



بررسی ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره گزنه (*Urtica dioica L.*)، پونه (*Mentha longifolia L.*) و شنگ (*Tragopogon collinus*) جمع آوری شده از مناطق روستایی مشکین شهر و مقایسه اثر درمانی مخلوط آن‌ها با داروی سیپروفلوکساسین علیه باکتری‌های شایع عفونت مجاری ادراری

حجت اقبال^۱، نیما محمدنژاد خیای^{۲*}، علی شاهی قره لر^۳، ندا جهانی^۴

۱- گروه فیتوشیمی، مرکز تحقیقات علوم پایه، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۳- گروه علوم گیاهی و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی مشکین شهر، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۴- دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

مقدمه

با توجه به اثرات آنتی باکتریال گیاهان دارویی و عوارض جانبی داروهای شیمیایی، جایگزین کردن داروهای شیمیایی با داروهای با منشأ گیاهی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. لذا این مطالعه با هدف بررسی ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره گزنه، پونه کوهی و شنگ - جمع آوری شده از مناطق روستایی مشکین شهر و مقایسه اثر درمانی مخلوط آن‌ها با داروی سیپروفلوکساسین علیه باکتری‌های شایع عفونت مجاری ادراری انجام شد.

مواد و روش‌ها

ترکیبات عمده فنی گیاهان دارویی گزنه، پونه و شنگ پس از جمع آوری از رویشگاه اصلی و عصاره گیری به روش ماسراسیون، با استفاده از دستگاه HPLC شناسایی شد. سپس بررسی و مقایسه خاصیت ضد میکروبی مخلوط عصاره ها در برابر باکتری‌های شایع عفونت مجاری ادراری با داروی سیپروفلوکساسین، با روش انتشار دیسک (Disk diffusion) انجام گردید. همچنین مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) مخلوط عصاره ها در غلظت‌های ۵/۱۲، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ در برابر باکتری‌های مورد مطالعه در ۳ تکرار تعیین شد.

یافته‌ها

عمده ترین ترکیبات فنی شناسایی شده از عصاره هیدروالکلی گزنه شامل کاتچین و روتین، پونه شامل گالیک اسید و کوئرستین و شنگ شامل اورسولیک اسید و کافئیک اسید بود. باتوجه به نتایج به دست آمده، مشخص شد که مخلوط عصاره گیاهان خاصیت ضد میکروبی نسبتاً مشابهی را نسبت به داروی سیپروفلوکساسین از خود نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت که مخلوط عصاره گیاهان دارویی گزنه، پونه و شنگ با انجام مطالعات بیشتر به خصوص در شرایط *in vivo* می‌تواند فراورده مناسبی برای درمان عفونت مجاری ادراری باشد.

کلیدواژه‌ها

پونه، خاصیت ضد میکروبی، عصاره گیاهی، عفونت مجاری ادراری، گزنه

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۳

*نویسنده مسئول: نیما محمدنژاد
خیای، گروه علوم و صنایع غذایی،
دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز،
ایران

تلفن: ۰۹۳۷۳۴۸۲۸۵۱

پست الکترونیک:

nimanejad7@yahoo.com



مقدمه

عفونت مجاری ادراری از عفونت‌های شایع، به ویژه در زنان، افراد مسن، نوزادان و از مشکلات حاد سازمان‌های متولی بهداشت کشورهای مختلف محسوب می‌شود. عفونت مجاری ادراری از نظر فراوانی، رتبه اول را در بین بیماری‌های عفونی زنان دارد (۱). آمار جهانی نشانگر آن است که بیش از ۲۵۰ میلیون نفر در سال به این بیماری مبتلا می‌شوند (۲). از جمله باکتری‌های شایع در این بیماری می‌توان به *شرشیا کلی*، پروتئوس *ولگاریس*، کلبسیلا *پنومونیه*، *استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس*، *انتروباکتر*، *سیتروباکتر*، *سودوموناس آئروژینوزا* اشاره نمود (۳). درمان عفونت‌های ادراری بیشتر با آنتی بیوتیک صورت می‌گیرد. اما گزارش مقاومت باکتری‌های پاتوژن نسبت به آنتی بیوتیک‌ها روز به روز در حال افزایش است. بر اساس تحقیقات انجام گرفته در زمینه شناسایی عوامل بیماری‌زا و تعیین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی آن‌ها، مشخص شده است که میزان مقاومت نسبت به آمپی سیلین و آموکسی سیلین در بین باسیل‌های گرم منفی تیره انتروباکتریاسه به ویژه در جنس کلبسیلا، به طور چشم‌گیری افزایش یافته است (۳). همچنین میزان مقاومت در بین سویه‌های مختلف *استافیلوکوکوس اورئوس* بین ۹۰ تا ۷۰ درصد و در مورد سایر استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی، ۶۰ درصد می‌باشد (۴). در تحقیقات مشابه دیگر علیه باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری نشان داده شده است که میزان مقاومت نسبت به داروهای ونکومايسين، تتراسيكلين و آمپی سیلین به ترتیب ۹/۸۹، ۳/۴۷ و ۸۸ درصد می‌باشد (۴)؛ بنابراین تحقیقات در جهت شناسایی ترکیبات ضد میکروبی جدید با منشاء گیاهی و طبیعی، روز به روز در حال افزایش است. گیاهان دارای متابولیت‌های ثانویه فراوانی وجود دارند که می‌توانند به عنوان یکی از مهم‌ترین منابع دارویی با اثرات ضد

باکتریایی و ضد قارچی جدید شمرده شوند (۵، ۶). در طب سنتی ایران استفاده از گیاهان دارویی در درمان سوختگی‌ها، ناراحتی‌های پوستی، بیماری‌های عفونی، سستی سمی و التهاب متداول است (۶). عوارض جانبی متعدد آنتی بیوتیک‌های مصرفی و همچنین مقاومت دارویی ایجاد شده در باکتری‌ها علیه آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان عفونت‌های ادراری، موجب شده تا تحقیقات در زمینه یافتن داروهای گیاهی، با اثرات درمانی مشابه یا حتی بهتر و بدون داشتن عوارض جانبی ادامه یابد (۴).

گزنه (*Urtica dioica* L.) یک گیاه پایا، معمولاً دوپایه، چندساله، علفی، دارای کرک‌های گزنده، ایستاده، به ارتفاع ۱۲۰-۵۰ سانتی‌متر و متعلق به خانواده *Urticaceae* می‌باشد. گزنه توسط پرزهایی بر روی اندام‌های هوایی‌اش شهرت پیدا کرده و مشخص می‌شود. گزنه در طب سنتی ایران به عنوان ضد آماس معرفی شده است. از برگ‌های خشک و تازه گیاه گزنه به عنوان درمان بیماری‌های درد مفاصل (Arthritis) یا تورم استخوان (Osteoarthritis) و بیماری عفونی مجاری ادراری (Urinary tract infection) استفاده می‌شود. به همین دلیل گیاه گزنه در طب سنتی ایران مورد توجه قرار گرفته و در موارد دیگری از جمله درمان اگزما، آفت دهان، عفونت‌های گوارشی و تنفسی مورد استفاده قرار گرفته است (۷-۹).

پونه (*Mentha longifolia* L.) یک گیاه چندساله متعلق به جنس *Mentha*، علفی، پایا و دارای ساقه‌هایی با ظاهر تقریباً استوانه‌ای به ارتفاع ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متر که به حالت وحشی در دشت‌های مرطوب و حتی جریان‌های آب می‌روید. دارای برگ‌های بیضوی و نوک‌تیز با دندانه‌های ظریف و متقابل که طول میان‌گره‌ها متفاوت است. در ایران در مناطق شمال و شمال غرب کشور، لاهیجان، تالش، آستارا و مشکین‌شهر، به صورت خودرو، می‌روید (۱۰). امروزه خصوصیات



ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره بسیاری از گونه‌های گیاه پونه کوهی ثابت شده است. در طب سنتی غالباً از پونه کوهی برای درمان سرماخوردگی، سرفه و همچنین در استعمال خارجی برای درمان زخم‌ها و غدد متورم استفاده می‌شود. همچنین از پونه، به‌عنوان عامل آنتی‌اکسیدان، مقوی سیستم ایمنی، ضد التهاب و ضد میکروب استفاده می‌شود (۱۲). به علاوه، پونه دارای خاصیت ضدنفخ، ضدتشنج، کاهش دهنده تراوش‌های معده، تسکین دهنده درد زخم معده و سوزش آن است (۱۱).

