

# Đánh giá hoạt tính kháng viêm, kháng khuẩn và ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase *in vitro* của nấm *Ophiocordyceps sinensis* giàu selen

Lê Quốc Phong<sup>1,2</sup>, Nguyễn Hoàng Đăng Khoa<sup>3\*</sup>, Đặng Tú Quyên<sup>3</sup>,  
Nguyễn Tài Hoàng<sup>4</sup>, Đinh Minh Hiệp<sup>5</sup>, Ngô Kế Sương<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Học viện KH&CN, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Sinh học Nhiệt đới TP Hồ Chí Minh

<sup>3</sup>Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

<sup>4</sup>Trung tâm Nghiên cứu và Ứng dụng Sinh học TP Hồ Chí Minh

<sup>5</sup>Ban Quản lý Khu Nông nghiệp Công nghệ cao TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 3/3/2020; ngày chuyển phản biện 6/3/2020; ngày nhận phản biện 9/4/2020; ngày chấp nhận đăng 1/6/2020

## Tóm tắt:

*Ophiocordyceps sinensis* (*O. sinensis*) - đông trùng hạ thảo, là một loại nấm dược liệu quý chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học như cordycepin, D-mannitol, polysaccharide... Trong đó, đặc biệt có selen - một nguyên tố vi lượng cần thiết cho con người, là thành phần cấu tạo chính của một số enzyme như glutathione peroxidase, thioredoxin reductase và deiodinase. Các enzyme này đóng vai trò quan trọng trong việc chống các gốc tự do, tăng cường chức năng sinh sản, chức năng cơ và ngăn ngừa ung thư. Nghiên cứu này tiến hành chiết cao và khảo sát các hoạt tính sinh học như kháng viêm, kháng khuẩn và ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các cao chiết từ sinh khối *O. sinensis* giàu selen. Kết quả cho thấy, cao Bu (cao chiết bằng n-butanol); cao tổng và cao EtOAc (chiết bằng ethyl acetate) có khả năng kháng khuẩn *S. sonnei* ở nồng độ 1000  $\mu\text{g/ml}$ . Đồng thời, hoạt tính kháng viêm thể hiện tốt ở cao tổng, cao petrolium ether (cao PE) và cao EtOAc với  $\text{IC}_{50}$  lần lượt là 195,58 $\pm$ 7,89; 64,19 $\pm$ 0,22; 469,27 $\pm$ 16,57 ( $\mu\text{g/ml}$ ). Tuy nhiên, các cao chiết không có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase. Nghiên cứu này cho thấy, các cao chiết từ sinh khối *O. sinensis* giàu selen có hoạt tính kháng viêm rất tốt, làm tiền đề cho các nghiên cứu trên mô hình *in vivo*.

**Từ khóa:** hoạt tính kháng khuẩn, hoạt tính kháng viêm, hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase, *Ophiocordyceps sinensis*, selen.

**Chỉ số phân loại:** 1.6

## **Đặt vấn đề**

Selen (Se) là một nguyên tố vi lượng cần thiết cho cơ thể sinh vật. Chúng được chứng minh là có khả năng ngăn ngừa bệnh loạn dưỡng cơ, xơ gan và là thành phần chính cấu tạo nên nhiều enzyme trong cơ thể như glutathione peroxidase, thioredoxin reductase và deiodinase [1, 2]. Sự thiếu hụt Se là một trong những nguyên nhân gây rối loạn một số chức năng trong cơ thể như suy giảm đáp ứng miễn dịch, tăng nguy cơ ung thư, tăng nguy cơ cao huyết áp, suy giảm chức năng tuyến giáp, tim và cơ xương [3]. Chính vì thế, con người cần một nguồn cung cấp Se, và *O. sinensis* chính là một đối tượng tiềm năng.

*O. sinensis* là một loại nấm ký sinh thuộc chi *Ophiocordyceps* đã được con người khai thác và sử dụng như một vị thuốc giúp bổ phổi, phục hồi gan thận cũng như bồi bổ sức khỏe trong y học cổ truyền Trung Hoa từ cách đây hơn 700 năm [4]. Nhiều hợp chất trong *O. sinensis* (chủ yếu là nucleoside, ergosterol, polysaccharide) được các nhà khoa

học chứng minh có nhiều hoạt tính sinh học như kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn [5]. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu cho thấy *O. sinensis* có khả năng điều hòa đường huyết và hỗ trợ điều trị đái tháo đường. Hiện nay, trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về việc bổ sung Se vào quá trình nuôi cấy *O. sinensis*. Các nghiên cứu đều cho thấy việc bổ sung này sẽ làm gia tăng hàm lượng các hoạt chất cũng như hoạt tính sinh học của nấm *O. Sinensis* [6, 7].

