

## NGHIÊN CỨU TÍNH KÍCH ỨNG DA CỦA GEL NANO BERBERIN TRÊN DA LÀNH CỦA ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Nguyễn Ngọc Tuấn<sup>1</sup>, Lê Quốc Chiêu<sup>1</sup>, Nguyễn Thái Biêng<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bệnh viện Bỏng quốc gia Lê Hữu Trác

<sup>2</sup>Bộ môn Dược lý/Học viện Quân y

### TÓM TẮT

Berberin được phân lập từ cây *Coscinium fenestratum* và một số cây trong họ *Ranunculaceae* có tác dụng chữa vết thương, vết bỏng. Nghiên cứu đánh giá tính kích ứng da lành ở thỏ của gel nano Berberine do Bệnh viện Bỏng quốc gia Lê Hữu Trác gia sản xuất. Phương pháp nghiên cứu được thực hiện theo hướng dẫn của Bộ Y tế, OECD. Tiến hành trên 3 thỏ, đắp gạc tẩm gel nano Berberin 0,5g lên vùng da lành 2,5 x 2,5cm; sau 4 giờ bóc bỏ gạc, làm sạch. Đánh giá chỉ số kích ứng sau 24, 48 và 72 giờ sau bóc bỏ gạc.

**Kết quả:** Chỉ số kích ứng bằng 0 (không xuất hiện ban đỏ và tạo vảy, không phù nề ở da lành thỏ). Không có thỏ chết, thỏ vẫn khỏe mạnh, sinh hoạt bình thường.

**Kết luận:** Gel nano Berberin an toàn, không gây kích ứng trên da lành thỏ.

**Từ khóa:** Nano Berberin, thỏ, kích ứng da

### SUMMARY

Berberine was a compound found in *Coscinium fenestratum* and other *Ranunculaceae* plants that helps to heal wounds and burns. National Burn Hospital's nano Berberine gel was studied to evaluate skin irritation in rabbits. The methodological research was carried out according to the guidelines of the Ministry of Health and OECD.

The gauze patch of 0.5g nano Berberine gel was applied to the appropriate healthy skin of 3 rabbits (2.5 x 2.5cm); after 4 hours by peeling off gauze and cleaning. Evaluation of activation index at 24, 48 and 72h after cleaning. The application index was 0 (no erythema, scab formation and edema in healthy rabbit skin). There were no dead rabbits, and the rabbits were still healthy.

**Conclusion:** On healthy rabbits' skin, nano Berberine gel was safe and non-irritating.

**Keywords:** Nano Berberine, Rabbits, Irritation.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Da là cửa ngõ xâm nhập quan trọng của các tác nhân nguy hiểm và là hệ thống cơ quan đích dễ bị tổn thương. Hầu hết các nghiên cứu về độc tính qua da lặp lại (hóa chất bôi tại chỗ) nhằm mô tả khả năng kích ứng, độc tính trên da và / hoặc toàn thân liên quan đến việc sử dụng tại chỗ các hợp chất và kết quả được sử dụng để dự đoán phản ứng của con người [1].

Nhạy cảm khi tiếp xúc là một quá trình mà cơ thể (thông qua việc tiếp xúc với da trước đó) tăng độ nhạy (phản ứng) với một chất khi tiếp xúc sau đó. Trong khi các phản ứng có thể rất ít hoặc không có khi tiếp xúc đầu tiên, da sẽ phản ứng với các lần tiếp xúc tiếp sau một cách mạnh mẽ. Phản ứng có thể ở mức độ nghiêm trọng từ một chút khó chịu với mẩn đỏ thoáng qua và ngứa, đến một đợt phát ban nghiêm trọng, lan rộng và có thể gây tàn phế. Đối với các sản phẩm dùng ngoài da, đặc biệt các mỹ phẩm mới, cần phải thử nghiệm để đánh giá khả năng kích ứng và mẩn cảm trên da thực nghiệm trước khi áp dụng trên cơ thể người (Yullya S. Mulyanti, [2]).

Theo quy định của Bộ Y tế Việt Nam, đây cũng là đánh giá bắt buộc về thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu [3].

