

EXTRACTION AND ISOLATION OF BEAUVERICIN FROM *CORDYCEPS CATENIANNULATA* CPA14V

Nguyen Thi Thuy Van^{1,2}, Duong Minh Lam¹, Dao Viet Hung³, Vu Thi Thu Le³,
Pham Thi Hong Minh⁴, Do Tien Lam^{4*}

¹Hanoi National University of Education, ²People's Police Academy,

³TNU - University of Agriculture and Forestry, ⁴Institute of Natural Products Chemistry - VAST

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Received: 23/8/2021</p> <p>Revised: 14/9/2021</p> <p>Published: 16/9/2021</p>	<p>Beauvericin is a well-known mycotoxin produced by <i>Beauveria</i> and many other entomopathogenic fungi, including <i>Coryiceps</i> species. The strain <i>Cordyceps cateniannulata</i> CPA14V was isolated in Vietnam and it was first record of beauvericin produced by the species. Beauvericin exhibits various bio-activities including supporting cancer treatment, preventing infection from viral and bacterial. The study established a procedure for extracting and isolating Beauvericin (purity 98.1 %) from <i>Cordyceps cateniannulata</i> CPA14V by using combination of different chromatographic methods such as: thin layer chromatography, normal-phase chromatography with silicagel stationary phase, reversed-phase chromatography with YMC RP 18 stationary phase and size exclusion chromatography with sephadex LH-20 stationary phase at laboratory scale. Extraction conditions were at 40 - 50°C, sonication for 2 hours, used dichloromethane solvent. The results showed that <i>Cordyceps cateniannulata</i> CPA14V has great potential for culture, extraction and isolation Beauvericin for further research and development into medicinal products, contributing to community health care.</p>
<p>KEYWORDS</p> <p>Beauvericin</p> <p><i>Cordyceps cateniannulata</i></p> <p>Fungus</p> <p>Extraction</p> <p>Isolation</p>	

NGHIÊN CỨU TÁCH CHIẾT VÀ PHÂN LẬP BEAUVERICIN TỪ CHỦNG NẤM *CORDYCEPS CATENIANNULATA* CPA14V

Nguyễn Thị Thùy Vân^{1,2}, Dương Minh Lam¹, Đào Việt Hùng³, Vũ Thị Thu Lê³,
Phạm Thị Hồng Minh⁴, Đỗ Tiến Lâm^{4*}

¹Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, ²Học viện Cảnh sát nhân dân,

³Trường Đại học Nông Lâm - ĐH Thái Nguyên, ⁴Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên - VAST

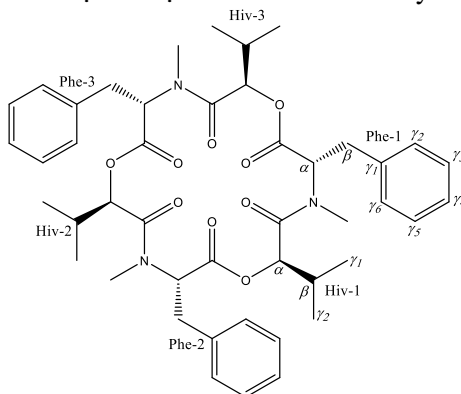
THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
<p>Ngày nhận bài: 23/8/2021</p> <p>Ngày hoàn thiện: 14/9/2021</p> <p>Ngày đăng: 16/9/2021</p>	<p>Beauvericin là độc tố nấm ký sinh côn trùng nổi tiếng, được tìm thấy ở nấm <i>Beauveria</i> và nhiều loài nấm ký sinh côn khác, trong đó có nhiều loài <i>Cordyceps</i>. Chúng nấm <i>Cordyceps cateniannulata</i> CPA14V được phân lập ở Việt Nam và là lần đầu tiên được ghi nhận có khả năng tổng hợp beauvericin. Beauvericin có phổ hoạt tính rộng, có tác dụng hỗ trợ điều trị ung thư, chống bệnh nhiễm trùng do vi rút và vi khuẩn. Nghiên cứu này đã xây dựng được quy trình tách chiết và phân lập hoạt chất beauvericin (độ tinh sạch 98,1%) từ nấm <i>Cordyceps cateniannulata</i> CPA14V bằng cách sử dụng kết hợp các phương pháp sắc ký khác nhau như sắc ký lớp mỏng, sắc ký cột thường với pha tĩnh là silica gel, sắc ký cột pha đảo với pha tĩnh là YMC RP 18 và sắc ký ray phân tử với pha tĩnh là sephadex LH-20 ở quy mô phòng thí nghiệm. Điều kiện chiết xuất ở nhiệt độ 40 - 50°C, siêu âm trong 2 giờ và sử dụng dung môi chiết dichloromethane. Kết quả cho thấy, nấm <i>Cordyceps cateniannulata</i> CPA14V có tiềm năng lớn nuôi cấy, chiết tách và phân lập beauvericin để phục vụ cho nghiên cứu tiếp theo, phát triển thành các sản phẩm thuốc, góp phần chăm sóc sức khoẻ cộng đồng.</p>
<p>TỪ KHÓA</p> <p>Beauvericin</p> <p><i>Cordyceps cateniannulata</i></p> <p>Nấm</p> <p>Tách chiết</p> <p>Phân lập</p>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.4921>

