

## اثرات ناهنجاری زایی عصاره های آبی و الکلی گیاه بابونه بر موش کوچک آزمایشگاهی

نویسندگان:

بهادر بهار آراء

دکتری تخصصی بیولوژی تکوینی مانوری، استادیار گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی مشهد

مهرداد رسنم پور

بیولوژیست عمومی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد

تاریخ ارائه مقاله: ۸۴/۸/۳۰ تاریخ ارائه پذیرش: ۸۵/۴/۲۲

### Evaluation of Teratogenic Effects of Matricaria Chamomilla in Balb/C Mouse

#### Abstract

**Introduction:** In many countries, the use of plants and natural products is popular as an alternative to classic medical care. Lack of information about the toxic effects of such plants allows them to be used for medical treatment. Matricaria chamomilla, with the Persian name of “Baboune”, belongs to the family Compositae and has been known for hundreds of years. The aim of this study was evaluation of teratogenic effects of Matricaria chamomilla in Balb/C Mouse.

**Materials and Methods:** This experimental study was done in Mashhad in 2004-2005. Chamomilla is a herbal medicine and has unwanted effects on embryos. For this study the flowers of Matricaria chamomilla were used which contain numerous constituents including: terpenoids, biosabolo oxidase, chamazulene, sesquiterpenes, flavonoids, apigenin, luteoline, quercetin, anthemic acid, choline, tannin, polysaccharides.

In this study, the embryo Toxicity of aqueous and methanolic extracts of chamomilla was evaluated, applying the standard method for this purpose. Maximum tolerated doses of the two extracts were determined and appropriate doses were administered intraperitoneally to pregnant mice on day 7-9 of gestation. Embryos were then harvested by caesarian section on 15.5 day of gestation and examined for morphologic and histologic characteristics.

**Results:** Aqueous and methanolic extracts of chamomilla caused significant decrease in weight and crown – rump (CR) measurements of embryos ( $P<0.05$ ). Also uterus weight of mice in the treatment group showed significant decrease ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** The results of this investigation showed that many compounds of aqueous and methanolic extracts of M.chamomilla have effects on development of Mice embryo. The results of this study suggest that the pregnant women should not use formulations containing this plant.

**Key Words:** Abnormality, Matricaria chamomilla, Balb/C mouse

آدرس مکاتبه:

مشهد، میدان راهنمایی، دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست شناسی

تلفاکس: ۰۵۱۱-۶۲۲۴۸۲۲

پست الکترونیک: baharara@yahoo.com

## مقدمه

تحقیقات بسیاری نشان داده است که بایونه دارای اثرات سمی زیادی می باشد و واکنش های آلرژیک فراوانی در مورد این گیاه گزارش شده است. ویژگیهای آلرژیک زای آن به ترکیباتی چون آنتی کوتولید که یک سیس کوئی ترپن و نیز ماتریکارین که یک پروآزولان است نسبت داده می شود. در مورد بایونه آلمانی گزارشاتی مبنی بر ایجاد درماتیت در برخی از مصرف کنندگان این گیاه به چشم می خورد. خواص آلرژن سایر اعضای خانواده کمپوزیته نظیر را گوید نیز به اثبات رسیده است (۴-۱). ناراحتیهای تنفسی، برونشیت رینوکونژیکتیویت حساسیت بالا در افراد مسلول نیز گزارش شده است. نشانه های حساسیت به این گیاه عبارتند از: ورم زبان، انسداد نای و آنژیوادم لب ها و چشم (۷-۵). لذا از آنجا که تحقیقات دامنه داری بر روی اثرات گیاهان داروئی در سطح دنیا در حال پیگیری است در این پژوهش نیز هدف، مطالعه اثرات ناهنجاری زائی گیاه بایونه در موش کوچک آزمایشگاهی می باشد.

## روش کار

این مطالعه از نوع تجربی و در مدت هیجده ماه در سالهای ۱۳۸۴-۱۳۸۳ در آزمایشگاه تحقیقاتی زیست شناسی تکوینی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی مشهد انجام شد. به منظور بررسی اثرات ناهنجاری زائی گیاه بایونه در موش کوچک آزمایشگاهی گیاه بایونه از بازار داروئی تهیه و پس از شناسائی، خشک و توسط آسیاب پودر آن تهیه گردید و سپس عصاره گیری به طریقه آبی و الکلی انجام شد. برای ارزیابی حداکثر مقدار قابل تحمل و LD50، از عصاره آبی و الکلی را به عنوان دوز پایه انتخاب و از راه داخل صفاقی به موش بالغ تزریق شد و پس از بیست و چهار ساعت میزان مرگ و میر ارزیابی شد و به دلیل عدم مشاهده مرگ و میر این دوز در ۲ ضربه و سطوح حاصل به دسته های ۵ تائی تزریق شد تا باعث مرگ همه آنها شود سپس حداکثر دوز قابل تحمل و

