

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA VÀ BẢO VỆ DNA *in vitro* CỦA NẤM *Ophiocordyceps sinensis* GIÀU SELEN

Lê Quốc Phong^{1,2}, Nguyễn Hoàng Đăng Khoa^{3*}, Nguyễn Tài Hoàng⁴, Đinh Minh Hiệp⁵, Ngô Kế Sương²

¹ Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

² Viện Sinh học Nhiệt đới, Thành phố Hồ Chí Minh

³ Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

⁴ Trung tâm Nghiên cứu và Ứng dụng Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh

⁵ Ban Quản lý Khu Nông nghiệp Công nghệ cao Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Đông trùng hạ thảo (*Ophiocordyceps sinensis*) là một loại nấm dược liệu trong y học cổ truyền có chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học cao như adenosine, cordycepin, ergosterol... Nhiều nghiên cứu trước đây cho thấy, bổ sung selen vào môi trường nuôi cấy sẽ làm gia tăng hoạt tính sinh học của nấm. Nghiên cứu này tiến hành đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết từ nấm *O. sinensis* bằng ba khảo sát khác nhau bao gồm: 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid (ABTS), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) và năng lực khử. Các cao chiết từ nấm *O. sinensis* giàu selen được đánh giá khả năng bảo vệ DNA. Kết quả đã chứng minh việc bổ sung selen làm gia tăng hoạt tính kháng oxy hóa ở các cao chiết từ nấm giàu selen. Cao ethyl acetate có hoạt tính kháng oxy hóa cao nhất với $IC_{50} = 1200 \pm 69$ ppm; $2026 \pm 23,5$ ppm và $\Delta OD = 0,137 \pm 0,007$ ở nồng độ 2000 ppm tương ứng với hoạt tính ABTS, DPPH và năng lực khử. Tất cả các cao chiết từ nấm *O. sinensis* giàu selen đều có khả năng bảo vệ DNA tại nồng độ 500 ppm. Kết quả cho thấy cao ethyl acetate từ sinh khối nấm *O. sinensis* giàu selen là cao chiết tiềm năng cho những nghiên cứu sâu hơn.

Từ khóa: ABTS, bảo vệ DNA, DPPH, năng lực khử, *Ophiocordyceps sinensis*, selen.

MỞ ĐẦU

Sự oxy hóa là quá trình chuyển hóa hợp chất dưới tác dụng của chất oxy hóa. Các phản ứng oxy hóa thường xảy ra rất nhanh khi bị kích hoạt bởi các gốc tự do, khi quá trình oxy hóa diễn ra tạo thành các gốc tự do khác, các gốc tự do này tiếp tục tham gia vào quá trình oxy hóa làm cho phản ứng diễn ra liên tục. Ở nồng độ thấp, các gốc tự do đóng vai trò là những phần tử tín hiệu giúp điều hòa hoạt động cơ thể. Tuy nhiên ở nồng độ cao, các gốc tự do sẽ phản ứng rất mạnh và gây ra tổn thương cho các đại phân tử sinh học khác qua đó gây ra nhiều loại bệnh lý nghiêm trọng (Lại Thị Ngọc Hà, Vũ Thị Thu, 2009).

Ophiocordyceps sinensis (*O. sinensis*) là một loại nấm ký sinh côn trùng. Loài nấm này chứa rất nhiều hoạt chất có hoạt tính sinh học cao như adenosine, cordycepin, polysaccharide... Đặc biệt, nhiều nghiên cứu đã cho thấy nấm *O. sinensis* có hoạt tính kháng oxy hóa rất tốt (Lo *et al.*, 2013). Mặt khác, selen là một nguyên tố vi lượng cần thiết cho con người. Nhiều công trình đã chỉ ra, bổ sung selen vô cơ vào môi trường nuôi cấy nấm *O. sinensis* sẽ làm cho nhiều hoạt tính sinh học của nấm được tăng lên (Yang *et al.*, 2016). Do đó, nghiên cứu này tiến hành khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa và bảo vệ DNA của các cao chiết từ nấm *O. sinensis* giàu selen, kết quả của nghiên cứu sẽ khẳng định vai trò của việc bổ sung làm giàu selen cho nấm *O. sinensis* cũng như tạo tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn trên mô hình *in vivo*.

NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Chủng giống *O. sinensis* được cung cấp bởi TS. Trương Bình Nguyên, Trường Đại học Đà Lạt.

