Research Paper

Investigation of the Effect of Herbal Tea of *Cassia angustifolia Vahl* and *Rosa damascena Mill* on Lipid Profile in Male Wistar Rats

Zolfaghar Lotfi[1*], Alieh Safamanesh[2]

1. Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran

Received: 2021/10/05 **Accepted:** 2021/10/11

Abstract

Introduction: Inadequate nutrition is one of the causes of high cholesterol and blood lipid, which if untreated, due to the high inflammation of liver cells, can lead to fatty liver. The aim of this study was to evaluate the anti-hyperlipidemia effect of herbal tea of Rosa damascena Mill and Cassia angustifolia Vahl on lipid profile in male rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 28 male rats (220 ± 20 g) were randomly divided into four groups (n = 7 each): control, control + high-fat diet, experimental group + high-fat diet + herbal tea, and experimental group + herbal tea. The groups were treated with herbal tea of Cassia angustifolia Vahl (0.4 g/kg) plus Rosa damascena Mill (0.2 g/kg) in three time periods with two days interval. After 28 days, the animals were anesthetized, and blood samples were collected from the heart. Blood parameters were measured using an autoanalyzer.

Results: Based on the results, lipid profile, except for the AST enzyme, significantly decreased in the experimental group with high-fat diet + herbal tea. In the experimental group with normal diet + herbal tea, the profile did not show any significant difference; however, AST enzyme increased significantly ($p \leq 0.05$), as compared to the control group.

Conclusion: Herbal tea prepared with a combination of Cassia angustifolia Vahl and Rosa damascena Mill can be considered as a drug with rapid efficacy in people with hyperlipidemia.

***Corresponding Author:** Zolfaghar Lotfi
Address: Qom, Bigdeli 13, Payame Noor University of Qom, Center No. 2, Department of Biology, Qom, Iran
Tel: 09132829815
E-mail: lotfi_zp@pnu.ac.ir

Keywords: Cassia angustifolia Vahl, Hyperlipidemia, Liver enzymes, Rosa damascena Mill

How to cite this article: Lotfi Z., Safamanesh A. Investigation of the Effect of Herbal Tea of Cassia angustifolia Vahl and Rosa damascena Mill on Lipid Profile in Male Wistar Rats, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2022; 29(3):406-420.

Copyright © 2022 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

Introduction

Nowadays, eating unhealthy foods have become a common habit of many people worldwide. Inadequate nutrition causes numerous disorders, including hyperlipidemia, fatty liver, obesity, and type 2 diabetes, thereby harming the health. Dyslipidemia is a disease characterized by abnormal amounts of lipids in the blood and contributes to coronary, cerebrovascular, and vascular diseases. It is mostly associated with systemic inflammation due to the production of proinflammatory factors such as tumor necrosis factor (TNF)-α and interleukin-6 (IL-6). Regular consumption of high-fat foods gradually elevates triglycerides in liver cells. Excessive use of simple sugars and sucrose-containing beverages mostly predisposes to fatty liver. Hyperlipidemia, if left untreated, leads to fatty liver and its associated complications. Therefore, alteration in nutritional habits could be an essential step for the prevention and treatment of this condition in the early stages, and measuring liver enzymes after treatment appears to be the best way to evaluate liver activity.

In traditional medicine, senna makkai or cassia senna (Caesalpinaceae family) serves as a laxative, which is applied in the treatment of enlarged spleen and liver and also gastrointestinal and skin diseases. This plant contains active compounds, namely dianthraquinone glucosides and sennosides A and B in its leaves and pods. Anthranoid derivatives, such as o-glycosides and c-glycosides, are pharmacologically used as herbal medicines with anti-constipation effects. It has been demonstrated that after the oral administration of sennosides, its active metabolite, rheinanthrone, is released in in the lower part of the gastrointestinal tract. In a study conducted in 2015, a species of senna, Senna fistula, could improve diabetic derangement in some hematological parameters and reduced plasma lipid imbalance. Rosa damascena Mill, a member family of Rosaceae, has also many applications in traditional medicine, including relieving fatigue, strengthening the nervous system, and treating chronic diarrhea. According to investigations, the hydroalcoholic extract of rosemary in microgram concentrations has a stimulatory impact on the movements of the rat ileum. Considering the presence of flavonoid and antioxidant compounds in the aforementioned plants, this study was undertaken with the aim of combining the effects of the two plants (rose and senna makkai) on the lipid profile. The present study was conducted on normal and obese male rats fed with high-fat diet. This model suggests a simple method to induce the model of morbid obesity in rats.

Methodology

Animal care

Adult male Wistar rats (220-250 g), about 90 days old, were purchased from the Pasteur Institute of Iran (Tehran) and transferred to the animal room at Payame Noor University (Tehran, Iran). For adaptation to the environment, animals were maintained under standard laboratory conditions (12 hours of darkness and 12 hours of lightness) and had access to water and food ad libitum for four days. The present study was reviewed and approved by the Ethics Committee of Payame Noor University (Ethics code: IR.PNU.REC.1399.079).

Animal groups

Rats were divided into the following four groups (n = 7 each): Control rats under normal diet (c), control rats fed with high-fat diet (sh), experimental rats fed with high-fat diet + herbal tea (exp1), and experimental rats fed with normal diet + herbal tea (exp2).

Materials and High fat diet administration

Materials employed in this study included Silva powdered milk (New Zealand), industrial granulated sugar, salt, edible solid oil, senna leaf, rose leaf, and ice cubes. Rats were initially weighed on the first day of experiment. Subsequently, a high-fat diet was administered in rats of sh and exp1 groups. To this end, animals were given ice cube-containing water sweetened with 3 g of industrial granulated sugar, instead of drinking water and food; standard laboratory plates were greased daily with 15 g of solid oil. In the second week, in addition to receiving plates greased with 30 g of solid oil and water sweetened with 6 g of white sugar, the rats of these two groups were orally given high-fat emulsion (Table 1) and also 1 ml

of fat emulsion via gavage daily. In the third week, the amount of emulsion increased to 2 ml per day, while the amount of grease on plates and sweetness of drinking water was constant.

Table 1. Composition of high-fat emulsion for oral administration

Composition
Silva powdered milk
Industrial granulated sugar
Salt
Solid oil
Water

The compositions and the amount of the emulsion are selected based on the high calorie and high consumption materials in the household food basket.

Preparation and administration of Senna and Rose leaf mixture

After 21 consecutive days of receiving high-fat diet, at the beginning of the fourth week, the administration of the high-fat diet was stopped. Rats in exp1 and exp2 groups received a mixture of senna and rose herbal tea on days 23, 25, and 27. To prepare this tea, 40 g of senna leaf and 5 g of rose leaf were mixed in a metal mesh strainer in a porcelain container with lid. After adding 100 ml of boiling water, the lid of container was placed for 10 min. afterwards, the metal mesh strainer containing the remnant of the plant was taken out and allowed the tea to be lukewarm. Then 1 ml of the herbal tea was administered by gavage to each rat.

Blood sampling and sample collection

At the end of 28 days, animals were anesthetized with ether, and their blood samples were collected from the heart. Blood serum samples separated using a centrifuge and microcentrifuge were transferred to a -20 freezer. The biochemical tests were finally performed by the relevant kits.

