**Khả năng kháng oxy hóa, kháng ung thư của cordycepin**

**Nguyễn Đức Thắng-Đại học Sao Đỏ**

**1. Mở đầu**

Cordycepin (3’- deoxyadenosine) là một purine alkaloid bị mất một oxy ở vị trí 3’ phần đường ribose, công thức phân tử của cordycepin là C10H13N5O3, phân tử lượng 251, nhiệt độ nóng chảy là 230 – 231o C, độ hấp thụ cao nhất ở bước sóng 260 nm, có thể hòa tan trong dung dịch đệm muối, methanol hay ethanol, nhưng không hòa tan trong benzen, ether hay chloroform, các nhà khoa học thường sử dụng saline khử trùng hoặc đệm phosphates để hòa tan cordycepin. Cordycepin là một loại đồng phân của một nucleoside có cấu trúc tương tự như adenosine, nó không có nhóm 3’ hydroxyl đã tạo nên nhiều đặc tính, cản trở nhiều quá trình hóa sinh và phân tử như tổng hợp purine, tổng hợp DNA/RNA, truyền các tín hiệu mTOR (Mammalian Target of Rapamycin)…(Hardeep S. Tuli *et al*., 2014).

  

Hình 1.1. Cấu trúc cordycepin (bên trái) và adenosine (bên phải)

Cordycepin là một cơ chất kháng khuẩn được phân tách đầu tiên từ nấm ký sinh *C. militaris* bởi Cunningham (Cunningham *et al*., 1950). Sau đó, cordycepin cũng được tìm thấy ở *C.sinensis* và *C. kyushuensis*. Cordycepin có thể được tổng hợp hóa học nhưng cho hàm lượng thấp. Các nhà khoa học cho biết khi thu nhận trong tự nhiên, nồng độ cordycepin trong quả thể *C. militaris* cao hơn *C. sinensis* với hàm lượng lần lượt là 2,65 và 1,64 mg/g, trong khi nuôi cấy trong các bình lên men hàm lượng các chất thu được là 1,59 mg/g tương tự *C. sinensis* trong tự nhiên (Hui-Chen Lo *et al*., 2013).

Từ khi phát hiện ra cordycepin, một số lượng lớn các nghiên cứu đã tập trung vào cơ chất này (Kaczka *et al.*, 1964; Frederiksen *et al.*, 1965). Nhiều công trình nghiên cứu đã được chứng minh cordycepin có chứa nhiều chức năng sinh học như điều hòa miễn dịch, kháng ung thư (Lee *et al.*, 2013), kháng nấm, kháng virus (Ryu *et al.*, 2014), kháng lại bệnh ung thư máu. Xét về phương diện nâng cao nhận thức, cordycepin được cho là ngăn chặn Scopolamine gây suy giảm trí nhớ, cải thiện D-galactose hay ethanol gây ra hoạt động khác thường của cơ quan liên quan đến nhận thức. Việc ngăn cản hay cải thiện suy giảm trí nhớ có thể liên quan đến tăng hoạt động của enzyme kháng oxy hóa và ngăn cản sự chết của tế bào thần kinh. Một nghiên cứu đã chỉ ra rằng cordycepin có thể chống lại các tổn thương của chứng thiếu máu cục bộ bằng cách giảm mức độ quá trình glutamate ngoại bào đóng vai trò như một chất dẫn truyền thần kinh, tăng hoạt động của Superoxide dismutase (SOD) – một enzyme có thể chuyển đổi các gốc superoxide thành một dạng ít nguy hiểm hơn (Cheng *et al*., 2011).

Một nghiên cứu của Gu và cộng sự (2007) (Gu *et al*., 2007) đã đánh giá hoạt động kháng oxy hóa của *Cordyceps* spp. trong tự nhiên và nuôi cấy nhân tạo cho thấy hoạt động kháng oxy hóa rõ rệt trong ức chế quá trình oxy hóa acid linoleic, các ion kim loại và loại bỏ các gốc tự do DPPH và hydroxyl. Tiếp theo đó, một nghiên cứu của Xinghui và cộng sự (2016) (Xinghui *et al*., 2016) đã công bố ảnh hưởng của cordycepin chiết xuất từ nấm *Cordyceps militaris* trong việc ức chế sự phát triển tế bào nhờ tác động vào chu trình chết của tế bào và hệ thống phân hủy nội bào trong các tế bào ung thư phổi ở người.