Sinh khối nấm *O. sinensis* giàu selen sinh học nuôi cấy tại Phòng Thí nghiệm bộ môn Sinh hóa, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

Phương pháp chiết cao

Sinh khối nấm được chiết theo phương pháp chiết ngấm kiệt (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007). Sinh khối nấm được sấy khô, xay nhỏ, ngâm với cồn 96% trong 24h thu dịch chiết, tiếp tục chiết đến khi kiệt chất. Loại dung môi bằng hệ thống cô quay chân không thu cao ethanol (EtOH). Cao EtOH được phân đoạn với các dung môi có độ phân cực từ thấp tới cao lần lượt petroleum ether (PE), ethyl acetate (EtOAc), n - butanol (Bu) và nước (H₂O) theo tỉ lệ 1:1 (v/v). Loại dung môi thu các cao phân đoạn tương ứng với từng dung môi lần lượt là cao PE, cao

EA, cao Bu và cao H₂O. Bã sinh khối thu được sau khi chiết cao cồn, được chiết với nước nóng thu cao poly (PS). 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 rửa với ethanol 96% theo tỉ lệ 1:4 (v/v) ở 4°C, thu kết tủa là IPS. EPS thu từ dịch môi trường sau khi nuôi cấy cũng bằng các rửa với ethanol 96% theo tỉ lệ 1:4 ở 4°C (v/v).

Phương pháp bắt gốc tự do ABTS

Phương pháp ABTS: ABTS⁺ [2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)] là một gốc tự do bền phát huỳnh quang màu xanh có bước sóng hấp thụ đặc trưng là 734 nm. Khi bổ sung một hợp chất có khả năng kháng oxy hóa, ABTS⁺ sẽ bị khử về dạng không màu dẫn đến độ hấp thụ bước sóng đặc trưng giảm. Quy trình cụ thể được làm theo phương pháp của Re và đồng tác giả đã công bố (Re *et al.*, 1999). Gốc tự do ABTS⁺ được tạo bằng cách ủ dung dịch ABTS 7 mM với dung dịch K₂S₂O₈ 2,45 mM tỷ lệ 1:1 (v/v) trong đệm PBS trong tối 12 - 16 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó điều chỉnh giá trị OD của dung dịch ABTS⁺ về giá trị 0,70 ± 0,02. Phản ứng được tiến hành bằng cách thêm 100 µL cao chiết ở các nồng độ khác nhau vào 3 mL dung dịch ABTS⁺. Ủ tối 30 phút ở 25°C sau đó tiến hành đo độ hấp thụ bước sóng 734 nm bằng UV spectrophotometer. Phần trăm bắt gốc tự do được tính theo công thức: $[100 * (A-B)]/A$. Với A là giá trị OD₇₃₄ của mẫu đối chứng (thay mẫu bằng dung dịch đệm) và B là giá trị OD₇₃₄ của mẫu.

Phương pháp bắt gốc tự do DPPH

Khả năng bắt gốc tự do DPPH của cao chiết được đánh giá thông qua khả năng làm giảm độ hấp thụ bước sóng 517 nm của dung dịch DPPH theo phương pháp của Shacter và đồng tác giả (2000). Thêm 0,5 mL dung dịch cao chiết vào 0,75 mL dung dịch DPPH (40 µg/mL trong methanol 80%) và ủ 30 phút trong tối ở nhiệt độ phòng. Phần trăm bắt gốc tự do được tính theo công thức: $[100 * (A-B)]/A$. Với A là giá trị OD₅₁₇ của mẫu không (thay mẫu bằng dung dịch methanol 80%) và B là giá trị OD₅₁₇ của mẫu.

Phương pháp khảo sát năng lực khử

Phương pháp được thực hiện theo phương pháp của Zhou và đồng tác giả (2009) có điều chỉnh theo điều kiện của phòng thí nghiệm. Tạo hỗn hợp phản ứng gồm 5 mL đệm phosphate 0,2 M pH 6,0; 0,2 mL mẫu cao chiết; 0,5 mL dung dịch K₃[Fe(CN)₆] 1%. Sau đó, ủ ở 50°C trong 20 phút. Thêm 0,5 mL dung dịch TCA 10%, lắc đều, hút 0,8 mL dịch nổi vào 2 mL nước cất, thêm vào 0,4 mL FeCl₃ 1%. Sau đó đo mật độ quang ở bước sóng 700 nm bằng UV spectrophotometer.

