● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ‌سیزدهم، شمارهٔ ۴، ص ۲۴۵-۲۴۰، ۱۳۸۵

مقالهٔ پژوهشی

بررسی اثر کنسانتره آب‌میوه بکرایی بر میزان گلوکز، لیپید و فعالیت آنزیم‌هایALT و AST سرم خون موش‌های صحرایی دیابتی

دکتر نعمت‌الله رزمی [۱*]، دکتر غلامعلی جلودار[۲]، دکتر حسن ابراهیمی[۳] و دکتر حسن باغشنی[۴]

خلاصه

مقدمه: این مطالعه به منظور بررسی اثر کنسانتره آب میوه‌بکرایی (Aegle marmelos) بر روی میزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، کرآتینین و فعالیت آنزیم‌های ALT و AST سرم خون موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد.

روش: چهل و پنج سر موش‌صحرایی نر بالغ انتخاب و به ۳ گروه تقسیم شدند. یک گروه ۱۵تایی به عنوان شاهد منفی یا موش‌های سالم در نظرگرفته شد و ۳۰ موش باقی‌مانده از طریق تزریق داخل وریدی محلول آلوکسان تتراهیدرات ۵ درصد به میزان ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مبتلا به دیابت شدند. پس از حصول اطمینان از دیابتی‌شدن، موش‌های دیابتی به دو گروه ۱۵تایی تقسیم شدند. یک گروه به عنوان شاهد مثبت (دیابتی) و یک گروه به عنوان آزمایش در نظر گرفته شد. گروه آزمایش به مدت ۳ هفته با مخلوط یکنواختی از غذای معمولی و کنسانتره آب میوه بکرایی (به میزان ۲ گرم در هر کیلوگرم غذا) و گروه شاهد منفی و شاهد مثبت با غذای معمولی تغذیه شدند.

یافته‌ها: در این تحقیق پس از ایجاد دیابت در موش‌های صحرایی غلظت گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، و فعالیت آنزیم ALT سرم به طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۱)، ولی میزان فعالیت AST و مقدار کرآتینین تغییری نشان نداد. مصرف کنسانتره آب‌میوه بکرایی به طور معنی‌داری غلظت گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و فعالیت آنزیم ALT سرم را کاهش داد (P<۰/۰۱). هم‌چنین میزان مصرف آب وغذا را کاهش داد (P<۰/۰۱).

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان‌دهنده اثرات کاهنده کنسانتره بکرایی بر میزان قند و چربی خون در موش‌های دیابتی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی : بکرایی، گلوکز، لیپید، ALT، AST، دیابت شیرین، موش صحرایی

۱- استادیار بخش بیوشیمی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز ۲- استادیار فیزیولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز ۳- دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز ۴- دانشجوی دکترای تخصصی بیوشیمی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

* **نویسنده مسؤول:** گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز ● **آدرس پست الکترونیک :** razmi@shirazu.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۱/۱۶ **دریافت مقاله اصلاح شده :** ۱۳۸۵/۸/۱۰ **پذیرش مقاله:** ۱۳۸۵/۹/۱

مقدمه

دیابت قندی یک بیماری مزمن و مادام‌العمر و یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون‌ریز است که در اثر نقصان در ترشح انسولین، عملکرد انسولین و یا هر دو ایجاد می‌گردد. هیپرگلیسمی مزمن در دیابت با آسیب‌های طولانی‌مدت و اختلال عملکرد و نارسایی در ارگان‌های مختلف به‌خصوص چشم، کلیه، اعصاب، قلب و عروق خونی مرتبط است (۱۳). با توجه به ضایعات متعدد و بعضاً کشنده‌ای که بیماری قند در افراد دیابتی به جای می‌گذارد لزوم بررسی راه‌های درمان، تخفیف و پیشگیری از آن بیشتر احساس می‌شود. با توجه به این که راهکارهای درمانی فعلی برای درمان دیابت به‌خصوص دیابت نوع دوم که شایع‌ترین نوع دیابت می‌باشد، محدودیت‌هایی دارند (۱۶)، لزوم تحقیقات برای دستیابی به داروهای مؤثرتر و بی‌خطرتر کاهش‌دهنده قند و چربی خون، کاملاً احساس می‌شود. سازمان بهداشت جهانی (WHO) نیز به ارزیابی تأثیر درمانی گیاهانی که در طب سنتی کاربرد داشته‌اند، در مورد بیماری‌هایی که برای درمان آنها داروهای جدید بی‌خطر وجود ندارد، توصیه می‌نماید (۱۷).