شنگ (*Tragopogon collinus*) گیاهی از تیره Asteraceae، علفی یک‌ساله یا چند ساله که در اغلب مناطق ایران رویش دارد (۱۰). گیاه شنگ یکی از گیاهان دارویی با ارزش و جزو سبزی‌های خوراکی وحشی می‌باشد. ریشه آن دوکی شکل، سفید مایل به زرد و برگ‌های نواری دراز؛ مانند برگ تره دارد. قسمت پایین آن پهن‌تر از قسمت بالای برگ است و به رنگ سبز مایل به کبود می‌باشد. این گیاه دارای پراکندگی وسیعی بوده، به نحوی که بیش از ۱۰۰ گونه مختلف از گیاه شنگ شناسایی شده است (۱۳). رویشگاه این گیاه مناطق مرطوب و معتدل در علفزارها می‌باشد. گیاه شنگ از دو کلمه *Tragos* و *Pogon* با ریشه یونانی تشکیل شده است. کلمه *Tragos* به معنی بز و کلمه *Pogon* به معنی ریش می‌باشد. علت این نامگذاری احتمالاً به دلیل پر مو بودن گیاهان این جنس در دوره دانه دار بودن، می‌باشد (۱۳). شنگ دارای مقادیر مختلفی از فلاونوئیدها، آلکالوئیدهای پیرولیزیدینی، ساپونین، ترکیب‌های پلی فنولی، استرول‌های اشباع نشده، کینون‌ها و کینوفوران‌ها و به میزان کم موسیلاژ می‌باشد. بخش‌های هوایی این گیاه در طب سنتی ایرانی به دلیل فعالیت‌های قابض کننده، ضدعفونی کننده، ضد التهاب، دفع سموم، ضد خونریزی و التیام زخم، همچنین تقویت معده و کبد و درمان زخم‌های گوارشی، اختلالات

کبدی، خونریزی، عفونت ریوی و زخم‌ها استفاده می‌شود (۱۰). همچنین، در طب سنتی از آن به‌عنوان اشتهاآور، خلط‌آور، نرم‌کننده، رفع کننده احساس سوزش در معده، اثر دفع‌کننده گی مواد سمی بدن، درمان بیماری‌های جلدی، دیابت، رماتیسم، تامین نمو و رفع احتقان کبدی، کنترل کننده اسهال خونی، پایین آورنده املاح صفراوی و بهبود زخم‌های متعفن و چرکی نام برده شده‌است. استفاده از گیاهان دارویی از گذشته‌های دور جهت درمان بیماری عفونت مجاری ادراری مدنظر بوده است و در تحقیقات قبلی بررسی شده است. گادیس و تادس (۱۴) فعالیت ضد میکروبی گیاهان دارویی مختلف برای عفونت‌های دستگاه ادراری را بررسی نمودند. نتایج نشان داد که عصاره‌های آزمایش شده گیاهان فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی قابل توجهی را نشان دادند. آچارجی و همکاران (۱۵) فعالیت ضد باکتریایی برخی گیاهان دارویی را در برابر باکتری‌های عامل عفونت ادراری در شرایط آزمایشگاهی بررسی نمودند و نتایج نشان داد که عصاره گیاهان فعالیت ضد باکتریایی قابل توجهی را در برابر بیشتر باکتری‌های آزمایش شده نشان دادند.

با توجه به اثرات گیاهان گزنه، پونه و شنگ در کتب طب سنتی به عنوان آنتی باکتریال‌های طبیعی و با توجه به تنوع ژنتیکی ایجاد شده در عوامل بیماری‌زای میکروبی و پیدایش سویه‌های مقاوم و همچنین عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، جایگزین کردن آنها توسط داروهای ضد میکروبی با منشا گیاهی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده و سبب تحقیقات در زمینه یافتن داروهای سنتی بدون عوارض شده است. همچنین ترکیب دو عامل ضد باکتری، یکی طبیعی و دیگری مصنوعی، در درمان باکتری‌های مقاوم به چند دارو، مؤثرتر از یک درمان تک‌درمانی با هر یک از عوامل ضد باکتریایی است. با توجه به این که برای درمان



بود از گیاه جدا و در پاکت‌های مخصوص قرار داده و به محل خشک شدن انتقال یافت. بعد از خشک شدن در دمای ۲۸- ۲۰ درجه سانتی‌گراد و به دور از نور خورشید، به‌وسیله آسیاب برقی به‌صورت پودر تهیه شدند. عصاره‌گیری گیاهان به روش ماسراسیون انجام شد. قبل از عصاره‌گیری عمل حذف چربی به‌وسیله اتروپترول صورت گرفت. برای تهیه عصاره آبی، ۱۰۰ گرم از پودر هر گیاه به صورت جداگانه، داخل ارلن ۱۰۰۰ سی‌سی ریخته، به نسبت ۸ به ۱ به آن آب و اتانول ۹۶ درصد اضافه شد. عمل خیساندن به مدت ۷۲ ساعت (۳ روز) انجام گرفت و در طی این مدت هر چند ساعت یک‌بار به‌خوبی تکان داده شد. بعد از گذشت ۷۲ ساعت، عصاره ابتدا توسط پارچه و پنبه و سپس توسط قیف بوختر صاف شد تا عصاره یک دست و همگن بدست بیاید. سپس عصاره صاف شده به پلیت منتقل گردید و روی بن ماری با دمای 40°C به مدت ۲۴ ساعت تا خشک شدن عصاره قرار گرفت. عصاره‌ها تا زمان استفاده در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند (۸). اتانول به عنوان یکی از حلال‌های متداول برای عصاره‌گیری گیاهان می‌باشد؛ زیرا ایمن بوده و با هر نوع ظرفی سازگار است. اتانول همچنین نتایج ثابتی را ارائه می‌دهد و به راحتی قابل بازیابی است.

استانداردسازی عصاره‌ها و دوز استاندارد:
استانداردسازی عصاره‌ها بر اساس فارماکوپه‌ها و روش‌های علمی استانداردسازی انجام گرفت. بر این اساس استانداردهای ارگانولپتیک (مثل رنگ، بو، مزه) فیزیکی (مثل اندازه‌گیری رطوبت و میزان خاکستر تام، اندازه‌گیری ویسکوزیته و دانسیته) در استانداردسازی عصاره‌ها لحاظ گردید. سپس میزان عصاره خشک برای هر کدام اندازه‌گیری شد. میزان دوز مورد استفاده از هر عصاره با استفاده از مقدار مصرف فراورده‌های رسمی و یا ذکرشده

عفونت مجاری ادراری، بیشتر از داروی سیپروفلوکساسین استفاده می‌شود، به همین دلیل، این مطالعه به منظور بررسی ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره گزنه، پونه و شنگ جمع‌آوری شده از مناطق رویشی مشگین‌شهر و مقایسه اثر درمانی مخلوط عصاره گیاهان مورد نظر با داروی سیپروفلوکساسین، علیه باکتری‌های شایع عفونت مجاری ادراری انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه گیاهان: گیاهان دارویی مورد نظر در فصل بهار از بخش مرکزی شهرستان مشگین‌شهر واقع در شمال غربی ایران جمع‌آوری و پس از تایید در هرباریوم بخش تحقیقات گیاهان دارویی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل به آزمایشگاه منتقل شد. هنگام جمع‌آوری و برداشت گیاه در محل، مختصات جغرافیایی منطقه‌ی نمونه‌برداری توسط دستگاه موقعیت‌سنج جغرافیایی (GPS) مدل Garmin Vista ثبت گردید. منطقه نمونه برداری در محدوده جغرافیایی بین ۴۷ درجه و ۳۶ دقیقه تا ۴۸ درجه و ۵۴ دقیقه طول جغرافیایی و ۳۸ درجه و ۴ دقیقه تا ۳۵ درجه و ۳۲ دقیقه عرض جغرافیایی و حدود ۱۲۹۸ تا ۱۳۰۸ متر از سطح دریا، قرار داشت. متوسط حداکثر و حداقل دمای سالیانه این منطقه در فصل بهار، به ترتیب ۲۲ و ۳۴ درجه سانتی‌گراد و مجموع بارندگی سالیانه آن ۳۳۴/۶ میلی‌متر بود. در هنگام جمع‌آوری گیاهان سعی شد که نمونه‌ها در فصل رشد و مرحله‌ی فنولوژیکی جمع‌آوری گردد که بیشترین متابولیت ثانویه را دارد. نمونه‌ها در یک فاصله زمانی بسیار کوتاه از اندام‌های هوایی گیاه در ساعات ۱۲ الی ۱۵ در اوج تابش خورشید به دلیل وجود بیشترین ماده موثره، جمع‌آوری شدند.

