

S. (2012), Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. *Neuron*, 76(1), 116-29.

10. Sarter M., Bruno J. (2004), Developmental origins of the age-related decline in cortical cholinergic function and associated cognitive abilities, *Neurobiology of Aging*, 25(9), 1127-1139.

11. Mikhail F.M., Lose E. J., Robin N. H., Descartes M., D., Rutledge K. D., Rutledge S. L., Korf B. R., Carroll A. J. (2011), Clinically relevant single gene or intragenic deletions encompassing critical neurodevelopmental genes in patients with developmental delay, mental retardation, and/or autism spectrum disorders, *American Journal of Medical Genetics*, 155a(10), 2386-96.

12. Marucci G., Moruzzi M., Amenta F. (2020), Chapter 31 - Donepezil in the treatment of Alzheimer's disease, in *Diagnosis and Management in Dementia*, Academic Press, 495-510.

13. Ennaceur A., Neave N., Aggleton J. (1996), Neurotoxic lesions of the perirhinal cortex do not mimic the behavioural effects of fornix transection in the rat, *Behavioural Brain Research*, 80(1-2), 9-25.

14. Barker G. R., Warburton E. C. (2011), When is the hippocampus involved in recognition memory?, *the Journal of Neuroscience*, 31(29), 10721-31.

15. Warburton E. C., Barker G. R., Brown M.W. (2013), Investigations into the involvement of NMDA mechanisms in recognition memory, *Neuropharmacology*, 74, 41-7.

16. Hattiangady B., Mishra V., Kodali M., Shuai B., Rao X., Shetty A.K.. (2014), Object location and object recognition memory impairments, motivation deficits and depression in a model of Gulf War illness. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 78-78.

17. Manns J. R., Eichenbaum H. (2009), A cognitive map for object memory in the hippocampus, *Learning Memory*, 16(10), 616-24.

18. Walsh T.J., Miller D.B., Dyer R.S. (1982), Trimethyltin, a selective limbic system neurotoxicant, impairs radial-arm maze performance. *Neurobehavioral Toxicology & Teratology*, 4(2), 177-183.

19. Parihar V.K., Hattiangady B., Shuai B., Shetty A.K. (2013), Mood and memory deficits in a model of Gulf War illness are linked with reduced neurogenesis, partial neuron loss, and mild inflammation in the hippocampus. *Neuropsychopharmacology*, 38(12), 2348-62.

20. Park H. J., Lee S. Y., Shim H. S., Kim J. S., Kim K. S., Shim I. (2012), Chronic treatment with squid phosphatidylserine activates glucose uptake and ameliorates TMT-induced cognitive deficit in rats via activation of cholinergic systems, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012(1), 601018.

21. Whittington D. L., Woodruff M. L., Baisden R. H. (1989), The time-course of trimethyltin-induced fiber and terminal degeneration in hippocampus, *Neurotoxicology and Teratology*, 11(1), 21-33.

22. Otsu M., Hiles I., Fry M. J., Ruiz-Larea F., Panayotou G., Thompson A., Dhand R., Hsuan J., Totty N. (1991), Characterization of two 85 kd proteins that associate with receptor tyrosine kinases, middle-T/pp60c-src complexes, and PI3-kinase, *Cell Press*, 65(1), 91-104.

23. Fruman D. A. (2011), Regulatory subunits of class IA PI3K, in phosphoinositide 3-kinase in health and disease: Volume 1, C. Rommel, B. Vanhaesebroeck, and K. Vogt, Editors., *Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg*, 225-244.

24. Le Marchand-Brustel g. Y., Tanti J. F. (2005), Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. *Biochimie*, 87(1), 99-10.

25. Shaw, L.M. (2011), The insulin receptor substrate (IRS) proteins. *Cell Cycle*, 10(11), 1750-1756.

26. Morriore A., Navarro M., Romano G., Dewes M., Reiss K., Valentinis B., Belletti B., Baserga R. (2001), The role of the insulin receptor substrate-1 in the differentiation of rat hippocampal neuronal cells. *Oncogene*, 20(35), 4842-4852.

27. Backer J. M., Myers M. G., Shoelson S. E., Chin D. J., Sun X. J., Miralpeix M. Hu P., Margolis B., Skolnik E. Y., Schlessinger J. (1992), Phosphatidylinositol 3'-kinase is activated by association with IRS-1 during insulin stimulation. *The EMBO Journal*, 11(9), 3469-3479.

28. Cantley L. C. (2002), The phosphoinositide 3-kinase pathway, *Science*, 296(5573), 1655-1657.

29. Tu Y. F., Jiang S. T., Chow Y. H., Huang C. C., Ho C. J., Chou Y. P. (2016), Insulin receptor substrate-1 activation mediated p53 downregulation protects against hypoxic-ischemia in the neonatal brain. *Molecular Neurobiology*, 53(6), 3658-3669.

