مروری بر گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) با تأکید بر عمده‌ترین ترکیبات ثانویه و ویژگی‌های زراعی و دارویی آن

محبوبه ضیائی[1]، مظفر شریفی[2*]، حسنعلی نقدی‌بادی[3]، ژاله تحصیلی[4]، مجید قربانی نهوجی[5]

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه زیست فن‌آوری گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فن‌آوری، تهران، ایران
۲- دانشیار، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳- دانشیار پژوهش، گروه کشت و توسعه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج، ایران
٤- دانش‌آموخته دکتری تخصصی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۵- استادیار پژوهش، گروه کشت و توسعه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران
*آدرس مکاتبه: تهران، بزرگراه چمران، تقاطع جلال آل احمد، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی
صندوق‌پستی: ١٥٤-١٤١١٥، تلفن و نمابر: ٨٢٨٨٤٤٤٥ (٠٢١)
پست الکترونیک: msharifi@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۱٤ **تاریخ تصویب:** ۹۳/٤/۱٤

چکیده

گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.)، یکی از جنس‌های مهم تیره نعناع بوده و به عنوان یک گیاه دارویی شناخته شده در ایران مورد استفاده قرار می‌گیرد. اسانس این گیاه به طور عمده شامل فنیل پروپانوئیدها است که در درمان بیماری‌هایی چون سردرد، اسهال، سرفه، زگیل، کرم روده و نارسایی‌های کلیوی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مهم‌ترین ترکیبات فنیل پروپانوئیدی آن شامل اوژنول، چاویکول، متیل اوژنول، متیل چاویکول، مرسیتین، فنیل سینامات و المیسین می‌باشند. بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها که از مسیر شیکیمات می‌گذرد، توسط یک گروه آنزیمی تنظیم می‌شود. آنزیم‌های کلیدی و اصلی در مسیر تولید فنیل پروپانوئیدها شامل فنیل آلانین آمونیا - لیاز (PAL)، سینامات ٤-هیدروکسیلاز (C4H)، ٤-کومارات COA لیگاز (4CL)، P-کومارات ۳-هیدروکسیلاز (C3H) و گروه آنزیمی O- متیل ترنسفرازها (CVOMT, EOMT, COMT) می‌باشند. فنیل پروپانوئیدها همچنین در شرایط تنش در ناحیهٔ تنش تولید می‌شوند و گیاه را در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی حفظ می‌کنند. هدف از این تحقیق معرفی جنس ریحان و کاربرد دارویی آن در ایران و مروری بر مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوییدها به عنوان یک بخش مهم اسانس در این جنس و همچنین بررسی ویژگی‌های زراعی آن می‌باشد.

گل‌واژگان: ریحان (*Ocimum basilicum*)، ترکیبات اسانس، کاربرد دارویی، فنیل پروپانوئیدها، ویژگی‌های زراعی

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

وابستگی شدید ایران به واردات مواد اولیه دارویی و خروج مقادیر زیادی ارز حاصل از صادرات نفت خام لزوم توجه جدی به استعدادها و توانمندی‌های موجود در زمینه‌های تولید، بهره‌برداری و فرآوری محصولات دارویی گیاهی را آشکار می‌سازد. همچنین به دلیل سابقه دیرینه در طب سنتی و گیاه درمانی، این امر بیش از پیش احساس می‌شود. به همین دلیل و نیز به جهت اجتناب و یا کاهش اثرات سوء ناشی از مصرف روزافزون داروهای شیمیایی، گرایش جهانی و رویکرد عمومی به استفاده از گیاهان دارویی رو به افزایش است. بررسی‌ها نشان داده است که برخی از انواع ترکیبات موجود در گیاهان که در آزمایشگاه به صورت خالص تهیه می‌شوند اگر همراه با سایر ترکیبات موجود در گیاه به مصرف برسند، عوارض جانبی آنها از بین رفته و تنها اثرات مفید آن در فرد آشکار می‌شود [۱]. شناخت گیاهان دارویی و استفاده دارویی یا صنعتی از ترکیبات موجود در آنها از قدیم مورد توجه محققین زیادی قرار گرفته است. گیاه ریحان از خانواده نعناعیان از دیرباز به عنوان یک گیاه دارویی در درمان خیلی از بیماری‌ها مورد توجه بوده است و با بررسی‌های انجام شده، اسانس این گیاه و مخصوصاً ترکیبات فنیل پروپانوئیدی به عنوان ترکیبات اصلی دارویی این گیاه شناخته شده‌اند. هدف از این تحقیق در ابتدا معرفی گیاه ریحان و اهمیت آن در کشاورزی ایران به عنوان یک گیاه دارویی و سپس بررسی ویژگی‌های زراعی این گیاه و همچنین مروری بر مسیر بیوسنتزی ترکیبات فنولی اسانس این گیاه و بخصوص فنیل پروپانوئیدها می‌باشد.

تاریخچه

ریحان یکی از گیاهان دارویی است که به لحاظ دارا بودن مقدار زیادی اسانس در اندام‌های رویشی کاربرد دارویی داشته و در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. نام گونه ریحان از basileus یونانی، به معنی پادشاه، گرفته شده است زیرا قصر پادشاهان یونان باستان را با اسانس این گیاه معطر می‌کردند. از این رو، نام گونه مذکور (Basilicum) نامگذاری شده است. نام جنس آن نیز از okimon یونانی به معنی خوشبو و معطر گرفته شده است. در ایران و مالزی ریحان را برای احترام روی قبرها می‌کاشتند. در مصر زنان روی مکان‌های استراحت خودشان ریحان را می‌پراکندند. در اروپای شمالی، عاشقان شاخه‌های ریحان را به نشانه صداقت و وفاداری هدیه می‌دادند [۲، ۱].

مشخصات گیاه شناسی ریحان

ریحان یک گیاه مهم دارویی از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است که نام علمی آن *Ocimum basilicum* L. می‌باشد [۳، ۲]. گیاهی یک‌ساله و علفی است که تنوع زیادی در سطح مورفولوژی و ترکیبات ثانویه و مخصوصاً اسانس دارد [٤]. این جنس دارای ۵۰ تا ۱۵۰ گونه علفی و بوته‌ای است که حتی در برخی از منابع به بیش از ۱۵۰ گونه نیز اشاره شده است، به همین سبب یکی از بزرگ‌ترین جنس‌ها در خانواده نعناعیان به شمار می‌رود [۵] که در میان آنها *O. basilicum* مهم‌ترین گونهٔ اقتصادی است [۳، ۱]. تاکسونومی جنس ریحان دارای پیچیدگی خاصی است و این به خاطر هیبریداسیون‌های بین گونه‌ای و واقعهٔ پلی‌پلوئیدی است که در این جنس به وفور یافت می‌شود [٤]. منشاء این گیاه هند، ایران و افغانستان گزارش شده است [۷، ٦، ۳]. جنس *Ocimum* شامل گونه‌های متعددی است که مهم‌ترین آنها عبارتند از: *Ocimum basilicum*، *Ocimum gratissimum*، *Ocimum canum*، *Ocimum sanctum* و *Ocimum carnosum*.

گونه *Ocimum basilicum* بیش از ٦۰ واریته دارد. مهم‌ترین آنها عبارتند از: *Ocimum basilicum Var. minima*، *Var. glabratum*، *Var. album*، *Var. darkopal* [۱]. ریشه ریحان مستقیم و مخروطی شکل است. طول ریشه بین ۱۰ تا ۱٦ سانتی‌متر می‌باشد. ریشه انشعاب‌های فراوانی دارد. ساقه چهارگوش و مستقیم است و انشعاب‌های کم و بیش فراوانی دارد. ارتفاع این گیاه متفاوت است و به شرایط اقلیمی محل رویش گیاه بستگی دارد و بین ٤۰ تا ٦۰ سانتی‌متر است.

Archive of SID
www.SID.ir

برگ‌ها پهن به صورت متقابل بر روی ساقه و به رنگ سبز و کناره‌های آن صاف و فاقد دندانه است. گل‌ها کوچک و به رنگ سفید یا صورتی روشن است که به صورت مجتمع در چرخه‌های ٦ گلی واقع در انتهای ساقه‌های اصلی و فرعی ظاهر می‌شوند. در هر چرخه ۱۷ تا ۱۸ گل قرار می‌گیرد. کاسه گل، تخم‌مرغی یا استکانی شکل است، ۵ دندانه دارد و همراه با میوه رشد می‌کند. دانه آن سیاه‌رنگ یا قهوه‌ای تیره است [۸، ۲]. در مطالعات فیلوژنی با توجه به وجود دانه‌های گرده شش شیاری و توالی‌های ژنوم کلروپلاستی مانند rbcl، گیاه ریحان به عنوان گیاهی تک نیا شناخته می‌شود [۹].

