

# ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO UNG THƯ VÀ CHỐNG OXY HÓA CỦA VI NẤM NỘI SINH PHẦN LẬP TRÊN CÂY XÀ CĂN (*Ophiorrhiza baviensis* Drake)

Nguyễn Mậu Hưng<sup>1</sup>, Quách Ngọc Tùng<sup>1,2</sup>, Hồ Ngọc Anh<sup>1,2</sup>, Đoàn Thị Nhung<sup>1</sup>, Đỗ Thị Thảo<sup>1,2</sup>, Hoàng Hà<sup>1</sup>, Chu Hoàng Hà<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup>Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

## TÓM TẮT

Nấm nội sinh trên cây dược liệu là một nguồn cung cấp đa dạng các hợp chất có hoạt tính sinh học như kháng sinh, gây độc tế bào ung thư và chống oxy hóa. Cây xà căn (*Ophiorrhiza baviensis* Drake) là loài cây dược liệu quý được sử dụng nhiều trong y học cổ truyền, tuy nhiên những thông tin về nấm nội sinh hiện vẫn còn hạn chế. Nghiên cứu này tập trung phân lập và đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư, chống oxy hóa của nấm nội sinh trên cây xà căn thu thập tại Ba Vì, Hà Nội. Từ các mẫu rễ, thân, lá trên cây Xà căn, 9 chủng nấm nội sinh đã được phân lập, trong đó số lượng nấm nội sinh giữa các bộ phận cây tương đương nhau, khoảng 33,3%. Dựa trên phân tích trình tự gen ITS, 9 chủng lập được phân loại thuộc 3 chi *Colletotrichum* (6 chủng), *Fusarium* (2 chủng) và *Volutella* (1 chủng). Kết quả đánh giá khả năng gây độc tế bào ung thư của 9 chủng nấm trên dòng tế bào ung thư phổi A549 ở nồng độ 20 µg/mL cho thấy chủng XCB2.L4 thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư mạnh nhất với tỷ lệ ức chế đạt  $56,97 \pm 1,44\%$ . Hơn nữa, cao chiết XCB2.L4 còn thể hiện khả năng trung hòa gốc DPPH và hydroxyl mạnh, với tỷ lệ tương ứng là  $79,09 \pm 0,83\%$  và  $81,72 \pm 3,92\%$ . Do vậy, chủng nấm XCB2.L4 nội sinh có thể là nguồn cung cấp các hoạt chất kháng ung thư và kháng oxy hóa tiềm năng.

**Từ khóa:** Chống oxy hóa, gây độc tế bào ung thư, ITS, nấm nội sinh, xà căn.

## MỞ ĐẦU

Ngày nay, xã hội phát triển kéo theo sự phát sinh nhiều tác nhân ảnh hưởng lớn đến sức khỏe con người như: môi trường ô nhiễm, các chất có hại trong mỹ phẩm và thực phẩm. Đây là những tác nhân chính dẫn tới sự hình thành tế bào ung thư (Perillo *et al.*, 2020). Ngoài ra, nhiều nghiên cứu gần đây đã chứng minh các tác nhân trên là nguồn sinh ra các gốc oxy hóa (reactive oxygen species, ROS), một trong những nguyên nhân dẫn đến sự hình thành các tế bào ung thư. Nhiều chất chống oxy hóa tổng hợp bị rút khỏi thị trường do những tác dụng phụ liên quan đến tổn thương gan, thận và ung thư và các chất điều trị ung thư không còn hiệu quả trong điều trị lâm sàng. Ngoài ra, hiện tượng kháng kháng sinh và các nghiên cứu lâm sàng về thuốc điều trị ung thư đã cạn kiệt. Chính vì vậy, việc tìm ra các loại thuốc kháng sinh hay chất chống ung thư mới từ tự nhiên ngày càng cấp thiết (Uzma *et al.*, 2018).

