

# اثرات عصاره آبی الکی سیاه دانه بر بارداری در

## موش صحرایی

دکتر احمد قربانی<sup>۱</sup>، رضا سالاری نیا<sup>۲</sup>، دکتر داوود مهدیان<sup>۳</sup>،

دکتر حسن رخشنده<sup>۴\*</sup>

۱. استادیار پژوهشی، مرکز تحقیقات فارماکولوژیک گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۲. دانشجوی دکتری تخصصی بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۳. دانشجوی دکترای تخصصی فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۴. استادیار فارماکولوژی، مرکز تحقیقات فارماکولوژیک گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۲۵

### خلاصه

**مقدمه:** گیاهان دارویی منبع مهمی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها هستند. اما پیش از استفاده از این گیاهان در زنان باردار باید خطر احتمالی آن‌ها بر بارداری بررسی شود. سیاه‌دانه از جمله گیاهان دارویی پر مصرف در طب سنتی است، اما شواهد کافی در مورد خطرات احتمالی آن در حاملگی وجود ندارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی سمیت احتمالی مصرف عصاره سیاه دانه طی دوره بارداری در موش صحرایی انجام شد.

**روش کار:** این مطالعه از نوع حیوانی است که در سال ۱۳۹۴ انجام شد. در این مطالعه موش‌های صحرایی حامله به سه گروه هشت تایی تقسیم شدند: (۱) گروه کنترل که آب و غذای معمولی دریافت کردند، (۲) گروه سیاه دانه با دوز پایین که از ابتدای بارداری تا روز دهم ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی الکی سیاه دانه به آب خوراکی آنها اضافه شد و (۳) گروه سیاه دانه با دوز بالا که از ابتدای بارداری تا روز دهم ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره به آب آن‌ها اضافه شد. طول دوره بارداری، تعداد نوزادان مرده به دنیا آمده و وضعیت سلامت نوزادان مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و سپس تست تعقیبی توکی انجام شد. میزان P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** در مقایسه با گروه کنترل، عصاره سیاه دانه در دوزهای ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تأثیر معنی داری بر طول دوره بارداری، درصد مرده زایی، تعداد نوزادان و وزن نوزادان نداشت. همچنین تا ۳۰ روز پس از تولد، اختلال رفتاری یا ناهنجاری اسکلتی در نوزادان مشاهده نشد.

**نتیجه گیری:** مصرف عصاره آبی الکی سیاه دانه تا دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم طی نیمه نخست بارداری اثر سمی بر بارداری و شاخص‌های سلامت نوزادان موش صحرایی ندارد. پیشنهاد می‌شود مطالعات تکمیلی برای بررسی عوارض درازمدت سیاه دانه انجام شود.

**کلمات کلیدی:** بارداری، سمیت، سیاه دانه، مرده زایی

\* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر حسن رخشنده؛ گروه فارماکولوژی و مرکز تحقیقات فارماکولوژیک گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. تلفن: ۰۵۱۳۸۰۰۲۵۹؛ پست الکترونیک: rakhshandehh@mums.ac.ir

## مقدمه

امروزه ترکیبات گیاهی به عنوان منبع دارویی مهمی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها محسوب می‌شوند. علی‌رغم پیشرفت‌های زیادی که در پزشکی نوین صورت گرفته است، گیاهان دارویی همچنان سهم مهمی در درمان بیماری‌ها و مراقبت‌های بهداشتی دارند و کاربرد آن‌ها در سراسر جهان رو به افزایش است. بر اساس برآوردها، حدود ۲۵٪ از داروهای مورد استفاده در پزشکی نوین نیز مستقیم یا غیر مستقیم منشأ گیاهی دارند. این موضوع در خصوص برخی داروها مانند داروهای ضد سرطان و آنتی‌بیوتیک‌ها حتی تا ۶۰٪ نیز می‌رسد (۱). در حوزه بیماری‌های زنان نیز از انواع فرآورده‌های گیاهی برای کمک به درمان اختلالات زنان در سنین باروری و یائسگی استفاده می‌شود (۲، ۳).

