

ارزیابی اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی برگ گیاه ریحان گرمسیری

نویسندگان:

ابوذر روئین تن*

۱- دانشگاه افسری و تربیت پاسداری امام حسین(ع)، تهران، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.16, No.2, Summer 2018

چکیده:

مقدمه: در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی در درمان عفونت‌ها به دلیل بروز مقاومت‌های دارویی علیه داروهای ضد میکروبی شیمیایی مورد توجه خاص قرار گرفته است. هدف این پژوهش، بررسی اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره متانولی، اتانولی و آبی برگ گیاه ریحان گرمسیری بود.

روش کار: پس از تهیه عصاره به روش ماسراسیون، فعالیت ضد میکروبی و حداقل غلظت مهارتی علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و قارچ‌های اسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنس به روش انتشار دیسک و رقت لوله‌ای ارزیابی شد. از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی و سویه‌های استاندارد باکتریایی برای کنترل و استاندارد بودن روش استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره متانولی برگ گیاه ریحان گرمسیری دارای بیشترین میزان فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با قطر هاله عدم رشد $20 \pm 1/02$ میلی‌متر و قارچ اسپرژیلوس نایجر با قطر هاله عدم رشد $18 \pm 1/20$ میلی‌متر است. همچنین حداقل غلظت بازدارندگی عصاره متانولی بر علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و قارچ اسپرژیلوس نایجر به ترتیب $12/50$ و 25 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ثبت شد. عصاره آبی برگ گیاه ریحان گرمسیری در مقایسه با عصاره‌های اتانولی و متانولی اثر مطلوبی نداشت.

بحث و نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه مشخص شد که عصاره متانولی برگ گیاه ریحان گرمسیری، در مقایسه با عصاره‌های آبی و اتانولی دارای فعالیت ضد باکتریایی مؤثری علیه سوش‌های باکتریایی گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس می‌باشد. همچنین این گیاه خواص ضد قارچی مطلوبی در برابر قارچ اسپرژیلوس نایجر نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: گیاه ریحان، فعالیت ضد میکروبی، حداقل غلظت مهارتی، هاله ممانعت از رشد

Pars J Med Sci 2018;16(2):1-7

مقدمه:

از اوایل دهه ۹۰، افزایش عفونت‌های ناشی از رشد قارچ‌های بیماری‌زا به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ‌ومیر مطرح بوده است. تمامی گونه‌های کاندید به‌ویژه پاتوژن کاندیدا آلبیکنس در ایجاد عفونت‌های قارچی نقش مؤثری ایفا می‌کنند. پاتوژن فرصت‌طلب کاندیدا آلبیکنس فراوان‌ترین گونه جداسازی شده نسبت به سایر عوامل قارچی است [۳].

امروزه تلاش‌های فراوان برای توسعه داروهای ضد قارچ و ضد باکتری با سمیت کمتر، اثربخشی بیشتر و سازوکار عمل جدید

امروزه عفونت‌های ناشی از رشد باکتری‌ها یکی از مشکلات جدی و رو به رشد در سراسر دنیا محسوب شده و یکی از اساسی‌ترین چالش‌ها در حوزه پزشکی و درمانی است. کاربرد بی‌حدواندازه آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان رایج‌ترین داروهای مورد استفاده در دنیا در سال‌های اخیر منجر به مقاومت ضد میکروبی بر علیه آن‌ها شده است. در حال حاضر پدیده مقاومت ضد میکروبی، به یکی از نگرانی‌های عمده حوزه سلامت در سراسر دنیا تبدیل شده است [۱-۲].

* نویسنده مسئول، نشانی: ایران، تهران، دانشگاه امام حسین(ع)، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی دارویی.

پست الکترونیک: abroeintan@gmail.com

تلفن تماس: ۰۹۱۷۷۳۶۰۱۵۳

پذیرش: ۱۳۹۷/۶/۷

اصلاح: ۱۳۹۷/۶/۵

دریافت: ۱۳۹۷/۱/۶

نام علمی این گیاه مورد تأیید قرار گرفت و یک نمونه هرباریومی از آن در هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی فسا با شماره هرباریوم (۱۴-۱۱۵۷-۱۲۵) نگهداری شد. برگ‌های جمع‌آوری شده به مدت ۱۴ روز در دمای اتاق و دور از نور مستقیم آفتاب (در سایه) خشک شده و پس از آن توسط دستگاه آسیاب برقی به صورت پودر درآمدند. این تحقیق به صورت تجربی و آزمایشگاهی در دانشگاه آزاد فسا انجام گرفت.

