THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐỀ TÀI KH&CN CẤP BỘ

1. Thông tin chung

- Tên đề tài: *Nghiên cứu giải mã hệ gen lục lạp, hoạt tính sinh học và cảm ứng tạo rễ tơ của cây Lan tai cáo (Hoya parasitica* (Roxb.) Wight)

- Mã số: B2022-TNA-22-CT562

- Chủ nhiệm đề tài: TS. Từ Quang Tân

- Tổ chức chủ trì: Đại học Thái Nguyên

- Thời gian thực hiện: 24 tháng (Từ tháng 01 năm 2022 đến tháng 12 năm 2023)

2. Mục tiêu

- Xác định được cấu trúc hệ gen lục lạp phục vụ thiết lập mã vạch DNA của loài Lan tai cáo *(H. parasitica* (Roxb.) Wight);

- Đánh giá được hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hóa và khả năng gây độc tế bào ung thư của loài Lan tai cáo;

- Tạo được dòng rễ tơ từ cây Lan tai cáo.

3. Tính mới và sáng tạo

- Đã thiết lập được bản đồ hệ gene lục lạp và phân tích một số mã vạch DNA của cây Lan tai cáo phục vụ định danh loài *H. parasitica.*

- Đã xác định được 5 saponin mới từ Lan tai cáo: 1) 3β,20-dihydroxy-pregn-5-ene-3-O-β-D-fucopyranoside-20-O-β-D-glucopyranoside. 2) 3β,20-dihydroxy-pregn-5-ene-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-fucopyranoside-20-O-β -D-glucopyranoside. 3) spirost-(25)27-ene-1β,3β,4α-triol 1-O-α-L-arabinopyranoside spirost-(25)27-ene-1β,3β,4α-triol 1-O-α-L-arabinopyranoside. 4) spirost-25(27)-ene-1β,3β-diol 1-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-xylopyranoside. 5) (25S)-spirost-1β,3β,4α,23,24-pentol 1-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D- Fucopyranoside.

4. Kết quả nghiên cứu

1) Đã phân tích đặc điểm hình thái, giải phẫu, phân tích một số mã vạch DNA và giải trình tự, thiết lập bản đồ hệ gene lục lạp của cây Lan tai cáo.

2) Đã phân tích thành phần hoá học của Lan tai cáo (*H. parasitica*) và xác định được 5 saponin mới từ Lan tai cáo: (1) 3β,20-dihydroxy-pregn-5-ene-3-O-β-D-fucopyranoside-20-O-β-D-glucopyranoside. (2) 3β,20-dihydroxy-pregn-5-ene-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-fucopyranoside-20-O-β -D-glucopyranoside. (3)

spirost-(25)27-ene-1β,3β,4α-triol 1-O-α-L-arabinopyranoside spirost-(25)27-ene-1β,3β,4α-triol 1-O-α-L-arabinopyranoside. (4) spirost-25(27)-ene-1β,3β-diol 1-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-xylopyranoside. (5) (25S)-spirost-1β,3β,4α,23,24-pentol 1-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D- Fucopyranoside.

3) Đã xây dựng được quy trình nuôi cấy *in vitro* và quy trình nuôi cấy tạo rễ tơ *in vitro* cây Lan tai cáo.

5. Sản phẩm

5.1. Sản phẩm khoa học

1. Tan Quang Tu, Yen Thi Hai Nguyen, Lan Thi Ngoc Nguyen, Hung Duc Nguyen, Mau Hoang Chu (2023), "Three new minor steroidal glycosides from the whole plants of *Hoya parasitica* (Wall. ex Hornem.) Wight", *Natural Product Research* https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2261601.
2. Cuong Viet Hoang, Tan Quang Tu, Lan Thi Ngoc Nguyen, Hung Duc Nguyen, Quan Huu Nguyen, Mau Hoang Chu (2023), "Two New C21 Steroidal Glycosides from the Leaves of Hoya parasitica", *Records of Natural Products*, 17(6), 1046-1051. http://doi.org/10.25135/rnp.419.2307.2831.
3. Phạm Thị Thu Hiền, Nguyễn Thị Thu Hà, Cao Thị Phương Thảo, Nguyễn Thị Ngọc Lan, Từ Quang Tân, Chu Hoàng Mậu (2022), "Đặc điểm hình thái và giải phẫu của cây lan tai cáo (Hoya parasitica Wall. ex Wight.) cây tự nhiên và cây in vitro", *TNU Journal of Science and Technology* 228(01): 401-407.
4. Từ Quang Tân, Phạm Thị Thu Hiền (2023), "Đặc điểm của vùng gene trnL và phân tích sự phát sinh loài Hoya parasitica (Roxb.) Wall. ex Wight", *TNU Journal of Science and Technology* 228(05).
5. Hoàng Việt Cường, Mai Thị Hoàng Anh, Từ Quang Tân, Chu Hoàng Mậu (2022), "Phân tích vùng gene lục lạp, rbcL, phân lập từ cây lan tai cáo (Hoya parasitica (Roxb.) Wall. ex Wight plant", *TNU Journal of Science and Technology* 228(01): 474-481.

