

Streptozotocin 당뇨모델에 대한 신당뇨방의 효과

김희영 · 최보희¹ · 황혜정 · 김혁² · 이강민³ · 함대현 · 심인섭* · 이혜정

경희대학교 동서의학대학원, 1: 일침한의원, 2: 김혁한의원, 3: 전북대학교 분자생물학과

Effect of the New Diabetic Formula on Streptozotocin-induced Diabetic Rats

Hee Young Kim, Bo Hee Choi¹, Hye Jeong Hwang, Hyuk Kim², Kang Min Lee³, Dae Hyun Hahm, Insop Shim*, Hye Jung Lee

Graduate School of East-West Medical Science, Kyung Hee University

1: Ilchim Oriental Clinic, 2: Kim-Hyuk Oriental Clinic, 3: Department of Molecular biology, Chonbuk National University

The present study evaluated the beneficial effect of new diabetic formula(NDF) in diabetic rats. Adult Sprague-Dawley rats weighing 250-300 g were used. Diabetes mellitus was induced by intramuscular injections of streptozotocin(STZ, 50 mg/kg). The extracts of NDF were orally administered at low or high dose two times a day to fasted diabetic rats for 3 weeks. Administration of NDF alleviated a significant reduction in weight gain in rats with STZ-induced diabetes. Following acute and repeated treatment, low dose of NDF suppressed the blood glucose concentrations of fasted diabetic rats. Repeated administration of NDF for 21 days improved liver and kidney functions in diabetic rats, as indicated by decline of serum alanine aminotransferase(ALT), alkaline phosphatase(ALP), blood urea nitrogen(BUN), creatinine level and kidney weights. The present study showed that NDF exerted antihyperglycemic effects and alleviated liver and renal damages caused by streptozotocin-induced diabetes.

Key words : new diabetic formula, diabetes, streptozotocin, liver, kidney

서론

당뇨치료제의 놀랄만한 발전에도 불구하고, 장기간 사용으로 인한 부작용이 발생함에 따라 새로운 구강 투여용 당뇨치료제 개발이 시도되고 있다.¹⁾ 구강 투여용 당뇨치료제는 주사제보다 투여가 쉬운 반면 위장관 흡수에 따라 효과에서 차이가 생기므로 더욱 안정적이며, 효과적인 치료제 개발을 추구하고 있다.²⁾

예로부터 한약재 및 약용식물은 구강 투여용 당뇨치료제로 흔히 사용되어져 왔다³⁻⁵⁾. 한약물로 백호탕⁶⁾, 죽령탕⁷⁾, 생맥산, 가미지황탕⁸⁾, 가미육미지황탕⁹⁾, 옥천환 등이 당뇨 동물모델에서 효과적임이 보고되었다. 단일 성분으로 호로파(*Trigonella foenum*)¹⁰⁾, *Blانيت스 aegyptiaca*¹¹⁾, 아카시아(*Acacia nilotica*, *Acacia farnesiana*)¹²⁾ 같은 식물은 혈당을 강하시키는 것으로 밝혀

졌고 *Luffa aegyptiaca* 씨, *Carissa edulis* 잎, *Ambrosia maritima*^{13,14)}는 혈중 인슐린 농도를 증가시켜 혈당을 저하시키는 것으로 보고되었다.

본 실험은 당뇨에 사용될 가치가 있는 한약재를 새로이 구성하여 고유 성분을 유지시키기 위해 기존 중탕식 탕제와 달리 소화흡수가 용이하도록 효모균 발효과정을 거쳐 분리한 약제(신당뇨방)를 streptozotocin으로 유발된 당뇨모델에서 당뇨에 미치는 효과에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 약 처치

실험동물은 250 ~ 280 g의 수컷 Sprague-Dawley계 쥐 26마리를 사용하였고, 실험동물은 온도 23±3 °C, dark/ligNDF cycle 하에서 고형사료와 물을 자유 섭취하도록 하였으며, 7일간 기초사육 후 실험에 사용하였다.