بسیاری از مردم معتقدند که ترکیبات گیاهی به دلیل طبیعی بودن، فاقد عارضه جانبی هستند و یا عوارض آن‌ها بسیار خفیف است. اگرچه انتظار این است که فرآورده‌های گیاهی نسبت به ترکیبات شیمیایی عوارض کمتری داشته باشند، اما این اعتقاد که هیچ‌گونه عارضه‌ای ندارند، کاملاً نادرست است (۱، ۴). بنابراین هر فرآورده گیاهی نیز باید همانند داروهای صنعتی پیش از استفاده در بالین از نظر بی‌ضرر بودن و نداشتن اثرات جانبی مورد بررسی قرار گیرد. در بررسی عوارض احتمالی داروها همواره کودکان، سالمندان و زنان باردار مورد توجه بیشتری قرار می‌گیرند. بر اساس برخی گزارش‌ها حدود ۳۰٪ زنان باردار در ایران در طول بارداری از گیاهان دارویی استفاده می‌کنند (۵).

برآورد می‌شود که حدود ۱٪ از ناهنجاری‌های مادرزادی در نوزادان به دلیل مصرف داروهای مختلف در طول دوره بارداری است (۶)، بنابراین تنها زمانی مجاز به استفاده از یک دارو یا ترکیب گیاهی در بارداری هستیم که از بی‌خطر بودن آن اطمینان داشته باشیم. متأسفانه در مورد بسیاری از گیاهان دارویی، اطلاعات کافی در خصوص اثرات جانبی آن‌ها وجود ندارد.

سیاه‌دانه<sup>۱</sup> یکی از گیاهان دارویی پر مصرف در طب سنتی ایران است. این گیاه بومی جنوب غربی آسیا است

و در ایران به ویژه در اراک و اصفهان به فراوانی می‌روید. ترکیبات فعال زیادی مانند تیموکینون، کارواکرول، لانجیفلون و اورتوسیمین در عصاره سیاه‌دانه شناسایی شده است (۷، ۸).

مطالعات فارماکولوژیک نشان داده‌اند که عصاره سیاه‌دانه و ماده مؤثره اصلی آن تیموکینون اثرات ضد میکروبی، محافظت نورونی، محافظت قلبی، محافظت کبدی، ضد سرطانی، آنتی‌اکسیدانی و ضد دیابتی دارند (۹-۱۹). همچنین مطالعات محدودی نیز گزارش کرده‌اند که این گیاه ممکن است برخی اثرات ناخواسته نظیر درماتیت، لوکوپنی، ترومبوسیتوپنی و آسیب کبدی (در مقادیر بالا) ایجاد کند (۲۰-۲۲). از طرفی مطالعات کافی در مورد اثر احتمالی سیاه‌دانه بر بارداری انجام نشده است.

با توجه به مصرف رایج سیاه‌دانه در سراسر دنیا و به ویژه در طب سنتی ایران و عدم وجود گزارشات کافی مبنی بر بی‌ضرر بودن مصرف آن در دوران بارداری، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره آبی الکلی سیاه‌دانه بر بارداری موش صحرایی انجام شد.

## روش کار

این مطالعه از نوع حیوانی است و در سال ۱۳۹۴ انجام شد.

**تهیه عصاره خیسانده سیاه‌دانه:** سیاه‌دانه مورد استفاده در این مطالعه از واحد گیاهان دارویی داروخانه بیمارستان امام رضا (ع) مشهد خریداری شد. نمونه خریداری شده به تأیید متخصص گیاه‌شناسی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد رسید و یک نمونه از آن در هرباریوم این پژوهشکده (به شماره ۱۷۷۱۵) بایگانی شد. مقدار ۱۰۰ گرم از سیاه‌دانه توسط آسیاب پودر شد و سپس به ۴۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ اضافه شد. مخلوط فوق به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شیکر انکوباتور قرار داده شد (۲۳، ۲۴). پس از این مدت، عصاره از فیلتر واتمن شماره ۱ عبور داده شد و به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. برای جلوگیری از تأثیر الکل بر بارداری، عصاره خیسانده

