

천연추출물이 첨가된 식빵을 섭취한 흰쥐의 혈당 및 지질수준에 미치는 영향

김세욱¹ · 한아람¹ · 전수현¹ · 남미현¹ · 홍충의¹ · 김복희² · 김태철² · 이광원^{1,*}

¹고려대학교 생명공학과, ²CJ 푸드빌 베이커리 R&D

Levels of Plasma Glucose and Lipid in Rats Fed Bread Supplemented with Natural Extracts

Se-Wook Kim¹, Ah-Ram Han¹, Su-Hyun Chun¹, Mi-Hyun Nam¹, Chung-Oui Hong¹,
Bok Hee Kim², Tae Cheol Kim², and Kwang-Won Lee^{1,*}

¹Department of Biotechnology, College of Life Science & Biotechnology, Korea University

²CJ Food ville Bakery R&D

Abstract In this study, 4-week-old rats were fed bread supplemented with *Terminalia chebula* (TC), *Plantago asiatica* (PA), *Linder obtusiloba* (LO), and *Capsosiphon fulvescens* (CF) ethanol extracts, to determine the decrease in blood glucose levels, as well as the anti-inflammatory and lipid-enhancing effects. Previous studies have demonstrated the antioxidative effects of these ethanol extracts. After sacrifice, the liver tissue, whole blood, and serum samples were collected for biochemical analysis. The results showed a significant decrease in blood glucose level, lipid peroxidation, malondialdehyde (MDA) level, HbA1c level, total cholesterol, and low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol ($p < 0.05$) and an increase in high-density lipoprotein (HDL)-cholesterol level in rats fed bread supplemented with LO and CF ethanol extracts ($p < 0.05$). Therefore, the results of this study demonstrate that bread supplemented with LO and CF ethanol extracts can potentially affect the blood glucose level and lead to lipid enhancement.

Keywords: Blood glucose, *Terminalia chebula*, *Plantago asiatica*, *Linder obtusiloba*, *Capsosiphon fulvescens*

서 론

통계청의 2014년 양곡소비량 조사 자료에 따르면 현재 대한민국의 1인당 쌀 소비량은 통계가 시작된 1982년 130 kg이었으나 2014년 65.1 kg으로 쌀 소비량은 갈수록 감소하고 있다. 반면 한국농수산식품유통공사 통계 자료에 따르면 1인당 밀의 소비량은 2008년 31.3 kg에서 2014년 33.6 kg으로 증가하고 있는 추세이다. 또한, 농림축산식품부의 2014년 보도 자료에 따르면 1인당 가공식품의 소비량은 2011년 16,300원에서 2013년 29,960원으로 주식인 쌀을 대신해 당질의 가공식품의 소비가 눈에 띄게 증가하고 있다. 이와 같이 경제적인 발전과 서구화된 식습관에 따라 자연스럽게 식사 대신 빠르고 간단하게 섭취할 수 있는 가공식품의 섭취가 증가하는 추세이며 교통과 통신수단의 발달로 인한 활동량 및 운동량 감소는 생활습관병으로 알려진 비만과 고지혈증, 동맥경화, 고혈압, 당뇨병 등과 같은 대사증후군의 발병을 증가시키고 있다(1-3). 대한당뇨병학회에 따르면 2013년 30세 성인인구 10명 중 1.2명이 당뇨병 환자(당뇨유병률 12.4%)이며, 약 400만명이 당뇨병을 가지고 있는 것으로 추정되며 해마다 당뇨병 인구는 빠르

게 늘어, 2030년에는 당뇨병 인구가 500만명을 넘을 것으로 예상되며, 2050년도가 되면 우리나라의 당뇨병 환자수가 약 600만명을 차지할 것으로 추정된다(4). 당뇨병은 유전적 요인과 더불어 후천적인 요인인 비만, 식생활, 운동 부족, 스트레스 등에 영향을 받으며, 고혈당 상태의 당뇨병이 오래 지속되면 혈관병증, 신증, 신경병증, 망막병증, 백내장과 같은 심각한 만성합병증을 야기시킨다(5). 이에 따라 식품을 통한 혈당조절은 매우 중요하며 공중보건학적인 측면에서 생각해 볼 때 당뇨병은 국가적 차원의 사회적, 경제적 손실을 야기할 수 있는 질환이다. 본 실험에 사용된 천연소재는 가자(*Terminalia chebula*), 차전초(*Plantago asiatica*), 생강나무 잎(*Linder obtusiloba*), 매생이(*Capsosiphon fulvescens*)이며 가자는 사군자과(Cambertaceae)에 속하는 *Terminalia chebula* Retz의 성숙한 과실을 건조한 것으로 약용으로 사용되고 있다(6). 가자의 성분으로는 chebulic acid, chebulagic acid, gallic acid, tannin 등이 있다고 알려져 있으며 항균, 항암, 항염 및 항산화 활성, 항당뇨 활성 효과가 있다고 알려져 있다(7-10). 차전초는 질경이과(Plantaginaceae)의 다년생 초본으로 도로와 건물주변에 흔히 자란다. 차전초의 성분으로는 aucubin, plantagin, plantenolic acid, adenine 등이 있다고 알려져 있으며 천식, 기침, 담즙배설작용, 두통, 이뇨, 요도염, 방광염에 효과가 있다고 보고되었다(11). 생강나무는 녹과나무(Lauraceae)에 속하는 낙엽관목으로 우리나라 전역에 분포하고 있으며 높이는 약 7m이고, 수피는 흑회색이다. 잎의 성분으로는 germacrene B, β -caryophyllene, phytol isomer 및 β -elemene 등의 정유성분과 flavonoid 화합물인 quercitrin, hyperoside가 보고되어 있고, 혈압상승 억제효과, 알레르기성 염증반응 억제효과, 미백효과, 항산화 활성 효과가 있는

*Corresponding author: Kwang-Won Lee, Department of Biotechnology, College of Life Science and Biotechnology, Korea University, Seoul 02841, Korea
Tel: 82-2-3290-3027
FAX: 82-2-927-1970
E-mail: kwangwon@korea.ac.kr
Received December 3, 2015; revised February 15, 2016;
accepted February 15, 2016

Table 1. Experimental animals design

Experimental group (name)	Number of rat
Normal bread group (Con)	8
Bread added with <i>Terminalia chebula</i> extract group (BT)	8
Bread added with <i>Plantago asiatica</i> extract group (BP)	8
Bread added with <i>Linder obtusiloba</i> extract group (BL)	8
Bread added with <i>Capsosiphon fulvescens</i> extract group (BC)	8

것으로 알려져 있다(12-14). 녹조류인 매생이는 영양성분이 고루 함유된 해조류이며 조단백질과 다양한 무기질이 다른 해조류보다 많이 함유하고 있다고 알려져 있다(15). 특히 무기질을 구성하는 성분 중 어린이의 발육을 위한 골격형성, 골다공증 예방효과가 있는 칼슘과 조혈기능을 가지는 철의 함량이 높고, 혈압강하 작용에 관여하는 칼륨함량도 높아서 이들 무기질에 의한 생리효과가 기대되는 해조류이다(16). 본 실험에서는 가자 과실 추출물, 차전초 과실 추출물, 생강나무 잎 추출물 그리고 매생이 추출물을 첨가하여 식빵을 제조한 뒤 동물에게 식이로 제공하고 4주간 혈당 및 지질과 관련된 지표들을 관찰하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 천연 소재는 가자, 차전초, 생강나무 잎 및 매생이를 사용하였다. 가자 과실과 차전초 잎은 서울 경동시장에서 건조된 상품을 구입하였고, 매생이는 전라남도 강진 소재의 삼덕수산개발에서 냉동된 생물을 구입하였다. 생강나무 잎은 경기도 남양주시 소재의 덕소농장 부근에서 직접 채취하였다. 구입 또는 채취한 각각의 천연소재들은 수세 후 45°C의 드라이오븐에서 건조하여 실험에 사용하였다.

