

اثر عصاره هیدروالکلی برگ گردو (*Juglans regia*) بر فعالیت آنزیم‌های AST و ALT در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان

حسین مدنی^{۱*}، پرویش رحیمی^۱، پروین محزون^۲

^۱دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران. ^۲دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۸۷/۳/۶، تاریخ پذیرش: ۸۸/۲/۲

Effects of hydroalcoholic extract of *Juglans regia* leaves on activity of AST and ALT enzymes in alloxan- induced diabetic rats

Madani H. ^{*1}, Rahimi P. ¹, Mahzoni P. ²

¹Faculty of Science, Isfahan University, Isfahan, Iran. ²Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Received: 27 Aug. 2008, Accepted: 22 Apr. 2009

Objectives: Diabetes is a metabolic disorder characterised by hyperglycemia resulting from perturbation in insulin secretion, insulin action or both. *Juglans regia* (Juglandaceae) has been used in Iranian traditional medicine in the treatment of diabetes. In this experience the preventive effect of hydroalcoholic extract of *Juglans regia* leaves on activity of AST and ALT in alloxan - induced diabetic rats was investigated. **Methods:** In this research 18 male white Wistar rats, with body weights of 180 – 220 g were randomly allocated into three groups with six rats per group: first group (nondiabetic control); second group (diabetic control) and third group (diabetic rats treated with hydroalcoholic extract of *Juglans regia* leaves). In order to induce diabetes, alloxan was administered as a single dose (120 mgkg⁻¹ BW), intraperitoneally. At the initial and the end of 2 and 6 weeks of experimental period, rats were fasted for 8h, and then fasting blood samples were collected in heparinated tubes. Sampling was performed from the orbital sinus. **Results:** The results indicate a significant difference in AST and ALT level in the diabetic group compared with the other groups (P<0.05). Histological studies of the liver of these animals, demonstrated the same results. **Conclusion:** These results show that the hydroalcoholic extract of *Juglans regia* leaves could affect preventive of diabetes. **Key words:** Diabetes, *Juglans regia*, Alloxan monohydrate, Hydroalcoholic extract, rat.

زمینه و هدف: دیابت یک ناهنجاری متابولیکی است که با هیپرگلیسمی ناشی از نقص در ترشح، عمل انسولین و یا هر دو مشخص می‌گردد. گردو در طب سنتی ایران برای درمان دیابت کاربرد داشته‌است. در این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی برگ گردو بر سطح آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و اسپاراتات آمینو ترانسفراز در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان مورد بررسی قرار گرفت. **روش‌ها:** در این تحقیق ۱۸ سر موش صحرایی نر سفید با وزن متوسط ۲۲۰ – ۱۸۰ گرم به طور تصادفی در سه گروه شش تایی تقسیم شدند: گروه اول (کنترل غیردیابتی)، گروه دوم (کنترل دیابتی) و گروه سوم (دیابتی تیمار شده با عصاره هیدروالکلی برگ گردو). تزریقات به صورت درون صفاقی انجام گرفت. قبل از شروع مطالعه و در پایان هفته‌های دوم و ششم دوره آزمایش، موش‌های صحرایی برای ۸ ساعت ناشتا بوده و سپس خون‌گیری به عمل آمد. خون از طریق سینوس اوربیتال گرفته شد. **یافته‌ها:** نتایج حاکی از افزایش معنی‌دار میزان AST و ALT در موش‌های صحرایی دیابتی نسبت به سایر گروه‌ها بود و تیمار با عصاره هیدروالکلی برگ گردو در موش‌های صحرایی دیابتی شده موجب کاهش معنی‌داری در سطح آنزیم‌های فوق در مقایسه با گروه کنترل دیابتی گردید (P<۰/۰۵). **نتیجه‌گیری:** این گیاه به دلیل مهار آسیب کبدی ناشی از دیابت، به‌عنوان داروی ضد دیابتی پیشنهاد می‌گردد. **واژه‌های کلیدی:** آلوکسان منوهیدرات، دیابت، موش صحرایی، گردو، عصاره هیدروالکلی.

