

اثرات ضددیابتی عصاره متانلی برگ گیاه گردو (*Juglans regia*) بر رت‌های دیابتی شده توسط آلوکسان مونوهیدرات

منوچهر تیموری شبان^۱، شیده منتصر کوهساری^۲، رضا غفارزادگان^{۳*}، رضا حاجی آقایی^۴

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران

۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران

۳- کارشناس ارشد، گروه فارماکوگنوزی و داروسازی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج

۴- استادیار پژوهش، گروه فارماکوگنوزی و داروسازی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج

* آدرس مکاتبه: کیلومتر ۵۵ آزادراه تهران - قزوین، شهرک تحقیقاتی کاوش، انتهاهی بلوار کاوش، مجتمع

تحقیقاتی جهاددانشگاهی، پژوهشکده گیاهان دارویی، گروه فارماکوگنوزی و داروسازی

تلفن: ۰۲۶۱-۴۷۶۴۰۱۰، نمابر: ۰۲۶۱-۴۷۶۴۰۲۱

پست الکترونیک: RGhafary@ut.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۹/۲/۲۶

تاریخ دریافت: ۸۸/۸/۹

چکیده

مقدمه: برگ‌های گردو دارای خواص هیپوگلیسمیک و آنتی‌اکسیدان می‌باشد که از آن در طب سنتی ایران برای درمان دیابت استفاده می‌شده است.

هدف: این مطالعه برای ارزیابی اثرات ضددیابتی عصاره متانلی برگ گیاه گردو^۱ طراحی شده است.

روش بررسی: رت‌های نر نژاد ویستار^۲ دیابتی شده توسط آلوکسان مونوهیدرات برای مدت سه هفته با JRLME در دوز ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیمار و خواص ضددیابتی آن بر پارامترهای مختلف بیوشیمیایی مانند میزان گلوكز خون پس از صرف غذا، آزمون تحمل گلوكز، میزان توatal کلسترول^۳، تری گلیسرید^۴، لیپوپروتئین دارای چگالی پایین^۵، لیپوپروتئین دارای چگالی بالا^۶ و لیپوپروتئین‌های دارای چگالی بسیار پایین^۷، فعالیت آنزیمی سوپراکسیدیسموتاز^۸، گلوتاتیون پراکسیداز^۹ و کاتالاز^{۱۰} با استفاده از کیت‌های تجاری بررسی شدند.

نتایج: پژوهش حاضر کاهش (۳۱ درصد) را در میزان گلوكز خون در فاصله سه تا هشت ساعت و کاهش چشمگیری (۴۴ درصد) را در انتهاهی هفته سوم تیمار رت‌ها با JRLME را نشان دادند. همچنین JRLME میزان TC (۱۴ درصد) و TG (۷/۶ درصد) سرم خون را به طور معنی‌داری کاهش داد. اثر آنتی‌اکسیدانی JRLME با افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD^{۱۱} و CAT^{۱۲} به ترتیب به میزان ۲۲، ۱۲ و ۹ درصد در مقایسه با گروه شاهد دیابتی^{۱۳} تعیین شد. با وجود این نتایج در مورد آنزیم کاتالاز معنی‌دار نبودند.

نتیجه‌گیری: در این پژوهش تأیید گردید که برگ‌های گردو اثرات بهبود دهنده متعددی را در کنترل اختلالات متابولیک دیابتی دارد.

گل واژگان: گیاه گردو، گلوكز خون، کلسترول توatal، آنتی‌اکسیدان

¹ JRLME

⁶ HDL

¹¹ DC

² Wistar

⁷ VLDL

³ TC

⁸ SOD

⁴ TG

⁹ GPX

⁵ LDL

¹⁰ CAT



شیمی (تهران، ایران) و کیت‌های SOD و GPX از شرکت RANDOX (Antrim, UK) خریداری شدند. سایر مواد شیمیایی و محلول‌ها با بالاترین رتبه تجاری از شرکت‌های Sigma (KGaA, germany) Merck (St Louis, MO, US) خریداری شدند.