Do đó, nghiên cứu này tập trung đánh giá các hoạt tính kháng viêm, kháng khuẩn và khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của *O. sinensis* giàu Se được nuôi cấy tại Việt Nam.

## **Vật liệu và phương pháp nghiên cứu**

Sinh khối *O. sinensis* giàu selen nuôi cấy bổ sung 25 mg/ml selen theo quy trình của Trần Minh Trang và cs (2016) [8] từ chủng *O. sinensis* cung cấp bởi TS Trương Bình Nguyên, Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Nông nghiệp Công nghệ cao, Trường

\*Tác giả liên hệ: Email: dangkhoanguyenhoang1912@gmail.com

# In vitro evaluation of $\alpha$ -glucosidase inhibitory, anti-inflammatory and antibacterial activities of selenium enriched *Ophiocordyceps sinensis*

Quoc Phong Le<sup>1,2</sup>, Hoang Dang Khoa Nguyen<sup>3\*</sup>,  
Tu Quyên Dang<sup>3</sup>, Tai Hoang Nguyen<sup>4</sup>,  
Minh Hiep Dinh<sup>5</sup>, Ke Suong Ngo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduate University of Science and Technology, Ha Noi

<sup>2</sup>Institute of Tropical Biology, Ho Chi Minh city

<sup>3</sup>University of Science, Vietnam National University, Ho Chi Minh city

<sup>4</sup>Center of Research and Application Biology, Ho Chi Minh city

<sup>5</sup>Management Board of Agricultural Hi-Tech Park, Ho Chi Minh city

Received 3 March 2020; accepted 1 June 2020

## Abstract:

*Ophiocordyceps sinensis* (*O. sinensis*) - commonly known as Dong Chong Xia Cao, is a valuable medicinal fungus containing many bioactive compounds such as cordycepin, D-mannitol, polysaccharide, etc. While selenium is an essential trace element for humans, it is the main component of some enzymes such as glutathione peroxidase, thioredoxin reductase, and deiodinase which play an important role in scavenging free radicals, enhancing reproductive and muscle function, and preventing cancer. Several studies have shown that inorganic selenium added to *O. sinensis* culture can be converted into a beneficial organic form, which increases the value for the fungus. In this study, extracts from Se-enriched *O. sinensis* were evaluated some biological activities such as anti-inflammatory, antibacterial, and  $\alpha$ -glucosidase inhibition. Results showed that Bu extract (extracted by n-butanol), crude extract, and EtOAc extract (extracted by ethyl acetate) can resist to *S. sonnei* at a concentration of 1000  $\mu$ g/ml. Besides, the anti-inflammatory activity was stronger in crude extract, PE extract, and EtOAc extracts with IC<sub>50</sub> values were 195.58 $\pm$ 7.89; 64.19 $\pm$ 0.22; 469.27 $\pm$ 16.57 ( $\mu$ g/ml), respectively. However, all extracts had no ability to inhibit  $\alpha$ -glucosidase. This study exhibited that extracts from Se-enriched *O. sinensis* have an admirable anti-inflammatory activity, which is a prerequisite for *in vivo* model research.

**Keywords:** antibacterial activity, anti-inflammatory activity, *Ophiocordyceps sinensis*, selenium,  $\alpha$ -glucosidase inhibitors.

**Classification number:** 1.6

Đại học Đà Lạt.

Sinh khối đối chứng (ĐC) là sinh khối *O. sinensis* nuôi cấy không bổ sung Se của cùng chủng *O. sinensis*.

## Phương pháp chiết cao

Sử dụng ethanol 96% chiết theo phương pháp ngâm kiệt để hòa tan các hợp chất có trong nấm *O. sinensis* giàu selen. Sinh khối khô được xay nhỏ, bổ sung ethanol 96° cho ngập nguyên liệu, ngâm trong 24 giờ, sau đó mở van chiết thu nhận cao chiết đến khi chiết kiệt chất. Thu dịch chiết, sau đó cô quay chân không loại dung môi và thu được cao tổng. Cao tổng được chiết phân đoạn theo nguyên tắc chiết lỏng - lỏng bằng cách hòa tan vào nước, sau đó lắc trong bình lóng với các dung môi có độ phân cực tăng dần để thu các cao phân đoạn là cao petroleum ether (cao PE), cao ethyl acetate (cao EtOAc), cao n-butanol (cao Bu) và cao nước. Cao poly (cao CPS) được chiết bằng nước nóng từ bã sinh khối sau khi chiết cao tổng [9]. Polysaccharide nội bào (IPS) thu nhận bằng cách chiết sinh khối nấm bằng nước nóng ở 60°C trong 2 giờ, lặp lại 3 lần, dịch chiết sau đó được tủa với ethanol tuyệt đối lạnh theo tỷ lệ 1:4 (v/v) thu kết tủa là IPS [10]. Bên cạnh đó, dịch nuôi cấy thu được sau khi thu sinh khối được cô quay để giảm thể tích, sẽ được tủa với ethanol tuyệt đối lạnh theo tỷ lệ 1:4 (v/v) thu tủa là polysaccharide ngoại bào (EPS) [11].