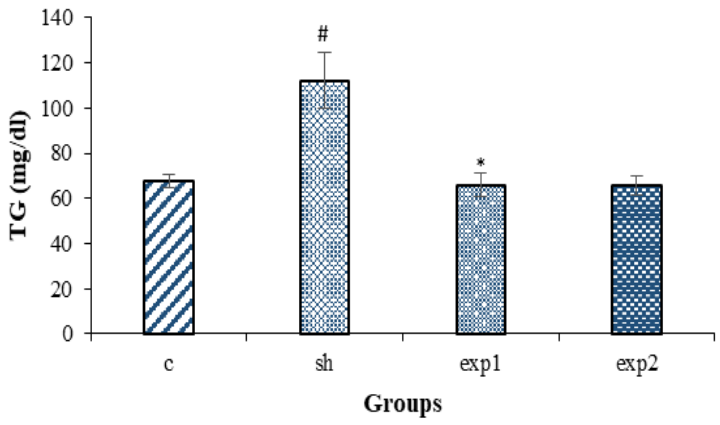
Statistical analysis

The results were analyzed by one-way ANOVA and Tukey tests and interpreted by SPSS20 software. The statistical significance level was defined as $p \leq 0.05$.

Result

Results of plasma triglyceride and cholesterol levels in experimental groups

The results of the present study disclosed a significant difference among the c, sh, and exp1 groups. These outcomes indicate that the high-fat diet model and induction of malnutrition in rats led to a significant increase in plasma triglyceride and cholesterol levels in group sh compared to group c ($p \leq 0.001$). In group exp1, herbal tea administration significantly decreased in the plasma triglyceride levels, when compared to the group sh ($p \leq 0.001$) and this reduction did not exhibit any significant difference with the rats in the control group. In the same group, plasma cholesterol levels significantly decreased relative to group sh ($p \leq 0.05$); however, plasma levels of cholesterol were still higher compared to the group c ($p \leq 0.05$) (Fig. 1).



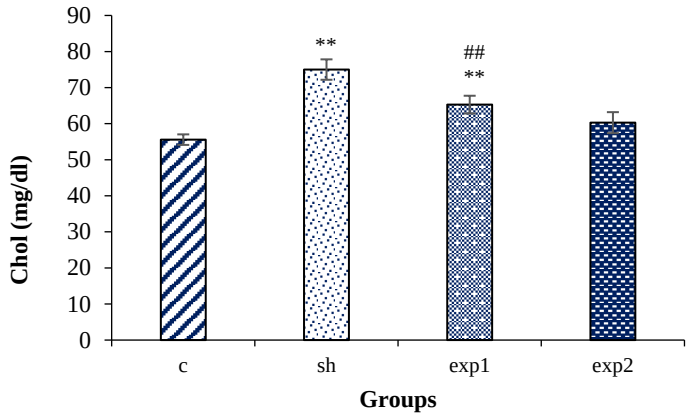
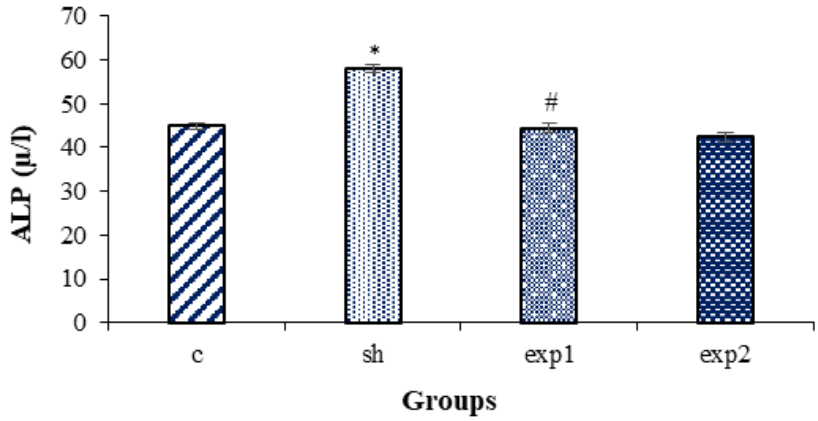
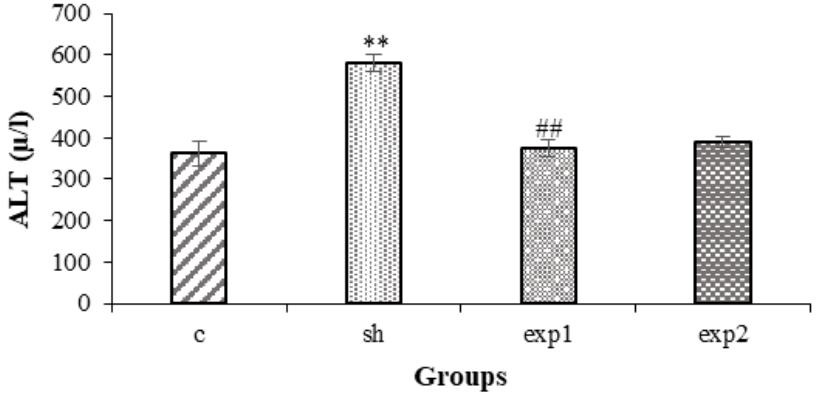


Figure 1. Evaluation of plasma (A) triglyceride (TG) and (B) cholesterol (Chol) levels in experimental groups. Data are reported as mean ± SEM. #p ≤ 0.001 (c vs. sh); ##p ≤ 0.05 (sh vs. exp1); *p ≤ 0.001 (sh vs. exp1); **p ≤ 0.0001 (c vs. sf); ***p ≤ 0.05 (c vs. exp1).

Results of plasma ALP, ALT, and AST levels in experimental groups

The results of the present study demonstrated a significant difference between the c and sh and among sh, exp1, and exp2 groups ($p \leq 0.0001$). In AST plasma levels, the results indicated a significant difference between groups sh and c, as well as between groups exp2 and c ($^{\#}p \leq 0.05$). The herbal tea administration in group exp1 led to a significant reduction in the levels of ALP and ALT, while in group c, this level was insignificant. Besides, no significant increase and decrease were found between group's exp2 and c. In rats received high-fat diet, AST enzyme increased compared to the group c, but the tea had no effect on reducing this enzyme in group exp1. However, in group exp2, AST enzyme increased compared to the group c (Fig. 2).





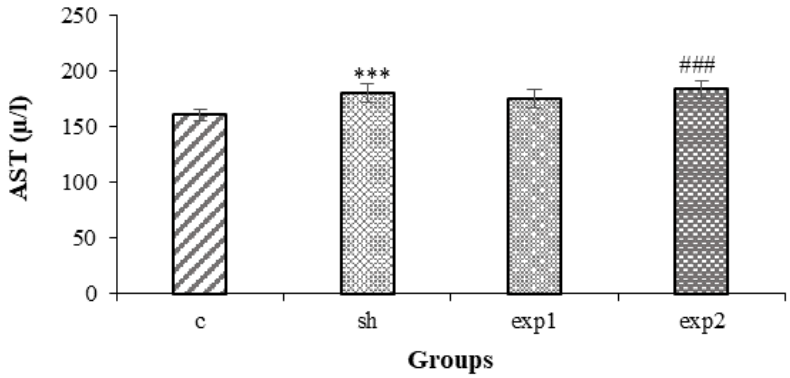


Figure 2. Evaluation of plasma (A) ALP, (B) ALT, and (C) AST levels in experimental groups. Data are reported as mean ± SEM. *p ≤ 0.001 (c vs. sh); **p ≤ 0.0001 (c vs. sh); #p ≤ 0.001 (sh vs. exp1); ##p ≤ 0.0001 (sh vs. exp1); ***p ≤ 0.05 (c vs. sh); ###p ≤ 0.05 (c vs. exp2).

Results of plasma HDL and LDL levels in experimental groups

The results of the present study demonstrated a significant difference among the c, sh, and exp1 groups in plAM HDL levels, as well as a significant difference between sh and c groups and between sh and exp1 in plasma LDL levels. These outcomes indicated that herbal tea administration in group exp1 led to increased levels of HDL but decrease levels of LDL. The increase in HDL levels was also higher in exp1 than c group (Fig. 3).

