năm 2020-2021", *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 510, số 1 năm 2022, trang 56-59.
4. **Mai Nhật Quang và Lê Văn Tuấn (2021)**, "Nghiên cứu một số đặc điểm lâm sàng động kinh tại tỉnh An Giang", *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 509, số 1 năm 2021, trang 323-327.
5. **Andres M (2018)**, "Practice guideline update summary: Efficacy and tolerability of the new antiepileptic drugs I: Treatment of new-onset epilepsy", *Neurology*, 91(2), pp 74-81
6. **Balamurugan E, Aggarwal M, Lamba A, Dang N, Tripathi M (2013)**. "Perceived trigger factors of seizures in persons with epilepsy", *Seizure*, 22(9), pp. 743-747.
7. **Coppola G, Franzoni E, Verrotti A, et al.** Levetiracetam or oxcarbazepine as monotherapy in newly diagnosed benign epilepsy of childhood with centrotemporal spikes (BECTS): an open-label, parallel group trial. *Brain Dev.* 2007;29(5):281-284
8. **Dong Wook Kim et al (2013)**, "Clinical characteristics of patients with treated epilepsy in Korea: A nationwide epidemiologic study", *Epilepsia*, 55(1), pp. 67-75.
9. **Matthew D. Krasowski (2011)**, "Therapeutic Drug Monitoring of Antiepileptic Medications", *Novel Treatment of Epilepsy*, pp 133-154
10. **National Institute for Health and Care Excellence (2020)**, "Epilepsies: diagnosis and management", *NICE guidelines*, pp11-23

## KHẢO SÁT SỰ ỨC CHẾ TỔNG HỢP SẮC TỐ MELANIN TRÊN DÒNG TẾ BÀO U HẮC TỐ B16F10 CỦA CAO CHIẾT VỎ KHÓM (Ananas Comosus (L) Merr.) THU HÁI Ở VÙNG TẮC CẬU, KIÊN GIANG

Nguyễn Thị Thu Hậu<sup>1</sup>, Trần Nhân Dũng<sup>2</sup>, Nguyễn Đức Độ<sup>2</sup>, Nguyễn Minh Chơn<sup>2</sup>,  
Huỳnh Văn Bá<sup>3</sup>, Huỳnh Kim Yên<sup>1</sup>, Vũ Thị Yên<sup>1</sup>, Trần Việt Quyền<sup>1</sup>,  
Trịnh Thị Kim Bình<sup>1</sup>, Trần Nguyễn Chất<sup>1</sup>, Ngô Thị Cẩm Tú<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

<sup>1</sup>Trường Đại học Kiên Giang

<sup>2</sup>Trường Đại học Cần Thơ

<sup>3</sup>Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Thu Hậu

Email: ntthau@vnkgu.edu.vn

Ngày nhận bài: 3.01.2022

Ngày phản biện khoa học: 2.3.2022

Ngày duyệt bài: 11.3.2022

Khóm là loại trái cây có giá trị dinh dưỡng cao. Mục đích khảo sát sự ức chế tổng hợp sắc tố trên dòng tế bào B16F10 của cao chiết methanol vỏ khóm. Sử dụng phương pháp phân tích đặc điểm hình thái kết hợp giải trình tự để định danh mẫu khóm thu hái ở Tắc Cậu, tỉnh Kiên Giang, đánh giá khả năng kháng oxy hóa qua khả năng trung hòa gốc tự do DPPH, khử ion Fe<sup>3+</sup> và phương pháp khử ion Cu<sup>2+</sup>. Khảo sát khả năng ức chế hoạt động của enzym tyrosinase in vitro và sự ức chế hình thành melanin trên dòng tế bào hắc tố B16F10. Kết quả, mẫu khóm thu hái ở Tắc Cậu, tỉnh Kiên Giang có tên khoa học là *Ananas comosus* (L.)

Merr.; khả năng khử DPPH, khử ion  $Fe^{3+}$ , ion  $Cu^{2+}$  của vỏ khóm thông qua chỉ số  $IC_{50}$  lần lượt là: 62,63 $\mu$ g/mL, 97,72 $\mu$ g/mL, 220,95 $\mu$ g/mL; ức chế hoạt động enzym tyrosinase in vitro với  $IC_{50}$  là 73,13 $\mu$ g/mL; ức chế sự sản sinh melanin trên dòng tế bào B16F10 đạt 59,37% ở nồng độ 10 $\mu$ g/mL. Nghiên cứu đã bước đầu cho thấy cao chiết methanol vỏ khóm là nguồn nguyên liệu tiềm năng trong lĩnh vực sản xuất dược liệu và mỹ phẩm.

