

تاثیر مصرف خوراکی برگ گیاه *Medicago sativa* بر چربی خون و فاکتورهای خونی مرتبط با کم خونی

دکتر ماریا توکلی اردکانی^۱، دکتر فاطمه آگاه^۲، دکتر فراز مجاب^۳

۱. گروه داروسازی بالینی دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۲. کمیته پژوهشی دانشجویان دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۳. گروه فارماکوتوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

■ خلاصه

مقدمه: مصرف گیاه یونجه تاریخچه‌ای طولانی در طب سنتی دارد. مطالعات حیوانی متعددی نشان داده که مصرف یونجه باعث کاهش جذب کلسترول می‌شود. همچنین به عنوان تونیک متعاقب از دست دادن خون و یا در زمان کم خونی استفاده می‌شود. به جهت اهمیت هیپرکلسترولمی به عنوان عامل خطر در بروز بیماری‌های قلبی و شیوع بالای کم خونی در کشورهای در حال توسعه، این تحقیق به منظور بررسی اثر کپسول‌های عصاره گیاه یونجه بر میزان چربی‌های خون و آهن سرم طراحی گردید.

مواد و روش‌ها: ۱۹ نفر مرد سالم با میانگین سنی ۳۵ سال برای مصرف خوراکی کپسول‌های تهیه شده از برگ

یونجه، به صورت تصادفی و دوسو کور در دو گروه دارو (۹ نفر) و دارونما (۱۰ نفر) تقسیم شدند و کپسول‌های ۲۵۰ میلی گرم گیاه و دارونما طی دو ماه، روزی سه عدد دریافت کردند. نمونه‌گیری از خون داوطلبان به صورت پایه، یک ماه و دو ماه از مصرف کپسول‌ها انجام شد. آزمون‌های فریتین، آهن، CBC، TIBC، کلسترول، تری‌گلیسیرید، LDL و HDL اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: پس از دو ماه، در گروه درمانی، افزایش در آهن سرم، HDL و کاهش در TIBC و LDL و تری‌گلیسیرید در مقایسه با گروه دارونما مشاهده شد که به لحاظ آماری معنی دار نبود.

نتیجه‌گیری: عصاره گیاه یونجه با مقدار مصرف ۷۵۰ میلی گرم در روز با کاهش چربی‌های مضر و افزایش

HDL می‌تواند در کمک به بهبود اختلالات چربی‌ها و افزایش آهن سرم نیز مفید باشد.
واژگان کلیدی: یونجه، کلسترول، تری‌گلیسرید، آهن، آنمی، Medicago Sativa.

■ مقدمه

کم‌خونی وضعیتی است که در آن تعداد یا اندازه گلبول‌های قرمز و یا مقدار هموگلوبین موجود در خون کاهش می‌یابد و تبادل اکسیژن و دی‌اکسید کربن بین خون و سلول‌ها دچار اختلال می‌شود. از مهم‌ترین مواد مغذی جهت خون‌سازی که کمبود آن‌ها موجب بروز کم‌خونی می‌شود، می‌توان به آهن، ویتامین B₁₂ و اسید فولیک اشاره کرد (۱). سازمان بهداشت جهانی، آنمی را به صورت هموگلوبین (Hb) کمتر از ۱۳g/dl در آقایان و کمتر از ۱۲g/dl در خانم‌ها تعریف کرده است. از بین آن‌ها کم‌خونی ناشی از فقر آهن از شایع‌ترین کم‌خونی‌ها است و از این رو، محور اصلی تحقیق ما نیز همین نوع کم‌خونی است.

کم‌خونی یکی از بیماری‌های شایع در دنیا می‌باشد که بیش از ۲ میلیارد نفر در دنیا را تحت تاثیر قرار داده و بر اساس تحقیقات انجام شده حدود ۳۰ درصد مردم دنیا مبتلا به کم‌خونی هستند. تخمین زده می‌شود که میلیون‌ها نفر از مردم جهان از آنمی خودبی‌خبر هستند. فقر آهن عمده‌ترین دلیل آنمی در سراسر جهان می‌باشد که ۵۰ درصد از کل موارد آنمی را شامل می‌شود.

شیوع کم‌خونی در کشورهای در حال توسعه بیشتر است، به طوری که از هر ۱۰ نفر مبتلا به کم‌خونی، ۹ نفر آن در این‌گونه کشورها زندگی می‌کنند (۲). میزان شیوع کم‌خونی فقر آهن در کشورهای صنعتی در دهه‌های اخیر کاهش یافته اما تغییر مختصری در شیوع جهانی

آن رخ داده است (۳). کم‌خونی غالباً با غیرطبیعی بودن آزمون‌های آزمایشگاهی غربالگری مشخص می‌شود. تنها در بعضی از موارد بیماران با کم‌خونی پیشرفته و علائم و نشانه‌های مربوط به آن مراجعه می‌کنند.

