

더덕 뿌리 에탄올 추출물이 streptozotocin으로 유발된 흰쥐의 항 당뇨효과

김옥경[†]

[†]대진대학교 자연과학대학 식품영양학과
(2016년 5월 9일 접수; 2016년 6월 1일 수정; 2016년 6월 8일 채택)

Antidiabetic effect of ethanol extract on *Codonopsis lanceolata* root in streptozotocin induced diabetic rats

Ok-Kyung Kim[†]

[†]Department of Food Science and Nutrition, Dae Jin University, Pochon 487-711, Korea
(Received May 9, 2016; Revised June 1, 2016; Accepted June 8, 2016)

요약 : Streptozotocin(STZ)을 45mg/kg.b.w의 용량으로 흰쥐의 미정맥에 투여한 후 유발된 당뇨 흰 쥐에게 1일 1회 7일간 1,000mg/kg의 용량으로 투여 후 glucose 함량과 당대사에 관여하는 효소인 glucose-6-phosphatase(G-6-Pase), glucose-6-phosphate dehydrogenase(G-6-PDH), glucokinase (GK) 활성과 glycogen 함량, triglyceride(TG), total cholesterol등의 지질대사에 관여하는 물질들을 측정 한 결과 더덕 뿌리 에탄올 추출물 투여군이 glucose, TG, total cholesterol등의 함량과 G-6-Pase 활성 의 유의적인 감소(p<0.05)를 나타내었으며 glycogen 함량과 G-6-PDH, GK의 활성이 유의적인 증가 (p<0.05)를 나타내었다. 이와 같이 더덕뿌리 에탄올 추출물이 항당뇨 개선효과를 갖는 유효성분을 함유 하고 있음을 알 수 있었다.

주제어 : 더덕뿌리, 스트렙토조토신, 항당뇨효과.

Abstract : This study was done to investigate the antidiabetic effect of ethanol extract from *Codonopsis lanceolata* root in Streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. Diabetes was induced by intravenous injection of STZ at a dose 45mg/kg.b.w. dissolved in citrate buffer(pH4.5). The ethanol extract of *Codonopsis lanceolata* root was orally administrated once a day for 7 days. The contents of serum glucose, triglyceride(TG) and total cholesterol were significantly decreased(p<0.05) in *Codonopsis lanceolata* root treated group compared to the those of STZ-control group. Also the content of hepatic glycogen and activities of glucose-phosphate dehydrogenase(G-6-PDH) and glucokinase(GK) were significamtly increased(p<0.05). These results indicated that ethanol extract of *Codonopsis lanceolata* root would have antidiabetic effect in STZ-induced diabetic rats.

Keywords : streptozotocin, antidiabetic effect, *Codonopsis lanceolata* root

[†]Corresponding author (E-mail: okkim@daejin.ac.kr)