LD50 توسط برنامه آماری لیچفیلد و ویلکاکسون و نرم افزار PCS محاسبه گردید. یکصد موش ماده باکره بالغ کوچک آزمایشگاهی که از موسسه سرم سازی رازی مشهد تهیه و در اتاق پرورش حیوانات و در درجه حرارت  $23 \pm 2$  درجه سانتی گراد و دوره نوری طبیعی (۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند و پس از انجام جفت گیری با نرهای بالغ، روز مشاهده پلاک واژنی به عنوان روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد و سپس از آنها برای انجام تجربیات در گروههای ذیل بر اساس پروتکل OECD-GLP (۸) استفاده شد. گروه اول به عنوان کنترل منفی دریافت کننده نرمال سالین با دوز ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن، گروه دوم و سوم دریافت کننده عصاره آبی گیاه بایونه با دوزهای ۵/۶ گرم بر کیلوگرم و ۲۷/۷ گرم بر کیلوگرم وزن بدن، گروه چهارم و پنجم دریافت کننده عصاره الکلی گیاه بایونه با دوزهای ۲/۸ گرم بر کیلوگرم و ۶/۹۶ گرم بر کیلوگرم وزن بدن بودند به گروه ششم به عنوان کنترل مثبت سیکلوهگزامید با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد. تزریق در روزهای هفتم تا نهم بارداری انجام و حجم تزریق ۰/۳-۱/۰ میلی لیتر بود و میزان دریافتی دارو به صورت روزانه با اضافه وزن موش های باردار محاسبه و تعدیل شد. موش های حامله کلیه گروه های فوق الذکر در روز ۱۵/۵ بارداری تشریح و جنین ها از رحم و کیسه آمنیوتیک خارج، ابتدا توسط استرئومیکروسکوپ مورد بررسی مورفولوژیک قرار گرفتند و سپس وزن و طول فرق سری - نشیمنگاهی (CR) آنها تعیین گردید و در ادامه جنین های مذکور برای انجام مطالعات بافت شناسی میکروسکوپی نوری به روش هماتوکسیلین - اتوزین هاریس آماده سازی و مورد بررسی قرار گرفت. مشخصات موشها و نتایج مطالعه در هر گروه در پرسشنامه ثبت گردید. داده های کمی حاصل از این مطالعه به کمک نرم افزار آماری و آمار توصیفی و جداول توزیع فراوانی SPSS تحلیل و  $P < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

### نتایج

گروه‌های کنترل مربوط کاهش معنی دار دیده شد ( $P < 0.001$ ). همچنین تحلیل آماری داده های کمی حاصل از اندازه گیری وزن و طول فرق سری - نشیمنگاهی جنین های حاصل از موش های حامله دریافت کننده مقدار ۵/۶ و ۲۷/۷ گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره آبی و مقدار ۹/۹۶ و ۲/۸ گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره الکلی گیاه بابونه در مقایسه با گروههای کنترل مربوط کاهش معنی دار نشان داد ( $P < 0.001$ ). اندازه گیری وزن رحم موشهای تجربی گروههای دریافت کننده عصاره های آبی و الکلی گیاه بابونه در روز ۱۵/۵ حاملگی نیز در مقایسه با کنترل کاهش معنی دار نشان داد ( $P < 0.001$ ). (جداول ۱ و ۲).

مطالعات ریخت شناسی جنین های حاصل از موشهای حامله تیمار شده با عصاره آبی و الکلی گیاه بابونه در مقایسه با گروه های کنترل ناهنجاری مورفولوژیک و هیستولوژیک خاصی نشان نداد. همچنین بررسی آماری داده های کمی حاصل از اندازه گیری مقدارافزایش وزن موش های حامله در تجربی در روزهای ۶-۰ بارداری در مقایسه با کنترل تغییر معنی دار نشان نداد ( $P > 0.05$ ). لیکن روند افزایش وزن موش های حامله دریافت کننده مقدار ۵/۶ و ۲۷/۷ گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره آبی و مقدار ۲/۸ و ۹/۹۶ گرم بر کیلوگرم از عصاره الکلی گیاه بابونه در روزهای ۹-۶ بارداری در مقایسه با

