

بررسی ترکیبات فرار در گلبرگ و پیکره رویشی و ترکیبات شیمیایی روغن دانه گاوزبان اروپایی

استحصال شده توسط روش Cold Press

اسفندیار حسنی مقدم^{1,2}، علیرضا غیاثوند³، محمد برزویی⁴، مریم البرزیی⁴، بهرام دلفان⁵ و بهروز عزت پور¹

- 1- مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
- 2- محقق باغبانی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان
- 3- استاد شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان
- 4- کارشناسی ارشد شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان
- 5- دانشیار فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

یافته / دوره یازدهم / شماره 5 / زمستان 88 / ویژه نامه گیاهان دارویی

چکیده

مقدمه: با توجه به بررسی‌های صورت گرفته تحقیقات اندکی در مورد ترکیبات فرار گیاه گاوزبان اروپایی گزارش شده است. هدف از انجام این تحقیق بررسی ترکیبات فرار موجود در پیکره رویشی، گلبرگ و روغن دانه این گونه در استان لرستان می‌باشد. مواد و روش‌ها: استخراج اسانس از گلبرگ‌ها به روش تقطیر با آب مقطر و با دستگاه کلونجر انجام شد. آنالیز و شناسایی ترکیبات فرار گلبرگ با استفاده از دستگاه GC/MS صورت پذیرفت. استخراج و شناسایی ترکیبات فرار پیکره رویشی با استفاده از روش جدید SPME صورت گرفت. استخراج روغن دانه با استفاده از روش Cold-Press انجام شد. سپس شناسایی و اندازه‌گیری ترکیبات روغن توسط دستگاه GC/MS انجام گردید.

یافته‌ها: در گلبرگ‌ها فقط ترکیب کارواکرول، در پیکره رویشی سه ترکیب بتا یونن، تترادکان و دکانال و در روغن دانه گاوزبان 16 ترکیب استخراج و شناسایی شد. مهمترین ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده روغن دانه گاوزبان اروپایی شامل، ان-ان-دی متیل اتانول آمین، بتا دی گلیکوزید 3-6-گلوکوروبونو متیل، بنزالدهید-4 متیل، 3-هیدروکسی تترافوران، هگزادکانونیک اسید، هپتانوئیک اسید، گاما بوتیرولاکتون و اتیل اکتا دک 9- انوات می‌باشند. این ترکیبات 63,4 درصد از کل ترکیبات روغن بذر را تشکیل داده است و 7 ترکیب باقی مانده فقط 9,5 درصد از کل ترکیبات شیمیایی روغن بذر را شامل می‌شود. همچنین یک ترکیب ناشناخته (27,1 درصد) در روغن دانه گاوزبان اروپایی شناسایی گردید.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق مواد فرار درصد کمی از ترکیبات گلبرگ و پیکره رویشی گیاه دارویی گاوزبان اروپایی را تشکیل داده است. همچنین روش Cold-Press یک روش سریع و ساده برای استخراج و شناسایی ترکیبات شیمیایی روغن دانه گیاهان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گاوزبان اروپایی، ریز استخراج با فاز جامد، Cold Press، کرما توگرافی گازی - طیف نگار جرمی

آدرس مکاتبه: خرم آباد، بلوار کشاورزی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان

پست الکترونیک: es_hassanimoghadam@yahoo.com

مقدمه

گاوزبان اروپایی با نام علمی *Borago officinalis* L. و نام انگلیسی Borage متعلق به خانواده Boraginaceae می‌باشد. این گیاه یکساله علفی و کرکدار است که ارتفاع آن 70 الی 100 سانتیمتر می‌رسد. ساقه‌های آن مستقیم، توخالی و پوشیده از تارهای خشن است. برگ‌های آن منفرد و ساده بوده و همچنین کاسه و جام گل پنج قسمتی می‌باشد. مادگی داری تخمدان فوقانی است و پس از رسیدن و رشد به میوه‌ای با 3 تا 4 بذر تبدیل می‌شود. بذور رسیده تیره رنگ هستند (1-2-3-4-5). گاوزبان اروپایی دارای مقدار جزئی اسانس، موسیلاژ، صمغ، تانن، املاح منگنز، منیزیم و مواد معدنی دیگر است. در بذور گاوزبان، روغن مرغوبی وجود دارد که حدود 23 درصد آن لینولئیک اسید است. گامالینولئیک اسید بعنوان یکی از اسیدهای چرب نادر، دارای خواص دارویی فراوانی می‌باشد (6). تحقیقات بالینی موثر بودن مصرف مکمل‌های غذایی حاوی گامالینولئیک اسید در درمان بیماریهایی نظیر اگزمای موضعی، دیابت‌ها، عفونت‌های ویروسی و بعضی سرطان‌ها را نشان داده است. گامالینولئیک اسید بعنوان مکمل غذایی و جهت بهبود و درمان بیماریهای قلبی (آترواسکلروزیس یا تصلب شرایین) و بیماری MS استفاده می‌شود (7-8). از روغن بذر گاوزبان اروپایی جهت درمان اگزما استفاده می‌شود همچنین این روغن ضد التهاب کلیه و مثانه نیز می‌باشد (6-9-10). عصاره های گاوزبان با داشتن خواص آنتی اکسیدانی قابل استفاده در فرمولاسیون های غذایی و نیز محصولات بهداشتی پوست هستند که می‌توانند طول موج ماورائ بنفش نور خورشید را جذب کنند (11).

در طب سنتی مواد موثره موجود در گلها و سرشاخه های گاوزبان اروپایی برای تصفیه خون، نرم کنندگی سینه، تقویت قلب، به عنوان مدر، معرق، آرام بخش استفاده می‌گردد

(12). همچنین گاوزبان در طب سنتی در درمان التهاب و آماس، سرفه و سایر مشکلات تنفسی توصیه شده است (13). لازم به ذکر است که در این گیاه آلکالوئید پیرولیزیدین وجود دارد. این ماده به صورت مجزا برای کبد سمی است و باعث شده امروزه از این گیاه کمتر استفاده شود (14-15).

قناعت (16) دو نوع گیاه بومی ایران به نام های گل عسلی طنناز *Anchusa officinalis* L. و گل گاوزبان ایرانی را مورد بررسی آنالیزهای فیتوشیمی قرار داد. استخراج اسانس در این گیاهان را به روش تقطیر با آب مقطر انجام داد. برای اسانس گل عسلی طنناز 20 ترکیب و برای گاوزبان ایرانی 28 ترکیب جداسازی و شناسایی گردید. در این بررسی مهمترین ترکیبات گل عسلی طنناز عبارتند از آلفا یودسمول، بتا یودسمول، گاما یودسمول، و لیمونن، و مهمترین ترکیبات در گاوزبان ایرانی اسپاتولول، آلفا پینن و جرمکین دی اعلام گردیدند.

اسانس‌ها روغن‌های معطری هستند که در بسیاری از گیاهان وجود دارند. این ترکیبات در اندام‌های مختلف گیاهان یافت می‌شوند و از نظر ترکیبات شیمیایی همگن نیستند (10-17-18). اسانس‌های از نظر کمیت و کیفیت و همچنین اجزاء و عناصر تشکیل دهنده از اندامی به اندام دیگر متفاوت باشند. لذا یکی از مهمترین مسائل گیاهان دارویی مطالعه و تحقیق در مورد مواد فرار موجود در اندام‌های مختلف یک گیاه و مقایسه آنها از نظر کمیت و کیفیت با یکدیگر است (17 و 18).

تکنیک SPME¹ به طور گسترده‌ای برای جداسازی و پیش تغلیظ محدوده بزرگی از آنالیت‌ها در نمونه‌های مختلف بکار گرفته شده است. مواد فرار، معطر و ادویه‌ای از نمونه‌های هستند که تکنیک SPME برای آنها به طور ویژه‌ای استفاده شده است. این نمونه‌ها بطور کلی دارای ترکیباتی هستند که در مقابل گرما و اکسیداسیون و فتولیز ساختارشان تغییر

1. Solid Phase Micro Extraction.

دانه‌ها در اوایل تیر ماه سال 1387 و در مرحله رسیدن کامل از مزرعه جمع‌آوری و پس از خشک کردن در دمای اتاق جهت انجام آنالیزهای مورد نظر به آزمایشگاه تجزیه دستگاهی دانشگاه لرستان منتقل گردیدند.

