



مطالعه ترکیب شیمیایی عصاره آبی گیاه *Urban Centella asiatica L.* در سه فاز رویشی جمع آوری شده از منطقه آبکنار بندرانزلی و عصاره‌های آبی و هیدروالکلی در فاز گل دهی جمع آوری شده از منطقه چماچای شفت و مقایسه هر دو زیستگاه

علی مازوجی^{۱*}، فهیمه سلیم پور^۲، لیلا شفیعی دستجردی^۳

^۱ گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاداسلامی، واحد رودهن، رودهن، ایران
^۲ گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاداسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران
^۳ گروه شیمی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

*E.mail: amazooji@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۳۱

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱۶/۱۶

چکیده

گیاه *Centella asiatica* متعلق به خانواده چتریان (Apiaceae) دارای استولون‌های رونده باریک و برگ‌های قلبی شکل و گل‌های بسیار کوچک درگل آذین‌های چتر است. این گیاه دارای خواص دارویی فراوان از جمله کاهش طول درمان زخم، افزایش حافظه و یادگیری، آرامبخش، تنظیم سیستم ایمنی، کاهش فشارخون، آنتی اکسیدان قوی و ضدسرطان می‌باشد. مواد گیاهی جهت مطالعات فیتوشیمیایی عصاره از مناطق آبکنار بندرانزلی در سه فاز رویشی و چماچای شفت در فاز گل‌دهی در اردیبهشت ۱۳۹۴ جمع آوری گردید. نتایج نشان می‌دهند که عصاره آبی نسبت به عصاره هیدروالکلی منطقه شفت مواد موثره (آسیاتیکوزید، مادکاسوزید، مادکازیک اسید و آسیاتیک اسید) بسیار بیشتری بود. و همچنین فاز پس از گل دهی در نمونه آبکنار دارای ماکزیمم مادکاسوزید و آسیاتیکوزید و فاز قبل از گل دهی دارای ماکزیمم مادکازیک اسید و آسیاتیک اسید است. همچنین مقایسه دوزیستگاه از افزایش بسیار چشمگیر هر چهار ترکیب موثره دارویی در منطقه چماچا نسبت به منطقه آبکنار می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: عصاره، آب بشقابی، گیلان، شیمی گیاهی

مقدمه

دارای نام انگلیسی Indian pennywort و در اروپا به Gotu kola شهرت دارد. این گیاه از نظر ریخت‌شناسی کوچک و دارای ساقه‌های رونده یا استولون‌های

گیاه *Centella asiatica* که به نام فارسی آب بشقابی و متعلق به خانواده Apiaceae یا چتریان بوده،

عملکرد زیستی و اثرات درمانی بوده تری ترین‌های شامل Madecassic acid, Asiatic acid و Asiaticoside و Madecassoside می‌باشد.

Joshi و همکاران در سال ۲۰۱۳ محتوای تام تری ترین‌های اشاره شده را بین ۸-۱ درصد در برگ خشک شده معرفی نمودند و در این بین آسیاتیکوزید حدود چهل درصد آنرا تشکیل می‌داد [۵]. Hashim در سال ۲۰۱۱ به مطالعه تأثیر حفاظتی *C. asiatica* از سلولهای عصبی و پتانسیل آنتی اکسیدان آن پرداخت [۲]. Tiwari و همکاران در سال ۲۰۱۰ روش HPLC را در اندازه‌گیری مادکاسوزید، آسیاتیکوزید و آسیاتیک اسید معتبر نمود [۱۴]. Gohil و همکاران در سال ۲۰۱۰ گیاه *C. asiatica* را به عنوان یک گیاه دارای پتانسیل درمانی در تمام ابعاد بررسی و مطالعه نمود [۱]. Singh و همکاران در سال ۲۰۱۰ با مطالعه بر روی گیاه *C. asiatica* آنرا به عنوان یک گیاه دارای پتانسیل درمانی بسیار وسیع معرفی نمودند [۱۲]. Shival و همکاران در سال ۲۰۱۲ با مطالعه بر روی گیاه *C. asiatica* این گیاه را به عنوان یک داروی شگفت انگیز (wonder drug) معرفی نمودند [۱۱]. Somboonwong و همکاران در سال ۲۰۱۲ با مطالعه بر روی عصاره‌های مختلف گیاه *C. asiatica* با انتخاب یک مدل درمانی حیوانی، آنرا در کاهش طول درمان زخم‌های ناشی از بریدگی و سوختگی موثر دانستند [۱۰]. Rottona Kam و همکاران در سال ۲۰۱۴ با مطالعه بر روی گیاه *C. asiatica* این گیاه را دارای خواص ضدباکتری و آنتی اکسیدان دانست و به ترکیب شیمیایی اسانس آنرا نیز مطالعه نمود [۹]. Nittyonodom و همکاران در سال ۲۰۱۲ خواص آنتی اکسیدان گیاه *C. asiatica* را مطالعه نمودند [۸].

