

بررسی کمی و کیفی آلکالوئیدهای پیرولیزیدینی در اندام‌های ریشه، برگ، گلبرگ‌ها و بذور گیاه دارویی گاو زبان ایرانی

محمد آزادبخت^۱
قربانعلی نعمت‌زاده^۱
نورالدین حسین پورآزاد^۲
احسان شگری^۳

چکیده

سابقه و هدف: آلکالوئیدهای پیرولیزیدینی دسته مهمی از سموم گیاهی هستند. تاکنون بیش از ۲۰۰ نوع از این آلکالوئیدها شناسایی شده است. گیاهان حاوی این آلکالوئیدها عامل مرگ و میر و بیماری‌زایی معنی‌داری در پستانداران از جمله انسان می‌باشند. در این مطالعه کمی و کیفیت آلکالوئیدهای پیرولیزیدینی در اندام‌های مختلف گاو زبان ایرانی (Echium amoenum Fisch. & Mey.) در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه وجود PAS به صورت کیفی در اندام‌های ریشه، برگ، گلبرگ و بذورهای گیاه گاو زبان ایرانی با استفاده از معرف اریلیخ بررسی شد. ایجاد رنگ با شدت‌های مختلف در تمامی اندام‌ها به جز در بذور این گیاه وجود PAS را ثابت کرد. هم‌چنین مقدار PAS و N-اکساید آن‌ها بر اساس سنسینونین در نمونه‌ها با روش اسپکتروفتومتری تعیین شد. این روش برای آلکالوئیدها و سایر ترکیبات که یک بخش بازی غیر اشباع (حلقه Δ- پیرولین) دارند اختصاصی است.

یافته‌ها: مجموع PAS و N-اکساید محاسبه شده در 500 میلی گرم از نمونه‌های ریشه ۰/۰۵۳-۰/۰۳۱ میلی گرم، برگ‌ها ۰/۳۶۹ میلی گرم، گلبرگ‌ها ۰/۰۲۶ میلی گرم و در بذور این گیاه مواد PAS در مقیاس قابل اندازه‌گیری مشاهده نگردید. **استنتاج:** در مقایسه با LD 50 سنسینونین (۶۴/۱۲±۲/۲۴mg/kg) و دوز سمی کشنده پیرولیزیدین آلکالوئیدها (mg/kg) ۱۶۷-۶) و دوز سمی غیر کشنده پیرولیزیدین آلکالوئیدها (۲-۲۷ mg/kg)، عملاً نمونه‌های برگ گیاه گاو زبان ایرانی توانایی ایجاد عوارض حاد حاصل از PAS را داشته و این در صورتی است که نمونه‌های بذری، گلبرگی و ریشه توانایی ایجاد این نوع از مسمومیت‌ها را ندارند. ولی در معرض قرار گرفتن طولانی مدت، حتی سطوح پایینی از PAS ممکن است باعث آسیب فزاینده‌ای به ارگان‌های بدن و باعث هپاتوکسیسیتی شود.

واژه‌های کلیدی: آلکالوئیدهای پیرولیزیدینی، گیاه، گاو زبان ایرانی

مقدمه

سرماخوردگی استفاده می‌شوند، به دلیل داشتن آلکالوئیدهای پیرولیزیدین^۱ که سمیت کبدی ایجاد

خودرو و زراعی رویش دارد(۱). گیاهان خانواده گاو زبان از قبیل گل گاو زبان اروپایی که در

1- Pyrrolizidine alkaloids

Email: gmplant21@gmail.com

مؤلف مسئول: محمد آزادبخت - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی

۱. استاد فارماکوتوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۲. استاد ژنتیک، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان

۳. کارشناس ارشد اصلاح نباتات، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان

تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۲۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۹۰/۹/۶ تاریخ تصویب: ۹۰/۱۲/۱۶

