

KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA ĐỊA Y *USNEA UNdulata* VÀ BƯỚC ĐẦU ỨNG DỤNG VÀO BÀO CHẾ KEM CHỐNG NẮNG

Huỳnh Tiến Phát, Trương Tuấn Đạt, Quách Trần Phương,
Đào Ngọc Thúy Vy, Nguyễn Hoàng Mến, Nguyễn Thị Thu Trâm*

Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

*Email: ntttram@ctump.edu.vn

Ngày nhận bài: 10/5/2023

Ngày phản biện: 20/6/2023

Ngày duyệt đăng: 07/7/2023

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Việt Nam có nguồn địa y phong phú, đa dạng tuy nhiên chưa được quan tâm nghiên cứu đúng mức cả về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học. Địa y chứa đa dạng các hoạt chất có khả năng sàng lọc tốt bức xạ UV. Việc tìm kiếm các nguồn hoạt chất chống nắng có nguồn gốc thiên nhiên đã trở thành mối quan tâm của nhiều nhà khoa học đặc biệt trong bối cảnh cường độ bức xạ UV tác động lên bề mặt trái đất ngày càng gia tăng. **Mục tiêu nghiên cứu:** 1) Khảo sát thành phần hóa học của cao chiết địa y *Usnea undulata*; 2) Bao chế và đánh giá một số chỉ tiêu của kem chống nắng chứa cao chiết địa y *U. undulata*. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Địa y *U. undulata* được thu hái tại tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam. Các cao chiết được điều chế bằng phương pháp ngâm lạnh có hỗ trợ sóng siêu âm. Sử dụng các phương pháp sắc ký lớp mỏng, sắc ký cột, kết tinh lại để phân lập hợp chất tinh khiết. Cấu trúc của các hợp chất được xác định bằng các phương pháp khối phổ MS, phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR. Kem được bào chế theo phương pháp nhũ hóa trực tiếp và đánh giá chỉ số chống nắng SPF theo hướng dẫn của COLIPA. **Kết quả:** Từ cao n-hexane phân lập được usnic acid. Kem chống nắng được bào chế đã phối trộn thành công cao chiết địa y như nguồn cung cấp hoạt chất chống bức xạ UV với chỉ số SPF 25,2 và thể chất kem màu trắng mịn, đồng nhất. **Kết luận:** Nghiên cứu cho thấy tiềm năng bào chế sản phẩm có khả năng chống bức xạ UV từ địa y *U. undulata* thu hái tại Lâm Đồng, Việt Nam.

Từ khóa: Địa y, kem chống nắng, *Usnea undulata*, UV.

ABSTRACT

INVESTIGATION ON CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE LICHEN *USNEA UNdulata* AND PRELIMINARY APPLICATION IN SUNSCREEN CREAM

Huỳnh Tiến Phát, Trương Tuấn Đạt, Quách Trần Phương,
Đào Ngọc Thúy Vy, Nguyễn Hoàng Mến, Nguyễn Thị Thu Trâm*

Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: Vietnam has a rich and diverse source of lichens, but it has not been properly researched in chemical constituents as well as biological activities. Lichens contain a variety of active ingredients as screening UV radiation. The search for natural sources of sunscreen active ingredients has become a concern of many scientists, especially in the context of the increasing intensity of UV radiation affecting the earth's surface. **Objectives:** Isolation and structure determination of compounds in the extracts. Preparation and evaluation of some criteria of sunscreen cream containing *Usnea undulata* extract. **Materials and methods:** *U. undulata* was collected in Lam Dong province, Vietnam. The extracts were prepared by using maceration with ultra sonic assistant. Using thin layer chromatography, column chromatography, and recrystallization to isolate compounds. The structure of isolated compound was elucidated by spectroscopic methods including MS, NMR, and in comparison with literature data. The cream is formulated by direct emulsification and rated SPF according to COLIPA guidelines. **Results:** Usnic acid was isolated from n-hexane extract. The sunscreen is formulated with a successful blend of

lichen extracts as a source of UV protection active ingredients with SPF 25,2. The obtained sunscreen cream is smooth, white, and uniform. Conclusion: The study shows the potential of a product with UV radiation resistance from the lichen U. undulata collected in Lam Dong, Vietnam.