اکولوژی

ریحان گیاهی است روز بلند و حساس به سرما که به خوبی در خاک‌های مرطوب با زهکشی مناسب و در نور کامل خورشید و هوای گرم رشد می‌کند. ریحان قادر به تحمل تنش خشکی نمی‌باشد. گزارش شده است که ریحان در خاک‌هایی با بافت متوسط با مقادیر فراوان ترکیبات هوموسی رشد خوبی دارد. رویش ریحان در محدوده pH بین ۵/۵ تا ۷/۲ است. pH مناسب برای آن ٦/٤می‌باشد. با توجه به پتانسیل بالای ریحان در جذب عناصر سدیم و پتاسیم نیاز ریحان به پتاس فراوان، گزارش شده است [۱۰، ۲]. ریحان به طور طبیعی در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری رشد می‌کند مخصوصاً در مناطق آسیا، آفریقا، آمریکای مرکزی و جنوبی مشاهده می‌شود [۷]. ریحان در ایران فقط یک گونه به نام *Ocimum basilicum* دارد که در کرمان، آذربایجان و خراسان از آن نام برده‌اند [۸].

کشت گیاه ریحان

کشت ریحان نیازمند آبیاری فراوان، هوای گرم و نور کافی است. این گیاه به طریق بذر تکثیر می‌یابد و دمای مناسب برای جوانه‌زنی بذر ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. بذرها بعد از ۸ – ١٤روز در محیط یا ١٤ تا ۲۰ روز در گلخانه جوانه می‌زنند. درصد جوانه‌زنی ریحان بین ۸۰ تا ۹۵ درصد می‌باشد [۲]. همچنین، زمان مناسب برای کشت آن در اوایل فصل بهار است و این گیاه به سرما بسیار حساس می‌باشد. در طول رویش به آب کافی نیاز دارد به طوری که از بدو سبز شدن بذر تا برداشت پیکر رویشی به ۵۰۰ تا ۵۵۰ میلی‌متر آبیاری نیازمند است. ریحان در طول رویش به ۱۵۰۰ ساعت روشنایی نیاز دارد. همچنین به مواد و عناصر غذایی کافی نیازمند است. خاک مناسب برای کاشت ریحان، خاک‌هایی با بافت متوسط یا خاک‌های لوم شنی با مقادیر فراوان ترکیبات هوموسی همراه با pH برابر با ٦/٤ است. از آنجایی که گیاه ریحان گیاهی است دارویی و معطر که در سراسر دنیا کشت می‌شود، بررسی تأثیر فاکتورهای مهم زراعی بر عملکرد کیفی و کمی این گیاه ضروری است. اولین فاکتور پتاس است که نیاز ریحان به این ترکیب بسیار زیاد گزارش شده است و در تحقیقی مشخص شد که کود پتاسه باعث افزایش طول گیاه، افزایش سرشاخه‌ها و بالا رفتن بازده محصول می‌شود [۱۰، ۲]. همچنین مشخص شده است که دو عامل مهم زراعی یعنی تراکم کاشت و کود نیتروژن بر عملکرد کیفی و کمی گیاه ریحان تأثیر بسزایی داشته است به طوری که این دو عامل به سبب افزایش عملکرد ماده خشک، باعث افزایش عملکرد اسانس در واحد سطح شده‌اند [۱۱]. در تحقیقی دیگر مشخص شد که استفاده از محرک‌های زیستی از قبیل کادوستیم و همچنین کودهای زیستی از قبیل نیتروکسین می‌توانند اثرات مهمی بر روی مورفولوژی گیاه ریحان و افزایش پارامترهای رشدی این گیاه از قبیل رشد طولی گیاه، تعداد ساقه‌های ثانویه در گیاه، تعداد برگ‌ها و در نتیجه وزن خشک و تر گیاه شوند [۱۲]. ناگفته نماند که استفاده از متانول و کود نانوآهن به طور توأم با نسبتی مشخص نیز می‌توانند بر روی مورفولوژی گیاه ریحان و زیست توده گیاه و در نهایت بر روی میزان اسانس آن تأثیر بسزایی داشته باشند [۱۳].

کولتیوارهای ریحان در رنگ برگ (سبز، بنفش)، رنگ گل (سفید، قرمز، بنفش) و اسانس (طیف وسیعی از ترکیبات فنلی و ترکیبات طبیعی از قبیل پلی فنل‌هایی چون فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها) تنوع دارند [٦، ۵]. کشت اعضای تیرهٔ نعناع از قبیل نعناع، مریم گلی، پونه کوهی، آویشن، ریحان و... بیشتر به منظور بهره‌برداری از ترکیبات فنولی و اسانسی در سطوح وسیعی در کشورهای فرانسه، آمریکا (کالیفرنیا)، اندونزی،

Archive of SID

www.SID.ir

مراکش، اسپانیا، مصر، پاکستان و شمال آفریقا انجام می‌شود [١٤، ٢]. ریحان در ایران فقط یک گونه به نام *Ocimum basilicum* دارد که در تمام نقاط ایران کاشته می‌شود [٨].

کاربردهای گیاه ریحان

الف) کاربردهای غذایی، آرایشی و بهداشتی

ریحان همچنین به عنوان یک سبزی خوراکی می‌باشد که برگ‌های خشک شده‌ی آن به عنوان طعم‌دهنده و برای کمک به هضم غذا به بسیاری از غذاها اضافه می‌شود و از دیرباز برای محافظت از فساد مواد غذایی و همچنین به عنوان سبزی تازه استفاده می‌شود [١٥، ٧]. یک اونس معادل با ٢٨/٣٥٠ گرم از برگ تازه ریحان، ١٢ کالری انرژی، ٠/٩ گرم پروتئین، ٠/٣ گرم چربی، ٢ گرم کربوهیدرات، ٠/٩١ میلی‌گرم کلسیم، ٠/٣ میلی‌گرم آهن، ١٢/٣٨٠ واحد ویتامین A و ٨ میلی‌گرم ویتامین C دارد [١٦]. ریحان همانند سایر گیاهان خانواده نعناع منبع ترکیبات حلقوی و اسانس است که دافع حشرات بوده و عملکرد ضد انگلی، ضد باکتریایی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانتی دارد [١٥، ٧، ٦، ٣، ٢] و در صنایع آرایشی و بهداشتی نیز استفاده می‌شود [٢]. اسانس ریحان به عنوان ادویه در شیرینی‌پزی، سالاد، نوشیدنی‌های غیرالکلی و بستنی و نیز در کارخانجات عطرسازی و محصولات دهانی و دندانی نظیر خمیردندان کاربرد دارد [٧، ٣].

ب) کاربردهای دارویی

گیاه ریحان از قدیم دیرباز به طور سنتی به عنوان یک گیاه زینتی و دارویی در درمان بیماری‌هایی چون سردرد، سرفه، اسهال، انگل‌ها، زگیل‌ها، ناراحتی‌های کلیوی و همچنین برای مداوای بزرگ شدن طحال مورد استفاده قرار می‌گیرد [١٥، ٧، ٣]. همچنین در طب سنتی از برگ‌ها و نوک گل‌های ریحان به عنوان ضد نفخ، افزایش دهنده‌ی شیر، درمان برخی ناراحتی‌های قلبی، اشتهاآور و داروی گیاهی ضد تشنج هم استفاده می‌شده است [٣، ٢]. در قرن یازدهم میلادی، از ریحان مخلوطی می‌ساختند که در درمان تومورهای سرطانی استفاده می‌شد. زیرا ریحان با تحریک سیستم ایمنی، تولید پادتن را ٢٠ درصد افزایش می‌دهد. در قرن هفدهم میلادی، از ریحان برای درمان سرماخوردگی، زگیل‌ها و انگل‌های روده‌ای به طور وسیعی در اروپا استفاده می‌شد. در گیاه درمانی، از عصاره ریحان در مارگزیدگی برای خنک کردن محل گزش استفاده می‌شده است. پژوهشگران هندی گزارش کردند که ریحان باکتری‌های پوستی را در محل جوش‌های صورت می‌کشد [١٦]. به طور خلاصه اثر ریحان روی اندام‌های بدن به قرار زیر است:

- درمان‌های پوستی: درمان نیش حشرات، دافع حشرات بوده و اثر نیرو بخشی روی پوست دارد. پوست را به هم فشار می‌دهد و به کنترل آکنه (جوش صورت) کمک می‌کند.
- گردش خون، ماهیچه‌ها و غضروف‌ها: درمان نقرس، درد ماهیچه‌ای و روماتیسم (درد مفاصل).
- سیستم تنفسی: درمان برونشیت، سرفه، درد گوش و ورم سینوس‌ها. ریحان سبب بازسازی حس بویایی به هنگام احتقان سینوس‌ها می‌شود.
- سیستم گوارشی: درمان سوء هاضمه، نفخ شکم و حالت تهوع و استفراغ
- سیستم ادراری – تناسلی: درمان درد عضلات شکم در دوره‌های خونروی ماهانه
- سیستم ایمنی: درمان سرماخوردگی، تب، آنفلوآنزا و بیماری‌های عفونی
- سیستم عصبی: درمان اضطراب و نگرانی، افسردگی، خستگی، بی‌خوابی، حمله‌های میگرنی (سردرد شدید) و فشار عصبی. به هنگام احساس ضعف و ناتوانی و منقلب شدن احساسات، ریحان اثر نیروبخشی روی سیستم عصبی دارد و سبب تمرکز فکری و روانی می‌شود [١٦].

