

## Multiple Low Dose Streptozotocin으로 유도된 당뇨 흰쥐에서 투여 시기에 따른 인삼의 항당뇨 활성 비교

박경수 · 이동역\* · 심종환\* · 정성현#

경희대학교 약학대학 약물학교실, \*(주) 일화 중앙연구소  
(2002년 10월 17일 접수)

### Comparisons of Antidiabetic Effect of *Panax Ginseng* on MLD STZ-induced Diabetic rats in Terms of Time of Administration

Kyeong Soo Park, Dong Eok Lee\*, Jong Hwan Sung\* and Sung Hyun Chung#

School of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

\*Central Research Institute, IL-HWA Co. Ltd., Kyunggi-Do, Korea

(Received October 17, 2002)

**Abstract :** In this study, we like to examine whether *Panax ginseng* water extract (PGWE) exerts antidiabetic activities in prevention and treatment modes in multiple low dose (MLD) streptozotocin (STZ) (20 mg/kg *i.p* injection for 5 days) induced diabetic SD rats. In the prevention mode, 150 mg/kg of GRWE was administered intraperitoneally with STZ for 3 weeks, and this group is called CO150. In the treatment mode, we started to administer the same dose of PGWE on day 8 and for 3 weeks, and this group is called POST150. PGWE exerted significant hypoglycemic activities in both prevention (normal control,  $97 \pm 6$  mg/dl; diabetic control,  $331 \pm 23$ ; CO150,  $211 \pm 37$ ) and treatment groups (normal control,  $128 \pm 4$  mg/dl; diabetic control,  $392 \pm 33$ ; POST150,  $263 \pm 44$ ). Of great importance is the fact that plasma insulin levels in both groups were markedly increased as compared to the diabetic control (normal control,  $428.7 \pm 62.1$  pg/dl; diabetic control,  $167.0 \pm 91.7$ ; CO150,  $377.6 \pm 68.7$  in prevention mode, and in treatment mode normal control  $417.9 \pm 84.6$  pg/dl; diabetic control,  $166.1 \pm 104.7$ ; POST150,  $315.2 \pm 47.4$ ). Blood glucose levels were closely associated with plasma insulin levels, and this result may suggest that PGWE showed the activity to enhance insulin secretion as well as preventing destruction of pancreatic islet cells. Food and water intakes were also determined at the last week of treatment in both groups. Characteristic symptoms of diabetes were significantly improved in both groups. In the prevention mode, water intake (ml/rat/day) in normal control was increased from  $30.6 \pm 1.5$  to  $122.2 \pm 3.4$  in diabetic control rats. In the CO150-treated group, water intake was dramatically reduced to  $68.3 \pm 4.4$  ( $p < 0.001$  vs. diabetic control). In the treatment mode, POST-treated group also reduced the water intake from  $128.9 \pm 2.2$  to  $113.3 \pm 1.7$ . Taken together, our data suggest that PGWE showed comparable antidiabetic activities in prevention and treatment modes. Therefore, PGWE may have a potential as a prophylactic as well as therapeutic agent for type 2 diabetes mellitus (T2DM).

**Key words :** *Panax ginseng* water extract, multiple low dose streptozotocin, type 2 diabetes mellitus.

## 서 론

지금까지 당뇨병의 치료와 예방을 위해 전세계적으로 많은 연구가 진행되었음에도 불구하고 당뇨병의 유병율은 꾸준히 증가하는 추세이다. 최근에 비만 인구가 급격히 늘고 있고 또

한 부적절한 생활 습관으로 인해 추후 당뇨 환자가 급격히 늘 것으로 우려되어 국가적인 차원의 대처가 시급한 상황이다.<sup>1,2)</sup> 당뇨병 환자의 90% 이상을 차지하고 있는 2형 당뇨는 인슐린의 작용에 문제가 있거나(이를 인슐린저항성이라 함) 혹은 인슐린 분비에 결함이 있어 발병되는 것으로 알려져 있으며 이의 치료를 위한 많은 경구용 혈당강하 약제들이 개발되어 임상에 사용되고 있다. 경구용 혈당강하제나 인슐린제제를 적극적으로 사용할 경우 혈당 조절이 어느 정도 가능하지만 최

