

Effect of *Hovenia dulcis* THUNBER var. *koreana* Nakai Fruits Extracts on Glucose, Lipid Metabolism and Antioxidant Activities in Streptozotocin Induced Diabetic Rat

Yoon-Ah Lee, Hee-Jun Chae and Hae-Yeon Moon[†]

Department of Biotechnology, Daegu University, Kyungpook 712-714, Korea

This investigation was performed to study the antioxidant activities of *Hovenia dulcis* THUNBER var. *koreana* Nakai fruits extracts and the effect of *Hovenia dulcis* fruits extracts on glucose, lipid metabolism in diabetic rats. DPPH free radical scavenging activity and superoxide anion radical Scavenging of *Hovenia dulcis* fruits 80% methanol extracts were 0.06 ± 0.002 mg polyphenol/ml and 0.12 ± 0.001 mg polyphenol/ml, respectively. *Hovenia dulcis* fruits 80% methanol extracts were partitioned into hexan, dichloro methane, ethyl acetate and butanol, successively. Ethyl acetate fraction were good antioxidant activity. Streptozotocin (45 mg/kg body weight, i.p.) induced diabetic rats showed a significant increases of plasma glucose, triglyceride and total cholesterol. Concomitantly significant decrease of plasma high density lipoprotein. Glutathione level were decrease in cytosol of liver. Lipid peroxide were increase in microsome of liver. Group 1 and 2 were treated with *Hovenia dulcis* fruits ethyl acetate extracts 50 mg/kg body weight and 20 mg/kg body weight for 24 days, individually. Group 1 and 2 rats showed decreased plasma glucose, triglyceride, total cholesterol and lipide peroxide in microsome of liver tissue of rats, and increased plasma high density lipoprotein and glutathione in cytosol of liver tissue rats. The result suggest that *Hovenia dulcis* THUNBER var. *koreana* Nakai fruits extracts may effectively normalize the impaired antioxidants status in streptozotocin induced diabetic rats. *Hovenia dulcis* fruits ethyl acetate extracts were used to improve the imbalance between free radicals and antioxidant system due to the diabetes.

Key Words: *Hovenia dulcis*, Antioxidant, Diabetic, Lipid metabolism

서 론

과거 우리나라의 당뇨병 환자는 약 1% 미만이었으나 현재 국민의 식생활이 서구화되어 가면서 당뇨병의 발생이 급격히 증가하고 있으며 당뇨병이 증가함에 따라 그에 따른 합병증인 고혈압과 심장병에 의한 사망도 증가하여 그 심각성이 더 해지고 있다 (Pushparaj et al., 2000; Archana Sachdewa, 2003). 당뇨병 환자의 약 90% 이상 차지하는 인슐린 비의존형 당뇨병 환자에서 가장 많이 나타나는 지질대사의 이상은 중성지방의 증가 및 HDL-콜레스테롤의 감소이며 이와 같은 증상은 주요 합병증인 관상동맥질환의 위험을 높이는 요인으로 알려져 있다 (Coulston and Hollenbeck, 1988; Reaven,

1987). 인슐린이나 경구용 혈당강하제의 투여는 독성문제의 환자의 내성문제로 인하여 최근 환자의 식습관 개선에 의한 당뇨치료법이 대두되고 있고 현재 상당수의 당뇨병 환자들이 결명자, 우엉, 식이 섬유 등 천연물질을 이용한 치료가 시도되고 있다 (Bailey and Day, 1989).

성인병과 노화의 주된 원인으로 부각되는 활성 산소 종은 체내 지질을 산화하여 동맥에서의 지방 축적을 증가시켜 동맥경화를 유발시키는데 항산화 활성물질은 지질 산화를 억제시켜 당뇨병으로 인한 합병증인 관상동맥경화증을 억제한다고 알려져 있고 당뇨병에서는 free radical 증가와 함께 superoxide radical을 불활성화시키는 superoxide dismutase와 항산화성 비타민 E, α -lipoic acid가 감소되어 당뇨병성 만성합병증의 병리 기전에 주된 역할을 한다고 보고되었다 (Sa and Lee, 2004). 최근 이와 같은 이유로 당뇨병과 관련하여 free radical 생성이나 지질과산화물을 방어하는 항산화기구를 강화시킬 수 있는 항산화물질을 대상으로 다양한 연구가 이루어지고 있고 특히 당뇨병과 관련된 연구가 많이 이루어지고 있다 (Kim, 2001; Kim, 1997; Shin, 2000).

