مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره یازدهم، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۱، ۶۶-۵۵

بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و اندازه‌گیری ترکیبات فنلی عصاره‌های جزئی قارچ دارویی *Phellinus torulosus* از ایران

فریبا حکم‌اللهی[1]، حسن رفعتی[2]، حسین ریاحی[3]، محمدحسین حکیمی[4]، هاجر حیدری[5]، فاطمه حقیرالسادات[6]، مصطفی عظیم‌زاده[7]، عبدالرضا فروتن[8]، سعیدعلی موسی‌زاده[9]

دریافت مقاله: ۸۹/۱۰/۱ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۹/۱۲/۲۳ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۰/۱/۷ پذیرش مقاله: ۹۰/۱/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: قارچ *Phellinus* که انتشار گسترده‌ای در دنیا دارد متعلق به خانواده *Hymenochaetacea* با بیش از ۳۵۹ گونه با خواص دارویی مختلف می‌باشد. مطالعه حاضر با توجه به اهمیت موضوع و کمبود تحقیقات پیرامون گونه‌های *Phellinus* ایرانی انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه آزمایشگاهی در تابستان و پاییز سال ۱۳۸۷ جمع‌آوری و شناسایی گونه مذکور با استفاده از خصوصیات ماکرومورفولوژیکی و میکرومورفولوژیکی، روابط میزبانی، پراکنش انجام گرفت. سپس عصاره‌گیری، جهت بررسی خواص آنتی‌اکسیدانتی عصاره متانولی تام و عصاره‌های فرکشنی (کلروفورمی، بوتانولی و آبی) آن به دو روش تخریب رادیکالهای آزاد DPPH و قدرت آنتی‌اکسیدانتی کاهش یون‌های فریک (Ferric reducing antioxidant power) انجام شد. همچنین مقدار کل ترکیبات فنولی به روش Folin-Ciocalteu سنجیده شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد که در هر دو آزمون آنتی‌اکسیدانتی، عصاره متانولی تام و به خصوص جزء بوتانولی آن فعالیت قابل‌ملاحظه‌ای در تخریب رادیکال‌های آزاد و کاهش یون‌های فریک داشته است. غلظت‌های مؤثر از عصاره‌های مختلف (متانولی تام، کلروفورمی، بوتانولی و آبی) که ۵۰٪ رادیکال‌های آزاد را تخریب می‌کنند (IC_{50})، به ترتیب ۳۰/۸۷±۰/۸۳، ۸۷/۲۲±۷/۹۲، ۱۱/۹۸±۰/۷۴ و ۲۲۹/۶۷±۲/۷۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان‌دهنده خواص آنتی‌اکسیدانی قوی عصاره‌های مختلف به ویژه عصاره بوتانولی قارچ دارویی *Phellinus torulosus* می‌باشند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی این قارچ با توجه به سهولت دسترسی و همچنین هزینه بسیار پایین‌تر در مقایسه با سایر منابع طبیعی و مصنوعی موجود برای مواد آنتی‌اکسیدانی، قابل‌توجه بوده و توجیه اقتصادی چشم‌گیری دارد.

واژه‌های کلیدی: *Phellinus*، خواص آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنولی، قارچ‌های دارویی، بومی ایران

1-(نویسنده مسئول)کارشناسی ارشد گروه آموزشی سیستماتیک گیاهی، دانشگاه شهید بهشتی تهران
تلفن: ۸۲۴۶۸۷۲-۰۳۵۱، دورنگار: ۲۲۴۳۱۶۶۴-۰۲۱، پست الکترونیکی: Fariba_Hokmollahi@yahoo.com
2- استادیار گروه آموزشی مهندسی شیمی، پژوهشکده گیاهان دارویی، دانشگاه شهید بهشتی تهران
3- استاد گروه آموزشی دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی تهران
4- استاد گروه آموزشی دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد
5- کارشناسی ارشد گروه آموزشی شیمی گیاهی، پژوهشکده گیاهان دارویی، دانشگاه شهید بهشتی تهران
6- کارشناسی ارشد گروه آموزشی فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه شهید بهشتی
7- کارشناسی ارشد گروه آموزشی اصلاح نباتات، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه تهران
8- دکتری گروه آموزشی قارچ شناسی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران
9- کارشناسی ارشد گروه آموزشی سیستماتیک گیاهی، موسسه تحقیقات جنگل و مرتع پاسند مازندران

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-01-02]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.1.3.0]