ج) کاربردهای سنتی گیاه ریحان در ایران:

گیاه ریحان به صورت سنتی و بومی در مناطق مختلف ایران به طور قابل توجهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به طور معمول کاربردهایی از قبیل درمان دل درد، رفع یبوست، رفع

Archive of SID
www.SID.ir

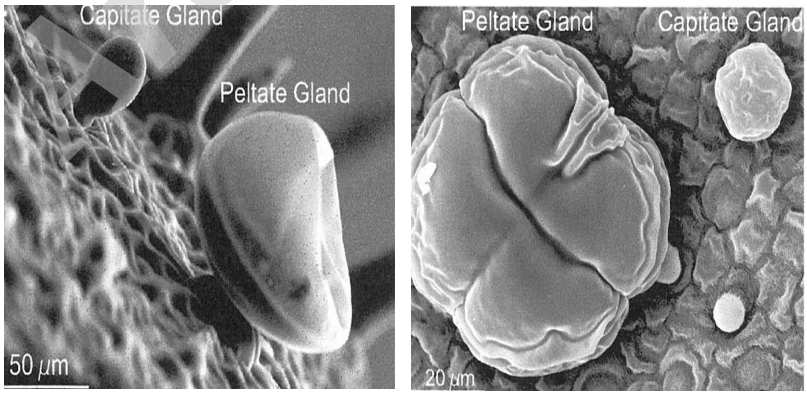
کم‌خونی، جلوگیری از سکته قلبی، ممانعت از افسردگی، افزایش تولید اسپرم، جلوگیری از تهوع، افزاینده‌ی شیر مادر و ایجاد احساس شادی و نشاط را در مناطق مختلف ایران می‌توان دید. اما به طور خاص می‌توان به مناطقی چون کازرون (استان فارس) اشاره کرد که در این ناحیه از این گیاه برای التیام زخم دهان و کاهش تب استفاده می‌کنند و یا در منطقه دشتستان (استان بوشهر) ریحان به عنوان آرام‌بخش، تقویت‌کننده معده و ضد التهاب شناخته می‌شود و مورد استفاده اهالی آن مناطق قرار می‌گیرد [۱۸، ۱۷].

آثار فارماکولوژیکی

اثر ضد میکروبی تعدادی از گونه‌های ریحان بر باکتری‌های گرم مثبت و منفی و همین‌طور قارچ‌های بیماری‌زا و غیربیماری‌زا بررسی شده و گونه‌ی ریحان فرانسوی، اثر خوبی روی درماتوفیت‌ها نشان داده است. عصاره‌ی آبی و الکلی برگ‌های ریحان فعالیت ضد زخم‌زایی در دستگاه گوارش موش آزمایشگاهی نشان داده‌اند. این اثر را مربوط به فلاونوییدهای موجود می‌دانند [۱۹].

آناتومی اندام‌های تولیدکننده اسانس در ریحان

در ریحان، سطح برگ، ساقه، کاسبرگ و سطوح گل با چندین نوع ساختار پوشیده شده است. این ساختارها، کرک‌های نازک (hairy trichomes) و دو نوع کرک ترشحی (Glandular trichomes) می‌باشند [۲۰]. بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که محل تجمع اسانس و ترکیبات فنیل-پروپانوئیدی در سلول‌های اپیدرمی و در کرک‌ای ترشحی می‌باشد. مانند سایر اعضای تیره‌ی نعناع، ریحان نیز دارای دو نوع کرک غده‌ای - ترشحی در سطح برگ‌های خود می‌باشد، کرک‌های سپری شکل که از ٤ یا ٨ سلول ترشحی تشکیل شده‌اند و کرک‌های رأسی شکل که شامل ۱ یا ۲ سلول ترشحی هستند (شکل شماره ۱) [۲۰]. کرک‌های غده‌ای سپری شکل ریحان که در سطح برگ، ساقه و گل قرار دارند حاوی ترکیبات فنیل پروپانوئیدی، سزکویی‌ترپن‌ها و مونوترپن‌ها هستند و آنزیم‌های تشکیل دهنده‌ی این ترکیبات در این محل قرار دارند [۲۲، ۲۱] و با توجه به گونه ریحان میزان ترکیبات سنتز شده در غدد متفاوت است [۲۲]. دو گروه بزرگ آنزیمی در کرک‌های غده‌ای ریحان، مستقیماً در تشکیل فنیل-پروپانوئیدها دخالت دارند. اولین گروه، آنزیم‌هایی هستند که در تشکیل و متابولیسم پارا کوماریک و فرولیک اسید دخالت دارند. آنزیم‌های گروه دوم در بیوسنتز و بازسازی s- آدنوزیل متیونین (SAM)، که گوهرمایه واکنش نهایی در تشکیل متیل چاویکول است دخالت دارند [۲۳، ۲۰]. محل ذخیرهٔ فنیل-پروپانوئیدها در سطح زیر سلولی در واکوئل‌ها است که به صورت آزاد و یا در ترکیب با قندها می‌باشند [۲٤].



شکل شماره ۱- تصاویر SEM از کرک‌های غده‌ای سپری و رأسی شکل سطح زیرین برگ‌های جوان ریحان

Archive of SID
www.SID.ir

ترکیبات فنولی و اسانس ریحان

ترکیبات فنولی به میزان فراوان در همهٔ گیاهان وجود دارند و عامل چندین هزار ترکیب شیمیایی در گیاهان هستند که پایهٔ ساختاری همهٔ آنها حلقهٔ آروماتیک است [۲۵]. این ترکیبات چندین نقش مهم در گیاهان بازی می‌کنند، باعث ایجاد رنگ، طعم و ویژگی‌های فیزیولوژیکی خاصی در گیاهان می‌شوند و از گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی به خصوص علف‌کش‌ها محافظت می‌کنند [۲۵]. فعالیت ترکیبات فنلی مربوط به خواص اکسیداسیون- احیاء آنهاست که نقش مهمی در جذب و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، فرونشانی اکسیژن‌های فعال و یا پراکسیدازهای تجزیه‌کننده دارد [۳]. اسانس گیاه ریحان به طور کلی از ترکیبات خاص فنولی تشکیل شده است. جوانمردی و همکاران در سال ۲۰۰۲ به بررسی ترکیبات فنولی از نظر چگونگی کیفیت و کمیت و ویژگی‌های شیمیایی و ساختاری در ۲۳ نوع ریحان در ایران پرداختند و به گونه‌هایی از ریحان دست یافتند که از نظر میزان و نوع ترکیبات فنولی و کیفیت اسانس در کشاورزی دارای اهمیت است [۳]. با وجود استفاده‌ی وسیع و اهمیت گیاه ریحان و اسانس آن در مصرف روزانه، اطلاعات کمی از مسیر بیوسنتزی و اثر تنظیمی ترکیبات مؤثر بر کیفیت محصول و تولید اسانس وجود دارد. در آغاز قرن بیستم روش‌های فیتوشیمیایی متعددی مانند اسپکتروفتومتری، انواع کروماتوگرافی، GC-MS و... به ما این امکان را می‌دهند تا اطلاعاتی در مورد انواع ترکیبات فنولی و اسانس گیاهان، چگونگی ساختار، وزن مولکولی و... به دست بیاوریم [۲۵]. تحقیقاتی که در طی ۵۰ سال اخیر بر روی متابولیت‌های ثانویه و بخصوص ترکیبات فنولی انجام شده است شامل:

الف) بررسی و ردیابی آنزیم‌های کلیدی و اصلی در مسیر تولید ترکیبات فنولی و مخصوصاً فنیل پروپانوئیدها

ب) بررسی میزان بیان ژن آنزیم‌های مسیر تولید این ترکیبات با استفاده از زیست‌شناسی مولکولی

ج) تعیین توالی ژن‌های گیاه و بررسی تنوع و تعداد ایزوزیم‌های آنزیم‌های مربوط به این مسیر

د) انجام فعالیت‌های مهندسی ژنتیک برای بهینه کردن ترکیبات فنولی موردنظر در گیاه و بالا بردن کیفیت محصولات کشاورزی [۲۵]. بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که اسانس ریحان و سایر گیاهان این تیره معمولاً به سه گروه تقسیم می‌شوند: **۱**- فنیل پروپانوئیدها، **۲**- مونوترپن‌ها، **۳**- سزکویی‌ترپن‌ها [۳۱]. مقدار اسانس با توجه به شرایط اقلیمی و محل رویش متفاوت بوده و بین ۰/٤ تا ۱/۵ درصد وزن خشک گیاه است [٤، ۲]. تعداد زیادی از ریحان‌های تجاری از نظر نوع و خواص ترکیبات شیمیایی متفاوت هستند [٤]. بر اساس نواحی مختلف جغرافیایی و ترکیبات مؤثر اسانس تقسیم‌بندی در جنس ریحان انجام شده است: **۱)** انواع مربوط به نواحی اروپایی که ترکیب عمده‌ی اسانس، لینالول و متیل چاویکول است. **۲)** نواحی گرمسیری مثل هند و پاکستان که اسانس غنی از متیل‌سینامات است. **۳)** انواع مربوط به نواحی رونیون مثل تایلند که اسانس حاوی مقدار زیادی متیل‌چاویکول است [۲٦، ٤]. پور بزرگی و همکاران در سال ۱۳۸٦ با بررسی و آنالیز اسانس دو کولتیوار ریحان سبز و بنفش ایرانی به روش GC/MS نشان دادند که بیش از پنجاه ترکیب مختلف در اسانس این گیاه وجود دارد که بیشترین ترکیب مؤثر در آن متیل چاویکول (استراگول) و سیترال می‌باشد که بیش از ۷۰ درصد اسانس را به خود اختصاص می‌دهند [۲۷]. در تحقیق دیگری مشخص شده است که میزان فنیل‌پروپانوئیدها و در نتیجه میزان متیل چاویکول و متیل اوژنول در ریحان بنفش حداقل دو برابر ریحان سبز است و این تفاوت در سطح بیان ژن‌های مربوط به تولید این ترکیبات نیز دیده می‌شود [۲۸].