Thử kích ứng trên da là một phương pháp sinh học dựa vào mức độ phản ứng của da thử với chất thử so với phần da kế bên không đắp chất thử. Phép thử không áp dụng cho các chất acid hoặc kiềm mạnh ( $\text{pH} < 2$  hoặc  $\text{pH} > 11,5$ ) và các chất đã biết là có kích ứng trên da [3].

Berberine là một muối amoni bậc bốn và benzyloquinoline alkaloid xuất hiện tự nhiên, có trong rễ và vỏ thân của nhiều loại

dược liệu như một thành phần có hoạt tính, đặc biệt là trong chi Berberis. Nó chứa nhiều đặc tính dược lý như chống oxy hóa, kháng vi rút, chống đái tháo đường, chống trầm cảm, chống tiêu chảy, kháng khuẩn. Bên cạnh những tác dụng có lợi của Berberine, một số hạn chế như khả năng hòa tan trong nước kém và sinh khả dụng đường uống thấp đã cản trở các ứng dụng của nó [4].

Ở Việt nam, Berberin dạng dung dịch là thuốc chủ lực điều trị bỏng trong hai cuộc kháng chiến. Tuy nhiên, Berberin chloride ít tan trong nước do vậy dạng dung dịch thường chỉ ở nồng độ thấp. Mặt khác, do dùng trong thời gian dài, nguy cơ xuất hiện kháng thuốc.

Chúng tôi đã nghiên cứu hiện đại hóa thuốc Berberin bằng ứng dụng công nghệ nano trong bào chế Berberin và ở dạng mới (gel). Gel nano Berberin đã khắc phục nhược điểm của dung dịch Berberin thường; đạt tiêu chuẩn cơ sở. Chúng tôi đã tiến hành đánh giá độc tính cấp để tìm  $\text{LD}_{50}$ ; độc tính bán cấp của gel nano Berberin theo hướng dẫn của WHO và OECD.

Trong phạm vi nghiên cứu, chúng tôi đánh giá tính kích ứng da của gel nano Berberin trên động vật thực nghiệm để làm cơ sở cho phép tiến hành những bước tiếp theo cho ứng dụng trên lâm sàng

## 2. NGUYÊN VẬT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên vật liệu và đối tượng nghiên cứu

- Nguyên vật liệu: Chế phẩm nghiên cứu là Gel nano Berberin đạt tiêu chuẩn cơ sở, do Bệnh viện Bông quốc gia Lê Hữu Trác cung cấp.

- Động vật thí nghiệm: Nghiên cứu tiến hành đánh giá trên thỏ. Thỏ đáp ứng yêu cầu thí nghiệm: khoẻ mạnh, trưởng thành (9 - 10 tuần tuổi), không phân biệt giới tính, da khoẻ mạnh và không mắc bệnh ngoài da. Số lượng 3 con (trọng lượng từ 2,0 - 2,2kg/con). Thỏ được nhốt riêng từng con để tránh lây chéo có thể xảy ra theo đường hô hấp và tiếp xúc; được nuôi dưỡng trong điều kiện thí nghiệm 05 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu. Nhiệt độ phòng  $25^{\circ} \pm 30^{\circ}\text{C}$ , ánh sáng đảm bảo 12 giờ tối, 12 giờ sáng hàng ngày. Thỏ được ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước (đun sôi để nguội) uống tự do. Hàng ngày theo dõi ghi chép diễn biến kết quả thí nghiệm [3, 5, 6].

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tiến hành theo hướng dẫn của Bộ Y tế [3, 7], OECD về thử độ kích ứng da [5, 6, 8].

- Chuẩn bị động vật và mẫu thử:

Trước ngày tiến hành nghiên cứu (khoảng trước 24h), thỏ được cạo sạch lông phần lưng, tránh làm tổn thương da thỏ. Cố định thỏ; dùng tông - đơ điện làm sạch lông thỏ ở vùng lưng đều về hai bên cột sống một khoảng đủ rộng để đặt các mẫu thử (10cm x 15cm). Thỏ có da khoẻ mạnh, đồng đều và lành lặn mới được dùng vào thí nghiệm.

Chế phẩm Nano Berberin là thành phẩm dạng gel, được sử dụng trực tiếp không pha loãng, phù hợp theo cách sử dụng trực tiếp trên người của gel.

