Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research

DOI:10.22092/IJMAPR.2026.370063.3560

Vol. 42, No. 3, Page 590-599 (2026)

Investigation of the anti-urinary tract infection activity of methanol extract of *Stachys schtschegleevi* Sons. ex Grossh aerial parts in rats

Mounes Payamani[1], Mostafa Pirali Hamedani[2], Pedram Goudarzi[1], Mahdi Aghsami[3] and Mahsa Sabernavaee[4*]

1- M.D. student, Student Research Committee, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Biotechnology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Department of Pharmacology and Toxicology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4*- Corresponding author, Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Biotechnology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, E-mail: navaei.mam@iums.ac.ir

Received: 13/07/2025 Revised: 26/09/2026 Accepted: 28/09/2026

Abstract

Background and Objectives: Urinary tract infection (UTI) is one of the most common infections in humans and imposes a significant therapeutic and economic burden on healthcare systems. Although antibiotics remain the mainstay of treatment, the growing threat of antimicrobial resistance highlights the need for alternative or adjunctive therapies. *Stachys schtschegleevii* has traditionally been used in Iranian folk medicine to treat infectious diseases. This study evaluated the therapeutic effect of the methanolic extract of the aerial parts of this plant on UTI in an animal model, with particular emphasis on reducing microbial load and urinary nitrite levels.

Methodology: A total of 500 g of powdered aerial parts of *S. schtschegleevii* was extracted with methanol by percolation at room temperature. The extract was concentrated and dried. Phytochemical screening was performed to identify the major bioactive constituents, including alkaloids, tannins, saponins, flavonoids, cyanogenic glycosides, and steroids. To assess anti-infective activity, 42 female Wistar rats weighing 200–250 g were randomly allocated to six groups: a healthy control (no infection or treatment), a negative control (infection without treatment), three treatment groups receiving extract doses of 500, 750, and 1000 mg/kg/day orally, and a positive control group treated with gentamicin (10 mg/kg/day intraperitoneally). UTI was induced by direct inoculation of 10^5 CFU of *Escherichia coli*. Treatment continued for 21 days. Urine samples were collected on days 0 and 21 and analyzed for bacterial count and nitrite levels. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 5 software.

Results: Phytochemical analyses revealed tannins and flavonoids in the methanolic extract of *S. schtschegleevii*, whereas alkaloids, saponins, steroids, and cyanogenic glycosides were not detected. Pharmacological evaluation showed that after 21 days of treatment, rats receiving the extract at 500, 750, and 1000 mg/kg, as well as those treated with gentamicin, had significantly lower urinary bacterial counts than the negative control group. The greatest reduction in microbial load occurred in the group receiving 1000 mg/kg of the extract. Urinary nitrite assessment also confirmed a dose-dependent effect of the extract. In the 500 mg/kg group, two of seven rats tested negative; in the 750 mg/kg group, three tested negative; and in the 1000 mg/kg group, four rats tested negative for urinary nitrite. In contrast, only one rat in the gentamicin group remained nitrite-positive, whereas all rats in the negative control group remained nitrite-positive, indicating that the extract reduced UTI severity.

Conclusion: The findings suggest that the methanolic extract of *Stachys schtschegleevii* exhibits dose-dependent antibacterial activity, with the 1000 mg/kg dose showing the most promising results. Although its efficacy was lower than that of gentamicin, the extract showed significant therapeutic potential and could be considered an adjunct or preventive option in UTI management. Tannins are likely responsible for this effect. Future studies should isolate and purify the active constituents, investigate potential synergistic effects with antibiotics, and evaluate the pharmacokinetic and safety profiles of the extract.

Keywords: Anti-bacterial, *Stachys schtschegleevi*, gentamicin, nitrite test.

Copyright: © 2026 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

ارزیابی اثر ضد عفونت مجاری ادراری عصاره متانولی سرشاخه‌های هوایی گیاه *Stachys schtschegleevii* Sosn. ex Grossh. در موش‌های صحرایی

مونس پیامنی[۱]، مصطفی پیرعلی همدانی[۲]، پدرام گودرزی[۱]، مهدی اقسامی[۳] و مهسا صابر نوایی[۴*]

۱- دانشجوی دکترای عمومی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه فارماکوگنوزی و بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۳- استادیار، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۴*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه فارماکوگنوزی و بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

پست‌الکترونیک: navaei.mam@iums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۲۲ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۴۰۵/۰۷/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۷/۰۶

چکیده

سابقه و هدف: عفونت مجاری ادراری (UTI) یکی از شایع‌ترین عفونت‌های انسانی به‌شمار می‌رود که بار درمانی و اقتصادی بالایی به نظام سلامت تحمیل می‌کند. در حالی که آنتی‌بیوتیک‌ها گزینه درمانی اصلی هستند، افزایش روزافزون مقاومت دارویی، ضرورت توجه به درمان‌های جایگزین یا مکمل را پررنگ کرده است. گیاه *Stachys schtschegleevii* Sosn. ex Grossh. (پولک) در طب سنتی ایران برای درمان عفونت‌ها کاربرد داشته است. این مطالعه با هدف ارزیابی اثر کاهش عفونت مجاری ادراری عصاره متانولی سرشاخه‌های هوایی این گیاه در مدل حیوانی با تمرکز بر کاهش بار میکروبی و سطوح نیتریت طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها: ابتدا ۵۰۰ گرم از پودر سرشاخه‌های هوایی گیاه با استفاده از متانول و به‌روش پرکولاسیون در دمای محیط عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل پس از تغلیظ خشک گردید. برای شناسایی ترکیبات زیست‌فعال موجود در عصاره، غربالگری فیتوشیمیایی شامل آزمون‌های شناسایی آلکالوئیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها، گلیکوزیدهای سیانوژنیک و استروئیدها انجام شد. برای ارزیابی اثر ضد عفونت عصاره، ۴۲ موش صحرایی ماده از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم در شش گروه تقسیم گردید: گروه سالم (فاقد عفونت و درمان)، گروه کنترل منفی (عفونت بدون درمان)، سه گروه تیمار با عصاره در دوزهای ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (خوراکی) و گروه درمان با جنتامایسین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تزریق صفاقی). القای عفونت با تزریق مستقیم 10^5 CFU باکتری اشریشیا کلای انجام شد. درمان به مدت ۲۱ روز ادامه یافت. نمونه‌های ادرار در روزهای صفر و ۲۱ جمع‌آوری و از نظر شمارش میکروبی و آزمایش نیتریت ارزیابی شدند. تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار GraphPad Prism 5 انجام شد.