**2. Đặc tính kháng ung thư và kháng oxy hóa của cordycepin**

Các chất chuyển hóa sinh học hoạt động tiềm năng được tìm thấy trong các loại nấm dược liệu có thể hỗ trợ hoạt động kháng ung thư cũng như có các tác động có lợi trong phát triển cách điều trị bệnh ung thư, với ít tác dụng phụ. Các chất này hoạt động theo cơ chế dựa vào việc điều chỉnh cho phù hợp với một số con đường dẫn truyền tín hiệu tế bào (con đường nuclear factor-κB [NF-κB], con đường protein kinase được cảm ứng bởi mitogen [MAPK] và ức chế các tác động vào các quá trình như biệt hóa tế bào, sự hình thành mạch, chất sinh ung thư và di căn (Zhou *et al*., 2009). Trong đó, một dãy rộng các chất chuyển hóa hoạt động sinh học trọng lượng phân tử thấp phân tách từ nấm dược liệu, đã được kiểm tra tính kháng ung thư và kích thích hệ thống miễn dịch. Một trong các hợp chất đầy hứa hẹn đã được chứng minh cơ chế hoạt động của nó là cordycepin. Phần lớn trong số chúng hoạt hóa các đáp ứng miễn dịch tự nhiên trong tế bào đích bằng việc tác động vào một số con đường truyền tín hiệu mà liên quan đến sự phát triển tế bào ung thư, vì vậy được sử dụng cho hỗ trợ trong điều trị ngăn chặn ung thư cùng với các liệu pháp truyền thống ( Hyodo *et al*., 2005).

Cordycepin có hai tác động chính trên tế bào theo một nghiên cứu của Wong và cộng sự (Wong *et al*., 2010). Hàm lượng cordycepin thấp, có tác dụng ức chế sự phát triển không kiểm soát, phân chia của các tế bào. Ngược lại, với hàm lượng cao ngăn cản các tế bào dính kết với nhau và ức chế sự phát triển. Cả hai tác động này có các cơ chế về cơ bản giống nhau đó là cordycepin ức chế sự chuyển hóa protein. Do ở liều lượng thấp, cordycepin ức chế việc tạo ra mRNA và hình thành các protein; trong khi ở liều lượng cordycepin cao gây ảnh hưởng trực tiếp trong việc tạo ra các protein.

Wong và cs (Wong *et al*., 2010) đã chứng minh rằng ở liều lượng cordycepin thấp sẽ làm giảm đuôi poly A của các mRNA đặc trưng, sự tăng sinh nhanh của các nguyên bào sợi NIH3T3 và điều này tương quan với việc làm giảm sự tăng sinh nhanh của tế bào. Ở liều lượng cordycepin cao ức chế sự kết dính tế bào và gần như chấm dứt sự tổng hợp protein, có thể do tác động của nó trong quá trình phosphoryl hóa Akt và 4EBP. Trong con đường kinase được hoạt hóa bởi AMP, cordycepin với liều lượng cao ở vùng upstream (ngược dòng) hoạt động sẽ dẫn đến sự giảm rõ rệt trong việc phát tín hiệu các enzyme serine-threonine bảo thủ về mặt tiến hóa. Cordycepin cũng tắt con đường mTOR5 - một con đường truyền tín hiệu kiểm soát sự tăng sinh nhanh, kết dính tế bào và tổng hợp protein. Như vậy, cordycepin có tác động chính đến ức chế quá trình polyadenyl hóa ở liều lượng thấp và hoạt hóa con đường kinase được cảm ứng bởi AMP ở liều lượng cao (Wong *et al*., 2010).

Theo đó, cordycepin còn ảnh hưởng đến các tế bào mắc bệnh bạch cầu ở người bằng việc làm giảm đáng kể cái chết theo chu trình của tế bào (apoptosis) thông qua con đường phụ thuộc vào enzyme capase làm trung gian ty thể hay các gốc tự do (ROS - reactive oxygen species) (Khan *et al*., 2010; Jeong *et al*., 2011). Cordycepin cũng được sử dụng như một trị liệu tá dược trong việc ngăn chặn bệnh ung thư cùng với liệu pháp hóa học và chữa bằng xạ trị đã cho thấy nhiều tác động có lợi trên bệnh nhân. Trong một số trường hợp chỉ ra các tác động kháng khối u trực tiếp (Zhu *et al*., 1998a, 1998b).