*논문 접수: 2005년 11월 1일

수정 접수: 2005년 12월 7일

[†]교신저자: 문혜연, (우) 712-714 경상북도 경산시 진량읍,

대구대학교 공과대학 식품·생명·화학 공학부

Tel: 053-850-6552, Fax: 053-850-6559

e-mail: moonhy@daegu.ac.kr

그러므로 본 연구는 간 기능 개선과 항산화 활성 효과가 크다고 알려진 헛개나무 열매 (*Hovenia dulcis* THUNBER var. *koreana* Nakai) 추출물로 superoxide anion radical 소거 활성 검증과 함께 당뇨 유발 쥐를 이용하여 혈당강하 효과와 지질 대사 개선의 가능성을 알아보고자 한다.

재료 및 방법

1. 시료의 준비

본 실험에 사용된 헛개나무 열매는 분쇄하여 80% methanol, 80% ethanol과 Water로 24시간 동안 상온에서 2회 반복 추출하였고 6시간 100°C water로 추출하였다. Methanol 추출물은 감압농축하여 Hexan, Dichloroform, Ethly acetate, H₂O 순서로 분획하여 그 분획물로 항산화 실험을 한 결과 항산화 효과가 뛰어난 Ethly acetate 분획물과 분획하지 않은 80% Methanol 추출물을 이용하여 본 실험에 이용하였다.

2. 총 Polyphenol 함량 분석

헛개나무 열매 추출물 1 ml을 ddH₂O 9 ml로 희석하여 Folin & Ciocalteu's phenol 시약을 가한 후 잘 흔들어 5분간 방치 후 7% Na₂CO₃ 10 ml과 총 반응물이 25 ml이 되도록 ddH₂O를 가하였다. 90분 후 750 nm에서 흡수치를 측정하였고 Gallic Acid를 농도를 달리하여 표준곡선을 작성하였다 (Kim and Jeong, 2003).

3. 총 flavonoid 함량 분석

헛개나무 열매 추출물을 ddH₂O로 희석시킨 후 5% NaNO₂를 가해 5분 동안 반응시키고 10% AlCl₃를 첨가하여 6분 뒤 1 M NaOH를 가한다. 총 반응물이 10 ml되도록 ddH₂O를 첨가한 후 510 nm에서 흡수치를 측정하였다. Catechin으로 표준곡선을 작성하였다 (Kim and Jeong, 2003).

4. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) assay using ABTS radical

AAPH와 ABTS를 70°C에 30분간 녹여 hot radical solution을 제조한 후 열매 추출물 20 µl에 radical solution을 980 µl을 가한 후 10분 동안 38°C에서 반응시키고 734 nm에서 측정하였고 Ascorbic Acid를 농도별로 반응시켜 표준곡선을 작성하였다 (Kim, 2003).

5. DPPH free radical 소거 활성

추출물 100 µl에 0.1 mM DPPH solution 290 µl 가하여 23°C에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡수치를 측정하였으며 비교군으로 Gallic acid, Catechin, Ascorbic Acid, α-tocopherol과 BHT를 이용하였다 (Hiroshi and Tsugawa, 1999).

6. Superoxide anion radical 소거 활성

NBT (Nitro Blue tetrazolium)와 xanthine, xanthine oxidase를 각 추출물 100 µl과 37°C에서 20분 동안 반응시키고 2N HCl로 반응을 종결시킨 뒤 560 nm에서 Superoxide anion radical scavenging 활성을 측정하였으며 비교군으로 Gallic acid, Catechin, Ascorbic Acid, α-tocopherol과 BHT를 이용하였다 (Jia, 1999).

7. 실험동물사육 및 당뇨 유발

당뇨 유발은 16시간 절식시킨 후 streptozotocin (45 mg/kg)을 대퇴부 근육에 1회 주사함으로 당뇨병을 유발하였다. Streptozotocin은 0.1 M citric acid buffer (pH 4.5) 용액에 용해시켜 사용하였고 정상군은 동량의 citric acid buffer를 주사하였다. 48시간 후 공복상태에서 300 mg/dl 이상인 것을 당뇨가 유발된 것으로 간주하여 실험에 임하였다 (Kim, 1997).

