

## ارزیابی سمیت حاد و دوزهای مکرر اسانس کرفس کوهی (کلوس) در موش صحرایی ماده

- احمد آدینه<sup>۱</sup> ID، سپیده اربابی بیدگلی<sup>۲\*</sup> ID، غلامرضا امین<sup>۳،۴</sup> ID، سولماز غفاری<sup>۵</sup> ID
- ۱- دانشجوی دکتری تخصصی سم‌شناسی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران  
۲- استاد، گروه سم‌شناسی داروشناسی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران  
۳- استاد، گروه فارماکوتوزی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران  
۴- استاد، گروه فارماکوتوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران  
۵- دانشیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

یافته / دوره ۲۲ / شماره ۳ / پاییز ۹۹ / مسلسل ۸۵

### چکیده

دریافت مقاله: ۹۹/۵/۱۱ پذیرش مقاله: ۹۹/۶/۱۲

مقدمه: در این تحقیق سمیت حاد و دوزهای مکرر اسانس بخش‌های هوایی گیاه کرفس کوهی به عنوان یکی از گونه‌های نادر گیاهی ایران با کاربردی گسترده تعیین شد.

مواد و روش‌ها: برای بررسی اثرات بالینی، خون‌شناسی، بیوشیمیایی، نکروپسیک و هیستوپاتولوژیک اسانس کرفس کوهی (کلوس)، بخش‌های هوایی کلوس از ارتفاعات شهرکرد در استان چهارمحال و بختیاری در بهار سال ۱۳۹۸، گردآوری و پس از اختصاص کد هرباریومی، پودر خشک آن با استفاده از آب مقطر و دستگاه کلونجر تهیه گردید. سمیت حاد با دستورالعمل OECD423 و سمیت دوزهای مکرر با دستورالعمل OECD 407 روی رت‌های ویستار ماده در مدت ۲۸ روز با روش تزریق داخل صفاقی تعیین شد.

یافته‌ها: در مطالعه سمیت حاد با دوز ۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و در ۲۴ ساعت اول مرگ و میر و پاسخ سمی دیده نشد. در مطالعات سمیت حاد تأخیری نیز (در دوره ۱۴ روزه پیگیری)، اثرات ناخواسته‌ای دیده نشد. در مطالعه سمیت دوزهای مکرر (با دوزهای ۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، افزایش معنی‌دار وزن موش‌های گروه دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم با برخی شواهد اولیه مرتبط با سمیت کبدی همراه بود اما سایر ارگان‌ها از جمله کلیه، قلب، ریه و طحال نسبت به گروه کنترل تفاوتی نداشتند و شواهد اولیه آسیب کلیوی دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم با مطالعه شواهد بافتی تأیید نشد.

بحث و نتیجه‌گیری: براساس نتایج مطالعه حاضر، اسانس کلوس با دوز روزانه کمتر از ۵ میلی گرم بر کیلوگرم می‌تواند به عنوان محدوده ایمن این اسانس در صنایع دارویی و غذایی برای مصارف انسانی در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، کرفس کوهی، کلوس، سمیت حاد، سمیت دوزهای مکرر، دوز ایمن، موش صحرایی ماده

\*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی.

پست الکترونیک: sepideharbabi@yahoo.com

## مقدمه

اگرچه گیاهان دارویی منابع طبیعی ارزشمندی برای تأمین مواد اولیه تولید داروها و مکمل‌های دارویی یا غذایی محسوب می‌شوند اما به ایمنی مصرف این گیاهان چه به صورت خام و چه به صورت عصاره و اسانس، باید پیش از هرگونه بهره‌برداری توجه گردد (۱). در بسیاری از جوامع امروزی، الگوی مصرف داروها، مکمل‌های دارویی و افزودنی‌های غذایی در حال تغییر است و اقبال عمومی به مصرف فراورده‌های طبیعی به دلیل باور فرهنگی نسبت به فقدان عوارض جانبی آنها نسبت به ترکیبات شیمیایی سنتتیک مرتباً رو افزایش است اما در مقایسه‌ای عمومی، گرایش کشورهای با پیشینه غنی طب سنتی و تنوع وسیع گیاهان دارویی مانند ایران، هند، چین، یونان و ... به مصرف گیاهان دارویی بیشتر است (۲). با توجه به این که فراورده‌های گیاهی عموماً به صورت بدون نسخه یا به شکل Over the Counter (OTC) فروخته می‌شوند، داروساز و پزشک معالج غالباً اطلاعات کافی درباره حداکثر مقدار مجاز روزانه، دوره مصرف و احتمال بروز تداخلات دارویی بین آنها با رژیم دارویی و غذای بیماران ندارند و این خود خطر بروز تداخلات و عوارض دارویی ناخواسته یا Adverse Drug Reaction (ADR) را بالا می‌برد (۳). از آنجایی که مکمل‌های گیاهی نیز مانند داروهای شیمیایی دارای ماده مؤثره یا Active Pharmaceutical Ingredient (API) و دارای اثرات بیولوژیکی و فارماکولوژیک هستند لذا می‌توانند به موازات ایجاد اثرات مفید درمانی، باعث بروز عوارض ناخواسته نیز بشوند.

یکی از جذاب‌ترین حوزه‌ها در عرصه تولید فراورده‌های گیاهی تولید اسانس‌های صنعتی با بیش از صد گونه گیاهی مختلف است که بازار رقابتی وسیعی دارد و علاوه بر صنایع دارویی در صنایع کشاورزی، غذایی، تولید عطر و فراورده‌های آرایشی بهداشتی نیز استفاده می‌شوند. اگرچه پتانسیل‌های اقلیمی کشور ایران، امکان تنوع بیشتر

اسانس‌های موجود را با استفاده از سایر گونه‌های گیاهی فراهم آورده است اما امکان تولید و بهره‌برداری از این گیاهان با وجود اقبال افراد بومی هر منطقه به این گیاهان، برای صنایع مختلف ناشناخته است (۴). با این حال پیش از برداشتن هر گامی در جهت تولید اسانس‌های جدید و توسعه اسانس‌های کلاسیک، انجام مطالعات پیش بالینی در زمینه کارایی و ایمنی آنها در مدل‌های داروشناسی و سم‌شناسی اجتناب ناپذیر بوده و نداشتن پروفایل سمیت برای آنها همانند سایر محصولات گیاهی به منزله غیر قابل قبول بودن آنها از جنبه قوانین جهانی تولید محصولات گیاهی است.

