

## *Subacute and subchronic toxicity effects of the Stachys lavandulifolia water extract in rat*

Mohammad Shokrzadeh<sup>1</sup>,  
Razieh Keshavarz-Maleki<sup>2</sup>,  
Hamed Haghi-Aminjan<sup>2</sup>,  
Somayeh Masoumi<sup>2</sup>,  
Jamshid Yazdani-Charati<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Associate Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center AND Department of Toxicology, School of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup> MSc, Pharmaceutical Sciences Research Center AND Department of Toxicology, School of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup> Associate Professor, Department of Biostatistics, Health Sciences Research Center, School of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received May 18, 2013; Accepted September 1, 2013)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Therapeutic effects of *Stachys lavandulifolia* include anxiolytic effects; also, it has beneficial effects in rheumatic diseases, genital tumors and cancerous ulcers but it showed adverse effects on liver and kidney. We investigated the subacute and subchronic toxic effect of *Stachys lavandulifolia* water extract in rat.

**Materials and methods:** The animals were randomly divided into four groups as cases and one group as control respectively received doses of 50, 100, 150 and 200 mg/kg of the water extract and normal saline, intraperitoneally, daily, for 14 days. At 8<sup>th</sup> and 15<sup>th</sup> days, the serum levels of alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), glutathione (GSH), creatinine (Cr), and blood urea nitrogen (BUN) were evaluated in different groups.

**Results:** On the subacute study, there was significant increase of AST and ALT levels at dose of 100 mg/kg, BUN level at doses of 100 and 200 mg/kg, GSH level at all doses except the dose of 150 mg/kg compared to the control group ( $P < 0.05$  for all). On the subchronic administration, only the AST level significantly increased at the dose of 200 mg/kg compared to the control group ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** *Stachys lavandulifolia* extract caused severe toxic effects on the liver and weaker toxic effects on the kidney; therefore, it should be used warily in the public.

**Keywords:** *Stachys lavandulifolia*, subacute toxicity, subchronic toxicity, water extract

# ارزیابی سمیت تحت حاد و تحت مزمن عصاره آبی چای کوهی

## بر موش صحرایی

محمد شکرزاده<sup>۱</sup>

راضیه کشاورز ملکی<sup>۲</sup>

حامد حقی امین جان<sup>۲</sup>

سمیه معصومی<sup>۲</sup>

جمشید یزدانی چراتی<sup>۳</sup>

## چکیده

**سابقه و هدف:** گیاه چای کوهی (*Stachys lavandulifolia vahl*) به سبب اثرات درمانی مختلف از جمله اثرات ضد اضطراب، در بیماری‌های روماتیسمی، تومورهای ژنیتال و زخم‌های سرطانی مفید است و دارای اثرات جانبی بر کبد و کلیه است. هدف مطالعه حاضر، ارزیابی اثرات سمی عصاره آبی چای کوهی بر موش‌های صحرایی در مدل‌های تحت حاد و تحت مزمن بود.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۳۰ موش صحرایی در ۵ گروه شامل یک گروه شاهد و چهار گروه مورد، برای ۱۴ روز به ترتیب تحت تزریق داخل صفاقی (IP یا Intra protaneal) نرمال سالین و عصاره آبی گیاه چای کوهی با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قرار گرفتند. در روز ۸ مطالعه، از هر گروه ۳ سر به منظور مطالعه تحت حاد و در روز ۱۵، ۳ سر دیگر به منظور مطالعه تحت مزمن از نظر سطح خونی ALT (Alanine transaminase)، AST (Aspartate aminotransferase)، GSH (Glutathione)، ALP (Alkaline phosphatase) Cr (Creatinine) و BUN (Blood urea nitrogen) بررسی و با هم مقایسه شدند.

**یافته‌ها:** در مطالعه تحت حاد ALT و AST در دوز ۱۰۰ mg/kg BUN در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg در همه دوزها به جز دوز ۱۵۰ mg/kg با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند ( $P < 0/05$ ) برای همه موارد. در مطالعه تحت مزمن فقط AST در دوز ۲۰۰ mg/kg با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ( $P < 0/05$ ).