Trong những năm gần đây, nấm nội sinh đã thu hút được nhiều sự chú ý của cộng đồng khoa học do tiềm năng to lớn của chúng trong việc tổng hợp các loại hợp chất chống ung thư khác nhau. Nấm nội sinh là một nhóm các vi sinh vật nội sinh được định nghĩa là các loài nấm sống trong các mô thực vật trong toàn bộ hoặc một phần vòng đời, thiết lập mối quan hệ sinh tồn cùng có lợi với cây chủ mà không gây ra tác dụng phụ hoặc bệnh tật rõ ràng cho cây (Prajapati *et al.*, 2021). Các chất điều trị ung thư sử dụng trong điều trị lâm sàng như paclitaxel, podophyllotoxin, camptothecin, vinblastine, hypericin và diosgenin trước đây chỉ được tách chiết từ cây dược liệu, nay đã được chứng minh được tổng hợp bởi nấm nội sinh. Ví dụ, camptothecin được chứng minh tách chiết từ một số nấm nội sinh trên cây dược liệu như *Entrophospora infrequens*, *Fusarium solani*, *Aspergillus* sp. và *Trichoderma atroviride* (Uzma *et al.*, 2018). Ngoài các chất có nguồn gốc từ thực vật, nấm nội sinh còn sinh tổng hợp nhiều chất có hoạt tính ức chế tế bào ung thư mới như rhytidchromone, aspermicrone, oryzaein, fusarielin, penicisulfuranol và pyrenosetin (Prajapati *et al.*, 2021).

Cây xà căn (*Ophiorrhiza baviensis*) là cây dược liệu phân bố ở Trung Quốc và một số tỉnh phía bắc Việt Nam như Cao Bằng, Hà Nội, Ninh Bình và Phú Thọ. Trong y học cổ truyền, xà căn có khả năng chữa lành vết rạn nứt, viêm miệng, loét, ho. Nghiên cứu gần đây đã phát hiện chất mới 3β,23,24-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid và 8 chất khác từ cây xà căn, trong đó các chất này thể hiện hoạt tính ức chế tế bào ung thư và chống oxy hóa (Viet Cuong *et al.*, 2021). Tuy nhiên, nấm nội sinh cũng như hoạt tính ức chế tế bào ung thư và chống oxy hóa của chúng vẫn chưa được khai thác. Nghiên cứu này là nghiên cứu đầu tiên phân lập và khảo sát tiềm năng gây độc tế bào ung thư, chống oxy hóa của nấm nội sinh trên cây xà căn thu thập tại Việt Nam.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Vật liệu

Các mẫu cây xà cừ được thu thập tại Ba Vì, Hà Nội và được vận chuyển đến phòng thí nghiệm của Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Dòng tế bào ung thư phổi A549 ở người do GS. Jeanette Maier, Trường Đại học Milan, Ý và GS. TS. J. M. Pezzuto, Trường Đại học Long-Island, Mỹ cung cấp.

Môi trường nuôi cấy: PDA (g/L): dịch chiết khoai tây 200, dextrose 20, H<sub>2</sub>O bổ sung đủ 1000 mL, thạch 20, pH 6,5; PDB (g/L): dịch chiết khoai tây 200, dextrose 20, H<sub>2</sub>O bổ sung đủ 1000 mL, pH 6,5.

### Phương pháp

#### Phân lập nấm nội sinh

Các mẫu xà cừ được rửa sạch bằng nước, chia thành 3 phần, gồm rễ, thân, lá và được hong khô cho ráo nước. Các mẫu rễ, thân, lá được khử trùng bề mặt theo phương pháp được mô tả trước đây của nhóm nghiên cứu (Doan *et al.*, 2024). Các mẫu được lần lượt xử lý bằng 70% ethanol trong 30 giây, khử trùng bằng 3,5% NaOCl trong 2 phút và 70% ethanol trong 2-5 giây. Tiếp theo, các mẫu được rửa 3 lần bằng nước cất khử trùng để loại bỏ hoàn toàn hóa chất còn dư. Cuối cùng, các mẫu được để khô trong buồng cấy khử trùng và cắt nhỏ để đặt trên môi trường PDA có bổ sung 100 mg/L streptomycin. Các đĩa Petri được ủ ở 28°C trong 14 ngày và sự phát triển của các khuẩn lạc nấm được theo dõi hàng ngày. Các chủng nấm được cấy chuyển và làm sạch trên môi trường PDA.

