BRIEF REPORT

Purification and Identification of Chemical Constituents of Basidiomycete Daedaleopsis tricolor Collected from Mazandaran Province, Iran

Atefeh Arab Firozjae[1],
Mohammad Azadbakht[2],
Emran Habibi[3]

[1] PhD Student in Pharmacology, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Pharmacognosy and Biotechnology, Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Science, Sari, Iran

(Received January 20, 2020 Accepted Jan 18, 2022)

Abstract

Background and purpose: Mushrooms are natural sources that have antitumoral effects, immunomodulatory and anti-oxidant effects. One of the fungus which remained intact is *Daedaleopsis tricolor* that belongs to the family of Polyporaceae. There are limited phytochemical investigations on other species of this genus, so, we aimed at performing a phytochemical analysis of this fungus.

Materials and methods: Fungal components were extracted by hexane using maceration method. Then, the extract was concentrated under reduced pressure using a rotary evaporator. The concentration extract was subjected to silica gel column chromatography through mobile phases consisting of hexane: ethyl acetate. Three fractions of hexane purified extract were called F3, F2, and F1. They were analyzed by 1H-NMR and 13C-NMR Spectroscopy and DEPT 90 and DEPT 135 experiments.

Results: After analysis and receiving the spectrum results and comparing them with other studies, we identified ergosterol derived compounds, ergosterol peroxide, ergosta-7, 22-dien-3β-ol, and linoleic acid.

Conclusion: The three compounds, including ergosterol peroxide, ergosta-7, 22-dien-3β-ol, and linoleic acid were reported for the first time in this fungus.

Keywords: *daedaleopsis tricolor*, polyporaceae, phytochemistry

J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 31 (205): 89-94 (Persian).

*** Corresponding Author: Emran Habibi -** Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Science, Sari, Iran (E-mail: emrapharm@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.205.1.7]

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و یکم شماره 205 بهمن سال 1400 (94-89)

خالص سازی و شناسایی ترکیبات شیمیایی حاصل از قارچ *Daedaleopsis tricolor* جمع آوری شده ازاستان مازندران

عاطفه عرب فیروزجایی[1]
محمد ازادبخت[2]
عمران حبیبی[3]

چکیده

سابقه و هدف: قارچ‌ها از جمله منابع طبیعی هستند که دارای اثرات ضد سرطان، تعدیل کنندگی سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدان می‌باشند. قارچ *Daedaleopsis tricolor* متعلق به تیره Polyporaceae می‌باشد. با توجه به مطالعات فیتوشیمیایی محدود انجام شده روی سایر گونه‌های این جنس، این آزمایش با هدف بررسی فیتوشیمیایی این قارچ انجام شد.

مواد و روش‌ها: اجزای قارچ به روش خیساندن با هگزان عصاره‌گیری شد. عصاره هگزانی با دستگاه روتاری تغلیظ شد . عصاره تغلیظ شده در ستون‌های کروماتوگرافی حاوی سیلیکاژل بارگذاری شد و با فاز متحرک حاوی هگزان و اتیل استات با نسبت‌های مختلف شستشو داده شد. سه فراکسیون F1، F2 و F3 از عصاره هگزانی تحت آنالیز ^{1}H-NMR، ^{13}C-NMR، $DEPT_{90}$ و $DEPT_{135}$ مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: پس از بررسی و دریافت نتایج حاصل از طیف و مقایسه با مقالات به ترتیب ترکیبات مشتق ارگوسترول شامل ارگوسترول پروکساید، ارگوستا 7 و22 دی ان 3 بتا اول ولینولئیک اسید شناسایی شد.

استنتاج: 3 ترکیب جدا شده مشتق ارگوسترول شامل ارگوسترول پروکساید، ارگوستا 7 و22 دی ان 3 بتا اول و لینولئیک اسید برای اولین بار در این قارچ شناسایی شدند.

واژه های کلیدی: *Daedaleopsis tricolor*، Polyporaceae ، فیتوشیمی

مقدمه

قارچ *Daedaleopsis tricolor* از خانواده Polyporaceae می‌باشد سطح کلاهک آن به صورت نیم دایره همراه با مناطق رنگی مختلف است این قارچ دارای بافت چوبی می‌باشد و روی تنه مرده درختان برگریز رشد می کند(2،1). عصاره این قارچ دارای اثرات آنتی‌میکروبیال و ضد قارچی می‌باشد(2-4). ترکیبات استخراج شده از پیکره میوه‌ای این قارچ دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانتی می‌باشد(5). با توجه به اهمیت روز افزون قارچ‌ها در صنایع داروسازی و غذایی، امروزه توجه ویژه‌ای به این منابع طبیعی شده است. در مطالعه پیش رو فرایند شناسایی و خالص‌سازی ترکیبات شیمیایی قارچ *Daedaleopsis tricolor* انجام شد.