عصاره‌گیری: جهت عصاره‌گیری، اندام‌های مورد نظر گیاهان، که شامل برگ، سرشاخه‌های گل‌دار، ریشه و میوه



در منابع سنتی اصلی تعیین شد. عصاره گیاهان دارویی مورد نظر با نسبت کاملاً مساوی (۱:۱:۱) به منظور تولید مخلوط عصاره گیاهان با همدیگر مخلوط شدند. با توجه به اثرات دارویی و ضد میکروبی هر کدام از گیاهان دارویی مورد استفاده در این پژوهش و با توجه به این که گیاهان مختلف مورد استفاده دارای ترکیبات موثره مجزای مختلف و منحصر به فردی هستند؛ بنابراین عصاره گیاهان مورد نظر به نسبت مساوی با همدیگر مخلوط شدند تا ضمن اثربخشی فراوان، اثرات سینرژیستی آن‌ها نیز هنگام استفاده با همدیگر نمایان گردد.

بررسی عوارض احتمالی و تداخل بین ترکیبات گیاهان: عوارض و اثرات جانبی احتمالی گیاهان مورد نظر با استفاده از منابع مختلف علمی و طب سنتی بررسی شده و تاکنون عوارض و خطرات جانبی جدی و قابل توجهی درباره گیاهان مورد نظر گزارش نشده بود. تداخلات احتمالی گیاهان مورد نظر نیز با استفاده از منابع مختلف علمی و طب سنتی بررسی شده و در مورد ۳ گیاه مورد نظر در پژوهش، تداخلات خاصی گزارش نگردیده بود.

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی عصاره گیاهان با دستگاه HPLC: در این مطالعه به منظور شناسایی ترکیبات فنلی عصاره گیاهان از دستگاه HPLC مدل KNAUER-Germany استفاده گردید. این دستگاه مجهز به دتکتور UV مدل ۲۵۰۰ K و ستون Vertex C18 و همچنین دارای اندازه ذرات ۵ میکرومتر، طول ۲۵۰ میلی‌متر و قطر ۴ میلی‌متر بود. برای شناسایی ترکیبات عصاره گیاهان، ۲۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده به دستگاه HPLC تزریق گردید. سپس مقدار ترکیبات فنلی بر اساس سطح زیر پیک کروماتوگرام مربوطه، تعیین شد (۸). برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

HPLC استفاده شد. برای این منظور، ۱۵ میکرولیتر از عصاره تهیه شده به دستگاه HPLC تزریق گردید. **محلول‌های استاندارد:** در مورد گیاه گزنه، ۲۰ میلی‌گرم کاتچین در محلول ۴۰ درصد V/V متانول حل شد و با همان محلول تا ۲۰۰ میلی‌لیتر رقیق شد. در مورد گیاه پونه، ۲۰ میلی‌گرم گالیک اسید در محلول ۴۰ درصد V/V متانول حل شد و با همان محلول تا ۲۰۰ میلی‌لیتر رقیق شد. در مورد گیاه شنگ نیز، ۲۰ میلی‌گرم اورسولیک اسید در محلول ۴۰ درصد V/V متانول حل شد و با همان محلول تا ۲۰۰ میلی‌لیتر رقیق شد.

باکتری‌های مورد مطالعه: در این مطالعه تاثیر مخلوط عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی گزنه، پونه و شنگ در برابر باکتری‌های شایع عفونت مجاری ادراری مورد بررسی قرار گرفت. این باکتری‌ها شامل: *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *پروتئوس میرابیلیس*، *انتروکوکوس فکالیس*، *کلبسیلا پنومونیه*، *اسینتوباکتر کالکوآستیکوس*، *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس*، *سیتروباکتر فرودی*، *انتروباکتر ائروژنز*، *سودومونس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند که از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه و جهت مطالعه استفاده شدند.

اختلاط و رقیق سازی عصاره گیاهان دارویی مورد مطالعه: عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی مورد مطالعه با نسبت‌های حجمی برابر (۱:۱:۱) با همدیگر مخلوط شده، سپس با پروپیلن گلیکول رقیق شدند. بنابراین علاوه بر عصاره خالص استاندارد، غلظت‌های ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ mg/mL و ۱۰۰ از مخلوط عصاره گیاهان تهیه شد (۱۶).

تهیه دیسک‌های حاوی عصاره: در این آزمایش دیسک‌های استریل با غلظت ۱۰۰ mg/mL از مخلوط عصاره‌ها تهیه شد. جهت تهیه دیسک‌های حاوی عصاره، از دیسک‌های بلانک ساخت پادتن‌طب استفاده شد. بدین ترتیب که



دیسک‌های بلانک در لوله‌های حاوی عصاره‌ها قرار داده شد. سپس ۳ تا ۵ دقیقه پس از جذب کامل، دیسک‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً خشک شده و جهت دیسک‌گذاری آماده شوند (۱۳).

بررسی فعالیت ضد میکروبی مخلوط عصاره گیاهان:

جهت بررسی خصوصیات ضد میکروبی عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان دارویی مورد مطالعه، از روش انتشار دیسک (Disk diffusion) و حداقل غلظت مهارکنندگی - (MIC) استفاده شد. جهت انجام این آزمایش باکتری‌های مورد مطالعه روی محیط کشت Tryptic Soy Broth جهت تکثیر اولیه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت، کشت داده شدند، از محیط کشت مولر هینتون آگار برای داشتن تک کلنی استفاده شد. در این روش از باکتری‌هایی که در محیط کشت رشد کرده‌اند، سوسپانسیونی در سرم فیزیولوژیک به تعداد $10^8 \times 3$ باکتری در میلی‌لیتر تهیه شد. جهت تهیه دیسک‌های حاوی عصاره از دیسک‌های بلانک، ساخت پادتن طب استفاده گردید. بدین ترتیب که دیسک‌های بلانک در لوله‌های حاوی مخلوط عصاره استاندارد گیاهان قرار داده شدند. بعد از مدت ۳ تا ۵ دقیقه پس از جذب کامل، دیسک‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً خشک شده و جهت دیسک‌گذاری آماده شوند (۱۷). سپس دیسک‌های حاوی عصاره روی پلیت گذاشته و به مدت دو روز، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. از دیسک‌های استاندارد سیپروفلوکساسین به منظور کنترل مثبت استفاده شد. اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها به وسیله‌ی کولیس دیجیتال انجام شد و نتایج مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر روش دیسک‌گذاری، حساسیت هر کدام از باکتری‌های مورد نظر نسبت به مخلوط عصاره گیاهان با استفاده از روش رقیق‌سازی در محیط مایع در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای

مورد بررسی قرار گرفت. به خانه‌های ردیف اول پلیت فقط محیط کشت مایع مولر هینتون و سوسپانسیون باکتری اضافه گردید. در ردیف بعدی به ۶ خانه از پلیت‌ها، مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر از محیط کشت مایع اضافه شد. به چاهک اول تا ششم به ترتیب، ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره گیاه با غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ که با روش رقیق‌سازی تهیه شده بودند، اضافه گردید. به هر چاهک مقدار ۲۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون باکتری معادل ۰/۵ مک فارلند اضافه شد. محتویات هر چاهک ۲ دقیقه به - وسیله دستگاه Plate Reader مجهز به تکان دهنده با هم مخلوط شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی - گراد انکوبه شدند و کدورت و یا عدم کدورت چاهک‌ها به صورت چشمی مورد ارزیابی قرار گرفتند. اولین رقتی که توانست کمترین میزان کدورت را نشان دهد به عنوان حداقل غلظت مهارکننده تعیین گردید. این آزمایش در سه تکرار برای هر باکتری به صورت جداگانه انجام شد و میانگین سه تکرار برای تعیین کمترین غلظت بازدارنده، مورد استفاده قرار گرفت (۱۸).