می‌کنند محدودیت مصرف یافته‌اند (۲). گلبرگ‌های خشک شده گاو زبان ایرانی به‌طور سنتی در ایران به‌عنوان تقویت‌کننده، مسکن، عرق آور و هم‌چنین به‌عنوان دارویی برای سرماخوردگی و گلودرد استفاده می‌گردد (۳). هم‌چنین این گیاه دارای بذور غنی از اسیدهای چرب ضروری سری امگا ۳ و امگا ۶ بوده که در محتویات مکمل‌های دارویی جهت پیشگیری از بیماری‌های عصبی هم‌چون ام اس (M.S) به‌کار می‌رود (۴). بیش از ۲۰۰ نوع آلکالوئید پیرولیزیدینی در بین ۶۰۰۰ گونه گیاهی حاوی PAS که ۳ درصد گیاهان گلدار جهان را شامل می‌شود شناسایی شده است (۵). پیرولیزیدین آلکالوئیدها گروهی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی بوده که در تعدادی از خانواده‌های گیاهی مانند Fabaceae, Asteraceae, Apocynaceae و Boraginaceae یافت می‌شوند (۶). PAS ها فوق‌العاده در طبیعت کمیاب می‌باشد اما این مواد را به‌اشکال مختلف می‌توان در بافت‌های گیاهی مشاهده کرد. در تعدادی از گیاهان متعلق به جنس سنسیو، هم‌چون پیر گیاه^۱، بالغ بر ۱۰۰ نوع پیرولیزیدین آلکالوئید ساختار شیمیایی مختلف هم‌چون سنسیونین وجود دارد (۷). گیاهان از این ترکیبات به‌عنوان ابزار دفاعی برای در امان ماندن از آسیب حشرات استفاده می‌نمایند (۶). عدم استفاده حشرات در مواجهه با گیاهان حاوی این مواد طی بررسی‌های مختلف نشان‌دهنده صحت این موضوع می‌باشد (۷). علی‌رغم تنوع گسترده، پیرولیزیدین آلکالوئیدها در دو فرم N-اکساید سمی و غیرسمی یافت می‌شوند که فرم N-اکساید غیرسمی، بیشترین مقدار PAS را در گیاهان تشکیل می‌دهند ذخیره این مواد به‌شکل غیر سمی گیاه را از متابولیت‌های سمی مصون می‌دارد. اما زمانی که این مواد به‌همراه محتویات گیاهی به‌وسیله موجودات گیاه‌خوار مصرف گردد در روده جانداران مصرف‌کننده تبدیل به فرم سمی گشته و در همولنف‌ها جذب می‌گردند (۸). ثابت

1. *Senecio vulgaris*

شده است میزان مرگ و میر در زنبورهایی که از مواد آلوده گیاهی به این آلکالوئیدها مصرف نموده‌اند بسیار زیاد است (۹). به‌طور کلی PASها استرهایی از ۱-متیل پیرولیزیدین هیدروکسیله بوده و پیرولیزیدین آلکالوئیدهای هپاتوکسیک استرهایی از نسین‌های غیر اشباع هستند که دارای باندهای مضاعف در موقعیت‌های ۱ و ۲ می‌باشند (۱۰). ضرورتاً PAS اولیه یا توسط استرازاها به نسین‌های غیرسمی و نسیک اسید هیدرولیز شده و یا این‌که توسط آنزیم‌های CYP450 به پیرول‌های استر هیدرولیز می‌گردند. پیرول‌های استر^۲ به واسطه واکنش‌پذیری بالایشان دارای هپاتوکسیک هستند. در حالی که پیرول‌های الکلی (APy) که واکنش‌پذیری کمتر و طول عمر بیشتری دارند از هیدرولیز Epy حاصل می‌شوند و اثرات آنتی‌میتوتیکی دارند که منجر به ضایعات موتاژنیک و کارسینوژنیک می‌گردند (۱۱). ماهیت الکتروفیلی قوی متابولیت‌های پیرول این تصور را برمی‌انگیزاند که آن‌ها بتوانند به‌راحتی با اجزاء بافتی نوکلئوفیلی مثل DNA و پروتئین‌ها واکنش داده و هم‌چنین بتوانند پروتئین‌ها را به خوبی آلکیل کنند (۱۲). گیاهان حاوی پیرولیزیدین آلکالوئیدها دارای اثرات درمانی شفابخشی نیز می‌باشند. از جمله این گیاهان پیر گیاه است که تمام قسمت‌های این گیاه اثر قاعده‌آوری قوی داشته و بندآورنده خون می‌باشد (۱۰). تاکنون چندین آلکالوئید در خانواده گاوزبان گزارش گردید اما تعداد کمی از آن‌ها مربوط به جنس اکیوم می‌باشد (۳). فراس و همکاران در عصاره متانولی استخراج شده از گیاه (*Echium glomeratom*) تعداد ۵ نوع پیرولیزیدین آلکالوئید را جدا کرده و شناسایی نمودند که ۳ نوع از آن‌ها زیر مجموعه‌هایی از پیرولیزیدین آلکالوئیدهای سه حلقه به نام‌های (7S-8R) - پترانین، (7S-7S) - پترانین و (7R-8R) - پترانین بودند. دو نوع دیگر از آن‌ها به نام‌های ۷- آنجلویل رترونسین و ۹- آنجلویل رترونسین بودند.

