

بررسی اثرات تراتوژنیک گیاه نوروک (*Salvia leriifolia* Benth.) در موش سوری

سید عادل معلم^{۱*}، حسین حسین زاده^۲، زهره ایزدی^۳، سیده تکتّم ضیایی^۴، طیبه کرمانی^۵

۱- دانشیار، گروه فارماکودینامی و سم شناسی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی، مرکز تحقیقات سم شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۲- استاد، گروه فارماکودینامی و سم شناسی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۳- داروساز، گروه فارماکودینامی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۴- داروساز، کارشناس گروه فارماکودینامی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۵- استادیار، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

*آدرس مکاتبه: مشهد، دانشکده داروسازی، صندوق پستی: ۹۱۷۷۵ - ۱۳۶۵

تلفن: ۸۸۲۳۲۵۵ (۰۵۱۱)، نمابر: ۸۸۲۳۲۵۱ (۰۵۱۱)

پست الکترونیک: moallem@mums.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۷/۱/۲۴

تاریخ دریافت: ۸۶/۴/۸

چکیده

مقدمه: گیاه نوروک^۱ از تیره نعنائیان و بومی ایران می باشد. بررسی های متعدد نشان داده است این گیاه دارای اثرات فارماکولوژیکی مختلف از جمله اثر ضد هیپرگلیسمی، ضد التهابی، ضد درد، ضد زخم پپتیک و در دوز خاصی، اثر شل کنندگی عضلانی و آرام بخشی است.

هدف: با توجه به امکان مصرف آن در دوران بارداری و مطالعه نشدن اثر آن بر رشد و تکامل جنینی برآن شدیم در این بررسی سمیت جنینی عصاره آبی و الکلی برگ نوروک در موش سوری بررسی شود.

روش بررسی: بدین منظور بخشی از حداکثر دوز قابل تحمل عصاره های آبی و الکلی از روز ششم تا چهاردهم بارداری به صورت روزانه و داخل صفاقی به موش سوری تجویز شد. جنین ها در روز هجدهم با جراحی سزارین خارج شده و از لحاظ ویژگی های ظاهری بررسی شدند. سپس جهت بررسی ساختار اسکلتی طی مراحل فیکس شده و با رنگ آمیزی اختصاصی و امواج مایکروویو غضروف و استخوان رنگ شده سپس بررسی شدند.

نتایج: تجویز هر دو دوز عصاره های آبی و الکلی (۲۸ و ۸۴ mg/kg) برای هر دو عصاره، به ویژه الکلی باعث اختلال در سیر طبیعی افزایش وزن موش های باردار و هم چنین کاهش معنی دار وزن رحم در مقایسه با گروه کنترل شد. قد و وزن جنین ها در موش های دریافت کننده عصاره های آبی و الکلی کاهش قابل ملاحظه ای نشان داد. ناهنجاری های متعددی در گروه های دریافت کننده عصاره آبی و الکلی مشاهده شد از جمله می توان به اسپینا بیفیدا (بیرون زدگی نخاع)، پیچش نامناسب دست و پا، خون ریزی شکمی و ناهنجاری های استخوانی اشاره کرد.

نتیجه گیری: بنابراین براساس این بررسی مصرف نوروک در دوران بارداری حیوانات آزمایشگاهی می تواند منجر به بروز ناهنجاری های جنینی متعددی شود. لذا مصرف آن در دوران بارداری باید حداقل با احتیاط فراوان تا مطالعات تکمیلی همراه شود.

کل واژگان: نوروک، تراتوژنیسته، موش سوری

¹ *Salvia leriifolia* Benth.



مقدمه

جنس سالویا از تیره نعنائیان^۱ شامل حدود ۹۰۰ گونه است. منطقه جغرافیایی رویش نوروزک^۲ محدود به شرق ایران و بخش‌هایی از افغانستان بوده، بومی مناطق کویری استان سمنان و جنوب خراسان است [۱]. در سال ۱۹۸۲ به عنوان فلور گیاهی ایران معرفی گردید [۲].

ترکیب‌های شیمیایی نوروزک به خوبی شناخته نشده است، اسانس اندام‌های هوایی گیاه توسط GC بررسی شده است. ۲۲ ترکیب که ۹۳/۴ درصد اسانس را تشکیل می‌دهند و مهم‌ترین آن‌ها عبارتند از آلفا و بتا پینن، ۱ و ۸ سینتول و آلفا کادینول یافت گردیدند [۳]. علاوه بر این‌ها سزکویی ترپن‌ها، دی ترپن‌ها و فلاونوئیدها نیز در بعضی جنس‌های دیگر این تیره یافت می‌شوند [۴].

