ORIGINAL ARTICLE

Quantitative and Qualitative Investigation of Pyrrolyzidine Alkaloids in Roots, Leaves, Petals and Seeds of Iranian Echium Amoenum Fisch. & Mey.

Mohamad Azadbakht[1],
Ghorban Ali Nematzadeh[2],
Nurodin Hosseinpour Azad[2],
Ehsan Shokri[2]

[1] Traditional and Complementary Medicine Research Center, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Department of Genetic, Institute of Genetic & Agricultural Biotechnology of Tabarestan, Sari, Iran

(Received October 17, 2011 ; Accepted March 6, 2012)

Abstract

Background and purpose: Pyrrolizidin alkaloeids (PAs) are the main gorupes of plant toxin and so far 200 types of them have identified. Plants containing these alkaloeids are known to be significant causes of death and disease in mammals such as humans. This research was conducted to assess the PAs quality and quantity in different organs of iranian *Echium amoenum.*

Materials and methods: PAs presence was considered in root, petal, leaves and seed by Erlich reagent. Color appearance in extracts solation approves the existence PAs in all parts of the organs except in seeds. Also, regarding senecionin in samples extract, the quantities of PAs and N-oxide were determined. This method is specific for alkaloids and other components with a non- basic unsaturated part (Δ- Pirolin ring).

Results: The total amount of PAs and N-oxide found in 500 mg of root sample was 0.031-0.053 mg, 0.369 mg in leaves, and 0.026 mg in petals. In contrast, measurable Pas was not found in seeds.

Conclusion: Compaired to senecionin LD_{50} (64.12 ± 2.24 mg/kg) and pyrroliziding alkaloeids lethal doses (2-27 mg/kg), leaf samples of Iranian *Echium amoenum* extracts are potentially toxic due to the high amount of PAs, whereas, the seed, petal and root samples are not toxic. However, using such for long period, even at low level, could be dangerouse for body organs and cause hepatotoxical disease.

Key words: *Echium amoenum,* pyrolizidine alkaloeid, senecionin, spectrophotometry

J Mazand Univ Med Sci 2012; 22(Supple 1): 131-137 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و یکم ویژه نامه ۱ اسفند سال ۱۳۹۰ (۱۳۷-۱۳۱)

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

محمد آزادبخت[1]
قربانعلی نعمت‌زاده[2]
نورالدین حسین پورآزاد[2]
احسان شکری[2]

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. کمیت 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 بذرهای گیاه گاو زبان ایرانی با استفاده از معرف ارلیخ بررسی شد. ایجاد رنگ با شدت‌های مختلف در تمامی اندام‌ها به جز در بذور این گیاه وجود PAs را ثابت کرد. هم چنین مقدار PAs و N-اکساید آن‌ها بر اساس سنسیونین 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 میلی‌گرم، برگ‌ها ۰/۳۶۹ میلی‌گرم، گلبرگ‌ها ۰/۰۲۶ میلی‌گرم و در بذور این گیاه مواد PAs در مقیاس قابل اندازه‌گیری مشاهده نگردید.

استنتاج: در مقایسه با LD 50 سنسیونین (۶۴/۱۲±۲/۲۴mg/kg) و دوز سمی کشنده پیرولیزیدین آلکالوئیدها (۱۶۷-۶ mg/kg) و دوز سمی غیرکشنده پیرولیزیدین آلکالوئیدها (۲۷-۲ mg/kg)، عملاً نمونه‌های برگی 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 هپاتوکسیسیتی شود.

واژه‌های کلیدی: آلکالوئیدهای پیرولیزیدینی، گیاه، گاو زبان ایرانی

مقدمه

خودرو و زراعی رویش دارد(۱). گیاهان خانواده گاو زبان از قبیل گل گاو زبان اروپایی که در سرماخوردگی استفاده می‌شوند، به دلیل داشتن آلکالوئیدهای پیرولیزیدین[1] که سمیت کبدی ایجاد