مقدمه

مهم‌ترین اثر دارویی قارچ‌ها و متابولیت‌های آنها که توجه زیادی را به خود جلب کرده است، خاصیت ضدسرطانی آنهاست. اولین بار Lucas و همکاران در سال ۱۹۵۷ خاصیت ضدسرطانی قارچ‌های بازیدیومیست را نشان دادند [۱]. داروهای با منشاء قارچی مثل پنی‌سیلین، گریزئوفولین، آلکالوئیدهای ارگوت و سیکلوسپورین و هم‌چنین داروهای ضدسرطان با منشاء قارچی مثل کریستین، لنتینان و Scizophyllan ترکیب‌های مشتق شده از قارچ‌ها هستند که برخی از آن‌ها قبل یا در طول شیمی‌درمانی به طور مؤثری اثرات جانبی این درمان‌ها را کاهش و اثر شیمی‌درمانی را افزایش می‌دهند [۲]. علاوه بر این، ترکیبات آنتی‌اکسیدان مختلفی از قارچ‌های دارویی جدا شده‌اند. سه متابولیت به نام‌های interfungins A, B C و که انواعی از ترکیبات رده hispidin را تولید می‌کنند، از عصاره قارچ Inonotus xeranticus (Hymenochaetaceae) به دست آمده‌اند [۳]. گونه‌های Phellinus به طور سنتی به عنوان دارو برای درمان انواع بیماری‌ها در چندین کشور آسیایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در مطالعه‌ای، عصاره‌های قارچ Phellinus gilvus جهت فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطان و همچنین اثرات عصاره آبی داغ آن روی ایمنی سلولی موش‌ها توسط Chang و همکاران مورد بررسی قرار گرفت، نتایج تحقیق نشان داد که عصاره‌های این قارچ به طور قابل ملاحظه‌ای توده‌های سرطانی را مهار می‌کنند. پیش تیمار با عصاره آبی P. gilvus می‌تواند افزایش میزان کل گلبول‌های سفید خون و افزایش نوتروفیل‌ها را مهار کند و ممکن است باعث جلوگیری از التهاب ریوی حاد بیماران بشود. در پژوهش‌های دیگری گزارش شده است که P. gilvus می‌تواند اثرات کاهش آبسه و چسبیدگی در مدل التهاب صفاق موش و همچنین اثرات بهبود زخم‌های پوستی در استفاده‌های پزشکی را داشته باشد. بنابراین P. gilvus فعالیت‌های ضدسرطان وآنتی‌اکسیدان دارد و همچنین عصاره آبی داغ این قارچ باعث افزایش تکثیر سلول‌های طحال و فاگوسیتوز ماکروفاژها می‌شود [۴].

اثرات آنتی‌اکسیدانی قارچ‌های Phellinus rimosus و *Phellinus baumii* نیز نشان داده شده است [۶-۵، ۲]. هم اکنون بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از انواعی از مواد گیاهی متفاوت مثل بذرهای روغنی، محصولات حبوبات (غله) و گیاهان معطر و دارویی حاصل می‌شوند. اثرات آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنول‌ها در بسیاری سیستم‌ها از مطالعات *in vitro* نشان داده شده است. توانایی ترکیب‌های فنولی برای کلات کردن و کاهش Fe^{3+} بسیار اهمیت دارد و کاربردهای مهمی در صنایع غذایی و دارویی دارند. البته مطالعات بیشتری در مورد ترکیبات فنولی خالص و اثرهای آنتی‌اکسیدانی و سازوکار اثر آنها در سیستم‌های زنده توصیه می‌شود [۷]. در بسیاری از موارد فنول‌ها و پلی‌فنول‌ها در فعالیت آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی دارا می‌باشند، به عنوان مثال دو ترکیب پلی‌فنولی Phelligridimer A و Inoscavin A از این گروه از قارچ‌ها جدا شده‌اند [۸]. با توجه به گرایش روز افزون بشر به درمان توسط مواد طبیعی، قارچ‌ها می‌توانند منبعی مناسب برای تأمین این خواسته باشند. تأثیر بالا، هزینه پایین و سهولت استفاده درتهیه و مصرف قارچ‌ها از مزایای آنها در درمان به شمار می‌رود.

در سال‌های اخیر جمع‌آوری اطلاعات و تحقیق در زمینه قارچ‌های دارویی در ایران پیشرفت چشمگیری داشته است، از جمله این تحقیقات می‌توان به گزارش و معرفی

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-01-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.1.3.0]

بزرگ‌ترین قارچ خوراکی با خاصیت دارویی در مراتع ییلاقی استان مازندران [۹]، کشت برخی از قارچ‌های دارویی (شیتاگه، گنودرما لوسیدم، هریسیوم و پلوروتوس ارینگی) [۱۰]، شناسایی قارچ کنودرما لوسیدم (*Basidiomycota*) از ایران و بررسی خواص ضدباکتریایی آن [۱۲-۱۱] و همچنین شناسایی و کشت قارچ‌های دارویی *Phellinus* و بررسی برخی از خواص ضدباکتریایی آنها اشاره کرد [۱۴-۱۳].

انگیزه جمع‌آوری و شناسایی قارچ *Phellinus torulosus*، اهمیت دارویی این قارچ و نیز کمبود تحقیقات و اطلاعات در زمینه شناسایی و بررسی فعالیت‌های بیولوژیکی به ویژه، آنتی‌اکسیدانی آن نه تنها در کشورمان ایران، بلکه در دنیا بوده است، که زمینه بررسی‌های گسترده‌ای را در ابعاد مختلف در ارتباط با این گروه از قارچ‌های دارویی فراهم می‌آورد. قارچ دارویی *P. torulosu* اثر سم زدایی دارد و همچنین جهت استفاده در درمان بیماری‌های کم‌خونی در طب سنتی چین مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۵]، اما در مورد خواص آنتی‌اکسیدانی آن، طبق تحقیق نویسندگان، تاکنون پژوهشی گزارش نگردیده است.

هدف از این تحقیق، جمع‌آوری و شناسایی قارچ دارویی Phellinus torulosus از زیستگاه‌های طبیعی آن در مناطق شمالی ایران و بررسی خواص آنتی‌اکسیدان آن بوده است، همچنین برای درک بهتر علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی این قارچ، مقدار مواد فنولی (ترکیبات آنتی‌اکسیدانت) نیز ارزیابی گردید.