نتایج: نتایج آزمایش‌های فیتوشیمیایی نشان داد که عصاره متانولی برگ گیاه پولک حاوی ترکیبات تانینی و فلاونوییدی بوده و سایر اجزای زیست‌فعال ازجمله آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، استروئیدها و گلیکوزیدهای سیانوژنیک شناسایی نشدند. در بررسی‌های فارماکولوژیک، پس از ۲۱ روز تیمار، شمارش میکروبی نمونه‌های ادرار نشان داد که گروه‌های دریافت‌کننده عصاره در سه دوز ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه تحت درمان با جنتامایسین، نسبت به گروه کنترل منفی کاهش معناداری در بار میکروبی داشتند. بیشترین کاهش بار میکروبی مربوط به گروه دریافت‌کننده عصاره با دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. در ارزیابی آزمایش نیتریت نیز اثر وابسته به دوز عصاره تأیید شد؛ به‌طوری‌که در گروه ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۲ موش از ۷ موش، در گروه ۷۵۰ میلی‌گرم ۳ موش و در گروه ۱۰۰۰ میلی‌گرم ۴ موش نتیجه منفی نیتریت داشتند. در مقابل، در گروه جنتامایسین تنها یک مورد مثبت باقی ماند و در گروه کنترل منفی، تمامی نمونه‌ها نیتریت مثبت بودند. این نتایج نشان‌دهنده اثربخشی نسبی و وابسته به دوز عصاره در کاهش عفونت مجاری ادراری می‌باشد.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان دادند که عصاره متانولی گیاه پولک در دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، اثر ضدباکتری وابسته به دوز دارد.

اگرچه اثربخشی آن کمتر از جنتامایسین بود، اما عصاره ظرفیت درمانی قابل‌توجهی نشان داد و می‌تواند به‌عنوان یک گزینه کمکی یا پیشگیرانه در مدیریت عفونت‌های مجاری ادراری مورد توجه قرار گیرد. احتمالاً تانن‌ها مسئول این اثر هستند. با وجود عدم شناسایی سایر ترکیبات فعال، انجام مطالعات بیشتر برای جداسازی اجزای مؤثر، بررسی اثر هم‌افزا با آنتی‌بیوتیک‌ها و ارزیابی فارماکوکینتیک توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ضد باکتری، *Stachys schtschegleevi*، جنتامایسین، آزمایش نیتریت.

مقدمه

عفونت دستگاه ادراری (UTI) پس از عفونت‌های تنفسی و گوارشی، شایع‌ترین عفونتی است که انسان‌ها تجربه می‌کنند و شایع‌ترین علت عفونت‌های اکتسابی از جامعه و عفونت‌های بیمارستانی در بیماران بستری در بیمارستان‌ها به‌شمار می‌رود (Arsene *et al.*, 2021). باکتری‌ها عامل اصلی این عفونت‌ها هستند، اگرچه در موارد نادرتر، سایر میکروارگانیسم‌ها مانند قارچ‌ها و برخی ویروس‌ها نیز به‌عنوان عوامل ایجادکننده UTIگزارش شده‌اند (Mancuso *et al.*, 2023).

مطالعات انجام شده نشان داده است که در زنان، احتمال ابتلا به عفونت‌های دستگاه ادراری در طول عمر ۴۰٪ تا ۵۰٪ است، که از این تعداد، ۴۰٪ ممکن است عفونت‌های مکرر داشته باشند (Bono & Leslie, 2025). شرایط گذرا مانند بارداری ممکن است فرد را مستعد ابتلا به عفونت ادراری کرده یا خطر بروز عوارض جدی ناشی از عفونت را افزایش دهد (Medina & Castillo-Pino, 2019). شیوع عفونت ادراری در دختران ۵–۳ درصد و در پسران ۲–۱ درصد گزارش شده است (Spasojević-Dimitrijeva *et al.*, 2010). منبع عفونت در اغلب موارد بر هم خوردن تعادل فلور روده بوده که در برخی موارد ازجمله فراهم بودن عوامل مستعدکننده، تعداد این باکتری‌ها به‌طور غیر عادی افزایش یافته و موجب بروز عفونت ادراری می‌گردد (Sabaté *et al.*, 2008). در ایالات متحده، سالانه نزدیک به ۱۱ میلیون مورد عفونت گزارش می‌شود که این موضوع منجر به تحمیل حدود ۵ میلیارد دلار هزینه مستقیم و غیرمستقیم بر نظام سلامت می‌گردد (Tamadonfar Kevin *et al.*, 2019).