2. EPy

ترکیبات اخیر هر چند ترکیبات معروفی هستند اما در این گونه برای اولین بار شناسایی گردیدند (۱۳). هدف از این تحقیق اندازه گیری کمی و کیفی آلکالوئیدهای پیرولیزیدینی در اندام‌های ریشه، برگ، گلبرگ‌ها و بذور گیاه دارویی گل گاو زبان ایرانی بوده است.

مواد و روش ها

الف: نمونه گیری

در این تحقیق از اندام‌های مختلف (ریشه، برگ، گلبرگ و بذور) گل گاو زبان ایرانی رویش یافته در شهرستان نکا (روستای سوچلما) نمونه گیری انجام شد و مواد گیاهی به آزمایشگاه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انتقال یافت. پس از شناسایی توسط نویسنده اول مقاله، نمونه‌ها خشک و پودر شده و در ظروف تیره و دربسته تا زمان استفاده نگهداری گردید.

ب: شناسایی پیرولیزیدین آلکالوئیدها

جهت شناسایی پیرولیزیدین آلکالوئیدها ابتدا ۱/۵ گرم پودر نمونه‌ها با ۱۱ میلی لیتر از اسید آسکوربیک ۵ درصد و مقدار کمی ماسه مخلوط شد. بعد از تکان دادن ۸ دقیقه آنکوباسیون در دمای اتاق، مواد گیاهی صاف شده به دو قسمت نمونه و شاهد تقسیم شدند. به لوله نمونه مقدار ۱۸ میلی لیتر از معرف نیتروپروکساید سدیم ۵ درصد قلیایی شده اضافه گردید و سپس هر دو لوله نمونه و شاهد به مدت ۱۲ دقیقه در حمام آب گرم ۷۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. در نهایت معرف اریلیخ به هر دو لوله اضافه گردید و مجدداً کمی حرارت داده شد. رویت رنگ قرمز در لوله نمونه وجود PAs را تأیید می‌کند (۱۰).

ج: تعیین مقدار پیرولیزیدین آلکالوئید به روش

اسپکتروفتومتری

برای تخمین آلکالوئید یا آلکالوئید + N-اکساید، نمونه باید خشک و ترجیحاً حاوی ۳۰-۵۰ میکروگرم آلکالوئید

(یا آلکالوئید + N-اکساید) در شکل بازی باشد که به شرح زیر تهیه می‌شود ۱/۰۲۴ گرم پودر نمونه‌ها را در متانول خیسانده و با سه دور متوالی در طول یک ساعت رفلکس شد. سپس عصاره‌ها قیتر گردید و خشک شدند. به باقی مانده HCl رقیق اضافه شده، با اتر شسته می‌شود تا چربی‌ها و کلروفیل حذف گردند. بعد دو فاز دکانته گردید و فاز آبی به دو بخش مساوی تقسیم می‌شود. یک نیمه با آمونیاک قلیایی شده و به آن ۴ قسمت کلروفرم اضافه شد و فاز کلروفرمی دکانته گردید. عصاره های کلروفرمی با سدیم سولفات خشک و به حجم ۱۵ میلی لیتر رسانده شود. سپس دو حجم ۳ میلی لیتری از عصاره کلروفرمی خشک گردید. نیمه دیگر فاز آبی با گرد روی به مدت ۳۰ دقیقه احیا شده و سپس صاف می‌گردد. بقیه مراحل همان‌طور که در بخش اول ذکر شد انجام شد. ماکزیم جذب برای سنسینین که حاوی بخش بازی رترونسین است با یک انحنا مشخص در ۵۳۰ نانومتر، ۵۶۵ نانومتر می‌باشد (۱۰).