گیاه

برگ‌های گیاه گردو از منطقه دماوند استان تهران جمع‌آوری شد و در محیط آزمایشگاه خشک شد. نمونه‌ها در هرباریوم پردهیس علوم دانشگاه تهران (ایران) ثناهیانی و تایید شدند. سند این گونه با شماره ۳۳۲۳۹ در هرباریم دانشگاه تهران نگهداری می‌شود.

تهیه عصاره گیاه

۲۰۰ گرم از پودر برگ‌های خشک شده گیاه گردو، آسیاب شدند و توسط اتر نفت چربی‌زدایی شدند. سپس توسط ۱ لیتر متانول ۷۰ درصد به روش خیساندن و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی عصاره شد. این مرحله چهاربار تکرار شد. عصاره حاصل توسط تبخیرکننده چرخشی در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد حشک شد. پودر حاصل ۳۵ گرم و برابر با ۱۷ درصد از وزن اولیه پودر گیاه بود.

حیوانات

۳۰ رت نر نژاد ویستار (از موسسه انتیتو پاستور تهران، ایران) با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ میلی گرم در این مطالعه به کار برده شد. رتها در شرایط استاندارد و در حیوانخانه‌ای با دمای 1 ± 21 درجه سانتی‌گراد و در تاریکی و روشنایی متناوب ۱۲ ساعته نگهداری شدند. غذای مخصوص تجاری و آب شیر به آنها داده شد. رتها پیش از شروع مطالعه برای مدت یک هفته برای سازگاری با شرایط حیوانخانه نگهداری شدند.

آماده‌سازی حیوانات دیابتی

برای ایجاد دیابت ترکیب آلوكسان مونوهیدرات در دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در بافر سیترات (pH=4.5) به

مقدمه

دیابت نوع دو، دیابت غیروابسته به انسولین^۱، شایع‌ترین نوع دیابت است. مهم‌ترین مشخصه دیابت نوع دو هیپرگلیسمی مزمن می‌باشد که در نتیجه آن میزان تولید اشکال مخرب اکسیژن^۲ افزایش می‌یابد [۱]. به علاوه در اثر گلایکه شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیدیسموتاز^۳، گلوتاتیون پراکسیداز^۴ و کاتالاز^۵ فعالیت آنها کاهش می‌یابد و در نتیجه عملکرد آنها در پاکسازی ROS ها تضعیف می‌شود. ROS ها مهم‌ترین عامل بروز اختلالات ثانویه دیابتی چون عوارض کلیوی، عصبی، قلبی - عروقی و آب مروارید هستند [۱،۲]. ارتباط زیادی بین چاقی و احتمال بروز مقاومت نسبت به انسولین وجود دارد که علت آن می‌تواند فاکتورهای ترشح شده از بافت‌های چربی به درون سیستم گردش خون مانند اسیدهای چرب آزاد باشد. به علاوه ارتباط زیادی بین غلظت اسیدهای چرب آزاد پلasmای ناشتا و بی‌پاسخی نسبت به انسولین وجود دارد [۴].

برگ‌های گیاه *J. regia* دارای خواص درمانگر گوناگونی مانند خاصیت ضدقارچ، ضدکرم انگلی روده، پالاینده و قابض، شل‌کننده عضلانی، ضدپوسته ریزی پوست، تسکین‌دهنده درد و هیپوگلیسمیک می‌باشند [۵]. ما در اینجا اثرات عصاره متانولی برگ گیاه *J. regia*^۶ را بر فاکتورهای متعددی مانند میزان گلوكز خون در کوتاه‌مدت و بلندمدت، آزمون تحمل گلوكز، میزان لیپیدهای خون و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در رت‌های دیابتی شده توسط آلوكسان مونوهیدرات بررسی می‌کنیم.