- Thiết kế thí nghiệm: Tiến hành thử thuốc với 3 thỏ.

Gel nano Berberin được bôi một liều duy nhất lên da động vật thí nghiệm. Các vùng da xung quanh đã được làm sạch lông dùng làm đối chứng.

Chuẩn bị gạc không gây kích ứng với kích thước 2,5cm x 2,5cm. Đặt mẫu thử lên miếng gạc, liều chất thử trên mỗi thỏ là 0,5 gram (sử dụng cân kỹ thuật điện tử), dàn đều mẫu thử trên bề mặt miếng gạc. Đặt gạc tẩm gel nano Berberin trên da thỏ (mỗi miếng gạc/thỏ). Cố định miếng gạc bằng băng dính không gây kích ứng. Đánh dấu vị trí đặt mẫu thử bằng bút lông.

Sau 4 giờ từ lúc cố định gạc trên da thỏ, loại bỏ gạc và băng dính và làm sạch bằng nước cất. Tiến hành quan sát, đánh giá và ghi điểm phản ứng trên chỗ da đặt chất thử so với da kế bên không đặt chất thử ở các thời điểm 1 giờ, 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ sau khi làm sạch mẫu thử.

Nếu có bất kỳ biểu hiện ăn mòn da của thuốc, thí nghiệm được dừng lại. Tiếp tục theo dõi trong 14 ngày (để phòng nếu có tổn thương để đánh giá khả năng phục hồi). Khi tổn thương đã hồi phục thì ngừng theo dõi.

- Quan sát và ghi điểm

Quan sát diễn biến toàn thân và tại chỗ của từng con thỏ. Nếu động vật xuất hiện tình trạng hấp hối và có biểu hiện đau dữ dội và/hoặc các dấu hiệu đau đớn kéo dài: được bị giết nhân đạo ngay lập tức.

Các quan sát bao gồm những thay đổi về da và lông, mắt và màng nhày, và cả hệ thống hô hấp, tuần hoàn, thần kinh tự động và thần kinh trung ương cũng như hoạt động và hành vi vận động của động vật. Cần chú ý quan sát các biểu hiện run, co giật, tiết nước bọt, tiêu chảy, hôn mê, ngủ và hôn mê (OECD 2017).

Đánh giá phản ứng da lành thỏ tại vùng tiếp xúc thuốc theo thang điểm chỉ ở các thời điểm 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ sau khi làm sạch mẫu thử.

**Bảng 2.1. Mức độ phản ứng trên da thỏ**

Phản ứng	Điểm đánh giá
<b>* Sự tạo vảy và ban đỏ</b>	
- Không ban đỏ	0
- Ban đỏ rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
- Ban đỏ nhận thấy rõ	2
- Ban đỏ vừa phải đến nặng.	3
- Ban đỏ nghiêm trọng (đỏ tấy) đến tạo thành vảy để ngăn ngừa sự tiến triển của ban đỏ	4
<b>* Gây phù nề</b>	
- Không phù nề	0
- Phù nề rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
- Phù nề nhận thấy rõ (viền phù nề phồng lên rõ)	2
- Phù nề vừa phải (da phồng lên khoảng 1mm)	3
- Phù nề nghiêm trọng (da phồng lên trên 1mm và có lan rộng ra vùng xung quanh)	4
Tổng số điểm kích ứng tối đa có thể	8

Những thay đổi khác trên da và toàn thân (nếu có) được ghi chép đầy đủ.

- Đánh giá kết quả: Trên mỗi thỏ, điểm phản ứng được tính bằng tổng số điểm ở hai mức độ ban đỏ, tạo vảy và phù nề chia cho số lần quan sát.

Điểm kích ứng của mẫu thử nano Berberin được lấy trung bình điểm phản ứng của các thỏ đã thử. Đối chiếu điểm kích ứng với các mức độ quy định trên bảng 2 để xác định khả năng gây kích ứng trên da thỏ của mẫu thử.

