

**ORIGINAL ARTICLE****Antidiabetic and Antioxidative Effects of Bitter Melon on Streptozotocin-induced Diabetic Rats**Yeon-Jeoung Kim<sup>1</sup>, Soo-Gyoung Wang<sup>1</sup>, Un-Kyu Park<sup>2</sup>, Ji-Hye Oh<sup>2</sup>, Seock-Yeon Hwang<sup>2</sup><sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, Daejeon University, Daejeon, Korea<sup>2</sup>Department of Biomedical Laboratory Science, Daejeon University, Daejeon, Korea**당뇨유발 흰쥐에 있어 여주분말의 항당뇨 및 항산화작용에 대한 연구**김연정<sup>1</sup>, 왕수경<sup>1</sup>, 박운규<sup>2</sup>, 오지혜<sup>2</sup>, 황석연<sup>2</sup><sup>1</sup>대전대학교 식품영양학과, <sup>2</sup>대전대학교 임상병리학과**ARTICLE INFO**Received September 22, 2019  
Revised 1<sup>st</sup> November 2, 2019  
Revised 2<sup>nd</sup> November 8, 2019  
Revised 3<sup>rd</sup> November 15, 2019  
Accepted November 15, 2019**Key words**Antioxidant enzymes  
Bitter melon  
Blood glucose  
Diabetes melitus  
HbA1c**ABSTRACT**

The purpose of this study was to determine the antidiabetic and antioxidative effects of Bitter melon on streptozotocin-induced diabetic rats. The normal and the control groups were fed an AIG -93M diet, and the Bitter melon groups were fed 1%, 2% and 3% Bitter melon powder. After two weeks, the control and the experimental group were induced to a diabetic state with the administration of streptozotocin. The blood glucose control and antioxidant activity were analyzed after the animals were sacrificed. The blood glucose levels of all the Bitter melon groups were lower than those of the control group, and the 2% Bitter melon group showed significantly lower blood glucose levels than those of the control group. Serum Triglyceride and HDL-cholesterol of the 2%, and 3% Bitter melon groups were significantly lower than those of the control group. The total cholesterol levels of the bitter melon groups were significantly lower than those of the control group. The serum insulin levels of the induced groups were significantly lower than those of the normal group. The HbA1c levels of the 2% and 3% Bitter melon groups were significantly lower than those of the control group. For the level of antioxidant enzymes in the liver tissues, the 2% Bitter melon group was significantly higher than that of the control group. These results show the antidiabetic and antioxidative effects of Bitter melon for the prevention and treatment of diabetes.

Copyright © 2019 The Korean Society for Clinical Laboratory Science. All rights reserved.

**서론**

당뇨병은 인슐린의 분비와 그 작용 부족으로 혈액 내에 glucose가 다량 존재하여 고혈당상태에 이르게 되는 내분비계 질환이다[1]. 혈중 내 포도당이 세포 내로 들어가지 못하여 고혈당이 초래되고, 지방대사이상으로 혈중 지단백과 유리지방산의

농도 상승으로 고지혈증이 초래되면 지질 과산화에 따라 혈관 내 유리 라디칼의 발생을 촉진하여 체내 방어기전 저하와 유리 라디칼에 의한 조직 손상을 야기한다. 당뇨병의 혈관합병증 발생은 산화적 스트레스와 상관도가 높다[2]. 고혈당은 여러 생화학적 경로로 당뇨병 환자의 산화적 스트레스에 대한 감수성을 높여 생체의 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 생성을 일으켜 합병증의 주된 기전으로 제시되고 있다[3-5]. 산화적 스트레스는 주요 합병증인 고혈압, 심근경색증 등 관상동맥 질환, 뇌졸중을 일으키며 망막 질환으로 인한 실명, 만성신부전 증 등 여러 가지 합병증 발생을 유발하며 심각한 결과를 초래할

\* Corresponding author: Seock-Yeon Hwang

Department of Clinical Laboratory Science, Daejeon University, 62 Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon 34520, Korea

E-mail: syhwang@dju.kr

\* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9786-7844>

수 있다[6].

여주의 학명은 *Momordica charantia L.*이며, 박과 식물로서 미국에서는 bitter melon, bitter gourd, bitter squash로 불리고 있다. 여주에 많이 함유된 폴리펩티드인 poly-peptide-p는 식물 인슐린으로 알려져 있으며 체내에서 인슐린과 비슷한 작용을 하는 펩타이드의 일종이다. 식물 인슐린은 간에서 포도당의 연소를 돕고, 또한 포도당이 체내에서 재합성되지 않도록 하여 당뇨병에 효과가 있는 성분이다[7]. 여주의 과실과 종자에 주로 함유되어 있는 지용성 물질인 카란틴은 췌장의 β 세포에 작용하여 인슐린의 분비를 촉진하고 세포 내로 포도당 유입을 증가시켜 포도당 이용을 증대시킨다. 이 두 물질이 함께 제2형 당뇨병 환자의 혈당을 낮춰주는 역할을 하는 것으로 보고되고 있다[8-10]. 여주의 쓴맛에는 식물스테롤 배당체들과 많은 종류의 아미노산, 갈락트론산, 시트룰린, 펙틴 등의 성분이 들어 있어 이 성분들도 혈당 강하 기능이 탁월한 것으로 알려져 있다. 아시아, 아프리카, 남미 등지에서 당뇨치료로 널리 사용되어져 왔다. 여주는 엽산, 비타민 C의 좋은 급원식품이며, β-케로틴, 루테인, 제아잔틴과 같은 플라보노이드, 비타민 A의 좋은 급원으로 항산화 작용을 하는 영양소 성분이 많이 함유되어 있어 항산화 효과를 보이는 것으로 보고되고 있다[11]. 혈당 저하에도 효과가 있고 항산화성을 가진 여주가 효과적으로 두 기능을 다 나타낸다면 당뇨병 환자의 혈당을 저하시키면서 혈관의 산화스트레스를 감소시켜 합병증도 예방될 것으로 본다. 따라서 본 연구에서는 당뇨 유발 흰쥐에서 여주 분말식이의 혈당 조절과 항산화능을 살펴봄으로써 여주의 당뇨병 치료와 합병증 예방에 대한 건강 기능성 식품으로서의 효과를 알아보려고 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

#### 1) 재료 및 실험식이

본 실험에 사용한 여주는 아시아농장(경기도 부천시)에서 구입하여 사용하였다. 구입한 여주는 동결건조기(OPR-FDB-5503, (주)오펜)로 동결 건조한 후 가루를 내어 식이에 섞어 공급하였다.