یکی از بزرگ‌ترین تیره‌های گیاهان دارویی، تیره چتریان یا *Apiaceae* است که بیش از ۱۱۹ جنس و ۳۵۸ گونه از این تیره در کشور ایران شناسایی شده است (۵). کرفس کوهی با نام علمی *Kelussia odoratissima Mozaff* یکی از گونه‌های پرکاربرد و شناخته شده این تیره بومی علفی چند ساله ایران است که وجود این گیاه خودرو به جز در مناطق غربی کشور از جمله استان‌های اصفهان، چهارمحال و بختیاری، کهگیلویه و بویراحمد، فارس، لرستان و ارتفاعات و مناطق برفگیر ناحیه زاگرس در سایر مناطق جهان گزارش نشده است. این گیاه چند ساله معطر ساقه‌ای استوانه‌ای به ارتفاع ۱۲۰ تا ۲۰۰ سانتی متر، برگ‌های قاعده‌ای بزرگ و دوبار شانه‌ای، شمای عمودی، گل آذین بزرگ و چتر انتهایی کاملاً بارور دارد و در منابع قدیمی‌تر با نام‌های علمی *Amircabiria odoratissima* و *Apium graveolens* و *Opopanax sp.* نامگذاری گردیده است (۶) اما نام محلی و بومی این گیاه کلوس است (۷، ۸). متأسفانه برداشت بی‌رویه کلوس در اوایل دوران رویش توسط بومیان و افراد غیر بومی در هر منطقه از یک سوی و زمان نسبتاً طولانی برای استقرار و تولید بذر از سوی دیگر غالباً موجب گردیده است تا گیاه فرصت

سمیت خوراکی ۲۸ روزه تحت دستورالعمل OECD 407 بود.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری گیاه و شناسایی

نمونه‌هایی از بخش‌های هوایی گیاه کرفس کوهی (کلوس) در بهار سال ۱۳۹۸ از ارتفاعات شهرکرد واقع در استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری شد و در هر بار یوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران شناسایی علمی گردید و کد هر بار یومی به آن اختصاص یافت. بعد از اخذ کد هر بار یومی و کد اخلاق به شماره IR.IAU.TMU.REC.1398.20، چهار کیلوگرم از بخش‌های هوایی گیاه از همان منطقه جمع‌آوری و به دور از نور خورشید و در حرارت  $2 \pm 23$  درجه سانتی‌گراد به مدت سه هفته به طور کامل خشک گردید و با استفاده از آسیاب الکتریکی مدل IKHS به شماره سریال ۱۶۴، فرکانس ۵۰ (۳۸۰ ولت ساخت سال ۱۳۸۶) به شکل پودر نرم درآمد. برای تهیه اسانس ۵۰ گرم از پودر گیاه خشک به همراه ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دستگاه الکترومنتل (شوف بالن) Electro thermal مدل EM 1000/CE و با توان ۳۰۰ وات به مدت ۴ ساعت قرار داده شد و اسانس مورد نظر با روش تقطیر با آب مقطر تهیه شد. اسانس حاصل با استفاده از سولفات سدیم با قدرت آب‌پوشی به فرمول  $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$  با درصد بازدهی ۰/۲ درصد آبگیری و در ویال تیره رنگ و به دور از نور، گرما و رطوبت در فضای  $4^\circ\text{C}$  تا پایان مطالعه نگهداری شد.

### حیوان آزمایشگاهی

در این مطالعه در بخش سمیت حاد و در بخش سمیت دوزهای مکرر از ۲۸ رت ماده نژاد ویستار با وزن  $20 \pm 200$  گرم استفاده گردید. حیوانات به مدت ۱۰ روز پیش از آغاز مطالعه در شرایط تطبیق با محیط حیوان‌خانه با ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و در دمای  $2 \pm 23$  درجه

تجدید حیات و تولید بذر را از دست داده و در معرض انقراض قرار گیرد (۶). اگرچه وجود ترکیباتی مانند فرولیک اسید (۱۰،۹)، سیس لیگوستیلید، ۳ ترانس بوتیلیدن فتالید، ترانس لیگوستیلید، کسان، اسپاتونول، ۲ اکتن ۱ ال استات، گلوبولول (۱۱)، فتالید، فلاونوئید (لیمون، میرسن، کامفور، ۳-۰ متیل اتر)، ۳ بوتیل دی ان ۴ و ۵ دهیدرو فتالید و ترپنوئید در این گیاه گزارش شده (۶، ۱۲-۱۴) و به این گیاه کاربردهای دارویی، غذایی و آرایشی متنوعی بخشیده است اما از میان تنوع خواص می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی (۱۵، ۱۶)، ضد افسردگی، ضد التهابی، ضد دردی (۱۲)، آرام‌بخشی، ضد اضطرابی، خواب‌آوری (۱۴)، تقویت‌کنندگی حافظه، ضد آلرژی، محافظت‌کنندگی عروق، محافظت‌کنندگی دستگاه گوارش و ضد دیابتی بخش‌های هوایی این گیاه اشاره کرد (۱۷، ۱۸). مصرف بذر و ریشه گیاه کلوس به صورت جوشانده برای درمان سرماخوردگی و سرفه‌های شدید پیشنهاد شده است. از سوی دیگر خواص ضدباکتریایی خانواده کرفس نیز به تأیید رسیده است (۱۹) اما عصاره و اسانس‌های مختلف این گیاه اثرات سمی بر رده‌های سلولی مختلف از جمله سلول‌های سرطان پستان (MDA-MB468 و MCF-7)، سرطان تخمدان (HeLa و SKOV3)، سرطان ریه (A549)، سرطان چشم (Y79)، و سرطان خون (K562) نشان داده‌اند (۱۶، ۲۰، ۲۱). با وجود این ماهیت سمی واقعی اسانس این گیاه که عمدتاً به صورت خوراکی و برای کاهش وزن مورد اقبال عمومی قرار گرفته است تاکنون در یک مدل شناخته شده و استاندارد سم‌شناسی ارزیابی نشده و ماکزیمم دوز مجاز مصرف روزانه آن نامشخص باقی مانده است. با این مقدمه و با توجه به اهمیت اکولوژیک و جایگاه ویژه کلوس در طب ایرانی، هدف از انجام تحقیق حاضر تعیین سمیت حاد و دوزهای مکرر اسانس کرفس کوهی در موش صحرایی ماده در مدل استاندارد مطالعات

حدود ۴ درجه به آزمایشگاه برای آزمایش انتقال داده شد. در پایان مرحله خونگیری، بافت‌های ریه، طحال، کبد، کلیه، پانکراس، قلب، رحم و تخمدان با کمک ست جراحی جداسازی و با سرم فیزیولوژی شستشو داده شدند و در پایان شستشو توزین گردیدند. سپس بافت‌ها در محلول فرمالین ۱۰ درصد ثابت شدند. پیش از تهیه بلوک‌های پارافینیزه، برای خارج کردن آب میان‌بافتی، بافت‌های مورد نظر با درجاتی از الکل (۳۰، ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و الکل مطلق) آگیری شدند و در نهایت با دستگاه میکروتوم برش‌های نازک ۵ میکرونی تهیه و با استفاده از معرف‌های ائوزین-هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شدند.