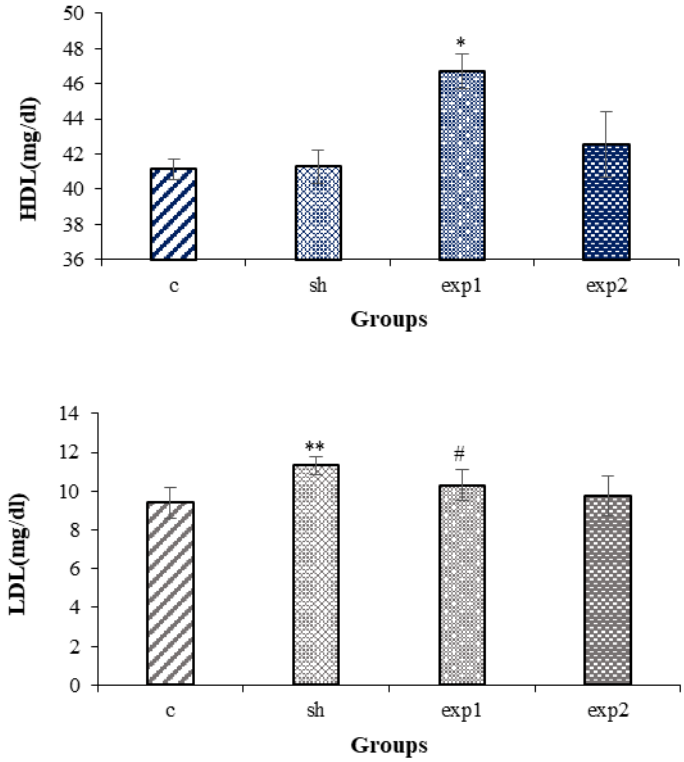


Figure 3. Evaluation of plasma (A) LDL and (B) HDL levels in experimental groups. Data are reported as mean ± SEM. *p ≤ 0.01 (sh vs. exp1); **p ≤ 0.05 (c vs. sh); #p ≤ 0.05 (sh vs. exp1).

Discussion

The results of this study showed that the herbal tea could prevent the development of dyslipidemia by reducing triglycerides, cholesterol, LDL and also by modulating liver enzymes in rats ($p \leq 0.05$). It was notable that rats in exp1 group showed no significant differences compared to rats in group c. In addition, alteration in the plasma level of ALP liver enzyme in rats of exp2 group was the side effects of this tea.

This is first study that induced dyslipidemia using high-calorie and high-consumption foods, e.g. edible solid oil, industrial granulated sugar, and powdered milk, which adversely affect human health and cause liver and cardiovascular damages. Actually, in the process of hydrogenation of unsaturated fatty acids, solid vegetable oil with about 40-60% of trans fatty acids is produced, giving rise to increased cholesterol and blood lipids. The ability of different plants to improve or prevent dyslipidemia effects, particularly in the early stages, has been demonstrated in various studies. In supporting of our study, Amouoghli Tabrizi and Mohajeri showed that in mice treated with a high-fat diet induced hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia, serum levels of liver enzymes enhanced, but treatment with green tea extract significantly ameliorated the symptoms of these diseases.

Quercetin, a known compound in rose, is a type of flavonoid found in many other plants, including onion. Flavonoids are a group of important compounds in plants that lessen the risk of cardiovascular diseases by inhibiting LDL oxidation through the elimination of free radicals. Therefore, it appears that rose in combination with senna can act synergistically and raise the antidyslipidemic effects of senna. It has been demonstrated that senna has antioxidant, antihyperlipidemic, and antihyperglycemic impacts; thus, this plant has ability to improve dyslipidemia and its consequences. Based on HPLC studies, senna contains glycosides, which are used for antihyperglycemic activity and protection of the liver. Studies have also represented that anthraquinone compounds in senna makkai could possibly mediate antidyslipidemic effects. Anthraquinone glycosides, such as senesides A and B, are metabolized by bacteria in the large intestine and converted to active metabolites, namely rhein, which in turn results in increased intestinal motility, and elevated secretion of fluids in the large intestine, and the occurrence of laxative impact. Therefore, the probable mechanism of hypolipidemia after treatment with senna is due to its laxative effects that excrete the aforesaid substances. However, more studies are needed to elucidate this matter.

An earlier study examined senna extract in hyperlipidemic rats and found that the extract of this plant could improve the lipid profile and could significantly reduce the levels of triglycerides, cholesterol, LDL, VLDL, and non-HDL-c in these rats. In another study, the effects of senna leaf powder supplementation were investigated on oxidative stress, inflammation, and hepatic steatosis in obese rats on a high-fat diet. They explored that the supplement not only could hinder high cholesterol and triglyceride levels but also could significantly mitigate the levels of liver enzymes, including AST, ALT and ALP. The leaves of this plant reduced the peroxidation of lipids and nitric oxide. The results of that study disclosed that oxidative stress prevention by senna leaf supplementation was regulated by increasing the activity of antioxidant enzymes, which subsequently amended the expression of relevant genes such as nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF-2), heme oxygenase-1 (HO-1), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT). The supplementation was also explored to control nonalcoholic fatty liver disease by modulating the expression of fat metabolizing enzymes. Hajhashemi et al. reported the anti-inflammatory effects of rose extract. Akbari and colleagues examined the toxic effects of rose and displayed that the liver and kidneys readily tolerate the injectable doses of this plant unless very high doses are used. One study investigated the effect of rose methanolic extract on lipid profile and atherosclerotic plaque formation in hyperlipidemic rabbits. The results reflected that the extract decreased the average levels of TC, TG, LDL, and plaque formation, but this reduction was insignificant. Another study examined the effects of rose ethanolic extract on reducing blood lipids in streptozotocin-induced diabetic rats. Statistical results showed that the extract of this plant significantly declined the levels of triglycerides, cholesterol, and LDL. The reduction was speculated to be due to the high content of polyphenolic compounds in this plant.

Overall, our study of fat profile in serum levels confirms the significant effect of this herbal tea on people with dyslipidemia. Although studies have indicated that improper or long-term consumption of this herbal tea leads to side effects, such as potassium depletion, gamma globulin depletion, and hepatitis, in the present study, by increasing the duration of treatment with herbal tea, a reduction was observed in AST enzyme. Therefore, a mixture of senna and rose leaves with the aforementioned amounts could be considered as an alternative drug in the treatment of hyperlipidemia and dyslipidemia.

Conclusions

Avoiding excessive consumption of industrial sweetened beverages and high-fat foods is one of the effectual factors in preventing liver disorders, and

sanna and rose herbal tea could be an effective treatment horizon to ameliorate this condition.

Acknowledgment

This research has been conducted in the Biology Laboratory of Payame Noor University of Qom, IRan. Authors would like to thank the directorate and the Research Manager of Payame Noor University, Qom, Iran.

Conflict of Interest:

Authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this manuscript.

بررسی تأثیرات دمنوش برگ سنا (Cassia angustifoliaVahl) و گل سرخ (Rosa damascena Mill) بر پروفایل چربی در رت‌های نر ویستار

ذوالفقار لطفی[1*]، عالیه صفامنش[2]

۱. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۲. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۹

* نویسندهٔ مسئول: ذوالفقار لطفی
نشانی: قم، بیگدلی ۱۳، دانشگاه پیام نور مزکز قم، مرکز شماره دو، گروه زیست‌شناسی، قم، ایران
تلفن: ۰۹۱۲۷۵۰۵۴۸۶
رایانامه: lotfi_zp@pnu.ac.ir
شناسه ORCID: 0000-0001-7773-1264
شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0001-7773-1264

کلیدواژه‌ها:
آنزیم‌های کبدی، سنا، گل سرخ، هایپرلیپیدمی

چکیده

زمینه و هدف: سبک نادرست تغذیه، از عوامل ابتلا به افزایش کلسترول و چربی خون است و در صورت رسیدگی نکردن، به دلیل التهاب بالای سلول‌های کبدی منجر به بروز کبد چرب می‌گردد. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر آنتی هایپرلیپیدمی دمنوش Rosa damascena Mill و Cassia angustifolia Vahl بر پروفایل چربی رت‌های نر می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۸ رأس رت نر (۲۰± ۲۲۰ گرمی) به‌طور تصادفی به چهار گروه (n=7) کنترل، شاهد تغذیه‌شده با رژیم پرچرب، تجربی تغذیه‌شده با رژیم پرچرب + دمنوش، تجربی تغذیه‌شده با رژیم عادی + دمنوش، تقسیم شدند. گروه‌های تحت تیمار با دمنوش طی سه دوره با فاصله دو روز در میان دمنوش برگ سنای مکی (۰.۴ گرم / کیلوگرم) به اضافه گل سرخ (۰.۲ گرم / کیلوگرم) را دریافت کردند. پس از ۲۸ روز، حیوان بیهوش و پس از خون‌گیری از قلب، فاکتورهای خونی موردنظر سنجیده شدند.

