

## اثرات تراتوژنی عصاره هیدرو الکلی چای کوهی (*Stachys lavandulifolia*) بر سیستم اسکلتی و رشد جنین موش سوری (Balb/c)

دکتر فرهاد گلشن ایرانپور<sup>۱</sup>، دکتر لعبت جعفرزاده<sup>۲</sup>، اعظم عسگری<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران؛ <sup>۲</sup> مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۱۹ اصلاح نهایی: ۹۱/۴/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۱/۵/۱۰

### چکیده:

**زمینه و هدف:** مطالعات مختلف نشان داده اند که خانم های باردار بدون توجه به تاثیرات تراتوژن بیشتر گیاهان دارویی به استفاده از این گیاهان می پردازند. از جمله این گیاهان که دارای خواص متعدد درمانی است، چای کوهی می باشد که تا به حال اثر تراتوژن آن بررسی نشده است. لذا این مطالعه با هدف بررسی تاثیر عصاره چای کوهی در غلظت های مختلف در ایجاد ناهنجاری در موش های سوری انجام شده است. روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۶۰ سر موش سوری ماده بالغ پس از جفت گیری و مشاهده پلاک واژنی، به صورت تصادفی به شش گروه (دو گروه کنترل و ۴ گروه مورد) تقسیم شدند. چهار گروه مورد از روز ۷ تا ۱۲ حاملگی به مدت ۶ روز عصاره چای کوهی با غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. در روز ۱۸ حاملگی جنین ها از لوله رحمی خارج شدند و ابتدا وزن و قد آنها با ترازوی حساس دیجیتالی و کولیس اندازه گیری و سپس با رنگ الیزابین رد رنگ آمیزی و از نظر ناهنجاری های اسکلتی بررسی شدند. داده ها به کمک آزمون های آماری کای دو، کروسکال والیس و آزمون تعقیبی دان تجزیه و تحلیل شد. یافته ها: عصاره چای کوهی در دوزهای مختلف باعث اختلال در رشد (قد و وزن) جنین ها شد و این اختلال با افزایش دوز عصاره افزایش نشان داد ( $P < 0/01$ ). در نداشتن استخوان اینترپاریتال بین گروه های کنترل و دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم دوز ۲۰۰ میلی گرم تفاوت معنی داری وجود داشت ( $P < 0/01$ )، ولی در وجود دنده اضافی تفاوت آماری معنی داری بین گروه ها مشاهده نشد. نتیجه گیری: عصاره گیاه چای کوهی دارای خواص تراتوژن می باشد و باعث کاهش رشد و کاهش تشکیل استخوان اینترپاریتال وابسته به دوز می شود و لازم است مصرف این گیاه در دوران بارداری با احتیاط صورت گیرد.

واژه های کلیدی: تراتوژن، چای کوهی، ناهنجاری اسکلتی.

### مقدمه:

و معمولاً به طور مکرر برای درمان مشکلاتی همچون دیسمنوره، رفع علائم منوپوز، اختلالات قاعدگی، اختلالات خلق، پیشگیری از پوکی استخوان و همچنین مشکلات دوران بارداری مثل مشکلات گوارشی، خواب و استرس از داروهای گیاهی استفاده می کنند. اغلب زنان باردار نیز با این تصور که درمان های طبیعی اختلال آفرین نیستند و عوارضی برای مادر و

مصرف گیاهان دارویی از دیر باز در ایران و دیگر کشورها بین مردم رایج بوده و در زمان های مختلف میزان مصرف آنها با توجه به مقتضیات زمان دستخوش تغییرات زیادی شده و در سال های اخیر استفاده از گیاهان دارویی به شدت افزایش یافته است. مطالعات مختلف نشان داده است که خانم ها تمایل زیادی به استفاده از داروهای گیاهی دارند

\* نویسنده مسئول: شهرکرد- رحمتیه- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد- دانشکده پزشکی- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی- تلفن: ۰۳۸۱-۳۳۳۵۶۵۴