**استنتاج:** عصاره آبی چای کوهی اثرات توکسیک شدید بر کبد و اثرات توکسیک ضعیف‌تر بر کلیه‌ها دارد و لازم است مصرف این گیاه در بین عموم با احتیاط صورت گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** چای کوهی، سمیت تحت حاد، سمیت تحت مزمن، عصاره آبی

## مقدمه

کرکدار و خزی دارد. گل‌های معطر آن به صورت سنبله‌ای از گل‌های ریز صورتی مایل به سرخ‌رنگ در میان کاسبرگ‌هایی با رنگ سبز روشن نقره‌ای و به صورت فشرده و پشم‌گونه در قسمت انتهایی ساقه قرار می‌گیرند (۶). ترکیبات فعال این گیاه شامل فنیل اتانوئید، تریپنوئید و فلاونوئید می‌باشد (۷). از ترکیبات دیگر این گیاه می‌توان به میرسن

سرد (Stachys) از خانواده نعنائیان حدود ۴۵۰ گونه در جهان دارد (۱) که بیش از ۳۴ گونه آن در بسیاری از بخش‌های ایران، عراق و ترکیه رشد می‌کنند (۲-۴). چای کوهی (*Stachys lavandulifolia vahl*) یکی از گونه‌های سرد به شمار می‌رود (۵). این گیاه علفی، بوته‌های کوتاه و ساقه‌های

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۹۱-۱۹۹ مصوب دانشگاه علوم پزشکی مازندران می‌باشد.

**مؤلف مسئول:** راضیه کشاورز ملکی - ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، مرکز تحقیقات داروسازی، دانشکده داروسازی، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی. E-mail: razieh.keshavarz.m@gmail.com

۱. دانشیار، مرکز تحقیقات علوم دارویی و گروه سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات علوم دارویی و گروه سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشیار، گروه آمار زیستی، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۲/۲۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۲/۳/۲۸ تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۶/۱۰

قوی است که به طور طبیعی در کبد انسان بر اثر ترکیب سه آمینو اسید سیستین، اسید گلوتامیک و گلیسین به وجود می آید و باعث محافظت اجزای مهم سلولی در برابر گروه‌های عاملی اکسیژن‌دار مانند رادیکال‌های آزاد و پراکسیدها می‌شود. ترکیبات سمی دارای رادیکال آزاد، به طور معمول با GSH ترکیب و از بدن خارج می‌شوند.

با توجه به این که گیاه چای کوهی به طور گسترده توسط مردم برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود و تاکنون سمیت کبدی و کلیوی عصاره آبی این گیاه در مصرف کنندگان بررسی نشده است، هدف مطالعه حاضر ارزیابی اثرات سمی عصاره آبی چای کوهی بر موش‌های صحرایی در مدل‌های تحت حاد و تحت مزمن بود.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه گیاه چای کوهی از عطاری تهیه شد و توسط متخصص مربوط مورد تأیید قرار گرفت. گیاه بعد از گذراندن مراحل خشک شدن در سایه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، توسط آسیاب برقی به صورت پودر در آمد تا سطح تماس بیشتری با حلال مربوط داشته باشد. عصاره‌گیری به روش سوکسیلاسیون انجام شد. جهت عصاره‌گیری برای عصاره آبی از حلال آبی استفاده گردید. بعد از ۴۸ ساعت، عصاره مورد نظر توسط دستگاه تقطیر در خلأ (Rotary evaporator) تغلیظ گردید و به مدت ۴۸ ساعت در دستگاه فریز درایر قرار گرفت (۱۴).

۳۰ موش صحرایی در محدوده وزنی  $170 \pm 5$  g به طور تصادفی در ۵ گروه - شامل یک گروه شاهد و چهار گروه مورد- تقسیم شدند که در هر گروه، ۶ موش قرار گرفت. تعداد نمونه‌ها بیش از ۳ موش انتخاب شد تا میانگین و انحراف معیار با دقت بیشتری محاسبه شود.

حیوانات در حیوان‌خانه دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران تحت شرایط طبیعی (تاریکی و روشنایی) و تغذیه معمولی در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند. از روز ۱ تا ۱۴ مطالعه، عصاره آبی با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰،

(۲۰ درصد)، آلفا- پی‌نن (۱۸ درصد)، گاما-مورولن (۱۳/۲ درصد)، انگول (۷ درصد) اشاره کرد (۸). از اثرات گیاه چای کوهی که در فرهنگ دارویی سنتی منتشر شده است، می‌توان اثرات ضد اضطراب، ضد افسردگی، تحریک اشتها و کاهش درد را ذکر کرد (۹).