مولف مسئول: عمران حبیبی - ساری: جاده فرح‌آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم (ص)، مرکز تحقیقات علوم دارویی E-mail: emrapharm@yahoo.com

1. دانشجوی دکترای تخصصی فارماکولوژی،کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
2. استاد، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
3. استادیار، گروه فارماکوگنوزی و بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت : 1398/10/30 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1398/11/2 تاریخ تصویب : 1400/10/28

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.205.1.7]

مواد و روش ها

نمونه‌های قارچی در بخش هزارجریب شهرستان نکا و ارتفاع 470 متری از سطح دریا جمع آوری شدند که پس از بررسی با نمونه هرباریومی دانشکده داروسازی ساری به شماره MAZ-B4-0101-001 تطابق داده شد. نمونه های پودر شده قارچی به وزن تقریبی500 گرم توسط حلال هگزان و در دمای آزمایشگاهی به روش خیساندن عصاره‌گیری شد. عصاره‌گیری 3 مرتبه و هر بار به مدت حداقل 48 ساعت انجام شد. عصاره‌ی حاصل توسط دستگاه روتاری در خلا در دمای 37-40درجه تغلیظ شد.وزن کلی عصاره جداشده برابر با 3/8 گرم بود.

مواد و دستگاه ها

معرف آنیز آلدهید شرکتMerck آلمان, اتیل استات، ان-هگزان شرکت ASD و متانول شرکت آرین سینا، سیلیکا ژل مش درشت شرکت Merck با اندازه 0/2 - 0/5 میلی‌متر، سیلیکا ژل مش ریز شرکت Merck با اندازه 0/04 - 0/06 میلی‌متر، روتاری heidolph آلمان، پرکولاتور با حجم 3 لیتری، کاغذ کروماتوگرافی شرکت Merck، H_1-NMR-125 MHz، C_{13}-NMR-400MHz شرکت Bruker .

پس از گرفتن TLC اولیه از عصاره هگزانی، فرایند بارگذاری عصاره در ستون کروماتوگرافی به ابعاد 20×5 سانتی‌متر که با سیلیکاژل پر شده بودآغاز شد. ستون طی چند مرحله با فازمتحرک هگزان: اتیل‌استات به نسبت‌های 19:1 ، 8:2 ، 18:2 ، 7:3 ، 6:4 و در نهایت با متانول شستشو داده شد بعد از TLCگذاری و بررسی مشخصات لکه‌ها ابتدا در زیر نور UV254-365 nm و سپس با استفاده از معرف آنیزآلدهید فراکسیون‌های مشابه جداسازی شدند. سپس فراکسیون‌ها در ستون کروماتوگرافی با ابعاد 40×2 سانتی‌متر بارگذاری شد و با فاز متحرک هگزان: اتیل استات با نسبت‌های 9:1 ، 25 ، 75:2 ، 17 ، 8:2 و7:3 شستشو داده شد. طی این مرحله، پس از ادغام کردن نمونه‌های مشابه ترکیب F2 به وزن 20 میلی‌گرم و دارای لکه بارزی به رنگ صورتی پررنگ مایل به قرمز که واجد جذب 254 ولی فاقد جذب 365 نانومتر بود جداسازی شد. فراکسیون دیگر در ستون کروماتوگرافی با ابعاد 40×2 سانتی‌متر بارگذاری و پس از TLC گذاری فاز متحرک با نسبت هگزان: اتیل استات شامل 17:3 ، 16:4 عبور داده شد. پس از ادغام فراکسیون‌هایی که الگوی TLC مشابه داشتند نمونه حاوی ماده خالص کریستالی سفید رنگ به وزن 40 میلی‌گرم که به‌صورت لکه سیاه رنگ بارز با Rf خیلی کم که فقط درnm 254 جذب داشت به دست آمد. این ماده خالص نمونه F3 نامیده شد. یکی از فراکسیون‌ها که لکه صورتی کمرنگ با Rf بیش‌تر نسبت به فراکسیون F2 به همراه مقداری ناخالصی بود در بورت به طول 25 سانتی‌متر و عرض 1 سانتی‌متر که با سیلیکاژل مش ریز (0/04-0/06 میلی‌متر) پر شده بود با فاز متحرک هگزان به اتیل استات 9:1 ، 8:2 شستشو داده و در نهایت ماده خالص F1 با وزن19 میلی‌گرم با لکه TLC رنگ صورتی کمرنگ و جذب 254 نانومتر جدا شد.