여주의 식품구성 성분표를 참조하여 AIN-93M 조제 식이를 바탕으로 영양성분을 계산하여 조정한 후 각각의 해당분말 1%, 2%, 3%를 섭취하도록 하였다. 또한 1,000 g을 맞추기 위해 단백질, 지질, 식이섬유소에서 남거나 모자라는 것은 corn starch로 가감하였다(Table 1, 2). 이 때, 다른 여러 물질의 혼입이 미치는 영향을 보기 위해 정상군과 대조군은 AIN-93M 식이를 공급하였다. 5주 동안 실험 식이를 공급하였으며, 식이 섭취량을 1주일 단위로 주당 1일 평균 식이 섭취량을 구하였다.

#### 2) 실험동물

실험동물은 Sprague-Dawley계 수컷 50마리(평균 체중 약 170~190 g)를 1주일간 적응 후 체중에 따라 난괴법으로 10마리씩 5군으로 나누어 1군의 정상군과 4군의 당뇨 유발군으로 분리하였다. 당뇨군은 당뇨 대조군과 여주 1%군, 여주 2%군, 여주 3%군으로 총 4군으로 나누었다. 정상군과 대조군은 5주간 AIN-93M 식이를 공급하였고, 당뇨 실험군은 각각의 해당 식이와 음수를 자유식으로 공급하였다. 본 동물 실험에 관련된 모든 실험 과정과 절차는 대전대학교 동물실험윤리위원회의 사전심의와 윤리 규정을 준수하여 수행되었다(DJUAB2011-032).

## 2. 실험 방법

#### 1) 당뇨 유발

여주 분말 식이 섭취가 당뇨 유발을 억제하는 효능을 평가하기 위해 실험 식이와 당뇨 유발 물질을 병용 투여를 진행하였다. 실험식이 공급을 시작하고 2주 후 streptozotocin (S0136 STZ Sigma Chemical Co, USA)을 pH 4.5 0.01 M citrate buffer에 녹인 후 50 mg/kg b.w. (2 mL, 200 g)로 1회 복강투여하여 당뇨를 유발시켰으며, 정상군은 동량의 citrate buffer 용액만 주사하였다. 주사 후 60/hr 후 꼬리 정맥에서 혈액을 채취하여 혈당을 측정하였으며, 혈당 수치가 200 mg/dL 이상 증가한 것을 당뇨가 유발된 것으로 간주하고 실험에 사용하였다[12].

#### 2) 간의 효소 활성 측정

혈청 내 알칼리성 인산가수분해 효소(alkaline phosphatase), 총콜레스테롤(total cholesterol)을 포함한 생화학적 검사를

Table 1. Percent composition of each diet (g)

Bitter melon	Carbohydrate	Protein	Fat	Cellulose
Per 100	3.9	1.0	0	2.6
1	0.6	0.1	0	0.4
2	1.2	0.2	0	0.8
3	1.8	0.3	0	1.2

**Table 2.** Composition of experimental diets

Ingredient	Group				
	NC	STZ	BM1	BM2	BM3
Corn starch	620.7	620.7	620.2	619.7	619.2
Sucrose	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Casein	140.0	140.0	139.9	139.8	139.7
Cellulose	50.0	50.0	49.6	49.2	48.8
Soybean oil	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
Mineral mixture*	35.0	35.0	35.0	35.0	35.0
Vitamin mixture <sup>†</sup>	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
L-cystine	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
Choline bitarte	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Bitter melon powder	0	0	1.0	2.0	3.0
Total	1,000.0	1,000.0	1,000.0	1,000.0	1,000.0

Abbreviations: NC, normal control; STZ, Streptozotocin-induced Diabetic Rats; BM1, STZ with bitter melon powder 1%; BM2, bitter melon powder 2%; BM3, bitter melon powder 3%.

\*Salt mixture ingredients (mg/kg mixture): Calcium phosphate (CaHPO<sub>4</sub>) 500, Sodium chloride 74, Potassium citrate, monohydrate 220, Potassium sulfate 52, Magnesium oxide 24, Manganous carbonate 3.5, Ferric citrate 6, Zinc carbonate 1.6, Cupric carbonate 3, Potassium iodate 0.01, Sodium selenite 0.01, Chromium potassium sulfate 0.55, Sucrose finely powdered to make 1,000 g.

<sup>†</sup>American Institute of Nutrition vitamin mixture ingredients (per kg mixture) : Thiamin HCl 600 mg, Riboflavin 600 mg, Pyridoxine HCl 700 mg, Nicotine acid (nicotinamide is equivalent) 3 g, D-Calcium pantothenate 1.6 g, Folic acid 200 mg, D-Biotin 20 mg, Cyanocobalamine (Vitamin B12) 1 mg, Retinal palmitate or acetate (Vitamin A)-as stabilized powder to provide 400,000 IU vitamin activity or 120,000 retinol equivalents, DL- $\alpha$ -Tocopherylacetate (Vitamin E)-as stabilized powder to provide 5,000 IU vitamin E activity, Cholecalciferol 2.5 me (100,000 IU. May be in power form), Menaquinone (Vitamin K) 5.0 mg, Sucrose, finely powdered to make 1,000 g.

생화학 자동분석기(Hitachi-7180, Hitachi Medical, Japan)를 이용하여 측정하였다. 모든 실험 과정과 검사법은 진단검사 의학적 가이드라인에 준하여 실험하였다.

### 3) 인슐린과 당화혈색소의 측정

혈당치는 주 1회 12/hr 절식 후 꼬리 정맥에서 혈당측정기(주)를 메디쿠스(GlucoDr AGm-2100, Korea)을 이용하여 측정하였다. 포도당 내성검사는 5주째 부검 1일 전에 12/hr 절식 시킨 후 혈당을 측정하고 곧바로 5% 포도당(2 g/kg.bw)을 복강 투여한 후 30, 60, 90, 120분에 혈당을 측정하였다. 혈청의 인슐린의 농도는 <sup>125</sup>I-insulin 동물용 kit (RADIUM, USA)를 이용하여 방사면역측정법(radioimmunoassay)을 이용하여 측정하였다. 당화혈색소의 양은 일반 혈액검사를 시행하고 남은 시료를 HPLC (Bio Rad, USA) 방법을 이용하여 측정하였다.

### 4) 간 조직에 대한 지질과산화 및 항산화 효능

Bansal 등(1983)의 방법에 따라 적출한 간을 잘게 썰고 150 mM KCl을 함유한 30 mM Hepes 완충액(pH 7.4)으로 5배 희석하여 균질화한 다음 700 g로 20분간 원심 분리하여 상등액을 얻었다. 그 상등액을 11,000 g로 30분간 고속원심 분리하여 pellet을 제거하였다. 그 상등액을 다시 105,000 g로 60분간

초원심분리하여 세포질 분획을 얻었으며, pellet은 130 mM KCl 함유 Hepes 완충액으로 씻어낸 다음 같은 완충액으로 재균질하여 마이크로솜 분획을 얻었다[13]. 한편 간 조직의 수퍼옥사이드 디뮤타제(superoxide dismutase)의 활성도는 Crapo 등의 방법, 카탈라제(catalase)의 활성도는 Aebi의 방법, 글루타티온 S- 전달효소(glutathione-S-transferase)의 활성도는 Habig 등의 방법, 글루타티온 S- 전달효소(glutathione-S-transferase)의 함량은 Uchiyama 등의 방법과 Ellman 등의 방법에 따라 측정하였으며, MDA의 함량은 Suematus 등의 방법에 따라 시험관에 20% acetic acid 1.5 mL, 81% SDS 0.225 mL, 증류수 0.075 mL, 1.2% TBA 용액 1 mL, 그리고 간의 균질액, cytosol, 혹은 microsome을 각각 넣었다. 반응액은 100°C/30분 가열 후 원심분리(3,000 rpm, 10 min)하여 상등액에 대하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였으며 검량선은 말론디알데하이드(malondialdehyde)를 사용하여 환산하였다[14-18].