## Phương pháp khảo sát hoạt tính kháng viêm

Hoạt tính kháng viêm được đánh giá thông qua khảo sát ức chế biến tính albumin trên mô hình *in vitro* của Trần Quốc Tuấn và cs (2014) [12] với chứng dương là diclofenat. Hút 2 ml đệm acetate 0,025 M (pH 5,5), bổ sung thêm 1 ml albumin huyết thanh bò 0,16% và 1 ml cao chiết ở các nồng độ 93,75; 187,5; 375; 750; 1500  $\mu$ g/ml, sau đó ủ ở 37°C trong 30 phút. Đun cách thủy ở 67°C trong 3 phút, làm lạnh rồi đo mật độ quang ở bước sóng 660 nm. Theo đó % ức chế = [(OD<sub>c</sub> - OD<sub>m</sub>) / OD<sub>c</sub>] × 100, trong đó OD<sub>c</sub>: mật độ quang của mẫu trắng (thay cao chiết bằng đệm); OD<sub>m</sub>: mật độ quang của mẫu. Sau đó, xây dựng phương trình tương quan tuyến tính (y=ax+b) giữa % ức chế và nồng độ mẫu, xác định giá trị IC<sub>50</sub> (là nồng độ mà tại đó 50% protein bị biến tính).

## Phương pháp khảo sát hoạt tính kháng khuẩn

Quy trình khảo sát hoạt tính kháng khuẩn được tham khảo theo Reis và cs (2013) [13]. Vi khuẩn *Salmonella typhi* (Sal), *Escherichia coli* (EC), *Escherichia coli* kháng kháng sinh (EC5), *Pseudomonas aeruginosa* (Pa), *Pseudomonas aeruginosa* kháng kháng sinh (Pa1), *Shigella sonnei* (SS), *Staphylococcus aureus* (Sa3), *Enterococcus faecalis* (Ef), *Enterococcus faecium* (Efa), *Enterococcus faecium* kháng kháng sinh (Efa1) được nuôi cấy trong môi trường NA (Nutrient agar) cho tới khi đạt mật độ 10<sup>6</sup> cfu/ml. Trải 100  $\mu$ l dịch vi khuẩn trên đĩa petri chứa 25 ml môi trường MHA (Mueller-Hinton agar) vô trùng, để khô, sau đó đục các lỗ thạch đường kính 4 mm. Cho 100  $\mu$ l dịch cao chiết ở nồng độ 1000  $\mu$ g/ml vào mỗi lỗ thạch, ủ 37°C trong vòng 18-24 giờ, đọc kết quả và

đo đường kính vòng kháng khuẩn.

**Phương pháp khảo sát hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase**

Quy trình khảo sát dựa trên phương pháp của Vũ Thị Bạch Phượng và cs (2016) [14] với arcabose làm chứng dương. Hút 50  $\mu$ l cao chiết ở các nồng độ cần thử nghiệm, bổ sung thêm 40  $\mu$ l  $\alpha$ -glucosidase 0,05 UI/ml, sau đó ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút. Bổ sung thêm 40  $\mu$ l pNPG (p-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside) 5 mM, tiếp tục ủ ở nhiệt độ 37°C trong 20 phút. Dừng phản ứng bằng 130  $\mu$ l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,2 M rồi tiến hành đo OD ở bước sóng 405 nm. Khảo sát được thực hiện trên đĩa 96 giếng và đo mật độ quang bằng máy Perkin Elmer VICTOR X3, Mỹ. Khả năng ức chế  $\alpha$ -glucosidase được tính theo công thức % ức chế =  $100\% \times \frac{(OD_{\text{thử không}} - OD_{\text{so màu thử không}}) - (OD_{\text{mẫu}} - OD_{\text{so màu mẫu}})}{(OD_{\text{thử không}} - OD_{\text{so màu thử không}})}$ . Trong đó thử không và so màu lần lượt là lô thí nghiệm thay mẫu và enzyme bằng đệm phosphat (0,1 M, pH 6,9).

**Xử lý số liệu**

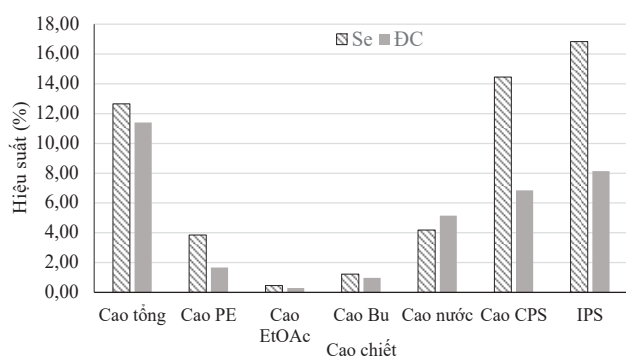
Các kết quả được lặp lại 3 lần và tính giá trị trung bình. Xử lý số liệu bằng phần mềm Excel 2016 và GraphPad Prism 8. Kết quả được trình bày ở dạng trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn.