1. 서론

웰빙(wellbeing)을 지향하는 21세기에 우리나라 역시 생활 수준의 향상으로 생활습관병인 만성질환의 증가에 있다[1]. 만성질환중에서도 당뇨병은 그 발생률이 해를 거듭할수록 증가하고 있다[2]. 2011년 국민건강 영양조사에 따르면 연령증가와 함께 당뇨 유발율이 증가하여 70대 이후의 연령에는 5명중 1명이 당뇨병 유발자일것이라고 예측하고 있다. 특히 당뇨병은 혈압과 함께 보건소 및 병원에서도 환자를 위한 교육이 마련될 정도로 사회, 국가적인 관심을 갖고 있는 만성질환이다. 유병율의 증가는 국민건강과 의료비 관리에서 더 많은 비용이 들것이라고 예측된다. 현재 당뇨 치료를 위한 최선의 방법은 아직 개발되지 못하였으나 현재 알려져 있는 최선의 치료 방법은 정상적인 혈당 수준을 유지하는 것이고, 이는 약물요법, 운동요법, 식이요법의 3가지 방법[3]이며 이중 약물요법으로 정상적인 혈당수준을 유지하는 것이 최선의 치료법이다. 따라서 본 실험에서는 21세기가 지향하는 예방의학이라는 시대적 조류에 따라 전생의학으로 알려져 있는 천연물을 통한 당뇨예방에 도움을 줄 수 있는 기능성 식품개발의 기초자료를 탐색하고자 하였다. 더덕(*Codonopsis lanceolata*)은 사삼이라고도 하며 초롱꽃과에 속하는 다년생 초본으로 한국을 비롯한 중국, 대만 및 일본등에 많이 자생 또는 인공 재배되는 산채류 식품[4]이며 한방에서는 폐 기운을 도와주어 가래를 없애주고 강장, 해열, 거담, 해독, 배농 등의 질병치료의 목적으로 사용되어 왔다[5]. 더덕은 다른 산채에 비해 단백질, 탄수화물, 지방이 많이 들어 있고, 칼슘, 인, 철분과 같은 무기질과 비타민B₁, B₂, saponin, inulin, flavonoid등이 풍부하다[6]. 한편 생리활성 연구로는 Park 등[7]이 더덕뿌리의 열수 추출물이 면역조절 및 항균작용, 혈청지질의 함량 감소를 보고하였다. 또한 더덕뿌리에 함유된 polyphenol과 codonopsis라는 사포닌계 성분이 혈청 지질의 감소 효과, 항산화성, 면역효과, 중성지질과 콜레스테롤 축적의 억제 효과를 보고[8-10]하였다. 본 실험에서는 streptozotocin으로 유발된 흰쥐에게 더덕 뿌리를 세절 건조하여 에탄올로 추출하였으며, 그 추출물을 1일1회 7일간 경구투여한 후 혈액과 간을 채취하여 glucose 함량의 변화와 당대사 관여하는 몇몇 효소(glucose-6-phosphatase (G-6-Pase), glucose-6-phosphate hydrogenase

(G-6-PDH), glucokinase(GK)를 측정하여 당뇨 예방에 도움이 되는 기능성 식품 개발의 기초 자료를 얻고자 하였다.

2. 실험

2.1. 시료, 시약 및 기기

본 실험에 사용한 더덕 뿌리는 서울경동 약령시장에서 구입(강원도 횡성산)하였으며 시약 및 기기는 Kim[11]의 방법에 따라 사용하였다. 즉, 시약은 streptozotocin(STZ), amyloglucosidase, glucose-6-phosphate, glucose-6-phosphate dehydrogenase, ascorbic acid, glycylglycine, Tris-HCl, NAD, ATP, bovine serum albumin 등은 Sigma Co.(U.S.A)의 제품을 사용하였으며, glucose, triglyceride, total cholesterol kit는 영동 제약(Korea)의 것을, 나머지 기타시약은 특급시약을 구입하여 사용하였다. 기기는 rotary vacuum evaporator (Eyela Co., Japan), deep freezer (Hannil Co., Korea), ultracentrifuge(sorval, U.S.A), centrifuge (Hannil Co., Korea), UVspectrometer(Kontron 927, Italy), homogenizer(Omni, U.S.A.)등을 사용하였다.

2.2. 추출 실험

구입후 세절하여 말린 더덕 뿌리 200g에 95% 에탄올 1,000ml를 넣고 95°C의 water bath에서 4시간씩 3번 가열 추출한 후 여액을 감압-농축하였다.

2.3. 실험동물사육, 당뇨유발 및 검액의 조제

Sprague-Dawley(SD)계 수컷 흰쥐(rat)를 (주)오리엔트 바이오에서 구입하여 일주일간 고행사료((주)삼양사)를 먹여 사육장 환경에 적응시켰으며, 215g±10g의 흰쥐를 하룻밤 동안 절식시킨 후 췌장의 β -cell에만 선택적으로 작용하여 당뇨를 유발하는 Streptozotocin(STZ)을 45mg/kg.b.w 용량으로 0.01M citric acid buffer(pH 4.5)에 녹여 2 ml/kg.b.w 용량으로 미정맥 주사를 하였다. STZ 주사 48시간이 경과한 후 안와정맥으로 부터 혈액을 채취하여 혈당이 300mg/dl 이상인 것을 당뇨가 유발된 것으로 간주하여 5마리씩 당뇨 유발 대조군(STZ-Control), 당뇨 유발 실험군(STZ-Sample)으로 나누었으며 정상 군과 당뇨유발 대조군은 0.5%

CMC를, 당뇨 유발 실험군에는 더덕 뿌리의 에탄올 추출물을 1000mg/kg, b.w.의 용량으로 0.5% CMC 용액에 현탁시켜 10 ml/kg, b.w. 씩 1일 1회 7일간 경구투여 하였다.