또한 마이크로솜의 지질과산화도를 비교하기 위하여 NADPH 0.1 mM과 ADP-Fe<sup>2+</sup> (ADP 0.5 mM, Fe<sup>2+</sup> 0.02 mM)을 첨가하고 시험관에 마이크로솜을 넣은 후 각각 37°C에서 0, 5, 10, 30, 60분 반응 시켜 위와 동일한 방법으로 말론디알데하이드(malondialdehyde) 함량 변화를 측정하였다. 모든

시험 항목에 대해서는 3번을 공히 반복 측정하여 각각의 농도를 구하였다.

5) 조직 병리학적 평가

조직 병리학적 검사를 위하여 장기 적출 시 육안 관찰 후 무게를 측정하고 10% 중성 완충 포르말린(10% nature buffer formalin, BioGnost, Zagreb, Croatia)에 고정시킨 후 통상적인 방법으로 파라핀에 포매한 다음 4 μm 두께로 박절하고 헤마톡실린-에오신(hematoxylin-eosin)염색을 실시한 후 광학 현미경으로 검경하였다. 모든 실험 과정과 검사법은 진단병리학적 표준작업지침서에 준하여 실험하였다.

6) 통계 처리

실험 결과는 PASW (version 19.0)을 이용하여 실험군마다 평균과 표준편차를 구하였고, One-way analysis of variance (ANOVA) t-test를 한 후 Duncan's multiple-range test에 의하여 각 실험군 간의 유의차 검증을 확인하였다.

결 과

1. 음수, 사료 섭취량 및 체중 변화에 미치는 영향

식이 섭취량, 식이 이용효율과 체중의 변화는(Table 3, Figure 1)과 같다. 정상군은 실험 기간이 길어질수록 식이 섭취량이 증가하고 체중이 증가하여 식이 효율이 가장 높았다. 당뇨 대조군은 식이 섭취량이 증가하지 않았고 당뇨 유발 후엔 체중이 감소하는 경향을 보였다. 여주 섭취 군은 당뇨 유발 후에도 식이 섭취량이 증가하는 경향을 보였고 체중이 점차 증가하였으며 특히 2% 여주군에서는 유의한 차이를 보였다( $P<0.05$ ).

2. 생화학적 검사에 미치는 영향

혈청 생화학적 수치를 볼 때 알칼리성 인산가수 분해효소(alkaline phosphatase)의 수치의 참고치는  $113\pm44$  U/L이며 정상군, 당뇨대조군 그리고 당뇨 실험군을 비교하였을 때, 당뇨 대조군과 당뇨 실험군 중 여주 1% 군에서 유의적으로 증가하였고, 당뇨 대조군과 당뇨 실험군을 비교하였을 때, 모든 당뇨 실험군이 당뇨 대조군보다 유의적으로 낮은 수치를 보였다.

혈당(glucose)의 참고치는  $123\pm38$  mg/dL로 당뇨 대조군이 정상군에 비해 유의적으로 높았으나( $P<0.05$ ), 당뇨 유발 전후로 여주 투여군에 있어서 정상군보다 혈당이 높은 경향은 보이나 유의적 차이를 보이지 않았다.

고밀도지질단백질-콜레스테롤(high density lipoprotein cholesterol)의 수치는 정상군에 비해 모든 당뇨 유발 군이 유의적으로 높은 수치를 나타내었다( $P<0.05$ ). 당뇨 대조군과 당뇨 실험군 간 비교하였을 때에는 여주 2% 군에서만 유의적인 감소를 보였다( $P<0.05$ ).

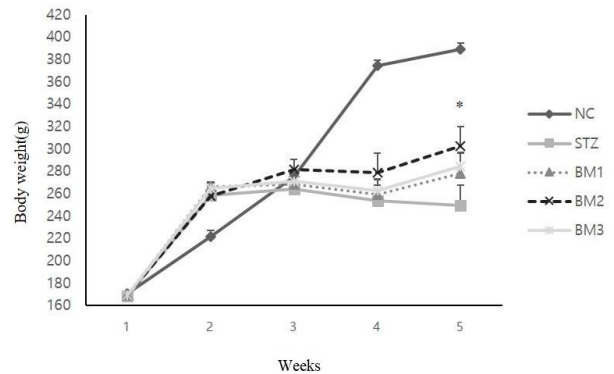


Figure 1. Body weight gain of the rats fed experimental diets. Abbreviations: NC, normal control; STZ, Streptozotocin-induced Diabetic Rats; BM1, STZ with bitter melon powder 1%; BM2, bitter melon powder 2%; BM3, bitter melon powder 3%.

Table 3. Dietary intake and feed efficiency ratio (FER) of the rats fed experimental diets

Group	Weeks (g)					FER
	1	2	3	4	5	
NC	23.2±4.7 <sup>bc</sup>	24.8±7.7 <sup>a</sup>	28.8±1.6 <sup>b</sup>	29.0±1.8 <sup>c</sup>	29.1±1.1 <sup>b</sup>	158.1±113.5*
STZ	20.4±3.9 <sup>c</sup>	20.4±7.3 <sup>a</sup>	21.7±9.6 <sup>a</sup>	17.5±3 <sup>bc</sup>	22.8±5.4 <sup>a</sup>	77.8±138.9
BM1	22±5.3 <sup>b</sup>	23.8±7.8 <sup>a</sup>	26.0±3.6 <sup>b</sup>	28.2±3.5 <sup>bc</sup>	29.7±0.4 <sup>b</sup>	91.7±121.1
BM2	25.8±2.5 <sup>c</sup>	26.0±7.4 <sup>a</sup>	29.4±2.8 <sup>ab</sup>	30.8±4.6 <sup>a</sup>	30.1±1.4 <sup>b</sup>	98.6±82.9
BM3	21.2±8.9 <sup>a</sup>	24.4±2.9 <sup>b</sup>	26.7±2.5 <sup>ab</sup>	26.8±4.1 <sup>b</sup>	27.0±1 <sup>b</sup>	96.7±115.3

Mean±Standard deviation.