باریک، دارای برگ‌های به عرض ۵-۲ سانتی متر، اغلب قلبی تا پیکانی یا کلیوی شکل، طوقه‌ای یا مجتمع در قاعده گیاه، دارای دمبرگ‌های بلند، گوشواره‌ها کوچک، پهنک دنداندار و دارای رگبرگ‌های پرتو مانند ضخیم و سبز رنگ هستند. گل آذین به صورت سه جفت یا کمتر که کوچک‌تر از ۱ سانتی متر بوده و حامل گل‌های کوچک بدون دمگل به رنگ صورتی تیره به شکل چترهای ساده شامل ۶-۳ گل که از انشعابات برگ‌های کوتاه‌تر از دمبرگ‌ها ایجاد می‌شوند. میوه کوچک که به صورت تخم مرغی شکل مجتمع می‌شوند و به رنگ سفید یا سبز دارای کم و بیش ۹ خط برجستگی طولی و تلخ مزه می‌باشند. دانه‌ها بطور جانبی فشرده شده و هرکدام در یک مریکارپ و دارای رویان واژگون می‌باشند. این گیاه رطوبت پسند و در نواحی نسبتاً باتلاقی یا چمنزارهای بسیار مرطوب رویش می‌یابند. پراکنش این گونه در هند، چین، مادگاسکار، آفریقا، استرالیا، ژاپن، ونزوئلا، کلمبیا و نواحی شرقی امریکای جنوبی می‌باشد. در نواحی پست حاشیه دریاها تا ارتفاع حدود ۷۰۰ متر مشاهده می‌شوند. در خاک‌های ماسه‌ای و غنی از هوموس و مواد آلی به خوبی رشد می‌کنند. این گیاه صدها سال است که در طب سنتی هندو چین دارای کاربردهای وسیع می‌باشد.

امروزه از این گیاه استفاده‌های درمانی وسیعی در کشورهای مختلف از جمله امریکا، اروپا، چین و بویژه در هند می‌گردد. که مهمترین آنها کاهش طول درمان زخم، افزایش حافظه، حفاظت از سلول‌های عصبی، تنظیم سیستم ایمنی، ضدافسردگی، آرامش بخش بسیار قوی، کاهش فشار خون و ریوی، حفاظت از کبد، ضدسرطان، کاهش قند خون و آنتی اکسیدان قوی می‌باشد. مهمترین ترکیبات شیمیایی این گیاه که دارای

صافی و دستگاه سانتریفوژ (دور ۲۰۰۰ و مدت ۵ دقیقه) صاف شد و سپس به ظرف مخصوص فریز درایر منتقل شده و پس از یخ زدن در فریزر با دمای 2°C - به دستگاه فریز در این منتقل شد.

عصاره گیری هیدروالکلی ۷۰٪: جهت عصاره گیری ابتدا مواد خارجی گیاه مورد نظر جدا شده و سپس توسط آسیاب خرد شد. مقدار ۸۵ گرم گیاه وزن شده و به آن مقدار ۴۲۵ میلی لیتر اتانول ۷۰٪ اضافه شده و به مدت ۷ روز بر روی شیکر قرار گرفت و در ادامه توسط صافی و دستگاه سانتریفوژ (دور ۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه) صاف شد و سپس توسط دستگاه روتاری اوپراتور تغلیظ شده و حجم آن به ۱۳۰ میلی لیتر کاهش یافت.