시료 추출

천연 소재로부터 기능성 물질을 추출하기 위해 주정에탄올을 용매로 사용하였다. 가자 열매와 차전초 잎은 100% 주정에탄올을 이용하였으며, 생강나무 잎과 매생이 생물(전체)은 70% 주정에탄올을 이용하여 추출하였다. 추출은 고온의 열을 가하여 유효 물질을 획득하는 과정으로 과도한 증기가 발생하기 때문에 증기로 인한 손실 방지를 위해 환류냉각식 추출장치를 이용하여 증기를 포집하였다. 또한, 원물(가자, 차전초, 생강나무 잎 및 매생이)의 양과 용매(주정에탄올)의 양은 10배수로 정하여 각 추출물 간의 추출 오차를 최소화하였으며, 100°C에서 추출을 진행하였다. 원물과 용매를 분리하기 위해 Whatman No. 2 (Chlifton, NJ, USA) 필터를 이용하여 여과 후 추출용액을 얻었다. 용매로 사용된 주정에탄올을 제거하기 위해 증발기를 이용하여 60°C, 감압상태에서 농축을 진행하였다. 농축이 끝난 후 동결건조 과정을 거쳐 최종적으로 제빵에 사용되는 가자 추출물(*Terminalia chebula* extract; TCE), 차전초 추출물(*Plantago asiatica* extract; PEA), 생강나무 잎 추출물(*Linder obtusiloba blume* extract; LOE), 매생이 추출물(*Capsosiphon fulvescens* extract; CFE)을 얻었으며, 추출물은 4°C에서 보관하였다. 이후 -70°C에서 냉각하여 동결건조 후 제빵에 사용하였다.

제빵 과정 및 동물의 식이

추출물의 첨가량을 표기한 배합조성은 Table 2에 나타내었다. 배합조성표에 맞게 재료들과 추출물 양을 계량하고 반죽 후 발

Table 2. Ingredients and composition of materials

Ingredients	Con ¹⁾	BT ²⁾	BP ³⁾	BL ⁴⁾	BC ⁵⁾
Strong flour	3500	3500	3500	3500	3500
Yeast	87.5	87.5	87.5	87.5	87.5
Sugar	350	350	350	350	350
Salt	63	63	63	63	63
Improving agent	35	35	35	35	35
Yeast food	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Butter	350	350	350	350	350
Skim milk powder	105	105	105	105	105
Egg	175	175	175	175	175
Milk	525	525	525	525	525
Water	1750	1750	1750	1750	1750
Extracts		25 (0.71%)	50 (1.43%)	25 (0.71%)	1 (0.03%)
Total (g)	6941	6969	6994	6969	6945

¹⁾Con: normal bread

²⁾BT: bread added with *Terminalia chebula* extract

³⁾BP: bread added with *Plantago asiatica* extract

⁴⁾BL: bread added with *Lindera obtusiloba* extract

⁵⁾BC: bread added with *Capsosiphon fulvescens* extract

효과정(온도 35°C, 습도 85%)을 거치고 라운딩, 성형 그리고 팬닝 후 175°C/210°C에 예열된 오븐에서 굽는 과정을 거쳐 최종 완제품을 제조하였다. 식빵 내에 추출물 첨가량 결정은 선행연구 결과(17-20)에서 가자 추출물 0.5 g/kg body weight (BW), 차전초 추출물 1.0 g/kg BW, 생강나무 잎 추출물 0.5 g/kg BW, 매생이 추출물 0.02 g/kg BW에서 기능성을 확인하였기에 랫드 한 마리 평균 무게 200 g, 평균 식이섭취량 25 g임을 고려하여 빵 1 kg을 제조하는데 필요한 추출물의 양을 계산하여 Table 2와 같이 첨가하였다. 완성된 식빵은 기준식빵(Con), 가자 추출물식빵(BT), 차전초 추출물식빵(BP), 생강나무 잎 추출물식빵(BL), 그리고 매생이 추출물식빵(BC) 총 5개로, 이를 이용하여 동물모델의 기능성 검증을 위한 총 5개의 식이를 제조하였다. 제조된 식이는 일반적으로 영양소 파괴와 손실이 없는 동결건조 과정을 거쳐 최종 식이로 사용되었다. 식이의 보관은 수분의 출입이 없는 밀폐 용기에 넣어 4°C에서 보관하였으며 매일 동물의 식이그릇에 30 g을 계량한 것을 실험에 사용하였다.

실험 동물 및 식이 제공 방법

기준식빵과 추출물식빵의 혈당강하 효과와 관련 지표를 확인하기 위해 본 실험에 사용된 동물모델은 일반적으로 독성평가 및 기능성 실험에 사용되는 200-220 g, 6주령의 Sprague-Dawley (SD) rat ((주)샘타코, 경기도, 한국)을 사용하였다. 경기도 소재의 에서 SD 랫드를 구입하였다. 동물실험은 고려대학교 동물실험 윤리위원회에서 정해진 메뉴얼에 따라 동물실험을 진행하였다(승인번호

KUIACUC-2014-270). 사육조건은 온도 20°C, 습도 50% 그리고 밤/낮 주기 12시간의 조건에서 사육했으며, 사육조건에 적응할 수 있도록 1주일 간의 순화 기간을 주었다. 식이 순화 기간 이후 제공되었으며, 동물 그룹은 Table 1과 같이 기준식빵 식이를 제공한 Con 그룹, 가자 추출물 식이를 제공한 BT 그룹, 차전초 추출물식빵 식이를 제공한 BP 그룹, 생강나무 잎 추출물식빵을 식이로 제공한 BL 그룹 및 매생이 추출물식빵을 식이로 제공한 BC 그룹, 총 5그룹으로 구성되었다. 각 그룹의 랫드의 수는 8마리로 전체 40마리의 랫드에게 4주간 식이 제공 후 동물을 희생하였다.

체중, 식이량, 식이 효율, 음수량 측정 및 공복혈당 측정

본 실험 기간 동안 총 5그룹에 대해 주 1회 식이량과 음수량을 측정하였다. 이어서, 5그룹의 공복 혈당은 0주차부터 시작하여 4주차까지 매주 1회씩 측정하였다. 공복혈당은 15시간 절식 후 공복상태의 랫드의 꼬리 정맥을 주사바늘을 이용하여 채혈하였고 Accu-CHEK perfoma (Indianapolis, Indiana, USA) 간이 혈당측정기를 이용해 측정하였다.

경구당부하검사(Oral glucose tolerance test, OGTT) 측정

총 5그룹의 경구당부하검사는 4주간의 식이 제공이 종료된 29일차에 측정되었다. 공복혈당과 마찬가지로 15시간 절식 후 체중당 2g의 포도당을 경구 투여한 후, 랫드의 꼬리 정맥에서 0, 30, 60, 90, 120 그리고 150분에 채혈하여 Accu-CHEK perfoma 간이 혈당측정기를 이용해 혈당을 측정하였다.

혈액 생화학적 분석

총 5그룹의 희생된 동물로부터 혈액을 채취하여 항응고제인 헤파린 코팅된 진공튜브에 주입하고 상온에 방치 후 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 얻어진 혈청으로 간 손상지표인 alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT)와 신장 손상지표인 blood urea nitrogen (BUN), creatinine과 지질지표인 LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, total cholesterol, triglyceride 측정을 위해 혈액생화학분석기(ADVIA 1650, Siemens, NY, USA)를 활용하여 측정하였다.

당화혈색소(Hemoglobin A1c) 측정

총 5그룹의 희생된 동물로부터 채취한 전혈(whole blood)을 시료로 사용하였다. 당화혈색소는 Rat hemoglobin A1c(21) assay kit (Catalog#80300, Crystal Chem, IL, USA)를 이용하여 측정하였다. 전혈을 단백질 분해효소와 반응시켜 당화혈색소 중 포도당과 결합된 발린(valine)이 방출되게 하였다. 포도당과 결합된 발린과 특이적으로 반응하는 fructosyl valine oxidase (FVO)를 첨가하여 중간생성물을 생성하게 하였다. 그 후, 이 중간생성물을 산화시키는 효소인 horseradish peroxidase (HRP)를 첨가하였다. 이때 산화물로 생성되는 과산화수소(hydrogen peroxide, H₂O₂)의 양이 많을수록 노란색으로 변하는 원리를 이용하여 700 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

인슐린 측정

인슐린의 측정은 serum을 시료로 사용하였다. 실험은 Rat insulin ELISA assay kit (EZRMI-13K, Millipore, Billerica, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. Rat-insulin antibody가 미리 코팅된 플레이트에 serum과 assay buffer, matrix solution 및 detection anti-

body를 넣어 반응시켜, serum에 존재하는 인슐린이 rat-insulin antibody에 결합하게 한 후 세척액을 이용해 assay buffer와 matrix solution을 완전히 제거하여 antibody complex를 이루게 하였다. 이어서, enzyme solution과 기질을 첨가하여 complex에 결합하게 한 뒤 푸른색을 띄게 하였다. 이후 stop solution을 넣어 반응을 종결시켰을 때 형성된 복합체의 양이 많을수록 노란색으로 변하는 원리를 이용해 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

지질과산화 측정(TBARs assay)

총 5그룹의 동물 희생 후, -70°C로 보관된 간 조직을 0.05 g 칭량하고 0.1 M phosphate buffer를 첨가하여 균질화하였다. 그 다음 원심분리 후 상등액을 취하여 시료로 사용하였다. 시료에 thiobarbituric acid (TBA) 시약(30% TCA, 1.5% TBA, 10 mg/mL BHT)를 넣어 100°C에서 30분간 가열하였다. 실온에서 식힌 후, 반응액을 원심분리하여 얻어진 상등액을 530 nm/590 nm의 파장에서 형광도를 측정하였다. 이 후 원심분리된 침전물을 1 N NaOH를 넣어 녹인 후 단백질 정량 하였다. 결과값은 MDA (malondialdehyde) 표준곡선을 계산한 후 이에 따른 측정치를 MDA 농도로 표시 하였다(22).