جدول ۱: توزیع فراوانی متغیر های مورد مطالعه مادر و جنین در تجربیات عصاره آبی گیاه بابونه

نمونه های مورد پژوهش	عصاره با دوز ۵/۶ گرم بر کیلوگرم	عصاره با دوز ۲۷/۷ گرم بر کیلوگرم	نرمال سالین ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم
تعداد موشها برای جفتگیری	۱۵	۱۵	۱۵
تعداد موشهای باردار	۱۴	۱۲	۱۳
تعداد موشهای مرده	۱	۰	۰
تعداد موشها با زایمان زودرس	۰	۰	۰
تعداد موشها در روز ۱۵/۵	۱۳	۱۲	۱۳
وزن رحم (گرم)	۱۴/۲۳ ± ۱,۶	۹/۱ ± ۱/۸۴	۱۷/۶۸ ± ۱/۸۱
تعداد کل جنینها	۱۷۱	۱۵۸	۱۷۵
تعداد جنینهای مرده	۶*	۴**	۲***
وزن جفت با جنین	۱/۲ ± ۰,۲	۱/۱۹ ± ۰,۱۴	۱/۴ ± ۰,۱۳
تعداد جنین نر / ماده	۸۱/۹۰	۷۵/۸۳	۹۸/۷۷
تعدادسقطهای بعداز لانه گزینی	۱/۴ ± ۰,۶	۱/۷۴ ± ۱/۱	۰/۶ ± ۰,۷
وزن جنین (میلی گرم)	۹۱۰/۹ ± ۱۲۹/۲	۸۹۱ ± ۲۴۵/۶۳	۱۱۰۴/۴ ± ۱۲۲/۸
طول فرق سری - نشیمنگاهی جنین (میلی متر)	۱۸/۹ ± ۱/۷۶	۱۷/۵ ± ۳/۱۱	۱۹/۹۱ ± ۱۱/۸۴

جدول ۲: توزیع فراوانی متغیرهای مادر و جنین در تجربیات عصاره الکلی گیاه بابونه

نمونه های مورد پژوهش	عصاره با دوز ۲/۸ گرم بر کیلوگرم	عصاره با دوز ۶/۹۶ گرم بر کیلوگرم	نرمال سالین ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم
تعداد موشها برای جفت گیری	۱۵	۱۵	۱۵
تعداد موشهای باردار	۱۴	۱۴	۱۳
تعداد موشهای مرده	۰	۱	۰
تعداد موشها با زایمان زودرس	۰	۰	۰
تعداد موشها در روز ۱۵/۵	۱۴	۱۳	۱۳
وزن رحم (گرم)	۱۳/۱۰ ± ۲/۹	۱۰/۱۸ ± ۳/۹	۱۷/۶۸ ± ۰/۸۱
تعداد کل جنینها	۱۴۸	۱۲۰	۱۷۵
تعداد جنینهای مرده	*۱۵	**۲۶	***۲
وزن جفت با جنین	۱/۱۲ ± ۰/۳	۱/۰۱ ± ۰/۲۹	۱/۴ ± ۰/۱۳
تعداد جنین نر / ماده	۷۰/۷۸	۶۱/۵۹	۹۸/۷۷
تعداد سقط های بعد از لانه کزینی	۱/۳۱ ± ۰/۲	۱/۷۲ ± ۱/۱	۰/۶ ± ۰/۷
وزن جنین (میلی گرم)	۸۹۱/۸۹ ± ۲۷۳/۰۳	۷۵۱/۰۵ ± ۳۶۸/۶	۱۱۰۴/۴ ± ۱۲۲/۸
طول فرق سری - نشیمنگاهی جنین (میلی متر)	۱۷/۸۱ ± ۲/۶	۱۷/۶۴ ± ۴/۰۳	۱۹/۹۱ ± ۱۱/۸۴

### بحث

حاصل از پژوهش حاضر نشان می دهد که عصاره های آبی و الکلی گیاه بابونه در مقادیر مورد استفاده اثرات نامطلوبی بر طول فرق سری - نشیمنگاهی و وزن جنین موش کوچک آزمایشگاهی دارد و احتمالاً ترکیباتی از این گیاه که هم محلول در آب و هم محلول در الکل می باشند مسئول ایجاد این اثرات ناهنجار می باشند همچنین برخی مطالعات پیشنهاد می نماید ترکیباتی از بابونه که قابلیت اتصال به موکو پلی ساکاریدهای غضروف ها را دارند با تغییر ساختار پلی ساکاریدها باعث اختلال در ظاهر غضروف ها شده و بر سرعت جریان خون بافتی و پلازما نیز تاثیر می گذارند ( ۲۳-۲۱). با توجه به مطالعات انجام توسط پژوهشگران مختلف و نیز نتایج حاصل از پژوهش حاصل پیشنهاد می شود ضمن مطالعه دقیق جنبه های متفاوت اثرات گیاه بابونه بر رشد و نمو جنین انسان مصرف آنها در دوران بارداری با احتیاط بیشتر ی صورت پذیرد.