بررسی‌ها نشان داده است که عصاره دانه و برگ نوروزک اثرات آرام‌بخش، خواب‌آوری، آنتی‌اکسیدانی و ضدایسکمی در هیپوکامپ رت دارد، هم‌چنین اثر گشادکنندگی عروق و محافظت عصبی با ریشه نوروزک نیز مشاهده شده است [۵،۶]. کاهش وابستگی موش به مورفین [۷]، اثر قوی ضدالتهابی و ضددردی در موش و رت که از طریق گیرنده‌های اوپیویدی از طریق مسیر فوق نخاعی عمل می‌کند هم در برگ نوروزک دیده شده است [۸،۹]. نوروزک اثر ضدسرطان [۱۰]، ضدباکتری [۱۱]، ضددیابت [۱۲]، ضدسمیت کبدی [۱۳]، ضدتشنج [۱۴] و ضدزخم معده [۱۵] نیز دارد. بالاترین دوز قابل تحمل (MTD) عصاره الکلی و آبی دانه آن ۲۸۰ mg/kg است [۲،۱۶].

با توجه به کاربرد گیاه نوروزک در طب سنتی، اثرات مختلف درمانی مشاهده شده در بررسی‌های فارماکولوژیک مورد اشاره و بومی بودن این گیاه در ایران لذا نیاز به بررسی عوارض جانبی آن به ویژه در دوران بارداری بیش از پیش حس می‌شود. لذا در این تحقیق اثرات سمی عصاره‌های آبی و الکلی برگ گیاه نوروزک در جنین موش سوری ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و شناسایی گیاه

گیاه نوروزک از منطقه تربت جام استان خراسان جمع‌آوری شد و توسط بخش هرباریوم دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، تایید شد (شماره طبقه‌بندی ۰۵ - ۱۹۱۲ - ۱۵۳). برگ گیاه نوروزک در سایه خشک شده، توسط آسیاب پودر گردیده و در شرایط مناسب نگهداری شد.

حیوانات آزمایشگاهی

موش‌های سوری^۱ با وزن ۳۰ - ۲۵ گرم استفاده شدند. موش‌ها از نژاد Balb/c بوده و در اتاق حیوانات مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی در شرایط ۱۲/۱۲ ساعت تاریکی / روشنایی، دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت مناسب و دسترسی نامحدودی به غذا و آب نگهداری می‌شدند. یک موش نر با ۵ موش ماده برای جفت‌گیری قرار گرفته بودند. پس از مدتی موش‌های ماده از نظر وجود پلاک واژن بررسی و موش‌های واجد پلاک به عنوان باردار روز صفر (GD0) در نظر گرفته شدند [۱۷،۱۸].

عصاره‌گیری

عصاره آبی: مقدار ۴۰۰ گرم از پودر برگ گیاه نوروزک را پس از به جوش آمدن ۹۰۰ سی‌سی آب به آن اضافه کردیم. پس از ۱۵ دقیقه جوشاندن مخلوط در حال هم‌زدن، توسط دستگاه حذف حلال در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد یک کنسانتره از عصاره تهیه کرده و آن‌را در پلیت ریخته، روی بن ماری ۵۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت کاملاً خشک کردیم. پودر کریستالی حاصل از تراشیدن عصاره خشک شده در نرمال سالین جهت استفاده و تجویز به حیوان حل شد.

عصاره الکلی: ۴۰۰ گرم از پودر برگ نوروزک را در ۹۰۰ سی‌سی اتانول ۹۶ درجه به مدت ۴۸ ساعت خیس کرده، با تنظیف صاف نموده و حذف حلال کردیم. سپس طبق روش

^۱ Mice^۱ Labiateae^۲ *Salvia leriifolia* Benth.

(Fluka, Switzerland)، آلیزارین رد - اس^۱ ۰/۰۱ درصد در اسیداستیک گلاسیال و اتانول (Fluka, Switzerland) در اسیداستیک گلاسیال و اتانول ۹۰ درصد (۹۵:۵) با ۳۰ ثانیه ماندن در تحت امواج مایکروویو و ۲ ساعت قرار گرفتن در بن ماری ۵۰ درجه سانتی گراد رنگ آمیزی شدند [۲۳،۲۴]. پس از ۲۴ ساعت شفاف سازی شدن در محلول پتاسیم هیدروکساید ۱ درصد در اتانول ۹۵ درصد و گلیسرین (۱:۱)، ناهنجاری های ساختمانی جنینی به کمک استرئومیکروسکوپ Leica مشاهده و ثبت شد [۲۵،۲۶]. با این روش غضروفها توسط الیسین بلو به رنگ آبی و استخوانها توسط آلیزارین رد - اس به رنگ قرمز مشخص گردیدند. تمام طول استخوانها و طول قسمت غضروفی مورد بررسی قرار گرفت و نیز تعداد دنده ها و تعداد انگشتان دست و پا شمارش گردید (تمام استخوانهای کف دست و پا و حتی زائده D در استخوان باز شده، بررسی شدند). استخوانهای سر نیز از نظر وجود استخوان زیگوت، استخوانهای فک تحتانی و فوقانی و نظایر آن بررسی شدند.