**Từ khóa:** B16F10, cao chiết, melanin, tyrosinase, vỏ khóm.

## SUMMARY

### INVESTIGATION OF THE INHIBITORY PROCESS MELANIN FORMATION IN B16F10 CELL OF PINEAPPLE PEEL EXTRACT IN B16F10 (Ananas comosus (L.) Merr.) AT TAC CAU, KIEN GIANG PROVINCE

Pineapple is a fruit with high nutritional value. The purpose of this study was to investigate the inhibition of melanin synthesis on the B16F10 cell line of the pineapple peel methanol extract. Using morphological analysis method combined with sequencing to identify pineapple species collected in Tac Cau, Kien Giang province, Evaluation of antioxidant capacity by determining DPPH free radical neutralization,  $Fe^{3+}$  ion reduction and  $Cu^{2+}$  ion reduction. Investigation of the ability to inhibit tyrosinase enzym activity in vitro and inhibit melanin formation on the melanoma cell line B16F10. Result, the pineapple sample collected in Tac Cau, Kien Giang province has the scientific name Ananas comosus (L.) Merr. Ability to reduce DPPH,  $Fe^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$  of pineapple peel through  $IC_{50}$  respectively index are 62.63  $\mu$ g/mL, 97.72  $\mu$ g/mL, 220.95  $\mu$ g/mL; inhibited tyrosinase enzym activity in vitro with an  $IC_{50}$  is 73.13  $\mu$ g/mL; Inhibition of melanin production on the B16F10 cell line reached 59.37% at a concentration of 10  $\mu$ g/mL. The research has initially shown that the methanol extract of pineapple peel is a potential source of raw materials in the field of pharmaceutical and cosmetic production.

**Key word:** B16F10, extraction, melanin, pineapple peel, tyrosinase.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tyrosinase là enzym tham gia chuyển hóa tyrosin thành melanin là nguyên nhân của hàng loạt các loại bệnh như: nám, tàn nhang, bạc tóc, parkinson. Do đó, các chất ức chế tyrosinase được nghiên cứu và nhằm ứng dụng vào lĩnh vực y học và mỹ phẩm. Những hoạt chất ức chế tyrosinase được tổng hợp bằng phương pháp hóa học (hydroquinon, arbutin, glycolic acid, kojic acid, ascorbic acid ...) chưa thật sự an toàn và hiệu quả. Việt Nam cũng như trên thế giới chưa có nhiều nghiên cứu về sử dụng các hợp chất từ thiên nhiên ức chế sự tổng hợp sắc tố melanin ở tế bào của vỏ Khóm.

Tế bào hắc tố người (B16F10) sản sinh melanin tạo nên sắc tố đen ở da, tóc, võng mạc,

tủy xương và chất mang của tế bào thần kinh của một số hạt nhân não sâu. Melanin giúp bảo vệ da (chống lại tia cực tím) đồng thời tạo nên độ sắc nét của thị lực. Tyrosinase (tyrosine hydroxylase; EC 1.14.18.1) là enzym chính, có vai trò oxy hóa L-tyrosine thành 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) và tạo sản phẩm cuối cùng là melanin. Sự gia tăng quá mức melanin gây bệnh nám da, tàn nhang và tăng sắc tố sau viêm.

Khóm có tên khoa học là Ananas comosus (L.) Merr. là loại trái cây có giá trị dinh dưỡng cao. Trong quả Khóm có các hợp chất có tác dụng ức chế hoạt tính của tyrosinase, collagenase, elastase đã được xác định là ferulic acid (FA) và p-coumaric acid (pCA) [1].

Khóm Tắc Cậu thuộc tỉnh Kiên Giang là đặc sản và là cây nằm trong danh sách được bảo tồn gen. Mục đích khảo sát sự ức chế tổng hợp hắc tố trên dòng tế bào B16F10 của cao chiết methanol vỏ khóm nhằm tìm ra nguồn nguyên liệu mới tiềm năng sử dụng trong ngành dược liệu và mỹ phẩm.