می کند زنان باردار از مصرف داروهای گیاهی در دوران بارداری اجتناب کنند (۱۰). در پژوهش انجام شده توسط انجمن شغلی و بهداشت صنعتی دانشگاه سلامت عمومی دانشگاه ملی تایوان بیان شد که نمی توان دلیلی برای ارتباط ممکن بین مصرف داروهای گیاهی بویژه در طول سه ماهه اول حاملگی و افزایش خطر ناهنجاری های مادرزادی یافت و نمی توان بررسی کرد که اثرات تراژون مستقیماً با اثر داروی گیاهی مربوط است یا با استفاده غلط و یا شاید ناخالصی یا فاکتورهای کنترل نشده موجود در گیاه، با این وجود ملاحظات احتیاطی در استفاده از داروهای گیاهی در طول حاملگی توصیه شود (۱۱). با توجه به این که خانم های باردار برای رفع مشکلات متعدد خود مثل مشکلات گوارشی، خواب و استرس از گیاه چای کوهی استفاده می کنند، این مطالعه با هدف بررسی اثرات تراژونی این گیاه انجام شده است.

### روش بررسی:

این مطالعه تجربی در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد انجام شد. در این مطالعه اندام هوایی گیاه چای کوهی در مرداد ماه توسط پژوهشگر از اطراف کوه جهانبین از توابع استان چهارمحال و بختیاری جمع آوری گردید و پس از تأیید توسط متخصص گیاه شناس مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد با شماره ۲۰۴ هرباریوم شد.

بعد از گذراندن مراحل خشک شدن در سایه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، به روش خیساندن در حرارت ۲۰-۱۵ درجه به کمک اتانول ۷۵ درصد عصاره گیری انجام شد. برای این منظور ۵۰۰ سی سی اتانول ۷۵ درصد بر روی ۱۰۰ گرم پودر گیاه ریخته شد تا حدی که روی پودر را بپوشاند. در این زمان گیاه هر چند ساعت یکبار و هر بار ۱۵ تا ۳۰ دقیقه، روی شیکر قرار داده شد تا مواد موثره بهتر خارج شود. ۴۸ ساعت بعد با استفاده از قاعده صافی واتمن محلول

جنین در بر ندارند اقدام به خود درمانی با ترکیبات گیاهی می کنند (۱).

نقایص زمان تولد، ناهنجاری های مادرزادی و آنومالی های مادرزادی اصطلاحات مشابهی هستند که جهت توصیف اختلالات ساختمانی، رفتاری، عملکردی و متابولیکی موجود در زمان تولد به کار برده می شوند. نقائص مادرزادی می تواند ناشی از عوامل ارثی و عوامل محیطی باشد که یکی از مهمترین عوامل محیطی، استفاده از بعضی داروها در دوران بارداری است (۲،۳،۴).

مطالعات نشان می دهد که نقایص جنینی توسط علل مختلفی ایجاد می شوند، تعداد زیادی از عوامل شیمیایی تراژونیک شناخته شده اند و به طور فزاینده ای روشن شده است که بسیاری از آنها به طور ویژه ای بر روی بافت های معین و در زمان های بحرانی در طی رشد و نمو عمل می کنند (۳).

چای کوهی گیاهی شکوفه دار و بومی ایران است. این گیاه متعلق به خانواده Lamiaceae و راسته Lamiale و حاوی در حدود ۲۰۰ جنس و ۳۰۰۰ گونه می باشد. جنس Stachys بیش از ۲۷۰ گونه دارد (۵). این جنس ۳۴ گونه در ایران دارد که از این میان ۱۳ گونه بومی می باشد (۶). از این خانواده می توان به گونه *Stachys lavandulifolia* و یا چای کوهی اشاره کرد (۷) که برای درمان سردرد، درد های عصبی و بیماری های مختلف عصبی استفاده می شود، همچنین این گیاه مقوی دستگاه گوارش است و برای درمان درد و التهاب کاربرد دارد (۸).