PPAR- α 와 PPAR- γ mRNA 발현 측정

총 5그룹의 동물 희생 후, -70°C로 보관된 간 조직을 0.02 g 칭량하여 TRIzol (Invitrogen, Carlsbad, CA) 1 mL 첨가한 뒤 chloroform과 isopropanol을 첨가하여 간 조직으로부터 mRNA를 얻었다. 분리된 mRNA는 nanodrop (Waltham, MA, USA)을 이용하여 RNA 정량 후 동일한 양의 mRNA를 이용해 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA와 PPAR- α , PPAR- γ 프라이머 그리고 중합효소(polymerase)를 혼합 후 RT-PCR을 이용하여 조건에 맞게 반응시킨 후 1.5% agarose gel에 전기영동하여 PPAR- α 와 PPAR- γ 의 mRNA 발현량을 관찰하였다.

통계분석

모든 실험 결과는 평균±표준편차로 나타내었으며 실험군 간의 유의적 차이를 검증하기 위하여 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)법으로 검증하였다. 이화학적 통계 분석은 SAS 9.4를 이용하여 one-way analysis of variance (ANOVA) 분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

기준식빵 및 추출물식빵을 섭취한 랫드의 몸무게, 식이량, 식이 효율, 음수량 및 간, 신장 무게 비교

체중, 식이량, 음수량 그리고 식이효율에서 기준식빵과 추출물식빵을 제공한 그룹 간의 유의적인 차이가 통계적으로 나타나지 않았다. 또한 간과 신장의 무게에서도 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 일반적으로 간과 신장에서 당뇨와 같은 외적인 스트레스를 받을 시에는 염증과 그와 관련된 단백질들이 발현되기 때문에 무게가 증가한다고 알려져 있다(23,24). Table 3의 결과에서 간과 신장의 무게에 유의적인 변화가 없으므로 추출물을 넣은 식빵이 간과 신장에 영향을 주지 않는다는 결과를 얻을 수 있다. 이어서 체중, 식이량, 음수량 그리고 식이효율에서도 유의적인 차이가 없었기 때문에 이후 공복혈당, 간과 신장 손상지표 그리고 지질지표와 같은 실험항목에서 동일한 조건으로 추출물에 대한 변화를 확인할 수 있다고 판단하였다.

Table 3. Dietary effect of bread added with *Terminalia chebula*, *Plantago asiatica*, *Lindera obtusiloba* and *Capsosiphon fulvescens* ethanol extract on the food intake, food efficiency ratio (24), water intake, body weight and relative organ weight in the rats fed for 4 weeks

	Body weight (g)	Food intake (g/day)	Food efficiency ratio	Water intake (mL/day)	Liver (g/100 g B.W.)	Kidney (g/100 g B.W.)
Con ¹⁾	333.13±16.10 ²⁾	24.65±3.59	0.53±0.17	48.75±22.32	2.75±0.25	0.67±0.07
BT ³⁾	328.25±12.79	24.12±3.18	0.53±0.26	45.63±25.56	2.54±0.37	0.63±0.02
BP ⁴⁾	329.63±11.04	24.08±2.28	0.53±0.39	46.88±28.40	2.61±0.20	0.65±0.05
BL ⁵⁾	328.75±12.71	21.63±3.66	0.54±0.30	44.38±12.94	2.52±0.33	0.64±0.07
BC ⁶⁾	331.75±17.03	23.78±3.50	0.43±0.18	45.63±25.56	2.55±0.23	0.69±0.06

¹⁾Con: normal bread²⁾Mean±SD³⁾BT: bread added with *Terminalia chebula* extract⁴⁾BP: bread added with *Plantago asiatica* extract⁵⁾BL: bread added with *Lindera obtusiloba* extract⁶⁾BC: bread added with *Capsosiphon fulvescens* extract**Table 4. Dietary effect of bread added with *Terminalia chebula*, *Plantago asiatica*, *Lindera obtusiloba* and *Capsosiphon fulvescens* ethanol extract on serum levels of ALP, AST, ALT, Creatinine and BUN in the rats fed for 4 weeks**

	ALP ¹⁾	AST ²⁾	ALT ³⁾	Creatinine	BUN ⁴⁾
Con ⁵⁾	147.25±36.51 ⁶⁾	61.50±6.76	21.38±7.21	0.40±0.02 ^a	16.30±6.32
BT ⁷⁾	130.38±29.77	67.13±9.67	20.38±4.31	0.36±0.05 ^b	14.51±3.44
BP ⁸⁾	144.75±33.33	62.83±7.03	25.00±12.56	0.35±0.02 ^b	12.44±3.11
BL ⁹⁾	133.75±32.60	77.13±13.51	25.13±7.18	0.34±0.03 ^b	14.13±4.09
BC ¹⁰⁾	137.88±25.61	76.63±21.76	29.38±10.23	0.37±0.03 ^{ab}	13.03±1.57

¹⁾ALP: Alkaline phosphatase²⁾AST: Aspartate aminotransferase³⁾ALT: Alanine aminotransferase⁴⁾BUN: Blood urea nitrogen⁵⁾Con: normal bread⁶⁾Mean±SD⁷⁾BT: bread added with *Terminalia chebula* extract⁸⁾BP: bread added with *Plantago asiatica* extract⁹⁾BL: bread added with *Lindera obtusiloba* extract¹⁰⁾BC: bread added with *Capsosiphon fulvescens* extract^{a,b}Means in a row by different superscripts are significantly different at the $p < 0.05$ by Duncan's method.

간과 신장의 혈액 생화학적 변화 확인

간 손상 지표인 ALP, ALT, AST는 간에 존재하며 외적인 스트레스로 인한 손상을 입으면 높아지는 수치이다(23). 또한, 잘못된 식습관에 의해 간염이나 지방간 등의 이유로 간세포에 손상이 생기면 ALP, ALT 그리고 AST와 같은 효소들이 혈액으로 많이 분비되게 되면서 혈중 수치가 높아지게 된다(24). Table 4에서와 같이 기존식빵과 추출물식빵을 제공한 그룹 간의 간 손상 지표들의 유의적인 차이는 없었다. 앞선 Table 3에서 나타난 간의 무게 결과처럼 추출물이 첨가된 식빵식이 제공은 간의 스트레스 증가와 무관함을 확인할 수 있었다. 이어서, creatinine과 BUN 검사항목은 신장에서 스트레스를 받는 경우 높아지는 지표이며 BUN은 혈액 속의 요소를 의미하는데 이는 단백질이나 아미노산의 최종산물로써 간에서 생성되어 신장으로 배출되는 물질이다(25). 신장의 기능이 나쁠 경우에는 배설되지 못하고 몸 속에 축적되기 때문에 신장의 기능측정에 이용된다. Table 3의 BUN 결과에서는 그룹간 유의적인 차이는 없었다. 그러나 creatinine의 경우 Con 그룹(0.40±0.02 U/L)과 비교 시 BT 그룹(0.36±0.05 U/L), BP 그룹(0.35±0.02 U/L) 그리고 BL 그룹(0.34±0.03 U/L)에서 유의적인 차이를 보이며 감소했다. Creatinine은 근육 중의 creatine phosphate 대사 결과 생성된 물질로 정상인 경우 비교적 일정한 속도로 근육으로부터 유리되므로 혈액 내 creatinine의 농도는 일정하게 유지되고 사구체에서 자유롭게 여과되며 재흡수되지 않는다(26,27).