8. 실험동물의 식이

실험동물은 체중 130~150 g 내외의 4주령 Sprague-Dawley 계 웅성 흰쥐를 일정한 조건에서 일주간 예비 사육시킨 후 정상군 (Normal)과 당뇨 유발이군 (STZ-Control)으로 나누고 당뇨 유발군은 다시 열매 80% Methanol 추출물 10 mg/kg, 50 mg/kg 식이군 (FM10, FM50), Ethly acetate 분획물 10 mg/kg, 50 mg/kg (FE10, FE50)으로 각 6마리씩 나누어 실험에 임했다. 각 추출물의 식이는 매일 일정한 시각에 1일 1회씩 3주 동안 zonde를 이용하여 경구 투여하였고 전 기간 동안 교형사료와 물은 충분히 공급하였다.

9. 혈장의 혈당 및 지질 분석

실험기간 중 3일 간격으로 체혈하였으며 체혈 전 4시간 동안 절식 후 꼬리정맥에서 체혈하여 혈청을 분리한 뒤 glucose 농도와 total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol 양은 효소법에 의한 Kit (아산제약)로 측정하여 혈당량과 지질을 분석하였고 LDL-cholesterol (Low density lipoprotein) 양은 아래와 같은 공식으로 구하였다 (Lee, 2003). 콜레스테롤 농도로부터 결정 되어지는 동맥경화지수 (atherogenic index, AI)와 심혈관위험지수 (cardiac risk factor, CRF)는 다음과 같은 공식을 이용하여 구하였다 (Kang, 2003).

$$\text{LDL-cholesterol} = \text{Total cholesterol} - \text{HDL cholesterol} - (\text{triglyceride} / 5)$$

$$\text{Atherogenic index (AI)} = (\text{Total cholesterol} - \text{HDL cholesterol}) / \text{HDL cholesterol}$$

$$\text{Cardiac risk factor (CRF)} = \text{Total cholesterol} / \text{HDL cholesterol}$$

10. 지질과산화 함량 측정

12시간 절식 후 실험동물의 간을 관류법으로 혈액을 제거하여 분리한 후 원심분리법으로 *microsome*과 *cytosol*을 분리하였고 (Guido and Haenen, 1983) *microsome*을 이용하여 Buege (1978)의 방법으로 지질과산화물인 MDA (Malondialdehyde)량을 측정하였다. 0.375% (w/v) TBA (2-thiobarbituric acid), 15% (w/v) TCA (trichloroacetic acid), 0.25 N HCl 혼합하여 녹인 후 적정 농도로 희석된 *microsome*과 15분 간 끓는 물에서 반응 시킨 후 1000 ×g로 10분간 원심분리하여 그 상층액을 535 nm에서 측정하였고 표준물질은 1,1,3,3-tetraethoxypropane을 사용하다 (Buege and Aust, 1978). 단백질은 Lowry 법에 의하여 분석했다 (Lowry and Rosebrough, 1951).

11. 총 Glutathione 함량 측정

GSH 함량 측정은 GSH 내 sulfhydryl compound가 DTNB

Table 1. Contents of total phenolics, flavonoids and vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) in extract of *Hovenia dulcis* fruits

Extracts of <i>Hovenia</i> fruits	mg/10 g dry weight		
	Total polyphenol	Flavonoid	VCEAC
80% Methanol	237.7±36.9	47.6±1.0	273.3±18.4
80% Ethanol	230.3±21.8	41.1±2.1	264.1±11.7
Water	20.3±0.6	9.0±0.2	57.0±0.3
100°C water	72.0±4.0	21.4±0.5	195.1±0.0

[5,5'-Dithiobis(2-nitro-benzoic acid)]와 반응하여 발색하는 원리를 이용하여 간에서 분리된 *cytosol* 내 GSH 함량을 측정하였다. 적정 농도로 희석한 *cytosol*에 6 mM NADPH와 3 unit glutathione reductase를 첨가하여 GSSG를 GSH로 환원시킨 후 DTNB와 반응하여 412 nm에서 흡수치를 측정하였다 (George and Ellman, 1959). GSH를 농도별로 조제하여 표준곡선을 구하여 GSH 함량을 구한 뒤 단백질 함량 당 GSH 함량을 산출하였다. 단백질 함량은 Lowry법을 이용하였다 (Lowry and Rosebrough, 1951).