#### تحلیل داده‌ها

کلیه داده‌های این مطالعه به صورت متغیرهای پیوسته با توزیع نرمال بودند که برای هر یک از متغیرها میانگین  $\pm$  انحراف معیار از ۳ نمونه در هر یک از گروه‌ها محاسبه شد. برای تحلیل آماری از آزمون ANOVA یک طرفه به همراه Independent Sample t Test استفاده شد و میزان  $P < 0.05$  به عنوان اختلاف معنادار آماری در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

##### سمیت حاد

کلیه مشاهدات به طور سیستماتیک برای رت‌های ماده ثبت و در سوابق آنها نگهداری شد. مشاهدات بر اساس دستورالعمل OECD ۴۲۵ هیچ گونه مرگ میر و علائم غیر طبیعی پس از نکرپسی حیوانات تا دوز منفرد ۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پس از ۲۴ ساعت اول نشان نداد. در مطالعه سمیت حاد تأخیری، هر گونه پاسخ غیرعادی، هر گونه تغییرات احتمالی در پوست و مو، چشم‌ها و غشاهای مخاطی، الگوهای رفتاری حیوانات و مرگ و میر به صورت روزانه تا ۱۴ روز پس از تجویز تک دوز اسانس به رت‌های وبستار ماده ثبت شد که هیچ گونه مرگ و میر، تغییر معنی‌دار وزن و علائم غیر طبیعی در

سانتی گراد نگهداری شدند. در طول مدت مطالعه، دسترسی به آب و غذا برای موش‌ها آزاد بود. پس از طی این دوره موش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه ۷ تایی تقسیم شدند.

##### سمیت حاد

مطابق با دستورالعمل OECD 425 برای بررسی سمیت حاد اسانس، تک دوز ۲ g/kg محلول اسانس گیاه کرفس کوهی به رت‌های ماده به صورت داخل صفاقی (i.p.) تزریق شد. سپس در شرایط استاندارد ذکر شده برای مطالعه سمیت حاد تأخیری به مدت ۱۴ روز تحت نظر گرفته شدند که در این دوره هیچ مرگ و میری در حیوانات اتفاق نیفتاد. در پایان ۱۴ روز مطالعات سمیت حاد تأخیری، مطالعات نکرپسی انجام گرفت و بافت ارگان‌های مختلف از نظر ظاهری و وزن بررسی گردید و با گروه شاهد مقایسه شد.

##### سمیت دوزهای مکرر

پس از انجام مطالعات سمیت حاد و تعیین محدوده کشندگی اسانس، مطالعه سمیت دوزهای مکرر خوراکی بر اساس دستورالعمل OECD ۴۰۷ روی دو رقت مختلف ۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم از اسانس گیاه کرفس به مدت ۲۸ روز صورت گرفت و گروه کنترل حلال (آب مقطر) دریافت کردند. در طی انجام مطالعه موش‌های ماده هر سه روز یک بار توزین شدند. در پایان دوره تیمار، حیوانات با استفاده از کتامین زایلازین بیهوش شدند و از قلب آنها خونگیری صورت گرفت. خون گرفته شده، در لوله‌های اپندورف حاوی هیپارین برای ارزیابی‌های هماتولوژیک جمع‌آوری گردید. برای انجام آزمون‌های بیوشیمیایی و هماتولوژیک از هر یک از موش‌ها ۶ سی سی خون گرفته شد. بخشی از خون (۳ سی سی) جمع‌آوری شده به مدت ۴۰ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا لخته تشکیل شود. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سرم جداسازی شد و به همراه ۳ سی سی خون تام در دمای

**تغییرات مصرف روزانه آب و غذا**

الگوی مصرف غذا در هر ۳ گروه مشابه یکدیگر و فاقد هر گونه تغییر معنی‌داری بود.

**تغییرات وزن روزانه حیوانات**

وزن حیوانات در ۳ گروه از ابتدا تا روز ۲۸ روند تغییرات مشابهی داشت اما در بعضی از مقاطع نیز تغییر معنی‌داری از نظر آماری نشان داد که جزئیات آن در جدول ۱ نمایش داده شده است. در مورد تغییرات وزن موش‌ها در گروه‌های ۷ تایی اسانس کلوس با دوزهای ۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل در پایان روز ۲۸، نتایج آزمون نشان می‌دهد که میانگین وزن موش‌های دریافت‌کننده دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم کرفس کوهی (کلوس) در پایان هفته دوم در مقایسه با میانگین وزن موش‌های گروه کنترل از نظر آماری کاهش معنی‌داری داشت ( $p=0/026$ ) و میانگین وزن موش‌های دریافت‌کننده دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در پایان هفته چهارم در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار آماری نشان داد ( $p=0/011$ ).

رفتار، واکنش‌ها و در نکروپسی حیوانات مشاهده نشد لذا این اسانس بر اساس شواهد مواجهه حاد به عنوان ترکیب گیاهی عملاً غیر سمی (Practically nontoxic) دسته‌بندی شد.

**سمیت دوزهای مکرر****مشاهدات بالینی****تغییرات رفتاری روزانه**

بر اساس پرسش‌نامه طراحی شده مطابق دستورالعمل OECD 407، تغییرات احتمالی در پوست و مو، چشم‌ها، غشاهای مخاطی و الگوهای رفتاری حیوانات و مرگ و میر به صورت روزانه ثبت شد. ارزیابی پارامترهای سلامت حیوانات پس از هر بار تجویز خوراکی نمونه‌ها و هم‌چنین به صورت دوره‌ای ۱۴ روزه و ۲۸ روزه، هیچ گونه تغییر رفتار و مرگ و میر در هیچ یک از گروه‌های مورد آزمون نشان نداد. رفتار حیوانات کاملاً طبیعی بود و همه ۲۱ رت ویستار ماده تا پایان مطالعه در گروه‌های مورد (دوز ۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و شاهد زنده ماندند.

