

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC

VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

NGUYỄN CHÍ DŨNG

**NGHIÊN CỨU ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG PHÂN
BÀO TRÊN DÒNG TẾ BÀO UNG THƯ MCF-7, JURKAT T
CỦA CAO CHIẾT VÀ HOẠT CHẤT TỪ SINH KHỐI,
QUẢ THỂ NHÂN NUÔI CỦA CHŨNG NẤM
Cordyceps neovolkiana DL0004 VÀ *Isaria cicadae* F0004**

Chuyên ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: 9420201

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Thành phố Hồ Chí Minh – Năm 2022

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ
- Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Người hướng dẫn khoa học 1: PGS.TSKH. Ngô Kế SƯƠNG

Người hướng dẫn khoa học 2: TS. Đinh Minh Hiệp

Phản biện 1: ...

Phản biện 2: ...

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện, họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi ... giờ ..', ngày ... tháng ... năm 2022

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
- Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Các sản phẩm tự nhiên, với sự đa dạng về thành phần và cấu trúc hóa học đã được nghiên cứu rộng rãi về khả năng kháng ung thư trong hơn nửa thế kỷ gần đây và được xem là một nguồn cung cấp dồi dào các hợp chất có hoạt tính sinh học có tiềm năng chữa bệnh. Đối với *Cordyceps* spp., hơn 200 hợp chất có hoạt tính sinh học bao gồm nucleosid, sterol, peptid mạch vòng, flavonoid, dihydrobenzofuran, polyketid, polysaccharid, alkaloid, ergosterol và polyphenol đã được cô lập và định danh. Các nghiên cứu tại Việt Nam chủ yếu thực hiện ở mức độ trên cao chiết của các chủng nấm thuộc chi *Cordyceps* và còn rất ít các nghiên cứu về phân chất và xác định hoạt tính kháng phân bào của các chất thu nhận được. Do đó, “Nghiên cứu đánh giá hoạt tính kháng phân bào trên dòng tế bào ung thư MCF-7, Jurkat T của cao chiết và hoạt chất từ sinh khối, quả thể nhân nuôi của chủng nấm *Cordyceps neovolkiana* DL0004 và *Isaria cicadae* F0004” là cần thiết, giúp chủ động tạo nguồn nguyên liệu và tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng nấm ký sinh côn trùng tại Việt Nam.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

Đánh giá hoạt tính kháng phân bào của các cao chiết từ nấm *Cordyceps* làm tiền đề cho việc ứng dụng các cao chiết và các hợp chất chính thu được từ *Cordyceps* ở Việt Nam.

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

Tạo cao chiết từ sinh khối và quả thể nấm nuôi trồng; sàng lọc cao chiết có độc tính tế bào tiềm năng trên hai dòng tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat T; xác nhận đặc tính kháng phân bào của các cao chiết tiềm năng; cô lập và xác định hợp chất có hoạt tính kháng phân bào từ cao chiết tiềm năng.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về nấm *Cordyceps*

Cordyceps được xếp vào họ Clavicipitaceae dựa vào túi bào tử hình trụ, độ dày đỉnh nang và các nang bào tử. Phổ ký chủ của chúng rất rộng, thường thuộc nhóm côn trùng và động vật thuộc lớp chân khớp.

Theo hệ thống phân loại của Kobayasi (1982), *C. neovolkiana* thuộc: Họ (familia): Clavicipitaceae ; Chi: *Cordyceps* .

Theo Sung (2007), *Isaria cicadae* thuộc Họ (familia): Cordycipitaceae; Chi: *Isaria*.

Nghiên cứu thị trường của Data Bridge Market Research dự đoán, thị trường toàn cầu đạt 1.167,50 triệu USD vào năm 2027, tăng trưởng với tốc độ tăng trưởng kép hàng năm là 10,55% trong giai đoạn dự báo từ năm 2020 đến năm 2027.

1.2. Nghiên cứu nuôi cấy *Cordyceps*

Bên cạnh, *C. sinensis* và *C. militaris*, nhiều loài nấm *Cordyceps* hay nấm ký sinh côn trùng tiềm năng khác cũng được khai thác và ứng dụng như *C. takaomontana*, *I. tenuipes* và *C. nutans*, *C. cicadae*,...

1.3. Thành phần hoạt chất và hoạt tính sinh học của nấm *Cordyceps*

1.3.1. Thành phần hoạt chất của *Cordyceps*

a) *Polysaccharid*: Nhìn chung polysaccharid từ *Cordyceps* là rất khó để phân tích và làm sáng tỏ vì cấu trúc xoắn ba (a triple right-handed helix conformation) với chiều dài và tỷ lệ chuỗi bên pentose và hexose khác nhau.

b) *Protein và các hợp chất chứa nito khác*: *Cordyceps* chứa protein, peptid, polypeptid, polyamin, tất cả acid amin thiết yếu

và một số dipeptid dạng vòng phổ biến và hiếm. *Cordyceps* cũng chứa một lượng nhỏ polyamin, như 1,3-diamino propane, cadaverin, spermidin, spermin, và putrescin.

c) *Sterol*: Một số lượng các sterol được tìm thấy trong *Cordyceps*, bao gồm sterol phổ biến trong nhiều thành tế bào nấm, ergosterol.

d) *Các thành phần khác*: Các hợp chất phân cực của cao chiết *C. sinensis* gồm có alcohol và aldehyde. Một vài hợp chất ức chế miễn dịch cũng được tìm thấy trong *Cordyceps*.

1.3.2. Hoạt tính kháng phân bào của *Cordyceps*

a) *Hoạt tính kháng phân bào của nấm C. sinensis*: Nhiều bằng chứng điển giải hiệu quả của *C. sinensis* như một thuốc điều trị chống ung thư vì nó đóng vai trò như một chất hoạt hóa đáp ứng miễn dịch.

b) *Hoạt tính kháng ung thư của nấm C. militaris*: Nấm *C. militaris* đã được sử dụng từ lâu ở các nước Châu Á như một thuốc dược liệu tăng cường sức khỏe và hỗ trợ cho các bệnh nhân ung thư.

c) *Hoạt tính kháng ung thư của các loài nấm Cordyceps khác*: Đối với *C. neovolkiana*, các nghiên cứu về phân chất, xác định hoạt tính kháng ung thư cũng như các hoạt tính sinh học khác còn ít được nghiên cứu.

CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU - PHƯƠNG PHÁP

Các nghiên cứu được triển khai theo sơ đồ: tạo cao chiết từ sinh khối và quả thể nấm nuôi trồng → sàng lọc cao chiết có độc tính tế bào tiềm năng trên 2 dòng tế bào MCF-7, Jurkat T → xác nhận đặc tính kháng phân bào (dừng chu kỳ tế bào, cảm ứng apoptosis) của các cao chiết tiềm năng → cô lập, định danh và xác định hợp chất có hoạt tính kháng phân bào từ cao chiết tiềm năng.

