

HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA VÀ KHÁNG VIÊM IN VITRO CỦA CAO CHIẾT NẤM *CORDYCEPS TAKAOMONTANA* DL0038A PHÂN LẬP TẠI VIỆT NAM

Lâm Khắc Kỷ^{1,2,3}, Lê Thị Kim Cương³, Văn Thị Xuân Thương³,

Đinh Minh Hiệp⁴, Ngô Đại Hùng⁵

(1) Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Thành phố Hồ Chí Minh; (2) Đại học Quốc gia Hồ Chí Minh

(3) Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh

(4) Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn Thành phố Hồ Chí Minh

(5) Trường Đại học Thủ Dầu Một, Bình Dương

Liên hệ Email: lamkhacky@iuh.edu.vn, hungnd@tdmu.edu.vn

<https://doi.org/10.37550/tdmu.VJS/2021.02.168>

Tóm tắt

Nấm *Cordyceps takaomontana* được tìm thấy tại đỉnh núi LangBiang, Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam ở độ cao 1650m trên mực nước biển. *C. takaomontana* thuộc nhóm nấm ký sinh côn trùng được sử dụng trong y học cổ truyền ở các nước Châu Á hàng trăm năm qua do các hoạt tính sinh học có giá trị cao như kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng ung thư... Trong nghiên cứu này, cao chiết từ sinh khối nấm và quả thể nấm *C. takaomontana* DL0038A được nuôi cấy lỏng – tĩnh và khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa in vitro bằng phương pháp thử năng lực khử, bắt gốc tự do DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) và ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate); và hoạt tính kháng viêm bằng phương pháp ức chế xanthine oxidase (XO) và ức chế biến tính bovine serum albumin (BSA). Kết quả cho thấy tất cả 7 loại cao chiết của sinh khối nấm đều có hoạt tính cao hơn quả thể. Phân đoạn cao chiết ethyl acetate (EtOAc) của sinh khối nấm có năng lực khử cao nhất với mật độ quang 0,124 tại 1000µg/ml, và hoạt tính bắt gốc tự do DPPH cao nhất ($IC_{50} = 785,4 \pm 15,689\mu g/ml$); trong khi đó cao polysaccharides (IPS) từ sinh khối nấm cho khả năng bắt gốc ABTS cao nhất ($IC_{50} = 822,370 \pm 6,210\mu g/ml$). Thêm vào đó, phân đoạn cao chiết petroleum ether (PE) sinh khối nấm có khả năng ức chế sự biến tính của BSA bởi nhiệt cao nhất ($IC_{50} = 139,790 \pm 18,044\mu g/ml$) và cao tổng ethanol (EtOH) sinh khối nấm ức chế XO cao nhất ($IC_{50} = 236,564 \pm 5,533\mu g/ml$). Kết quả cho thấy *C. takaomontana* DL0038A có thể được ứng dụng như là nguồn nguyên liệu hoạt tính sinh học tiềm năng trong sản xuất thực phẩm chức năng.

Từ khóa: *Cordyceps takaomontana*, kháng oxy hóa, kháng viêm, ức chế xanthine oxydase (XO), ức chế sự biến tính bovine serum albumin (BSA)

Abstract

ANTIOXIDANT AND ANTIINFLAMMATORY ACTIVITIES IN VITRO OF CORDYCEPS TAKAOMONTANA DL0038A EXTRACTS ISOLATED IN VIETNAM

Cordyceps takaomontana was found on the LangBiang mountain – Da Lat, Lam Dong province, Vietnam at the height of 1650m above sea level. *C. takaomontana* belongs to the group of insect parasitic fungi used in traditional medicine in Asian countries for hundreds of years because of high value biological activities such as antioxidant, antiinflammatory, anticancer... In this study, extracts from *C. takaomontana* DL0038A fungi biomass and fruiting body were cultured in liquid – static media and investigated antioxidant activity by the methods of reducing power, free radicals scavenging such as DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate); and antiinflammatory effect by the techniques of inhibiting xanthine oxydase (XO) and bovine serum albumine (BSA) denaturation. The results demonstrated that all seven fungal biomass extracts possessed antioxidant and antiinflammatory activities higher than the fruiting bodies. The ethyl acetate (EtOAc) extract from fungal biomass exhibited the strongest reducing power with the absorbance of 0.124 at the concentration of 1000 μ g/ml, and DPPH scavenging activity ($IC_{50} = 785.4 \pm 15.689\mu$ g/ml); meanwhile the polysaccharides (IPS) extract from fungal biomass showed the highest ABTS scavenging capacity ($IC_{50} = 822.370 \pm 6.210\mu$ g/ml). Moreover, the petroleum ether (PE) extract from fungal biomass inhibited the thermal denaturation of BSA with the IC_{50} value of $139.790 \pm 18.044\mu$ g/ml and the ethanol (EtOH) extract from fungal biomass showed the highest XO inhibitory effect with the IC_{50} value of $236.564 \pm 5.533\mu$ g/ml. All results showed that *C. takaomontana* DL0038A could be applied as potential bioactive materials in the production of functional food ingredients.