Abbreviations: See Table 2; FER, food efficiency ratio.

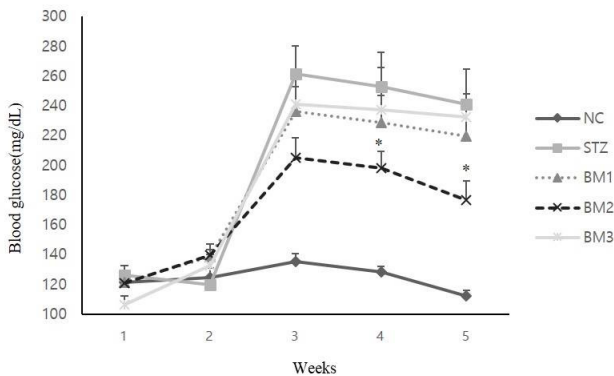
\*Values within a column are not significant at  $P<0.05$  level by Duncan's multiple range test.

<sup>a,b,c</sup>Values with different alphabet within the column are significant different at  $P<0.05$  level by Duncan's multiple range test.

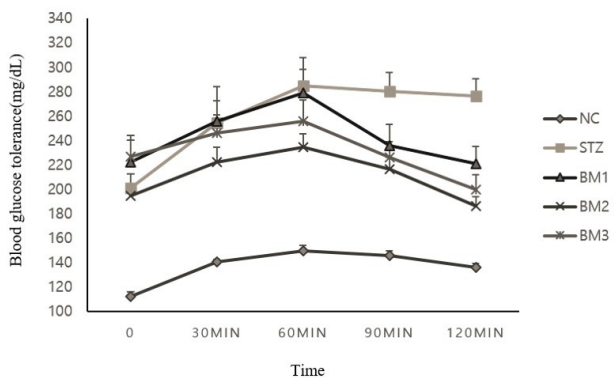
크레아티닌(creatinine) 수치의 참고치는  $0.3 \pm 0.1$  mg/dL로 당뇨 대조군이 정상군보다 유의적으로 높게 나타났으며 ( $P < 0.05$ ) 당뇨 대조군과 당뇨 실험군을 비교하여 여주 1% 군이 당뇨 대조군보다 유의적으로 낮게 ( $P < 0.05$ ) 나타났다 (Table 4).

### 3. 당질 관련 효소 대사에 미치는 영향

혈당은 실험 3주째부터 혈장 포도당의 수준은 STZ-유도로



**Figure 2.** Levels of blood glucose the rats fed experimental diets. Abbreviations: See Figure 1.



**Figure 3.** Change in blood glucose tolerance of the rats fed experimental diets. Abbreviations: See Figure 1.

모든 당뇨 유발 군이 정상군에 비해 유의적으로 증가 ( $P < 0.05$ ) 하였다 (Figure 2). 당뇨 유발 군에서 당뇨 대조군과 당뇨 실험군 간의 차이를 살펴보면, 실험 3주차까지는 유의적인 차이가 없으나 당뇨 대조군보다 당뇨 실험군의 혈당이 낮은 경향을 보였으며 4, 5주차에는 여주 2% 군이 당뇨 대조군보다 유의적으로 낮은 혈장 포도당 함량을 나타내었다 ( $P < 0.05$ ).

실험동물의 포도당 내성검사의 결과는 Figure 3과 같다. 정상군과 당뇨유발군 간을 비교하면, 모든 군마다 당뇨 유발군이 정상군보다 유의적으로 높은 혈당치를 나타내었으며 당뇨 대조군과 당뇨 실험군을 비교하였을 때, 당뇨 실험군 모두 60분 후부터 감소하는 경향을 보였고 여주 1% 군은 120분 후에 유의적인 감소를 보였으며, 여주 2% 군과 여주 3% 군은 90분 후부터 유의적인 감소를 보였다.

간 조직에서의 인슐린과 당화혈색소의 변화는 Table 5와 같다. 인슐린의 수치는 정상군에 비하여 당뇨 유발군의 인슐린 함량이 유의적으로 낮았다 ( $P < 0.05$ ). 당뇨유발군간의 유의적인 차이는 없었으나, 여주 2% 군의 수치가 다른 군에 비해 높았다. 당화혈색소는 당뇨 유발군이 정상군에 비하여 모두 그 수치가 높게 나타났다 ( $P < 0.05$ ). 당뇨 대조군과 당뇨 실험군을 비교하였을 때에는 당뇨 실험군 중 여주 2% 군과 여주 3% 군에서 유의적으로 감소하였다 ( $P < 0.05$ ).

**Table 5.** Insulin and HbA1c of the rats fed experimental diets

Group	Insulin (ng/mL)	HbA1c (%)
NC	$4.02 \pm 22^c$	$2.86 \pm 0.44^a$
STZ	$2.91 \pm 0.62^a$	$4.57 \pm 0.62^c$
BM1	$3.14 \pm 19^{ab}$	$3.97 \pm 23^b$
BM2	$3.42 \pm 28^b$	$3.74 \pm 25^b$
BM3	$3.28 \pm 27^{ab}$	$3.82 \pm 26^b$

Mean  $\pm$  Standard deviation.

Abbreviations: See Table 2; HbA1c, glycated hemoglobin.

<sup>a,b,c</sup> Values with different alphabet within the column are significantly different at  $P < 0.05$  level by Duncan's multiple range test.

**Table 4.** Change in serum ALP, GLU, HDL, CREA in the rats fed experimental diets

Group	ALP (IU/L)	GLU (mg/dL)	HDL-C (mg/dL)	CREA (mg/dL)
NC	$195.0 \pm 42.4^a$	$111.4 \pm 20.6^a$	$15.75 \pm 3.65^a$	$0.42 \pm 0.09^{ab}$
STZ	$618.3 \pm 322.9^b$	$307.4 \pm 108.3^b$	$30.78 \pm 6.26^c$	$0.50 \pm 0.04^{bc}$
BM1	$349.0 \pm 165.9^a$	$175.8 \pm 88.7^a$	$29.44 \pm 8.80^c$	$36 \pm 0.09^a$
BM2	$229.5 \pm 63^a$	$132.3 \pm 36.2^a$	$22.40 \pm 7.57^b$	$0.46 \pm 10^{bc}$
BM3	$325.4 \pm 183.6^a$	$141.9 \pm 28.0^a$	$26.13 \pm 5.03^{bc}$	$0.52 \pm 12^c$

Mean  $\pm$  Standard deviation.

Abbreviations: See Table 2; ALP, alkaline phosphatase; GLU, glucose; TG, triglyceride; T-CHO, total cholesterol; HDL, HDL-cholesterol; CREA, Creatinine.

<sup>a,b,c</sup> Values with different alphabet within the column are significantly different at  $P < 0.05$  level by Duncan's multiple range test.