گیاه بابونه به طور وسیعی در طب سنتی مورد استفاده قرار می گیرد و مهمترین اثرات آن عبارتند از: تسکین دهنده اسپاسم و ضد ناراحتی پوستی (۱۲-۴). با توجه به کنش های پیچیده بین عوامل ژنتیک و محیطی در پاتوژنی اکثر مالفورماسیون های شایع اثبات یک نقش قطعی برای یک ناهنجاری مشکوک مشکل می باشد و تنها ۴ تا ۶ درصد از مالفورماسیونهای مادرزادی به علت داروها و مواد شیمیائی می باشد و نیز آثار سوءناشی از استفاده از برخی گیاهان دارویی توسط سایر محققین نیز گزارش شده است از جمله تحقیقاتی که بر روی گیاه بابونه انجام شده است بیانگر آن است که این گیاه دارای اثرات سوء بسیار نظیر ایجاد آلرژی و درماتیت که به سزکوئی ترین نسبت داده می شود می باشد. سزکوئی ترین ترکیبی است که باعث القاء فرایند مرگ برنامه ریزی شده سلولی می شود (۲۰-۱۲). کونژیکتیویت و در برخی موارد ایجاد شوک آنافیلاکتیک نیز گزارش شده است (۷-۱). نتایج

## خلاصه

**مقدمه:** گیاه بابونه با نام علمی ماتریکاریا کامامیلیا<sup>۱</sup> با نامهای متداول بابونه دارویی یا کامومیل به عنوان یکی از چهار گیاه پر مصرف جهان مطرح می باشد. این گیاه از تیره کاسنی است که گیاهی است علفی و از آن به عنوان داروی خانگی مورد استفاده قرار می گیرد. این گیاه برای درمان بسیاری از بیماریها از جمله ضد خونریزی، تقویت کننده معده، ضد عفونی کننده و آرام بخش کاربرد دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات ناهنجاری زای این گیاه بر جنین موش نژاد Balb/C صورت گرفته است.

**روش کار:** این مطالعه تجربی در سال ۸۴-۱۳۸۳ در دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی مشهد انجام شده است. سمیت عصاره آبی و الکلی بابونه به روش استاندارد GLP بررسی شد و حداکثر مقدار قابل تحمل هر دو عصاره محاسبه گردید و سپس مقادیر مذکور در روزهای ۹-۷ بارداری به موشها به صورت داخل صفاقی تزریق شد. جنینها در روز ۱۵/۵ حاملگی از رحم خارج و پس از انجام بررسی های ریخت شناسی نمونه ها جهت بررسی های بافتی رنگ آمیزی شدند. مشخصات فردی و نتایج مطالعه در پرسشنامه جمع آوری شد و اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از آمار توصیفی و جداول توزیع فراوانی پردازش گردید.

**نتایج:** یافته های این تحقیق نشان داد که هر دو عصاره آبی و الکلی گیاه بابونه باعث اختلال در سیر طبیعی افزایش وزن موشهای باردار دریافت کننده عصاره آبی و الکلی شده و طول فرق سری-نشیمگاهی و وزن جنین های آنها کاهش معنی داری یابد ( $p < 0.05$ ). همچنین سبب کاهش معنی دار وزن رحم موش های تجربی درمقایسه با کنترل می شود ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه گیری:** به نظر می رسد که این گیاه دارای اثرات جدی بر روی جنین می باشد لذا توصیه می شود زنان باردار در طی دوران بارداری با احتیاط و کنترل بیشتری از این گیاه استفاده نمایند.