*Corresponding Author: Hossein Madani, Faculty of Science, Isfahan University, Isfahan, Iran. Tel: +98-311-7932462; Fax: +98-311-7932456; E-mail: h.madani@bio1.ui.ac.ir

*نویسنده مسئول: حسین مدنی، استادیار، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران، تلفن: ۰۳۱۱-۷۹۳۲۴۶۲، شماره: ۰۳۱۱-۷۹۳۲۴۵۶

۱- مقدمه

گردو (Juglans) از خانواده Juglandaceae است و دارای سه گونه‌ی *J. nigra*، *J. cinerea*، *J. regia* می‌باشد. درخت آن را به فرانسوی *Noyer cimmun* و به انگلیسی *Walnut tree* می‌نامند (۱). گردو علاوه بر مصارف تغذیه‌ای در طب سنتی نیز کاربرد دارد و خواص درمانی آن از زمان‌های خیلی قدیم شناخته شده است که می‌توان به این موارد اشاره نمود: برگ‌های آن برای درمان دردهای روماتیسمی، تب، دیابت، بیماری‌های پوستی، ریشه‌ی آن برای درمان دیابت و گل‌های آن برای درمان مالاریا و دردهای روماتیسمی استفاده می‌شود (۲). بررسی عصاره‌ی استونی و آبی برگ گردو نشان می‌دهد که برگ گردو حاوی الازیتانین است که دارای خواص ضد سرطانی و ضدالتهابی است (۳، ۲). پژوهش‌های انجام‌شده روی برگ گردو خاصیت آنتی باکتریال آن را اثبات نموده است (۴، ۵، ۱). اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها دو گروه عمده‌ی ترکیب‌های فنلی موجود در برگ گردو می‌باشند. مهم‌ترین اسیدهای فنلی برگ گردو کافئوئیلکونیک اسید و کوماروئیلکونیک اسید می‌باشند. مهم‌ترین فلاونوئیدهای موجود در برگ گردو ژوگلون، کوئرستین گالکتوزید، مشتق‌های کوئرستین پنتوزید، کوئرستین آرابینوزید، کوئرستین گزیلوزید، کوئرستین رامنوزید و مشتق‌های کامپفرول پنتوزید می‌باشند. ژوگلون از لحاظ ساختمانی ۵- هیدروکسی ۱ و ۴- نفتوکینون می‌باشد که تنها در بخش‌های سبز و تازه گردو یافت شده و در برگ‌های خشک، اثر آن از بین می‌رود (۸-۶).

دیابت قندی، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های دستگاه غدد درون ریز بدن محسوب می‌شود که عوارض آن افزایش قند خون، اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین است. این بیماری به دلیل عدم جذب سلولی قند خون، ناشی از کاهش ترشح انسولین و یا مقاومت سلول‌های بدن در برابر انسولین ایجاد می‌شود و با تغییرات مشخصی در متابولیسم درون سلولی در بسیاری از بافت‌ها از جمله کبد همراه است. یکی از مهم‌ترین تغییرات، افزایش سطح آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز در افراد دیابتی است (۹، ۱۰). با توجه به عوارض متعدد و خطرناکی که بیماری قند در افراد دیابتی ایجاد می‌نماید، بررسی راه‌های درمان، تخفیف و پیش‌گیری از آن لازم است. هدف اصلی تحقیق حاضر بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ گردو بر فعالیت آنزیم‌های ALT و AST در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۱-۲: جمع‌آوری گیاه

برگ‌های گردو در تیر ماه سال ۱۳۸۴ از منطقه‌ی باغبادران استان اصفهان جمع‌آوری و سپس جنس و گونه‌ی آن توسط خانم مهندس قائم مقامی از گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان شناسایی شد. نمونه‌ای از این خانواده در هر بار یوم این دانشکده با شماره ۴۰۲۱ نگهداری می‌شود.