بکرایی(Aegle marmelos) گیاهی است از خانواده مرکبات که بومی شمال هندوستان بوده ولی در سیلان، برمه، تایلند، اندونزی، چین و ایران هم وجود دارد (۱۲). تمام قسمت‌های این گیاه (ساقه، پوست، ریشه، برگ و میوه) اثرات درمانی داشته و این گیاه سابقه طولانی در طب گیاهی دارد (۱۲). میوه و برگ بکرایی به عنوان یک داروی سنتی در درمان دیابت ملیتوس استفاده می‌شود. بررسی‌های اولیه اثرات برگ گیاه بکرایی را بر کاهش قند و کلسترول خون مشخص ساخته است (۵). هم‌چنین عصاره میوه بکرایی سبب کاهش قند و چربی در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین می‌شود (۹،۸،۷،۱۰). تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر کنسانتره آب‌میوه بکرایی روی میزان گلوکز، کلسترول ، تری‌گلیسرید، کراتینین و فعالیت آنزیم‌های ALT و AST سرم در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط آلوکسان انجام گرفت.

روش بررسی

مقدار ۲۰ کیلوگرم میوه بکرایی از باغ‌های مرکبات شهرستان فسا تهیه و پس از جدا کردن پوست، آب‌میوه گرفته شد که پس از صاف‌کردن حدود ۴ لیتر آب‌میوه به دست آمد . به وسیله دستگاه آون LTE شرکت گرین فیلد (Green field) که توسط پمپ خلأ در آن خلأ ایجاد می‌شود، آب‌میوه تغلیظ شد و بعد از حدود ۱۰ ساعت در درجه حرارت ۴۵°C نمونه کاملاً آب‌گیری شد و مقدار ۸۰۰ گرم کنسانتره به دست آمد. مقدار ۳۴ گرم از کنسانتره تهیه شده در مقداری آب‌مقطر حل شد و محلول حاصل با ۱۷ کیلوگرم غذای مخصوص موش (قبل از پلت‌شدن) کاملاً مخلوط گردید و خمیر یکنواختی به دست آمد. خمیر حاصله به پلت تبدیل شد.

تعداد ۴۵ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد اسپراگ داولی(Sprague Dawley)، که همگی هم‌سن (۶۵ روزه) و حدوداً هم وزن (۲۰۰ گرم) بودند، انتخاب و هرکدام در قفسی جداگانه قرار داده شدند.

۲۴ ساعت قبل از تزریق آلوکسان، به موش‌های مورد آزمایش گرسنگی داده شد. بعد از توزین موش‌ها، محلول آلوکسان تتراهیدرات ۵ درصد با دوز ۵۰ میلی‌گرم به‌ازاء هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل وریدی تزریقی گردید (۱۴). ۷۲ ساعت بعد از تزریق آلوکسان، میزان گلوکز خون هر موش با خون‌گیری از ورید دم اندازه‌گیری شد. موش‌های با گلوکز خون بیشتر از ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. پس از قطعی شدن دیابت در موش‌های صحرایی، آنها به طور تصادفی به دوگروه ۱۵تایی تقسیم شدند. گروه کنترل مثبت دیابتی و مصرف‌کننده غذای معمولی و گروه درمان دیابتی و مصرف‌کننده جیره معمولی مخلوط شده با کنسانتره آب‌میوه بکرایی بودند. یک گروه ۱۵تایی از موش‌های سالم نیز به طور تصادفی به عنوان کنترل منفی انتخاب و با غذای معمولی تغذیه شدند. طول دوره آزمایش از زمان ایجاد دیابت در موش‌های مورد آزمایش ۲۱ روز بود. روزانه بیش از حد مورد نیاز طبیعی پلت‌های غذایی و آب توزین و در اختیار موش‌ها قرارداده می‌شد. ۲۴ ساعت بعد پلت‌های غذایی باقیمانده و آب باقیمانده توزین و از مقدار اولیه کم می‌شد. بدین ترتیب آب و غذای مصرفی طی ۲۴ ساعت محاسبه می‌شد. برای اندازه‌گیری وزن هم، روزانه موش‌ها با ترازوی دیجیتالی توزین شده و وزن مربوطه ثبت می‌گردید.