Phương pháp khảo sát khả năng bảo vệ DNA

Phương pháp này đánh giá khả năng bảo vệ DNA trước sự tấn công của gốc OH tự do tạo ra từ phản ứng fenton. Khảo sát được tiến hành trên đoạn gen ITS của nấm sò trắng (*Pleurotus pulmonarius*) với quy trình dựa theo công bố của Huỳnh Thư có điều chỉnh một số bước (Huỳnh Thư *et al.*, 2012). Tạo hỗn hợp phản ứng bằng cách cho 4 µL DNA, 1 µL cao chiết, 1 µL H₂O₂ 1M và 1 µL FeSO₄ 140 mM. Ủ 20 phút, bổ sung 1 µL EDTA 0,5M. Đọc kết quả điện di trên gel agarose 1,5%, 100V, 15 phút. Kết quả của khảo sát được đọc bằng hệ thống Gel doc (UVITEC), sau đó được định dạng 3D bằng phần mềm UVITEC 1D.

Xử lý số liệu

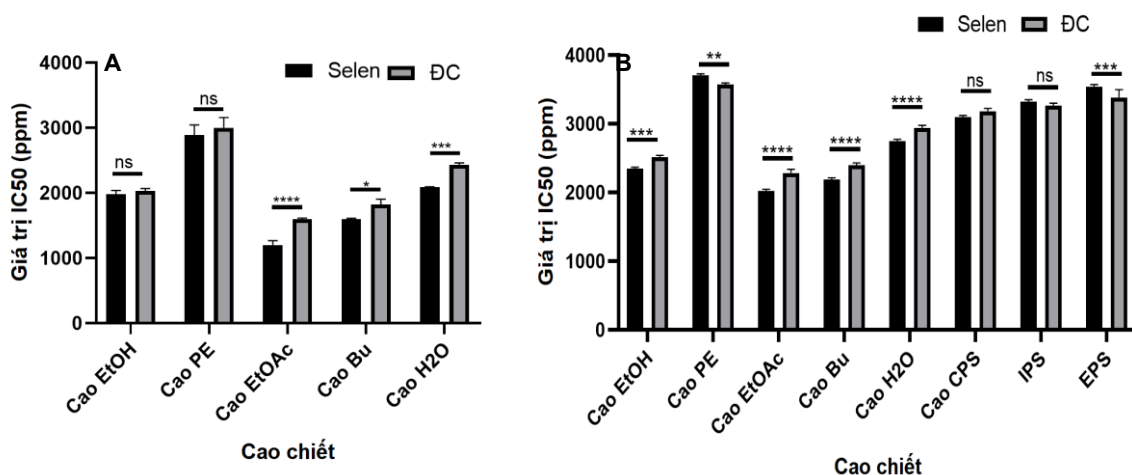
Các kết quả được lặp lại 3 lần và tính giá trị trung bình. Xử lý số liệu bằng phần mềm Excel 2016 và GraphPad Prism 8. Kết quả được trình bày ở dạng Trung bình ± Độ lệch chuẩn.

KẾT QUẢ

Khảo sát ABTS và DPPH

Các cao chiết được thử nghiệm theo nồng độ tăng dần từ 0 - 2000 (µg/mL). Phần trăm ức chế được dựng đường chuẩn và tính giá trị IC₅₀. Vitamin C được sử dụng làm chứng dương cho cả 2 hoạt tính DPPH và ABTS với giá trị IC₅₀ lần lượt là 8,63 ± 0,12 và 209,93 ± 1,54 (ppm). Thử nghiệm DPPH được sử dụng dung môi là methanol 80%, cho nên các cao polysaccharide sẽ bị kết tủa bởi cồn nên sẽ không thực hiện. Kết quả của 2 thử nghiệm này được thể hiện ở Hình 1.