یافته ها و بحث

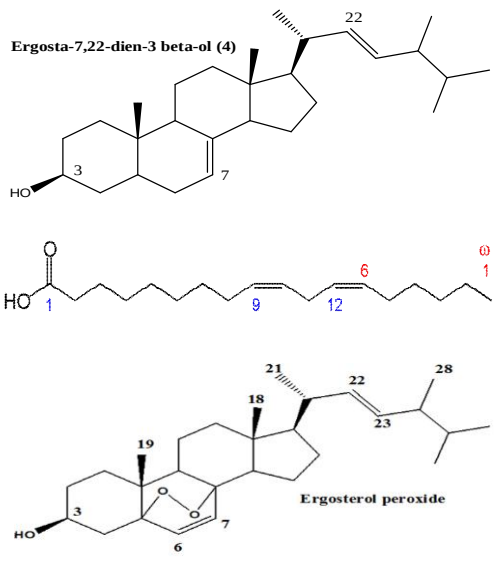
سه فراکسیون F1,F2 و F3 از عصاره هگزانی تحت آنالیز ^{1}H-NMR، ^{13}C-NMR، $DEPT_{90}$ و $DEPT_{135}$ قرار گرفتند که پس از بررسی طیف‌ها و مقایسه با مقالات به ترتیب ترکیبات مشتق ارگوسترول شامل ارگوسترول پروکساید، ارگوستا 7و22دی ان 3 بتا اول ولینولئیک اسید شناسایی شدند(6). طیف پروتون ترکیبات F1، F2 وf3 در کلرفرم دوتره (CDCL3) تهیه شد. در طیف کربن نمونه‌های F2، F3 تعداد 28 کربن وترکیب F1، 18 کربن ثبت شد (جدول شماره 1) در طیف DEPT 90 کربن‌هایی که به‌صورت CH می‌باشند دیده شد. در طیف $DEPT_{135}$. گروه‌های CH2 به صورت منفی و گروه‌های CH3 وCH به صورت مثبت ظاهر می‌شود.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.205.1.7]

جدول شماره 1: مشخصات طیف NMR ترکیباتF1,F2,F3

δc(in ppm)			δH(in ppm). (J in Hz)			position
F3	F2	F1	F3	F2	F1	
34/70	37/11	180	-	-	-	1
30/08	31/44	34/9	-	-	2/357 , t, 1 H	2
66/44	71/06	24/9	4 ,m	3/61 , m,1H	-	3
36/97	37/96	29/2	-	-	1/321 , m,14 H	4
82/18	40/22	29	-	-	-	5
135/44	29/61	29	6/25 ,d, 8/4	-	-	6
130/73	117/44	29	6/5 ,d, 8/4	5/2 , m, 1H	-	7
79/44	139/54	28/7	-	-	-	8
51/09	49/4	129/9	-	-	5/368 ,m,4 H	9
36/97	34/18	128/6	-	-	5/368 ,m,4 H	10
23/41	21/52	25/8	-	-	-	11
39/35	39/42	128/6	-	-	5/368 ,m,4 H	12
44/57	43/27	129/9	-	-	5/368 ,m,4 H	13
51/68	55/91	28/7		-	-	14
20/64	22/91	29		-	-	15
28/66	28/1	31/6		-	-	16
56/20	55/07	22/6		-	-	17
12/97	12/07	14	0/87 , s	0/55, s, 3H	0.9 , t,3H	18
18/77	13/03		0/8 , s	0/80 , s,3H		19
39/75	40/49		-	-		20
20/89	19/63		6/8 ,d, 1/00	1/02, d, J = 6/5 , 3H		21
135/21	131/85		5/2 ,m	5/2 ,m,1H		22
132/31	135/65		5/2 ,m	5/2 ,m,1H		23
42/78	42/78		-	-		24
33/07	33/06		-	-		25
19/96	19/93		0/85 ,d, 6/4	0/84 , d, J = 7, 3H		26
19/65	21/08		0/83 ,d, 6/4	0/82 , d, J = 7, 3H		27
17/57	17/58		0/93 ,d, 6/8	0/91 , d, J = 7, 3H		28