گیاه یونجه در طب سنتی به عنوان درمان کم‌خونی شهرت دارد و استفاده می‌شود. یونجه (با نام علمی *Medicago sativa* از خانواده‌ی Fabaceae) گیاهی است که به علت استفاده زیاد دارویی و غذای دام، امروزه در بیشتر نقاط جهان کشت می‌شود. به صورت سنتی، گیاه یونجه در بهبود حافظه، درمان درد کلیه، سرفه، درد عضلات و به عنوان ضد دیابت، ضد التهاب، ضد قارچ، ضد آسم، ضد میکروب، مدر و برای اختلالات دستگاه عصبی مرکزی استفاده می‌گردد (۴). مصرف آن مخلوط با برنج (یونجه‌پلو) یکی از غذاهای محلی در برخی مناطق ایران است.

برگ‌های یونجه سرشار از مواد پروتئینی، کلسیم و نیز بعضی مواد معدنی، کاروتن، ویتامین‌های E و K و برخی ویتامین‌های محلول در آب هستند (۵). به نظر می‌رسد در این گیاه و جوانه‌های آن یک فراکشن حاوی ساپونین‌های استروئیدی موجب کاهش کلسترول و همولیز گلبول‌های قرمز وجود دارد. دانه‌های یونجه حاوی اسید آمینه آل-کاناوانین (آنالوگ آرژینین) است. در دانه یونجه همچنین دو آلکالوئید به نام‌های استاکیدرین و هومواستاکیدرین وجود دارد که قاعده آور و شیرافزا هستند. این گیاه حاوی گروه‌های مختلفی از مواد شیمیایی گیاهی از جمله انواع آلکالوئیدها (۶)، آمینو اسیدها (۷)، کاروتنوئیدها (۸)، کومارین‌ها (۹)، آنزیم‌ها (۱۰)، فلاونوئیدها (۱۱)، مواد معدنی (۱۲)، آمینواسیدهای غیر پروتئینی (۱۳)، اسیدهای آلی (۱۴)، ترکیبات فنلی (۱۵) و... است. محتوای ساپونین گیاه در مشکلات قلبی عروقی و

مصرفی عصاره بر اساس مقدار مصرف قسمت هوایی خشک گیاه تعیین شد (۱۸).

۱۹ نفر مرد سالم (کارگران دانشکده) به صورت تصادفی و دوسو کور در دو گروه دارو (۹ نفر) و دارو نما (۱۰ نفر) تقسیم شدند. کپسول‌ها طی دو ماه، روزی سه عدد مصرف شدند. در فواصل زمانی صفر، یک ماه و دو ماه بعد از مصرف کپسول‌ها خون‌گیری انجام گرفت. آزمون‌های آزمایشگاهی برای اندازه‌گیری CBC، Iron، Ferritin، TIBC، Cholesterol، Triglyceride، LDL و HDL در آزمایشگاه مرکزی بیمارستان طالقانی انجام شد.

■ روش‌های تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای مقایسه سن داوطلبان گروه کنترل با گروه آزمایش از روش unpaired t-test استفاده شد. در بقیه نتایج، داده‌ها بر حسب $Mean \pm SD$ بیان شدند. برای مقایسه میانگین‌ها و هموزنسیته داده‌ها از آزمون *D'Agostino & Pearson*، استفاده شد تا نوع توزیع مشخص شود. چون توزیع داده‌ها نرمال بود، از روش ANOVA 2-Way و به دنبال آن از آزمون کمکی Bonferroni's برای تعیین معنی‌دار بودن اختلاف بین گروه‌های مورد بررسی، استفاده شد. مقادیر $P < 0/05$ به عنوان حد نصاب برای معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

این مطالعه بالینی با شماره ۲۰۱۴۰۸۳۱۷۸۰۳۲N۲ در مرکز کارآزمایی بالینی ایران (IRCT) به ثبت رسیده است.

■ یافته‌ها

بر اساس شرایط اصلی ورود به مطالعه، در کل ۱۹ داوطلب با میانگین سنی ۳۵ سال، مصرف کپسول‌های

اعصاب و دستگاه گوارش مؤثر است. ساپونین‌ها و دیگر ترکیبات گیاه یونجه اثر سینرژیک با اسیدهای صفراوی برای اتصال به کلسترول دارند. ساپونین‌ها همچنین به صورت غیرمستقیم، بر متابولیسم کلسترول با تداخل در گردش روده‌ای اسیدهای صفراوی، اثر می‌گذارند (۱۶). چندین مطالعه نشان داده که مصرف یونجه در حیوانات باعث کاهش جذب کلسترول و کاهش تصلب شرایین می‌شود (۱۷).