실험군은 정상군(n=4)과 당뇨유발군에서 당뇨대조군(n=4),

* 교신저자 : 심인섭, 용인시 기흥읍 서천리 1 경희대학교 동서의학대학원

· E-mail : ishim@khu.ac.kr, · Tel : 031-205-6359

· 접수 : 2004/07/06 · 수정 : 2004/08/17 · 채택 : 2004/09/14

한약추출액 3 ml/kg 투여군(n=8), 한약추출액 6 ml/kg 투여군(n=6), glibenclamide 투여군(n=4)으로 분류하였다. glibenclamide (다오닐, 한독약품)는 생리식염수에 0.25 mg/ml로 용해하였으며, 1 mg/kg/day의 용량으로 투여하였다. 모든 약 처치는 하루 2회 구강 투여하였으며, 단, 혈당 측정일에는 12시간 절식시켰다.

2. 한약 추출액(신당뇨방) 분리

사삼 50 %, 오가피, 상백피, 상엽, 국화감자 각 5 %, 마늘, 두충 각 3 %, 천화분, 프로폴리스 각 4 %, 인삼, 상황버섯, 지골피, 메밀, 죽력, 당귀 각 2 %의 비율로 구성한 후 효모균을 섞어 30 ℃에서 30일간 발효 후 원심분리기를 이용해 불순물을 침전시킨 후 상층액만을 실험에 이용하였다.

3. 당뇨 유발

당뇨유발은 citrate buffer(pH 4.5)에 streptozotocin(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)을 용해시킨 후 60 mg/kg의 용량으로 대퇴근육에 주사하였다. 투여 2일 후 꼬리에서 약간의 혈액을 채취하여 혈당측정기(Accutrend GC, Boehringer Mannheim, Germany)를 이용해 측정하였을 때, 180 mg/dl 이상, yostick(KBL, 일본)을 이용해 요를 검사하였을 때, 요에서 당이 검출되었을 때 당뇨병 유발 동물로 사용하였다.

4. 혈당 측정, 체중, 혈청화학 검사

체중은 2일에 한번씩 오전 10시부터 12시 사이에 측정하였다. 혈당검사는 1일, 7일, 14일, 21일째에 약제 투여 후 세 시간동안 한 시간 간격으로 꼬리에서 약간의 혈액을 채취 후 혈당측정기를 이용해 측정하였다. 21일째 마지막 혈당 검사 후 에테르로 안락사시킨 후 심장 전자로 혈액을 채취하였고, 860 g로 10분간 원심분리 후 혈청검사를 위해 -20 ℃로 냉동 처리하였다. 신장은 적출하여 피막을 제거 후 무게를 측정하였다. 혈청은 동물혈액검사소(vetlab, 한국)에 의뢰하여 Alanine aminotransferase(ALT) and Alkaline phosphatase(ALP), total cholesterol, blood urea nitrogen(BUN), creatinine, amylase, lipase를 검사하였다.

5. 통계처리

약 투여 직 후 단기간 내에 약처치가 혈당에 미치는 영향을 알아보기 위해 7일째에 세 시간동안 측정된 결과를 비교하였으며, 장기간 투여에 따른 혈당은 1일, 7일, 14일, 21일째에 한 시간 간격으로 세 번 측정된 결과를 합산하여 각 군별로 비교하였다. 신장무게는 신장무게/ (체중 100g)로 환산하여 비교하였다. 각 처치군 사이의 효과는 ANOVA와 Tukey 사후검증법을 이용하여 집단간 유의성을 p<0.05 수준에서 검증하였다.

결 과

1. 체중 및 신장무게

정상군 (Normal)은 지속적인 체중 증가를 보였으며, 당뇨모델군 (Normal, Control, NDF-3 ml/kg, NDF-6 ml/kg,

Glibenclamide 군)에서는 유발 2일째부터 정상군에 비해 유의미하게 체중증가가 지체되었다(*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001). 한약추출액(신당뇨방) 3 ml/kg 투여 군에서는 5일, 19일을 제외한 모든 날짜에서 당뇨대조군에 비해 체중지체를 억제하는 데 효과적이었다(#p<0.05, ##p<0.01). 그러나 한약추출액 6 ml/kg, glibenclamide 투여군에서는 체중증가 지체에 대한 억제 효과는 없었다(Fig. 1). 마지막 21일째에 안락사 처치 후 신장무게를 비교하였을 때, 당뇨모델군들은 모두 정상군에 비해 무게가 증가하였다(***p<0.001). 한약추출액 3 ml/kg 투여군에서만 대조군에 비해 신장무게가 작았다(#p<0.05)(Fig. 2).