باکتری اشریشیا کلای (*E.coli*) شایع‌ترین پاتوژن ایجادکننده عفونت‌های دستگاه ادراری است. این باکتری عامل حدود ۸۰٪ از عفونت‌های ساده دستگاه ادراری (Uncomplicated UTIs, uUTIs) و تقریباً یک‌چهارم از عفونت‌های پیچیده دستگاه ادراری (Complicated UTIs, cUTIs) نیز است (Ku *et al.*, 2024). افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پاتوژن‌های ادراری به‌عنوان یک نگرانی جدی بالینی مطرح است، زیرا موجب افزایش احتمال شکست درمان، افزایش بار بیماری در بیماران، افزایش هزینه‌های نظام سلامت و ضرورت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف می‌گردد؛ موضوعی که خود می‌تواند به تشدید هرچه بیشتر روند مقاومت دارویی منجر شود (Ku *et al.*, 2024). بروز مقاومت دارویی، عوارض جانبی آنتی‌بیوتیک‌ها و سایر مشکلات مرتبط با آنها، زمینه‌ساز شکل‌گیری چارچوب‌های پژوهشی به‌منظور یافتن رویکردهای جایگزین در کنترل عفونت‌های دستگاه ادراری شده است (Fazly Bazzaz *et al.*, 2021). رویکردهای طبیعی به‌طور گسترده‌ای در مدیریت بیماری‌های مختلف استفاده شده‌اند تا ضمن بهبود علائم، سلامت عمومی بیماران را نیز ارتقا دهند (Fazly Bazzaz *et al.*, 2021).

جنس سنبله‌ای (*Stachys*) یک سرده از درختچه‌ها و گیاهان علفی یکساله یا چندساله است که به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) تعلق دارد (Mikaili *et al.*, 2011). گیاه *Stachys schtschegleevii* Sosn. ex Grossh. در نواحی شمال‌غرب ایران، جنوب و شرق آناتولی (ترکیه)، قفقاز، شمال عراق و مناطق بالکان پراکنش دارد (Salmaki *et al.*, 2012). با توجه به اثر ضدباکتریایی قابل توجه این گیاه و بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی، پژوهشگران آن را گزینه‌ای بالقوه برای جایگزینی یا تقویت درمان‌های ضدعفونی در نظر گرفته‌اند (Hamedfar *et al.*, 2025). گیاه پولک یا سنبله‌ای ارسبارانی یکی از گونه‌های دارویی است، این گیاه در طب سنتی ایران

به‌عنوان گیاهی دارویی برای درمان بیماری‌های عفونی ازجمله سینوزیت، التهاب‌های تنفسی و عفونت‌های ادراری به‌کار می‌رود. در طب سنتی ایران، از عصاره بخش‌های هوایی گیاه پولک در درمان بیماری‌های عفونی، روماتیسمی و التهابی دستگاه تنفس استفاده شده است (Mikaili *et al.*, 2011).

با وجود کاربرد گسترده گونه‌های مختلف جنس سنبله‌ای در طب سنتی و گزارش فعالیت‌های زیستی متعدد، اطلاعات موجود درباره اثربخشی گونه پولک (*S schtschegleevii*.) علیه عوامل اصلی عفونت‌های دستگاه ادراری، به‌ویژه سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، همچنان محدود است. از سوی دیگر، افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی و کاهش کارایی درمان‌های رایج، ضرورت بررسی منابع طبیعی جدید با قابلیت مهار پاتوژن‌های ادراری را بیش از پیش آشکار کرده است. بنابراین، ارزیابی علمی ظرفیت ضدباکتریایی این گیاه می‌تواند در شناسایی گزینه‌های درمانی مکمل یا جایگزین مؤثر برای کنترل عفونت‌های دستگاه ادراری نقش مهمی ایفا کند. بر این اساس، هدف از این مطالعه بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره متانولی گیاه پولک علیه باکتری‌های شایع مولد عفونت‌های دستگاه ادراری و تعیین ظرفیت این گیاه به‌عنوان منبعی طبیعی برای توسعه فراورده‌های ضدعفونی‌کننده و درمانی جدید است.

مواد و روش‌ها

گیاه پولک از بازار دارویی خریداری شد و با کد هرباریومی PMP-1361 در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران نام‌گذاری گردید. مقدار ۵۰۰ گرم از پودر گیاه به ظرف پرکولاتور منتقل شده و با استفاده از حلال متانول ۸۰٪ در دمای آزمایشگاه عصاره‌گیری گردید. عصاره‌گیری ۳ بار و هر بار حداقل به فواصل ۳ روز انجام شد. عصاره‌های جمع‌آوری شده پس از صاف شدن، با استفاده از دستگاه تبخیرکننده دوار (rotary evaporator) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گردید و در نهایت میزان ۱۰۰ گرم عصاره خشک حاصل شد.

غربالگری فیتوشیمیایی

غربالگری فیتوشیمیایی به منظور شناسایی ترکیبات متعدد موجود در برگ گیاه پولک به شرح زیر انجام شد. فرایند کار برای شناسایی هریک از ترکیبات موجود در گیاه پولک به شرح زیر است.