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 02-961-0373; (팩스) 02-966-3885  
(E-mail) suchung@khu.ac.kr

근 완료된 두 개의 대규모 임상시험 결과는 매우 부정적이다.<sup>3,4)</sup> 곧 적극적으로 당뇨 환자들을 치료하였음에도 불구하고 상당수의 환자들이 목표로 하는 혈당치에 도달하는데 실패하였다는 사실이다. 1형 당뇨에 비해 보다 복잡한 발병 기전을 가진 2형 당뇨의 성공적인 치료를 위해서는 한가지 기전이 아닌 2-3가지 기전을 같이 지니고 있는 약제의 개발이 어느 때 보다도 요구되는 실정이다. 이러한 관점에서 볼 때 다양한 성분을 지니고 있는 천연물로부터 항당뇨 치료제를 개발하는 것은 매우 매력적인 시도가 아닐 수 없다.

약용식물 중에서 특히 인삼은 다양한 생리 활성을 나타내는 제제로서 이제까지 많은 연구자들에 의해 인삼의 항당뇨 활성이 보고되었다. 시험관내 혹은 실험동물을 이용하여 또는 사람(건강한 지원자와 당뇨환자)에서 인삼의 항당뇨 활성은 이미 많이 보고가 되었지만<sup>5-10)</sup> 아직까지 인삼이 기존의 경구용 혈당강화제를 대체할 만큼의 약효가 있는지, 장기간 사용할 경우 안전하지, 혈당강화를 일으키는 약리기전이 무엇인지에 대하여는 아직 정확히 규명이 안 된 상태이다.

앞에서 이미 언급한 바와 같이 최근 비만 인구가 급격히 증가하면서 당뇨의 특징적인 증상은 보이지 않으나 당부하 시험(glucose tolerance test)에서 문제를 나타내는 사람이 증가일로에 있다. 이러한 사람들을 impaired glucose tolerance (IGT)를 나타내는 사람이라고 지칭하는데, 문제는 이들 중 상당수의 사람들이 중국에는 당뇨병을 걸국 않게 된다는 사실이다. 따라서 이들을 조기에 발견하는 것도 중요하지만 IGT를 가진 사람들이 당뇨병으로 진행되는 것을 차단하거나 지연시킬 수 있는 약제를 개발하는 것 또한 매우 중요한 이슈이다. 이러한 점에 착안하여 본 연구에서는 저용량의 streptozotocin(STZ)을 5일간 SD계 흰쥐에 복강 투여하여 얻은 고혈당 당뇨 질환 모델에서 인삼의 투여시기에 따른 혈당 강하 활성을 비교해 보았다. 곧 STZ와 인삼 물 추출물을 동시에 투여한 그룹을 cotreatment 그룹으로, STZ로 고혈당이 유도된 후 인삼을 투여한 그룹을 posttreatment 그룹으로 명명하였다. Cotreatment 그룹에서는 인삼의 고혈당 유도에 대한 예방 효과를(prevention mode), posttreatment 그룹에서는 인삼의 고혈당에 대한 치료 효과(treatment mode)를 볼 목적으로 본 실험을 진행하였다.

## 실험방법

### 1. 실험재료

본 실험에 사용한 인삼 시료는 (주) 일화 중앙연구소로부터 공급 받은 백삼 농축액을 동결 건조하여 사용하였다. 본 실험에 사용한 6주령의 수컷 Sprague-Dawley(SD) rat은 한림실

험동물(화성, 대한민국)에서 구입하여 1주일 간 실험실에 적응시킨 후 사용하였다.

