مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (37) العدد (4) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (37) No. (4) 2015

تأثير المستخلص المائي لأزهار الكركديه في مستوى أنزيمتي الكبد AST و ALT في مصل دم الأرانب المحلية

الدكتورة اكتمال علي *
الدكتور مروان دباغ **

(تاريخ الإيداع 25 / 3 / 2015. قبل للنشر في 2 / 8 / 2015)

□ ملخّص □

هدفت الدراسة الحالية إلى معرفة تأثير المستخلص المائي لأزهار الكركديه في مستوى أنزيمتي الكبد: الألانين ترانس أميناز Alanine Transaminase(ALT) والأسبارتات ترانس أميناز Aspartate Transaminase (AST) في مصل دم الأرانب المحلية . استخدم في هذه الدراسة (12) أرنباً قسمت إلى مجموعتين (6) شاهدة و (6) تجريبية حيث جرعت المجموعة التجريبية بالمستخلص المائي فموياً ، وبجرعة يومية قدرها 150ملغ/كغ لمدة 28 يوماً (4 أسابيع) في حين جرعت المجموعة الشاهدة بالماء المقطر فقط ، بعد ذلك تم سحب الدم لإجراء القياسات البيوكيميائية كل 48 ساعة.

أظهرت نتائج الدراسة انخفاضاً معنوياً ($p<0.05$) في مستويات أنزيمتي الكبد AST و ALT في المجموعة التجريبية، على العكس من ذلك لم تظهر في المجموعة الشاهدة أية فروق معنوية بين مستويات الأنزيمتين خلال أسابيع التجريع.

الكلمات المفتاحية: المستخلص المائي لأزهار الكركديه – أنزيمات الكبد AST و ALT– أرانب .

* **مدرسة، قسم علم الحياة الحيوانية، كلية العلوم ، جامعة تشرين ، اللاذقية ، سورية.**
** **مدرس، قسم علم الحياة الحيوانية، كلية العلوم ، جامعة تشرين ، اللاذقية ، سورية.**

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (37) العدد (4) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (37) No. (4) 2015

Effect of calyx aqueous Extract of *Hibiscus sabdariffa* on the levels of ALT and AST Liver Enzymes in blood serum of Local Rabbits

Dr. Ektimal Ali*
Dr. Marwan Dabbagh**

(Received 25 / 3 / 2015. Accepted 2 / 8 /2015)

□ ABSTRACT □

The present study aimed to investigate the effect of calyx aqueous extract of Hibiscus sabdariffa on liver enzymes Alanine and Aspartate Transaminases (ALT and AST)level.

(12) Rabbits were used and divided into two groups : (6) the experimental group and (6) control group ,the control group became distilled water , while the experimental group received aqueous extract, that was administrated orally in adose of150 mg / kg body weight (b.w.) daily for28 days .Then blood was collected each 48 hours , the serum samples were taken and prepared to the biochemical tests to determine Alanine and Aspartate Transaminases (ALT and AST)level.

The results showed a significant decrease ($p<0.05$) in ALT and AST levels in experimental group. In contrast, control group, have showed no significant differences in enzyme levels between weeks of administration.

Keywords : Aqueous Extract of Hibiscus , AST and ALT , Rabbits .

* **Assistant Professor, Department of Zoology, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria**
** **Assistant Professor, Department of Zoology, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria**

مقدمة :

ينتمي نبات الكركديه Hibiscus sabdariffa إلى الفصيلة الخبازية Malvaceae [لايقة، 1995] وهو عبارة عن شجيرة ذات أزهار حمراء داكنة ، ينمو في أفريقيا وجنوب شرق آسيا وأمريكا الوسطى وشرق المتوسط . وقد استعملت أزهاره وأوراقه منذ القدم في الوصفات الشعبية ، فقد عرفه الفراعنة في مصر قبل 5000عام، وقدم في أمريكا الوسطى وجزر الكاريبي مع الزنجبيل ، ويستعمل اليوم في الطب البديل أو طب الأعشاب إذ يستعمل منقوعه المائي في علاج ارتفاع الضغط الشرياني [Chen,et al.,2003 ، Dahiru, et al. 2003، Ajay, et a.l 2007 ,] Kate and Lucky, 2012 كما يستعمل كمضاد أكسدة فعال بفضل احتواء أزهاره على الأصبغة الفلافونية كالأنتوسيانين[Chang, et al.,2006] واحتوائها على حمض الأسكو ربيك (فيتامين C) الذي يساعد على امتصاص الحديد [Naidu ,2003؛ Halberg ,et al .,2000].