30. de la Monte S. M., Ganju N., Banerjee K., Brown N. V., Luong T., Wands J. R. (2000), Partial rescue of ethanol-induced neuronal apoptosis by growth factor activation of phosphoinositide-3-kinase. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 24(5), 716-726.

31. Zhao W., Pan X., Li T., Zhang C., Shi N. (2016), Lycium barbarum polysaccharides protect against trimethyltin chloride-induced apoptosis via sonic hedgehog and PI3K/Akt signaling pathways in mouse neuro-2a cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016(1), 9826726.

32. Casalbore P., Barone I., Felsani A., D'Aganano I., Michetti F., Maira G., Cenciarelli C..(2010), Neural stem cells modified to express BDNF antagonize trimethyltin-induced neurotoxicity through PI3K/Akt and MAP kinase pathways. *Journal of Cellular Physiology*, 224(3), 710-721.

33. Vecchio L. M., Sullivan P., Dunn A. R., Bermejo M. K., Fu R., Masoud S. t., Gregersen E., Urs N. M., Nazari R., Jensen P. H., Ramsey A., Goldstein D. S., Miller G. W., Salahpour A. (2021), Enhanced tyrosine hydroxylase activity induces oxidative stress, causes accumulation of autotoxic catecholamine metabolites, and augments amphetamine effects in vivo. *Journal of Neurochemistry*, 158(4), 960-979.

34. Zhou Z. D., Saw W. T., Ho P. G. H., Zhang Z. W., Zeng L., Chang Y. Y., Sun A. X. Y., Ma D. R., Wang H. Y., Zhou L., Lim K. L., Tan E. K. (2022), The role of tyrosine hydroxylase-dopamine pathway in Parkinson's disease pathogenesis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 79(12), 599.

35. Chen H., Teng Y., Chen X., Liu Z., Geng F., Liu Y., Jiang H., Wang Z., Yang L. (2021), Platelet-derived growth factor (PDGF)-BB protects dopaminergic neurons via activation of Akt/ERK/CREB pathways to upregulate tyrosine hydroxylase. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 27(11), 1300-1312.

Tạp chí Dược liệu, tập 30, số 1/2025 (Trang 43 - 47)

TÁC DỤNG CHỐNG LÃO HÓA DA CỦA MỸ PHẨM ĐẮP MẶT CHỨA CAO DƯƠNG XỈ VÀ ASTAXANTHIN TRÊN MÔ HÌNH THỰC NGHIỆM

**Lê Hồng Oanh¹, Nguyễn Thị Lê¹, Phạm Thị Kiều Dung¹, Đoàn Thị Nguyệt¹,
Nguyễn Thị Thanh Hà², Phạm Thị Vân Anh², Phương Thiện Thương¹, Mai Thị Nga^{1*}**

¹Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam - Hàn Quốc (VKIST); ²Đại học Y Hà Nội

*Email: maingamt@gmail.com

(Nhận bài ngày 18 tháng 12 năm 2024)

Tóm tắt

Nghiên cứu này đánh giá tác dụng chống lão hóa da của mỹ phẩm đắp mặt chứa cao dương xỉ *Dryopteris crassirhizoma* Nakai và astaxanthin (gọi tắt là mặt nạ) trên mô hình lão hóa da trên chuột gây bởi D-galactose liều 1000 mg/kg tiêm dưới da. Tác dụng chống lão hóa da của mặt nạ trên chuột ở hai mức liều là 0,2 mL/lần, 01 lần/ngày và liều 0,2 mL/lần, 02 lần/ngày; chứng dương sử dụng là vitamin E 1% liều 0,2 mL/ngày, cùng bôi trong 42 ngày. Kết quả cho thấy ở cả hai mức liều nghiên cứu mặt nạ đều cải thiện đại thể và vi thể da chuột, tăng độ ẩm da, tăng nồng độ hydroxyprolin và giảm nồng độ malondialdehyd da chuột, làm tăng độ dày lớp thượng bì và trung bì da chuột, so với lô mô hình ($p < 0,05$); tương đương với chứng dương vitamin E 1% liều 0,2 mL/ngày. Kết quả đã ghi nhận mặt nạ chứa cao dương xỉ có tác dụng chống lão hóa da trên mô hình chuột bị gây lão hóa bởi D-galactose.

Từ khóa: Cao dương xỉ (*Dryopteris crassirhizoma* Nakai), Astaxanthin, Mỹ phẩm đắp mặt (mặt nạ), Chống lão hóa da.