برای مطالعه ترکیب شیمیایی عصاره از دستگاه HPLC با مشخصات ستون C18، طول موج ۲۰۰ نانومتر، جریان ۱ ml/min، حجم تزریق ۲۰ μl ، فاز متحرک A استونیتریل، فاز متحرک B، اسید فسفریک ۰/۳ درصد، حلال MeOH و حجم نمونه ۰/۸۱۹ گرم استفاده شد. برای تهیه محلول های استاندارد مقدار ۲۰ میلی گرم از هریک از استانداردهای آسیاتیکوزید، مادکاسوزید، مادکازیک اسید و آسیاتیک اسید در حلال متانول حل می شود، آنگاه ۲ میلی لیتر از این محلول به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده می شود، آنگاه ۱۰ میلی لیتر از هریک از محلول های تهیه شده به ستون HPLC تزریق می گردد:

نتایج

بررسی ترکیب شیمیایی عصاره گیاه *C. asiatica* در سه فاز رویشی قبل از گل دهی، هنگام گل دهی، و پس از گل دهی در نمونه آبکنار و فاز گل دهی پس از آن در نمونه چماچا که به صورت ترکیب مطالعه شد،

James و همکاران در سال ۲۰۰۹ تری ترین های پنتا سیکلیک را از گیاه *C. asiatica* استخراج نمودند و آنها را مورد بررسی قرار دادند [۶]. Zenol و همکاران در سال ۲۰۰۸ عصاره گیاه *C. asiatica* را از طریق روش های مختلف مثل HPLC, TLC شرح داده و بویژه میزان آسیاتیک اسید، مادکاسوزید و آسیاتیکوزید را گزارش نمودند [۱۵].

Hshim و همکاران در سال ۲۰۱۱ ترکیب شیمیایی تری ترین های *C. asiatica* را از نظر نوع غلظت و فعالیت زیستی آنها تعیین نمود [۳]. Taemchuay و همکاران در سال ۲۰۰۹ خواص ضدباکتریایی عصاره آبی و اتانولی گیاه *C. asiatica* را در برابر باکتری *Staphylococcus* گرفته شده از شیر گاوهای شیرده مطالعه نمود [۱۳].

مواد و روش ها

ابتدا جمع آوری صحرائی در اردیبهشت و خرداد ۱۳۹۴ از روستای آبکنار شهرستان بندرانزلی و روستای چماچا از توابع شهرستان شفت در طی سه زمان متفاوت رویشی یعنی قبل، هنگام و بعد از گل دهی در منطقه آبکنار و هنگام گل دهی در منطقه شفت شامل ریشه، ساقه و برگ و گل و میوه جمع آوری گردید. سپس مواد گیاهی در سایه و در دمای 25°C - ۲۲ سانتی گراد خشک شدند. همچنین نمونه های هرباریویی از هریک از نمونه های مربوط به فازهای مختلف رویشی تهیه گردید. آنگاه مواد گیاهی خرد و آسیاب شدند. سپس عصاره گیری آبی و هیدروالکلی به روش های زیر انجام گرفت:

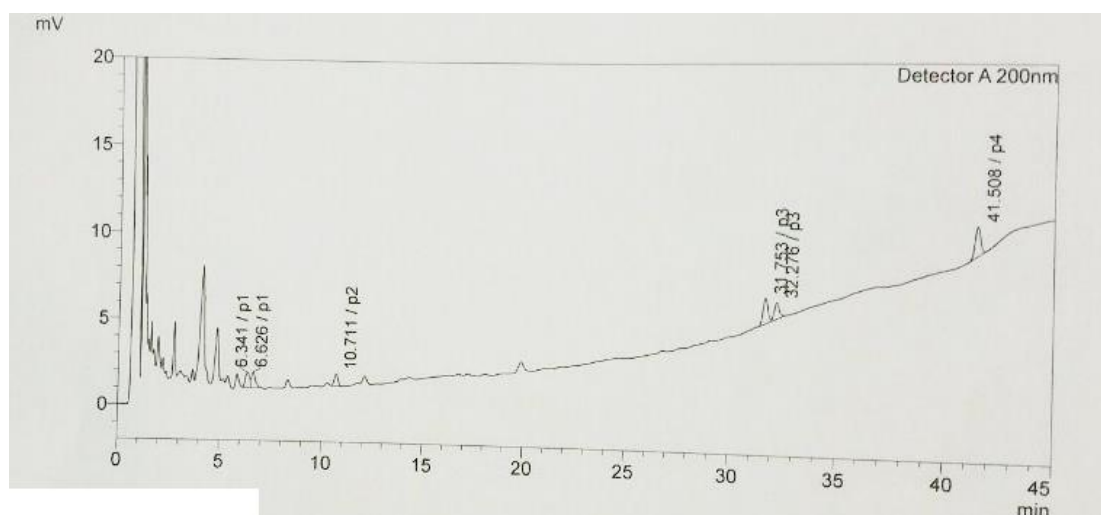
عصاره گیری آبی: ۱۰۰ گرم گیاه وزن شده و به آن مقدار ۵۰۰ میلی لیتر آب اضافه شده و به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت و در ادامه توسط