ويساعد المستخلص المائي في خفض مستوى الكوليسترول، إذ يستطيع لعب دور ضد فرط الشحوم ويثبط أكسدة اللبيدات في ذكور الجرذان البيض [Chang, et al.,2006 , Biswas ,et al 2014] كما ينقص المستخلص المائي امتصاص الدهون ووزن الجسم ويعيق حدوث السمنة ،ويمنع تجمع الدهون ويحسن تشمع الكبد وذلك في الفئران المسمَنة [Alarcon-Aguilar, et al. 2007 ، Chang, et al. 2014] ويحسن العديد من الوظائف الاستقلابية والاستتباب البيولوجيBiostatsis ويحسن في وظائف الكبد في الجرذان البيض [Emelike, et al.2014;Ubani *et al.* 2011 ; Wang2000] إذ أن الصباغ الأنتوسيانين أثراً وقائيا ضد تسمم الكبد ، كما يقي الكركديه من البكتيريا الضارة بالحيوانات المنوية في الجرذ السكري [Idris, et al. 2012] ويخفّض غلوكوز الدم في الجرذان السكرية [Sini *et al.*, 2011] ، ويفيد المستخلص الكحولي لأزهار الكركديه كمضاد التهاب [Raduan, et al. 2013] ويزود الجسم بالحديد[Olusola, et al.,2012] كما يقاوم العدوى الجرثومية لاحتوائه على حمض الأسكورييك (فيتامين c) Ascorbic acidالمعروف بدوره المناعي في نشاط الكريات البيض وتقليل الالتهاب في الأرانب[Olusola, et al. 2012]، كما يحسن المستخلص المائي لأزهار الكركديه وظائف الكلية في الجرذان البيض [Alzubade, 2014] ,وهو يفيد في الوقاية من مرض النقرس (تراكم حمض البول) ومن التهاب المفاصل ، ويؤدي مستخلص الكركديه دوراً هاماً في تنظيم السوائل كحجم السائل داخل الخلوي والأليات الهرمونية كتركيب خلايا الدم الحمر في الجرذان البيض [Alzubade, 2014] وإفراز فيتامين D والحفاظ على الضغط في الأرانب والجرذان[Dahiru, et al. 2003، Ajay, et al. 2007; Chen et al.,2003]، كما يقوي ضربات القلب ويحد من نمو الأورام السرطانية بمكافحة الجذور الحرة وذلك في الجرذان البيض [Hirunpanich ,et al.,2006] .

إن الأنزيمتين الناقلتين للأمين : الأسبارتات ترانس أميناز والألانين ترانس أميناز تنتجان في الكبد ويزداد تركيزهما في الدوران الدموي في حال تلف الخلايا الكبدية أو موتها بفعل الالتهابات الكبدية الفيروسية ،أو الموت المحدث بالكحول أو بالجرعات [Gyuton and Hall,2000.]

من الناحية الكيميائية الحيوية تتوسط ALT نقل زمرة الأمين NH2من الحمض الأميني الألانين إلى الحمض ألفا كيتو غلوتارات ليتنتج الغلوتامات ، بينما يتحول الألانين إلى بيروفات .

$$\text{Alamine} + \alpha - \text{Ketoglutarate} \overset{\text{ALT}}{\Longleftrightarrow} \text{Pyvuvate} + \text{glutamate}$$

أما أنزيمة AST فتتوسط نقل زمرة الأمين من الأسبارتات إلى ألفا كيتو غلوتارات لينتج الغلوتامات ، بينما يتحول الأسبارتات إلى أوكزالو أسيتات

$$Aspartate + \alpha - \text{Ketoglutarate} \overset{AST}{\Longleftrightarrow} \text{Oxalocetate} + \text{glutamate}$$

وهي إحدى الوسائل الهامة للتخلص من زمرة الأمين لأن الغلوتامات تدخل في دورة تشكيل البولة Urea الناتج النهائي الذي يطرح مع البول[Abubakar *et al.*,2010;Alzubade, 2014]

من المعروف أن مستوى أنزيمتي AST و ALT في مصل الدّم يتغير بتأثير الإجهاد التأكسدي الذي يقود إلى تشكل العديد من الجذور الحرة الضارة بالخلايا الكبدية وبقية خلايا الكائن الحي [Arrigo et al., 2015].ينتج الإجهاد التأكسدي عند اختلال التوازن بين إنتاج الأكسجين التفاعلي (الجذور الحرة) والقدرة المضادة للأكسدة أي قدرة الجسم على إزالة السموم وإصلاح الضرر الناتج، إن تناول الطعام المرتبط بتحسين القدرة الكليّة المضادة للأكسدة يمكن أن يعدل درجة الإجهاد التأكسدي [Arrigo, et al., 2015.]

يؤدي العديد من العوامل البيئية كالتعرض لغبار المصانع وغيره من السموم لارتفاع في معايير الإجهاد التأكسدي ومعايير وظائف الكبد عند الإنسان

[Jasim ,et al.2012] وتقي الخلاصات النباتية وبشكل خاص المستخلص المائي لأزهار الكركديه من التأثيرات الضارة لعوامل هذا الإجهاد .

[Wang2000، Hirunpanich ,et al.,2006; *Wohlenberg et al.,2015*].

ومن هنا تنبثق أهمية الدراسة الحالية حول دور المستخلص المائي لأزهار الكركديه في الوقاية من التأثيرات الضارة لعوامل الإجهاد.