Summary

The Anti-Aging Effect on Skin of Cosmetic Products Containing *Dryopteris crassirhizoma* Extract and Astaxanthin in a Mouse Experiment Model

This study evaluated the anti-aging effect of a mask containing *Dryopteris crassirhizoma* extract (mask DC) and astaxanthin on the skin anti-aging model in mice induced by D-galactose at a subcutaneously injected dose of 1000 mg/kg. The anti-aging effect of the mask was evaluated at the doses of 0.2 mL per time, once a day, and of 0.2 mL per time, twice a day, both applied for 42 days. The positive control was 1% vitamin E at the dose of 0.2 mL per day, also applied for 42 days. The results showed that at both doses the mask DC improved the macroscopic and microscopic appearance of mouse skin, increased skin moisture, increased hydroxyproline content, and decreased malondialdehyde content in mouse skin, as well as increased the thickness of the epidermis and dermis of mouse skin, compared to the model group ($p < 0.05$). This effect was equivalent to that of 1% vitamin E (0.2 mL per day). Thus, the mask containing *Dryopteris crassirhizoma* extract and astaxanthin showed anti-aging effects on mouse skin induced by D-galactose.

Keywords: *Dryopteris crassirhizoma* extract, Astaxanthin, Mask, Skin anti-aging.

1. Đặt vấn đề

Lão hóa da là quá trình tự nhiên mà da trải qua theo thời gian, dẫn đến sự thay đổi về cấu trúc, chức năng và ngoại hình da [1]. Lão hóa da được chia thành lão hóa nội sinh (lão hóa tự nhiên) do các yếu tố như tuổi, giới tính, chủng tộc và lão hóa ngoại sinh (lão hóa do môi trường) do các yếu tố bên ngoài như hút thuốc, ánh nắng mặt trời, dinh dưỡng [1]. Tuy chưa có một con số thống kê về tình trạng lão hóa da, nhưng do tuổi thọ tăng lên và tác động của ô nhiễm môi trường làm lão hóa da đang trở thành một vấn đề sức khỏe toàn cầu. Theo thống kê của *Transparency Market Research* (2022 - 2029), nhu cầu về các sản phẩm chăm sóc da đang tăng lên, trong đó sự phổ biến của mặt nạ chăm sóc da đang ở mức cao nhất mọi thời đại [2]. Mỹ phẩm đắp mặt (mặt nạ) được thiết kế dạng tấm được đặt lên tương ứng với hình dạng của khuôn mặt tránh các khu vực mắt, lỗ mũi và miệng có thể giúp tăng cường hiệu quả hấp thu các tinh chất vào da giúp da được tối ưu hóa độ ẩm, dưỡng chất và làm cho da mịn màng, mềm mại, trắng sáng hơn và chống lão hóa [2]. Mặt nạ là một sản phẩm rất tiện lợi vì giúp giảm thời gian chuẩn bị và chăm sóc da.

Dương xỉ *Dryopteris crassirhizoma* Nakai, họ Aspidaceae (dương xỉ DC) là một loài thân thảo lâu năm, phân bố rộng rãi trên toàn thế giới. Thân rễ của dương xỉ DC đã được sử dụng trong y học cổ truyền Trung Quốc, Hàn Quốc và Nhật Bản để chữa các bệnh về đường hô hấp, hỗ trợ tiêu hóa và các bệnh về da [3],[4]. Thành phần hóa học chính trong thân rễ của *D. crassirhizoma* gồm phloroglucinol, flavonoid, triterpen và polysaccharid [3],[5]. Đến nay, chưa có nghiên cứu nào về tác dụng chống lão hóa da của loài dương xỉ DC, nhưng phân đoạn polysaccharid từ dương xỉ DC có tính acid tác dụng chống oxy hóa [6]. Kết hợp với các hợp chất flavonoid, triterpenoid cho gợi ý dương xỉ DC là có tiềm năng để phát triển thành sản phẩm chống lão hóa da. Vì vậy, nhóm nghiên cứu kết hợp cao dương xỉ DC với astaxanthin, một hợp chất có tác dụng chống lão hóa da trên thực nghiệm [7], để bảo chế mặt nạ có tác dụng chống lão hóa da. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu tác dụng chống lão hóa da của mặt nạ chứa cao dương xỉ DC và astaxanthin trên mô hình lão hóa da chuột gây bởi D-galactose.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là mặt nạ chứa cao dương xỉ DC và astaxanthin. Công thức bảo chế cho một mặt nạ như sau:

Thành phần	Khối lượng (gram)
Cao dương xỉ DC	0,67
Astaxanthin	0,25
Saponin rau má	0,05
Tá dược:	vừa đủ 100 gram
(polyethylen glycol 400, polysorbate 20, glycerin, allantoin, erythritol, gồm xanthan, hydroxyethyl acrylate/Sodium acryloyldimethyl taurat copolymer...).	