مختلف شامل طول مدت بارداری، تعداد نوزادان، وزن نوزادان، درصد نوزادان نر، و درصد مرده‌زایی پس از تولد ثبت شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و سپس تست تعقیبی توکی انجام شد. نتایج به صورت خطای استاندارد  $\pm$  میانگین گزارش شدند. میزان  $p$  کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

در این مطالعه طول مدت بارداری در حیوانات گروه کنترل  $22/5 \pm 0/3$  روز بود و همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، عصاره آبی الکلی سیاه دانه تأثیر معنی داری بر طول مدت بارداری نداشت (دوز پایین  $21/9 \pm 0/1$  روز و دوز بالا  $22 \pm 0/2$  روز). همچنین در مقایسه با گروه کنترل ( $11/4 \pm 1$ )، این عصاره در دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $12/4 \pm 0/6$ ) و دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ( $11 \pm 0/7$ ) تأثیری بر تعداد نوزادان نداشت (شکل ۲). وزن نوزادان متولد شده در گروه‌های دریافت‌کننده دوز پایین و دوز بالای عصاره سیاه دانه به ترتیب  $6/6 \pm 0/3$  گرم و  $6/5 \pm 0/2$  گرم بود که نسبت به گروه کنترل ( $6/3 \pm 0/3$  گرم) تفاوتی نشان نداد (شکل ۳). نوزادان تازه متولد شده در هر سه گروه به مدت یک ماه بعد از تولد (پایان دوره شیرخواری) مورد مشاهده قرار گرفتند و تا این مدت هیچ‌گونه تغییر شکلی در اندام‌ها و یا اختلالات حرکتی و رفتاری مشاهده نشد.

در گروه کنترل درصد مرده‌زایی در موش‌های صحرایی باردار  $1/1\%$  بود (جدول ۱).

حاصل در آن ۳۷ درجه سانتی‌گراد حذف حلال شد و در نهایت عصاره خشک با بازده  $15\%$  به دست آمد.

**حیوانات مورد مطالعه:** موش‌های صحرایی نر و ماده بالغ از نژاد ویستار (۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم) از مرکز تحقیقات حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پزشکی مشهد تهیه شد. موش‌ها در شرایط استاندارد (دوره ۱۲ ساعت روشنی/تاریکی، دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد) و با رژیم غذایی مخصوص حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شدند.

**بررسی اثر سیاه دانه بر بارداری:** ابتدا موش‌های صحرایی ماده از نر جدا و برای مدت ۴ هفته دور از یکدیگر نگهداری شدند تا حیواناتی که از قبل باردار بودند مشخص شوند. سپس هر یک موش ماده با یک حیوان نر به مدت یک شب در قفس قرار داده شد. در صبح روز بعد وجود پلاک واژینال در قفس مورد بررسی قرار گرفت. حضور پلاک به معنی تأیید جفت‌گیری و احتمال حاملگی بود و آن روز به عنوان روز ۱ بارداری در نظر گرفته شد (۲۵، ۲۶). موش‌های صحرایی باردار شده به صورت تصادفی به سه گروه هشت تایی تقسیم شدند: (۱) گروه کنترل که آب و غذای معمولی دریافت می‌کردند، (۲) گروه سیاه دانه با دوز پایین که از ابتدای بارداری برای مدت ده روز معادل ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره آبی الکلی سیاه دانه به آب خوراکی آن‌ها اضافه شده بود و (۳) گروه سیاه دانه با دوز بالا که از ابتدای بارداری برای مدت ۱۰ روز معادل ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره آبی الکلی سیاه دانه به آب خوراکی آن‌ها اضافه شده بود. سپس از روز ۱۱ تا هنگام زایمان به حیوانات همه گروه‌ها آب و غذای معمولی داده شد. برای هر حیوان، متغیرهای