Keywords: *Cordyceps takaomontana*, antioxidant, antiinflammatory, xanthine oxydase (XO) inhibition, bovine serum albumine (BSA) inhibition

1. Giới thiệu

Gốc tự do gây ra nhiều bệnh nguy hiểm như ung thư, viêm, tim mạch và các bệnh suy giảm miễn dịch do phản ứng mạnh với các phân tử protein, DNA và các axit béo trong cơ thể. Các hợp chất chống oxy hóa như polyphenol và flavonoid có tác dụng làm sạch các gốc tự do.

Cordyceps là nhóm nấm ký sinh côn trùng có giá trị dược liệu cao, chứa các hoạt chất sinh học có tác dụng kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng dị ứng, điều hòa miễn dịch, kháng ung thư, kháng đái tháo đường, kháng khuẩn... (Nxumalo và cs., 2020; Olatunji và cs., 2018). *Cordyceps* phân bố nhiều nơi trên thế giới nhưng chủ yếu được

tìm thấy ở Châu Á (đáng chú ý là Trung Quốc, Thái Lan, Nhật Bản và Việt Nam) (Sung và cs., 2007). Việt Nam là một nước có điều kiện khí hậu thích hợp cho sự phát triển của nấm *Cordyceps*. Đặc biệt, *C. takaomontana* được tìm thấy ở Vườn Quốc Gia, Ba Vì, Hà Nội và Vườn Quốc gia, Tam Đảo, Vĩnh Phúc bởi Phạm Quang Thu và Nguyễn Mạnh Hà (2010); và vùng núi Langbiang, Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng bởi Đinh Minh Hiệp và cs., (2017). Đáng chú ý, Nguyễn Thị Thanh Lan và cs., (2018) đã tiến hành nghiên cứu về liều gây độc của cao chiết *C. takaomontana* cho thấy rằng chiết xuất của loại nấm này là an toàn và không gây độc khi thử nghiệm trên chuột bạch. Hama và cs., (2019) tách chiết được hai hợp chất mới cordytakaoamides A và B từ *C. takaomontana* NBRC 101754. Tuy nhiên, chưa có nhiều công bố về hoạt tính sinh học của nấm *C. takaomontana*. Vì vậy, trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm của cao chiết từ nấm *C. takaomontana* được xác định nhằm ứng dụng làm thực phẩm chức năng trong hỗ trợ và điều trị viêm và các bệnh liên quan.

2. Vật liệu – phương pháp

2.1. Vật liệu

Chủng giống *C. takaomontana* DL0038A ở độ cao 1650m tại đỉnh núi Lang Biang, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam do nhóm tác giả Đinh Minh Hiệp thu nhận được (Đinh Minh Hiệp và cs., 2017).

2.2. Phương pháp nhân giống

Nhân giống cấp 1: Hoạt hóa giống để khôi phục lại hoạt tính giống vi sinh vật sau quá trình giữ giống.

Chuẩn bị giống cấp 2: Cấy chuyển giống cấp 1 từ môi trường thạch sang môi trường lỏng giàu dinh dưỡng hơn để nhân nhanh số lượng hệ sợi nấm *C. takaomontana* DL0038A trước khi cấy giống vào môi trường nuôi cấy.

Cấy 2 khoanh giống cấp 1 vào erlen chứa 200ml môi trường Potato Glucose đã hấp khử trùng. Ủ 20-25°C, từ 10-12 ngày.