5.2. Sản phẩm đào tạo

- Hỗ trợ đào tạo tiến sĩ: NCS hoàn thành báo cáo 01 chuyên đề và công bố 01 bài báo liên quan đến đề tài.

NCS. Hoàng Việt Cường (2023), Hai loại glycoside steroid C_{21} mới phân lập từ lá cây Lan tai cáo (*Hoya parasitica). Chuyên đề nghiên cứu* của NCS.

- Đào tạo thạc sĩ: 03 học viên cao học đã bảo vệ và được cấp bằng thạc sĩ.

1. Mai Thị Hoàng Anh (2023), "*Nghiên cứu đặc điểm của các gene matK, rbcL, ITS và phân tích sự phát sinh loài của Lan tai cáo (Hoya parasitica (Roxb.) Wight)".* Luận văn thạc sĩ sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên.

2. Phạm Thu Hiền (2023), "*Nghiên cứu đặc điểm hình thái, giải phẫu và trình tự gene trnL của cây Lan tai cáo (Hoya parasitica (Roxb.) Wight"***.** Luận văn thạc sĩ sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên.

3. Siphachan Koeduangdee (2023), *"Nghiên cứu nuôi cấy in vitro cây Lan tai cáo (Hoya parasitica (Roxb.) Wight)".* Luận văn thạc sĩ sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên.

5.3. Sản phẩm ứng dụng

- Quy trình nuôi cấy *in vitro* cây Lan tai cáo.

- Quy trình nuôi cấy tạo rễ tơ *in vitro* cây Lan tai cáo.

6. Phương thức chuyển giao, địa chỉ ứng dụng, tác động và lợi ích đem lại của kết quả nghiên cứu

- Kết quả xác định ứng viên mã vạch DNA lục lạp trong định danh loài Lan tai cáo (*H. parasitica*) được chuyển giao cho các cơ sở nghiên cứu và đào tạo để sử dụng trong mục đích nghiên cứu và giảng dạy. Quy trình nhân giống *in vitro* và tạo rễ tơ được chuyển giao cho các cơ sở nghiên cứu bảo tồn cây dược liệu.

- Các phòng thí nghiệm Sinh học và Công nghệ sinh học của các trường đại học thành viên, Viện Khoa học Sự sống, Viện nghiên cứu Lâm nghiệp miền núi thuộc Đại học Thái Nguyên.

- Kết quả của đề tài sẽ tăng cường năng lực nghiên cứu, kỹ năng ứng dụng Công nghệ sinh học hiện đại, cập nhật kiến thức hiện đại cho giảng viên các cơ sở giáo dục đại học liên quan đến Sinh học và Công nghệ sinh học của Đại học Thái Nguyên.

INFORMATION ON RESEARCH RESULTS

1. General information

- Project title: *Research on decoding the chloroplast genome, biological activity and hairy root induction of Hoya parasitica (Roxb.) Wight).*

- Code number: B2022-TNA-22-CT562

- Coordinator: Dr. Tu Quang Tân

- Implementing institution: Thai Nguyen University.

- Duration: 24 months (From January 2022 to December 2023)

2. Objectives

- Determined the structure of the chloroplast genome to establish the DNA barcode of Fox-ear Orchid (*H. parasitica* (Roxb.) Wight);

- Evaluate the antibacterial, antioxidant and cancer cell cytotoxicity of Fox's ear orchids;

- Creating a hairy root line from the fox ear orchid plant.

3. Creativeness and innovativeness

- A chloroplast genome map has been established and some DNA barcodes of Fox's ear orchids have been analyzed to serve the identification of *H. parasitica* species.

- Five new saponins have been identified from Fox Ear Orchids: 1) 3β,20-dihydroxy-pregn-5-ene-3-O-β-D-fucopyranoside-20-O-β-D-glucopyranoside. 2) 3β,20-dihydroxy-pregn-5-ene-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-fucopyranoside-20-O-β -D-glucopyranoside. 3) spirost-(25)27-ene-1β,3β,4α-triol 1-O-α-L-arabinopyranoside spirost-(25)27-ene-1β,3β,4α-triol 1-O-α-L - arabinopyranoside. 4) spirost-25(27)-ene-1β,3β-diol 1-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-xylopyranoside. 5) (25S)-spirost-1β,3β,4α,23,24-pentol 1-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D- Fucopyranoside.