۲-۲: روش تهیه‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی

برگ‌های گردو، در سایه خشک و سپس پودرگردیدند. ۱۰۰ گرم از پودر بدست‌آمده درون ارلن یک لیتری ریخته شد و به آن الکل اتیلیک ۹۶ درصد اضافه گردید، به گونه‌ای که سطح پودر را بپوشاند. بعد از ۲۴ ساعت محلول صاف شد. در مرحله بعد به تفاله باقی‌مانده، الکل ۷۵ درصد اضافه و بعد از ۲۴ ساعت صاف گردید. محلول صاف شده مراحل اول و دوم مخلوط و توسط دستگاه تقطیر در خلاء در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و سرعت چرخش ۷۰ دور در دقیقه تا ۱/۳ حجم اولیه تغلیظ گردید (۱۱). به منظور جداسازی پروتئین، چربی و کلروفیل، محلول تغلیظ‌شده سه بار توسط کلروفرم ۵۰ میلی‌لیتر دکانته شد. محلول بدست‌آمده از آخرین مرحله در اتوکلاو و دمای زیر ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و شرایط استریل خشک گردید. به این ترتیب بعد از چند روز پودر خشک عصاره آماده گردید. پودر خشک شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۳).

۳-۲: حیوانات آزمایشگاهی

در این بررسی از ۱۸ سر موش صحرایی نر سفید از نژاد Wistar تهیه شده از انستیتو پاستور تهران در محدوده وزنی ۲۲۰ - ۱۸۰ گرم استفاده گردید. تمام حیوانات در لانه‌ی گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان در دمای 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. موش‌های صحرایی آزادانه به آب و غذای مخصوص دسترسی داشتند. به منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز پس از استقرار در لانه به انجام رسید. مدل تجربی دیابت قندی نوع ۱ (دیابت وابسته به انسولین) در موش‌های صحرایی نر با یک بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان به میزان ۱۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ایجاد گردید. علائم دیابت شامل پرنوشی، پر ادراری و کاهش وزن پس از ۷-۶ روز آشکار گردید. برای اطمینان بیشتر از ایجاد دیابت، یک هفته پس از تزریق آلوکسان، قند خون از طریق خون‌گیری از سینوس رترواریتال گوشه داخلی چشم اندازه‌گیری شد. از سرم دیابتی شدن، افزایش میزان گلوکز خون بین ۳۰۰-۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر است (۱۲).

۴-۲: نحوه‌ی گروه‌بندی

تیمار حیوانات با عصاره‌ی گیاهی و سرم فیزیولوژی به صورت داخل صفاقی و روزانه به مدت شش هفته بعد از دیابتی شدن انجام گرفت. در این تحقیق ۱۸ موش صحرایی به صورت تصادفی به ۳ دسته ۶ تایی تقسیم شدند. گروه ۱ (گروه کنترل غیر دیابتی): موش‌های صحرایی سالم که معادل حجم عصاره‌ی تزریقی، سرم فیزیولوژی را دریافت نمودند. این عمل به منظور یکسان نمودن شوک حاصل از تزریق انجام گرفت.

گروه ۲ (گروه کنترل دیابتی): موش‌های صحرایی دیابتی که با سرم فیزیولوژی تیمار شدند.

گروه ۳: موش‌های صحرایی دیابتی که عصاره برگ گردو محلول در سرم فیزیولوژی را به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

۴-۲: خون‌گیری و آزمایش‌های بیوشیمیایی

از موش‌های صحرایی در سه نوبت (قبل از شروع مطالعه = نوبت ۱، دو هفته بعد از تزریق آلوکسان = نوبت ۲ و شش هفته بعد از تزریق آلوکسان = نوبت ۳) خون‌گیری به عمل آمد و میزان آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) تعیین گردید. خون‌گیری از طریق سینوس اوربیتال گوشه‌ی داخلی چشم موش‌های صحرایی و توسط لوله‌های مویینه انجام پذیرفت. ۸ ساعت قبل از انجام هر آزمایش مواد غذایی از دسترس حیوانات خارج گردید (۴). ALT و AST با استفاده از کیت آنزیمی زیست شیمی و توسط دستگاه Automatic Analyzer 902 Hitachi اندازه‌گیری شد.

آزمایش‌ها در آزمایشگاه مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان که تحت نظارت کیفی دانشگاه رافائل بلژیک St. Rafael University, Department of Epidemiology, Leuven, (Belgium) و آزمایشگاه North West lipid Metabolism and diabetes Research laboratories, USA می‌باشد، صورت گرفت.