د: تعیین جذب سنسینین در نمونه‌ها

به نمونه‌ها در یک لوله آزمایش، ۵ میلی لیتر معرف اکسیداسیون اضافه شد و نیمه پایینی لوله در حمام آب جوش به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه قرار گرفت. بعد از ۱۰ دقیقه همه متانول تبخیر شد و احتیاط شد که آب در داخل لوله وارد نشود. سپس معرف دیگلیم (۱۰ ml / ۱±۰) به لوله‌ها اضافه شد و لوله مجدداً در حمام آب گرم برای ۱ دقیقه حرارت می‌دیدند در این مرحله، از هر گونه آلودگی با آب، اسیدها یا هیدروژن پروکساید پرهیز شد. سپس لوله تا درجه حرارت اتاق خنک شد و معرف اصلاح شده (۵ ml / ۱±) اضافه شد و لوله را در حمام آب (۶۰-۵۰ درجه سانتی گراد) به مدت ۴-۵ دقیقه حرارت دید تا رنگی شد. محلول خشک شده، با استون تا ۴ میلی لیتر رقیق گردید. جذب با اسپکتروفتومتری که با بلانک کالیبره شده در طول موج ۵۶۵ نانومتری خوانده شد. تهیه بلانک با تکرار دوباره

روش و حذف نمونه به دست آمد. نمونه‌های قوی را با استون اضافی رقیق شد. نمونه‌های ساخته شده به صورت سرپوشیده و در جای تاریک نگهداری گردید و یک کاهش جذبی حدود ۱/۴ درصد در هر ساعت در درجه حرارت اتاق باید در نظر گرفته شد (۱۰).

یافته ها

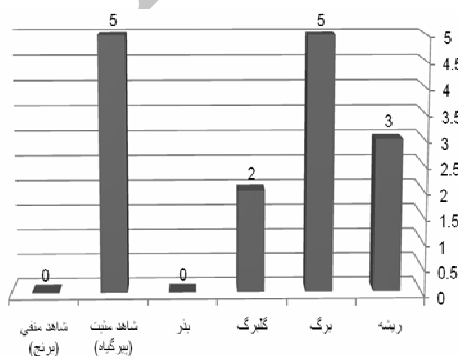
نتایج بررسی کیفی پیرولیزیدین آلکالوئیدها در اندام‌های مورد مطالعه در جدول شماره ۱ و نمودار شماره ۱ آورده شده است. با توجه به میزان متفاوت PAS در نمونه‌ها با تغییر در مقدار نمونه میزان PAS استخراج شده نیز تغییر می‌کند. بدین ترتیب نمونه‌ها از نظر رنگ حاصله یکسان نخواهند بود. در جهت مقایسه بهتر رنگ‌ها، ۴ لوله آزمایش به ترتیب رنگ، ارزش‌های ۵+، ۴+، ۳+، ۲+، ۱+ و صفر می‌گیرند (۱۰). در جدول شماره ۱ ارزش کیفی نمونه‌های ۱/۵ گرمی، ۳ گرمی، ۵ گرمی و ۸ گرمی از شاهد مثبت (پیر گیاه) و شاهد منفی (برنج) و نیز نمونه‌های مورد مطالعه آمده است. ارزش‌ها بین صفر که مربوط به برنج (شاهد منفی و عدم ایجاد رنگ قرمز) و ۵+ که مربوط به پیر گیاه (شاهد مثبت، قوی ترین رنگ قرمز) متغیر است (۱۹). که ارزش کیفی برای بذور صفر و برگ‌ها ۵+ به دست آمد. بقیه نمونه‌ها دارای ارزش از صفر تا ۵+ می‌باشند. براساس ارزش‌های کیفی به دست آمده برای نمونه‌های ۸ گرمی از گیاه گاو زبان ایرانی که در جدول شماره ۱ ارائه شده است نمودار شماره ۱ رسم می‌گردد که این ارزش را به ازای هر نمونه، شاهد مثبت و منفی به صورت ستونی نشان می‌دهد.

