

다시마 분말이 Streptozotocin (STZ)으로 유발된 당뇨 쥐의 혈당과 체중에 미치는 영향

서울대학교 의과대학 해부학교실 및 종양면역 연구센터, (주)엔토팜¹

김형우 · 강재승 · 김수인¹ · 이왕재

Effect of Sea Tangle Powder on the Regulation of Blood Glucose Level and Body Weight in Streptozotocin (STZ)-induced Diabetic Rats

Hyung Woo Kim, Jae Seung Kang, Su In Kim¹, Wang Jae Lee

Department of Anatomy and Tumor Immunity Medical Research Center, Seoul National University, College of Medicine and EntoPharm Co., Ltd¹

- Abstract -

Background: Sea tangle is one of the low calorie diet and the fibers in sea tangle suppress the increase of blood glucose level. Therefore, it has a better impact than any other diets for diabetic patients. In the present study, we have investigated the effect of sea tangle powder, hereafter referred as Substance <D>, as an antihyperglycemic agent and antioxidant in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats.

Methods: Male Wistar rats were divided into three groups: group 1) vehicle-treated normal rats; group 2) vehicle-treated STZ-diabetic rats; group 3) sea tangle powder-treated STZ-diabetic rats. Fasting blood glucose levels and body weights were measured. Intracellular ROS levels were measured using Cytofluor 2350 plate reader.

Results: Oral administration of sea tangle powder for 10 days resulted in lowered levels of blood glucose in early stage (within a week) and preventing effect of weight loss in late stage. Treatment with sea tangle powder resulted in the decrease of intracellular ROS levels in Dendritic Cell line.

Conclusion: Sea tangle powder exhibits antihyperglycemic activity and restorative activity on weight loss in STZ-induced diabetic rats. It's abilities depend not on protecting disruption of β -cell, but on antioxidant effect in other organs. (J Kor Diabetes Assoc 30:459~465, 2006)

Key Words: Antioxidant, Diabetes mellitus, Sea tangle powder

서 론

당뇨병은 내분비질환 중 가장 흔한 질병 중 하나로 췌장의 베타세포에서 분비되는 호르몬인 인슐린 (insulin)의 절대량이 부족하거나 혹은 생체 내 인슐린의 효율이 떨어진 결과로 인해 혈중 포도당의 농도가 증가되어 나타나는 질병이며, 그 이환율은 전 세계적으로 증가하는 추세에 있다^{1,2)}.

일차성 당뇨병의 유형 중, 제1형 당뇨병은 다갈, 다뇨, 식욕 증가 및 체중 감소 등의 증상이 발현된다¹⁾. 이러한 증상은 랑게르한스섬의 베타세포가 인슐린 분비기능을 정상적으로 수행하지 못하는데 기인한다. 인슐린 조절기전의 손상은 일차적으로 고혈당을 일으키게 되고, 눈과 신장, 심혈관계의 병변 등과 같은 당뇨병의 전형적인 증상들을 유발하게 된다¹⁾. 제2형 당뇨병은 다량의 활성산소와 산화 스트레스

(oxidative stress)에서 기인하는 다양한 신진대사의 감소와 연관된 질환이다³⁾.

자유 산소 라디칼 (free oxygen radical)과 산화 스트레스 (oxidative stress)는 당뇨병의 2차 합병증 유발에 중요한 요소로 작용한다. 고혈당은 활성산소종 (reactive oxygen species)를 만들어내어, 지질의 과산화와 세포막의 손상을 초래하게 된다⁴⁾. 당뇨병이 유발된 백서 (rat)를 사용한 최근의 연구에서 혈장 내의 지질과산화도가 상승되어 있음이 밝혀졌다⁵⁾. 이러한 산화 스트레스 (oxidative stress)는 당뇨병 환자에서 신장질환을 일으키는 중요한 요소이다⁶⁾.