جدول ۱. تغییرات وزن بدن در رت‌های ویستار ماده در دو گروه دوز متوسط ۵ میلی گرم بر کیلوگرم و دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با

**شاهد منفی (آب مقطر) در پایان روز ۲۸**

| زمان‌بندی مطالعه          | گروه‌بندی دوز دریافتی حیوانات | میانگین وزن با مقیاس گرم | انحراف معیار با مقیاس گرم | p-value |
|---------------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------------|---------|
| شروع مطالعه (روز صفر)     | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم         | ۱۹۵/۶۱                   | ۷/۹۳                      | ۰/۵۳۱   |
|                           | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم        | ۲۰۰/۲۱                   | ۶/۳۵۲                     | ۰/۳۱۸   |
|                           | شاهد (آب مقطر)                | ۱۹۹                      | ۵/۳۵۱                     |         |
| پایان هفته اول (روز ۸)    | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم         | ۲۰۰/۷۱                   | ۱۱/۹۸                     | ۰/۴۲۵   |
|                           | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم        | ۲۰۸/۷۱                   | ۸/۵۷۷                     | ۰/۵۰۱   |
|                           | شاهد (آب مقطر)                | ۲۰۶                      | ۴/۲۴۳                     |         |
| پایان هفته دوم (روز ۱۵)   | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم         | ۱۹۷/۷۱                   | ۹/۷۵۹                     | *۰/۰۲۶  |
|                           | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم        | ۲۱۶                      | ۷/۵۵۷                     | ۰/۳۰۳   |
|                           | شاهد (آب مقطر)                | ۲۱۱/۵                    | ۳/۸۷۳                     |         |
| پایان هفته سوم (روز ۲۲)   | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم         | ۲۰۱                      | ۱۰/۰۶                     | ۰/۰۷۶   |
|                           | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم        | ۲۱۹/۵۷                   | ۶/۳۹۹                     | ۰/۰۰۹   |
|                           | شاهد (آب مقطر)                | ۲۱۲/۵                    | ۴/۹۳۳                     |         |
| پایان هفته چهارم (روز ۲۹) | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم         | ۱۸۹/۸۶                   | ۱۴/۹۶                     | ۰/۵۱۴   |
|                           | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم        | ۲۱۰/۷۱                   | ۵/۱۵۳                     | *۰/۰۱۱  |
|                           | شاهد (آب مقطر)                | ۱۸۳/۷۵                   | ۱۳/۰۴                     |         |

## یافته‌های خون‌شناسی

طبق نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای خون-شناسی که در جدول ۲ نشان داده شده است، در گروه‌های دریافت‌کننده اسانس کرفس کوهی (کلوس)، از بین فاکتورهای خونی مختلف فقط تعداد گلبول‌های قرمز در دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0/024$ ) و میانگین سایر پارامترهای اندازه‌گیری شده در خون حیوانات در دو گروه دوزهای ۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم طی تجویز دوزهای مکرر روزانه در یک برنامه ۲۸ روزه تفاوتی با گروه کنترل نداشت.

## یافته‌های بیوشیمیایی

اگرچه مطابق اطلاعات ارائه شده در جدول ۳ هیچ گونه تغییر معنی‌داری در فاکتورهای بیوشیمیایی رت‌های تحت تجویز ۲۸ روزه دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس کلوس صورت نگرفت اما در دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم، فاکتور LDH نزدیک سه برابر نسبت به گروه کنترل افزایش یافت ( $p = 0/008$ ). فاکتور دیگر افزایش یافته در این گروه دوزی، توتال

پروتئین بود که آن نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p = 0/002$ ). در ادامه افزایش غیرطبیعی دو فاکتور ذکر شده، آلبومین موش‌ها نیز افزایش قابل توجهی پیدا کرد ( $p = 0/048$ ). تجویز دوزهای ۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس کرفس کوهی تغییر معنی‌داری در پارامترهای بیوشیمیایی مثل گلوکز، BUN، Cr، کلسترول تام، تری گلیسرید، T4، Testosterone، ALT، AST، ALP، Na و K در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نکرد (جدول ۲).

## یافته‌های نکرپسی

نتایج آزمون در جدول ۳ نشان می‌دهد که میانگین وزن اندام‌های قلب، کلیه‌ها، کبد و طحال در موش‌های دریافت‌کننده دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس کرفس کوهی (کلوس) در مقایسه با میانگین وزن همان اندام‌ها در گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است ( $p < 0/05$ ). همین آزمون در گروه دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم کلوس، دلالت بر فقدان تغییر وزن در اندام‌های کبد، کلیه، قلب و ریه داشت اما وزن طحال دچار کاهش معنی‌داری شد ( $p = 0/036$ ).

جدول ۲. تغییر در شاخص‌های بیوشیمیایی در رت‌های ویستار ماده در گروه دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم و دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در

## مقایسه با گروه شاهد منفی در پایان روز ۲۸

| شاخص‌های بیوشیمیایی | گروه‌بندی حیوانات      | میانگین | انحراف معیار | p-value |
|---------------------|------------------------|---------|--------------|---------|
| AST (U/L)           | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  | ۱۱۹/۵۷  | ۲۶/۰۱۸       | ۰/۱۷۷   |
|                     | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم | ۱۱۰/۵۷  | ۴۳/۷۵۷       | ۰/۵۹۷   |
| ALT (U/L)           | شاهد (آب مقطر)         | ۹۷/۷۵   | ۱۸/۴۷۲       |         |
|                     | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  | ۳۴/۵۷   | ۴/۱۱۷        | ۰/۲۴۵   |
| ALT (U/L)           | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم | ۳۴/۸۶   | ۱۴/۷۳۶       | ۰/۳۷۶   |
|                     | شاهد (آب مقطر)         | ۲۷      | ۱۰/۴۲۴       |         |
| ALP (U/L)           | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  | ۱۶۳/۷۱  | ۵۰/۶۴۵       | ۰/۱۲۴   |
|                     | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم | ۱۵۶/۱۴  | ۵۴/۸۶۲       | ۰/۱     |
| ALP (U/L)           | شاهد (آب مقطر)         | ۲۱۴     | ۳۹/۷۴۱       |         |
|                     | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  | ۱۲۸۳/۷۱ | ۴۲۳/۰۹۴      | **۰/۰۰۸ |
| LDH (U/L)           | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم | ۹۷۴     | ۵۶۶/۷۳۱      | ۰/۱۲۸   |

|         |         |          |                        |                      |
|---------|---------|----------|------------------------|----------------------|
|         | ۲۹۷/۱۱۷ | ۴۵۴/۷۵   | شاهد (آب مقطر)         |                      |
| **۰/۰۰۲ | /۴۳۴۹   | ۷/۹۵۷    | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  | Total protein (g/dL) |
| ۰/۳۱۶   | ۱/۹۴۱۲  | ۶/۳۱۴    | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم |                      |
|         | ۰/۲۶۳   | ۷/۱۲۵    | شاهد (آب مقطر)         |                      |
| **۰/۰۴۸ | ۰/۳۲۶۶  | ۴/۲      | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  | Albumin (g/dL)       |
| ۰/۲۵۱   | ۰/۹۷۰۸  | ۳/۳۲۹    | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم |                      |
|         | ۰/۱۴۱۴  | ۳/۸      | شاهد (آب مقطر)         |                      |
| ۰/۹۲۷   | ۱/۲۱۵   | ۱۴۵/۱۴۲۹ | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  | Na (mM/L)            |
| ۰/۴۱۵   | ۳       | ۱۴۸      | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم |                      |
|         | ۵/۵۲    | ۱۴۵/۲۵   | شاهد (آب مقطر)         |                      |
| ۰/۶۷۴   | ۰/۹۵    | ۵/۲      | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  | K (mM/L)             |
| ۰/۱۶۵   | ۱/۸۷    | ۶/۵۸۶    | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم |                      |
|         | ۰/۵۱    | ۵/۴۲۵    | شاهد (آب مقطر)         |                      |