Hàm lượng cao dương xỉ DC được xác định từ kết quả đánh giá tác dụng làm sáng da và chống lão hóa của cao dương xỉ DC trên mô hình *in vivo*. Hàm lượng astaxanthin và saponin rau má được lựa chọn dựa trên khuyến cáo của nhà sản xuất. Cao dương xỉ DC được điều chế bằng cách chiết hồi lưu được liệu dương xỉ với ethanol 70%, tỷ lệ được liệu/dung môi: 1/7 (kt/tt); cao đạt Tiêu chuẩn cơ sở do VKIST ban hành (TCCS số 465/QĐ-VKIST ngày 30/09/2024), trong đó hàm lượng polyphenol tổng số >15%. Được liệu dương xỉ DC là thân rễ của cây dương xỉ *Dryopteris crassirhizoma* Nakai (tên thường gọi: quán chúng) đạt Tiêu chuẩn Dược điển Trung Quốc 2020.

Astaxanthin (10%) được mua từ CoSeedBioPharm Co., Ltd; saponin rau má được mua từ hãng TECA™ SEPPIC (chứa ≥ 95% saponin triterpenoid, gồm 60% acid asiatic và acid madecassic, 40% asiaticosid). Chất lượng của sản phẩm mặt nạ đạt TCCS do VKIST ban hành (số 498/QĐ-VKIST ngày 11 tháng 10 năm 2024).

2.2. Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, cả 2 giới, khỏe mạnh, trọng lượng 30 ± 2 g do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột được nuôi ổn định bảy ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm với thức ăn (do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp) và nước uống tại Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội.

2.3. Dung môi, hóa chất

Vitamin E (alpha tocopherol acetat, độ tinh khiết 95%) (BASF, Đức); D-galactose (Sigma

Aldrich, Singapore); nước muối sinh lý (NaCl 0,9%, Braun, Đức); cloral hydrat (Trung Quốc); dầu olive (Hanoli, Hy Lạp); kit định lượng hydroxyprolin (HYP) và kit định lượng malondialdehyd (MDA) mua của Abcam, Mỹ.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Mô hình gây lão hóa bằng D-galactose của tác giả Hui Chen (2016) [8] và Yang Ye (2014) [9]. Chuột được cạo lông vùng lưng với diện tích 9 cm² và chia thành 5 lô (n = 10): Lô 1 (lô chứng sinh lý), tiêm dưới da nước muối sinh lý; Lô 2 (lô mô hình), tiêm dưới da D-galactose 1000 mg/kg/ngày; Lô 3 (lô chứng dương), tiêm dưới da D-galactose 1000 mg/kg/ngày và bôi vitamin E 1% liều 0,2 ml/ngày; Lô 4 (lô thử 1), tiêm dưới da D-galactose 1000 mg/kg/ngày và bôi mặt nạ liều 0,2 mL/lần x 1 lần/ngày; Lô 5 (lô thử 2), tiêm dưới da D-galactose 1000 mg/kg/ngày và bôi mặt nạ liều 0,2 mL/lần x 2 lần/ngày (0,4 ml/ngày).

Các chuột từ lô 2 đến lô 5 được tiêm dưới da dung dịch D-galactose trong nước muối sinh lý (NaCl 0,9%) liều 1000 mg/kg/ngày, mỗi ngày 1 lần trong 42 ngày. Chuột lô chứng sinh lý được tiêm nước muối sinh lý cùng thể tích. Chuột ở các lô 3 đến 5 được bôi vitamin E hoặc dịch mặt nạ với liều nêu trong phân chia lô thí nghiệm hàng ngày trong 42 ngày (sau khi tiêm D-galactose). Cách bôi trên da chuột được thực hiện bằng việc sử dụng bơm 1 mL hút lượng thuốc cần thiết bơm lên da lưng chuột, tay đỡ găng vô khuẩn, sử dụng 1 ngón tay thoa đều thuốc trên vùng lưng cao lông của chuột, massage nhẹ nhàng để thuốc thấm trên da khoảng 1 phút. Sau 24 giờ được bôi thuốc lần cuối, chuột ở các lô được gây mê, các thông số đánh giá bao gồm:

- Đại thể bề mặt da và mạch máu dưới da;
- Cắt toàn bộ vùng da lưng được bôi thuốc;

+ Chiều dày lớp thượng bì và trung bì bằng phần mềm ImageJ (NIH, LOCI): tính trung bình tại 3 vị trí đo trên 3 tiêu bản của cùng một mẫu da, 80% số chuột mỗi lô.