مواد و روش‌ها

جمع آوری و شناسایی قارچ دارویی Phellinus torulosus: به منظور انجام مطالعه پژوهشی- کاربردی، نمونه‌های مختلف این قارچ در تابستان و پائیز سال ۱۳۸۷ از شهرهای شمالی ایران (از جمله بهشهر، ساری، عباس‌آباد و نور) از روی گیاه میزبان یعنی درخت انجیلی (Parrotia persica) که یکی از گیاهان انحصاری کشور ایران می‌باشد، جمع‌آوری شدند. در هر مرحله نمونه‌ها به آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشگاه شهید بهشتی منتقل و پس از کدگذاری در پاکت‌های کاغذی گذاشته شدند و مورد شناسایی قرار گرفتند. بررسی‌های صورت گرفته بر روی نمونه‌ها به ترتیب عبارتند از: ۱- شناسایی گونه‌ها با استفاده از ویژگی‌های ماکرومورفولوژیکی و میکرومورفولوژی فروتینگ‌بادی، ۲- تعیین نقاط پراکندگی، ۳- نام میزبان ۴- اطلاعات هرباریومی نمونه‌ها و ۵- کد هرباریومی آنها. جهت شناسایی نمونه‌ها، ویژگی‌های ماکرومورفولوژیکی و میکرومورفولوژیکی فروتینگ‌بادی مورد بررسی قرار گرفتند. کلیه ویژگی‌های مورد بررسی در نمونه‌ها با کلیدهای شناسایی (Natarajan & Kolandavelu, 2001 و Larsen & Cobb– Pulle, 1990) و همچنین با پایگاه داده Cbs Aphyllophorales (به نشانی اینترنتی: www.cbs.knaw.nl/databases/) تطبیق گردید و نمونه‌ها شناسایی شدند [۱۷-۱۶].

عصاره‌گیری از فروتینگ بادی گونه P. torulosus: به منظور تهیه عصاره‌متانولی تام و عصاره‌های با قطبیت متفاوت، بر روی ۹۰ گرم از قارچ پودر شده با دستگاه مخلوط‌کن (Blender) مقدار ۸۰۰ میلی‌لیتر متانول ۷۵٪ ریخته شد و به مدت ۴۸ ساعت در یک ظرف در بسته در دمای آزمایشگاه نگه‌داری گردید. سپس عصاره حاصل صاف شده و به وسیله دستگاه تبخیرکننده دوار (Rotary Evaporator) در فشار کاهش یافته در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گردید تا عصاره متانولی به دست آید.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-01-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.1.3.0]

مقداری از عصاره متانولی خشک برای تهیه عصاره متانولی کنار گذاشته شد و بخش اعظمی از عصاره متانولی خشک در ۶۰ میلی‌لیتر آب حل شده و طی ۳ بار استخراج و هر بار با اضافه کردن ۲۰ میلی‌لیتر کلروفرم، برش کلروفورمی به دست آمد. برای بدست آوردن برش بوتانولی، مقدار ۶۰ میلی‌لیتر n– بوتانول طی ۳ مرتبه (۲۰×۳ میلی‌لیتر) به بخش آبی باقی‌مانده اضافه شد. به بخش آبی باقی‌مانده پس از دو استخراج، برش آبی اطلاق شده و کلیه عصاره‌ها پس از تغلیظ با غلظت ۰/۱ گرم بر میلی‌لیتر در حلال Dimethyl Sulfoxide (DMSO) (به استثنای برش آبی که در آب حل شد) برای انجام آزمایش‌های آنتی‌اکسیدان مورد استفاده قرار گرفتند. جهت ساختن عصاره‌های یکنواخت و کاملاً محلول، دستگاه حمام سونیک مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

روش DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil): اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی (Radical Scavenging Capacity) به کمک DPPH (۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) مورد ارزیابی قرار گرفت. DPPH، ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختارش به راحتی به صورت رادیکال در آمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می‌باشد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی‌اکسیدان، از رنگ بنفش به سمت زرد تغییر رنگ می‌دهد. رادیکال‌های آزاد موجود در DPPH، در ۵۱۷ نانومتر جذب دارند که از قانون بیر-لامبرت پیروی می‌کنند و کاهش جذب آن با میزان ماده آنتی‌اکسیدان رابطه خطی دارد. هر چه بر مقدار ماده آنتی‌اکسیدان افزوده شود، DPPH بیشتری مصرف شده و رنگ بنفش بیشتر به سمت زرد میل می‌کند. در این روش برای مقایسه اثر آنتی‌اکسیدان عصاره‌ها از بوتیل هیدروکسی تولوئن [BHT (tert-Butylated hydroxytoluene= BHT)] استفاده شد. نمونه‌ها با غلظت‌های متفاوت با یک میلی‌لیتر از محلول ۹۰ میکرومولار DPPH مخلوط شدند و به وسیله متانول ۹۵٪ به حجم ۴ میلی‌لیتر رسیدند و برای مدت زمان ۶۰ دقیقه در تاریکی تکان داده شدند. جذب محلول‌های حاصله و شاهد (حاوی مواد شیمیایی یکسان، به جز نمونه) بعد از این مدت زمان، در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. درصد RSC بوسیله فرمول زیر محاسبه گردید:

$$RSC\ (\%) = 100 \times (A_{blank} - A_{sample}/A_{blank})$$

در این فرمول A_{blank} و A_{sample}، به ترتیب میزان جذب شاهد و نمونه می‌باشند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت مقدار IC_{50}، (Express the concentration of the extract causes 50% inhibition) نشان‌دهنده غلظتی از ترکیب است که باعث ۵۰٪ بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌گردد. این مقدار به وسیله آنالیز همبستگی خطی به دست آمده از مقادیر RSC در غلظت‌های مختلف نمونه تعیین شد. همان‌طور که گفته شد، نتایج به دست آمده با مقدار IC_{50} آنتی‌اکسیدان BHT به عنوان کنترل مثبت مقایسه گردید [۱۹-۱۸].