Keywords: Lichen, sunscreen cream, *Usnea undulata*, UV.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sự gia tăng đáng kể cường độ bức xạ UV là yếu tố môi trường tác động nguy hại đến toàn bộ các sinh vật tồn tại trên trái đất. Tình trạng này trở nên báo động hơn khi tầng ozone – lá chắn bảo vệ trái đất khỏi tia cực tím ngày càng suy giảm. Trong xu hướng nghiên cứu sàng lọc nguồn hoạt chất chống nắng mới thì nguồn hợp chất thiên nhiên chứa những hợp chất vừa có khả năng hấp thu tốt bức xạ UV vừa có khả năng kháng oxy hóa luôn là mục tiêu tìm kiếm được quan tâm. Địa y là thực vật bậc thấp kết quả cộng sinh giữa nấm (Mycobiont), với tảo và/hoặc vi khuẩn lam (Photobiont) [1]. Một số hợp chất từ địa y đã được sử dụng trong các sản phẩm chăm sóc da do có đặc tính kháng oxy hóa và khả năng hấp thu mạnh bức xạ UV [2], [3], [4], [5], [6]. Việt Nam là một quốc gia được dự đoán có hơn 1000 loài địa y [7]. Tuy nhiên số lượng các nghiên cứu về thành phần loài và hóa thực vật trên địa y tại Việt Nam vẫn còn rất hạn chế, đặc biệt là hướng phát hiện và phân lập các hoạt chất có khả năng sàng lọc bức xạ UV cũng như khả năng ứng dụng địa y vào cuộc sống. Đề tài “Khảo sát thành phần hóa học của địa y *Usnea undulata* và bước đầu ứng dụng vào bào chế kem chống nắng” được thực hiện với mục tiêu: Khảo sát thành phần hóa học của cao chiết địa y *Usnea undulata*, bào chế sơ bộ và đánh giá chỉ số SPF cùng một số chỉ tiêu khác của kem chống nắng chứa cao chiết địa y *U. undulata*. Kết quả cho thấy tiềm năng sử dụng địa y *U. undulata* thu hái tại Việt Nam trong mỹ phẩm có khả năng hấp thu bức xạ UV.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Nguyên vật liệu:

U. undulata Stirt. (Parmeliaceae) được thu ở tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam vào tháng 12 năm 2019 và được định danh bởi tiến sĩ Kawinnat Buaruang (Ngành Thực Vật học, Khoa Sinh học, Đại học Ramkhamhaeng, Thái Lan). Mẫu (ký hiệu No *Usnea*-1217) được lưu tại Bộ môn Hóa học, Khoa Khoa học Cơ bản, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ, Việt Nam.

- Hóa chất, trang thiết bị:

Máy cô quay chân không Helicopter, cân điện tử (PA213 Ohaus, USA), buồng soi UV Camag (Thụy sĩ) ở bước sóng 254-365nm, máy li tâm 12 ống Hermle (Đức), máy chiết siêu âm, tủ hấp, nồi hấp khử trùng nhiệt ướt (Sturdy SA-300VF, Đài Loan), máy vortex (RS-VA10 Phoenix, Đức), máy đo quang phổ (Multiskan, Phần Lan), bếp cách thủy Memmert (Đức), cân kỹ thuật ADAM (Anh), cân phân tích Pioneer AAJ 220-4NM OHAUS (Nhật Bản), máy quang phổ Hitachi U-2900, micro pipet, erlen thủy tinh, ống nghiệm thủy tinh. Máy đo phổ Bruker Avance với tần số 500, 600 MHz cho $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$. Khối phổ ESI-MS (Thermo Scientific-MSQ PLUS), tại Viện Hóa Học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (18 - Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội). Máy đo năng lực truyền quang Perkin Elmer 341 tại Bộ môn Hóa Học Khoa Khoa học Tự nhiên, Đại học Cần Thơ.

Các dung môi (dùng cho chiết xuất, phân lập hợp chất) có độ tinh khiết lớn hơn 99% của Chemsol (Việt Nam) hoặc Xilong (Trung Quốc). Sắc ký lớp mỏng (SKLM) sử dụng bản silica gel trắng sẵn F254 (Merck) bề dày 0,25mm, hiện vết bằng UV và dung dịch

vanilin (0,5g vanilin trong 80mL acid sulfuric và 20mL ethanol), hơ nóng ở 120°C. Sắc ký cột (SKC) sử dụng pha tĩnh là silica gel pha thường (40-63µm, Keselgel 60, Merck 7667).