+ Độ ẩm da (100% số chuột mỗi lô): cắt 1 cm² da, cân trọng lượng tươi đem sấy khô 80°C trong 12 giờ rồi cân trọng lượng khô, tính độ ẩm theo công thức:

$$\text{Độ ẩm da (\%)} = \frac{\text{trọng lượng da tươi} - \text{trọng lượng da khô}}{\text{trọng lượng da tươi}} \times 100\%$$

+ Lượng collagen của da được xác định gián tiếp qua định lượng hydroxyprolin (HYP) ở 80% số chuột mỗi lô: Cân khoảng 2 - 3 mg mẫu mô (da), cho vào ống thủy phân có nắp. Cho thêm 2 mL HCl 6N, vặn chặt nắp ống và ủ ở nhiệt độ 115°C trong thời gian 24 giờ. Sau khi đã thủy phân đồ toàn bộ dịch thủy phân trong ống ra bát sứ. Dùng 2 mL nước cất chuyển mẫu từ bát sứ vào ống nghiệm để phân tích. Định lượng bằng bộ kit theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

+ Đánh giá mức độ oxy hóa của da qua chỉ số MDA (malondialdehyd) ở 80% số chuột mỗi lô: Nghiền 50 mg da trong dung dịch 500 mL KCl.

Ly tâm dịch nghiền ở 10.000 vòng/phút trong 5 phút, để lắng, lấy dịch trong (dịch đồng thể). Lấy 50 µL dịch đồng thể được thêm vào hỗn hợp chứa 300 µL nước cất và 300 µL acid thiobarbituric 5,2% hòa tan trong acid acetic. Các hỗn hợp được ủ ở 90°C trong 45 phút. Thêm 8 µL HCl 5 M và 0,7 mL *n*-butanol được thêm vào hỗn hợp. Hỗn hợp được lắc đều và ly tâm ở 10.000 vòng/phút trong 5 phút. Độ hấp thụ của lớp *n*-butanol được đo ở bước sóng 532 nm. Định lượng bằng bộ kit theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

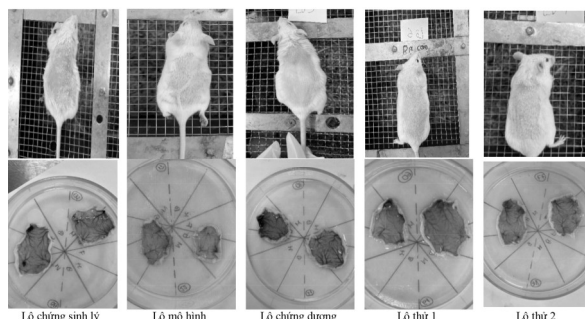
2.5. Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel 2019, sử dụng test thống kê: T-test Student và paired-Samples T-test. Số liệu biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Tác dụng của mặt nạ đến đại thể da chuột và mạch máu dưới da

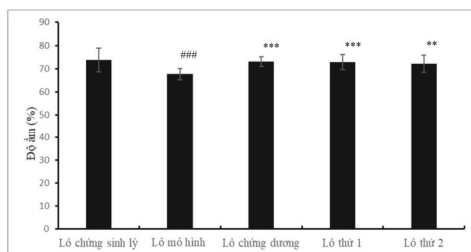
Ảnh hưởng của mặt nạ đến đại thể da chuột và mạch máu dưới da chuột được chụp ảnh và trình bày ở Hình 1. Kết quả cho thấy da chuột ở lô chứng sinh lý hồng mịn, lớp lông tơ mịn mượt. Ở lô mô hình, da chuột thô ráp, lớp lông tơ thô, nhiều nếp nhăn, mỏng và kém đàn hồi, mạch máu dưới da thưa thớt, giảm rõ so với lô chứng sinh lý. Da chuột bôi vitamin E 1% (chứng dương) liều 0,2 mL/ngày mịn màng, lớp lông tơ mịn và mượt, mạch máu dưới da dày đặc. Ở cả hai lô thử mặt nạ liều 0,2 mL/ngày (lô thử 1) và liều 0,4 mL/ngày (lô thử 2), da chuột có mềm hơn da chuột lô mô hình, lớp lông tơ hơi thô, da lưu màu thuốc thử, mạch máu dưới da nhiều hơn lô mô hình nhưng vẫn kém lô bôi vitamin E 1%.