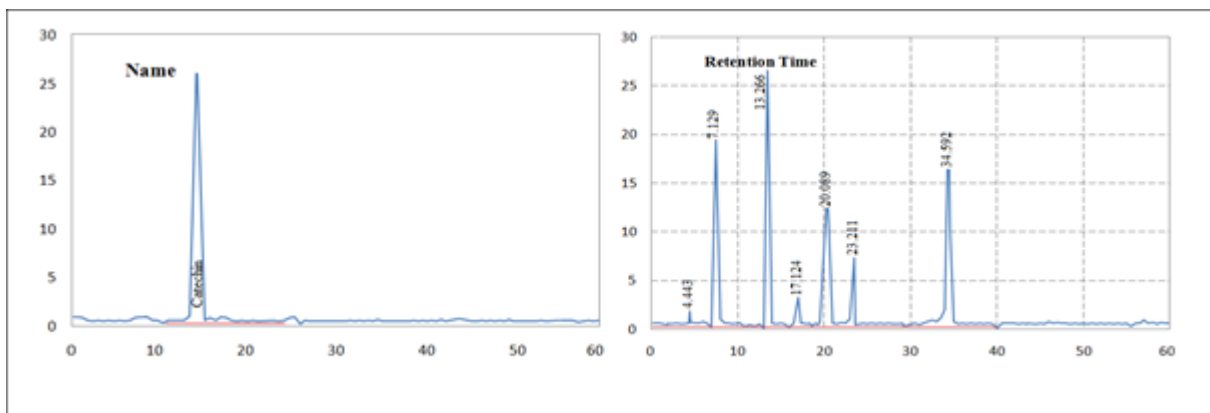
آنالیز آماری داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نسخه بیست و چهارم نرم افزار SPSS و آزمون تحلیل واریانس داده‌ها (ANOVA) انجام گرفت. مرز معنی‌داری در $P < 0/05$ قرار داده شد.

یافته‌ها

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی عصاره گیاهان با دستگاه HPLC: پیک‌های خروجی HPLC نمونه عصاره و استاندارد گیاه دارویی گزنه در شکل ۱ و ترکیبات تشکیل دهنده آن در جدول ۱ آورده شده است. نتیجه آنالیز عصاره با استفاده از دستگاه HPLC برای گیاه دارویی گزنه نشان داد که عصاره مورد مطالعه دارای ۳۵/۷۴ درصد ترکیبات فنلی می -



باشد که از این میزان ۲۶/۵۴ درصد آن را کاتچین و ۱۹/۴۳ درصد آن را روتین تشکیل می‌دهد (جدول ۱).



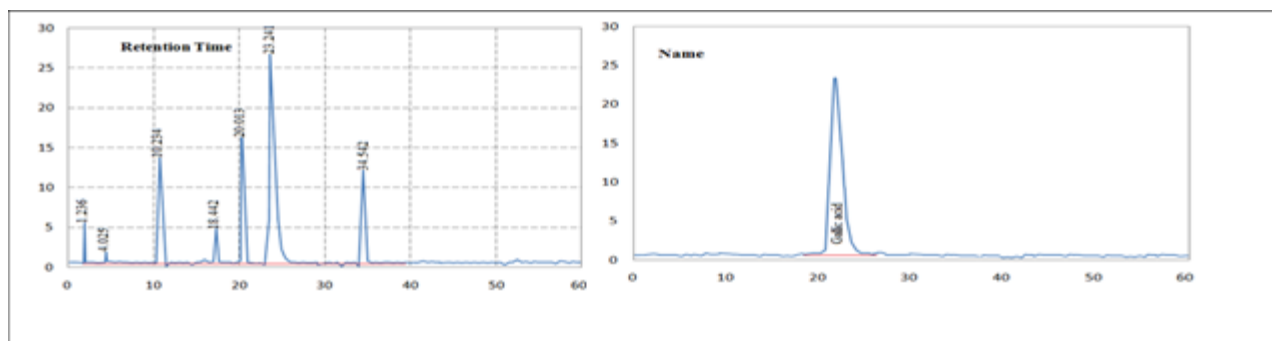
شکل ۱- پیک های خروجی HPLC نمونه عصاره (a) و استاندارد (b) گیاه دارویی گزنه

جدول ۱- ترکیبات تشکیل دهنده عصاره گیاه دارویی گزنه

Retention Time (min)	Percent	Phenolic compound	Row
۱۳/۲۶۶	۲۶/۵۴	Catechin	۱
۷/۱۲۹	۱۹/۴۳	Rutin	۲
۳۴/۵۹۲	۱۶/۳۶	Rosmarinic Acid	۳
۲۰/۰۸۹	۱۲/۴۶	p-coumaric Acid	۴
۲۳/۲۱۱	۷/۳۳	Gallic Acid	۵
۱۷/۱۲۴	۳/۲۹	Chlorogenic Acid	۶
۴/۴۴۳	۱/۸۲	Caffeic Acid	۷

میزان ۱۶/۳۴ درصد آن را گالیک اسید و ۲۶/۷ درصد آن را کوئرستین تشکیل می‌دهد (شکل ۲ و جدول ۲).

همچنین بر اساس نتایج حاصل از آنالیز عصاره پونه کوهی با استفاده از روش HPLC مشاهده شد که عصاره گیاه دارویی پونه دارای ۳۶/۸۶ درصد ترکیبات فنلی می‌باشد که از این



شکل ۲- پیک های خروجی HPLC نمونه عصاره (a) و استاندارد (b) گیاه دارویی پونه

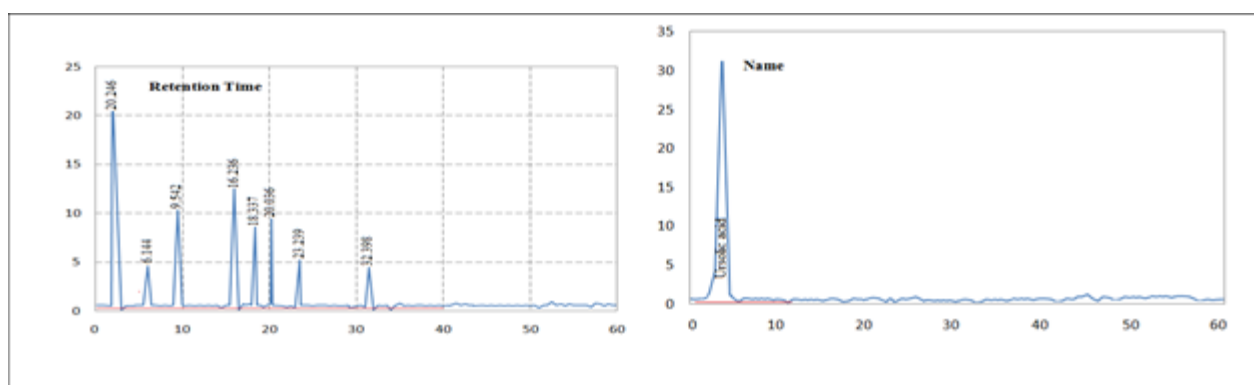


جدول ۲- ترکیبات تشکیل دهنده عصاره گیاه دارویی پونه

Retention Time (min)	Percent	Phenolic compound	Row
۲۳/۲۴۱	۲۶/۷	Quercitrin	۱
۲۰/۰۱۳	۱۶/۳۴	Gallic acid	۲
۱۰/۲۳۴	۱۳/۷۵	Kaempferol	۳
۳۴/۵۴۲	۱۲/۲۶	Hyperoside	۴
۱۸/۴۴۲	۴/۸۷	Homoeriodictiol	۵
۱/۲۳۶	۳/۶۷	Umbelliferone	۶
۴/۰۲۵	۱/۹۴	Rutin	۷

اسید و ۱۲/۷۵ درصد آن را کافئیک اسید تشکیل می‌دهد (شکل ۳ و جدول ۳).