그러나 당뇨와 같이 당을 에너지로 사용하지 못하고 소변을 통해 당을 배출하면 신체는 단백질을 이용해 에너지를 만들어 내며 이때 필연적으로 creatinine의 혈중 농도가 증가하게 된다(28). 그리고 creatinine은 신장을 통해서만 배출되기 때문에 신장 기능 지표로 사용된다(29). 실험결과 creatinine 수치의 감소는 식빵에 첨가된 TCE, PAE, LOE의 신장보호 효과를 의미하는 것을 나타낸다.

공복혈당 측정

식빵에 첨가된 TCE, PAE, LOE, CFE의 추출물 간의 혈당 수치 감소 효과를 알아보기 위해 4주간 15시간 절식 후 동일한 시간에 공복혈당을 측정하였다. Fig. 1에서 식빵식이(사료식이)를 제공하기 전 0주차에서 그룹간 혈당의 차이는 없었으며 식빵식이를 제공한 1주차에서 Con 그룹의 혈당 수치가 134.63±27.12 mg/dL로 다른 추출물 그룹과 유의적인 차이를 보이며 상승함을 관찰할 수 있었다. 그 이후 2주차와 3주차에는 모든 그룹간 유의적인 차이를 보이지 않았으나 마지막인 4주차 공복혈당에서 Con 그룹(123.63±9.62 mg/dL), BT 그룹(119.13±9.60 mg/dL), BP 그룹(117.37±12.77 mg/dL), BL 그룹(116.50±14.43 mg/dL)과 비교해 BC 그룹에서 108.13±4.64의 혈당치로 유의적인 차이를 보이며 혈당이 감소하는 것을 관찰하였다. 이미 매생이 추출물은 기존 선행 연구에서 고혈당으로 인한 산화스트레스로 유발된 지질 과산화물 수치를 낮춰준 결과를 보여준 바 있으며(19,30), 식빵식이를

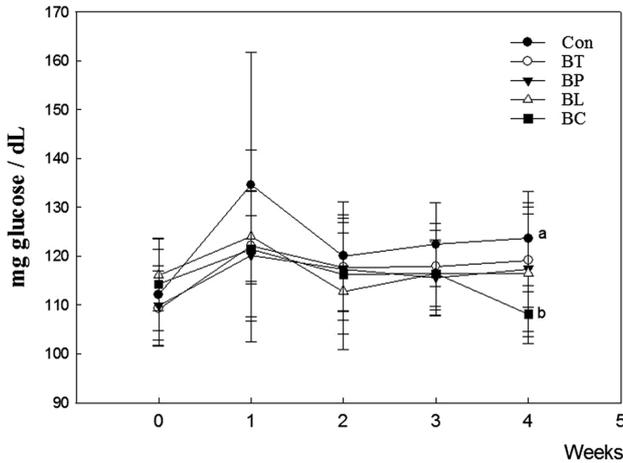


Fig. 1. Dietary effect of bread added with *Terminalia chebula*, *Plantago asiatica*, *Lindera obtusiloba* and *Capsosiphon fulvescens* ethanol extract on fasting blood glucose level in the rats fed for 4 weeks. Con: normal bread, BT: bread added with *Terminalia chebula* extract, BP: bread added with *Plantago asiatica* extract, BL: bread added with *Lindera obtusiloba* extract, BC: bread added with *Capsosiphon fulvescens* extract. Eight rats in each group. Means in a row by different superscripts are significantly different at the $p < 0.05$ by Duncan's method.

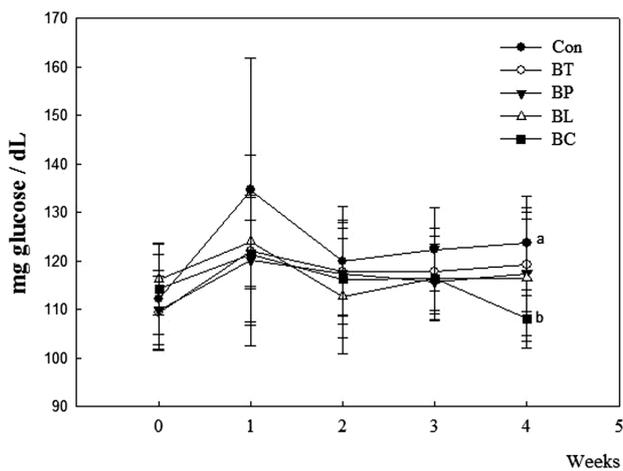


Fig. 2. Dietary effect of bread added with *Terminalia chebula*, *Plantago asiatica*, *Lindera obtusiloba* and *Capsosiphon fulvescens* ethanol extract of oral glucose tolerance test (OGTT) in the rats fed for 4 weeks. Con: normal bread, BT: bread added with *Terminalia chebula* extract, BP: bread added with *Plantago asiatica* extract, BL: bread added with *Lindera obtusiloba* extract, BC: bread added with *Capsosiphon fulvescens* extract. Eight rats in each group. Means in a row by different superscripts are significantly different at the $p < 0.05$ by Duncan's method.

제공하기 전인 0주차와 비슷한 수준으로 혈당을 유지시켜준 것으로 볼 때 CFE가 첨가된 식빵식은 공복혈당강하에 효과가 있는 것으로 생각된다.

경구당부하검사(Oral glucose tolerance test, OGTT) 측정

사람이 음식을 섭취하고 소화과정에서 음식물은 단당인 포도당으로 분해되어 혈액을 통해 신체 전 기관에 운반되며, 인슐린에 의해 세포로 흡수되어 에너지로 사용된다. 이러한 대사과정을 내당능(glucose tolerance)이라고 한다(31). 이러한 내당능은 보

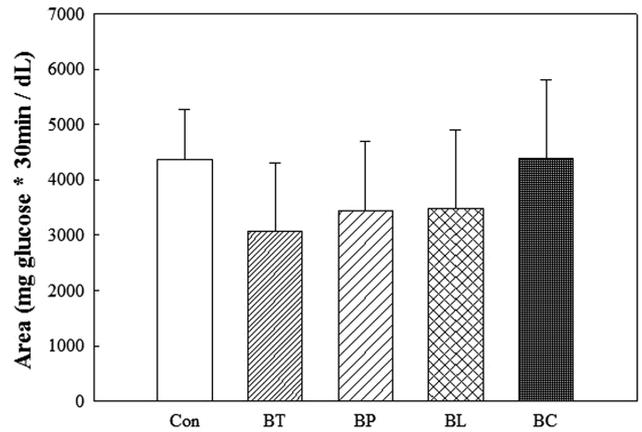


Fig. 3. Calculating the area under the blood glucose concentration-time curve (AUC) during the oral glucose tolerance test (OGTT). Con: normal bread, BT: bread added with *Terminalia chebula* extract, BP: bread added with *Plantago asiatica* extract, BL: bread added with *Lindera obtusiloba* extract, BC: bread added with *Capsosiphon fulvescens* extract. Eight rats in each group.