2.3. Phương pháp nuôi cấy lỏng – tĩnh

Sinh khối (hệ sợi nấm): Chủng nấm được nuôi cấy trên môi trường lỏng – tĩnh trong hộp nhựa polypropylen (dung tích 500ml, đường kính 120mm). Thành phần môi trường gồm: 200ml dịch dinh dưỡng có tỷ lệ 20% dịch khoai tây; 0,05% sucrose; 0,006% peptone; 0,004% cao nấm men; 0,0005% KH_2PO_4 và 0,0002% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Tỷ lệ giống lỏng nuôi tĩnh trong 5 ngày, cấy vào 4%, nuôi ở nhiệt độ 23°C. Sinh khối được thu sau 40 ngày kể từ khi cấy giống.

2.4. Phương pháp chiết cao

Quy trình chiết dựa theo phương pháp chiết của Nguyễn Kim Phi Phụng (2007).

Sinh khối và quả thể *C. takaomontana* DL0038A được sấy khô, xay nhỏ và ethanol 96°.

Sinh khối được chiết ngấm kiệt trong ethanol 96° trong 24 giờ, cô cạn dịch chiết thu được cao ethanol (EtOH – cao tổng). Cao tổng tiếp tục chiết phân đoạn theo độ phân cực tăng dần petroleum ether (PE), ethyl acetate (EtOAc), n-butanol (n-BuOH) và nước. Sử dụng phương pháp cô quay để cô đuổi dung môi thu được cao. Dịch nuôi cấy sinh khối được rửa với ethanol 96° lạnh thu được cao exopolysaccharide (EPS). Bã sinh khối sau khi chiết với ethanol 96°, bã sinh khối được giữ lại và đem phơi khô. Tiến hành chiết cao nước bằng cách đun sôi bã sinh khối với nước theo tỷ lệ 1:10 (w/v). Lượng nước được chia làm ba phần để đun sôi bã sinh khối, mỗi lần trong 60 phút. Dịch được lọc, ly tâm loại cặn và cô quay đuổi nước để thu được cao polysaccharide (IPS).

2.5. Phương pháp xác định năng lực khử

Dựa trên khả năng khử Fe^{3+} trong phân tử $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ thành Fe^{2+} trong $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, chất này tạo phức màu xanh với Fe^{3+} có độ hấp thụ cực đại tại bước sóng 700nm. Phương pháp được thực hiện theo Ferreira và cs., (2007) có sự thay đổi cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Cho 0,5ml đệm sodium phosphat 0,2 M pH 6 vào 0,2ml dung dịch mẫu. Thêm 0,5ml dung dịch $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1% vào hỗn hợp trên, lắc đều. Ủ ở 50°C trong 20 phút. Thêm 0,5ml dung dịch Trichloroacetic acid 10%, lắc đều. Hút 0,8ml dịch nổi vào 2ml nước cất. Thêm vào 0,4ml FeCl_3 1%. Đo mật độ quang ở bước sóng 700nm. Mật độ quang của dung dịch ở bước sóng 700nm càng cao thể hiện năng lực khử của dung dịch thử nghiệm càng cao. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.6. Phương pháp xác định hoạt tính bắt gốc tự do DPPH

Nguyên tắc của phương pháp dựa trên khả năng bắt gốc tự do DPPH của các chất kháng oxy hóa theo Sharma và Bhat có sự thay đổi phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm (Sharma và cs., 2009). Cho 0,5ml dung dịch mẫu vào 0,75ml dung dịch DPPH, vortex cho đều và ủ 30 phút trong tối ở nhiệt độ phòng. Đo mật độ quang ở bước sóng 517nm. Mẫu trắng gồm 0,5ml dung dịch mẫu thử vào 0,75ml dung dịch methanol 80%. Ống không gồm 0,5ml dung dịch methanol 80% và 0,75ml dung dịch DPPH. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Nồng độ ức chế 50% (IC_{50}) càng thấp chứng tỏ hoạt tính càng cao.

$$\text{Tỷ lệ bắt gốc DPPH (\%)} = \frac{\text{OD}_{\text{ống không}} - (\text{OD}_{\text{mẫu}} - \text{OD}_{\text{trắng}})}{\text{OD}_{\text{ống không}}} \times 100$$

Với $\text{OD}_{\text{trắng}}$: mật độ quang của mẫu trắng, $\text{OD}_{\text{mẫu}}$: mật độ quang của mẫu thử, $\text{OD}_{\text{ống không}}$: mật độ quang của ống không.