تحقیقات مختلف، اثرات ضد اضطراب چای کوهی را وابسته به ترکیبات فینیل پروپانوئید، تریپنوئید، فلاونوئید و اثرات ضد میکروبی علیه استرپتوکوک سانگویی را وابسته به ترکیب فلاونوئیدی بخش‌های هوایی این گیاه پیشنهاد می‌کنند (۶). همچنین این گیاه در درمان عفونت، آسم، بیماری‌های روماتیسمی، تومورهای ژنیتال، زخم‌های سرطانی و التهاب، کاربرد دارد و اثرات ضد اسپاسمی را در دوره قاعدگی بانوان نشان می‌دهد (۶).

کبد یکی از اندام‌های مهم در جذب، متابولیسم و دفع داروها و سموم می‌باشد و همواره از این نظر، مورد توجه قرار می‌گیرد. عمل سم‌زدایی و فعال‌سازی متابولیت‌ها توسط آنزیم‌های میکروزومال سیتوکروم P450 کبد صورت می‌گیرد که می‌توانند متابولیت‌های سمی را تولید کنند که سبب آسیب بافت‌های مختلف از جمله کبد می‌شوند (۱۰). ALT (Alanine transaminase)، AST (Aspartate aminotransferase) و ALP (Alkaline phosphatase) به طور طبیعی در داخل سیتوزول قرار دارند و در مواردی که سلول دچار آسیب شود، به جریان خون آزاد می‌شوند و بهترین شاخص برای مطالعه آسیب‌های کبدی، افزایش فعالیت این آنزیم‌های کبدی است (۱۱، ۱۲).

کلیه‌ها، مهم‌ترین عضو دفعی بدن می‌باشند که مسؤول دفع بسیاری از ترکیبات اگزوزن (داروها و سموم) و ترکیبات اندوزن (اوره، اسید اوریک و کراتین) هستند. از رایج‌ترین نشانه‌های آزمایشگاهی برای بررسی عملکرد کلیه، میزان کراتین و BUN (Blood urea nitrogen) سرمی است که اختلال در عملکرد کلیه منجر به افزایش سطح خونی کراتین، BUN و بسیاری از داروها می‌شود (۱۳). GSH (Glutathione) ترکیب پروتئینی کوچک و آنتی‌اکسیدانی

بافر تریس ۰/۴ مولار (pH = ۸/۹) و ۰/۵ میلی لیتر داخل صفاقی به چهار گروه مورد (هر غلظت به یک گروه) تزریق گردید. در طی این مدت، به گروه شاهد، نرمال سالین نیز تزریق شد (۱۴).

در روز ۸ مطالعه از هر گروه ۶ سرموش، ۳ سر به منظور مطالعه تحت حاد و روز ۱۵ مطالعه، ۳ سر دیگر به منظور مطالعه تحت مزمن با رعایت اصول اخلاقی و با شرایط بی‌هوشی کامل با اتر قرار گرفتند و مقدار ۲ میلی لیتر از قلب حیوان خون‌گیری جهت اندازه‌گیری سطح کراتینین (Cr)، BUN و آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالن فسفاتاز (ALP) با روش کیت آنزیمی شرکت پارس آزمون انجام شد. برای اندازه‌گیری گلو تاتیون (GSH) احیا نیز از روش Elman استفاده شد.

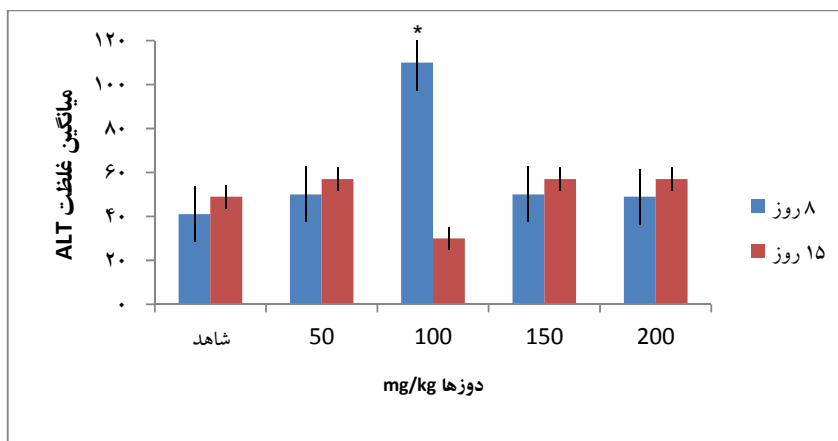
بدین منظور، ۰/۱ گرم از کبد موش را به لوله هموژنایزر منتقل و ۱ میلی لیتر EDTA به آن افزوده شد و چند بار عمل هموژن کردن صورت گرفت تا مخلوط یکنواختی به دست آمد. سپس محتویات آن به لوله سانتریفیوژ منتقل و ۰/۵ میلی لیتر دیگر EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) به آن اضافه شد. در مرحله بعد، به لوله سانتریفیوژ ۱/۵ میلی لیتر TCA (Trichloroacetic acid) با خلوص ۱۰ درصد اضافه شد. سپس لوله‌ها در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ به لوله دیگر منتقل گردید و به آن ۲/۵ میلی لیتر

داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ (version 18, SPSS Inc., Chicago, IL) به صورت میانگین و انحراف معیار توصیف شدند و با استفاده از آزمون‌های one-way ANOVA و t تحلیل گردید و  $P < ۰/۰۵$  به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

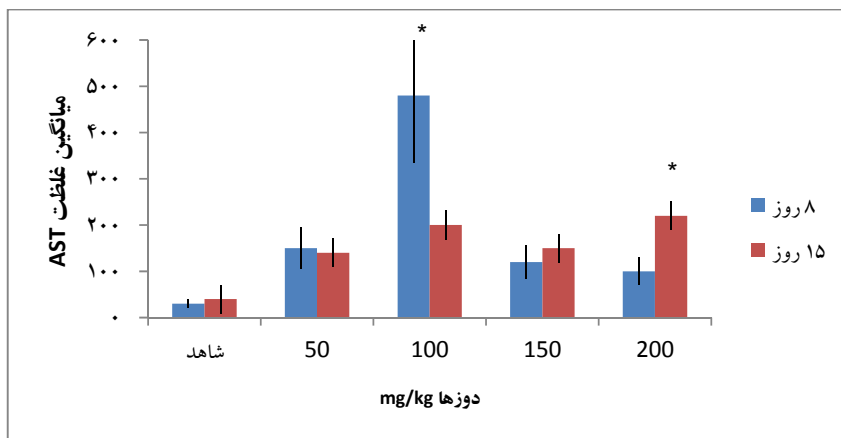
## یافته‌ها

### الف: مطالعه تحت حاد

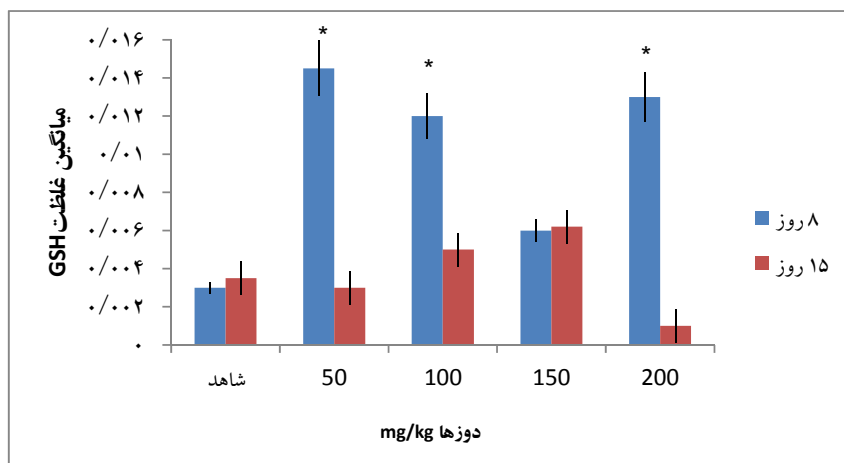
میانگین میزان ALT و AST در دوز ۱۰۰ mg/kg، BUN در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ و GSH در همه دوزها به جز دوز ۱۵۰ mg/kg با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند ( $P < ۰/۰۵$ ). این اختلاف در نمودارهای شماره ۱، ۲، ۳ و ۴ نشان داده شده است. Cr و ALP در هیچ کدام از دوزها با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند که نمودارهای شماره ۵ و ۶ بیانگر آن است.