통 30-60분 사이에서 혈당치가 가장 높게 상승하며 90-120분 대에서 서서히 떨어져 다시 공복시의 혈당으로 돌아오게 되지만, 인슐린 고갈과 인슐린 저항성과 같은 당뇨상태에서는 혈당이 120분 이상까지 높게 유지된다고 보고된 바 있다(32). 경구당부하검사 측정 결과 식빵식을 제공한 모든 그룹에서 30-60분 사이에 최고 혈당치를 기록하였으며 90분이 지나 서서히 혈당이 떨어졌다. 그 중 120분대 혈당치에서 BT 그룹(124.63 ± 17.15 mg/dL), BL 그룹(121.50 ± 13.28 mg/dL)의 혈당치로 Con 그룹 138.50 ± 6.09 mg/dL의 혈당치와 비교하여 유의적인 차이를 보이며 감소하는 것을 보여주었다(Fig. 2). 또한, 경구당부하검사 결과를 한눈에 확인할 수 있는 area under the blood glucose concentration-time curve (AUC) (33)는 시간에 따른 혈당 변화 그래프의 면적을 수치화한 것이다(34). AUC의 area가 의미하는 바는 수치가 낮을수록 빠른 시간 내에 혈당수치가 복원되는 것을 의미한다(35). AUC에서 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 area value로 비교해 볼 때 BT 그룹(3061.00), BP 그룹(3445.38), 그리고 BL 그룹(3489.75)에서 Con 그룹(4361.25)보다 area value가 적은 것을 확인할 수가 있었다(Fig. 3). 이러한 결과를 종합해 볼 때, TCE, PAE 그리고 LOE이 첨가된 식빵은 기존식빵에 비해 내당능에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

당화혈색소(hemoglobin A1c, HbA1c) 측정

당화혈색소는 혈액 속으로 들어온 포도당이 산소를 운반하는 적혈구의 hemoglobin에 결합하여 형성된다(36). 이렇게 형성된 당화혈색소는 적혈구의 생존기간인 약 120일의 수명과 비슷하기 때문에 이를 검사하면 지난 약 3개월 간의 혈당치를 파악할 수 있다(37). 또한, 공복혈당이나 경구당부하검사의 경우는 검사 당시만의 혈당수치를 알 수 있는 것으로 여러 상황에 따라 그 수치가 다르게 나타날 수 있으나 당화혈색소 검사는 식사와 관련된 혈당치의 단기 편차에 영향을 받지 않는다. 이런 이유로 당화혈색소는 중요한 혈당관리 지표로 활용된다(38). 여러 연구에서 높은 수준의 당화혈색소는 미세혈관과 거대혈관의 당뇨합병증과 관련된 반면 당화혈색소의 감소는 당뇨로 인한 이환률과 사망률을 감소시킨다는 보고가 있다(39). %당화혈색소 표기는 미국의 NGSP법을 따르며 정상범위는 4-6% 이하로 알려져 있다(21). 본

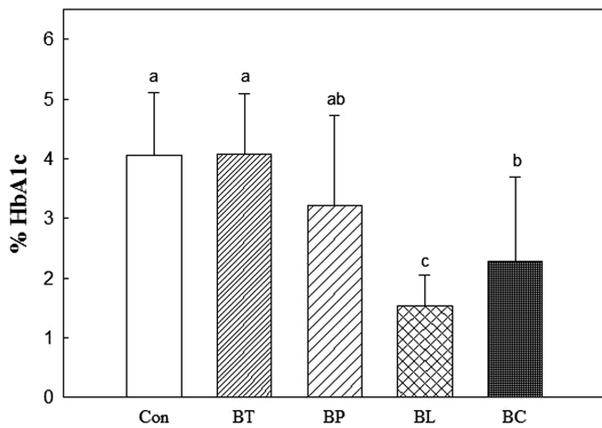


Fig. 4. Dietary effect of bread added with *Terminalia chebula*, *Plantago asiatica*, *Lindera obtusiloba* and *Capsosiphon fulvescens* ethanol extract on hemoglobin A1c. Con: normal bread, BT: bread added with *Terminalia chebula* extract, BP: bread added with *Plantago asiatica* extract, BL: bread added with *Lindera obtusiloba* extract, BC: bread added with *Capsosiphon fulvescens* extract. Eight rats in each group. Means in a row by different superscripts are significantly different at the $p < 0.05$ by Duncan's method.

실험의 당화혈색소 측정 결과와 같이 Con 그룹(4.06%)과 비교하였을 때 BT 그룹(4.07%), BP 그룹(3.22%)과 유의적인 차이는 없었으나, BL 그룹(1.53%)과 BC 그룹(2.28%)은 당화혈색소 함량이 유의적인 차이를 보이며 감소하는 것을 보였다(Fig. 4). 모든 식빵 그룹에서 6% 이하 정상 범위내의 당화혈색소의 측정치를 나타내었고 LOE와 CFE가 첨가된 식빵 그룹에서 눈에 띄게 낮은 당화혈색소 수치를 확인할 수 있었다. 이 결과로 추출물이 첨가된 식빵은 기존식빵과 비교해 당화혈색소 관리에 도움이 되며, 특히 생강식빵과 매생이식빵은 당화혈색소의 수치를 낮춰서 당뇨병증의 발생을 억제시키는 효과가 있을 것으로 생각된다.

인슐린 측정

인슐린은 췌장의 베타세포에서 분비되어 혈액중의 포도당을 각 조직으로 흡수되게 하여 포도당의 양을 일정하게 유지시켜주는

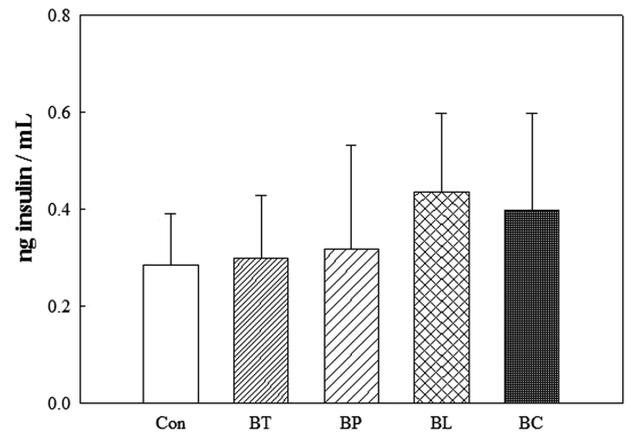


Fig. 5. Dietary effect of bread added with *Terminalia chebula*, *Plantago asiatica*, *Lindera obtusiloba* and *Capsosiphon fulvescens* ethanol extract on serum insulin level. Con: normal bread, BT: bread added with *Terminalia chebula* extract, BP: bread added with *Plantago asiatica* extract, BL: bread added with *Lindera obtusiloba* extract, BC: bread added with *Capsosiphon fulvescens* extract. Eight rats in each group.

역할을 한다(40). 인슐린의 합성과 분비가 잘 이루어지지 않거나 충분하게 기능을 하지 못하게 되면 포도당을 함유한 소변(urine)을 배설하게 되는 당뇨병이 발생할 수 있다(40). 분리한 혈청 내 인슐린 함량 측정 결과, 모든 식빵 그룹에서 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나 Con 그룹(0.29±0.11 ng/mL)의 수치와 비교했을 때, BL 그룹(0.44±0.16 ng/mL)과 BC 그룹(0.40±0.20 ng/mL)의 수치는 상승한 것을 관찰할 수 있다(Fig. 5). 또한, BL 그룹은 내당능을 평가한 경구당부하검사 시 120분대에서 다른 식빵 그룹들과 유의적인 차이를 나타내며 혈당이 감소함을 보였다(Fig. 2). 이는 유의적인 차이는 보이지 않았지만 높아진 인슐린 함량에 의해 혈중의 포도당이 보다 많은 세포로 흡수되어 120분대에서 다른 그룹과 유의적인 차이를 보이며 혈당이 감소한 것으로 생각된다. 인슐린 측정 결과로 추출물이 첨가되지 않은 기존식빵에 비해 LOE와 CFE가 첨가된 식빵은 인슐린 분비에 도움이 되는 것으로 사료된다.

Table 5. Dietary effect of bread added with *Terminalia chebula*, *Plantago asiatica*, *Lindera obtusiloba* and *Capsosiphon fulvescens* ethanol extract on serum levels of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), ratio of HDL-C/LDL-C and atherosclerosis index in the rats fed for 4 weeks

	TC ¹⁾	TG ²⁾	LDL-C ³⁾	HDL-C ⁴⁾	HDL-C/LDL-C ratio
Con ⁵⁾	95.75±15.83 ^{ab6)}	46.00±12.17 ^a	21.50±6.02 ^a	71.13±4.36 ^a	3.53±0.98
BT ⁷⁾	86.75±10.58 ^{ab}	45.38±9.58 ^a	18.25±4.71 ^{ab}	79.00±8.40 ^{ab}	4.52±0.96
BP ⁸⁾	91.25±11.25 ^a	59.63±16.97 ^b	17.63±5.07 ^{ab}	81.13±8.51 ^{ab}	4.92±1.44
BL ⁹⁾	75.88±7.94 ^b	37.13±6.10 ^a	15.25±3.77 ^b	75.75±12.93 ^a	5.37±1.96
BC ¹⁰⁾	82.13±15.45 ^b	44.13±6.33 ^a	15.75±3.54 ^b	87.50±9.93 ^b	5.77±1.33

¹⁾Total cholesterol (TC)

²⁾Triglyceride (TG)

³⁾Low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C)

⁴⁾High density lipoprotein-cholesterol (HDL-C)

⁵⁾Con: normal bread

⁶⁾Mean±SD

⁷⁾BT: bread added with *Terminalia chebula* extract

⁸⁾BP: bread added with *Plantago asiatica* extract

⁹⁾BL: bread added with *Lindera obtusiloba* extract

¹⁰⁾BC: bread added with *Capsosiphon fulvescens* extract

^{ab}Means in a row by different superscripts are significantly different at the $p < 0.05$ by Duncan's method.