**Kết quả và bàn luận**

**Hiệu suất chiết cao**

Cao tổng được chiết từ bột sinh khối *O. sinensis* giàu Se, sau đó bã cao chiết được chiết cao CPS. Các cao phân đoạn được chiết phân đoạn từ 50% khối lượng cao tổng. Hiệu suất chiết cao được thể hiện ở hình 1 thông qua % giữa khối lượng cao chiết thu được và khối lượng sinh khối đã chiết cao.

Ngoài ra, EPS thu được từ môi trường nuôi cấy ở nhóm giàu Se và ĐC có hàm lượng lần lượt là 1,62 và 2,55 g/l.



Hình 1. Hiệu suất chiết cao từ sinh khối nấm *O. sinensis* giàu Se và nhóm ĐC.

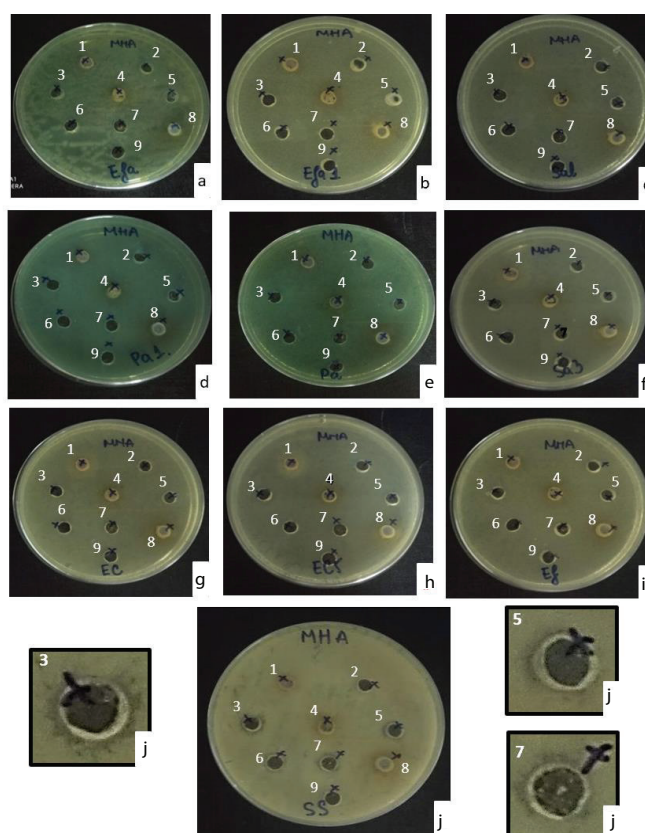
Hiệu suất chiết cao tổng và IPS ở nhóm Se và ĐC đều có hiệu suất cao nhất (cao tổng lần lượt là 12,65 và 11,40%, IPS lần lượt là 16,82 và 8,14%). Trong khi đó, ở cả hai nhóm, hiệu suất của cao Bu (1,22; 0,98%) và cao EtOAc (0,46; 0,29%) là

rất thấp nhất. Trong các cao phân đoạn, hiệu suất của cao nước là khá cao.

**Kết quả khảo sát kháng khuẩn**

Nghiên cứu được thực hiện trên các đối tượng vi khuẩn Gram âm: *Samonella typhi* (Sal), *Escherichia coli* (EC), *Escherichia coli* kháng kháng sinh (EC5), *Pseudomonas aeruginosa* (Pa), *Pseudomonas aeruginosa* kháng kháng sinh (Pa1), *Shigella sonnei* (SS); vi khuẩn Gram dương: *Staphylococcus aureus* (Sa3), *Enterococcus faecalis* (Ef), *Enterococcus faecium* (Efa), *Enterococcus faecium* kháng kháng sinh (Efa1) và được đánh giá thông qua đường kính vòng vô khuẩn. Đường kính càng lớn thể hiện khả năng kháng khuẩn càng cao.