یافته‌ها: براساس نتایج، پروفایل چربی، به‌جز آنزیم AST، به‌طور معنی‌داری ($p \leqslant 0.05$) در گروه تجربی تغذیه‌شده با رژیم پرچرب + دمنوش، کاهش یافته بود. پروفایل چربی در گروه تجربی تغذیه‌شده با رژیم عادی + دمنوش، تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نشان نداد به‌جز آنزیم AST که به‌طور معنی‌داری ($p \leqslant 0.05$) نسبت به گروه کنترل افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: دمنوش ترکیبی Rosa damascena Mill و Cassia angustifolia Vahl می‌تواند به‌عنوان دارویی با اثربخشی سریع به‌خصوص در افراد مبتلا به هایپرلیپیدمی مطرح گردد

۱. مقدمه

بسیاری از افراد در سراسر جهان، نوعی از تغذیه ناسالم در خارج از منزل را تجربه می‌کنند [۱]. پیروی از عادات نادرست غذایی نیز مزید بر علت شده است و بیماری‌هایی همچون افزایش چربی خون و در پی آن، کبد چرب، چاقی و دیابت نوع دو را به همراه دارد، از عوارض آن می‌باشد [۲ , ۳]. امروزه، علم، از تأثیرات تغذیه نامناسب بر سلامتی تحت عنوان «بیماری‌های سبک زندگی»[1] نام می‌برد. در این مطالعه سعی شده است تأثیر اشتباهات رایج سبک تغذیه بر پروفایل چربی شبیه‌سازی گردد؛ زیرا دیس لیپیدمی بیماری با مقدار غیرطبیعی لیپیدها در خون است که از عوارض سبک تغذیه نادرست می‌باشد و می‌تواند ابتلا به بیماری‌های عروق کرونر، مغزی و عروقی را تسهیل کند. همچنین، دیس لیپیدمی به علت تولید عوامل پیش‌التهابی از قبیل فاکتور نکروز تومور α- (TNF) و اینترلوکین ۶ (IL-6) می‌تواند با التهاب سیستمیک نیز توأم باشد [۴]. مصرف مداوم غذاهایی با چربی بالا نیز به‌مرور باعث افزایش تری‌گلیسیریدها در سلول‌های کبدی می‌گردد [۵]. از سوی دیگر، زیاده‌روی در مصرف شیرینی‌جات حاوی

1 lifestyle diseases

Copyright © 2022 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

مجلهٔ علمی ـ پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۹، شمارهٔ ۳، مرداد و شهریور ۱۴۰۱، ص ۴۲۰-۴۰۶
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

قندهای ساده و نوشابه‌ها به‌ویژه نوشابه‌های حاوی ساکاروز نیز یکی از عوامل زمینه‌ساز ابتلا به کبد چرب است [۶]. از آنجایی که چربی خون بالا در صورت اصلاح نشدن سبک نادرست تغذیه در نهایت منجر به کبد چرب [۷]و مشکلات ناشی از آن می‌شود؛ اصلاح سبک تغذیه، گامی اساسی برای پیشگیری و درمان در مراحل اولیه افزایش چربی خون خواهد بود و سنجش آنزیم‌های کبدی پس از اعمال درمان، بهترین روش ارزیابی فعالیت کبدی است [۸].

در طب سنتی، از گیاه سنای مکی[1] از خانواده Caesalpinaceae به‌عنوان ملین و مسهل [۹] که در درمان بیماری‌هایی همچون بزرگی طحال و کبد، بیمارهای گوارشی و پوستی و ... کاربرد دارد [۱۰] یاد شده است. این گیاه حاوی ترکیبات فعالی تحت عنوان گلوکوزیدهای دی آنتراکینونی[2]، سنوزوئید A و B در برگ‌ها و غلاف آنهاست و مشتقات آنترانوئیدی همچون o – گلیکوزیدها و c – گلیکوزیدها به لحاظ فارماکولوژیکی به‌عنوان داروهای گیاهی با خواص ضدیبوست به‌کار می‌روند [۱۱] همچنین مشخص شده است که سنوزوئید پس از تجویز خوراکی، در قسمت پایینی دستگاه گوارش تجزیه می‌شود و متابولیت فعال آن راین آنترون[3] آزاد می‌گردد [۱۲]. طبق مطالعه صورت‌گرفته در سال ۲۰۱۵، یکی از گونه‌های سنا به نام Senna fistula اختلالات ناشی از دیابت را در برخی از پارامترهای خون‌شناسی بهبود بخشیده و تعادل نداشتن لیپیدهای پلاسما را کاهش داده است [۱۳]. همچنین گیاه Rosa damascena Mill از خانواده Rosaceae نیز در طب سنتی، کاربردهای فراوانی دارد؛ از جمله رفع خستگی، تقویت سیستم عصبی [۱۴] و درمان اسهال مزمن. براساس بررسی‌های صورت‌گرفته، عصاره هیدروالکلی گل محمدی در غلظت‌های میکروگرمی، اثر تحریکی بر حرکات ایلئوم موش صحرایی دارد [۱۵].

با توجه به حضور ترکیبات فلاوونوئیدی و آنتی‌اکسیدانی در این گیاهان [۱۶]، مطالعه حاضر با هدف تلفیق اثرات این دو گیاه باهم (گل سرخ و سنای مکی) به‌صورت دمنوش بر پروفایل چربی در رت‌های نر نرمال و چاقی صورت گرفته است که برای نخستین‌بار و با الگو گرفتن از رژیم تغذیه‌ای پرکالری و در دسترس تحت یک رژیم پرچرب قرار گرفته‌اند. این مدل، روشی ساده برای القای مدل چاقی بیمارگونه در رت پیشنهاد می‌دهد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. نگهداری حیوانات

رت‌های نر نژاد ویستار بالغ (۲۲۰-۲۵۰ گرم) تقریباً ۹۰ روزه، از انستیتو پاستور ایران خریداری و به اتاق حیوانات دانشگاه پیام نور منتقل گردیدند. به مدت ۴ روز تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) بدون محدودیت دسترسی به آب و غذا قرار گرفتند تا با محیط سازگار شوند. این طرح پژوهشی با شناسه اخلاق IR.PNU.REC.1399.079 در دانشگاه پیام نور بررسی و تصویب گردید.

۱.۱.۲. گروه‌بندی حیوانات

حیوانات در ۴ گروه ۷ تایی دسته‌بندی شدند. گروه‌ها به شرح ذیل بود: رت‌های کنترل تحت رژیم عادی (c)، شاهد تغذیه‌شده با رژیم پرچرب (sh)، تجربی تغذیه‌شده با رژیم پرچرب + دمنوش (exp1)، تجربی تغذیه‌شده با رژیم عادی + دمنوش (exp2).