مهمترین ترکیبات موجود در چای کوهی شامل فلاونوئید، فنیل ۱ اتانوئید گلیکوزید، فنولیک اسید، منوترین، سسکوئی ترپین و دی ترپین و تری ترپین ساپونین می باشد (۸،۹).

با توجه به اینکه اطلاعاتی جامع در مورد خطرات داروهای گیاهی در طی بارداری در دسترس نمی باشد، محققین معتقدند باید مصرف داروهای گیاهی در دوران بارداری ممنوع شود. انجمن تراژولوژی آمریکا توصیه

دیجیتالی (Sartorius type PT 210 German) توزین شده و قد از فرق سر تا نشیمنگاه با استفاده از کولیس با دقت (۰/۰۵) اندازه گیری و از نظر ناهنجاری های قابل مشاهده بررسی گردید. پس از رنگ آمیزی الیزارین و آلسین بلو (۱۶،۱۵) ناهنجاری های اسکلتی توسط فرد متخصص جنین شناس بررسی شد. بعد از رنگ آمیزی موارد ناهنجاری ستون مهره ها شامل اسپاینایفیدا (Spina bifida) و اسکولیوزیس (Scoliosis) (عواملی چون عدم تشکیل یک مهره یا جوش خوردن غیر قرینه دو یا چند مهره به دنبال هم باعث به وجود آمدن این عارضه می شود که کلاً تحت عنوان ناهنجاری اسکولیوز بررسی گردید) و ناهنجاری های دنده (چسبندگی دنده و دنده اضافی) و ناهنجاری جناغ (Sternum) و زائده زایفویئید (Xiphoid process) دو تکه بودن استرنوموزایفویئید در هر گروه بوسیله استریومیکروسکوپ (Nikon SMZ-2T, Japan) بررسی و مقایسه شدند.

رنگ آمیزی الیزارین رد و آلسین بلو به ترتیب زیر انجام شد: ۱- نمونه ها پس از کندن پوست و خارج نمودن احشائ و امعاشان بمدت ۲۰ دقیقه در آب جاری شستشو داده شدند و سپس وارد محلول رنگ آمیزی گردیدند. محلول رنگ آمیزی شامل، آلسین بلو ۱۴ درصد در اتانول ۷۰ درصد ۲ میلی لیتر، آلزارین رد ۱۲ درصد در اتانول ۹۵ درصد ۴ میلی لیتر، اسید استیک ۲ میلی لیتر و اتانول ۷۰ درصد ۵۰ میلی لیتر می باشد. نمونه ها به مدت ۴۲ ساعت در محلول رنگ آمیزی نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت اول محلول رنگ آمیزی تعویض گردید. ۲- سپس نمونه ها به مدت ۳-۴ روز در استون قرار گرفتند. ۳- نمونه ها به مدت ۱۲-۲۴ ساعت در الکل ۹۰ درصد نگهداری شدند. ۴- نمونه ها به مدت ۲۴-۶ ساعت در محلول پتاس نیم درصد قرار گرفتند. ۵- نمونه ها پس از طی مرحله بالا در محلول هایی با درجات بالا رونده گلیسرین قرار داده شدند. پس در آغاز در محلول ۲۰ درصد گلیسرین - پتاس و بعد از آن در محلول ۴۰ درصد

صاف شده و این عمل دو مرتبه تکرار شد و مجموعه حاصل به دستگاه تقطیر در خلاء (روتاری) منتقل شد و به میزان یک سوم مقدار اولیه تغلیظ گردید. در نهایت عصاره حاصل در حرارت ۴۰ درجه سانتی گراد خشک شد (۱۲). میزان عصاره حاصل از این روش در کل ۷ گرم بود.