다시마는 당뇨병의 증상 완화 및 개선에 있어서 주목할 만한 효과가 있는 것으로 인정^{7,8)} 되었으며 민간에서는 혈당 조절 목적으로 다시마 분말을 복용하고 있고 추출액을 사용한 예도 알려져 있다. 그러나 이에 대한 정확한 기전은 알려져 있지 않고, 다만 다시마의 항당뇨 효과가 항산화능에 기인할 것이라는 가능성이 제시되고 있다⁷⁻⁹⁾.

본 실험에서는 주로 췌장의 베타세포를 산화시켜 파괴하는 것으로 알려져 있는 streptozotocin (STZ)을 사용하여 당뇨병을 유발하였다¹⁰⁾. 그 후 in vivo 실험을 통하여 다시마 분말 <D>가 혈당과 체중에 미치는 영향을 알아보고, in vitro 실험을 통하여서는 정상세포에 대한 항산화능을 알아보고자 한다.

대상 및 방법

다시마 분말 <D>의 준비: 경구 투여를 위하여 증류수에 다시마 분말 <D>를 6 mg/mL로 녹여 사용하였고, 활성산소종 측정을 위하여 동일한 농도로 PBS에 녹인 다음, 120 G로 원심분리 한 후, 상층액을 얻어 와트만지로 거른 다음, 0.45 um와 0.22 um 크기의 syringe filter로 재차 걸러 사용하였다.

세포주 및 세포 배양: C57B6계 생쥐 (mouse)에서 유래된 수지상세포주 (Dendritic Cell line; DC-1)를 사용하였다. 배양액으로 100 units/mL 페니실린 (penicillin), 100 ug/mL 스트렙토마이신 (streptomycin) 그리고 10% fetal bovine serum이 첨가된 RPMI 1640을 사용하였으며, 배양기 속의

환경은 37℃, 5% 이산화탄소를 유지하였다.

실험동물: 150~180 g의 웅성 (male) Wistar rat (샘타코, 경기도)를 구매하여, 물과 고형사료 (SAM #31, 샘타코, 경기도)를 충분히 공급하며 2주간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

당뇨병 유발: Streptozotocin (STZ, Sigma)의 복강주사로 당뇨병을 유발하였다. 0.1 M의 citrate buffer를 pH 4.5로 적정한 다음, 133 mg/kg (20 mg/rat)의 분량으로 1회 복강 주사 하였고, 정상군은 동일한 양의 0.1 M citrate buffer를 복강 주사하였다. 48시간 후, 혈당을 측정하여 200 mg/dL가 넘는 쥐를 당뇨병이 유발되었다고 생각하고 실험에 사용하였다.

실험군 선정: 정상군 (n = 3)은 0.1 M의 citrate buffer를 복강 주사하고, 증류수 (D/W)를 하루 2회 (09:30, 18:00) oral zonde를 이용하여 경구투여 하였다. 당뇨병 대조군 (n = 3)은 STZ로 당뇨병을 유발시킨 후, 증류수를 하루 2회 경구투여 하였다. 실험군 (n = 3)은 STZ로 당뇨병을 유발시킨 후, 다시마 분말 <D> (0.6 mg/kg/day)를 하루 2회 경구투여 하였다. 다시마 분말 <D>의 투여기간은 day 0부터 day 10까지 11일간이었고, day 11부터 실험 종료 시까지 물과 고형사료를 충분히 공급하면서 관찰하였다 (Fig. 1).

혈당 및 체중 측정: 고형사료를 치우고 최소한 8시간이 경과한 후, 혈당 측정기 (Surestep plus blood monitoring system, USA)를 이용하여 공복 시 혈당 (FBG, Fasting Blood Glucose)을 측정하였다. 공복 시 혈당은 쥐꼬리 동맥혈을 이용하여 매일 오전 9시에 측정하였다. 체중은 고형사료와 다시마 분말 <D> 또는 증류수를 투여하기 전 간지 저울 (Tanita, Japan)을 이용하여 측정하였다.