4. Research results

4.1. Analyzed morphological and anatomical characteristics, analyzed some DNA barcodes and sequenced, established a map of the chloroplast genome of Fox's ear orchid.

4.2. Analyzed the chemical composition of Fox's Ear Orchid (H. parasitica) and identified 5 new saponins from Fox's Ear orchid: (1) 3β,20-dihydroxy-pregn-5-ene-3-O-β -D-fucopyranoside-20-O-β-D-glucopyranoside. (2) 3β,20-dihydroxy-pregn-5-ene-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-fucopyranoside-20-O-β -D-glucopyranoside. (3) spirost-(25)27-ene-1β,3β,4α-triol 1-O-α-L-arabinopyranoside spirost-(25)27-ene-1β,3β,4α-triol 1-O-α- L-arabinopyranoside. (4) spirost-25(27)-ene-1β,3β-diol 1-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-xylopyranoside. (5) (25S)-spirost-1β,3β,4α,23,24-pentol 1-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-Fucopyranoside.

4.3. The *in vitro* culture process and the in vitro hairy root production process for fox ear orchids have been developed.

5. Products

5.1. Journal papers

1. Tan Quang Tu, Yen Thi Hai Nguyen, Lan Thi Ngoc Nguyen, Hung Duc Nguyen, Mau Hoang Chu (2023), "Three new minor steroidal glycosides from the whole plants of *Hoya parasitica* (Wall. ex Hornem.) Wight", *Natural Product Research* https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2261601.
2. Cuong Viet Hoang, Tan Quang Tu, Lan Thi Ngoc Nguyen, Hung Duc Nguyen, Quan Huu Nguyen, Mau Hoang Chu (2023), "Two New C21 Steroidal Glycosides from the Leaves of Hoya parasitica", *Records of Natural Products* 17(6), 1046-1051. http://doi.org/10.25135/rnp.419.2307.2831.
3. Pham Thi Thu Hien, Nguyen Thi Thu Ha, Cao Thi Phuong Thao, Nguyen Thi Ngoc Lan, Tu Quang Tan, Chu Hoang Mau (2022), "Morphological and anatomical characteristics of Hoya parasitica Wall. ex Wight.) natural plants and in vitro plants", *TNU Journal of Science and Technology* 228(01): 401-407.
4. Tu Quang Tan, Pham Thi Thu Hien (2023), "Characteristics of the trnL gene region and phylogenetic analysis of Hoya parasitica (Roxb.) Wall. ex Wight", T*NU Journal of Science and Technology* 228 (05).
5. Hoang Viet Cuong, Mai Thi Hoang Anh, Tu Quang Tan, Chu Hoang Mau (2022), "Analysis of the chloroplast gene region, rbcL, isolated from Hoya parasitica (Roxb.) Wall. ex Wight plant", *TNU Journal of Science and Technology* 228(01): 474-481.

5.3. Education

+ *Support for doctoral training:* PhD student completes 01 thematic report and publishes 01 article related to the topic.

NCS. Hoang Viet Cuong (2023), Two new C_{21} steroid glycosides isolated from Hoya parasitica leaves. Research topic of NCS.

+ *Master training:* 03 master's students have defended and been awarded master's degrees.

1. Mai Thi Hoang Anh (2023), "Research on the characteristics of matK, rbcL, ITS genes and phylogenetic analysis of Hoya parasitica (Roxb.) Wight)". Master's thesis in biology, Thai Nguyen University of Educantion.

2. Pham Thu Hien (2023), "Research on morphological characteristics, anatomy and trnL gene sequence of Hoya parasitica (Roxb.) Wight". Master's thesis in biology, Thai Nguyen University of Educantion.

3. Siphachan Koeduangdee (2023), "Research on in vitro culture of Hoya parasitica (Roxb.) Wight)". Master's thesis in biology, Thai Nguyen University of Educantion.

5.4. In terms of application

- In vitro culture process of *Hoya parasitica*.

- In vitro hairy root culture process for *Hoya parasitica.*

6. Transfer alternatives, application institutions, impacts, and benefits of research results

- The results of identifying chloroplast DNA barcode candidates in *H. parasitica* species identification are transferred to research and training facilities for use in research and teaching purposes. The process of in vitro propagation and hairy root generation is transferred to medicinal plant conservation research facilities.

- Biology and Biotechnology laboratories of member universities, Institute of Life Sciences, Mountain Forestry Research Institute of Thai Nguyen University.

- The results of the project will enhance research capacity and application skills of modern biotechnology, and update modern knowledge for lecturers at higher

education institutions related to Biology and Biotechnology. from Thai Nguyen University.