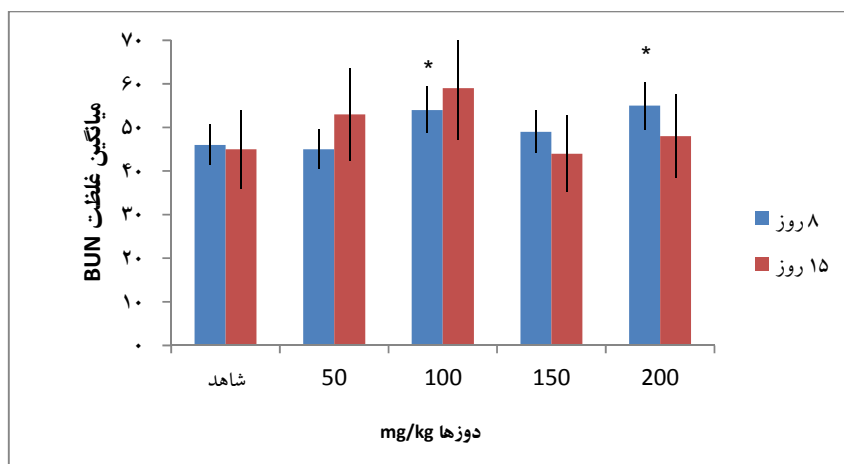
نمودار شماره ۱: مقایسه میانگین ALT (Alanine transaminase) در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده عصاره چای کوهی در روزهای هشتم و پانزدهم مطالعه



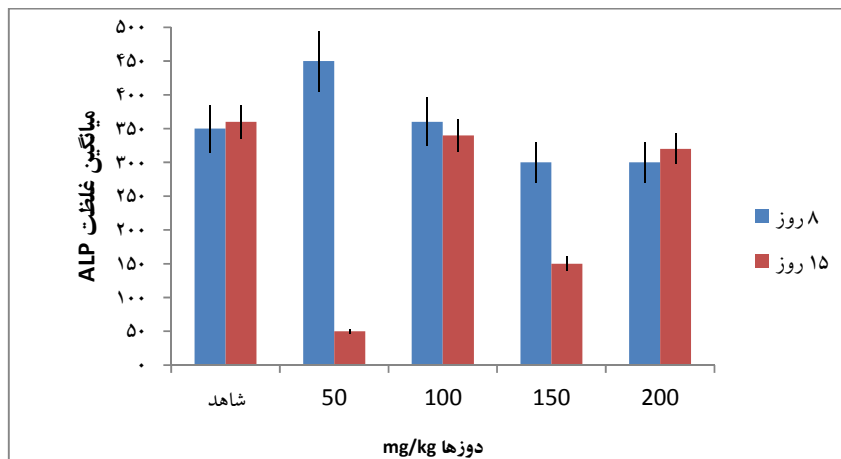
نمودار شماره ۲: مقایسه میانگین AST (Aspartate aminotransferase) در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده عصاره چای کوهی در روزهای هشتم و پانزدهم مطالعه



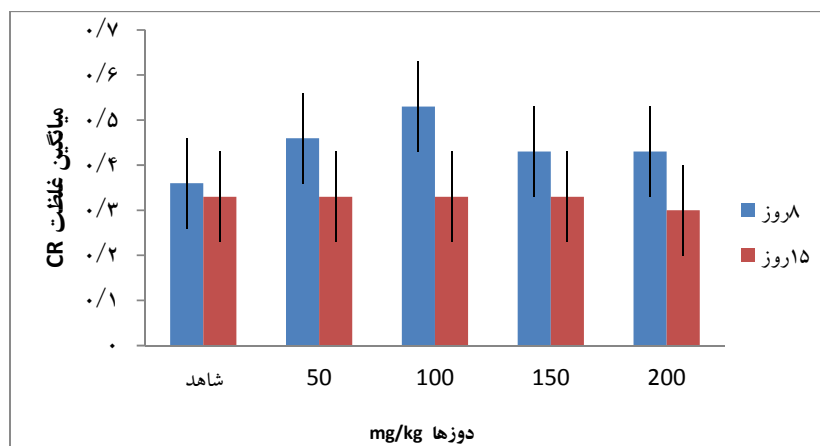
نمودار شماره ۳: مقایسه میانگین GSH (Glutathione) در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده عصاره چای کوهی در روزهای هشتم و پانزدهم مطالعه