#### Phân loại các chủng nấm bằng phân tích trình tự gen ITS

Các chủng nấm được nuôi trên môi trường PDA ở 28°C trong 3-5 ngày để quan sát hình thái khuẩn lạc và tách chiết DNA tổng số bằng kit QIAamp DNA mini kit (Qiagen, Hilden, Đức) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sử dụng cặp mồi ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') và ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') để khuếch đại vùng gen Internal Transcribed Spacer (ITS) (Vu *et al.*, 2022). Sau khi tinh sạch, sản phẩm PCR được giải trình tự tại công ty 1<sup>st</sup> BASE (Singapore). Sau khi được xử lý bằng phần mềm BioEdit v.7.2.5, trình tự cuối được so sánh với các chủng nấm tham chiếu trên GenBank bằng công cụ BLAST trên NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Dùng phần mềm MEGA v.11.0 để xây dựng cây phát sinh loài theo Neighbor – Joining với bootstrap sử dụng 1000 lần lặp.

#### Đánh giá khả năng gây độc tế bào ung thư

Chủng nấm được lên men trong môi trường PDB ở 28°C với tốc độ lắc 160 vòng/phút trong 10 ngày. Sau 10 ngày lên men, dịch lên men được ly tâm để thu sinh khối nấm. Sau đó, sinh khối nấm được sấy khô ở 50°C, nghiền thành bột và sau đó được chiết với hỗn hợp dichloromethane:methanol (90:10, v/v) theo tỷ lệ bột nấm và dung môi là 1:10 (w/v). Cao chiết được hòa tan bằng dimethyl sulfoxide (DMSO). Cao chiết nấm được đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư phổi A549 bằng phương pháp nhuộm màu với sulforhodamine B (SRB). Tế bào ung thư phổi A549 với mật độ khoảng 1x10<sup>5</sup> tế bào/mL nuôi trên đĩa 96 giếng trong 24 giờ ở 37°C và 5% CO<sub>2</sub>. Các đĩa nuôi tế bào được thử độc tính bằng cách bổ sung dịch cao chiết thô từ nấm ở nồng độ 20 µg/mL và 100 µg/mL trong thời gian 48 giờ. Giá trị OD được đọc ở bước sóng 515 nm trên máy ELISA Plate Reader. Giá trị OD máy đo được tỷ lệ thuận với lượng SRB gắn với phân tử protein. Giá trị OD càng cao thì hàm lượng tế bào và hàm lượng protein càng nhiều. Ellipticine ở nồng độ 10 µg/mL được sử dụng làm đối chứng dương và 0,1% (v/v) DMSO được sử dụng làm đối chứng âm.

#### Phương pháp xác định hoạt tính chống oxy hóa

Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết thô được xác định theo sự chuyển màu của 2,2-diphenyl-1-picrylhy drazyl (DPPH). Cao chiết thô hòa tan trong ethanol 70% ở nồng độ 100-1200 µg/mL được phản ứng với 0,2 mL DPPH ở nồng độ 0,1 mM và sau đó bổ sung 2,0 mL nước khử ion. Phản ứng được ủ trong bóng tối 30 phút và độ hấp thụ sau đó được đo ở bước sóng 517 nm. Hoạt động nhạt gốc DPPH của cao chiết thô được tính theo công thức:  $I\% = 1 - \frac{[(As-A0)/Ab]}{A0} \times 100\%$ , trong đó As: độ hấp thụ của hỗn hợp bao gồm cao chiết thô, A0: độ hấp thụ của ethanol 70% và dung dịch 0,1 mM DPPH, Ab: độ hấp thụ của ethanol 70% (Vu *et al.*, 2022).

Cao chiết thô ở nồng độ 100-1200 µg/mL được bổ sung vào phản ứng chứa 0,75 mM 1,10-phenanthroline, 0,75 mM FeSO<sub>4</sub>, 0,01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 0,15 M đệm sodium phosphate (pH 7,4). Hỗn hợp được ủ ở 37°C trong 30 phút và đo ở bước sóng 536 nm. Hoạt tính ức chế gốc hydroxyl được tính theo công thức:  $I\% = \frac{[(As-Ab)/(Ao-Ab)]}{Ao} \times 100\%$ . Trong đó: Ao: giá trị mật độ quang của phản ứng không bổ sung cao chiết thô và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; As: giá trị mật độ quang của mẫu thử; Ab: giá trị mật độ quang của mẫu nước cất. Hoạt tính loại bỏ gốc tự do hydroxyl được xác định bằng phản ứng màu dựa trên sự oxy hóa của pyrogallol (Vu *et al.*, 2022).