جدول ۳. تغییر در شاخص‌های نکروپسی و هیستوپاتولوژیک در رت‌های ویستار ماده در گروه دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم و دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه شاهد منفی در پایان روز ۲۸

| مشاهدات  | p-value  | انحراف معیار | میانگین | گروه‌بندی حیوانات      | وزن ارگان‌ها |
|--|----------|--------------|---------|------------------------|--------------|
| طبیعی در مقایسه با شاهد (آب مقطر)  | ۰/۵۴۸    | ۰/۱۰۷        | ۰/۷۴۵   | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  | قلب          |
|  | **۰/۰۳۱  | ۰/۰۸۴۵       | ۰/۸۴۷   | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم |              |
| طبیعی در مقایسه با شاهد (آب مقطر)  | ۰/۰۵۱    | ۰/۱۵۷        | ۰/۸۲۸   | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  | کلیه چپ      |
|  | **<۰/۰۰۱ | ۰/۰۴۸        | ۰/۸۴۲   | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم |              |
| طبیعی در مقایسه با شاهد (آب مقطر)  | ۰/۲۰۱    | ۰/۲۸         | ۰/۸۹۷   | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  | کلیه راست    |
|  | **<۰/۰۰۱ | ۰/۰۴۹        | ۰/۸۸۷   | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم |              |
| پرخونی و افزایش غیر طبیعی وزن کبد در گروه دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم با شواهد هیستوپاتولوژیکی پاسخ سمی همراه بود | ۰/۱۱۰    | ۱/۰۱۷        | ۶/۷۵۵   | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  | کبد          |
|  | **<۰/۰۰۱ | ۰/۶۳۹        | ۷/۷۹۷   | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم |              |
| طبیعی در مقایسه با شاهد (آب مقطر)  | ۰/۴۶     | ۰/۰۹۳        | ۵/۷۵۵   | شاهد (آب مقطر)         | ریه‌ها       |
|  | ۰/۲۳۴    | ۰/۳۷۱        | ۱/۱۳۴   | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  |              |
| طبیعی در مقایسه با شاهد (آب مقطر)  | ۰/۲۳۴    | ۰/۰۹         | ۱/۴۲۵   | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم | طحال         |
|  | **۰/۰۳۶  | ۰/۲۷         | ۱/۱۷۴   | شاهد (آب مقطر)         |              |
| طبیعی در مقایسه با شاهد (آب مقطر)  | **۰/۰۳۰  | ۰/۳۱         | ۱/۰۱۷   | ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  | طحال         |
|  | *۰/۰۳۰   | ۰/۰۹         | ۱/۰۸۷   | ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم |              |
|  |          | ۰/۰۹         | ۰/۶۶۷   | شاهد (آب مقطر)         |              |

## یافته‌های هیستوپاتولوژیک

## کبد

در آسیب‌شناسی بافت کبد، موش‌های گروه کنترل در پایان ۲۸ روز هیچ‌گونه تغییر پاتولوژیک قابل ملاحظه‌ای نداشتند و بافت‌ها کاملاً طبیعی بودند. مصرف دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس کرفس کوهی (کلوس) در بافت کبد باعث ارتشاح سلول‌های تک هسته‌ای اطراف ورید پورت گردید و دژنراسیون و اکئولار متوسط در هپاتوسیت‌ها را موجب گردید اما با افزایش دوز به ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم، دژنراسیون خفیف و اکئولار در هپاتوسیت‌های اطراف ورید مرکزی، فیبروز زونال و ارتشاح شدید سلول‌های تک هسته‌ای اطراف ورید پورت مشاهده شد (شکل ۱).

## کلیه

همان‌طور که در شکل ۲ درج شده است بافت‌های کلیه در هر دو دوز ۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم طبیعی بود و هیچ‌گونه آسیب بافتی در آنها مشاهده نشد.

## قلب

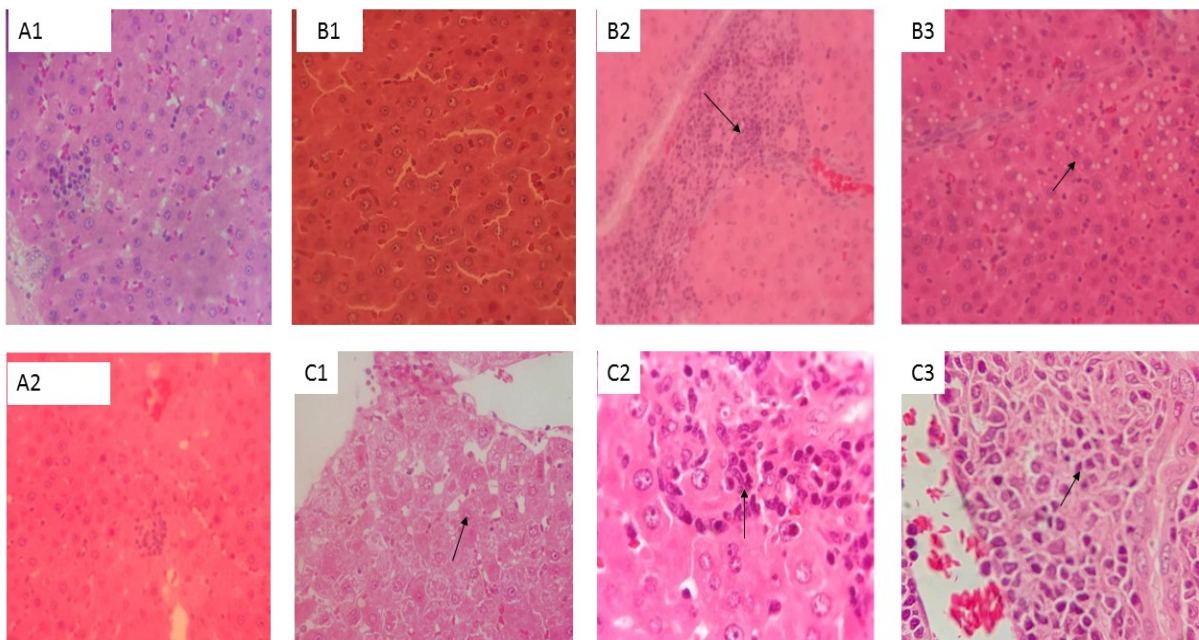
بافت‌های قلب در هر دو دوز ۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس کلوس طبیعی بود و هیچ‌گونه آسیب بافتی در آنها مشاهده نشد.