활성산소 측정: 수지상세포주를 96 well plate에 2.5×10^4 cell/well로 분주하고 37℃, 5% 이산화탄소를 유지하며 4시간 동안 배양한 다음, 50 uM의 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA; Eastman kodak co., Rochester, NY)를 첨가하고 45분간 배양 하였다. 배양이 끝난 후, 배양액을 씻어내고, PBS (200 ul/well) 또는 희석된 다시마 분말 <D> 용액을 첨가하였다. 다시마 분말 <D>용액은 상기한 방법으로 만들어진 것을 200배 희석하여 사용하였다. 활성산소종

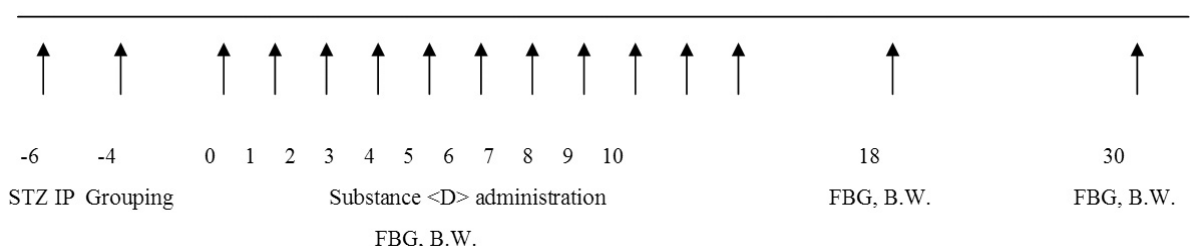


Fig. 1. Schedule for Induction of Diabetes, oral Feeding of Substance <D> and measurement of Fasting blood glucose (FBG) and body weight (B.W.).

Table 1. 분말 <D>의 단백질, 지방, 탄수화물 함유량과 열량

수분 (%)	단백질 (%)	지방 (%)	탄수화물 (%)	열량 (Kcal)
7.21	58.3	8.82	23.4	406.2

Table 2. 분말 <D>의 비타민 함유량 (mg/100 g)

C	B1	B2	PP	B-Karotin
1.94	1.05	1.86	10.4	0.20

Table 3. 분말 <D>의 미량원소 함유량 (mg/kg)

Fe	Zn	Mg	Ni	J	Se
783	28	4000	1250	2812	0

Table 4. 분말 <D>의 독성원소 (mg/kg) 및 방사능 (bk/kg) 함유량

Cu	Cd	As	Hg	Pb	Cesium 137	Strontium 90
1.04	0.184	3.1	0	0	200	100

의 양은 형광분석기 (Millipore, Bedford, MA)를 사용하여 측정하였다 (excitation at 485 nm, emission at 530 nm)¹¹⁾.

결 과

1. 다시마 분말 <D>의 성분 분석

본 연구에서 혈당 조절 효과를 알아보기 위하여 사용된 다시마 분말형태의 물질 <D>를 러시아에 소재하고 있는 국가보건 위생센터에 의뢰하여 독극성 및 방사능 안정성 여부와 화학성분에 대한 분석을 시행하였으며 분석결과는 Table 1~4에 제시한 바와 같다.

이상의 사실들을 근거로 하여 볼 때, 다시마 분말 <D>는 독성 물질과 방사능 물질이 안전지수를 초과하지 않으며 또한 성인의 일일 미량원소 복용 권장량에도 부합되는 식품으로서의 가치가 있다고 할 수 있다.

2. 다시마 분말 <D>가 당뇨병 유발 쥐의 혈당에 미치는 영향

다시마 분말 <D>가 STZ에 의하여 유발된 당뇨병 쥐의 혈당에 미치는 영향을 알아보기 위하여 공복 시 혈당을 측정하였다. 다시마 분말 <D>의 경구 투여 개시일을 0일로 하고, 24시간 후, 첫 공복 시 혈당 측정일을 1일로 하였다. STZ의 복강 주사 (-6일) 48시간 후 (-4일), 공복 시 혈당이 200 mg/dL가 넘는 쥐를 제1형 당뇨병이 유발 되었다고 판단하였다. 다시마 분말 <D>를 경구투여 한 후, 2일에서 4일 사이에 공복 시 혈당이 거의 정상 수준으로 떨어지는 것을 알 수 있다. 각 군에서 6일간의 평균 공복 시 혈당은 정상군