* Corresponding author. Email: dotienlam198@gmail.com

1. Giới thiệu

Beauvericin là một cyclooligomer depsipeptides (CODs), được cấu tạo bởi ba nhóm D-hydroxyisovaleryl và ba nhóm N-methylphenylalanyl xen kẽ (hình 1), được phân lập đầu tiên từ loài *Beaveria bassiana* [1], [2]. Đây là loài phổ biến và được sử dụng làm thuốc trừ sâu mycoinsecticide. Ngoài ra, beauvericin được sinh tổng hợp bởi một số loài thuộc chi nấm như *Beauveria*, *Cordyceps*, *Paecilomyces*, *Polyporus*, *Isaria* và *Fusarium*. Hàm lượng beauvericin có thể đóng vai trò như một chất chỉ thị hóa học của các loài nấm ký sinh côn trùng [2], [3].



Hình 1. Cấu trúc hóa học của beauvericin

Beauvericin là hoạt chất tiềm năng có thể phát triển thành thuốc chữa bệnh hoặc thuốc trừ sâu, hỗ trợ điều trị ung thư hoặc các bệnh nhiễm trùng do vi rút và vi khuẩn. Beauvericin có hoạt tính diệt côn trùng mạnh, phổ rộng các loại côn trùng gây hại như *Artimia salina*, *Calliphora erythrocephala*, *Aedes aegypti*, *Lygus* spp., *Spodoptera frugiperda* và *Schizaphis graminum* [4]-[6]. Beauvericin có khả năng ức chế ung thư nguyên bào sợi ở khi xanh châu Phi Vero, tế bào ung thư hạch bạch huyết đơn nhân ở người U-937, ung thư vú ở người BC-1, MCF-7, ung thư thần kinh trung ương ở người SF-268, ung thư biểu mô tế bào ở người KB, tế bào ung thư bạch cầu ở người CCRF-CEM, ung thư phổi ở người (NSCLC) A549, NCI-H460, ung thư biểu mô tuyến tụy ở người MIA Pa Ca-2, bệnh bạch cầu tán huyết ở người HL60, ung thư gan, u nguyên bào võng mạc ở người Y79... [1], [2], [7]. Bên cạnh khả năng diệt côn trùng và khả năng ức chế các dòng tế bào ung thư, beauvericin còn có thể kháng khuẩn, chống nấm và kháng virus cực kỳ hiệu quả. Beauvericin kháng khuẩn mạnh đối với các chủng vi khuẩn Gram dương và vi khuẩn Gram âm gây bệnh cho con người, động vật và các vi khuẩn gây hại cho cây trồng như *Bacillus* spp., *Bifidobacterium adolescentis*, *Eubacterium bifforme*, *Peptostreptococcus* spp., *Paenibacillus* spp., *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecium*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas lachrymans*, *P. aeruginosa*, *Xanthomonas vesicatoria*, *Salmonella enterica*, *Shigella dysenteriae*, *Yersinia enterocolitica* và một số loại vi khuẩn lactic [2], [8]. Khác với các loại kháng sinh thường gặp, beauvericin không ngăn chặn quá trình sinh tổng hợp peptidoglycan của vi khuẩn mà lại tấn công vào bào quan và hệ thống enzyme của vi khuẩn. Chính vì thế, beauvericin được coi là tác nhân kháng khuẩn tiềm năng, có thể được sử dụng trong giải quyết vấn đề vi khuẩn kháng thuốc gây bệnh ở người và thực vật [1], [9]. Là hoạt chất được sinh tổng hợp từ nấm nên hoạt tính chống nấm của beauvericin tương đối hạn chế. Hỗn hợp giữa beauvericin và ketoconazole có thể chống nấm *Candida parapsilosis* một cách hiệu quả, trong khi các chất đơn lẻ không có hoạt tính [10]. Hoạt tính kháng virus của beauvericin đã được báo cáo, beauvericin ức chế HIV-1 integrase hiệu quả nhất trong các hexadepsipeptide được nghiên cứu [11]. Có thể thấy, beauvericin có phổ hoạt tính sinh học rộng, cực kỳ tiềm năng trong điều trị chống lại các căn bệnh chết người do nhiễm virus hoặc vi khuẩn cũng như các loại bệnh ung thư. Do đó, beauvericin có thể trở thành một sản phẩm thương mại từ nấm trong tương lai.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hầu hết các chủng thuộc chi *Isaria*, *Beauveria* và *Cordyceps* đều có khả năng tổng hợp cyclooligomer depsipeptide nói chung và beauvericin nói riêng trung bình từ 0,11 – 4,98 mg/g. Phát hiện này đã chứng minh rằng, các loài nấm thuộc họ Cordycipitaceae rất có tiềm năng trong sản xuất CODs và rất đáng để nghiên cứu [12], [13]. Đặc biệt chủng *Cordyceps cateniannulata* CPA14V được tìm thấy trên ký chủ thuộc bộ côn trùng *Blattodea* có khả năng sinh 51,98 mg/l beauvericin sau 6 ngày nuôi cấy [14]. Khả năng sinh tổng hợp tương đối cao so với kết quả trong các nghiên cứu của tác giả Logrieco (3,2 mg/g) [15], Luangsa-ard (36,9 mg/l) [12]. Chính vì vậy, *C. cateniannulata* CPA14V rất có tiềm năng, nghiên cứu về nuôi cấy, chiết tách và phân lập beauvericin. Nghiên cứu này đề cập đến phương pháp tách chiết và phân lập beauvericin từ chủng nấm *C. cateniannulata* CPA14V quy mô phòng thí nghiệm bằng cách sử dụng kết hợp các phương pháp sắc ký cột, sắc ký bản mỏng và khảo sát một số điều kiện về nhiệt độ, thời gian, cách chiết để quá trình tách chiết và phân lập beauvericin đạt hiệu quả tốt nhất.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Chủng nấm *Cordyceps cateniannulata* CPA14V được phân lập từ mẫu nấm kí sinh trên bộ *Blattodea* thu được tại Khu bảo tồn thiên nhiên Cópia - Sơn La, vào ngày 24/12/2016.