## ریه

بافت‌های ریه در هر دو دوز ۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس کلوس طبیعی بود و هیچ‌گونه آسیب بافتی در آنها مشاهده نشد.

## طحال

بافت‌های طحال در هر دو دوز ۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس کلوس طبیعی بود و هیچ‌گونه آسیب بافتی در آنها مشاهده نشد.



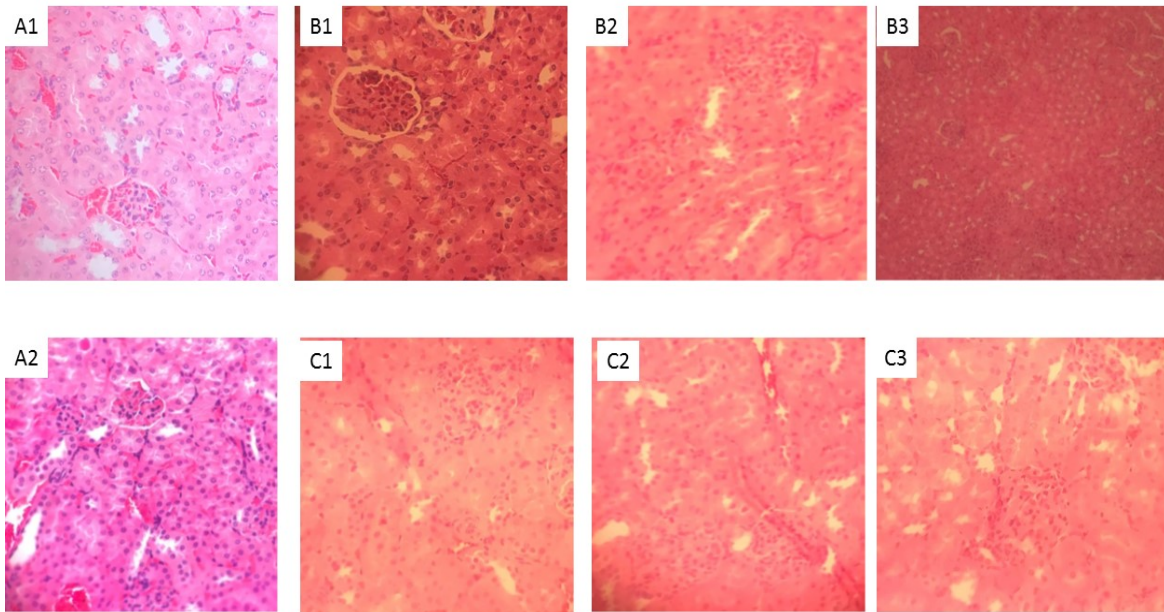
شکل ۱. برش عرضی بافت‌های کبد گروه کنترل (A1-A2)، گروه دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم (B1-B3) و گروه دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم (C1-

C3) با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ X

A1: نمای طبیعی بافت گروه کنترل در مقایسه با نمای کبدی گروه دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم



- A2: نمای طبیعی بافت گروه کنترل در مقایسه با نمای کبدی گروه دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم  
 B1: نمای طبیعی بافت گروه دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم  
 B2: ارتشاح سلول‌های مونونوکلنار در فضای پری پورتال کبدی در گروه دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  
 B3: دژنراسیون واکوئل‌های کبدی در گروه دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم  
 C1: دژنراسیون خفیف زونال سلول‌های کبدی در فضای precentral vein در گروه دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم  
 C2: فیبروز فوکال سلول‌های کبدی در گروه دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم  
 C3: ارتشاح شدید سلول‌های مونونوکلنار در فضای پری پورتال در گروه دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم



شکل ۲. نمای طبیعی برش‌های عرضی بافت‌های کلیه گروه کنترل (A1-A2)، گروه دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم (B1-B3) و گروه دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم (C1-C3) با بزرگ‌نمایی X ۴۰۰

## بحث و نتیجه‌گیری

از کرفس کوهی یا کلوس به عنوان سرآمد گیاهان دارویی بام ایران نام برده شده است که به صورت خودرو در دره‌ها و کوهستان‌های استان چهارمحال و بختیاری می‌روید و به عنوان یکی از گونه‌های نادر گیاهان دارویی در این منطقه سرشار از گیاهان دارویی مورد اقبال افراد بومی و محلی است که بدون دسترسی به مطالعه کنترل شده و اطلاع از کارایی و ایمنی آن برای تولید اشکال دارویی یا غذایی، طرز استفاده از آن از پیشینیان سینه به سینه به نسل‌های بعدی نقل شده است. پژوهش حاضر برای اولین بار روی سمیت اسانس گیاه کلوس انجام شد که نتایج حاصل از آن فقدان سمیت حاد و بروز نکردن هر

گونه مرگ و میر را تا سقف دوز روزانه ۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نشان داد و مشخص نمود مصرف تک دوز آن تا سقف مقدار ۲ گرم بر کیلوگرم در بالغین فاقد هر گونه عارضه مسمومیت و مرگ و میر است. در پژوهش حاضر دوزهای مکرر داخل صفاقی اسانس نیز تا سقف دوز ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم فاقد هر گونه عارضه بالینی معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل از زاویه اثرات کلینیکی، خون‌شناسی و هیستوپاتولوژی بود هرچند تغییرات وزن ارگان‌ها در مطالعه نکروپسی و پاره‌ای تغییرات در مطالعات بیوشیمیایی حکایت از ضرورت بررسی‌های دقیق‌تر سمیت در هر دو دوز را دارد که در ذیل بحث و بررسی می‌شوند.

تفاوت در راه مصرف اسانس ( داخل صفاقی در مقایسه با خوراکی )، مدت استفاده ( ۴ هفته در مقایسه با ۶ هفته )، سالم بودن موش‌ها در این مطالعه در مقایسه با موش‌های بیمار (دیابتی)، جنسیت ماده و پایین‌تر بودن آستانه پاسخ سمی موش‌های ماده باشد.

در پژوهش حاضر ثابت ماندن سطح آنزیم‌های ALT و AST در یک رژیم ۲۸ روزه در دوزهای ۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نشان داد که عصاره کرفس کوهی نمی‌تواند تغییر معنی‌داری در مقدار این آنزیم‌ها ایجاد نماید با این حال این نبود تغییر با پاسخ‌های بافتی مبنی بر ارتشاح سلولی، فیبروز و نکروز به خصوص در دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم تطابق نداشت لذا نمی‌توان با اتکا به ثابت ماندن فاکتورهای بیوشیمیایی در یک مدل استاندارد ارزیابی سمیت، نبود تغییر در آنزیم‌های AST و به ویژه ALT را همیشه بیانگر فقدان آسیب کبدی دانست و نتیجه‌گیری نمود که این اسانس فاقد اثرات سمی بر پارانیشیم و سلول‌های کبدی است. در واقع یافته‌های پاتولوژیک در این مطالعه حاکی از آن است که اسانس می‌تواند اختلالاتی در سلول‌های کبد به وجود آورد که با وجود مطالعات موازی کریمیان و همکاران در خصوص فعالیت‌های ضد توموری (سیتوتوکسیک) گیاه کلوس (۱۵) و سایر مطالعات مشابه تاکنون گزارش نشده است.