روش FRAP (Ferric reducing antioxidant power): روش FRAP (قدرت آنتی‌اکسیدانی کاهش یون‌های فریک)، بر اساس کاهش Fe^{3+}-TPTZ (Tripyridyltriazine) زرد رنگ به Fe^{2+}-TPTZ آبی رنگ می‌باشد. برای تهیه محلول FRAP، ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر استات (۳۰ میلی مول، ph=۳/۶)، ۱۰ میلی‌لیتر TPTZ (۱۰ میلی‌مول در ۴۰ میلی‌مول اسیدکلریدریک) و ۱۰

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-01-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.1.3.0]

میلی‌لیتر $Fecl_3$ ۲۰ میلی‌مول) یعنی به نسبت ۱ :۱ :۱۰ مخلوط می‌کنیم، این واکنشگر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به صورت تازه (fresh) تهیه می‌گردد. در غیر این صورت تغییر رنگ داده و کدر می‌شود. در این آزمایش، واکنشگر حاوی Fe^{3+} و TPTZ است که با افزایش غلظت آنتی‌اکسیدان کمپلکس Fe^{3+} و TPTZ تشکیل می‌شود و رنگ زرد محلول به رنگ آبی تغییر پیدا می‌کند و هر چه آنتی‌اکسیدان قوی‌تر باشد میزان کاهش Fe^{3+} به Fe^{2+} بیشتر می‌شود و کمپلکس $[Fe^{2+}(TPTZ)_2]^{2+}$ بیشتری ایجاد می‌شود و رنگ محلول آبی‌تر می‌شود.

برای انجام این آزمایش ۲ میلی‌لیتر از محلول FRAP به غلظت‌های مختلف از نمونه‌ها افزوده و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. سپس جذب محلول‌های حاصل در طول موج ۵۹۳ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. در این آزمایش، نتایج بر حسب میکرومول آهن بر گرم خشک عصاره محاسبه و گزارش داده می‌شود. قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از رسم منحنی استاندارد FeSO4.7H2O بررسی می‌شود.

بدین ترتیب که نمودار جذب بر حسب غلظت‌های مختلف از عصاره‌های مختلف رسم گردید، سپس مقدار عصاره بر حسب میکرولیتر در یک غلظت مشخص (غلظتی که جذب آن در محدوده جذبی منحنی کالیبراسیون قرار گیرد (۲-۰) به گرم تبدیل گردید. غلظت مورد نظر از عصاره در معادله جذبی همان عصاره قرار داده می‌شود و میزان جذب عصاره مورد نظر به دست می‌آید و پس از آن، در معادله جذبی آهن قرار داده می‌شود تا غلظت معادل آهن به دست آید [۷].

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی: عموماً برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی (TPC) از روش Folin-Ciocalteu استفاده می‌شود. برای این منظور مقدار ۰/۴ گرم گالیک‌اسید خشک در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ حل شد و سپس با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید. بدین ترتیب محلول مادر تهیه شد، که برای رسم منحنی کالیبراسیون مقادیر ۰، ۱، ۲، ۳، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌لیتر از محلول مذکور به بالن‌های ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل و هر یک با آب مقطر به حجم رسید. این محلول‌ها به ترتیب دارای غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گالیک‌اسید بودند. در این آزمایش ۲۰ میکرولیتر از عصاره‌های مختلف قارچ‌ها با غلظت ۱۰ گرم بر لیتر، با ۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر از معرف Folin-Ciocalteu مخلوط شد. بعد از ۳ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر از محلول Na_2CO_3 (۷٪) به آنها اضافه شد و محلول‌ها به مدت ۲ ساعت تکان داده شدند.

نهایتاً جذب محلول‌ها در ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گالیک‌اسید محاسبه شد. پس از رسم منحنی کالیبراسیون گالیک اسید، معادله خطی منحنی به دست می‌آید که با قرار دادن مقادیر جذب به دست آمده از عصاره‌ها در این معادله می‌توان غلظت معادل گالیک‌اسید از عصاره‌ها را محاسبه کرد. غلظت به دست آمده بر حسب ppm می‌باشد. پس از تبدیل ppm به میلی‌گرم گالیک‌اسید، نتیجه نهایی بر حسب میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم خشک عصاره گزارش می‌شود [۲۰].

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-01-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.1.3.0]

آنالیز آماری

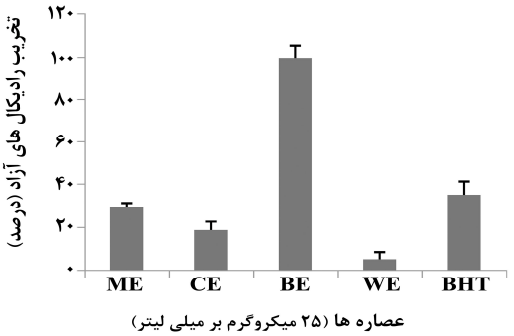
داده‌ها با استفاده از آزمون‌های کلوموگروف-اسمیرنوف و آنالیز واریانس (برای سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی) تجزیه و تحلیل شدند. همچنین آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SAS (Statistical Analysis System., SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA) انجام گرفت.

نتایج

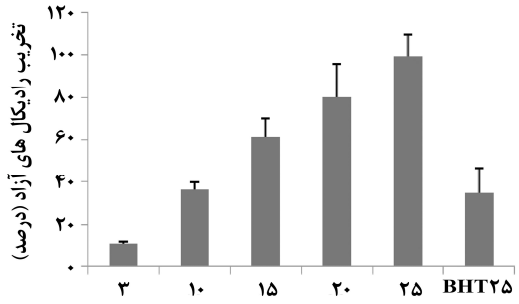
شناسایی جنس و گونه قارچ مورد نظر: با استفاده از روش‌های شناسایی مرسوم و نظر اساتید محترم در این زمینه از جنس و گونه قارچ مورد نظر اطمینان حاصل شد و نمونه قارچی جهت تصدیق به کشور فنلاند فرستاده شد، در نهایت کد هرباریومی SBU H 2009 114 برای این قارچ در نظر گرفته شد (شکل ۱).