Nấm *Cordyceps cateniannulata* CPA14V sau khi được hoạt hóa, được nuôi cấy trong môi trường Czapek-Dox (CzD: sucrose 30 g/l; NaNO₃ 3,5 g/l; K₂HPO₄ 1,5 g/l; MgSO₄.7H₂O 0,5 g/l; FeSO₄.7H₂O 0,1 g/l, KCl 0,5 g/l) trong 6 ngày, lắc với tốc độ 150 vòng/phút ở nhiệt độ 25°C. Sinh khối nấm rửa sạch bằng nước lọc rồi đem đông khô bằng máy đông khô Flexi Dry (Mỹ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tách chiết và phân lập

Việc phân tích, phân tách các phần dịch chiết sinh khối nấm được thực hiện bằng các phương pháp sắc ký khác nhau như sắc ký lớp mỏng (TLC), sắc ký cột thường (CC) với pha tĩnh là silica gel (Merck), sắc ký cột pha đảo với pha tĩnh là YMC RP 18 (Merck) và sắc ký ray phân tử với pha tĩnh là sephadex LH-20 (Merck).

Sắc ký lớp mỏng (TLC): bản mỏng tráng sẵn DC-Alufoalien 60 F254 (0,25 mm; Merck) và RP-18 F254S (0,25 mm; Merck).

Sắc ký cột (CC): Sắc ký cột thường với pha tĩnh là silica gel 60, cỡ hạt 0,040 – 0,063 mm (230 - 400 mesh) của Merck. Sắc ký cột ray phân tử với pha tĩnh là sephadex LH-20. Sắc ký cột pha đảo dùng loại YMC RP-18 có cỡ hạt là 30-50 µm (Fujisilica Chemical Ltd.).

Sắc ký lỏng kết nối khối phổ HPLC –MSD: Agilent 1200 Ion Trap của Viện hóa học các hợp chất thiên nhiên.

2.2.2. Phương pháp xác định sinh khối khô [16]

Giá trị được xác định theo các bước: Các ống eppendorf 2 ml được đánh số thứ tự, sấy khô đến khối lượng không đổi và cân để xác định khối lượng ban đầu (M_0) của từng eppendorf. Mẫu nấm ở mỗi môi trường nuôi cấy được hút 1,5 ml và cho vào ống eppendorf, sau đó được li tâm 12000 vòng/phút trong 5 phút. Dịch thể được loại bỏ và giữ lại sinh khối; 1,5 ml dịch nuôi cấy được bổ sung và li tâm. Sinh khối kết tủa được rửa bằng nước cất, sau đó được đông khô đến khối lượng không đổi.