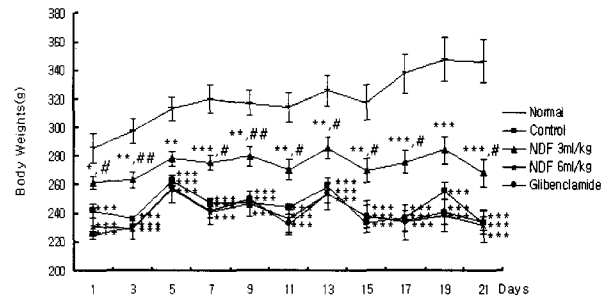


Fig. 1. Changes of body weights in diabetic rats during 3 weeks. It was compared among untreated normal(Normal), untreated diabetic(Control), NDF 3 ml/kg-administered diabetic(NDF-3ml), NDF 6ml/kg-administered diabetic(NDF-6ml) and glibenclamide-applied rats(Glibenclamide). Values shown are mean ± SE. *, ** and *** mean p<0.05, p<0.01 and p<0.001, compared to normal group, respectively. # and ## mean p<0.05 and p<0.01 from control group(Control), respectively.

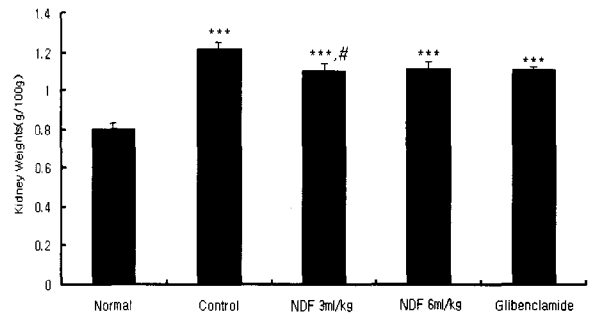


Fig. 2. Effect of oral administration of the extract of new diabetic formula on kidney weights in diabetic rats. It was compared among untreated normal (Normal), untreated diabetic(Control), NDF 3 ml/kg-administered diabetic(NDF-3ml), NDF 6ml/kg-administered diabetic(NDF-6ml) and glibenclamide-applied rats(Glibenclamide). Values shown are mean ± SE. *** mean p<0.001 compared to normal group. # means p<0.05 from control group(Control).

2. 약 처치 직 후 혈당에 미치는 영향

streptozotocin 투여에 의한 혈당모델은 모두 정상군에 비해 높은 혈당을 보였다(***p<0.001). 약 처치 직 후부터 1시간 간격으로 세 시간동안 혈당을 검사하였다. 한약추출액 3 ml/kg 투여군(NDF-3 ml/kg)은 투여 직후부터 당뇨 대조군에 비해 효과적으로 혈당이 감소하였다(##p<0.01, ###p<0.001). 그러나 한약추출액 6 ml/kg 투여군과 glibenclamide 투여군에서는 대조군에 비해 효과를 나타내지 않았다(Fig. 3).

3. 장기간 약 투여가 혈당에 미치는 영향

약 투여 후 1일, 7일, 14일, 21일째에 공복 시 혈당을 검사하

였을 때, 당뇨병모델들은 정상군에 비해 높은 혈당을 보였으며, 대체적으로 약처리군 모두 21일째에 감소하는 경향을 보였다 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). 한약추출액 3 ml/kg 투여군은 대조군에 비해 모든 처치 일에서 유의미하게 혈당이 억제되었고 (# $p < 0.05$, ## $p < 0.01$), 21일째에는 정상 수준으로 회복되었다 ($p > 0.05$) 그러나, 한약추출액 6 ml/kg 투여군과 glibenclamide 투여군에서는 대조군에 비해 효과를 나타내지 않았다(Fig. 4).

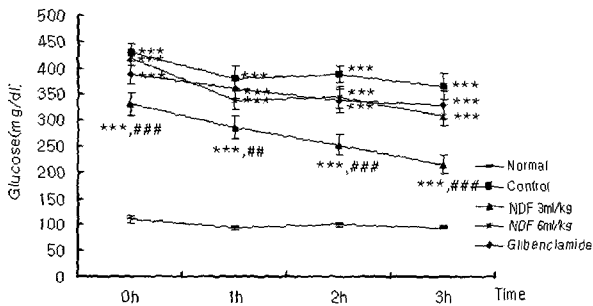


Fig. 3. Effect of oral administration of the extract of new diabetic formula on blood glucose concentration in diabetic rats during 3 h after administration. It was compared among untreated normal (Normal), untreated diabetic (Control), NDF 3 ml/kg-administered diabetic (NDF-3ml), NDF 6ml/kg-administered diabetic (NDF-6ml) and glibenclamide-applied rats (Glibenclamide). Values shown are mean \pm SE. *** means $p < 0.001$ compared to normal group. ## and ### mean $p < 0.01$ and $p < 0.001$ from control group (Control), respectively.