در طول آزمایش ۴ بار از ورید دم نمونه خون گرفته شد (یک‌بار در شروع آزمایش و سه بار دیگر در فواصل یک هفته‌ای) و بعد از لخته‌شدن، خون‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفوژ شده و سرم آنها جدا می‌شد. میزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، کراتینین، AST و ALT سرم با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر ابوت‌السیون ۳۰۰

(Abbot Alycon300, Abbot Laboratories, Inc., Irving, Texas, USA) و طبق روش کار توصیه شده توسط شرکت سازنده دستگاه مورد سنجش قرارگرفت.

در این تحقیق برای تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. کلیه مقادیر به صورت میانگین (±SEM) بیان شده‌اند. تعداد در هر گروه ۱۵ موش بوده و سطح معنی‌داری (P<۰/۰۱) در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج به دست آمده از بررسی اثر کنسانتره آب‌میوه بکرایی روی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون موش‌های دیابتی در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که تزریق آلوکسان موجب افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۱) در میزان گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول و فعالیت آنزیم ALT سرم می‌گردد ولی بر میزان کراتینین و فعالیت AST سرم اثری

جدول ۱: *مقایسه اثر درمان با کنسانتره آب میوه بکرایی بر میانگین(± خطای استاندارد) قند، کلسترول، تری گلیسرید و کرآتینین و فعالیت آنزیم‌های ALT و AST در سرم خون موش های صحرایی مورد آزمایش در پایان هفته سوم درمان (n=۱۵)*

گروه / متغیر	شاهد	کنترل	آزمایش
قند خون mg/dl	a ۶۵/۳۵±۲/۳۰	b ۲۵۲/۸۰±۴/۹۳	c ۱۸۴/۳۴±۴/۲۴
کلسترول خون mg/dl	a ۶۷/۵۷±۱/۷۶	b ۸۹/۳۵±۳/۴۲	a ۷۰/۳۵±۲/۶۵
تری گلیسرید خون mg/dl	a ۴۸/۱۷±۱/۲۸	b ۷۸/۵۷±۳/۱۵	a ۵۲/۳۴±۲/۲۲
کرآتینین خون mg/dl	۰/۹۴±۰/۰۵	۱/۳۱±۰/۱۳	۱/۰۴±۰/۱۱
فعالیت ALT IU/l	a ۵۹/۵۷±۱/۲۸	b ۷۴/۶۸±۲/۶۷	۶۲/۹۳±۲/۵۱
فعالیت AST IU/l	۴۸/۳۶±۱/۶۴	۵۶/۱۷±۲/۹۴	۵۱/۲۸±۲/۴۲

حروف لاتین غیر مشابه در هر ردیف نشانگر وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های مربوطه می باشد (p<۰/۰۱).