آنالیز آماری داده ها

با استفاده از نرم افزار InStat داده ها مورد ارزیابی آماری قرار گرفت. سطح اطمینان ۹۵ درصد به عنوان حداقل قابل قبول تفاوت معنی دار داده ها در نظر گرفته شد ($p < 0.05$).

نتایج

بازده عصاره

بازده در عصاره گیری آبی تقریباً معادل ۹ w/w درصد پودر برگ نوروزک و در عصاره گیری الکلی ۱۴ w/w درصد بوده است.

وضعیت موش های ماده طی ۱۸ روز بارداری

در گروه های دریافت کننده عصاره الکلی و آبی در مقایسه با کنترل منفی (نرمال سالین) مشاهده شد که هرچه دوز دریافتی از عصاره ها بالاتر رود، میزان افزایش وزن طی بارداری کاهش می یابد. در گروه های دریافت کننده عصاره آبی ۲ موش

قبل پودر حاصله از تراشیدن کنسانتره خشک شده در پلیت روی بن ماری در نرمال سالین حل گردید.

ارزیابی حداکثر دوز قابل تحمل (MTD) عصاره های آبی و الکلی برگ گیاه نوروزک

با توجه به تحقیق های انجام شده، MTD برگ گیاه نوروزک ۲۸۰ mg/kg گزارش شده است [۲،۱۶]. مقادیر ۱۰ و ۳۰ درصد از MTD (۲۸ و ۸۴ mg/kg) در بررسی اثرات ترانژنیسیته عصاره آبی و الکلی برگ نوروزک به کار برده شد.

تجویز عصاره و دارو

در این تحقیق بررسی های ترانژنیک براساس پروتکل OECD-GLP انجام گردید [۱۹]. گروه اول، کنترل منفی دریافت کننده نرمال سالین با دوز ۱۰ mL/kg، گروه های دوم و سوم دریافت کننده عصاره آبی با دوزهای ۸۴ و ۲۸ mg/kg و گروه های چهارم و پنجم دریافت کننده عصاره الکلی با دوزهای ۸۴ و ۲۸ mg/kg بودند. حجم تزریق هر موش ۰/۱ تا ۰/۳ میلی لیتر بود و میزان دریافتی عصاره به صورت روزانه با اضافه وزن موش های باردار تعدیل و محاسبه می شد. عصاره ها از روز ششم تا چهاردهم بارداری به صورت تزریق روزانه داخل صفاقی تجویز می گردید.

خارج کردن جنین ها و رنگ آمیزی

با عمل سزارین در روز ۱۸ بارداری موش های باردار، لوله های رحمی همراه تخمدان خارج و وزن شدند. سپس درجنین های خارج شده از کیسه آمنیوتیک، عوامل تعداد کل، تعداد جنین های مرده و زنده، وزن و قد، تعداد باز جذب زودرس و دیررس و ناهنجاری های ظاهری مانند خونریزی کام و نظایر آن بررسی شد [۲۰،۲۱،۲۲].

برای بررسی سیستم اسکلتی و غضروفی، ابتدا جنین ها به مدت ۲۴ ساعت بعد از خروج از کیسه آمنیوتیک در استون نگهداری گردیدند، سپس پوست آن ها جدا شد. پس از قرارگرفتن در محلول رنگ شامل آلیسین بلو^۱ ۰/۰۱۵ درصد

^۱ Alizarin Red S

^۱ Alcian Blue



از گروه عصاره آبی ۱۰ درصد (در روزهای ۷ و ۹) و ۲ موش از گروه عصاره آبی ۳۰ درصد بعد از تزریق عصاره مرده بودند. در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره الکلی فقط در گروه الکلی ۱۰ درصد، ۲ موش در روزهای ۹ و ۱۱ مرده بودند که یکی از آن‌ها بلافاصله به دنبال تزریق بود (جداول شماره ۱ و ۲).