Khối lượng sau đông khô của ống và sinh khối là (M_1). Mỗi mẫu nghiên cứu được lặp lại 3 lần.

Khối lượng tế bào khô (CDW) được tính theo công thức:

$$CDW (g/l) = (M_1 - M_0) / 3 * 1000.$$

Li tâm toàn bộ dịch nuôi cấy, thu sinh khối, rửa bằng nước cất. Sau đó đông khô để phân tích beauvericin.

2.2.3. Phương pháp định lượng beauvericin có trong sinh khối nấm [17]

Cân 10 mg sinh khối tế bào khô hòa trong 500 μ l MeCN. Trộn đều hỗn hợp trong 10 phút. Sau đó ly tâm 10000 vòng/phút trong 5 phút, bỏ cặn, lấy phần dung dịch chứa beauvericin phân tích.

Hàm lượng beauvericin tích lũy trong tế bào được xác định bằng máy sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC) sử dụng cột hypersil BDS-C18 và hệ dung môi acetonitrile-nước.

Phân tích được thực hiện với tốc độ dòng 0,3 ml/phút với gradient nước-acetonitril, bắt đầu từ acetonitrile-nước (15:85) tới 100% acetonitril trong 40 phút, duy trì 100% acetonitril trong 5 phút, trước khi quay trở lại điều kiện bắt đầu trong 8 phút và cân bằng trong 5 phút. Bước sóng đầu dò: 203 nm. Beauvericin tinh sạch (Sigma - Mỹ) được sử dụng để xây dựng đồ thị chuẩn.

2.2.4. Phương pháp toán học

Xử lý số liệu thống kê: Số liệu được xử lý bằng Microsoft Office Excel 2013 and SPSS 20.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Nghiên cứu thu hồi và tinh sạch beauvericin từ *C. cateniannulata* CPA14V

Dựa trên các nghiên cứu khảo sát cũng như dựa vào các phương pháp tách chiết và thu hồi beauvericin hiện nay, chúng tôi tiến hành thu hồi và tinh sạch beauvericin từ sinh khối nấm *C. cateniannulata* CPA14V như sau:

Bước 1. Chuẩn bị sinh khối mẫu

Chủng nấm *C. cateniannulata* CPA14V sau khi được hoạt hóa, được nuôi cấy trong môi trường CzD trong 6 ngày, lắc với tốc độ 150 vòng/phút ở nhiệt độ 25°C. Sinh khối nấm rửa sạch bằng nước lọc rồi đem đông khô bằng máy đông khô Flexi Dry (Mỹ), thu được 25g sinh khối nấm.

Bước 2. Ngâm chiết và tạo cặn chiết

Sinh khối (25g) ngâm chiết 5 lần với dung môi dichloromethane trong thiết bị siêu âm ở nhiệt độ phòng. Dịch tổng dichloromethane thu được cất kiệt dung môi bằng máy cất quay chân không IKA RV 06-MT dưới áp suất giảm, nhiệt độ < 50°C thu được cao chiết tổng dichloromethane (CD; 7,9 g).

Cao chiết tổng dichloromethane (CD) được chiết phân lớp với *n*-hexan. Sau khi đuổi dung môi thu được cao chiết *n*-hexan (CCH; 3,0 g), dichloromethane (CCD; 4,8 g).

Bước 3. Phân lập các chất từ cặn chiết dichloromethane

Phần cao chiết dichloromethane (CCD; 4,8g) hòa tan hoàn toàn và tẩm silicagel cho tới khi tạo thành hỗn hợp bột khô, mịn với tỷ lệ silica gel/cao chiết là 2,5/1 (g/g). Sau đó được tiến hành sắc ký qua cột silica gel (sắc ký cột được thực hiện với cột dài 60 cm, đường kính cột 3,0 cm, silicagel Meerk 0,063 – 0,200 mm), với hệ dung môi CH₂Cl₂:MeOH (từ 99:1 đến 20:1).