DMSO 20% được sử dụng làm chứng âm và kết quả cho thấy không xuất hiện vòng kháng khuẩn nên sử dụng DMSO 20% để hòa tan các cao ở các dung môi khác nhau sẽ không gây ảnh hưởng đến kết quả kháng khuẩn [15]. Tại nồng độ 1000  $\mu$ g/ml cao chiết trên các đĩa khuẩn Sal, EC, EC5, Pa, Pa1, Sa3, Ef, Efa và Efa1 không thấy xuất hiện vòng kháng khuẩn. Trên đĩa khuẩn *S. Sonnei*, các cao chiết như cao Bu, cao EtOAc và cao tổng có xuất hiện vòng tan nhỏ và đường kính lần lượt là 10, 9 và 8 mm. Kết quả này được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Khả năng kháng khuẩn của cao chiết *O. sinensis* giàu Se trên các vi khuẩn: Efa (a); Efa 1 (b); Sal (c); Pa1 (d); Pa (e); Sa3 (f); EC (g); EC5 (h); Ef (i); SS (j). (1) Cao IPS, (2) Cao H<sub>2</sub>O, (3) Cao Bu, (4) EPS, (5) Cao tổng, (6) Cao PE, (7) Cao EtOAc, (8) CPS, (9) Chứng âm DMSO 20%.



### Kết quả khảo sát kháng viêm

Quá trình viêm trong cơ thể sẽ giải phóng các chất trung gian, các chất này làm nhiệt độ cơ thể tăng, gây biến tính các loại protein trong cơ thể thông qua các liên kết của protein như liên kết hydro, liên kết ion, lực Van der Waals và tương tác tĩnh điện [16]. Thông qua khả năng bảo vệ protein khỏi sự biến tính do nhiệt có thể đánh giá khả năng kháng viêm của cao chiết [12].

Chứng dương diclofenac có giá trị  $IC_{50}$  là  $49,41 \pm 0,68$  ( $\mu\text{g/ml}$ ). Kết quả hoạt tính kháng viêm được đánh giá thông qua giá trị  $IC_{50}$  của các cao chiết được thể hiện trong bảng 1.

**Bảng 1. Giá trị  $IC_{50}$  của các cao chiết trong khảo sát hoạt tính kháng viêm.**

Mẫu	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	
	<i>O. sinensis</i> giàu Se	<i>O. sinensis</i> ĐC
Cao tổng	$195,58 \pm 7,89$	$858,04 \pm 4,58$
Cao PE	$64,19 \pm 0,22$	$199,5 \pm 15,35$
Cao EtOAc	$469,27 \pm 16,57$	$810,51 \pm 15,17$
Cao Bu	>1500	>1500
Cao H <sub>2</sub> O	>1500	>1500
Cao CPS	$1259,28 \pm 46,20$	-
Cao IPS	$1280,33 \pm 135,22$	>1500
Cao EPS	>1500	$1022,40 \pm 53,45$
Diclofenac	$49,41 \pm 0,68$	

Ghi chú: >1500:  $IC_{50}$  có giá trị >1500  $\mu\text{g/ml}$ , (-): chưa khảo sát.

Kết quả cho thấy, giá trị  $IC_{50}$  của nhóm giàu Se thấp hơn nhóm đối chứng. Trong đó, hoạt tính kháng viêm thể hiện tốt nhất ở các cao PE, cao tổng và cao EtOAc ở cả 2 nhóm. Bên cạnh đó, các cao Bu và cao H<sub>2</sub>O cho thấy hoạt tính kháng viêm rất thấp ở cả 2 nhóm ( $IC_{50}$  >1500  $\mu\text{g/ml}$ ).

### Kết quả khảo sát ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase

Trong nghiên cứu này, arcarbose được làm chứng dương với giá trị  $IC_{50} = 2134 \pm 82$  ( $\mu\text{g/ml}$ ). Các cao chiết được khảo sát hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase ở các nồng độ 5000, 500 và 50  $\mu\text{g/ml}$  với % ức chế của các cao chiết được thể hiện ở bảng 2.

Ở cả 2 nhóm nấm, % ức chế enzyme tăng dần theo nồng độ khảo sát nhưng giá trị này <50% nên không tính được giá trị  $IC_{50}$ . Trong đó, % ức chế enzyme cao nhất là ở cao EtOAc, đạt 23,76% ở nhóm giàu Se và 12,8% ở nhóm đối chứng tại nồng độ 5000  $\mu\text{g/ml}$ . Kết quả này cho thấy, nấm *O. sinensis* không thể hiện hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase.

**Bảng 2. Khả năng ức chế  $\alpha$ -glucosidase của các cao chiết.**

Mẫu		% ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase		
		50 ( $\mu\text{g/ml}$ )	500 ( $\mu\text{g/ml}$ )	5000 ( $\mu\text{g/ml}$ )
Nấm <i>O. sinensis</i> giàu Se	Cao EtOH	-8,25	-2,81	5,25
	Cao PE	-2,76	1,18	9,12
	Cao EtOAc	0,91	4,60	23,76
	Cao n-BuOH	-0,37	0,55	3,08
	Cao H <sub>2</sub> O	0,12	2,21	5,41
	Cao CPS	0,73	4,82	6,72
	Cao IPS	5,38	12,06	4,25
	Cao EPS	2,73	1,09	3,22
Nấm <i>O. sinensis</i> ĐC	Cao EtOH	1,00	-3,65	-3,41
	Cao PE	-9,90	2,66	3,53
	Cao EtOAc	-0,15	1,69	12,80
	Cao n-BuOH	-0,35	1,75	1,13
	Cao H <sub>2</sub> O	-3,02	-4,64	-2,85
	Cao CPS	-	-	-
	Cao IPS	3,14	-0,5	1,07
	Cao EPS	-0,74	4,44	-3,10

Chú thích: (-) chưa khảo sát.