결과 및 고찰

헛개나무 열매를 각 다른 용매를 이용하여 추출하여 total

Table 2. Antioxidative activities of *Hovenia dulcis* fruits extracts by DPPH free radical scavenging activity and superoxide anion radical scavenging activity

Sample	IC ₅₀ (mg/ml)	
	DPPH	SOD
Total polyphenol of <i>Hovenia</i> fruits	0.060±0.002	0.185±0.001
Flavonoid of <i>Hovenia</i> fruits	0.013±0.001	0.024±0.002
Gallic acid	0.040±0.001	0.019±0.0002
Catechin	0.052±0.002	0.032±0.0014
Ascorbic Acid	0.068±0.002	0.043±0.0005
α-tocopherol	0.073±0.001	0.078±0.0014
BHT	1.038±0.001	0.164±0.0017

Table 3. DPPH free radical scavenging activity of solvent fractions and *Hovenia dulcis* fruits crude extracts by 80% methanol

Crude extracts by 80% Methanol	Solvent fractions					
	Hexane	Dichloro methane	Ethyl acetate	Butanol	Water	
IC ₅₀ (µg/ml)	98	ND*	ND	70	ND	251

*ND: 1000<

Table 4. Effect of the *Hovenia dulcis* Fruit extracts on the plasma HDL and LDL cholesterol (mg/dl) in streptozotocin-induced diabetic rats for 21 day

Group*	HDL cholesterol	LDL cholesterol	Totalcholesterol	Triglyceride
Normal	22.50±3.2	72.01±0.5	99.81±0.3	25.66±3.8
Control	12.20±2.6	97.40±2.3	122.64±1.5	52.04±1.9
FM 20	19.10±1.8	85.20±1.6	108.63±2.4	23.63±3.1
FM 50	28.90±2.7	67.66±1.8	99.27±7.0	22.53±0.8
FE 20	27.30±0.4	67.47±2.1	102.72±4.3	28.62±2.6
FE 50	35.60±2.5	65.96±1.3	102.72±3.1	25.66±2.2

*Normal: 0.9% NaCl oral administration, Control: diabetic rats induced by streptozotocin 0.9% NaCl oral administration, FM20 and 50: diabetic rats induced by streptozotocin *Hovenia* Fruits 80% Methanol extracts 20 mg/kg Body weight and 50 mg/kg Body weight oral administration, FE20 and 50: in streptozotocin-induced diabetic rats *Hovenia* Fruits Ethyl acetate extracts 20 mg/kg Body weight and 50 mg/kg Body weight oral administration

polyphenol, flavonoid와 vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC)를 측정된 결과 물 추출에 비해 유기용매 추출에서 total polyphenol, flavonoid와 vitamin C equivalent antioxidant capacity이 많은 함량을 나타냈고 특히 80% methanol 추출이 80% ethanol 추출보다 total polyphenol 237.7±36.9 mg/10 g dry weight, flavonoid 47.6±1.0 mg/10 g dry weight와 VCEAC 273.3±18.4 mg/10 g dry weight로 추출 효과가 더 있었다 (Table 1).

80% Methanol 추출물을 항산화물질로 알려진 gallic acid, catechin, ascorbic acid, α-tocopherol과 BHT를 비교하여 DPPH free radical scavenging activity IC₅₀과 superoxide anion radical scavenging activity IC₅₀를 조사한 결과 DPPH free radical scavenging activity IC₅₀이 헛개나무 열매 추출물 내 flavonoid 0.013±0.001 mg/ml로 높은 활성을 띄었고 superoxide anion radical 소거 활성 IC₅₀는 gallic acid가 높은 활성을 띄었고 다음으로 헛개나무 열매 추출물 내 flavonoid 0.024±0.002 mg/ml로 높은 활성을 나타냈다 (Table 2). 이와 같은 결과로 미루어 헛개나무의 flavonoid 계열의 물질이 높은 항산화 활성을 가질 것으로 사료된다.