- Địa điểm nghiên cứu:

- + Phòng nghiên cứu, Khoa Khoa học cơ bản, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ.
- + Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ, Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phân lập và xác định cấu trúc hóa học của hợp chất phân lập được từ cao chiết:

Địa y sau khi thu hái, được rửa sạch, phơi khô ở nhiệt độ phòng, cắt nhuyễn (kích thước khoảng 1,0mm). Nguyên liệu được bảo quản trong hộp kín có chứa silica gel hút ẩm đến khi được thực hiện chiết xuất.

3 mẫu địa y *U. undulata* khô (mỗi mẫu 30g), được chiết ngâm lạnh có hỗ trợ siêu âm với 3 dung môi riêng biệt n-hexane, acetone và methanol. Dịch chiết được lọc và kiểm tra sự chiết kiệt bằng sắc ký lớp mỏng. Các dịch chiết cùng loại dung môi được gộp lại và cô quay dưới áp suất thấp, để bay hơi hết dung môi đến khối lượng không đổi thu được các cao chiết tương ứng.

Cao chiết được sử dụng hệ dung môi chloroform : ethyl acetat : formic acid tỉ lệ 16:5:0,5 để kiểm tra thành phần cao chiết bằng sắc ký lớp mỏng và tách cao chiết thành những phân đoạn bằng sắc ký cột. Mẫu sau khi nạp lên cột được giải ly bằng hệ dung môi thích hợp (hệ dung môi được dò bằng SKLM). Phương pháp SKLM được áp dụng trong suốt quá trình chiết xuất và phân lập hợp chất với mục đích theo dõi số lượng hợp chất có được trong cao, theo dõi quá trình sắc ký cột, đánh giá sự tinh khiết của các hợp chất phân lập được...

Xác định cấu trúc hóa học bằng cách so sánh với chất chuẩn bằng sắc ký lớp mỏng, sử dụng các phương pháp phổ nghiệm như phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, HMBC, HSQC. Mẫu được đo phổ tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Bào chế kem chống nắng chứa cao chiết địa y có khả năng bảo vệ khỏi bức xạ UV [8], [9], [10]:

Quy trình bào chế kem

+ Chuẩn bị pha nước: Phối hợp Glycerol, Tween 80 với 30mL nước cất, khuấy cho đồng nhất. Đun nóng hỗn hợp đến 75°C cho Nipagin M vào hòa tan hoàn toàn.

+ Chuẩn bị pha dầu: Đun chảy hỗn hợp alcol cetylic, sáp ong, acid stearic, vaselin ở nhiệt độ 70°C, khuấy để đồng nhất.

+ Chuẩn bị các thành phần khác:

Ngâm Carbopol 940 với 30mL nước cất trong 30 phút cho trương nở hoàn toàn.

Hòa tan cao chiết địa y với lượng tối thiểu KOH 0,05%.

Nghiền mịn Titan Oxid và Kẽm Oxid.

+ Phối hợp các thành phần:

Cho từ từ pha dầu ở 70°C vào máy khuấy chứa pha nước ở 75°C để tạo nhũ tương Dầu/Nước.

Cho tiếp lần lượt Vitamin E, dung dịch Carbopol 940, Titan oxid, Kẽm oxid, dung dịch cao chiết địa y vào nhũ tương. Tiếp tục khuấy trộn để đồng nhất.

Cho từ từ KOH 0,05% lượng vừa đủ để điều chỉnh thể chất.

Tối ưu hóa thể chất cho công thức kem

Kem được bào chế theo 8 công thức với tỉ lệ chất tạo đặc (carbopol 940) và chất nhũ hóa (tween 80) khác nhau để khảo sát thể chất.

Bảng 1. Các công thức kem được khảo sát

STT	Thành phần	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
1	Cao chiết địa y <i>U. undulata</i>	10mg	10mg	10mg	10mg	10mg	10mg	10mg	10mg
2	Carbopol 940	0,5g	1g	1,5g	2g	0,5g	0,5g	0,5g	0,5g
3	KOH 0,05%	Vừa đủ	Vừa đủ	Vừa đủ	Vừa đủ	Vừa đủ	Vừa đủ	Vừa đủ	Vừa đủ
4	Nipagin M	0,1g	0,1g	0,1g	0,1g	0,1g	0,1g	0,1g	0,1g
5	Glycerol	3,5g	3,5g	3,5g	3,5g	3,5g	3,5g	3,5g	3,5g
6	Alcol cetylic	2g	2g	2g	2g	2g	2g	2g	2g
7	Acid Stearic	0,8g	0,8g	0,8g	0,8g	0,8g	0,8g	0,8g	0,8g
8	Sáp ong	2,8g	2,8g	2,8g	2,8g	2,8g	2,8g	2,8g	2,8g
9	Vaselin	5g	5g	5g	5g	5g	5g	5g	5g
10	Vitamin E	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg
11	Kẽm Oxid	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g
12	Titan Oxid	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g	2,5g
13	Tween 80	2g	2g	2g	2g	1g	1,5g	2g	2,5g
14	Nước cất	Vừa đủ 100g	Vừa đủ 100g	Vừa đủ 100g	Vừa đủ 100g	Vừa đủ 100g	Vừa đủ 100g	Vừa đủ 100g	Vừa đủ 100g