### Bàn luận

Hiệu suất chiết cao khác nhau ở từng phân đoạn cho thấy, sinh khối nấm *O. sinensis* giàu Se và nhóm *O. sinensis* đối chứng có hàm lượng các hợp chất khác nhau giữa các phân đoạn cao. Bên cạnh đó, ngoại trừ cao nước, hiệu suất chiết cao của tất cả các cao chiết khác nhóm Se đều cao hơn nhóm đối chứng, điều đó chứng minh việc bổ sung Se vào quá trình nuôi cấy có thể làm gia tăng sự sinh tổng hợp các chất trong *O. Sinensis*. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Zheng và cs (2014) [6]. Ở cả hai nhóm, hiệu suất của cao Bu (3,85 và 1,67%) và cao EtOAc (0,46 và 0,29%) là rất thấp, điều này chứng tỏ các hợp chất có độ phân cực trung bình có hàm lượng rất thấp trong sinh khối *O. sinensis*. Dựa vào hiệu suất chiết cao phân đoạn, ta thấy hiệu suất chiết cao nước ở cả 2 nhóm đều cao hơn những cao phân đoạn còn lại. Điều này chứng tỏ, sinh khối *O. sinensis* ở cả 2 nhóm đều chứa nhiều hợp chất có độ phân cực cao. Hiệu suất thu nhận IPS khá cao, kết quả này là hợp lý vì theo nhiều nghiên cứu, polysaccharide là thành phần chiếm hàm lượng rất lớn trong nấm *O. Sinensis* [17].

Khả năng kháng khuẩn của các cao chiết từ sinh khối nấm *O. sinensis* không quá cao. Tuy nhiên, kết quả này còn phụ thuộc vào chủng vi khuẩn. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu vẫn cho thấy khả năng kháng khuẩn của *O. sinensis* tập trung ở một số cao như cao Bu và EtOAc. Một số nghiên cứu trước đây cũng đã cho thấy kết quả tương tự ở một số loài *Cordyceps*

khác. Theo Tuli và cs (2014) [18], các hợp chất từ cao Bu ở nấm *C. militaris* 3936 đem lại khả năng kháng khuẩn cao khi thử nghiệm với vi khuẩn gram âm *K. pneumoniae* với đường kính vòng kháng khuẩn đạt 16 mm, cao hơn cao nước khá nhiều (đường kính vòng kháng khuẩn 10 mm). Ngoài ra, Dong và cs (2014) [19] đã chứng minh cao chiết từ sinh khối *C. militaris* nuôi cấy nhân tạo gần như không có hoạt tính kháng khuẩn với một số chủng vi khuẩn được thử nghiệm như *B. subtilis*, *P. aeruginosa* nhưng cao chiết từ quả thể của loài nấm thì lại thể hiện hoạt tính khá tốt.

Dựa vào kết quả hoạt tính kháng viêm, có thể thấy sự ức chế biến tính albumin của hầu hết các cao chiết của nhóm nấm giàu Se cao hơn nhóm đối chứng, đặc biệt ở cao PE, cao EtOAc và cao EtOH có khả năng kháng viêm lần lượt tăng 3,1; 1,73; 4,39 lần so với đối chứng. Như vậy, việc bổ sung Se vào môi trường nuôi cấy có thể làm tăng khả năng kháng viêm của nấm *O. sinensis*. Trên thế giới, đã có nhiều nghiên cứu chứng minh các hợp chất chứa Se có khả năng kháng viêm tốt như các loại acid carboxylic (acid methyl-seleno-2-benzoic, acid acetylseleno-2-benzoic) và các loại benzisosenazolones [20, 21]. Các nhóm cao thể hiện hoạt tính tốt là cao PE < cao tổng < cao EtOAc ở cả lô *O. sinensis* giàu Se và lô đối chứng. Điều này chứng tỏ các hoạt chất có khả năng kháng viêm cao có độ phân cực thấp và trung bình nên tập trung nhiều vào 2 phân đoạn PE và EtOAc. Wu và cs (2007) [22] đã xác định trong cao EtOAc của *Cordyceps sinensis* có các hợp chất như adenosin, cordycepin và ergosterol, được biết đến như các hợp chất có khả năng điều trị viêm. Yang và cs (2011) [23] cho thấy, ở các cao hexane, cao MeOH và cao EtOAc của *O. sinensis* có hoạt tính kháng viêm cao thông qua thử nghiệm elastase với % ức chế lần lượt là 70,76; 94,99 và 97,49% ở nồng độ 10 µg/ml, trong khi đó cao nước có hoạt tính rất thấp với % ức chế là 3,94%.