헛개나무 열매 300 g을 80% methanol 추출한 후 극성 층분리한 결과 hexane 층 1.8829 g, dichloro methane 층 0.014 g, ethyl acetate 0.2065 g, butanol 층 0.3656 g, 물 층은 17.2121 g으로 얻어졌다. 각 층을 DPPH free radical 소거 활성 IC₅₀을 측정된 결과 ethyl acetate 추출물이 59 µg/ml로 높은 활성을 나타냈고 hexane이나 dichloro methane, butanol 추출물에서

는 1 mg/ml 이상의 값이 나왔고 물 추출물은 250 µg/ml로 나왔다. Ethyl acetate 추출물이 항산화 효과가 높은 결과는 이(2004)의 결과와 유사하였다 (Table 3).

항산화 활성이 높은 물질이 당뇨병에 미치는 영향을 알아보기 위하여 헛개나무 열매 80% methanol 추출물질과 층 분리된 ethyl acetate 추출물을 당뇨 유발 쥐에 경구 투여하여 그 효과를 알아보았다. 혈액 내 총 cholesterol 수준은 당뇨군이 정상군에 비해 높았으며 헛개나무 열매 추출물을 경구 투여한 모든 군에서 당뇨군에 비해 낮은 수준을 보였으며 특히 80% methanol 추출물을 50 mg/kg body weight씩 식이 한 군에서 낮은 수준을 보였고 triglyceride의 경우도 유사한

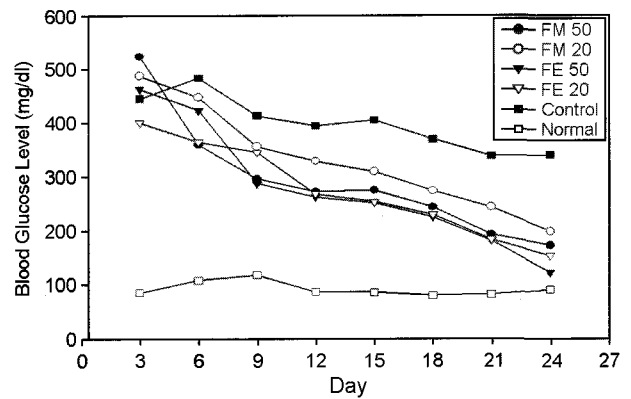


Fig. 1. Changes in blood glucose level by the oral administration of *Hovenia dulcisi* fruits extracts in streptozotocin-induced diabetic rats.