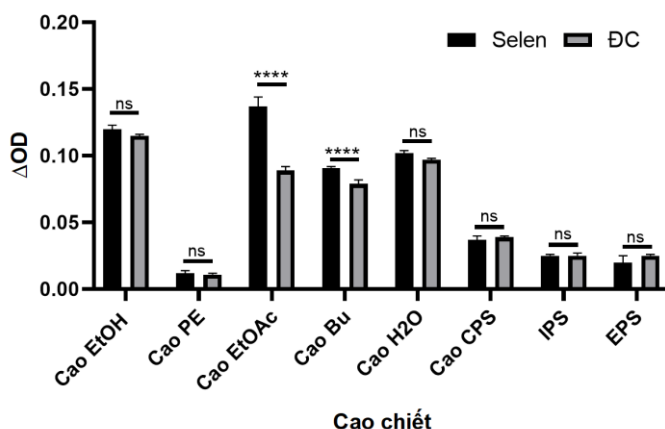
Nhìn chung, ở cả hai khảo sát các cao chiết từ sinh khối *O. sinensis* giàu selen đều cao hơn nhóm đối chứng. Các nhóm cao có hoạt tính cao nhất là cao Bu và cao EtOAc. Trong đó cao EtOAc có giá trị IC₅₀ thấp nhất lần lượt là 2026 ± 23,5 và 1200 ± 69,5 ở hoạt tính bắt gốc tự do ABTS và DPPH. Mặt khác cao PE có khả năng bắt gốc tự do thấp nhất. Hầu hết các cao chiết từ nấm *O. sinensis* giàu selen đều có khả năng bắt gốc tự do được cải thiện so với đối chứng. Ở cả hai khảo sát, hoạt tính bắt gốc tự do có thứ tự tương tự như nhau.



Hình 1. Giá trị IC₅₀ của các cao chiết trong khảo sát hoạt tính bắt gốc tự do trong khảo sát bắt gốc tự do A) DPPH và B) ABTS (ns: $p > 0,05$; *: [0,0021;0,0332]; **: [0,0002;0,0021], ***: [0,0001;0,0002], ****: $p < 0,0001$)

Khảo sát năng lực khử

Năng lực khử là một trong những đặc tính quan trọng thể hiện khả năng kháng oxy hóa của mẫu, cho thấy có sự hiện diện của các chất khử cũng như khả năng nhường nguyên tử hydrogen tạo nên các sản phẩm ổn định hơn nhằm kết thúc phản ứng chuỗi điện tử tự do. Khảo sát năng lực khử của các cao chiết và polysaccharide của 2 nhóm *O. sinensis* giàu selen và nhóm ĐC được thể hiện qua giá trị ΔOD tại nồng độ 2.000 $\mu\text{g/mL}$ của mẫu (Hình 2). Chưng dương là butylated hydroxyanisol (BHA) có giá trị ΔOD tại nồng độ 50 $\mu\text{g/mL}$ là 0,109.



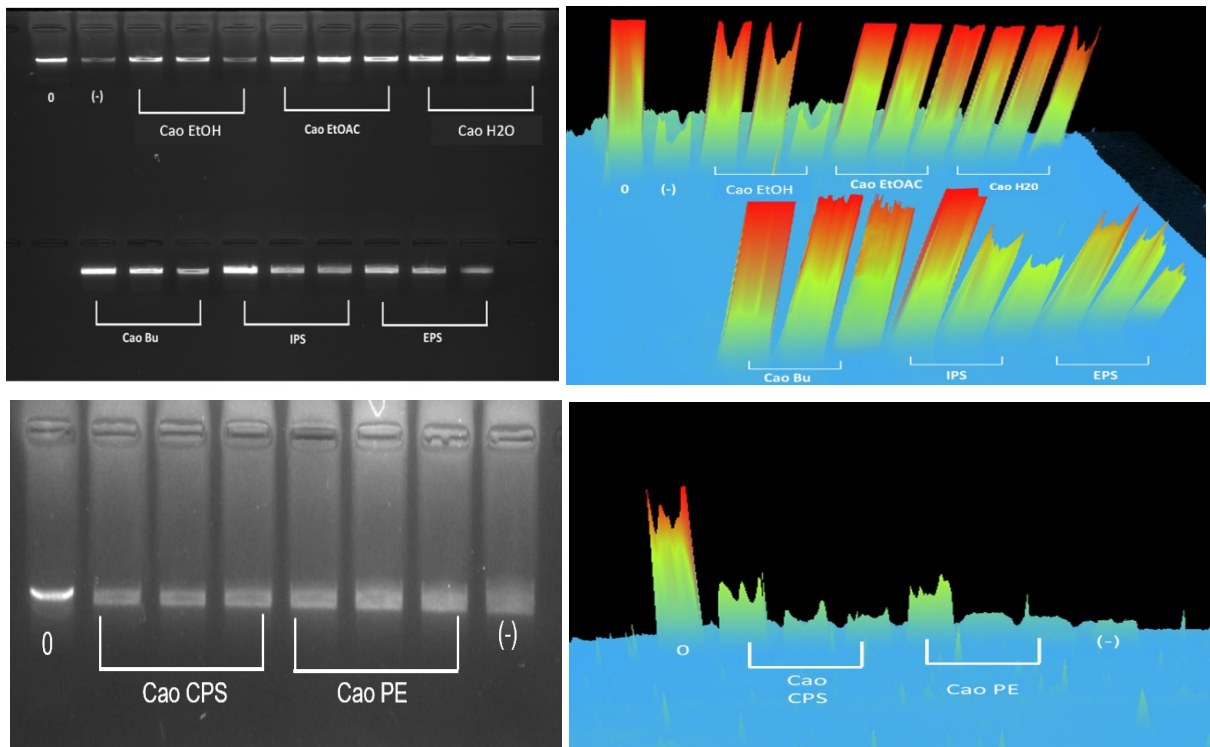
Hình 2. ΔOD tại nồng độ 2000 $\mu\text{g/mL}$ của các cao chiết trong khảo sát năng lực khử (ns: $p > 0,05$, ****: $p < 0,0001$)