نتایج آنالیز عصاره گیاه شنگ نشان دهنده این بود که عصاره مورد مطالعه دارای ۳۵/۷۴ درصد ترکیبات فنلی می‌باشد که از این میزان ۱۶/۴۲ درصد آن را اورسولیک



شکل ۳- پیک‌های خروجی HPLC نمونه عصاره (a) و استاندارد (b) گیاه دارویی شنگ

فعالیت ضد میکروبی مخلوط عصاره گیاهان: نتایج حاصل از آزمایشات ضد میکروبی در شکل ۴ و مقادیر MIC مخلوط عصاره گیاهان بر باکتری‌های عامل عفونت ادراری در جدول ۴ نمایش داده شده است. پس از انجام آزمون آنتی‌باکتریال مشخص گردید که مخلوط عصاره گیاهان مورد نظر، دارای اثرات مهارکنندگی قابل توجهی بر روی انواع باکتری‌های گرم منفی و مثبت می‌باشد. نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد در مورد مخلوط عصاره گیاهان،

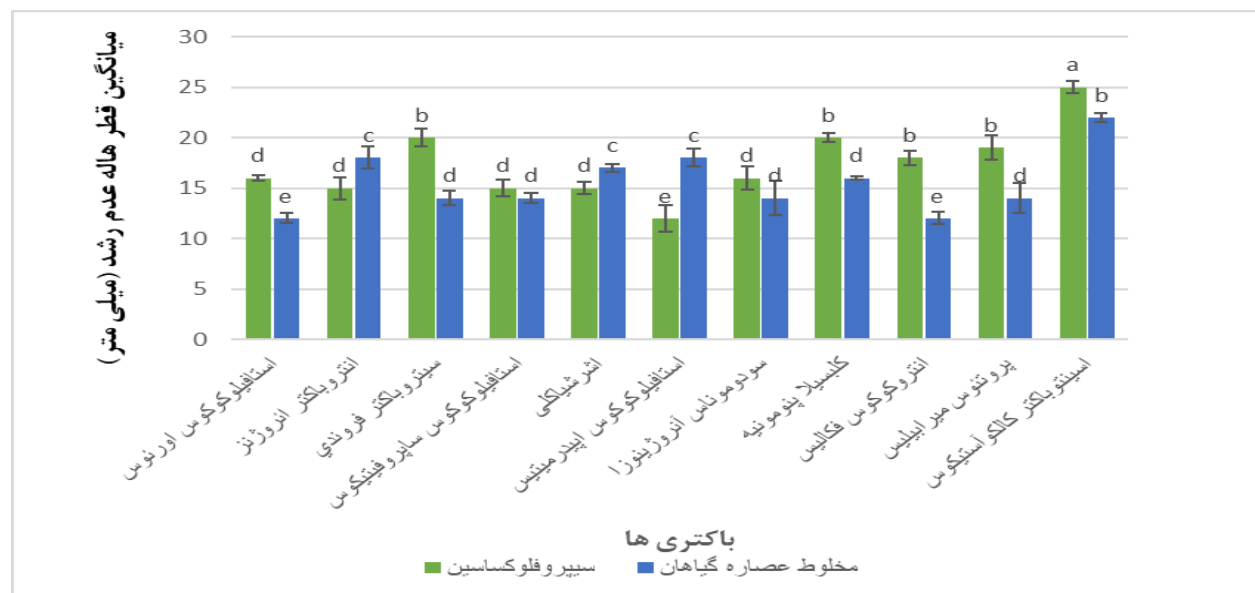
جدول ۳- ترکیبات تشکیل دهنده عصاره گیاه دارویی شنگ

Retention Time (min)	Percent	Phenolic compound	Row
۲/۰۲۴۶	۱۶/۴۲	Ursolic acid	۱
۲۰/۰۳۶	۱۲/۷۵	Caffeic acid	۲
۱۶/۲۳۶	۱۲/۵۴	Catalpol	۳
۹/۵۴۲	۱۰/۳۱	Chlorogenic acid	۴
۲۳/۲۳۹	۹/۴۱	Vanillic acid	۵
۱۸/۳۳۷	۸/۶۲	Aucubin	۶
۳۲/۳۹۸	۷/۳۲	acid p-coumaric	۷
۶/۱۴۴	۴/۵۷	Oleanolic acid	۸



مخلوط عصاره گیاهان بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اپیدرمیتیس، اشرشیا کلی و انتروباکتر ائروژنز از داروی سیپروفلوکساسین بیشتر است و این اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$). بنابراین، باتوجه به نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد مخلوط عصاره گیاهان و داروی سیپروفلوکساسین بر روی باکتری‌های شایع عفونت ادراری، مشخص شد که مخلوط عصاره گیاهان نتایج نسبتاً مشابهی را نسبت به داروی سیپروفلوکساسین از خود نشان می‌دهد. نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی مخلوط عصاره گیاهان (شکل ۴ و جدول ۴) نشان داد که باکتری‌های اسینتوباکتر کالکواستیکوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیتیس و سیتروباکتر فروندی بیشترین حساسیت را نسبت به مخلوط عصاره گیاهان مورد مطالعه از خود نشان دادند. همچنین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که باکتری‌های سودوموناس آنروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و پروتئوس میرابیلیس حساسیت کمتری نسبت به سایر باکتری‌ها نسبت به مخلوط عصاره گیاهان دارند.

اختلاف معناداری در میزان هاله عدم رشد در باکتری‌های مورد مطالعه مشاهده گردید ($P < 0.05$)، که نشان دهنده این است که مخلوط عصاره گیاهان بر روی باکتری‌های مختلف اثر مهارکنندگی متفاوتی دارد. در بررسی اثر مخلوط عصاره گیاهان بر قطر ممانعت از رشد باکتری‌ها، مشخص شد که بیشترین قطر هاله ممانعت از رشد توسط مخلوط عصاره گیاهان مربوط به اسینتوباکتر کالکواستیکوس با قطر هاله‌ی ۲۲ میلی‌متر و پس از آن انتروباکتر ائروژنز با قطر هاله‌ی ۱۸ میلی‌متر و کم‌ترین قطر هاله عدم رشد مربوط به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با ایجاد هاله‌ی ۱۲ میلی‌متری می‌باشد. در مقایسه خاصیت آنتی‌باکتریال مخلوط عصاره گیاهان و داروی سیپروفلوکساسین (شکل ۴)، نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که در میانگین قطر هاله عدم رشد مخلوط عصاره گیاهان و داروی سیپروفلوکساسین بر روی باکتری‌های سودوموناس آنروژینوزا و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس اختلاف معنی‌دار وجود ندارد ($P < 0.05$). همچنین این نتیجه به دست آمد که خاصیت آنتی‌باکتریال



شکل ۴- نتایج حاصل از میانگین قطر هاله عدم رشد مخلوط عصاره گیاهان و داروی سیپروفلوکساسین علیه باکتری‌های شایع عفونت ادراری بر حسب میلی‌متر در سه تکرار



جدول ۴- نتایج حاصل از میانگین قطر هاله عدم رشد مخلوط عصاره گیاهان و داروی سیپروفلوکساسین علیه باکتری‌های شایع عفونت ادراری بر حسب میلی متر در سه تکرار

نتیجه آزمون	میانگین قطر هاله عدم رشد سیپروفلوکساسین	میانگین قطر هاله عدم رشد مخلوط عصاره گیاهان	باکتری
$p = 0/03$	$16/5 \pm 1/4$	$12/4 \pm 2/6^*$	استافیلوکوکوس اورئوس
$p = 0/03$	$15/2 \pm 3/4$	$18/8 \pm 2/4$	انتروباکتر ائروژنز
$p = 0/02$	$20/4 \pm 2/7$	$14/9 \pm 2/6$	سیتروباکتر فروندی
$p = 0/03$	$15/8 \pm 1/7$	$13/9 \pm 3/6$	استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس
$p = 0/01$	$15/6 \pm 1/3$	$14/1 \pm 4/4$	اشرشیاکلی
$p = 0/02$	$12/9 \pm 1/6$	$18/4 \pm 2/4$	استافیلوکوکوس اپیدرمیتیس
$p = 0/03$	$16/3 \pm 1/5$	$14/6 \pm 1/9$	سودوموناس ائروژینوزا
$p = 0/04$	$20/1 \pm 2/3$	$16/4 \pm 1/7$	کلبسیلا پنومونیه
$p = 0/02$	$18/2 \pm 1/27$	$12/1 \pm 1/7$	انتروکوکوس فکاليس
$p = 0/01$	$19/2 \pm 1/12$	$14/1 \pm 1/3$	پروتئوس میرابیلیس
$p = 0/03$	$25/2 \pm 1/17$	$22/1 \pm 1/2$	اسینتوباکتر کالکواستیکوس
$p = 0/03$	$P=0/03$	$p = 0/04$	نتیجه آزمون

* نتایج به صورت انحراف معیار $\pm$ میانگین توصیف شده است.