شکل ۱- قارچ Phellinus torulosus روی گیاه میزبان، درخت انجیلی (Parrotia persica)

نتایج بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی به روش تخریب رادیکال‌های آزاد DPPH: به منظور بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدان این قارچ، عصاره تام متانولی (ME) و سه برش با قطبیت‌های متفاوت از این عصاره تهیه شدند. این سه برش عبارت بودند از برش کلروفورمی (CE)، برش بوتانولی (BE)، و برش آبی (WE) که به وسیله معرف DPPH مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج به دست آمده به همراه ۳ بار تکرار در نمودارهای ۱ و ۲ و همچنین در جدول ۱ آمده است.



نمودار ۱- میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف قارچ P. torulosus در آزمایش تخریب رادیکال‌های DPPH

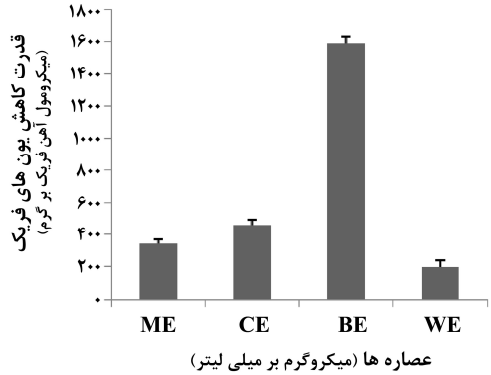


نمودار ۲- میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مقادیر مختلف عصاره بوتانولی قارچ P. torulosus در آزمایش تخریب رادیکال‌های DPPH

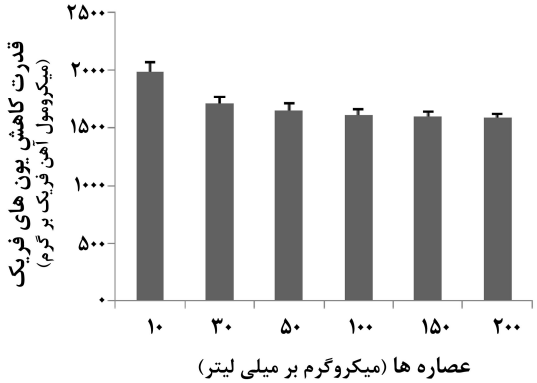
نتایج بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی به روش کاهش یون‌های فریک (Ferric Reducing Antioxidant Power): به منظور بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدان به روش کاهش یون‌های فریک، عصاره تام متانولی (ME) و سه برش با قطبیت‌های متفاوت از این عصاره، یعنی برش کلروفورمی (CE)، برش بوتانولی (BE)، و برش آبی (WE) جهت آزمایش FRAP مورد استفاده قرار گرفتند و پس از

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-01-02]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.1.3.0]

قرار دادن میزان جذب نمونه‌ها در معادلـه $FeSO_4$ غلظـت معادل آهن از عصاره‌ها به دست آمد. نتایج بدست آمده به همراه ۳ بـار تکـرار در نمـودارهـای ۳ و ۴ و همچنـین در جدول ۱ آمده است.



نمودار ۳- :میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف قارچ P. torulosus در آزمایش قدرت آنتی‌اکسیدانی کاهش یون‌های فریک



نمودار ۴- میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مقادیر متفاوت از عصاره بوتانولی قارچ P. torulosus در آزمایش قدرت آنتی‌اکسیدانی کاهش یون‌های فریک

جدول ۱- مقادیر IC_{50} (میکروگرم بر میلی‌لیتر) و میکرومول آهن فریک بر گرم عصاره قارچ Phellinus torulosus

عصاره	تخریب رادیکال‌های آزاد DPPH (IC_{50} میکروگرم بر میلی‌لیتر)	قدرت آنتی‌اکسیدانی کاهش یون‌های فریک (میکرومول آهن فریک بر گرم)
متانولی تام	۳۰/۸۷±۰/۸۳	۳۴۵/۵۰±۰/۸۳
برش کلروفورمی	۸۷/۲۲±۷/۹۲	۴۵۹/۳۴±۳۵/۲۱
برش بوتانولی	۱۱/۹۸±۰/۷۴	۱۵۹۲/۲۰±۳۵/۴۵
برش آبی	۲۲۹/۶۷±۲/۷۶	۲۰۱/۹۲±۴۰/۷۴
بوتیل هیدروکسی تولوئن(کنترل)	۳۲/۳۱	-

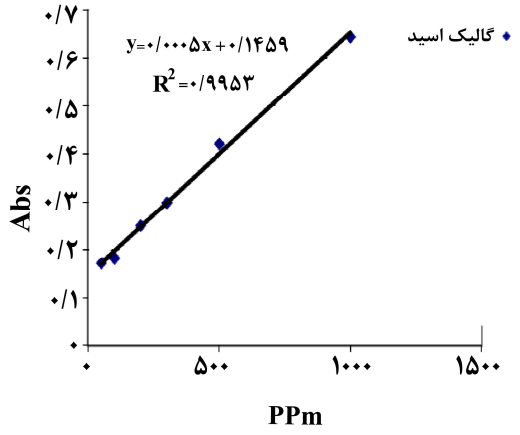
هر دو تست آنتی‌اکسیدانی، عصاره متانولی تام و بخصوص جزء بوتانولی آن فعالیت قابل ملاحظه‌ای در تخریب رادیکال‌های آزاد و کاهش یون‌های فریک نشان می‌دهند. غلظت‌های مؤثر از عصاره‌های مختلف (متانولی تام، کلروفورمی، بوتانولی و آبی) که ۵۰٪ رادیکال‌های آزاد را تخریب می‌کنند (IC_{50})، به ترتیب ۳۰/۸۷، ۸۷/۲۲، ۱۱/۹۸ و ۲۲۹/۶۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند. بررسی‌های آماری نشان می‌دهد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بوتانولی در مقایسه با عصاره‌های دیگر و آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری دارد ($p<0/05$). بنابراین این قارچ دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قویی است و مواد فعال در عصاره کل متانول بیشتر در جزء بوتانولی تجمع یافته‌اند و با افزایش مواد فنولی (ترکیبات شناخته شده آنتی‌اکسیدانت) در عصاره‌ها به ویژه عصاره بوتانولی،