أهمية البحث وأهدافه:

تهدف هذه الدراسة لتحديد تأثير المستخلص المائي لأزهار الكركديه Hibiscus sabdariffa في مستوى أنزيمات الكبد في مصل دم الأرانب المحلية حيث يسهم هذا البحث في الإضاءة على الأهمية الطبية للنباتات واستخدامها في الوقاية من العديد من الأمراض .

طرائق البحث ومواده :

- **تحضير المستخلص المائي :**

تم تحضير المستخلص المائي لأزهار الكركديه بحسب [Salah, *etal.*,2002]حيث أحضرت أزهار الكركديه من السوق المحلية، وغسلت، ثم جففت. أضفنا إلى 1500 غ من النباتات الجافة (6) ليتر من الماء المقطر وتم التسخين مع التحريك بالخلاط المغنطيسي بدرجة حرارة 95 م^{o}لمدة ساعتين ، بعد ذلك تم تبخير المستخلص بالمبخر الدوار، وبدرجة حرارة 85 م^{o}ثم رشح المستخلص بوساطة ورق الترشيح وجفف الراشح بالفرن الكهربائي بدرجة 40 م^{o}لمدة 24 ساعة ،حيث تم الحصول في النهاية على بودرة جافة .

- **تصميم التجربة :**

استخدم في هذه التجربة ذكور الأرانب بعمر 6 أشهر تقريباً وبوزن متوسط1 كغ، وضعت في أقفاص مع شروط تهوية وإضاءة مناسبة، وقسمت الأرانب عشوائياً إلى مجموعتين : مجموعة شاهدة تضم(6) أرانب قدم لها العلف بشكل

حر ad libitum,وجرعت بالماء المقطرومجموعة تجريبية (6) أرانب جرعت بالإضافة لذلك مستخلص أزهار الكركديه 150mg/Kg b.w يوميا لمدة 28 يوماً (4 أسابيع) .

تم جمع عينات الدم كل 48 ساعة من الوريد الحافي لأذن الأرنبmarginal vein بوساطة محقن (syringe) بلاستيكي سعة 3 مل حيث وضع الدم المسحوب في أنابيب خالية من أي مانع التخثر للحصول على المصل من أجل الدراسة الكيميائية الحيوية اللاحقة والتي تضمنت تعيين الأنزيمات الناقلة للأمين الألانين والأسبارتات ترانس أميناز AST و ALT (Aspartate Transaminase ، Alanine Transaminase).

- **تعيين أنزيمات الكبد AST و ALT في المصل:**

تم قياس تركيز الأنزيمات حسب (Schumann *et al.*,2003) وتعتمد هذه الطريقة على قياس كميات البيروفاتPyruvate والأوكزالوأسيتاتoxaloacetate المتحررين مقدراً بـ(U/L)بحسب التفاعلين الآتيين :

$$\text{Alamine} + \alpha - \text{Ketoglutarate} \overset{\text{ALT}}{\Longleftrightarrow} \text{Pyvuvate} + \text{glutamate}$$

$$\textit{Aspartate} + \alpha - \text{Ketoglutarate} \overset{\text{AST}}{\Longleftrightarrow} \text{Oxalocetate} + \text{glutamate}$$

حيث يتفاعل كل من البيروفات والأوكزالوأسيتات المتحررين مع ثنائي نتروفينيل هيدرازين DNPH ، ويقاس الامتصاص بوساطة مقياس الطيف الضوئيSpectrophotometer عند طول موجة 505 نانومتر ، اذ تتناسب شدة الامتصاص طرداً مع نشاط الأنزيمة وتركيزها في المصل.

- **التحليل الإحصائي :**

تم تحليل النتائج احصائيا باستخدام برنامج SPSS حيث عبر عن القيم بـ $mean \pm S.D$ و حسبت الفروق بين المجموعتين باستخدام اختبار التباين الأحادي ANOVA إن المقارنة بين مستوى الأنزيمتين في مصل الدم بين المجموعات الشاهدة و التجريبية في كل أسبوع من أسابيع التجربة تمت باستخدام اختبار ستودنتT .test .