۴-۲: آزمایش‌های هیستولوژی

پس از آخرین خون‌گیری در پایان هفته ششم موش‌های صحرایی بوسیله کلروفورم بیهوش و پس از شکافتن قفسه سینه، بخشی از بافت کبد آن‌ها، خارج گردید و با محلول سرم فیزیولوژیک شسته و به منظور آبگیری و آماده‌شدن جهت دیگر مراحل در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. در مرحله‌ی بعدی از بافت‌ها آبگیری و سپس قالب‌گیری به عمل آمده، و برش‌های میکروتومی تهیه و به روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی گردیدند (۱۰).

۴-۲: آنالیز آماری داده‌ها

نتایج به صورت Mean±SD مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته است. برای مقایسه نتایج هر پارامتر در هر یک از گروه‌ها از آزمون student, s t و repeated measure ANOVA و test برای مقایسه گروه‌ها با هم در هر یک از پروده‌های زمانی از آزمون One – way ANOVA و Post – hoc tukey, s test استفاده گردید. به علاوه سطح معنی‌دار $P < 0/05$ برای تمامی آنالیزها در نظر گرفته شد.

۳- نتایج:

۳-۱: تایج عصاره‌گیری

در روش عصاره‌گیری به‌طریقه‌ی خیساندن در الکل از هر ۱۰۰ گرم پودر برگ گردو، ۵/۶۴ گرم عصاره‌ی خشک بدست آمد.

۳-۲: عصاره‌ی هیدروالکلی برگ گردو بر میزان آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)

آنچنان‌که در نمودار (۱) مشاهده می‌گردد در نوبت ۱ میانگین آنزیم ALT در بین گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشته است. در گروه‌های کنترل دیابتی و دیابتی تحت تیمار با عصاره هیدروالکلی برگ گردو میزان ALT خون، افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) در نوبت ۲ در مقایسه با گروه کنترل غیر دیابتی نشان می‌داد. در نوبت ۳ گروه کنترل دیابتی در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری را نشان داد. بین گروه تیمار شده با عصاره در نوبت سوم با گروه کنترل دیابتی تفاوت معنی‌داری دیده نشد.

۳-۳: اثر عصاره‌ی هیدروالکلی برگ گردو بر میزان آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST)

نتایج مربوط به اثر عصاره‌ی هیدروالکلی برگ گردو بر میزان آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) نمودار ۲ آورده شده است. در نوبت ۱ میانگین آنزیم AST در بین گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشته است. در نوبت ۲، گروه‌های کنترل دیابتی و دیابتی تیمار شده با عصاره برگ گردو افزایش معنی‌داری در میزان آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز در مقایسه با گروه کنترل غیر دیابتی نشان می‌داد. در نوبت ۳ بین گروه کنترل دیابتی و سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری دیده شده ولی بین گروه دیابتی تحت تیمار عصاره در مقایسه با گروه کنترل غیر دیابتی تفاوت معنی‌داری دیده نشد.

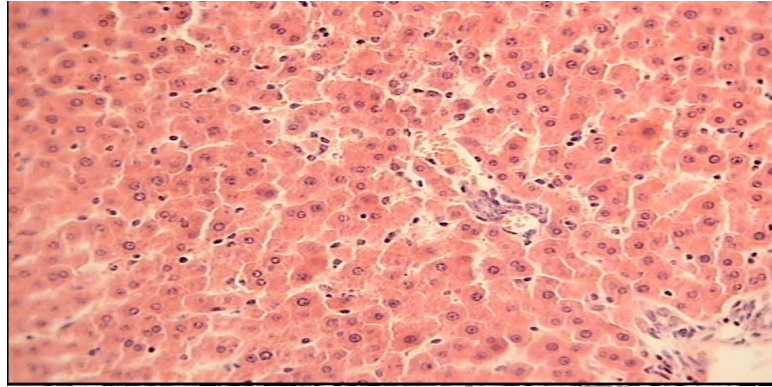
۳-۴: نتایج هیستولوژی

بررسی هیستومورفولوژیک کبد در گروه‌های آزمایشی مورد مطالعه نشان داده که بافت کبدی در این گروه‌ها متفاوت است. در بررسی‌های هیستومورفولوژی انجام شده روی