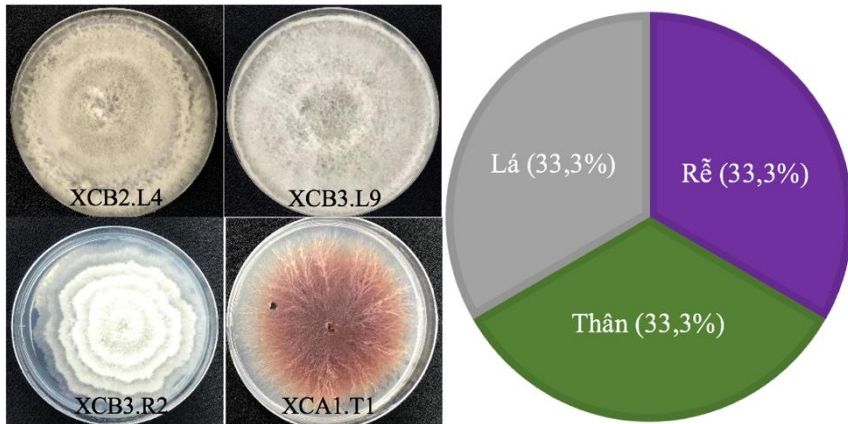
#### Xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Các số liệu được xử lý trên Excel, được trình bày dạng mean ± SD.

**KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**Phân lập và đánh giá phân bố của nấm nội sinh trên cây xà cừ**

Từ các mẫu xà cừ thu thập tại Ba Vì, Hà Nội, đã phân lập được 9 chủng nấm thuần với các đặc điểm hình thái khác nhau. Các chủng ký hiệu là XCA1.L4, XCA1.R2, XCA1.T1, XCB1.L6, XCB2.L4, XCB2.R2, XCB2.T7, XCB3.L9 và XCB3.T5. Đánh giá phân bố của các chủng nấm cho thấy số lượng các chủng nấm ở rễ (3 chủng), thân (3 chủng), lá (3 chủng) khá đồng đều. Khác biệt với kết quả trên, 16 chủng nấm đã được phân lập từ cây xà cừ đậu (*Ophiorrhiza mungos*) (Aswani *et al.*, 2020). Số lượng chủng nấm phụ thuộc nhiều vào số lượng mẫu, phương pháp phân lập và mục tiêu nghiên cứu.



Hình 1. Đặc điểm hình thái trên môi trường PDA của một số chủng nấm đại diện (A) và phân bố của nấm nội sinh theo bộ phận cây xà cừ (B)

**Phân loại nấm nội sinh bằng sinh học phân tử**

Trong nghiên cứu này, 9 chủng nấm nội sinh được phân loại dựa trên cơ sở so sánh trình tự gen ITS tham chiếu trên GenBank. Các chủng vi nấm được tách chiết DNA tổng số và khuếch đại gen ITS bằng phản ứng PCR. Quá trình khuếch đại gen ITS của 9 chủng nấm nghiên cứu đều thu được các băng có kích thước dao động khoảng 550 bp. Kết quả so sánh trình tự gen ITS cho thấy trình tự của 9 chủng vi nấm có độ tương đồng cao với một số loài thuộc các chi *Colletotrichum*, *Fusarium* và *Volutella* (Bảng 1). Trong đó, chi *Colletotrichum* chiếm số lượng chủng nấm cao nhất với 6 chủng, trong đó các chủng này thuộc 5 loài *Colletotrichum* khác nhau. Ở mức độ thấp hơn, chi *Fusarium* và *Volutella* chiếm lần lượt 2 và 1 chủng, tương ứng. Nghiên cứu nấm nội sinh trên cây thiết sam (*Tsuga chinensis*) cho thấy 16 chủng nấm thuộc 7 chi như *Aspergillus*, *Daldinia*, *Fusarium*, *Neocosmospora*, *Neofusicoccum*, *Xylaria* và *Penicillium*. Trong đó, chi *Fusarium* và *Aspergillus* chiếm tỷ lệ cao nhất (Vu *et al.*, 2022). Do vậy, mức độ đa dạng nấm nội sinh trên cây xà cừ thu thập tại Ba Vì, Hà Nội ở mức thấp.