Kiểm nghiệm một số chỉ tiêu của thành phẩm kem chứa cao chiết địa y. [8], [9], [10]

+ Cảm quan: Bao gồm màu sắc, thể chất, sự mịn màng, sự đồng nhất.

+ pH: pH của kem nên nằm trong khoảng 6-7 để hạn chế khả năng kích ứng da. Kết quả được lấy từ trung bình 3 lần đo liên tiếp.

+ Độ ổn định vật lý: Cân 2-5g kem vào trong ống ly tâm 15mL, tốc độ ly tâm 5000 vòng/phút, thời gian 30 phút, nhiệt độ 30°C.

+ Độ đàn mỏng: Sử dụng 2 tấm kính, đặt lên tấm kính dưới một lượng kem nhất định (khoảng 1g) với đường kính nhất định, sau đó đặt tấm kính còn lại lên. Đọc đường kính ban đầu của khối kem tản ra. Lần lượt đặt lên tấm kính trên những quả cân theo thứ tự trọng lượng tăng dần 50g, 100g, 150g và cứ sau một phút đọc lại đường kính tản ra của khối kem. Diện tích tản ra của khối kem được tính theo công thức:

$$S = \frac{d^2\pi}{4} \text{ (cm}^2\text{)}$$

S: Diện tích tản ra của khối kem (mm²)

d: Đường kính tản ra của khối kem (mm)

+ Tỷ lệ bay hơi nước: Một lượng kem nhất định (khoảng 5g) được đưa vào bình hút ẩm chứa 50g CaCl₂. Sau 3 ngày, kem được lấy ra cân xác định lại khối lượng. Tỷ lệ bay hơi nước được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ bay hơi nước} = \frac{\text{khối lượng ban đầu} - \text{khối lượng cuối}}{\text{khối lượng ban đầu}} \times 100$$

+ Thử kích ứng: Sử dụng thỏ trắng trưởng thành, đực hoặc cái (không sử dụng thỏ có chữa hoặc đang cho con bú), khỏe mạnh, cân nặng không quá 2kg. Thỏ được nhốt riêng từng con và nuôi dưỡng trong điều kiện thí nghiệm ít nhất 5 ngày trước khi thử. Thí nghiệm

tiến hành trong điều kiện nhiệt độ phòng 25-30°C, độ ẩm tương đối 30-70%, ánh sáng đảm bảo 12 giờ tối, 12 giờ sáng hàng ngày. Tiến hành dựa theo TCVN: 7391-10:2007.

Xác định chỉ số chống nắng SPF bằng phương pháp đo quang phổ.

Theo hướng dẫn của Hiệp hội mỹ phẩm Châu Âu (European Cosmetics Association) năm 2009 về phương pháp xác định SPF in vitro: Cân một lượng kem của công thức tối ưu (khoảng 0,75 mg/cm²) trải đều lên bề mặt tấm polymethylmethacrylat (PMMA). Tiến hành quét quang phổ truyền qua trong khoảng bước sóng từ 290 nm đến 400 nm trên máy đo quang phổ U-2900 Hitachi. Mẫu trắng là tấm PMMA không bôi kem. Chỉ số SPF được tính toán theo công thức.