در مطالعه‌ای که در آن دانه‌های گرمادیده یونجه (۴۰ گرم، سه بار در روز برای مدت ۸ هفته)، توسط هشت بیمار نوع ۲ آهیپرلیپیدمی و سه بیمار نوع ۲ ب، مصرف شد، کاهش معنی‌داری در غلظت کل سرم کلسترول، LDL و apolipoprotein B، مشاهده شد. غلظت LDL کمتر از ۵ درصد در دو بیمار از ۱۱ بیمار پایین آمد (۱۶). در پژوهش حاضر تأثیر مصرف خوراکی برگ گیاه *Medicago sativa* بر چربی خون و فاکتورهای خونی مرتبط با کم خونی در داوطلبان سالم و به منظور بررسی ادعاهای طب سنتی مطالعه شده است، بر اساس بررسی‌های انجام شده توسط نویسندگان در منابع، این تحقیق که به طور همزمان به بررسی تأثیر برگ گیاه مدیکاگو ساتیبا بر پارامترهای خونی مرتبط با کم خونی و نیز افزایش سطح کلسترول خون بپردازد، تاکنون انجام نشده و برای اولین بار انجام می‌شود.

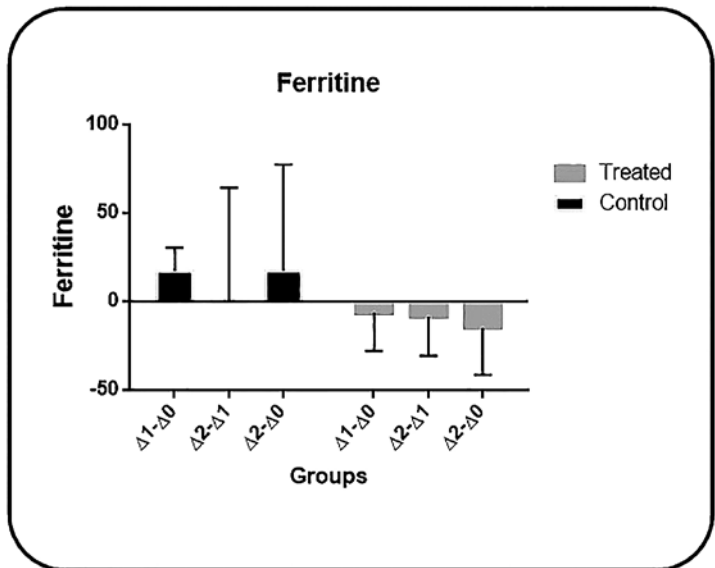
■ مواد و روش‌ها

برای گرفتن عصاره برگ یونجه از روش خیساندن و اتانول استفاده گردید. با استفاده از دستگاه کپسول سازی دستی، کپسول‌های ۲۵۰ میلی‌گرم به عنوان دارو و نشاسته ذرت به عنوان دارونما تهیه شد. داوطلبان باید روزی سه کپسول مصرف می‌کردند، که به طور متوسط روزانه ۷۵۰ میلی‌گرم عصاره‌ی گیاهی است. مقدار

روی تغییرات فاکتور آهن در مدت دو ماه مصرف، در گروه کنترل، آهن سرم در ماه اول کاهش، در ماه دوم افزایش و در مجموع دو ماه افزایش یافت. همچنین در گروه درمانی، در ماه اول کاهش، ماه دوم افزایش و در مجموع دو ماه نسبت به گروه کنترل افزایش بیشتری یافت (P Value > 0.99). (نمودار ۲). همچنین ظرفیت اتصال آهن تام [Total iron binding capacity (TIBC)] در گروه کنترل، در ماه اول افزایش و در ماه دوم، کاهش و در کل دو ماه کاهش یافت. TIBC در گروه درمانی نیز در ماه اول افزایش و در ماه دوم کاهش و در مجموع دو ماه کاهش یافت (P Value > 0.99). (نمودار ۳). اثر کپسول‌ها روی تغییرات هموگلوبین به مدت دو ماه مصرف نیز بررسی شد. هموگلوبین در گروه کنترل، در ماه اول و دوم و در مجموع دو ماه کاهش یافت. در گروه درمانی هم در ماه

عصاره یونجه را (۹ نفر) با میانگین سنی و انحراف معیار ۳۲/۲±۱۳/۶۴ و گروه دارونما (۱۰ نفر) با میانگین سنی و انحراف معیار ۳۹/۲۲±۷/۵۲ سال، شروع کردند. هیچ یک از داوطلبان از مطالعه خارج نشدند. برای مقایسه سن بیماران بین دو گروه که متغیر کمی با مقیاس فاصله‌ای بودند و با توجه به نرمال بودن سن داوطلبان در دو گروه از t-test استفاده شد و اختلاف معنادار بین دو گروه وجود نداشت.