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-01-02]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.1.3.0]

خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد.

همچنین قدرت آنتی‌اکسیدانی کاهش یون‌های فریک با غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌های مذکور به ترتیب ۳۴۵/۷۶، ۴۸۱/۲۳، ۱۵۹۲/۳۴ و ۲۰۳/۲۳ میکرومول Fe^{2+}/gr extract تعیین شدند. بررسی‌های آماری نشان می‌دهد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بوتانولی در آزمایش FRAP نیز در مقایسه با عصاره‌های دیگر در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری دارد ($p<۰/۰۵$).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی قارچ: مقدار کل ترکیب‌های فنولی بر اساس مقادیر جذب عصاره‌های مختلف (ME، CE، BE و WE) واکنش داده با معرف Folin-Ciocalteu و مقایسه آن با محلول‌های استاندارد گالیک اسید هم ارز به دست آمد (شکل ۲). نتایج این آزمایش‌ها با سه بار تکرار در جدول ۲ آمده است. بالاترین میزان ترکیب‌های فنولی در جزء بوتانولی (BE) با مقدار (۷۳/۳۴ mg GA/gr extract) برای گونه P. torulosus مشاهده شد.



شکل ۲- منحنی استاندارد گالیک اسید جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنولی قارچ‌های P. torulosus

جدول ۲- مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره‌های قارچ Phellinus torulosus

عصاره	مقدار کل ترکیبات فنولی (میلی گرم GA بر گرم عصاره)
متانولی تام	۲۹/۱۸±۲/۱۱
برش کلروفورمی	۴۶/۹۸±۰/۲۳
برش بوتانولی	۷۳/۳۴±۰/۹۳
برش آبی	۸/۵۶±۰/۳۷

بحث

فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیب‌های فنولی: ویژگی‌های اکسیدکنندگی اکسیژن نقش حیاتی در اعمال بیولوژیکی متفاوت مثل استفاده از غذا، انتقال الکترون برای تولید ATP و غیره دارد. در حالی که اکسیژن برای حیات ضروری است، همچنین می‌تواند باعث اکسید کردن مواد درون سلول شود و نقش تخریب‌کننده داشته باشد. اکسیژن می‌تواند به اشکال بسیار فعال مثل رادیکال‌های سوپراکسید ($O2^{-}$)، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) تبدیل شود و به این صورت می‌تواند منجر به استرس اکسیداتیو (Oxidative stress) گردد برای مثال به DNA آسیب برساند، یا این‌که آنزیم‌های ضروری و پروتئین‌های ساختاری را تخریب کند. همچنین می‌تواند واکنش‌های زنجیره‌ای از کنترل خارج شده مثل واکنش‌های اتواکسیداسیون و پراکسیداسیون (مثلا پلیمریزاسیون کاتلامین‌ها) را برانگیزد [۲]. ترکیب‌های فنولی به روش‌های مختلفی می‌توانند رادیکال‌های آزاد را خنثی کنند. پلی فنول‌ها انواعی از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که در جلوگیری از بسیاری بیماری‌ها از جمله سرطان نقش دارند، این ترکیبات بسیار متنوع هستند و اثرات متفاوتی دارند. ترکیبات فنولی

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-01-02]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.1.3.0]

شامل ویتامین‌ها، رنگدانه‌ها و فلاونوئیدها، ویژگی‌های ضد جهشی و در نتیجه ضدسرطانی و همچنین فعالیت کاهش قند خون را بر عهده دارند [۵]. در این تحقیق، از عصاره‌های مختلف قارچ *P. torulosus* جهت بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل استفاده شد، ترتیب کاهش خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با در نظر گرفتن مقدار IC_{50} را می‌توان به صورت زیر نمایش داد: BE>ME >CE >WE. در مورد آزمایش قدرت آنتی‌اکسیدانی کاهش یون‌های فریک هم ترتیب فعالیت عصاره‌ها به همین ترتیب می‌باشد. جزء بوتانولی عصاره متانولی (BE) که حاوی ترکیبات نیمه‌قطبی و قطبی می‌باشد با داشتن کمترین مقدار IC_{50}=۱۱/۹۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر در بین عصاره‌ها قوی‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را نشان می‌دهد، که در مقایسه با قارچ‌های P. rimosus و P. gilvus در مطالعات قبلی، با مقادیر به ترتیب ۱۳/۳۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر IC_{50}: ۶۸/۰ نیز، به لحاظ خاصیت آنتی‌اکسیدآنتی‌قوی‌تر می‌باشد [۴، ۲]. بالاترین مقدار ترکیبات فنولی نیز برای برش (BE) با مقدار ۷۳/۳۴ میلی‌گرم GA/gr extract مشاهده می‌شود، بنابراین می‌تواند بین حضور ترکیبات فنولی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی این عصاره همبستگی وجود داشته باشد که این نتیجه‌گیری با گزارش‌های قبلی هم خوانی دارد [۲۱]. از طرفی عصاره متانولی این قارچ دارای اثر آنتی‌اکسیدان بیشتر نسبت به عصاره کلروفورمی می‌باشد در حالی که میزان ترکیبات فنولی این عصاره کمتر از عصاره کلروفورمی است، بنابراین تنها ترکیبات فنولی نیستند که باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره می‌شوند و قطعا ترکیبات دیگری می‌توانند دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی باشند و با دقت در این نتایج می‌توان دریافت که گاهی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولی رابطه خطی وجود ندارد [۲۲]. البته میزان ترکیبات فنولی این قارچ در مقایسه با میزان این ترکیبات در قارچ *P. conchatus* جمع‌آوری شده از ایران با مقدار ۸۴/۸۷±۰/۷۳ میلی‌گرم GA.gr extract به طور جزئی، کمتر می‌باشد [۱۴].