مواد و روش‌ها

ترکیبات شیمیایی و معرف‌ها

کیت‌های تعیین گلوكز خون، تری گلیسرید، کلسترول توtal و لیپوپروتئین دارای چگالی بالا از شرکت شیمی آنزیم (تهران، ایران)، کیت معرف هموگلوبین از شرکت زیست

¹ Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM)

² ROS

³ SOD

⁴ GPX

⁵ CAT

⁶ JRLME



گلوكومتر و نمونه خون گرفته شده از انتهای دم رت‌ها اندازه‌گیری شد.

آزمون تحمل گلوکز

دو روز بعد از انجام آزمون کوتاه مدت اثر JRLME بر رت‌ها، آزمون تحمل گلوکز در آنها انجام شد. در ابتدا به گروه‌های NC و DC نرمال‌سالین و گروه‌های D+JRLMEA و D+Ac به ترتیب عصاره گیاه و داروی آکاربوز تجویز شد. پس از ۳۰ دقیقه، به همه گروه‌ها محلول کربوهیدراتی خورانده شد و میزان گلوکز خون در زمان‌های ۰، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری لیپیدهای خون

پس از اتمام دوره ۲۱ روزه تیمار رت‌ها، آنها با کلروفرم بی‌هوش شدند و خون گرفته شده از قلب آنها در لوله‌های معمولی نگهداری شد، تا لخته شود. سپس برای مدت ۵ دقیقه در دور ۲۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و از سرم رویی برای اندازه‌گیری میزان TC، TG و HDL-c استفاده شد. میزان LDL-c و VLDL-c با استفاده از فرمول فریدوال محاسبه شد [۸].

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

خون رت‌های تیمار شده در پایان دوره ۲۱ روزه در لوله‌های ضدانعکاد آغشته به EDTA جمع‌آوری شد. برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های SOD (EC:1.15.1.1)، CAT (EC:1.11.1.9)، GPx (EC:1.11.1.6) از روش این^۱ استفاده شد. فعالیت آنزیمی بر حسب K U/gHb یا می‌شد و اندازه‌گیری هموگلوبین توتال توسط کیت معرف هموگلوبین صورت گرفت [۹].

روش آماری

تمامی داده‌ها به صورت Mean \pm S.D. ارایه شد. برای بررسی تفاوت آماری بین گروه‌ها و بین زمان‌های مختلف از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد و به دنبال آن از آزمون

صورت زیرجلدی به رت‌های ناشتا مانده از شب قبل تزریق شد [۶,۷]. پس از گذشت ۷ روز، رت‌های دارای هیبرگلیسمی (گلوکز خون ناشتا بیشتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن رت) برای مطالعه انتخاب شدند.

طراحی آزمایش‌ها

در مجموع ۳۰ رت ویستار نر به ۵ گروه ۶ تایی (۶ رت سالم و ۲۴ رت دیابتی) تقسیم شدند. گروه‌های شاهد سالم^۱ و شاهد دیابتی به ترتیب حیوانات آزمایشگاهی سالم و دیابتی دریافت‌کننده نرمال سالین (۱ میلی‌لیتر). گروه D+Ac دیابتی تیمار شده با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از داروی آکاربوز، گروه‌های D+JRLMEA و D+JRLMEb به ترتیب رت‌های دریافت‌کننده عصاره متانلی برگ گیاه J. regia در دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشند. تجویز خوارکی روزانه یک دوز از عصاره به مدت ۲۱ روز انجام گرفت. میزان گلوکز خون پس از صرف غذا در دوره کوتاه‌مدت (اثر تک دوز) و بلندمدت انجام گرفت. همچنین آزمون تحمل گلوکز با دوز ۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت انجام گرفت. در پایان دوره ۲۱ روزه رت‌ها توسط کلروفرم بی‌هوش شدند و خون آنها در دو لوله آغشته به EDTA برای بررسی فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX و CAT و لوله‌های سیتراته برای بررسی VLDL-c، LDL-c، HDL-c، TG، TC جمع‌آوری شد.

