

اثرات ضد دیابتی 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 فارماکوکونوزی و داروسازی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج

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

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

تحقیقاتی جهاد دانشگاهی، پژوهشکده گیاهان دارویی، گروه فارماکوکونوزی و داروسازی

تلفن: ۰۲۶۱-۴۷۶۴۰۱۰ (۰۲۶۱)، 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 ضد دیابتی 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 ضد دیابتی آن بر پارامترهای مختلف بیوشیمیایی مانند میزان گلوکز خون پس از صرف غذا، آزمون تحمل گلوکز، میزان توتال کلسترول^۳، تری‌گلیسرید^۴، لیپوپروتئین دارای چگالی پایین^۵، لیپوپروتئین دارای چگالی بالا^۶ و لیپوپروتئین‌های دارای چگالی بسیار پایین^۷، فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز^۸، گلوتاتیون پراکسیداز^۹ و کاتالاز^{۱۰} با استفاده از کیت‌های تجاری بررسی شدند.

نتایج: پژوهش حاضر کاهش (۳۱ درصد) را در میزان گلوکز خون در فاصله سه تا هشت ساعت و کاهش چشمگیری (۴۴ درصد) را در انتهای 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، GPX و CAT به ترتیب به میزان ۲۲، ۱۲ و ۹ درصد در مقایسه با گروه شاهد دیابتی^{۱۱} تعیین شد. با وجود این نتایج در مورد آنزیم کاتالاز معنی‌دار نبودند.

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

کل‌واژگان: گیاه گردو، گلوکز خون، کلسترول توتال، آنتی‌اکسیدان

¹ JRLME

⁶ HDL

¹¹ DC

² Wistar

⁷ VLDL

³ TC

⁸ SOD

⁴ TG

⁹ GPX

⁵ LDL

¹⁰ CAT



مقدمه

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 Merck (KGaA, germany) و Sigma (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 پردیس علوم دانشگاه تهران (ایران) شناسایی و تایید شدند. سند این گونه با شماره ۳۳۲۳۹ در هرباریوم 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 متانل 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 خشک شد. پودر حاصل ۳۵ گرم و برابر با ۱۷ درصد از وزن اولیه پودر گیاه بود.

حیوانات

۳۰ رت نر نژاد ویستار (از موسسه انستیتو 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 ۱ ± ۲۱ 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 آلوکسان مونوهیدرات در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در بافر سیترات (pH=4.5) به

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 گلایکته شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز^۳، گلوکاتیون 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 باشند. به علاوه ارتباط زیادی بین غلظت اسیدهای چرب آزاد پلاسمای 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 این جا اثرات عصاره متانلی برگ گیاه *J. regia*^۶ را بر فاکتورهای متعددی مانند میزان گلوکز خون در کوتاه‌مدت و بلندمدت، آزمون تحمل گلوکز، میزان لیپیدهای خون و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در رت‌های دیابتی شده توسط آلوکسان مونوهیدرات بررسی می‌کنیم.

مواد و روش‌ها

ترکیبات شیمیایی و معرف‌ها

کیت‌های تعیین گلوکز خون، تری گلیسرید، کلسترول توتال 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



گلوکومتر 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 خورنده 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، تالخته 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 ضدانعقاد آغشته به EDTA جمع‌آوری شد. برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های SOD (EC:1.15.1.1)، CAT (EC:1.11.1.9) و GPx (EC:1.11.1.6) از روش ای^۱ استفاده شد. فعالیت آنزیمی برحسب K یا U/gHb بیان می‌شد و اندازه‌گیری هموگلوبین توتال توسط کیت معرف هموگلوبین صورت گرفت [۹].

روش آماری

تمامی داده‌ها به صورت Mean $\pm$ S.D. ارائه 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 هیپرگلیسمی (گلوکز خون ناشتای 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 رت‌های 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 خوراکی روزانه یک دوز از عصاره به مدت ۲۱ روز انجام گرفت. میزان گلوکز خون پس از صرف غذا در دو 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، GPx، CAT و لوله‌های سیتراته برای بررسی TC، TG، HDL-C و LDL-C و VLDL-C جمع‌آوری شد.