Bên cạnh đó, hoạt tính kháng oxy hóa của cordycepin cũng đáng quan tâm. Trong cơ thể, hoạt động oxy hóa xảy ra do sự mất cân bằng giữa việc tạo ra quá mức các ROS (Reactive oxygen species) hay các gốc tự do như NO-, O 2- … và chức năng của hệ thống kháng oxy hóa không hiệu quả. Các gốc tự do này mang điện tích âm vì vậy nó có xu hướng nhận điện tử từ các phân tử DNA hay protein gây ra biến tính DNA cũng như là protein dẫn đến các bệnh mạn tính như ung thư, làm giảm sự biệt hóa các tế bào xương… Dựa vào cấu trúc phân tử của cordycepin có các nhóm OH nên nó có xu hướng cho điện tử H+ cho các gốc tự do thay cho điện tử của các phân tử DNA hay protein nhờ vào tính chất đó mà hợp chất cordycepin có hoạt tính kháng oxy hóa. Cordycepin được chỉ ra là tham gia vào việc tăng cường khả năng kháng oxy hóa ở chuột (Ramesh và cs, 2012). Một nghiên cứu cũng chỉ ra cordycepin ngăn chặn tim chuột khỏi ảnh hưởng của chứng thiếu máu cục bộ bằng hoạt động kháng oxy hóa chống lại các đáp ứng qua viêc điều hòa sự biểu hiện của oxygenase (HO-1) (Park và cs, 2014).

**3. Đánh giá khả năng kháng oxy hóa của hợp chất cordycepin trong dịch chiết nuôi cấy chủng nấm *C. militaris* FNA5 phân lập tại Việt Nam**

DPPH là phương pháp được sử dụng rộng rãi để kiểm tra khả năng loại bỏ gốc tự do và các nhóm cho hydro, hay để xác định số lượng các chất kháng oxy hóa trong hệ thống sinh học phức tạp ở các năm gần đây. Phương pháp này có thể được sử dụng cho các mẫu dạng rắn hay dạng lỏng và không đặc hiệu cho bất kỳ thành phần kháng oxy hóa riêng biệt nào nhưng nó có hiệu quả cho toàn bộ khả năng kháng oxy hóa của mẫu. So với các phương pháp đánh giá khả năng kháng oxy hóa khác như các thử nghiệm khả năng hấp thụ gốc oxy (ORAC), thử nghiệm tăng cường phát quang bằng phản ứng hóa học cần yêu cầu thiết bị đặc biệt, các kỹ năng phân tích về mặt kỹ thuật thì thử nghiệm DPPH sử dụng cho thí nghiệm của chúng tôi là một phương pháp đơn giản, nhanh, không phụ thuộc kiểu loại máy đo quang phổ, không đắt để đo khả năng kháng oxy hóa của các chất nhờ việc sử dụng các gốc tự do DPPH bền vững.

Khả năng kháng oxy hóa của hợp chất cordycepin có trong dịch lên men được đáng giá dựa trên hàm lượng chất kháng oxy hóa chuẩn – Trolox.

 Trolox là một chất kháng oxy hóa tương tự như vitamine E có thể hòa tan được trong nước, được dùng làm chất chuẩn trong thử nghiệm này. Trolox được dùng làm chất chuẩn bởi khả năng kháng oxy hóa của Trolox cao hơn hoạt động kháng oxy hóa của vitamin E gấp 2 lần (Trolox là 400,000 TE/100 gram; vitamin E là 201,000 TE/100 gram) (TE – Trolox Equivalent). Khả năng kháng oxi hóa được xác định dựa trên đường chuẩn mô tả mối tương quan giữa nồng độ trolox và % kìm hãm.

Sau khi khảo sát ở các nồng độ khác nhau của chất chuẩn Trolox, chúng tôi thu được kết quả dưới bảng 1.1 và hình 1.2 (Số liệu được xử lý bằng excel).