اسانس‌گیری

برای اسانس‌گیری از 30 گرم نمونه گلبرگ خشک شده استفاده شد. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب مقطر و توسط دستگاه کلونجر به مدت دو ساعت انجام گردید. پس از این مدت روغن اسانسی بی رنگ و به صورت لایه‌ای مجزا روی آب تشکیل شد. که با سرنگ کاملاً تمیز از لوله آزمایش خارج و به شیشه مات منتقل شد. اسانس به دست آمده با استفاده از سولفات سدیم آب‌گیری شد و تا شروع مراحل تزریق به دستگاه GC/MS در یخچال با دمای 4 درجه سانتیگراد نگهداری گردید.

آنالیز و شناسایی ترکیبات اسانس روغنی

جداسازی و اندازه‌گیری ترکیبات توسط کروماتوگرافی گازی Shimadzu، مدل 17A صورت گرفت. جداسازی ترکیبات در ستون موئین Fused silica از نوع DBX-5 با قطر داخلی 0/22 میکرومتر و ضخامت فیلم نازک 0/25 میکرومتر به طول 30 متر انجام گرفت. از گاز هلیوم با خلوص 99/999% به عنوان گاز حامل استفاده شد. برای جداسازی ترکیبات اسانس از برنامه دمایی زیر استفاده شد: ابتدا دما از 40 درجه سانتیگراد با سرعت 4 درجه سانتیگراد بر دقیقه به دمای 200 درجه سانتیگراد و سپس از 200 درجه سانتیگراد با سرعت 40 درجه سانتیگراد بر دقیقه به دمای 280 درجه سانتیگراد رسانده شد. در دمای 280 درجه به مدت 3 دقیقه ثابت نگه داشته شد. دمای آشکار ساز 260 درجه سانتیگراد، دمای محل تزریق 260 درجه سانتیگراد، نسبت شکافت 1:40 و سرعت جریان گاز هلیوم به داخل ستون 0/8 میلی لیتر بر دقیقه

می‌کند. این فرآیندهای نامطلوب طی تکنیک SPME کاهش می‌یابد که این امر مربوط به سادگی آماده‌سازی نمونه در این روش می‌باشد (19 و 20).

با توجه به بررسی‌های صورت گرفته تا کنون هیچ‌گونه گزارشی در مورد استخراج و شناسایی ترکیبات فرار موجود در پیکره رویشی، گلبرگ و ترکیبات موجود در روغن دانه گاوزبان اروپایی در شرایط آب و هوایی استان لرستان وجود ندارد. هدف از انجام این تحقیق، بررسی ترکیبات فرار گلبرگ و پیکره رویشی، همچنین استحصال و شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در روغن دانه‌های گاوزبان اروپایی در شرایط اقلیمی استان لرستان می‌باشد.

مواد و روشها

جمع‌آوری و خشک کردن نمونه‌های گیاهی

جهت دستیابی به اندام‌های مختلف (گلبرگ، پیکره رویشی و دانه) بذره‌های گاوزبان اروپایی از بانک ژن پژوهشکده گیاهان دارویی تهیه و در اسفند ماه سال 1386 اقدام به کشت آن در مزرعه تحقیقاتی گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی لرستان (دانشکده بهداشت - گلدشت) گردید. این منطقه دارای آب و هوای مدیترانه‌ای و تابستان گرم و خشک و زمستان‌های نسبتاً سرد می‌باشد. حداقل درجه حرارت سالانه در ماه‌های دی و بهمن 14- درجه سانتی‌گراد و حداکثر درجه حرارت در ماه‌های تیر و مرداد 44 درجه سانتی‌گراد گزارش شده است. ارتفاع از سطح دریا مزرعه، 1200 متر می‌باشد. خاک مزرعه دارای بافت لومی رسی بوده که پس از آنالیزهای شیمیایی خاک و مرتفع کردن عناصر غذایی ماکرو و میکرو مورد نیاز تا حد بهینه اقدام به کاشت خطی گاوزبان اروپایی با فواصل بین ردیف 50 و روی ردیف 25 سانتی‌متر گردید. در نهایت پیکر رویشی در مرحله شروع گلدهی در اردیبهشت ماه سال 1387، گلبرگ‌ها در مرحله تمام گل، در اوایل خرداد ماه سال 1387 و