Trong khảo sát năng lực khử, không có sự khác biệt ở hầu hết các cao chiết giữa nhóm selen và nhóm ĐC. Tuy nhiên, cao EtOAc của nấm *O. sinensis* giàu selen có năng lực khử mạnh nhất ($\Delta OD = 0,137 \pm 0,007$) và có sự khác biệt có ý nghĩa với với nấm ĐC. Bên cạnh đó, năng lực khử của cao Bu cũng được gia tăng đáng kể khi bổ sung làm giàu selen.

Khả năng bảo vệ DNA

Khảo sát được đánh giá trên mức độ toàn vẹn của DNA sau khi bị tấn công bởi gốc tự do. Các cao chiết được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng với các nồng độ 500; 1000; 15000 (ppm).

Kết quả cho thấy tất cả các cao chiết đều có mức độ nguyên vẹn của DNA cao hơn hoặc tương đương mẫu chứng âm, khi giảm dần nồng độ cao chiết, mức độ nguyên vẹn của DNA cũng giảm theo. Như vậy, các cao chiết từ *O. sinensis* giàu selen đều có khả năng bảo vệ DNA ở tất cả các nồng độ từ 1500 ppm đến 500 ppm. Theo kết quả 3D, ta có thể thấy cao EtOAc có khả năng bảo vệ DNA tốt nhất. Cao PE và CPS lại có khả năng bảo vệ DNA khá thấp ở nồng độ 500 ppm.



Hình3. Kết quả điện di DNA sau khi xử lý với các cao chiết ở định dạng 2D và 3D. Nồng độ cao chiết từ trái sang phải lần lượt là 1500; 1000; 500 (ppm); (-) mẫu chứng âm không bổ sung cao chiết; 0: mẫu DNA ban đầu

THẢO LUẬN

Nấm *O. sinensis* đã được nhiều nghiên cứu chứng minh khả năng kháng oxy hóa (Lo *et al.*, 2013). Theo nghiên cứu trước đây của Huỳnh Thư và đồng tác giả năm 2012, hoạt tính kháng oxy hóa của loài nấm này có sự tương quan với hàm lượng polyphenol, mà polyphenol tập trung chủ yếu ở cao EtOAc và cao Bu nên hoạt tính bắt gốc tự do ở hai cao này ở cả hai chủng nấm đều cao nhất. Ngoài ra, nghiên cứu này cũng cho thấy năng lực khử của các cao chiết không có sự tương quan với polyphenol mà có thể do một chất khử khác. Bên cạnh đó, nguyên tắc đánh giá của phương pháp này là đánh giá khả năng khử của các hợp chất chứ không phải dựa vào việc bắt gốc tự do. Đây có thể là nguyên nhân dẫn đến việc kết quả khảo sát năng lực khử có sự khác biệt so với hai phương pháp ABTS và DPPH. Cao EtOH được chiết bằng dung môi ethanol nên gần như tất cả các hợp chất có hoạt tính và không có hoạt tính kháng oxy hóa, do đó thể hiện hoạt tính thấp.

