

Streptozotocin 유발 당뇨 흰쥐의 태자 간 발생 및 호흡에 미치는 Taheebo의 영향

정춘식* · 한혜경 · 정기화
덕성여자대학교 약학대학 약학연구소

The Effects of Taheebo on the Streptozotocin-Induced Diabetes in the Rats during Pregnancy and in the Fetal Life

Choon Sik JEONG, Hye Kyoung HAN and Ki Hwa JUNG

Research Institute of Pharmaceutical Sciences, College of Pharmacy,
Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

(Received November 9, 1996; accepted December 27, 1996)

Abstract – The effects of Taheebo on the diabetic-pregnant rats and their fetus was investigated. It has been reported that diabetic condition of the pregnant rats can affect the process of liver formation and damage the respiratory function in the fetus. Therefore we investigated the effects of Taheebo on the prevention of liver damage and respiratory failure in the fetus and those results were compared with that of dexamethasone (DXM). In pregnant rats, streptozotocin(STZ, 45 mg/kg, 0.01 M citrate buffer) was injected into the pregnant rats on the third day of pregnancy. Methanol extracts of Taheebo(500 mg/kg p.o.) was administered once daily during pregnancy. DXM (10 µg/g i.p.) was injected into the pregnant rats in 16th and 18th days of pregnancy. Body weights were measured and fetal number and abortion rate in pregnancy rats were determined. Lecithin/sphingomyelin ratio in amniotic fluid and malondialdehyde, glycogen, triglyceride, protein and cholesterol levels in the liver homogenate were determined. Also blood glucose level was analyzed. Body weights of maternal rats were increased in the all groups except the DXM group. Fetal number of the Taheebo treated group was similar to the control group, and a significant increase in the body weights of fetus was observed in the STZ treated group and the Taheebo treated group compared with the control group. Blood glucose of fetus produced hypoglycemia in the control group and hyperglycemia in the diabetic-pregnant rats. The protein and cholesterol levels in fetus liver were significantly increased in the DXM treated group compared with the control group. Triglyceride content was significantly increased in all groups compared with the control group. Liver malondialdehyde level of fetus in the STZ treated group was similar to the control group. Glycogen level was significantly increased in the all groups compared with the control group. Methanol extract of Taheebo showed hypoglycemic effect on the pregnant rats. However, we could not observe any hypoglycemic effect on the fetus. There's no difference between the control and Taheebo treated group in terms of the levels of triglyceride, cholesterol, protein and glycogen in the fetus liver. Further study to identify the effect of Taheebo on the fetus is under investigation.

Keywords □ Taheebo, glucose, glycogen, protein, cholesterol, triglyceride, malondialdehyde, streptozotocin-induced diabetes, pregnancy, fetus, dexamethasone

Taheebo는 능소화과(Bignoniaceae)에 속하는 *Tabebuia avellandae*를 부르는 일반명으로 브라질 아마존강 일대에서 자라고 수피는 하제, 이뇨제 및 수렴제로써 사용되고 있으며 항생, 항종양, 항암, 소염진통, 적혈구 생산촉진 및 강심작용이 있음이 보고되었다(Awang, 1988; Deleveau와

Vidal-Tessier, 1989; Guiraud 등, 1994; Mowrey, 1996; Murray, 1990). Taheebo의 성분으로는 furanonaphthoquinone, napthoquinones 및 anthraquinones(Kreber 등, 1988; Steinert 등, 1995; Steinert 등, 1996; Ueda 등, 1994)과 iridoid glucosides 등(Nakano 등, 1993)이 밝혀졌다.

Streptozotocin(STZ)이 흰쥐의 간에 미치는 영향에 관한 연구는 주로 효소의 활성이나 당의 양에 관한 연구들이고 태

* To whom correspondence should be addressed.

자의 간에 대한 유전독성학적인 연구와 모체의 당뇨병이 태자의 간 발생 및 호흡에 미치는 영향에 관한 연구는 드물다.

본 논문에서는 임신 흰쥐에 STZ으로 당뇨를 유발시킨 후 Tahebo의 methanol추출물 및 dexamethasone(DXM)을 투여하였을 때 모체의 당뇨병이 태자 간 및 태자 호흡에 미치는 영향을 알아보았다.