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chủng *C. neovolkiana* DL0004 thu nhận từ Langbiang, tỉnh Lâm Đồng và chủng *I. cicadae* F0004 được thu nhận tại tỉnh Đắk Lắk, Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu nhận cao chiết và các hợp chất

a) *Phương pháp nuôi cấy nhân tạo sinh khối và quả thể nấm Cordyceps*

Quy trình nuôi tạo sinh hệ sợi và quả thể được tiến hành lần lượt: tạo giống cấp 1 từ ông giống gốc → tạo giống cấp 2 từ giống cấp 1 → nuôi các môi trường và điều kiện khác nhau tạo hệ sợi (nuôi lỏng bề mặt) hoặc nuôi tạo quả thể (nuôi bán rắn).

b) *Phương pháp thu nhận cao chiết*

Thu nhận cao chiết và các hợp chất được thực hiện theo phương pháp của Nguyễn Kim Phi Phụng (2007).

2.2.2. *Phương pháp khảo sát hoạt tính gây độc tế bào và cảm ứng apoptosis của cao chiết và các hợp chất*

Phương pháp khảo sát hoạt tính gây độc tế bào bằng SRB. Phương pháp khảo sát khả năng cảm ứng apoptosis: tế bào ung thư được phân tích chu kỳ tế bào bằng flow cytometry.

2.3. Phương pháp phân tích thống kê

Số liệu được thể hiện dưới dạng trung bình độ lệch chuẩn, các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm GraphPad Prism 9.0.0.121. Giá trị có $p < 0,05$ được chấp nhận là có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

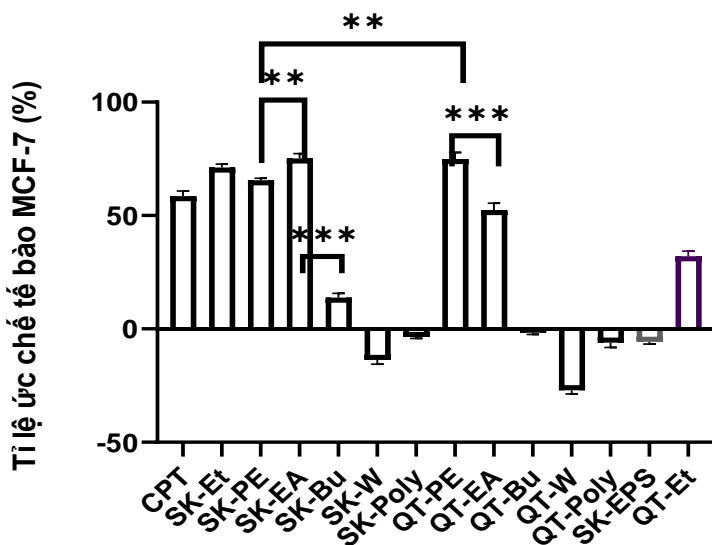
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

3.1. Chiết cao từ sinh khối và quả thể *C. neovolkiana* DL0004 và *I. cicadae* F0004

Sinh khối khô trung bình mỗi hộp của 02 chủng nấm *C. neovolkiana* DL0004 và *I. cicadae* F0004 lần lượt là 1,76 gram/ hộp và 2,63 gram/ hộp Sau 35 ngày nuôi lỏng bề mặt. Quả thể khô trung bình mỗi hộp của 02 chủng nấm *C. neovolkiana* DL0004 và *I. cicadae* F0004 lần lượt là 0,52 gram/ hộp và 1,37 gram/ hộp sau 45 ngày nuôi bán rắn.

3.2. Hoạt tính gây độc tế bào của các cao chiết với dòng tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat T

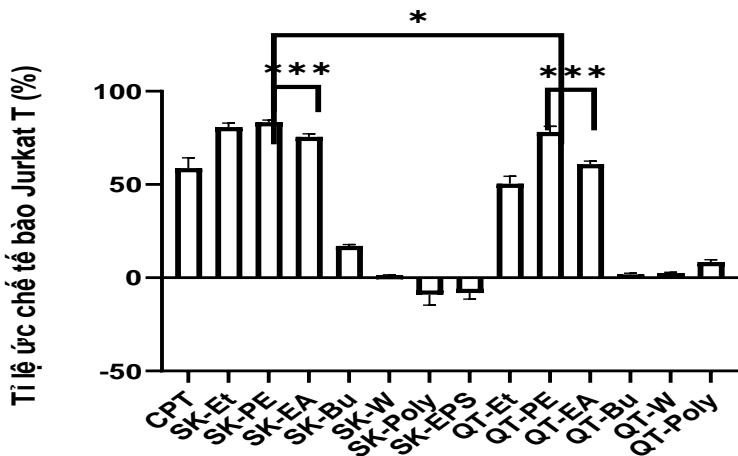
3.2.1. Hoạt tính gây độc của các cao chiết *C. neovolkiana* DL0004 đối với các dòng tế bào MCF-7 và Jurkat T



Hình 3.2. Tỷ lệ ức chế tế bào MCF-7 của cao chiết từ sinh khối và quả thể *C. neovolkiana* DL0004 tại nồng độ 100 µg/mL

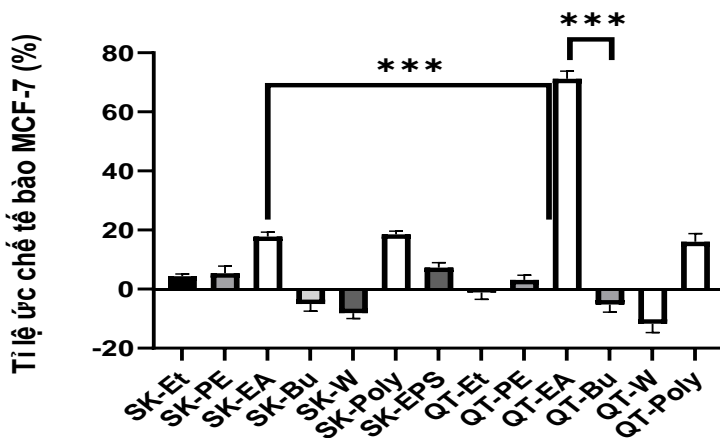
(Chú thích: *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$)

Hoạt tính gây độc các dòng tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat T có sự khác biệt rất lớn giữa các cao chiết, các cao EA và PE có độ phân cực thấp lại có khả năng gây độc các dòng tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat T cao hơn các cao chiết.