اندازه‌گیری کوتاه مدت میزان گلوکز خون

میزان گلوکز خون پس از صرف غذا در خون گرفته شده از انتهای دم رت‌ها با استفاده از دستگاه گلوكومتر (On Call Now, an Deigo, USA) اندازه‌گیری شد. میزان گلوکز خون در زمان‌های ۰، ۱، ۳، ۵، ۸ و ۲۴ ساعت پس از گاواز عصاره و داروی آکاربوز مورد سنجش قرار گرفت.

اندازه‌گیری بلند مدت میزان گلوکز خون

در طی مدت تیمار رت‌ها، میزان گلوکز خون رت‌ها در اواخر هفته‌های اول، دوم و سوم با استفاده از دستگاه

^۱ Aebi

^۱ NC



از تجویز خوراکی روزانه JRLME را نشان می‌دهد. میزان کاهش گلوکز خون در اوخر هفته‌های اول، دوم و سوم به ترتیب ۱۰، ۱۳ و ۲۲ درصد نسبت به زمان صفر و ۳۰ و ۲۷ درصد نسبت به گروه DC می‌باشد.

اثر JRLMEA بر آزمایش تحمل گلوکز خون
نمودار شماره ۳ تغییرات میزان گلوکز خون را در فواصل ۳۰ دقیقه‌ای پس از تجویز خوراکی دوز ۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت‌ها را نشان می‌دهد. تجویز JRLMEA و Ac موجب مهار افزایش میزان گلوکز خون در هر دو گروه می‌شود که میزان آن در گروه D+Ac در مقایسه با گروه DC بیشتر می‌باشد ($p<0.001$). همچنین نرخ افزایش گلوکز خون ۳۰ دقیقه پس از گاواز محلول کربوهیدراتی در گروه‌های DC، D+Ac و D+JRLMEA سیر نزولی را نشان می‌دهد و به ترتیب ۴۷، ۴۴ و ۲۵ درصد می‌باشد، که در گروه D+JRLMEA ۳ درصد کاهش نسبت به گروه شاهد دیابتی مشاهده می‌شود.

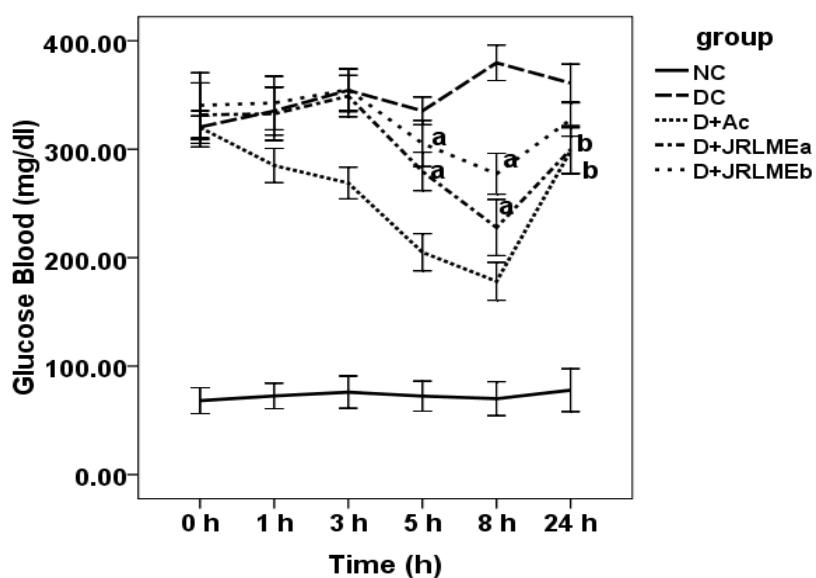
دانگن برای آنالیز تفاوت‌ها به کار برده شد. $p<0.05$ به عنوان ملاک معنی‌دار بودن مطرح شد.