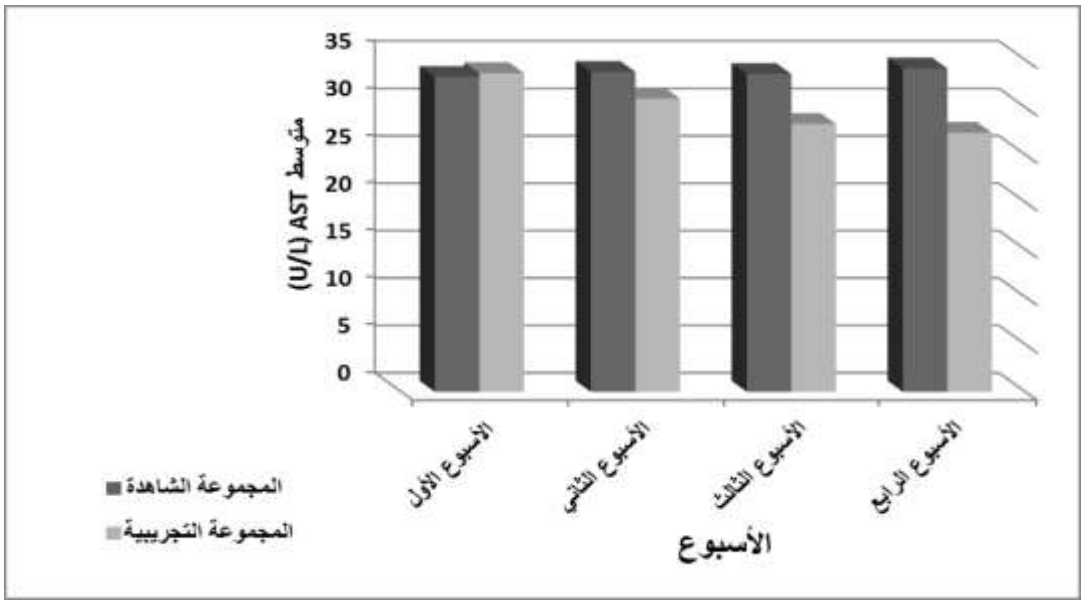
النتائج و المناقشة :

باستخدام اختبار ستودينت يظهر الجدول رقم (1) والمخطط (1) أن التجريع بالمستخلص المائي بتركيز 150 ملغ / كغ من وزن الجسم body weight (b.w) يومياً سبب انخفاضاً معنوياً ذا دلالة إحصائية ($P<0.05$) في مستوياتASTمقدراً بـ (U /L) وذلك بين المجموعات التجريبية والشاهدة باستثناء الأسبوع الأول حيث كانت الزيادة غير معنوية) في مستوى الأنزيمة.

جدول رقم (1) تأثير المستخلص المائي لأزهار الكركديه في مستوى أنزيمة AST(U/L)في مصل الأرانب المحلية

الأسبوع / المجاميع	الأول	الثاني	الثالث	الرابع
الشاهدة	33.21 ± 1.15	33.75 ± 0.25	33.52 ± 0.29	34.1 ± 0.12
التجريبية	33.62 ± 1.11	30.92 ± 0.86	28.25 ± 0.78	27.33 ± 0.59
T	0.61	7.74	15.61	27.2
p-value	n.s 0.538	**0.000	**0.000	**0.000

ونوضح ذلك بالمخطط الآتي :

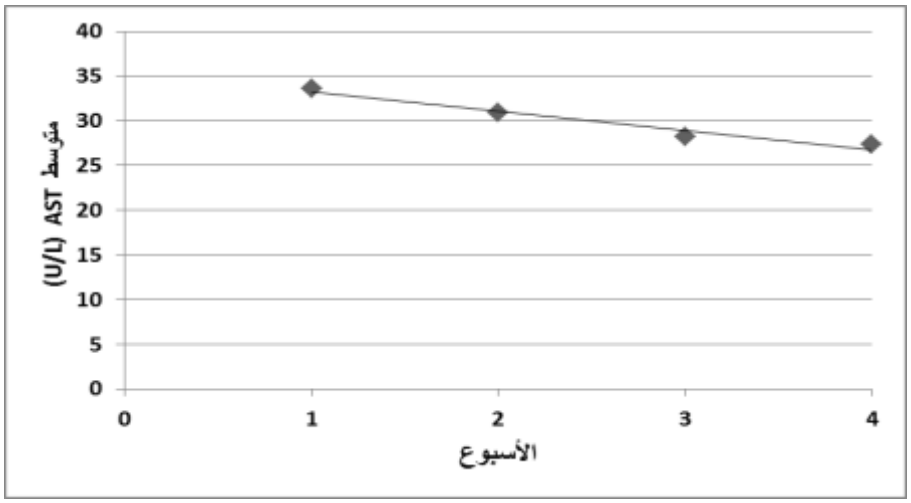


مخطط (1) متوسط مستوى الأنزيمةAST في الأسابيع المختلفة للتجربة في المجموعتين الشاهدة والتجريبية

وبدراسة تأثير عامل الزمن على متوسط مستوى أنزيمة AST تم احتساب معادلة الارتباط الخطية باستخدام طريقة المربعات الصغرى ونوضحها بالمعادلة :

$$AST = 35.418 - 2.16T$$

أي كلما ازدادت مدة التجربة أسبوع واحد أدى ذلك لنقصان مستوى الأنزيمة بـ 2.16 حيث تم احتساب معامل الارتباط الخطي لبيرسون وقيمته 0.98- أي أن العلاقة عكسية وقوية جداً ولتحديد نسبة تأثير الزمن على مستوى الأنزيم تم احتساب معامل التحديد حيث تبين أن 96.1 % من التأثيرات تعود للزمن أي أن التجريع بمستخلص الكركديه أدى لانخفاض مستوى أنزيمةAST في مصل الدم مع استمرار التجريع كما في المخطط (2)