1. Pyrrolizidine alkaloids

مولف مسئول: محمد آزادبخت- ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی Email: azadbakhtm@hotmsil.com
۱. مرکز تحقیقات طب سنتی و مکمل، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۲. گروه ژنتیک، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
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 هم چنین به‌عنوان دارویی برای سرماخوردگی و گلودرد استفاده می‌گردد(۳). هم‌چنین این گیاه دارای بذور غنی از اسیدهای چرب ضروری سری امگا ۳ و امگا۶ بوده که در محتویات مکمل‌های دارویی جهت پیشگیری از بیماری‌های عصبی هم چون 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 می شود 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 فوق العاده در طبیعت کمیاب می‌باشد اما این مواد را به اشکال مختلف می‌توان در بافت‌های گیاهی مشاهده کرد. در تعدادی از گیاهان متعلق به جنس سنسیو، هم چون پیرگیاه[1]، بالغ بر ۱۰۰ نوع پیرولیزیدین آلکالوئید ساختار شیمیایی مختلف هم چون سنسیونین وجود دارد(۷). گیاهان از این ترکیبات به عنوان 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 می باشد(۷). علی رغم 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 به شکل غیر سمی گیاه را از متابولیت‌های سمی مصون می دارد. اما زمانی که این مواد به همراه محتویات گیاهی به‌وسیله موجودات گیاه خوار مصرف گردد در روده جانداران مصرف کننده تبدیل به شکل سمی گشته و در همولنف‌ها جذب می‌گردند(۸). ثابت 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 استرازها به نسین‌های غیرسمی و نسیک اسید هیدرولیز شده و یا این‌که توسط آنزیم‌های CYP450 به پیرول‌های استر هیدرولیز می‌گردند. پیرول‌های استر[2] به واسطه واکنش‌پذیری بالایشان دارای هپاتوکسیک هستند. در حالی‌که پیرول‌های الکلی (APy) که واکنش‌پذیری کمتر و طول عمر بیشتری دارند از هیدرولیز Epy حاصل می‌شوند و اثرات آنتی میتوتیکی 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 هم چنین بتوانند پروتئین‌ها را به خوبی آلکیله 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، (8S-7S)- پترانین و (7R-8R)- پترانین بودند. دو نوع دیگر از آن‌ها به نام‌های ۷- آنجلویل رترونسین و ۹- آنجلویل رترونسین بودند.

1. Senecio vulgaris

2. EPy

ترکیبات اخیر هر چند ترکیبات معروفی هستند اما در این گونه برای اولین بار شناسایی گردیدند(۱۳). هدف از این تحقیق اندازه‌گیری 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) نمونه‌گیری انجام شدو 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 میلی‌لیتر از اسید آسکوربیک ۵ درصد و مقدار کمی ماسه مخلوط شد. بعد از تکان دادن ۸ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، مواد گیاهی صاف شده به دو قسمت نمونه و شاهد تقسیم شدند. به لوله نمونه مقدار ۱۸ میلی‌لیتر 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 سانتی‌گراد قرار گرفت. در نهایت معرف ارلیخ 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 ۳۰µg-۵ 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 رفلاکس شد. سپس عصاره‌ها فیلتر گردید و خشک شدند. به باقی‌مانده 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 میلی‌لیتر رسانده شود. سپس دو حجم ۳ میلی‌لیتری از عصاره کلروفرمی خشک گردید. نیمه دیگر فاز آبی با گرد روی به مدت ۳۰ دقیقه احیا شده و سپس صاف می‌گردد. بقیه مراحل همان‌طورکه در بخش اول ذکر شد انجام شد. ماکزیمم جذب برای سنسیونین که حاوی بخش بازی رترونسین است با یک انحنا مشخص در ۵۳۰ نانومتر، ۵۶۵ نانومتر می‌باشد(۱۰).

د: تعیین جذب سنسیونین در نمونه‌ها

به نمونه‌ها در یک لوله آزمایش، ۵ میلی‌لیتر 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 ± ۰/۱) 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 سانتی‌گراد) به مدت ۵-۴ 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 به‌دست آمد. نمونه‌های قوی را با استون اضافی رقیق شد. نمونه‌های ساخته شده به‌صورت سرپوشیده و در جای تاریک نگهداری گردید و یک کاهش جذبی حدود ۱/۴ درصد در هر ساعت در درجه حرارت اتاق در نظر گرفته شد(۱۰).