تعداد ۶۰ سر موش سوری ماده از نژاد Balb/c از انستیتو پاستور خریداری و پس از انتقال به حیوانخانه تحت شرایط ثابت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای مناسب قرار گرفتند و درجه حرارت حیوانخانه در تمام مدت ثابت نگهداری شد پس از طی این مدت و تطابق با محیط جدید، در اولین ساعات دوره روشنایی و روز هشتم نگهداری هر ۳ سر موش ماده با یک موش نر در یک قفس قرار داده شدند. سپس به طور مرتب موش ها در ساعت ۶ صبح از نظر تشکیل پلاک واژینال بررسی شد. زمان مشاهده پلاک واژینی روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد کلیه موش های مثبت (حامله) در قفس های دیگری در همان محیط نگهداری شدند. موش های حامله به طور تصادفی به ۶ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. گروه ۱ یا گروه کنترل هیچ گونه دارویی دریافت نمی کردند. در گروه ۲ از روز ۷ تا روز ۱۲ حاملگی سرم فیزیولوژی (حلال عصاره) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. در مورد دوز عصاره با توجه به مطالعه پایلوت و با توجه به کار قبلی بر روی اثرات سقط زایی این گیاه و با توجه به مطالعه منجی و همکاران دوزهای ۵۰-۲۰۰ انتخاب شد (۱۴،۱۳)، در گروه ۳ ۳ mg/kg، ۵۰ در گروه ۴ ۱۰۰ mg/kg، در گروه ۵ ۱۵۰ mg/kg و در گروه آخر ۲۰۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی گیاه چای کوهی به صورت داخل صفاقی در روز ۷ تا ۱۲ حاملگی تزریق شد (۱۵). در روز ۱۸ حاملگی کلیه موش های حامله بیهوش شدند و سپس به طریق Dislocation cervical کشته و با شکافتن جدار قدامی شکمی، جنین ها از لوله رحمی خارج شده و سپس در سرم فیزیولوژی قرار گرفتند. جنین ها با ترازوی حساس

## یافته ها:

عصاره چای کوهی در دوزهای مختلف باعث کاهش میانگین قد و همچنین میانگین وزن جنین ها شد و این کاهش با افزایش دوز عصاره افزایش نشان داد ( $P < 0/01$ ) (جدول شماره ۱).

در بررسی تعداد جنین دارای دنده اضافی علیرغم مشاهده تفاوت در بین گروه های مورد مطالعه این تفاوت معنی دار نبود ( $P > 0/05$ ).

در گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم چای کوهی ۴۰ درصد جنین ها دنده اینترپاریتال نداشتند. در نداشتن استخوان اینترپاریتال بین گروه های کنترل و دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی داری وجود داشت ( $P < 0/01$ ) (جدول شماره ۲).

تعداد جنین های سقط شده در گروه های دریافت کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم چای کوهی

گلیسرین - پتاس و ... و ۱۰۰ درصد گلیسرین قرار داده شدند. ۶- نمونه ها در گلیسرین ۱۰۰ درصد که حاوی کریستال تیمول بود نگهداری شدند.

در این روش رنگ آمیزی نمونه ها کاملاً شفاف گردیده و تنها غضروف و استخوان رنگ می گیرند. در این رنگ آمیزی غضروف به رنگ آبی و استخوان به رنگ قرمز در می آید.

این رنگ آمیزی برای تشخیص قسمت های غضروفی و استخوانی و نیز مراکز استخوان سازی و نیز تخمین غضروف نسبت به استخوان و بالعکس مفید است. ناهنجاری های ساختمانی با کمک استریومیکروسکوپ مشاهده و ثبت شد و تعداد دنده ها و تعداد انگشتان دست و پا شمارش شد (۱۷).

داده ها به کمک آزمون های آماری کای دو، کروسکال والیس و دان تجزیه و تحلیل شد.

جدول شماره ۱: مقایسه میانگین وزن و قد جنین موش های مورد مطالعه در گروه های مختلف

گروه مورد مطالعه	متغیر	
	قد (سانتی متر)	وزن (گرم)
گروه ۱	۲/۰۳۵±۰/۰۴۸*	۱/۵±۰/۰۳۲*
گروه ۲	۱/۶۸۵±۰/۰۳۷	۱±۰/۰۴۵**
گروه ۳	۲/۵۶۵±۰/۰۴۶**	۰/۹۷±۰/۰۵**
گروه ۴	۱/۴۸±۰/۰۳۴**	۰/۴۲۵±۰/۰۶**
گروه ۵	۲/۰۳۵±۰/۰۶۸	۱/۵۲±۰/۰۶۹
گروه ۶	۲/۰۳۵±۰/۱۸	۱/۵۴±۰/۰۹۴

داده ها به صورت " انحراف معیار میانگین " می باشد.