عصاره گیری در آب: به منظور تهیه عصاره آبی از برگ ریحان، ۳۰ گرم از نمونه پودر شده در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته و برای مدت یک ساعت در دستگاه بن ماری با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خیسانده شد. پس از آن به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق روی شیکر تکان داده شد. در مرحله بعد نمونه خیسانده شده توسط کاغذ واتمن ۴۵ میکرومتری صاف و عصاره آبی صاف شده در لیوفیلیزاتور خشک شد [۱۴-۱۲].

عصاره گیری در اتانول: برای تهیه عصاره اتانولی ۳۰ گرم از پودر خشک شده گیاه را در ۱۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۸ درصد ریخته و برای مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکر تکان داده شد. در مرحله بعد نمونه موردنظر از فیلتر عبور داده و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از روتاری خشک شد [۱۴-۱۲].

عصاره گیری در متانول: برای تهیه عصاره متانولی ۳۰ گرم از پودر خشک شده گیاه را در ۱۵۰ میلی‌لیتر متانول ۹۸ درصد ریخته و برای مدت ۴۸ ساعت روی شیکر تکان داده شد. در مرحله بعد نمونه موردنظر از فیلتر عبور داده و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از روتاری خشک شد [۱۴-۱۲].

میکروارگانیسم‌های مورد بررسی: باکتری‌ها و قارچ‌های مورد استفاده در این تحقیق از آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشکده علوم پزشکی شهید بهشتی تهیه شدند. لیست کلی این میکروارگانیسم‌ها به همراه کد اختصاری آن در جدول ۱ آورده شده است.

بررسی فعالیت ضد میکروبی: نمونه‌های میکروبی با استفاده از محیط کشت لوریا برتانی و سابورد دکستروز و بر اساس روش‌های استاندارد احیاء شدند. به منظور سوسپانسیون میکروبی از کشت ۲۴ ساعته هر میکروارگانیسم به صورت مجزا به لوله‌های آزمایش حاوی ۳ میلی‌لیتر مولر هینتون برات تلقیح شد و سوسپانسیونی با کدورت معادل نیم مک فارلند آماده شد. بررسی اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره گیاه موردنظر ابتدا با روش انتشار از چاهک در آگار [۱۵] انجام شد. بدین منظور از سوسپانسیون هر میکروب به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر روی پلیت حاوی مولر هینتون آگار برای باکتری‌ها و سابورد دکستروز آگار برای قارچ‌ها ریخته و با سواب استریل در سه جهت به صورت انبوه کشت داده شد. سپس در سطح هر یک از پلیت‌های کشت

انجام گرفته است، که در این میان استفاده از داروهایی با منشأ گیاهی بسیار حائز اهمیت است [۴]. از زمان‌های بسیار گذشته استفاده از داروهایی با منابع گیاهی برای استفاده در درمان بسیاری از بیماری‌ها، به‌ویژه در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری، قارچ و ویروس مورد توجه بوده است [۴]. امروزه استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان دارو جهت استفاده در درمان بیماری‌ها به دلیل عوارض جانبی پایین‌تر نظیر مسمومیت دارویی کمتر، جذب و پخش و متابولیسم مناسب و دفع سریع نسبت به منابع دارویی سنتزی تأیید شده است [۵].

گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*)، گیاهی یک‌ساله، معطر از خانواده تیره نعنائیان، دارای ساقه‌هایی با ارتفاع ۱۵ تا ۶۰ سانتی‌متر، برگ‌های نوک‌تیز با کناره‌های دنداندار و گل‌هایی به رنگ سفید و بنفش است. از برگ‌ها و شاخه‌های گل‌دار این گیاه برای مصارف درمانی استفاده می‌شود [۶]. در مطالعات پیشین تحلیل‌های مختلفی روی اندام‌های گیاه ریحان (برگ و گل) انجام گرفته است که بر اساس آن‌ها مشخص شده است که گیاه ریحان حاوی ترکیباتی متعدد مانند فلاونوئید، تری ترپنوئید، تروپین و ترپنوئید است [۹-۷]. برگ این گیاه که در زبان محلی به آن ریحان گرمسیری یا وحشی می‌گویند نسبت به دو گونه رایج ریحان سبز و بنفش بسیار تندتر و معطرتر است. این گیاه در تمام فصول سال دارای برگ‌های سبزرنگی است و شاخه‌های آن نسبت به ریحان معمولی ضخیم‌تر و حالت بوته مانند دارد. افراد محلی از برگ این گیاه به‌منظور درمان آفت دهان استفاده می‌کنند.