2.4. 효소원 조제 및 분석

혈청중의 glucose, TG, total cholesterol 함량과 간조직 중의 glycogen함량과 당대사를 위한 glucose-6-phosphatase(G-6-pase), glucose-6-phosphate dehydro genase(G-6-PDH), glucokinase(GK)활성 측정은 Kim[11]과 같은 방법으로 측정하였다.

2.5. 통계처리

Table 3. The Content of Hepatic Glycogen of Normal and Diabetic Rats Fed on Ethanol Extract of *Codonopsis lanceolata*(C.L) root.

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	Glycogen (mg/g)
Normal	-	253.74±86.29 ¹⁾
STZ ²⁾ -control	-	53.25±19.48 [#]
STZ+ CL ³⁾ root	1,000	214.95±24.56 [*]

^{12,3)} See the legend of Table 1

모든 실험 결과는 평균치와 ± 표준 오차로 계산하였고, 각 군간의 차이는 Students t-test를 실시하여 p값이 5% 미만일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 에탄올 추출물의 수율

구입후 세절하여 말린 더덕뿌리 200g에 95% 에탄올 1,000ml를 넣고 95°C의 water bath에서 4시간씩 3번 가열 추출한 후 여액을 감압농축한 결과 19g(수율 9.5%)을 얻었다.

3.2. 혈당 저하 효과

혈청내의 혈당저하 효과는 Table 1과 같다. 정상군의 혈당치가 130.85±8.35 mg/dl에 비해 당

노 대조군은 493.08±11.03 mg/dl으로 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 Williamson등[12]이 STZ 투여 1~3일 후에 현저한 고혈당과 hypoinsulinemia는 간장의 인슐린 저항으로 당의

Table 1. The Serum Glucose Level of Normal and Diabetic Rats Fed on Ethanol Extract of *Codonopsis lanceolata*(C.L) Root

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	Glucose(mg/dl)
Normal	-	130.85±8.35 ¹⁾
STZ ²⁾ -control	-	493.08±11.03 [#]
STZ+C.L ³⁾ root	1,000	284.15±18.13 [*]

¹⁾Values are the mean±S.E.(n=5)

²⁾Streptozotocin 45mg/kg,b.w [0.01M citric acid buffer(pH4.5)] was intraperitoneal(i.p) injected into the tail vein. [#]Significantly different from normal at p<0.05, ^{*}Significantly different from STZ-control at p<0.05 by student's t-test.

³⁾The ethanol extract of was administrated *Codonopsis lanceolata*(C.L) root orally once a day in experimental rats for 7 days.

Table 2. The Serum Lipid Profile of Normal and Diabetic Rats Fed on Ethanol Extract of *Codonopsis lanceolata*(C.L) Root

Experimental group	Dose (mg/kg,b.w,p.o)	Triglyceride (TG)	Total cholesterol	HDL cholesterol
		(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
Normal	-	117.93±10.12 ¹⁾	82.60±6.23	110.31±9.45
STZ ²⁾ -control	-	351.23±68.34 [#]	150.76±10.52 [#]	58.26±6.17 [#]
STZ+ C.L ³⁾ root	1,000	88.43±32.58 [*]	79.43±8.61 [*]	93.27±5.21 [*]

^{1,2,3)} See the legend of Table 1.

이용 감소를 나타내고, 상승된 혈당수준은 vascular oxidation 대사의 이상을 초래하며 산소가 불완전하게 산화되어 생성된 유리기의 활성화로 β -세포의 자동면역기능이 파괴되어 당뇨 증상을 보이게 된다고 보고하였다. 그러나 더덕 뿌리 추출물 투여군에서 284.15±18.13 mg/dl로 유의적인 감소를 나타내었다.