ترکیبات فنیل‌پروپانوئیدی

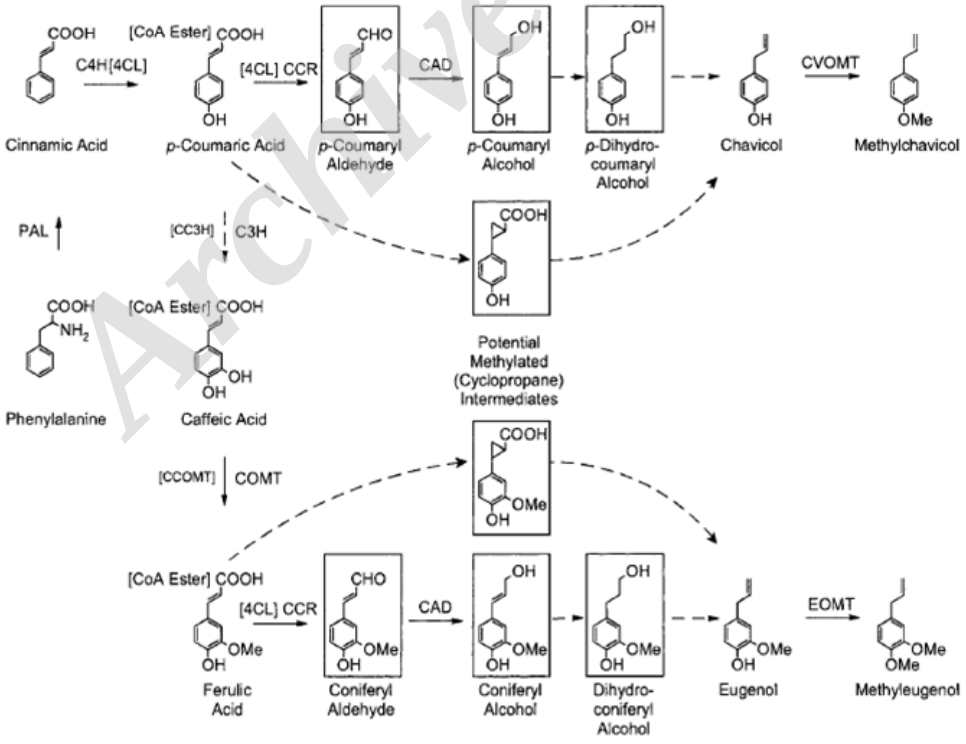
بخش عمده و مهم اسانس گیاه ریحان فنیل‌پروپانوئیدها می‌باشند که ۹۰ درصد ترکیبات اسانس را شامل می‌شوند. ترکیبات مهم فنیل پروپانوئیدی شامل اوژنول، چاویکول، متیل‌اوژنول، متیل‌چاویکول، مرسیتین، فنیل‌سینامات و المیسین می‌باشند که به اسانس ریحان خاصیت دارویی می‌دهند [۲۰]. ترکیبات فنیل‌پروپانوئیدی برای سلامتی گیاه و جانور دارای اهمیت هستند [۲۹]. بعضی از ترکیبات فنیل‌پروپانوئیدی در

Archive of SID
www.SID.ir

شرایط تنش تولید می‌شوند و این ترکیبات در شرایط تنشی مختلف و در گیاهان مختلف و در بافت‌های مختلف یک گیاه می‌تواند یکسان باشد [۳۰]. عوامل ایجاد کننده تنش که محرک تولید فنیل‌پروپانوئیدها می‌باشند شامل کمبود آهن، نیترات و فسفات خاک، دمای پایین، عوامل بیماری‌زا، زخمی شدن گیاه و اشعه‌ی UV می‌باشند [۲٤]. فنیل‌پروپانوئیدها در محل تنش تولید می‌شوند مثلاً در هنگام مواجهه با اشعه‌ی UV در بالاترین ردیف سلول‌های اپیدرمی تولید می‌شوند [۲٤]. بیوسنتز فنیل‌پروپانوییدها از مسیر شیکمات می‌گذرد و توسط یک گروه آنزیمی هدایت می‌شود که این آنزیم‌ها یا به صورت آزاد و یا در ارتباط با غشاهای سلولی می‌باشند [۳٤]. ترکیبات فنولی از سینامیک اسید مشتق می‌شوند که این ترکیب از عمل آمین‌زدایی توسط آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیا- لیاز (PAL) بر روی L- فنیل‌آلانین حاصل می‌شود و این اولین مرحله در تولید فنیل‌پروپانوئیدها است [۳۱، ۲۰]. ارتباط بیوسنتزی تعدادی از ترکیبات فنیل‌پروپانوئیدی در شکل شماره ۲ مشخص شده است.

آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا- لیاز (PAL)

آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) یک آنزیم حدواسط بین متابولیسم اولیه و ثانویه در گیاهان است [۳۲] که این آنزیم برای اولین بار در سال ۱۹٦۱ توسط کوکل (Koukol) و کُن (Conn) [۳۳] شرح داده شد. آنزیم PAL در اکثر گیاهان، برخی از قارچ‌ها و باکتری‌ها وجود دارد اما در جانوران یافت نمی‌شود [۳۵، ۳٤، ۲۰]. سوبسترای اصلی این آنزیم، L- فنیل-آلانین است اما معمولاً در تک‌لپه‌ای‌ها، تیروزین و هیستیدین نیز به عنوان سوبسترای ضعیف‌تر این آنزیم عمل می‌کنند [۳۵، ۳٤]. آنزیم PAL اولین آنزیم کلیدی و تعیین کننده در ابتدای مسیر تولید فنیل‌پروپانوئیدها است و عمل اصلی آن آمین‌زدایی از اسیدآمینه L- فنیل‌آلانین و تبدیل آن به ترانس سینامیک اسید می‌باشد که این ترکیب به عنوان اولین و مهم‌ترین حدواسط در مسیر تولید ترکیبات فنولی شناخته شده است [۲۰]. آنزیم PAL یک آنزیم هموتترامریک است که هر یک از زیر واحدهای آن توسط یک خانواده‌ی کوچک



شکل شماره ۲- مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئیدها، تولید متیل اوژنول و متیل چاویکول در ریحان