گیاه ریحان دارای خواص فارماکولوژیک متعددی هم چون فعالیت آنتی‌اکسیدانی [۱۰]، ضد ویروسی [۷] و ضد درد [۱۱] است. امروزه کاربردهای فراوانی برای استفاده از برگ این گیاه در معطر ساختن غذاها مطرح است. دمنوش برگ گیاه ریحان در طب سنتی به‌عنوان یک گیاه دارویی با خواص از بین برنده نفخ، سرگیجه، دل‌پیچه و سرفه، مدر و تقویت‌کننده و ضد تشنج مورد استفاده قرار می‌گیرد [۶]. از آنجاکه تاکنون هیچ مطالعه‌ای روی این‌گونه گیاهی انجام نگرفته است، پژوهش حاضر باهدف ارزیابی خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره آبی، متانولی و اتانولی برگ گیاه ریحان گرمسیری بر علیه سوش‌های باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی و عوامل ضد قارچ طراحی و اجرا شد.

روش کار:

جمع‌آوری نمونه: بذر این گیاه از مناطق جنوبی استان هرمزگان به شهرستان فسا واقع در جنوب شرقی استان فارس منتقل و در آنجا کشت شد. در ادامه برگ‌های گیاه ریحان جمع‌آوری و پس از انتقال به بخش کشاورزی دانشگاه آزاد فسا

داده شده چاهک‌هایی به قطر تقریباً ۶ میلی‌متر و به فاصله ۲ سانتی‌متری از هم ایجاد شد و درون هر چاهک مقدار ۵۰ میکرولیتر از هر یک از رقت‌های آماده‌شده نمونه‌ها با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌وسیله سمپلر ریخته شد. از آنتی‌بیوتیک‌های ضد باکتریایی سیپروفلوکسازین و ضد قارچی کلوتریمازول به‌عنوان شاهد مثبت و از محلول DMSO به‌عنوان شاهد منفی استفاده شد. پس از اتمام کار محیط‌های کشت باکتریایی در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و کشت‌های قارچی در انکوباتور ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند و درنهایت پس از گذشت ۲۴-۴۸ ساعت، کشت‌های میکروبی از نظر تشکیل یا عدم تشکیل هاله عدم رشد موردبررسی قرار گرفته و قطر هاله‌های تشکیل‌شده برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری و گزارش شد.

داده شده چاهک‌هایی به قطر تقریباً ۶ میلی‌متر و به فاصله ۲ سانتی‌متری از هم ایجاد شد و درون هر چاهک مقدار ۵۰ میکرولیتر از هر یک از رقت‌های آماده‌شده نمونه‌ها با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌وسیله سمپلر ریخته شد. از آنتی‌بیوتیک‌های ضد باکتریایی سیپروفلوکسازین و ضد قارچی کلوتریمازول به‌عنوان شاهد مثبت و از محلول DMSO به‌عنوان شاهد منفی استفاده شد. پس از اتمام کار محیط‌های کشت باکتریایی در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و کشت‌های قارچی در انکوباتور ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند و درنهایت پس از گذشت ۲۴-۴۸ ساعت، کشت‌های میکروبی از نظر تشکیل یا عدم تشکیل هاله عدم رشد موردبررسی قرار گرفته و قطر هاله‌های تشکیل‌شده برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری و گزارش شد.

اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC): با استفاده از روش رقت لوله‌ای حداقل غلظت مهارکنندگی

تجزیه و تحلیل آماری: برای اطمینان از نتایج حاصل از آزمایش‌ها، سه تکرار برای هر آزمایش انجام شد و میانگین و انحراف معیار آن‌ها محاسبه و به‌عنوان نتیجه ثبت شد. تمام محاسبه‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام گرفت. مقایسه معنادار میانگین‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی دانکن در سطح احتمال ۵ درصد موردبررسی قرار گرفت.