\* $P < 0/01$  نسبت به گروه های ۲، ۳، ۴، \*\* $P < 0/01$  نسبت به گروه های ۵، ۶

گروه های ۱-۴ به ترتیب ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره چای کوهی و گروه ۵ آب مقطر به صورت داخل صفاقی دریافت کردند، گروه ۶ گروه کنترل بدون مداخله

## جدول شماره ۲: تعداد جنین و ناهنجاری های مورد مطالعه در گروه های مختلف

گروه	تعداد جنین	تعداد جنین زنده	تعداد جنین سقط شده n=۲۰	تعداد جنین بدون استخوان اینترپاریتال n=۲۰	تعداد جنین با دنده اضافی n=۲۰
۱	۳۴	۲۹	۵	۰	۰
۲	۳۶	۲۷	۹	۴	۲
۳	۲۰	۱۱	۹	۲	۳
۴	۴۷	۳۳	۱۴	۸	۶
۵	۲۴	۲۴	۰	۰	۰
۶	۲۴	۲۴	۰	۰	۰

۰/۰۱ < P در تعداد جنین های سقط شده و تعداد جنین بدون استخوان اینتر پاریتال گروه های ۱-۴ به ترتیب ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره چای کوهی و گروه ۵ آب مقطر به صورت داخل صفاقی دریافت کردند، گروه ۶ گروه کنترل بدون مداخله.

ژنین هستند برای درمان بی خوابی های سخت، تشنج، تنگی نفس و کاهش دردهای عصبی مورد استفاده قرار می گرفته اند. تحقیقات نشان می دهد که اپی ژنین به درون لایه های درونی پوست نفوذ می کند، که این تاییدی بر استفاده از آنها به عنوان داروی ضد التهاب در بافت های درونی پوست می باشد. اپی ژنین فلاونوئید یا استروژنی است که در گیاهان آروماتیک مثل چای کوهی وجود دارد (۱۸). اگر چه این ترکیب نسبت به همولوگ های ایزوفلاونوئیدی خود فعالیت کمتری دارد اما خواص استروژنیک آن ثابت شده است (۱۹) به این ترتیب که در شرایط *invivo* ترکیب ساخت رستورهای استروژنی را در سطح رحم موش کاهش می دهد (۲۰). در مورد متابولیسم این فلاونوئید مطالعات مختلفی صورت گرفته است. در مطالعه Romanova و همکاران، اپی ژنین به صورت تزریقی به موش صحرایی داده شده و تنها ۳۰ دقیقه بعد در پلاسما تشخیص داده شد (۲۱).

همچنین Gradplatto و همکاران متابولیسم اپی ژنین را بعد از یک دوز مصرف در موش صحرایی بررسی کردند. طی این مطالعه مشاهده شد که اپی ژنین

به ترتیب ۲۵، ۴۵ و ۳۰ درصد بود. بین گروه ها در تعداد جنین های سقط شده اختلاف معنی داری وجود داشت (جدول شماره ۲). (P<۰/۰۱)

## بحث:

نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق عصاره گیاه چای کوهی به موش های باردار باعث اختلال در رشد جنین و ایجاد ناهنجاری در جنین می شود و این مشاهدات با افزایش دوز عصاره افزایش می یابد. تعیین این که چه موادی و با چه مکانیسمی سبب بروز ناهنجاری شده و تراژون هستند به طور دقیق ممکن نیست و نیاز به جداسازی و خالص سازی اجزای تشکیل دهنده عصاره دارد و با توجه به این که در مورد آنالیز ترکیب های گیاه چای کوهی تحقیقات زیادی انجام نشده است، نمی توان دقیقاً نسبت به ماده موثره دخیل در آن اعمال نظر داد. ولی احتمال می رود که دو ترکیب اپی ژنین (Apigenin) و الفساپینن (alpha-Pinene) در این امر موثر باشند.