برای بررسی اثر کپسول‌ها بر اندیس‌های آهن، تغییرات فاکتور فریتین در زمان دو ماه مصرف کپسول‌ها بررسی شد. فریتین در گروه کنترل در ماه اول افزایش، در ماه دوم بدون تغییر و در کل دو ماه افزایش نشان داد. همچنین در گروه درمانی در ماه اول و دوم و در مجموع دو ماه، کاهش یافت (P Value > 0.99). (نمودار ۱). در مورد اثر کپسول‌ها



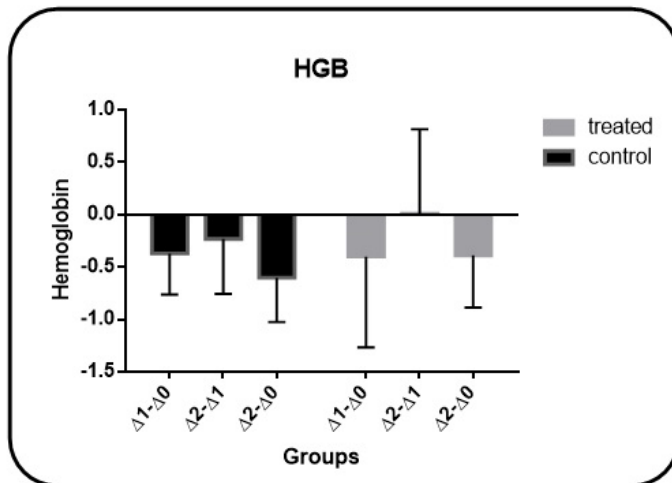
نمودار ۱. تأثیر کپسول‌های دارو و دارونما روی فریتین خون

Δ1-Δ0 بازه زمانی ماه اول مصرف کپسول‌ها
 Δ2-Δ1 بازه زمانی ماه دوم مصرف کپسول‌ها
 Δ2-Δ0 بازه زمانی دو ماه مصرف کپسول‌ها

همچنین تری گلیسرید (TG) در هر دو گروه کنترل و درمانی کاهش یافت ولی در گروه درمانی

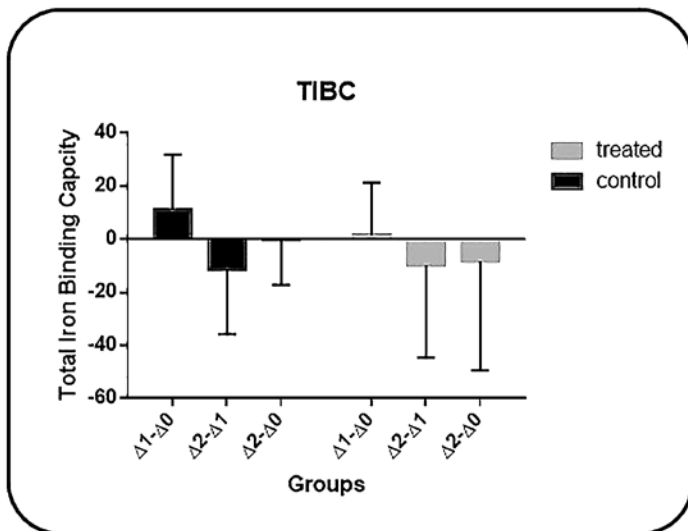
اول کاهش، در ماه دوم افزایش و در مجموع دو ماه کاهش یافت (P Value >0.99) (نمودار ۴).

Δ1-Δ0 بازه زمانی ماه اول مصرف
کیسول‌ها
Δ2-Δ1 بازه زمانی ماه دوم
مصرف کیسول‌ها
Δ2-Δ0 بازه زمانی دو ماه مصرف
کیسول‌ها