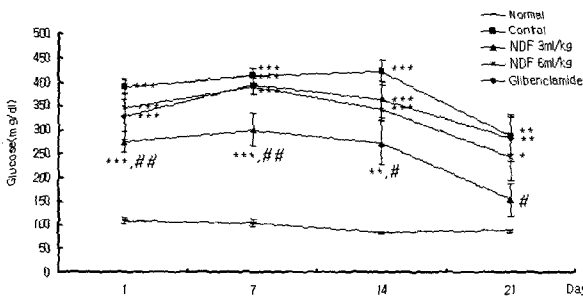


Fig. 4. Effect of oral administration of the extract of new diabetic formula on blood glucose concentration in diabetic rats during 21 days. It was compared among untreated normal (Normal), untreated diabetic (Control), NDF 3 ml/kg-administered diabetic (NDF-3ml), NDF 6ml/kg-administered diabetic (NDF-6ml) and glibenclamide-applied rats (Glibenclamide). Values shown are mean \pm SE. *, ** and *** mean $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$, compared to normal group, respectively. # and ## mean $p < 0.05$ and $p < 0.01$ from control group (Control), respectively.

4. 약 처치가 혈청화학적 수치에 미치는 영향

마지막 실험 다음날 안락사 후 채취한 혈액을 비교하였다. 당뇨병모델에서 신장 손상 지표인 BUN, creatinine 혈청 농도를 정상군과 비교하였을 때 모두 높은 수치를 나타내었다 (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). creatinine에서는 약 처치군 모두 대조군에 비해 유의미한 효과를 나타내었다 (## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$). BUN에서는 한약추출액 3 ml/kg 투여군만 대조군에 비해 효과적으로 억제되었다 (## $p < 0.01$). streptozotocin에 의한 간 손상에 대한 혈청 지표로 ALT, ALP를 비교하였을 때, ALT, ALP 둘 다 한약추출액 3 ml/kg 투여군을 제외한 당뇨유발군에서 모두 높았으며 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$), 한약추출액 3 ml/kg 투여군은 대조군에 비해 유의미하게 낮았으며 (# $p < 0.05$), 정상 수준으로 회복되었다 ($p > 0.05$). 췌장 효소인 amylase, lipase와 혈중 콜레스테롤에서는 각 처치 군별 유의적인 차이가 없었다 (Table 1).

Table 1. Assay of liver, kidney and pancreatic enzyme activities in normal, control and diabetic-treated rats with new diabetic formula and glibenclamide.

	Normal	Control	NDF 3ml/kg	NDF 6ml/kg	Glibenclamide
ALP	1 \pm 0	8.75 \pm 0.25*	3.38 \pm 0.91*	9.83 \pm 1.78**	13 \pm 3.19***
ALT	45.67 \pm 4.23	113.5 \pm 19.44**	72.88 \pm 5.50*	88.5 \pm 9.94*	88.5 \pm 17.65*
T-Cholesterol	50.67 \pm 2.43	54.5 \pm 5.20	50.38 \pm 2.43	47 \pm 2.22	50.75 \pm 3.94
Creatinine	0.5 \pm 0.06	0.73 \pm 0.06**	0.54 \pm 0.03**	0.5 \pm 0.03***	0.48 \pm 0.03***
BUN	11.67 \pm 0.33	32 \pm 2.8***	21.25 \pm 1.57**	33.67 \pm 2.81***	29.5 \pm 4.33**
Amylase	942.67 \pm 71.35	862.75 \pm 134.94	948.5 \pm 71.62	871 \pm 43.99	920.75 \pm 38.51
Lipase	57 \pm 4.36	80.75 \pm 38.81	53.13 \pm 2.37	63 \pm 6.58	64.75 \pm 8.95

Values shown are mean \pm SE. *, ** and *** mean $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$, compared to normal group, respectively. #, ## and ### mean $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$ from control group (Control), respectively.

고찰

Streptozotocin에 의한 당뇨병모델에서 본 한약추출액의 혈당 저하 및 간, 신장, 췌장에 미치는 효과를 검토하였다.