2.7. Phương pháp xác định hoạt tính bắt gốc tự do ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazonline-6-sulfonate))

Thử nghiệm hoạt tính bắt gốc tự do ABTS được tiến hành theo phương pháp của Nenadis và cs., (2004) với thay đổi cho phù hợp điều kiện phòng thí nghiệm. Dung dịch gốc tự do ABTS được chuẩn bị bằng cách cho 2ml dung dịch ABTS nồng độ 7mM vào

2ml dung dịch $K_2S_2O_8$ nồng độ 2,45mM rồi ủ dung dịch ở bóng tối trong 16 giờ, sau đó pha loãng bằng ethanol (khoảng 50 lần) rồi điều chỉnh độ hấp thu của dung dịch ở bước sóng 734nm có mật độ quang là $0,7 \pm 0,02$. Thí nghiệm được tiến hành bằng cách cho 3000 μ l dung dịch ABTS vào 100 μ l dung dịch mẫu cần phân tích, ủ tối trong 30 phút, đo OD 734nm. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần và kết quả được biểu diễn bằng giá trị $IC_{50}\mu$ g/ml.

2.8. Phương pháp xác định hoạt tính ức chế xanthine oxidase (XO)

Xanthine oxidase (XO) là enzyme xúc tác sự chuyển hóa hình thành acid uric, và được xem là nguyên nhân gây nên tình trạng tăng acid uric (Huỳnh Thư và cs., 2017). Axit uric có bước sóng hấp thu cực đại tại 290nm. Nếu mẫu thử có khả năng ức chế XO càng cao sẽ hạn chế sự hình thành axit uric, do đó sẽ làm giảm giá trị mật độ quang. Mẫu có chất thử được so sánh với mẫu không có chất thử để đánh giá tác dụng ức chế XO. Hỗn hợp phản ứng ban đầu chứa XO 0,05 UI (XO pha loãng trong dung dịch đệm kali phosphate 50mM pH 7,5 lạnh) và mẫu thử ở các nồng độ khác nhau (mẫu gốc trong dung dịch DMSO 5%), được ủ ở nhiệt độ phòng (25°C) trong 15 phút. Sau đó phản ứng được bổ sung xanthine với nồng độ 400 μ g/ml, ủ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau cùng cho dung dịch HCl 1 N để dừng phản ứng. Hỗn hợp phản ứng sau đó được đo độ hấp thu bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 290nm. Song song với mỗi mẫu thử có một mẫu trắng được tiến hành tương tự nhưng không cho enzyme XO vào giếng và thay thế tích enzyme bằng đệm. Đồng thời không ủ mẫu mà cho HCl vào để kết thúc phản ứng. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

$$\text{Phần trăm ức chế} = (OD_{\text{trắng}} - OD_{\text{mẫu}}) \times 100 / OD_{\text{trắng}} (\%)$$

Với $OD_{\text{trắng}}$: mật độ quang của mẫu trắng (thay enzyme XO bằng đệm), $OD_{\text{mẫu}}$: mật độ quang của mẫu thử.

2.9. Phương pháp xác định hoạt tính ức chế biến tính bovine serum albumin bởi nhiệt

Hoạt tính kháng viêm được đánh giá thông qua khảo sát ức chế biến tính bovine serum albumin (BSA) trên mô hình in vitro của Trần Quốc Tuấn và cộng sự (2014). Hút 2ml đệm acetate 0,025M (pH 5,5), bổ sung thêm 1ml albumin huyết thanh bò 0,16% và 1ml cao chiết (hòa tan với dung dịch DMSO 5% pha trong đệm acetate 0,025M, pH 5,5) với các nồng độ khác nhau. Sau đó ủ ở 37°C trong 20 phút, tiếp tục ủ trong 67°C trong 3 phút, sau đó làm lạnh dưới vòi nước. Đo dung dịch ở bước sóng 660nm. Các thí nghiệm được thực hiện 3 lần.

$$\text{Phần trăm ức chế} = [(OD_{\text{trắng}} - OD_{\text{mẫu}}) \times 100] / OD_{\text{trắng}}$$

Với $OD_{\text{trắng}}$: mật độ quang của mẫu trắng (thay cao chiết bằng đệm), $OD_{\text{mẫu}}$: mật độ quang của mẫu.

2.10. Xử lý số liệu

Số liệu được phân tích và xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS. Các biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Sigma plot 2010.