اندازه‌گیری کوتاه مدت میزان گلوکز خون

میزان گلوکز خون پس از صرف غذا درخون گرفته شده از انتهای دم رت‌ها با استفاده از دستگاه گلوکومتر (On Call Now, an Deigo, USA) اندازه‌گیری شد. میزان گلوکز خون در زمان‌های ۰، ۱، ۳، ۵، ۸ و ۲۴ ساعت پس از گاوژ 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

¹ Aebi

¹ NC



از تجویز خوراکی روزانه JRLME را نشان می‌دهد. میزان کاهش گلوکز خون در اواخر هفته‌های اول، دوم و سوم به ترتیب ۱۰، ۱۳ و ۲۲ درصد نسبت به زمان صفر و ۲۰، ۳۰ و ۲۷ درصد نسبت به گروه DC می‌باشد.

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

نتایج

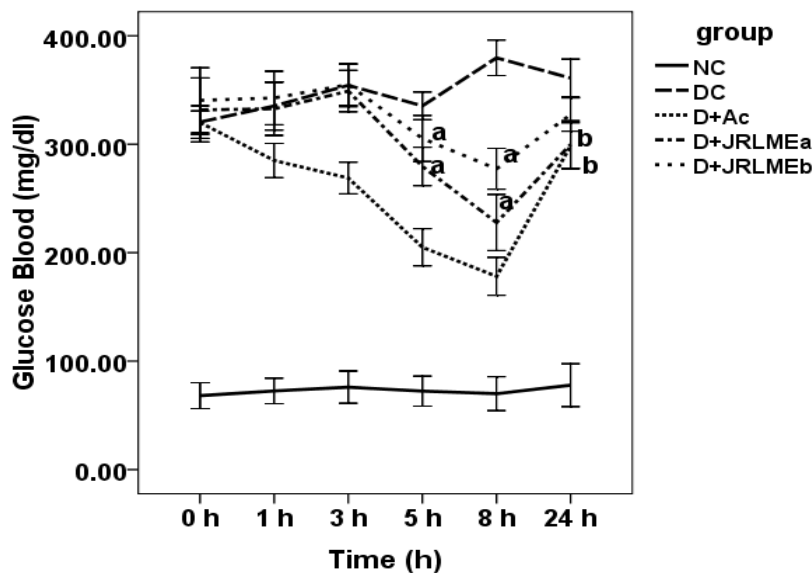
اثر کوتاه مدت JRLME بر میزان گلوکز خون

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 ($p < 0.0001$). همچنین نرخ افزایش گلوکز خون ۳۰ دقیقه پس از گاوژ محلول کربوهیدراتی در گروه‌های DC، D+JRLMEa و D+Ac 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.

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، D+Ac و D+JRLMEb به ترتیب تا حد ۳۱، ۱۸/۵ و ۴۴ درصد نسبت به زمان صفر می‌باشد؛ همچنین میزان کاهش گلوکز خون ۸ ساعت پس از تجویز نسبت به گروه DC به ترتیب ۴۰، ۲۷ و ۵۳ درصد می‌باشد. نظر به این که اثر کاهش‌دهندگی 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.