نتایج

اثر کوتاه‌مدت JRLME بر میزان گلوکز خون

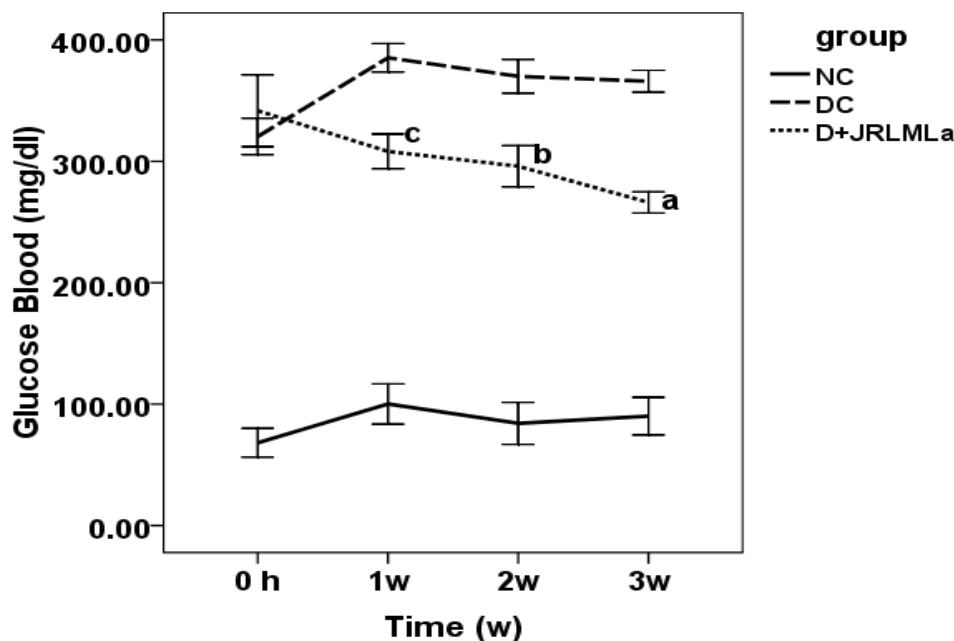
مطابق با نمودار شماره ۱ به دنبال اولین تجویز خوراکی JRLME میزان گلوکز خون رت‌ها در فاصله ۳ تا ۸ ساعت کاهش می‌یابد؛ که این میزان در گروه‌های D+JRLMEA و D+Ac و D+JRLMEb درصد نسبت به زمان صفر می‌باشد؛ همچنین میزان کاهش گلوکز خون ۸ ساعت پس از تجویز نسبت به گروه DC به ترتیب ۴۰، ۴۷ و ۵۳ درصد می‌باشد. نظر به این که اثر کاهش دهنده‌گی میزان گلوکز خون توسط دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بیشتر از دوز ۵۰۰ می‌باشد، دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن برای تمامی آزمایش‌های بعدی استفاده می‌شود.

اثر بلندمدت JRLMEA بر میزان گلوکز خون نمودار شماره ۲ کاهش پیوسته گلوکز خون در طی ۳ هفته