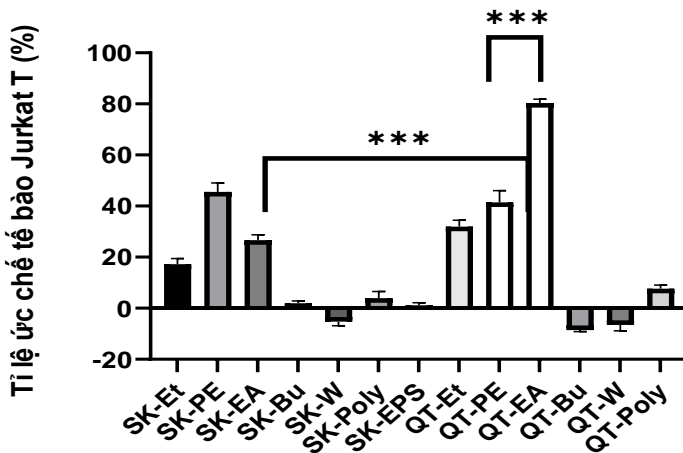


Hình 3.3. Tỷ lệ ức chế tế bào Jurkat T của cao chiết từ sinh khối và quả thể *C. neovolkiana* DL0004 tại nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$

3.2.2. Hoạt tính gây độc của các cao chiết *I. cicadae* F0004 đối với các dòng tế bào MCF-7 và Jurkat T



Hình 3.4. Tỷ lệ ức chế tế bào MCF-7 của cao chiết từ sinh khối và quả thể *I. cicadae* F0004 tại nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$



Hình 3.5. Tỷ lệ ức chế tế bào Jurkat T của cao chiết từ sinh khối và quả thể *I. cicadae* F0004 tại nồng độ 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Để tiến hành các bước tiếp theo, cần nhìn tổng quát dựa trên các tiêu chí: cao chiết được coi là có hoạt tính gây độc tế bào cao đối với tế bào *in vitro* với $\text{IC}_{50} \leq 20 \mu\text{g}/\text{mL}$ (cao chiết có hoạt tính cao và có tiềm năng làm nguyên liệu chế tạo thuốc kháng ung thư); IC_{50} trong khoảng 21 - 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (hoạt độ trung bình), IC_{50} trong khoảng 201 - 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (hoạt độ yếu) và $\text{IC}_{50} > 501 \mu\text{g}/\text{mL}$ (không có hoạt tính) theo tiêu chuẩn của NCI.

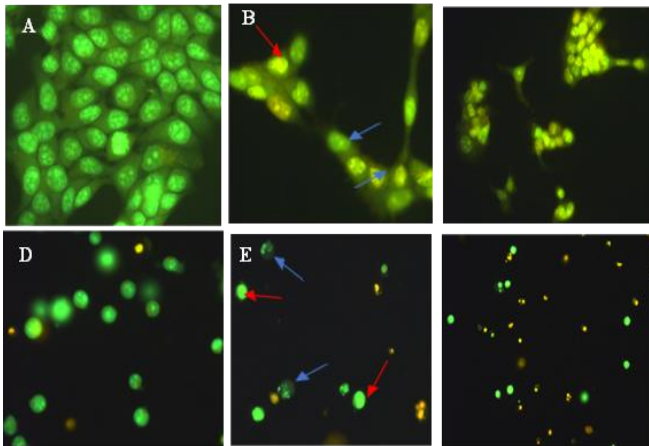
3.2.3. Xác định cao chiết có khả năng gây độc tế bào cao

Cao PE từ sinh khối *C. neovolkiana* DL0004 có giá trị IC_{50} lần lượt với MCF-7 và Jurkat T là $26,94 \pm 1,62$ và $15,5 \pm 0,19$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) và cao EA từ quả thể *I. cicadae* F0004 có giá trị IC_{50} lần lượt với MCF-7 và Jurkat T là $17,15 \pm 1,68$ và $10,37 \pm 0,61$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) là các cao chiết có hoạt tính gây độc tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat T *in vitro* tiềm năng.

3.3. Nghiên cứu cảm ứng apoptosis tế bào MCF-7 và Jurkat T với các cao chiết tiềm năng

3.3.1. Nghiên cứu cao PE của sinh khối *C. neovolkiana* DL0004 cảm ứng apoptosis tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat T

a) Hình thái tế bào MCF-7 và Jurkat sau khi nhuộm với AO/EB



Hình 3.6. Hình thái tế bào MCF-7 và Jurkat T nhuộm AO/EB xử lý với cao chiết PE từ sinh khối *C. neovolkiana* DL0004

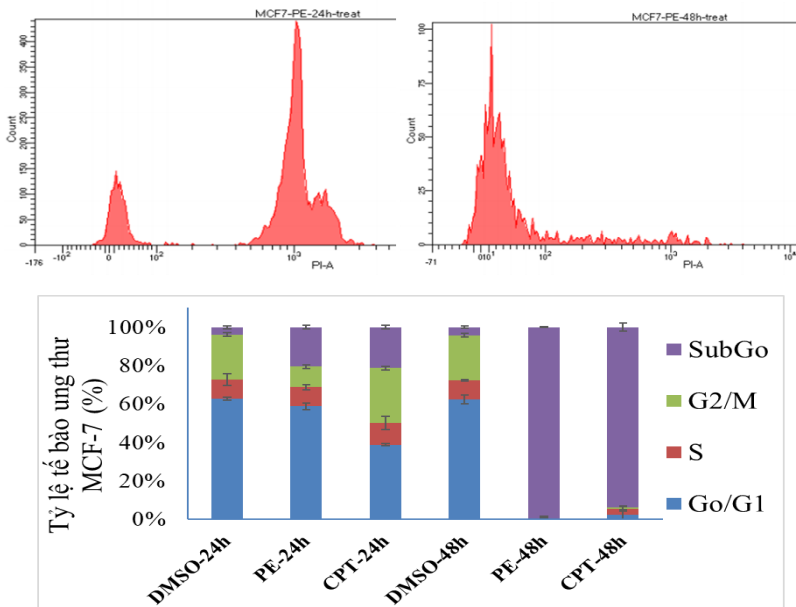
➡ : Tế bào nhân bị phân mảnh ➡ : Tế bào có nhân cô đặc