**Bảng 1. Mức độ tương đồng trình tự ITS của 9 chủng nấm nội sinh với các chủng nấm tham chiếu trên GenBank**

Tên chủng	Nguồn phân lập	Chủng tham chiếu có độ tương đồng cao nhất	Mức độ tương đồng (%)	Mã số Genbank
XCA1.L4	Lá	<i>Colletotrichum fioriniae</i> CBS 128517 <sup>T</sup>	99,21	NR_111747
XCA1.R2	Rễ	<i>Fusarium longifundum</i> NRRL 36372 <sup>T</sup>	99,40	NR_171059
XCA1.T1	Thân	<i>Fusarium concentricum</i> NRRL 25181 <sup>T</sup>	99,59	NR_111886
XCB1.L6	Lá	<i>Colletotrichum fioriniae</i> CBS 128517 <sup>T</sup>	100	NR_111747
XCB2.L4	Lá	<i>Colletotrichum arenicola</i> CGMCC 3.19667 <sup>T</sup>	99,62	NR_120143
XCB2.R2	Rễ	<i>Volutella leucaenae</i> MFLUCC 17-2620 <sup>T</sup>	98,17	NR_189395
XCB2.T7	Thân	<i>Colletotrichum boninense</i> CBS 123755 <sup>T</sup>	99,63	NR_165949
XCB3.L9	Lá	<i>Colletotrichum queenslandicum</i> ICMP 1778 <sup>T</sup>	99,44	NR_144796
XCB3.T5	Thân	<i>Colletotrichum gigasporum</i> CBS 133266 <sup>T</sup>	98,94	NR_145380

**Đánh giá hoạt tính ức chế tế bào ung thư của các chủng nấm nội sinh**

Hoạt tính gây độc tế bào ung thư phổi A549 được xác định bằng tỉ lệ phần trăm ức chế sự phát triển của tế bào ung thư thử nghiệm và kết quả thể hiện ở Bảng 2.

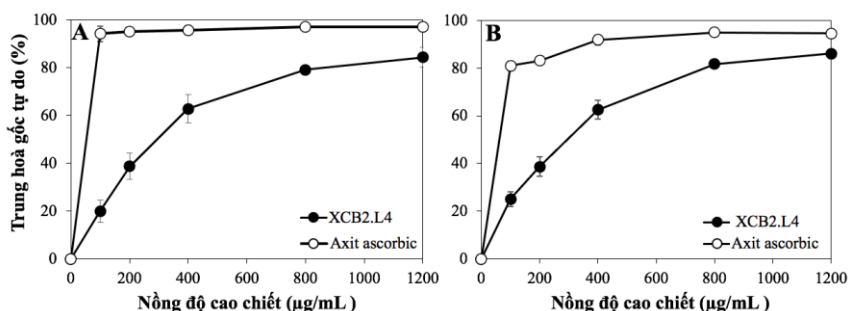
**Bảng 2.** Hoạt tính gây độc trên tế bào ung thư phổi A549 của cao chiết thô từ 9 chủng nấm nội sinh

Cao chiết nấm nội sinh	Tỷ lệ ức chế tế bào ung thư của cao chiết thô (%)	
	20 µg/mL	100 µg/mL
XCB2.L4	56,97 ± 1,44	95,12 ± 3,09
XCB3.T5b	29,16 ± 1,41	97,27 ± 3,13
XCB2.R2b	15,97 ± 3,43	64,74 ± 4,11
XCB2.T7a	21,61 ± 1,14	94,43 ± 1,65
XCB3.L9b	14,60 ± 2,54	31,18 ± 3,63
XCB3.R2	16,62 ± 1,55	43,43 ± 2,27
XCB1.L6	12,96 ± 2,32	76,65 ± 6,43
XCA1.L4	24,25 ± 5,39	48,68 ± 4,22
XCA1.T1	18,19 ± 4,37	85,18 ± 5,34
Ellipticine (10 µg/mL)	90,5 ± 3,01	