Hình 1. Hình ảnh đại thể và mạch máu dưới da chuột

3.2. Tác dụng của mặt nạ đến độ ẩm da

Kết quả được trình bày ở Hình 2 cho thấy độ ẩm da của lô mô hình giảm rõ rệt so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$). Vitamin E 1% liều 0,2 mL/ngày (chứng dương), mặt nạ liều 0,2 mL/ngày và 0,4 mL/ngày đều làm tăng rõ rệt độ ẩm da chuột so với lô mô hình (tăng 7,86%, 7,61% và 6,74%, $p < 0,05$). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về độ ẩm da giữa lô thử 1 và lô thử 2, cũng như giữa hai lô thử và lô chứng dương ($p > 0,05$).

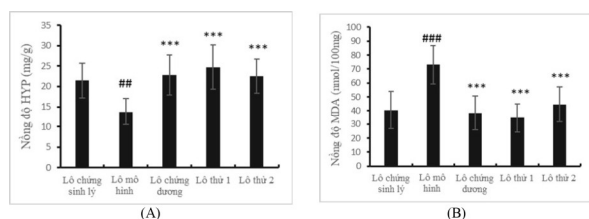


Hình 2. Tác dụng của mặt nạ đến độ ẩm da chuột
Ghi chú: ###: $p < 0,001$ so với lô chứng sinh lý;
*: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$ so với lô mô hình.

3.3. Tác dụng của mặt nạ đến nồng độ hydroxyprolin và malondialdehyd

Kết quả ở Hình 3A cho thấy nồng độ HYP trong da chuột của lô mô hình giảm rõ rệt so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$). Vitamin E 1% liều 0,2 mL/ngày, mặt nạ liều 0,2 mL/ngày và 0,4 mL/ngày đều làm tăng rõ rệt nồng độ HYP so với lô mô hình (tăng 65,55%, 79,95% và 63,76%, $p < 0,001$). Nồng độ HYP trong da chuột của lô thử liều 0,2 mL/ngày có xu hướng cao hơn so với lô thử liều 0,4 mL/ngày và vitamin E 1% liều 0,2 mL/ngày ($p > 0,05$).

Nhóm nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của mặt nạ đến chỉ số oxy hóa trong da chuột thông qua hàm lượng MDA, một sản phẩm của quá trình oxy hóa khi da bị lão hóa. Kết quả được trình bày ở Hình 3B. Hàm lượng MDA của da chuột lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$). Vitamin E 1% liều 0,2 mL/ngày (chứng dương), mặt nạ liều 0,2 mL/ngày và 0,4 mL/ngày đều làm giảm rõ rệt hàm lượng MDA so với lô mô hình (giảm 47,74%, 52,67% và 39,17%, $p < 0,001$). Hàm lượng MDA trong da chuột của lô thử liều 0,4 mL/ngày cao hơn so với lô thử liều 0,2 mL/ngày và vitamin E 1% liều 0,2 mL/ngày ($p > 0,05$).



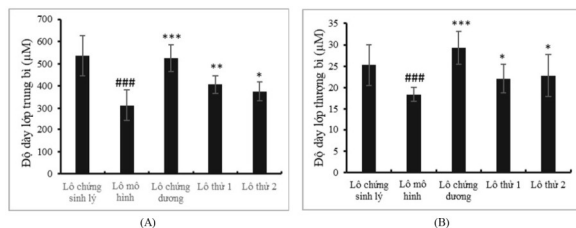
Hình 3. Tác dụng của mặt nạ đến nồng độ HYP (A) và MDA (B) trong da chuột

Ghi chú: ##, ###: $p < 0,01$, $p < 0,001$ so với lô chứng sinh lý; ***: $p < 0,001$ so với lô mô hình

3.4. Tác dụng của mặt nạ đến độ dày lớp thượng bì và trung bì

Kết quả được trình bày ở Hình 4 cho thấy độ dày lớp thượng bì và trung bì của da chuột lô mô hình giảm rõ rệt so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$). Vitamin E 1% liều 0,2 mL/ngày (chứng dương), mặt nạ liều 0,2 mL/ngày và 0,4 mL/ngày

đều làm tăng rõ rệt độ dày lớp thượng bì và trung bì da chuột so với lô mô hình ($p < 0,05$). Độ dày lớp thượng bì và trung bì da chuột của lô thử cả hai liều đều nhỏ hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng dương ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh độ dày lớp trung bì và thượng bì giữa lô bôi mặt nạ liều 0,2 mL/ngày và 0,4 mL/ngày ($p > 0,05$).