الف) آلکالوییدها:

نیم گرم از پودر گیاهی توسط ۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال و ۹ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۵ دقیقه روی بن‌ماری حرارت داده شد. به یکی از لوله‌ها چند قطره معرف مایر (یدید پتاسیمرکوریک) افزوده شد و کدورت زیاد و تولید رسوب نشان‌دهنده حضور آلکالوئیدها می‌باشد. به لوله آزمایش دوم حاوی محلول صاف شده چند قطره معرف واگنر (یدید پتاسیم) اضافه شد و دوباره کدورت ایجاد گردید ولی رسوبی تشکیل نشد که این دال بر حضور آلکالوئیدها است. ازاین‌رو، نیاز به آزمایش‌های تأییدی می‌باشد. به این منظور، به باقی‌مانده نمونه ۳ میلی‌لیتر آمونیاک اضافه شد و توسط ۱۰ میلی‌لیتر اتر: کلروفرم (۱: ۳) جداسازی انجام گردید. قسمت بالایی آبگیری و تغلیظ شد و بعد در ۳ قطره اسید کلریدریک ۲ نرمال حل و با معرف ید و مایر آزمایش شد و ایجاد کدورت تأییدکننده حضور آلکالوئید بود.

ب) تانن:

میزان ۲ گرم از پودر گیاه با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول برای مدت چند دقیقه تکان داده و صاف شد، سپس با چند قطره محلول کلروفریک آزمایش شد. تغییر رنگ محلول به سبز یا سیاه نشان‌دهنده حضور تانن می‌باشد.

ج) ساپونین:

میزان ۵ گرم از پودر عصاره گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر آب‌جوش مخلوط و به‌مدت ۱۰ دقیقه تکان داده شد. ایجاد کف پایدار به ارتفاع حداقل ۱ سانتی‌متری به منزله جواب مثبت آزمایش بود.

د) فلاونوئیدها:

میزان ۱ گرم از عصاره پودر گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول به مدت ۱۰ دقیقه رفلاکس و صاف شد. سپس با آب رقیق و با پترولیوم اتر دکانته شد. قسمت زیرین تغلیظ و در اتیل

استات حل شد. سپس چند قطعه براده منیزیم و ۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک غلیظ اضافه شد و ایجاد رنگ قرمز دال بر حضور فلاونوئیدها می‌باشد.

ه) گلیکوزیدهای سیانوژنیک:

حدود ۲ گرم از پودر عصاره گیاهی با مقدار کافی آب در ارلن ریخته شد و بعد کاغذ آغشته به پیکرات سدیم در ارلن به نحوی قرار داده شد که با محلول تماس پیدا نکند و در آون با درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت قرار داده شد. با تبدیل رنگ کاغذ از زرد به قرمز جواب آزمایش مثبت است.

ی) استروئیدها:

در این روش عصاره گیاه به روش ماسراسیون گرفته می‌شود. سپس مقداری عصاره درون لوله آزمایش ریخته می‌شود و بعد به آن کلروفرم اضافه می‌گردد و بعد ۲ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه می‌شود؛ اگر رنگ آن قرمز شود عصاره حاوی استروئید می‌باشد.

ارزیابی فارماکولوژیک عصاره بر عفونت ادراری

در این مطالعه از رت‌های ماده نژاد ویستار تهیه شده از انستیتو پاستور ایران با وزن حدود ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. القای عفونت دستگاه ادراری مطابق با روش استاندارد تزریق داخل مثانه با استفاده از آنژیوکت 27G و تحت بیهوشی کتامین-زایلازین انجام شد، که این روش پیش‌تر در مطالعه شارف و همکاران گزارش شده است (Scharff *et al.*, 2017).

برای بررسی اثر ضد میکروبی گیاه، موش‌ها (ماده از نژاد ویستار) در ۶ گروه ۷ تایی به شرح زیر قرار گرفتند.

گروه سالم (بدون القای عفونت و بدون درمان)

گروه کنترل منفی (القای عفونت با اشریشیا کلای بدون درمان)

گروه درمان با عصاره گیاهی ($mg.kg^{-1}.day^{-1}$ ۵۰۰، خوراکی)

گروه درمان با عصاره گیاهی ($mg.kg^{-1}.day^{-1}$ ۷۵۰، خوراکی)

گروه درمان با عصاره گیاهی ($mg.kg^{-1}.day^{-1}$ ۱۰۰۰، خوراکی)

گروه کنترل مثبت (جنتامایسین $mg.kg^{-1}.day^{-1}$ ۱۰، تزریق داخل صفاقی)

مدت زمان انجام این فرایند ۲۱ روز می‌باشد.

برای القای عفونت باکتریایی، ابتدا حیوانات توسط ترکیب دو داروی کتامین و زایلازین به ترتیب با دوزهای $mg.kg^{-1}$ ۱۰۰ و $mg.kg^{-1}$ ۵ بیهوش شدند و بعد توسط آنژیوکت با گیج ۲۷ تعداد 10^9 باکتری اشریشیاکلای داخل مثانه موش صحرایی ماده تزریق گردید. در طول ۲۱ روز، در گروه‌های تحت درمان عصاره با دوزهای مذکور به‌صورت خوراکی (گاواژ) شد و بعد پارامترهای نیتریت ادرار و کشت ادرار گروه‌ها در روز صفر و ۲۱ بررسی گردید. در نهایت نمونه‌ها جمع‌آوری شده، با هم مقایسه و مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند. تمام اصول اخلاقی در ارتباط با حیوانات آزمایش‌شونده رعایت گردید. میزان روشنایی روز و شب به صورت ۱۲-۱۲ و دسترسی به آب و غذا به صورت نامحدود (*ad libitum*) بود. تمام اصول اخلاقی در ارتباط با حیوان آزمایش‌شونده رعایت گردید و از نظر اخلاقی، هرگونه مراقبت در جهت جلوگیری از درد غیر ضروری یا رنج حیوان انجام شد. محل نگهداری راحت و آب و غذای کافی برای حیوانات فراهم بود. محل نگهداری حیوانات دارای قابلیت شستشو و ضدعفونی همراه با تهویه مناسب و ایمن بود. با در نظرگیری تمهیدات مناسب از درگیری احتمالی حیوانات جلوگیری شد. تعداد حیوانات در محل نگهداری، طبق استانداردها در منابع علمی معتبر و به‌روز بود.