**Bảng 1.1*.* Khả năng kháng oxy hóa của chất chuẩn Trolox**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| OD517nm | % kìm hãm | Nồng độ Trolox (µmol/lít) |
| 1,0886±0,006 |  | 0 |
| 1,0776±0,002 | 1,01±0,741 | 50 |
| 1,0389±0,011 | 4,56±0,462 | 100 |
| 0,9755±0,006 | 10,39±1,031 | 200 |
| 0,7191±0,009 | 33,94±0,068 | 500 |
| 0,5522±0,016 | 49,27±1,735 | 750 |
| 0,3270±0,006 | 69,96±0,353 | 1000 |



Hình 1.2. Đồ thị đường chuẩn Trolox

Dựa vào bảng 1.1 và hình 1.2 cho thấy, ở nồng độ chất kháng oxy hóa càng cao thì khả năng mất màu tím của dung dịch càng nhiều hay nói cách khác khả năng kháng oxy hóa tỷ lệ thuận với nồng độ. Hàm lượng chất kháng oxy hóa được tính tương đương µmol/lít Trolox dựa vào phương trình đường chuẩn y = 0,072x – 3,0239 (R2 = 0,9984 ).

Khả năng kháng oxy hóa của cordycepin trong dịch chiết nuôi cấy chủng nấm *C.militaris* FNA5 được đánh giá dựa vào hiệu quả loại bỏ gốc tự do được trình bày trong bảng 1.2.

**Bảng 1.2. Khả năng kháng oxy hóa của hợp chất cordycepin trong dịch lên men chủng nấm *C. militaris* FNA5**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| OD517nm | Phần trăm kìm hãm | Khả năng kháng oxy hóa (µmol TE/lít) |
| 0,8954 ± 0,009 | 17,93±0,475 | 291±5,214 |

Kết quả trình bày ở bảng 1.2 cho thấy, khả năng kháng oxy hóa của cordycepin là 291 µmol TE/lít dịch nuôi cấy tương đương 81 µg TE/ml ở nồng độ cordycepin là 1 mg/ml dịch chiết, với phần trăm loại bỏ gốc tự do là 17,93%. Kết quả này khi so sánh với một nghiên cứu của Zheng và cộng sự (Zheng *et al*., 2011) thấy rằng phù hợp với kết quả họ đã công bố. Nghiên cứu cho thấy khả năng kháng oxy hóa của cordycepin có trong dịch chiết thu được khi nuôi cấy nấm *Cordyceps sinensis.* Kết quả về phần trăm loại bỏ gốc tự do tính toán qua thí nghiệm tăng từ 10,7% đến 80,1% khi hàm lượng cordycepin trong dịch chiết tăng từ 0,5 đến 4,5 mg/ml, trong khi thí nghiệm tách chiết hợp chất từ sinh khối khô của chủng CS1197 thì phần trăm ức chế là từ 5,3% đến 18% ở hàm lượng cordycepin là 1 mg/ml dịch chiết.

Trong một nghiên cứu khác của Yuko và cộng sự (Yuko *et al*., 2006) khảo sát khả năng kháng oxy hóa của cordycepin trong dãy từ 0 – 4,0 mg/ml thể hiện ảnh hưởng loại bỏ gốc tự do từ 0 đến 60 µg TE/ml, trong khi chiết từ sinh khối khô CS1197 chỉ ra khả năng ức chế hiệu quả từ 27 đến 39 µg TE/ml ở mức nồng độ cordycepin là 1 mg/ml. Thêm nữa, một nghiên cứu của Zhang và cộng sự (Zhang *et al*., 2013) công bố nồng độ cordycepin lần lượt là 0,8 và 1,8 mg/ml cho khả năng kháng oxy hóa loại bỏ các gốc tự do OH và DPPH có thể đạt tới 50%. Kết quả này phù hợp với nồng độ cordycepin trong dịch chiết chúng tôi thu được, với cordycepin đạt 0,88 mg/ml dịch chiết nuôi cấy chủng nấm *Cordyceps militaris* FNA5. Nghiên cứu của Zhang cho rằng đặc tính kháng oxy hóa của cordycepin gần với vitamin C. Như vậy, so sánh với các kết quả nghiên cứu đã công bố trên cho thấy cordycepin trong dịch chiết nuôi cấy nấm *C. militaris* FNA5 mà chúng tôi nuôi cấy trong điều kiện lên men chìm có khả năng kháng oxy hóa. Một hướng nghiên cứu đầy triển vọng với nguồn nguyên liệu ĐTHT có nguồn gốc Việt Nam.