نتایج بررسی کمی پیرولیزیدین آلکالوئیدها و N-اکساید آن‌ها در نمونه‌های مورد مطالعه در جدول شماره ۲ آمده است. در این جدول میزان جذب در نمونه‌های احیاء شده، احیاء نشده در کلیه اندام‌های مورد مطالعه و نمونه‌های شاهد مثبت (پیر گیاه) و شاهد منفی (برنج) در طول موج ۵۶۵nm و هم چنین مقدار محاسبه شده پیرولیزیدین آلکالوئیدها و N-اکساید در نمونه‌ها

آورده شده است. میانگین وزن آلکالوئیدها در کل عصاره احیاء شده و احیاء نشده و میانگین مقدار آلکالوئید و N-اکساید آن‌ها در ۰/۵۰۰ گرم از نمونه‌ها برحسب میکرو گرم محاسبه گردید. شاهد مثبت (پیر گیاه) به همراه نمونه برگی و شاهد منفی (برنج) به همراه نمونه بذری، به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار آلکالوئید و N-اکساید را در کل موارد ذکر شده به خود اختصاص داده‌اند. به گونه‌ای که در ۵۰۰ میلی گرم از برگ برنج و پیر گیاه به ترتیب صفر و ۴۰۳/۶۹ میکرو گرم آلکالوئید و N-اکساید وجود دارد. در بین نمونه‌های گاو زبان ایرانی نیز، نمونه‌های برگی با مقدار ۳۶۹/۹ میکرو گرم آلکالوئید و N-اکساید بیشترین مقدار و نمونه‌های بذری نیز فاقد این مواد در محتویات عصاره بودند. این در صورتی بود که نمونه‌های گلبرگ دارای مقدار ۲۶/۴۲ میکرو گرم از آلکالوئید و N-اکساید در عصاره شان داشتند.

جدول شماره ۱: ارزش کیفی پیرولیزیدین آلکالوئیدها در نمونه گاو زبان ایرانی در مقایسه با نمونه شاهد

اندام مورد نظر	تعداد نمونه	ارزش کیفی نمونه ۱/۵ گرمی	ارزش کیفی نمونه ۳ گرمی	ارزش کیفی نمونه ۵ گرمی	ارزش کیفی نمونه ۸ گرمی
ریشه	۳	۱+	۱+	۳+	۳+
برگ	۳	۵+	۵+	۵+	۵+
گلبرگ	۳	۰	۰	۲+	۲+
بذر	۳	۰	۰	۰	۰
شاهد مثبت (پیر گیاه)	۳	۵+	۵+	۵+	۵+
شاهد منفی (برنج)	۳	۰	۰	۰	۰



نمودار شماره ۱: ارزش کیفی پیرولیزیدین آلکالوئیدها در نمونه اندام‌های مورد مطالعه

جدول شماره ۲: میزان پیرولیزیدین آلکالوئیدها و فرم N-اکساید آن ها در نمونه های مورد مطالعه

اندام مورد نظر	تعداد نمونه ها	متوسط جذب نمونه های احیاء شده در nm۵۶۵	متوسط جذب نمونه های احیاء نشده در ۵۶۵nm	میانگین وزن آلکالوئید احیاء شده (µg)	میانگین وزن آلکالوئید در کل عصاره احیاء نشده (µg)	میانگین مقدار آلکالوئید در ۵۰۰ میلی گرم از نمونه ها (µg)	میانگین مقدار N-اکساید در ۵۰۰ میلی گرم از نمونه ها (µg)	میانگین مقدار آلکالوئید و N-اکساید در ۵۰۰ میلی گرم از نمونه ها (µg)
ریشه	۳	۰/۷۰۸	۱/۶۰۸	۱۸۲ ± ۰/۳۵	۸۲/۳۲ ± ۰/۱۵	۱۸/۰۱۱ ± ۰/۰۹	۲۸/۷۱۲ ± ۰/۴	۴۶/۷۳۱ ± ۰/۷
برگ	۳	۱/۵۰۱	۲/۳۳۵	۲۹۴/۹ ± ۰/۹۵	۱۳۵/۶۶۳ ± ۰/۴۵	۱۷۱/۷۹ ± ۰/۴۵	۱۹۸/۱۱ ± ۰/۳۵	۳۶۹/۹ ± ۰/۸۵
گلبرگ	۳	۰/۰۸۵	۰/۱۷۵	۲۱/۲۵ ± ۰/۰۱	۹/۷۲ ± ۱/۰۱	۱۰/۲۳ ± ۰/۰۱	۱۶/۰۱ ± ۰/۰۱	۲۶/۴۲ ± ۰/۰۵
بذر	۳
شاهد مثبت	۳	۱/۳۳۳	۲/۹۸۱	۳۳۰/۷۵ ± ۰/۹	۱۶۵/۶۱ ± ۰/۶۵	۱۷۴/۳۳ ± ۰/۹	۲۲۹/۳۶ ± ۰/۸	۴۰۳/۶۹ ± ۱
شاهد منفی	۳