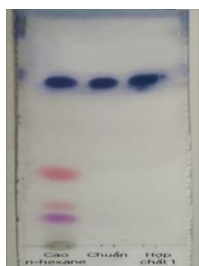
$$SPF_{in\ vitro} = \frac{\int_{\lambda = 290\ nm}^{\lambda = 400\ nm} E(\lambda) * I(\lambda) * d\lambda}{\int_{\lambda = 290\ nm}^{\lambda = 400\ nm} E(\lambda) * I(\lambda) * 10^{-A_0(\lambda)} * d\lambda}$$

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Xác định cấu trúc hóa học của hợp chất phân lập được từ cao chiết

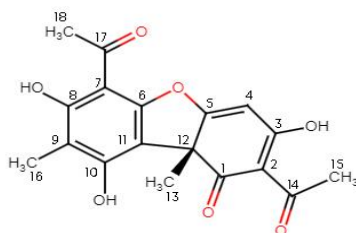
Từ ba mẫu địa y *U. undulata* khô, cắt nhỏ (mỗi mẫu 30g) được chiết bằng phương pháp chiết hỗ trợ siêu âm với dung môi n-hexane, acetone và methanol, sau khi cô quay cho bay hết dung môi đến khối lượng không đổi thu được các cao toàn phần n-hexane, acetone và methanol với khối lượng lần lượt là 0,628g, 1,813g và 2,106g. Cao n-hexane dạng bột mịn, màu vàng lục, không mùi; cao acetone dạng rắn, màu nâu sẫm, không mùi; cao methanol sệt dẻo, màu nâu đen, không mùi.

Từ cao chiết n-hexane phân lập được hợp chất **1** (m=513mg), dạng tinh thể hình kim màu vàng, kết quả SKLM cho 1 vết duy nhất (R_f=0,72) màu xanh đen với thuốc thử vanilin-sulfuric (hình 1).



Hình 1. Sắc ký lớp mỏng so sánh hợp chất phân lập được với chất chuẩn (usnic acid)

Nhận xét: Kết quả sắc ký lớp mỏng cho thấy sự tương đồng giữa chất phân lập được (hợp chất **1**) với vết của cao n-hexane và chất chuẩn usnic acid. Cấu trúc của hợp chất **1** được khẳng định thông qua dữ liệu phổ NMR là (+)-(12R)- usnic acid.



Hình 2. Cấu trúc hợp chất **1** (usnic acid)

3.2. Bào chế kem chứa cao chiết địa y có khả năng bảo vệ khỏi bức xạ UV

Các công thức được thay đổi tỉ lệ của chất tạo gel là carbopol 940 và chất nhũ hóa là Tween 80 nhằm khảo đưa ra công thức tối ưu. Bảng 3 trình bày một số đặc tính cảm quan của tám công thức kem sau khi bào chế.

Bảng 3. Đánh giá một số đặc tính của kem

STT	Đặc tính	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
1	Hình thức	Mịn màng	Mịn Màng	Mịn màng	Mịn màng	Mịn màng	Mịn màng	Mịn màng	Mịn màng
2	Thế chất	Mềm	Đặc	Rất đặc	Rất đặc	Mềm	Mềm	Mềm	Mềm
3	Bọt khí	Không	Ít bọt khí	Nhiều bọt khí	Nhiều bọt khí	Không	Không	Không	Không
4	Trạng thái	Đồng nhất	Đồng nhất	Đồng nhất	Đồng nhất	Tách lớp	Tách lớp	Đồng nhất	Đồng nhất

Nhận xét: Kết quả đánh giá cho thấy công thức F1 (F7) với tỉ lệ các chất thấp nhất và cho thế chất mềm, không có bọt khí, không tách lớp là phù hợp nhất.

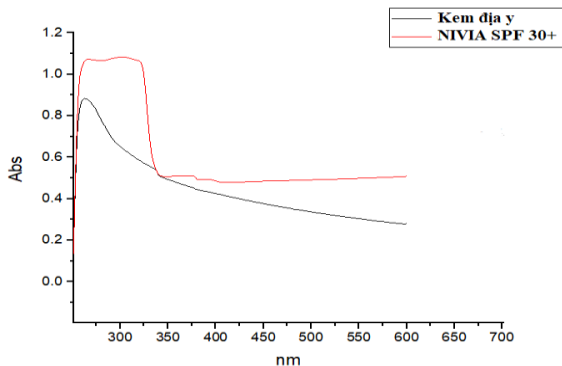
3.3. Kiểm nghiệm một số chỉ tiêu của thành phẩm kem chứa cao chiết địa y

Sau quá trình bào chế chọn lọc được công thức F1 (F7) đạt về hình thức cảm quan và thế chất của kem. Vì thế các công thức khác không được tiếp tục khảo sát. Bảng 4 trình bày kết quả về các chỉ tiêu kiểm nghiệm của công thức F1 (F7).