۲.۲. مواد موردنیاز و اعمال رژیم پرچرب

در این مطالعه، از روغن جامد خوراکی، شیر خشک سیلوا (نیوزلند)، شکر سفید صنعتی، نمک طعام، برگ سنای مکی، برگ گل سرخ، بلوک‌های یخ استفاده گردید. رت‌ها در روز اول ورود به آزمایش وزن‌کشی شدند؛ سپس رژیم پرچرب با روند افزایشی در رت‌های گروه‌های sh و exp1 اعمال گردید؛ به‌طوری که برای شروع، آب حاوی بلوک‌های یخ که با ۳ گرم شکر سفید صنعتی شیرین شده بود به‌جای آب آشامیدنی و جیره غذایی (پلیت‌های استاندارد آزمایشگاهی) که روزانه با ۱۵ گرم روغن جامد، چرب می‌شد در اختیار حیوان قرار گرفت. در هفته دوم رت‌های این دو گروه، علاوه بر دریافت پلیت‌هایی که با ۳۰ گرم روغن جامد چرب شده بودند و آبی که با ۶ گرم شکر شیرین شده بود، تحت تجویز خوراکی امولسیون پرچرب نیز قرار گرفتند (جدول ۱) و روزانه ۱ میلی‌لیتر امولسیون را به‌صورت گاواژ دریافت می‌کردند. در هفته سوم میزان این امولسیون به ۲ میلی‌لیتر در روز افزایش یافت در حالی که میزان چرب شدن پلیت‌ها و شیرینی آب آشامیدنی ثابت بود.

جدول ۱. ترکیبات امولیسون پرچرب برای تجویز خوراکی. ترکیبات و مقدار مواد این امولسیون براساس مواد پرکالری و پرمصرف موجود در سبد غذایی خانوارها انتخاب شده است.

ترکیبات امولسیون پرچرب	مقدار (گرم)
پودر شیر خشک Silva	۴/۱
شکر سفید صنعتی	۵/۵
نمک طعام	۰/۲۲
روغن جامد	۱۴/۲۰
آب	۲ میلی لیتر

1 Cassia
2 Dianthraquinone glucosides
3 rhein anthrone

۳.۲. تهیه و تجویز دمنوش مخلوطی از برگ سنای مکی و برگ گل سرخ

پس از گذشت ۲۱ روز متوالی از دریافت این رژیم پرچرب، در شروع هفته چهارم تجویز رژیم پرچرب متوقف شد و رت‌های گروه‌های exp1 و exp2 در روزهای ۲۳، ۲۵ و ۲۷ آزمایش، مخلوطی از برگ سنا و گل سرخ را به‌صورت دمنوش دریافت کردند. برای تهیه این دمنوش، برگ سنای مکی به میزان ۴۰ گرم به اضافه ۵ گرم برگ گل سرخ تبریزی در مخزن توری فلزی داخل یک محفظه چینی درب‌دار تحت عنوان لیوان مخصوص تهیه دمنوش قرار داده شد و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب جوش روی آن ریخته شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه درب لیوان گذاشته شد تا دمنوش آماده گردد. پس از آن مخزن فلزی حاوی بقایای گیاه خارج و دمنوش به‌دست‌آمده کنار گذاشته شد تا ولرم شود سپس به هر رت، ۱ میلی‌لیتر به‌صورت گاواژ تجویز گردید.

۴.۲. خون‌گیری از قلب و جمع‌آوری نمونه‌ها

پس از پایان ۲۸ روز حیوان با اتر بیهوش گردید و خون‌گیری از قلب صورت گرفت. نمونه‌های سرم خون نیز با استفاده از سانتریفیوژ و میکروسانتریفیوژ جداسازی و به فریزر ۲۰- انتقال یافت. در نهایت توسط کیت‌های مربوطه، آزمون‌های بیوشیمیایی مربوطه انجام شد.

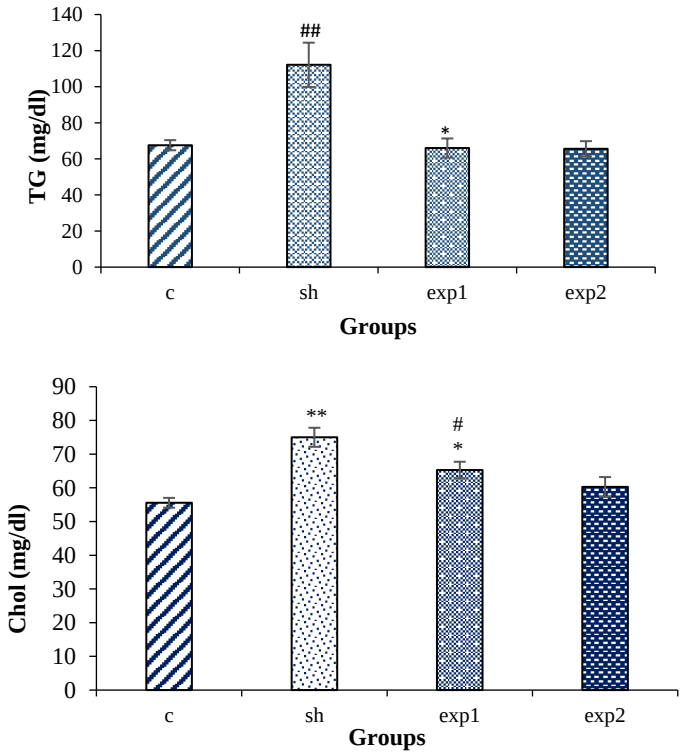
۵.۲. تحلیل نتایج

نتایج با کمک نرم‌افزار spss20 و آزمون one-way ANOVA و Tukey تحلیل و تفسیر گردید. سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$ تعریف گردید.

۳. یافته‌ها

۱.۳. نتایج بررسی سطوح پلاسمایی تری‌گلیسیرید و کلسترول در گروه‌های آزمایش

نتایج تحقیق حاضر اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های کنترل c، sh و exp1 نشان داد. این نتایج نشان داد که مدل رژیم پرچرب و القای سبک نادرست تغذیه در رت، منجر به افزایش معنی‌دار سطوح پلاسمایی تری‌گلیسیرید ($p \leq 0.001$) و کلسترول ($p \leq 0.0001$) در گروه sh نسبت به گروه c گردید. در گروه exp1، مصرف دمنوش منجر به کاهش سطوح پلاسمایی تری گلیسیرید نسبت به گروه sh گردید ($p \leq 0.001$) و این کاهش به حدی بود که هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری با رت‌های گروه کنترل نشان نداد. همچنین در همین گروه، سطوح پلاسمایی کلسترول نسبت به گروه sh کاهش یافت ($p \leq 0.05$)، اگرچه سطوح پلاسمایی کلسترول نسبت به گروه کنترل همچنان بالاست ($p \leq 0.05$) (نمودار ۱).