4. 항산화 관련 효소 대사에 미치는 영향

실험동물의 간 조직을 이용하여 여러 항산화 효소들의 활성 능력을 알아보려고 하였다(Table 6).

수퍼옥사이드 디뮤타제(superoxide dismutase) 농도는 정상군과 당뇨 유발 군을 비교하였을 때, 당뇨 대조군과 당뇨 실험군 중 여주 1% 군에서 유의적으로 낮은 것을 볼 수 있었다( $P < 0.05$ ). 당뇨 대조군과 당뇨 실험군을 비교하여 당뇨 대조군에 비해 당뇨 실험군 중 여주 2% 군이 유의적으로 높게 나타났다.

카탈라제(catalase)의 농도는 모든 당뇨 유발군이 정상군보

다 유의적으로 높게 나타났으며, 당뇨 대조군과 당뇨 실험군을 비교하였을 때에는 여주 2% 군이 당뇨 대조군보다 유의적으로 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 글루타티온 S- 전달효소(glutathione-S-transferase)는 정상군과 당뇨 유발 군을 비교하여 정상군보다 당뇨 대조군과 여주 1% 군은 유의적으로 낮게 나타났고 여주 2% 군과 여주 3% 군은 유의적으로 높은 수치를 보였다( $P < 0.05$ ). 글루타티온(glutathione)의 수치에서는 여주 2% 군을 제외한 나머지 당뇨 유발 군이 정상군보다 유의적으로 낮은 수치를 보였고, 당뇨 대조군과 당뇨 실험군을 비교하였을 때에는 모든 당뇨 실험군이 당뇨 대조군보다 유의적으로 높게 나타났다

Table 6. Antioxidant enzymes of the rats fed experimental diets

Group	SOD (unit/mg)	CAT (nmol/min)	GST (nmol/g)	GSH (mol/g)	MDA (nmol/g)
NC	14.2±3.7 <sup>b</sup>	185.8±13.4 <sup>a</sup>	106.9±5.4 <sup>b</sup>	8.3±0.7 <sup>c</sup>	1.4±2 <sup>a</sup>
STZ	8.8±1.1 <sup>a</sup>	388.6±15.0 <sup>c</sup>	82.9±7.4 <sup>a</sup>	6.9±0.4 <sup>a</sup>	3.3±0.5 <sup>c</sup>
BM1	9.8±1.2 <sup>a</sup>	363.6±63 <sup>bc</sup>	88.2±10.8 <sup>a</sup>	7.5±2 <sup>b</sup>	3.2±1 <sup>bc</sup>
BM2	11.2±1.4 <sup>a</sup>	317.7±44.5 <sup>b</sup>	147.2±28.4 <sup>c</sup>	7.9±3 <sup>bc</sup>	2.8±3 <sup>b</sup>
BM3	11±2.6 <sup>a</sup>	358.1±32 <sup>bc</sup>	124.2±14.1 <sup>b</sup>	7.4±3 <sup>ab</sup>	3.1±2 <sup>bc</sup>

Mean±Standard deviation.

Abbreviations: See Table 2; SOD, superoxide dismutase; CAT, catalase; GST, glutathione S-transferase; GSH, glutathione peroxidase; MDA, malondialdehyde.

<sup>a,b,c</sup>Values with different alphabet within the column are significantly different at  $P < 0.05$  level by Duncan's multiple range test.

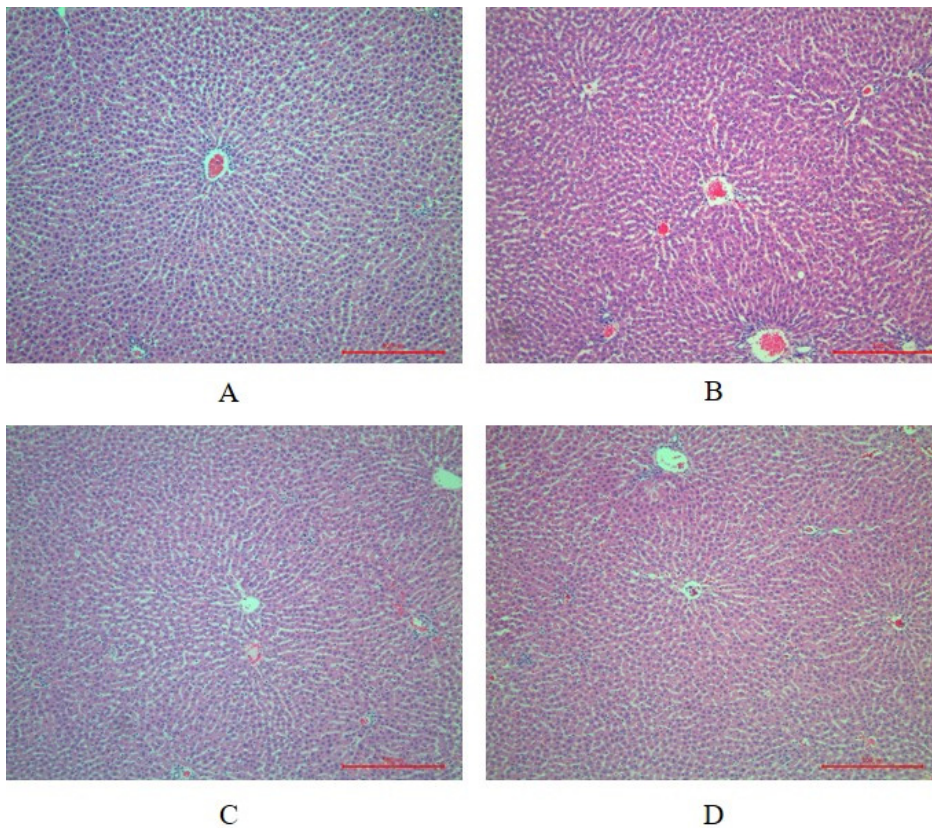


Figure 4. Hepatic histopathologic changes of central vein in the STZ-induced sinusoid and vacuolation change liver of rats. The liver sections were stained with hematoxylin and eosin (H&E stain, x100). A is normal control and B is streptozotocin-induced Diabetic Rats. C is Bitter melon powder 2% and D is Bitter melon powder 3%.

( $P < 0.05$ ). 말론디알데하이드(malondialdehyde)의 수치의 경우에는 모든 당뇨 유발 군이 정상군보다 유의적으로 높은 수치를 보였다( $P < 0.05$ ).

**5. 조직 병리학적 결과**

간의 조직병리학적 변화는 Figure 4와 같다. 간 조직에 있어 정상군의 경우 간소엽구조의 중앙에 중심 정맥이 위치하고, 간세포들이 간소엽의 가장자리를 향해 방사형으로 코드 모양의 배열을 보였으며, 문맥과 간소엽구조의 경계가 잘 이루어진 정상적인 구조를 보였다. 한편 당뇨 유발 군에서는 일부 간세포에서 동양 모양 혈관의 확장과 공포가 간헐적으로 관찰되었다. 반면 여주식이군 2%와 3%에서는 농도와 관계없이 공포형성이 억제됨을 볼 수 있었다.