Bảng 4. Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu của công thức F1 (F7)

Màu sắc	Độ ổn định vật lí	Tỉ lệ bay hơi nước (%)	pH	Sự đồng nhất	Độ dàn mỏng (cm)			Thử kích ứng	SPF
					50g	100g	150g		
Trắng đục như sữa	Không tách pha	1,5	7,23	Đồng nhất	26,42	28,27	32,17	Không kích ứng	25,2

Nhận xét: Công thức F1 (F7) có cảm quan tương đồng với các chế phẩm dạng nhũ tương khác, pH trung tính, không bị ảnh hưởng của tác động vật lí, có khả năng bảo quản lâu, dàn mỏng tốt, không kích ứng và có khả năng chống bức xạ UV.



Hình 3. Độ hấp thụ của kem từ địa y và chế phẩm Nivia SPF 30+

Nhận xét: Kết quả phổ đồ cho thấy kem chứa cao địa y có khả năng hấp thụ rất tốt ở vùng UVB. Độ hấp thụ của kem chứa cao địa y thấp hơn kem trên thị trường có thể đo lượng cao địa y được sử dụng quá ít.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Xác định cấu trúc hóa học của hợp chất phân lập được từ cao chiết

Hợp chất phân lập được có dạng tinh thể hình kim màu vàng (kết tinh trong diethyl ether), hấp thu UV ở bước sóng 254nm. SKLM cho một vết màu tím có $R_f = 0,72$ với hệ dung môi giải ly n-hexane : ethyl acetate : acid formic (95:5:3 giọt), $[\alpha]_D^{22} + 0,420$ ($c=3\text{mg/mL}$ trong methanol). Phổ (+) ESI-MS xuất hiện mũi $[M+H]^+$ tại m/z 344,9 tương ứng với CTPT $C_{18}H_{16}O_7$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δH ppm 1,77 (3H, s, H-13), 2,11 (3H, s, H-16), 2,67 (3H, s, H-15), 2,68 (3H, s, H-18), 5,98 (1H, s, H-4), 11,04 (1H, s, 10-OH), 13,32 (1H, s, 8-OH). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δC ppm 198,1 (C-1), 105,2 (C-2), 191,7 (C-3), 98,3 (C-4), 179,4 (C-5), 155,2 (C-6), 101,5 (C-7), 163,9 (C-8), 109,3 (C-9), 157,5 (C-10), 104,0 (C-11), 59,1 (C-12), 32,1 (C-13), 201,8 (C-14), 27,9 (C-15), 7,5 (C-16), 200,3 (C-17), 31,3 (C-18). Kết hợp kết quả SKLM, phổ DEPT, HSQC, HMBC và so sánh với tài liệu tham khảo [11] đề nghị cấu trúc hợp chất phân lập được là (+)-(12R)-usnic acid.

Usnic acid là thành phần chính trong cao chiết của loài *U. undulata*. So với cùng loài, *U. undulata* Việt Nam chứa lượng usnic acid cao hơn đáng kể, với tỷ lệ 44,92% trong chiết xuất n-hexane được xác định bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) [12]. Nhiều nghiên cứu cũng đã chứng minh khả năng hấp thu bức xạ UV, chống oxy hóa của usnic acid [2], [4]. Điều này một phần giải thích cho hiệu quả chống bức xạ UV của chiết xuất từ loài *U. undulata* do chứa hàm lượng lớn usnic acid.

4.2. Bào chế kem chứa cao chiết địa y có khả năng bảo vệ khỏi bức xạ UV

Các công thức được thiết kế với mục đích tìm ra nồng độ tối ưu cho carbopol và Tween 80. Các công thức F1 đến F4 đại diện cho sự tăng nồng độ Carbopol, công thức từ F5 đến F8 đại diện cho sự tăng nồng độ Tween 80. Do cách thiết kế công thức này nên có sự trùng lặp giữa công thức F1 và F7