جدول ۵- مقادیر MIC مخلوط عصاره گیاهان بر باکتری‌های عامل عفونت ادراری

Mg/ml	باکتری های مورد آزمایش	ردیف
۵۰	استافیلوکوکوس اورئوس	۱
۲۵	انتروباکتر ائروژنز	۲
۱۲/۵	سیتروباکتر فروندی	۳
۱۶/۶	استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس	۴
۱۲/۵	اشرشیاکلی	۵
۱۲/۵	استافیلوکوکوس اپیدرمیتیس	۶
۵۰	سودوموناس آنروژینوزا	۷
۲۵	کلبسیلا پنومونیه	۸
۲۵	انتروکوکوس فکاليس	۹
۵۰	پروتئوس میرابیلیس	۱۰
۱۲/۵	اسینتوباکتر کالکواستیکوس	۱۱

بحث

ترکیبات طبیعی ضدباکتریایی برای کنترل عوامل بیماری‌زا

شده است (۱۹). امروزه به دلیل خاصیت سمی و سرطان‌زایی ترکیبات شیمیایی و سنتزی، استفاده از گیاهان

افزایش روزافزون مقاومت باکتری‌ها به آنتی بیوتیک‌ها، منجر

به ایجاد سیستم‌های مدیریت جایگزین برای استفاده از



مثبت عمدتاً شامل استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی و انتروکوک‌ها در رتبه دوم قرار می‌گیرند (۲۷-۲۵). با توجه به شیوع اشکال مختلف عفونت ادراری در سطح جامعه (به خصوص در جنس مؤنث) و مصرف متداول و گاه بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها جهت درمان، به نظر می‌رسد که بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پاتوژن‌های ادراری هر جامعه، امری بدیهی و قابل انتظار باشد. به وجود آمدن چنین مقاومت‌های دارویی، توسط میکروارگانیسم‌ها، ضرورت یافتن داروهای جایگزین با اثر درمانی مناسب را بیش از پیش نمایان می‌کند. این مطالعه به منظور بررسی ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره گزنه، پونه و شنگ جمع‌آوری شده از مناطق رویشی مشکین‌شهر و مقایسه اثر درمانی آن با داروی سیپروفلوکساسین علیه باکتری‌های شایع عفونت مجاری ادراری انجام شد.

نتایج به دست آمده از آنالیز HPLC عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی مورد مطالعه نشان داد که این گیاهان دارای ترکیبات مهمی همچون اسید گالیک، کاتچین، اسید وانیلیک، کلرژنیک اسید، کافئیک اسید، اسید کوماریک، روتین، کوئرستین، کامفرول و ... می‌باشند. بر اساس مطالعات انجام شده، مشخص شده است که خاصیت ضد باکتریایی مخلوط عصاره‌های گیاهان به دلیل وجود ترکیبات فنلی موجود در عصاره آن‌ها است (۲۸). عمده‌ترین ترکیبات فنلی شناسایی شده از عصاره هیدروالکلی گیاه دارویی گزنه شامل کاتچین (۱۹/۴۳٪) و روتین (۲۶/۲۴٪)، گیاه دارویی پونه شامل گالیک اسید (۱۶/۳۶٪) و کوئرستین (۲۶/۷٪) و گیاه دارویی شنگ شامل اُرسولیک اسید (۱۶/۴۲٪) و کافئیک اسید (۱۲/۷۵٪) بود. بررسی نتایج پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که تفاوت‌هایی در ترکیبات سازنده اسانس و عصاره‌های مناطق مختلف وجود دارد. سن گیاه، شرایط کشت، منطقه جغرافیایی، دما، طول روز، زمان

دارویی جهت درمان بیماری‌های مزمن توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف کرده و از این رو، استفاده از ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی طبیعی مانند اسیدهای آلی، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌تواند جایگزینی مناسب و ایمن در درمان عفونت‌ها باشد (۲۰). عصاره‌های گیاهی و اجزای تشکیل دهنده آن‌ها طیف وسیعی از فعالیت‌های زیستی مانند فعالیت‌های ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و فعالیت‌های دیگر را از خود نشان داده و نقش مهمی در درمان برخی بیماری‌های عفونی ایفا می‌نماید. علاوه بر موارد مذکور، امروزه با افزایش سطح آگاهی و نگرانی‌های موجود پیرامون عوارض جانبی ترکیبات شیمیایی و ایجاد مقاومت‌های دارویی، نگرش جدیدی نسبت به استفاده از ترکیبات گیاهی در درمان بیماری‌ها پدیدار گردیده است (۲۱). گزارش‌های زیادی در رابطه با خواص ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی بر روی باکتری‌ها و قارچ‌های بیماری‌زا وجود دارد. ثابت شده است که برخی از فراورده‌های گیاهی نظیر عصاره‌ها دارای اثرات بیولوژیک و فارماکولوژیک متعددی بوده و دارای اثرات ضد میکروبی و ضد عفونی هستند (۲۲، ۲۳). گیاهان حاوی انواع مختلفی از ترکیبات زیست فعال هستند که خواص ضد میکروبی برای آن‌ها فراهم می‌کند و می‌توان از آن‌ها برای تولید آنتی بیوتیک‌های جدید استفاده کرد.

عفونت ادراری یکی از شایع‌ترین علل مراجعات سرپایی بیماران به مراکز پزشکی است که گاهی به دلیل وخامت حال عمومی و یا وجود یک زمینه ناتوان‌کننده در شخص، نیاز به بستری، ضروری می‌شود. عفونت ادراری همچنین از شایع‌ترین انواع عفونت بیمارستانی و دومین علت مرگ بر اثر این گونه عفونت‌ها می‌باشد (۲۴). باسیل‌های گرم منفی روده‌ای (خانواده انتروباکتریاسه) شایع‌ترین باکتری‌های مسبب عفونت ادراری بوده و بعد از آن‌ها، کوکسی‌های گرم



برداشت، اندام اسانس و عصاره‌گیری شده، تکنیک‌های اسانس و عصاره‌گیری و شرایط آب و هوایی نقش مهمی در ترکیبات تشکیل دهنده اسانس و عصاره‌ها دارند. به عبارت دیگر عوامل مذکور بر بیوسنتز مسیرهای گیاهی و متعاقب آن بر مقادیر ترکیبات اصلی تاثیر گذارند (۲۰).

نتایج این مطالعه نشان دهنده اثرات ضد میکروبی مناسب مخلوط عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی مورد نظر بر روی باکتری‌های عامل عفونت مجاری ادراری بود. تحقیقات نشان داده است که خواص ضد میکروبی گیاهان دارویی با مقدار کل ترکیبات فنولی رابطه مستقیم دارد. مطالعات نشان داده است که ترکیبات فنلی نقش مهمی در خواص ضد میکروبی گیاهان دارد. این ترکیبات میکروارگانیزم‌ها را از طریق تخریب دیواره سلولی و پروتئین‌ها، اختلال در عملکرد غشا و آنزیم‌ها و تأثیر بر تکثیر DNA و RNA از بین می‌برند (۲۱).