متغیرهای جنین و مادر

در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره آبی و الکلی در مقایسه با کنترل منفی مشاهده شده که میانگین وزن مادر در روز هجدهم کاهش پیدا کرده است (شکل شماره ۱) که نشان‌دهنده سمیت عصاره بر روی افزایش وزن موش‌های باردار است، به ویژه در گروه عصاره الکلی ۳۰ درصد، وزن موش‌های باردار در روز هجدهم نسبت به گروه کنترل از بقیه گروه‌ها کاهش بیشتری نشان داد ($p < 0.01$). روند افزایش وزن و قد به طور کلی رشد جنین با افزایش دوز عصاره‌های آبی و الکلی رو به کاهش داشت (شکل‌های شماره ۲، ۳ و ۴)، که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با گروه نرمال سالی‌ن دارند.

در عصاره الکلی ۱۰ درصد در یک مورد از موش‌های باردار بعد از بازکردن شکم مشاهده شد که فقط ۵ جنین در یک طرف رحم قرار دارد و طرف دیگر رحم، جنین وجود ندارد. در عصاره آبی ۳۰ درصد، در یک مورد از موش‌های باردار بعد از بازکردن شکم مشاهده شد که ۱۱ جنین داشت که یک جنین آن از لحاظ اندام‌ها کامل نشده بود اما دارای دست و پا و سر تقریباً

مشخصی بود. تعداد جنین‌های باز جذب شده در هر دو گروه دریافت‌کننده عصاره آبی و الکلی در حدی نیست که از نظر آماری بتوان آن‌را به عنوان علت تجویز عصاره در نظر گرفت. در عصاره آبی ۱۰ درصد، ۳ موش و در عصاره آبی ۳۰ درصد، ۱ موش و در عصاره الکلی ۱۰ درصد، ۱ موش دچار زایمان زودرس شدند که به همین علت در گروه‌های الکلی، به جای روز هجدهم، روز هفدهم عمل سزارین انجام شد تا از زایمان زودرس جلوگیری شود (جداول شماره ۲ و ۱).

اختلالات ظاهری و اسکلتی در جنین‌ها

گروه نرمال سالی‌ن

در این گروه ۲ درصد موارد کیست پوستی و پیچش نامناسب اندام‌ها دیده شد. از نظر بررسی ساختار اسکلتی مشکلی مشاهده نشد.

گروه جنین‌های دریافت‌کننده عصاره آبی نوروزک

با دوز ۲۸ mg/kg: ماکروفتالمی ۱/۴۲ درصد، بیرون‌زدگی روده ۲/۸۵ درصد، بیرون‌زدگی نخاع ۵۷/۱ درصد، نداشتن کانال CP ۲۸ درصد و کوتاه شدن استخوان تی‌بیا و فیولا ۲/۸۵ درصد بود.

با دوز ۸۴ mg/kg: بیرون‌زدگی نخاع ۵۹/۲ درصد، خونریزی شکمی ۱۸/۵۷ درصد، نداشتن کانال CP ۳۵/۱ درصد و پیچش نامناسب اندام‌ها ۲۰/۵۴ درصد بود.

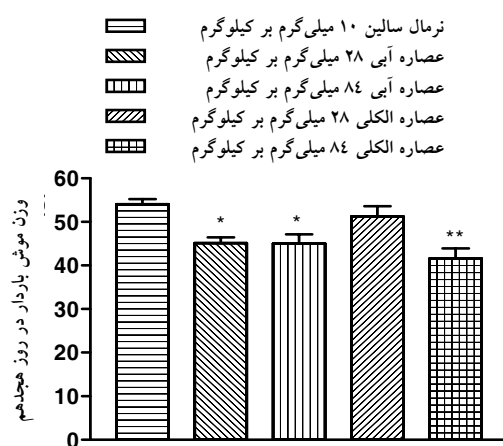
جدول شماره ۱- بررسی متغیرهای مادر و جنین که از روز ششم تا هجدهم بارداری عصاره آبی برگ نوروزک دریافت کردند.