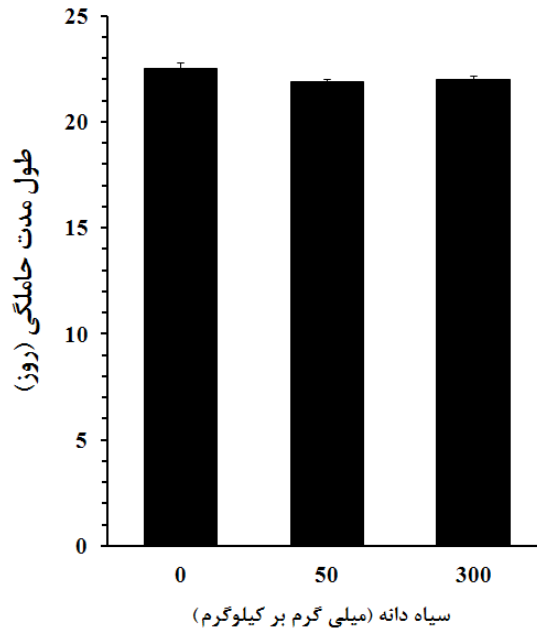
جدول ۱- اثر عصاره آبی الکلی سیاه دانه بر درصد مرده‌زایی و جنسیت نوزادان در موش صحرایی

گروه سیاه دانه		گروه کنترل	
۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۳۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۳۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۸	۸	۸	۷
۷ (۸۷/۵٪)	۸ (۱۰۰٪)	۷ (۸۷/۵٪)	۷ (۸۷/۵٪)
۱/۳٪	۰٪	۱/۱٪	۱/۱٪
$42/2 \pm 8\%$	$42/8 \pm 3\%$	$43/5 \pm 12\%$	$43/5 \pm 12\%$

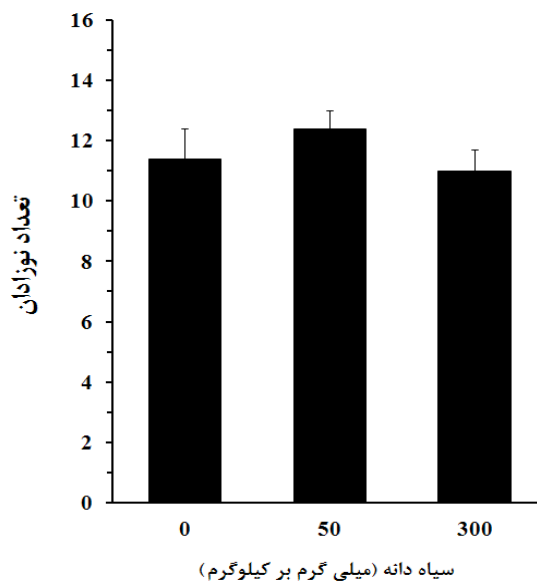
\*نتایج به صورت خطای استاندارد  $\pm$  میانگین گزارش شده است (تعداد حیوانات هر گروه = ۸).

جنسیت، در گروه های دریافت کننده عصاره حدود ۴۲٪ از نوزادان نر بودند که تفاوت معنی داری با گروه کنترل (۴۳٪) نداشت.

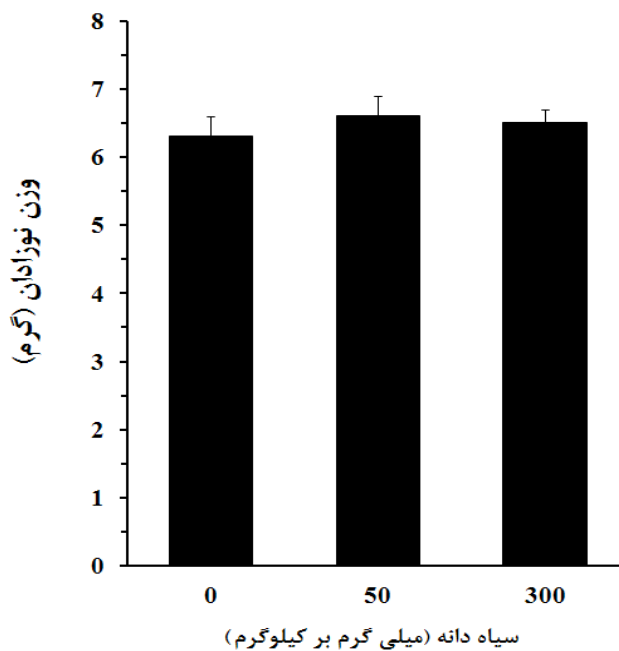
در گروه دریافت کننده ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره آبی الکلی خیسانده سیاه دانه درصد مرده‌زایی ۱/۳٪ بود. در گروه دریافت کننده ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره مرده‌زایی مشاهده نشد. از نظر



شکل ۱- تأثیر عصاره آبی الکلی سیاه دانه بر طول مدت بارداری در موش صحرایی (خطای استاندارد  $\pm$  میانگین) (تعداد حیوانات هر گروه = ۸).