**Bảng 1.2. Phân loại mức độ kích ứng trên da thỏ**

Loại kích ứng	Điểm trung bình
Kích ứng không đáng kể	0 - 0,5
Kích ứng nhẹ	> 0,5 - 2,0
Kích ứng vừa phải	> 2,0 - 5,0
Kích ứng nghiêm trọng	> 5,0 - 8,0

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Mức độ tạo vảy và ban đỏ trên da lành thỏ

**Bảng 3.1. Mức độ ban đỏ trên da lành thỏ**

Triệu chứng phản ứng	Điểm đánh giá								
	Thỏ 1			Thỏ 2			Thỏ 3		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Không ban đỏ	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ban đỏ rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ban đỏ nhận thấy rõ	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ban đỏ vừa phải đến nặng	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ban đỏ nghiêm trọng (đỏ tấy) đến tạo thành vảy để ngăn ngừa sự tiến triển của ban đỏ	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Ghi chú: T1: Tại 24 giờ sau khi gỡ tấm gạc; T2: Tại 48 giờ sau khi gỡ tấm gạc; T3: Tại 72 giờ sau khi gỡ tấm gạc.

Tại các thời điểm đánh giá, tại vị trí được bôi mẫu thử gel nano Berberin trên 03 thỏ đều không xuất hiện ban đỏ từ mức độ nhẹ đến mức độ nghiêm trọng.

**Bảng 3.2. Mức độ phù nề trên da lành thỏ**

Triệu chứng phản ứng	Điểm đánh giá								
	Thỏ 1			Thỏ 2			Thỏ 3		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Không phù nề	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Phù nề rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Phù nề nhận thấy rõ (viền phù nề phồng lên rõ)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Phù nề vừa phải (da phồng lên khoảng 1mm)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Phù nề nghiêm trọng (da phồng lên trên 1mm và có lan rộng ra vùng xung quanh)	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tại các thời điểm đánh giá, không có bất kỳ phản ứng phù nề nào được ghi nhận.

So sánh vị trí da đặt mẫu thử gel nano Berberin với vị trí trên da bình thường của thỏ không có sự thay đổi. Tổng số điểm kích ứng tối đa có thể của 03 thỏ là bằng 0.

#### 2.2. Biểu hiện toàn thân thỏ trong quá trình nghiên cứu

Không có thỏ chết trong nghiên cứu.

Tại các thời điểm nghiên cứu, tất cả thỏ khỏe mạnh, hoạt động bình thường, không có biểu hiện mất ngủ, gãi vào vị trí đặt tấm gạc thuốc.

Thỏ ăn uống, sinh hoạt, ngủ... bình thường. Không xuất hiện các rối loạn tiêu hóa (như ỉa chảy, tăng tiết nước bọt,...), rối loạn các hoạt động và hành vi vận động của động vật (run, co giật, rối loạn giác ngủ, hôn mê).

Đối chiếu với phân loại mức độ kích ứng trên da thỏ: Mẫu thử gel nano Berberin được xếp vào loại kích ứng không đáng kể.

#### 4. BÀN LUẬN

Gel nano Berberin là sản phẩm nghiên cứu mới, chứa những thành phần mới so với kem berberin và dung dịch Berberin đã được ứng dụng rộng rãi trên lâm sàng. Do vậy, cần có đánh giá tính kích ứng trên da lành (nghiên cứu tiền lâm sàng) theo đúng quy định của Bộ Y tế Việt Nam.

##### 4.1. Lựa chọn động vật đánh giá

Trong nghiên cứu đánh giá kích ứng da thường được khuyến cáo nên tiến hành trên da có tính mẫn cảm cao. Da thỏ mỏng và nhạy cảm nhất trong các loài động vật, mỏng và dễ kích ứng hơn da người [5, 6].

Các nghiên cứu về độc tính trên da được thực hiện trên động vật có nhiều lông (động vật gặm nhấm / thỏ) có lớp biểu bì tương đối mỏng so với người. Nhìn chung, da người và da linh trưởng không phải người được cho là ít thấm các chất thử nghiệm hơn nhiều so với da thỏ và / hoặc động vật gặm nhấm [9-11]. Cần lưu ý kết quả thu được ở thỏ không phải lúc nào cũng dự đoán được phản ứng của con người vì da thỏ dễ bị kích ứng bởi các tác nhân hóa học hơn da người [12, 13]. Do vậy, khi tính kích ứng trên da thỏ bằng 0 thì gần như chắc chắn trên da người sẽ tương tự.