اپی ژنین از گذشته به عنوان دارو شناخته شده بود. به همین دلیل گل هایی که دارای مقادیر زیادی اپی

می شود (۱۴) که نتایج این تحقیق در ایجاد اختلال رشد همسو با مطالعه حاضر می باشد.

محققین اعتقاد دارند که روزهای ۹-۱۱، مرحله تکوینی گاسترولا تکمیل و مرحله ارگانوژنز شروع می شود، بنابراین نتایج فوق در این مطالعه توجیه می شود (۲۵).

بر اساس یافته های موجود چنین به نظر می رسد که جای کوهی می تواند در کبد به متابولیت های سمی و پایداری منجر شود که در زمان حاملگی از جفت عبور می نماید و زمان های حساس ارگانوژنز، تکامل جنینی و از جمله شکل گیری سیستم اسکلتی را تحت تاثیر قرار می دهد.

### نتیجه گیری:

مصرف چای کوهی در دوران بارداری و همزمان با دوران ارگانوژنز (اندام زائی) ممکن است دارای پتانسیل ناهنجاری زایی بوده و باعث اختلال در رشد و تکامل جنین شود لذا جهت بررسی بیشتر اثرات گیاه و یافتن مکانیسم اثر آن لازم است تحقیقات بیشتری انجام شود.

### تشکر و قدردانی:

این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی و با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و در مراکز تحقیقات گیاهان دارویی و سلولی و مولکولی این دانشگاه انجام شده است و محققین مراتب تشکر و قدردانی خود را از کلیه پرسنل این مراکز اعلام می دارند.

متابولیسمی آرام داشته و فاز جذب و دفع این ماده آهسته صورت می گیرد و بنابراین احتمال انباشتگی این فلاونوئید در بدن وجود دارد (۲۲). از طرفی در مطالعه Safaei مقدار ترکیب اپی ژنین چای کوهی، در دو نوع عصاره آبی و هیدروالکلی با هم مقایسه شد و نتایج نشان داد که میزان اپی ژنین در عصاره هیدروالکلی بیشتر است (۲۳). در نتیجه با توجه به این یافته ها می توان ادعا نمود که احتمالاً حضور این ترکیب استروژنیک در عصاره هیدروالکلی چای کوهی یکی از علل ایجاد ناهنجاری می باشد.

آلفا پینن از ترکیبات عمده عصاره چای کوهی است که انانتیومر بتا پینن است و علی رغم اینکه از لحاظ ساختمانی با هم متفاوتند، مشکلاتی که هر دو ایجاد می کنند مشابه هم است. پینن با تحریک عصب تری ژمینال ایجاد اثرات آرام بخش می کند، لیکن در کنار اثرات آرام بخش باعث تحریک اعصاب ریه هم می شود و با مقاومت راه های هوایی بیشتر شده، شخص احساس تنگی نفس و ناراحتی در راه های هوایی و گلو می کند (۲۴).

با توجه به اثر ضد انقباضی عصاره چای کوهی که در مطالعه Hajhashemi و همکاران مشخص شد، به نظر می رسد که عصاره گیاه حاضر با مکانسیم دیگری به جز تحریک انقباض، منجر به سقط گردد (۷).

جعفرزاده و همکاران در تحقیقی اثر عصاره گیاه چای کوهی را در ایجاد سقط در موش سوری بررسی کردند. نتایج این تحقیق نشان داد که این گیاه سقط آور بوده و باعث اختلال در رشد جنین موش

### منابع:

1. Sereshti M, Azari P, Rafieian M, Kheiri S. Use of herbal medicines by pregnant women in Shahrekord. J Reproduct Infertil. 2006; 7(2): 125-31.
2. Thomas way S. Birth defect, Longman medical embryology. Translated to Persian by: Bahadori M, Shakoor A. Tehran: Chehr Pub; 2001.