89.5 mg/dL, 당뇨병 대조군 306 mg/dL, 다시마 분말 <D>군은 177.1 mg/dL이었다 (Fig. 2). 그러나, 경구투여 7일 이후에는 경구투여를 계속 한 경우에도 (7~10일) 유의한 감소를 보이지 않았다. 또한 경구 투여를 중지하여도 (11~30일) 공복 시 혈당이 유의하게 상승하거나, 감소하는 경향은 보이지 않았다. 다시마 분말 <D> 투여 후 7일부터 30일까지의 평균 혈당은 정상군 92.8 mg/dL, 당뇨병 대조군 391 mg/dL, 다시마 분말 <D>군 327.4 mg/dL이었다 (Fig. 3).

3. 다시마 분말 <D>가 당뇨병 유발 쥐의 체중에 미치는 영향

다시마 분말 <D>가 당뇨병 유발 쥐의 체중에 미치는 영향을 알아보기 위해 공복 시 체중을 측정하였다. 체중의 변화량은 다시마 분말 <D>의 경구 투여 개시일 (1일)을 기준으로 계산 하였다. 다시마 분말 <D> 투여 후 10일까지는 유의한 체중 변화를 보이지 않았지만, 다시마 분말 <D>의 경구투여를 중지한 후, 계속되는 관찰에서 유의한 수준의 체중 감소에 대한 억제 효과가 관찰되었다. 다시마 분말 <D>의 경구투여 후 10일째 되는 날, 정상군은 40 g이 증가 하였으나, 당뇨병 대조군은 변화가 없었고, 다시마 분말 <D>군은 평균 3 g 증가하여 유의한 차이를 보이지 않았다. 같은 조건으로 다루어진 다른 개체에서도 동일한 추세를 확인하였다 (data not shown). 그러나, 계속되는 관찰에서 유의한 수준의 체중 감소에 대한 억제가 관찰되었는데, 18일째 다시마 분말 <D>군의 체중 감소율은 당뇨병 대조군에 비하여 각각 13.0%와 36.4%, 30일째에는 14.9%와 50.0% 억제 효과를 보였다 (Fig. 4).

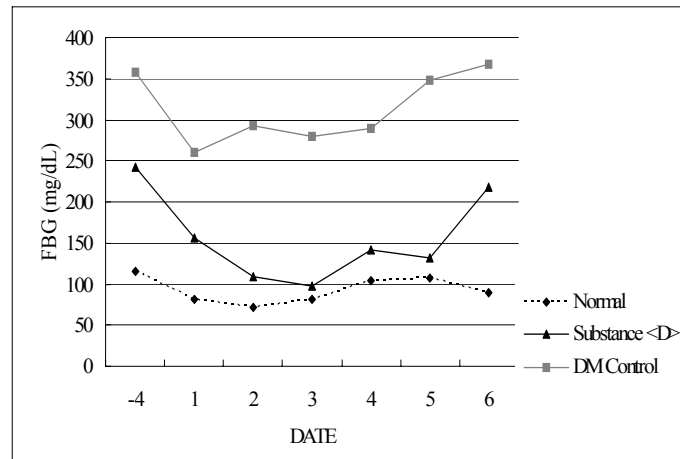


Fig. 2. Effect of Substance <D> on blood glucose levels in early stage. Normal, vehicle-treated rat; DM Control, vehicle-treated STZ-diabetic rat; Substance <D>, Substance <D>-treated STZ-diabetic rats.