سپس سر بشرها را با پارا فیلم پوشانده و به مدت 24 ساعت در دمای اتاق (25°C) نگهداری گردید. در نهایت نمونه‌ها را به دستگاه روغن گیری منتقل و با عمل فشرده سازی در دمای اتاق روغن آنها گرفته شد (روش Cold Press). پس از روغن گیری، نمونه‌های روغن به دستگاه دوار تقطیر در خلاء منتقل و عمل حلال پرانی در دمای 30°C به مدت دو ساعت انجام گرفت. بطوریکه نمونه‌ها شکل چسبان¹ به خود گرفتند و تا زمان تزریق به دستگاه، در یخچال با دمای 4 درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

طراحی و ساخت دستگاه روغن گیر به روش Cold Press

سیستم طراحی شده یک طرف بوش سیلندر خودرو پژو 405 بود که بعد از پردازش کافی توسط جوشکاری بسته شد و پس از قرار دادن یک روزنه مناسب جهت خروج روغن از زیر آن، با ارتفاع مناسبی برش داده شد. این سیستم طوری طراحی شد که در محفظه جک هیدرولیک (با فشار حدود 1000 اتمسفر) جا بگیرد. در قسمت بالای سیلندر یک پیستون مناسب بعد از برشکاری و پردازش دقیق قرار داده شد تا پس از پر کردن محفظه با دانه های بذر، فشار پمپ هیدرولیک را به آنها اعمال کند. بدین ترتیب در اثر فشار، روغن از سوراخ تعبیه شده در ته ظرف خارج و در ظرف مناسبی جمع آوری گردید.

آنالیز و شناسایی ترکیبات روغن دانه با روش GC/MS

پس از آماده سازی روغن و تزریق آن به دستگاه GC شرایط مناسب برای بهترین جداسازی بدست آمد. سپس با استفاده از دستگاه GC/MS، ترکیبات تشکیل دهنده روغن مورد شناسایی قرار گرفتند. درصد نسبی ترکیبات تشکیل دهنده روغن با توجه به سطح زیر پیک آن در کروماتوگرام GC به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب محاسبه گردید.

انتخاب شدند. شناسایی ترکیبات اسانس با استفاده از روش شاخص بازداری (RI) و مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه آنها با اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه GC/MS توسط برنامه کامپیوتری و کتابخانه Wiley 229 صورت گرفت.

استخراج و شناسایی ترکیبات فرار با استفاده از روش SPME-GC/MS الف) مرحله آماده سازی نمونه

مقداری از پیکره رویشی گیاه مورد نظر در سایه و در دمای اتاق خشک کرده بعد از آسیاب کردن 2 گرم از پودر زبر آن را وزن کرده و درون ظرف مخصوص SPME با در پوش تفلونی ریخته شد. بعد از اضافه کردن 500 میکرو لیتر آب به مدت 15 دقیقه در دمای 60 درجه سانتیگراد تحت امواج فرا صوت مدل (RS5) قرار داده شد، سپس فیبر PDM را به مدت 30 دقیقه در فضای فوقانی گذاشته تا جذب صورت گیرد. در نهایت فیبر را به آرامی درون نگهدارنده فیبر کشیده و بلافاصله برای عمل واجذب به محل تزریق دستگاه GC/MS منتقل گردید.

ب) مرحله آنالیز ترکیبات فرار با روش GC

جهت عمل واجذب، فیبر را به مدت 2 دقیقه در محل تزریق GC در دمای 280 درجه سانتیگراد قرار داده و جدا سازی با برنامه زیر انجام پذیرفت. ابتدا دما از 40 درجه‌ی سانتیگراد با سرعت 12 درجه سانتیگراد بر دقیقه به دمای 120 درجه سانتیگراد و سپس از 120 درجه سانتیگراد با سرعت 6 درجه سانتیگراد بر دقیقه به دمای 280 درجه سانتیگراد رسانده شد. در دمای 280 درجه به مدت 5 دقیقه ثابت نگه داشته شد. دمای آشکار ساز 280 درجه سانتیگراد به مدت زمان 40 دقیقه و سیستم محل تزریق Splitliss گذاشته شد.