실험방법

실험재료

본 실험에 사용한 Tahebo의 수피는 브라질의 Episode Modas로부터 공급받아 사용하였다.

시약과 기기

STZ, bovine serum albumin, citric acid, sodium citrate 1, 1,3,3-tetraethoxypropane, sodium potassium tartrate, copper sulfate, sodium bicarbonate, Folin Ciocalteous phenol, anthrone (Sigma Chemical Co. U.S.A.), dexamethasone sodium phosphate(덱산주사액, 동화약품, 한국), Kiesel gel 60(precoted TLC plate, Merk, Art 5554), glucose E-kit, cholesterol kit, triglyceride kit(영동제약, 한국)와 기타 시약과 추출용매는 시판특급시약을 사용하였다. 기기는 UV/visible spectrophotometer(Hewlett Packard HP 8452 A Diode-Array), Gluconometer(Medisense), Evaporator(Eyela), Densitometer(Camac) 및 centrifuge(pbi international ALC 4218)를 사용하였다.

실험동물

실험동물로는 삼육실험동물에서 구입한 체중 200 g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷과 암컷 흰쥐를 실내온도 20 ± 2 °C에서 물과 고형사료(삼양사)를 공급하면서 1주일간 환경에 적응시켰다.

추 출

잘 건조된 Tahebo의 수피(3.6 kg)를 methanol로 수욕상에서 5시간 3회 추출한 후 여과하고 여액을 감압농축하여 methanol추출물(417.0 g)을 얻어 시료로 사용하였다.

Tahebo의 혈당강화작용에 대한 실험

당뇨가 유발된 수컷 흰쥐에 Tahebo의 methanol추출물 1.5 g/kg/day를 7일간 경구투여한 후 안구정맥총에서 모세관을 이용하여 혈액을 취하고 이를 3,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 혈청을 취하여 혈당을 측정하였다. 혈청 중의 포도당 농도는 glucose E-kit를 이용하여 glucose oxidase법(Raabo와 Terkilsen, 1960)으로 측정하였다.

임신 및 당뇨유발

환경에 적응된 암컷 1마리당 수컷 1마리를 하룻밤 교배시킨 후 그 다음날을 임신 1일로 정하였다.

임신 3일째 되는 날 당뇨를 유발시키기 위하여 실험동물을 16시간 절식시킨 후 STZ을 꼬리정맥에 주사하여 당뇨

를 유발시켰다. 이때 STZ은 0.01 M citrate buffer에 45 mg/kg 농도로 녹여 사용하였고 STZ을 꼬리정맥에 주사한 후 24시간 후에 꼬리에서 혈액을 취하여 Gluconometer를 이용하여 당뇨발생여부를 확인하였다(Junod 등, 1969; Like와 Rossini, 1976). 정상군은 동량의 citrate buffer용액을 주사하였다.

Tahebo와 DXM의 투여

Tahebo투여군은 당뇨 유발 후 임신기간동안 3% Tween 80에 녹인 Tahebo를 500 mg/kg/day의 용량으로 경구투여하였다.

DXM투여군은 임신 16일과 18일째 되는 날에 DXM을 10 µg/g을 복강주사하였다.

모체의 체중변화

모체의 체중은 임신 4일째부터 매일 측정하였다.

태자의 체중 및 혈당

임신 19일째에 제왕절개하여 얻은 태자의 체중을 측정하고 꼬리에서 얻어진 혈액 중의 혈당을 Gluconometer를 이용하여 측정하였다.

태자수와 유산을 측정

제왕절개를 시행하여 태자의 수와 사망유무를 확인하여 유산율을 계산하였다.

양수검사

임신 19일째 제왕절개를 시행하여 양수를 채취하였다.

양수내 인지질의 생화학적 검사를 위해 -70 °C에 냉동시켜 두었다가 high performance thin layer chromatography (HPTLC)법으로 시행하였다. 양수를 TLC plate에 전개(전개용액, chloroform: methanol: acetic acid: H₂O=65:25:8:4)시킨 후 2'7'-dichlorofluorescein으로 발색시킨 후 Densitometer(Camac사)를 이용하여 lecithin/sphingomyelin (L/S)비를 측정하였다(Amadeo 등, 1987).