دستگاه تزریق و یکبار هم به صورت ترکیبی تزریق انجام گردید و نهایتاً عصاره‌های بدست آمده تزریق گردید و نتایج بدست آمده در جدول‌ها و اشکال زیر که نشان دهنده میزان ترکیب موثره دارویی و منحنی کروماتوگرام مربوطه است مشخص شده اند.

میزان چهار تری ترین مهم گیاه به عنوان ترکیبات مهم دارای خواص دارویی شامل آسیاتیک اسید، آسیاتیکوزید، مادکازیک اسید و مادکاسوزید در این گیاه مشخص و با منحنی استاندارد مقایسه گردید. در این مطالعه استانداردهای این چهار ترکیب جداگانه به

جدول ۱- میزان ترکیبات موثره دارویی در عصاره گیاه *C. asiatica* قبل از گل دهی - آبکنار

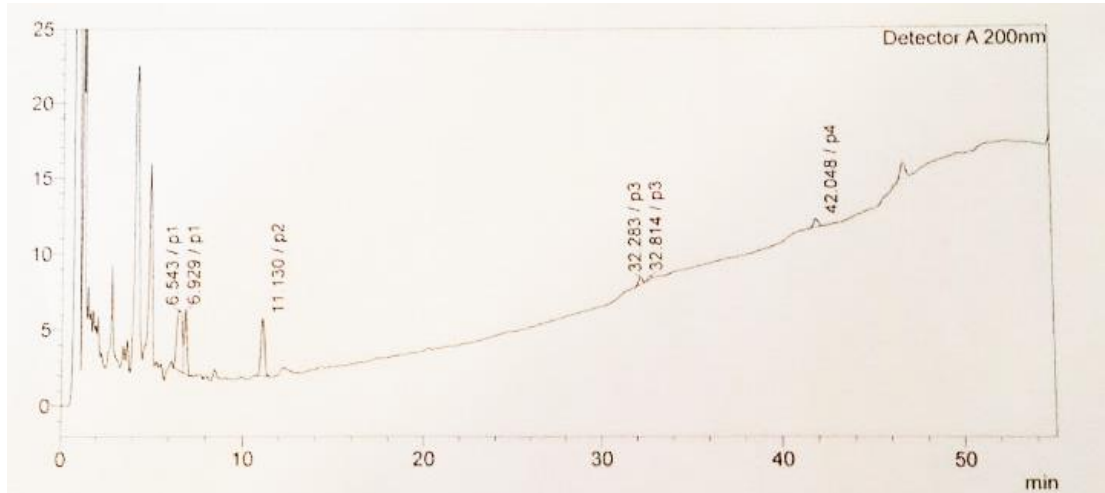
| | | مساحت استاندارد | | مساحت نمونه | | مقدار ماده موثر بر | مقدار ماده موثر |
|-----------------------|----|-----------------|---------|-------------|--------|--------------------|-----------------|
| | | | | | | حساب mg/ml | بر حسب درصد |
| madecassoside | P1 | 27.688 | 47.685 | 12.729 | 25.093 | 0.013mg/ml | 64.3% |
| asiaticoside | P2 | 42.750 | 42.750 | 9.191 | 9.191 | 0.005 mg/ml | 26.3% |
| madecasic acid | P3 | 55.232 | 106.642 | 22.511 | 37.601 | 0.009 mg/ml | 43.1% |
| asiatic acid | P4 | 82.427 | 82.427 | 28.305 | 28.305 | 0.008 mg/ml | 41.9% |