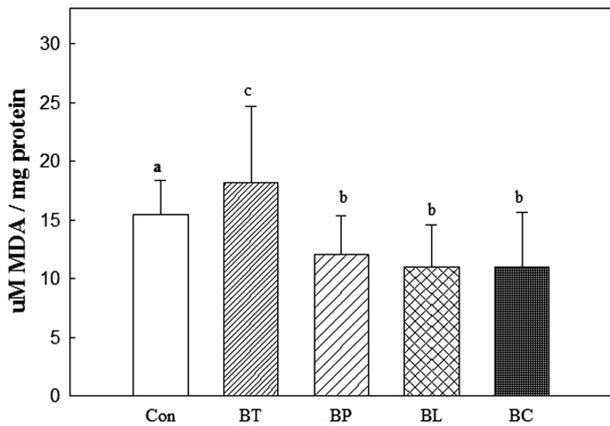


Fig. 6. Dietary effect of bread added with *Terminalia chebula*, *Plantago asiatica*, *Lindera obtusiloba* and *Capsosiphon fulvescens* ethanol extract on serum MDA level. Con: normal bread, BT: bread added with *Terminalia chebula* extract, BP: bread added with *Plantago asiatica* extract, BL: bread added with *Lindera obtusiloba* extract, BC: bread added with *Capsosiphon fulvescens* extract. Eight rats in each group.

혈액 지질 관련 지표 측정

중성지질, 콜레스테롤 함량 증가, LDL-cholesterol의 조직으로 이동속도 감소 및 증가, HDL-cholesterol 함량 감소 등에 따른 지질대사 이상은 동맥경화를 일으킨다고 보고되었다(41). 특히, 당뇨병 상태에서 지질대사의 이상변화는 고혈당과 적혈구막 및 세포 내의 소기관막을 비롯한 생체막의 지질성분의 조성을 변화시키는 요인으로 지질과산화물을 일으킨다고 알려져 있다(42,43). Table 5의 total cholesterol (TC) 분석결과에서 Con 그룹(95.75±15.83 mg/dL)과 비교하였을 때 BL 그룹(75.88±7.94 mg/dL), BC 그룹(82.13±15.45 mg/dL)은 유의적인 차이를 보이며 혈중 TC 함량이 감소하였다. 이어서 좋지 않은 지단백질로 알려진 LDL-cholesterol의 경우 Con 그룹(21.50±6.02 mg/dL)과 비교하였을 때 BL 그룹(15.25±3.77 mg/dL)과 BC 그룹(15.75±3.54 mg/dL)은 유의적인 차이를 보이며 감소했으며, 좋은 지단백질로 알려진 HDL-cholesterol의 경우 BC 그룹(87.50±9.93 mg/dL)이 Con 그룹과 비교해 유의적인 차이를 보이며 증가했다. 혈중 TC 수치 증가는 VLDL의 합성 증가 및 VLDL의 대사산물인 LDL의 증가를 야기한다고 알려져 있다(44). 실험결과로 미루어 볼 때, CFE는 HDL의 생성을 촉진시켜 지질의 대사를 활발히 하여 결과적으로 LDL-cholesterol 및 TC의 함량을 낮춰준 것으로 생각된다. 또한, HDL/LDL 비를 보면 Con 그룹(3.53±0.98)과 비교하여 BL 그룹(5.37±1.96), BC 그룹(5.77±1.33)에서 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 식빵에 첨가된 LOE와 CFE의 작용으로 cholesterol 소거능을 지닌 HDL의 효율로 인한 지질대사를 개선했다고 볼 수 있다. 그러므로 식빵에 첨가된 LOE와 CFE의 식이제공은 지질대사의 불균형을 조절할 수 있는 것으로 사료된다.

지질과산화도 측정(TBARs assay)

높아진 혈당에 의해 형성되는 reactive oxygen species (ROS)는 과산화지방질의 생성을 증가시키며 당뇨병 유발의 주요인 중 하나라는 가설이 제기되었다(45,46). ROS는 막 지질과산화물을 촉진하고 막 지질과산화의 최종산물인 MDA의 양을 증가시킨다(47). 본 실험의 MDA 측정결과 BP 그룹(12.06±3.25 μM/mg), BL 그룹(11.02±3.59 μM/mg) 그리고 BC 그룹(10.96± 4.69 μM/mg)에서

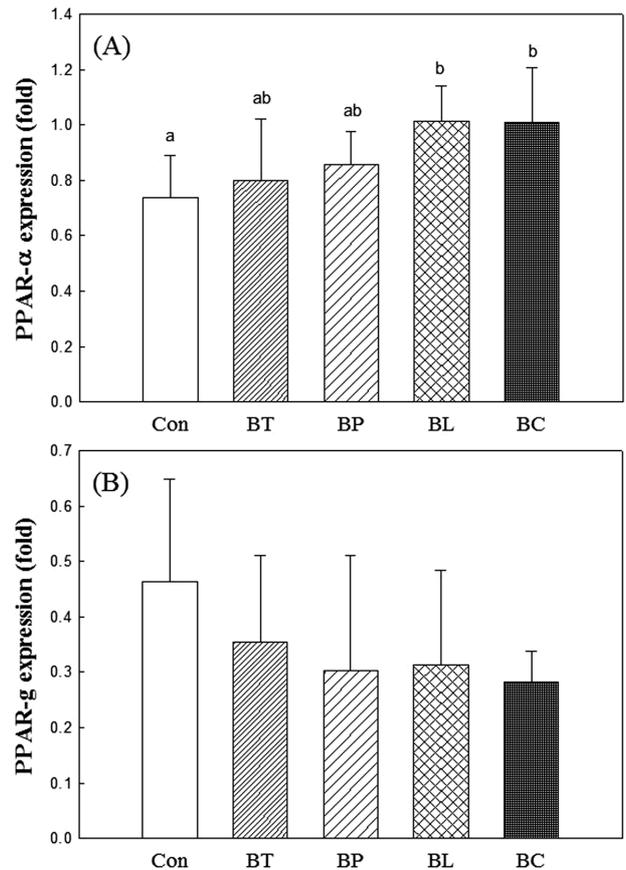


Fig. 7. Expression of PPAR-α and PPAR-γ mRNA in the liver tissue. (A) Expression of PPAR-α, (B) Expression of PPAR-γ, Con: normal bread, BT: bread added with *Terminalia chebula* extract, BP: bread added with *Plantago asiatica* extract, BL: bread added with *Lindera obtusiloba* extract, BC: bread added with *Capsosiphon fulvescens* extract. The mRNA expression of PPAR-α and PPAR-γ were measured by quantitative RT-PCR.

Con 그룹(15.45±2.93 μM/mg)과 비교하였을 때 유의적인 차이를 보이며 MDA 수치가 낮아지는 것을 관찰하였다(Fig. 6). 추출물을 첨가한 식이제공 그룹에서 과산화물인 MDA 수치가 유의적으로 감소한 것을 보아 추출물들이 갖는 항산화 효과로 인해 과산화를 막아주었으며 그 결과 MDA 수치가 낮아진 것으로 판단 된다.