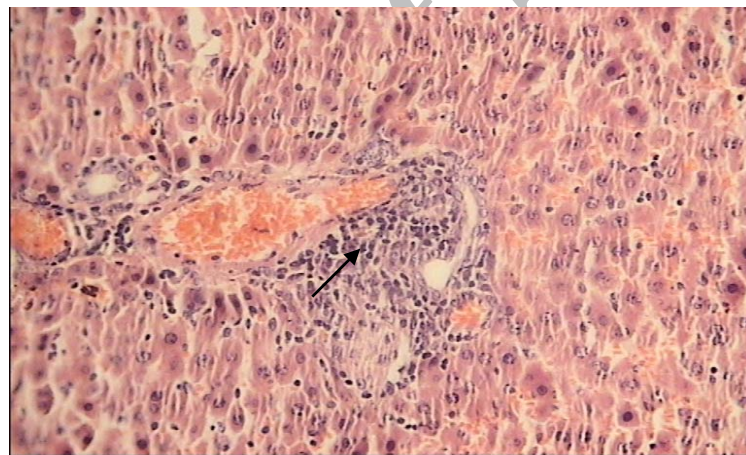
برش‌های کبدی گروه‌های مختلف، نتایج زیر مشاهده گردید:

در گروه کنترل غیر دیابتی التهاب پورت دیده نشد (شکل ۱).
در گروه دیابتی تیمار شده با عصاره هیدروالکلی برگ گردو التهاب خیلی خفیف پورت و تعدادی سلول‌های التهابی

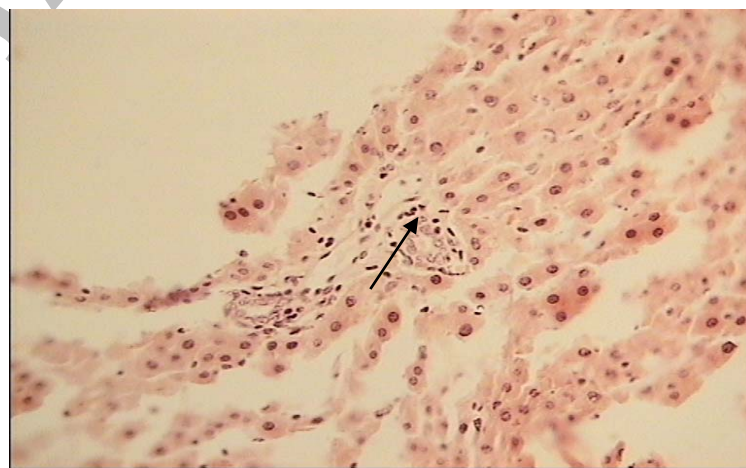
دیده شد. نکروز داخل لوبولی واضحی هم رویت نگردید (شکل ۲). در گروه کنترل دیابتی التهاب در فضای پورت به طور متوسط و با نفوذ به داخل لوبول (hepatic interphase) و نکروز خفیف داخل لوبولی هم مشاهده گردید (شکل ۳).