گروه‌های CH_3را نیز می‌توان در این طیف با توجه به طیف $DEPT_{90}$ شناسایی کرد. کربن‌های نوع چهار نیز در طیف Cبه صورت پیک‌های ضعیفی ظاهر می‌گردند که در $DEPT_{135}$ قابل شناسایی نیستند. در طیف کربن ترکیب ارگوستا 7و22 دی ان 3 بتا اول (فراکسیون F2) پیک‌های δ=139/54 ppm و δ=177/44 ppm به‌ترتیب مربوط به باند دوگانه میان کربن‌های 8 و 7 و همچنین پیک‌های 135/65 ppm و 131/85 ppm به‌ترتیب مربوط به باند دوگانه میان کربن‌های 22 و 23 نیز در ناحیه اتیلنی مشاهده شد. کربن 3 که محل اتصال گروه هیدروکسیل به ساختمان می‌باشد و دانسیته الکترونی آن کاهش یافته و در میدان ضعیف‌تری دیده می‌شود، سبب ظاهر شدن پیک در ناحیه δ= 71/06pp شد(6). در طیف DEPT 90 ترکیب F1(لینولئیک اسید)کربن‌هایی که به‌صورت CH می‌باشند دیده شد. در DEPT135 پیک کربن‌ها همه به‌صورت وارون هستند پس همگیCH_2 می‌باشند. باتوجه به نتایج حاصل از طیف‌ها و مقایسه با مطالعات گذشته ساختمان لینولئیک اسید برای F1، ترکیب ارگوستا 7و22 دی ان 3 بتا اول برای F2 و ارگوسترول پروکساید برای F3 پیشنهاد می‌شود (تصویر شماره 1) (11-6).



تصویر شماره 1: ساختار شیمیایی ترکیبات

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.205.1.7]

در مطالعات متعددی اثرات ضد سرطانی، آنتی‌اکسیدان و مهار آنزیم توپوایزومراز-1 برای مشتقات ارگوسترول به اثبات رسیده است(16-12). ترکیب ارگوستا-7 و 22-دی ان-3 بتا- اول دارای اثر ضد باکتری علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد(18،17). لینولییک اسید دارای اثرات ضد آتروسکلروزیس و تقویت سیستم ایمنی و کاهنده چربی می‌باشد(19). لینولییک اسید جدا شده از قارچ *Agaricus brasiliensis* دارای اثر ضد التهابی می‌باشد(21،20). براساس مطالعات گذشته قارچ *Daedaleopsis tricolor* دارای اثرات آنتی‌میکروبیال، ضد قارچی و هم‌چنین آنتی‌اکسیدان می‌باشد(5-2). بنابراین پیشنهاد می‌شود مطالعات آزمایشگاهی و بالینی بیشتری روی ترکیبات جدا شده از عصاره این قارچ انجام گیرد.

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل پایان‌نامه دوره ی دکترای عمومی داروسازی خانم عاطفه عرب فیروزجایی با کد طرح تحقیقاتی به شماره 2154 می‌باشد.