شکل ۱- کروماتوگرام حاصل از تعیین میزان ترکیب موثره دارویی عصاره گیاه *C. asiatica* قبل از گل دهی - منطقه آبکنار

جدول ۲- میزان ترکیبات موثره دارویی در عصاره گیاه *C. asiatica* در هنگام گل دهی - منطقه آبکنار

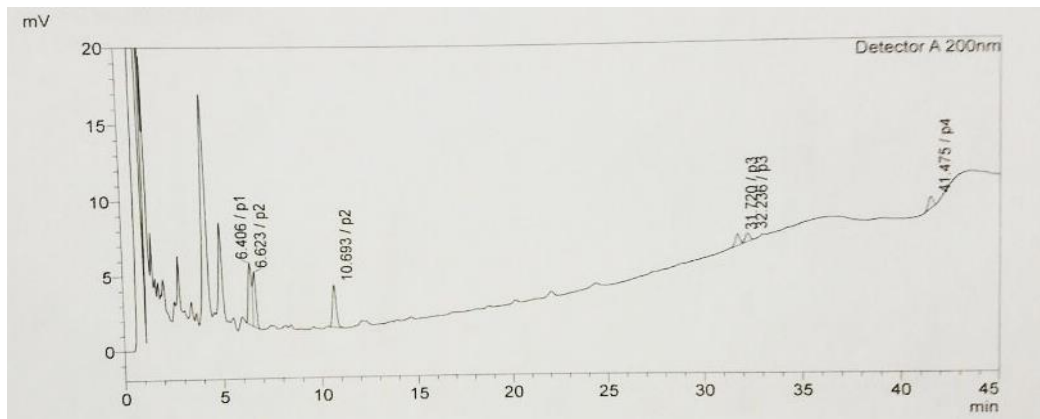
| | | مساحت استاندارد | | مساحت نمونه | | مقدار ماده موثر بر | مقدار ماده موثر |
|-----------------------|----|-----------------|---------|-------------|---------|--------------------|-----------------|
| | | | | | | حساب mg/ml | بر حسب درصد |
| madecassoside | P1 | 27.688 | 47.685 | 82.497 | 128.629 | 0.036mg/ml | 179.8% |
| asiaticoside | P2 | 42.750 | 42.750 | 50.538 | 50.538 | 0.016mg/ml | 78.8% |
| madecasic acid | P3 | 55.232 | 106.642 | 7.357 | 10.733 | 0.001mg/ml | 6.7% |
| asiatic acid | P4 | 82.427 | 82.427 | 9.667 | 9.667 | 0.002 mg/ml | 7.8% |



شکل ۲- کروماتوگرام حاصل از تعیین میزان ترکیب موثره دارویی در گیاه *C. asiatica* در هنگام گل دهی - منطقه آبکنار

جدول ۳- میزان ترکیبات موثره دارویی در عصاره گیاه *C. asiatica* پس از گل دهی منطقه آبکنار