### 2. 실험동물

실험실에서 자유로이 먹이와 물을 섭취한 후 일주일에 다음과 같이 군을 나누어 본 실험에 착수하였다: vehicle로 물만 투여한 정상 대조군(NC), STZ를 투여하여 당뇨를 유발시킨 당뇨 대조군(DC), STZ 투여 시작과 동시에 백삼 물 추출물을 투여한 동시 투여군(CO150), STZ를 5일간 투여하여 고혈당을 유발시킨 뒤 백삼을 투여한 후 투여군(POST150). 백삼은 동시 투여군과 후 투여군 모두 150 mg/kg의 용량으로 복강을 통하여 매일 일정한 시간에 투여하였다.

14시간 절식시킨 SD rat에 STZ(10 mM citrate buffer, pH 4.5에 녹임) 20 mg/kg 용량을 복강으로 총 5일간 투여하는 방식으로<sup>11)</sup> 고혈당을 유도하였으며 당뇨는 6시간 절식 후 240 mg/dl 이상의 혈당으로 정의하였다.

3일에 한번씩 체중의 변화를 측정하였고, 안와 채혈하여 얻어진 혈액으로부터 혈당을 측정하였고 투여 3주 후 채취한 혈액에서는 혈당과 insulin 수치를 측정하였다. 식이 및 음용수 섭취량 역시 3주째에 측정하였다.

### 3. 혈액 지표 분석

혈액 지표 분석을 위한 혈액 채취는 안와 정맥을 통해 채혈하여 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 후 얻어진 혈장을 사용하였다. 혈장 포도당 농도는 glucose oxidase method<sup>12)</sup>를 이용한 Trinder kit(Sigma Diagnostic, St. Louis, USA)을 사용하여 측정하였고 혈장 insulin 농도는 anti-rat insulin antibody를 사용한 insulin enzyme immunoassay kit(Rat Insulin ELISA KIT, Shibayagi, Japan)을 이용하여 측정하였다.

### 4. 통계 처리

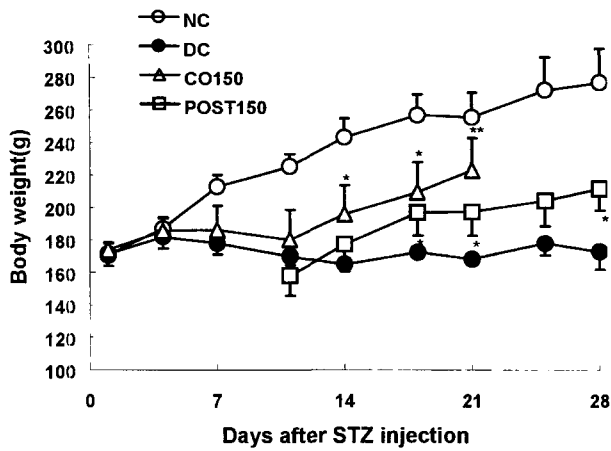
모든 실험 결과들은 mean±SE로 나타내었고 통계 처리는 Student's t-test를 실시하여 p<0.05를 기준으로 유의성 여부를 판정하였다.

## 결과 및 고찰

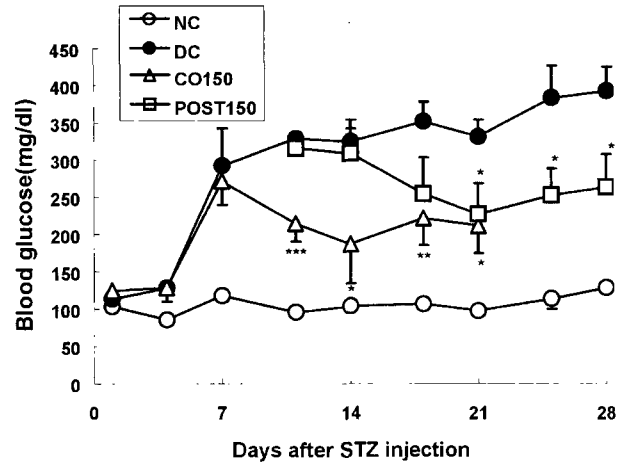
3주간의 백삼 투여가 STZ로 유도된 당뇨 흰쥐의 체중, 혈당, 식이 및 음용수 섭취량 그리고 신장 비대 지표에 미치는 영향을 살펴본 결과 아래와 같은 결과를 얻었다.