نمودار شماره ۴: مقایسه میانگین BUN (Blood urea nitrogen) در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده عصاره چای کوهی در روزهای هشتم و پانزدهم مطالعه



نمودار شماره ۵: مقایسه میانگین ALP (Alkaline phosphatase) در موش‌های صحرائی دریافت کننده عصاره جای کوهی در روزهای هشتم و پانزدهم مطالعه



نمودار شماره ۶: مقایسه میانگین Cr (Creatinine) در موش‌های صحرائی دریافت کننده عصاره جای کوهی در روزهای هشتم و پانزدهم مطالعه

عوارض جانبی کمتر، قیمت ارزان و اثرات سمی اندک به عنوان جایگزین داروهای شیمیایی مورد توجه قرار می‌گیرند. گیاه جای کوهی به سبب اثرات درمانی گسترده و مطالعات کم در زمینه اثرات توکسیک بیشتر مورد توجه محققان است. مطالعه انجام شده توسط جعفرزاده و همکاران در مورد اثر عصاره هیدروالکلی جای کوهی در ایجاد سقط در موش‌های سوری نشان داده است که عصاره هیدروالکلی این گیاه دارای خواص سقط آور می‌باشد و اثرات سقطزایی آن وابسته به دوز است که مکانیسم احتمالی آن بررسی نشده است (۶). در مطالعه ارزیابی سمیت حاد و تحت مزمن عصاره هیدروالکلی جای کوهی در موش سوری توسط منجی و همکاران بیان شد

ب: مطالعه تحت مزمن

فقط میانگین میزان AST در دوز ۲۰۰ mg/kg با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ( $P < 0/05$ ). این اختلاف در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است.

از نظر تغییر فاکتورهای بیوشیمیایی هم در مطالعه تحت حاد و هم در مطالعه تحت مزمن، گروه‌های چهارگانه دریافت کننده عصاره در مقایسه با یکدیگر (به جز در مورد ALP)، هیچ کدام با دیگری اختلاف معنی‌دار نداشتند ( $P > 0/05$ ).

## بحث

گیاهان دارویی به طور معمول به دلیل دسترسی آسان،

که این عصاره در دوزهای بالاتر از 70 mg/kg به عنوان NOAEL (No observed adverse effect level) در نظر گرفته می‌شود و برای استفاده کوتاه مدت، ایمن و بدون بروز علائم سمی است (۱۶).

در مطالعه تحت حاد (روز هشتم) AST و ALT در دوز 100 mg/kg نسبت به گروه شاهد افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان داد که این افزایش می‌تواند به سبب صدمه به سلول‌های کبدی و سیروز کبدی باشد. BUN در دوزهای 100 و 200 mg/kg افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت که این افزایش ممکن است به علت اختلالات گلوامرولی کلیه، نقص در فیلتراسیون گلوامرولی، یا اختلال در میزان بازجذب توبولی اوره توسط کلیه‌ها باشد. در مطالعه تقی‌خانی و همکاران در بررسی سمیت کلیوی عصاره هیدروالکلی گیاه چای کوهی بر موش صحرایی، سمیت توبولی کلیوی این گیاه حتی در صورت عدم ادامه مصرف عصاره، عنوان شد (۱۷).

GSH در تمامی دوزها (به جز دوز 150 mg/kg) با گروه شاهد افزایش قابل توجهی داشت که می‌توان آن را به خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه چای کوهی نسبت داد. ترکیبات پلی‌فنلی به خصوص فلاونوئیدها خواص آنتی‌اکسیدانی دارند و می‌توانند سلول را در برابر تخلیه گلوکاتایون احیا و سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدان گلوکاتایون شوند و بدین جهت، کبد را در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت نمایند (۱۸).

در مطالعه تحت مزمن (روز پانزدهم) فقط AST در دوز 200 mg/kg افزایش معنی‌داری با گروه شاهد داشت که نشان می‌دهد اثرات توکسیک این عصاره بر روی کبد، بعد از تزریق چهارده روز همچنان ادامه دارد.

افزایش عوامل بیوشیمیایی در طی چهارده روز، وابسته به افزایش دوز عصاره نبود؛ این نتایج در نمودارهای شماره ۱ تا ۶ نشان داده شده است.