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که قارچ دارویی Phellinus torulosus دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قویی می‌باشد و مواد فعال در عصاره کل متانول بیشتر در برش بوتانولی تجمع یافته‌اند. این مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی با توجه به سهولت دسترسی و همچنین هزینه بسیار پایین‌تر در مقایسه با سایر منابع طبیعی و مصنوعی موجود برای مواد آنتی‌اکسیدانی، بسیار مفید بوده و توجیه اقتصادی چشمگیری دارد. به همین دلیل تحقیقات گسترده‌تر در جهت شناسایی مواد مؤثره موجود در فروتینگ بادی این قارچ در حال انجام می‌باشد. در نهایت، بررسی جزییات و سازوکار خواص درمانی P. torulosus ایرانی (از قبیل بررسی اثرات ضد قارچی، ضد التهاب، ضد ویروسی، ضدباکتری و به ویژه ضد سرطان از جمله پژوهش‌هایی است که می‌تواند در مطالعات پزشکی و یا داروسازی مورد توجه قرار گیرد. در هر صورت با توجه به رویکرد جهانیان به استفاده از منابع زیستی و دوستدار محیط زیست ضرورت استفاده از این قارچ در صنایع غذایی، داروسازی و مصارف پزشکی بسیار احساس می‌گردد. در این راه شناسایی، جمع‌آوری و نگهداری از این پتانسیل منابع طبیعی بومی ایران قدم اولیه است که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-01-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.1.3.0]

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از دانشجویان گرامی خانم‌ها زینب شریعت‌مداری، سمیه کی‌پور، فاطمه میرزاجانی، نرگس عابدینی، پونه خلیق، سارا مقدم، زهرا گونانی، فرشته احمدی و نسیم دلیلیان و همچنین از جناب آقای دکتر پیمان صالحی استاد گروه شیمی پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی که ما را از راهنمایی‌های ارزنده خویش بهره‌مند ساختند تقدیر و تشکر می‌گردد. همچنین از پیشنهادهای مفید و تأثیرگذار داوران محترم این مجله سپاسگزاری می‌گردد.

References

[1] Lucas EH, Montesono R, Pepper MS, Hafiner M, Sablon E. Tumor inhibitors in Boletus edulis and other holobasidiomycetes. *Antibiot Chemother* 1957; 7: 1-4.

[2] Ajith TA, and Janardhanan KK. Indian medicinal mushroom as a source of antioxidant and antitumor agents. *J Clinical Biochemi Nutrition* 2007; 40 (3): 157-62.

[3] Lee IK, Yun BS. Highly oxygenated and unsaturated metabolites providing a diversity of hispidin class antioxidants in the medicinal mushrooms *Inonotus* and *Phellinus*. *Bioorganic Med Chem* 2007; 15(10): 3309-14.

[4] Chang ZQ, Hwang MH, Rhee MH, Kim KS, Kim JC, Lee SP, et al. The in vitro anti-platelet, antioxidant and cellular immunity activity of *Phellinus gilvus* fractional extracts. *World J Microbiol Biotechnol* 2008; 24(2): 181-7.

[5] Shon MY, Kim TH, Sung NJ. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (Phellinus of Hymenochaetaceae) extracts. *Food Chem* 2003; 82(4): 593-7.

[6] Sheena TA, Ajith A, Mathew T, Janardhanan KK. Antibacterial activity of three macrofungi, Ganoderma lucidum, Navesporus floccose and *Phellinus rimosus* occurring in south India. *Pharmaceutical Biology* 2003; 41(8): 564-7.

[7] Jittawan Kubola, Sirithon Siriamornpun. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chemistry* 2008; 110(4): 881–90.

[8] Shun YM, Wen YH, Yong CY, Jian GS. Two Benzyl Dihydroflavones from *Phellinus igniarius*. *Chinese Chem Lette* 2003; 14(8): 810-3.

[9] Mossazade SA. Report and introduce of the biggest edible mushroom with medicinal effect on

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-01-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.1.3.0]

Mazandaran province. The abstracts from the first national research of rangelands management 2002; 114. [Farsi]

[10] Sargazi F. Collection of some medicinal mushroom (shitakae, *Ganoderma lucidum* & *Pleurotus eryngii*) and investigation of biological and chemical effects of *Ganoderma lucidum*. Tehran: University of Shahid Beheshti. 2007; 125. [Farsi]

[11] Keypour S. Identification of *Ganoderma lucidum* (Basidiomycota) from Iran and investigation of antibacterial effects. Tehran: University of Shahid Beheshti 2008; 64. [Farsi]

[12] Keypour S, Riahi H, Moradali MF, Rafati H. Investigation of the antibacterial activity of a chloroform extract of Ling Zhi or Reishi Medicinal Mushroom, *Ganoderma lucidum* (W.Curt.: Fr) P. Karst. (Aphyllophoromycetideae) from Iran. *Int J Medicinal Mushrooms* 2008; 10(4): 345-9.