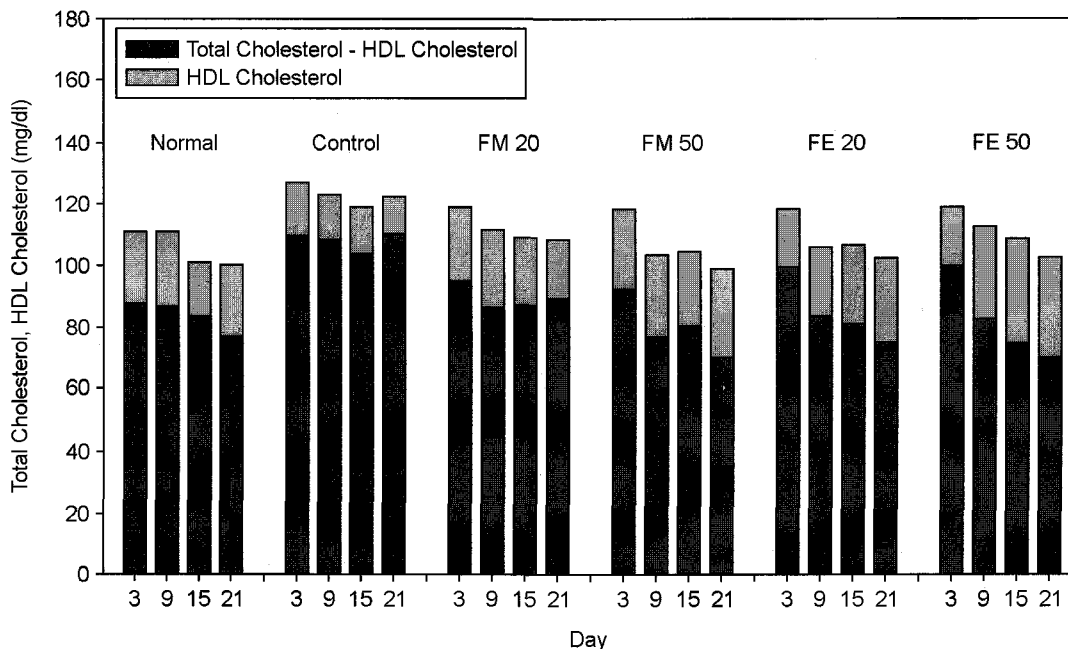


Fig. 2. Changes in cholesterol and HDL by the oral administration of extracts from *Hovenia dulcisi* fruits in streptozotocin-induced diabetic rats.

결과를 나타냈다. HDL cholesterol 수준은 당뇨군이 정상군에 비하여 낮았으며 ethyl acetate 추출물을 50 mg/kg body weight 씩 식이한 군에서 HDL cholesterol 수준이 현저하게 높았으며 정상군보다도 높은 수준을 나타냈다. LDL 콜레스테롤 수준은 HDL 콜레스테롤 수준과 반대로 나타났다. 항산화 활성이 높은 ethyl acetate 추출물은 HDL 콜레스테롤 수준을 증가시키는 효과가 있다고 사료된다 (Table 4).

혈중 포도당 수준은 당뇨군이 실험 전 기간 동안 정상군에 비해 높은 수준을 보였고 80% methanol 추출물 보다 ethyl acetate 추출물이 혈당저하 효과가 더 좋았고 특히 ethyl acetate 추출물을 50 mg/kg body weight 씩 식이한 군은 실험 24 일에 거의 정상군과 유사한 혈당 수준을 보였다 (Fig. 1). 혈중 HDL 콜레스테롤과 총 콜레스테롤 비율을 검토해 본 결과 당뇨군은 HDL 콜레스테롤이 감소하였고 정상군은 변화가 없었다. 그러나 80% methanol 추출물을 20 mg/kg body weight 씩 식이한 군을 제외한 헛개나무 열매 추출물을 경구 투여한 모든 군에서 총 콜레스테롤 수준은 감소하였고 HDL cholesterol 수준은 증가하였다. 특히 ethyl acetate 추출물을 50 mg/kg body weight 씩 식이한 군에서 가장 HDL 콜레스테롤 비율이 높았다 (Fig. 2). 이는 헛개나무의 항산화성 물질이 HDL 비율을 높이는 데 효과가 있다고 사료된다. 동맥경화지수 (AI)와 심혈관위험지수 (CRF)는 일반적으로 동맥경화 및 순환기계 질병의 위험도를 알리는 위험지수로 이용되어 오고 있다. 임상에서는 AI 값이 3.0 이상을 위험지수로 판단하고 있는데 (Kang, 2003) 결과에서는 당뇨군의 AI 값이 9.0 이상으로 나타나 매우 위험한 상태로 나타났고 정상군의 AI 값은 3.436 ± 0.31 로 나타나 비교적 안정한 상태로 나타났다. Ethyl acetate 추출물 50 mg/kg body weight 식이군에서 1.8854 ± 0.15 로 정상군보다 더 안정한 지수 나타났다. 또 다른 동맥경화 및 순환기계 질병의 위험도를 알리는 위험지수인 심

혈관위험지수 (CRF)는 임상에서 7.0 이상을 위험지수로 간주하는데 (Kang, 2003) 결과에서 당뇨군이 10.0 ± 0.8 로 위험지수였고 정상군은 4.4 ± 0.1 로 안정한 지수였다. 헛개나무 열매 추출물을 식이한 모든 군이 7.0 이하로 안전하였고 특히 ethyl acetate 추출물 50 mg/kg body weight 식이군이 2.9 ± 0.1 로 정상군보다 안정한 지수를 나타내었다. 헛개나무 추출물이 당뇨병으로 인한 순환기계 질병을 감소시킬 것으로 사료된다 (Fig. 3). Free radical에 의한 세포막 및 생체조직의 과산화적 손상의 지표로 알려진 지질과산화물을 간의 microsome에서 측정된 결과 당뇨군이 정상군에 비해 5.1 ± 0.3 nm/mg protein로 약 4배에 가까운 지질과산화물이 측정되었다. Ethyl acetate 추출물 50 mg/kg body weight 식이군은 2.2 ± 1.3 nm/mg protein으로 당뇨군보다 약 50% 감소되었고 가장 낮은 지질과산화물을 보였다. 이는 당뇨병에 의한 free radical의 증가를 억제하여 과산화물 생성을 감소시킴과 동시에 합병