بحث

علایم بالینی به صورت ناگهانی اتفاق می افتد (۱۶،۱۸). به علت عدم آگاهی مردم از سمیت گیاهان حاوی آلکالوئیدهای پیرولیزیدینی، تعداد قابل توجهی از این گیاهان از جمله گل گاو زبان به صورت های مختلف به عنوان گیاهان دارویی و برخی از آن ها به عنوان سبزی و سالاد استفاده می گردند. به علاوه این که حضور این آلکالوئیدها در محصولات دامی هم چون شیر و عسل به علت اهمیت بهداشتی بایستی بیشتر مورد توجه قرار گیرد. به نظر می رسد با توجه به این که گل گاو زبان ایرانی از جمله گیاهان دارویی پر مصرف در کشور می شود و زمینه مصارف خانگی و صنعتی آن رو به افزایش است، تحقیقات و ملاحظات بالینی بیشتری بایستی در خصوص شناسایی عصاره های آلکالوئیدی و به ویژه ترکیبات پیرولیزیدینی به عمل آید (۴).

سپاسگزاری

هزینه این پروژه از طرف معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین گردید بدین وسیله نهایت تشکر را داریم. هم چنین از پرسنل محترم آزمایشگاه فارماکو گنوزی دانشکده داروسازی و کارکنان محترم پژوهشکده ژنتیک و زیست فن آوری کشاورزی تبرستان به جهت مساعدت در اجرای این پروژه سپاسگزاریم. نویسندگان بر خود لازم می دانند از اهالی محترم روستای سوچلما که در جمع آوری نمونه های گیاهی مساعدت نمودند تشکر نمایند.

هوپر ۱۹۳۷، رادوستیس و همکاران ۲۰۰۰ در تحقیقی نشان دادند میزان آلکالوئیدهای سمی که باعث ایجاد عفونت کبدی می شوند در برگ های خشک گیاه گاو زبان^۱ رقم ناچیزی در حدود ۱۰ ppm می باشد این محققین هم چنین عمده ترین آلکالوئیدهای غیرسمی در برگ را لکوپسامین، آمابیلین و تسینین شناسایی کردند و گزارش نمودند در بذور این گیاه تنها دو نوع آلکالوئید تسینین و آمابیلین به نسبت ۱ به ۱۰ وجود دارد و هیچ اثری از این آلکالوئیدها در محتوی روغن بذر دیده نمی شود (۱۸،۱۷). تحقیق حاضر نشان داد که در مقایسه با LD ۵۰ سنسیونین (۶۴/۱۲ ± ۲/۲۴ mg/kg)، دوز سمی کشنده پیرولیزیدین آلکالوئیدها (۶-۱۶۷ mg/kg) و دوز سمی غیر کشنده پیرولیزیدین آلکالوئیدها (۲-۲۷ mg/kg) (۱۶)، عملاً نمونه های برگ گیاه گاو زبان ایرانی توانایی ایجاد عوارض حاد حاصل از PAS را دارد به طوری که نمونه های بذری، گلبرگی و ریشه توانایی ایجاد این نوع از مسمومیت ها را ندارند. ولی در معرض قرار گرفتن طولانی مدت حتی با سطوح پایینی از PAS ممکن است آسیب فرآیندهای به ارگان های بدن وارد نماید و باعث عوارض هیپاتو کسیتی شوند. آسیب کبدی منجر به مرگ در زنی که مقادیر زیادی mat-tea را به مدت طولانی نوشیده بود گزارش شد (۱۷). اگر چه در بیشتر موارد ضایعات حاصل از مسمومیت با آلکالوئیدهای پیرولیزیدینی به آرامی و پس از مصرف مداوم به مدت بیش از چند روز یا چند هفته ایجاد می شود ولی ظهور