جدول ۲: *مقایسه اثر درمان با کنسانتره آب میوه بکرایی بر میانگین(± خطای استاندارد) وزن غذا و آب مصرفی بین پایان هفته‌های اول، دوم و سوم در موش‌های صحرایی مورد آزمایش (n=۱۵)*

متغیر / گروه	وزن غذای مصرفی (گرم)			حجم آب مصرفی(میلی‌لیتر)		
	پایان هفته اول	پایان هفته دوم	پایان هفته سوم	پایان هفته اول	پایان هفته دوم	پایان هفته سوم
شاهد	a ۲۱۷/۵۰±۱/۳۲	a ۲۱۷/۵۰±۱/۴۵	a ۲۱۸/۳۳±۱/۳۷	a ۴۹۱/۸۳±۱/۹۳	a ۴۹۰/۸۳±۱/۸۶	a ۴۹۲/۸۳±۲/۱۶
کنترل	b ۳۳۴/۶۶±۲/۱۱	b ۳۵۵/۰۰±۱/۸۲	b ۳۵۵/۳۳±۱/۰۲	b ۶۵۶/۶۲±۳/۲۶	b ۷۷۰/۸۳±۱/۷۴	b ۸۰۴/۸۳±۲/۰۵
آزمایش	c ۳۱۳/۰۰±۱/۵۸	c ۳۳۷/۶۶±۱/۳۲	c ۲۳۰/۰۰±۱/۴۹	c ۶۴۰/۶۰±۲/۲۲	c ۶۸۹/۸۳±۱/۶۷	c ۶۶۸/۸۳±۳/۰۸

حروف لاتین غیر مشابه در هر ستون نشانگر وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های مربوطه می باشد (p<۰/۰۱).

جدول ۳: *مقایسه اثر درمان با کنسانتره آب میوه بکرایی بر میانگین(± خطای استاندارد) وزن حیوان بین پایان هفته‌های اول، دوم و سوم در موش‌های صحرایی مورد آزمایش (n=۱۵)*

وزن حیوان (گرم) / گروه‌ها	پایان هفته اول	پایان هفته دوم	پایان هفته سوم
شاهد	۲۱۵/۳۱±۱/۹۹	a ۲۲۷/۴۰±۱/۶۸	a ۲۴۲/۳۷±۱/۵۸
کنترل	۲۱۲/۰۶±۱/۸۷	b ۲۱۳/۰۱±۱/۵۳	b ۲۱۲/۷۰±۱/۴۲
آزمایش	۲۱۱/۳۱±۱/۶۹	b ۲۱۲/۹۴±۱/۷۲	b ۲۱۳/۲۷±۱/۵۷

حروف لاتین غیر مشابه در هر ستون نشانگر وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های مربوطه می باشد (p<۰/۰۱).

نداشته است. مصرف کنسانتره آب‌میوه بکرایی به صورت مخلوط با غذا و به میزان ۲ گرم در هر کیلوگرم غذا موجب کاهش معنی‌دار میزان قند، تری‌گلیسرید، کلسترول و فعالیت آنزیم ALT گردید (P<۰/۰۱).

در جدول های ۲ و ۳ تغییرات میزان مصرف غذا و آب و وزن بدن طی ۳ هفته درگروه‌های مختلف نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود دیابت سبب کاهش وزن و افزایش میزان مصرف آب و غذا گردیده است. مصرف کنسانتره آب میوه بکرایی سبب کاهش میزان مصرف آب و غذا گردید (P<۰/۰۱)، اما بر روی وزن بدن موش‌ها تأثیری نداشت.

بحث

در مطالعه حاضر قند خون افزایش یافته در موش‌های دیابتی شده با آلوکسان به طور معنی‌داری با تجویز کنسانتره آب‌میوه بکرایی کاهش پیدا نمود. این یافته با نتایج حاصل از تجویز عصاره آبی‌میوه بکرایی در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین هم‌خوانی دارد (۸،۱۰). در مطالعه‌ای دیگر تجویز عصاره متانولی گیاه بکرایی موجب کاهش قندخون در موش‌های دیابتی شده با آلوکسان گردیده است (۱۵).