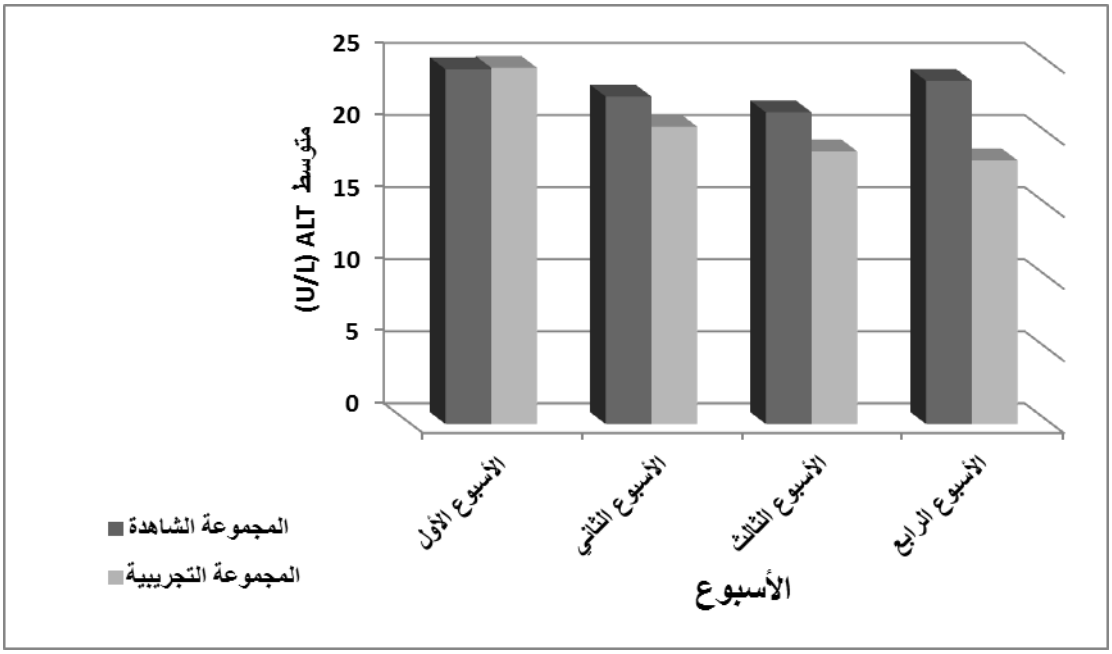
مخطط (2) تناقص مستوى الأنزيمةAST في الأسابيع المختلفة للتجربة في المجموعة التجريبية

يظهر الجدول(2) أن التجريع بالمستخلص المائي بتركيز 150ملغ/ كغ من وزن الجسم يومياً يسبب انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في مستويات **ALT** مقدراً بـ (U /L) وذلك بين المجموعات التجريبية والشاهدة باستثناء الأسبوع الأول باستخدام اختبار ستودنت student.t-test .

جدول رقم(2) تأثير المستخلص المائي لأزهار الكركديه في مستوى أنزيمة(ALT(U/L في مصل دم الأرانب المحلية باستخدام اختبار student.test:

الأسبوع / المجاميع	الأول	الثاني	الثالث	الرابع
الشاهدة	24.61 ± 0.46	22.72 ± 0.43	21.63 ± 0.69	23.81 ± 0.71
التجريبية	24.72 ± 1.02	20.63 ± 1.12	18.91 ± 0.89	18.3 ± 0.82
T	0.22	4.28	5.86	12.45
p-value	n.s0.829	**0.002	**0.000	**0.000

وكذلك يوضح بالمخطط الآتي :



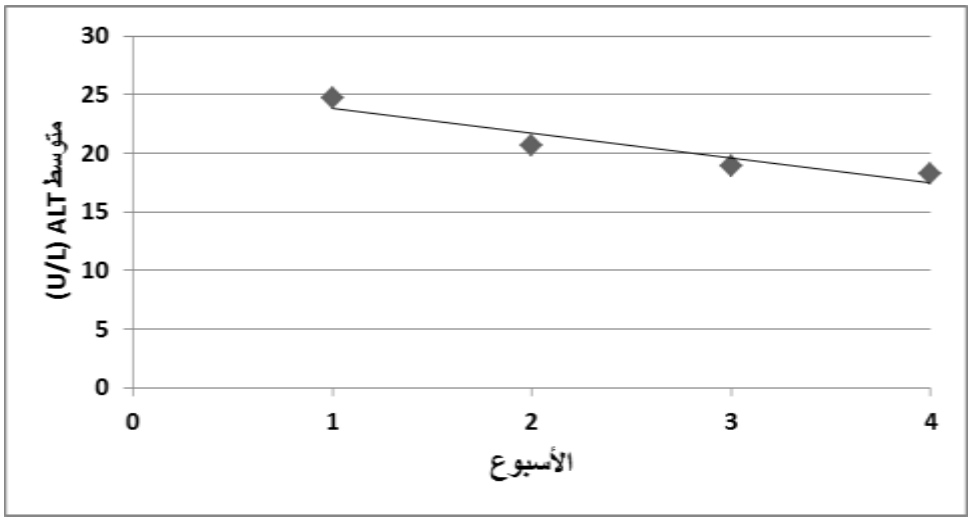
مخطط (3) متوسط مستوى الأنزيمةALT في الأسابيع المختلفة للتجربة في المجموعتين الشاهدة والتجريبية