3. Kết quả và thảo luận

3.1 Nuôi sinh khối

Sau 40 ngày nuôi cấy lỏng – tĩnh, sinh khối *C. takaomontan* DL0038A thu được gồm sinh khối tươi và sinh khối khô như hình 1.



Hình 1. (A) Sinh khối tươi và (B) Sinh khối khô của *C. takaomontan* DL0038A

Sinh khối nấm và quả thể được chiết với dung môi ethanol 96°. Từ cao ethanol tổng, các cao phân đoạn được thu nhận bằng cách lắc phân đoạn lần lượt với các dung môi hữu cơ với tính phân cực tăng dần: PE, EtOAc, n-BuOH và nước. Từ dịch nuôi cấy sinh khối thu được cao EPS và từ bã sinh khối thu được cao IPS. Tất cả các cao chiết được sử dụng cho các thí nghiệm xác định hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm tiếp theo.

3.2. Kết quả năng lực khử

Năng lực khử là hoạt tính khá quan trọng trong việc thể hiện khả năng kháng oxy hóa của mẫu cho thấy sự hiện diện các chất khử. Năng lực khử của các cao chiết ở nồng độ 1000 μ g/ml được trình bày trong bảng 1, cao chiết có mật độ quang càng cao thể hiện năng lực khử càng mạnh.

Bảng 1. Kết quả mật độ quang thử năng lực khử của các loại cao chiết *C. takaomontana* DL0038A ở nồng độ 1000 μ g/ml.

Cao chiết	Sinh khối	Quả thể
Cao EtOH	0,186	0,093
Cao PE	0,060	0,048
Cao EtOAc	0,124	-
Cao n-BuOH	0,076	0,088
Cao nước	0,107	0,076
Cao IPS	0,071	0,196
Cao EPS	0,113	-

(-) Không tìm được giá trị trong khoảng khảo sát.

Dựa vào số liệu ở bảng 1, cao tổng EtOH của sinh khối nấm là cao có năng lực khử vượt trội nhất với mật độ quang là 0,186 ở nồng độ 1000 μ g/ml. Đây là cao tổng nên chứa các hợp chất có khả năng khử. Phân đoạn cao EtOAc của sinh khối nấm có mật độ quang 0,124 cao nhất trong các phân đoạn cao thu được cho thấy các hợp chất có khả năng khử tập trung trong phân đoạn cao này.

3.3. Kết quả hoạt tính bắt gốc tự do DPPH

Các mẫu cao chiết mà có khả năng bắt các gốc tự do DPPH chứng tỏ trong cao chiết có chứa các hợp chất có khả năng cho H^+ và chuyển điện tử, vì thế, có khả năng ngăn chặn phản ứng của các gốc tự do (Oh JY và cs., 2005). Kết quả bắt gốc tự do DPPH của các cao chiết được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Giá trị IC_{50} của chứng dương vitamin C ($2,45 \pm 0,07\mu$ g/ml) và các cao chiết khi khảo sát khả năng bắt gốc DPPH

Cao chiết	Sinh khối (μ g/ml)	Quả thể (μ g/ml)
Cao EtOH	$626,613 \pm 10,655$	-
Cao PE	$1998,072 \pm 28,291$	-
Cao EtOAc	$785,4 \pm 15,689$	-
Cao n-BuOH	$1735,789 \pm 31,785$	$889,196 \pm 13,561$
Cao nước	$1119,188 \pm 25,387$	-
Cao IPS	X	X
Cao EPS	X	X

(-) Không tìm được giá trị IC_{50} trong khoảng khảo sát.

(X) Không tiến hành thí nghiệm do cao không hòa tan trong dung môi khảo sát.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy IC_{50} của cao EtOAc sinh khối nấm *C. takaomontana* DL0038A thấp nhất khi khảo sát ($785,4 \pm 15,689\mu$ g/ml), điều này cho thấy cao chiết này có chứa một số chất có hoạt tính bắt gốc tự do DPPH cao nhất. Do đó, phân đoạn cao chiết EtOAc là cao tiềm năng có chứa các hợp chất có khả năng trung hoà gốc tự do cũng như năng lực khử trước đó.