Hình 4. Tác dụng của mặt nạ đến độ dày lớp trung bì (A) và độ dày lớp thượng bì (B) da chuột

Ghi chú: ###: $p < 0,001$ so với lô chứng sinh lý; *, **, ***: $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ so với lô mô hình

4. Bàn luận

Mô hình thí nghiệm gây lão hóa da bằng D-galactose có nhiều ưu điểm do chất này có khả năng kích hoạt các quá trình sinh lý tương tự như lão hóa tự nhiên, giúp mô phỏng được các đặc điểm lão hóa da. Tiêm D-galactose dưới da chuột (nhất và cống) làm da mỏng đi, thay đổi màu sắc lông và các đặc điểm bề ngoài của da như xuất hiện nếp nhăn và rãnh, phá hủy các nang lông. Tiêm D-galactose dưới da làm giảm hình thành mạch máu mới, giảm độ ẩm của da, giảm tổng lượng collagen trong da chuột, giảm sút collagen loại I và gia tăng số lượng sợi collagen loại III, nên các sợi collagen trong da trở nên thưa thớt, mảnh hoặc bị đứt; giảm elastin nên làm giảm và mỏng đi của các sợi đàn hồi. Tiêm D-galactose dưới da cũng làm tăng nồng độ MDA, ức chế hoạt động của SOD và GSH-Px trong huyết thanh và mô não do tình trạng lão hóa da, làm giảm nồng độ HYP [10]. Là một amino acid quan trọng trong cấu trúc collagen của da nên giảm nồng độ HYP thường phản ánh tình trạng lão hóa, cung cấp thông tin về stress oxy hóa nên HYP được sử dụng để đánh giá hiệu quả của các liệu pháp chống lão hóa và cải thiện độ đàn hồi của da [11]. Mô hình này cũng đánh giá nhiều chỉ số sinh học liên quan đến lão hóa, bao gồm mức độ collagen, elastin và các dấu hiệu stress oxy hóa như MDA và GSH [10].

Trong nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu đã sử dụng D-galactose gây lão hóa da ở chuột nhắt trắng để đánh giá hiệu quả chống lão hóa da của mặt nạ chứa cao dương xỉ DC kết hợp với astaxanthin. Đây là liều đã được lựa chọn trong nghiên cứu gây lão hóa da trên chuột dựa trên các nghiên cứu đã công bố [9]. Chuột được tiêm dưới

da D-galactose liều 1000 mg/kg trong 42 ngày để gây mô hình lão hóa da thành công thông qua việc thay đổi hình ảnh đại thể và mạch máu dưới da, giảm nồng độ HYP, tăng hàm lượng MDA trong da chuột, giảm độ dày lớp thượng bì và trung bì da chuột của mô hình so với mô hình sinh lý. Kết quả cho thấy mặt nạ chứa cao dương xỉ DC có tác dụng chống lão hóa da trên chuột nhắt trắng với 2 mức liều 0,2 mL/ngày và 0,4 mL/ngày, sử dụng trong 42 ngày. Ở cả 2 mức liều trên mặt nạ đều làm cải thiện rõ rệt về đại thể và vi thể da, tăng độ ẩm da, tăng độ dày lớp thượng bì và lớp trung bì da chuột so với mô hình.

Chất đối chứng dương trong nghiên cứu là vitamin E, một chất chống oxy hóa mạnh, giúp bảo vệ tế bào khỏi tổn thương do gốc tự do, một yếu tố chính trong quá trình lão hóa da có khả năng cải thiện độ ẩm và đàn hồi của da, giúp làm giảm các dấu hiệu lão hóa, từ đó tạo ra một tiêu chuẩn để so sánh hiệu quả của các liệu pháp điều trị [12]. Trong công thức của mặt nạ có cao dương xỉ DC chứa 15% polyphenol, là thành phần có tác dụng chống oxy hóa và lão hóa da của mặt nạ. Hiện nay chưa có nghiên cứu nào chứng minh tác dụng chống lão hóa của dương xỉ *Dryopteris crassirhizoma* trên thực nghiệm được công bố. Nhiều polyphenol từ dược liệu là thành phần chống lão hóa và làm giảm tốc độ và cường độ hình thành nếp nhăn [13]. Trong công thức bào chế mặt nạ có cao dương xỉ DC có chứa polyphenol có tác dụng chống oxy hóa, chống

viêm [14] và còn có astaxanthin là một xanthophyll carotenoid làm giảm sự hình thành nếp nhăn, giảm TEWL và duy trì chức năng hàng rào biểu bì ở da lưng của chuột không lông HR-1 khi tiếp xúc với tia UVA nhờ tác dụng chống oxy hóa của nó, so với nhóm đối chứng. Astaxanthin có tác dụng ức chế collagenase, hoạt động của MMP, chất trung gian gây viêm và cảm ứng ROS, dẫn đến tác dụng chống nhăn và chống oxy hóa mạnh mẽ [15]. Vì vậy, có thể là sự kết hợp polyphenol của cao dương xỉ DC với astaxanthin làm điều chỉnh các con đường truyền tín hiệu liên quan đến quá trình lão hóa trong các nguyên bào sợi da giúp cải thiện cấu trúc lớp hạ bì của da nên làm chậm tiến trình lão hóa da.