نوع و روش تجویز و دوزهای دارویی مورد استفاده برای حیوانات و روش تزریق و نواحی و عروق مجاز برای تزریق طبق مراجع فارماکولوژی بود. انجام جراحی و تشریح زنده و سایر مداخلات بر روی حیوانی که بیهوش نشده و یا بی‌دردی کامل روی او اعمال نشده، اکیداً ممنوع است. از روش‌های کشتن با ترحم یوتانازی برحسب منابع علمی معتبر استفاده شد. پیش از حذف لاشه، با ارزیابی نشانه‌های مرگ (مختص گونه حیوانی)، ابتدا مرگ حیوان تأیید گردید. آنگاه در تمامی مراحل پروژه اصل 3R (replacement-reduction-refinement) برای کاهش رنج و تعداد حیوانات رعایت گردید. کد اخلاق این مطالعه با شماره IR.IUMS.REC.1401.140 در کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران به تصویب رسیده است.

ارزیابی نیتریت در ادرار

وجود نیتریت در ادرار معمولاً به‌عنوان یک نشانگر تشخیصی برای عفونت مجاری ادراری (Urinary Tract Infection, UTI) در نظر گرفته می‌شود. ادرار طبیعی حاوی نیترات است، اما برخی از باکتری‌های مولد عفونت، آنزیمی دارند که نیترات را به نیتریت تبدیل می‌کند. بنابراین، حضور نیتریت در ادرار می‌تواند نشان‌دهنده عفونت باشد.

در این مطالعه، برای ارزیابی وجود باکتری‌های مولد عفونت، آزمایش نیتریت ادرار در گروه‌های مختلف انجام شد و نتایج آن در روز ۲۱ ثبت و تحلیل گردید.

تجزیه‌وتحلیل آماری: داده‌ها در نرم‌افزار prism5 GraphPad مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

نتایج آزمایش‌های فیتوشیمیایی

بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی برگ گیاه پولک با استفاده از آزمایش‌های استاندارد انجام شد. نتایج این بررسی نشان داد که نمونه گیاهی دارای ترکیبات تانن و مقادیری فلاونویید است، در حالی که برخی ترکیبات مانند آلکالوئیدها، ساپونین و گلیکوزیدهای سیانوژنیک در نمونه مشاهده نشدند. جدول ۱ خلاصه نتایج آزمایش‌های فیتوشیمیایی را نشان می‌دهد.

جدول ۱- نتایج تست‌های فیتوشیمیایی عصاره متانولی سرشاخه‌های هوایی گیاه پولک (*Stachys schtschegleevii*)

Table 1. Phytochemical assay results of methanolic extract of *Stachys schtschegleevii* aerial parts

	Alkaloids	Tannins	Saponins	Flavonoids	Cyanogenic glycosides
Methanolic extract of *S. schtschegleevii* aerial parts	-	++	-	+	-

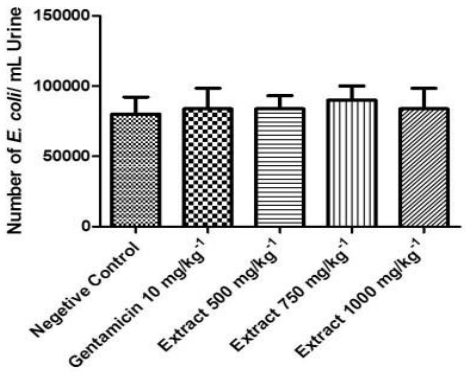
++: high intensity, +: present, and -: absent.

نتایج ارزیابی فارماکولوژیک عصاره بر عفونت ادراری

در شکل ۱ مشاهده می‌شود که در تمامی گروه‌ها القای باکتری موفقیت‌آمیز بوده و باکتری اشریشیاکلای به میزان یکسانی در گروه‌ها القا شده است. این نتایج نشان‌دهنده القای موفق بیماری در موش‌ها در روز صفر است. در روز ۲۱ نمونه‌های ادرار از گروه‌ها گرفته و به آزمایشگاه ارسال شد. شکل ۲ نشان‌دهنده تعداد باکتری موجود در نمونه ادرار در هر گروه می‌باشد. بیشترین تعداد میکروب موجود مربوط به گروه کنترل منفی می‌باشد و کمترین تعداد میکروب موجود مربوط به گروه تحت درمان با جنتامایسین است. در این پژوهش بیشترین دوز عصاره $mg.kg^{-1}$ ۱۰۰۰ بود که مؤثرترین دوز بود ولی در مقایسه با جنتامایسین $mg.kg^{-1}.day^{-1}$ ۱۰ اثر کمتری داشت. با این حال، به عنوان پیشگیری و درمان کمکی می‌تواند بسیار مؤثر و مناسب باشد.