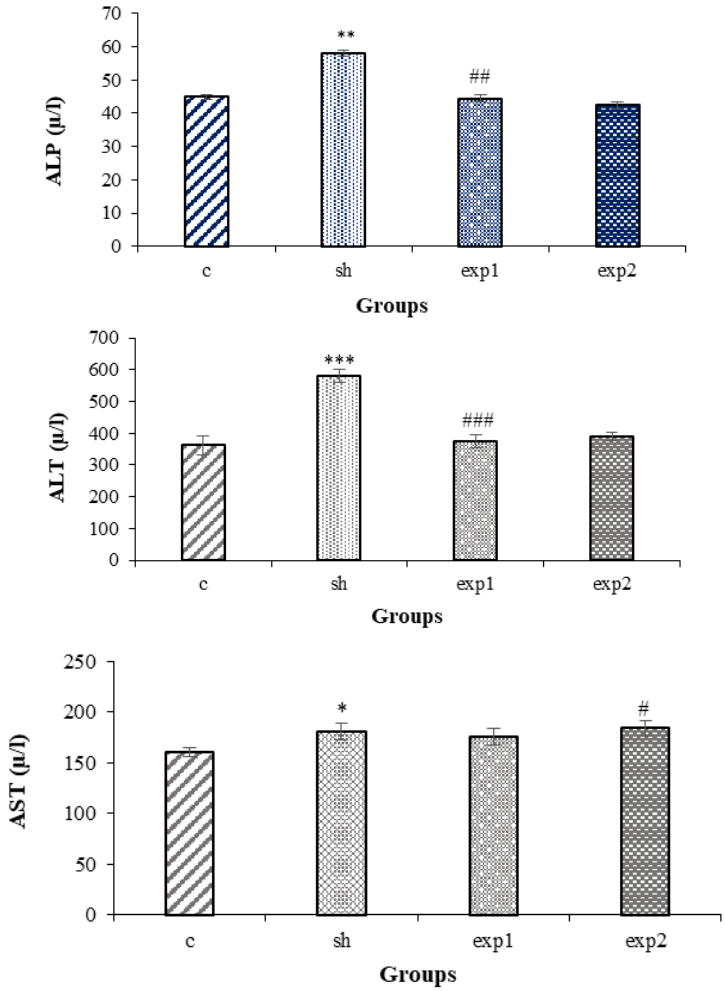


نمودار ۱. بررسی سطوح پلاسمایی (الف) تری‌گلیسیرید (TG) و (ب) کلسترول (Chol) در گروه‌های آزمایش.

مقادیر p سطح معنی‌داری بین گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد: #$p \leq 0.05$ (بین گروه‌های sh و exp1)، ##$p \leq 0.001$ (بین گروه‌های sh و c)، *$p \leq 0.05$ (بین گروه‌های c و exp1)، **$p \leq 0.001$ (بین گروه‌های sh وexp1)، ***$p \leq 0.0001$ (بین گروه‌های sh و c). داده‌ها به‌صورت mean ± SEM گزارش شده است.

۲.۳. نتایج بررسی سطوح پلاسمایی ALP، ALT و AST در گروه‌های آزمایش

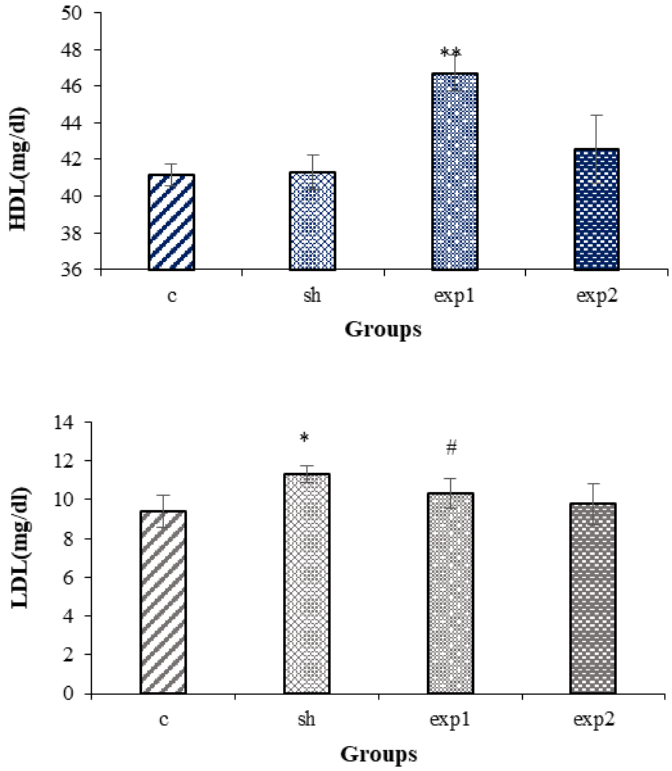
نتایج تحقیق حاضر اختلاف معنی‌دار $p \leq 0.001$ را بین گروه‌های کنترل c، sh و نیز بین گروه‌های sh، exp1 و exp2 در سطوح پلاسمایی ALP و ALT نشان داد. در سطوح پلاسمایی AST، نتایج تحقیق، اختلاف معنی‌داری بین گروه sh با گروه c و نیز بین گروه‌های exp2 و گروه c نشان داد. نتایج نشان داد که مصرف دمنوش در گروه exp1 منجر به کاهش آنزیم‌های ALP و ALT گردید؛ به‌طوری که حتی با سطوح پلاسمایی این آنزیم در گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری نشان نداد و در گروه exp2 نیز نسبت به گروه کنترل افزایش یا کاهش معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین، در رت‌های تحت القای رژیم پرچرب، آنزیم AST نسبت به گروه کنترل افزایش یافت اما عصاره، تأثیری در کاهش این آنزیم در گروه exp1 نداشت و در گروه exp2 نیز میزان آنزیم AST نسبت به گروه c افزایش یافت (نمودار ۲).



نمودار ۲. بررسی سطوح پلاسمایی آنزیم کبدی (الف) ALP، (ب) ALT و (ج) AST در گروه‌های آزمایش. مقادیر p سطح معنی‌داری بین گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد: #$p \leq 0.05$ (بین گروه‌های exp2 و c)، ##$p \leq 0.001$ (بین گروه‌های sh و exp1)، ###$p \leq 0.0001$ (بین گروه‌های exp1 و sh، *$p \leq 0.05$ (بین گروه‌های sh و c)، **$p \leq 0.001$ (بین گروه‌های c و sh)،*$p \leq 0.0001$ (بین گروه‌های c و sh). داده‌ها به‌صورت mean ± SEM گزارش شده است.**

۶.۳. نتایج بررسی سطوح پلاسمایی HDL و LDL در گروه‌های آزمایش

نتایج تحقیق حاضر، اختلاف معنی‌دار ($p \leq 0.01$) را بین گروه‌های کنترل (c)، (sh) و exp1 در سطوح پلاسمایی HDL و اختلاف معنی‌دار $p \leq 0.05$ بین گروه‌های sh و c؛ و نیز بین گروه sh و گروه exp1 را در سطوح پلاسمایی LDL نشان داد. این نتایج نشان داد که مصرف دمنوش در گروه exp1 منجر به افزایش سطوح پلاسمایی HDL گردید به‌طوری که حتی نسبت به گروه کنترل نیز افزایش داشت ولی منجر به کاهش سطوح پلاسمایی LDL گردید (نمودار ۳).



نمودار ۳. بررسی سطوح پلاسمایی (الف) HDL و (ب) LDL در گروه‌های آزمایش.
مقادیر p سطح معنی‌داری بین گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد: *$p \leqslant 0.05$ (بین گروه‌های sh و c، $p \leqslant 0.01$ **) (بین گروه‌های exp1 و sh، $p \leqslant$ #0.05 (بین گروه‌های exp1 و sh). داده‌ها به صورت mean ± SEM گزارش شده است.

٤. بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که این دمنوش با کاهش تری‌گلیسیرید، کلسترول، LDL و تعدیل آنزیم‌های کبدی در رت‌ها، توانسته است توسعه دیس‌لیپیدمی را متوقف سازد ($p \leq$ ۰.۰۵) به‌طوری که رت‌های گروه exp۱ در نهایت تفاوت معنی‌داری با رت‌های گروه c نشان نمی‌دادند. از سوی دیگر تغییر در سطوح پلاسمایی آنزیم کبدی ALP در رت‌های گروه exp۲ از عوارض این دمنوش بود.