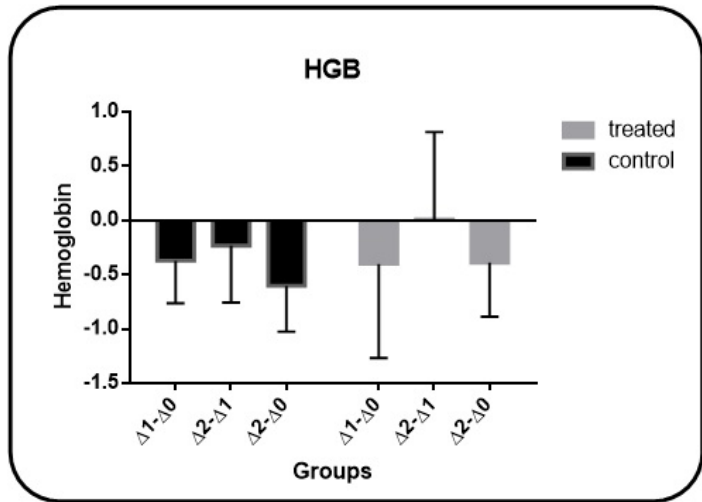
نمودار ۲. تأثیر کیسول‌های دارو و دارونما روی فاکتور آهن سرم خون

Δ1-Δ0 بازه زمانی ماه اول مصرف
کیسول‌ها
Δ2-Δ1 بازه زمانی ماه دوم مصرف
کیسول‌ها
Δ2-Δ0 بازه زمانی دو ماه مصرف
کیسول‌ها



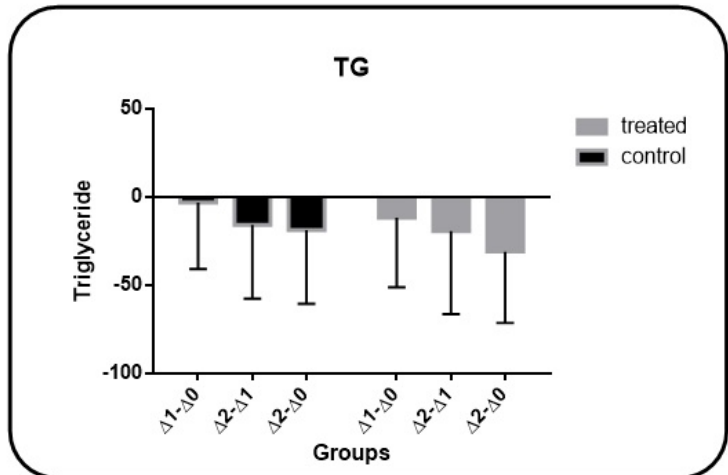
نمودار ۳. تأثیر کیسول‌های دارو و دارونما روی فاکتور TIBC خون

Δ1-Δ0 بازه زمانی ماه اول
مصرف کپسول‌ها
Δ2-Δ1 بازه زمانی ماه دوم
مصرف کپسول‌ها
Δ2-Δ0 بازه زمانی دو ماه
مصرف کپسول‌ها



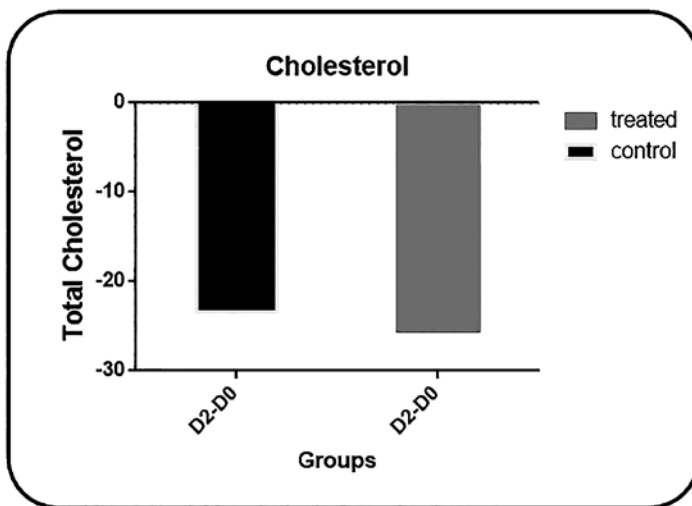
نمودار ۴. تأثیر کپسول‌های دارو و دارونما روی فاکتور هموگلوبین خون

Δ1-Δ0 بازه زمانی ماه اول
مصرف کپسول‌ها
Δ2-Δ1 بازه زمانی ماه دوم
مصرف کپسول‌ها
Δ2-Δ0 بازه زمانی دو ماه
مصرف کپسول‌ها