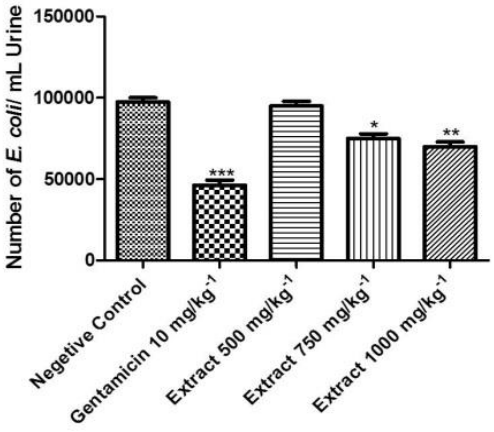
ارزیابی تست نیتریت در گروه‌های تحت درمان

نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در روزهای صفر و ۲۱ از نظر نیتریت مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند. جدول ۲ نشان‌دهنده نتیجه تست نیتریت در مدل‌ها می‌باشد. در بررسی تست نیتریت ادرار، تفاوت‌هایی بین گروه‌های مختلف مشاهده شد، به‌طوری‌که با افزایش دوز عصاره، تعداد تست‌های منفی افزایش یافت. این در حالی است که جنتامایسین بهترین پاسخ را در مقایسه با تمامی گروه‌های دیگر نشان داد. در گروه تحت درمان با عصاره $mg.kg^{-1}$ ۵۰۰، تست نیتریت برای دو موش منفی بود، در حالی که سایر موش‌های این گروه درمان نشده بودند. در گروه تحت درمان با عصاره $mg.kg^{-1}$ ۷۵۰، تست نیتریت برای سه موش منفی بود و بقیه درمان نشده بودند. همچنین، در گروه تحت درمان با عصاره $mg.kg^{-1}$ ۱۰۰۰، تست نیتریت برای چهار موش منفی گزارش شد. در گروه تحت درمان با جنتامایسین، تست نیتریت تنها برای یک موش مثبت بود و در باقی موش‌ها نتیجه تست منفی گزارش شد که نشان‌دهنده بیشترین اثر درمانی در بین گروه‌های تحت درمان است. در مقابل، در گروه کنترل منفی، تست نیتریت در تمامی موش‌ها مثبت بود که نشان‌دهنده حضور عفونت است. در مجموع، گروه تحت درمان با عصاره $mg.kg^{-1}$ ۱۰۰۰ بیشترین تأثیر را در کاهش نیتریت ادرار نسبت به سایر دوزهای عصاره نشان داد.



شکل ۱- تعداد باکتری اشریشیاکلی (***E. coli***) در ادرار موش صحرایی در روز صفر درمان با غلظت‌های مختلف عصاره متانولی گیاه پولک (***Stachys schtschegleevii***)

Figure 1. *Escherichia coli* count in rat urine at day zero of treatment with different concentrations of *Stachys schtschegleevii* methanolic extract



شکل ۲- تعداد باکتری اشریشیاکلی (***E. coli***) در ادرار موش صحرایی در روز ۲۱ درمان با غلظت‌های مختلف عصاره متانولی گیاه پولک (***Stachys schtschegleevii***)

Figure 2. *Escherichia coli* count in rat urine at day 21 of treatment with different concentrations of *Stachys schtschegleevii* methanolic extract

***, **, and *** indicate significant differences from the negative control at $P < 0.05$, $P < 0.01$, and $P < 0.001$, respectively.**

جدول ۲- حضور نیتریت در ادرار موش صحرایی در روز ۲۱ درمان با عصاره متانولی گیاه پولک (***Stachys schtschegleevii***)

Table 2. Nitrite presence in rat urine at day 21 of treatment with different concentrations of *Stachys schtschegleevii* methanolic extract

	Nitrite				
	Extract 500 mg.kg^{-1}	**Extract 750 mg.kg^{-1}**	**Extract 1000 mg.kg^{-1}**	**Gentamicin 10 mg.kg^{-1}**	**Negative control**
Rat 1	+	+	+	-	+
Rat 2	-	+	-	+	+
Rat 3	+	-	-	-	+
Rat 4	+	+	+	-	+
Rat 5	-	-	+	-	+
Rat 6	+	+	-	-	+
Rat 7	+	-	-	-	+

+: present and -: absent.

بحث

با وجود گزارش‌های متعدد درباره فعالیت ضدباکتریایی گونه‌های مختلف جنس سنبله‌ای، اطلاعات علمی درباره گونه پولک همچنان محدود است و تاکنون مطالعه‌ای در مورد اثربخشی این گونه در درمان عفونت‌های مجاری ادراری گزارش نشده است. علاوه بر این، بخش عمده مطالعات پیشین به ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی در شرایط *in vitro* و تعیین شاخص‌هایی مانند MIC، MBC و آزمون انتشار دیسک محدود بوده‌اند؛ در حالی که نتایج حاصل از این آزمون‌ها لزوماً بیانگر کارایی درمانی در موجود زنده نیستند. این مطالعه با هدف ارزیابی اثربخشی عصاره متانولی پولک در یک مدل حیوانی عفونت ادراری طراحی شد تا شواهد معتبرتری برای کاربرد بالقوه این گیاه در کنترل عفونت‌های ادراری فراهم شود. بررسی در مدل حیوان آزمایشگاهی در مورد اثربخشی عصاره متانولی گیاه پولک در درمان عفونت‌های مجاری ادراری انجام شد.

گونه‌های مختلف جنس سنبله‌ای از گذشته در طب سنتی ایران، ترکیه، یونان و دیگر کشورها برای درمان بیماری‌هایی مانند التهاب، سرماخوردگی، زخم و عفونت‌های ادراری استفاده شده‌اند (Ristic *et al.*, 2008, Tomou *et al.*, 2020). در مطالعات پیشین، عصاره‌های متانولی، آبی و اتانولی این گیاهان فعالیت ضدباکتریایی علیه طیفی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مانند استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*)، اشریشیاکلای و کلبسیلا پنومونی (*Klebsiella pneumoniae*) نشان داده‌اند (Abichandani *et al.*, 2010, Stich *et al.*, 2006). نتایج این مطالعه نیز با این یافته‌ها همخوانی دارد و اثر وابسته به دوز عصاره پولک در کاهش بار میکروبی و سطح نیتریت ادرار را تأیید می‌کند.