Archive of SID

www.SID.ir

مولتی‌ژنی کد می‌شود [۳۶]. وزن مولکولی آنزیم PAL در حدود ۳۳۰ kDa است و هر زیرواحد آن حدود ۷۵ kDa می‌باشد [۳۷]. ایزوزیم‌های مختلفی از این آنزیم در گیاهان وجود دارد، به طور مثال ٤ ایزوزیم در آرابیدوپسیس و حدود ٤٠ ایزوزیم در سیب‌زمینی برای این آنزیم گزارش شده است [٣٤، ٢٠]. متابولیت‌هایی که در نتیجه فعالیت PAL به وجود می‌آیند به عنوان مشتقات فنولی طبقه‌بندی می‌شوند و نقش‌های متعددی در گیاه بازی می‌کنند. به طور مثال: لیگنین به عنوان یک ترکیب ساختاری و محافظ مکانیکی در گیاه نقش دارد، آنتوسیانین به عنوان رنگدانه، فلاوونوئیدها به عنوان ترکیبی در مسیرهای سیگنالی و محافظ در برابر اشعه‌های UV، آنتی‌اکسیدانت‌ها به عنوان محافظ در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی، کومارین‌ها و فورانوکومارین‌ها، نقش ضدمیکروبی و مقاومت بر علیه آفت‌ها را دارند. سالسیلیک اسید که در پاسخ‌های دفاعی گیاهان شرکت می‌کنند و همین‌طور ترکیباتی که در پراکنش بذرها و گرده افشانی نقش دارند، همه به گونه‌ای به آنزیم PAL وابسته هستند [۳۸، ۳۱]. همچنین تولید ترکیباتی چون چاویکول و متیل‌چاویکول که بخش مهمی از اسانس ریحان و ترکیبات فنیل‌پروپانوئیدی را تشکیل می‌دهند، فرآورده نهایی مسیری هستند که با فعالیت PAL آغاز می‌شود. شواهد متعددی عنوان می‌کند که بیان و فعالیت آنزیم PAL رابطه‌ی مستقیم با میزان فنیل‌پروپانوئیدها دارد و با کاهش فعالیت این آنزیم میزان فنیل‌پروپانوئیدها نیز کاهش می‌یابد [۳۹]. آنزیم PAL به همراه یک سری آنزیم‌های دیگر این مسیر یک کمپلکس آنزیمی ایجاد می‌کند که باعث راه‌اندازی یک کانال متابولیسمی می‌شوند [۲۵]. ترکیبات اولیه و ساده‌ی فنیل‌پروپانوئیدی که از اسیدسینامیک مشتق می‌شوند دارای ساختمان کربنی C6-C3 می‌باشند که شامل کافئیک‌اسید، فرولیک‌اسید، P–کوماریک‌اسید، سیناپیک‌اسید و کومارین‌های اولیه هستند که طی واکنش‌های هیدروکسیلاسیون، متیلاسیون، دهیدراسیون اسیدسینامیک به وجود می‌آیند. اسیدهای آزاد تولید شده یا در مسیر تشکیل ترکیبات پیچیده‌تر فنیل‌پروپانوئیدی قرار می‌گیرند و یا در ترکیب با قندها در قسمت‌های مختلف سلول مانند غشاء سلولی واقع می‌شوند [٢٤].

عوامل مؤثر بر آنزیم PAL

عوامل مؤثر دربیان آنزیم PAL و در نتیجه تولید ترکیبات فنولی در گیاه شامل سن گیاه، غلظت تنظیم کننده‌های رشد، انواع تنش‌ها مانند علف‌کش‌ها، زخمی شدن بافت‌ها، مدت زمان تابش نور، اشعه‌های UV، دما و سطح نیتروژن و فسفات و... می‌باشند [٤١، ٤٠]. یکی از محرک‌های مهم و مورد توجه در بیان این آنزیم سن گیاه است که با تحقیقات انجام شده بیشترین فعالیت آنزیم (PAL) در دوران جوانی گیاه و کمترین فعالیت در گیاه بالغ پیش‌بینی می‌شود [٤١، ٤٠]. ضیایی و همکاران در سال ۲۰۱۲ به بررسی فعالیت و بیان ژن آنزیم PAL در مراحل مختلف رشد گیاه ریحان پرداختند و طی این بررسی اعلام شد که فعالیت و بیان ژن آنزیم PAL در دوران گلدهی کاهش می‌یابد [٤٢]. محرک مهم دیگر در بیان این آنزیم تنش است که شامل تنش‌های زیستی نظیر آلودگی ویروسی، باکتریایی، قارچی و... و تنش‌های غیرزیستی نظیر دماهای بالا و پایین، اشعه‌ی UV، زخمی شدن گیاه و... می‌باشند که باعث افزایش بیان و فعالیت PAL می‌شوند و مهارکننده‌ی آنزیم PAL ۲- آمینو۲- ایندانوفونیک‌اسید (AIP) و سینامالدهید گزارش شده است که میزان فعالیت PAL را کاهش می‌دهد [٤٣]. پس آنزیم PAL با افزایش بیان خود و در اثر آن افزایش میزان ترکیبات فنولی می‌تواند باعث مقاومت گیاه در برابر تنش‌ها شود [٤٤]. پس در محل تنش بیان آنزیم PAL و سایر آنزیم‌های مسیر فنیل‌پروپانوئیدهای مربوط به تنش‌ها افزایش می‌یابد [٤٥].

آنزیم‌های حدواسط در مسیر فنیل‌پروپانوئیدها

آنزیمی که بعد از آنزیم PAL در مسیر تولید فنیل-پروپانوئیدها نقش دارد آنزیم سینامات ٤- هیدروکسیلاز (C4H) است که عمل اصلی آن هیدروکسیله کردن سینامیک اسید و تبدیل آن به P- کوماریک اسید می‌باشد [۲۰]. بسیاری از مطالعات، سینامیک اسید را به عنوان یک کانال بین آنزیم‌های PAL و C4H معرفی می‌کنند که در نتیجه باعث تولید P- کوماریک اسید می‌شود که یک ماده حدواسط در مسیر تولید فنیل‌پروپانوئیدها است [۲۵]. دو مسیر بیوسنتزی

Archive of SID
www.SID.ir

برای تولید فنیل‌پروپانوئیدها وجود دارد که در شکل شماره ۲ مشاهده می‌شود [۲۰]. نقطهٔ مشترک این دو مسیر آنزیم PAL و C4H می‌باشد که این دو آنزیم از آنزیم‌های کلیدی در مسیر تولید ترکیبات فنولی می‌باشند.P - کوماریک‌اسید یا توسط آنزیم P- کومارات ۳- هیدروکسیلاز (C3H) تبدیل به کافئیک‌اسید می‌شود [۲۰] و در مسیر تولید اوژنول و متیل‌اوژنول قرار می‌گیرد و یا توسط آنزیم ٤- کومارات COA لیگاز (4CL) تبدیل به P- کوماریل آلدهید می‌شود [۲۰] که در مسیر تولید چاویکول و متیل‌چاویکول قرار می‌گیرد. این واکنش‌ها در سلول برای تولید ترکیبات فنولی به دو صورت شکل می‌گیرند، یا به همراه کوآنزیم A هستند و یا مستقل، یعنی بدون حضور کوآنزیم A انجام می‌شوند. اگر اسیدها به همراه کوآنزیم A باشند در مسیر تولید فنیل‌پروپانوئیدها قرار می‌گیرند و اگر به صورت اسیدهای آزاد باشند لیگنین و سایر ترکیبات فنولی تولید می‌شود [۲۰]. ایزوزیم‌های مختلف PAL نیز در تعیین مسیر ترکیبات فنولی دارای اهمیت هستند. یک سری از ایزوزیم‌های PAL در ارتباط با غشای شبکهٔ آندوپلاسمایی هستند و با C4H تشکیل کمپلکس غشایی را می‌دهند و مسیر را در جهت تولید فنیل‌پروپانوئیدها منحرف می‌کنند و در این صورت C4H می‌تواند فعالیت PAL را کنترل کند [۲۰] و سایر ایزوزیم‌ها به صورت محلول در سیتوزول هستند و باعث تولید سایر ترکیبات فنولی می‌شوند [۲۵]. مراحل بعدی در مسیر تولید اوژنول و متیل‌چاویکول بعد از کافئیک‌اسید و کوماریک‌اسید هنوز به خوبی شناخته نشده است [۲۰]. مطالعات رادیواکتیو نشان داده است که یک ترکیب حدواسط در تولید اوژنول، کانفرول‌الکل است که با واکنش‌های متیلاسیون و دکربوکسیلاسیون بر روی هیدروسینامیک اسید تولید می‌شود و همچنین در مسیر تولید چاویکول، P- کوماریل‌الکل به عنوان ترکیب حدواسط معرفی شده است [٤٦]. گروه آنزیمی O- متیل‌ترنسفرازها نیز (OMTs) به عنوان آنزیم‌های مؤثر و کلیدی در مسیر تولید فنیل‌پروپانوئیدهای نهایی از جمله متیل‌اوژنول و متیل‌چاویکول و همچنین تولید فرولیک اسید معرفی و مورد بررسی قرار گرفته‌اند [٤٨، ٤٧]. تحصیلی و همکاران در سال ۲۰۱۲ به بررسی میزان بیان یک سری از این آنزیم‌های کلیدی از قبیل سینامات ٤- هیدروکسیلاز، ٤- کومارات COA لیگاز، چاویکول O- متیل‌ترنسفراز، اوژنول O- متیل‌ترنسفراز در طی رشد گیاه ریحان پرداختند که در این بررسی مشخص شد که میزان نهایی اسانس گیاه ریحان در هر دو کولتیوار سبز و بنفش ایرانی با میزان بیان این ژن‌ها رابطه مستقیم دارد و به نظر می‌رسد که بیوسنتز فنیل‌پروپانوئیدها در این گیاه در سطح رونویسی یک سری از ژن‌های مسیر تولیدی تنظیم می‌شود [۲۸].