DNA là một đại phân tử trong cơ thể. Các gốc tự do có thể làm tổn thương DNA bằng cách lấy đi một nguyên tử hydro từ gốc đường của DNA hoặc làm đứt đoạn DNA ở một mạch hay thậm chí cả hai mạch. Mặc dù cơ thể có một số cơ chế để chống lại các tác động này bằng cách sử dụng các enzyme sửa chữa DNA hoặc chất chống oxy hóa tuy nhiên khi quá trình này diễn ra quá thường xuyên thì DNA vẫn sẽ bị đột biến. Tổn thương DNA do các gốc tự do được báo cáo là có liên quan mật thiết đến nhiều loại bệnh như đái tháo đường, suy giảm miễn dịch và ung thư (Henami *et al.*, 1998). Kết quả cho thấy, hoạt tính bảo vệ DNA của cao chiết từ sinh khối *O. sinensis* giàu selen là rất tốt, tất cả các cao chiết đều có độ toàn vẹn DNA cao hơn hoặc tương đương đối chứng âm. Tuy nhiên, do ở nồng độ thấp nhất là 500 ppm DNA vẫn được bảo vệ nên để có thể đánh giá chính xác hơn cần phải thử nghiệm cao chiết ở các nồng độ thấp nhằm tìm ra ngưỡng tối thiểu của mỗi cao chiết.

Ở hầu hết các khảo sát, cao EtOAc đều thể hiện hoạt tính tốt nhất. Trong nhiều nghiên cứu trước đây, kết quả tương tự đã được chứng minh. Năm 2014, Zhang và đồng tác giả đã công bố nghiên cứu cho thấy cao EtOAc từ nấm *O. sinensis* có tác dụng bảo vệ DNA cao hơn các cao PE, ethanol và nước (Zhang *et al.*, 2014). Patterson cũng chứng minh, trong khi chiết sinh khối nấm bằng ethyl acetate cao chiết là sẽ có nhiều hợp chất hơn khi so sánh với cao nước (Paterson, Russell, 2008).

Các kết quả cũng cho thấy hầu hết cao chiết từ nấm *O. sinensis* có hoạt tính được cải thiện so với đối chứng. Nhiều nghiên cứu cũng cho thấy kết quả tương tự (Wang *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2016). Selen đã được nhiều nghiên cứu chứng minh hoạt tính kháng oxy hóa. Hơn nữa, nó là thành phần chính của nhiều loại enzyme có chức năng kháng oxy hóa tiêu biểu là thioredoxin reductase và glutathione peroxidase (Burk, 2002). Việc bổ sung làm giàu selen được chứng minh sẽ làm tăng sự sinh tổng hợp các hợp chất có hoạt tính sinh học cao như

adenosine, cordycepin... Việc gia tăng sự sinh tổng hợp các hợp chất này có thể là nguyên nhân khiến cho hoạt tính của nấm giàu selen được gia tăng (Zheng *et al.*, 2014).

KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết nấm *O. sinensis* giàu selen có hoạt tính kháng oxy hóa cao hơn nhóm đối chứng. Trong đó, cao EtOAc cho thấy kết quả cao nhất với $IC_{50} = 1200 \pm 69$ ppm; $2026 \pm 23,5$ ppm và $\Delta OD = 0,137 \pm 0,007$ ở nồng độ 2.000 ppm; tương ứng với hoạt tính ABTS, DPPH và năng lực khử. Các cao chiết từ nấm *O. sinensis* giàu selen đều có khả năng bảo vệ DNA ở nồng độ 500 ppm.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin chân thành cảm ơn TS. Trương Bình Nguyên đã tài trợ chúng nấm cho nghiên cứu này. Đồng thời, chúng tôi cũng cảm ơn Phòng Thí nghiệm Nghiên cứu Bảo tồn và Phát triển Giống Nấm (Khu Nông nghiệp Công nghệ cao TP. HCM) đã hỗ trợ chúng tôi thực hiện các thí nghiệm về DNA.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Burk RF (2002). Selenium, an antioxidant nutrient. *Nut Clin Care* 5(2): 75-79.
- Hemnani T, Parihar MS (1998). Reactive oxygen species and oxidative DNA damage. *Indian J Physiol Pharmacol* 42: 440-452.
- Huỳnh Thư, Ngô Đại Nghiệp, Võ Thị Xuyên, Đinh Minh Hiệp, Trương Bình Nguyên (2012). Nghiên khả năng kháng oxy hóa của cao chiết từ một số chủng *Cordyceps* sp. phân lập tại Việt Nam, *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 10(4A): 1041-1046.
- Lại Thị Ngọc Hà, Vũ Thị Thư (2009). Stress oxy hóa và các chất kháng oxy hóa tự nhiên. *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 7(5): 667-677.
- Lo HC, Hsieh C, Lin FY, Hsu TH (2013). A systematic review of the mysterious caterpillar fungus *Ophiocordyceps sinensis* in DongChongXiaCao (冬蟲夏草 Dōng Chóng Xià Cǎo) and related bioactive ingredients. *J Tradit Complement Med* 3(1): 16-32.
- Nguyễn Kim Phi Phụng (2007). Phương pháp cô lập các hợp chất hữu cơ. *Nhà xuất bản Đại Học Quốc Gia TP. HCM*.
- Paterson RRM (2008). Cordyceps—a traditional Chinese medicine and another fungal therapeutic biofactory?. *Phytochem* 69(7): 1469-1495.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26(9-10): 1231-1237.
- Shacter E (2000). Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev* 32(3-4): 307-326.
- Wang L, Wang G, Zhang J, Zhang G, Jia L, Liu X, ... & Fan K (2011). Extraction optimization and antioxidant activity of intracellular selenium polysaccharide by *Cordyceps sinensis* SU-02. *Carbohydr Polym* 86(4): 1745-1750.
- Yang S, Zhang H (2016). Production of intracellular selenium-enriched polysaccharides from thin stillage by *Cordyceps sinensis* and its bioactivities. *Food Nutr Res* 60(1): 30153.
- Zhang Q, Wu J, Hu Z, Li D (2004). Induction of HL-60 apoptosis by ethyl acetate extract of *Cordyceps sinensis* fungal mycelium. *Life Sci* 75(24): 2911-2919.
- Zheng L, Hao L, Ma H, Tian C, Li T, Sun X, ... & Jia L (2014). Production and *in vivo* antioxidant activity of Zn, Ge, Se-enriched mycelia by *Cordyceps sinensis* SU-01. *Curr Microbiol* 69(3): 270-276.

In vitro ANTIOXIDANT AND DNA PROTECTION ACTIVITIES OF EXTRACTS FROM SELENIUM - ENRICHED *Ophiocordyceps sinensis*

Le Quoc Phong^{1,2}, Nguyen Hoang Dang Khoa^{3*}, Nguyen Tai Hoang⁴, Dinh Minh Hiep⁵, Ngo Ke Suong²

¹ Vietnam Academy of Science and Technology, Ha Noi

² Institute of Tropical Biology, Ho Chi Minh City

³ Ho Chi Minh City University of Science, Ho Chi Minh City

⁴ Center of Research and Application Biology, Ho Chi Minh City

⁵ Management Board of Ho Chi Minh City Agricultural Hi-Tech Park, Ho Chi Minh City

SUMMARY

Ophiocordyceps sinensis - đông chóng xià cảo, is a traditional medicinal mushroom, containing many bioactive compounds such as cordycepin, adenosine, cordymin, ergosterol ... As many previous studies, adding selenium to the culture medium will increase the bioactivities of the extracts from *O. sinensis*. In this study, extracts from Se - enriched *O. sinensis* was evaluated by using four different assays: the 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid (ABTS) assay, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay and reducing power assay. Extracts from Se - enriched *O. sinensis* was tested the DNA protecting activity. The results indicated that adding selenium

into cultural medium can increase the antioxidant activity of extracts from Se-enriched *O. sinensis* biomass. The ethyl acetate extract has the highest antioxidant activity with $IC_{50} = 1200 \pm 69.5$ ppm, 2026 ± 23.5 ppm, $\Delta OD = 0.137 \pm 0.007$ at 2000 ppm in ABTS, DPPH and reducing power, respectively. All extracts can protect DNA at concentrations of 500 ppm. The results show that ethyl acetate extract from Se-enriched *O. sinensis* is a potential extract for further research.

Keywords: Antioxidant activity, DNA protection assay, extract, *Ophiocordyceps sinensis*, selenium.

* Corresponding author: Tel: +84-933473744; Email: dangkhoanguyenhoang1912@gmail.com