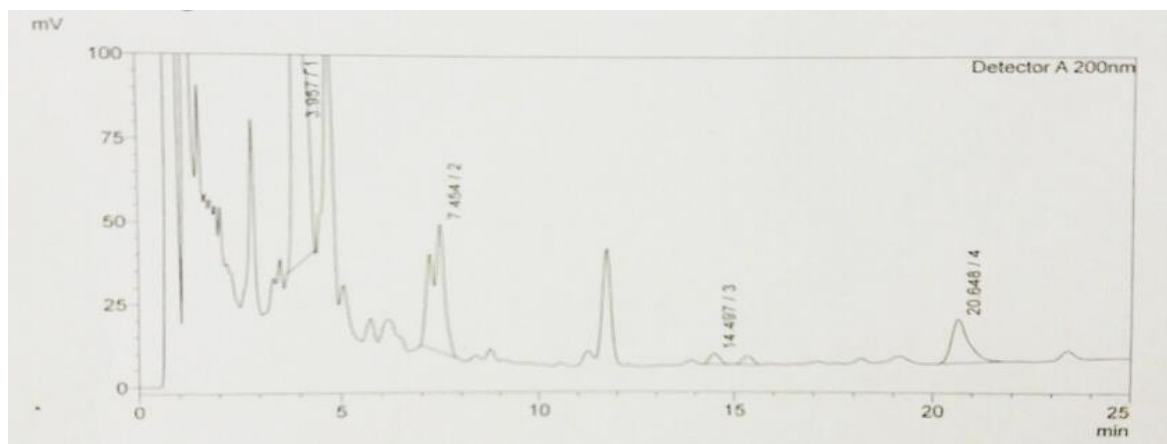
| | | مساحت استاندارد | | مساحت نمونه | | مقدار ماده موثره بر حسب درصد | |
|----------------|----|-----------------|---------|-------------|--------|-------------------------------|--------|
| | | | | | | مقدار ماده موثره بر حسب mg/ml | |
| madecassoside | P1 | 27.688 | 47.685 | 50.458 | 89.256 | 0.045mg/ml | 225.8% |
| asiaticoside | P2 | 42.750 | 42.750 | 37.757 | 37.757 | 0.021mg/ml | 106.5% |
| madecasic acid | P3 | 55.232 | 106.642 | 12.078 | 21.019 | 0.005mg/ml | 23.8% |
| asiatic acid | P4 | 82.427 | 82.427 | 12.434 | 12.434 | 0.004mg/ml | 18.2% |



شکل ۳- کروماتوگرام حاصل از میزان ترکیبات موثره دارویی در عصاره گیاه *C. asiatica* پس از گل دهی - منطقه آبکنار

جدول ۴- میزان ترکیبات موثره دارویی در عصاره آبی گیاه *C. asiatica* در منطقه چماچای شفت

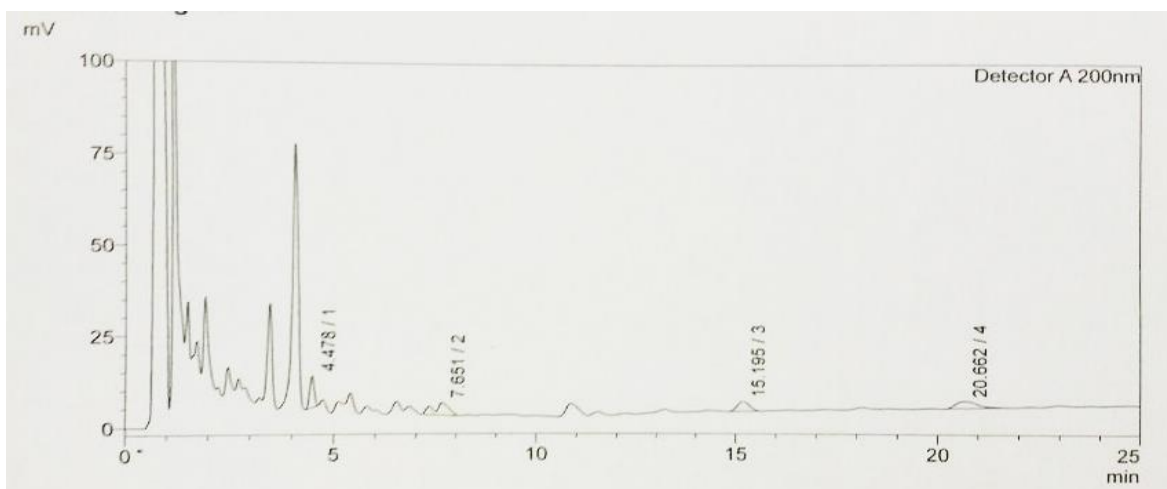
| | | مساحت استاندارد | | مساحت نمونه | | مقدار ماده موثره بر حسب درصد | |
|----------------|----|-----------------|---------|-------------|-----------|-------------------------------|----------|
| | | | | | | مقدار ماده موثره بر حسب mg/ml | |
| madecassoside | P1 | 129.456 | 194.973 | 3.781.796 | 3.781.796 | 3.879mg/ml | 19396.5% |
| asiaticoside | P2 | 48.847 | 114.364 | 931.883 | 931.883 | 1.630mg/ml | 8148.4% |
| madecasic acid | P3 | 49.364 | 89.359 | 112.287 | 112.287 | 0.251mg/ml | 1256.6% |
| asiatic acid | P4 | 88.639 | 88.639 | 405.534 | 405.534 | 0.915mg/ml | 4575.1% |