**고 찰**

본 연구에서는 여주(Bitter melon)의 항당뇨 및 항산화 효과를 보고자 Sprague-Dawley계 수컷 50마리(평균 체중이 약 170~190 g)를 5군으로 나누어 정상군과 대조군은 AIG-93M 기본식을 제공하였으며 여주첨가군은 AIG-93M 기본식에 여주 분말을 1%, 2%, 3% 첨가한 식이로 5주간 사육하였다. 실험식이 섭취 2주 후 대조군과 실험군은 streptozotocin으로 당뇨 유발을 하였다.

실험동물에서 수컷을 사용한 이유는 암컷은 배란 주기를 가지고 있고 이로 인한 호르몬 차이에 의해 실험의 변동이 생길 수 있기 때문이다. 따라서, 안전성 평가와 같은 수컷과 암컷을 동시에 사용하는 실험을 제외하고는 수컷을 우선하여 선택해 실험을 하므로, 본 실험에서도 수컷을 선택하여 진행하였다.

최근 당뇨에 관한 연구들이 많이 시행되고 있는데 그와 관련하여 실험적 당뇨병 유발은 STZ를 주사하여 췌장의 기능을 하지 못하게 하여 인슐린 분비를 파괴하여 제 1형 당뇨를 유발하는 방법이 있다. STZ를 사용하여 유발한 1형 당뇨는 산화적 손상을 일으키는 활성산소종을 유발하는 것과 관련되어 있는데, 췌장의 베타세포는 활성산소종 노출에 의한 손상에 매우 취약하여 췌장의 항산화 효소 발현과 활성수준이 낮아져 활성산소종을 효율적으로 제거하지 못하여 당뇨병을 유발하는 것으로 알려져 있다 [19]. 이에, 본 실험에서는 STZ에 의한 당뇨 유발 흰쥐에 대한 항산화효과가 있는 것으로 알려진 여주 분말을 통해 항당뇨 및 항산화 효과를 함께 평가하고자 하였다.

다양한 동물 연구 결과 반복적으로 여주의 씨, 과육, 잎 및 전 식물체가 혈당 강하효과가 있는 것으로 밝혀졌다. 특히 여주는

쥐의 당 내성을 향상시켜주고 식후 고혈당을 억제하며, 여주 추출물은 인슐린 민감성 및 지질분해를 향상시킬 수 있었다. 풍부한 생화학 데이터로 인해 여주의 항당뇨작용의 가능한 기전이 설명되었는데 AMP 활성화 단백질 인산화효소 시스템의 활성화가 이 기전에서 반복되고 있는 부분이었다[20]. 여주는 글루코시다아제(glucosidase)와 엔테로톡신(enterotoxin) 활성을 억제함으로써 장내 글루코스 흡수를 억제할 수 있다. 또한 갑상선호르몬과 아디포넥틴(adiponectin)의 합성과 방출을 촉진하고, AMPK의 활성을 증가시킨다. 이 활성이 여주의 혈당 강하 기전으로 해석되고 있다[20]. 또한 여주는 슈퍼옥사이드 디스뮤타제(SOD), 카탈라제(catalase), nonprotein sulfhydryls의 활성을 증가시키고, 지질의 과산화를 감소시킨다[21]. 또한 여주는 JNK/p37 MAPKs에서 IκBα의 분해 및 인산화를 억제하여 NF-κB의 활성화를 억제하고, 이를 통해 염증을 억제하고 인슐린 신호전달경로를 개선하여, 결과적으로 인슐린 저항성을 개선할 수 있다[22, 23].

대부분의 추출물이나 단일성분의 항당뇨 효능 연구에서는 총 섭취량의 0.5~1% 또는 체중당 20 mg을 섭취 시켜 평가한다[24]. 본 연구에서는 저농도에서도 효과를 보였던 선행연구 결과를 참고하여 2%를 적정농도로 설정하였으며, 저농도 1%, 고농도 3%로 설정하여 여주의 항당뇨 효능을 평가하였다. 실험 결과 소량의 섭취만으로 우수한 항당뇨 효과를 보였으므로 여주가 당뇨병을 예방하고 억제하는데 더욱 효과적으로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

포도당에 대한 내성을 평가한 결과, 모든 당뇨 유발 군이 정상군보다 매분 혈당 수치가 유의적으로 높았고, 여주첨가군이 대조군보다 혈당수치가 유의적으로 낮았다. Kahn의 연구에서는 당뇨 유발 쥐의 고혈당 증상은 STZ가 췌장 β-세포의 포도당에 대한 신속한 인슐린 분비 반응을 손상시켜 당질 및 기타 대사이상으로 인해 발생하는 것으로, 인슐린 부족으로 인하여 혈액에서 조직으로의 당 유입이 감소되고, 간에서 혈액으로 당 배출이 증가하여 고혈당을 초래하였다[25]. 이를 통해 여주식이가 당뇨 유발물질인 STZ로부터 일어날 수 있는 고혈당을 억제하는 효과를 가지는 것을 확인할 수 있었다.

혈청 인슐린 수준은 정상군보다 당뇨 유발 군이 유의적으로 낮았으며, 당뇨유발 중 여주 2% 군이 가장 높았다. 당 대사의 조절에 있어서 가장 중요한 호르몬인 인슐린은 췌장의 β-세포에서 분비되어 표적세포의 인슐린 수용체와 결합하여 그 작용을 나타내게 된다. 인슐린의 분비 감소는 골격근의 포도당 섭취의 감소와 더불어 골격근의 주 에너지원이 지방으로 전환되는 등 당 대사에 많은 변화를 초래한다[26].

당화혈색소는 당뇨 유발 군이 정상군보다 높게 나타났고, 대조군보다 여주 2% 군과 여주 3% 군에서 유의적으로 낮았다. Allen 등은 당화혈색소가 정상인에서는 혈색소의 3~6%를 차지하며, 당뇨병 환자에서는 정상인보다 2~3배 증가되며, 대부분 HbA1c라고 하였다. 또한 주위의 혈당 농도에 비례하여 서서히 증가하므로 당화혈색소의 수치는 혈당의 변화를 반영할 수 있다[27].