مطالعات مختلفی بر روی گیاه گزنه در زمینه‌های گوناگون پزشکی و گیاهان دارویی تاکنون صورت گرفته است. در پژوهش انجام شده توسط گلچین و همکاران (۲۹) مشخص شد که عصاره آبی گزنه بر روی *اشریشیا کلی*، *انتروباکتر آئروژنس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *کاندیدا آلبیکانس* خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی دارد. در حالی که هیچ گونه اثری بر روی باکتری مقاوم گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* نداشت. در این مطالعه نیز چنین نتیجه‌گیری شد که مخلوط عصاره گیاهان (گزنه، پونه و شنگ) بر روی باکتری‌های ذکر شده خاصیت ضد میکروبی بالقوه‌ای دارد و چنین خاصیتی بر روی باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* در مقایسه با بقیه باکتری‌های مورد بررسی نسبتاً کمتر است. بنابراین نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج گلچین و همکاران مطابقت داشت. همچنین در تحقیقی دیگر توسط کوکریچ و همکاران (۳۰) نشان داده شد که عصاره الکلی گیاه گزنه بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس آئروس* و

استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس اثر ضد باکتریایی مناسبی دارد. شهیدی و همکاران (۳۱) در مطالعه‌ای اثر ضد باکتریایی عصاره گیاه شنگ بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *اشریشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* را در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که عصاره گیاه شنگ اثرات ضد باکتریایی مناسبی بر باکتری‌های مورد بررسی داشت و از این نظر با نتایج این مطالعه کاملاً مطابقت داشت. غفاری و همکاران (۳۲) اثرات ضد میکروبی و سینرژیک اسانس گیاه پونه و آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین در سوبه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت ادراری مطالعه کردند و گزارش دادند که اسانس پونه به تنهایی تأثیرات ضد میکروبی مناسبی علیه سوبه‌های پاتوژن *اشریشیا کلی* دارد. در پژوهشی دیگر حسینی‌زاده و همکاران (۳۳) اثر ضد میکروبی عصاره گیاه پونه بر روی جدایه‌های ادراری *اشریشیا کلی* بررسی کردند و بیان داشتند که عصاره گیاه پونه می‌تواند به عنوان عامل ضد میکروبی طبیعی بر علیه عفونت‌های مجرای ادراری ناشی از *اشریشیا کلی* استفاده شود. در این مطالعه نیز مخلوط عصاره گیاهان، باکتری *اشریشیا کلی* را به طور قابل توجهی مهار کرد و با نتایج مطالعات ذکر شده کاملاً مطابقت دارد. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده، مخلوط عصاره گیاهان موردنظر پس از انجام مطالعات تکمیل‌تر، می‌تواند جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی در درمان بیماری‌های عفونت ادراری باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده از آنالیز HPLC مخلوط عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی مورد مطالعه نشان داد که این گیاهان دارویی دارای ترکیبات مهمی همچون اسید گالیک، کاتچین، اسید وانیلیک، کلرژنیک اسید، کافئیک اسید، کوماریک، روتین، کوئرستین، کامفرول و ... می‌باشند.



عمده‌ترین ترکیبات فنلی شناسایی شده از عصاره هیدروالکلی گیاه دارویی گزنه شامل کاتچین (۲۶/۲۴٪) و روتین (۱۹/۴۳٪)، گیاه دارویی پونه شامل گالیک اسید (۱۶/۳۶٪) و کوئرستین (۲۶/۷٪) و گیاه دارویی شنگ شامل اورسولیک اسید (۱۶/۴۲٪) و کافئیک اسید (۱۲/۷۵٪) بود. مشخص شده است که خاصیت ضد باکتریایی گیاهان دارویی مورد نظر، به دلیل ترکیبات فنلی موجود در عصاره آن‌ها می‌باشد. این ترکیبات میکروارگانیسم‌ها را از طریق تخریب دیواره سلولی و پروتئین‌ها، اختلال در عملکرد غشا و آنزیم‌ها و تأثیر بر تکثیر DNA و RNA از بین می‌برند. در این مطالعه، به منظور بررسی خواص ضد میکروبی مخلوط عصاره گیاهان از روش انتشار دیسک استفاده گردید. از معایب این روش می‌توان به عدم مکانیزاسیون یا اتوماسیون آزمون اشاره کرد. درحالی که مزیت این روش آن است که برای تعیین آنتی بیوتیک انتخابی برای درمان عفونت استفاده می‌شود همچنین می‌تواند در نظارت بر عوامل ضد میکروبی و برای انتخاب عوامل ضد باکتری مناسب، مفید باشد. انجام آن به تجهیزات خاصی نیاز ندارد و همه پرسنل پزشکی می‌توانند آن را تفسیر کنند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از مخلوط عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی مورد مطالعه به اندازه سیپروفلوکساسین موجب مهار باکتری‌های شایع عفونت ادراری می‌گردد. با توجه به شناسایی ترکیبات فنلی موثر در عصاره گیاهان، می‌توان چنین نتیجه‌گیری

نمود که مخلوط عصاره‌ی هیدروالکلی گیاهان دارویی گزنه، پونه و شنگ منطقه مشکین‌شهر با میزان مواد فنلی بیشتر، دارای خاصیت ضد باکتریایی مناسبی بر روی بیشتر باکتری‌های گرم مثبت و برخی باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. عوارض و اثرات جانبی احتمالی گیاهان مورد نظر با استفاده از منابع مختلف علمی و طب سنتی بررسی شده و تاکنون عوارض و خطرات جانبی جدی و قابل توجهی درباره گیاهان مورد نظر گزارش نشده است. تداخلات احتمالی گیاهان مورد نظر نیز با استفاده از منابع مختلف علمی و طب سنتی بررسی شده و در مورد ۳ گیاه مورد نظر در پژوهش، تداخلات خاصی گزارش نگردیده بود. بنابراین با توجه به نتایج می‌توان بیان داشت که مخلوط عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی مورد مطالعه، با انجام مطالعات بیشتر به خصوص به صورت *in vivo* می‌تواند فرآورده مناسبی برای درمان عفونت مجاری ادراری باشد.

تشکر و قدردانی

از بخش تحقیق و توسعه شرکت دانش‌بنیان پژوهشگران داروی سبز که در تامین هزینه طرح، فعالیت های تولیدی و آزمایشگاهی همکاری داشته‌اند، قدردانی می‌نماییم.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافع‌ی که ممکن است با چاپ مقاله به عنوان احتمال ایجاد تعارض منافع سایر موسسات تلقی و باعث سود یا زیان آنان شود، ندارند.



References

1. Nwanze PI, Nwaru LM, Oranusi SU, Dimkpa U, Okwu MU, Babatunde BB, Anake TA, Jatto W, Asagwara CE. Urinary tract infection in Okada village: Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern. Scientific Research and Essay. 2007;2(4):112-6.
2. Barnett BJ, Stephens DS. Urinary tract infection: an overview. The American journal of the medical sciences. 1997 Oct 1;314(4):245-9.
3. Whiting P, Westwood M, Watt I, Cooper J, Kleijnen J. Rapid tests and urine sampling techniques for the diagnosis of urinary tract infection (UTI) in children under five years: a systematic review. BMC pediatrics. 2005 Dec;5(1):1-3.
4. Khatony A, Mohammadi M, Jafari F, Vaisi-Raygani A, Jalali R, Salari N. Urinary tract infection among Iranian older adults: a systematic review and meta-analysis. Ageing International. 2021 Jun;46:170-81.
5. Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157: H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. Food control. 2007 May 1;18(5):414-20.
6. Bonjar S. Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran. Journal of ethnopharmacology. 2004 Oct 1;94(2-3):301-5.
7. Joshi BC, Mukhija M, Kalia AN. Pharmacognostical review of Urtica dioica L. International Journal of Green Pharmacy (IJGP). 2014;8(4).
8. Farhan SA, Faraj M, Al-Shemari HH, Jassim AM. Study of some Urtica dioica L. Leaves components and effect of their extracts on growth of pathogenic bacteria and identify of some flavonoids by HPLC. Al-Mustansiriya J. Sci. 2012;23(3):79-86.
9. Farzami B, Ahmadvand D, Vardasbi S, Majin FJ, Khaghani SH. Induction of insulin secretion by a component of Urtica dioica leave extract in perfused Islets of Langerhans and its in vivo effects in normal and streptozotocin diabetic rats. Journal of ethnopharmacology. 2003 Nov 1;89(1):47-53.
10. Buso P, Manfredini S, Reza Ahmadi-Ashtiani H, Sciabica S, Buzzi R, Vertuani S, Baldisserotto A. Iranian medicinal plants: from ethnomedicine to actual studies. Medicina. 2020 Feb 26;56(3):97.
11. Dolatkhahi M, Ghorbani Nohooji M, Mehrafarin A, Amini Nejad GR, Dolatkhahi A. Ethnobotanical study of medicinal plants in Kazeroon, Iran: Identification, distribution and traditional usage. Journal of medicinal plants. 2012 May 10;11(42):163-78.
12. Gulluce M, Sahin F, Sokmen MÜ, Ozer H, Daferera D, Sokmen AT, Polissiou M, Adiguzel AY, Ozkan Hİ. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L. ssp. longifolia. Food chemistry. 2007 Jan 1;103(4):1449-56.
13. Abolfathi11 E, Amirmozafari N, Ghaemi E. Antimicrobial activity of Ethanolic extracts of (Tragopogon collinus L. and Allium eriophyllum L.) on some selected environmental and pathogenic bacteria. Biotechnological Journal of Environmental Microbiology. 2022 Apr 1;1(1).
14. Gadisa E, Tadesse E. Antimicrobial activity of medicinal plants used for urinary tract infections in pastoralist community in Ethiopia. BMC Complementary Medicine and Therapies. 2021 Dec;21:1-9.