A: Tế bào MCF-7 đối chứng B: cao PE 48 giờ C: CPT 48 giờ

D: Tế bào Jurkat T đối chứng E: cao PE 48 giờ F: CPT 48 giờ

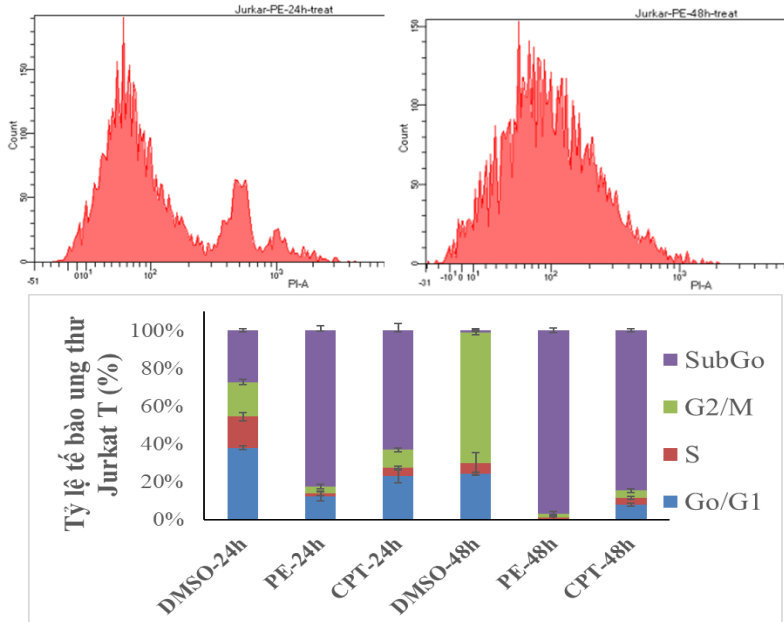
Cao PE cảm ứng mạnh quá trình apoptosis của tế bào Jurkat T.

b) Phân tích chu kỳ tế bào bằng phương pháp flow cytometry



Hình 3.7. Sự thay đổi tỷ lệ tế bào ung thư MCF-7 các pha của chu kỳ tế bào sau xử lý cao PE từ sinh khối *C. neovolkiiana* DL0004

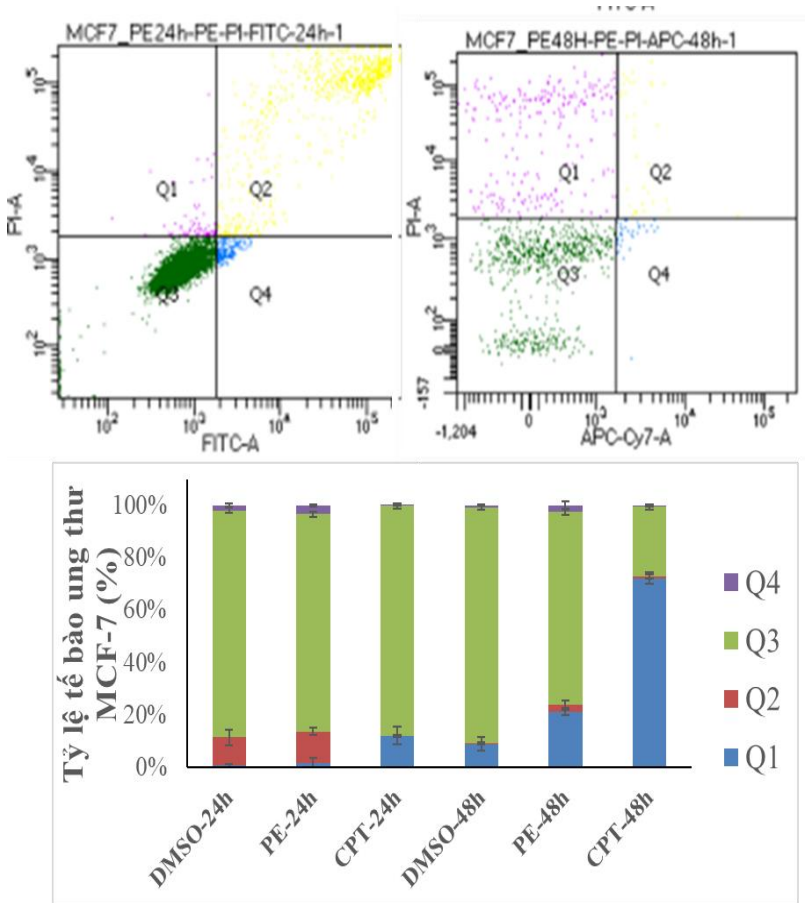
Kết quả này cho thấy cao PE có khả năng dừng chu kỳ tế bào MCF-7 tại pha S và đưa tế bào vào pha Sub G₀. Sau 24 giờ, tế bào MCF-7 bị dừng chu kỳ tế bào tại pha S và tế bào Jurkat bị dừng tại pha G₁. Tuy nhiên, khi tăng thời gian xử lý lên 48 giờ, cả 2 dòng tế bào đều bị ức chế hoàn toàn chu kỳ tế bào, tất cả tế bào đều đi vào pha Sub/G₀ ở trạng thái nghỉ hoặc bị apoptosis.



Hình 3.8. Tỷ lệ tế bào ung thư Jurkat T các pha của chu kỳ tế bào sau xử lý cao PE từ sinh khối *C. neovolkiana* DL0004

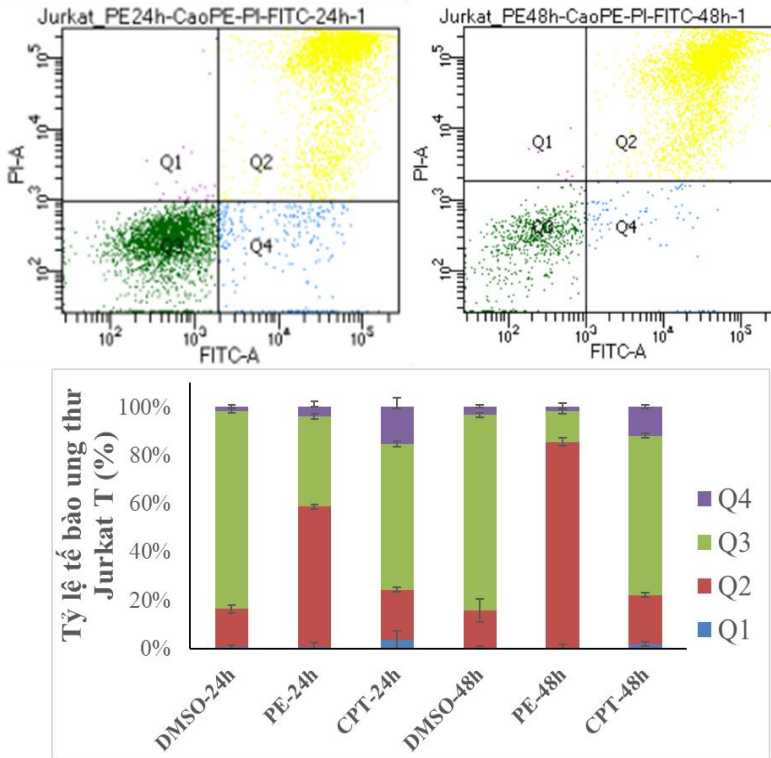
c) Định lượng tế bào apoptosis bằng phương pháp nhuộm Annexin V/PI

Sau 48 giờ xử lý, Tỷ lệ tế bào MCF-7 apoptosis muộn tăng nhưng không đáng kể.