**4. Đánh giá khả năng kháng ung thư của hợp chất cordycepin trong dịch chiết nuôi cấy nấm *C. militaris* FNA5**

Bên cạnh chức năng có khả năng kháng oxy hóa của hợp chất cordycepin thì chúng tôi tiến hành nghiên cứu tiếp vai trò tiềm năng của cordycepin trong hoạt động kháng ung thư của nó trên các dòng tế bào ung thư phổi và ung thư vú. Cùng với sự hỗ trợ của Phòng Công nghệ tế bào động vật - Viện Công nghệ sinh học, chúng tôi đánh giá sơ bộ hoạt tính gây độc tế bào của cordycepin từ dịch chiết thu được khi nuôi cấy chủng nấm *C. militaris* FNA5, theo phương pháp SRB của Likhitwitayawuid và cộng sự (Likhitwitayawuid *et al.*, 1993). Kết quả được trình bày ở bảng 4.6.

**Bảng 1.3. Hoạt tính gây độc tế bào của chất cordycepin trong dịch chiết nuôi cấy chủng nấm *C. militaris* FNA5**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Ký hiệu mẫu** | **Nồng độ mẫu (µg/ml)** | **Tế bào sống sót (%)** |
| **A549** | **BT474** |
| Đối chứng âm |  | 0,0±0,0 | 0,0±0,0 |
| Mẫu cordycepin | 0,1 | 51,53± 1,89 | 38,9±0,12 |
|  | 1 | 26,33±1,18 | 8,39±0,00 |
|  | 5 | 10,64±1,77 | 6,53±0,03 |
|  | 10 | 10,34±0,18 | 4,97± 0,35 |
|   | 20 | 9,51±1,59 | 3.92±1,36 |

 

Hình 1.3. Khả năng kháng ung thư của hợp chất cordycepin trong dịch chiết ở các nồng độ khác nhau trong các dòng tế bào ung thư vú (BT474) (bên trái) và ung thư phổi (A549) (bên phải)

Kết quả bảng1.3 và hình 1.3 cho thấy, mẫu cordycepin trong dịch chiết nấm *C.militaris* FNA5 biểu hiện hoạt tính gây độc với cả 2 dòng tế bào ung thư phổi (A549) và ung thư vú (BT474) ở các nồng độ 1, 5, 10 và 20 µg/ml. Từ kết quả đó chúng tôi lựa chọn các nồng độ đó để tính giá trị IC50 tương ứng. Mặt khác, qua đồ thị hình 1.3 thể hiện rõ khả năng gây độc tế bào của hợp chất cordycepin có trong dịch chiết tỷ lệ thuận với nồng độ chất phân tích. Như vậy, ở nồng độ cordycepin càng cao thì khả năng ức chế sự tăng sinh của tế bào càng cao. Giá trị IC50 được trình bày trên bảng 1.4.

**Bảng 1.4. Hoạt tính gây độc tế bào với các dòng tế bào của dịch chiết cordycepin**

|  |  |
| --- | --- |
| **Ký hiệu mẫu** | **Giá trị IC50 trên các dòng tế bào (µg/ml)** |
| **BT474** | **A549** |
| Đối chứng | 0,0±0,0 | 0,0±0,0 |
| Mẫu cordycepin | 0,42 | 1,07 |

Qua bảng 1.4. cho thấy, hợp chất cordycepin biểu hiện hoạt tính gây độc với cả 2 dòng tế ung thư là ung thư vú (BT474) và ung thư phổi (A549) có giá trị IC50 lần lượt là 0,42 và 1,07 µg/ml. Chứng tỏ trên dòng tế bào ung thư vú BT474 cordycepin thể hiện hoạt tính gây độc mạnh hơn, hiệu quả hơn trên dòng tế bào ung thư phổi A549.