생체가 보유한 항산화체계 중 효소 활성에 의해 생체내의 산화성물질을 무독화시킬 수 있는 대표적인 지표로는 슈퍼옥사이드 디뮤타제(SOD), 카탈라제(catalase), 글루타치온과산화효소(GSH peroxidase)이며 이중 혈액 및 조직 내 SOD와 GSH-Px 활성은 항산화 활성의 지표로 널리 사용되어 오고 있다. 실제로는 생체에 산화스트레스가 부과될 때 슈퍼옥사이드 디뮤타제(SOD), 카탈라제(catalase), 글루타치온과산화효소(GSH peroxidase)와 같이 산화체에 대응하는 효소의 활성은 증가하는 것으로 보고되고 있다. 이 밖에 조직 구성물의 산화적 손상의 결과를 측정하는 것은 매우 유효한 산화적 스트레스의 지표가 될 수 있다. 특히 지질의 과산화 측정은 이 목적으로 사용되는 대표적인 지표이다. 따라서 본 연구에서는 위의 항목을 포함하는 대표적인 항산화 지표 5가지 항목을 측정하였다[28].

항산화 관련 효소 대사를 측정한 결과, 간 조직에서 슈퍼옥사이드 디뮤타제(superoxide dismutase)의 수준은 대조군보다 여주 2% 군이 유의적으로 높게 나타났다. 슈퍼옥사이드 디뮤타제(superoxide dismutase)는 세포 내 호흡작용의 부산물로 생성되는 초과산화물 라디칼이 효소 반응에 의해 제거됨으로써 과산화수소가 세포 내에 축적되는 것을 막아 세포 내 항산화능을 증가시킨다는 기전에 따라 본 연구에서도 고지방식이에 의한 독성 물질에 의한 세포의 산화스트레스 저하에 따른 간 조직의 손상이 억제되어 활성이 증가한 결과로 생각된다. 반면 시험물질 투여군에서는 이러한 기전에 의하여 억제된 것으로 생각된다.

카탈라제(catalase)의 수준은 여주 2% 군이 대조군보다 유의적으로 낮게 나타났다. 간 조직에서 카탈라제(catalase) 함유량이 큰 것은 지방의 자동산화, 유기물의 산화 또는 슈퍼옥사이드 디뮤타제(superoxide dismutase)에 의해 생성된 과산화수소를 분해하기 위한 것이라는 보고 Kim에 따라 본 실험 결과 당뇨 유발 군에서 카탈라제(catalase) 활성도가 증가한 것으로 사료 된다[29].

말론디알데하이드(malondialdehyde) 수치의 경우에는 모든 당뇨 유발 군이 정상군보다 유의적으로 높은 수치를 보였다. 이는 STZ 투여로 인한 당뇨 유발 시 활성산소의 생성과 산화적 스트레스가 증가하여 조직 내의 과산화지질이 증가된 결과 간

조직에서 함량이 증가한다는 보고와 비슷한 결과를 나타내었다 [30, 31].

조직학적 소견에서는 간 조직의 경우 당뇨 유발 군에서 동양모양 혈관의 부분적인 확장고 일부 공포가 관찰되었다. 간조직에서의 혈관 확장은 혈액이 정상으로 보이는 내피세포로 둘러싼 공간에서 관찰되며 간세포에 의해 구분되어 있다. 혈관확장과 관련한 병인론은 일차적으로 모세혈관계 내피세포에 손상이 일어나고, 여기에 국소적 위축과 간세포 손실이 동반되는 것으로 생각된다. 또한 간조직의 공포는 지방 축적, 인지질 축적, 글라이코겐 축적 시 세포질에서 공포로 나타날 수 있다. 특히 글라이코겐 축적은 글루코사나 글라이코겐 대사에 관여하는 분자화합물 시험에서도 나타날 수 있다. 향후 특수염색기법인 PAS를 연구를 통해서 확인할 수 있을 것으로 생각된다[32].

반면, 여주첨가 군의 간 조직에서는 정상 대조군과의 유의한 변화는 관찰되지 않았다. 이는 글루타티온 S- 전달효소(glutathione-S-transferase)가 체내에서 생성된 친전자성 독성 물질에 글루타티온의 thiol기를 포집 시켜서 독성 물질을 전이 분해시키는 작용을 한다는 보고 Kim에 따라 여주가 독성 물질을 글루타티온에 포집시켜 배설을 촉진시킴으로써 STZ 투여에 의한 간 손상을 보호하여 그 함량이 증가된 결과로 생각된다[33].

이상의 실험 결과 여주 2% 군이 체중 증가율과 식이 이용효율에서 당뇨 유발군 중 유의적인 차이를 보여 여주의 섭취가 당뇨 유발로 인한 체중감소와 식이 이용효율 감소를 억제하는 것으로 사료되며, 여주식이 첨가 군에서 혈당이 유의적으로 감소하고, 당화혈색소(HbA1c)가 감소한 결과를 보인 것은 여주가 당뇨 치료에 효과가 있음을 나타낸다. 또한, 여주식이 첨가 군의 항산화 효소의 활성은 여주가 식물유래 천연 항산화제로서의 높은 가치를 지니고 있으며 자유라디칼의 과다 생성으로 인한 당뇨병 합병증의 발생을 예방할 수 있을 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구의 목적은 Streptozotocin에 의한 당뇨 유발 흰쥐에 대한 여주 분말의 항당뇨병 및 항산화능 효과를 알아보기 위한 것이다. 정상 및 대조군에 AIG-93M식이를 공급하였고, 여주첨가 군에는 1%, 2%, 3%의 여주 분말을 공급하였다. 2주 후 Streptozotocin 투여로 당뇨를 유발하였다. 동물 희생 후 혈당 조절과 항산화능을 분석하였다. 여주 첨가군의 혈당 수준은 모두 대조군보다 낮았으며, 2% 여주 첨가군은 대조군보다 유의하게 낮은 결과를 보였다. 2%, 3% 여주 첨가군의 혈청 트리글리세라이드와 고밀도지질단백질-콜레스테롤 수치는 대조군보다 유



의하게 낮은 결과가 나왔다. 당뇨 유발 군의 혈청 인슐린은 정상 군보다 유의하게 낮았다. 당화혈색소는 2% 및 3% 여주첨가 군이 대조군보다 유의하게 낮은 결과를 보였다. 간 조직에서 항산화 효소의 수치는 2% 여주첨가군이 대조군보다 유의하게 높게 나타났다. 이러한 결과는 당뇨병 예방 및 당뇨병 치료를 위한 여주 분말의 항당뇨병 및 항산화 효과를 나타내는 것으로 보여진다.

**Acknowledgements:** This paper was supported by Daejeon University in 2012. This manuscript is a revision of the first author's master's thesis from Daejeon University.

**Conflict of interest:** None

**Author's information (Position):** Kim YJ<sup>1</sup>, Resercher; Wang SG<sup>1</sup>, Professor; Park UK<sup>2</sup>, Graduate student; OH JH<sup>2</sup>, Graduate student; Hwang SY<sup>2</sup>, Professor.