گروه آنزیمی O- متیل‌ترنسفرازها

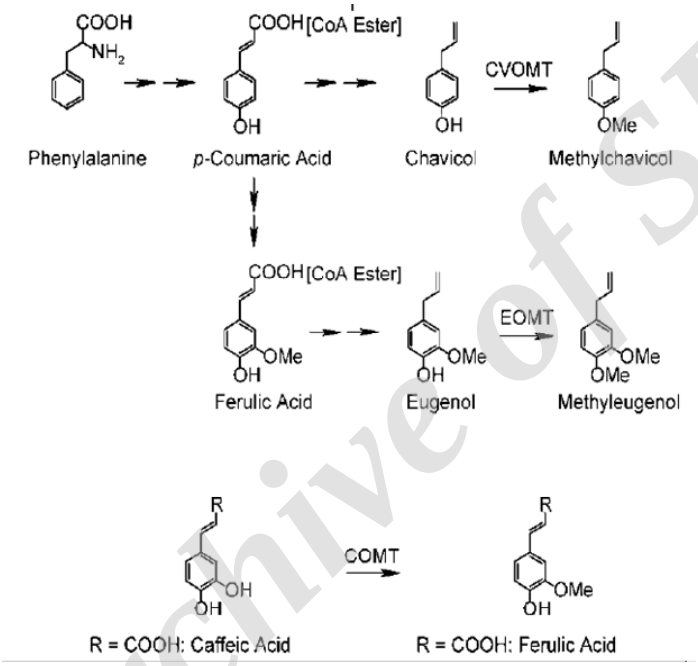
فرض بر این است که آخرین مرحله در بیوسنتز فنیل-پروپانوییدها در ریحان تولید استراگول (متیل‌چاویکول) و متیل‌اوژنول است که توسط S- آدنوزیل L- متیونین (SAM) و گروه آنزیمی O- متیل‌ترنسفرازها انجام می‌شود [١٤] که عمل این گروه آنزیمی برداشتن متیل از روی SAM و بخشیدن آن به سوبسترای پذیرنده که دارای گروه هیدروکسیل و یا کربوکسیل است، می‌باشد [۵۰، ٤٩]. در واقع متیل-ترنسفرازها آنزیم‌هایی هستند که انتقال یک گروه متیل را از S- آدنوزیل متیونین به یک سوبسترای پذیرنده کاتالیز می‌کنند و مشتقات O- متیل، N- متیل، S- متیل، C- متیل و S- آدنوزیل هوموسیستئین را می‌سازند. عمل گروه آنزیمی O- متیل‌ترنسفرازها (OMTs) در ریحان اضافه کردن گروه متیل به جایگاه OH-٤ در موقعیت پارا- هیدروکسی به اوژنول و چاویکول و کافئیک‌اسید است [٤٨، ٤٧]. بررسی‌ها نشان داده است که روند تغییرات میزان بیان ژن‌های O- متیل‌ترنسفرازها با روند تغییرات مقدار کل اسانس مخصوصاً میزان فنیل-پروپانوئیدها نسبت مشابهی دارند، پس به احتمال می‌توان گفت که این گروه آنزیمی در تنظیم میزان اسانس گیاه ریحان نقش مؤثری دارند [۵۱]. گروه آنزیمی (OMTs) در جانوران و باکتری‌ها نیز وجود دارد و عمل متیلاسیون پروتئین‌ها، RNA و DNA را انجام می‌دهند. در حالی‌که در گیاهان این گروه آنزیمی (OMTs) بیشتر برای تولید متابولیت‌های ثانویه مورد استفاده قرار می‌گیرند [۵۳، ۵۲]. شباهت بالایی بین ساختار پروتئینی آنزیم‌های گروه (OMTs) وجود دارد اما هر یک از

Archive of SID

www.SID.ir

آنزیم‌ها سوبسترای خاص خود را تشخیص می‌دهد و این به خاطر جهت تشکیل پیوندهای مؤثر هیدروژنی و واندروالسی بین آنزیم و تنها سوبسترای مربوط به خود است [٥٤]. تفاوت o- متیل‌ترنسفرازها (OMTs) در پنج اسیدآمینه در جایگاه فعال می‌باشد که سوبستراهای مختلف را تشخیص می‌دهند و انواع (OMTs) را ایجاد می‌کند [٤٩]. آنزیم‌های OMT پروتئین‌هایی با ساختار دایمر هستند که وزن مولکولی هر یک از زیرواحدهای آن در حدود kD ٤٠ - ٤٥ است [٥٥، ٢٣]. سه آنزیم از گروه OMT در مسیر فنیل‌پروپانوییدها در ریحان نقش دارند: ١) آنزیم کافئیک اسید o- متیل ترنسفراز (COMT) که کافئیک اسید را به فرولیک اسید تبدیل می‌کند. ٢) آنزیم چاویکول o- متیل ترنسفراز (CVOMT) که چاویکول را به متیل چاویکول تبدیل می‌کند و ٣) آنزیم اوژنول o- متیل ترنسفراز (EOMT) که باعث تولید متیل‌اوژنول از اوژنول می‌شود، در (شکل شماره ٣) این سه ژن به میزان بالایی در حدود ٩٠ درصد تشابه ساختار پروتئینی

A



B

Enzyme	Holoenzyme Mass (D) by Gel Filtration	Subunit Mass (D) by SDS-PAGE	Calculated Subunit Mass (D)	pH Optimum	Apparent K_m (μM) for SAM	Substrate	Apparent K_m (μM) for Substrate	Apparent V_{max} (pkat·mg^{-1})	k_{cat} (s^{-1})	k_{cat}/K_m ($nM^{-1}·s^{-1}$)
COMT1	87,000	~40,000	39,529	7 to 8	64	Caffeic acid	47	19,500	1.3×10^{-2}	0.27
						Catechol	290	6900	4.6×10^{-3}	0.02
EOMT1	81,000	~40,000	40,237	7 to 8	5	Eugenol	3	4600	3.1×10^{-3}	1.23
						t-Isoeugenol	10	1900	1.3×10^{-3}	0.13
						Chavicol	7	1300	8.7×10^{-4}	0.13
CVOMT1	87,000	~40,000	39,937	7 to 8	5	Chavicol	6	1200	8.0×10^{-4}	0.13

شکل شماره ٣- A) انواع آنزیم‌های O- متیل ترنسفراز (OMT) شرکت‌کننده در مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئیدها در ریحان
B) ویژگی‌های پروپانوئید O- متیل ترنسفرازها در ریحان

Archive of SID
www.SID.ir

دارند [۲۳]. ترکیبات حاصل از آنزیم‌های مسیر بیوسنتزی فنیل‌پروپانوییدها نقش‌های مهمی برای بقای گیاه دارند به طور مثال، روزمارینیک‌اسید (RA) یکی از استرهای کافئیک‌اسید است که خاصیت آنتی‌میکروبیال دارد و در ریشه تجمع می‌یابد [٥٦]. متیل‌چاویکول فراوان‌ترین ماده تشکیل‌دهنده اسانس گیاه ریحان است که در تمام مراحل رشد گیاه ریحان، در سطح برگ‌ها تولید می‌شود و مقدار آن در مراحل رویشی افزایش می‌یابد، به طوری که بیشترین میزان آن در اواخر مرحله‌ی رویشی به ۲۰/۸۵ درصد وزن خشک گیاه می‌رسد و این میزان در مرحله‌ی گلدهی به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد [۵۱]. اوژنول به عنوان یک علف‌کش، قارچ‌کش قوی و نماتوسید معرفی شده است [٦۰، ٥۹، ٥۸، ٥۷]. متیل اوژنول نیز یکی دیگر از ترکیبات مهم اسانس گیاه ریحان بوده که میزان حضور آن در اسانس وابسته به سن و همچنین میزان بیان ژن اوژنول o- متیل ترنسفراز است. میزان بیان این ژن در مرحله پیش‌گلدهی به بالاترین میزان خود رسیده و در نتیجه میزان متیل‌اوژنول نیز افزایش قابل توجهی خواهد داشت [۵۱]. متیل‌اوژنول در گرده‌افشانی توسط حشرات دارای اهمیت است و به عنوان ترکیبی مشابه فرومون حشرهٔ ماده در بعضی از گیاهان عمل می‌کند [٦۱].

مکان‌های فعالیت متیل ترنسفرازها

بافت‌های متفاوت گیاهی حاوی آنزیم‌های متیل‌ترنسفراز هستند. بذرهای ۵ روزه ریحان حاوی مقدار ثابتی از فعالیت o- متیل ترنسفرازها است. در این مرحله از تمایز، کوتیلدون‌ها هنوز متورم و فعال هستند و پریموردیای برگی آشکاری در نوک ساقه‌ها به طول چند میلی‌متر وجود دارد. تقریباً تمام فعالیت در پریموردیای برگی متمرکز شده است. کوتیلدون و ساقه‌ها ۸ تا ۱۰ درصد فعالیت کمتری به ازای وزن تر نسبت به پریموردیای برگی نشان می‌دهند. ریشه‌ها فاقد فعالیت هستند. نوک ساقه‌ها و برگ‌های جوان (۰/۲ تا ۰/۷ طول) بیشترین فعالیت o- متیل ترنسفرازی را دارا هستند. میزان فعالیت به تدریج با نمو برگی کاهش می‌یابد تا جایی که در برگ‌های کاملاً تمایز یافته فعالیت آنزیمی وجود ندارد.