Hình 3.9. Tỷ lệ tế bào MCF-7 thay đổi sau xử lý với cao chiết PE từ sinh khối *C. neovolkiana* DL0004 và nhuộm Annexin V/PI

Cao PE kích hoạt quá trình apoptosis tế bào Jurkat T tốt hơn so với tế bào MCF-7. Đồng thời cao PE từ sinh khối nấm *C. neovolkiana* DL0004 cũng gây hiện tượng hoại tử.

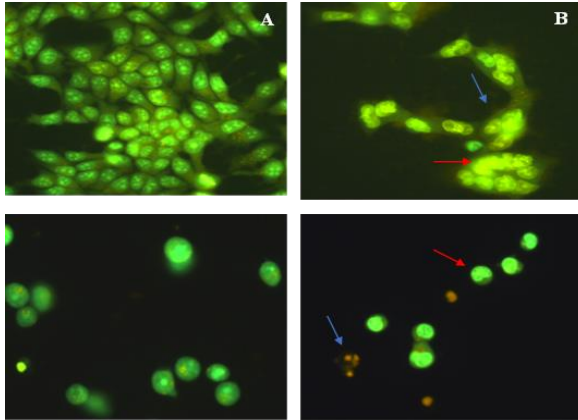


Hình 3.10. Tỷ lệ tế bào Jurkat T sau xử lý với cao chiết PE từ sinh khối *C. neovolkiana* DL0004 và nhuộm Annexin V/PI

3.3.2. Kết quả đánh giá khả năng cảm ứng apoptosis của cao EA từ quả thể *I. cicadae* F0004

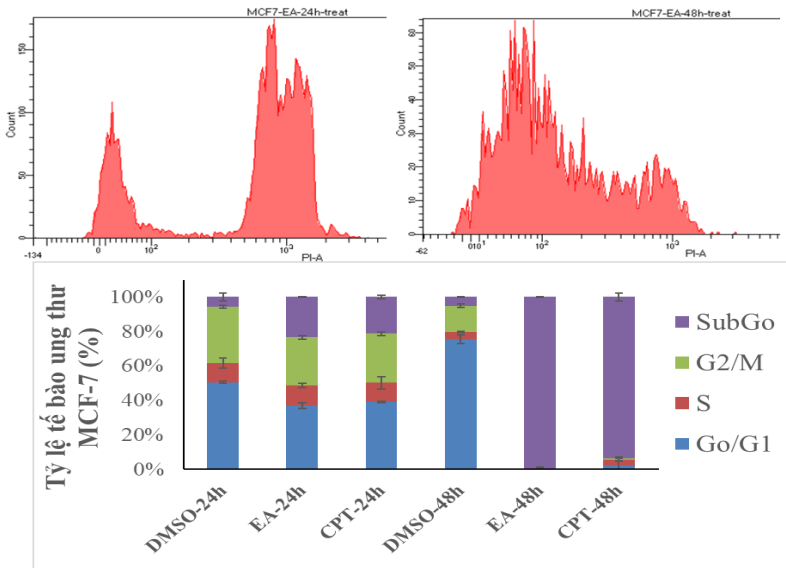
a) Hình thái tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat sau khi nhuộm với AO/EB.

Cao chiết EA từ quả thể *I. cicadae* F0004 có dấu hiệu cảm ứng apoptosis tế bào ung thư MCF-7 sau 48 giờ xử lý tuy nhiên dấu hiệu chưa rõ ràng.



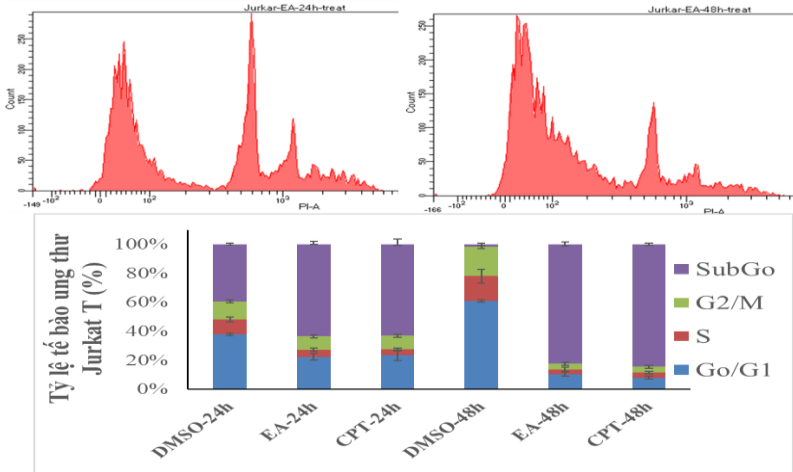
Hình 3.11. Hình thái tế bào MCF-7 và Jurkat nhuộm AO/EB khi xử lý với cao EA từ quả thể *I. cicadae* F0004

b) Phân tích chu kỳ tế bào bằng phương pháp flow cytometry



Hình 3.12. Sự thay đổi tỷ lệ tế bào ung thư MCF-7 các pha của chu kỳ tế bào sau xử lý cao EA từ quả thể *I. cicadae* F0004

Tỷ lệ MCF-7 sau 48 giờ đi vào SubG₀ tăng mạnh so với khi xử lý 24 giờ. Kết quả sau 24 giờ và 48 giờ xử lý với cao EA quả thể *I. cicadae* F0004 cho thấy, tế bào MCF-7 bị dừng chu kỳ tế bào tại pha G₁. Tế bào MCF-7 sau 48 giờ tế bào bị ức chế hoàn toàn tại nồng độ 17,15 μg/mL, tế bào đi vào pha subG₀.

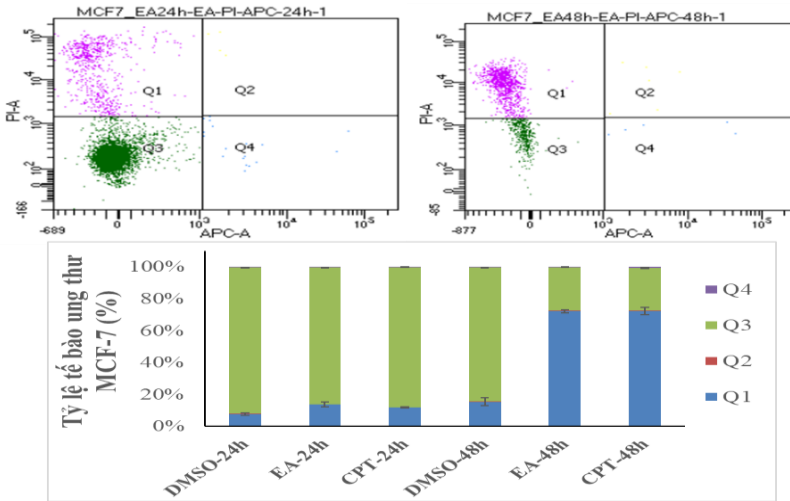


Hình 3.13. Sự thay đổi tỷ lệ tế bào ung thư Jurkat T các pha của chu kỳ tế bào sau xử lý cao EA từ quả thể *I. cicadae* F0004