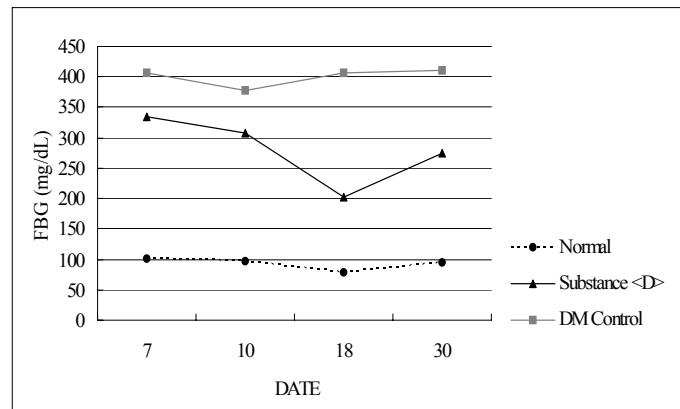


Fig. 3. Effect of Substance <D> on blood glucose levels in late stage. Normal, vehicle-treated rat; DM Control, vehicle-treated STZ-diabetic rat; Substance <D>, Substance <D>-treated STZ-diabetic rats.

4. 다시마 분말 <D>의 항산화 효과

다시마 분말 <D>가 정상세포 내에서 항산화능이 있는지 알아보기 위하여, ROS-sensitive probe인 DCFH-DA를 사용하여 ROS level를 측정하였다. 다시마 분말 <D>는 정상 세포 내의 ROS level을 시간에 따라 유의하게 감소시켰다. ROS level은 다시마 분말 <D> 투여 60분 이후부터 유의한 수준으로 감소시켰는데, Control과 비교하여 60분에는 23.4%, 90분에는 28.9%, 120분에는 30.0%가 감소하였다 (Fig. 5).

고 찰

본 연구를 통하여 다시마 분말 <D>는 정상 세포 내에서 항산화능을 가지며, 당뇨병 초기의 고혈당은 효과적으로 조절할 수 있으나, 췌장의 베타세포가 완전히 파괴되어 제1형 당뇨병으로 발전한 이후에는 혈당을 조절할 수 없음을 알

수 있었다. 그러나, 제1형 당뇨병이 확립된 이후에도 체중 감소를 억제시키는 기능이 있음을 알 수 있었다.

각종 천연물에서 추출한 성분 중, 항고혈당능 또는 항고 지혈능을 갖는 물질이 항산화능을 동시에 갖는 경우가 알려져 있고, 약용 식물 추출물인 Hyponid의 항고혈당능은 프리 라디칼을 제거하고, 내재적 항산화제들이 파괴되는 것을 막아주는 기전에 의한다는 사실이 알려져 있다^{4,12,13}. 또한, 비타민 C와 코발트를 이용한 최근의 연구에서 항산화제가 효과적으로 고혈당을 조절하였으나, 신장의 변형된 방어 체계는 완벽하게 회복시키지 못한다는 것이 밝혀졌다¹⁴. 다시마 분말 <D>는 당뇨병 유발 초기의 고혈당은 효과적으로 조절하였지만, 계속되는 관찰에서 항고혈당능을 발휘하지는 못하였다. 이는 다시마 분말 <D> 투여와 관계없이, STZ에 의하여 베타세포가 파괴되어 제1형 당뇨병이 형성되었음을 의미한다. 이러한 사실들을 바탕으로, 다시마 분말 <D>의 항고혈당능은 췌장의 베타세포파괴를 방지하는 기능에 기인

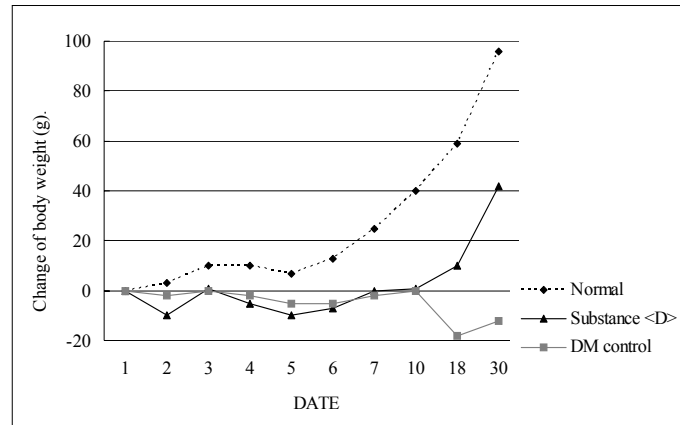


Fig. 4. Effect of Substance <D> on body weight loss in diabetic rats. Normal, vehicle-treated rat; DM Control, vehicle-treated STZ-diabetic rat; Substance <D>, Substance <D>-treated STZ-diabetic rats.