نرمال سالی‌ن با دوز ۱۰ mL/kg	عصاره آبی با دوز ۲۸ mg/kg	عصاره آبی با دوز ۸۴ mg/kg
تعداد موش‌ها برای جفت‌گیری	۱۰	۲۸
تعداد موش‌های باردار	۷	۸
تعداد موش‌های مرده	۰	۲
تعداد موش‌های دچار زایمان زودرس	۰	۱
تعداد جنین‌های باز جذب شده	۰	۲
تعداد جنین	۸۵	۷۳
تعداد جنین مرده	۰	۱۲
تعداد جنین ماده / نر	۳۹/۴۶	۴۳/۳۷
		۵۱/۲۲

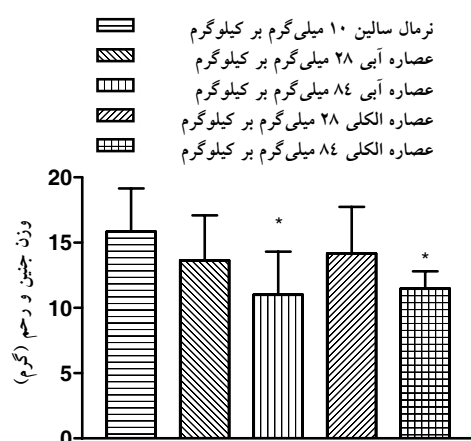


جدول شماره ۲- بررسی متغیرهای مادر و جنین که از روز ششم تا هجدهم بارداری عصاره الکلی برگ نوروک دریافت کردند.

نرمال سالین با دوز ۱۰ mL/kg	عصاره الکلی با دوز ۲۸ mg/kg	عصاره الکلی با دوز ۸۴ mg/kg	
۱۰	۲۵	۲۶	تعداد موش‌های برای جفت‌گیری
۷	۶	۸	تعداد موش‌های باردار
۰	۲	۰	تعداد موش‌های مرده
۰	۱	۰	تعداد موش‌های دچار زایمان زودرس
۰	۰	۲	تعداد جنین‌های بازجذب شده
۸۵	۷۴	۷۶	تعداد جنین
۰	۰	۰	تعداد جنین مرده
۳۹/۴۶	۲۸/۳۶	۴۲/۳۴	تعداد جنین ماده/نر

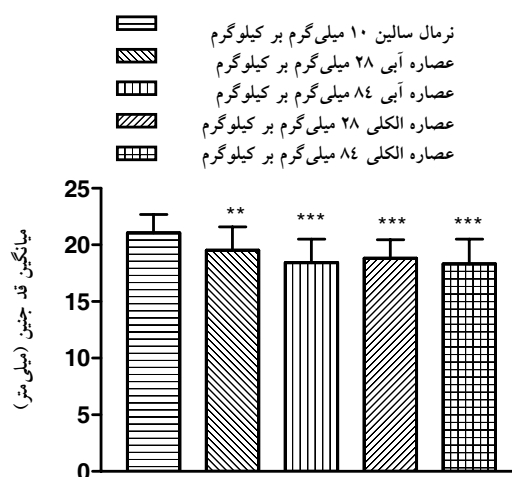


شکل شماره ۱- میانگین وزن موش باردار در روز هجدهم (گرم) $\pm$ انحراف معیار در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره آبی و الکلی برگ نوروک در مقایسه با گروه نرمال سالین ($p < 0.05$, $p < 0.01$).

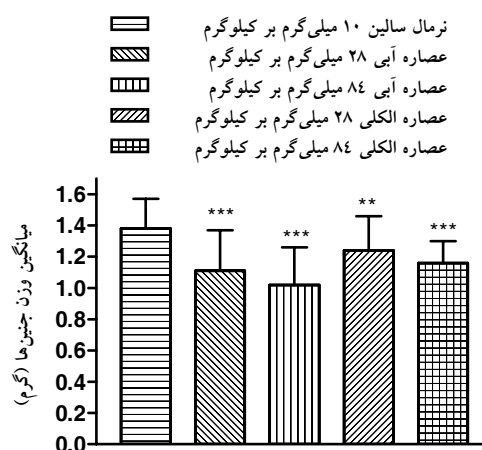


شکل شماره ۲- میانگین وزن جنین و رحم در روز هجدهم (گرم) $\pm$ انحراف معیار در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره آبی و الکلی برگ نوروک در مقایسه با گروه نرمال سالین ($p < 0.05$, Tukey Kramer test).





شکل شماره ۳- میانگین قد جنین (گرم) $\pm$ انحراف معیار در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره آبی و الکلی برگ نوروزک در مقایسه با گروه نرمال سالین (Tukey Kramer test, *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$).



شکل شماره ۴ - میانگین وزن جنین‌ها در روز هجدهم (گرم) $\pm$ انحراف معیار در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره آبی و الکلی برگ نوروزک در مقایسه با گروه نرمال سالین (Tukey Kramer test, *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$).

بحث

گروه جنین‌های دریافت‌کننده عصاره الکلی نوروزک

با دوز ۲۸ mg/kg: بیرون‌زدگی نخاع ۶۷ درصد، خونریزی شکمی ۱۲ درصد، نداشتن کانال CP ۳۲/۱ درصد و پیچش نامناسب اندام‌ها ۱۵/۲ درصد بود.