استخراج روغن از بذور

ابتدا بذرها توسط آسیاب دستی خرد و به دانه‌های زبری تبدیل شد و آنرا داخل بشر 150ml حاوی مخلوط اتانول 70 % ریخته، به طوری که نمونه‌ها در اتانول غوطه‌ور شدند.

1. Viscose

جدول (2). مهمترین ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده روغن دانه گاوزبان اروپایی شامل، ان-ان-دی متیل اتانول آمین، بتا دی گلیکوزید 3-6-گلوکورونو متیل، بنزالدهید-4 متیل، 3-هیدروکسی تترافوران، هگزادکانوئیک اسید، هپتانوئیک اسید، گاما بوتیرولاکتون و اتیل اکتا دک 9-انوات می‌باشند. این ترکیبات 63,4 درصد از کل ترکیبات روغن بذر را تشکیل داده است و 7 ترکیب باقی مانده فقط 9,5 درصد از کل ترکیبات شیمیایی روغن بذر را شامل می‌شود. همچنین یک ترکیب ناشناخته 27,1 درصد در روغن دانه گاوزبان اروپایی شناسایی شد

جدول شماره 1- ترکیبات فرار شناسایی شده در پیکره رویشی گاوزبان اروپایی به روش SPME-GC/MS

ردیف	نام ترکیب	درصد	زمان بازداری	شاخص بازداری
1	کارواکرول	63	13,52	1317
2	بیسابولون اکسید	13	21,65	1718
3	2-فنیل اتیل بنزوات	23	23,46	1814

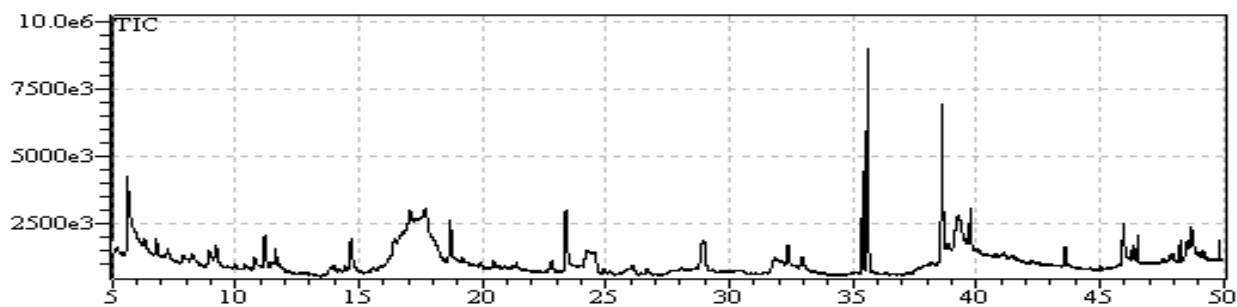
دمای محل تزریق 260 و دمای اولیه ستون 40 درجه سانتیگراد بود. سپس با سرعت چهار درجه سانتیگراد بر دقیقه به 220 درجه سانتیگراد افزایش داده شد پس از آن با سرعت 25 درجه سانتیگراد بر دقیقه به 270 درجه سانتیگراد رسید و سه دقیقه در این دما ثابت ماند. سرعت گاز حامل (هلیوم) 0/8 میلی لیتر بر دقیقه بود. شرایط کار آشکارساز جرمی به صورت ذیل بود: دمای محفظه یونیزاسیون 260 درجه سانتیگراد، انرژی یونیزاسیون: 70 الکترون ولت، حالت آشکارساز: Scan، سرعت پیمایش: 1000 و ناحیه جرمی: از 35 تا 400 اسکن بر ثانیه بود. مخلوط آلکان‌های خطی از (C₈-C₂₀) با غلظت 40 میلی گرم بر میلی لیتر در نرمال هگزان از شرکت Fluka تهیه گردید. لازم به ذکر است که استاندارد نیز تحت شرایط بالا به دستگاه تزریق شد.

یافته‌ها

با استفاده روش استخراج اسانس در گلبرگ گاوزبان و بر اساس تفسیر کروماتوگرام ترکیبات موجود در گلبرگ‌ها فقط ترکیب فرار کارواکرول استخراج و شناسایی شد.