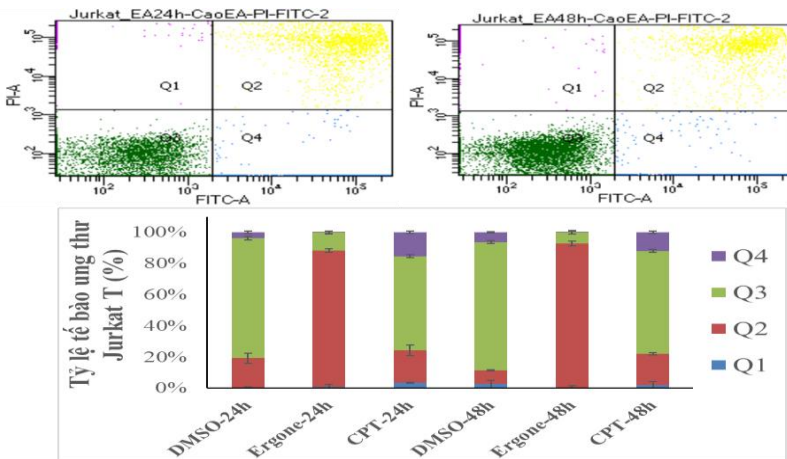
Kết quả phân tích flow cytometry cho thấy quần thể tế bào ung thư Jurkat T khi xử lý với cao chiết EA có khuynh hướng tăng tỷ lệ tế bào ở sub-G₀ theo thời gian.

c) Kết quả định lượng tế bào apoptosis bằng phương pháp nhuộm annexin V/PI

Sau khi xử lý 24 giờ và 48 giờ trên cho thấy cao EA từ quả thể *I. cicadae* F0004 có khả năng ức chế mạnh quá trình phân bào của tế bào ung thư MCF-7 theo thời gian theo cơ chế hoại tử.



Hình 3.14. Tỷ lệ tế bào ung thư MCF-7 sau xử lý cao EA từ quả thể *I. cicadae* F0004 và nhuộm Annexin V/PI



Hình 3.15. Tỷ lệ tế bào ung thư Jurkat T sau xử lý cao EA từ quả thể *I. cicadae* F0004 và nhuộm Annexin V/PI

Cao EA từ quả thể *I. cicadae* F0004 có khả năng cảm ứng apoptosis tế bào Jurkat T. Khi tăng thời gian xử lý cao chiết lên 48 giờ, tỷ lệ phần trăm tế bào đi vào apoptosis không có sự khác biệt so với xử lý 24 giờ.

3.4. Phân chất, tinh sạch và định danh các hợp chất của các cao chiết có tiềm năng kháng phân bào

Cao PE từ sinh khối *C. neovolkiana* DL0004 và cao EA từ quả thể *Isaria cicadae* F0004 có khả năng gây độc tế bào mạnh và có khả năng cảm ứng apoptosis với 02 dòng tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat T được chọn để tiến hành phân lập, định danh một số hợp chất cũng như tiếp tục khảo sát hoạt tính gây độc tế bào và cảm ứng apoptosis tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat T với các hợp chất tiềm năng.

3.4.1. Phân chất cao PE của sinh khối *C. neovolkiana* DL0004

Cao PE (7,2 g) được phân đoạn bằng sắc ký cột pha thường sử dụng hệ dung môi n-hexane–EtOAc–acetone (10:1:1–4:1:1) như chất rửa giải thu được 08 phân đoạn: PE1, PE2, PE3, PE4, PE5, PE6, PE7, PE8. Cao PE từ sinh khối *C. neovolkiana* DL0004 đã được phân lập và định danh 05 chất: (CN1) ergone), (CN2) ergosterol peroxid, (CN3) cerevisterol, (CN4) melithasterol B, (CN5) ergosterol.

3.4.2. Phân chất cao EA của quả thể *Isaria cicadae* F0004

Cao EA từ quả thể *Isaria cicadae* F0004 (7g) được tiến hành phân đoạn bằng sắc ký cột pha thường với các dung môi hữu cơ gồm hexan, chloroform, ethyl acetat và methanol. Cao EA quả thể *I. cicadae* F0004 đã phân lập và định danh được 06 đã được phân lập và định danh 06 chất: (IC1) uracil, (IC2) 1–O–Ethyl– β –D–ribofuranose, (IC3) ergosterol, (IC4) *p*–hydroxybenzoic acid, (IC5) protocatechuic acid, (IC6) nicotinic acid.

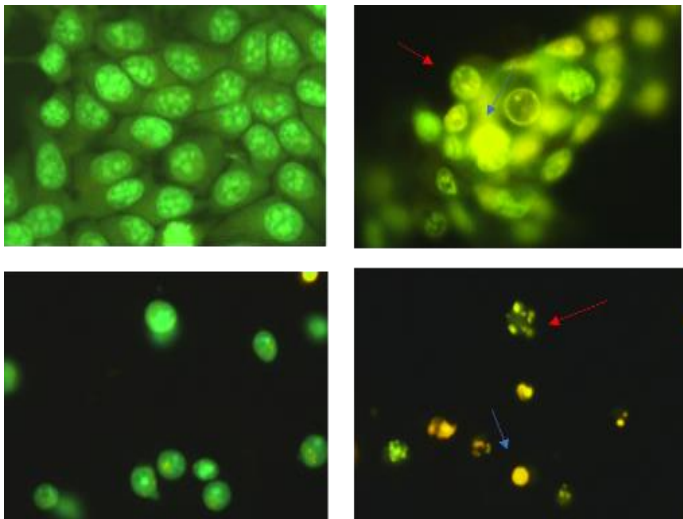
3.5. Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat T của các chất

Ergone có IC_{50} gây độc hai dòng tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat T lần lượt là $17,24 \pm 1,31$ và $39,30 \pm 1,53$ $\mu\text{g/mL}$ được chọn để tiếp tục khảo sát đặc tính và khả năng cảm ứng apoptosis trên hai dòng tế bào ung thư tế bào MCF-7 và Jurkat T.