Carbopol là chất tạo gel được thêm vào với mục đích điều chỉnh thể chất của kem, giảm lượng các chất điều chỉnh thể chất thân dầu trong công thức (acid stearic, sáp ong, alcol cetylic). Do đó, khi bôi trên da không có hiện tượng trơn nhờn, giảm cản trở quá trình sinh lí tự nhiên của da và tạo cảm giác thoải mái cho người dùng. Kết quả cho thấy, kem được phối hợp carbopol có thể chất mịn màng, thể chất kem thay đổi phụ thuộc vào tỉ lệ carbopol sử dụng trong công thức. Sau 2 giờ quan sát, các hạt titan dioxyd, kẽm oxid không có hiện tượng kết tụ lại cho thấy carbopol còn ngăn các hạt titan dioxyd, kẽm oxid kết tụ lại. Tuy nhiên, sử dụng lượng carbopol lớn hơn 0,5g (Công thức F2, F3 và F4) sẽ làm kem có thể chất đặc quánh, tạo nhiều bọt khí dẫn đến không phù hợp về cảm quan. Công thức F1 với lượng carbopol 0,5g cho thấy kết quả tốt nhất với kem có thể chất mềm, mịn màng, không có bọt khí.

Tween 80 là chất nhũ hóa được thêm vào nhằm tạo hệ nhũ tương dầu trong nước, giúp kem có được khả năng bám dính tốt trên bề mặt da, hỗ trợ giữ các hoạt chất chống nắng trên bề mặt da lâu hơn nhưng lại ít trơn nhờn hơn so với các kem thân dầu. Kết quả cho thấy, kem có thể chất mềm, mịn màng, ít trơn nhờn (Công thức F7). Đồng thời, nếu sử dụng lượng chất nhũ hóa sử dụng quá ít sẽ không thể tạo nhũ tương (Công thức F5 và F6). Công thức F8 không được chọn do lượng Tween 80 sử dụng nhiều hơn không cho thấy sự khác biệt về thể chất nhưng có thể tăng khả năng gây kích ứng.

Trong kiểm nghiệm mỹ phẩm, cảm quan là chỉ tiêu đầu tiên được thực hiện và bắt buộc phải đạt. Do đó các công thức không đạt cảm quan sẽ bị loại, công thức F1 (F7) đáp

ứng về mặt cảm quan và tối ưu lượng tá dược nên được sử dụng để khảo sát tiếp tục. Nghiên cứu về khả năng hấp thu bức xạ UV của cao chiết *U. undulata* cho thấy khả năng hấp thu mạnh khi hòa tan cao chiết vào hệ nhũ tương lỏng ở nồng độ 20 μ g/mL. Tuy nhiên, do kem có thể chất đặc hơn nên với lượng cao quá ít khi khuấy trộn sẽ khó có thể phân tán đều. Trong nghiên cứu này cao địa y được phối trộn gấp năm lần so với nghiên cứu trước đó, là lượng cao tối thiểu đủ để phối trộn đều, có thể nhận biết thông qua sự đồng nhất về màu sắc của kem sau khi phối trộn [1].

4.3. Kiểm nghiệm một số chỉ tiêu của thành phẩm kem chứa cao chiết địa y

Công thức F1 (F7) là công thức tối ưu được lựa chọn để tiếp tục khảo sát các chỉ tiêu kiểm nghiệm. Về hình thức cảm quan, nhờ sự lựa chọn tá dược và phương pháp bào chế phù hợp đã tạo cho thành phẩm có thể chất mịn màng, độ đồng nhất cao. Kem đạt về chỉ tiêu ổn định vật lý khi ly tâm 30 phút kem không cho thấy sự tách pha. Trong quá trình xây dựng công thức và phương pháp bào chế đã hạn chế sử dụng các yếu tố liên quan đến pH vì thế pH của kem nằm trong khoảng 6-7 đã hạn chế nhiều khả năng gây kích ứng da. Chỉ tiêu độ đàn mỏng cho thấy sự đàn mỏng tốt. Tỷ lệ bay hơi nước là 1,5% sau ba ngày được đưa vào bình hút ẩm chứa 50g CaCl₂. Sự kích ứng của kem trên da là một chỉ tiêu rất quan trọng trước khi được chấp nhận sử dụng trên người. Kết quả được quan sát và ghi điểm phản ứng cho thấy sản phẩm kích ứng không đáng kể, tạo tiền đề cho các thử nghiệm *in vivo* trên người.