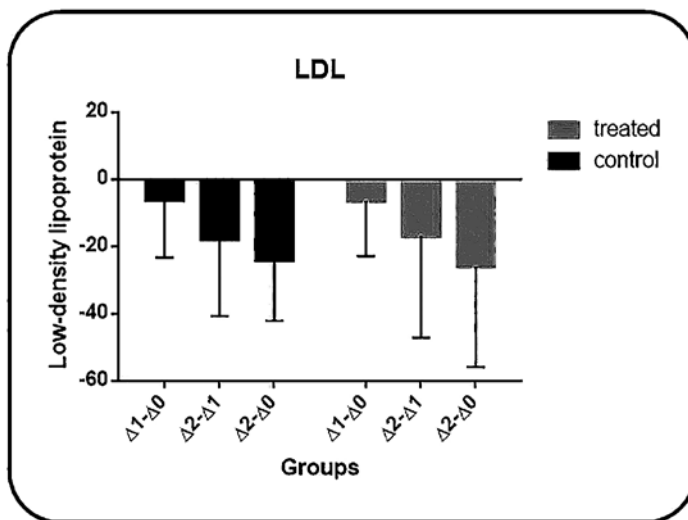
نمودار ۵. تأثیر کپسول‌های دارو و دارونما روی TG خون

کاهش بیشتری داشت ($P \text{ Value} > 0.99$)
کاهش بیشتری داشت (نمودار ۵).
کلیسترول تام نیز طی دو ماه مصرف داروها در هر دو گروه کاهش یافت ولی در گروه درمانی کاهش بیشتری



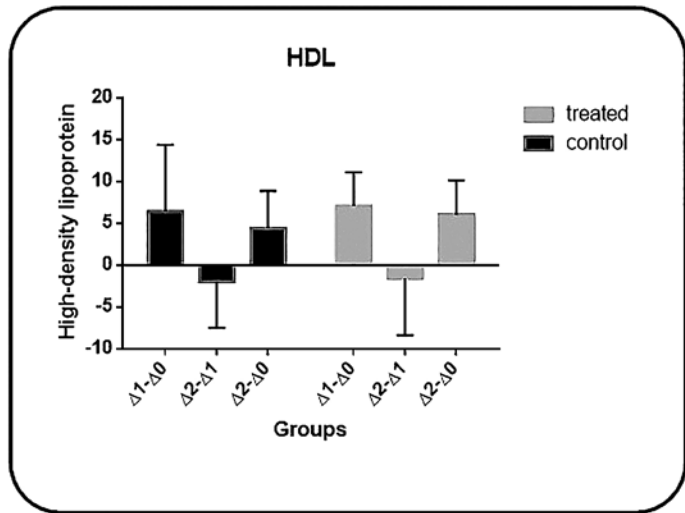
Δ1-Δ0 بازه زمانی ماه اول مصرف
کیسول‌ها
Δ2-Δ1 بازه زمانی ماه دوم مصرف
کیسول‌ها
Δ2-Δ0 بازه زمانی دو ماه مصرف
کیسول‌ها

نمودار ۶. تأثیر کیسول‌های دارو دارونما روی فاکتور کلسترول تام خون



Δ1-Δ0 بازه زمانی ماه اول
مصرف کیسول‌ها
Δ2-Δ1 بازه زمانی ماه دوم
مصرف کیسول‌ها
Δ2-Δ0 بازه زمانی دو ماه
مصرف کیسول‌ها

نمودار ۷. تأثیر کیسول‌های دارو و دارونما روی فاکتور LDL



Δ1-Δ0 بازه زمانی ماه اول مصرف کپسول‌ها
 Δ2-Δ1 بازه زمانی ماه دوم مصرف کپسول‌ها
 Δ2-Δ0 بازه زمانی دو ماه مصرف کپسول‌ها

نمودار ۸. تأثیر کپسول‌های دارو و دارونما روی فاکتور HDL

می‌توان نتیجه گرفت مصرف عصاره یونجه چون در مدت دو ماه صورت گرفته و این مدت برای افزایش فریتین و هموگلوبین کافی نبوده، تنها شاهد افزایش در میزان آهن سرم داوطلبان بودیم. یکی از دلایل مهم این که تفاوت در دو گروه معنی دار نیست، می‌تواند کم بودن تعداد بیماران ناشی از محدودیت در جذب بیماران برای ورود به مطالعه باشد.

TIBC میزان ظرفیت اتصال آهن (Total iron binding capacity) به پروتئین ترانسفرین را نشان می‌دهد. TIBC در گروه مصرف کننده دارو طی دو ماه کاهش یافته که نشان دهنده جذب آهن بیشتر توسط ترانسفرین از روده است. گفته شده گیاه یونجه به میزان ۲ برابر اسفناج (یعنی ۵/۵ mg) آهن دارد. در گروه درمانی افزایش میزان دریافت آهن توسط ترانسفرین را نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. می‌توان گفت مصرف عصاره یونجه به میزان ۷۵۰ میلی‌گرم در روز ممکن

مشاهده گردید ($P \text{ Value} > 0.99$) (نمودار ۶). تغییرات LDL نیز در زمان دو ماه مصرف کپسول‌ها در گروه درمانی و کنترل بررسی شد. این فاکتور در دو گروه کاهش یافت ($P \text{ Value} > 0.99$) (نمودار ۷). فاکتور HDL نیز در گروه کنترل در ماه اول افزایش و در ماه دوم کاهش و در مجموع دو ماه افزایش یافت. در گروه درمانی هم، در ماه اول افزایش، در ماه دوم کاهش و در مجموع دو ماه افزایش بیشتری یافت ($P \text{ Value} > 0.99$) (نمودار ۸).

■ بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد، در پی دو ماه مصرف کپسول‌های یونجه، آهن سرم گروه مصرف کننده دارو نسبت به گروه کنترل افزایش بیشتری دارد، گرچه به لحاظ آماری معنی دار نگردیده است. مصرف مکمل‌های آهن، ابتدا آهن سرم را افزایش می‌دهد و زمان بیشتری برای مشاهده افزایش هموگلوبین و فریتین نیاز است.

کپسول ها، با کاهش چربی های مضر، از خطر سکنه و
آترواسکلروز جلوگیری کرد. کپسول ها باید در روز سه بار
و همراه غذا میل شوند تا بتوانند مانع جذب چربی های
مضر شوند.

نتایج این تحقیق با مطالعه سایر پژوهشگران در
مورد اثر یونجه بر کاهش چربی خون مطابقت دارد. در
مطالعه ای که در آن دانه های گرمادیده یونجه (۴۰ گرم،
سه بار در روز برای مدت ۸ هفته)، توسط هشت بیمار
نوع ۲ آهایپولیپیدمی و سه بیمار نوع ۲ ب، مصرف شد،
کاهش معنی داری در غلظت کل سرم کلسترول، LDL
و apolipoprotein B، مشاهده شد. غلظت LDL
کمتر از ۵ درصد در دو بیمار از ۱۱ بیمار پایین آمد (۳۳).
در مطالعه ی دیگری، یونجه با بیشترین مقدار محتوای
ساپونین درست قبل از مرحله میوه دهی، فعالیت زیاد
ضد آترواسکلروز و هیپوکلسترولمی نشان می دهد. این
تحقیق نشان داد که یونجه کلسترول طبیعی را کاهش
می دهد. عصاره های استخراج شده بیشترین اثر معنی دار
را در کاهش کلسترول کل و LDL به میزان ۸۵/۱ درصد
و ۸۸ درصد در خرگوش های با کلسترول بالا داشتند. این
کاهش بسیار بیشتر از کاهشی است که توسط قرص
جم فیروزیل در حیوان مشابه و در مقدار مصرف یکسان
صورت می گیرد (۱۹). نتیجه آن که از عصاره گیاه یونجه،
می توان در کمک به درمان هیپرلیپیدمی استفاده کرد،
ولی به نظر می آید برای کمک به درمان آنمی ناشی از
فقر آهن لازم است پژوهش های بیشتری صورت گیرد و
تصمیم گیری قدری زود است. بر اساس این تحقیق، ۷۵۰
میلی گرم از عصاره گیاه مدیکاگو ساتیوا به مدت دو ماه
می تواند سبب افزایش میزان آهن سرم، کاهش کلسترول
و تری گلیسرید گردد اما کاربرد آن در درمان کم خونی و
هیپرکلسترولمی نیاز به مطالعات بالینی بیشتری دارد.

است بتواند به درمان آنمی ناشی از فقر آهن کمک کند.
احتمالاً با افزایش مقدار و مدت زمان مصرف، و مصرف
کپسول های عصاره گیاه با معده خالی، می توان اثرات
بیشتری را شاهد بود.

هموگلوبین در گروه کنترل و درمانی کاهش یافته ولی
در گروه درمانی کاهش کمتری داشته است. کاهش
هموگلوبین مربوط به تغذیه و شرایط داوطلبان به قبل
از مصرف کپسول ها بوده چون هموگلوبین تغییرات را با
تاخیر نشان می دهد.

فریتین در گروه کنترل افزایش و در گروه درمانی
کاهش داشته است. چون محتوای تغذیه دو گروه احتمالاً
و علیرغم دقت ها و تذکرات لازم، از هم متفاوت بوده،
می توان این تغییرات را توجیه کرد. تری گلیسرید در
گروه مصرف کننده کپسول های گیاهی کاهش بیشتری
نسبت به گروه کنترل داشت احتمالاً یونجه به کاهش
تری گلیسرید کمک می کند و می توان به عنوان درمان
کمکی در هیپرتری گلیسریمی به کار برد.