شکل ۲: تأثیر عصاره آبی الکلی سیاه دانه بر تعداد نوزادان متولد شده از موش صحرایی (خطای استاندارد  $\pm$  میانگین) (تعداد حیوانات هر گروه = ۸).



شکل ۳- تأثیر عصاره آبی الکی سیاه دانه بر وزن نوزادان متولد شده از موش صحرایی (خطای استاندارد  $\pm$  میانگین) (تعداد حیوانات هر گروه = ۸).

تعداد نوزادان، وزن نوزادان، درصد مرگ نوزادان پس از تولد و نسبت جنسیت نوزادان بود. این متغیرها شاخص های اصلی هستند که در بیشتر مطالعات حیوانی برای بررسی سمیت داروها و فرآورده های گیاهی در بارداری مورد بررسی قرار می گیرند (۲۵، ۲۸، ۲۹). در مطالعه حاضر هیچ یک از این شاخص ها تحت تأثیر دوزهای ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره آبی الکی سیاه دانه قرار نگرفت. بنابراین می توان انتظار داشت که سیاه دانه با دوزهای مورد بررسی در این مطالعه، باعث زایمان پره ترم، زایمان پس ترم، افزایش مرده زایی، نوزاد کم وزن و یا نوزاد با وزن بیش از حد طبیعی نشود. همچنین نوزادان متولد شده از حیواناتی که با این دوزهای عصاره تیمار شده بودند، تا سن یک ماهگی (که در موش صحرایی پایان دوره شیردهی است) تغییر شکل اندامی و یا اختلالات حرکتی و رفتاری نشان ندادند.

در مطالعه حاضر برای تأیید جفت گیری و بارداری از روش وجود پلاک واژینال استفاده شد که در مطالعات متعددی از این روش استفاده شده است (۲۹، ۳۰، ۳۱). با این روش درصد باردار شدن حیوانات متعاقب

## بحث

اگرچه ترکیبات گیاهی منشأ طبیعی دارند و در مقایسه با داروهای شیمیایی عوارض کمتری ایجاد می کنند، اما متأسفانه این تصور نادرست در مردم ایجاد شده است که این ترکیبات عارضه جانبی مهمی ندارند. واقعیت این است که استفاده بی رویه یا غیر علمی برخی از گیاهان دارویی می تواند باعث عوارض ناخواسته و حتی مسمومیت های کشنده شود. بنابراین همانند داروهای شیمیایی، مصرف گیاهان دارویی نیز باید با آگاهی و پس از اطلاع از بی ضرری آن ها باشد. به ویژه در خصوص مادران باردار، کودکان و سالمندان مصرف داروهای گیاهی همانند داروهای شیمیایی باید با احتیاط بیشتری همراه باشد (۲۷). با توجه به مصرف زیاد سیاه دانه در سراسر دنیا و به ویژه در طب سنتی ایران، مطالعه حاضر با هدف بررسی سمیت احتمالی این گیاه بر بارداری انجام شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف خوراکی عصاره آبی الکی سیاه دانه در نیمه نخست بارداری، سمیت قابل مشاهده ای بر نوزادان متولد شده ایجاد نمی کند. متغیرهای مورد بررسی در این مطالعه شامل: طول مدت بارداری، درصد مرده زایی،

جفت‌گیری بیش از ۸۷٪ بود که این نشان می‌دهد در مطالعه حاضر نیز روش القاء بارداری به خوبی طراحی شده بود. همچنین در مطالعه حاضر در گروه کنترل طول دوره بارداری حدود ۲۲ روز و درصد نوزادان زنده متولد شده بیش از ۹۸٪ بود که مشابه نتایج مطالعه قبلی ما و گزارشات سایر نویسندگان است (۲۵، ۲۸، ۲۹).