### 1. 체중의 변화

체중은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 정상 대조군에 비해 당



**Fig. 1.** Changes in body weight after intraperitoneal injection of PGWE on MLD-STZ induced diabetic rats. Data are mean  $\pm$  SE. NC, normal control; DC, diabetic control; CO150, co-treatment of 150 mg/kg PGWE with STZ; POST150, post-treatment of 150 mg/kg PGWE after induction of hyperglycemia. \* $P$ <0.05, \*\* $P$ <0.01 vs. DC



**Fig. 2.** Changes in blood glucose level after treatment with PGWE on MLD-STZ induced diabetic rats. Data are mean  $\pm$  SE. NC, normal control; DC, diabetic control; CO150, co-treatment of 150 mg/kg PGWE with STZ; POST150, post-treatment of 150 mg/kg PGWE after induction of hyperglycemia. \* $P$ <0.05, \*\* $P$ <0.01, \*\*\* $P$ <0.001 vs. DC

노 대조군은 STZ에 의한 영향으로 체중이 거의 증가하지 않았다. 한편 백삼 동시 투여군 역시 투여 10일째까지는 체중이 거의 증가하지 않았으나 11일째부터 서서히 증가하기 시작하여 14일째부터는 당뇨 대조군과 비교시 유의하게 체중 증가 현상을 보였고 백삼의 투여가 끝난 21일째에는  $223 \pm 19.6$  kg까지 증가하여 당뇨 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 보여주었다( $P$ <0.01). 후 투여군의 경우에는 유도된 고혈당의 영향으로 체중이  $158 \pm 12.1$  kg까지 감소한 시점에서 출발하였지만 백삼의 투여가 끝난 28일째에는  $211 \pm 13.4$  kg까지 체중이 증가하여 역시 당뇨 대조군과 유의한 차이를 나타내었다( $P$ <0.05). 이 결과로부터 백삼은 고혈당이 유도되는 단계나 고혈당이 이미 발달된 단계에 상관없이 고혈당으로 인해 야기되는 체중 감소 현상을 개선시키는 활성이 탁월함을 알 수 있었다. 또한 고혈당 유도로 인한 체중 감소가 백삼 투여군 모두에서 탁월하게 개선된 것으로 보아 본 실험에서 사용한 백삼의 용량은 부작용을 일으킬 만한 고용량은 아니라고 판단되나 치후 인삼 투여 용량에 따른 장기에 미치는 영향이 검토되면 좋을 것이다.

**2. 혈액 지표 변화**

혈당의 변화는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 당뇨 대조군은 STZ 투여 7일 후부터 250 mg/dl 이상의 고혈당이 유발되어 실험기간 동안 유지되었다. 백삼 동시 투여군은 실험 시작 후 7일 동안은 당뇨 대조군과 동일한 경향으로 혈당이 상승하다가 7일째부터 감소하기 시작하여 투여 14일째에는  $187 \pm 52.5$

mg/dl의 실험 기간 중 가장 낮은 혈당 수치를 나타내었고 투여가 끝난 21일째에는  $211 \pm 37.3$  mg/m의 혈당치를 나타내어 당뇨 대조군과 유의적인 차이를 보여주었다( $P$ <0.05). 후 투여군의 경우에는  $316 \pm 8.3$  mg/dl의 혈당에서 출발하여 투여 2주일만인 21일째에 실험 기간 중 가장 낮은 혈당 수치인  $226 \pm 41.6$  mg/dl를 기록하였으며 투여가 끝난 28일째에는  $263 \pm 44.1$  mg/dl의 혈당치를 나타내어 당뇨 대조군과 유의적인 차이를 보여주었다( $P$ <0.05). 이와 같은 혈당의 변화에서 볼 때 백삼의 항당뇨 효과는 투여한지 2주일째에 가장 크게 나타나며 백삼을 투여하는 동안은 혈당이 일정하게 유지되는 것을 알 수 있었다. 또한 동시 투여군이나 후 투여군 모두에