3.4. Kết quả hoạt tính bắt gốc tự do ABTS

Mẫu khảo sát có khả năng bắt gốc tự do ABTS chứng tỏ trong mẫu có chứa các hợp chất có khả năng nhường H^+ hoặc chuyển các electron cho các gốc tự do một cách trực tiếp, tạo thành các sản phẩm ổn định hơn (Nenadis và cs., 2004). Khả năng bắt gốc tự do ABTS của các cao chiết giúp kiểm tra đối chứng với kết quả của phương pháp DPPH, đồng thời giúp khảo sát tiếp khả năng bắt gốc tự do của các cao phân đoạn không tan trong nước ở phương pháp DPPH. Kết quả bắt gốc tự do ABTS được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Giá trị IC_{50} khi khảo sát khả năng bắt gốc tự do ABTS của các cao chiết

Cao chiết	Sinh khối (μ g/ml)	Quả thể (μ g/ml)
-----------	-------------------------	-----------------------

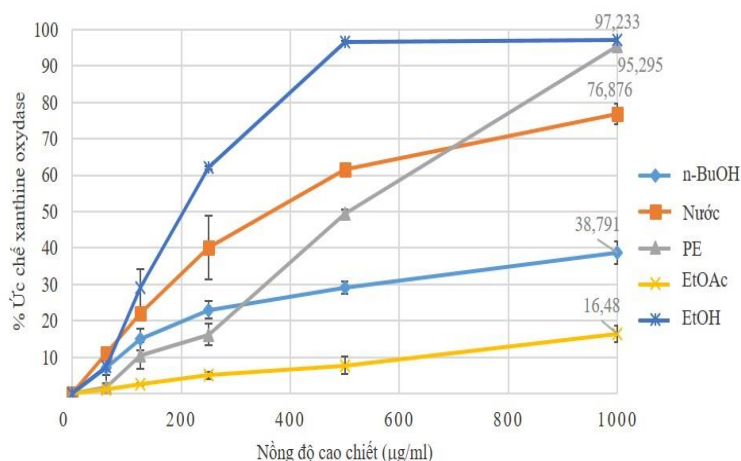
Cao EtOH	2058,397 ± 16,648	1921,285 ± 8,983
Cao PE	1235,235 ± 18,256	1536,123 ± 9,253
Cao EtOAc	1009,756 ± 10,917	1132,214 ± 2,145
Cao n-BuOH	1646,487 ± 34,656	991,365 ± 11,192
Cao nước	1488,214 ± 14,563	2473,634 ± 21,198
Cao IPS	822,370 ± 6,210	970,385 ± 13,249
Cao EPS	1072,845 ± 12,230	-

(-) không tìm được giá trị IC_{50} trong khoảng khảo sát

Kết quả ở bảng 3 cho thấy phân đoạn cao EtOAc sinh khối với giá trị $IC_{50} = 1009,756 \pm 10,917 \mu\text{g/ml}$ phù hợp với kết quả thử DPPH là phân đoạn cao EtOAc tiềm năng có chứa các hợp chất kháng oxy hoá. Đồng thời, cao IPS ở cả sinh khối và quả thể (IC_{50} lần lượt là $822,370 \pm 6,21$ và $970,385 \pm 13,249 \mu\text{g/ml}$) cũng có chứa các hợp chất kháng oxy hoá tiềm năng. Kết quả cho thấy phân đoạn cao chiết tiềm năng có chứa các hợp chất có khả năng kháng oxy hoá ở nấm *C. takaomontana* DL0038A là phân đoạn cao EtOAc và phân đoạn cao IPS.

3.5. Kết quả hoạt tính ức chế xanthine oxydase

Xanthine oxidase (XO) là một enzyme có khả năng oxy hóa các purin thành sản phẩm cuối cùng là axit uric. Tăng acid uric là nguyên nhân chính gây viêm khớp (bệnh gout) và các bệnh liên quan chuyển hóa như tiểu đường, béo phì, cao huyết áp và tim mạch (Huỳnh Thư và cs., 2017). Do đó, sau khi xác định được phân đoạn cao tiềm năng có chứa các hợp chất có hoạt tính kháng oxy hoá, khả năng ức chế enzyme XO của các cao chiết tiếp tục được thực hiện. Kết quả ở hình 2 và bảng 4 cho thấy khả năng ức chế enzyme XO của các cao chiết.