شکل ۴- کروماتوگرام حاصل از تعیین میزان ترکیبات موثره دارویی عصاره آبی گیاه *C. asiatica* در منطقه چماچای شفت

جدول ۵- میزان ترکیبات موثره دارویی در عصاره هیدروالکلی گیاه *C. asiatica* در منطقه چماچای شفت

| | P | مساحت استاندارد | | مساحت نمونه | | مقدار ماده موثره | مقدار ماده موثره |
|----------------|----|-----------------|---------|-------------|--------|------------------|------------------|
| | | | | | | بر حسب mg/ml | بر حسب درصد |
| madecassoside | P1 | 129.456 | 194.973 | 66.066 | 66.066 | 0.068mg/ml | 338.8% |
| asiaticoside | P2 | 48.847 | 114.364 | 85.975 | 85.957 | 0.150mg/ml | 751.8% |
| madecasic acid | P3 | 49.364 | 89.359 | 55.775 | 55.775 | 0.125mg/ml | 624.2% |
| asiatic acid | P4 | 88.639 | 88.639 | 71.617 | 71.617 | 0.162mg/ml | 808.0% |



شکل ۵- کروماتوگرام حاصل از تعیین میزان ترکیبات موثره دارویی در عصاره هیدروالکلی گیاه *C. asiatica* در منطقه چماچای شفت

پس از گل دهی به میزان 0.021 mg/ml می باشد، البته در مورد مادکازیک اسید، بیشترین میزان قبل از گل دهی و به میزان 0.009 mg/ml می باشد و نهایتاً در مورد آسیاتیک اسید نیز این میزان 0.008 mg/ml و قبل از گل دهی حاصل می شود.

بحث

نتایج مطالعات مقایسه ای در فازهای مختلف رشد در منطقه آبکنار بندرانزلی نشان می دهد که بیشترین میزان مادکاسوزید به میزان 0.045 mg/ml در زمان پس از گل دهی در عصاره گیاه وجود دارد، همچنین در مورد ترکیب آسیاتیکوزید بیشترین مقدار در هنگام

و خشک کردن با فریزدرایر و بدست آوردن پودر خشک توصیه می‌گردد و همچنین زیستگاه‌های دور از مرداب، دارای نور مستقیم خورشید (چماچا) پتانسیل بالاتری را نسبت به زیستگاه مجاور مرداب و در زیر سایه درختان (آبکنار) در تولید مواد موثره دارویی نشان می‌دهند.

تقدیر و تشکر

مولفان لازم می‌دانند از معاونت پژوهش و فن‌آوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن به خاطر حمایت مالی از این پژوهش تشکر و قدردانی نمایند.

References

- [1] Gohil K. J., Patel J. A. and Gaijar A. K. 2010. Pharmacological review on *Centella asiatica*. A potential herbal cure- all, 72(5): 445-556.
- [2] Hashim P. 2011. International food research jornal. *Centella asiatica* in food beverage applications on its potential antioxidant and neuroprotective effect. International Food Research Jornal, 18(4):1215-1222.
- [3] Hashim P., Sidek H., Helan M. H. M., Seberg A., Palansamy V. D. and Ilham M. 2011. Triterpene composition and bioactivities of *Centella asiatica*. Molecules, 16: 1310-1322.
- [4] Joshi K. and Caturved P. 2013. Therapeutic efficiency of *Centella asiatica* (L.) urban on under utilized green leafy vegetable, 4(1): 135- 149.
- [5] James J. T. and Duberg I. A. 2009. Pentacyclic Triterpenoids from the medicinal herb, *Centella asiatica* (L.) Urban. Molecules, 14: 3922-3941.
- [6] James J. and Duberg I. 2011. Identification and quantification of triterpenoids centelloids in *Centella asiatica* (L.) Urban by densitometric TLC. Journal of Planner Chromatography, 24(1):81-87.
- [7] Nithyanandam R., Shaperi M. S. and Nassir M. H. 2014. Antioxidant potential malasian herb *Centella asiatica*. 3rd international and biology, 78:11.