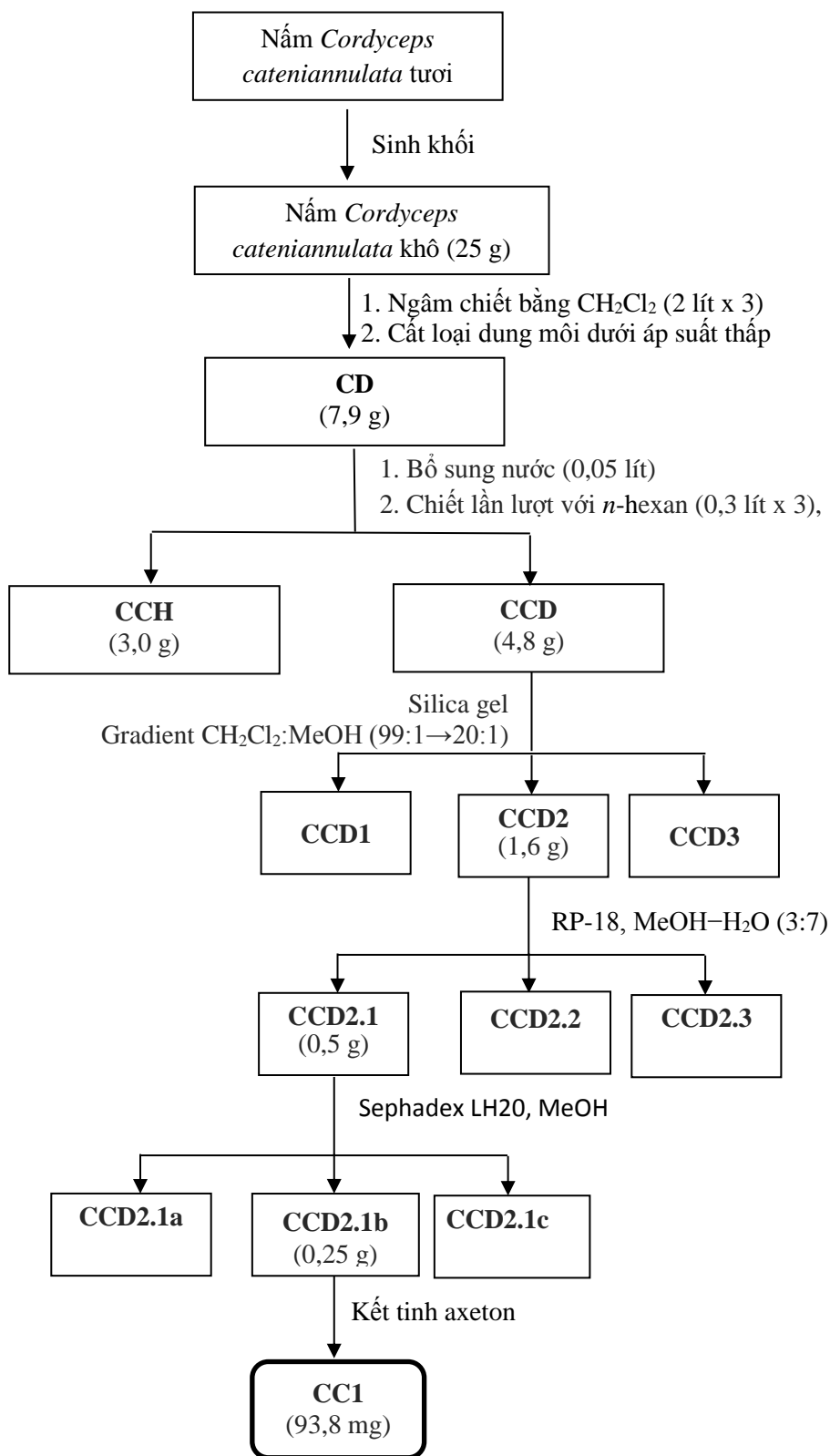
Dung dịch rửa giải thu được từ cột silica gel khoảng cách mỗi lần là 100 – 200 ml, sau đó cất lại dung môi thu được những phân đoạn nhỏ 5 - 10 ml ta được các phân đoạn. Kiểm tra các phân đoạn nhỏ bằng sắc ký lớp mỏng và so sánh với chất chuẩn CC1, sau đó dồn những phân đoạn giống nhau lại, ta thu được 3 phân đoạn chính (CCD1-CCD3), trong đó phân đoạn CCD2 có chứa hoạt chất CC1.

Bước 4. Thực hiện sắc ký cột tinh phân đoạn CCD2

Phân đoạn CCD2 (1,6 g) tiếp tục được phân tách trên cột pha đảo RP-18 với hệ dung môi MeOH:H₂O (3:7) thu được 3 phân đoạn nhỏ (CCD2.1-CCD2.3).