Hình 2. Khả năng ức chế xanthine oxydase của cao sinh khối nấm

Bảng 4. Khả năng ức chế xanthine oxydase của các cao chiết với giá trị IC_{50}

Cao chiết	Sinh khối ($\mu\text{g/ml}$)	Quả thể ($\mu\text{g/ml}$)
-----------	--------------------------------	------------------------------

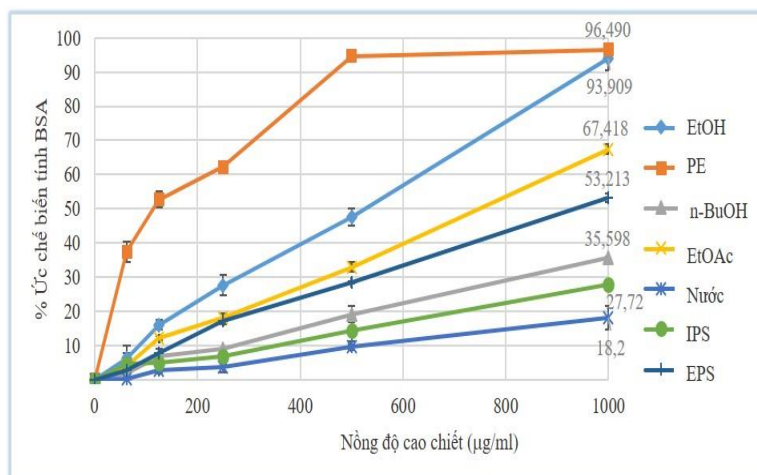
Cao EtOH	236,564 ± 5,533	-
Cao PE	536,530 ± 13,942	-
Cao EtOAc	-	-
Cao n-BuOH	-	-
Cao nước	400,712 ± 9782	-
Cao IPS	-	-
Cao EPS	-	-

(-) không tìm được giá trị IC_{50} trong khoảng khảo sát

Theo kết quả ở bảng 4, ba phân đoạn có khả năng ức chế XO với giá trị IC_{50} là EtOH, PE và cao nước của sinh khối nấm. Kết quả ở hình 2 cho thấy cao EtOH có khả năng ức chế enzyme XO mạnh nhất là 97,233% tại nồng độ 500 μ g/ml và IC_{50} là 236,564 ± 5,533 μ g/ml, trong khi các cao chiết khác có khả năng ức chế XO thấp hơn. Khả năng ức chế XO của cao EtOH cao hơn so với các cao phân đoạn còn lại có thể do chứa các hợp chất kháng oxy hóa tiềm năng. Kết quả này cũng tương tự như các nghiên cứu trước là một số thành phần hoạt tính kháng oxy hóa hiện diện trong cao chiết của *C. takaomontana* như flavonoid và các hợp chất polyphenol có khả năng ức chế hoạt động của XO.

3.6. Kết quả hoạt tính ức chế biến tính bovine serum albumin bởi nhiệt

Tổ chức tế bào trong cơ thể bị oxy hóa dẫn đến tổn thương và viêm nhiễm. Để xác định khả năng bảo vệ sự biến tính protein do các gốc tự do gây ra, chúng tôi chọn phương pháp xác định khả năng bảo vệ sự biến tính BSA (Nenadis và cs., 2004; Huỳnh Thụ và cs., 2017)



Hình 3. Khả năng ức chế biến tính bovine serum albumin của các cao chiết sinh khối

Bảng 5. Giá trị IC_{50} của các cao chiết

Cao chiết	Sinh khối (μ g/ml)	Quả thể (μ g/ml)
Cao EtOH	531,885 ± 11,561	693,84 ± 18,833
Cao PE	139,790 ± 18,044	-

Cao EtOAc	738,136 ± 17,954	-
Cao n-BuOH	-	-
Cao nước	-	-
Cao IPS	-	-
Cao EPS	898,805 ± 12,420	-

(-) Không tìm được giá trị IC₅₀ trong khoảng khảo sát

Theo kết quả thể hiện ở hình 3 và bảng 5, phân đoạn cao PE sinh khối là phân đoạn có chứa các hợp chất có khả năng ức chế sự biến tính của BSA cao nhất thể hiện ở giá trị IC₅₀ thấp nhất (139,790 ± 18,044) µg/ml và khả năng ức chế sự biến tính albumin cao nhất ngay khi còn ở nồng độ từ 0-200µg/ml. Trong khi đó, các phân đoạn cao của quả thể không có hoạt tính. Kết quả cho thấy cao PE có tiềm năng kháng viêm chứa các hợp chất có khả năng ức chế sự biến tính albumin.