**کلمات کلیدی:** ناهنجاریزایی، بابونه، موش Bal/C

1- Matricaria chamomilla

## Reference :

1. Arch. Fam. Med. 1998. VOL ,Nov/Dec, 523-535.
2. Van Ketel WG. Allergy of Matricaria chamomilla. Contact Dermatitis. 1987 Jan;16(1):50-1.
3. Casterline CL. Allergy to chamomile tea. JAM. 1980 Jul 25;244(4):330-1.
4. Szelenyi I, Isaac O, Thiemer K. Pharmacological experiments with compounds of chamomile. III. Experimental studies of the ulcerprotective effect of chamomile (author's transl). Planta Med 1979 Mar;35(3):218-27.
5. Subiza J, Subiza JL, Alonso M, Hinojosa M, Garcia R, Jerez M, et al. Allergic conjunctivitis to chamomile tea. Ann Allergy. 1990 Aug;65(2):127-32.
6. Benner MH, Lee HJ. Anaphylactic teation to chamomile
7. Subiza J, Subiza JL, Hinojosa M, Garcia R, Jerez M, Valdivieso R, et al. Anaphylactic reaction after the ingestion of chamomile tea: a study of cross reactivity with other composite pollens. J Allergy Clin Immunol. 1989 Sep;84(3):353-8.

8. Organization for economic cooperation and development codes of good laboratory practice , May 1982 , Doc c ( 81 ) 30 ( Final ) Annex 2.
9. Cirigliano M. Chamomile for use as anti-inflammatory, antispasmodic and sedative. *Alternative Med Alert*. 1999 Sep;100-4.
10. Achterrath-Tuckermann U, Kunde R, Flaskamp E, Isaac O, Thiemer K. Pharmacological investigations with compounds of chamomile. V. Investigations on the spasmolytic effect of compounds of chamomile and Kamillosan on the isolated guinea pig ileum. *Planta Med*. 1980 May;39(1):38-50.
11. Mann C , Staba E. The chemistry, pharmacology, and commercial formulations of chamomile. *Herbs Spices Med Plants*. 1986;1:235-80.
12. Viola H, Wasowski C, Levi de Stein M, Wolfman C, Silveira R, Dajas R, et al. Apigenin, a component of *Matricaria recutita* flowers, is a central benzodiazepine receptors-ligand with anxiolytic effects. *Planta Med*. 1995 Jun;61(3):213-6.
13. Achterrath-Tuclermann U, Kunde R, Flaskamp E, Issac O, Thiemer K. Pharmacological investigations with compounds of chamomile. V. Investigations on the spasmolytic effect of compounds of chamomile and Kamillosan on the isolated guinea pig ileum. *Planta Med*. 1980 May;39:38-50.
14. de la Motte S, Bose-O'Reilly S, Heinisch M, Harrison F. Double-blind comparison of an apple pectin-chamomile extract preparation with placebo in children with diarrhea. *Arzneimittelforschung*. 1997 Nov;47(11):1247-9.
15. Forster HB, Nikolas H, Lutz S. Antispasmodic effects of some medical plants. *Planta medica* 1980;40: 309-19.
16. Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD. *Herbal medicines: a guide for health-care professionals*. London:Pharmaceutical Press;1996:ix, 296.
17. Blumenthal M. *The complete German commission E monographs: therapeutic guide to herbal medicines*. Am Botanical Council. 1998.
18. Ko FN, Huang TF, Teng CM. Vasodilatory action mechanisms of apigenin I isolated from *A pium graveolens* in rat thoracic aorta. *Biochem Biophys Acta*. 1991 Nov 14;
19. Gould L, Reddy CV, Gomprecht RF. Cardiac effects of chamomile tea. *J Clin Pharmacol*. 1973 Nov-Dec;13(11):475-9.
20. Murakami A, Takahashi D, Kinoshita T, Koshimizu K, Kim HW, Yoshihiro A, et al. Zerumbone, a Southeast Asian ginger sesquiterpene, markedly suppresses free radical generation, proinflammatory protease production, and cancer cell proliferation accompanied by apoptosis: the alpha,beta-unsaturated carbonyl group is a prerequisite. *Carcinogenesis*. 2002 May;23(5):795-802.
21. Keating A, Chez RA. Ginger syrup as an antiemetic in early pregnancy. *Altern Ther Health Med*. 2002 Sep-Oct;8(5):89-91.
22. Murata P, Kase Y, Ishige A, Sasaki H, Kuroosawa S, Nakamura T. The herbal medicine Dai-kenchu-to and one of its active compounds[6]-shogaol increase intestinal blood flow in rats. *Life Sci*. 2002 Mar 15;70(17):2061-70.
23. Sekiwa Y, Kobayashi A, Kubota K, Takenaka M. First isolation of geranyl disaccharides from ginger and their relations to aroma formation. *Nat Prod Lett*. 2001;15(4):267-74.