یکی از محدودیت‌های این مطالعه این بود که عصاره سیاه دانه فقط در نیمه نخست بارداری به حیوانات داده شد و طراحی پژوهش می‌توانست به گونه‌ای باشد که عصاره در تمام طول بارداری تجویز شود. با این حال، ۱۰ روز نخست بارداری در موش صحرایی معادل دوره لانه‌گزینی و تشکیل اندام‌های جنین است که یک مرحله اساسی برای وقوع ناهنجاری‌های مادرزادی و سقط جنین توسط داروها محسوب می‌شود و بنابراین در بسیاری از مطالعات دارو را در نیمه نخست بارداری به حیوان می‌دهند (۳۲-۳۵).

اگرچه مطالعه حاضر نخستین پژوهشی بود که سمیت مصرف خوراکی عصاره آبی الکی سیاه دانه را بر بارداری مورد بررسی قرار داد، مطالعه کشری و همکاران (۱۹۹۵) نشان داد که عصاره هگزانی سیاه دانه با دوز ۲ گرم بر کیلوگرم مانع ایجاد حاملگی در موش‌های صحرایی می‌شود (۳۶). علت متفاوت بودن نتایج مطالعه کشری و همکاران با مطالعه حاضر می‌تواند استفاده از عصاره هگزانی به جای عصاره آبی الکی و نیز استفاده از دوز خیلی زیاد (۲ گرم بر کیلوگرم) توسط آن محققین باشد. از سوی دیگر در مطالعه بدر و همکاران (۲۰۱۱) تأثیر سیاه دانه بر موش‌های صحرایی دیابتی باردار و شیرده مورد بررسی قرار گرفت (۳۷). آنان دریافتند که سیاه دانه باعث بهبود عوارض دیابت در حیوانات باردار و بچه‌های متولد شده از آن‌ها شد که علت آن می‌تواند خواص آنتی‌اکسیدانی، هیپوگلیسمیک و هیپولیپیدمیک این گیاه باشد (۱۹-۱۷).

از جمله مواد فعال موجود در سیاه دانه می‌توان به تیموکینون<sup>۱</sup>، کارواکرول<sup>۲</sup>، ترپینول<sup>۳</sup> و سیمن<sup>۴</sup> اشاره

کرد (۳۸). گزارش شده است که یک بار تزریق تیموکینون با دوز ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث اختلال در تکامل جنین طی سه ماهه دوم بارداری می‌شود. این اثر در دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده نشد (۳۹). با این حال، الانزی (۲۰۰۷) گزارش کرد که تیموکینون به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی خود شیوع ناهنجاری‌های جنینی در موش‌های صحرایی دیابتی باردار را کاهش می‌دهد (۴۰). بنابراین به نظر می‌رسد لازم است مطالعات بیشتری در خصوص سمیت بارداری مواد مؤثره سیاه دانه نظیر تیموکینون انجام شود.

### نتیجه‌گیری

مصرف عصاره آبی الکی سیاه دانه در طی نیمه نخست حاملگی تا دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثر سمی بر بارداری و شاخص‌های سلامت نوزاد موش صحرایی ندارد. پیشنهاد می‌شود در این زمینه مطالعات تکمیلی برای بررسی عوارض دراز مدت سیاه دانه انجام شود.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مشهد جهت تأمین هزینه‌های مالی این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