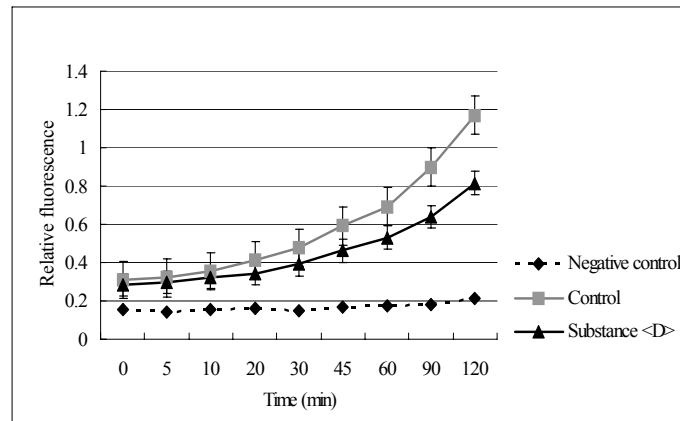


Fig. 5. Effect of Substance <D> on intracellular ROS levels in normal cells. Negative control, Cell only; Control, Cell + 50 μ M DCTH-DA; Substance <D> treated Cell + 50 μ M DCTH-DA+ Substance <D> (1 : 200 dilution). Results are representative of three experiments.

하는 것이 아니라, Hyponidd나 비타민 C처럼 항산화효과에 기인한다는 것을 알 수 있다.

또한 항산화능이 있는 R-(+)- α -lipoic acid (R-ALA)를 사용한 최근의 연구에서 적절한 운동과 항산화제가 인슐린의 기능을 향상시켜 혈당에 대한 저항성을 높이는 것이 보고되었다¹⁵⁾. 이러한 내용으로 볼 때, 다시마 분말 <D>의 혈당 조절에는 다른 항산화제들과 유사한 혈당에 대한 전신적 저항성과 관련된 다른 기전이 있을 가능성은 매우 높다.

STZ를 복강주사하여 당뇨병을 유발 시키면 고혈당, 당뇨, 단백뇨와 체중감소를 보인다. 시간이 지나면 여러 가지 복합적 요인에 의하여 신장이 제 기능을 하지 못하게 되므로 크레아티닌과 요소의 제거기능이 떨어지게 되고, 산화적 스트레스가 현저하게 증가하게 된다¹⁶⁾. 다시마 분말 <D>의 경구 투여 후, 계속된 관찰에서 점진적으로 체중 감소가 억제되는 것이 관찰되었는데, 이때의 혈당은 당뇨병 대조군과

유의할 만한 차이가 없었다. 최근 연구에서 비타민 C와 desferrioxamine이 신장 사구체 내에서 superoxide anion의 생성을 억제하고, 이어 PGE2의 생성을 억제하는 것이 알려졌다¹⁷⁾. 따라서 다시마 분말 <D>의 체중 감소 억제 효과도 이와 유사한 항산화능에 의한 신장 손상 방지에 기인한 것이라 생각된다. 또한, 혈장 내의 지질 과산화도를 낮추거나 내피세포 보호하는 등의 항산화 효과를 통해 혈관 손상을 방지하고, 그 결과 이차적으로 신장의 손상을 방지한다는 가정도 배제할 수 없다¹⁸⁾.