جدول ۱: میکروارگانیسم‌های استاندارد مورد استفاده در آزمایش اثر ضد میکروبی

نام میکروارگانیسم	کد اختصاری	مشخصات ظاهری
سودوموناس آئروژینوزا	ATCC ۸۵۳۲۷	باسیل گرم منفی
اشریشیاکلی	ATCC ۲۵۹۲۲	باسیل گرم منفی
استافیلوکوکوس ارتوس	ATCC ۲۵۹۲۳	کوکوسی گرم مثبت
باسیلوس سوبتیلیس	ATCC ۶۵۴	باسیل گرم مثبت
کاندیدا آلیکانز	ATCC ۱۰۲۳۱	قارچ
آسپرژیلوس نایجر	ATCC ۱۶۴۰۴	قارچ

یافته‌ها:

مانند عصاره اتانولی و متانولی اثر مطلوبی نداشته و بیش‌ترین اثر مهارکنندگی را در مقابل باکتری استافیلوکوکوس ارتوس و با قطر هاله عدم رشد $14 \pm 1/73$ میلی‌متر داشته است. مطالعات نشان داد که عصاره متانولی اثر ضد قارچی مطلوبی در برابر قارچ آسپرژیلوس نایجر با قطر هاله عدم رشد $18 \pm 1/20$ میلی‌متر دارد. همچنین بررسی نتایج نشان داد که عصاره متانولی برگ گیاه ریحان فعالیت ضد باکتریایی بیش‌تری در برابر باکتری‌های گرم مثبت از خود نشان می‌دهد. نتایج آزمون دانکن در سطح معناداری ۵ درصد نشان داد که با مقایسه قطر هاله عدم رشد در میان باکتری‌های مختلف، تفاوت معناداری ($p < 0.05$) در یک حلال یکسان وجود دارد. به‌عبارت‌دیگر، قطر هاله عدم رشد ضد میکروبی متفاوتی در یک حلال یکسان در میان باکتری‌های مختلف وجود داشت، به‌طوری‌که بیش‌ترین اثر مهارتی مربوط به عصاره متانولی روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس ارتوس و باسیلوس سوبتیلیس مشاهده شد. با توجه به نتایج آزمون آماری مشخص

نتایج فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره‌های متانولی، اتانولی و آبی برگ گیاه ریحان گرمسیری در جدول‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. مقایسه فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی به‌صورت جداگانه برای هر یک از سویه‌های ضد باکتریایی و ضد قارچی انجام شد. نتایج نشان داد که در بین عصاره‌ها، عصاره متانولی با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای بیش‌ترین اثر مهارکنندگی است و عصاره‌های اتانولی و آبی به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار داشتند.

عصاره متانولی با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیش‌ترین اثر مهارکنندگی و کشندگی را در مقابل باکتری‌های استافیلوکوکوس ارتوس و باسیلوس سوبتیلیس با قطر هاله عدم رشد $20 \pm 1/02$ و $17 \pm 1/00$ داشته، به‌گونه‌ای که این اثر تقریباً مشابه آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده است (جدول ۲). در مقابل، باکتری اشریشیاکلی با قطر هاله عدم رشد $12 \pm 2/64$ بیش‌ترین مقاومت را در مقابل عصاره‌ها داشته است. عصاره آبی برگ گیاه ریحان

به روش رقت لوله‌ای در جدول ۳ آورده شده است. در این مطالعه MIC در رقت پایین ۱۲/۵۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی برگ ریحان گرمسیری روی رشد باکتری استافیلوکوکوس ارتوس و قارچ اسپرژیلوس نایجر مشاهده شد. عصاره متانولی برگ ریحان گرمسیری در مقایسه با عصاره اتانولی و آبی اثر بازدارندگی بهتری نشان داد. حداقل رقت بازدارندگی و کشندگی عصاره متانولی در برابر رشد باکتری استافیلوکوکوس ارتوس مشاهده شد.

شد که عصاره موجود در حلال‌های متفاوت در ایجاد هاله عدم رشد مختلف روی یک باکتری یکسان تفاوت معناداری ($P < 0.05$) وجود دارد. نتایج بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های مختلف برگ گیاه ریحان در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکسازین و کلروتیمازول در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌های متانولی، اتانولی و آبی برگ گیاه ریحان گرمسیری علیه چهار سویه باکتری بیماری‌زای انسانی و دو قارچ اسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکانز

جدول ۲: اثرات ضد میکروبی عصاره‌های مختلف برگ گیاه ریحان در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکسازین و کلروتیمازول (غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)