دیابت ملیتوس با تغییرات آشکار در قند خون، لیپیدهای پلاسما و میزان لیپوپروتئین‌ها همراه است و بنابر این با افزایش بیماری کرونر قلب همراه است (۱،۲). به‌نظر می‌رسد پایین آوردن چربی خون چه از راه جیره غذایی ، چه از راه دارو درمانی با کاهش خطر بیماری‌های عروقی و عواقب آنها همراه باشد (۳) . افزایش کلسترول و تری‌گلیسرید خون در موش‌های دیابتی به‌دلیل فقدان انسولین و کاهش ذخیره چربی در کبد است که منجر به لیپمی و افزایش تری‌گلیسرید و کلسترول پلاسما می‌شود (۴،۶،۱۱). کنسانتره آب میوه بکرایی به طور مشخصی باعث کاهش تری‌گلیسرید و کلسترول خون گردید که کاهش لیپیدهای سرم ممکن است در اثر کاستن از آزادسازی و سنتز چربی‌ها باشد.

افزایش فعالیت آنزیم ALT در موش‌های دیابتی مورد تحقیق ناشی از پیشرفت سندرم کبد چرب می‌باشد (۴،۶،۱۱) . در دیابت قندی به دلیل عدم وجود انسولین ، متابولیسم چربی‌ها در کبد مختل شده و سندرم کبد چرب رخ می‌دهد (۴). کنسانتره آب‌میوه بکرایی به طور معنی‌داری سبب کاهش فعالیت ALT سرم در موش‌های دیابتی گردید. این اثر را نیز می‌توان به تأثیر مثبت کنسانتره آب‌میوه بکرایی بر افزایش سطح انسولین خون (۸) و متعاقباً کاهش سندرم کبد چرب و بهبود نسبی کبد موش‌های مبتلا نسبت داد.

معمولاً در دیابت قندی پرخوری و پرنوشی وجود دارد و همان‌طور که مشاهده می‌شود کنسانتره آب‌میوه بکرایی با داشتن اثرات مثبت بر بهبود دیابت سبب کاهش معنی‌دار در میزان اخذ غذا و آب گردید. کنسانتره آب‌میوه بکرایی در افزایش وزن موش‌های دیابتی تأثیری نداشته است که این برخلاف نتایج مشاهده شده در تجویز عصاره آب میوه بکرایی در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌باشد (۸). علت این امر می‌تواند مصرف دوز پایین‌تر کنسانتره آب‌میوه بکرایی در تحقیق حاضر باشد.

نتایج این تحقیق نشان‌دهنده اثرکاهنده کنسانتره آب‌میوه بکرایی بر قند و چربی خون در موش‌های دیابتی شده با آلوکسان می‌باشد. افزایش چربی خون ناشی از دیابت به دلیل آزادسازی زیاد چربی‌ها از بافت چربی در اثر عدم توانایی سلول‌ها در مصرف گلوکز می‌باشد. بهبود وضعیت دیابتی ایجاد شده در اثر مصرف کنسانتره آب‌میوه بکرایی سبب افزایش مصرف گلوکز توسط سلول‌ها و لذا کاهش آزادسازی چربی‌ها می‌شود. مکانیسم تأثیر عصاره میوه بکرایی هنوز مشخص نگردیده است و نیازمند تحقیقات بیشتری می‌باشد.

Summary

Effect of Aegle Marmelos Fruit Juice Concentrate on Serum Glucose and Lipid Level and ALT/AST Activities in Diabetic Rats

Razmi N., PhD.[1], Jelodar Gh., PhD.[2], Ebrahimi H., DVM.[3], Baghshani H., DVM.[4]

1. Assistant Professor of Biochemistry, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran. 2. Assistant Professor of Physiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran. 3. Veterinarian. 4. PhD. Student of Biochemistry, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Introduction: *This study was carried out to investigate the effect of bael (Aegle marmelos) on glucose, cholesterol, triglyceride, creatinine levels and the activity of ALT and AST in the serum of diabetic rats.*