3.6. Kết quả khả năng cảm ứng apoptosis tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat T của ergone

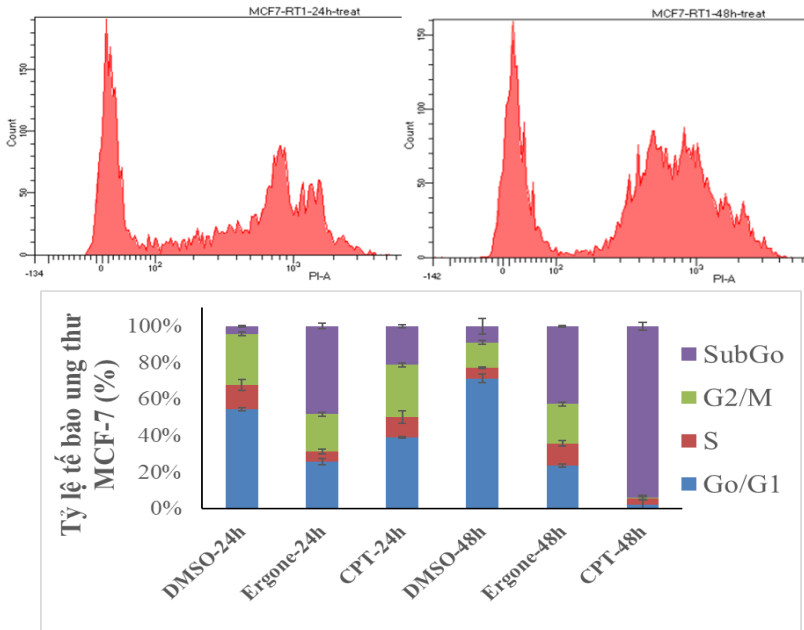
3.6.1. Hình thái tế bào MCF-7 và Jurkat T

Kết quả cho thấy ở lô tế bào ung thư Jurkat T xử lý với chất ergone, có hiện tượng apoptosis sớm và hiện tượng apoptosis muộn.



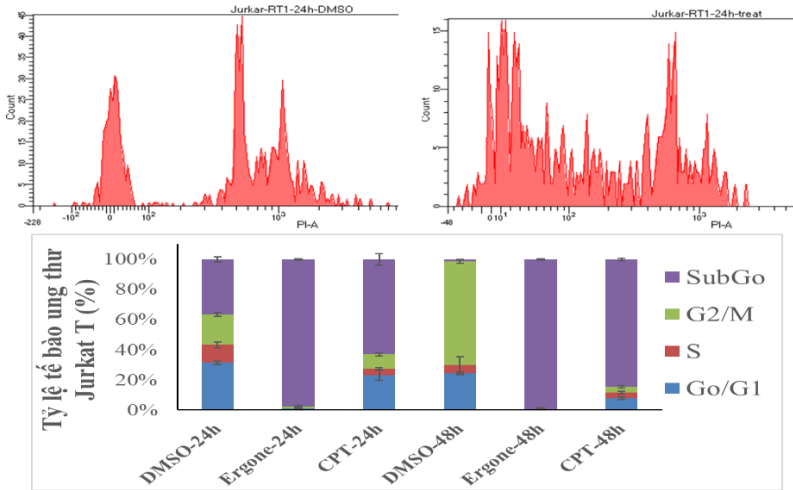
Hình 3.16. Tế bào MCF-7 và Jurkat T khi xử lý với ergone

3.6.2. Phân tích chu kỳ tế bào bằng phương pháp flow cytometry



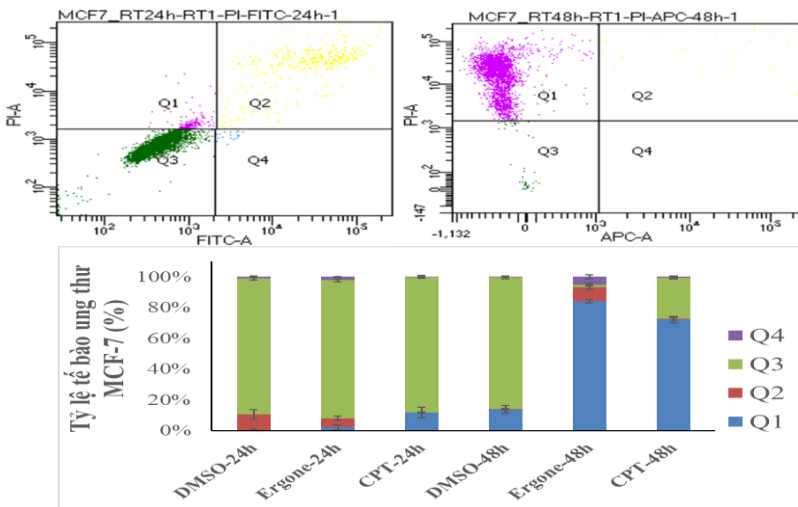
Hình 3.17. Tỷ lệ tế bào MCF-7 tại các pha của chu kỳ tế bào

Ergone có khả năng gây apoptosis tế bào MCF-7 ở thời điểm 24 giờ và 48 giờ và kết quả thay đổi không đáng kể tại 24 giờ và 48 giờ. Ergone có khả năng cảm ứng kháng phân bào trên dòng tế bào ung thư Jurkat T bằng cách ngừng chu kỳ tế bào ở pha G₁, tại điểm G₀/G₁ và có hiện tượng cảm ứng apoptosis.



Hình 3.18. Tỷ lệ tế bào Jurkat T tại các pha của chu kỳ tế bào sau xử lý ergone từ cao PE của sinh khối *C. neovolkiana* DL0004

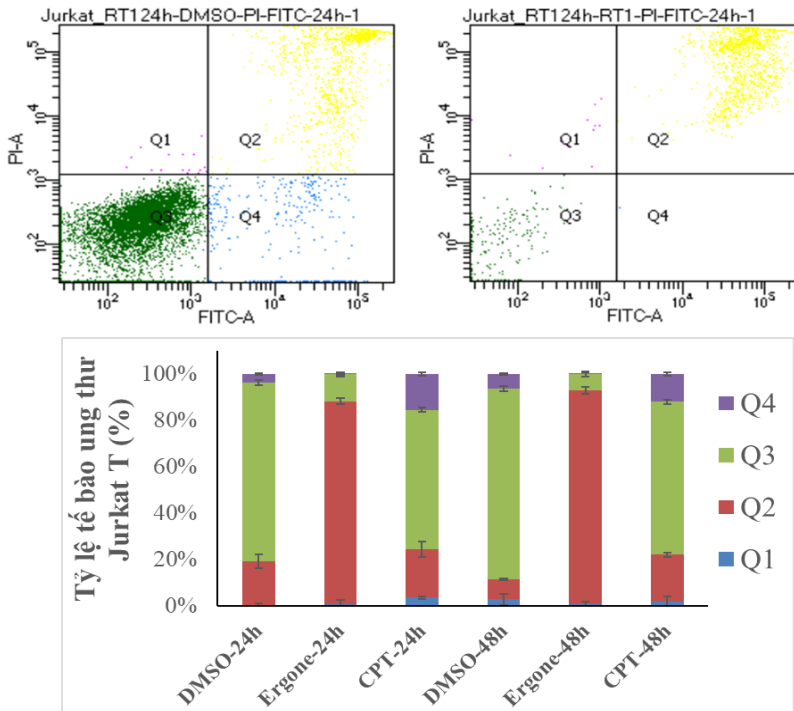
3.6.3. Định lượng tế bào bị cảm ứng apoptosis bằng phương pháp nhuộm Annexin V/PI



Hình 3.19. Tỷ lệ tế bào MCF-7 cảm ứng apoptosis bởi ergone

Từ kết quả trên nhận thấy, ergone có khả năng cảm ứng apoptosis với dòng tế bào ung thư MCF-7.