##### 4.2. Chuẩn bị động vật thử nghiệm

Động vật thử nghiệm như chuột, thỏ... có lớp da dày đòi hỏi cạo lông trước khi cho tiếp xúc với thuốc nghiên cứu, điều này có thể làm tăng khả năng tiếp xúc và độc tính toàn thân. Nên sử dụng tông đơ điện, ngoài ra có thể sử dụng tại chỗ các chất hóa học làm rụng lông giúp mang lại bề mặt da mịn màng và không có lông. Tuy nhiên, Sự rụng lông do hóa chất ở động vật có lớp biểu bì tương đối mỏng có thể làm mất hoặc giảm lớp sừng, khiến da nhạy cảm hơn với các tác nhân bên ngoài da. Nó cũng có thể dẫn đến việc tiếp xúc toàn thân với các hợp chất được dùng tại chỗ cao hơn đáng kể so với vùng da bị cắt [1]. Trong nghiên cứu, chúng tôi không tiến hành sử dụng hóa chất làm rụng lông.

Để ngăn chặn việc động vật liếm, nuốt và bắt chước việc sử dụng lâm sàng các công thức thử nghiệm trên da, vị trí ứng dụng thường bề mặt lưng của động vật, sau đó băng kín hoặc cố định bằng băng dính... để cố định gạc tại chỗ [1]. Việc quấn thân hoặc cơ thể quá chặt có thể dẫn đến những hậu quả không lường trước được. Băng bó ngược kéo dài ở chuột đã dẫn đến hoại tử gan [14-17] và teo võng mạc lan tỏa [15]. Trong nghiên cứu, sau khi đặt lớp gạc bôi gel nano Berberin, chúng tôi chỉ cố định gạc cẩn thận bằng băng dính không gây dị ứng.

##### 4.3. Mô hình thử nghiệm

- Diện tích đánh giá: Theo OECD [5, 6], chất thử phải được áp dụng cho một khu vực nhỏ (khoảng 6cm<sup>2</sup>) của da và che phủ bằng một miếng gạc, được giữ cố định bằng băng dính không gây kích ứng. Trong trường hợp ứng dụng trực tiếp không thể (ví dụ: Chất lỏng hoặc một số

bột nhão), chất thử nghiệm trước tiên phải được áp dụng cho miếng băng gạc, sau đó được áp dụng cho da. Miếng dán phải được giữ lỏng lẻo khi tiếp xúc với da bằng cách mặc quần áo nửa kín phù hợp trong suốt thời gian tiếp xúc. Cần ngăn chặn động vật tiếp cận miếng dán và nuốt hoặc hít phải chất thử.

Trong nghiên cứu chúng tôi đã áp dụng phương pháp chất thử lỏng: Tắm trong gạc, đắp lên da lành thử với diện tích 2,5x 2,5cm (khoảng 6cm<sup>2</sup>); sau đó cố định theo hướng dẫn của OECD.

- Thời gian tiếp xúc: theo quy định [4-6]; vào cuối thời gian tiếp xúc, thường là 4 giờ, chất thử còn lại sẽ là loại bỏ, nếu có thể, sử dụng nước hoặc dung môi thích hợp mà không làm thay đổi phản ứng hiện có hoặc sự toàn vẹn của lớp biểu bì. Chúng tôi duy trì tiếp xúc trong 4h, sau đó sử dụng nước cất nhẹ nhàng rửa sạch vùng da, đảm bảo không gây tổn thương, không làm thay đổi tình trạng hiện có vùng da tiếp xúc.

- Mức liều: Chúng tôi áp dụng một liều 0,5g gel cho vị trí thử nghiệm [4-6].

- Giai đoạn thử nghiệm: OECD đặc biệt khuyến nghị thử nghiệm in vivo ban đầu (thăm dò) được thực hiện bằng cách sử dụng một con vật, đặc biệt là khi nghi ngờ chất có khả năng ăn mòn. Khi một chất được đánh giá là có tính ăn mòn dựa trên bằng chứng rõ ràng sẽ không cần thử nghiệm động vật thêm.