3. De Felici M, Siracusa G. The rise of embryology in Italy: from the Renaissance to the early 20th Century. *Nt J Dev Biol.* 2000; 44(6): 515-21.
4. Rahmani F. Teratogenic effects of lamotrigine on rat embryos. *J Reproduct Infertil.* 2006; 7(1): 45-52.
5. David J. Mabberley. The plant-book. 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2008.
6. Mozaffarian V. Dictionary of Iranian plants names (Latin-English-Persian). Tehran: Farhang Moaser; 2007.
7. Hajhashemi V, Ghannadi A, Sedighifar S. Analgesic and anti-inflammatory properties of the hydroalcoholic, polyphenolic and boiled extracts of *Stachys lavandulifolia*. *Res Pharmac Sci.* 2007; 7(1): 92-8.
8. Sadrmomtaz A, Meshkatsadat MH, Taherparvar P. Camparison of volatile components of *Stachys lavandulifolia* Vahl obtained by MWH and HD techniques. *Digest J Nanometr. Biostruc.* 2011; 6(3): 1343-8.
9. Sajjadi MH, Amiri H. Chemical constituents of the essential oils of different stages of the growth of *Stachys lavandulifolia* Vahl from Iran. *Pak J Biol Sci.* 2007 Aug; 10(16): 2784-6.
10. Sereshti M. Anomalies detected and some factors associated with congenital during pregnancies ended in Hajar hospital of Shahrekord. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2007; 10(1): 36-43.
11. Chuagech. Herbal medicines use during the first trimester and major congenital malformations: an analysis of data from a pregnancy cohort study. *Drug Saf.* 2006; 29(6): 537-48.
12. Samsam-Shariat H. [Extraction and isolation of medical plants, effective compound and evaluation and Identification methods for them. Isfahan: Mani; 1992.] Persian
13. Monji F, Hossein Tehrani H, Halvaei Z, Arbabi Bidgoli S. Acute and subchronic toxicity assessment of the hydroalcoholic extract of *Stachys lavandulifolia* in mice. *Acta Medica Iranica.* 2011; 49(12): 769-75.
14. Jafarzadeh L, Rafieian-Kopaei M, Ansari Samani R, Asgari A. The effect of hydroalcoholic extract of *Stachys lavandulifolia* vahl on pregnant Mice. *Excli J.* 2012; 11: 357-62.
15. Moallem SA. Fetal toxicity of natural anti-cancer compound in mice. *J Kerman Univ Med Sci.* 2007; 14(2): 133-4.
16. Kermanian F. Espandteratogenic effects on the skeletal system and the growth of mouse embryo stained with Alizarin. *Iran J Anatom.* 2002; 1(1): 35-9.
17. Ovchinnikov D. Alcian blue/alizarin red staining of cartilage and bone in mouse. *Cold Spring Harb Protoc.* 2009 Mar; 2009(3): pdb.prot5170.
18. Zanolli P, Avallone R, Baraldi M. Behavioral characterisation of the flavonoids apigenin and chrysin. *Fitoterapia.* 2000 Aug; 71(Suppl 1): S117-23.
19. Umehara K, Nemoto K, Matsushita A, Terada E, Monthakantirat O, De-Eknamkul W, et al. Flavonoids from the heartwood of the thai medicinal plant *dalbergia parviflora* and their effects on estrogenic-responsive human breast cancer cells. *J Nat Prod.* 2009 Dec; 72(12): 2163-8.
20. Breinholt V, Hossaini A, Svendsen GW, Brouwer C, Nielsen E. Estrogenic activity of flavonoids in mice: the importance of estrogen receptor distribution, metabolism and bioavailability. *Food Chem Toxicol.* 2000 Jul; 38(7): 555-64.
21. Romanova D, Grancai D, Jozova B, Bozek P, Vachalkova A. Determination of apigenin in rat plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A.* 2000 Feb; 870(1-2): 463-7.