본 실험에서 streptozotocin 투여에 의한 당뇨병모델에서 혈당은 정상군에 비해 높았고, 한약추출액 3 ml/kg 투여군에서 단기간, 장기간 투여에 모두 효과적이었다. 삼백과는 당질화 (glycation)를 억제하며¹⁵⁾, α -glucosidase를 억제함으로써 혈당량을 낮추며¹⁶⁾, 조직에서 혈당흡수를 높여 혈중 혈당량을 낮추는 것으로 알려졌다¹⁷⁾. Liu 등은 천화분이 인슐린 비의존성 당뇨 환자에서 일반 보조요법보다 혈당을 낮추는 데 효과적이라 하였다¹⁸⁾. 상업은 streptozotocin 당뇨병모델 쥐에서 nitric oxide를 경유해 NADPH-diaphorase의 활동을 저하시켜 당뇨에서 발생하는 음식 욕구를 줄이는 것으로 나타났으며¹⁹⁾, 인슐린 비의존성 당뇨모델에서 투여 후 혈중 인슐린 농도나 혈당량을 변화시키지 않았으나 투여 2주 후부터 인슐린 감수성과 저항성을 향상시킴으로써 혈당량을 줄이는 것으로 보고되었다²⁰⁾. Propolis는 비의존성 당뇨환자에서 혈당을 강하하는 것으로 밝혀졌다²¹⁾. 마늘은 streptozotocin 당뇨병 모델에서 혈당에 의한 혈관내벽 손상을 보호하는 역할을 한다^{22,23)}. 인삼은 혈당저하 효과가 탁월한 것으로 알려져 있다²⁴⁾. 국화감자는 inulin을 다량 함유하는 것으로 알려져 있다^{25,26)}. Guseva 등의 보고에 의하면 streptozotocin에 의한 당뇨 쥐 모델에서 Inulin을 구강 투여했을 때, 짧은 기간(5~6일) 동안은 혈당이 정상화되었고, keton이 요에서 검출되지 않았으며, 12일 동안 투여했을 때는 오히려 혈당 농도가 다시 상승하였으며, 당뇨 및 keton이 요에서 다시 검출되었다고 하였다²⁷⁾. 본 실험에서는 투여 후 3시간동안 관찰하였을 때, 지속적으로 혈당이 저하되었다. 본 약제에 포함된 삼백과, 천화분, 상업, propolis, 마늘, 인삼, 국화감자 등이 본 streptozotocin에 의한 당뇨병 모델에서 혈당을 낮추는 데 효과적이었을 것으로 사료된다. 당뇨군에서 glibenclamide 1 mg/kg으로 구강 투여했을 때, 혈당저하에는 효과를 보이지 못했다. Zarzuelo 등의 대조군 실험에서 같은 용량을 처치했을 때, 효과를 보이지 않았다고 하였다²⁸⁾. Adolfo 등의 대조군 실험에서 3 mg/kg을 구강 투여하였을 때는 혈당에 유의미한 효과를 나타내었다고 하였다²⁹⁾. 당뇨성 고혈당증은 신장 손상 지표로 이용되는 BUN, creatinine의 농도를 높인다³⁰⁾. 본 실험에서 당뇨유발 쥐는 BUN, creatinine 모두 유의적으로 상승되었

다. creatinine 농도에서는 glibenclamide, 한약추출액 투여군 모두 효과적이었으며, BUN 농도는 한약추출액 3 ml/kg 투여군에서 유의미한 효과를 나타내었다. 마지막 투여일 후 신장무게를 측정하였을 때 한약추출액 3 ml/kg 투여군만이 유의미한 효과를 나타내었다. 따라서 한약 3 ml/kg 용량 투여는 당뇨병성 고혈압에 의한 신장손상을 방어하는 것으로 나타났다. 본 약제에 포함된 오가피는 당뇨병성 신장질환 환자에서 신장내피 합성을 억제함으로써 신장에 방어효과를 지니며³¹⁾, propolis에 포함된 caffeic acid phenethyl ester 성분은 cisplatin에 의한 신장 독성을 완화하는 것으로 밝혀졌다³²⁾. 인삼은 신장염 모델 쥐에서 혈소판 결집을 억제하고, 신장 혈류량을 증가시켜 신장염에 효과적인 것으로 보고되었다³³⁾. 본 실험에서 streptozotocin에 의한 신장손상에 대한 신당뇨방의 효과는 본 약제에 포함된 오가피, propolis, 인삼에 의할 것으로 사료된다.