Kết quả cho thấy 100 µg/mL cao chiết thô của các chủng nấm ức chế mạnh tế bào ung thư phổi, dao động từ 31,18 ± 3,63% đến 97,27 ± 3,13 (Bảng 2). Cao chiết XCB3.L9b và XCB3.R2 thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư thấp nhất, trong khi đó cao chiết thô XCB2.L4 thể hiện hoạt tính gây độc tế bào mạnh nhất. Để đánh giá rõ hơn hoạt tính gây độc tế bào, nồng độ cao chiết là 20 µg/mL được sử dụng. Kết quả Bảng 2 cho thấy hoạt tính gây độc tế bào ung thư giảm rõ rệt so với 100 µg/mL cao chiết thô. Kết quả cho thấy 20 µg/mL cao chiết thô không ức chế mạnh tế bào ung thư A549, ngoại trừ XCB2.L4 (56,97 ± 1,44). Ở mẫu đối chứng, 10 µg/mL ellipticine ức chế tới 90,5 ± 3,01 sự sống sót của tế bào ung thư. Tương tự, hoạt tính gây độc tế bào ung thư A549 của vi nấm nội sinh trên các cây ngập mặn chỉ đạt dao động từ 7 - 57,6% ở nồng độ 20 µg/mL cao chiết thô (Liu *et al.*, 2017). Trong chi *Colletotrichum*, cao chiết thô từ *Colletotrichum gloeosporioides* được chứng minh ức chế mạnh tế bào ung thư vú MCF-7 (Rai *et al.*, 2023). Sự ức chế mạnh các dòng tế bào ung thư có thể do các hợp chất có hoạt tính sinh học trong cao chiết tác động tới protein p53, một protein quan trọng trong điều hòa chu kỳ tế bào – gọi là gen áp chế khối u p53. Khi DNA bị thương tổn, p53 làm ngưng chu kỳ tế bào cho đến khi DNA được sửa chữa hoặc p53 kích hoạt tế bào chết theo lập trình (apoptosis) nếu không còn khả năng sửa chữa DNA (Vu *et al.*, 2022).

**Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của chủng nấm XCB2.L4**

Các chất chống oxy hóa đóng vai trò quan trọng trong bảo vệ tế bào khỏi sự oxy hóa của ROS và ngăn ngừa bệnh ung thư. Dung dịch DPPH có màu tím, có độ hấp thụ cao nhất ở bước sóng 517 nm, khi có sự hiện diện của các chất chống oxy hóa ở nồng độ thích hợp, dung dịch này sẽ chuyển sang màu vàng. Do đó, giá trị OD đo được ở bước sóng 517 nm càng thấp chứng tỏ khả năng trung hòa gốc tự do của chất chống oxy hóa càng cao. Kết quả cho thấy khả năng trung hòa gốc tự do DPPH của cao chiết thô XCB2.L4 tuyến tính với nồng độ cao chiết sử dụng (Hình 3A). Tại nồng độ 100 µg/mL, hoạt tính trung hòa gốc DPPH chỉ đạt 20,01 ± 4,67%. Khi tăng nồng độ cao chiết tăng đến 800 µg/mL, hoạt tính chống oxy hóa tăng đáng kể, đạt 79,09 ± 0,83%. Hoạt tính trung hòa gốc DPPH không tăng đáng kể khi sử dụng 1200 µg/mL cao chiết XCB2.L4. Tuy nhiên, hoạt tính trung hòa gốc DPPH đạt cao nhất vẫn thấp hơn so với chất chống oxy hóa chuẩn, axit ascorbic (97,25 ± 1,03%). Gốc DPPH là gốc tự do được sử dụng trong nhiều thí nghiệm đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết thô và hợp chất tinh sạch từ nấm nội sinh. Chủng vi nấm *Xylaria feejeensis* HMJAU22039 nội sinh trên cây sồi Ấn Độ (*Tectona grandis*) được chứng minh có hoạt tính trung hòa DPPH đạt mức cao nhất là 69,34 ± 0,31% (Rebbapragada & Rajagopal, 2016), thấp hơn so với cao chiết thô XCB2.L4. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh các hợp chất thuộc nhóm polyphenol và flavonoid là nguyên nhân chính giúp cao chiết thô từ nấm có hoạt tính chống oxy hóa (Liu *et al.*, 2007).