Phân tích đặc điểm hình thái kết hợp giải trình gene để định danh mẫu khóm Tắc Cậu, tỉnh Kiên Giang, đánh giá khả năng kháng oxy hóa qua khả năng trung hòa gốc tự do DPPH, khử ion  $Fe^{3+}$  và phương pháp khử ion  $Cu^{2+}$  và khảo sát sự ức chế hình thành melanin trên dòng tế bào hắc tố B16F10 và khả năng ức chế hoạt động của enzym tyrosinase in vitro.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**2.1 Đối tượng nghiên cứu.** Vỏ quả Khóm (Ananas Comosus (L.) Merr) được thu hái ở vùng Cù Lao, Tắc Cậu, Kiên Giang.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1 Phương pháp định danh mẫu thực vật

- Định danh dựa vào đặc điểm hình thái theo Phạm Hoàng Hộ (1993).

- Định danh bằng PCR và giải trình tự gene: trích ly và thực hiện phản ứng PCR thực hiện tại phòng Sinh học phân tử - Viện nghiên cứu & Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ sau đó mẫu được gửi đến phòng thí nghiệm First BASE Laboratories (Malaysia) thực hiện giải trình tự bằng hệ thống máy giải trình tự tự động ABI PRISM.

#### 2.2.2 Phương pháp khảo sát khả năng kháng oxy hóa của cao chiết

- Khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng DPPH  
Thí nghiệm sử dụng DPPH nồng độ 0,1 mM pha trong methanol, sodium acetat buffer (pH = 5,5). Hòa tan cao chiết với nồng độ từ 0,1-0,5

mg/mL, ascorbic acid nồng độ 0,01-0,05 mg/mL, đo độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm. Mẫu đối chứng được thực hiện tương tự nhưng thay thế cao chiết bằng MeOH. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Khả năng ức chế DPPH được tính theo công thức sau:

$$\text{Phần trăm ức chế DPPH} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

A<sub>0</sub>: độ hấp thụ của mẫu đối chứng; A: độ hấp thụ của mẫu thử. Xây dựng đường chuẩn  $y = ax + b$  với phần trăm ức chế DPPH ở các nồng độ khác nhau. Từ đó, tính giá trị IC<sub>50</sub> của ascorbic acid hay cao chiết.

- Khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng năng lực khử Cu<sup>2+</sup>

Thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của Maclean et al., 2019, có hiệu chỉnh [2]. Ascorbic acid có nồng độ từ (150 -400µg/mL) được sử dụng là chất chuẩn để so sánh với các thí nghiệm cao. Đo bước sóng ở độ hấp thụ 450 nm, thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Khả năng khử ion Cu<sup>2+</sup> được tính theo công thức:

$$\text{Khả năng khử Cu}^{2+} (\%) = \frac{A_s - A_0}{A_s} \times 100$$

A<sub>s</sub> là đo độ hấp thụ của mẫu cao hoặc Ascorbic acid; A<sub>0</sub> là độ hấp thụ của mẫu trắng.

- Khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng năng lực khử Fe<sup>3+</sup>

Thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của Andrea et al., 2014, có hiệu chỉnh[3]. Acid ascorbic có nồng độ từ (0,5 – 3,5 µg/mL) được sử dụng là chất chuẩn để so sánh với các thí nghiệm cao. Đo bước sóng ở độ hấp thụ 700 nm, thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Khả năng khử ion Fe<sup>3+</sup> được tính theo công thức:

$$\text{Khả năng khử} (\%) = \frac{A - A_0}{A_0} \times 100$$

A là độ hấp thụ của mẫu cao hoặc Acid ascorbic; A<sub>0</sub> là độ hấp thụ của mẫu trắng.

2.2.3 Phương pháp khảo sát khả năng ức chế tyrosinase in vitro

Thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của Chintong et al., 2019 có hiệu chỉnh [4]. Kojic acid nồng độ từ 2; 4; 6; 8;10 và 12µg/mL. Cao chiết pha trong DMSO đạt nồng độ 2mg/mL, pha loãng trong dung dịch đệm phosphate pH = 6,8 đạt dãy nồng độ 31,25; 62,5; 125; 250; 500µg/mL. Enzym tyrosinase và L-Dopa pha loãng trong dung dịch đệm phosphate pH 6,8 để đạt các nồng độ là 250 U/mL và 1 mg/mL. Tổng thể tích phản ứng là 1mL, trong đó, 25 µL tyrosinase ủ với 200µL cao chiết ở 37°C trong 15 phút, thêm vào 50 µL L-Dopa ủ 37°C trong 15 phút. Đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng

475nm. Khả năng ức chế tyrosinase được tính theo công thức.

$$\% \text{ Ức chế} = \frac{(A - B) - (C - D)}{(A - B)} \times 100$$

A: phản ứng giữa enzym và cơ chất, không có cao chiết;

B: phản ứng chỉ có cơ chất, không có cao chiết và enzym;

C: phản ứng có enzym, cơ chất và cao chiết;

D: phản ứng có cao chiết và cơ chất nhưng không có enzym. Xây dựng đường chuẩn  $y = ax + b$ , xác định giá trị IC<sub>50</sub>.

2.2.4 Phương pháp khảo sát khả năng ức chế sự sản sinh melanin trên dòng tế bào B16F10

Thí nghiệm được thực hiện theo Mo and Oh, 2014 có hiệu chỉnh [5]. Tế bào B16F10 được nuôi trong đĩa 6 giếng với nồng độ 1x10<sup>5</sup> tế bào/mL ủ với cao chiết ở các nồng độ khác nhau với sự có mặt của α-MSH (10 nM) trong 48 giờ. Sau 2 ngày ủ mẫu ở điều kiện 37°C và 5% CO<sub>2</sub>, tế bào được thu hoạch và rửa lại bằng PBS. Cặn tế bào sau đó được hòa trong dung dịch NaOH 1N có chứa 10% DMSO và ủ ở nhiệt độ 80°C trong 1 giờ. Đo giá trị OD ở bước sóng 405/450 nm. Khả năng ức chế sinh melanin của các mẫu nghiên cứu được so sánh với đối chứng âm không ủ mẫu theo công thức:

$\% \text{ Ức chế sinh melanin} = 100\% - ((OD_{\text{mẫu}} - OD_{-\alpha\text{MSH}}) / (OD_{+\alpha\text{MSH}} - OD_{-\alpha\text{MSH}})) \times 100$ .

**2.3. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu.** Kết quả thực nghiệm được nhập số liệu bằng Microsoft Excel và phân tích bằng phần mềm Minitab 1.6 để phân tích phương sai ANOVA, hệ số biến động (CV) và so sánh trung bình các thí nghiệm bằng kiểm định Tukey (0,05%).

### III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

#### 3.1 Kết quả định danh mẫu thực vật

- Định danh bằng so sánh đặc điểm hình thái: Đối tượng nghiên cứu là cây khóm ở Kiên Giang, mẫu được Nguyễn Văn Phước, Bộ môn Khoa học cây trồng của trường Đại học Kiên Giang định danh dựa vào đặc điểm hình thái theo Phạm Hoàng Hộ, (1993) và theo hệ thống phân loại cây cỏ Việt nam, xác định đối tượng nghiên cứu thuộc giống khóm Queen, thuộc loài Ananas Comosus.

- Định danh bằng giải trình tự gen: Kết quả so sánh trình tự ITS của mẫu khóm sử dụng trong nghiên cứu này cho thấy độ tương đồng từ 99,07 - 100% với trình tự ITS của cây Ananas comosus với mã gen là HM104185.1, XM\_020251500, HM768296.1 (phụ lục). Kết quả

còn cho thấy sự tương đồng của trình tự ITS mẫu khóm với các cây cùng họ hàng.

Kết quả còn cho thấy sự tương đồng của trình tự ITS mẫu khóm với một số cây cùng họ hàng khác. Cụ thể, trình tự này tương đồng với cây *Guzmania hybrid* với độ tương đồng 98,56%, cây *Elaeis guineensis* với độ tương đồng 98,20%, cây *Cocos nucifera* với độ tương đồng 85,20%.

Theo đặc điểm hình thái và phân bố của các loài trong chi *Ananas* đã được công bố trên ngân hàng dữ liệu NCBI thì khóm có đặc điểm giống với mẫu cây khóm Tắc Cậu đang nghiên cứu. Kết hợp giữa giải trình tự gen ITS và đặc điểm hình thái được mô tả trong quyển "Cây cỏ Việt Nam" của tác giả Phạm Hoàng Hộ, 2003, có thể khẳng định mẫu khóm đang nghiên cứu là loài *Ananas comosus* (L.) Merr.