[13] Riahi H, Hokmollahi F, Hakimi MH, Rafati H, Mosazadeh SA. Collection and identification of three medicinal Phellinus Quel. species from Hycanian province, north of Iran. Proceeding of the 5th International Medicinal Mushroom Conference 2009; 48-55.

[14] Hokmollahi F, Rafati H, Riahi H, Hakimi MH, Aliahmadi A, Hedari H, et al. Collection and identification of a medicinal mushroom, *Phellinus conchatus* from Iran and investigation the antibacterial activity of total methanol extract and fractional extracts. *J Shaheed Sadoghi Univ Med Sci* 2011; 18(6): 521-30.

[15] Dai YC, Zhou LW, Cui BK. Chen YQ, Decock C. Current advances in Phellinus sensu lato: medicinal species, functions, metabolites and mechanisms. *Appl Microbiol Biotechnol* 2010; 87(5): 1587–93.

[16] Natarajan K, Kolandavelu K. Resupinate Aphyllophorales of Tamil Nadu, India. Centre for advanced study in Botany, University of Madras. 1998; 133.

[17] Larsen MJ, Cobb-Poulle LA. Phellinus (Hymenochaetaceae). A survey of the world taxa. *Synop Fung* 1990; 3(1): 206.

[18] Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia L. ssp. Longifolia*. *Food Chem* 2007; 103(4): 1449-56.

[19] Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Simin N. Antimicrobial and antioxidant activities of Melissa officinalis L. (Lamiaceae) essential oil. *J Agric Food Chem* 2004; 52(9): 2485-9.

[20] Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *Am J Enology Viticulture* 1977; 28(1): 49-55.

[21] Pourmorad F, Hosseinimehr SJ and Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African J Biotechnology* 2006; 5(11): 1142-5.

[22] Fathi F. Chemical assessment and Evaluation of antioxidant and antibacterial effects of the essence and extracts from two Salvia species. Tehran,

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-01-02]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.1.3.0]

Medicinal plants research institute, university of Shaheed Beheshti 2006; 144. [Farsi].

Investigation of the Antioxidant Activities and Determination of the Phenol Content of Fractional Extracts of Iranian Medicinal Mushroom *Phellinus torulosus*

F. Hokmollahi[1], H. Rafati[2], H. Riahi[3], M.H. Hakimi[4], H. Heydari[5], F. Haghirosadat[6], M. Azimzade[7], A.R. Frotan[8], S.A. Mossazade[9]

Received: 22/12/2010 Sent for Revision: 14/03/2011 Received Revised Manuscript: 27/03/2011 Accepted: 06/04/2011

Background and Objectives: *Phellinus Quel* is a large and widely distributed genus of the family Hymenochaetaceae under the class of Basidiomycetes with more than 359 species. Due to their great medicinal effects and lack of investigation on Iranian species, this study was performed.

Materials and Methods: In this laboratory study, the macro- and micro-morphological properties of the species were determined using the total methanol extract and it's fractional extracts (chloroform, butanol and water extracts). The antioxidant assays were then performed. The radical scavenging capacity of fractional extracts of this fungus were evaluated by using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity and Ferric reducing-antioxidant power assays. Also, the total phenol content of each extract was measured using Folin-Ciocalteau method.

Results: The results indicated that the total methanol extract showed a significant antioxidant activity. Further fractionation indicated that the butanol fraction had a stronger activity than the total methanolic extract in both antioxidant assays. The effective concentrations of the different extracts (total methanol, chloroform, butanol and water), for scavenging of 50% of generated radicals (IC_{50}), was 30.87±0.83, 87.22±7.92, 11.98±0.74 and 229.67±2.76 µg/ml, respectively.

Conclusion: The results showed that different extracts, especially butanol extract have high antioxidant activities which indicate the presence of active components in this fraction. Considering these great antioxidant effects and its low expense, it is recommended to use this fungus in more clinical trial researches and drug manufacturing industry.

Key words: *Phellinus*, Antioxidant effects, Phenolic compounds, Medicinal mushroom, Native of Iran

Funding: This research was founded by Shaheed Beheshti University, Tehran, Iran.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: None declared.

How to cite this article: Hokmollahi F, Rafati H, Riahi H, Hakimi MH, Heydari H, Haghirosadat F, et al. Investigation of the Antioxidant Activities and Determination of the Phenol Content of Fractional Extracts of Iranian Medicinal Mushroom *Phellinus torulosus*. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2011; 57-66. [Farsi]

1- Department of Biological Sciences, Shaheed Beheshti University, Tehran, Iran
(Corresponding Author) Tel: (0351) 8246872, Fax: (021) 22431664, E mail: Fariba_Hokmollahi@yahoo.com
2- Medicinal plants research institute, Shaheed Beheshti University, Tehran, Iran
3- Department of Biological Sciences, Shaheed Beheshti University, Tehran, Iran
4- Faculty of Natural Resource, Yazd University, Yazd, Iran
5- Medicinal plants research institute, Shaheed Beheshti University, Tehran, Iran
6- Department of Biological Sciences, Shaheed Beheshti University, Tehran, Iran
7- Department of Agronomy and Plant Breeding Sciences, College of Abouraihan, University of Tehran, Tehran, Iran
8- Plant Protection Dept. Agricultural and Natural Resources, Reserch Center of Mazandaran, Sari, Iran
9- Research institute of forest and rangelands, Mazandaran, Iran

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-01-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.1.3.0]