ALT در دوز 50 mg/kg، AST در دوز 200 mg/kg و ALP در دوزهای 150 و 200 mg/kg در روز پانزدهم نسبت به روز هشتم افزایش قابل توجهی داشتند که می‌توان آن را به ادامه تزریق روزانه عصاره به موش‌های صحرایی و شدت یافتن

اثرات توکسیک این عصاره بر روی سلول‌های اپی‌تلیال مجاری صفراوی و غشای کانالیکولی هپاتوسیت‌ها نسبت داد و می‌توان بیان کرد که دوزهای بالاتر، سریع‌تر و دوزهای پایین‌تر، کندتر اثرات توکسیک خود را به جا می‌گذارند.

ALT در دوز 100 mg/kg در روز پانزدهم نسبت به روز هشتم کاهش قابل توجهی داشت که می‌توان شروع سمیت و ضایعات را بعد از دوز 100 mg/kg در نظر گرفت.

Cr در دوزهای 50 و 100 mg/kg در دوز 200 mg/kg در روز پانزدهم نسبت به روز هشتم کاهش یافتند که می‌توان بیان کرد عصاره آبی، اثرات توکسیک شدیدی بر کلیه‌ها ندارد.

در مطالعه تحت مزمن، اختلاف معنی‌داری بین GSH گروه مورد و گروه شاهد دیده نشد و GSH در دوز 50 mg/kg در روز پانزدهم نسبت به روز هشتم مطالعه کاهش معنی‌دار یافت. می‌توان بیان کرد که با ادامه تزریق عصاره افزایش دوز آن، گیاه چای کوهی با وجود دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی، نمی‌تواند با اثرات توکسیک خود عصاره چای کوهی که ایجاد سمیت کبدی می‌کند، مقابله کند.

گوهری و همکاران در مطالعه گونه‌ای از چای کوهی (*Stachys byzanthina*) عنوان کردند که عصاره‌های هگزانی، اتیل‌استانی و متانولی این گونه، دارای اثرات سیتوتوکسیک می‌باشد که عصاره متانولی آن اثرات قوی‌تری نسبت به سایر عصاره‌ها دارد (۱۹).

تقی‌خانی و همکاران در بررسی اثرات سمیت کبدی عصاره هیدروالکلی چای کوهی در موش صحرایی بیان کردند که این عصاره دارای اثرات توکسیک می‌باشد و لازم است مصرف این گیاه به ویژه در افراد دارای بیماری کلستاتیک با احتیاط صورت پذیرد (۱۴).

یکی از ترکیبات چای کوهی، ترپنوئید است. گوهری و همکاران طی مطالعه بر ساتوریا (مرزه یا *Macrantha*) متعلق به خانواده نعنائیان، اثرات توکسیک آن را ناشی از ترکیبات ترپنوئیدی و به خصوص تری‌ترین‌ها عنوان کردند (۲۰). به همین دلیل، احتمال می‌رود یکی از عوامل سمیت عصاره

توجه بر کبد و اثرات توکسیک ضعیف تر بر کلیه است که احتمال می رود در دوزهای کمتر از ۵۰ mg/kg دارای اثرات ایمن تری باشد و نیز امکان دارد اثرات توکسیک خاصی دیده نشود که جهت بررسی این موضوع، مطالعه بیشتر در این زمینه لازم است تا قابلیت تعمیم داده‌ها به جامعه انسانی بیشتر گردد.

موجود، ترکیبات ترینوئیدی باشد. همچنین فلاونوئیدها ممکن است دارای اثرات سیتوتوکسیک باشند که به طور معمول در غلظت‌های پایین تر بیشتر بروز می کند (۲۱، ۱۴).

نتایج این مطالعه پیشنهاد می کند که عصاره آبی چای کوهی در دوزهای مورد مطالعه، دارای اثرات توکسیک قابل