با دوز ۸۴ mg/kg: بیرون‌زدگی نخاع ۸۷ درصد، استخوانی نشدن انگشتان دست و پا ۳۲ درصد، نداشتن کانال CP ۴۸ درصد، پیچش نامناسب اندام‌ها ۲۲ درصد و خونریزی شکمی ۲۰ درصد بود.

همان‌طور که در قسمت‌های قبل اشاره شد، گیاه نوروزک دارای خواص درمانی مختلفی از جمله اثر ضد هیپرگلیسمی [۱۲]، ضد میکروبی [۱۱]، ضد التهابی و ضد درد [۹]، ضد زخم معده [۲۷]، اثرشل‌کنندگی عضلانی و آرام‌بخشی [۱] است. براساس نتایج به دست آمده در این تحقیق عصاره آبی و الکلی برگ نوروزک در دوزهای به کار رفته اثرات تراتوژن در موش ایجاد می‌کند. اکثر ناهنجاری‌ها هم در گروه دریافت‌کننده



که یکی از عوارض کاهش سروتونین کاهش اشتها است [۳۱]. بنابراین می‌توان اینگونه پیشنهاد نمود که کاهش اشتها و مشکل در دستگاه تنفسی که از عوارض این گیاه به دنبال تزریق عصاره به موش‌های باردار بوده است، باعث شده است که در روند تغذیه آن‌ها اشکال ایجاد کند و مصرف کمتر آب و غذا باعث اختلال در رشد جنین شده، لذا علت مرگ و میر موش‌ها بعد از تزریق عصاره‌ها می‌تواند به خاطر مشکلات تنفسی ایجاد گردد. تجویز بسیار بالای عصاره الکلی برگ نوروزک باعث آسیب کبدی موش و افزایش فعالیت آنزیم‌های SGOT و SGPT کبدی شده است [۱۳]. ۱ و ۸ سینثول هم‌چنین باعث هپاتوتوکسیسیته و ایمونوتوکسیسیته در فرد می‌شود و هم‌چنین روی آنزیم Cyp450 هم موثر است [۳۲] که می‌تواند بر روی ذخیره اسید فولیک در کبد، تاثیر بگذارد. بارداری نیز باعث کاهش اسید فولیک در بدن می‌شود که در نتیجه این عوامل کمبود اسید فولیک در بدن جنین ظاهر می‌شود. این کمبود از مهم‌ترین عوامل ایجاد اسپینا بیفیدا شناخته شده است که در اکثر جنین‌های دریافت‌کننده عصاره الکلی با دوز بالا تشخیص داده شد. هم‌چنین از علل اسپینا بیفیدا عدم تشکیل استخوان‌ها و رشد ناکافی قوس جسم مهره‌ای که کانال نخاعی را می‌سازد، است. احتمالاً عارضه خونریزی در بافت‌ها احتمالاً به علت عدم تکامل بافت کبدی و عوامل انعقادی کبدی با ایجاد هپاتوتوکسیسیته و اختلال در عملکرد پلاکت‌ها و هوموستاز است [۳۱].

بنابراین مصرف گیاه نوروزک با توجه به اثرات تراتوژنی که از آن در این تحقیق مشاهده شد، دردوران بارداری جای شک دارد و پیشنهاد می‌گردد این اثرات مورد بررسی وسیع‌تر با دوزهای متغیر در گونه‌های حیوانی دیگر قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این بررسی بخشی از پروژه همکاری تحقیقاتی بین دانشگاه علوم پزشکی مشهد و دانشگاه علوم پزشکی بیرجند است که توسط دفتر علوم، تحقیقات و فن‌آوری سازمان مدیریت و برنامه‌ریزی کشور حمایت مالی شده است.