간 glycogen함량

적출된 간 0.2 g을 1 ml의 KOH(30%)에 넣고 100 °C에서 20분간 가열한 후 원심분리시켜서 침전물을 적정비율로 녹여 1 ml를 취한 후 발색제로 2 ml의 anthrone을 가하고 100 °C에서 10분간 가열한 후 냉수에 식혀 620 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 포도당액과 비교하여 정량하였다(Hassid와 Ahraham, 1957)

단백질량

Lowry방법(Lowry 등, 1951)에 따라 희석된 간균질액 0.6 ml에 0.5 ml Lowry complex(0.2 ml 4% sodium potassium tartrate, 0.2 ml 2% copper sulfate와 10.0 ml의 4% sodium bicarbonate/0.2 N sodium hydroxide용액)를 가하고 신속하게 혼화하였다. 15분 후 0.1 ml의 Folin Ciocalteou's phenol 시약을 가하고 즉시 섞은 후 30분간 방치하고 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 단백질농도는 bovine serum albumin을 사용하여 만든 standard curve로부터 얻었다.

간 cholesterol 함량

cholesterol 중에는 유리형 및 ester형이 존재하는데 ester형에 cholesterol ester hydrolase를 반응시켜 유리형을 형성한다. 유리형에 cholesterol 산화효소를 반응시켜 생성된 H₂O₂에 과산화효소와 4-aminoantipyrine 및 phenol을 동시에 반응시켜 생성되는 quinone을 cholesterol kit를 이용하여 500 nm에서 측정하였다.

간 중성지방 함량

중성지방을 glycerol fatty acid로 분해한 후 인산화시켜 생성된 H₂O₂를 4-aminoantipyrine 및 DHBS와 반응시켜 적색의 quinone을 생성하는 Trinder법에 의한 triglyceride kit를 이용하여 측정하였다.

지질과산화물 함량

간의 지질과산화물은 Uchiyama 등의 방법(Uchiyama와 Mihara, 1978)에 따라 시행하였다. 간균질액 0.5 ml에 1% H₃PO₄와 0.67% TBA시약을 가하고 95 °C에서 45분간 수욕상에서 가열한 후 실온까지 냉각하고 butanol 4.0 ml을 가해서 진탕추출한 후 10분간 원심분리하여 butanol층을 취해 535 nm와 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준액으로는 1,1,3,3-tetraethoxypropane을 사용하여 검체에서의 malondialdehyde(MDA)생성량을 계산하고 이를 nmol/mg protein으로 나타내었다.

통계처리

모든 실험결과는 평균치와 표준오차를 계산하였고, 실험

Table I. Effect of extract of methanol of Taheebo on blood glucose level in diabetic rats

Treatment	Dose (g/kg,p.o.)	No. of animal	Blood glucose level (mg/dl)	
			0 day	7 day
STZ		7	465.9±16.1	476.3± 29.0
STZ+Taheebo	1.5	7	490.3± 9.5	197.4±110.7*

Values are mean ± S.E.

*Significantly different from the STZ group at p<0.001.

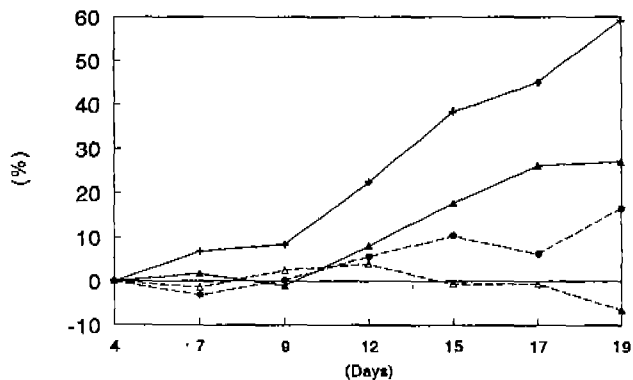


Fig. 1. Weight curve of pregnant rats in percentage change from initial weight.

- + - Control -▲- STZ -●- Taheebo -△- DXM

군간의 유의성 검증은 student t-test를 사용하여 p값이 5% 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결 과

Taheebo의 흰쥐 혈당에 미치는 영향

Taheebo의 methanol추출물을 당뇨 유발 흰쥐에게 7일간 경구투여시 STZ군의 476.3±29.0 mg/dl에 비해 Taheebo투여군은 194.7±110.7 mg/dl로 유의적인 혈당강하효과가 있었다(Table I).