Method: *45 Adult male Sprague Dawley rats were selected. The rats were divided into three groups. The first group was considered as negative control (non-diabetic rats) and diabetes mellitus was induced in the remained rats by I.V. injection of alloxan (50 mg/kg BW). Following induction of diabetes mellitus 15 diabetic rats were considered as positive control and 15 ones as treatment group. Treatment group was fed with homogenous mixture of ordinary rat food and Bael concentrate (2gr/kg food)for three weeks and the remaining groups were fed with ordinary rat food.*

Results: *Following induction of diabetes mellitus, concentration of serum glucose, cholesterol, triglyceride and the activity of ALT increased significantly ($P<0.01$), but AST activity and creatinine concentration not varied. Food and water intake was increased and body weight of rats was decreased ($p<0.01$). Consumption of bael concentrate caused a significant decrease in serum glucose, cholesterol, triglyceride and the activity of ALT ($P<0.01$), and also food and water intake was decreased ($p<0.01$).*

Conclusion: *The results of this study show that Aegle marmelos concentrate exhibit hypoglycemic and hypolipidaemic effects in diabetic rats.*

Key words: *Aegle marmelos, Gucose, Lipid, ALT, AST, Diabetes mellitus, Rat*

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2006; 13(4): 240-245

References

1. Abbate SL, Brunzell JD. Pathophysiology of hyperlipidemia in diabetes mellitus. *J cardiovasc pharmacol* 1990; 16 suppl 9:S_1-$_7$.
2. Betteridge J: Lipid disorders diabetes mellitus. In: Pichup J, Williams G (editors), Textbook of diabetes. Blackwell Science, 1997; pp 55.1-55.31.
3. Brown BG, Zhao XQ, Sacco DE, Alberts JJ. Lipid Lowering and Plaque regression. New insights into prevention of plaque disruption and clinical events in coronary disease. *Circulation* 1993; 87(6):1781-91.
4. Bush BM: Interpretation of laboratory results for small animal clinicians.1st ed., London, Blackwell scientific publications, 1991; pp408-10.
5. Chakrabarti B, Mallick C, Bhattacharya S. Studies on the effect of green leaves of Aegle marmelos and piper nigrum on the glucose and cholesterol levels of blood in diabetes mellitus. *Ind Med forum* 1960; 9:285-286.
6. Coles EH: Veterinary Clinical Pathology .4th ed., philadelphia, W.B. Saunders company, 1986; pp164-6.
7. Kamalakkannan N, Prince PS. Antidiabetic and antioxidant activity of Aegle marmelos extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol* 2004;

42(2):125-30.
8. Kamalakkannan N, Prince PS. Antihyperlipidaemic effect of Aegle marmelos fruit extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *J Sci Food Agric* 2005; 85(4): 569-73.
9. Kamalakkannan N, Prince PS. Effect of Aegle marmelos correa. (Bael) fruit extract on tissue antioxidants in streptozotocin diabetic rats. *Indian J Exp Biol* 2003; 41(11): 1285-88.
10. Kamalakkannan N, Prince PS. Hypoglycaemic effect of water extracts of Aegle marmelos fruits in streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2003; 87(2-3): 207-210.
11. Meyer DJ, Coles EH, Rich lj: veterinary laboratory medicine. Interpretation and diagnosis. 1st ed., Philadelphia, W.B. Saunders Co, 1992; pp 84-6.
12. Parmer C, Kaushal MK: Wild fruits. New Delhi, kalyani publ., 1982; pp 1-5.
13. Report of the export committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diab Care* 2004; 27:S5-S10.
14. Rerup CC. Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. *Pharmacol Rev* 1970; 22(4): 485-518.
15. Sabu Mc, Kuttan R. Antidiabetic activity of Aegle marmelos and its relationship with its antioxidant properties. *Indian J Physiol Pharmacol* 2004; 48(1): 81-8.
16. VatsV, Grover JK, Rathi SS. Evaluation of Anti-hyperglycemic and hypoglycemic effect of Trigonella foenum-graecum linn, Ocimum sanctum linn and pterocarpus marsupium linn. in normal and alloxanized diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2002; 79(1): 95-100.
17. WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus; second report. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1980; 646: 1-80.