본 연구에서 당뇨병 유발 초기에 체중 감소 억제 효과가 없는 것으로 나타난 것은 체중 변화의 속도가 느리고 그 폭이 작기 때문으로 생각된다. 다시마 분말 <D> 투여 7일째, 정상군은 25 g의 체중 증가를 보였고, 당뇨병 대조군은 첫째날과 동일하였으므로 비록 3 g의 증가이지만, 다시마 추출 분말 <D>군이 대조군에 비해 12%의 체중 감소 억제 효

과를 보인다고 말할 수 있다. 이러한 체중 감소 억제 효과는 18일에 24.7%, 30일에 32.5%로 시간이 지남에 따라 점점 증가하였다. 체중 감소 억제 효과의 또 다른 요인인 식이량에 있어서는 각 군 간의 유의할 만한 차이는 없었고, 일일 음수량은 당뇨병 대조군에서 정상군이나 실험군에 비해 많았다 (data not shown).

본 연구에서 다시마 분말 <D>는 정상 세포에 대한 항산화능을 가지고 있으며, 당뇨병이 유발된 쥐에서 항고혈당능과 체중감소를 억제하는 능력을 갖지만, 그것은 췌장의 β -세포 파괴를 방지하는 데에 기인하는 것이 아니라 다시마 분말 <D>가 가진 항산화능에 기인한다는 사실을 밝혔다. 아울러 다시마 분말 <D>는 항산화능을 가진 새로운 대체 물질로서의 가능성을 가지고 있으며 당뇨병성 신증뿐만 아니라, 심혈관계질환, 망막질환에 이르기까지 광범위하게 그 효과를 검증해보아야 할 것으로 사료된다. 따라서, 다시마 분말 <D>는 식품보조제로서 권장할 만하며 기존의 다시마가 가지고 있는 혈당 조절 기능을 바탕으로 하여 볼 때 혈당 조절과 관련된 다시마 분말 <D>의 효능에 관한 연구도 가치가 있을 것으로 사료된다.

요 약

연구배경: 다시마는 저칼로리 식품으로 다시마의 섬유질 성분은 혈당조절효과가 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 본 연구진이 직접 분리한 다시마 분말 <D>를 이용하여 streptozotocin에 의해서 당뇨병이 유발된 백서에서의 혈당조절 효과에 대해서 알아봄으로써 당뇨병환자의 효과적 혈당 조절 보조인자로서의 사용 가능성에 대해서 알아보고자 하였다.

연구방법: 백서를 각 군당 3마리씩 1) 용매만을 투여하는 대조군, 2) 용매만을 투여하는 당뇨병 유발군, 3) 다시마 분말 <D>를 투여하는 당뇨병 유발군의 세 군으로 나눈 다음 일정 기간 동안의 공복 시 혈당을 측정하였다. 이와 함께 혈당 조절과 관련한 다시마 분말 <D>의 항산화제로서의 효능을 알아보기 위하여 세포 내 유해산소 활성기의 생성 정도 및 수준을 형광분석기를 이용하여 분석하였다.

연구결과: Streptozotocin을 이용하여 당뇨병을 유발시킨 후 다시마 분말 <D>를 경구투여한 백서군에서 초기 (7일 이내) 혈당 상승의 억제효과를 관찰하였다. 또한 동일 백서를 장기간 관찰한 결과, 당뇨병에 동반되는 체중 감소 현상의 억제가 확인되었다. 다시마 분말 <D>를 처리한 세포에서 세포내 유해산소반응기의 생성이 현저하게 억제됨을 확인 하였다.

결론: 본 연구진이 순수 분리한 다시마 분말 <D>는 streptozotocin에 의해서 유발된 당뇨병 모델에서 혈당의 상승을 억제하고 체중감소를 방지하는 효능이 있는데, 그러한

기능은 다시마 분말 <D>가 가진 항산화능에 기인한다.

감사의 글

본 연구는 서울특별시 지원 전략산업 혁신 클러스터 육성사업의 연구비 지원으로 수행되었습니다.