임신 흰쥐의 체중과 혈당에 미치는 영향

모체의 체중 변화는 정상군은 초기 체중에 비해 임신 19일째까지 59.2%의 증가를 보인 반면 STZ군은 27.1% 및 Taheebo투여군은 16.5%의 체중 증가를 보였고 DXM투여군은 6.5 %의 체중 감소를 보였다(Fig. 1).

모체의 혈당에서 정상군은 혈당의 변화가 없었고 STZ군과 DXM투여군은 각각 26.7%와 42.8%의 증가를 보였으나 Taheebo투여군은 26.4%의 혈당 감소를 보였다(Table II).

태자수와 유산율

각 군의 태자는 임신 19일째 제왕절개하여 얻었고 태자의 수는 정상군은 12±2, STZ군, Taheebo투여군 및 DXM투여군은 각각 6±3, 12±2과 8±1이었다. 정상군과 Taheebo투여군에서는 태자의 수가 같았고 STZ군과 DXM투여군은 감소하였다.

또한 태자의 유산율은 STZ군에서만 16.7%를 나타내었다(Table III).

양수의 L/S비

임신 19일째 모체의 양수내 L/S비는 정상군이 3.3±0.3, STZ군이 2.0±0.2, Taheebo투여군이 1.5±0.4 및 DXM투

Table II. Changes in blood glucose levels of pregnant rats

Treatment	Blood glucose level (mg/dl)	
	0 day	7 day
Control	112± 5	98± 3
STZ	363±28	460±109
STZ+Taheebo	484±25	356± 20*
STZ+DXM	341±45	487±121

Values are mean ± S.E. (n=5)

*Significantly different from the STZ group (P<0.05).

Table III. Fetal number and abortion rate in pregnant rats

Treatment	No. of fetal	Abortion rate (%)
Control	12±2	0
STZ	6±3	16.7
STZ+Taheebo	12±2	0
STZ+DXM	8±1	0

Values are mean ± S.E. (n=5).

Table IV. L/S ratio in amniotic fluid, body weight and blood glucose level of prenatal rats

Treatment	L/S ratio	Body weight (g)	Blood glucose level (mg/dl)
Control	3.3±0.3	1.6±0.1	30.8±11.3
STZ	2.0±0.2	2.1±0.1**	320.3±50.4*
STZ+Taheebo	1.5±0.4	2.7±0.5** ^b	406.8±46.3* ^a
STZ+DXM	5.1±1.4 ^b	1.4±0.1** ^c	439.3±55.8* ^a

Values are mean±S.E. (n=4-6). L/S: Lecithin/sphingomyelin. Significantly different from the control group (*p<0.01 and **p<0.001).

Significantly different from the STZ group (^ap<0.05, ^bp<0.01 and ^cp<0.001).

Table V. Glycogen and protein levels in liver of prenatal rats

Treatment	Glycogen (mg/g liver)	Protein (mg/g liver)
Control	2.9±1.3	40.5±9.9
STZ	16.5±1.8**	70.7±6.3*
STZ+Taheebo	40.7±1.6** ^b	62.3±8.2
STZ+DXM	20.1±2.7***	96.4±9.1** ^a

Values are mean±S.E. (n=4-6).

Significantly different from the control group (*p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001).

Significantly different from the STZ group (^ap<0.05 and ^bp<0.01).

여군이 5.1±1.4로 정상군에 비해 STZ군과 Taheebo투여군에서는 감소하였으나 DXM투여군에서는 유의적으로 증가하였다(Table IV).

태자의 체중과 혈당에 미치는 영향

태자의 체중은 정상군의 1.6±0.1 g에 비해 STZ군은 2.1±0.1 g, Taheebo투여군은 2.7±0.5 g 및 DXM투여군은 1.4±0.1 g이었다. 정상군에 비해 STZ군과 Taheebo투여군에서는 유의적인 체중의 증가를 볼 수 있었다(Table IV).

태자의 혈당은 정상군은 30.8±11.3 mg/dl이었고 당뇨유발군인 STZ군, Taheebo투여군 및 DXM투여군은 각각 320.3±50.4, 406.8±46.3 및 439.3±55.8 mg/dl이었으며 STZ군에 비해 Taheebo투여군과 DXM투여군은 유의적으로 혈당이 증가하였다(Table IV).