3.3. 지질함량에 미치는 영향

Triglyceride함량, Cholesterol 함량 및 HDL-cholesterol 함량

당뇨가 잘 조절되지 않으면 간장의 hydroxyl methyl glutaryl CoA (HMG-CoA) reductase의 활성 저하로 장의 HMG-CoA reductase 활성이 증가되어 순환 혈액으로 cholesterol의 이동이 증가되어 혈장 cholesterol치가 증가된다는 보고[13]와 인슐린의 작용에 문제가 있는 당뇨병의 경우에는 lipoprotein lipase의 작용 부족으로 간의 VLDL의 생성이 증가되어 혈액 속의 VLDL과 LDL의 농도를 증가시킨 결과 혈중의 TG와 cholesterol의 농도를 증가시킨다는 보고[14]에 따라 본 실험에서도 Table 2와 같이 TG 함량은 정상 군이 117.93±10.12 mg/dl인 것에 비해 당뇨 대조군은 351.23±68.34 mg/dl로 유의적인 증가를 나타내었으나, 더덕 뿌리 추출물을 투여한 군에서는 88.43±32.58 mg/dl로 유의적인 감소를 나타내었다. Total cholesterol 함량도 정상군의 82.60±6.23mg/dl에 비해 당뇨 대조군에서 150.76±10.52 mg/dl 로 유의적인 증가를 나타내었으나, 더덕 뿌리 추출물을 투여한 실험 군에서는 79.43±8.61 mg/dl로 유의적인 감소를 나타내

었다. HDL-cholesterol은 말초조직으로부터 cholesterol을 간장으로 운반하고 LDL-cholesterol이 혈관 벽에 축적되는 것을 방지할 뿐 만 아니라 혈관 벽에 축적된 cholesterol을 제거함으로써 동맥경화를 방지한다고 알려져 있다.

본 실험 결과 Table 2와 같이 정상군이 110.31±9.45 mg/dl 비해 당뇨대조군은 58.26±6.17 mg/dl로 유의적인 감소를 나타내었다. 이는 당뇨병 유발시 HDL-cholesterol 함량이 감소한다는 보고 [15,16]와 유사한 결과를 나타내었다. 더덕 뿌리 추출물을 투여한 군에서는 당뇨대조군에 비해 유의적인 증가를 나타내었다. 따라서 더덕 뿌리 추출물이 지질대사 개선에 효과가 있는 것으로 사료된다.

3.4. 당대사 반응에 미치는 영향

3.4.1. 간 조직중의 Glycogen 함량

STZ에 의해 당뇨가 유발된 쥐에서는 glycogen synthase phosphatase활성의 감소[17]와 장의 β -세포 파괴에 의한 인슐린 분비 부족으로 glycogen phosphorylase가 활성화되어 glycogen 분해가 증대되어 간의 glycogen 함량이 감소한다는 meglasson등의 보고[17]에 따라 간 내의 glycogen 함량은 Table 3과 같이 정상군의 조직 내 253.74±86.29 mg/g 와 비교하여 당뇨대조군에서 53.25±19.48 mg/g 로 유의적인 감소를 나타내었다. 그러나 더덕 뿌리 추출물 투여 군에서 214.95±24.56mg/g로 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 혈당저하 실험에서 더덕 뿌리 추출물 투여군에서 유의적인 혈당저하 효과가 간의 glycogen 함량을 증가시킨 것으로 사료된다.

Table 4. The Activities of The Cytosolic Glucose-6-phosphatase(glucose-6-pase), Glucose-6-phosphate dehydrogenase(glucose-6-PDH), and Glucokinase(GK) in Normal and Diabetic Rats Fed on Ethanol Extract of *Codonopsis lanceolata*(C.L) Root

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	Glucose-6-Pase ¹⁾	Glucose-6-PDH ²⁾	Glucokinase ³⁾
Normal	-	8.23±0.18 ⁴⁾	0.09±0.01	0.17±0.03
STZ ⁵⁾ -control	-	15.18±0.34 [#]	0.02±0.01 [#]	0.03±0.01 [#]
STZ+C.L ⁶⁾ root	1,000	9.06±0.15 [*]	0.04±0.01 [*]	0.22±0.07 [*]

¹⁾Glucose-6-phosphatase: nmole/mg/protein/min

²⁾Glucose-6-phosphate dehydrogenase: moles/mg/protein/min

³⁾nmole/mg/protein/min

^{4,5,6)} See the legend of Table 1.