**Hình 3.** Hoạt tính trung hòa gốc DPPH (A) và hydroxyl (B) tự do của cao chiết từ chủng nấm XCB2.L4

Trong số các loại gốc tự do, gốc hydroxyl là gốc oxy hóa mạnh nhất và là nguyên nhân dẫn đến sự phá hủy các phân tử của tế bào như DNA, RNA và lipid. Gốc hydroxyl được sinh ra từ phản ứng Fenton và phản ứng Haber – Weiss thông qua sự chuyển hóa của ion sắt (Perillo *et al.*, 2020). Tương tự phản ứng với DPPH, kết quả thử hoạt tính trung hòa gốc hydroxyl cho thấy, hoạt tính trung hòa gốc hydroxyl tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết thô sử dụng. Hoạt tính trung hòa hydroxyl tăng từ 0 đến  $86,12 \pm 1,67\%$  ở dải nồng độ từ 0 – 1200  $\mu\text{g/mL}$  (Hình 3B). Ngoài ra, không có sự khác biệt đáng kể giữa nồng độ 800  $\mu\text{g/mL}$  và 1200  $\mu\text{g/mL}$ . Kết quả này chứng minh, cao chiết thô XCB2.L4 thể hiện khả năng ức chế 2 gốc oxy hóa khá mạnh. Tới nay, chưa có công bố liên quan đến hoạt tính chống oxy hóa của *Colletotrichum arecicola*.

## KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, 9 chủng nấm nội sinh đã được phân lập từ cây xà cừ thu thập tại Ba Vì, Hà Nội. Phân tích trình tự gen 16S rDNA cho thấy 9 chủng nấm được phân loại thuộc chi *Colletotrichum*, *Fusarium* và *Volutella*, trong đó chi *Colletotrichum* chiếm 6 chủng nấm. Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào thực của 9 chủng nấm trên dòng tế bào ung thư phổi A549 cho thấy cao chiết từ tế bào chủng XCB2.L4 thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư mạnh nhất với tỷ lệ ức chế đạt  $56,97 \pm 1,44$  ở nồng độ 20  $\mu\text{g/mL}$ . Hơn nữa, cao chiết thô XCB2.L4 cũng thể hiện hoạt tính ức chế gốc oxy hóa DPPH và hydroxyl mạnh với tỷ lệ trung hòa tương ứng là  $79,09 \pm 0,83\%$  và  $81,72 \pm 3,92\%$ . Nghiên cứu tinh sạch và xác định các chất chống ung thư và oxy hóa cần được thực hiện cho các phân tích sâu hơn đối với chủng XCB2.L4. Nghiên cứu này đã chứng minh cây xà cừ là nguồn khai thác nấm nội sinh có hoạt tính chống ung thư tiềm năng.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu được thực hiện nhờ kinh phí của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam với mã số đề tài TĐCNSH.03/20-22.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aswami R, Jasim B, Arun Vishnu R, Antony L, Remakanthan A, Aravindakumar CT, *et al.* (2020). Nanoelicitor based enhancement of camptothecin production in fungi isolated from *Ophiorrhiza mungos*. *Biotech Progress* 36: e3039.
- Doan TN, Le TD, Ho NA, Ho TT, Do TT, Hoang H, *et al.* (2024). Isolation, anticancer potency, and camptothecin-producing ability of endophytic fungi isolated from *Ixora chinensis*. *Sci Pro* 107: 368504241253675.
- Liu X, Dong M, Chen X, Jiang M, Lv X, & Yan G (2007). Antioxidant activity and phenolics of an endophytic *Xylaria* sp. from *Ginkgo biloba*. *Food Chem* 105: 548-554.
- Liu X, Wu X, Ma Y, Zhang W, Hu L, Feng X, *et al.* (2017). Endophytic fungi from mangrove inhibit lung cancer cell growth and angiogenesis in vitro. *Oncol Rep* 37: 1793-1803.
- Perillo B, Di Donato M, Pezone A, Di Zazzo E, Giovannelli P, Galasso G, *et al.* (2020). ROS in cancer therapy: the bright side of the moon. *Exp Mol Med* 52: 192-203.
- Prajapati J, Goswami D, & Rawal RM (2021). Endophytic fungi: A treasure trove of novel anticancer compounds. *CRPHAR* 2: 100050.
- Rai N, Gupta P, Verma A, Tiwari RK, Madhukar P, Kamble SC, *et al.* (2023). Ethyl acetate extract of *Colletotrichum gloeosporioides* promotes cytotoxicity and apoptosis in human breast cancer cells. *ACS Omega* 8: 3768-3784.
- Rebbapragada D, & Rajagopal K (2016). Evaluation and optimization of antioxidant potentiality of *Xylaria feejeensis* HMJAU22039. *Asian J Pharm Clin Res* 9: 269-273.
- Uzma F, Mohan CD, Hashem A, Konappa NM, Rangappa S, Kamath PV, *et al.* (2018). Endophytic fungi—alternative sources of cytotoxic compounds: A review. *Front Pharma* 9.
- Viet Cuong LC, Anh LT, Huu Dat TT, Anh TTP, Lien LQ, Kim YH, *et al.* (2021). Cytotoxic and anti-inflammatory activities of secondary metabolites from *Ophiorrhiza baviensis* growing in Thua Thien Hue, Vietnam. *Nat Pro Res* 35: 4218-4224.
- Vu THN, Pham NS, Le PC, Pham QA, Quach NT, Nguyen VT, *et al.* (2022). Distribution, cytotoxicity, and antioxidant activity of fungal endophytes isolated from *Tsuga chinensis* (Franch.) Pritz. in Ha Giang province, Vietnam. *Ann Microbiol* 72: 36.