میکروارگانسیم‌ها (باکتری‌ها و قارچ‌ها)	قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)			
	متانولی	اتانولی	آبی	سیپروفلوکسازین
استافیلوکوکوس ارتوس	۲۰±۱,۰۲ aA	۱۷±۱,۴۵ aBC	۱۴±۱,۷۳ aC	۲۳±۲,۴۵ aAB
باسیلوس سوبتیلیس	۱۷±۱,۰۰ abB	۱۵±۱,۰۰ abB	۱۱±۱,۰۰ abcC	۲۱±۱,۰۰ abA
سودوموناس آئروژینوزا	۱۴±۲,۲۲ bcB	۱۲±۱,۵۴ bcBC	۹±۱,۱۵ bcC	۱۹±۲,۰۰ bA
اشریشیاکلی	۱۲±۲,۶۴ cB	۱۱±۱,۵۰ cB	۷±۱,۲۱ bcC	۱۸±۲,۶۴ bA
اسپرژیلوس نایجر	۱۸±۱,۲۰ aA	۱۳±۱,۱۲ bcB	۵±۱,۰۰ cC	عدم تشخیص ^{cD}
کاندیدا آلبیکانز	۱۳±۱,۲۱ cB	۱۱±۱,۶۴ cB	۷±۱,۵۰ cC	عدم تشخیص ^{cD}

حروف بزرگ لاتین: نشان‌دهنده بررسی آماری در یک ردیف (در حلال‌های مختلف)

حروف کوچک لاتین: نشان‌دهنده بررسی آماری در یک ستون (در برابر میکروارگانسیم‌های متفاوت)

جدول ۳: مقدار حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره‌های مختلف برگ گیاه ریحان گرمسیری علیه برخی باکتری‌ها و قارچ‌ها

میکروارگانسیم‌ها (باکتری‌ها و قارچ‌ها)	حداقل غلظت مهارکنندگی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)		
	متانولی	اتانولی	آبی
استافیلوکوکوس ارتوس	۱۲,۵۰	۵۰	۱۰۰
باسیلوس سوبتیلیس	۵۰	۱۰۰	۲۰۰
سودوموناس آئروژینوزا	۵۰	۵۰	۲۰۰
اشریشیاکلی	۱۰۰	۱۰۰	۲۰۰
اسپرژیلوس نایجر	۲۵	۱۰۰	۲۰۰
کاندیدا آلبیکانز	۵۰	۵۰	۱۰۰

بحث:

باشد که این موضوع نیاز به مطالعات بیشتری دارد. در پژوهش حاضر مشخص شد که در کشت بیش‌تر باکتری‌ها، هاله عدم رشد حاصل از عصاره متانولی بیشتر از عصاره اتانولی و آبی است. این مطلب نشان می‌دهد که احتمالاً عصاره متانول در برگ گیاه ریحان گرمسیری، ترکیبات آنتی‌باکتریایی بیشتر و یا مؤثرتری را استخراج کرده است. در این مطالعه، حداقل غلظت‌های بازدارندگی و کشندگی عصاره متانولی در کشت باکتری استافیلوکوکوس ارتوس و قارچ اسپرژیلوس نایجر مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد که حساسیت باکتری استافیلوکوکوس ارتوس و قارچ اسپرژیلوس نایجر به عصاره متانولی برگ گیاه

بر اساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر، عصاره متانولی برگ ریحان روی باکتری استافیلوکوکوس ارتوس دارای اثر ضد باکتریایی است که این اثر در مقایسه با آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکسازین کمتر است. این عصاره روی دیگر میکروارگانسیم‌ها از جمله سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی که گرم منفی هستند، اثر ضد باکتریایی مطلوبی ندارد. به دلیل تفاوت در ساختار و ضخامت دیواره‌ی سلولی، حساسیت متفاوت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکسازین و کلروتیمازول در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به نظر می‌رسد که تأثیر مطلوب ضد باکتریایی عصاره متانولی برگ ریحان گرمسیری، بر علیه باکتری استافیلوکوکوس ارتوس به علت وجود این عوامل

مطالعات نشان می‌دهد که حلال‌های متانول و اتانول بانفوذ به داخل سلول‌های گیاهان، ترکیبات طبیعی ثانویه شامل فنول‌ها و فلاونوئیدهای بیش‌تری را استخراج می‌کند و این میزان برای حلال‌هایی همچون آب، اتیل استات و کلروفرم کمتر است [۲۵]. نتایج حاصل از مطالعه پیشین نشان داد که حلال متانول نقش مهمی در استخراج ترکیبات ثانویه فنولی و فلاونوئیدی داشته و این ترکیبات منجر به بروز خاصیت ضد میکروبی و ضد قارچی شده است به‌گونه‌ای که عصاره‌های متانولی نسبت به سایر عصاره‌ها، دارای حداکثر میزان فنول و فلاونوئید و بیش‌ترین اثر آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی بوده است [۲۵].