**3.2 Kết quả khảo sát khả năng kháng oxy hóa.** Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết được thể hiện bằng hoạt tính khử DPPH, hoạt tính khử  $Fe^{3+}$ , hoạt tính khử  $Cu^{2+}$  và qua giá trị  $IC_{50}$  (Bảng 1). Giá trị  $IC_{50}$  được xác định qua phương trình đường chuẩn phần trăm ức chế của vitamin C và của cao chiết.

**Bảng 1: Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết methanol vỏ khóm Tắc Cậu Kiên Giang**

Cao methanol vỏ khóm	Giá trị $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	Khử DPPH(*)	Khử $Fe^{3+}$ (*)	Khử $Cu^{2+}$ (*)
V_MTC	62,63 $\pm$ 4,66 <sup>c</sup>	97,72 $\pm$ 0,42 <sup>b</sup>	220,95 $\pm$ 8,21 <sup>a</sup>
Acid ascorbic	84,07 $\pm$ 2,12	7,95 $\pm$ 0,34	260,33 $\pm$ 10,58

**Ghi chú:** Giá trị  $IC_{50}$  là giá trị trung bình của ba lần lặp lại. Trong cùng một cột, các giá trị có ít nhất 1 chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% (\*) qua kiểm định Tukey. Đối chứng vitamin C.

Gốc tự do gồm nhiều gốc khác nhau (oxy đơn, superoxide anion, hydroxyl, alkoxyl, peroxy, hydro peroxide, lipid hydroperoxide ...) là những phân tử hoặc nguyên tử có điện tử độc thân dẫn đến gốc tự do có khả năng oxy hóa rất cao. Mỗi phương pháp thử hoạt tính kháng oxy hóa chỉ có thể trung hòa một hoặc một vài gốc tự do sản sinh ra trong cơ thể sinh vật. Trong cấu trúc của enzym tyrosinase thì trung tâm hoạt động có sự hiện diện của hai ion  $Cu^{2+}$ . Do đó, lựa chọn ba phương pháp thử hoạt tính kháng oxy hóa gồm hoạt tính khử DPPH, khử ion  $Cu^{2+}$  và phương pháp khử ion  $Fe^{3+}$ .

Kết quả nghiên cứu cho thấy, các phương pháp thử hoạt tính kháng oxy hóa khác nhau thì

cho kết quả kháng oxy hóa không giống nhau. Khả năng khử gốc tự do DPPH của cao methanol vỏ khóm cao hơn khả năng khử ion  $Fe^{3+}$  và khử ion  $Cu^{2+}$ . Chỉ số  $IC_{50}$  của cao chiết methanol vỏ khóm (62,63  $\mu\text{g/mL}$ ) cao hơn mẫu đối chứng là Ascorbic acid (84,07  $\mu\text{g/mL}$ ) và cũng cao hơn kết quả nghiên cứu của Putri et al., 2018 [6] trên vỏ khóm (*Ananas comosus*) trồng tại Myanma (khử DPPH với giá trị  $IC_{50}$  là 266,02  $\mu\text{g/mL}$ ).

### 3.3 Kết quả ức chế tyrosinase in vitro.

Enzym tyrosinase, được tìm thấy trong nhiều loài sinh vật xúc tác quá trình sinh tổng hợp melanin từ acid amin tyrosin. Melanin là một hợp chất phenolic thuộc nhóm polyphenol tham gia thành phần cấu trúc sắc tố mang tế bào thần kinh của một số hạt nhân não sâu, tế bào biểu mô sắc tố nằm dưới võng mạc, tủy xương và lớp trong của tuyến thượng thận, vân mạch của tai trong và là thành phần tạo nên sắc tố da, tóc, lông ở người và động vật. Do đó, hàm lượng melanin mất cân bằng trong tế bào của từng loại mô, cơ quan khác nhau là nguyên nhân gây ra hàng loạt các bệnh như: Alzheimer, Parkinson, bại liệt, bạc tóc sớm, rối loạn sắc tố da, ung thư da, lão hóa cũng như mất trí nhớ [3-5]. Hoạt tính ức chế hoạt động của enzym tyrosinase in vitro của các cao chiết methanol vỏ khóm Tắc Cậu được thể hiện qua Bảng 2, thông qua giá trị  $IC_{50}$ .