ولدراسة تأثير عامل الزمن على متوسط مستوى أنزيمة ALT تم احتساب معادلة الارتباط الخطية باستخدام طريقة المربعات الصغرى ونوضحها بالمعادلة :

$$ALT = 25.89 - 2.09T$$

أي كلما ازدادت مدة التجربة أسبوعاً واحداً أدى لنقصان مستوى الأنزيمة بـ 2.09 حيث تم احتساب معامل الارتباط الخطي لبيرسون وقيمته 0.937- أي أن العلاقة عكسية وقوية جداً ولتحديد نسبة تأثير الزمن على مستوى

الأنزيمة تم احتساب معامل التحديد حيث تبين أن 87.7 % من التأثيرات تعود للزمن أي أن التجريع بمستخلص الكركديه أدى لانخفاض مستوى أنزيمةALT مع مرور الزمن كما في المخطط (4)



مخطط (4) تناقص مستوى الأنزيمةALT في الأسابيع المختلفة للتجربة في المجموعة التجريبية

تظهر الدراسة الحالية تناقصا في مستوى الأنزيمتين AST و ALT بعد أسبوعين من تجريع الأرانب بالمستخلص المائي لأزهار الكركديه وهذا ما يتفق مع نتائج كل من [Ubani et al 2011 و Olusola *et al* 2012 Olugundudu,et al. 2009] لكنه يتناقض مع نتائج Chang ***et al*** 2014و Emelike *et al* 2014 في حين تشير دراسات أخرى [Alzubade, 2014]إلى عدم حدوث تغيير بعد تجريع الجرذان بجرعات متزايدة التركيز من المستخلص المائي للكركديه

ويعود الانخفاض التدريجي لمستوى هاتين الأنزيمتين في مصل الدم بتأثير المستخلص ، للأثر الوقائي للمواد الفعالة الموجودة في المستخلص والتي تصون الخلايا الكبدية [Hirunpanich *et al.*,2006,] ,حيث إن زيادة مستوى هاتين الأنزيميتين في المصل يشير إلى ضرر كبد متقدم[Ologundudu *et al.*,2009]

كما أن تعيين مستوى الأنزيمين يؤدي دوراً مهماً في الكشف المبكر عن الأمراض، وتقدير الجرعة المطلوبة من الدواء أو المستخلص النباتي تجنباً لخطر السمية . وتوجد AST كمادة داخل خلايا الكبد والقلب والحويصل الصفراوي والعضلات ،أما ALT فهي نوعية للكبد ،ويعود ازدياد تركيز هاتين الأنزيمتين في المصل إلى تضرر نسيج الكبد[ ] Essa *et al*,.2009.وذلك بعد خروج هذه الأنزيمات إلى الدوران الدموي نتيجة تخرب الأغشية الخلوية والتنخر النسيجي الناتج عن أكسدة لبيدات الغشاء (الإجهاد التأكسدي) بعد مهاجمته من قبل الجذور الحرة [Arrigo,et al.2015;Wholenberg ,et al. 2015;Jasim,et al.2012]

إن التغيرات في مستوى هذه الأنزيمات تشير الى تلف الكبد liver Steatosis [Mendonca et al.2008] وهذه الأنزيمات مع انزيمة الفوسفاتاز القاعدية Alkalinphosophatase (ALP) لها أهمية رئيسية في تقدير وتوجيه التحاليل المتعلقة بوظائف الكبد[Nyblom, et al. 2006]حيث تشير العديد من الدراسات إلى الآثار المفيدة للمستخلص المائي للكركديه على وظائف الكبد بما يتفق مع النتائج التي توصلنا إليها [Dahiru.et al.

2007، Olusola *et al* .,2012 ، Essa *et al*., 2009]إلا أن بعض الدراسات تكتفي بالإشارة إلى أنه غير سام مهما ازداد تركيزه ، إذ لم تسجل تغيرات معنوية في مستويات الأنزيمتين AST و ALT.

[Amine and Hamza 2005 ,Alzubade 2014] في حين تظهر بعض الدراسات إلى تزايد هاتين الأنزيمتين في مصل دم الجرذان بعد إعطاء المستخلص (Abubakar,et al.2010) بما لايتفق مع النتائج التي توصلنا إليها في الأرانب.

إن الأثر الوقائي الذي خلصت له معظم الدراسات يعود لغنى المستخلص بفيتامين(Ascorbic acid(C ومركبات مضادة للأكسدة كالفلافونوئيدات Flavonoidies و حمض الفينول والأنتوسيانين التي تم عزلها من الأزهار و كان لها أثراً وقائيا[Wang, et al. 2000 , Hirunpanich, et al. 2006].