## EVALUATION OF CYTOTOXIC AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATED FROM *Ophiorrhiza baviensis* Drake

Nguyen Mau Hung<sup>1</sup>, Quach Ngoc Tung<sup>1,2</sup>, Ho Ngoc Anh<sup>1,2</sup>, Doan Thi Nhung<sup>1</sup>,  
Do Thi Thao<sup>1,2</sup>, Hoang Ha<sup>1</sup>, Chu Hoang Ha<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

<sup>2</sup>Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology

### SUMMARY

Endophytic fungi from medicinal plants are prolific sources of bioactive compounds such as antibiotics, anticancer agents, and antioxidant. *Ophiorrhiza baviensis* is a valuable medicinal plant used for folk medicine, however fungal endophytes have not been reported yet. The present study was focused on isolation and evaluation of anticancer, antioxidant activities of endophytic fungi isolated from *O. baviensis* collected in Ba Vi, Hanoi. Nine endophytic fungi were isolated from roots, stems, and leaves, and number of endophytic fungi was equal for all different plant origins. Based on ITS gene sequence analyses, 9 isolates were classified into the 3 genera including *Colletotrichum* (6 strains), *Fusarium* (2 strains), and *Volutella* (1 strain). Evaluation of cytotoxicity of 9 endophytic fungal crude extracts showed that 20 µg/mL of XCB2.L4 extract exhibited the strongest cytotoxic activity against A549 cell lines with the inhibition rate of  $56.97 \pm 1.44\%$ . Furthermore, XCB2.L4 extract also showed strong DPPH and hydroxyl radical scavenging ability, reaching  $79.09 \pm 0.83\%$  and  $81.72 \pm 3.92\%$ , respectively. Therefore, endophytic strain XCB2.L4 may be a potent source of anticancer and antioxidant compounds

**Keywords:** Antioxidant, cytotoxic activity, endophytic fungi, ITS, *Ophiorrhiza baviensis*.

---

\* Author for correspondence: Tel: 02437562790; Email: chuhoangha@ibt.ac.vn