همچنین مقایسه نتایج بدست آمده از تفاوت نوع عصاره آبی و هیدروالکلی در منطقه چماچای شفت نشان می‌دهد که هر چهار ترکیب موثره دارویی در عصاره آبی میزان بسیار بالاتری دارند، بطوریکه میزان مادکاسوزید $3/879\text{ mg/ml}$ در عصاره آبی و $0/05\text{ mg/ml}$ در عصاره هیدروالکلی، میزان آسیاتیکوزید $1/6\text{ mg/ml}$ در عصاره آبی و $0/15\text{ mg/ml}$ در عصاره هیدروالکلی، میزان مادکازیک اسید در عصاره آبی $0/25\text{ mg/ml}$ و در عصاره هیدروالکلی $0/12\text{ mg/ml}$ و سرانجام میزان آسیاتیک اسید $0/91\text{ mg/ml}$ در عصاره آبی و در عصاره هیدروالکلی $0/16\text{ mg/ml}$ می‌باشند.

علاوه بر این مقایسه نوع زیستگاه در میزان ترکیبات موثره دارویی نشان می‌دهد که هر چهار ترکیب موثره در عصاره‌گیری هیدروالکلی در منطقه چماچای شفت میزان بسیار بالاتری نسبت به عصاره هیدروالکلی در منطقه آبکنار انزلی دارند. بطوریکه در مورد مادکاسوزید این مقدار در منطقه چماچا $0/06\text{ mg/ml}$ و در منطقه آبکنار $0/04\text{ mg/ml}$ مورد ترکیب آسیاتیکوزید در منطقه چماچا $0/15\text{ mg/ml}$ ولی در منطقه آبکنار $0/02\text{ mg/ml}$ ، در مورد ترکیب مادکازیک اسید در منطقه چماچا $0/12\text{ mg/ml}$ ولی در منطقه آبکنار $0/09\text{ mg/ml}$ و نهایتاً برای ترکیب آسیاتیک اسید در منطقه چماچای $0/16\text{ mg/ml}$ و در منطقه آبکنار $0/08\text{ mg/ml}$ می‌باشد که کاملاً اختلافات قابل تأملی مشاهده می‌گردد. البته اختلافات بسیار زیادی نیز در مقایسه میزان ترکیبات موثره دارویی عصاره آبی و حتی هیدروالکلی در منطقه چماچا نسبت به منحنی‌های استاندارد مشاهده می‌گردد. نهایتاً جهت بدست آوردن بالاترین میزان ترکیبات موثره روش عصاره‌گیری آبی

- [8] Rattan S. and Yasurin P., 2014. Review: Antibacterial, Antioxidant and Chemical Profile of *Centella asiatica*. Biomedical and Pharmacology Journal, 7(2): 445-451.
- [9] Samboon J., Kankaisre M., Tantisira B. and Tontisira M. H. 2012. Wound healing activities of different extracts of *Centella asiatica* in incision and burn wound models. An experimental animal study. BMC complementary & Alternative Medicine, 12: 103.
- [10] Shival R. P. and Shival R. 2012. Review on *Centella asiatica* A wonder drug. International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences, 1(3): 1369-1375.
- [11] Singh S., Gautam A., Sharma A. and Batra A., 2010. *Centella asiatica* (L.) Urban: A plant with immense medical potential but threatened. International Journal of Pharmaceutical Sciences, 4(2): 9-17.
- [12] Taemchuay O., Rukwamsuk T., Sakpuaram T., Ruangwises N. 2009. Antibacterial activity of crude extracts of *centella asiatica* against staphylococcus aureus in Borine Mastitis. Kasetsart Veterinoians, 19(3) 119-128.
- [13] Tiwari R. K., Chand S., Deepak M., Marli B. and Agarwal A. 2010. HPLC method validation for stimulation estimation of madecassoside, asiaticoside and Asiatic acid in *Centella asiatica*, Journal of Chemical and Pharmaceutical Reseach, 2(3): 223- 229.
- [14] Zeinol N. A., Woo S. C., Sarmidi M.R. and Aziz R. A. 2008. Profiling of *Centella asiatica* (L.) Urban extract. The Malaysian Journal of Analytical Sciences, 12(2): 322-327.