1- Borago officinalis

References

1. Hosseinpour Azad N., Nematzadeh Gh.A., Azadbakht M., Kazemitabar S.K. and Shokri E. Genetic diversity in several *Echium amoenum* Fisch & Mey. ecotypes from western and northern regions of Iran via RAPD markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 2011; Vol. 19, No. 1.
2. Azadbakht M. Medical plants classification. Tehran: teimorzadeh cultural publication 1999; page 153-255.
3. Boppre M., S.M. Colegate and J.A. Edgar, Pyrrolizidine alkaloids of *Echium vulgare* honey found in pure pollen, J. Agric. Food. Chem 2005; pp. 594–600.
4. Hosseinpour azad N. Investigation on genetic diversity of (*Echium amoenum* Fisch.&Mey.) via RAPD markers & gammalinolenic acid diversity trough TLC. M.Sc thesis of plant breeding. Faculty of agriculture, Mazandaran university 2009
5. Stegelmeier B., Gardner D., Davis T. The Toxicity of Pyrrolizidine Alkaloid-Containing Plants and Other Hepatotoxic and Neurotoxic Plants. Rangelands. Peer Reviewed Journal. 2009;31(1):25-37.
6. Siciliano, Tiziana et al. Pyrrolizidine alkaloids from *Anchusa strigosa* and their antifeedant activity. Phytochemistry 2005;66:1593-1600
7. Marcel, Mirka et al. Differences in effects of pyrrolizidine alkaloids on five generalist insect herbivore species. Journal of Chemical Ecology. 2005;31(7):1493-1508.
8. Dominguez, Dulce M. et al. Pyrrolizidine Alkaloids from Canarian endemic plants and their biological effects. Biochemical Systematics and Ecology. 2007;36:153-166
9. Reinhard, Annika et al. Feeding deterrence and detrimental effects of pyrrolizidine alkaloids fed to honey bees (*Apis mellifera*). Journal of Chemical Ecology. 2009; 35:1086-1095.
10. Forutan Gh. R. Studing on separation and determination of Alkaloid structure in *Helioropium ramosissimum* from Boraginaceae family. thessis of pharmacy, Tehran university 1996; 3611 No
11. Prakash A. S. Pyrrolizidin alkaloids in human diet, MR. 1999; 443.pp 53-67.
12. Robertson K. A. Covalent interaction of dehydroretronecin a carsiogenic metabolite of the pyrrolizidin alkaloid monocrotalin, with cisteine and glutathion cancer Res. 1977; pp 3141-3144
13. Feras Q., Alali a., Yahya R., Tahboub b., Eyad S., Ibrahim b., Amjad M., Qandil a., Khaled Tawaha c., Jason P., Burgess d., Arlene Sy d.,Yuka Nakanishi d, David J. Kroll d., Nicholas H. Oberlies. Pyrrolizidine alkaloids from *Echium glomeratum* (Boraginaceae). Phytochemistry 2008;69 (2008) 2341–2346.
14. Awang v.C., The Information Base for safety assessment of Botanicals. cited in Eskinazi D. (ed) "Botanical Medicine", Mary Anne Liebert inc Pub.,1999
15. Langer T., Franz Ch., "Pyrrolizidine alkaloids in commercial samples of borage seed oil products by GC-MS", Scientia Pharmaceutica 1997 65:4 (321-328).
16. Dart R. C: The 5 Minute toxicology consult, U.S.A, LW&W, 2000; pp.610-611
17. Hooper D. Useful plants and drugs of Iran and Iraq. Chicago: Field Museum of Natural History 1937; p. 115.

18. Radostits, O.M., Gay, C.G., Blood, D.C. and Hinchcliff, K.W. a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses, 9th ed. W. B. saunders company, New York 2000; PP: 1661-1664
19. Azadbakht M, Talavaki M. Qualitative and Quantitive determination of pyrrolizidine alkaloids of wheat and flour contaminated with Senecio in Mazandaran province farms. IJPR (Iranian journal of pharmaceutical Research) Vol. 2, No.3, 2003; P.179- 183.

Archive of SID