Streptozotocin 당뇨 모델에서 ALT, ALP가 증가하는 데, 당뇨 모델 쥐에서는 간이 손상되어 간세포 조직액이 혈 중으로 유입되기 때문에 일어난다³⁴⁻³⁶⁾. 본 실험에서 한약추출액 3 ml/kg 투여군만 대조군에 비해 ALT, ALP 모두 억제되었고, 21일째에 정상수준으로 회복되었다. 오가피는 lipopolysaccharide, tert-butyl hydroperoxide 또는 사염화탄소 투여에 의한 간손상 모델에서 오가피 처치는 혈중 alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST), tumor necrosis factor-alpha (TNF-α)를 줄여 간손상에 대한 방어효과를 나타냄이 보고^{37,38)}되었다. propolis는 사염화탄소로 유도된 모델에서 항산화, free radical 제거하며³⁹⁾, phase 1 효소를 억제하고, phase 2 효소를 유도함으로써 간보호작용을 지닌 것으로 알려져 있다. 마늘은 streptozotocin에 의한 당뇨병 모델에서 간손상에 대해 혈중 ALT, ALP를 줄이며⁴⁰⁾, 간세포에서 산화억제제(antioxidant)의 역할을 한다⁴¹⁾. 인삼은 간손상에 대해 간세포 재생을 촉진시키며⁴²⁾ 활성산소를 억제함으로써 간을 보호하는 것으로 밝혀졌다. 당귀는 사염화탄소나 acetaminophen에 의해 유도된 간 손상에 대해 nitric oxide 합성을 증가시키고, cNOS, iNOS, Bax, Bcl-2의 유전자 발현을 조절하는 것으로 보고되었다⁴³⁾. 국화감자에 포함된 inulin같은 섬유질은 간 손상에 대해 방어효과가 있으며, 간에서 지방산 생산을 낮추는 효과가 있으며, 마우스 간 종양에 대해 억제효과를 나타낸다고 하였다⁴⁴⁻⁴⁶⁾.

본 실험에서도 한약추출물은 streptozotocin에 의한 간 손상에 대해 효과적이었다. Jouad, Duan 등의 보고에 의하면 streptozotocin 투여에 의한 당뇨 모델에서 amylase, lipase, cholesterol의 증가가 이뤄진다고^{47,48)} 하였다. 본 실험에서는 정상군에 비해 유의적인 차이가 인정되지 않았다.

결 론

본 연구에서는 streptozotocin에 의한 당뇨모델에서 한약추출액을 투여하였을 때, 혈당저하에 효과적이었으며, 추가적으로 streptozotocin에 의한 신장기능, 간 기능 손상을 효과적으로 억제하는 것으로 나타났다.