الاستنتاجات والتوصيات :

1) ضمن الحدود التي أجريت فيها هذه الدراسة يمكن الاستنتاج أن المستخلص المائي لأزهار الكركديه ينقص من مستوى أنزيمات الكبد في مصل دم الأرانب .

2) يؤدي التجريع بالمستخلص المائي لأزهار الكركديه لخفض مستويات الأنزيمتين AST و ALTفي مصل دم أرانب التجربة .

3) يحدث الانخفاض التدريجي لمستوى الأنزيمات المعنية بالدراسة باستمرار التجريع بدءا من الأسبوع الثالث.

4) يحافظ المستخلص المائي لأزهار الكركديه على سلامة خلايا الكبد ويصونها من التخريب .

5) نوصي بإجراء المزيد من الأبحاث للوقوف على فوائد المستخلصات النباتية والاستعانة بها في الوقاية من العديد من الأمراض المستعصية وعلاجها .

المراجع :

1-لايقة ، سرحان : عملي الفصائل النباتية- مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية ، كلية العلوم، جامعة تشرين ،1995

2-ABUBAKAR,M.G.;LAWAL,A.-;SULEIMAN,B.; ABDULLAHI, K *Hepatorenal toxicity studies ofsubchronic Administration of calyxs of Hibiscus sabdariffa aqueous extracts in albino rats.l*BayeroJourna of pure and applied sciences.3(1) (2010):16-19.

3-AJAY,M.; CHAI, H.J.; MUSTAFA,A.M;. GILANI,A.H; MUSTAFA, M.R. - Journal of Ethnopharmacology*Mechanisms of the anti-hypertensive effect of Hibiscus sabdariffa L. calyces* 109 (2007) 388–393

4- ALARCON-AGUILAR, F.J., ZAMILPA, A., PEREZ, G, M.DPERZ,A, J. CROMERO,N, E., CAMPOS,S., E.A., VAZQUEZ-C, L.I. :ROMAN,R, R. *Effect of Hibiscus sabdariffa on obesity in MSG mice*. Journal of Ethnopharmacology, 114 (2007).: 66-71.

5-ALZUBADE,B,A, *Effects of aqueous extract of Hibiscus sabdariffa L. on some biochemical indices of liver and kidney function in male albino rats*. Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.6/ NO.2.-(,2014) 2311-2344.

6- AMIN, A. HAMZA, A.A..*Hepatoprotective effect of Hibiscus Rosmarinus and Salvia on azathioprineinduced toxicity in rats*. *Life Sci.*, 77(3):(2005)266.

7ARRIGO,T.;LEONARDI,S.;CUPPARI,C.;MANTI,S.;LANZAFAME,A.;D,ANGELO,G.;GITTO,E.;MARSEGLIA,L.;SALPIETO,C.*Role of the diet as alink between oxidative stress and liver disieses.World J.of Gstroenterol,21(2)(2015):384-395.*

8- BISWAS, A, DSOUZA,U.J, BHAT, S, D. D. *the hepatoprotective effect of Hibiscus rosasinensis flower extract on diet-induced hyper cholestrolmiain mail albino wister rats* . IJMPS; 4(2014)(6): 01-10 .

9- .CHEN,C.C., HSU,J.-D.,.WANG,S.-F., "*Hibiscus Sabdariffa extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits*," Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 51, no. 18(,2003) pp. 5472–5477,

10-CHANG, Y-CHUANG,K-XHUANG,A-C, HO, Y-C, WANG C-J. *Hibiscus anthocyanins-rich extract inhibited LDL oxidation and oxLDL - mediated macrophages apoptosis. Food and Chemical Toxicology*.;44(2006)(7):1015–1023

11- DAHIRU,D. ;OBI,O.J. ;UMARU, H.*Effect of Hibiscus sabdariffaCaly Extract on Carbon Tetrachloride-Induced Liver Damage.* Biochemistry 15(1(2003)):27-33.

12- EMELILE, C.U. ; OBKE,C. J.; NWANDIKOR, U.U.;IFEDORA, A.C.; ONYNWEAKU, F.;ODO, M. C. and OBEAGU, E. *I Physicochemical Constituents, Phytochemical and Morphological Effects of OralAdministration of Aqueous Extract of Hibiscus sabdariffaon Kidney and Liver of Wistar Albino Rats*. American Journal of Research Communication., 2(7).(2014). :101-112.

13- ESSA, M.M, Subramanian P. *Influence of Hibiscus sabdariffa on the rhythmic alterations of liver markers in experimental hyperammonemic rats*. Biological Rhythm Research.(40) 2009;(3):273–2.

14-GUYTON, A.C. ; HALL, J. Textbook of Medical Physiology (Tenth Edition). Harcourt International Edition, W.B. Saunder Company, Philadelphia. (2000): 279-281.