**Table 1.** Effect of Ginseng Radix Alba water extract on blood glucose and insulin in MLD STZ-induced diabetic rats

	Blood glucose (mg/dl) (%)	Insulin (pg/ml)
NC	$97 \pm 5.8$ ( $29.4 \pm 2.3$ )	$428.7 \pm 62.1$
DC	$331 \pm 23.0^{††}$ ( $100.0 \pm 9.0$ )	$167.0 \pm 91.7^{\dagger}$
CO150	$211 \pm 37.3^*$ ( $63.8 \pm 11.3$ )	$377.6 \pm 68.7^*$
NC	$128 \pm 4.1$ ( $32.6 \pm 1.0$ )	$417.9 \pm 84.6$
DC	$392 \pm 32.5^{††}$ ( $100.0 \pm 8.3$ )	$166.1 \pm 104.7^{\dagger}$
POST150	$263 \pm 44.1^*$ ( $67.1 \pm 9.7$ )	$315.2 \pm 47.4^*$

Data are mean  $\pm$  SE.  $^{\dagger}P$ <0.05,  $^{\dagger\dagger}P$ <0.001 vs. NC; \* $P$ <0.05, vs. D

서 당뇨 대조군과 비교 시 유의한 혈당강하 활성을 보이는 것으로 보아 인삼은 고혈당 예방뿐만 아니라 고혈당을 치료하는 약효도 있음을 본 실험을 통하여 확인하였다.

당뇨가 유도되는 과정에서 백삼을 투여하는 것과 당뇨가 유도된 후 백삼을 투여하는 두 가지 방법 중 보다 효과적인 투여 시점을 살펴보기 위하여 각각 투여가 종료된 시점에서의 혈당과 insulin 수치를 Table 1에 나타내었다. 그 결과 동시 투여군은 당뇨 대조군에 비하여 혈당을 36% 낮춘 반면 후 투여군의 경우는 33% 혈당을 낮추어 주었다. Insulin 수치의 경우는 다음과 같았다. 3주째에 당뇨 대조군이 167.0±21.7 pg/m/로서 정상 대조군에 비해 insulin 수치가 유의적으로 낮은 것(P<0.05)에 반해 백삼 동시 투여군은 377.6±68.7 pg/m의 인슐린 수치를 나타내었다, 한편 4주에는 당뇨 대조군이 166.1±104.7 pg/m/로서 정상 대조군에 비해 insulin 수치가 유의적으로 낮은 것(P<0.05)에 반해 후 투여군은 315.2±47.4 pg/m/의 수치를 나타내어 역시 당뇨 대조군과 유의적인 차이를 보여주었다(P<0.05). 동시 투여군에서 인삼이 당뇨 대조군에 비해 인슐린치를 두배 이상 올린 것은 STZ 투여로 인해 췌장 소도세포의 베타세포가 파괴되는 것을 인삼이 차단한 결과가 아닌가 사료되며, 반면 후 투여군에서 인삼 투여군의 인슐린치가 높은 것은 아직 인슐린 분비능력을 가지고 있는 베타세포들을 자극한 결과가 아닌가 추측된다.

**3. 식이 및 음용수 섭취량**

Table 2에서 보는 바와 같이 당뇨 대조군의 경우 27.9±0.5 g/rat/day로서 정상 대조군과 비교해 볼 때 유의적으로 증가된(P<0.001) 식이량이 백삼 동시 투여에 의해 23.9±1.0으로 유의적으로 감소하였고(P<0.05) 후 투여군 역시 당뇨 대조군(31.7±0.4 g/rat/day)에 비해 22.8±0.4 g/rat/day로서 유의적으로 감소하였다(P<0.001). 백삼의 효과는 음용수 섭취량에서도 비슷한 경향을 보여주었는데 동시 투여군은 68.3±4.4 ml/rat/day, 후 투여군은 113.3±1.7 ml/rat/day로서 당뇨 대조