**Bảng 2: Khả năng ức chế tyrosinase in vitro của cao methanol vỏ khóm Tắc Cậu, Kiên Giang**

Nghiệm thức	Khả năng ức chế TYR ( $IC_{50}$ $\mu\text{g/mL}$ )
V_MTC	73,13 $\pm$ 5,19
Acid Kojic	23,35 $\pm$ 1,62

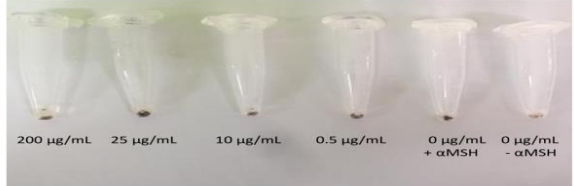
**Ghi chú:** Giá trị  $IC_{50}$  là giá trị trung bình của ba lần lặp lại. Trong cùng một cột, các giá trị có ít nhất 1 chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% (\*) qua kiểm định Tukey. Đối chứng là acid Kojic.

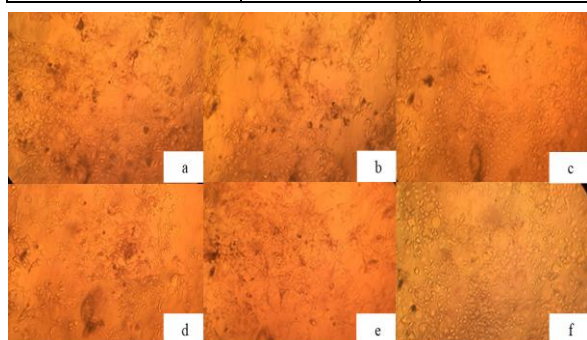
Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế tyrosinase cho thấy, cao methanol vỏ khóm Tắc Cậu có hoạt tính mạnh với giá trị  $IC_{50} = 73,13 \pm 5,19$   $\mu\text{g/mL}$ . Vrianty và et al., (2019) [7], đã nghiên cứu khả năng ức chế tyrosinase trên mẫu lõi khóm Indonesia ở nồng độ 100  $\mu\text{g/mL}$  ức chế 60,52% hoạt động của tyrosinase. Như vậy, với hoạt tính kháng oxy hóa và ức chế tyrosinase, cao chiết methanol vỏ khóm là chất tiềm năng trong chăm sóc và điều trị một số bệnh như: Alzheimer, Parkinson, bại liệt, bạc tóc sớm, rối loạn sắc tố da, chất bổ sung vào mỹ phẩm làm trắng da trong các ứng dụng mỹ phẩm.

**3.4 Kết quả ức chế sự sản sinh melanin trên dòng tế bào B16F10.** Để kiểm tra tác động của cao chiết vỏ khóm lên quá trình tổng hợp melanin ở tế bào u hắc tố B16F10 được xử

lý với cao chiết ở các nồng độ khác nhau từ 0,5 µg/mL đến 200 µg/mL trong 48 giờ. Kết quả khả năng ức chế melanin được thể hiện qua (Bảng 3 và Hình 1).

**Bảng 3: Phần trăm ức chế sinh melanin của mẫu F<sub>1</sub> so với đối chứng**

Nồng độ (µg/mL)	Phần trăm ức chế sinh melanin của mẫu (%)		Hình ảnh cận tế bào thí nghiệm
	Tỉ lệ	sai số (SD)	
200	-8,57	7,63	
25	18,10	2,24	
10	59,37	0,45	
0.5	29,84	4,49	
0 (đối chứng âm)	0	0,69	



**Hình 1: Tế bào B16F10 dưới tác dụng của cao vỏ khóm Taccacium và đối chứng**

**Ghi chú.** a) Tế bào B16F10 bổ sung 0,5 µg/mL cao vỏ khóm; b) Tế bào B16F10 bổ sung 10 µg/mL cao vỏ khóm; c) Tế bào B16F10 bổ sung 25 µg/mL cao vỏ khóm; d) Tế bào B16F10 bổ sung 200 µg/mL cao vỏ khóm; e) Tế bào B16F10 bổ sung đối chứng âm; f) Tế bào B16F10 nuôi cấy bình thường.