در بررسی‌های فیتوشیمیایی بر روی گونه‌های مختلف سنبله‌ای، ترکیباتی مانند فلاونوئیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها، ترپنوئیدها، مشتقات کافئیک‌اسید و گلیکوزیدهای فنول‌اتانوئیدی گزارش شده‌اند که هریک می‌توانند منشأ آثار زیستی این گیاه باشند (Delazar *et al.*, 2005, El-Ansari *et al.*, 1991). در مطالعه‌ای مشابه روی *S. byzantina*، فراکسیون استات اتیل حاوی بالاترین میزان ترکیبات فنولی (۱۰۸۲/۰۵ mg GAE.g^{-1}) و قوی‌ترین اثر آنتی‌باکتریال علیه استافیلوکوکوس اورئوس با هاله عدم رشد ۱۷/۵ میلی‌متر بود (Pirali hamedani *et al.*, 2023). ترکیبات مؤثر استخراج‌شده از این فراکسیون شامل آپی‌ژنین-۷-*O*-گلوکوزید، آپی‌ژنین-۷-*O*-(۶″-کوما رویل) گلوکوزید و ۴-متوکسی‌سینامیک اسید بودند که همگی در مطالعات متعدد، اثرهای ضدباکتریایی، به‌ویژه علیه استافیلوکوکوس اورئوس را نشان داده‌اند (Pirali hamedani *et al.*, 2023, Morimoto *et al.*, 2015, Nayaka *et al.*, 2014, Sato *et al.*, 2000).

در این مطالعه، انجام تست‌های فیتوشیمیایی به‌منظور شناسایی ترکیبات زیست‌فعال مانند فلاونوئیدها، تانن‌ها، آلکالوئیدها و ساپونین‌ها انجام شد؛ زیرا این گروه‌ها در اغلب مطالعات به‌عنوان عوامل کلیدی اثر ضدباکتری، ضدالتهاب و آنتی‌اکسیدان گیاهان دارویی معرفی شده‌اند (Asnaashari *et al.*, 2010). اگرچه در این بررسی تانن‌ها و فلاونوییدها شناسایی شدند، اما وجود این تانن‌ها به‌تنهایی می‌تواند مسئول بخش عمده‌ای از اثر ضدعفونت عصاره باشد، زیرا این ترکیبات با ایجاد کمپلکس با پروتئین‌های سطحی باکتری، رشد آن‌ها را مهار می‌کنند (Hirano *et al.*, 2001).

یافته‌ها نشان داد که عصاره گیاه در دوز mg.kg^{-1}.day^{-1} ۱۰۰۰، اثر ضدعفونی قابل توجهی در بار میکروبی و سطح نیتریت ادرار ایجاد کرده است؛ اگرچه این اثر همچنان نسبت به جنتامایسین ضعیف‌تر بود. با توجه به منشأ گیاهی و پاسخ وابسته به دوز، عصاره می‌تواند به‌عنوان یک درمان کمکی یا پیشگیرانه برای عفونت‌های خفیف در نظر گرفته شود.

در نهایت، پیشنهاد می‌شود مطالعات آینده بر شناسایی و جداسازی ترکیبات مؤثر عصاره با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی، بهینه‌سازی فرآیند عصاره‌گیری با تمرکز بر فراکسیون‌های نیمه‌قطبی و بررسی اثرهای هم‌افزای عصاره با آنتی‌بیوتیک‌های رایج متمرکز شوند.