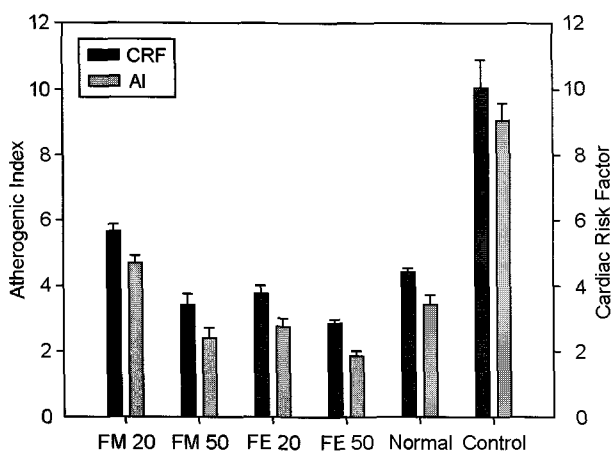


Fig. 3. Effect of *Hovenia dulcis* fruits extracts on atherogenic index and cardiac risk factor in hyperlipidemic rats.

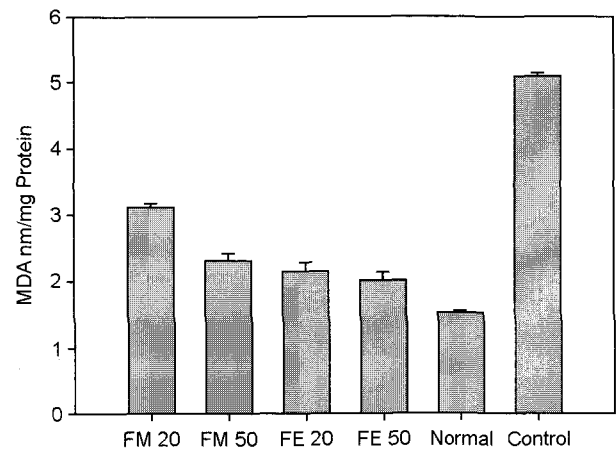


Fig. 4. Malondialdehyde concentration in microsome homogenates of 6 groups.

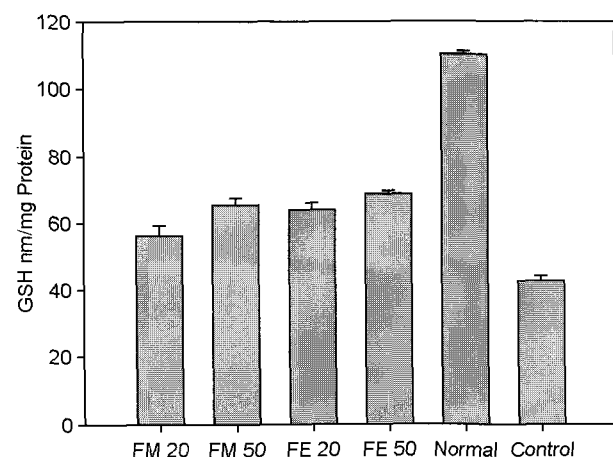


Fig. 5. GSH concentration in liver cytosol of 6 groups.

증발병을 감소할 수 있음을 알 수 있다 (Lim and Jeong, 2003) (Fig. 4).