Kết quả của nghiên cứu cho thấy khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các cao chiết khá thấp. Trong đó, % ức chế enzyme cao nhất là ở cao EtOAc, đạt 23,76% ở nhóm giàu Se và 12,8% ở nhóm đối chứng tại nồng độ 5000 µg/ml. Trước đây, nghiên cứu của Nguyen và cs (2017) [24] khảo sát hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase từ các cao chiết ở nấm *Cordyceps neovolkiana* cho thấy, mặc dù không tính được giá trị  $IC_{50}$  nhưng khả năng ức chế tốt nhất cũng là trên cao phân đoạn EtOAc. Các giá trị âm xuất hiện, điều này có thể do các hợp chất kỵ nước như lipid, acid béo và các hợp chất sterol trong *Cordyceps* giúp hỗ trợ cho việc hình thành trung tâm hoạt động của  $\alpha$ -glucosidase [25]. *Ophiocordyceps sinensis* được chứng minh có thể điều hòa lượng glucose trong máu bằng cách tăng cường tổng hợp insulin, qua đó điều hòa chỉ số insulin - glucose trong máu [26]. Như vậy có thể thấy, cơ chế hỗ trợ điều trị đái tháo đường của loài nấm này không phải do ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase.

## Kết luận

Dựa vào kết quả khảo sát, ta thấy hiệu suất chiết của các cao chiết từ nấm *O. sinensis* giàu Se cao hơn nhóm đối chứng. Tại

nồng độ 1000 µg/ml, các cao n-BuOH, cao EtOH và EtOAc cho thấy khả năng kháng vi khuẩn *S. sonnei*. Hoạt tính kháng viêm của các cao chiết từ nấm *O. sinensis* giàu selen cao hơn nhóm đối chứng, đặc biệt là ở các cao EtOH, EtOAc và cao PE. Các cao chiết không có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase.

Để đánh giá rõ hơn về hoạt tính của nấm *O. sinensis* giàu Se, trong thời gian tới, chúng tôi sẽ tiếp tục khảo sát thêm một số hoạt tính sinh học khác như kháng oxy hóa, bảo vệ DNA, ức chế xanthine oxidase.

## LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi cảm ơn Học viện KH&CN, Viện Sinh học Nhiệt đới TP Hồ Chí Minh và Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh đã tạo điều kiện thuận lợi cho nhóm nghiên cứu thực hiện đề tài. Chúng tôi cũng xin cảm ơn TS Trương Bình Nguyên đã cung cấp chủng nấm *O. sinensis* cho nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M.P. Rayman (2012), "Selenium and human health", *The Lancet*, **379(9822)**, pp.1256-1268.
- [2] K. Schwarz, and C.M. Foltz (1957), "Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration", *Journal of the American Chemical Society*, **79(12)**, pp.3292-3293.
- [3] E.R. Monsen (2000), "Dietary reference intakes for the antioxidant nutrients: vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids", *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, **100(6)**, pp.637-640.
- [4] S.Y. Fung, S.S. Lee, N.H. Tan, J. Pailoor (2017), "Safety assessment of cultivated fruiting body of *Ophiocordyceps sinensis* evaluated through subacute toxicity in rats", *Journal of Ethnopharmacology*, **206**, pp.236-244.
- [5] H.C. Lo, C. Hsieh, F.Y. Lin, T.H. Hsu (2013), "A systematic review of the mysterious caterpillar fungus *Ophiocordyceps sinensis* in DongChongXiaCao (冬蟲夏草 Đông Chông Xià Cảo) and related bioactive ingredients", *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, **3(1)**, pp.16-32.
- [6] L. Zheng, L. Hao, H. Ma, C. Tian, T. Li, X. Sun, M. Jia, L. Jia (2014), "Production and in vivo antioxidant activity of Zn, Ge, Se-enriched mycelia by *Cordyceps sinensis* SU-01", *Current Microbiology*, **69(3)**, pp.270-276.
- [7] S. Yang, and H. Zhang (2016), "Production of intracellular selenium-enriched polysaccharides from thin stillage by *Cordyceps sinensis* and its bioactivities", *Food & Nutrition Research*, **60(1)**, pp.30153.
- [8] Trần Minh Trang, Đinh Minh Hiệp, Lê Quốc Phong và Phạm Tiến Dũng (2016), "Nghiên cứu khả năng hấp thu selen của nấm *Ophiocordyceps sinensis* trong nuôi cấy lỏng", *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*, **19(6T)**, tr 53-61.
- [9] Nguyễn Kim Phi Phụng (2007), *Phương pháp cô lập các hợp chất hữu cơ*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.
- [10] S.P. Li, K.J. Zhao, Z.N. Ji, Z.H. Song, T.T. Dong, C.K. Lo, J.K. Cheung, S.Q. Zhu, K.W. Tsim (2003), "A polysaccharide isolated from *Cordyceps sinensis*, a traditional Chinese medicine, protects PC12 cells against hydrogen peroxide-induced injury", *Life Sciences*, **73(19)**, pp.2503-2513.