عصاره آبی و هم در گروه دریافت‌کننده عصاره الکلی مشاهده شده است. احتمال می‌رود ترکیب‌هایی از برگ نوروزک که هم محلول در آب و هم محلول در الکل هستند، مسئول ایجاد ناهنجاری‌های جنین هستند. عصاره آبی و الکلی نوروزک سبب اختلال در مسیر افزایش وزن موش ماده طی بارداری می‌گردد که به عنوان یکی از عوامل نشان دهنده سمیت جنین است [۲۸]. هم‌چنین وزن رحم موش باردار به ویژه در روز هجدهم کاهش قابل ملاحظه‌ای دارد و قد و وزن جنین‌ها نیز کمتر از گروه کنترل بوده است. پس از تزریق مرگ و میر و زایمان زودرس در موش‌ها مشاهده شد که زایمان زودرس را می‌توان به اثر نوروزک بر عضلات صاف نسبت داد [۱]. در پی بررسی‌های ظاهری سیستم اسکلتی مشاهده شده که جنین‌ها دچار برخی اختلالات از جمله اسپینا بیفیدا، خونریزی‌های شکمی، پیچش نامناسب دست و پا و استخوانی نشدن دست و پا در هر دو گروه بودند و میزان این ناهنجاری‌ها به صورت وابسته به دوز افزایش می‌یافت. احتمالاً ترکیب‌های نوروزک قابلیت اتصال به موکوپلی ساکاریدهای غضروف را دارند و با تغییر در ساختار موکوپلی ساکاریدها باعث اختلال در ظاهر غضروف‌ها می‌شوند [۲۸]. تعیین اینکه چه موادی و با چه مکانیسمی سبب بروز ناهنجاری شده و تراتوژن هستند به طور دقیق ممکن نیست و نیاز به جداسازی و خالص‌سازی اجزا تشکیل‌دهنده عصاره‌ها دارد و باتوجه به این‌که در مورد آنالیز ترکیب‌های گیاه نوروزک تحقیقات زیادی انجام نشده است، نمی‌توان دقیقاً نسبت به ماده موثره دخیل در این اعمال نظر داد.

ترکیب‌های عمده عصاره‌های آبی و الکلی آلفا و بتا پینن، ۱ و ۸ سینثول و آلفا کادینول است [۲۹]. آلفا و بتا پینن انانتیومر هستند و علاوه بر این‌که از لحاظ ساختمانی با هم متفاوتند، مشکلاتی که هر دو ایجاد می‌کنند مشابه هم است [۲۸]. پینن با تحریک عصب تری ژمینال ایجاد اثرات آرام‌بخش می‌کند، لیکن در کنار این اثر آرام‌بخش باعث تحریک اعصاب ریه هم می‌شود و مقاومت راه‌های هوایی بیشتر شده، شخص احساس تنگی نفس و ناراحتی در راه‌های هوایی و گلو می‌کند [۳۰]. هم‌چنین ۱ و ۸ سینثول باعث کاهش سروتونین می‌شود



1. Hosseinzadeh H and Hassanzadeh AR. Muscle relaxant and hypnotic effects of *Salvia leriifolia* Benth. Leaves extract in mice. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2001; 4: 130 – 8.
2. Hosseinzadeh H and Imanshahidi M. Effects of *Salvia leriifolia* Benth. aqueous and ethanolic leaf and seed extract on survival time of hypoxic mice. *Iran J. Basic Med. Sci.* 1999; 2: 75 - 81.
3. Rustaiyan A, Masoudi S, Yari M, Rabbani M, Motiefar HR and Larijani K. Essential oil of *Salvia leriifolia* Benth. *J. Essent Oil Res.* 2000; 12: 601 - 2.
4. Habibi Z and Rustaiyan A. Phytochemical evaluation of *Salvia leriifolia* Benth. 13 th Iranian Chemistry and Chemical Engineering Congress. 1998, 25 - 8.
5. Khooei AR, Hosseinzadeh H and Imanshahidi M. Pathologic evaluation of anti-ischemic effect of *Salvia leriifolia* Benth. Seed and leaf extracts in rats after global cerebral ischemia. *Iran J. Basic Med Sci.* 2003; 5: 200 - 5.
6. Hosseinzadeh H and Imanshahidi M. Effect of *Salvia leriifolia* Benth. aqueous and ethanolic leaf and seed extracts on surviving time of hypoxic mice. *Iran J Basic Med Sci.* 1999; 2: 75 - 81.
7. Hosseinzadeh H and Lari P. Effect of *Salvia leriifolia* extract on morphine dependence in mice. *Phytother Res.* 2000; 14: 384 - 7.
8. Hosseinzadeh H and Yavary M. Anti-inflammatory effect of *Salvia leriifolia* Benth. leaf extract in mice and rats. *Pharm Pharmacol. Lett.* 1999; 2: 60 - 1.
9. Hosseinzadeh H, Haddadkhodaparast MH and Arash A. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Salvia leriifolia* Benth. seed extract in mice and rats. *Phytother. Res.* 2003; 17: 422 - 5.
10. Fazly-Bazzaz BS and Izadyar AR. Antimutagenic activity of different fractions of *Salvia leriifolia* extract. *Iran J Basic Med Sci.* 2002; 4: 241 - 50.
11. Habibi Z, Eftekhari F, Samiee K and Rustaiyan A. Structure and antibacterial activity of a new labdane diterpenoid from *S. leriifolia*. *J Nat Prod.* 2000; 63: 270 - 1.
12. Hosseinzadeh H, Haddad Khodaparast MH and Shokoohizadeh H. Antihyperglycemic activity of *Salvia leriifolia* Benth. Leaf and seed extracts in mice. *Iran J. Basic Med. Sci.* 1998; 4 - 3: 94 - 8.
13. Hosseinzadeh H and Eghbal A. Effect of *Salvia leriifolia* leaves extract on liver transaminases in mice. *Iran J Basic Med Sci.* 2002; 4: 207 - 14.
14. Hosseinzadeh H and Arabsanavi J. Anticonvulsant effect of *Salvia leriifolia* Benth. Seed and leaf extracts in mice. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2001; 3: 163 - 70.
15. Hosseinzadeh H, Haddad Khodaparast MH and Hosseini E. Anti-inflammatory effect of *Salvia leriifolia* Benth. leaf extract in mice and rats. *Pharm Pharmacol Lett.* 2000; 2: 63 - 4.
16. Hosseinzadeh H and Hassanzadeh AR. Muscle relaxant and hypnotic effects of *Salvia leriifolia* Benth. leaves extract in mice. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2001; 4: 130 - 8.
17. Wu MY, Chen SU, Chao KH, Chen CD, Yang YS and Ho HN. Mouse embryo toxicity of IL-6 in peritoneal fluids from women with or without endometriosis, *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2001; 80: 7 - 11.
18. York RG, Brown WR, Girard MF and Dollarhide JS. Oral (drinking water) developmental toxicity study of ammonium perchlorate in New Zealand white rabbits, *Int. J. Toxicol.* 2001; 20: 199 - 205.
19. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) Codes of Good Laboratory Practice (GLP). May 1982, Doc C (81) 30 (Final) Annex2.
20. Driscoll CD, Valentine R, Staples RE, Chromey NC and Kennedy GL. Developmental toxicity of diglyme by inhalation in the rat, *Drug Chem. Toxicol.* 1998; 21: 119 - 36.