4. Kết luận

Từ việc tiến hành nuôi thành công sinh khối và quả thể của chủng nấm *C. takaomontana* DL0038A phân lập tại Việt Nam, kết quả nghiên cứu hoạt tính kháng oxy hóa cho thấy cao EtOAc sinh khối nấm có chứa các hoạt chất tan trong dung môi hữu cơ là cao tiềm năng bắt gốc tự do DPPH cao nhất (IC₅₀ = 785,4 ± 15,689µg/ml) và năng lực khử cao nhất với mật độ quang là 0,124 tại 1000µg/ml, trong khi cao IPS sinh khối nấm có chứa các hợp chất tan trong nước lại có khả năng bắt gốc tự do ABTS cao nhất (IC₅₀ = 822,370 ± 6,210µg/ml). Cao tổng EtOH sinh khối nấm có chứa các hợp chất tiềm năng ức chế XO cao nhất (IC₅₀ = 236,564 ± 5,533µg/ml) và cao PE sinh khối là cao có khả năng ức chế sự biến tính của albumin bởi nhiệt cao nhất (IC₅₀ = 139,790 ± 18,044µg/ml). Từ các kết quả trên cho thấy sinh khối nấm *C. takaomontana* DL0038A phân lập tại Việt Nam là nguồn nguyên liệu hoạt tính sinh học tiềm năng có thể ứng dụng trong sản xuất thực phẩm chức năng nhằm phục vụ sức khỏe cộng đồng.

Lời cảm ơn

Đề tài được thực hiện tại phòng thí nghiệm bộ môn sinh hóa, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – Đại học Quốc gia Thành Phố Hồ Chí Minh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Dinh và cộng sự (2017). Discovery of entomopathogenic fungi *Cordyceps takaomontana* at Langbian Mountain, Lam Dong, Vietnam. *Vietnam J. Sci. Technol*, 55, 19-26.
- [2] Ferreira và cộng sự (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity, *Food Chem*, 100, 1511-1516.

- [3] Hama và cộng sự (2019). New alkaloidal metabolites from cultures of entomopathogenic fungus *Cordyceps takaomontana* NBRC 101754. *Fitoterapia*, 139, 104364.
- [4] Huỳnh Thu và cộng sự (2017). Nghiên cứu hoạt tính ức chế xanthine oxidase của một số cao chiết từ nấm dược liệu. *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 33, 192-198.
- [5] Nenadis và cộng sự (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS^{•+} assay. *J. Agric. Food Chem*, 52, 4669-4674.
- [6] Nguyễn Kim Phi Phụng (2007). *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, TP. Hồ Chí Minh.
- [7] Nguyen và cộng sự (2018). Research on acute toxicity and semi-chronic toxicity of medical fungus *Cordyceps takaomontana*. *Vestnik of Astrakhan State Technical University*, 2018, 101-109.
- [8] Nxumalo và cộng sự (2020). *Cordyceps cicadae* be used as an alternative to *Cordyceps militaris* and *Cordyceps sinensis*?. A review. *J. Ethnopharmacol.* 257, 112879.
- [9] Oh JY và cộng sự (2005). The ethyl acetate extract of *Cordyceps militaris* inhibits IgE-mediated allergic responses in mast cells and passive cutaneous anaphylaxis reaction in mice. *J. Ethnopharmacol*, 135, 422-429.
- [10] Olatunji và cộng sự (2018). The genus *Cordyceps*: An extensive review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Fitoterapia*, 129, 293-316.
- [11] Phạm Quang Thu và cộng sự (2010). Phát hiện nấm đông trùng hạ thảo *Cordyceps takaomontana* Yakushiji và Kumazawa ở Việt Nam. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 6, 127-130.
- [12] Sharma và cộng sự (2009). DPPH antioxydant assay revisited, *Food Chem*, 113, 1202-1205.
- [13] Sung và cộng sự (2007). Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. *Stud. Mycol*, 57, 5-59.
- [14] Trần Quốc Tuấn và cộng sự (2014). Chuẩn hóa mô hình sàng lọc *in vitro* các hợp chất kháng viêm dựa trên khả năng ức chế biến tính albumin bò do nhiệt. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 52, 532-538.