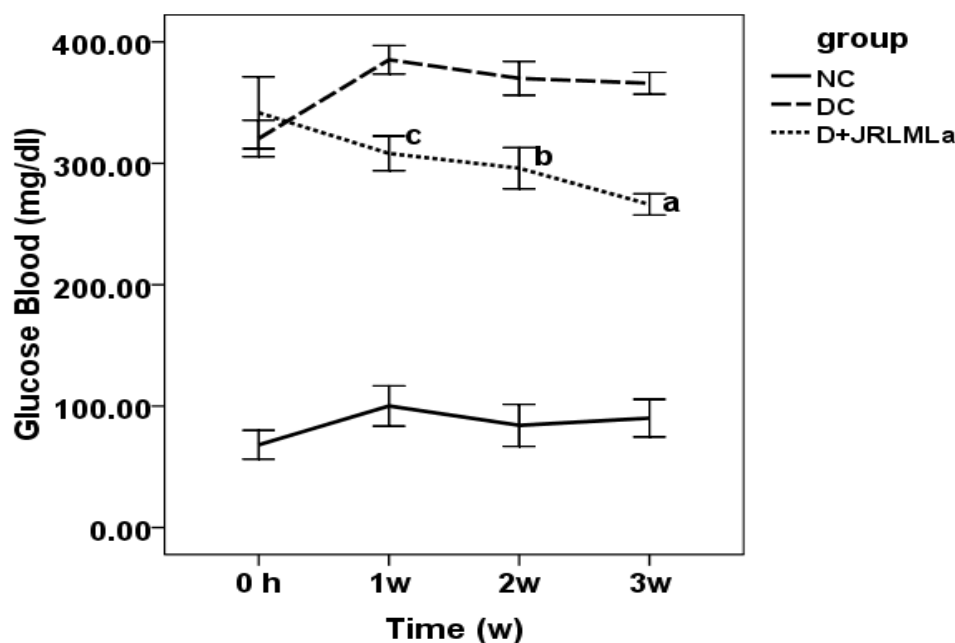
اثر بلند مدت JRLMEa بر میزان گلوکز خون

نمودار شماره ۲ کاهش پیوسته گلوکز خون در طی ۳ هفته

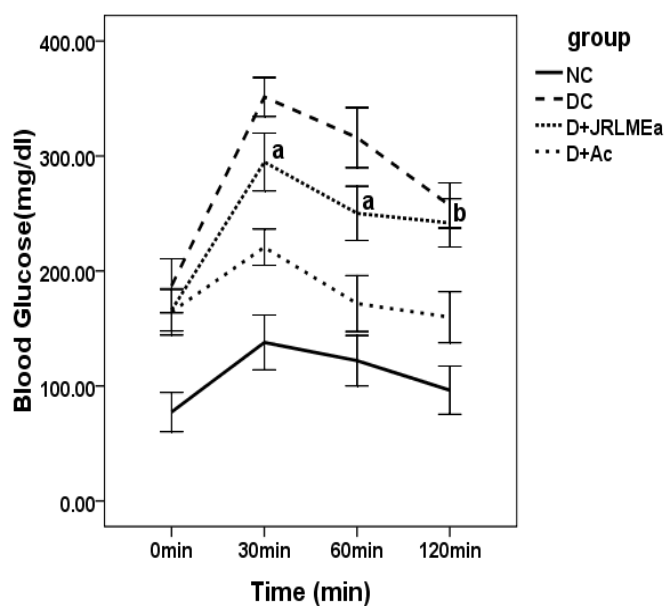


نمودار شماره ۱ - اثر کوتاه مدت JRLME بر میزان گلوکز خون. NC: گروه شاهد سالم، DC: گروه شاهد دیابتی، D+JRLMEa: گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره JRLME در دوز ۲۵۰ mg/kg؛ D+JRLMEb: گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره JRLME در دوز ۵۰۰ mg/kg؛ a و b: به ترتیب $p < 0.001$ و $p < 0.024$ نسبت به زمان صفر ساعت می‌باشند.

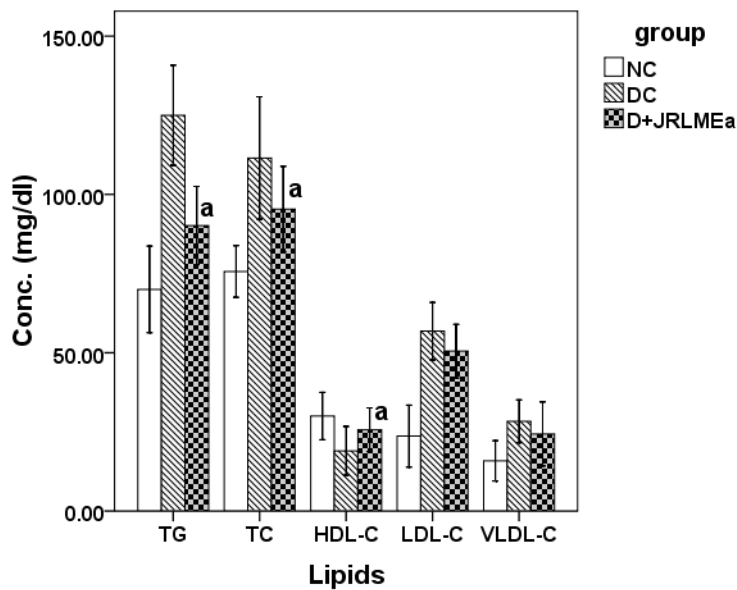




نمودار شماره ۲- اثر بلندمدت عصاره JRLMEa بر میزان گلوکز خون. NC؛ گروه شاهد سالم، DC؛ گروه شاهد دیابتی، D+JRLMEa؛ گروه دیابتی دریافت کننده عصاره JRLME در دوز ۲۵۰ mg/kg. a، b و c: به ترتیب $p < 0.001$ ، $p < 0.002$ و $p < 0.008$ نسبت به زمان صفر می باشد.