지질관련 조절인자 PPAR-α와 PPAR-γ mRNA 발현 측정

Peroxisome proliferator activated receptor (PPAR)은 핵에 존재하는 호르몬 수용체의 한 종류로서 지질대사, 포도당대사 및 에너지 항상성과 관련된 유전자를 조절하는 전사인자로 알려져 있다(48). PPAR에는 α, β, γ의 세 종류가 있으며, 이들은 서로 다른 유전자에 의해 발현되고, 다른 조직에서 생성되어 각각의 생물학적 기능을 갖는다(33). PPAR-α는 지질 및 지단백질 대사에 관여하는 유전자를 조절하여 중성지질을 낮추고 HDL의 농도를 증가시킨다고 알려져 있다(49). 반면, PPAR-γ는 세포분화, 지방세포 생성, 인슐린 작용에서 중요한 인자이며 특히 지방생성을 증가시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다(50). 최근에 기능이 밝혀지기 시작한 PPAR-β는 생식세포 및 신경세포의 분화와 에너지 항상성에 영향을 주는 것으로 보고되고 있다(51,52). 본 실험에서는 지질대사뿐만 아니라 최근 포도당대사, 동맥경화, 노화 등

의 작용에서 주요 연구대상이 된 PPAR- α 과 PPAR- γ 에 대해 관찰하였다. RT-PCR로 이들의 mRNA 발현을 측정된 결과, BL 그룹, BC그룹에서 Con 그룹과 유의적인 차이를 나타내며 PPAR- α mRNA 발현이 증가하였다(Fig. 7A). 또한, PPAR- γ mRNA 발현을 측정된 결과 유의적인 차이는 보이지 않았으나 BT, BP, BL, 그리고 BC 그룹에서 Con 그룹보다 발현이 감소하였다(Fig. 7B). PPAR- α 의 결과 BC 그룹은 Table 5의 HDL 측정 결과와 비슷한 경향을 보였다. 이것으로 CFE는 PPAR- α 를 활성화시켜 HDL의 합성을 촉진하여 혈중 TC의 함량을 낮춘 것으로 생각되며 특히, 식빵에 첨가된 LOE와 CFE는 PPAR- α 의 전사를 활발하게 하고 PPAR- γ 와 관련된 유전인자의 활성을 낮춰 지질대사의 효율을 높여주는 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 가자 추출물(TCE), 차진초 추출물(PAE), 생강나무 잎 추출물(LOE) 그리고 매생이 추출물(CFE)을 첨가하여 식빵을 제조하고, 매일 30g의 식빵 식이를 6주령 SD 랫드에게 제공한 뒤 혈당과 지질과 관련된 지표들의 변화를 관찰하였다. 추출물이 첨가된 식빵을 섭취한 모든 그룹에서 체중, 음수량, 간과 신장의 무게, AST, ALP, ALT의 변화는 나타나지 않았다. 식이 섭취 후 혈당의 변화를 확인하기 위해 매주 1회 절식 후 공복혈당을 측정하였을 때 1주차 측정 결과에서 Con 그룹의 혈당 수치가 134.63 \pm 27.12 mg/dL로 BT 그룹, BP 그룹, BL 그룹 그리고 BC 그룹과 비교하여 유의적인 차이를 보이며 혈당이 상승하였고, 4주차 측정 결과에서는 Con 그룹(123.63 \pm 9.62 mg/dL), BT(그룹 119.13 \pm 9.60 mg/dL), BP 그룹(117.37 \pm 12.77 mg/dL), BL 그룹(116.50 \pm 14.43 mg/dL)과 비교해 BC 그룹에서 108.13 \pm 4.64의 혈당치로 유의적인 차이를 보이며 혈당이 감소하는 것을 보아 CFE가 첨가된 식빵은 혈당강화에 도움을 줄 수 있을 것으로 판단하였다($p < 0.05$). 이어진 경구당부하검사 120분대 혈당치에서 BT 그룹(124.63 \pm 17.15 mg/dL), BL 그룹(121.50 \pm 13.28 mg/dL)은 Con 그룹(138.50 \pm 6.09 mg/dL)의 혈당치와 비교하여 유의적인 차이를 보이며 감소하는 것을 보여주었으며($p < 0.05$), AUC에서 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 BT 그룹, BP 그룹, 그리고 BL 그룹의 area value가 적어졌다. AUC와 경구당부하검사 결과를 종합해 볼 때 TCE, PAE 그리고 LOE가 첨가된 식빵은 기존식빵에 비해 내당능에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다. 또한, 혈당과 관련된 중요 지표 중 하나인 당화혈색소 측정 결과에서 Con 그룹(4.06%)과 비교해 유의적인 차이를 보이며 BL 그룹(1.53%)와 BC 그룹(2.28%)은 당화혈색소 함량이 감소하는 것을 보였다($p < 0.05$). 지질 측정 지표인 TC, TG, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol 측정결과에서 BL 그룹은 TC, LDL-cholesterol을 유의적으로 낮췄으며 BC 그룹은 TC, LDL-cholesterol을 유의적으로 낮추고 HDL-cholesterol의 함량을 유의적으로 증가시켰다. LOE와 CFE가 첨가된 식빵 식이는 제공은 지질대사의 불균형을 조절할 수 있을 것으로 사료되며 나아가 동맥경화 예방에도 도움이 될 것으로 생각된다. 지질과 관련된 유전인자인 PPAR- α 과 PPAR- γ 에 대한 mRNA 발현을 측정된 결과 BL 그룹, BC그룹에서 Con 그룹과 유의적인 차이를 나타내며 PPAR- α mRNA 발현이 증가하였고, PPAR- γ mRNA 발현의 경우, BP 그룹, BL 그룹, BC 그룹에서 가장 적은 발현을 나타내었다. 실험 결과를 통해 추출물 중 여러 측정 항목에서 LOE와 CFE가 첨가된 식빵식이에서 가장 좋은 활성을 보였으므로 LOE와 CFE는 공복혈당 강하와 내당능에 효과가 있으며 HDL의 합성을 촉진하여 혈중 TC의 함량을 낮춘 것

으로 생각된다. 또한 PPAR- α 의 전사를 활발하게 하고 PPAR- γ 와 관련된 유전인자의 활성을 낮춰 지질대사의 균형을 유지시키는 것으로 사료된다.

References

- Koivisto VA. Insulin therapy in type II diabetes. *Diabetes Care* 16: 29-39 (1993)
- Krolewski AS, Laffel LMB, Krolewski M, Quinn M, Warram JH. Glycosylated hemoglobin and the risk of microalbuminuria in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *New Engl. J. Med.* 332: 1251-1255 (1995)
- Wilson TA. An early step in a long ascent. *Trends Mol. Med.* 8: 544 (2002)
- Choi YJ, Kim HC, Kim HM, Park SW, Kim JO, Kim DJ. Prevalence and management of diabetes in Korean adults: Korea national health and nutrition examination surveys 1998-2005. *Diabetes Care* 32: 2016-2020 (2009)
- Soedamah-Muthu SS, Chaturvedi N, Schalkwijk CG, Stehouwer CDA, Ebeling P, Fuller JH, Group EPCS. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 and soluble E-selectin are associated with micro- and macrovascular complications in type 1 diabetic patients. *J. Diabetes Complicat.* 20: 188-195 (2006)
- Park JO. Effects of methanol extract from *Terminalia chebulae* on renal and pulmonary toxicities induced by paraquat in rats. *J. Life Sci.* 18: 129-135 (2008)
- Lee KS, Kim SH, Sim KC, Park CS, Shin YS. Antimicrobial activity of *Terminalia chebula* Retz. extract of against intestinal pathogens. *Korean J. Food Nutr.* 10: 559-563 (1997)
- Achari C, V Reddy G, Cm Reddy T, Reddanna P. Chebulagic acid synergizes the cytotoxicity of doxorubicin in human hepatocellular carcinoma through COX-2 dependant modulation of MDR-1. *Med. Chem.* 7: 432-442 (2011)
- Bag A, Bhattacharyya SK, Pal NK, Chattopadhyay RR. Anti-inflammatory, anti-lipid peroxidative, antioxidant and membrane stabilizing activities of hydroalcoholic extract of *Terminalia chebulae* fruits. *Pharm. Biol.* 51: 1515-1520 (2013)
- Silawat N, Gupta VB. Chebulic acid attenuates ischemia reperfusion induced biochemical alteration in diabetic rats. *Pharm. Biol.* 51: 23-29 (2013)
- Park CH. A taxonomic and systematic study of genus plantago in Korea. MS thesis, Korea University, Seoul, Korea (1996)
- Kwon DJ, Kim JK, Bae YS. Essential oils from leaves and twigs of *Lindera obtusiloba*. *J. Korean For. Soc.* 96: 65-69 (2007)
- Park JC, Yu YB, Lee JH. Isolation and structure elucidation of flavonoid glycosides from *Lindera obtusiloba* BL. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 25: 76-79 (1996)
- Bang CY, Won EK, Park KW, Lee GW, Chung SY. Antioxidant activities and whitening effect from *Lindera obtusiloba* BL extract. *Yakhak Hoeji* 52: 355-360 (2008)
- Jung KJ, Jung CH, Pyeon JH, Choi YJ. Changes of food components in *mesangi* (*Capsosiphon fulvecense*), *gashiparae* (*Enteromorpha prolifera*), and *cheonggak* (*Codium fragile*) depending on harvest times. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34: 687-693 (2005)
- Kwon MJ, Nam TJ. Effects of *mesangi* (*Capsosiphon fulvecens*) powder on lipid metabolism in high cholesterol fed rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35: 530-535 (2006)
- Hong CO, Seo MY, Koo YC, Nam MH, Lee HA, Kim JH, Wang Z, Yang SY, Lee SH, No SH, Lee KW. Single and 14-day repeated oral toxicity studies of 70% ethanol extract of *Lindera obtusiloba* blume leaves. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 1324-1330 (2009)
- Lee HS, Won NH, Kim KH, Lee HJ, Jun WJ, Lee KW. Antioxidant effects of aqueous extract of *Terminalia chebula* *in vivo* and *in vitro*. *Biol. Pharm. Bull.* 28: 1639-1644 (2005)
- Nam MH, Koo YC, Hong CO, Yang SY, Kim SW, Jung HL, Lee H, Kim JY, Han AR, Son WR, Pyo MC, Lee KW. *In vivo* study of the renal protective effects of *Capsosiphon fulvescens* against streptozotocin-induced oxidative stress. *Korean J. Food Sci. Technol.* 46: 641-647 (2014)
- Park BG, Lee HS, Jung SH, Koo YC, Hong CO, Lee SJ, Lee