Trong những trường hợp mà chất thử được cho là không tạo ra ăn mòn, có thể tiến hành theo mô hình thử nghiệm xác nhận ngay, số lượng động vật cũng chỉ cần từ 2 tới 3 con. Trong nghiên cứu, chúng tôi đã tiến hành theo phương pháp này, cho

dù Berberin được xác định không phải chất ăn mòn.

#### 4.4. Kết quả chỉ số kích ứng da

Trong nghiên cứu, tất cả các thử ở các giai đoạn đều không có hoạt động bất thường; vùng da thử tiếp xúc với thuốc không có biểu hiện tạo ban đỏ, tạo vảy hoặc viêm phù nề. Như vậy, tổng số điểm kích ứng da bằng 0, tương ứng với loại kích ứng da không đáng kể.

Ban đỏ được định nghĩa là đỏ da hoặc niêm mạc, khi ấn vào thì biến mất, thả ra thì xuất hiện trở lại [18]. Đây là một trong những biểu hiện chính của kích ứng da do hóa chất [19]. Nguyên nhân do chất thử áp dụng trên bề mặt da xâm nhập vào lớp sừng và gây phá hủy các lớp bên dưới các tế bào sừng. Tế bào sừng tổn thương giải phóng chất trung gian viêm hoạt động trên các tế bào lớp trung bì, đặc biệt là lớp đệm và lớp nội mạc mạch máu [20]. Xuất hiện giãn mạch và tăng tính thấm thành mạch bởi sự thay đổi nội mô mạch máu, đặc biệt là ở mao mạch làm tăng lưu lượng máu (xung huyết) gây ban đỏ [18]. Để tránh sự đánh giá chủ quan, ảnh hưởng bởi màu sắc da, da bong vảy [19] do đó khi đánh giá và ghi nhận ban đỏ cần từ một người trở lên.

Kết quả cũng cho thấy không ghi nhận bất cứ phản ứng tạo vảy da nào trên tất cả thử nghiệm ở các thời điểm 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ. Vảy da được hình thành để ngăn ngừa sự tiến triển của ban đỏ và xuất hiện ở phản ứng mức độ ban đỏ nghiêm trọng (đỏ tấy) [7] nên không ghi nhận vảy da là hợp lý.

Phù nề được định nghĩa là sự sưng lên so với vùng da kế cận, cũng là một biểu hiện chính của kích ứng da [5, 18]. Phù nề

có cùng cơ chế với ban đỏ, sự giãn mạch và tăng tính thấm thành mạch làm tăng thoát dịch vào các mô cơ thể và gây biểu hiện phù nề. Kết quả đồng thời cũng cho thấy không có các biểu hiện thay đổi khác (thay đổi màu sắc da, mụn nước, bóng nước, khô da...) trên da thỏ tại các vùng da đặt mẫu thử trong 3 ngày quan sát.

Kết quả đánh giá tính kích ứng da của sản phẩm gel nano berberin rất quan trọng đối với một chế phẩm bôi trên da để điều trị vết thương tại chỗ, đặc biệt đối với các vết thương bỏng, vì đây là tổn thương làm cho da trở nên rất nhạy cảm, việc sử dụng các chế phẩm điều trị có độ kích ứng không phù hợp không chỉ gây đau đớn, khó chịu cho bệnh nhân, mà còn có thể gây ra tổn thương hoặc làm nặng thêm viêm loét vốn có hoặc làm nặng nề thêm tình trạng hoại tử từ các tổn thương.

Các nghiên cứu ghi nhận sử dụng các chế phẩm chứa berberin điều trị vết thương, vết bỏng an toàn, không có kích ứng da, không gặp các biểu hiện dị ứng tại chỗ và toàn thân (21-24).

Các nghiên cứu cũng ghi nhận berberin có tác dụng chống viêm, tác dụng chống biểu hiện kích ứng da.

Nghiên cứu của Tsugunobu Andoh et al. cho thấy Berberin có tác dụng điều trị viêm da dị ứng (AD) - bệnh viêm da mạn tính với biểu hiện ngứa nghiêm trọng trên chuột. Ở chuột bị viêm da, sử dụng Berberine 3 lần một tuần trong 12 ngày đã ức chế triệu chứng da, ngứa, thâm nhiễm qua da của bạch cầu ái toan và tế bào mast, và sự biểu hiện của eotaxin ở da, yếu tố ức chế di chuyển đại thực bào (MIF) và IL-4. In vitro cho thấy Berberine cũng làm giảm độc lực eotaxin gây ra IL-4/MIF trong nguyên bào sợi và MIF và IL-4 gây ra dị ứng trong tế bào mast [25].