نمودار شماره ۳- اثر JRLMEa بر آزمون تحمل گلوکز خون. NC؛ گروه شاهد سالم، DC؛ گروه شاهد دیابتی، D+JRLMEa؛ گروه دیابتی دریافت کننده عصاره JRLME در دوز ۲۵۰ mg/kg، D+Ac؛ گروه دیابتی دریافت کننده داروی آکاربوز در دوز ۲۰ mg/kg. a و b: به ترتیب $p < 0.001$ و $p > 0.05$ در مقایسه با گروه DC.



نمودار شماره ۴- اثر JRLMEa بر میزان لیپیدهای خون. NC: گروه شاهد سالم، DC: گروه شاهد دیابتی، D+JRLMEa: گروه دیابتی دریافت کننده عصاره JRLME در دوز ۲۵۰ mg/kg؛ a: $p < 0.001$ در مقایسه با گروه DC.

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 گلبول‌های قرمز

جدول شماره ۱ اثر JRLMEa را بر فعالیت آنتی‌اکسیدان SOD، GPX و CAT موجود در گلبول‌های قرمز خون را نشان می‌دهد. فعالیت تمامی آنزیم‌های SOD، GPX و CAT در مقایسه با گروه DC به ترتیب ۲۲، ۱۲ 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

مزمین 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 متانلی 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 متابولیسم شدن ترکیبات موثره برگ گیاه گردو اثر آن از بین رفته و گلوکز خون دوباره در ساعت ۲۴ به سطح قبلی (ساعت ۰) برمی‌گردد. جالب اینکه همانند گزارش فتیحی‌آزاد 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 افزایش‌دهنده و کاهش‌دهنده گلوکز خون در داخل عصاره برگ گیاه می‌باشد، که با افزایش دوز عصاره اثر ترکیبات افزایش‌دهنده گلوکز خون بر اثرات وابسته به دوز سایر ترکیبات کاهش‌دهنده گلوکز خون برتری می‌یابد [۱۲]. به علاوه برای اولین بار نشان داده شد که تجویز روزانه JRLME به مدت ۲۱ روز موجب کاهش پایدار گلوکز خون و کنترل



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

گروه	دوز (mg/kg bw)	آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان		
		SOD (U/gHb)	GPX (U/gHb)	CAT (K/gHb)
NC	-	۲۹۰۷±۴۹/۲	۵۲/۶۹±۵/۵۵	۱/۴۴۷±۰/۰۹۸
DC	-	۱۹۰۷±۷۳/۶	۳۷/۶۲±۳/۸۸	۰/۵۲۰±۰/۰۱۴
D+JRLMEa	۲۵۰	۲۴۴۶±۶۹/۵*	۴۳/۰۰±۱/۵۹**	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 گلوکز 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.

بهتر آن در بلندمدت می‌شود، که نشان‌دهنده اثر درمانی عصاره برگ گیاه می‌باشد. عصاره متانلی برگ گیاه گردو بالا رفتن میزان گلوکز خون در آزمون تحمل گلوکز را مهار می‌کند. رفتار عصاره در کنترل میزان گلوکز خون مانند داروی آکاربوز می‌باشد. اثر مهاری عصاره برگ گیاه در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از گاوژ محلول کربوهیدراتی معنی‌دار می‌باشد، ولی در زمان ۱۲۰ دقیقه این اثر کاهش و ناپدید می‌شود. افزایش سطح اسیدهای چرب آزاد و کلسترول در افراد دیابتی یکی از عوامل مستعدکننده این افراد در بروز بیماری‌های قلبی- عروقی و آترواسکلوژی می‌باشد. در پژوهش حاضر JRLME موجب کاهش معنی‌داری در میزان تری‌گلیسرید و توتال کلسترول و افزایش می‌شود [۴]. رابطه معنی‌داری بین هیپرگلیسمی مزمن، افزایش گلیکیشن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش فعالیت آنها وجود

¹ ROS ² SOD
³ GPX ⁴ CAT

منابع

1. 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.
2. Kennedy AL, Lyons TJ. Glycation, oxidation and lipoxidation in the development of diabetic complications. *J. Metabol.* 1997; 46: 14 – 21.
3. Mills GC. Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J. Biol. Chem.* 1957; 229: 189 – 97.
4. Taylor R, Agius L. The biochemistry of diabetes. *J. Biochem.* 1988; 250: 625 - 40.
5. 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.
6. 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 the'rapeutiques*. Tec. & Doc., Paris. 1999; pp: 291 - 3.