21. Fujinaga M, Schulte M and Holodniy M. Assessment of developmental toxicity of antiretroviral drugs using a rat whole embryo culture system, *Teratology* 2000; 62: 108 - 14.
22. Karen M, Richard M. Handbook of toxicology, 2nd edition, CRC press, 2002, 498 - 509.
23. Andrews JE, Ebron - McCoy M, Schmid JE and Svendsgaard D. Effects of combinations of methanol and formic acid on rat embryos in culture, *Teratology* 1998; 58: 54 - 61.
24. Bernard B K and Hoberman AM. A study of the developmental toxicity potential of pentachlorophenol in the rat, *Int. J. Toxicol.* 2001; 20: 353 - 62.
25. Ilgaz C, Kocabiyik H, Erdogan D, Ozogul C, Peker T. Double staining of skeleton using microwave irradiation, *Biotechnic & Histochem.* 1999; 74: 57 - 63.
26. Kim BKL and Ramsdell JS. The red tide toxin, brevetoxin, induces embryo toxicity and developmental abnormalities, *Environ. Health Perspect.* 2001; 109: 377 - 81.
27. Hosseinzadeh H, Haddad khodaparast MH and Hosseini E. Anti-ulcer effect of *Salvia leriifolia* Benth. Leaf extracts in mice, *Pharm. Pharmacol. Lett.* 2000; 2: 63 - 64.
28. Keating A and Chez R. Ginger syrup as an antiemetic in early pregnancy, *Altern. Ther. Health Med.* 2002; 8: 89 - 91.
29. Rustaiyan AH, Masoudi S, Yari M, Rabbani M, Motiefar HR and Larijani K. Essential oil of *Salvia leriifolia* Benth. *J. Essent. Oil Res.* 2000; 12: 601-2.
30. Filipsson AF. Short term inhalation exposure to rurpentine: toxicokinetics acute effects in men. *Occup. Environ. Med.* 1996; 53: 100 - 5.
31. Lima CF, Carvalno F, Fernandes E, Bastos MLS and Santos-Gomes PC. Evaluation of toxic/protective effects of the essential oil of *Salvia officinalis* on freshly isolated rat hepatocytes. *Toxicol.* 2004; 18: 457 - 65.
32. Mirkes PE. Hyperthermia, heat shock proteins and developmental toxicity. In: Sipes IG, Mcqueen CA and Gandolfi AJ. *Comprehensive Toxicology. Vol 10.* Pergamon Press, London. 1997. pp: 597 - 604.