بیشترین مقدار فعالیت آنزیمی در برگ‌های جوان از سمت شاخه‌ها تا گل‌آذین یافت شده است. در گلبرگ‌ها فعالیت آنزیم o- متیل ترنسفراز وابسته به s- آدنوزین متیونین دیده نمی‌شود. بافت‌های جوان در حال رشد و نمو اولین مکان‌های بیوسنتز متیل چاویکول می‌باشند. همچنین مقدار فعالیت بیوسنتزی متیل چاویکول به تراکم کرک‌های ترشحی روی بافت بستگی دارد. در ساختار تخصصی کرک‌های ترشحی سپرمانند روی سطح برگ‌ها و ساقه‌ها، سنتز و ذخیره فنیل‌پروپانوئیدهای ریحان انجام می‌شود [۲۳].

لازم به ذکر است که علاوه بر تحقیقات یاد شده در این بررسی مروری، تحقیقات دیگری نیز بر روی گیاه ریحان انجام شده است که در پایان به برخی از آنها اشاره می‌شود: به طور مثال، بررسی مشخصات مورفولوژیکی، اجزای تشکیل دهنده اسانس و بررسی‌های ژنوتیپ برخی از کولتیوارهای ریحان به منظور رده‌بندی و ارتباط آنها با هم انجام شده است [۷]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخی از کولتیوارهای ریحان در ایران اندازه‌گیری شده است. همچنین بر مبنای محتوای شیمیایی فنل کل، ریحان در ایران به ٤ گروه تقسیم‌بندی شده است که براساس وجود و عدم وجود فنل در برگ و گل می‌باشد [۳]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخی از کولتیوارهای ریحان هم با مرزنجوش (Oregano) مقایسه شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری برای ریحان نسبت به مرزنجوش گزارش شد [٦۲]. آنالیز اسانس دو کولتیوار ریحان ایرانی [۵]، رابطه فعالیت آنتی‌اکسیدانی با محتوای فنلی [٦۳]، خواص حشره‌کشی ریحان [٦٤]، بررسی جنبه‌های ترشح اسانس ریحان و مطالعات آناتومی [۲۱]، بررسی اثر UV-B بر تکامل غدد ترشحی برگ [٦۵]، اثر Chitosan روی صفات بیولوژیکی ریحان [٦٦]، اثر میدان مغناطیسی بر مقدار ترکیبات تشکیل دهنده اسانس ریحان [٦۷] از دیگر پژوهش‌های انجام شده در مورد ریحان می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

1. Omidbaigi R. Production and Processing of medicinal plants (In Persian). Astan'e Qods'e Razavi publication. Vol 3. Tehran-Iran. 2008, 397 pp.

2. Omidbaigi R. Approaches to Production and Processing of medicinal plants (In Persian). Tarahane'e Nashr publication. Vol 2. Tehran-Iran. 1997, 424 pp.

3. Javanmardi J, Khalighi A, Khashi A, Bais HP and Vivanco JM. Chemichal characterisation of Basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicins in Iran, *J. Agricultural and Food Chem*. 2002; 50: 5878 - 83.

4. Telci I. Bayram E. Yılmaz G. Avc B. Variability in essential oil composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum* L.), *Biochemical Systematics and Ecology*. 2006; 34: 489 - 97.

5. Sajjadi SE. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. *Daru* 2006; 14 (3): 128 - 30.

6. Simon JE, Morales MR, Phippen WB, Vieirn RF and Hao Z. Basil: A source of aroma compound and a popular culinary and ornamental herb. *Perspectives on New Crops and New Uses* 1999; 499 - 505.

7. Labra M, Milele M, Ledda B, Grassi F, Mazzei M and Sala F. Morphological characterisation essantial oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L.cultivars. *Plant Science* 2004; 167: 725 - 31.

8. Ghahraman A. Plant Systematics - Chromophytes of Iran (In Persian). Tehran University Press. Tehran. Vol 1 - 4. (1992 – 1996), 2778 pp.

9. Judd WS, Campbell, Kellogg, Stevens, Plant Systematics; A Phylogenetic Approach (In Persian). Isfahan University Press. Isfahan. 1999, 470 pp.

10. Davis JM. Basil, North Carolina basil production guide, North Carolina cooperative extension service. N.C. state university, Raleigh, 1997, 125 - 7.

11. Naghdi Badi H, Dadvand M, Nasri M, Makkizadeh M and Omidi H. Changes in Essential Oil Content and Yield of Basil in Response to Different Levels of Nitrogen and Plant Density. *J. Medicinal Plants* 2008; 27: 60 - 70.

12. Rahimi A, Mehrafarin A, Naghdi Badi H and Khalighi-sigaroodi F. Effects of bio-stimulators and bio-fertilizers on morphological traits of basil (*Ocimum bacilicum* L.). *Annals of Biological Research* 2013; 4 (5): 146 - 51.

13. Nazari M, Mehrafarin A, Naghdi Badi H and Khalighi-sigaroodi F. Morphological traits of sweet basil (*Ocimum basilum* L.) as influenced by foliar application of methanol and nano-iron chelate fertilizers. *Annals of Biological Research* 2012; 3 (12): 5511 - 4.

14. Lewinsohn E, Ziv-Raz I, Dudai N, Tadmor Y, Lastochkin E, Larkov O, Chaimovitsh D, Ravid U, Putievsky E, Pichersky E and Shoham Y. Biosyntesis of estragol and mathyle – eugenol in sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) developmental and chemotypic association of allylphenol o-methyletransferase activities. *Plant Science* 2000; 160: 27 - 35.

15. Hassani A, Omidbaigi R and Heidari Sharifabad H. Effect of Different soil mouisture leves on Growth, Yield and accumulation of compatible solutes in basil (*Ocimum basilicum*). *Journal of Water and Soil Sciences* 2003; 17 (2): 210 - 9.

16. Svoboda KP and Hampson JB. Bioactivity of essential selected oils of temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. IENICA Conference, Specialty Chemicals for the 21st

Archive of SID
www.SID.ir

Century: Intermediary Products, Cosmetics, Perfumes, and Medicinal Applications, 1999, pp: 1 – 17.

17. Dolatkhahi M, Ghorbani Nohooji M, Mehrafarin A, Amini Nejad GH and Dolatkhahi A. Ethnobotanical study of medicinal plants in Kazeroon, Iran: Identification, distribution and traditional usage (In Persian). 2012; *J. Med. Plants* 42: 163 - 78.

18. Dolatkhahi M and Ghorbani Nohooji M. The most used medicinal plant species of Dashtestan (Bushehr Province), emphasizing on their traditional usages (In Persian). *J. Med. Plants* 2013; 46: 85 - 105.

19. Ghasemi Dehkordi A. Iranian Herbal Pharmacopeia (in Persian). Vol 1-2. Ministry of Health, Treatment and Medical Training publication. Tehran. Iran. 2002, 470 pp.

20. Achnine L, Blancaflor E.B, Rasmussen S and Dixon RA. Colocalization of L-phenylalanine ammonia-lyase and cinnamate 4-Hydroxylase for metabolic channeling in phenylpropanoid biosynthesis, *The Plant Cell* 2004; 16: 3098 - 109.

21. Werker E, Putievsky E, Ravid U, Dudai N and Katzir I Glandular h and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae), *Ann Bot (Lond)* 1993; 71: 43 – 50.

22. Iijima Y, Gang DR, Fridman E, Lewinsohn E and Pichersky E. Characterization of geraniol synthase from the peltate glands of sweet Basil, *Plant Physiol*. 2004; 134: 370 – 379.

23. Gang D.R, Lavid N, Zubieta C, Chen F, Beuerle T, Noel L.E and Pichersky E. Characterization of Phenylpropene *O*-Methyltransferases from Sweet Basil: Facile Change of Substrate Specificity and Convergent Evolution within a Plant *O*-Methyltransferase Family, *The Plant Cell* 2002; 14: 505 – 19.

24. Dixon R.A and Paiva N.L. Stress-lnduced Phenylpropanoid Metabolism, *The Plant Cell* 1995; 7: 1085 - 97.

25. Boudet A.M. Evolution and current status of research in phenolic compounds, *Photochem.* 2007; 68: 22 - 4.

26. Simon J.E, Quinn J and Murray R.G. Basil: a source of essential oils, In: Janick, J., Simon, J.E. (Eds.), Advanced in New Crops. Timber Press, Portland, OR, 1999, pp: 484 - 9.

27. Poorbozorgi R.N and Sharifi M. Quality and quantity studying of essential oils and comparison of Chavicol O-methyl transferase gene expression between Iranian Basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. Ms.C thesis, Tarbiat Modares University, 2Department of Biology, Faculty of Sciences. 1386.

28. Tahsili J. Sharifi M. Behmanesh M. Pourbozorgi-Rudsari N and Ziaei M. Expression of 4 Genes in Ocimum basilicum and their Relationship with Phenylpropanoids Content. *Journal of Medicinal Plants and By-products*, 2012; 1: 23 - 34.