LDL در گروه مصرف کننده کپسول های گیاهی
کاهش بیشتری نسبت به گروه کنترل داشت، احتمالاً
یونجه به کاهش LDL خون نیز کمک می کند و می توان
به عنوان درمان کمکی در هیپرلیپیدمی به کار برد. در گروه
درمانی افزایش میزان HDL خون طی دو ماه مصرف دارو
نیز مشاهده گردید. از محدودیت های مطالعه، یکی سن و
جنس و دیگری تعداد افراد شرکت کننده در پژوهش بود، و
دیگر این که افراد بیمار نبوده و همگی سالم بودند پیشنهاد
می شود این کار روی بیماران مسن دچار هیپرلیپیدمی
(اعم از زن و مرد) نیز انجام گیرد.

در گروه درمانی، کاهش چشمگیری در میزان
کلسترول تام افراد مصرف کننده کپسول های عصاره
گیاهی مشاهده گردید. احتمالاً می توان با مصرف این

■ تشکر و قدردانی

داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام گرفته است. نویسندگان مراتب قدردانی و سپاس‌گزاری خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه اعلام می‌دارند.

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۳۶۱ معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی می‌باشد که به هزینه معاونت در دانشکده

منابع

1. Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J, Loscalzo J. Harrison's principles of internal medicine. McGraw-Hill Professional Publishing; 2018; 403.
2. Cook JD. Iron deficiency: The global perspective. *Adv Exp Med Biol* 1994;356:219-28.
3. Allredge BR. *Applied Therapeutics*. 9th ed. USA, Lippincott; 2009: 2013.
4. Finkler K. Traditional healers in Mexico: The effectiveness of spiritual practices. In: Gielen UP, Fish JM, Draguns JG. (eds.) *Handbook of culture, therapy, and healing*. India, Lawrence Erlbaum Associates 2004:161-74.
5. Salehi-Sourmaghi MH. *Medicinal Plants and Phytotherapy*. Vol. 2, 2nd ed., Tehran, Donyaye Taghzieh; 2011; 315-319.
6. Duke JA. *Handbook of Medicinal Herbs*. Boca Raton, CRC Press; 2000; 299-300.
7. Worthington RB, Breskin MF. A pharmacists guide to controversial nutrition products. *Am Pharm* 1983;23:30-42.
8. Gupta BK, Nandra KS, Chopra AK. Chemical and mineral composition on different cuttings of lucerne (*Medicago sativa*). *J Res (Punjab Agricultural University)* 1981;18:345-348.
9. El-Khrisy EAM, Abdel Hafez OM, Khat tab AA, Ahmed KM. Chemical constituents of *Medicago sativa* L. *Bull Nat Res Cent (Egypt)* 1994;19:117-122.
10. Xiaoqiang W, Xianzhi H, Jianqiao L, Hui S, Zhenzhan C, Richard AD. Crystal structure of isoflavone reductase from alfalfa (*Medicago sativa* L.). *J Mol Biol* 2006;358:1341-1352.
11. Bickhoff EM, Livingston AL, Booth AN. Tricin from alfalfa isolation and physiologic activity. *J Pharm Sci* 1964;53:1411.
12. Worthington RB, Breskin MF. A pharmacists guide to controversial nutrition products. *Am Pharm* 1983;23:30-42.
13. Albourine A, Petit-Ramel M, Thomas-David G, Vallon JJ. Extraction of l-canavanine from soybean (*Glycine max*) and alfalfa (*Medicago sativa*). Analysis by high-performance liquid chromatography. *J Pharm Belg* 1991;46:229-235.
14. Francoise F, Daniel Le R, John GS. Effects of salt stress on amino acid organic acid and carbohydrate composition of roots bacteroids and cytosol of Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiol* 1991;96:1228-1236.
15. Newby VK, Sablon RM, Synge RLM, Vande CK, Van S, Christiaan F. Free and bound phenolic acids of lucerne (*Medicago sativa* cv. Europe). *Phytochem* 1980;19:651-657.
16. Molgaard J, von Schenck H, Olsson AG. Alfalfa seeds lower low density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B concentrations in patients with type II hyperlipoproteinemia. *Atheroscler* 1987;65:173-179.
17. Wilcox EB, Galloway LS. Serum and liver cholesterol total lipids and lipid phosphorus levels of rats under various dietary regimes. *Am J Clin Nutr* 1961; 9: 236-243.
18. Farnsworth NR. Alfalfa pills and autoimmune diseases. *Am J Clin Nutr* 1995;62:1026-1028
19. Khaleel AEG, Mohamed Z, El-Maraghy SA, Hifnawy MS, Abdel-Sattar E. Study of hypocholesterolemic and antiatherosclerotic properties of *Medicago sativa* L. cultivated in Egypt. *Yaowu Shipin Fenxi* 2005; 13: 212-218.