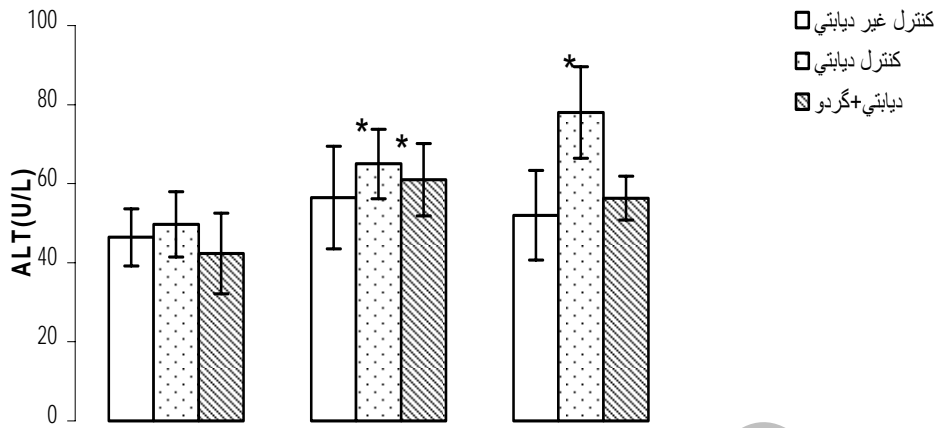
شکل ۱. گروه کنترل غیر دیابتی



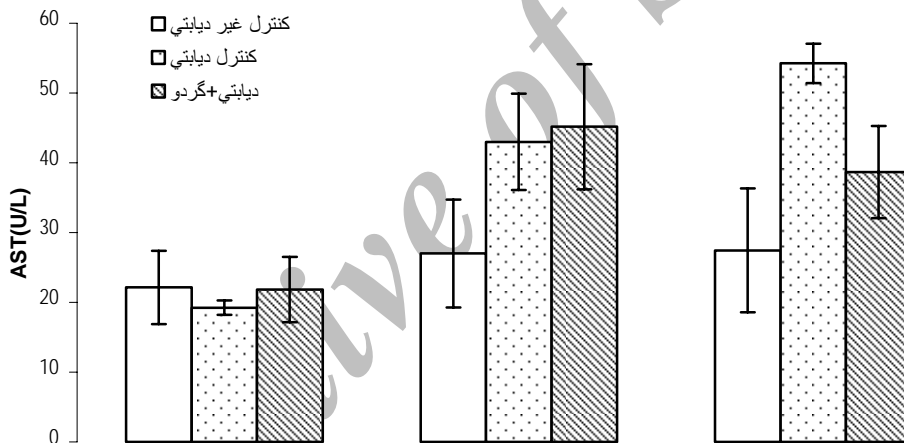
شکل ۲. گروه دیابتی تیمار شده با عصاره گردو (→ التهاب خفیف پورت را نشان می‌دهد)



شکل ۳. گروه کنترل دیابتی (→ التهاب را نشان می‌دهد)



نمودار ۱. اثر عصاره برگ گردو بر سطح ALT (IU/L) در گروه‌های مورد مطالعه موش‌های صحرایی داده‌ها به صورت Mean±SD بیان شده‌اند. * معادل $p < 0.05$ در مقایسه با کنترل غیر دیابتی



نمودار ۲. اثر عصاره برگ گردو بر سطح AST (IU/L) در گروه‌های مورد مطالعه موش‌های صحرایی داده‌ها به صورت Mean±SD بیان شده‌اند. * معادل $p < 0.05$ در مقایسه با کنترل غیر دیابتی

آمده در این تحقیق نشانگر آن است که در گروه دیابتی تیمار شده با عصاره برگ گردو غلظت سرمی AST و ALT نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش معنی‌داری یافته‌است. برگ گردو غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان نظیر ترکیب‌های فنلی است. اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها دو گروه عمده‌ی ترکیب‌های فنلی موجود در برگ گردو می‌باشند. مهم‌ترین اسیدهای فنلی برگ گردو کافئوئیلکوئینیک اسید و کلروژنیک اسید و مهم‌ترین فلاونوئید آن کوئرستین است (۸-۶). نتایج مطالعات نشان می‌دهد که فلاونوئیدها موجب کاهش قند پلازما می‌شوند (۱۱). نورالیو و همکاران در سال ۱۹۹۲، اثر

۴- بحث

کبد یکی از اندام‌هایی است که در بیماری دیابت دچار آسیب می‌گردد. آنزیم‌های AST و ALT به مقدار فراوان در کبد وجود دارند. با آسیب سلول‌های کبدی آزادسازی این آنزیم‌ها به داخل جریان خون زیاد می‌شود. این آنزیم‌ها در ارزیابی اختلال‌های کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرند. افزایش در فعالیت آنزیم‌های فوق منعکس‌کننده آسیب کبد است. بافت کبد در حیوانات دیابتی نکروزه می‌گردد و احتمالاً افزایش فعالیت آنزیم‌های AST و ALT در نتیجه نشت آن‌ها از سیتوزول کبدی به داخل جریان خون می‌باشد (۹، ۱۰). نتایج بدست

۵- نتیجه گیری

برطبق نتایج تحقیق حاضر عصاره هیدروالکلی برگ گردو به صورت موثری در کاهش آسیب کبدی ناشی از دیابت عمل می نماید، لذا می توان عصاره این گیاه را به عنوان یک داروی ضد دیابتی در نظر گرفت. هر چند تحقیق های بیوشیمیایی و فارماکولوژیکی بیشتری را باید جهت استفاده از آن مد نظر قرار داد.