References

- Abichandani, M., Nahar, L., Singh, P., Chitnis, R., Nazemiyeh, H., Delazar, A. and Sarker, S., 2010. Antibacterial and free-radical-scavenging properties of *Stachys schtschegleevii* (Lamiaceae). Archives of Biological Sciences, 62(4): 941-945. https://doi.org/10.2298/ABS1004941A
- Asnaashari, S., Delazar, A., Alipour, S.S., Nahar, L., Williams, A.S., Pasdaran, A., Mojarab, M., Azad, F.F. and Sarker, S., 2010. Chemical composition, free-radical-scavenging and insecticidal activities of the aerial parts of *Stachys byzantina*. Archives of Biological Sciences, 62(3): 653-662. https://doi.org/10.2298/ABS1003653A
- Bono, M.J. and Leslie, S.W., 2025. Uncomplicated Urinary Tract Infections. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 29261874. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470195/
- Delazar, A., Celik, S., Göktürk, R., Unal, O., Nahar, L. and Sarker, S., 2005. Two acylated flavonoid glycosides from *Stachys bombycina*, and their free radical scavenging activity. Pharmazie, 60(11): 878-880. https://www.imrpress.com/journal/Pharmazie/article/60/11/pii/S0031-7144(5)00033-0
- El-Ansari, M.A., Abdalla, M.F., Saleh, N.A.M., Barron, D. and Le Quéré, J.L., 1991. Flavonoid constituents of *Stachys aegyptiaca*. Phytochemistry, 30(4):1169-1173. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)95197-5
- Fazly Bazzaz, B.S., Darvishi Fork, S., Ahmadi, R. and Khameneh, B., 2021. Deep insights into urinary tract infections and effective natural remedies. African Journal of Urology, 27(1): 6. https://doi.org/10.1186/s12301-020-00111-z
- Hamedfar, A., Moosavy, M.H., Khatibi, S.A. and Valizadeh, S., 2025. Evaluation of the antibacterial effect of *Stachys schtschegleevii* extracts on some foodborne pathogenic bacteria. Journal of Zoonotic Diseases, 9(4): 1024-1030. https://doi.org/10.22034/jzd.2024.63439.1297
- Hirano, R., Sasamoto, W., Matsumoto, A., Itakura, H., Igarashi, O. and Kondo, K., 2001. Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. Journal of nutritional science and vitaminology, 47(5): 357-362. https://doi.org/10.3177/jnsv.47.357
- Ku, J.H., Tartof, S.Y., Contreras, R., Ackerson, B.K., Chen, L.H., Reyes, I.A.C., Pellegrini, M., Schmidt, J.E. and Bruxvoort, K.J., 2024. Antibiotic resistance of urinary tract infection recurrences in a large integrated US healthcare system. The Journal of Infectious Diseases, 230(6): e1344-e1354. https://doi.org/10.1093/infdis/jiae233
- Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., Marra, M., Zummo, S. and Biondo, C., 2023. Urinary tract infections: The current scenario and future prospects. Pathogens, 12(4): 623. https://doi.org/10.3390/pathogens12040623
- Arsene, M.M.J., Viktorovna, P.I., Davares, A.K.L, Esther, N. and Nikolaevich, SA., 2021. Urinary tract infections: Virulence factors, resistance to antibiotics, and management of uropathogenic bacteria with medicinal plants: A review. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 11(7): 1-12. https://dx.doi.org/10.7324/JAPS.2021.110701
- Medina, M. and Castillo-Pino, E., 2019. An introduction to the epidemiology and burden of urinary tract infections. Therapeutic Advances in Urology, 11: 31105774. https://doi.org/10.1177/1756287219832172
- Mikaili, P., Jazani, N., Shayegh, J., Haghighi, N., Aghamohammadi, N. and Zartoshti, M., 2011. The aerial parts of *Stachys schtschegleevii* Sosn. as hydroalcoholic extract has antibacterial activity on multi-drug resistant bacterial isolates in comparison to ciprofloxacin. The Journal of American Science, 7(8): 694-699. https://www.jofamericanscience.org/journals/am-sci/am0708/080_6207am0708_694-699.pdf
- Morimoto, Y., Baba, T., Sasaki, T. and Hiramatsu, K., 2015. Apigenin as an anti-quinolone-resistance antibiotic. International Journal of Antimicrobial Agents, 46(6): 666-673. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.09.006
- Pirali Hamedani, M., Aram, F., Hadjiakhoondi, A., Samadi, Nasrin., Tavakoli, S., Kiashi, F., Goodarzi, S. and Tofighi, Z., 2023. Elucidation of apigenin derivatives from ethyl acetate fraction of *Stachys byzantina* with potent antioxidant and anti-*Staphylococcus aureus* properties. Traditional and Integrative Medicine, 8: 156-63. https://doi.org/10.18502/tim.v8i2.13082
- Nayaka, H.B., Londonkar, R.L., Umesh, M.K. and Tukappa, A., 2014. Antibacterial attributes of apigenin, isolated from *Portulaca oleracea* L. International Journal of Bacteriology, 2014(1): 175851. https://doi.org/10.1155/2014/175851
- Ristic, N., Lazarevic, J., Radulovic, N. and Palic, R., 2008. Antimicrobial activity of the essential oils of selected *Stachys* species. Chemistry of Natural Compounds, 44(4): 522-525. https://doi.org/10.1007/s10600-008-9109-9
- Sabaté, M., Prats, G., Moreno, E., Ballesté, E., Blanch, A.R. and Andreu, A., 2008. Virulence and antimicrobial resistance profiles among *Escherichia*

coli strains isolated from human and animal wastewater. Research in Microbiology, 159(4): 288-293. https://doi.org/10.1016/j.resmic.2008.02.001
- Salmaki, Y., Zarre, S., Govaerts, R. and Bräuchler, C., 2012. A taxonomic revision of the genus *Stachys* (Lamiaceae: Lamioideae) in Iran. Botanical Journal of the Linnean Society, 170(4): 573-617. https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2012.01317.x
- Sato, Y., Suzaki, S., Nishikawa, T., Kihara, M., Shibata, H. and Higuti, T., 2000. Phytochemical flavones isolated from *Scutellaria barbata* and antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Ethnopharmacology, 72(3): 483-488. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00265-8
- Scharff, A.Z., Albert, M.L. and Ingersoll, M.A., 2017. Urinary tract infection in a small animal model: Transurethral catheterization of male and female mice. Journal of Visualized Experiments, 1(130): 54432. https://dx.doi.org/10.3791/54432
- Spasojević-Dimitrijeva, B., Živković, M., Stanković, A., Stojković, L. and Kostić, M., 2010. The IL-6 −174G/C polymorphism and renal scarring in children with first acute pyelonephritis. Pediatric Nephrology, 25(10): 2099-2106. https://doi.org/10.1007/s00467-010-1587-x
- Stich, T.A., Seravalli, J., Venkateshrao, S., Spiro, T.G., Ragsdale, S.W. and Brunold, T.C., 2006. Spectroscopic studies of the corrinoid/iron-sulfur protein from *Moorella thermoacetica*. Journal of American Chemistry Society, 128(15): 5010-5020. https://doi.org/10.1021/ja054690o
- Tamadonfar Kevin, O., Omattage Natalie, S., Spaulding Caitlin, N. and Hultgren Scott, J., 2019. Reaching the end of the line: Urinary tract infections. Microbiology Spectrum, 7(3): 31172909. https://doi.org/10.1128/microbiolspec.bai-0014-2019
- Tomou, E.M., Barda, C. and Skaltsa, H., 2020. Genus *Stachys*: A review of traditional uses, phytochemistry and bioactivity. Medicines, 7(10): 63. https://doi.org/10.3390/medicines7100063