22. Gradplatto A, Basly JP, Berges R, Teyssier C, Chagnon MC, Siess MH, et al. Canivenc-Lavier pharmacokinetics and metabolism of apigenin in femal and male rats after a single oral administration. *Drug Metab Dispos.* 2005; 33(1): 49-54.
23. Safaei A. Identification and quantitative determination of luteolin and apigenin in the aerial parts and an extract of *Stachyslavandulifolia* by HPLC. *International Congress on Traditional Medicine and Material Medical, Tehran, Iran. Iranian J Pharm Res.* 2004; (Supple 2): 90-6.
24. Keating A, Chez RA. Ginger syrup as an antiemetic in early pregnancy. *Altern Ther Health Med.* 2002 Sep-Oct; 8(5): 89-91.
25. Beaudin AE, Perry CA, Stabler SP, Allen RH, Stover PJ. Maternal Mthfd1 disruption impairs fetal growth but does not cause neural tube defects in mice. *Am J Clin Nutr.* 2012 Apr; 95(4): 882-91.



## Teratogenic effects of hydroalcoholic extract of *Stachys lavandulifolia* Vahl on the skeletal system and fetal growth in Balb/c mice

Golshan-Iranpour F (PhD)<sup>1</sup>, Jafarzadeh L (MD)<sup>2</sup>, Asgari A (MSc)<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Anatomy Sciences Dept., Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R. Iran; <sup>2</sup>Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.

Received: 8/Jan/2012

Revised: 21/Jul/2012

Accepted: 31/Jul/2012

**Background and aims:** Several studies have shown that many pregnant women use medicinal plants during pregnancy without knowing some of those teratogenic effects. One of these plants is *Stachys lavandulifolia* that is used for many health treatments. The teratogenic effect of this plant has not been established yet. Therefore in this study the teratogenic effect of *Stachys lavandulifolia* was investigated in Balb/c mice.

**Methods:** In this experimental study, 60 female Wistar rats (30-40 gr, 8-12 weeks old) were randomly designated into 6 groups. (2 control and 4 case groups). Pregnancy was confirmed with vaginal plaque. The doses of 50, 100, 150 and 200 mg/kg of the extracts of *Stachys lavandulifolia* vahl were injected intra peritoneal (i.p.) to pregnant mice from the 7<sup>th</sup> to 12<sup>th</sup> days of pregnancy. The fifth group received saline and the sixth group (control group) received nothing. In the 18<sup>th</sup> day of the pregnancy the fetuses were removed from the uterine tubes and their weight and height were measured by digital scale and Kullis, then they were painted by red alizarin and their skeletal disorders were checked. Data were analyzed with Chi square and Kruskal Wallis and Dunn post hoc tests.

**Results:** Using different doses of hydro alcoholic extract of *Stachys lavandulifolia* the fetal growth was impaired and this impairment increased with increased doses of the extract ( $P < 0.01$ ). In the dose of 200 mg/kg inter parietal bone was not observed in 40% of embryos ( $P < 0.01$ ), regarding the extra rib there was no significant difference between groups. In the case of having additional rib, no significant difference was found between the groups.

**Conclusion:** *Stachys lavandulifolia* extract has teratogenic effect and using it causes growth retardation and stopping the inter parietal bone formation. Therefore it should be considered as contraindication or use with caution, in pregnancy.

**Keywords:** *Stachys lavandulifolia*, Skeletal disorders, Teratogen.

**Cite this article as:** Golshan-Iranpour F, Jafarzadeh L, Asgari A. Teratogenic effects of hydroalcoholic extract of *Stachys lavandulifolia* vahl on the skeletal system and fetal growth in Balb/c mice. J Sharekord Univ Med Sci. 2012 Oct, Nov; 14(4): 21-29.

\*Corresponding author:

Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Rahmatieh, Shahrekord, I.R. Iran. Tel: 00983813335654, E-mail: A.Ilin39@yahoo.com