۶- تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب طرح شماره ی ۸۴۱۴۳ با حمایت مالی معاونت پژوهشی مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان انجام شده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، کادر محترم آزمایشگاه مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان جهت انجام آزمایشات بیوشیمیایی و کادر محترم آزمایشگاه بافت شناسی دکتر محزونی جهت انجام آزمایشات بافت شناسی قدردانی می شود.

هیپوگلیسمی کوئرستین را در رت های دیابتی شده با آلوکسان، گزارش کرده اند. براساس نتیجه این تحقیق، کوئرستین علاوه بر قند خون، کلسترول و LDL را به صورت معنی داری کاهش می دهد. فلاونوئید کوئرستین جذب گلوکز را در روده مهار می کند. این عمل به طور اختصاصی بر روی ناقل گلوکز ۲ (GLUT2) صورت می گیرد (۱۲). کلروژنیک اسید با دخالت غیر مستقیم در سنتز کلسترول و مهار آنزیم هیدروکسی متیل گلو تاریل کوآنزیم A ردوکتاز سنتز آن را در هپاتوسیت های کبدی کاهش داده و کلسترول اضافی را از طریق افزایش دفع صفراوی آن کاهش می دهد (۸). احتمالاً عصاره هیدروالکلی برگ گردو با کاهش آسیب در سلول های کبدی و همچنین با کاهش گلوکز، کلسترول و تری گلیسرید سرم و بدنال آن سطح لیپیدهای کبدی و جلوگیری از تشکیل کبد چرب باعث کاهش سطح آنزیم های AST و ALT در پلاسما می گردد.

References:

1. Pereira J.A., Oliveira I., Sousa A., Valentao P., Andrade P., Ferreira I., Ferreres F., Bento A., Seabra R., M.Estevinho L. Walnut (*Juglans regia*) leaves: phenolic compound, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 2007, 45(11): 2287 - 2295
2. Kaumar S., Harkonen P.L., Arora S., Kaur M. Studies on correlation of antimutagenic and antiproliferative activities of *Juglans regia* L. *Journal Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 2003, 22(1): 59 - 67.
3. Erdemoglu N., Kupeli E., Yesilada E. Anti - inflammatory and antinociceptive assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 2003, 89: 123-129.
4. Qadan T.N., Thewaini A.J. The antimicrobial activities of *Psidium guajava* and *Juglans regia* leaf extracts to acne-developing organisms. *Am. J. Chin. Med.*, 2005, 33(2): 197-204.
5. Namasivayam N. Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum* L. on alloxan- induced diabetic rats. *Pharmacological research*, 2002, 46(3): 251-255.
6. Amaral J.S., Seabra R.M., Andrade, P.B. Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia* L.) leaves. *Food Chemistry*, 88: 373-379.
7. Fukuda T., Ito H., Yoshida T. 2003. Antioxidative polyphenols from walnuts (*Juglans regia* L.). *Phytochemistry*, 2004, 63: 795-801.
8. Solar A., Colaric M., Usenik V., Stampar F. Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinones in annual shoots of common walnut (*Juglans regia* L.). *Plant Science*, 2006, 453 -461.
9. Seppala-Lindroos A., Vehkavaara S., Hakkinen A.M., Goto T., Westerbacka J., Sovijarvi A., Halavaara J., Yki-Jarvinen H: Fat accumulation in the liver is associated with defects in insulin suppression of glucose production and serum free fatty acids independent of obesity in normal men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, 87: 3023-3028.
10. Vozarova B., Stefan N., Lindsay R.S., Saremi A., Pratley R.E., Bogardus C., Tataranni P.A. High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes*, 2002, 51: 1889-1895.
11. Ragavan B., Krishnakumari S. Antidiabetic effect of *T. arjuna* bark extract in alloxan induced diabetic rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2006, 21(2): 123-128
12. Nuraliev I.N., Avezov G.A. The efficacy of quercetin in alloxan diabetes. *EKS perimentalanaia Klinicheskaia Farmakologia*, 1992, 55: 42-44.