참고문헌

1. Molitch EM : Diabetes mellitus : control and complication. Postgraduate Medicine, 85, 182-94, 1989.
2. Reaven GM : Effect of age and diet on insulin secretion and insulin action in the rat. Am J Med, 74, 69, 1983.
3. Day C : Traditional plant treatment for diabetes mellitus: pharmaceutical foods. Br J Nutr, 80, 5-6, 1998.
4. Gray AM, Flatt PR : Actions of traditional antidiabetic plant, Agrimony eupatoria(agrimony): effect on hyperglycemia, cellular glucose metabolism and insulin secretion. Br J Nutr, 80, 109-114, 1998.
5. Lin CC : Crude drugs for the treatment of diabetes mellitus in Taiwan. Am J Chin Med. 20(3-4):269-279, 1992.
6. 김원희 : 소갈에 응용되는 백호탕이 Alloxan 당뇨에 미치는 영향, 동의생리병리학회지, 1(1):5-22, 1983.
7. 이경섭 : 축력탕, 가미축력탕이 고혈압 및 당뇨에 미치는 영향, 경희한의대 논문집, 3, 91-108, 1980.
8. 정대규 : 가미지황탕과 압적초 실험적 당뇨에 미치는 영향, 경희대대학원, 1988.
9. 허종희 : 가미육미지황탕이 streptozotocin 백서의 혈당량에 미치는 영향, 경희대학교 논문집, pp.149-150, 1984.
10. Ali L, Azad KAK, Hassan Z, Mosihuzzaman M, Nahar N, Nasreen T, Nurealam M : Characterization of the hypoglycemic effects of Trigonella foenum graecum seed. Planta Med, 61(4):358-360, 1995.
11. Eskander EF : Effect of Balanites aegyptiaca on serum glucose and insulin level in normal and alloxan-diabetic mice. Egypt J Appl Sci, 9(2):15-25, 1994.
12. Wassef GM, Abd Elwahab SM, Ammar NM, Afifi MS : Phytochemical examination and biological studies of Acacia nilotica L. wild and Acacia fanesiana L. wild growing in Egypt. EGYPT J Pharm Sci, 33, 327-340, 1992.
13. El-Fiky FK, Adou-Karam MA, Afify EA : Effect of Luffa aegyptiaca (seeds) and Carissa edulis (leaves) extracts on blood glucose level of normal and streptozotocin diabetic rats. J Ethnopharmacol, 50, 43-47, 1996.
14. Nagwa MA, Sahar YA, Ibrahim HB : The hyperglycemic effect of different extracts of Ambrosia maritima, L, Compositae, Egypt J Pharm Sci, 36, 107-115, 1995.
15. Kim HY, Kim K : Protein glycation inhibitory and antioxidative activities of some plant extracts in vitro. J Agric Food Chem, 51(6):1586-91, 2003.
16. Choi HJ, Kim NJ, Kim DH : Inhibitory effects of crude drugs on alpha-glucosidase. Arch Pharm Res, 23(3):261-6, 2000.
17. Chen F, Nakashima N, Kimura I, Kimura M. Hypoglycemic activity and mechanisms of extracts from mulberry leaves (folium mori) and cortex mori radices in streptozotocin-