**Table 2.** Effect of Ginseng Radix Alba water extract on food and water intakes in MLD STZ-induced diabetic rats

	Food intake (g/rat/day)	Water intake (ml/rat/day)
NC	17.1±0.4	30.6±1.5
DC	27.9±0.5 <sup>†††</sup>	122.2±3.4 <sup>†††</sup>
CO150	23.9±1.0 *	68.3±4.4 <sup>***</sup>
NC	19.7±0.2	30.0±1.9
DC	31.7±0.4 <sup>†††</sup>	128.9±2.2 <sup>†††</sup>
POST150	22.8±0.4 <sup>***</sup>	113.3±1.7 <sup>**</sup>

Data are meanSE. <sup>†††</sup> P<0.001 vs. NC; \* P<0.05, \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001 vs. DC

**Table 3.** Effect of Ginseng Radix Alba water extract on kidney hypertrophy in MLD STZ-induced diabetic rats

	Body weight(g)	Kidney weight(g)	Kidney hypertrophy index (W/W%)
NC	260±17.1	0.89±0.05	0.34±0.02
DC	173±1.7 <sup>†</sup>	0.96±0.03	0.55±0.01 <sup>††</sup>
CO150	223±19.6*	0.93±0.02	0.42±0.03*
NC	277±21.0	0.86±0.04	0.31±0.01
DC	173±10.8 <sup>†††</sup>	1.01±0.06 <sup>†</sup>	0.59±0.03 <sup>†††</sup>
POST150	211±13.4*	0.91±0.05	0.43±0.01 <sup>**</sup>

Data are mean±SE. <sup>†</sup> P<0.05, <sup>‡</sup> P<0.01, <sup>†††</sup> P<0.001 vs. NC; \* P<0.05, \*\* P<0.01 vs. DC

군에 대하여 각각 유의적인 감소를 보여주었다(P<0.001, P<0.01). 이로부터 백삼은 투여 시기에 상관없이 당뇨의 대표적인 증상인 다식(多食)과 다음(多飲) 현상을 개선시켜 주는 것을 알 수 있었다.

**4. 신장 비대 지표**

당뇨병 환자와 당뇨 동물 모델에서 초기 신장병증은 조직학적으로 사구체의 비대와 기저막의 비후가 특징적으로 나타나며<sup>13)</sup> 이러한 변화가 mesangium의 생리적인 기능, 특히 사구체 여과의 조절 기능을 방해하는 것으로 추측하고 있다.<sup>14)</sup> 본 실험에서는 이러한 사구체의 비대를 거시적으로 확인하기 위하여 각각 백삼의 투여가 끝난 후 capsule을 제거한 신장의 무게를 측정하고 kidney hypertrophy index로서 체중대비 신장무게의 비를 계산하였다(Table 2). 당뇨 대조군의 경우 체중 대비 신장 무게의 비가 0.55±0.01%의 수치를 나타낸 반면, 동시 투여군의 경우 0.42±0.03으로 유의적인 감소를 보여주었다(P<0.05). STZ 투여 4주째에는 당뇨 대조군이 정상 대조군에 비해서 체중이 유의적으로 감소한(P<0.001) 반면 신장의 무게는 유의적으로 증가하여(P<0.05) 결과적으로 체중 대비 신장 무게의 비는 0.59±0.03%로 정상 대조군 0.31±0.01%에 비하여 유의적인 증가를 나타내었는데(P<0.001) 이것이 백삼의 후 투여에 의하여 0.43±0.01%로 통계적으로 유의하게 감소하였다(P<0.01). 이 결과로부터 인삼은 고혈당의 발병을 예방 혹은 치료하는 활성을 나타냄으로 고혈당으로 인해 야기되는 사구체 비대로 인한 신장 기능의 병변을 치료할 수 있음을 시사하였다.

**요 약**

MLD STZ로 당뇨를 유발시킨 SD rat에서 투여 시기에 따른 백삼의 항당뇨 활성을 비교한 결과를 요약하면 다음

과 같다.