Mẫu vỏ cao chiết methanol vỏ khóm Taccacium ở hai nồng độ 0,5 µg/mL và 10 µg/mL đã cho thấy rõ khả năng ức chế sinh melanin so với đối chứng âm với mức 29,84% và 59,37%, tương ứng. Tuy nhiên, ở nồng độ 25 µg/mL khả năng ức chế quá trình sản sinh melanin giảm xuống còn 18,10% điều này có thể dự đoán rằng ở nồng độ cao thì cao chiết methanol vỏ khóm có sự gây chết tế bào và tương tự như vậy khi nồng độ cao chiết tăng lên 200 µg/mL.

Lê Quỳnh Loan và cộng sự, 2018, khi thử nghiệm khả năng ức chế hoạt động của tyrosinase trong tế bào B16F10 thì ở nồng độ 200 µg/mL cao chiết cây hoa hòe ức chế 31,8% [8]. Kết quả này cho thấy, cao vỏ cây khóm có khả năng ức chế tyrosinase trong tế bào B16F10 cao hơn so với cây hoa hòe. Ngoài ra, Nguyễn Hoàng Dũng và ctv, 2019, đã nghiên cứu khả năng ức chế sản sinh melanin của cao chiết rau

diếp cá trên dòng tế bào B16F10. Kết quả, cao chiết methanol cây diếp cá ức chế 24,8% quá trình tổng hợp hắc tố (melanin) ở nồng độ 100µg/mL [9].

Như vậy, so sánh với nhiều nghiên cứu trước đây thì cao methanol vỏ khóm có khả năng ức chế sự sản sinh melanin cao hơn. Do đó, vỏ khóm Taccacium là nguyên liệu tiềm năng trong sản xuất thuốc để chăm sóc và điều trị một số bệnh liên quan đến rối loạn melanin như: Alzheimer, Parkinson, bại liệt, bạc tóc sớm, nám da, tàn nhang...

## V. KẾT LUẬN

Hoạt tính kháng oxy hóa, ức chế enzym tyrosinase invitro và ức chế sản sinh melanin trên dòng tế bào B16F10 của cao chiết vỏ khóm Taccacium cao là nguồn nguyên liệu tiềm năng cho ngành dược phẩm và mỹ phẩm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Jovanović, M., et al.,** Antioxidant capacity of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) extracts and juice. *Lekovite sirovine*, 2018(38): p. 27-30.
- MacLean, L., et al.,** Copper (II) complexes of coumarin-derived Schiff base ligands: Pro-or antioxidant activity in MCF-7 cells. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2019, Volume 197: p. 1-14.
- Andrea, J., et al.,** Bacterially produced recombinant influenza vaccines based on virus-like particles. *Plos One*, 2017. 8 (11): e78947.
- Chintong, S., et al.,** In vitro antioxidant, antityrosinase, and cytotoxic activities of astaxanthin from shrimp waste. *Antioxidants*, 2019. 8(5): p. 1-11.
- Mo JH and Oh SJ.** Tyrosinase inhibitory activity and melanin production inhibitory activity of extract of *Thuja orientalis*. *Kor J Aesthet Cosmetol*. 2015;13(2): p.189-194.
- Putri, D. A., et al.,** Antioxidant and antibacterial activities of *Ananas comosus* peel extracts. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 2018. 14(2), p.307-311.
- Vrianty, D., et al.,** Comparison of Antioxidant and

Anti-Tyrosinase Activities of Pineapple (Ananas comosus) Core Extract and Luteolin Compound. Jurnal Kedokteran Brawijaya, 2019. 30(4), p240-248.

8. **Loan, L. Q., et al.**, Khảo sát hoạt tính ức chế tổng hợp hắc tố của cây hoa hòe (Sophora japonica L.) trên dòng tế bào u hắc tố B16F10 ứng dụng trong

mỹ phẩm. Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm, 2018. 17(1): p. 14–20.

9. **Dũng, N. H., et al.**, Khảo sát hoạt tính làm trắng da của rau diếp cá (Houttuynia cordata Thunb.) trên dòng tế bào u hắc tố B16F10 ứng dụng trong mỹ phẩm. Tạp Chí Y Học, 2019. 20 (2): p: 19–25.