태자 간의 glycogen함량

임신 19일째 태자의 간을 적출하여 분석한 결과 정상군은 2.9±1.3, STZ군은 16.5±1.8, Taheebo투여군은 40.7±1.6 및 DXM투여군은 20.1±1.4 mg/g liver이었다.

정상군에 비해 모든 당뇨유발군에서 간의 glycogen함량이 유의적으로 증가하였다(Table V).

태자 간의 단백질함량

정상군의 40.5±9.9 mg/g liver에 비해 STZ군은 70.7±6.3 mg/g liver와 DXM투여군은 96.4±9.1 mg/g liver로 유의적으로 증가하였다(Table V).

Table VI. Cholesterol, triglyceride and malondialdehyde levels in liver of prenatal rats

Treatment	Cholesterol (mg/g liver)	Triglyceride (mg/g liver)	Malondialdehyde (nmol/mg protein)
Control	2.54±0.13	0.22±0.08	0.47±0.16
STZ	4.43±1.12	3.08±0.39**	0.46±0.08
STZ+Taheebo	4.02±0.61*	3.44±0.33**	1.02±0.16* ^a
STZ+DXM	7.56±1.19***	8.60±0.19** ^c	2.51±0.17** ^b

Values are mean±S.E. (n=4-6).

Significantly different from the control group (*p<0.05, **p<0.01 and *** p<0.001).

Significantly different from the STZ group (^ap<0.05, ^bp<0.01 and ^cp<0.001).

태자 간의 cholesterol, 중성지방 및 MDA함량

Cholesterol함량을 살펴보면 정상군, STZ군, Taheebo투여군 및 DXM투여군이 각각 2.54±1.12, 4.43±1.12, 4.02±0.61 및 7.56±1.19 mg/g liver로 정상군에 비해 당뇨유발군에서 증가함을 보여주었고 DXM투여군에서는 유의적인 증가를 보였다.

중성지방의 함량을 보면 정상군의 0.22±0.08 mg/g liver에 비해 STZ군에서 3.08±0.39 mg/g liver로 유의적인 증가를 보였다(Table VI).

MDA함량은 정상군과 STZ군은 각각 0.47±0.16과 0.46±0.08 nmol/mg protein이었고 Taheebo투여군과 DXM투여군은 각각 1.02±0.16과 2.51±0.17 nmol/mg protein이었다. Taheebo투여군과 DXM투여군에서 유의적으로 증가함을 보여주고 있다(Table VI).

고 찰

본 논문에서는 임신 흰쥐에 STZ으로 당뇨를 유발시킨 후 Taheebo의 methanol추출물 및 DXM을 투여하였을 때 모체의 당뇨병이 임신말기의 양수내 L/S비와 태자의 혈당과 간에 미치는 영향을 관찰하였다.

실험적으로 당뇨병을 유발하기 위해 사용한 STZ의 당뇨병의 유발 기전은 췌장의 β-세포만을 선택적으로 파괴시켜 인슐린의 결핍을 초래하는 것으로 알려져 있다(Dulin과 Wyse, 1969).

모체의 체중은 임신 초기에 비해 DXM투여군을 제외한 모든 실험군에서 증가하였다. 태자의 수는 정상군과 Taheebo투여군에서 비슷하였고 태자의 체중은 정상군에 비해 STZ군과 Taheebo투여군에서 유의적으로 증가하였으나 DXM투여군은 감소하였다. 이는 DXM에 의해 태자의 성장을 저하시킨다는 기전과 혈중 insulin growth factor I의 농도를 감소시킨다는 설(Mosier 등, 1987)과 핵산과 단백질 합성을 감소시킨다는 설(Klepac 등, 1982; Klepac 등, 1983) 등의 기전과 관계가 있는 것으로 보여진다.