참 고 문 헌

1. Kurt J. Isselbacher, Eugene Braunwald, Jean D. Wilson, Joseph B. Martin, Anthony S. Fauci, Dennis L. Kasper: *Harrison TR Principles of Internal Medicine, Diabetes Mellitus* 132144-2145, 2150, 2161-2164, 1997
2. Beckman JA, Creager MA, Libby P: *Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. JAMA* 287;2570-81, 2002
3. Hayden MR, Tyagi SC, Kerklo MM, Nicolls MR: *Related Articles: Type 2 diabetes mellitus as a conformational disease. JOP.* 6;287-302, 2005
4. Babu PS, Stanely Mainzen Prince P: *Antihyperglycaemic and antioxidant effect of hyponidd, an ayurvedic herbomineral formulation in streptozotocin-induced diabetic rats. J Pharm Pharmacol.* 56;1435-42, 2004
5. Kamalakkannan N, Stanely Mainzen Prince P: *Effect of Aegle marmelos Correa. (Bael) fruit extract on tissue antioxidants in streptozotocin diabetic rats. Indian J Exp Biol.* 41;1285-8, 2003
6. Kopyt NP: *Slowing progression along the renal disease continuum. J Am Osteopath Assoc.* 105;207-15, 2005
7. Lee KS, Choi YS, Seo JS: *Sea tangle supplementation lowers blood glucose and supports antioxidant systems in streptozotocin-induced diabetic rats. J Med Food.* 7:130-5 2004.
8. 조영자, 방미애: *Streptozotocin-유발 당뇨 쥐에서 다시마 추출물 첨가식이의 항당뇨 및 항산화 효과. 한국영양학회지.* 37:5-14 2004
9. 김대경, 이호, 김진숙, 용철순, 김정애, 허근: *스트랩토조토신으로 유도된 흰쥐의 당뇨병 간에서 산화적 스트레스 및 크산친 옥시다제의 활성에 대한 다시마 (Laminaria japonica)의 예방효과. 영남대학교 연구업적집.* 14:170-3 2004
10. Rakieten N, Rakieten ML, Nadkarni MV: *Studies on the diabetogenic actions of streptozotocin. Cancer*

- Chemother Rep* 29:91-8, 1963
11. Cho D, Hahm E, Kang JS, Kim YI, Yang Y, Park JH, Kim D, Kim S, Kim YS, Hur D, Park H, Pang S, Hwang YI, Lee WJ: *Vitamin C downregulates interleukin-18 production by increasing reactive oxygen intermediate and mitogen-activated protein kinase signalling in B16F10 murine melanoma cells. Melanoma Res.* 13;549-54, 2003
 12. Luo Q, Cai Y, Yan J, Sun M, Corke H: *Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from Lycium barbarum. Life Sci.* 76;137-49, 2004
 13. de Sousa E, Zanatta L, Seifriz I, Creczynski-Pasa TB, Pizzolatti MG, Szpoganicz B, Silva FR: *Hypoglycemic effect and antioxidant potential of kaempferol -3,7-O-(alpha)-dirhamnoside from Bauhinia forficata leaves. J Nat Prod.* 67;829-32, 2004
 14. Yildirim O, Buyukbingol Z: *In vivo effect of vitamin C with cobalt on oxidative stress in experimental diabetic rat kidney. Diabetes Nutr Metab.* 16;208-13, 2003
 15. Saengsirisuwan V, Perez FR, Kinnick TR, Henriksen EJ: *Effects of exercise training and antioxidant R-ALA on glucose transport in insulin-sensitive rat skeletal muscle. J Appl Physiol.* 92;50-8, 2002
 16. Sharma S, Anjaneyulu M, Kulkarni SK, Chopra K: *Resveratrol, a Polyphenolic Phytoalexin, Attenuates Diabetic Nephropathy in Rats. Pharmacology.* 76;69-75, 2005
 17. Iino K, Iwase M, Sonoki K, Yoshinari M, Iida M: *Combination treatment of vitamin C and desferrioxamine suppresses glomerular superoxide and prostaglandin E production in diabetic rats. Diabetes Obes Metab.* 7;106-9, 2005
 18. Serbecic N, Beutelspacher SC: *Anti-oxidative vitamins prevent lipid-peroxidation and apoptosis in corneal endothelial cells. Cell Tissue Res.* 320:465-75, 2005