5. Kết luận

Mặt nạ chứa cao dương xỉ DC và astaxanthin có tác dụng chống lão hóa da trên chuột nhắt trắng bị gây lão hóa bằng D-galactose ở cả hai liều thứ là 0,2 mL/lần, 01 lần/ngày và 0,2 mL/lần, 02 lần/ngày, bôi liên tục trong 42 ngày, thông qua tác dụng cải thiện đại thể và vi thể da chuột, tăng tuổi máu da, tăng nồng độ hydroxyprolin, giảm nồng độ MDA, tăng độ dày lớp trung bì và thượng bì so với mô hình. Tác dụng tương đương với chứng dương sử dụng là vitamin E 1% liều 0,2 mL/ngày. Kết quả gợi ý cần tiếp tục nghiên cứu phát triển mặt nạ chứa cao dương xỉ DC và astaxanthin để sử dụng cho mục đích chống lão hóa da trên người.

Tài liệu tham khảo

1. Wong Q. Y. A., Chew F. T. (2021), Defining skin aging and its risk factors: a systematic review and meta-analysis, *Scientific Reports* 11, 11(1), 1-13.
2. Facial Mask Market - Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends and Forecast 2017-2025 [https://www.transparencymarketresearch.com/facial-mask-market.html] (Truy cập ngày 13 tháng 12 năm 2024).
3. Lee S. M., Na M. K., Na R. B., Min B. S., Lee H. K. (2003), Antioxidant activity of two phloroglucinol derivatives from *Dryopteris crassirhizoma*, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(9), 1354-6.
4. Gao Z., Ali Z., Zhao J., Qiao L., Lei H., Lu Y., Khan I. A. (2008), Phytochemical investigation of the rhizomes of *Dryopteris crassirhizoma*, *Phytochemistry Letters*, 1(4), 188-90.
5. Wang Z., Wang N., Han D., Yan H. (2022), Characterization of tyrosinase inhibitors in *Dryopteris crassirhizoma* Rhizome using a combination of high-speed counter-current chromatography, affinity-based ultrafiltration, and liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Frontiers in Nutrition*, 9, 862773, 1-11.
6. Zhao Y., Hu W., Zhang H., Ding C., Huang Y., Liao J., Zhang Z., Yuan S., Chen Y., Yuan M. (2019), Antioxidant and immunomodulatory activities of polysaccharides from the rhizome of *Dryopteris crassirhizoma* Nakai, *International Journal of Biological Macromolecules*, 130, 238-44.
7. Lima S. G. M., Freire M. C. L. C., Oliveira V. da S., Solisio C., Converti A., de Lima Á. A. N. (2021), Astaxanthin delivery systems for skin application: A review, *Marine Drugs*, 19(9), 511.
8. Chen H., Long Y., Guo L. (2016), Antiaging effect of *Inula britannica* on aging mouse model induced by D-galactose, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, 6049083, 1-8.
9. Ye Y., Jia R. R., Tang L., Chen F. (2014), *In vivo* antioxidant and anti-skin-aging activities of ethyl acetate extraction from *Idesia polycarpa* defatted fruit residue in aging mice induced by D-galactose, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 185716, 1-12.
10. Umbayev B., Askarova S., Almabayeva A., Saliev T., Masoud A. R., Bulanin D. (2020), Galactose-induced skin aging: The role of oxidative stress, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 7145656, 1-15.
11. Udenfriend S. (1966), Formation of hydroxyproline in collagen, *Science*, 152(3727), 1335-40.
12. Thiele J.J., Ekanayake-Mudiyanselage S. (2007), Vitamin E in human skin: Organ-specific physiology and considerations for its use in dermatology, *Molecular Aspects of Medicine*, 28(5-6), 646-67.
13. Menaa F., Menaa A., Tréton J. (2014), Polyphenols against skin aging, *Polyphenols in Human Health and Disease*, 1, 819-30.
14. Bai Q. X., Zhang Z. J., Tang H. P., Yang B. Y., Kuang H. X., Wang M. (2024), *Dryopteris crassirhizoma* Nakai.: A review of its botany, traditional use, phytochemistry, pharmacological activity, toxicology and pharmacokinetics, *Journal of Ethnopharmacology*, 328, 118109, 1-19.
15. Davinelli S., Nielsen M. E., Scapagnini G. (2018), Astaxanthin in skin health, repair, and disease: A comprehensive review, *Nutrition* 2018, 10(4), 522.