نتیجه‌گیری:

با توجه به اثرات ضد باکتریایی گیاهان دارویی مورد مطالعه، شناسایی و بررسی میزان ترکیبات مؤثره امری ضروری محسوب می‌شود. نظر به این‌که میزان ترکیبات موجود در گیاهان دارویی نسبت به شرایط مختلف آب و هوایی و در بخش‌های مختلف گیاه متفاوت است، لازم است با آزمایش‌های متعدد میزان این ترکیبات در مناطق مختلف بررسی شود. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه مشخص شد که عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی برگ ریحان گرمسیری دارای مواد ضد میکروبی و ضد قارچی مناسبی است که می‌توان از آن‌ها به‌عنوان یک‌پایه دارویی یا یک داروی گیاهی مناسب برای مبارزه با میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌های استافیلوکوکوس ارئوس و باسیلوس سوبتیلیس استفاده کرد. همچنین با توجه به اثرات مؤثر آنتی‌باکتریال عصاره برگ گیاه ریحان پیشنهاد می‌شود که اسانس این گیاه نیز مورد بررسی قرار گیرد. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه مشخص شد که از بین عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی برگ گیاه ریحان گرمسیری، عصاره متانولی دارای فعالیت ضد باکتریایی موثری علیه سوش‌های باکتریایی گرم مثبت استافیلوکوکوس ارئوس و باسیلوس سوبتیلیس و همچنین خواص ضد قارچی مطلوبی در برابر قارچ اسپرژیلوس نایجر است.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان مقاله، کمال تشکر و قدردانی را از کارشناسان و همکاران آزمایشگاه شیمی دارویی، میکروبی شناسی و صنایع غذایی دانشگاه آزاد فسا به ویژه خانم زمانی و دکتر جعفرپور دارند. همچنین از سرکار خانم خاتون سیاح و آقای محمدرضا فدایی به پاس تلاش جهت کاشت گیاه ریحان گرمسیری در شهرستان فسا تشکر می‌شود.

ریحان گرمسیری بیش‌تر از سایر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه است.

با توجه به خواص دارویی و درمانی گیاه ریحان پژوهشگران زیادی در این زمینه به بررسی اثرات این گیاه پرداخته‌اند. از آنجاکه گونه‌های مختلفی از ریحان (سبز رنگ و بنفش) وجود دارد، عمده مطالعات روی این دو گونه بوده است و تاکنون مطالعه‌ای روی برگ گیاه ریحان گرمسیری که از لحاظ خصوصیات ظاهری (اندازه- رنگ و طعم ...) با گونه‌های موجود تفاوت دارد انجام نگرفته، بنابراین در این مطالعه به آن پرداخته شده است. احتمالاً گیاه ریحان دارای خواص ترمیمی بوده و اولین هدف در ترمیم، تعدیل پاسخ‌های التهابی است. پژوهش روی گیاهان دارویی نشان داده است که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند در ترمیم زخم‌ها استفاده درمانی داشته باشند [۱۶]. مطالعه داداش بیگی و همکاران در مورد گیاه ریحان نشان داد که برگ گیاه ریحان دارای ترکیباتی از جمله فلاونوئیدها است [۱۷].

وجود ترکیبات زیادی مانند فلاونوئید، تری ترپن‌نوئید، تروپن و ترپرنوئید در گیاه ریحان فعالیت‌های بیولوژیکی متعددی را برای آن ایجاد کرده است که می‌توان به اثرات ضد میکروبی [۱۸]، ضد ویروس [۷] و آنتی‌اکسیدانی [۱۰] اشاره کرد. نتایج پژوهش‌های گذشته نشان می‌دهد که عصاره گیاه ریحان با مهار اسیدهای آمینه تحریکی و اثرات ضد دردی خود احتمالاً توانایی تداخل به سیستم اپوپتیدی را دارد [۱۹]. با توجه به تأثیر تروپن بر سیستم اعصاب مرکزی (مغز و نخاع) و وجود اوژنول در عصاره گیاه ریحان، اثرات فارماکولوژی متعددی همچون ضد صرع [۲۰]، خواب‌آوری [۲۱]، سداتیو و شل‌کنندگی عضله [۲۲-۲۳] برای آن گزارش شده است. فلاونوئید شامل طیف وسیعی از ترکیبات قطبی و غیر قطبی با خصوصیات مختلف هستند. خصوصیات آنتی‌اکسیدانی گیاه ریحان احتمالاً به دلیل وجود همین فلاونوئید است [۲۴].