- [11] W. Zhang, J. Yang, J. Chen, Y. Hou, X. Han (2005), "Immunomodulatory and antitumour effects of an exopolysaccharide fraction from cultivated *Cordyceps sinensis* (Chinese caterpillar fungus) on tumour-bearing mice", *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **42(1)**, pp.9-15.
- [12] Trần Quốc Tuấn, Lê Thị Oanh, Đinh Minh Hiệp và Ngô Đại Nghiệp (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(5B)**, tr.532-538.
- [13] F.S. Reis, L. Barros, R.C. Calhelha, A. Ćirić, L.J. Van Griensven, M. Soković, I.C. Ferreira (2013), "The methanolic extract of *Cordyceps militaris* (L.) Link fruiting body shows antioxidant, antibacterial, antifungal and antihuman tumor cell lines properties", *Food and Chemical Toxicology*, **62**, pp.91-98.
- [14] Vũ Thị Bạch Phương, Hoàng Thị Thanh Minh, Phạm Thị Ánh Hồng và Quách Ngô Diễm Phương (2016), "Khảo sát hoạt tính sinh học và nghiên cứu cảm ứng tạo rễ tơ cây cỏ xay *Abutilon indicum* (L.)", *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*, **19(T5)**, tr.95-102.
- [15] R. Brito, G. Silva, T. Farias, P. Ferreira, S. Ferreira (2017), "Standardization of the safety level of the use of DMSO in viability assays in bacterial cells", *International Conference on Multidisciplinary Sciences*, **3**, DOI:10.3390/mol2net-03-xxxx.
- [16] M. Shashidhar, P. Giridhar, K.U. Sankar, B. Manohar (2013), "Bioactive principles from *Cordyceps sinensis*: a potent food supplement - a review", *Journal of Functional Foods*, **5(3)**, pp.1013-1030.
- [17] P.H. Leung, S. Zhao, K.P. Ho, J.Y. Wu (2009), "Chemical properties and antioxidant activity of exopolysaccharides from mycelial culture of *Cordyceps sinensis* fungus Cs-HK1", *Food Chemistry*, **114(4)**, pp.1251-1256.
- [18] H.S. Tuli, S. Sandhu, D. Kashyap, A.K. Sharma (2014), "Optimization of extraction conditions and antimicrobial potential of a bioactive metabolite, cordycepin from *Cordyceps militaris* 3936", *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **3**, pp.1525-1535.
- [19] C. Dong, T. Yang, T. Lian (2014), "A comparative study of the antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities of methanol extracts from fruit bodies and fermented mycelia of caterpillar medicinal mushroom *Cordyceps militaris* (Ascomycetes)", *International Journal of Medicinal Mushrooms*, **16(5)**, pp.485-495.
- [20] M.J. Parnham, and E. Graf (1991), "Pharmacology of synthetic organic selenium compounds", *Progress in Drug Research*, Springer, pp.9-47.
- [21] A.M. Peretz, J.D. Nève, J.P.P. Famaey (1991), "Selenium in rheumatic diseases", *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, **20(5)**, pp.305-316.
- [22] J.Y. Wu, Q.X. Zhang, P.H. Leung (2007), "Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Cordyceps sinensis* mycelium on various cancer cells in culture and B16 melanoma in C57BL/6 mice", *Phytomedicine*, **14(1)**, pp.43-49.
- [23] M.L. Yang, P.C. Kuo, T.L. Hwan, T.S. Wu (2011), "Anti-inflammatory principles from *Cordyceps sinensis*", *Journal of Natural Products*, **74(9)**, pp.1996-2000.
- [24] C.D. Nguyen, T. Huynh, M.H. Dinh (2017), "Screening for some biological activities of cultured *Cordyceps neovolkiana*", *Science and Technology Development Journal*, **20(K3)**, pp.106-112.
- [25] Y. Wang, L. Ma, Z. Li, Z. Du, Z. Liu, J. Qin, X. Wang, Z. Huang, L. Gu, A.S. Chen (2004), "Synergetic inhibition of metal ions and genistein on  $\alpha$ -glucosidase", *FEBS Letters*, **576(1-2)**, pp.46-50.
- [26] T.W. Balon, A.P. Jasman, J.S. Zhu (2002), "A fermentation product of *Cordyceps sinensis* increases whole-body insulin sensitivity in rats", *The Journal of Alternative & Complementary Medicine*, **8(3)**, pp.315-323.