3.4.2. Glucose-6-phosphatase(G-6-Pase) 활성

간 조직에서 glucose-6-phosphate를 glucose로 합성 시 촉매반응에 관여는 당신생합성과정의 첫 번째 효소인 G-6-pase 활성은 Table 4와 같다. 정상군 8.23±0.18nmol/mgprotein/min 인 것에 비하여 당뇨 대조군은 15.18±0.34nmol/mg protein/min로 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 당뇨동물에서 고혈당 현상과 함께 혈장의 protein kinase 활성도와 insulin농도는 감소하였으나 G-6-pase 활성도는 증가하였다는 Ghosh등의 보고[18]와 유사하였다. 본 실험결과 더덕 뿌리 추출물 투여군에서 유의적인 감소를 나타내었다.

3.4.3. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH)활성

G-6-PDH의 활성은 Table 4와 같다. 정상군이 0.09±0.01 unit/mg protein/min인 것에 비하여 당뇨 대조군은 0.02±0.01 unit/mg protein/min로 유의적인 감소를 나타내었다. G-6-PDH는 체내의 모든 세포에 존재하며 glucose 대사과정의 pentose phosphate pathway로 들어가는 최초의 과정에 관여하는 효소이며, 또한 GSH-Px가 GSSG를 GSH로 환원시키는데 필요 NADP를 생성하는 효소로서[18], STZ투여에 의해 당뇨가 유발된 군은 G-6-PDH의 효소 활성 감소에 따라 ribose-5-phosphate와 NADPH의 생성 감소를 유발하며 이러한 일련의

대사 변화는 당뇨 유발시 환원력의 감소로 인한 세포막의 구조변화와 여러 세포내 소기관의 구조변형을 유발시키며 세포의 증식 및 성장의 감소에 영향을 미친다. 본 실험 결과, 더덕 뿌리 추출물 투여 군에서 당뇨대조군과 비교하여 유의적인 증가를 나타내었다.

3.4.4. 간 조직중의 Glucokinase(GK) 활성

해당 작용의 첫 단계 주요조절 효소인 glucokinase는 hexokinase group의 isozyme들 중 하나로서 간세포와 췌장의 β -세포에만 존재하며 두 조직의 당대사 조절에서 주요한 역할을 한다. glucokinase는 hexokinase 보다 당에 대해 높은 특이적 기질농도 값(Km)을 갖고 있어서, 혈당의 변화에 따라 당 산화속도를 적절히 변화시킬 수도 있고, 영양 상태나 호르몬 상태에 따라 그 활성도가 변화되어서 간의 총 당인산화 능력의 변화에 기여한다. 간 조직에서 glucose의 인산화를 촉매하여 glucose-6-phosphate로 만드는 당분해 과정에 관여하는 효소인 GK의 효소활성은 Table 5와 같다. 정상군의 0.17±0.03nmol/mg/protein/min와 비교하여 당뇨대조군에서 0.03±0.01nmol/mg/protein/min를 나타내어 유의적인 감소를 나타내었으나 더덕뿌리 추출물 투여군에서 0.22±0.07nmol/mg protein/min로 유의적으로 증가하여 비정상적인 당대사 반응을 정상화 시켜 주고 있음을 알 수 있었다.

4. 결론

STZ투여로 당뇨가 유발된 흰쥐에게 더덕 뿌리 에탄올 추출물을 1000mg/kg, b.w.의 용량으로 1일, 1회, 7일간 투여한 결과 혈당지하 및 몇 가지 당대사 효소를 분석한 결과 다음과 같았다.

1. STZ투여로 증가된 혈당치는 더덕 뿌리 에탄올 추출물 1000mg/kg, bw 투여에 의해 유의적인 감소를 나타내었다.
2. STZ 투여로 감소된 Glycogen함량과, Glucose-6-phosphate dehydrogenase 활성과, Glucokinase 활성도가 더덕 뿌리 에탄올 추출물로 인하여 유의적인 증가를 나타내었고, 증가된 Glucose-6-phosphatase 활성도는 유의적인 감소를 나타내었다.