## TÌM HIỂU NGUYÊN NHÂN GÂY SUY GAN CẤP TẠI BỆNH VIỆN BẠCH MAI

Nguyễn Công Long<sup>1</sup>, Hoàng Thị Quỳnh Hương<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Nghiên cứu phân loại nguyên nhân gây ra suy gan cấp. **Đối tượng và phương pháp:** Tổng số 60 bệnh nhân được chẩn đoán suy gan cấp tại Trung tâm tiêu hóa gan mật bệnh viện Bạch mai được đưa vào nghiên cứu từ tháng 01/2020 đến 7/2021. **Kết quả:** Nguyên nhân của suy gan cấp, 35% nguyên nhân là do thuốc đông y, 18,3% là do viêm gan virus B, 10% do paracetamol, còn lại 18,3% là các nguyên nhân khác. **Kết luận:** Nguyên nhân thường gặp gây ra suy gan cấp là thuốc đông y và viêm gan virus B.

**Từ khóa:** Suy gan cấp, nguyên nhân

### SUMMARY

#### STUDY ON ETIOLOGY OF ACUTE LIVER FAILURE AT BACH MAI HOSPITAL

**Objectives:** The aim of this study was the classification of the etiologies of acute liver failure. **Method:** A total of 60 patients were enrolled with acute liver failure from 01/2020 to 7/2021 in Bachmai hospital. **Results:** Regarding the cause, 35% of cases are related to traditional medicines, 18.3% are caused by hepatitis B virus, 10% are by paracetamol, the remaining 28.3% are rare causes. **Conclusion:** The most common cause of liver failure is due to traditional medicine and then to hepatitis B virus.

**Key words:** Acute liver failure, cause

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Suy gan cấp do rất nhiều nguyên nhân gây ra, tùy vùng địa lý, phong tục tập quán, tùy lứa tuổi mà phân bố nguyên nhân có sự khác biệt đáng kể. Viêm gan do virus và thuốc là nguyên nhân phổ biến nhất gây suy gan cấp ở người lớn. Ở Úc, Đan Mạch, Vương Quốc Anh và Hoa Kỳ, paracetamol là nguyên nhân phổ biến nhất gây suy gan cấp tính, trong khi ở châu Á và một số khu vực khác ở châu Âu, viêm gan virus chiếm

ưu thế[1].

Tại Vương quốc Anh, có 1014 bệnh nhân bị suy gan cấp tính được chuyển đến Bệnh viện Đại học King trong khoảng thời gian từ năm 1973 đến năm 1991, 57% là do paracetamol gây ra và 9% là do viêm gan virus B hoặc D. Vì vậy xác định nguyên nhân gây suy gan cấp thực sự là cần thiết và quan trọng trên cơ sở đó, các thầy thuốc lâm sàng có thể có thêm kiến thức và kinh nghiệm để định hướng tác nhân gây bệnh, chẩn đoán và lựa chọn các phương pháp thích hợp để điều trị.

### II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- **Đối tượng:** 60 bệnh nhân được chẩn đoán suy gan cấp điều trị nội trú tại Bệnh viện Bạch Mai từ tháng 1/2020 đến hết tháng 7/2021.

#### Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân

Dựa theo định nghĩa suy gan cấp của Hiệp hội nghiên cứu bệnh gan Hoa Kỳ - AASLD (2011)

- Lâm sàng: Vàng da
- Hội chứng não gan:
- Phân độ não gan được chia làm 4 mức độ theo tác giả West Haven.
- Cận lâm sàng:
  - + INR  $\geq 1.5$
  - + AST, ALT tăng ( $\geq 2$  lần giá trị bình thường cao)
  - + Bilirubin máu tăng ( $\geq 2$  lần giá trị bình thường cao), nếu tăng  $> 250$  ( $\mu\text{mol/L}$ ) chứng tỏ bệnh nặng.
  - + Tỷ lệ PT giảm ( $< 70\%$ )
  - + Albumin máu giảm ( $< 30$  g/l)
- Trên bệnh nhân không có xơ gan trước đó
- Không có bệnh gan mạn tính (trừ Wilson và HC Budd Chiari)
- Thời gian diễn biến bệnh  $< 26$  tuần
- Chọn bệnh nhân  $\geq 18$  tuổi trở lên.

#### Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân có bệnh xơ gan
- Bệnh gan mạn tính
- Bệnh diễn biến  $> 26$  tuần
- Bệnh nhân  $< 18$  tuổi

<sup>1</sup>Trung tâm tiêu hóa gan mật bệnh viện Bạch mai

<sup>2</sup>Bệnh viện đa khoa tỉnh Cao Bằng

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Công Long

Email: nguyenconglongbvm@gmail.com

Ngày nhận bài: 4.01.2022

Ngày phản biện khoa học: 3.3.2022

Ngày duyệt bài: 11.3.2022