모체의 당뇨병은 신생아 호흡부전증후군의 중요한 소인의 하나이며 이러한 산모에서 출생한 신생아의 호흡부전의 발생빈도는 약 40%에 이르고 있다. 신생아 호흡부전증후군은 신생아에서 발생하는 가장 흔하고 치명적인 합병증으로 태자의 폐성숙이 지연되어 폐포를 안정화시키는 표면활성물질이 결여되어 생기는 것으로 알려져 있다(Ballare와 Ballare, 1974). 폐의 표면활성물질은 지질과 소량의 단백으로 이루어져 있는 복합물질로서 폐포 표면에 흡착되어 표면장력을 감소시켜 폐포의 안정도를 유지시키는 역할을 한다. 이 물질의 대부분은 인지질이며 그 주성분은 phosphatidylcholine(lecithin)으로 동물의 종속에 관계없이 임신 말기에 그 양이 현저히 증가한다. 또한 태자의 폐는 가장 늦게 성숙되는 기관이다. 태자의 폐성숙도는 surfactant의 생성 정도에 의해 알 수 있다. 임신 말기에 L/S비를 통해 태자의 폐성숙도를 관찰하는 것은 신생아의 호흡곤란증후군을 감소시키는데 중요한 역할을 한다. 본 실험의 결과 당뇨병 모체의 L/S비가 DXM의 투여로 정상으로 회복된 것은 당뇨 유발로 인한 태자의 혈중 인슐린 농도가 증가되어 glucocorticoid와의 길항작용으로 lecithin이 감소되었다가 임신 말기의 DXM투여로 다시 증가한 것으로 보여진다. 일반적으로 태자의 폐성숙정도를 예견하기 위해 측정된 L/S비가 2.0이상이면 호흡부전증후군이 거의 없다는 보고(Farrel 등, 1978)와 비교할 때 DXM투여로 L/S비가 STZ군보다 높은 수준을 보인 결과는 투여가 유용함을 보여주고 Taheebo 투여시 L/S비가 더 낮아진 것에 대한 연구가 필요한 것으로 사료된다.

Tye 등(Tye와 Burton, 1980)은 정상적인 흰쥐의 경우 임신한 지 17일째 태자 간 조직 내 당의 축적이 급속히 증가하기 시작하여 출생 직전에 최고에 이르는데 임신 15.5일에 임신 모체에 DXM을 투여하면 대조군에 비해 당의 함량이 약 10배정도로 증가하는 것을 관찰하였다. 본 연구 결과 glycogen함량이 정상군에 비해 Taheebo투여군과 DXM투여군은 유의적으로 증가하였다. 간조직내 당의 축적을 가속화시키는 기전은 현재까지의 연구결과에 의하면 glycogen synthetase 및 glycogen synthase phosphatase의 활성을 증가시키기 때문으로 알려져 있으며 또한 정상적인 임신의 말기에 태자의 혈중 glucocorticoid농도가 증가함으로써 간조직 내 당의 함량이 급격히 증가하고 동시에 증가된 glucocorticoid에 의한 위의 효소들이 활성화되어지기 때문인 것으로 알려지고 있다(Vanstapel 등, 1980; Klepac, 1985).

태자 간의 단백질, cholesterol 및 중성지방함량은 STZ군에 비해 DXM투여군에서 증가하였다. 이는 단백질과 중성지방함량의 증가가 축적된 당의 전환인 것으로 생각되고 있다. 그러나 Taheebo투여군에서는 STZ군과 비슷한 함량을 나타내었다. MDA함량은 STZ군에 비해 Taheebo투여군

과 DXM투여군에서 유의적으로 증가되어 지질과산화물의 억제력을 보이지 않았는데 이에 대한 연구는 계속적으로 이루어져야 할 것으로 사료된다.

이와 같이 신생아 호흡부전증후군을 예방하기 위해 당뇨 모체에 투여한 Taheebo추출물이 태자에 미치는 영향들이 태자가 성장하면서 어떠한 변화로 지속되는지에 대한 연구가 되어져야 할 것이다.