- KW. Single & 14-day repeated oral toxicity study and genotoxicological safety estimate of plantamajoside from *Plantago asiatica*. *Toxicol. Res.* 23: 79-86 (2007)
21. Sacks DB. Global harmonization of hemoglobin A1c. *Clin. Chem.* 51: 681-683 (2005)
 22. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* . 95: 351-358 (1979)
 23. Steer KA, Sochor M, McLean P. Renal hypertrophy in experimental diabetes: Changes in pentose phosphate pathway activity. *Diabetes* 34: 485-490 (1985)
 24. Nannipieri M, Gonzales C, Baldi S, Posadas R, Williams K, Haffner SM, Stern MP, Ferrannini E. Liver enzymes, the metabolic syndrome, and incident diabetes the Mexico city diabetes study. *Diabetes Care* 28: 1757-1762 (2005)
 25. Vaidya VS, Ramirez V, Ichimura T, Bobadilla NA, Bonventre JV. Urinary kidney injury molecule-1: A sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. *Am. J. Physiol.-Renal.* 290: F517-F529 (2006)
 26. Bessman SP, Carpenter CL. The creatine-creatine phosphate energy shuttle. *Annu. Rev. Biochem.* 54: 831-862 (1985)
 27. Allen PJ. Creatine metabolism and psychiatric disorders: Does creatine supplementation have therapeutic value?. *Neurosci. Biobehav. R.* 36: 1442-1462 (2012)
 28. Coresh J, Wei GL, McQuillan G, Brancati FL, Levey AS, Jones C, Klag MJ. Prevalence of high blood pressure and elevated serum creatinine level in the United States: Findings from the third national health and nutrition examination survey (1988-1994). *Arch. Intern. Med.* 161: 1207-1216 (2001)
 29. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: A new prediction equation. *Ann. Intern. Med.* 130: 461-470 (1999)
 30. Son WR, Nam MH, Han AR, Pyo MC, Kim SW, Jung HL, Kee H, Kim JY, Lee KW. Protective effects of *Capsosiphon fulvescens* and pheophorbide a on streptozotocin-induced oxidative stress in testicular. *J. Fd. Hyg. Safety* 30: 202-209 (2015)
 31. Rao SS, Disraeli P, McGregor T. Impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose. *Am. Fam. Physician* 69: 1961 (2004)
 32. Sosenko JM, Palmer JP, Rafkin-Mervis L, Krischer JP, Cuthbertson D, Matheson D, Skyler JS. Glucose and C-peptide changes in the perionset period of type 1 diabetes in the Diabetes Prevention Trial - Type 1. *Diabetes Care* 31: 2188-2192 (2008)
 33. Braissant O, Fougelle F, Scotto C, Daua M, Wahli W. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): Tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat. *Endocrinology* 137: 354-366 (1996)
 34. Le Floch JP, Escuyer P, Baudin E, Baudon D, Perlemuter L. Blood glucose area under the curve: Methodological aspects. *Diabetes care* 13: 172-175 (1990)
 35. Jenkins DJ, Wolever TM, Taylor RH, Barker H, Fielden H, Baldwin JM, Bowling AC, Newman HC, Jenkins AL, Goff DV. Glycemic index of foods: A physiological basis for carbohydrate exchange. *Am. J. Clin. Nutr.* 34: 362-366 (1981)
 36. Peterson KP, Pavlovich JG, Goldstein D, Little R, England J, Peterson CM. What is hemoglobin A1c? An analysis of glycated hemoglobins by electrospray ionization mass spectrometry. *Clin. Chem.* 44: 1951-1958 (1998)
 37. Wagner EH, Sandhu N, Newton KM, McCulloch DK, Ramsey SD, Grothaus LC. Effect of improved glycemic control on health care costs and utilization. *JAMA-J. Am. Med. Assoc.* 285: 182-189 (2001)
 38. Matsuyama-Yokono A, Tahara A, Nakano R, Someya Y, Hayakawa M, Shibasaki M. Chronic inhibition of dipeptidyl peptidase-IV with ASP8497 improved the HbA1c level, glucose intolerance, and lipid parameter level in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic mice. *N-S. Arch. Pharmacol.* 379: 191-199 (2009)
 39. Shubrook JH. Risks and benefits of attaining HbA1c Goals: Examining the evidence. *J. Am. Osteopath. Assoc.* 110: eS7-eS12 (2010)
 40. Sonksen P, Sonksen J. Insulin: Understanding its action in health and disease. *Brit. J. Anaesth.* 85: 69-79 (2000)
 41. Gould RG. Lipid metabolism and atherosclerosis. *Am. J. Med.* 11: 209-227 (1951)
 42. Mohun AF, Cook IJY. Simple methods for measuring serum levels of the glutamic-oxalacetic and glutamic-pyruvic transaminases in routine laboratories. *J. Clin. Pathol.* 10: 394-399 (1957)
 43. Wronski TJ, Cintron M, Dann LM. Temporal relationship between bone loss and increased bone turnover in ovariectomized rats. *Calcified Tissue Int.* 43: 179-183 (1988)
 44. Howard BV. Lipoprotein metabolism in diabetes mellitus. *J. Lipid Res.* 28: 613-628 (1987)
 45. Stehbens WE. The oxidative stress hypothesis of atherosclerosis: Cause or product? *Med. Hypotheses* 53: 507-515 (1999)
 46. Li JM, Shah AM. ROS generation by nonphagocytic NADPH oxidase: Potential relevance in diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 14: S221-S226 (2003)
 47. Drake IM, Mapstone NP, Schorah CJ, White KL, Chalmers DM, Dixon MF, Axon AT. Reactive oxygen species activity and lipid peroxidation in helicobacter pylori associated gastritis: Relation to gastric mucosal ascorbic acid concentrations and effect of H pylori eradication. *Gut* 42: 768-771 (1998)
 48. Schoonjans K, Staels B, Auwerx J. Role of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. *J. Lipid Res.* 37: 907-925 (1996)
 49. Murakami K, Tobe K, Ide T, Mochizuki T, Ohashi M, Akanuma Y, Yazaki Y, Kadowaki T. A novel insulin sensitizer acts as a coligand for peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPAR-alpha) and PPAR-gamma: Effect of PPAR-alpha activation on abnormal lipid metabolism in liver of Zucker fatty rats. *Diabetes* 47: 1841-1847 (1998)
 50. Spiegelman BM. PPAR-gamma: Adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes* 47: 507-514 (1998)
 51. Kim DJ, Bility MT, Billin AN, Willson TM, Gonzalez FJ, Peters JM. PPAR β/δ selectively induces differentiation and inhibits cell proliferation. *Cell Death Differ.* 13: 53-60 (2006)
 52. Abbott BD. Review of the expression of peroxisome proliferator-activated receptors alpha (PPAR α), beta (PPAR β), and gamma (PPAR γ) in rodent and human development. *Adv Exp. Med. Biol.* 27: 246-257 (2009)