Trong nghiên cứu của tác giả Hardeep và cs (Hardeep *et al.*, 2015) đăng trên tạp chí sinh học Thổ Nhĩ Kì công bố kết quả của thí nghiệm, tác động của cordycepin lên quá trình apoptosis của dòng tế bào ung thư phổi A549 cho thấy nhiều kết quả khả quan. Nghiên cứu cũng cho thấy khả năng ức chế sự tăng sinh tế bào của cordycepin được quan sát sau 48 h cho thấy nồng độ càng cao, số lượng tế bào sống sót giảm dần. Tác giả đã công bố nồng độ cordycepin 40 µg/ml là nồng độ gây độc tế bào ung thư A549, với giá trị IC50 là 64 µg/ml. Mặt khác, công trình nghiên cứu cũng đã cho thấy tốc độ quá trình apotosis có tăng ở giai đoạn sau pha G1 của chu kỳ tế bào.

**5. Kết luận**

Với kết quả trên cho thấy khả năng kháng oxy hóa của cordycepin do củng nấm Cordycepin minlitaris FN5 tổng hợp lên là 291 µmol TE/lít dịch nuôi cấy tương đương 81 µg TE/ml ở nồng độ cordycepin là 1 mg/ml dịch chiết, với phần trăm loại bỏ gốc tự do là 17,93%. Đồng thời hợp chất cordycepin biểu hiện hoạt tính gây độc với cả 2 dòng tế ung thư là ung thư vú (BT474) và ung thư phổi (A549) có giá trị IC50 lần lượt là 0,42 và 1,07 µg/ml. Chứng tỏ trên dòng tế bào ung thư vú BT474 cordycepin thể hiện hoạt tính gây độc mạnh hơn, hiệu quả hơn trên dòng tế bào ung thư phổi A549.

Ngoài ra, trong nhiều tài liệu công bố cho thấy hợp chất cordycepin chiết xuất từ nấm *C. militaris* hay *C. sinensis* đã được quan tâm và nghiên cứu, phát hiện được các cơ chế kháng ung thư và di căn nhờ sự tương tác của cordycepin với các quá trình hóa sinh bao gồm sự tổng hợp acid nucleic, con đường apotosis (chết theo chương trình) và con đường trung gian qua ty thể, các tín hiệu chu kỳ tế bào, kích thích các thụ thể receptor adenosine, ức chế sự kết tụ tiểu cầu (Wu *et al.*, 2007; Xinghui *et al*., 2016) ở các kiểu ung thư như ung thư tiểu cầu, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư gan, ung thư biểu mô (Wu *et al.*, 2007; Nakamura*, et al.*, 2015; Xuewen *et al*., 2015) trên người và chuột.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Hardeep S. Tuli. SSS., A. K. Sharma. (2014) Pharmacological and therapeutic potential of *Cordyceps* with special reference to Cordycepin. Biotech. 4: 1-12.

2. Cunningham KG., MW., Spring FS., hutchinson SA. (1950) Cordycepin a metabolic product isolated from cultures of *Cordyceps militaris* (Linn.) Link. Nature. 166(4231): 949.

3. Hui-Chen Lo. CH., Tai-Hao Hsu. (2013) A Systematic Review of the Mysterious Caterpillar Fungus *Ophiocordyceps sinensis* in Dong-ChongXiaCao (冬蟲夏草 Dōng Chóng Xià Cǎo) and Related Bioactive Ingredients. Traditional and Complementary Medicine. 16-32.

4. Kaczka EA., Trenner NR., Arison B., Walker RW., Folkers K. (1964) Identification of cordycepin, a metabolite of *Cordyceps militaris*, as 3'-deoxyadenosine. Biochem Biophys Res Commun. 14: 456-457.

5. Frederiksen S., Malling H., Klenow H. (1965) Isolation of 3'- deoxyadenosine (cordycepin) from the liquid medium of *Cordyceps militaris* (L.ex Fr.) Link. Biochim Biophys Acta 95: 189-193.

6. Lee HH., Park C., Jeong JW., Kim MJ., Seo MJ., Kang BW., Park JU., Kim GY., Choi BT., Choi YH., Jeong YK. (2013) Apoptosis induction of human prostate carcinoma cells by cordycepin through reactive oxygen species mediated mitochondrial death pathway. Int J Oncol. 42: (3) 1036-1044.

7. Ryu E., Son M., Lee M., Lee K., Cho JY., Cho S., Lee SK., Lee YM., Cho H., Sung GH., Kang H. (2014) Cordycepin is a novel chemical suppressor of Epstein-Barr virus replication. Oncoscience. 1: (12) 866-881.