References

1. Koukol O, Kotlaba F, Pouzar Z. Taxonomic evaluation of the polypore Daedaleopsis tricolor based on morphology and molecular data. Czech Mycology 2014; 66(2): 107-119.
2. Yang XY, Feng T, Ding JH, Li ZH, Li Y, Fan QY, et al. Two new drimane sesquiterpenoids from cultures of the basidiomycete Trichaptum biforme. Natural Products and Bioprospecting 2013; 3(4): 154-157.
3. Kim EM, Jeong HR, Min TJ. Purification, Structure Determination and Biological Activities of 20 (29)-lupen-3-one from Daedaleopsis tricolor (Bull. ex Fr.) Bond. et Sing. Bulletin of the Korean Chemical Society 2001; 22(1): 59-62.
4. un-Bin X, ZHANG LE-WDG, Zhi-He X-QY. The antifungal components from Daedaleopsis tricolor. Mycosystema 2007; 26(4):565-569.
5. Ćilerdžić JL, Stajić MM, Milovanović IN, Galić MM, Vukojević JB. Antioxidative potential of Daedaleopsis tricolor basidiocarps and mycelium. Matica Srpska Journal for Natural Sciences 2017; 132: 19-27.
6. Habibi E, Sadat-Ebrahimi SE, Mousazadeh SA, Amanzadeh Y. Mycochemical investigation of the turkey tail medicinal mushroom Trametes versicolor (higher basidiomycetes): A potential application of the isolated compounds in documented pharmacological studies. Int J Med Mushrooms 2015; 17(3): 255-265.
7. Kobori M, Yoshida M, Ohnishi-Kameyama M, Takei T, Shinmoto H. 5α, 8α-Epidioxy-22E-ergosta-6, 9 (11), 22-trien-3β-ol from an edible mushroom suppresses growth of HL60 leukemia and HT29 colon adenocarcinoma cells. Biol Pharm Bull 2006; 29(4): 755-759.
8. Kahlos K, Kangas L, Hiltunen R. Ergosterol peroxide, an active compound from Inonotus radiatus. Planta Med 1989; 55(4): 389-390.
9. Kim DS, Baek NI, Oh SR, Jung KY, Kim JH, Lee HK. Anticomplementary activity of ergosterol peroxide from Naematoloma fasciculare and reassignment of NMR data. Arch Pharm Res 1997; 20(3): 201-205.
10. Russo A, Cardile V, Piovano M, Caggia S, Espinoza C, Garbarino J. Pro-apoptotic activity of ergosterol peroxide and (22E)-ergosta-7, 22-dien-5α-hydroxy-3, 6-dione in human prostate cancer cells. Chemico-Biological Interactions 2010; 184(3): 352-358.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.205.1.7]

11. Takei T, Yoshida M, Ohnishi-Kameyama M, Kobori M. Ergosterol peroxide, an apoptosis-inducing component isolated from Sarcodon aspratus (Berk.) S. Ito. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 2005; 69(1): 212-215.
12. Kobori M, Yoshida M, Ohnishi□Kameyama M, Shinmoto H. Ergosterol peroxide from an edible mushroom suppresses inflammatory responses in RAW264. 7 macrophages and growth of HT29 colon adenocarcinoma cells. Br J Pharmacol 2007; 150(2): 209-219.
13. Akihisa T, Nakamura Y, Tagata M, Tokuda H, Yasukawa K, Uchiyama E, et al. Anti-inflammatory and anti-tumor-promoting effects of triterpene acids and sterols from the fungus Ganoderma lucidum. Chem Biodivers 2007; 4(2): 224--231.
14. Yasukawa K, Akihisa T, Kanno H, Kaminaga T, Izumida M, Sakoh T, et al. Inhibitory effects of sterols isolated from Chlorella vulgaris on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced inflammation and tumor promotion in mouse skin. Biol Pharm Bull 1996; 19(4): 573-576.
15. Ma L, Chen H, Dong P, Lu X. Anti-inflammatory and anticancer activities of extracts and compounds from the mushroom Inonotus obliquus. Food Chem 2013; 139(1-4): 503-508.
16. Chao WW, Kuo YH, Lin BF. Anti-inflammatory activity of new compounds from Andrographis paniculata by NF-κB transactivation inhibition. J Agric Food Chem 2010; 58(4): 2505-2512.
17. Keller AC, Maillard MP, Hostettmann K. Antimicrobial steroids from the fungus Fomitopsis pinicola. Phytochemistry 1996; 41(4): 1041-1046.
18. Smania Jr A, Monache FD, Smania EdFA, Cuneo RS. Antibacterial activity of steroidal compounds isolated from Ganoderma applanatum(Pers.)Pat.(Aphyllophoromycetideae) fruit body. International Journal of Medicinal Mushrooms 1999; 1(4): 325-330.
19. Pariza MW, Park Y, Cook M. Mechanisms of Action of Conjugated Linoleic Acid: Evidence and Speculation. Proc Soc Exp Biol Med 2000; 223(1): 8-13.
20. Saiki P, Kawano Y, Van Griensven LJ, Miyazaki K. The anti-inflammatory effect of Agaricus brasiliensis is partly due to its linoleic acid content. Food & Function 2017; 8(11): 4150-4158.
21. Nicolosi R, Rogers E, Kritchevsky D, Scimeca J, Huth P. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. Artery 1997; 22(5): 266-277.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.205.1.7]