با استفاده از روش ریز استخراج از فضای فوقانی سه ترکیب، کارواکرول، 2-فنیل-اتیل بنزوات و بیس آبولون اکسید استخراج و شناسایی گردید جدول (1). بیس آبولون‌ها دسته نسبتاً بزرگی از مواد طبیعی را تشکیل می‌دهند و در گیاهان عالی یافت می‌شوند.

کروماتوگرام ترکیبات شیمیایی موجود در روغن بذر گاوزبان اروپایی با استفاده از روش GC/MS در شکل (1) نشان داده شده است. با استفاده از این روش 16 ترکیب مختلف شیمیایی در روغن دانه این گونه استخراج و شناسایی گردید



شکل 1- کروماتوگرام ترکیبات روغن دانه گاوزبان اروپایی به روش GC/MS

جدول 2- ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در روغن دانه گاوزبان اروپایی به روش GC/MS

ردیف	نام ترکیب	درصد	زمان بازداری	شاخص بازداری
1	ان، ان - دی متیل اتانول آمین	17,3	5,6	-
2	پروپانوئیک اسید، 2-اکسو متیل استر	1,4	6,8	811
3	هیتانوئیک اسید	3,9	8,9	875
4	بوتانوئیک اسید، 3-اکسو متیل استر	1,9	9,2	883
5	گاما بوتیرولاکتون	3,7	11,1	936
6	گلیکوپنتانول، 3 - متیل	1,8	11,6	947
7	3- هیدروکسی تترافوران	6,1	14,6	1023
8	بنزآلدهید، 4- متیل	10,1	23,3	1239
9	4- وینیل-2-متوکسی فنول	1,0	26,6	1326
10	ناشناخته	27,1	35,6	1585
11	بتا دی گلیکوزید، 3-6- گلوکوروئید متیل	10,1	39,2	1702
12	هگزآ دکانوئیک اسید	5,7	45,9	1953
13	هگزآ دکانوئیک اسید اتیل استر	0,9	46,3	1972
14	9- اکتا دکانوئیک اسید	3,5	48,5	-
15	11-14-اکوزا دینوئیک اسید متیل استر	2,7	48,7	-
16	اتیل اکتا دک 9- انوات	3,0	48,8	-

بحث و نتیجه گیری

در این بررسی با استفاده روش استخراج اسانس در گلبرگ گاوزبان فقط ترکیب فرار کارواکرول استخراج و شناسایی شد. کارواکرول از مهمترین فنلهای موجود در روغنهای فرار می باشد. ترکیبات فنلی یا به طور طبیعی در اسانسها وجود دارند و یا اینکه در هنگام تقطیر در اثر تجزیه برخی از ترکیبات موجود در اسانسها حاصل می شوند.

کارواکرول دارای خواص ضد عفونی کننده و میکروب کشی وسیعی می باشد. از این ترکیب جهت خوشبو کردن صابونها و در ساخت اسانسهای مصنوعی نیز استفاده می شود. در موارد متعددی اثرات ضد میکروبی، ضد التهابی و ضد دردی کارواکرول گزارش شده است (21و22).

با توجه به نتایج حاصل شده از این تحقیق ترکیبات فرار اسانس درصد بسیار کمی از متابولیتهای ثانویه در

گلبرگ‌ها و پیکره رویشی گاوزبان اروپایی را تشکیل داده است. که با گزارش‌های سایر محققین در این خصوص مطابقت دارد (6). بنابراین احتمال داده می‌شود که خواص درمانی گلبرگ‌ها و پیکره رویشی این گیاه به علت وجود اسانس‌ها و مواد فرار نباشد.

با توجه به ترکیبات مفید شناسایی شده در روغن دانه استنباط می‌شود که روغن دانه گاوزبان اروپایی می‌تواند جهت مصارف دارویی مورد استفاده قرار گیرد. خواص درمانی و استفاده‌های ترکیب هگزادکانوئیک اسید (گامالینولیئک اسید) توسط محققین مختلفی گزارش شده است. در این بررسی ترکیب هگزادکانوئیک اسید 5,7 درصد از کل ترکیبات

روغن را به خود اختصاص داده است. همچنین نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که استخراج روغن با استفاده از روش پرس سرد (Cold Press) از کارایی بالایی برخوردار است و استفاده از دستگاه GC/MS روش سریع و ساده برای شناسایی ترکیبات شیمیایی روغن دانه گیاهان می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت پژوهشی و مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان به دلیل تامین هزینه‌های اجرای این پروژه صمیمانه قدردانی و تشکر می‌گردد.