8. Gu YX., Song YW., Fan LQ., Yuan QS. (2007) Antioxidant activity of natural and cultured *Cordyceps* spp. Article in Chinese. 32(11): 1028-31.

9. Xinghui Yu. JL., Xianfang Liu., Sen Guo., Yidan Lin., Xiangguo Liu., Ling Su. (2016) Cordycepin induces autophagy-mediated c-FLIPL degradation and leads to apoptosis in human non-small cell lung cancer cells. Cancer Chemother Pharmacol. 8: 6691-6699.

10. Zhou L.H. LLM. (2009) Preparation andregeneration of protoplasts from *Cordyceps militaris*. Hubei Agricultual Science. 48: 1621–1624.

11. Wong YY. MA., Duffin R., Barateig AB., Meijer HA., Clemens MJ., de Moor CH. (2010) Cordycepin inhibits protein synthesis and cell adhesion through effects on signal transduction. J Biol Chem. 285: 2610–2621.

12. Khan MA. TM., Zhang DZ., Chen HC. (2010) Cordyceps Mushroom: a potent anticancer nutraceutical. Open Nutraceuticals*.* 3: 179–183.

13. Jeong JW. JC, Park C., Hong SH., Kim GY., Jeong YK., Lee JD., Yoo YH., Choi YH. (2011) Induction of apoptosis by cordycepin via reactive oxygen species generation in human leukemia cells. Toxicol *In Vitro*. 25: 817–824.

14. Zhu JS. HG, Jones K. (1998a) The scientific rediscovery of an ancient Chinese herbal medicine: *Cordyceps sinensis* part 1. J Altern Complement Med. 4: 289–303.

15. Zhu JS. HG, Jones K. (1998b) The scientific rediscovery of a precious ancient Chinese herbal regimen: *Cordyceps sinensis* part II. J Altern Complement Med. 4: 429–457.

16. Ramesh T, Yoo SK, Kim SW, Hwang SY, Sohn SH, Kim IW and Kim SK. (2012) Cordycepin (3' -deoxyadenosine) attenuates age-related oxidative stress and ameliorates antioxidant capacity in rats. Experimental gerontology. 47: 979-987.

17. Park ES, Kang DH, Yang MK, Kang JC, Jang YC, Park JS, Kim SK and Shin HS. (2014) Cordycepin, 3' -deoxyadenosine, prevents rat hearts from ischemia/reperfusion injury via activation of Akt/GSK-3beta/p70S6K signaling pathway and HO-1 expression. Cardiovascular toxicology. 14:1-9

18. Zheng P., Xia Y., Xiao G., Xiong C., Hu X., Zhang S., Zheng H., Huang Y., Zhou Y., Wang S., Zhao GP., Liu X., St Leger RJ., Wang C. (2011) Genome sequence of the insect pathogenic fungus *Cordyceps militaris*, a valued traditional Chinese medicine. Genome Biol. 12: (11) R116.

19. Yuko O. J-BL., Kyoko H., Akio F., DongKi P and Toshimitsu H. (2007) *In Vivo* AntiinfluenzaVirus Activity of anImmunomodulatory Acidic Polysaccharide Isolated from *Cordyceps militaris* Grown on Germinated Soybeans.Journal of Agricultural and Food Chemistry*.* 55: 10194–10199.

20. Hardeep Singh Tuli. GK., Sardul Singh Sandhu., Anil Kumar Sharma., Dharmbir Kashyap. (2015) Apoptotic eﬀect of cordycepin on A549 human lung cancer cell line. Biological and Chemical Sciences. 39: 306-311.

21. Wu WC., Hsiao JR., Lian YY., Lin CY., Huang BM. (2007) The apoptotic effect of cordycepin on human OEC-M1 oral cancer cell line. Cancer Chemother Pharmacol. 60: (1) 103-111.

22. Nakamura K., Shinozuka K., Yoshikawa N. (2015) Anticancer and antimetastatic effects of cordycepin, an active component of *Cordyceps sinensis*. J Pharmacol Sci.127: (1) 53-56.

32. Park JP., Kim SW., Hwang HJ., Yun JW. (2001) Optimization of submerged culture conditions for the mycelial growth and exo-biopolymer production by *Cordyceps militaris*. Lett Appl Microbiol. 33: (1) 76-81.