از آنجاکه فعالیت گیاهان وابسته به ترکیبات مؤثره آن‌ها است، مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی، اتانولی و آبی برگ گیاه ریحان خود مبین نقش حلال در استخراج ماده مؤثره گیاهان و فعالیت آن‌ها است. بنابراین، نوع حلال انتخابی و محل رویش گیاه، در ترکیبات مؤثره و فعالیت ضد باکتریایی گیاه تأثیر دارند. انتخاب آب به‌عنوان حلال و بررسی اثر ضد باکتریایی آن و مقایسه آن با عصاره اتانولی و متانولی خود مؤید این مطلب است که آب در استخراج بسیاری از مواد گیاهی مصرف دارد، ولی از آنجاکه بسیاری از ترکیبات گیاهی، ترکیبات آلی پیچیده‌ای هستند و حلالیت آن‌ها در آب کمتر از اتانول و متانول است، این امر سبب تفاوت اثر ضد باکتریایی برخی از گیاهان از جمله برگ ریحان شده است.

References:

- Zinner SH. Antibiotic use: present and future. *New Microbiol* 2007; 30(3): 321-325.
- Bruning L. Emerging infectious diseases: threats to the Interview by Kimberly Howell. *Today's Surg Nurs* 1996; 18(3): 21-23.
- Kantarcioglu A S, Yucel A. The presence of fluconazole-resistant candida dubliniensis strain among candida albicans isolated from immunocompromised or otherwise debilitated HIV-negative Turkish patients. *Rev Iberoam Micol* 2002; 19 (1): 44-48.
- Tchakam PD, Lunga PK, Kowa TK, et al. Antimicrobial and antioxidant activities of the extracts and compounds from the leaves of *Psorospermum aurantiacum* England *Hypericum lanceolatum* Lam. *Bio Med Cent Complement Altern Med* 2012;12(1):136.
- Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. *Braz J Microbiol* 2000; 31(4):247-256.
- Zargari A. Medicinal Plants. 6th ed. Tehran, Iran: Tehran University Publication; 1997:47-51.(Persian)
- Chiang LC, Ng LT, Cheng PW, et al. Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005; 32(10): 811 - 816.
- Sajjadi SE. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L) from Iran. *Daru J Pharm Sci* 2006; 14(3): 128 - 130.
- Telci I, Bayram E, Yilmaz G, et al. Variability in essential oil composition of Turkish Basils (*Ocimum basilicum* L). *Biochem Systematics Ecol* 2006; 34(6): 489 - 497.
- Gulcin I, Elmastas M, Aboul-Enein HY. Determination of antioxidant and radical scavenging activity of Basil (*Ocimum basilicum* L. Family Lamiaceae) assayed by different methodologies. *Phytother Res* 2007; 21(4): 354– 261.
- Khanna N, Bhatia J. Antinociceptive action of *Ocimum sanctum* (Tulsi) in mice: possible mechanisms involved. *J Ethnopharmacol* 2003; 88(2-3):293-296.
- Zakerin AR, Ahmadi E, Fasihi Ramandi M, et al. The Effects of Ecologic Condition on Antimicrobial Activity of Endemic Herbal Extracts in Fars Province. *J Fasa Univ Med Sci* 2015; 5(1):111-119. (Persian)
- Meshkibaf MH, Abdollahi A, Fsihi Ramandi M, et al. Antibacterial effects of hydro-alcoholic extracts of *Ziziphora tenuior*, *Teucrium polium*, *Barberis corcorde* and *Stachys inflata*. *Koomesh* 2011; 11(4):240-245.
- Abdollahi A, Fasihi-Ramandi M, Kouhpayeh A, et al. Antimicrobial Effect of 15 Medicinal Plant Species and their Dependency on Climatic Conditions of Growth in Different Geographical and Ecological Areas of Fars Province. *Zahedan J Res Med Sci* 2012; 14(5):34-37. (Persian)
- Azizian Shermeh O, Valizadeh J, Noroozifar M, et al. Investigation of antibacterial activities of Silver Nanoparticles by aqueous extract of *Sambucus ebulus* L. *J Ilam Univ Med Sci* 2016; 25(4):92-108. (Persian)
- Khaki A, Fathiiazad F, Ahmadi H, et al. Evaluation of *Ocimum basilicum* Effects on Uterus Apoptosis in Rats Exposures in Electromagnetic Fields. *J Med Plan* 2010; 4 (36):155-160. (Persian)
- Dadash Beigi M, Reza Khani V, Poshdar M, et al. Investigation of the anti-bacterial effect of Basil extract on *Escherichia-coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Large Anim Clin Sci Res (J Vet Med)* 2010; 4(4): 71- 80. (Persian)
- De Almeida I, Alviano DS, Vieira DP, et al. Antigiardial activity of *Ocimum basilicum* essential oil. *Parasitol Res* 2007; 101(2): 443 - 452.
- Venancio AM, Onofre AS, Lira AF, et al. Chemical composition, acute toxicity, and antinociceptive activity of the essential oil of a plant breeding cultivar of basil (*Ocimum basilicum* L). *Planta Med* 2011; 77(8): 825- 829.
- MacDonald RL, Kelly KM. Antiepileptic drug, mechanisms of action. *Epilepsia* 1995; 36 (2):502 – 512.
- Robbers JE, Speedie MK, Tyler VE. Terpenoids. In: Santos FA, Rao VS. eds. *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*. Williams & Wilkins. New York; 1996:375.
- Boissier JR, Simon P, Le Bourhis B. Experimental psychotropic effect of isomeric cis and trans-anetholes. *Therapie* 1967; 22(2): 309 – 323.
- Dallmerier K, Carlini EA. Anesthetic, hypothermic, myorelaxant and anticonvulsant effects of synthetic eugenol derivatives and natural analogues. *Pharmacology* 1981; 22(2): 582 – 593.
- Der Marderosian A, Liberti L. *Natural Product Medicine: A scientific guide to foods, drugs, cosmetics* Paperback. Lippincott Williams & Wilkins. New York; 1988:388.
- Khorasani Esmaeili A, Taha RM, Mohajer S, et al. Antioxidant Activity and Total Phenoli and Flavonoid Content of Various Solvent Extracts from In Vivo and In Vitro Grown *Trifolium pratense* L. (Re Clover). *J Bio Med Res Int* 2015;2015: 1-11.