برای بحث پیرامون سمیت کلیوی این اسانس در بخش بیوشیمیایی، سطح سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP)، LDH، الکترولیت‌ها و پروتئین تام نیز بررسی شد اما این نوبت با وجود افزایش معنی‌دار سطح سرمی LDH، پروتئین تام و آلبومین در دوز ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم شواهد مشابهی در دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وجود نداشت و این تغییرات بیوشیمیایی با یافته‌های هیستوپاتولوژیک که دلالت بر طبیعی بودن بافت کلیه حیوانات در مقایسه با گروه کنترل داشت هماهنگی نداشت. اگرچه در بررسی منابع، مطالعه مشابهی

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز مکرر و روزانه اسانس کرفس کوهی در یک مدل زمانی ۲۸ روزه مطابق با دستورالعمل OECD ۴۰۷، با وجود ایجاد نکردن اثرات سوء بر سطح سرمی آمینو ترانسفرازها به عنوان آنزیم‌های اصلی اندیکاتور عملکرد کبدی، آلکالین فسفاتازها و الکترولیت‌های سرمی باعث افزایش معنی‌دار در سطح سرمی فاکتورهای اوره، LDL، آلبومین و پروتئین توتال به صورت غیر مرتبط با دوز و در مقایسه با گروه کنترل شد. با توجه به این که مطالعات متعددی نقش کرفس کوهی را در ممانعت از تجمع چربی در حیوانات آزمایشگاهی تأیید کرده‌اند (۲۲) و مصرف پودر کرفس کوهی را همراه با داروهای کاهنده چربی خون در بیماران هیپرلیپیدمیک مؤثر دانسته‌اند (۲۳) اما با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد افزایش دوز خوراکی مصرف اسانس این گیاه نتایج عکسی را در مدل طولانی مدت ۲۸ روزه در سطح LDL و عملکرد سلول‌های کبدی اعمال نماید هرچند در سایر فاکتورهای کبدی بین گروه‌های دریافت‌کننده اسانس و گروه کنترل تغییر معنی‌داری مشاهده نشد و این مشاهده با نتایج مطالعات قبلی (۲۳) مطابقت داشت. به طور کلی یافته‌های پژوهش حاضر در مدلی سم‌شناسی روی رت‌های سالم با مطالعه روغنی و همکاران که اثرات مصرف دوزهای مکرر خوراکی بخش هوایی کرفس کوهی را بر میزان گلوکز و چربی‌های سرم خون در موش سفید بزرگ دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین سنجیده بودند ناهمخوان بود. در مطالعه ایشان تجویز دراز مدت بخش هوایی کرفس کوهی به صورت پودر به نسبت مورد نظر (۶/۲۵ درصد بر اساس یک نسبت وزنی) به موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین، سطح تری گلیسرید و کلسترول سرم را در هفته ششم در گروه دیابتی تحت درمان با این گیاه در مقایسه با گروه دیابتی به طور معنی‌داری کاهش داد (۲۴) دلیل این تفاوت با مطالعه حاضر ممکن است به واسطه

در مورد سمیت کلیوی گیاه کرفس کوهی یافت نشد تا نتایج این تحقیق با آن مقایسه گردد اما سلامت سایر ارگان‌های رت‌های ماده تحت تجویز این اسانس از جمله قلب، ریه و طحال را می‌توان دلایل دیگری برای اعتماد به فقدان سمیت عضوی این اسانس تا سقف دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم تلقی نمود.

با توجه به نتایج به دست آمده از ارزیابی‌های کلینیکی، تحلیل‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی و شواهد هیستوپاتولوژیک، دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس کرفس کوهی ضمن افزایش وزن موش‌ها، در بافت کبد موش‌های ماده نیز اختلالاتی نظیر ارتشاح سلول‌های تک هسته‌ای و دژنراسیون واکوئولار خفیف در هیپاتوسیت‌ها در اطراف ورید مرکزی ایجاد نمود و دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم این اسانس نیز با وجود ایجاد نکردن تغییرات کلینیکی، خون‌شناسی و هیستوپاتولوژیک، تغییرات معنی‌داری را در سطح فاکتورهای بیوشیمیایی ایجاد کرد که از مجموعه این شواهد می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که اسانس کلوس با وجود بی‌ضرری در مدل حاد در

مصرف دوزهای مکرر پتانسیل خفیفی برای ایجاد سمیت کبدی می‌تواند داشته باشد و نمی‌توان صرفاً با اکتفا به تجارب میدانی و مصارف گسترده آن در طب سنتی اسانس کرفس کوهی را کاملاً بی‌خطر و غیرسمی دانست. با توجه به این که این پژوهش در نوع خود اولین مطالعه بررسی‌کننده سمیت اسانس این گیاه است و با توجه به شرایط آزمایشگاهی پژوهش و یافته‌های هیستوپاتولوژی کبدی، انجام مطالعات طولانی مدت‌تر در زمینه بررسی آثار سمی احتمالی کرفس کوهی در ترکیب با سایر گیاهان، داروها و مواد غذایی، تأثیر سایر اشکال مصرف و سمیت عصاره گیاه در مقایسه با اسانس لازم و ضروری به نظر می‌رسد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری فنی کارکنان هرباریوم و مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، کارکنان مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی و گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان قدردانی می‌شود.