간의 cytosol에서 체내 비효소적 항산화물로 알려진 GSH를 측정된 결과 정상군이 110.4 ± 0.8 nm/mg protein이었고 당뇨군은 그에 비해 절반보다 더 낮은 42.8 ± 1.4 nm/mg protein로 나타났다. 80% methanol 추출물 20 mg/kg body weight 식이군은 56.3 ± 3.0 nm/mg protein, 80% methanol 추출물을 50 mg/kg body weight씩 식이한 군은 65.5 ± 2.2 nm/mg protein이었고 ethyl acetate 추출물을 20 mg/kg body weight씩 식이한 군은 64.0 ± 1.9 nm/mg protein이었고 ethyl acetate 추출물을 20 mg/kg body weight씩 식이한 군이 68.8 ± 0.9 nm/mg protein으로 가장 높은 함량을 나타내었다 (Fig. 5). Dincer (2002)의 연구 결과와 같이 당뇨병으로 인해 체내 glutathione량이 정상군에 비하여 급격히 줄었으며 glutathione peroxidase 및 glutathione reductase의 활성도 감소했으리라 사료되며 헛개나무 추출물 식이로 glutathione 함량이 증가하였는데 이는 헛개나무 추출물이 glutathione 증가에 효과가 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2004 학년도 대구대학교 학술연구비 지원에 의해 수행된 논문으로, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Archana Sachdewa, Khemani LD. Effect of *Hibiscus rosa sinensis* Linn. Ethanol flower extract on blood glucose and lipid profile in streptozotocin induced diabetes in rats. *J Ethnopharmacol.* 2003. 89: 61-66.
- Bailey CJ, Day C. Traditional plant medicines as treatment for diabetic. *Diabetes Care* 1989. 12: 553-557.
- Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Meth Enzymol.* 1978. 52: 302-310.
- Coulston AM, Hollenbeck CB. Souce and amount of dietary carbohydrate in patients with noninsulin dependent diabetes mellitus. *Top Clin Nutr.* 1998. 3: 17-24.
- Dincer Y, Akcay T. Effect of oxidative stress on glutathione pathway in rat blood cells from patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 2002. 51: 1360-1362.
- George IE. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys.* 1959. 32: 72-77.
- Guido R, Haenen M. Protection against lipid peroxidation by a microsomal glutathione-dependent labile factor. *FEBS Lett.* 1993. 159: 24-28.
- Hiroshi K, Mitsuaki T. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical (DPPH) Scavenging Ability of Sake during storage. *J Biosci Bioeng.* 1999. 87: 328-332.
- Jia Z. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radical. *Food Chem.* 1999. 64: 555-559.
- Kang SM. Effects of *saengshik* supplementation on health improvement in diet-induced hypercholesterolemic rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr.* 2003. 32: 906-912.
- Kim DO, Jeong SW. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivar of plums. *Food Chem.* 2003. 81: 321-326.
- Kim DO. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J Agric Food Chem.* 2003. 51: 6509-6515.
- Kim JY. Effects of the antioxidants on the diabetic complications. *J Vet Clin.* 2001. 18: 374-379.
- Kim MW. Effects of H₂O fraction of *dioscorea japonica* Thunb with vitamin E on glucose and lipid metabolism in streptozotocin induced diabetic rats. *Kor J Soc Food Sci.* 1997. 13: 500-506.
- Lee HJ. Hypoglycemic effect of the mycelia and exobiopolymer produced from submerged mycelial culture of *collybia confluens* in streptozotocin induced diabetic rats, M. S. Thesis. Dept of biotechnology, Deagu University, Deagu. 2003.
- Lee SE. Inhibitory activity on angiotensin converting enzyme and antioxidant activity of *Hovenia dulcis* Thunb. cortex extract. *Kor J med Crop Sci.* 2004. 12: 79-84.
- Lim BJ, Jeong JG. Effects of *Benincasa hispida* intake on blood glucose and lipid level in streptozotocin induced diabetic rats. *Kor Nutr Soc.* 2003. 36: 335-343.
- Lowry OH, Rosebrough NJ. Protein measurement with the foline phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951. 193: 265-273.
- Pushparaj P, Tan CH, Tan BKH. Effects of *Averrhoa bilimbi* leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2000. 72: 69-76.
- Reaven GM. Abnormal lipoprotein metabolism in noninsulin dependent diabetes mellitus. *Am J Med.* 1987. 83: 31-40.
- Sa JH, Lee W. Antioxidant effect of *Rosa davuricapall* extract on oxidation of human low density lipoprotein (LDL). *Kor J Food Sci Tech.* 2004. 36: 311-316.
- Shin JY. Effects of Vitamin E on the microsomal mixed function oxidase system of kidney in streptozotocin-induced diabetics rats. *Kor Nutr Soc.* 2000. 33: 619-624.