이와 같이, 더덕 뿌리 추출물을 1000mg/kg, b.w.의 용량으로 투여한 결과 혈당 저하와 정상적인 몇 가지 당 대사 활성을 갖는 유효 성분을 함유하고 있음을 알 수 있었다

References

1. S. J. Moon, Korean disease and nutrition pattern. *Korean J. Nutr.* **29**, 381(1996).
2. Ministry of health and welfare. Korea centers for disease control and prevention. *korea health statics* (2013).
3. V. A. Kowitzo, Insulin therapy in type II diabetes. *Diabetes care* **16**, 29 (1993).
4. C. M. Kim, M. H. Chung, Pharmacognostical studies on *codonopsis lanceolata* on lymphocyte and clonal macrophage. *Korean J. Pharmacol.* **6**, 43 (1975).
5. W. S. Hong, J. S. Lee, S. Y. Ko, Y. S. Choi, A study on the perception of *Codonopsis lanceolata* dishes. *Korean J. Food cookery Sci.* **22**, 181 (2006).
6. Lee. J. H. Immunostimulative effect of hot-water extract from *Codonopsis lanceolata* on lymphocyte and clonal macrophage. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 732 (2002).
7. S. D. Park, G. H. Lee, Y. S. Lee, Y. K. Kwon, J. H. Park, S. M. Chio, S. W. Shin, Comparison of immunomodulatory effects of water-extracted *Adenophorae radix*, *Lriopsis tuber*, *Dendrobii herba*, *Polygonati odorati rhizoma*. *Korean J. oriental physiology & pathology* **21**, 414 (2007).
8. E. G. Han., S. Y. Cho, Effects of *Codonopsis lanceolata* water extract on the activities of antioxidative enzymes in carbon tetrachloride treated rats. *J. Korean soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 1181(1997).
9. E. G. Han, I. S. Sung, H. G. Moon, S. Y. Cho, Effects of *Codonopsis lanceolata* water extract on the level of lipid in rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**:940 (1998).
10. N. Y. Kim., H. S. Chae, I. S. Lee, D. S. Kim, K. T. Seo, S. J. Park, Analysis of chemical composition and antioxidant activity of *Codonopsis lanceolata* Skin. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutri.* **39**, 1627 (2010).
11. O. K. Kim, Antidiabetic and antioxidative effects of *Lylis fructus* in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Oil Chemist's soc.* **25**, 73(2008).
12. J. R. Williamson, K. Chang, M. Franges, K. S. Hasan, Perspectives in diabetic hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications. *Diabetes*, **42**, 801 (1993).
13. N. M. G. Ornera, R. bevery, O. collins, P. B. Johnson, A.H, Tomkin, G.H, Choi, Metabolism in alloxan-induced diabetic rabbits. *Diabetes*, **39**, 626 (1990).
14. S. Y. Cho, J. Y. Park, E. M. Park, M. S. Choi, M. K. Lee, S. M. Jeon, M. K. Jang, M. J. Kim, Y. B. Park, Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. *Clin. Chim. Acta.*, **317**, 109 (2002).
15. R. B. Goldberg, Lipid disorders in diabetes.

- Diabetes Care*, **4**, 561 (1981).
16. K. M. West, M. M. S, Ahuja, P. H. Bennett, The role of circulating glucose and triglyceride concentration and their interaction with other "risk factor" as determinants of atherosclerotic disease in nine diabetic population samples from WHO multinational study. *Diabetes Care*, **6**, 361 (1983).
 17. M. D. Meglasson, P. T. Burch, D. K. Berner, H. Najafi, F. M, Matschinsky, Identification of glucokinase as an alloxan-sensitive glucose sensor of the pancreatic- β -cell. *Diabetes* **35**, 1163 (1986).
 18. R. Ghosh, B. Mukherjee, M. A, Chatterjee, A novel effect of selenium on streptozotocin induced diabetic mice. *Diabetes Res.*, **25**, 165 (1994).
 19. S. Himeno, A. Takekawa, N. Imura, Special difference in hydroperoxide scavenging enzyme with special reference to glutathione peroxidase in guinea-pigs. *Com p. Biochem. Physiol. B.*, **104**, 27 (1993).