References

1. Khatamsaz M. Flore of Iran, Boraginacea family, Pub: Research institute of forests and rangelands, 2003, No. 39: 504
2. Gahraman A. Color Flore of Iran. Research institute of forests and rangelands press. Botanical section.
3. Mozaffarian V. Plants systematic "second Book: Dicotyledonous" Amir Kabir Institute Publications. Tehran, Iran, 2005: 610
4. Zargari A. Medicinal plants (In Persian). Tehran University Publications Iran. 1989. 4th ed. Volume: 3.
5. Yazdani D, Shahnazi S and Seifi H. Cultivation of medicinal plants: Applied guide for cultivation of 40 important medicinal plants in Iran (In Persian). ACECR, Institute of Medicinal Plants. 2004: 169
6. Naghdi Badi H, Soroshzadeh A, Rezazadeh Sh, Sharifi M, Ghalavand A, Rezai A. Evaluation of Phytochemical and Production Potential of Borage (*Borago officinalis* L.) During the Growth Cycle, Journal of Medicinal Plants. 2008; 7(4).
7. Barre DE. Potential of evening primrose, Borage, black currant, and fungal oils in human health. Ann Nutr Metab. 2001; 45: 47-57
8. Meyer BJ, Tsisvis E, Howe PRC. Tap sell L and Calvert GD. Poly-unsaturated fatty acid content of foods: differentiating between long and short chain omega-3 fatty acids. Food Australia. 1999; 51 (3): 82.
9. Rezaei M.B. Naderei M. Hajei Kandeji B. Extraction and determinant in barrage flower *Echium amoenum* Fisch and May. Medicinal and Aromatic Research Journal. 2003;20 (3): 51-57
10. Hosseini M, Emamei DS. Cultivation and propagation of certain herbs and spices. University Tehran Publication. . Iran. 2007:300
11. Wettasingh M, Shahidi F, Amarowic R, Abou-zaid M. Phenolic acid in defatted seed of borage (*Borago officinalis* L.). Food chemistry. 2001; 75: 49-56
12. Samsam Shariat H. Medical plants propagation and cultivation. Mani Publication (In PERSIAN). Iran. 2003:420
13. Osborne JL. Borage. Bee World Publication. 1999: 80
14. Mehrbani M. Evaluation of hepatic toxicity of decoc of *Echium amoenum* Fisch. And *C.A. Mey* in rats. PhD. Thesis. Kerman University of medical sciences. 2005
15. Siciliana T, DeLeo M, Bader A, DeTommasi N, Vrieling K, Braca A, Morelli I. Pyrrolizidin alkaloids from *Anchusa strigosa* and their antifeedant activity, phytochemistry. 2005; 60: 1593-1600
16. Genat J. Extraction and the study of quality and quantity essence component from some aromatic plant spices (Boraginaceae family) by GC and GC/MS methods. MSC, Thesis, analytic chemistry basic sciences collage Mazandaran University. 2005.

17. Omidbaig R, Production and processing of medicinal plants. Astan Godesa Razavei Publication. 2005; 1: 346
18. Baghaleian K and Naghdi Badi H. Volatile oil crops; their biology, biochemistry and production. Andarz Publication, 2000,P: 248
19. Ghiasvand AR, Hosseinzadaeh S, Pawliszyn J. New cold-fiber headspace solid-phase micro extraction (SPME) device for quantitative extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment. Journal of chromatography. 2006; 1124: 35-42
20. Ghiasvand AR, Setkova L, Pawliszyn J. Determination of flavor profile in Iranian fragrant rice samples using cold-fiber SPME- GC- TOF- MS. Flavour and Fragrance Journal. 2006; 22: 377-391
21. Gill AO. Holley RA. Disruption of Escherichia coli, Listeria monocytogenes and Lactobacillus sakei cellular membranes by plant oil aromatics. International Journal of Food Microbiology. 2006; 108: 1-9
22. Amanlou M, Dadkhah F, Salehnia A, Farsam H, Dehpour AR. An anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of hydro alcoholic extract of Satureja khuzistanica Jamzad. J Pharm Pharm Sci. 2005; 20(8):102-6