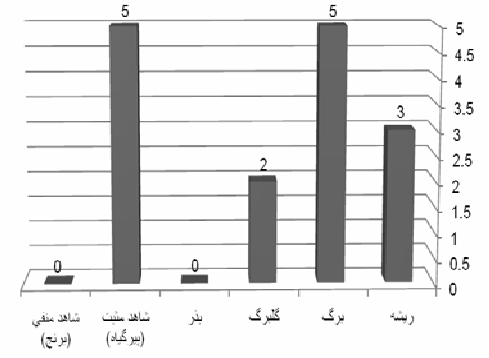
یافته ها

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 نمونه های ۱/۵ گرمی، ۳ گرمی، ۵ گرمی و ۸ گرمی از شاهد مثبت (پیرگیاه) و شاهد منفی (برنج) و نیز نمونه اندام‌های مورد مطالعه آمده است. ارزش ها بین صفر که مربوط به برنج (شاهد منفی و عدم ایجاد رنگ قرمز) و ۵+ که مربوط به پیرگیاه (شاهد مثبت، قوی ترین رنگ قرمز) متغیر است(۱۹). که ارزش کیفی برای بذور صفر و برگ ها ۵+ به‌دست آمد. بقیه نمونه ها 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 می گردد 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 (پیرگیاه) 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 میکروگرم محاسبه گردید. شاهد مثبت (پیرگیاه) 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 میلی‌گرم از برگ برنج و پیر گیاه به ترتیب صفر و ۴۰۳/۶۹ میکروگرم آلکالوئید و N- اکساید وجود دارد. در بین نمونه‌های گاو زبان ایرانی نیز، نمونه‌های برگی با مقدار ۳۶۹/۹ میکروگرم آلکالوئید و N- اکساید بیشترین مقدار و نمونه های بذری نیز فاقد این مواد در محتویات عصاره بودند. این در صورتی بود که نمونه‌های گلبرگ دارای مقدار ۲۶/۴۲ میکروگرم 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 (پیرگیاه)	۳	+۵	+۵	+۵	+۵
شاهد منفی(برنج)	۳	۰	۰	۰	۰



نمودار شماره ۱: ارزش کیفی پیرولیزیدین آلکالوئیدها در نمونه اندام های 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 nm۵۶۵	میانگین وزن آلکالوئید در کل عصاره 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	۲/۳۲۵	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	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
شاهد مثبت	۳	۱/۳۲۳	۲/۹۸۱	۳۳۰/۷۵ ±۰/۹	۱۶۵/۶۱ ±۰/۶۵	۱۷۴/۳۳ ±۰/۹	۲۲۹/۳۶ ±۰/۸	۴۰۳/۶۹ ±۱
شاهد منفی	۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

بحث

هوپر ۱۹۳۷، رادوستیس و همکاران ۲۰۰۰ در تحقیقی نشان دادند میزان آلکالوئیدهای سمی که باعث ایجاد عفونت کبدی می‌شوند در برگ‌های خشک گیاه گاو زبان[1] رقم ناچیزی در حدود ۱۰ ppm، می‌باشد این محققین هم‌چنین عمده‌ترین آلکالوئیدهای غیرسمی در برگ را لکوپسامین، آمابیلین و تسینین شناسایی کردند و گزارش نمودند در بذور این گیاه تنها دو نوع آلکالوئید تسنین و آمابیلین به نسبت ۱ به ۱۰ وجود دارد و هیچ اثری از این آلکالوئیدها در محتوی روغن بذر دیده نمی‌شود(۱۸،۱۷). تحقیق حاضر نشان داد که در مقایسه با LD ۵۰ سنسیونین (۶۴/۱۲±۲/۲۴mg/kg)، دوز سمی کشنده پیرولیزیدین آلکالوئیدها (۱۶۷ mg/kg-۶) و دوز سمی غیرکشنده پیرولیزیدین آلکالوئیدها (۲۷ mg/kg-۲) (۱۶)، عملاً نمونه‌های برگی گل گاو زبان ایرانی توانایی ایجاد عوارض حاد حاصل از PAs را دارد به‌طوری‌که نمونه‌های 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 فزآینده‌ای به ارگان‌های بدن وارد نماید و باعث عوارض هپاتوکسیسیتی 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 علایم بالینی به صورت ناگهانی اتفاق می‌افتد(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 صورت‌های مختلف به عنوان گیاهان دارویی و برخی از آن‌ها به عنوان سبزی و سالاد استفاده می‌گردند. به علاوه این‌که حضور این آلکالوئیدها در محصولات دامی هم چون شیر و عسل به علت اهمیت بهداشتی بایستی بیشتر مورد توجه قرار گیرد. به نظر می‌رسد با توجه به این‌که گل گاو زبان ایرانی از جمله گیاهان دارویی پر مصرف در کشور می‌شود و زمینه مصارف خانگی و صنعتی آن رو به افزایش است، تحقیقات و ملاحظات بالینی بیشتری بایستی درخصوص 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 بدین‌وسیله نهایت تشکر را داریم. هم‌چنین از پرسنل محترم آزمایشگاه فارماکو گنوزی دانشکده داروسازی و کارکنان محترم پژوهشکده ژنتیک و زیست فن‌آوری کشاورزی تبرستان به جهت مساعدت در اجرای این پروژه سپاسگزاریم. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از اهالی محترم روستای سوچلما که در جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی مساعدت نمودند تشکر نمایند.

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. Factuly 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 antifeedan 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 Alkaloeid structure in *Helioropium ramosissimum* from Boraginaceae family. thessis of pharmacy, Tehran university1996; 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 pyrolizidin alkaloid monocrotalin, with cicteine 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 deseases 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 alkaloeids 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.