15. Acharjee M, Zerín N, Ishma T, Mahmud MR. In-vitro anti-bacterial activity of medicinal plants against Urinary Tract Infection (UTI) causing bacteria along with their synergistic effects with commercially available antibiotics. *New Microbes and New Infections*. 2023 Jan 1;51:101076.
16. Thakur R, Jain N, Pathak R, Sandhu SS. Practices in wound healing studies of plants. *Evidence-based complementary and alternative medicine*. 2011 Jan 1;2011.
17. Azizi Alidoust F, Anvari M, Atayi Jaliseh S. Antimicrobial Activity of Aqueous and Alcoholic Extracts of Chamomile, Fleawort, Aquatic Pennyroyal and Nettle Plants on *Klebsiella pneumoniae* and Comparing Their Effects with Common Antibiotics. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2020 Jul 10;14(4):361-73.
18. Hanberger, H., Walther, S., Leone, M., Barie, P. S., Rello, J., and Lipman, J. 2011. Increased mortality associated with methicillin -resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in the Intensive Care unit: results from the EPIC II study. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 38(4): 331 - 335.
19. Negi, P. S. 2012. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International Journal of Food Microbiology*. 156(1): 7 -17.
20. Hasheminya, S. M., and Dehghannya, J. 2020. Composition, phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of *Pistacia atlantica* subsp. *kurdica* hulls' essential oil. *Food Bioscience*. 34: 100510.
21. Haghighi, M., Sharif Rohani, M., Pourmoghim, H., Samadi, M., Tavoli, M., Eslami, M., and Yusefi, R. 2017. Enhancement of immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a diet supplemented with Aloe vera extract. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 16(3): 884 -896.
22. Hasheminya, S. M., and Dehghannya, J. 2020. Green synthesis and characterization of copper nanoparticles using *Eryngium caucasicum* Trautv aqueous extracts and its antioxidant and antimicrobial properties. *Particular Science and Technology*. 38(8): 1019 -1026
23. Klančnik A, Piskernik S, Jeršek B, Možina SS. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of microbiological methods*. 2010 May 1;81(2):121-6.
24. Falsafi S, Tayebi Z, Msoumi M, Mirzaei A. Antimicrobial susceptibility pattern of human pathogenic bacteria isolated from patients with urinary tract infection. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*. 2014 Sep 10;4(15):83-9.
25. Saraj M S, Mowla K, Ghorbani A, Etemadi A, Cheraghy M, Mahmoodlo A et al . Identification of Outpatient Urinary Pathogens and Antibiotic Susceptibility Pattern in Ahwaz, Iran 2002-2003. *yafte* 2005; 6 (4) :41-47
26. Mahmoudi H, Alikhani MY, Arabestani M, Khosravi S. Evaluation prevalence agents of urinary tract infection and antibiotic resistance in patients admitted to hospitals in Hamadan University of Medical Sciences 1391-92. *Pajouhan Scientific Journal*. 2014 Jun 10;12(3):20-7.
27. Rahimi M K, Falsafi S, Tayebi Z, Msoumi M, RezaFerasat pour M R, Mirzaei A. Antimicrobial susceptibility pattern of human pathogenic bacteria isolated from patients with urinary tract infection. *NCMBJ* 2014; 4 (15) :83-89.
28. Ushimaru PI, Silva MT, Di Stasi LC, Barbosa L, Fernandes Junior A. Antibacterial activity of medicinal plant extracts. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2007;38:717-9.



29. Gulchin İ, Küfrevioğlu İ, Oktay M, Büyükokuroğlu ME. Antioxidant, antimicrobial antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.), J. Ethnopharmacol. 2004; 90: 205 - 15. 16.
30. Kukrić ZZ, Topalić-Trivunović LN, Kukavica BM, Matoš SB, Pavičić SS, Boroja MM, Savić AV. Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). Acta periodica technologica. 2012(43):257-72.
31. Shahidi F, Tabatabai Yazdi, F, Alizadeh Behbahani B, Roshanak S, Norouzi N, Vasiei A. Antibacterial effect of Sheng plant extract on *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* in laboratory conditions. Infectious and tropical diseases of Iran. 2018;24(84):1-10. [persian]
32. Ghaffari M, Mahdavi Ortakand M, Baghbani Arani F. Studying the antimicrobial and synergistic effect of peppermint essential oil (*Mentha pulegium* L.) and ciprofloxacin antibiotic in *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infection. Biological knowledge of Iran. 2014; 10 (4): 31-39.
33. Hosseingalizadeh E, Elmi S, Razavi S and Zarini G. Antimicrobial effect of oregano plant extracts on *Escherichia coli* urinary isolates, 19th National Congress and 7th International Congress of Biology of Iran. 2015.



Analysis of Chemical Compounds in Extracts of *Urtica dioica* L., *Mentha longifolia* L., and *Tragopogon collinus* Collected from the Natural Habitats of Meshgin Shahr Region and Comparative Therapeutic Effects of Their Combination with Ciprofloxacin on Common Bacterial Urinary Tract Infections

Hojjat Eghbal¹, Nima Mohammadnejad Khiavi^{2*}, Ali shahi-Gharhlar³, Neda Jahani⁴

1- Department of Phytochemistry, Basic Science Research Center, Tabriz University, Tabriz, Iran.

2- Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

3- Department of Plant Sciences and Medicinal Plants, Faculty of Meshgin Shahr Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

4- Department of Dentistry, Faculty of Dentistry, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Original Article

Received: 25 Feb 2023

Accepted: 24 Des 2023

*Corresponding Author:

Nima Mohammadnejad Khiavi. Department of food science and technology, Faculty of agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

TEL: 09373482851

Email:

nimanejad7@yahoo.com

ABSTRACT

Introduction

Considering the antibacterial effects of medicinal plants and the side effects of chemical drugs, replacing chemical drugs with herbal drugs is of particular importance. Therefore, this study aims to investigate the chemical compounds in the extracts of *Urtica dioica* L., *Mentha longifolia* L., and *Tragopogon collinus* collected from the vegetative regions of Meshgin Shahr and compare the therapeutic effect of their combination with that of ciprofloxacin against common bacteria of urinary tract infection.

Materials and Methods

The main phenolic compounds of the desired medicinal plants were identified using HPLC after collecting from the original habitat and extraction by the maceration method. Then, the antimicrobial properties of the combination of extracts against common urinary tract infection bacteria were investigated and compared with those of the ciprofloxacin drug using the disk diffusion method. In addition, the MIC values of the combination of extracts at concentrations of 12.5, 25, 50, and 100 mg/ml against the studied bacteria were determined in 3 replicates.

Results

The main phenolic compounds identified from the hydroalcoholic extract of *Urtica dioica* L., including catechin and rutin, *Mentha longifolia* L., including gallic acid and quercetin, and *Tragopogon collinus* including ursolic acid and caffeic acid. According to the obtained results, it was found that the mixture of plant extracts shows relatively similar antimicrobial properties to ciprofloxacin.

Conclusion

According to the obtained results, it can be said that the mixture of extract of *Urtica dioica* L., *Mentha longifolia* L., and *Tragopogon collinus* medicinal plants by conducting more studies, especially at the in vivo conditions, can be a suitable product for treatment of urinary tract infection.

Keywords

Mentha longifolia L., Antimicrobial property, Herbal extract, Urinary tract infection, *Urtica dioica* L.,

► Please cite this article as: Eghbal H, Mohammadnejad Khiavi N, shahi-Gharhlar A, Jahani N. Analysis of Chemical Compounds in Extracts of *Urtica dioica* L., *Mentha longifolia* L., and *Tragopogon collinus* Collected from the Natural Habitats of Meshgin Shahr Region and Comparative Therapeutic Effects of Their Combination with Ciprofloxacin on Common Bacterial Urinary Tract Infections. J Neyshabur Univ Med Sci 2022;10(2):79-95.