감사의 말씀

본 연구는 1996년도 덕성여자대학교 약학연구소 및 96년도 과기처 선도기술개발 과제 연구비의 지원에 의해 수행된 것으로 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Amadeo, J. T. and Law Rence, A. K. (1987). Method in clinical chemistry. The C. V. Mosby Company. pp 473-486.
- Awang, D. V. (1988). Commercial Taheebo lacks active ingredient. *Canadian Pharmaceutical J.* **121**, 323-324.
- Ballard, P. L. and Ballard, R. A. (1974). Cytoplasmic receptor for glucocorticoids in lung of the human fetus and neonates. *J. Clin. Invest.* **53**, 477.
- Delaveau, P. and Vidal-Tessier, A. M. (1989). Biologically active substances from tropical woods. *Bull. Soc. Bot. Fr. Actual. Bot.* **135**, 25-36.
- Dulin, W. E. and Wyse, B. M. (1969). Studies on the ability compounds to block the diabetogenic activity streptozotocin. *Diabetes* **18**, 459.
- Farrel, P. M. and Hamosh, M. (1978). The biochemistry of fetal lung development. *Clinivis Preinatal.* **5**, 197.
- Guiraud, P., Strimn, R., Campos-Takaki, G. M., Seile-Murandei, F. and De Buochbery M. S. (1994). Comparison of antibacterial and antifungal activities of lapachol and betalaphachone. *Planta Medica* **60**, 373-374.
- Hassid, W. Z. and Ahraham, X. (1957). Chemical procedures for analysis of polysaccharides. In; *Methods in Enzymology* **3**, Academic press, 34-50.
- Junod, A., Lambert A. E., Stauffacher, W. and Renole, A. E. (1969). Diabetogenic action of streptozotocin: Relationship of dose to metabolic response. *J. Clin. Invest.* **48**, 2129-2139.
- Klepac, R. (1982). Influence of dexamethasone on growth and development of rat fetuses: changes in nucleic acid and protein content. *Endocrinologie* **80**, 311-317.
- Klepac, R. (1983). The effects of dexamethasone on nucleic acid synthesis and cell numbers in rat fetuses. *Exp. Clin. Endocrinol.* **81**, 329-335.
- Klepac, R. (1985). Effects of dexamethasone on glycogen deposition in pregnant rats and their fetuses. *Exp. Clin. Endocrinol.* **86**, 305-309.
- Kreber, B. Lotter, H., Cordell, G. A. and Wagner, H. (1988). New Furanonaphthoquinones and other constituents of *Tabebeuia avellandae* and their immunomodulating activities

- in vitro*. *Planta Medica* **54**, 562-563.
- Like, A. A. and Rossini, A. A. (1976). Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis new model of diabetes mellitus. *Science* **193**, 415-417.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. R. (1951). Protein measurement with the foline phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Mosier, H. D., Spencer, E. M., Dearden, L. C and Janson, R. A. (1987). The effect of glucocorticoids on plasma insulin-like growth factor I concentration on the rat fetuses. *Pediatr. Res.* **22**, 92-95.
- Mowrey, D. (1996). Bolster your cold-and-flu defenses with immune-boosting tonic herbs. *Better Nutrition* **58**, 50.
- Murray, F. (1990). Better Nutrition for today's living **52**, 22.
- Nakano, K., Maruyama, K., Nurakami, K., Takai, Y. and Tomimatsu, T. (1993). Iridoids from *Tabebuia avellandae*. *Phytochemistry* **32**, 371-373.
- Raabo, E. and Terkilsen T. C. (1960). On the enzymatic determination of blood glucose. *Scandinav. J. Lab. & Investigation.* **12**, 402-407.
- Steinert, J., Khalaf, H. and Rimpler, M. (1995) HPLC separation and determination naphtho(2,3-b)furan-4,9-diones and related compound in extracts of *Tabebuia avellandae*. *J. Chromatography A.* **693**, 281-287.
- Steinert, J., Khalaf, H. and Rimpler, M. (1996) High-performance liquid chromatographic separation some naturally occurring naphthoquinones and anthraquinones. *J. Chromatography A.* **723**, 206-229.
- Tye, L. M. and Burton, A. F. (1980). Glycogen deposition in fetal mouse tissues and effect of dexamethasone. *Biol. Neonate.* **38**, 265-269.
- Uchiyama, M. and Mihara, M. (1978). *Anal. Biochem.* **86**, 271-278.
- Ueda, S., Umemura, T., Dohauchi, K., Matsuzak, T., Tokuda, H., Nishino, H. and Iwashima, A. (1994). Production of anti-tumor-promoting Furano-naphthoquinones in *Tebebuia avellandae* cell cultures. *Phytochemistry* **36**, 323-325.
- Vanstapel, F., Dopere, F. and Stalmans, W. (1980). The role of glycogen synthase phosphatase in the glucorticoid-induced deposition of glycogen in foetal rat liver. *Biochem. J.*