<sup>1</sup> thymoquinone

<sup>2</sup> carvacrol

<sup>3</sup> terpineol

<sup>4</sup> Cymene

1. Calixto JB. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz J Med Biol Res* 2000; 33(2):179-89.
2. Saei Gharenaz M, Ozgoli G. Effect of medicinal plants in the treatment of primary dysmenorrhea in Iran: a review article. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2015; 18(160):14-30. (Persian).
3. Heydari L, Suhrahi Z, Sayehmiri F, Sayehmiri K. Effect of herbaceous medicines effective in hot flashes of menopause women: a systematic review and meta-analysis in Iran. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2014; 17(109):16-25. (Persian).
4. De Smet PA. Health risks of herbal remedies: an update. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 76(1):1-17.
5. Azari S, Naghizadeh S, Hemmatzadeh S, Abbasnezhad O. Reasons of using herbal medicines by pregnant women referred to Tabriz Health Centers in 2013. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2015; 18(150):1-7. (Persian).
6. De Santis M, Straface G, Carducci B, Cavaliere AF, De Santis L, Lucchese A, et al. Risk of drug-induced congenital defects. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 117(1):10-9.
7. Benkaci-Ali F, Akloul R, Boukenouche A, Pauw ED. Chemical composition of the essential oil of nigella sativa seeds extracted by microwave steam distillation. *J Essential Oil Bearing Plants* 2013; 16(6):781-94.
8. Piras A, Rosa A, Marongiu B, Porcedda S, Falconieri D, Dessì M, et al. Chemical composition and in vitro bioactivity of the volatile and fixed oils of *Nigella sativa* L. extracted by supercritical carbon dioxide. *Ind Crops Products* 2013; 46:317-23.
9. Mashhadian NV, Rakhshandeh H. Antibacterial and antifungal effects of *Nigella sativa* extracts against *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *C. albicans*. *Pak J Med Sci* 2005; 21(1):47-52.
10. Forouzanfar F, Bazzaz BS, Hosseinzadeh H. Black cumin (*Nigella sativa*) and its constituent (thymoquinone): a review on antimicrobial effects. *Iran J Med Sci* 2014; 17(12):929-38.
11. Rakhshandeh H, Vahdati-Mashhadian N. *In vitro* and *in vivo* study of the antibacterial effects of *Nigella sativa* methanol extract in dairy cow mastitis. *Avicenna J Phytomed* 2011; 1(1):29-35.
12. Alinejad B, Ghorbani A, Sadeghnia HR. Effects of combinations of curcumin, linalool, rutin, safranal, and thymoquinone on glucose/serum deprivation-induced cell death. *Avicenna J Phytomed* 2013; 3(4):321-28.
13. Babazadeh B, Sadeghnia HR, Safarpour Kapurchal E, Parsaee H, Nasri S, Tayarani-Najaran Z. Protective effect of *Nigella sativa* and thymoquinone on serum/glucose deprivation-induced DNA damage in PC12 cells. *Avicenna J Phytomed* 2012; 2(3):125-32.
14. Shafiq H, Ahmad A, Masud T, Kaleem M. Cardio-protective and anti-cancer therapeutic potential of *Nigella sativa*. *Iran J Basic Med Sci* 2014; 17(12):967-79.
15. Mollazadeh H, Hosseinzadeh H. The protective effect of *Nigella sativa* against liver injury: a review. *Iran J Basic Med Sci* 2014; 17(12):958-66.
16. Hosseini A, Ghorbani A. Cancer therapy with phytochemicals: evidence from clinical studies. *Avicenna J phytomed* 2015; 5(2):84-97.
17. Sultan MT, Butt MS, Karim R, Ahmad N, Ahmad RS, Ahmad W. *Nigella sativa* fixed and essential oil improves antioxidant status through modulation of antioxidant enzymes and immunity. *Pak J Pharm Sci* 2015; 28(2):589-95.
18. Ghorbani A. Best herbs for managing diabetes: a review of clinical studies. *Braz J Pharm Sci* 2013; 49(3):413-22.
19. Ghorbani A. Phytotherapy for diabetic dyslipidemia: evidence from clinical trials. *Clin Lipidol* 2013; 8(3):311-9.
20. Zaoui A, Cherrah Y, Mahassini N, Alaoui K, Amarouch H, Hassar M. Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. *Phytomedicine* 2002; 9(1):69-74.
21. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res* 2003; 17(4):299-305.
22. Vahdati-Mashhadian N, Rakhshandeh H, Omidi A. An investigation on LD50 and subacute hepatic toxicity of *Nigella sativa* seed extracts in mice. *Pharmazie* 2005; 60(7):544-7.
23. Shafiee-Nick R, Ghorbani A, Vafae Bagheri F, Rakhshandeh H. Chronic administration of a combination of six herbs inhibits the progression of hyperglycemia and decreases serum lipids and aspartate amino transferase activity in diabetic rats. *Adv Pharmacol Sci* 2012; 2012:1-6.
24. Ghorbani A, Hadjzadeh MA, Rajaei Z, Zendeabad SB. Effects of fenugreek seeds on adipogenesis and lipolysis in normal and diabetic rats. *Pak J Biol Sci* 2014; 17(4):523-8.
25. Olliaee D, Boroushaki MT, Olliaee N, Ghorbani A. Evaluation of cytotoxicity and antifertility effect of *Artemisia kopetdaghensis*. *Adv Pharmacol Sci* 2014; 2014:1-5.
26. Xia HF, Cao JL, Jin XH, Ma X. MiR199a is implicated in embryo implantation by regulating Grb10 in rat. *Reproduction* 2014; 147(1):91-9.
27. Ghorbani A, Rakhshandeh H. The most effective herbs for diabetes. Mashhad: Mashhad University of Medical Sciences Publisher; 2012.
28. Wan Ezumi MF, Amrah SS, Suhaimi AWM, Mohsin SS. Evaluation of the female reproductive toxicity of aqueous extract of *Labisia pumila* var. *alata* in rats. *Indian J Pharmacol* 2007; 39(1):30-2.
29. Pattanayak SP, Mazumder PM. Effect of *Dendrophthoe falcata* (L.f.) Ettingsh on female reproductive system in Wistar rats: a focus on antifertility efficacy. *Contraception* 2009; 80(3):314-20.