Sau 24 giờ xử lý tế bào với ergone, Tỷ lệ tế bào ở giai đoạn apoptosis muộn tăng $68,62 \pm 3,87\%$ so với đối chứng. Từ kết quả trên nhận thấy, ergone có khả năng cảm ứng apoptosis mạnh ở dòng tế bào ung thư Jurkat T.



Hình 3.20. Tỷ lệ tế bào Jurkat T cảm ứng apoptosis bởi ergone từ cao PE của sinh khối *C. neovolkiana* DL0004

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

Xác định được 03 loại cao chiết có hoạt tính gây độc tế bào cao, bao gồm: cao EA từ sinh khối *C. neovolkiana* DL0004 ức chế tế bào MCF-7 và Jurkat T tương ứng các giá trị IC_{50} lần lượt là $78,13 \pm 3,27$ và $35,68 \pm 0,29$ $\mu\text{g/mL}$; cao PE từ sinh khối *C. neovolkiana* DL0004 ức chế tế bào MCF-7 và Jurkat T tương ứng các giá trị IC_{50} lần lượt là $26,94 \pm 1,62$ và $15,50 \pm 0,19$ $\mu\text{g/mL}$; cao EA từ quả thể *I. cicadae* F0004 ức chế tế bào MCF-7 và Jurkat T tương ứng các giá trị IC_{50} lần lượt là $17,15 \pm 1,68$ $\mu\text{g/mL}$ và $10,37 \pm 0,61$ $\mu\text{g/mL}$.

Cao chiết từ sinh khối *C. neovolkiana* DL0004 và cao chiết từ quả thể *I. cicadae* F0004 có khả năng cảm ứng apoptosis các dòng tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat T.

Đã cô lập và định danh được 11 hợp chất từ 02 cao có hoạt tính kháng phân bào cao, bao gồm: 05 hợp chất từ cao PE của sinh khối *C. neovolkiana* DL0004 (ergone, ergosterol peroxid, cerevisterol, melithasterol B và ergosterol) và 06 hợp chất từ cao EA từ quả thể của *I. cicadae* F0004 (uracil; 1-O-Ethyl- β -D-ribofuranose; ergosterol; p-hydroxybenzoic acid; protocatechuic acid và nicotinic acid).

Ergone từ cao PE của sinh khối *C. neovolkiana* DL0004 có tiềm năng kháng phân bào cao và cảm ứng apoptosis dòng tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat T.

Kiến nghị

Khảo sát hoạt tính kháng phân bào của các cao chiết từ sinh khối và từ quả thể 02 chủng nấm trên các dòng tế bào ung thư khác.

Cô lập và định danh thêm các hợp chất từ các cao phân đoạn. Nghiên cứu xác định cơ chế kháng phân bào và kháng di căn trên tế bào, gen và biểu hiện protein của cao chiết và hợp chất thể hiện hoạt tính kháng phân bào tiềm năng trên các dòng tế bào ung thư.

Thử nghiệm khả năng ức chế ung thư của các cao chiết và hợp chất trên mô hình động vật.

Nghiên cứu đánh giá độc tính của các hợp chất tiềm năng trên dòng tế bào thường, nghiên cứu đánh giá độc tính cấp trên chuột trước khi có nghiên cứu sâu hơn hoặc mở rộng đối tượng dòng tế bào ung thư khác.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Kết quả đã chứng minh sinh khối và quả thể 02 chủng nấm *Cordyceps neovolkiana* DL0004 và *Isaria cicadae* F0004 được phân lập và nuôi cấy tại Việt Nam cho hoạt tính kháng phân bào và cảm ứng apoptosis 02 dòng tế bào ung thư MCF-7 và Jurkat T.

11 chất được cô lập và định danh là các chất được công bố lần đầu đối với các loài nấm *C. neovolkiana* và *I. cicadae* phân lập và nuôi trồng tại Việt Nam. Đặc biệt, 1-*O*-Ethyl- β -D-ribofuranose; *p*-hydroxybenzoic acid và protocatechuic acid là 03 chất lần đầu tiên được công bố trên đối tượng *I. cicadae*.

Kết quả xác định được ergone từ cao PE từ sinh khối *C. neovolkiana* DL0004 có khả năng kháng phân bào cao và cảm ứng apoptosis làm cơ sở cho các nghiên cứu ứng dụng thực tiễn lĩnh vực công nghệ sinh học và hóa sinh.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

Các bài báo đăng trên các tạp chí khoa học trong nước

1. Doan Minh Quan, **Nguyen Chi Dung**, Dinh Minh Hiep (2015), *Extraction of ergosterol and characterization of anti-mitotic activity of petroleum-ether extracts from biomass of Cordyceps spp. isolated in Vietnam*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ (ISSN 0866-708X), tập 53, số 6B, trang 97-104
2. **Chi-Dung Nguyen**, Thu Huynh, Minh-Hiep Dinh (2017), *Screening for some biological activities of cultured Cordyceps neovolkiana*, Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ (ISSN 1859-0128), tập 20, số K3, trang 106-112
3. **Nguyen Chi Dung**, Pham Thi My Ninh, Dinh Minh Hiep (2018), *A comparison of the cytotoxic activity of extracts from fruiting bodies and mycelial biomass of Cordyceps neovolkiana (DL0004) fungus*, Vietnam Journal of Science and Technology (ISSN 2525-2518), 56(4A):53-60.

Các bài báo đăng trên các tạp chí khoa học quốc tế

1. **Chi-Dung Nguyen**, Thi-My-Ninh Pham, Thi-Bich-Hang Ha, Thi-Phuong Nguyen, Huu-Hung Nguyen, Hoang-Vinh-Truong Phan, Thuc-Huy Duong, Minh-Hiep Dinh (2021), *Chemical constituents of Cordyceps neovolkiana DL0004*, Chemistry of Natural Compounds (ISSN 0009-3130), 57(2):392-394 (DOI: 10.1007/s10600-021-03369-z).
2. **Nguyen Chi Dung**, Ha Thi Ngoc, Pham Thi My Ninh, Dang Hoang Phu, Dinh Minh Hiep, Ngo Ke Suong (2021), *Studying on cytotoxic activity of ethyl acetate extracts and isolated substances from cultured Isaria cicadae F0004 in Vietnam against the MCF-7 cell lines and Jurkat cell lines*, IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 947 012037 (ISSN 1755-1315), doi:10.1088/1755-1315/947/1/012037.