## References

1. Najafian J A-EM, Arab-Momeni M, Akhavan-Tabib A. Safety of herbal medicine in treatment of weight loss ARYA Atheroscler. 2014;10(1):55-58.
2. Arji G SR, Rezaeizadeh H, Abbassian A, Mokhtaran M, Hossein Ayati M. A systematic literature review and classification of knowledge discovery in traditional medicine. Comput Methods Programs Biomed. 2019;168:39-57.
3. García-Cortés M R-DM, Ortega-Alonso A, Medina-Caliz I, Andrade RJ. Hepatotoxicity by Dietary Supplements: A Tabular Listing and Clinical Characteristics. Int J Mol Sci. 2016;17(4):537.
4. Aali E MR, Kazeminia M, Hazrati R, Azarpey F. Essential oils as natural medicinal substances. Tehran Univ Med J. 2017;75(7):480-489.
5. Amiri MS, Joharchi MR. Ethnobotanical knowledge of Apiaceae family in Iran: A review. Avicenna J Phytomed. 2016;6(6):621-635.
6. Ahmadi K, Omidi H, Amini Dehaghi M, Naghdi Badi H. A Review on the Botanical, Phytochemical and Pharmacological Characteristics of *Kelussia odoratissima* Mozaff. J Med Plants. 2020; 4(72):30-45.
7. Rabbani M, Sajjadi SE, Sadeghi M. Chemical composition of the essential oil from *Kelussia odoratissima* and the evaluation of its sedative and anxiolytic effects in mice. Clinics Sao Paulo. 2011;66(7):843-848.
9. Momtazi AA, Askari-Khorasgani O, Abdollahi E, Sadeghi-Aliabadi H, Mortazaiezhad F, Sahebkar A.. Evaluation of cytotoxic effect of of *Kelussia Odoratissima* Mozaff grown in kohrang and freydonshahr regions against MCF7 cell line and peripheral blood monolayer cell (PBMC). Research in Medicine. 2015;38(4):221-225.
10. Mozaffarian V. Two new genera of Iranian umbelliferae. Ботанический журнал. 2003;88(2):88-94.
11. Salimi M, Ebrahimi A, Shojaee Asadieh Z, Saei Dehkordi SS. Essential oil composition of *Kelussia odoratissima* Mozaff. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 2010; 26(2): 147-156 (In Persian).
12. Ahmadi F, Kadivar M, Shahedi M. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. in model and food systems. Food chemistry. 2007;105(1):57-64.
13. Akbarian A, Rahimmalek M, Sabzalian MR, Sarfaraz D. Variation in essential oil composition, phenolic, flavonoid and antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff based on three model systems. J Appl Res Med Aromat Plants . 2019;13:100208.
14. Karimian H, Arya A, Fadaeinasab M, Razavi M, Hajrezaei M, Karim Khan A, Mohd Ali H, Abdulla MA, Noordin MI. *Kelussia odoratissima* Mozaff. activates intrinsic pathway of apoptosis in breast cancer cells associated with S phase cell cycle arrest via involvement of p21/p27 in vitro and in vivo. Drug Des Devel Ther. 2017;11:337-350.

15. Momtazi AA, Askari-Khorasgani O, Abdollahi E, Sadeghi-Aliabadi H, Mortazaeinezhad F, Sahebkar A. Phytochemical Analysis and Cytotoxicity Evaluation of *Kelussia odoratissima* Mozaff. *J Acupunct Meridian Stud.* 2017;10(3):180-186.
16. Sajjadi SE, Shokoohinia Y, Moayedi N-S. Isolation and Identification of Ferulic Acid From Aerial Parts of *Kelussia odoratissima* Mozaff. *Jundishapur J Nat Pharm Prod.* 2012;7(4):159-162.
17. Oroojalian F, Kasra-Kermanshahi R, Azizi M, Bassami MR. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food chemistry.* 2010;120(3):765-770.
18. Hosseini A, Javadi SS, Fani-Pakdel A, Mousavi SH. *Kelussia odoratissima* potentiates cytotoxic effects of radiation in HeLa cancer cell line. *Avicenna J Phytomed.* 2017;7(2):137.
19. Samani FS, Sazegar H, Pirbalouti AG. Cytotoxic effect of hydroalcoholic extracts of *Kelussia odoratissima* Mozaff and *Thymus daenesis* Celak on MCF-7 cancer cell line. *Pars J Med Sci.* 2016;14(2):56-64.
20. Asgari S, Naderi G, Gharipour M, Dashti G, Sajadian A. Effect of *Amirkabiria Odoratissima* on the development and progression of atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism.* 2004;3(1):83-88.
23. Shirzad H, Yosofi H, Parvin N, Farokhi E, Shahaby Gh. Preventive and therapeutic effects of tomato juice on the growth of fibrosarcoma tumor cells in Balb/c mice. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2009; 10 (4);1-6.
24. Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Ramazani M. The effect of chronic oral feeding of aerial part of *Apium graveolens* L. on blood levels of glucose and lipids of streptozotocin-diabetic rats. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants.* 2008 ; 23(4);458-467.

## Acute and Repeated Dose Toxicity Assessment of *Kelussia Odoratissima Mozaff* Essential Oil in Female Rat

Adineh A<sup>1</sup>, Arbabi Bidgoli S<sup>2\*</sup>, Amin Gh<sup>3,4</sup>, Ghaffari S<sup>5</sup>

1. PhD Student of Toxicology, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences University (IAUTMU), Tehran, Iran

2. Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences University (IAUTMU), Tehran, Iran, sepideharbabi@gmail.com

3. Professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences University (IAUTMU), Tehran, Iran

4. Professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences (TUMS), Tehran, Iran

5. Associate Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences University (IAUTMU), Tehran, Iran

Received: 1 Aug 2020

Accepted: 12 Sep 2020

### Abstract

**Background:** We aimed in this study to evaluate the acute and repeated dose toxicity of *Kelussia odoratissima Mozaff* (*Kelussia*) identified as a rare medicinal plant species which grows in western parts of Iran with potential nutraceutical applications.

**Materials and Methods:** To determine the clinical, hematological, biochemical, necropsy and histopathological effects of the herb's essential oil, aerial parts of this plant were collected from Shahrekord in spring 2019. After careful evaluation and issuing the Herbarium Code Number, herb's dry powder was provided and the essential oil was prepared by Clevenger apparatus. Acute and repeated dose toxicity tests were performed by OECD 423 and 407 guidelines through intraperitoneal (i.p.) injections to female rats.

**Results:** Acute test didn't show any sign of toxicity in doses up to 2000 mg/kg and in delayed acute toxicity assessment no sign of toxic reaction was recorded. In repeated dose test all animals in two different dose groups (5 and 50 mg/kg) survived healthy according to the clinical, biochemical, hematological, necropsy and histopathological studies. Significant weight increase in high dose group (50 mg /kg/day) was accompanied with hepatotoxic reactions compared to vehicle control group (distilled water). Low dose group (5 mg/kg /day) showed significant biochemical changes in relevant nephrotoxicity related biomarkers which were not accompanied with histopathological evidence.

**Conclusion:** The results of this study showed that oral long term administration of *Kelussia* essential oil could be considered as a safe herbal remedy in doses up to 5 mcg/kg/day for human medical and nutritional purposes.

**Keywords:** *Kelussia odoratissima Mozaff*, *Kelussia*, Acute toxicity, Repeated dose toxicity, Essential Oil, *klows*,

\***Citation:** Adineh A, Arbabi Bidgoli S, Amin Gh, Ghaffari S. Acute and Repeated Dose Toxicity Assessment of *Kelussia Odoratissima Mozaff* Essential Oil in Female Rats. *Yafte*. 2020; 22(3):34-47.