Phân đoạn CCD2.1 (0,5 g) được tinh chế lại qua cột sephadex LH20 với dung môi rửa giải MeOH thu được 2 phân đoạn nhỏ (CCD2.1.a-CCD2.1e) và kết tinh phân đoạn CCD2.1b lại trong dung môi acetone thu được hợp chất CC1 (dạng bột, màu trắng, R_f = 0,38 (hệ dung môi CH₂Cl₂:MeOH = 20:1), khối lượng 93,8 mg), độ tinh sạch đạt 98,1% theo HPLC.

Sơ đồ phân lập CC1 được mô tả trong hình 2.



Hình 2. Sơ đồ tách chiết và phân lập beauvericin (CC1) qui mô phòng thí nghiệm

3.2. Một số các yếu tố ảnh hưởng đến thu nhận beauvericin (CC1)

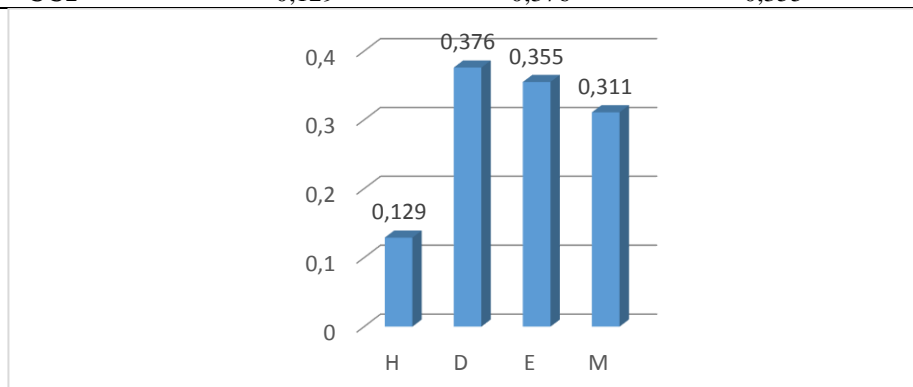
3.2.1. Ảnh hưởng của dung môi đến hàm lượng beauvericin (CC1)

Khảo sát ảnh hưởng của dung môi chiết đến quá trình chiết tách beauvericin (CC1) từ cao chiết tổng. Kết quả trình bày ở bảng 1 và hình 3 cho thấy sự khác biệt khi thay đổi các loại dung môi chiết. Sử dụng dung môi dichloromethane hàm lượng CC1 thu được là 0,37% và giảm đáng kể khi chiết bằng các loại dung môi: etyl axetat, etanol và *n*-hexane. Kết quả trên cũng chỉ ra rằng, sử dụng dichloromethane thì hàm lượng CC1 thu được đạt hiệu suất cao nhất.

Từ các kết quả trên, chúng tôi lựa chọn dichloromethane cho các quá trình nghiên cứu tiếp theo trong công nghệ tách chiết hoạt chất CC1 bằng phương pháp dung môi hữu cơ.

Bảng 1. Ảnh hưởng của dung môi chiết đến hàm lượng CC1

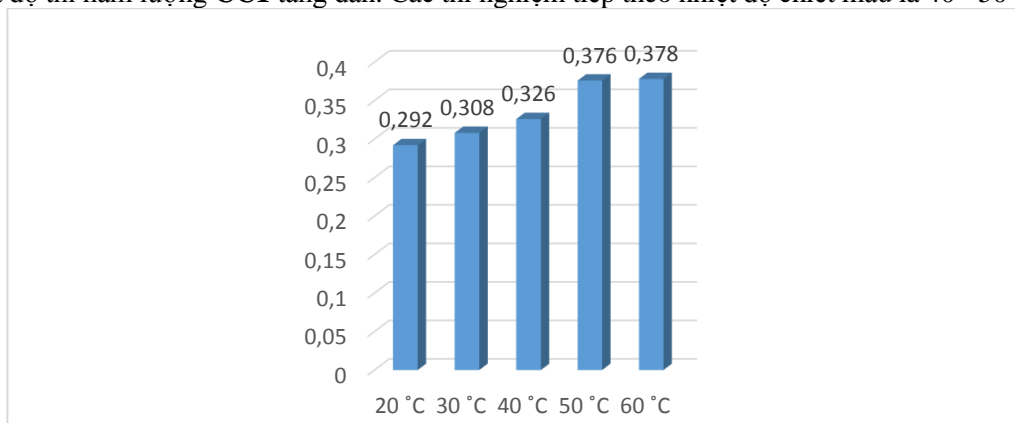
Hàm lượng/sinh khối khô (%)	Hệ dung môi			
	<i>n</i> -hexane (H)	dichloro-methane (D)	etyl axetat (E)	ethanol (M)
CC1	0,129	0,376	0,355	0,311



Hình 3. Ảnh hưởng của dung môi chiết đến hàm lượng CC1

3.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất tới hàm lượng beauvericin (CC1)

Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình chiết xuất CC1 đã thu được kết quả như bảng 2 và hình 4. Kết quả cho thấy, ở nhiệt độ thấp thu được hàm lượng CC1 thấp hơn. Khi càng tăng nhiệt độ thì hàm lượng CC1 tăng dần. Các thí nghiệm tiếp theo nhiệt độ chiết mẫu là 40 - 50°C.