Evaluation of Antibacterial and antifungal effects of aqueous, methanolic and ethanolic extracts of *Ocimum basilicum*

Abouzar Roeintan^{1*}

Received: 2018/26/03

Revised: 2018/27/08

Accepted: 2018/29/08

1. Imam Hoossein University, Tehran, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.16, No.2, Summer 2018

Pars J Med Sci 2018;16(2):1-7

Abstract:

Introduction:

Incidence of drug resistance against chemical antimicrobial drugs has led the use of medicinal plants for treatment of infections in recent years. The aim of this study was to examine possible antibacterial and antifungal effects of Methanolic, Ethanolic and Aqueous extracts of *Ocimum basilicum* plant in vitro.

Materials & Methods:

After preparing the extracts with maceration method, antimicrobial activities and Minimum inhibitory concentration were examined by Disk-Diffusion, serial dilution method against bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*) and fungi (*Aspergillus niger* and *Candida albicans*). To standardize of study, we used anti biogram disks and ATCC bacteria.

Results:

The results showed that the methanolic extract of *Ocimum basilicum* had maximum antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Aspergillus niger* with the diameter of inhibition zone (20 ± 1.02 and 18 ± 1.20 mm) respectively. In addition, the minimum inhibitory concentration of Methanolic extract against *Staphylococcus aureus* and *Aspergillus niger* was documented in 12.50 and 25 mg/mL, respectively. The aqueous extract of the *Ocimum basilicum* did not have a good effect compared to methanolic and ethanolic extracts.

Conclusions:

Based on the results of this study, it was found that methanolic extracts of *Ocimum basilicum* compared to aqueous and ethanolic extracts have antibacterial activity against gram-positive bacterial strains of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. It also shows favorable antifungal properties against *Aspergillus niger* fungi.

Keywords: *Ocimum Basilicum*, Antimicrobial Activity, Minimum Inhibitory Concentration, Inhibition Zone

* Corresponding author Email: abroeintan@gmail.com