29. Dixon R.A. and Sumner L.W. Legume natural products. Understanding and manipulating complex pathways for human and animal health, *Plant Physiol*. 2003; 131: 878 – 85.

30. Christie P.J. Alfenito M.R. and Walbot V. lmpact of lowtemperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings, *Planta* 1994; 194: 541 - 9.

31. Iijima Y. Rikanati R.D. Fridman E. Gang D.R. Bar E. Lewinsohn E and Pichersky E. The biochemical and molecular basis for the divergent in the biosynthesis of terpenes and phenylpropenes in the peltate gland of three cultivars of basil. *Plant Physiol*. 2004; 136: 3724 - 36.

32. Dixon R.A, Choudhary A.D, Dalkin D, Edwards R, Fahrendorf T, Gowri G, Harrison M.J, Lamb C.J, Loake G.J, Maxwell C.A, Orr J and Paiva N.L. Molecular biology of stressinduced phenylpropanoid and isoflavonoid biosynthesis in

Archive of SID

www.SID.ir

alfalfa, In Phenolic Metabolism in Plants, H.A. Stafford and R.K. Ibrahim, eds, 1992, 91 - 138.

33. Koukol J and Conn E.E. The metabolism of aromatic compounds in higher plants, IV Purification and properties of the phenylalanine deaminase of Hordeum vulgare, *J. Biol. Chem*. 1961; 236: 2692 – 8.

34. Cochrane F.C, Davin L.B and Lewis N.G. The Arabidopsis phenylalanin amonia lyase gene family: kinetic characterization of the four PAL isoforms. *Phytochem.* 2004; 65: 1557 - 64.

35. Bjorn H and Muller R. Possibility of bacterialrecruitment of plant genes associated with the biosynthesis of secondry metabolites. *Plant Physiol.* 2003; 132: 1153 - 61.

36. Fukasawa-Akada T, Kung S and Watson J.C. Phenylalanine ammonia-lyase gene structure, expression, and evolution in Nicotiana, *Plant Mol. Biol*. 1996; 30: 711 –22.

37. Kalghatgi K.K and Subbarao P.V. Microbial L-Phenylalanine Ammonia-Lyase purification, subunit structure and kinetic properties of the enzyme from rhysoctonia solani, *Biochem. J.* 1975; 149: 65 - 72.

38. Meek C.R and Bidlack J.E. Arthropod population, phenylalanin amonia- lyase activity and fresh weight of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) as affected by plant age and *Bacillus thuringiensis* treatment. *Proc. Okla. Acad. Sci.* 2005; 85: 9 - 17.

39. Fukasawa-Akada T and Kung S and Watson J.C. Phenylalanine ammonia-lyase gene structure, expression, and evolution in Nicotiana, *Plant Mol. Biol.* 1996; 30: 711 – 22.

40. Olson P.E and Bidlack J.E. Yield and en zyme activity of sweet basil (*Ocimum basilicum*) subjected to alternative pest con trol. *J. Herbs Spices Medicinal Plants* 1997; 4: 3 - 16.

41. McCallum J.A and Walker J.R.L. Phenolic bio syn the sis during grain development in wheat: changes in phenylalanine ammonia-lyase activity and soluble phenolic content. *J. Cereal Sci*. 1990; 11: 35 - 49.

42. Ziaei M, Sharifi M, Behmanesh M and Razavi K. Gene expression and activity of phenyl alanine amonialyase and essential oil composition of Ocimum basilicum L. at different growth stages. *Iranian Journal of Biotechnol*. 2012; 10: 32 - 9.

43. Sgarbi E, Fornasiero R.B, Lins A.P, Bonatti P.M. Phenol metabolism is differentially affected by ozone in two cell lines from grape (*Vitis vinifera* L.) leaf, *Plant Sci*. 2003; 165: 951 – 7.

44. Wen P.F, Chen J.Y, Kong W.F, Pan Q.H, Wan S.B and Huang W.D. Salicylic acid induced the expression of phenylalanineammonia-lyase gene in grape berry, *Plant Sci*. 2005; 169: 928 – 34.

45. Pina A and Errea P. Differential induction of phenylalanine ammonia-lyase gene expression in response to in vitro callus unions of Prunus sp, *Journal of Plant Physiol*. 2008; 165 (7):705 – 14.

46. Klischies M, Stockigt J and Zenk MH Biosynthesis of the allylphenols eugenol and methyleugenol in *Ocimum basilicum* L. *Chem. Commun.* 1975; 21: 879 – 80.

47. Lewinsohn E, Ziv-Raz I, Dudai N, Tadmor Y, Lastochkin E, Larkov O, Chaimovitsh D, Ravid U, Putievsky E, Pichersky E and Shoham Y Biosynthesis of estragole and methyl-eugenol in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.): developmental and chemotypic association of allylphenol *O*-methyltransferase activities. *Plant Sci*. 2001; 160: 27 – 35.

48. Wang J, Dudareva N, Bhakta S, Raguso R and Pichersky E. Floral scent production in *Clarkia breweri* (Onagraceae): II. Localization and developmental modulation of the enzyme *S*-adenosyl-l-methionine: (iso) eugenol *O*-methyltransferase and phenylpropanoid emission. *Plant Physiol*. 1997; 114: 213 – 21.

49. Wang J. Pichersky E. Identification of specific residues involved in substrate discrimination in two plant *o*-methyltransferases, *Archives of Biochem. and Biophysics* 1999; 368: 172 – 80.

Archive of SID
www.SID.ir

50. Luckner M. Secondary metabolism in microorganisms, in: Plants and Animals, Springer, Berlin, 1990, 94 – 5.

51. Tahsili J, Sharifi M, Behmanesh M and Ziaei M. Gene expression of eugenol - O methyl transferase and components of essential oils in (*Ocimum basilicum* L.) at different stages of growth . *Iranian Journal of Biol.* 2010; 18 – 25.

52. Lauster R. Evolution of type II DNA methyltransferases. A gene duplication model, *J. Mol. Biol.* 1989; 206: 313 – 21.

53. Ibrahim RK, Bruneau A and Bantignies B. Plant O-methyltransferases: Molecular analysis, common signature and classification. *Plant Mol. Biol*. 1998; 36: 1 – 10.

54. Zimmermann S and Hahlbrock K. Light-induced changes of enzyme activities in parsley cell suspension cultures. Purification and some properties of phenylalanine ammonia- lyase (E.C.4.3.1.5), *Arch. Biochem. Biophys* 1975; 166: 54 – 62.

55. Wang J and Pichersky E. Characterization of *s*-adenosyl-L-methionine: (iso) eugenol *o*-methyltransferase involved in floral scent production in *Clarkia breweri*, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1998; 349: 153 – 60.

56. Bais H.P, Walker T.S, Schweizer H.P and Vivanco J.M. Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum*, *Plant Physiol. Biochem*. 2002; 40: 983 – 99.

57. Sisk C, Shorey H, Gerbern R and Gaston L. Semiochemicals that disrupt foraging by the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae): Laboratory bioassays. *J. Econ. Entomol*. 1996; 89: 381 – 5.

58. Obeng-Ofori D and Reichmuth C. Bioactivity of eugenol, a major component of essential oil of *Ocimum suave* (Wild.) against four species of stored-product Coleoptera, *Int. J. Pest Manage* 1997; 43: 89 – 94.

59. Sangwan N, Verman B, Verma K and Dhindsa K. Nematicidal activity of some essential plant oils, *Pestic. Sci.* 1990; 28: 331 – 5.

60. Miyao S. Inhibitory effects of ethanol extract of mace and eugenol on the growth of microorganisms isolated from Vienna sausages, *Nihon Shokuhin Eisei Gakkai* 1975; 16: 412 – 6.

61. Shukla R and Prasad V Population fluctuations of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel, in relation to hosts and abiotic factors, Trop. *Pest Manage* 1985; 31: 273 – 5.

62. R. Simon J.E, Ramboatiana M.M.R, Behra O, Garvey A and Raskin I. Malagasy aromatic plants: essential oils, antioxidant and antimicrobial activities. XXVI International Horticultural Congress: The Future for Medicinal and Aromatic Plants. 2002.

63. Kahkonen M.P, Hopia A.I, Vuorela H.J, Rauha J.P, Pihlaja K, Kujala T.S and Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compuondes. *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47: 3954 - 62.

64. Keita S.M, Vincent C, Schmit J.P, Ramaswamy S and Belanger A. Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res*. 2000; 36: 355 – 64.

65. Kim H.J, Chen F, Wang X and Rajapakse C. Effect of Chitosan on the Biological Properties of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.). *J. Agric. Food Chem*. 2005; 53: 3696 - 701.

66. Ghanati F, Ahmadi Z and Abdolmaleki P. Effect of UV-C radiation on some phisiological parameters in Aloe Vera. *Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants* 2006; 4: 315 - 31.

67. Ioannidis D, Bonner L and Johnson B.C. UV-B is required for Normal Development of Oil Glands in *Ocimum basilicum* L. (Sweet Basil), *Annals of Botany* 2002; 90: 453 - 60.

Archive of SID

www.SID.ir