Miranda S M Tsang đánh giá tác dụng của Pentaherbs (chủ yếu chứa Berberin) điều trị bệnh viêm da dị ứng trên mô hình chuột in vivo. Các biểu hiện như phù nề-sưng tai, dày biểu bì và thâm nhiễm bạch cầu ái toan ở các lớp biểu bì và hạ bì, giải phóng IL-12 huyết thanh của bệnh viêm da qua trung gian OXA ở chuột đã giảm đáng kể. Berberine có thể ngăn chặn sự giải phóng IL-6, CXCL8, CCL2 và CCL7 trong quá trình nuôi cấy bạch cầu ái toan và đồng nuôi cấy bạch cầu ái toan-nguyên bào sợi da [26].

Y Zhang và cộng sự đã sử dụng dung dịch Berberin điều trị tổn thương giác mạc thỏ (60 thỏ, 60 mắt). Theo dõi những thay đổi hành vi, khả năng kích ứng mắt bằng hệ thống chấm điểm Draize và quan sát mô bệnh học giác mạc sau khi ngừng sử dụng trên tất cả các thỏ. Kết quả: Không có biểu hiện bất thường nào được quan sát thấy ở thỏ; không có sự khác biệt đáng kể về điểm kích ứng mắt Draize, về kết quả mô bệnh học giác mạc với nhóm chứng. Kết luận: Dung dịch Berberine trong mắt thỏ dùng tại chỗ là an toàn và không có tác dụng độc hại rõ ràng trên bề mặt mắt của thỏ bình thường [27].

Da thỏ nhạy cảm hơn so với da người. Với kết quả này có thể khẳng định cho phép sử dụng gel nano Berberin trên người.

## 5. KẾT LUẬN

Đánh giá tính kích ứng da của gel nano Berberin trên da lành thỏ thực nghiệm ghi nhận gel nano Berberin không gây trường hợp nào xuất hiện phản ứng tạo ban đỏ và tạo vẩy, phản ứng phù nề sau 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ. Tổng số điểm kích ứng da bằng 0, tương ứng với loại không gây kích ứng da.