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng CC1

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng CC1

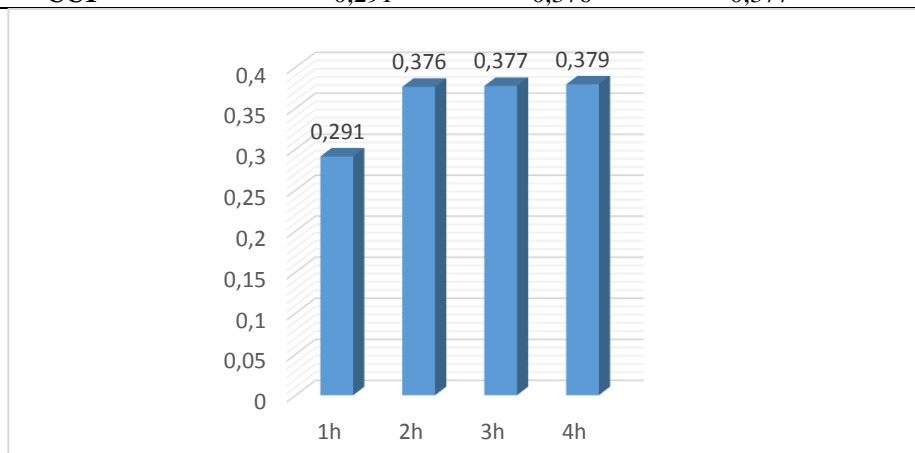
Hàm lượng (%)	Nhiệt độ				
	20°C	30°C	40°C	50°C	60°C
CC1	0,292	0,308	0,326	0,376	0,378

3.2.3. Ảnh hưởng của thời gian tách chiết tới hàm lượng beauvericin (CC1)

Các kết quả thu nhận hàm lượng hoạt chất CC1 ở các khoảng thời gian khác nhau cũng có sự biến đổi khác nhau. Quá trình xử lý mẫu và tách chiết mẫu càng lâu thì hàm lượng các hoạt chất có được càng nhiều, tuy nhiên khoảng thời gian này là có giới hạn, sau khoảng thời gian đó hàm lượng các chất thu được cũng không thay đổi. Bảng 3 và hình 5 đã thể hiện rõ sự biến đổi này. Từ các kết quả đó, chúng tôi lựa chọn thời gian chiết siêu âm là 2 giờ cho quy trình công nghệ tách chiết hoạt chất CC1.

Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến hàm lượng CC1

Hàm lượng (%)	Thời gian			
	1 giờ	2 giờ	3 giờ	4 giờ
CC1	0,291	0,376	0,377	0,379



Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến hàm lượng CC1

4. Kết luận

Nghiên cứu tách chiết và tinh sạch beauvericin từ chủng *Cordyceps cateniannulata* CPA14V cho thấy trình tự sử dụng dung môi chiết phù hợp là dichloromethane, nước, *n*-hexane và kết hợp với hệ thống sắc kí bản mỏng, sắc kí cột thường với silicagel, sắc ký pha đảo với YMC RP 18 và sắc ký ray phân tử với pha tĩnh là sephadex LH-20 và kết tinh bằng axeton cho hiệu suất (0,39% CDW) và tinh sạch beauvericin cao (98,1%). Hiệu suất chiết và tinh sạch tốt nhất ở điều kiện siêu âm sinh khối với dichloromethane trong 2 giờ, ở nhiệt độ 50°C. Kết quả nghiên cứu thu được về khả năng sinh tổng hợp, thu hồi, tinh sạch và hoạt tính của hợp chất beauvericin từ chủng nấm *Cordyceps cateniannulata* CPA14V cho thấy tiềm năng nghiên cứu và ứng dụng của hợp chất này ở Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] W. Qinggui and X. Lijian "Beauvericin, a Bioactive Compound Produced by Fungi: A Short Review," *Molecules*, vol. 17, pp. 2367-2377, 2012.
- [2] S. Shivani, S. Sardul Singh, and M. T. Kumar, "Pharmacological and Therapeutic Potential of Beauvericin: A Short Review," *J Proteomics Bioinform*, vol. 10, no. 1, pp. 18-23, 2017.
- [3] O. J. Olatunji, J. Tang, A. Tola, F. Auberon, O. Oluwaniyi, and Z. Ouyang, "The genus *Cordyceps*: An extensive review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology," *Fitoterapia*, vol. 129, pp. 293-316, 2018.
- [4] F. Fornelli, F. Minervini, and A. Logrieco, "Cytotoxicity of fungal metabolites to lepidopteran (*Spodoptera frugiperda*) cell line (SF-9)," *Journal of invertebrate pathology*, vol. 85, no. 2, pp. 74-79, 2004.
- [5] R. L. Hamill, C. Higgins, H. Boaz, and M. Gorman, "The structure of beauvericin, a new depsipeptide antibiotic toxic to *Artemia salina*," *Tetrahedron Letters*, vol. 10, no. 49, pp. 4255-4258, 1969.