15-HALBERG,H. *Prediction of dietary iron absorption , an algorithm for calculating absorption and bioavailability of dietary iron* .Am JclinNutr (71)(2000), : 1147 – 60 .

16-HIRUNPANICH,, V;UTAIPAT, A.,MORALES, N.P., Bunyapraphat-sara, N., Sato, H.,HERUNSALE, A. ;SUTHISISAG,C.*Hypocholesterolemic and antioxidant effects of aqueous ex-tracts from the dried calyx of Hibiscus sabdariffa L. in hypercholesterolemic rats.* Journal ofEthnopharmacology 103 (2006)., 252–260.

17-IDRIS, M.H.BUDIN, S.B. OSMAN, M. MOHAMED, J. (-Protective Role of *Hibiscus sabdariffaCalyx Extract Against Streptozotocin-Induced Sperm Damage in Diabetic Rats.* EXCLI Journal.11(2012):659-669.

18- JASIM,R.H.;NUMAN,A.W.;HASAN,S.M.,*Evaluation of Oxidative Stress and Liver Function Parameters in the Sera Samples of Kufa Cement Factory Workers.*,Journal of Kufa for Chemical Science NO(5)2012,40-50.

19-KATE, I. E ;. LUCKY,O.O. ,*The effects of aqueous extracts of the leves ofHibiscusrosa-sinensis Linn. on renal function in hypertensive rats* .African Journal of Biochemistry ResearchVol. 4(2)(2010), pp. 43-46

20 -MENDONCA, M,B.;. BIELAVSKY, M.BARBOSA, F.C.R. *Liver overload in Brazilian triathletes after half-ironman competition is related muscle fatigue*. Annals of Hepatology.,3(2008).: 245-248.

21-NAIDU,K,A, *Vitamine c in human health and disease is still a mystery 2* An overview , Nutrition Journal ,2:7(2003) doi-10186 : 1475-2891 – 2 – 7 .

22- NYBLOM, H. E. ;BIOMSSON, M. ; SIMREN,F. ; ALDENBORG, S. ALMER S. OLSSON,R. *The AST/ALT ratio as an indicator of cirrhosis in patients with PBC. - Liver Int*., 26(7): (2006). 840-845.

23-OLOGUNDUDU, A ; OLOGUNDUDUA.O ; OLOLADE, I.A.OBI,F.O. *The effect of Hibiscus anthocyanins on 2, 4-dinitrophenylhydrazine-induced hepatotoxicity in rabbits.* Int. J. Phys. Sci.(4) (2009).- 4: 233-237.

24-OLOSULA ; BADA,S.O. ;OBI,F.O. *Comparative Study on the Effect of Hibiscus sabdariffa Calyx Anthocyanins and Ascorbate on 2,4-Dinitrophenylhydrazine-induced Damage in Rabbits.*American Journal of Biochemistry(2)(2012)., 2: 1-6.

25–RADUAN,S.Z. , ABDUL AZIZ,M.H ,ROSLIDA, A.H. ZAKARIA, Z.A, ZURAIN,IA, HAKIM,M.N . *Anti inflammatory effects of Hibiscus Rosasinensis L. and Hibiscus rosasisenensisvar alba ethanol extracts*J Pharm PharmSci, Vol 5, Issue 4, (2013) 754-76I.

26-SALAH, A.M.;, GATHUMBI, J.,;VIERLING, W. *Inhibition of intestinal motility by methanolic extracts of Hibiscus sabdariffa L. (Malvaceae) in rats*.Phytother Res. . (2002). 16: 283–285

27-*SCHUMANN,G..;KLAUKE,R.; enzematic determination of AST and ALT. Clin.Chim.Acta (2003) 327,69-79.*

28-SINI, J.M. ;UMAR, I..A.. ;INUWA,,H.*M The Beneficial effect of the Extractof Hibiscus sabdariffa Calyces in Alloxan diabetic rats:Hypoglycaemic and ypolipidaemic activities.* J. Med. Plant Res. (2011).., 11: 2182-2186.

29-UBANI, C. S. ; JOSHUA, P. E; ORAEKI, A. N. *Influence of Aqueous Extract of Hibiscus sabdariffa Calyces on Lipid Profile of Phenobarbitone-Induced Wistar Albino Rats.* Journal of Pharmacy Research(2011)., 3(2): 319.

30-WANG.,C.J. ;WANG, J.M. ; LIN , W.L.*Protective effect of Hibiscus anthocyanins against tetrabutylhydro peroxidase-induced hepatic toxicity in rats.FoodChem.toxicol.*(2000)38:411-416.

31WOHLENBERG,M.F.;GONCALARES,L.K.;SCHAFFER,T.K.;HILGER,D.K.;B RACCINI NETO,R.D.;ANTUNES,M.; FRUSCIANTE,M; RODRIGUES,A; FUNCLAL,C,; DANI,C., *Effect of grape juice on some biochemical and oxidative stress parameters. in serum and liver enzymes of pregrant and lactating rates* Biological Sciences and Pharmaceutical Researches vol.3(4) (2015) pp 37-46.