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Sundeeep A. Chandra, Alan H. Stokes, Rick Hailey, Dermal Toxicity Studies: Factors Impacting Study Interpretation and Outcome; toxicologic pathology, vol 43, issue 4, 2015**
2. **Yullya S. Mulyanti, Yuliarni, Busarin Kasemchainan, Partha P. Mitra, Paul Evans, Haryono Hartono.** Evaluation of the Skin Irritation and Sensitization Potential of the Cussons Baby Sensicare Skin Range of Products in Healthy Volunteers, Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications, Vol.9 No.3, September 2019
3. **Bộ Y Tế (2015).** Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu, QĐ 141/BYT-QĐ.
4. **Parth Patel;** A bird's eye view on a therapeutically 'wonder molecule': berberine; phytomedicine plus; volume 1, issue 3, August 2021, 100070.
5. **OECD (2002).** OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 404: Acute Skin Irritation/Corrosion. Paris, France: Organisation for Economic Cooperation and Development.
6. **OECD/OCDE (2017).** OECD guideline for the testing of chemicals; No 402; <http://www.oecd.org/termsandconditions>.
7. **Bộ Y tế (1999);** Phương pháp thử kích ứng trên da (áp dụng cho các sản phẩm dùng trong y tế và mỹ phẩm), (ban hành kèm theo quyết định số 3113/1999/QĐ-BYT ngày 11 tháng 10 năm 1999 của bộ trưởng).
8. **Ana Gallegos Saliner, Grace Patlewicz & Andrew P. Worth (2007).** Review of Literature-Based Models for Skin and Eye Irritation and Corrosion. European Communities.
9. **Calabrese, E. J. (1984).** Gastrointestinal and dermal absorption: Interspecies differences. Drug Metab Rev 15, 1013-32.
10. **Sidon, E. W., Moody, R. P., Franklin, C. A. (1988).** Percutaneous absorption of cis- and trans-permethrin in rhesus monkeys and rats: Anatomic site and interspecies variation. J Toxicol Environ Health 23, 207-16.
11. **Scott, R. C., Corrigan, M. A., Smith, F., Mason, H. (1991).** The influence of skin structure on permeability: An intersite and interspecies comparison with hydrophilic penetrants. J Invest Dermatol 96, 921-5.
12. **Calvin, G. (1992).** New approaches to the assessment of eye and skin irritation. Toxicol Lett. 64-65, 157-64.
13. **Jírová, D., Basketter, D., Liebsch, M., Bendová, H., Kejlová, K., Marriott, M., Kandárová, H. (2010).** Comparison of human skin irritation patch test data with in vitro skin irritation assays and animal data. Contact Dermatitis. 62, 109-16.
14. **Cushman, J. R., Richter, W. R., Duke, J. T. (1989).** Effects of skin sensitization test wrapping on guinea pigs. Contact Derm 21, 279-80.
15. **Nyska, A., Waner, T., Wormser, U., Gur, E., Kuttin, E., Dayan, D. (1992).** Possible pitfalls in rat extended dermal toxicity testing: An hepatic-ocular syndrome. Arch Toxicol 66, 339-46.
16. **Parker, G. A., Gibson, W. B. (1995).** Liver lesions in rats associated with wrapping of the torso. Toxicol Pathol 23, 507-12.
17. **Ramot, Y., Rosenstock, M., Klinger, E., Bursztyn, D., Nyska, A., Shinar, D. M. (2012).** Comparative long-term preclinical safety evaluation of two glatiramer compounds (glatiramer Acetate, Copaxone(R), and TV-5010, protiramer) in rats and monkeys. Toxicol Pathol 40, 40-54.
18. **Flarer Franco (1955).** "The causes of inflammatory erythema", J. Invest. Dermatol, Vol 24, pp. 201-209.
19. **Jachim W. Fluhr, Darlenski R., Angelova - Fischer I. and et al (2008).** "Skin Irritation and Sensitization: Mechanisms and New Approaches for Risk Assessment", Skin Pharmacology and Physiology, Vol 21, pp. 124-135.

20. **OECD (2010)**. Guidelines for the Testing of Chemicals: In Vitro Skin Irritation - Reconstructed Human Epidermis Test Method, Test No. 439.
21. **Spencer T, Gorinshteyn B, Ganey T (2016)**. Efficacy and Safety of Berberex Wound Cleanser on Post-Operative Surgical Incisions. *Clin Surg.*; 1: 1196.
22. **Mabrouk A, Boughdadi NS, Helal HA, et al (2012)**. Moist occlusive dressing (Aquacel Ag) versus moist open dressing (MEBO) in the management of partial-thickness facial burns: a comparative study in Ain Shams University. *Burns*; 38(3):396-403.
23. **Atiyeh BS, Ghanimeh G, Kaddoura IL, et al (2001)**. Split-thickness skin graft donor site dressing: preliminary results of a controlled, clinical comparative study of MEBO and Sofra-Tulle. *Ann Plast Surg.*; 46(1):87-8.
24. **Alsabbahi M, University Z (2019)**. Effect of Mebo Dressing Versus Standard Care on Managing Donor and Recipient Sites of Split-thickness Skin Graft (EMD-SCZ-SGS); *ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02737943* august 1990. [Available from OECD Secretariat upon request].
25. **Tsugunobu Andoh et al**. Berberine induces anti-atopic dermatitis effects through the downregulation of cutaneous EIF3F and MALT1 in NC/Nga mice with atopy-like dermatitis, *Biochem Pharmacol.* 2021 Mar., 185:114439.
26. **Miranda S M Tsang et al**, Anti-Inflammatory Activities of Pentaherbs Formula, Berberine, Gallic Acid and Chlorogenic Acid in Atopic dermatitis-like Skin Inflammation; *Molecules.* 2016. Apr 20;21(4):519.
27. **Y Zhang et al**. A preliminary study on the safety of berberine solution in rabbit eyes with topical application, *Chin J Ophthalmol*, 2020, 56: 131-137. 2020. Feb 11;56(2):131-137.doi: 10.3760/CMA.j.issn.0412-4081.2020.02.009.