- [6] M. Estoi, "Emerging Fusarium-mycotoxins fusaproliferin, beauvericin, enniatins, and moniliformin-A review," *Critical reviews in food science and nutrition*, vol. 48, no. 1, pp. 21-49, 2008.
- [7] H. Olleik, C. Nicoletti, M. Lafond, E. Courvoisier-Dezord, P. Xue, A. Hijazi, E. Baydoun, J. Perrier, and M. Maresca, "Comparative Structure-Activity Analysis of the Antimicrobial Activity, Cytotoxicity, and Mechanism of Action of the Fungal Cyclohexadepsipeptides Enniatins and Beauvericin," *Toxins*, vol. 11, no. 9, p. 514, 2019.
- [8] L. Xu, J. Wang, J. Zhao, P. Li, T. Shan, J. Wang, X. Li, and L. Zhou, "Beauvericin from the endophytic fungus, *Fusarium redolens*, isolated from *Dioscorea zingiberensis* and its antibacterial activity," *Natural Product Communications*, vol. 5, no. 5, pp. 811-814, 2010.
- [9] C. Nilanonta, M. Isaka, P. Kittakoop, S. Trakulnaleamsai, M. Tanticharoen, and Y. Thebtaranonth, "Precursor-directed biosynthesis of beauvericin analogs by the insect pathogenic fungus *Paecilomyces tenuipes* BCC 1614," *Tetrahedron*, vol. 58, no. 17, pp. 3355-3360, 2002.
- [10] K. Hiraga, S. Yamamoto, H. Fukuda, N. Hamanaka, and K. Oda, "Enniatin has a new function as an inhibitor of Pdr5p, one of the ABC transporters in *Saccharomyces cerevisiae*," *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 328, no. 4, pp. 1119-1125, 2005.
- [11] C. -G. Shin, D. -G. An, H. -H. Song, and C. Lee, "Beauvericin and enniatins H, I and MK1688 are new potent inhibitors of human immunodeficiency virus type-1 integrase," *The Journal of antibiotics*, vol. 62, no. 12, p. 687, 2009.
- [12] J. J. Luangsa-Ard, P. Berkaew, R. Ridkaew, N. L. Hywel-Jones, and M. Isaka, "A beauvericin hot spot in the genus *Isaria*," *Mycological research*, vol. 113, no. 12, pp. 1389-1395, 2009.
- [13] S. Supothina, M. Isaka, K. Kirtikara, M. Tanticharoen, and Y. Thebtaranonth, "Enniatin production by the entomopathogenic fungus *Verticillium hemipterigenum* BCC 1449," *The Journal of antibiotics*, vol. 57, no. 11, pp. 732-738, 2004.
- [14] T. T. V. Nguyen, D. V. Nguyen, and M. L. Duong, "Morphological characteristics, growth and cyclooligomer depsipeptides producing ability of *Cordyceps* sp. CPA14V," *Vinh University Journal of Science*, vol. 1A/2021, pp. 80-87, 2021.
- [15] A. Logrieco, A. Moretti, G. Castella, M. KostECKI, P. Golinski, A. Ritieni, and J. Chelkowski, "Beauvericin Production by *Fusarium* Species," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 64, no. 8, pp. 3084-3088, 1998.
- [16] D. Van-Thuoc and J. Quillaguamán, "Improving culture conditions for poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) production by *Bacillus* sp. ND153, a bacterium isolated from a mangrove forest in Vietnam," *Ann. Microbiol.*, vol. 64, pp. 991-997, 2014.
- [17] J. Smedsgaard, "Micro-scale extraction procedure for standardized screening of fungal metabolite production in cultures," *Journal of Chromatography A*, vol. 760, no. 2, pp. 264-270, 1997.