در این بررسی برای اولین‌بار با بهره‌گیری از مواد غذایی پرکالری و پرمصرف در زندگی روزمره انسان‌ها، دیس‌لیپیدمی القا گردید. استفاده از روغن نباتی جامد، شکر سفید صنعتی، شیر خشک که در سبد غذایی خانوارها به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم به‌وفور از آنها استفاده می‌شود، به‌مرور زمان تأثیرات سوئی بر سلامتی فرد می‌گذارند و زمینه‌ساز آسیب‌های کبدی و قلبی عروقی هستند. در واقع در روند هیدروژناسیون اسیدهای چرب غیراشباع، روغن نباتی جامدی با حدود ۴۰-۶۰ درصد اسید چرب ترانس تولید می‌شود که افزاینده کلسترول و چربی خون می‌باشد (۱۷). از سوی دیگر، اینکه گیاهان مختلف بتوانند عوارض دیس لیپیدمی را به‌خصوص در مراحل اولیه بهبود بخشند یا مهار کنند در سایر مطالعات نیز اثبات شده است به‌طوری که هم‌سو با مطالعه حاضر، مطالعه دیگری نیز در سال

۱۳۹۳ نشان داده بود که در موش‌های تحت تیمار با جیره پرچرب و القای هیپرتری‌گلیسریدمی و هیپرکلسترولمی، سطح سرمی آنزیم‌های کبدی افزایش یافته است و تیمار با عصاره چای سبز به‌طور معنی‌داری منجر به بهبودی عوارض این بیماری شده بود (۱۸). با توجه به این که یکی از ترکیبات شناخته‌شده در گل سرخ، کوئرستین می‌باشد (۱۶) که نوعی فلاوونوئید است و در بسیاری گیاهان دیگر ازجمله در پیاز نیز موجود است و نیز با توجه به اینکه فلاوونوئیدها دسته‌ای از ترکیبات مهم موجود در گیاهانند که با مهار اکسیداسیون LDL به‌وسیله حذف رادیکال‌های آزاد، باعث کاهش خطر بیماری‌های قلبی و عروقی می‌گردند (۱۹). دور از تصور نیست که گل سرخ می‌تواند در ترکیب با گیاه سنا به‌صورت سینرژیستیکی عمل کند و اثرات ضددیسلیپیدمی سنا را افزایش دهد. از دیگر سوی، گزارش شده است که گیاه سنا دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی (۲۰)، ضدهایپرلیپیدمی (۲۱) و ضد قند خون (۲۲) است؛ بنابراین این گیاه توانایی بهبود دیس لیپیدمیا و عواقب ناشی از آن را دارند. مطالعات HPLC نشان داده‌اند که سنا دارای ترکیبات گلیکوزیدی می‌باشد (۲۳). مشخص شده است که گلیکوزیدها برای فعالیت ضدهایپرگلیسمی و محافظت از کبد استفاده می‌شوند (۲۳). مطالعات دیگر، وجود ترکیبات آنتراکینون در سنای مکی (۲۴) را میانجیگری‌کننده‌های احتمالی اثرات ضد دیسلیپیدمی معرفی کرده‌اند. در واقع، به‌طوری که بررسی‌ها نشان می‌دهد گلیکوزیدهای آنتراکینونی همچون سنوزیدهای A و B توسط باکتری‌های موجود در روده بزرگ متابولیزه می‌شوند و به متابولیت‌های فعالی نظیر رئین تبدیل می‌شوند که این مواد نیز به‌نوبه منجر به افزایش حرکات دودی روده و افزایش ترشح مایعات در روده بزرگ و بروز اثر مسهلی سنا می‌گردند (۲۵). بنابراین مکانیسم احتمالی کاهش چربی خون پس از تیمار با سنا، دفع آنها به‌واسطه اثرات مسهلی سنا می‌باشد؛ البته باید مطالعات بیشتری در این زمینه صورت گیرد. در سال ۲۰۱۷ محققان، عصاره گیاه سنا را در رت‌های هایپرلیپیدمیک بررسی کردند. آن‌ها دریافتند که عصاره این گیاه باعث بهبود پروفایل لیپیدی می‌شود و سطوح تری‌گلیسرید، کلسترل، LDL، VLDL و non-HDL-c را به‌طور معنی‌داری در رت‌های هایپرلیپیدمیک کاهش می‌دهد (۲۱). طی پژوهشی در سال ۲۰۲۱ اثرات مکمل پودر برگ گیاه سنا بر استرس اکسیداتیو، التهاب و استئاتوز کبدی در موش‌های چاق تحت رژیم پرچرب بررسی شده است. آن‌ها دریافتند مکمل پودر برگ سنا از افزایش سطح کلسترول و تری‌گلیسرید در موش‌های تحت رژیم پرچرب جلوگیری می‌کند. همچنین سطوح آنزیم‌های کبدی شامل AST، ALT و ALP را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. علاوه بر این، برگ این گیاه باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و اکسید نیتریک در این موش‌ها شد. آن‌ها بیان کردند پیشگیری از استرس اکسیداتیو توسط مکمل برگ سنا در موش‌های دارای رژیم غذایی پرچرب با افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان و به دنبال آن بهبود بیان ژن‌های مربوطه نظیر NRF-۲[1]، HO-۱[2]، SOD[3] و CAT[4] تنظیم می‌شود. همچنین مشخص شد که مکمل برگ سنا با تعدیل بیان آنزیم‌های متابولیزه چربی در موش‌های غذایی با رژیم غذایی پرچرب، بیماری کبد چرب غیرالکلی را کنترل می‌کند (۲۶).

همچنین مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۰ اثرات ضدالتهابی عصاره گل سرخ را گزارش کرده است (۲۷). مطالعه دیگری نیز با بررسی اثرات سمی گل سرخ گزارش کرده بود که کبد و کلیه به‌راحتی دوزهای تزریقی این گیاه را تحمل می‌کنند مگر اینکه دوزهای بسیار بالایی به‌طور غیرمعمول استفاده گردد (۱۴). در پژوهشی در سال ۲۰۱۲ اثر عصاره متانولی گل سرخ بر پروفایل چربی و تشکیل پلاک‌های آترواسکلروتیک در خرگوش‌های هایپرلیپیدمیک بررسی شد. آن‌ها دریافتند که عصاره متانولی گل سرخ به‌طور متوسط سطح TC، TG، LDL و تشکیل پلاک را کاهش داد اما معنی‌دار نبود (۲۸). اما در تحقیق دیگری در سال ۲۰۲۱ اثرات عصاره اتانولی گل سرخ در کاهش چربی خون در موش‌های دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین بررسی شد. نتایج آماری نشان داد که عصاره این گیاه به‌طور معنی‌داری سطوح تری‌گلیسرید، کلسترول و LDL را کاهش داد. آن‌ها بیان کردند که گیاه گل سرخ به دلیل دارا بودن مقدار زیادی ترکیبات پلی‌فنولیک، دارای اثرات ضد قند خون و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و ظرفیت بهبود پروفایل لیپیدی را دارد (۲۹). از سوی دیگر در مرحله تیمار با این دمنوش، عامل القای دیس لیپیدمی که همان تغذیه نادرست می‌باشد حذف گردیده بود و این در بهبود علائم

1 Nuclear factor erythroid 2-related factor 2
2 *Heme oxygenase-1*
3 Superoxide dismutase
4 Catalase

در گروه exp۱ مؤثر و معنی‌دار بود؛ بنابراین اصلاح سبک تغذیه، از دیگر ملاحظات درمانی است. در کل، بررسی پروفایل چربی در سطوح سرمی در این مطالعه، مؤید تأثیر معنی‌دار این دمنوش در افراد مبتلا به دیس لیپیدمی است. همچنین اگرچه مطالعات دیگری نیز نشان داده‌اند که مصرف نابه‌جا یا درازمدت این گیاه عوارضی همچون کاهش پتاسیم، کاهش گاماگلوبولین و التهاب کبـدی را به دنبال دارد (۳۰). اما در مطالعه حاضر احتمالاً با افزایش طول دوره تیمار با دمنوش، کاهش در آنزیم AST در گروه exp۱ نیز رخ می‌داد. بنابراین، دمنوش مخلوطی از برگ سنا و گل سرخ با مقادیری که بیان شد می‌تواند به‌عنوان یک جایگزین دارویی در درمان چربی خون بالا و دیس‌لیپیدمی مطرح باشد.