Dựa vào công thức tính SPF tính được giá trị SPF của kem địa y là 25,2 và giá trị của kem chứng dương là 36,4. Qua đó cho thấy khả năng bảo vệ của chế phẩm gần tương đương với chế phẩm có SPF 30+ trên thị trường. So sánh kết quả quang phổ (hình 3) cho thấy phổ đồ của kem địa y có đỉnh hấp thu rất tốt trong vùng UVB do các thành phần có trong địa y tạo nên nhưng độ hấp thu lại kém hơn so với chế phẩm kem trên thị trường là do hàm lượng cao địa y sử dụng trong nghiên cứu này là 10mg/100g kem quá nhỏ so với hàm lượng hoạt chất trong các sản phẩm trên thị trường. Dự đoán nếu sử dụng cao địa y với lượng và nồng độ cao hơn trong công thức sẽ tạo được cường độ hấp thu cao hơn chế phẩm so sánh. So với các sản phẩm phối trộn nhiều loại hoạt chất hóa dược với tỷ lệ cao, việc phối trộn cao địa y với tỷ lệ thấp nhưng vẫn đảm bảo hiệu quả chống bức xạ UV sẽ giảm được khả năng kích ứng da.

V. KẾT LUẬN

Từ cao n-hexane của địa y *Usnea undulata* đã phân lập được hợp chất **1** và xác định cấu trúc là usnic acid. Đồng thời nghiên cứu đã phối trộn thành công địa y như nguồn cung cấp hoạt chất chống bức xạ UV để bào chế kem chống nắng. Kết quả cho thấy loài địa y *U. undulata* thu hái tại Đà Lạt, Việt Nam có tiềm năng trong bào chế sản phẩm chống bức xạ UV.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tram Thi Thu Nguyen, Vo Thi Diem Trinh, Tran Hoang Yen et al. Photoprotective Activity of Lichen Extracts and Isolated Compounds in *Parmotrema Tinctorum*. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2021. 11(5), 12653-12661. doi: 10.33263/BRIAC115.1265312661.
2. Agnieszka G., Justyna P., Magdalena P. W., Elzbieta S. S., Pawel P. et al. (+)-Usnic Acid as a Promising Candidate for a Safe and Stable Topical Photoprotective Agent. *Molecules*. 2021. 26(17), 5224. doi: 10.3390/molecules26175224.
3. Peter V., Yngvar G., Knut A. S. Reprint of Efficient fungal UV-screening provides a remarkably high UV-B tolerance of photosystem II in lichen photobionts. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019. 134, 123-128. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.09.030

4. Lana R., Viktoryia K. Herbal sun protection agents: Human studies. *Clinics in Dermatology*. 2018. 36(3), 369-375. doi: 10.1016/j.clindermatol.2018.03.014.
5. Branislav R., Marijana K. Lichens as a potential source of bioactive secondary metabolites. *Lichen Secondary Metabolites: Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential*. 2015. 1-26. doi: 10.1007/978-3-319-13374-4_1.
6. Knut A. S., Yngvar G., Line N., Wolfgang B. UV-induction of sun-screening pigments in lichens. *New Phytologist*. 2003. 158(1), 91-100. doi: 10.1046/j.1469-8137.2003.00708.x
7. Andre A., Laurens B. Additions to the lichen flora of Vietnam, with an annotated checklist and bibliography. *The Bryologist*. 2006. 109(3), 358-371.
8. Trần Thị Hải Yến, Lê Thu Hương, Nguyễn Thị Thanh Duyên và cộng sự. Nghiên cứu bào chế và đánh giá chỉ số SPF của kem chống nắng chứa titan dioxit. *Tạp chí khoa học: Khoa học Y Dược*. 2019. 35(1), 54-60. doi: 10.25073/2588-1132/vnumps.4153.
9. Vaishali B., Manisha M. Evaluation Of In Vivo Sunscreen Activity Of Herbal Cream Containing Extract Of Curcuma Longa And Butea Monosperma. *World Journal of Pharmaceutical research*. 2014. 3 (2), 3026-3035.
10. Vaishali B., Neha W., Ashish T., Manisha M. Study Of Sunscreen Activity Of Herbal Cream Containing Flower Extract Of *Nyctanthes Arborescens* L. And *Tagetes Erecta* L.. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2011. 11(1), 142-146.
11. Rodrigo L. Antimycobacterial activity of *Usnea steineri* and its major constituent (+)-usnic acid. *African J. Biotechnol*. 2012. 11, 4636-9, doi: 10.5897/AJB11.3551.
12. Do Trung, Trang T. H. Nguyen, Thai N. Ha, Nguyen Van Lam, Nguyen T. T. Tram et al. Identification of Anti-Helicobacter pylori Compounds From *Usnea undulata*. *Natural Product Communications*. 2019. 14(7), 1934578X1986421. doi: 10.1177/1934578X19864212.