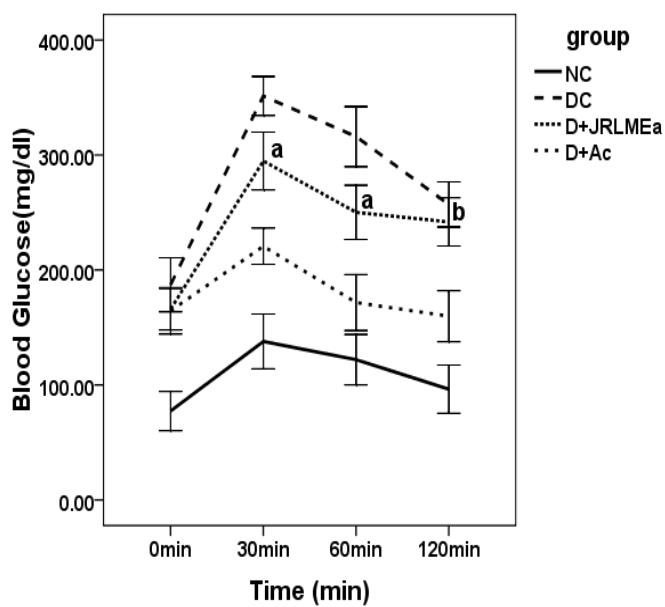


نمودار شماره ۱ - اثر کوتاه‌مدت JRLME بر میزان گلوکز خون. NC: گروه شاهد سالم، DC: گروه شاهد دیابتی، D+JRLMEA: گروه دیابتی دریافت کننده عصاره JRLME در دوز ۲۵۰ mg/kg، D+JRLMEb: گروه دیابتی دریافت کننده عصاره JRLME در دوز ۵۰۰ mg/kg. a و b: به ترتیب $p<0.001$ و $p<0.024$ نسبت به زمان صفر ساعت می‌باشند.

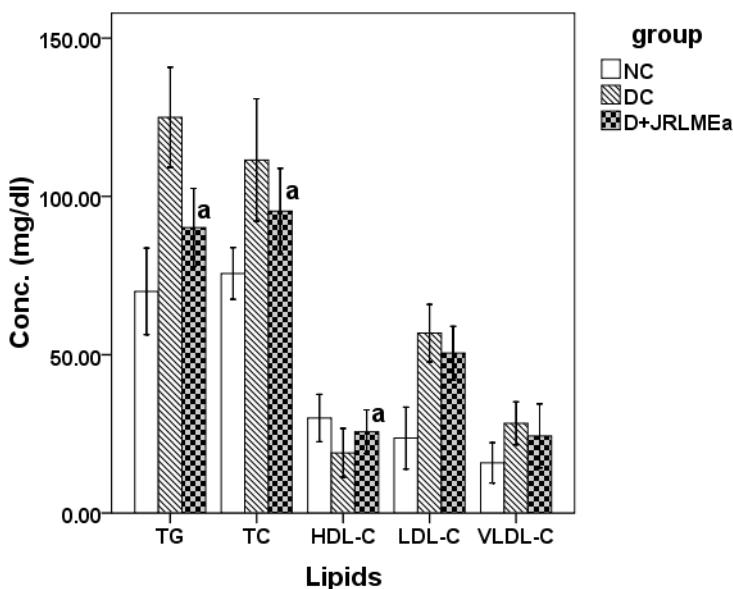




نمودار شماره ۲ - اثر بلندمدت عصاره JRLMEA بر میزان گلوکز خون. NC: گروه شاهد سالم، DC: گروه شاهد دیابتی، D+JRLMEA: گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره JRLMEA در دوز ۲۵۰ mg/kg در ترتیب a .b .c به ترتیب $p < 0.001$ و $p < 0.002$ و $p < 0.008$ نسبت به زمان صفر می‌باشد.



نمودار شماره ۳ - اثر JRLMEA بر آزمون تحمل گلوکز خون. NC: گروه شاهد سالم، DC: گروه شاهد دیابتی، D+JRLMEA: گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره JRLMEA در دوز ۲۵۰ mg/kg در ترتیب a .b .c به ترتیب $p < 0.001$ و $p < 0.005$ در مقایسه با گروه DC.



نمودار شماره ۴- اثر JRLMEA بر میزان لیپیدهای خون. NC؛ گروه شاهد سالم، DC؛ گروه دیابتی دریافت کننده JRLMEA در دوز ۰.۲۵۰ mg/kg در مقایسه با گروه DC. $p < 0.001$: a. میزان افزایش در مقایسه با گروه DC.