پرهیز از زیاده‌روی در مصرف نوشیدنی‌های شیرین صنعتی و غذاهای پرچرب یکی از عوامل تأثیرگذار بر مبتلانبودن به اختلالات کبدی است و دمنوش مخلوط برگ سنای مکی و گل سرخ می‌تواند افق درمانی مؤثری برای بهبود این شرایط باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور مرکز قم انجام شده است و نویسندگان از رئیس دانشگاه و مدیریت پژوهش دانشگاه پیام نور مرکز قم نهایت تشکر را دارند.

References

[1]. Pink AE, Cheon BK. Development of a simplified portion size selection task. Foods. 2021; 10(5): 1121.

[2]. Younossi ZM, Stepanova M, Afendy M, Fang Y, Younossi Y, Mir H, et al. Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States From 1988 to 2008. Clin Gastroenterol Hepatol. 2011; 9(6): 524-30.e1.

[3]. Yasutake K, Kohjima M, Kotoh K, Nakashima M, Nakamuta M, Enjoji M. Dietary habits and behaviors associated with nonalcoholic fatty liver disease. World J Gastroenterol. 2014; 20(7): 1756-67.

[4]. You T, Wang X, Murphy K, Lyles M, Demons J, Yang R, et al. Regional adipose tissue hormone/cytokine production before and after weight loss in abdominally obese women. Obesity. 2014; 22(7): 1679-8.

[5]. Sheng D, Zhao S, Gao L ,Zheng H, Liu W, Hou J, et al. BabaoDan attenuates high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease via activation of AMPK signaling. Cell and Bioscience. 2019; 9(1): 77.

[6]. Thow AM, Abdool Karim S, Mukanu MM, Ahaibwe G, Wanjohi M, Gaogane L, et al. The political economy of sugar-sweetened beverage taxation: an analysis from seven countries in sub-Saharan Africa. Global Health Action. 2021; 14(1): 1909267.

[7]. Ando Y, Jou J. Nonalcoholic fatty liver disease and recent guideline updates. Clinical Liver Disease. 2021; 17: 23-8.

[8]. Vahdatpoor H, Shakeryan S. Liver enzyme changes following the consumption of ginger and eccentric exercise in overweight girls. Feyz. 2018; 22(2): 162-8.

[9]. Kamiloglu S, Capanoglu E, Grootaert C, Van Camp J. Anthocyanin absorption and metabolism by human intestinal Caco-2 cells-a review. Int J Mol Sci. 2015;16(9): 21555-74.

[10].Ueda K, Kawabata R, Irie T, Nakai Y, Tohya Y, Sakaguchi T. Inactivation of pathogenic viruses by plant-derived tannins: strong effects of extracts from persimmon (Diospyros kaki) on a broad range of viruses. PloS one. 2013; 8(1): e55343.

[11].Rosenthal I, Wolfram E, Meier B. An HPLC method to determine sennoside A and sennoside B in Sennae fructus and Sennae folium. Pharmeuropa Bio Sci Notes. 2014; 2014: 92-102.

[12].Corsetti M, Landes S, Lange R. Bisacodyl: A review of pharmacology and clinical evidence to guide use in clinical practice in patients with constipation. Neurogastroenterol Motil. 2021. DOI: 10.1111/nmo.14123.

[13].Maryam A, Owoyele B, Yakubu M. Effect of ethanolic leaf extract of Senna fistula on some haematological parameters, lipid profile and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. Nigerian J Physiol Sci. 2015; 30: 87-93.

[14].Akbari M, Kazerani HR, Kamrani A, Mohri M. A preliminary study on some potential toxic effects of Rosa damascena Mill. Iran J Vet Res 2013; 14(3): 232-6.

[15].Sadraei H, Asghari G, Emami S. Effect of Rosa damascena Mill. flower extract on rat ileum. Res Pharm Sci. 2013; 8(4): 277-84.

[16].Jaimand K, Rezaee M, Asareh M, Tabaei Aghdaei S, Meshkyzadeh S. Determination of flavonoid compounds in Rosa damascene Mill. J Med Plants. 2010; 9(36): 161-8.

[17].World Health Organization, Brouwer IA. Effect of trans-fatty acid intake on blood lipids and lipoproteins: a systematic review and meta-regression analysis [Internet]. 2016; Available at: https://apps.who.int/iris/handle/10665/246109.

[18].Amouoghli Tabrizi B, Mohajeri D. Preventive effects of green tea extract from hepatic steatosis in the rats fed with high fat diets. J Rafsanjan Univ Med Sci Health Serv. 2014; 13(2): 125-40.

[19].Deutch MR, Grimm D, Wehland M, Infanger M, Krüger M. Bioactive candy: effects of licorice on the cardiovascular system. Foods. 2019; 8(10): 495.

[20].Ahmed SI, Hayat MQ, Tahir M, Mansoor Q, Ismail M, Keck K, et al. Pharmacologically active flavonoids from the anticancer, antioxidant and antimicrobial extracts of Cassia angustifolia Vahl. BMC Complement Altern Med. 2016; 16(1): 460.

[21].Jani D, Goswami S. Ameliorative effect of Raphanus sativus and Cassia angustifolia in experimentally induced hyperlipidemia and cardiovascular risk reduction. Int J PharmTech Res. 2017; 10: 273-9.

[22].Jani DK, Goswami S. Antidiabetic activity of Cassia angustifolia Vahl. and Raphanus sativus Linn. leaf extracts. J Tradit Complement Med. 2020; 10(2): 31-4.

[23].Firdous SM. Phytochemicals for treatment of diabetes. EXCLI J. 2014; 13: 451-3.

[24].Nickhah A, Naghdi Badi H, Shirzadi MH, Mehrafarin A, Taherian N. Effect of different treatments of organic fertilizers on growth characteristics and yield of Cassia

angustifolia Vahl. J Med Herbs. 2012; 3(2): 95-104.

[25].Wang D, Wang XH, Yu X, Cao F, Cai X, Chen P, et al. Pharmacokinetics of anthraquinones from mMedicinal plants. Front Pharmacol. 2021; 12: 638993.

[26].Nayan SI, Chowdhury FI, Akter N, Rahman MM, Selim S, Saffoon N, et al. Leaf powder supplementation of Senna alexandrina ameliorates oxidative stress, inflammation, and hepatic steatosis in high-fat diet-fed obese rats. PloS one. 2021; 16(4): e0250261.

[27].Hajhashemi V, Ghannadi A, Hajiloo M. Analgesic and anti-inflammatory effects of Rosa damascena hydroalcoholic extract and its essential oil in animal models. Iran J Pharm Res. 2010; 9(2): 163-8.

[28].Gholamhoseinian A, Shahouzehi B, Joukar S, Iranpoor M. Effect of quercus infectoria and Rosa damascena on lipid profile and atherosclerotic plaque formation in rabbit model of hyperlipidemia. Pak J Biol Sci. 2012; 15(1): 27-33.

[29].Tamam J, Bilqis I, Maftuchah R, Achmad B. Hypolipidemic effects of Rosa damascena Mill. extract in streptozotocin-induced diabetic rats. Indian J Forensic Med Toxicol. 2021; 15(2): 1065-70.

[30].Săvulescu E, Georgescu MI, Popa V, Luchian V. Morphological and Anatomical Properties of the Senna Alexandrina Mill. (Cassia Angustifolia Vahl.). "Agriculture for Life, Life for Agriculture" Conference Proceedings. 1. 305-310. 10.2478/alife-2018-0045.