- induced diabetic mice. *Yakigaku Zasshi*, 115(6):476-82, 1995(in abstracts).
18. Liu J, Zhang M, Wang W, Grimsgaard S. Chinese herbal medicines for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev*, 3, CD003642, 2004.
 19. Jang MH, KIM H, Shin MC, Lim BV, Lee TH, Jung SB, Kim CJ, Kim EH : Administration of Folium mori extract decreases nitric oxide synthase expression in the hypothalamus of streptozotocin-induced diabetic rats. *Jpn J Pharmacol*, 90(2):189-92, 2002.
 20. Iizuka Y, Sakurai E, Tanaka Y. Antidiabetic effect of folium mori in GK rats. *Yakugaku Zasshi*. 121(5):365-9, 2001.
 21. Murata K, Yatsunami K, Fukuda E, Onodera S, Mizukami O, Hoshino G, Kamei T. Antihyperglycemic effects of propolis mixed with mulberry leaf extract on patients with type 2 diabetes. 10(3):78-9, 2004.
 22. Baluchnejadmojarad T, Roghani M : Garlic extract attenuates time-dependent changes in the reactivity of isolated aorta in streptozotocin-diabetic rats. *Life Sci*, 73(18):2281-9, 2003.
 23. Baluchnejamoharad T, Roghani M, Homayounfar H, Hosseini M : Beneficial effect of aqueous garlic extract on the vascular reactivity of streptozotocin-diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 85(1):139-44, 2003.
 24. Dey L, Xie JT, Wang A, Wu J, Maleckar SA, Yuan CS : Anti-hyperglycemic effects of ginseng : comparison between root and berry. *Phytomedicine*, 10(6-7):600-5, 2003.
 25. Vergauwen R, Van LA, Van EW : Properties of fructan:fructan-fructosyltransferases from chicory and globe thistle, two Asteracean plants storing greatly different types of inulin. *Plant Physiol*. 133(1):391-401, 2003.
 26. Bach Knudsen KE, Hessov I : Recovery of inulin from *Helianthus tuberosus* in the small intestine of man. *Br J Nutr*, 74(1):101-13, 1995.
 27. Guseva DA, Gordetskii VK, Kraevoi SA, Markova MS, Tsyganova TB : Effect of oral inulin administration on the fructose 2, 6-biphosphate level in the liver tissue of rats with streptozotocin diabetes. *Vopr Med Khim*, 43(4):247-55, 1997(in abstract).
 28. Zarzuelo A, Jimenez I, Gamez MJ, Utrilla P, Fernandez I, Torres MI, Osuna I : Effects of luteolin 5-O- β -rutinoside in streptozotocin-induced diabetic rats, 58, 2311-2316, 1996.
 29. Adolfo AC, Helmut W : Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats, *J Ethnopharmacol*, 78, 145-149, 2001.
 30. Almdal TP, Vilstrup H : Strict insulin treatment normalizes the organic nitrogen contents and the capacity of urea-N synthesis in experimental diabetes in rats, *Diabetologica*, 31, 114-118, 1988.
 31. Ni HX, Luo SS, Shao GM : Effect of *Acanthopanax senticosus* injection on plasma and urinary endothelium in early stage of diabetic nephropathy. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 21(2):105-7, 2001.
 32. Ozen S, Akyol O, Iraz M, Sogut S, Ozugurlu F, Ozyurt H, Odaci E, Yildirim Z : Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Appl Toxicol*. 24(1):27-35, 2004.
 33. Hattori T, Ito M, Suzuki Y : Studies on antinephritic effects of plant components in rats : Effects of ginsenosides on original type anti-GBM nephritis in rats and its mechanism. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 97(2):127-34, 1991.
 34. Imaeda A, Kaneko T, Aoki T, Kondo Y, Nakamura N, Nagase H, Yoshikawa T : Antioxidative effects of fluvastatin and its metabolites against DNA damage in streptozotocin-treated mice, *Food Chem Toxicol*, 40(10):1415-22, 2002.
 35. Mori DM, Baviera AM, Vendramini RC, Brunetti IL, Pepato MT : Temporal response pattern of biochemical analytes in experimental diabetes, 38, 183-91, 2003.
 36. Navarro CM, Montilla PM, Martin A, Jimenez J, Utrilla PM : Free radicals scavenger and antihepatotoxic activity of *Rosmarinus*, *Plant Med*, 59, 312-314, 1993.
 37. Nan JX, Park EJ, Nam JB, Zhao YZ, Cai XF, Kim YH, Sohn DH, Lee JJ : Effect of *Acanthopanax koreanum* Nakai(Araliaceae) on D-galactosamine and lipopolysaccharide-induced fulminant hepatitis. *J Ethnopharmacol*, 92(1):71-7, 2004.
 38. Park EJ, Zhao YZ, Kim YH, Lee JJ, Sohn DH : Acanthoic acid from *Acanthopanax koreanum* protects against liver injury induced by tert-butyl hydroperoxide or carbon tetrachloride in vitro and in vivo. *Planta Med*, 70(4):321-7, 2004.
 39. Mahran LG, el-Khatib AS, Agha AM, Khayyal MT : The protective effect of aqueous propolis extract on isolated rat hepatocytes against carbon tetrachloride toxicity. *Drugs Exp Clin Res*, 22(6):309-16, 1996.
 40. Ohaeri OC : Effect of garlic oil on the levels of various enzymes in the serum and tissue of streptozotocin diabetic rats. *Biosci Rep*, 21(1):19-24, 2001.
 41. Anwar MM, Meki AR : Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats : effects of garlic cell and melatonin. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 135(4): 539-47, 2003.
 42. Kwon YS, Jang KH : The effect of Korean red ginseng on liver regeneration after 70% hepatectomy in rats. *J Vet Med Sci*, 66(2):193-5, 2004.
 43. Ye YN, Liu ES, Li Y, So HL, Cho CC, Sheng HP, Lee SS, Cho CH : Protective effect of polysaccharides-enriched fraction from *Angelica sinensis* on hepatic injury. *Life Sci*, 69(6):637-46, 2001.

44. Taper HS, Roberfroid MB : Non-toxic potentiation of cancer radiotherapy by dietary oligofructose or inulin, *Anticancer Res*, 22, 3319-23, 2002.
45. Kaur N, Gupta AK : Application of inulin and oligofructose in health and nutrition, *J Biosci*, 27(7):703-14, 2002.
46. Sugiyama K, He P, Wada S, Saeki S : Teas and other beverages suppress D-galactosamine-induced liver injury in rats, *129(7):1361-7*, 1999.
47. Jouad H, Lemhadri A, Maghrani M, Zeggwagh NA, Eddouks M : Cholesterol-lowering activity of the aqueous extract of *Spergularia purpurea* in normal and recent-onset diabetic rats, *J Ethnopharmacol*, 87(1):43-9, 2003.
48. Duan RD, Cheng Y, Erlanson-Albertsson C : Effect of emeriamine on exocrine and endocrine pancreatic function in normal and diabetic rats, *Scand J Clin Lab Invest*, 52(7): 579-84, 1992.