میزان می‌باشد [۱]. در سرتاسر جهان از گیاهان دارویی به طور سنتی برای کنترل تظاهرات مختلف دیابتیک استفاده می‌شود [۱۰، ۱۱]. این مطالعه به خوبی نشان می‌دهد که عصاره متانالی برگ گیاه گردو میزان گلوکز خون را در رت‌های دیابتیک کاهش می‌دهد. کاهش گلوکز خون تا ۸ ساعت پس از تجویز عصاره گیاه و داروی آکاربوز ادامه می‌یابد، ولی پس از آن در اثر متابولیزه شدن ترکیبات موثره برگ گیاه گردو اثر آن از بین رفته و گلوکز خون دوباره در ساعت ۲۴ به سطح قبلی (ساعت ۰) برگردید. جالب اینکه همانند گزارش فتحی‌آزاد و همکاران در سال ۲۰۰۶، میزان کاهش گلوکز خون توسط عصاره برگ گیاه در دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت‌ها بیشتر از دوز ۵۰۰ آن می‌باشد، که احتمالاً نشان‌دهنده وجود رقابت بین دو دسته از ترکیبات افزاینده و کاهنده گلوکز خون در داخل عصاره برگ گیاه می‌باشد، که با افزایش دوز عصاره اثر ترکیبات کاهنده گلوکز خون بر اثرات وابسته به دوز سایر ترکیبات کاهنده گلوکز خون برتری می‌یابد [۱۲]. به علاوه برای اولین بار نشان داده شد که تجویز روزانه JRLMEA به مدت ۲۱ روز موجب کاهش پایدار گلوکز خون و کنترل

اثر JRLMEA بر میزان لیپیدهای خون

همان‌طور که در نمودار شماره ۴ مشاهده می‌شود، کاهش قابل توجهی در میزان TG، TC و افزایش HDL در گروه D+JRLMEA در مقایسه با گروه DC دیده می‌شود. طبق نتایج به دست آمده میزان کاهش TC و TG به ترتیب ۱۴ و ۷/۶ درصد و میزان افزایش HDL ۲۶ درصد می‌باشد و در میزان LDL و VLDL تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نمی‌شود.

اثر JRLMEA بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گلbulول‌های قرمز

جدول شماره ۱ اثر JRLMEA را بر فعالیت آنتی‌اکسیدان CAT، GPX و SOD موجود در گلbulول‌های قرمز خون را نشان می‌دهد. فعالیت تمامی آنزیم‌های SOD، GPX و CAT در مقایسه با گروه DC به ترتیب ۱۲، ۲۲ و ۹ درصد می‌باشد. با این وجود، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار نیست.

بحث

دیابت نوع دو یکی از بیشترین بیماری‌های متابولیک رو به رشد در جهان می‌باشد، که مهم‌ترین مشخصه آن هیپرگلیسمی



جدول شماره ۱ - اثر JRLMEA بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گلوبول‌های قرمز خون. * $p < 0.001$ و ** $p < 0.047$ در مقایسه با گروه DC می‌باشد.

گروه	دوز (mg/kg bw)	آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان		
		SOD (U/gHb)	GPX (U/gHb)	CAT (K/gHb)
NC	-	۲۹۰.۷±۴۹.۲	۵۲/۶۹±۵/۵۵	۱/۴۴۷±۰/۰۹۸
DC	-	۱۹۰.۷±۷۳.۶	۳۷/۶۲±۳/۸۸	۰/۵۲۰±۰/۰۱۴
D+JRLMEA	۲۵۰	۲۴۴۶±۶۹.۵*	۴۳/۰۰±۱/۱۵۹**	۰/۵۷۴±۰/۰۱۵

دارد که در اثر آن نرخ تولید رادیکال‌های مخرب افزایش می‌یابد [۱،۲]. در برگ‌های گردو نفتوکینون‌ها و فلاونوئیدها مهم‌ترین ترکیبات فنولیک محسوب می‌شوند که این ترکیبات نقش مهمی را در کاهش تولید اشکال مخرب اکسیژن^۱ دارند [۱۳]. در این مطالعه نشان داده شده است که JRLME به طور نسبی از غیرفعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز^۲، گلوتاتیون پراکسیداز^۳ و کاتالاز^۴ ممانعت می‌کند. در این پژوهش نشان داده شد که برگ‌های گیاه Juglans regia دارای خواص آنتی‌دیابتیک متعددی مانند کاهش گلوكز خون، اصلاح پروفایل لیپیدها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌باشد که ترکیبات آن می‌توانند کاندیدای خوبی برای ساخت دارویی بر علیه دیابت در آینده محسوب شوند.