1. 동시 투여군은 실험 시작 초반에 체중이 감소하는 듯 하였다가 당뇨 대조군에 비하여 현저히 체중이 증가하였고 후 투여군 역시 백삼의 투여에 의하여 체중이 증가하였다.
2. 동시 투여군에서 STZ 투여 후 초반 7일간 혈당이 상승하였으나 곧 탁월한 혈당 강하 활성을 나타내었으며 또한 지속적인 당뇨병의 진행을 막아주었다. 후 투여군에서는 즉각적으로 혈당 강하 활성이 나타났고 이는 투여 종료 시점까지 유지되었다.
3. 동시 투여군과 후 투여군 모두 식이량과 음용수 섭취량을 개선시켜 주었다.
4. 동시 투여군과 후 투여군은 모두 체중 대비 신장 무게의 비를 낮추어 줌으로써 고혈당으로 인해 야기되는 신장비대를 개선시켜 주었다.
5. STZ로 유도된 당뇨 흰쥐에서 백삼이 혈당 강하 활성을 나타내는 것은 췌장 베타세포의 보호 활성과 insulin의 분비 촉진과 관련이 있을 것으로 추측된다.
6. 각 투여군에서 투여 종료시점의 혈당이 당뇨 대조군에 비하여 각각 64%, 67% 수준을 나타내어 백삼이 당뇨병이 발생되기 전이나 혹은 당뇨병이 발생된 후에 투여되더라도 우수한 혈당강하 효과를 나타낼 수 있음을 알 수 있었다. 따라서 인삼은 impaired glucose tolerance(IGT)를 나타내는 사람에서 당뇨병의 발병을 예방할 목적으로 투여할 수 있을 뿐만 아니라 이미 당뇨병이 발병된 사람에서도 우수한 혈당 강하 활성을 나타내어 치료제로서의 가능성도 보여주었다.

## 인용문헌

1. Mo-kdad, A. H., Ford, E. S., Bowman, B. A., Nelson, D. E., Engelgau, M. M., Victor, F. and Marks, J. S. : *Diabetes Care* **23**, 1278 (2000).
2. Sorensen, T. T. : *Diabetes Care* **23**(suppl 2), B1 (2000).
3. The Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) groups : *Engl J Med* **342**, 381 (2000).
4. The United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) groups : *JAMA* **287**, 2542 (2002).
5. Ohnishi, Y., Takagi, S., Miura, T., Usami, M., Kako, M., Ishihara, E., Yano, H., Tanigawa, K. and Seino, Y. : *Biol Pharm Bull* **19**, 1230 (1996).
6. Onumra, M., Tsukada, H., Fukuda, K., Hosokawa, H., Nakamura, H., Kadama, M., Ohya, M. and Seino, Y. : *Am J Chin Med* **27**, 347 (1999).
7. Attele, A. S., Zhou, Y.P., Xie, J. T., Wu, J. A., Zhang, L., Dey, L., Pugh, W., Rue, P. A., Polonsky, K. S. and Yuan, C. S. : *Diabetes* **51**, 1851 (2002).
8. Sotaniemi, E. A., Haapakoski, E. and Rautio, A. : *Diabetes Care* **18**, 1373 (1985).
9. Yokozawa, T., Kobayashi, T., Kawai, A., Oura, H. and Kawashima, Y. : *Chem Pharm Bull* **32**, 2766 (1984).
10. Vuksan, V., Leiter, A. L., Stavra, M. B., Josse, R. G., Seiv-enpiper, J. L., Xu, Z. and Beljan-Zdravkovic, U. : *Diabetes Care* **23**, 1221 (2000).
11. Takamura, T., Ando H., Nagai Y., Yamashita H., Nohara E. and Kobayashi K. : *Diabetes Res. Clin. Pract.* **99**, 107 (1999).
12. Trinder, P. : *Ann. Clin. Biochem.* **6**, 24 (1969).
13. Park, I. S., Kiyomoto, H., Abbound, S. L. and Abbound H. E. : *Diabetes* **46**, 473 (1997).
14. Kashgarian, M. and Sterzel, R. B. : *Kidney Int.* **41**, 524 (1992).

1. Mo-kdad, A. H., Ford, E. S., Bowman, B. A., Nelson, D. E., Engelgau, M. M., Victor, F. and Marks, J. S. : *Diabetes Care*