30. Maranghi F, De Angelis S, Tassinari R, Chiarotti F, Lorenzetti S, Moracci G, et al. Reproductive toxicity and thyroid effects in Sprague Dawley rats exposed to low doses of ethylenethiourea. *Food Chem Toxicol* 2013; 59:261-71.
31. Xu XJ, Zhang HF, Shou XJ, Li J, Jing WL, Zhou Y, et al. Prenatal hyperandrogenic environment induced autistic-like behavior in rat offspring. *Physiol Behav* 2015; 138:13-20.
32. Kong YC, Lau CP, Wat KH, Ng KH, But PP, Cheng KF, et al. Antifertility principle of *Ruta graveolens*. *Planta Med* 1989; 55(2):176-8.
33. Schaefer C, Peters PW, Miller RK. Drugs during pregnancy and lactation: treatment options and risk assessment. 3<sup>rd</sup> ed. San Diego, USA: Elsevier; 2015. P. 1-21.
34. Sun F, Akazawa S, Sugahara K, Kamihira S, Kawasaki E, Eguchi K, et al. Apoptosis in normal rat embryo tissues during early organogenesis: the possible involvement of Bax and Bcl-2. *Arch Histol Cytol* 2002; 65(2):145-57.
35. Korgun ET, Dohr G, Desoye G, Demir R, Kayisli UA, Hahn T. Expression of insulin, insulin-like growth factor I and glucocorticoid receptor in rat uterus and embryo during decidualization, implantation and organogenesis. *Reproduction* 2003; 125(1):75-84.
36. Keshri G, Singh MM, Lakshmi V, Kamboj VP. Post-coital contraceptive efficacy of the seeds of *Nigella sativa* in rats. *Indian J physiol pharmacol* 1995; 39(1):59-62.
37. Badr G , Alwasel S, Ebaid H, Mohany M, Alhazza I. Perinatal supplementation with thymoquinone improves diabetic complications and T cell immune responses in rat offspring. *Cell Immunol* 2011; 267(2):133-40.
38. Nickavar B, Mojab F, Javidnia K, Amoli MA. Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Z Naturforsch C* 2003; 58(9-10):629-31.
39. AbuKhader MM, Khater SH, Al-Matubsi HY. Acute effects of thymoquinone on the pregnant rat and embryo-fetal development. *Drug Chem Toxicol* 2013; 36(1):27-34.
40. Al-Enazi MM. Effect of thymoquinone on malformations and oxidative stress-induced diabetic mice. *Pak J Biol Sci* 2007; 10(18):3115-9.