## REFERENCES

- Jeong JH, Lee SH, Hue JJ, Lee KN, Nam SY, Yun YW, et al. Effect of bitter melon (*Momordica charantia*) on anti-diabetic activity in C57BL/6J db/db mice. *Korean J Vet Res*. 2008; 48:327-36.
- Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part II: animal and human studies. *Circulation*. 2003;108:2034-40. <http://doi.org/10.1161/CIR.000093661.90582.c4>
- Kim JY, Lee BH. Effect of the antioxidants on the diabetic complications. *J Vet Clin*. 2001;18:374-379.
- Kim BH, Son SM. Mechanism of developing diabetic vascular complication by oxidative stress. *Endocrinol Metab*. 2006;21:448-459. <http://doi.org/10.3803/jkes.2006.21.6.448>
- Urano S, Hoshi-Hashizume M, Tochigi N, Matsuo M, Shiraki M, Ito H. Vitamin E and the susceptibility of erythrocytes and reconstituted liposomes to oxidative stress in aged diabetics. *Lipids*. 1991;26:58-61. <http://doi.org/10.1007/bf02544025>
- Ha AW, Kim HM. The study of lipid-per-oxidation, antioxidant enzymes, and the antioxidant vitamin in NIDDM patients with micro vascular-diabetic complication. *Korean J Nutr*. 1999;32:17-23.
- Shetty AK, Kumar GS, Sambaiah K, Salimath PV. Effect of bitter melon (*Momordica charantia*) on glycaemic status in streptozotocin induced diabetic rats. *Plant Foods Hum Nutr*. 2005;60:109-12. <http://doi.org/10.1007/s11130-005-6837-x>
- Harinantenaina L, Tanaka M, Takaoka S, Oda M, Mogami O, Uchida M, et al. *Momordica charantia* constituents and anti-diabetic screening of the isolated major compounds. *Chem Pharm Bull*. 2006;54:1017-21. <http://doi.org/10.1248/cpb.54.1017>
- Krawinkel MB, Keding GB. Bitter melon (*Momordica charantia*): A dietary approach to hyperglycemia. *Nutr Rev*. 2006;64:331-337. <http://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2006.tb00217.x>
- Schmourlo G, Mendonca-Filho RR, Alviano CS, Costa SS. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *J Ethnopharmacol*. 2005;96:563-568. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2004.10.007>
- Budrat P, Shotipruk A. Extraction of phenolic compounds from fruits of bitter melon (*Momordica charantia*) with subcritical water extraction and antioxidant activities of these extracts. *CMU J Nat Sci*. 2008;35:123-130.
- Lee YB. The research for production of isoflavone metabolite derived from soy isoflavone and the development of medical food for treatment of menopausal symptoms. *Dr Chung's Food*. 2012.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193:265-75.
- Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*. 1978;86:271-278. [http://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90342-1](http://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90342-1)
- Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*. 1984;105:121-126. [http://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](http://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Habig WH, Jakoby WB. Assays for differentiation of glutathione S-transferases. *Methods Enzymol*. 1981;77:398-405. [http://doi.org/10.1016/S0076-6879\(81\)77053-8](http://doi.org/10.1016/S0076-6879(81)77053-8)
- Crapo JD, McCord JM, Fridovich I. Preparation and assay of superoxide dismutases. *Methods Enzymol*. 1978;53:382-393. [http://doi.org/10.1016/S0076-6879\(78\)53044-9](http://doi.org/10.1016/S0076-6879(78)53044-9)
- Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*. 1959;82:70-77. [http://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](http://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
- Sim KC, Kim EJ, Chung HW, Kim GD, Kim KY, Kim GY, et al. Effect of prior *Gastrodia elata* blume diet on diabetic mellitus induced rats at antioxidant effect and pathophysiology factor. *J Physiol & Pathol Korean Med*. 2008;22:1537-1543.
- Joseph B, Jini. Antidiabetic effects of *Momordica charantia* (bitter melon) and its medicinal potency. *Asian Pac J Trop Dis*. 2013;3:92-102. [http://doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60020-1](http://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60020-1)
- Raish M. *Momordica charantia* polysaccharides ameliorate oxidative stress, hyperlipidemia, inflammation, and apoptosis during myocardial infarction by inhibiting the NF-kappaB signaling pathway. *Int J Biol Macromol*. 2017;97:544-551.
- Bai J, Zhu Y, Dong Y. Response of gut microbiota and inflammatory status to bitter melon (*Momordica charantia* L.) in high fat diet induced obese rats. *J Ethnopharmacol*. 2016;194:717-726.
- Bao B, Chen YG, Zhang L, Na Xu YL, Wang X, Liu J, et al. *Momordica charantia* (Bitter Melon) reduces obesity-associated macrophage and mast cell infiltration as well as inflammatory cytokine expression in adipose tissues. *PLoS One*. 2013;8:E84075.
- Park, E.K., Kwon, B.M., Jung, I.K., Kim, J.H. Hypoglycemic and antioxidant effects of jaceosidin in streptozotocin-induced diabetic mice. *Nutr Health*. 2014;47:313-320. <http://doi.org/10.4163/jnh.2014.47.5.313>
- Kahn CR. The molecular mechanism of insulin action. *Ann Rev Med*. 1985;36:429-451. <http://doi.org/10.1146/annurev.me.36.020185.002241>
- Lim SJ, Park JE. Effects of butanol fraction of *Alisma canaliculatum* with vitamin E on plasma levels of glucose and lipid in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Food Sci Technol*. 2003;35:713-719.

27. Allen DW, Schroeder WA, Balog J. Observations on the chromatographic heterogeneity of normal adult and fetal human hemoglobin: a study of the effects of crystallization and chromatography on the heterogeneity and isoleucine content. *J Am Chem Soc.* 1958;80: 1628-1634. <http://doi.org/10.1021/ja01540a030>
28. Kim YC. Establishment of functionality evaluation system for antioxidant of health functional food. Seoul National University. 2003.
29. Kim OK. Antidiabetic and antioxidative effects of *Corni fructus* in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Oil Chemists' Soc.* 2005;22:157-167.
30. Cho SY, Park JY, Park EM, Choi MS, Lee MK, Jeon SM, et al. Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. *Clin Chim Acta.* 2002;317: 109-117. [http://doi.org/10.1016/s0009-8981\(D1\)00762-8](http://doi.org/10.1016/s0009-8981(D1)00762-8)
31. Bang MA, Cho YJ, Kim HA. Effect of indongcho on glucose and lipid metabolism and antioxidative enzyme system in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Dietary Cult.* 2002; 17:377-386.
32. Park SY, Sung CH, Kim KT, Sung MH, Yang SM, et al. Toxic effects determination by target organ. Incheon: National Institute of Environmental Research; 2016. p123-32. Report No. NIER-GP2016-038.
33. West KM, Ahuja MM, Bennett PH, Czyzyk A, de Acosta OM, Fuller JH, et al. The role of circulating glucose and triglyceride concentrations and their interactions with other "risk factors" as determinants of arterial disease in nine diabetic population samples from the WHO multinational study. *Diabetes Care.* 1983;6: 361-369.