¹ ROS³ GPX² SOD⁴ CAT

بهتر آن در بلندمدت می‌شود، که نشان‌دهنده اثر درمانی عصاره برگ گیاه می‌باشد. عصاره متابولی برگ گیاه گردو بالا رفتن میزان گلوكز خون در آزمون تحمل گلوكز را مهار می‌کنند. رفتار عصاره در کترول میزان گلوكز خون مانند داروی آکاربوز می‌باشد. اثر مهاری عصاره برگ گیاه در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از گاواظر محلول کربوهیدراتی معنی دار می‌باشد، ولی در زمان ۱۲۰ دقیقه این اثر کاهش و ناپدید می‌شود.

افزایش سطح اسیدهای چرب آزاد و کلسترونول در افراد دیابتی یکی از عوامل مستعدکننده این افراد در بروز بیماری‌های قلبی-عروقی و آترواسکلروزیس می‌باشد. در پژوهش حاضر JRLME موجب کاهش معنی داری در میزان تری گلیسرید و توتال کلسترونول و افزایش می‌شود [۴].

رابطه معنی داری بین هیپرگلیسمی مزمن، افزایش گلایکیشن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش فعالیت آنها وجود

منابع

- Rahimi R, Nikfar Sh, Larijani B, Abdollahi M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *J. Biomed. Phar.* 2005; 59: 365 – 73.
- Kennedy AL, Lyons TJ. Glycation, oxidation and lipoxidation in the development of diabetic complications. *J. Metabol.* 1997; 46: 14 – 21.
- Mills GC. Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J. Biol. Chem.* 1957; 229: 189 – 97.
- Taylor R, Agius L. The biochemistry of diabetes. *J. Biochem.* 1988; 250: 625 - 40.
- Pereira JA, Oliveira I, Sousa A, Valenta~ob P, Andrade PB, Ferreira ICFR, Ferreres F, Bento A. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *J. F. Chem. Tox.* 2007; 45: 2287 – 95.
- Kameswara Rao B, Kesavulu MM, Giri R, Appa Rao C. Antidiabetic and hypolipidemic effects of *Momordica cymbalaria* Hook. fruit



powder in alloxan-diabetic rats. *J. Ethno.* 1999; 67: 103 - 9.

7. Kumar S, Kumar D, Deshmukh RR, Lokhande PD, More SN, Rangari VD. Antidiabetic potential of *Phyllanthus reticulatus* in alloxan-induced diabetic mice. *J. Fito.* 2008; 79: 21 - 3.

8. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of LDL-C in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *J. Clin. Chem.* 1972; 18: 449 - 502.

9. Aebi H. Catalase in Method In: Vergmeyer HU. *Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York. 1974, pp: 673.

10. Bailey C.J, Day C. Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *J. Diabetes Care.* 1989; 12: 553 - 64.

11. Gray AM, Flatt PR. Pancreatic and extra-pancreatic of the traditional anti-diabetic plant, *Medicago Sativa* (Lucerne). *Br. J. Nutr.* 1997; 78: 325 - 34.

12. Fathiazad F, Garjani A, Motavallian naini A. Study of hypoglycemic activity of the hydroalcoholic extract of *Juglans regia* in normal and diabetic rats. *J. Pharm. Scie.* 2006; 2: 13 - 7.

13. Wichtl M, Anton R. 1999. *Plantes thérapeutiques*. Tec. & Doc., Paris. 1999; pp: 291 - 3.