## References

- Rencuzogullari E, Yildiz AM, Buyukleyla M. The genotoxic and anti-genotoxic effects of *Stachys petrokosmos* leaf extract in human lymphocytes using microsomal fractions. *Cytotechnology* 2012; 64(1): 83-94.
- Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plant names. Tehran, Iran: Farhang Moaser Publisher; 1996. (Persian).
- Rechinger KH. Labiatae. In: Rechinger KH, editor. *Flora Iranica*. Graz, Austria: Akademische Druck- u. Verlagsanstalt; 1982. p. 354-95.
- Basaran AA, Calis I, Anklin C, Nishibe S, Sticher O. Lavandulifolioside: A New Phenylpropanoid Glycoside from *Stachys lavandulifolia*. *Helvetica Chimica Acta* 1988; 71(6): 1483-90.
- Amin GH. *Popular Medicinal Plants of Iran*. Tehran, Iran: Ministry of Health and Medical Education Publication; 1991.
- Jafarzadeh L, Rafieian-Kopaei M, Ansari Samani R, Asgari A. The effect of hydroalcoholic extract of *stachys lavandulifolia* vahl on pregnant mice. *EXCLI Journal* 2012; 11: 357-62.
- 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; 10(16): 2784-6.
- Babakhanlo P, Mirzaei M, Sefidkon F, Ahmadi L, Barazaneh MM, Asgari F. *Flor of Iran*. 1<sup>st</sup> ed. Tehran, Iran: Ministry of Jihad-e-Agriculture; 1998. p. 64-82. (Persian).
- Ramezani M, Hassanzadeh MK, Safdarabadi DM. Volatile constituents of *Stachys lavandulifolia* Vahl. growing in Iran. *ACGC Chemical Research Communication* 2002; 15: 20-4.
- Mitra SK, Venkataranganna MV, Sundaram R, Gopumadhavan S. Protective effect of HD-03, a herbal formulation, against various hepatotoxic agents in rats. *J Ethnopharmacol* 1998; 63(3): 181-6.
- Sallie R, Tredger JM, Williams R. *Drugs and the liver*. Part 1: Testing liver function. *Biopharm Drug Dispos* 1991; 12(4): 251-9.
- Androli TE, Carpenter C, Griggs R, Benjamin I. *Diseases of the Liver and Biliary System*. In: Andreoli TE, Benjamin I, Griggs RC, Wing EJ, Fitz G, editors. *Andreoli and Carpenter's Cecil Essentials of Medicine*. Philadelphia, PA: Elsevier Health Sciences; 2007.
- Commandeur JN, Vermeulen NP. Molecular and biochemical mechanisms of chemically induced nephrotoxicity: a review. *Chem Res Toxicol* 1990; 3(3): 171-94.
- Taghikhani A, Ansarisamani R, Afrogh H, Shahinfard N, Ganji F, Asgari A, et al. The Hepatotoxic Effects of *Stachys Lavandulifolia* Vahl on Wistar Rat. *J Mazand Univ Med Sci* 2012; 22(88): 81-7. (Persian).
- Shokrzade Lamoki M, Pakravan N, Sheikholeslamian S. The protective effect of N-acetyl cysteine on glutathione levels and serum cholinesterase in acute poisoning of diazinon, in mice. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2013; 22(2): 2-121. (Persian).
- Monji F, Hossein TH, Halvaei Z, Arbabi BS. Acute and subchronic toxicity assessment of the hydroalcoholic extract of *Stachys lavandulifolia* in mice. *Acta Med Iran* 2011; 49(12): 769-75.
- Taghikhani M, Nasri H, Asgari A, Afrough H, Namjoo AR. The renal toxicity of hydroalcoholic extract of *Stachys lava ndulifolia* Vahl in Wistar rats. *Life Sci J* 2012; 9(4): 3025-31. (Persian).
- Madani SH, Taleb Alhosseini M, Asgari S, Naderi GA. Hepatoprotective effects of *silybum marianum* and *calendula officinalis* polyphenolic extracts in rat. *Iranian Journal of Biology* 2006; 19(2): 157-63. (Persian).
- Gouhari AR, Saeidnia S, Gouhari MR, Moradi Afrapoli F, Malmir M, Yazdanpanah M, et al. Brine shrimp cytotoxicity of some medicinal plants belongs to lamiaceae, asteraceae, rosaceae and boraginaceae families. *Journal of Medicinal Plants* 2009; 8(29): 87-93. (Persian).
- Gohari AR, Hadjiakhoondi A, Sadat-Ebrahimi SE, Saeidnia S, Shafiee A. Cytotoxic terpenoids from *satureja macrantha* C. A. Mey. *DARU* 2005; 13(4): 177-81. (Persian).
- Naderi GhA, Asgari S, Movahedian A, Sabet B, Shirvani H. Anti-oxidant effects of some natural pure flavonoids on susceptibility of LDL to oxidation. *J Isfahan Univ Med Sci* 2005; 22(74-75): 57-62. (Persian).