

db/db마우스에서 *Aspergillus awamori*로 발효한 황기 추출물의 항당뇨 및 지질개선 효능

이은정¹ · 최활² · 윤원찬³ · 김영수⁴ · 송빛나⁵ · 이미연⁶ · 박보람⁷ · 이성현⁸ · 최지호⁹ · 박신영^{10†}

Anti-diabetic and Lipid Profile Effect of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge Fermented by *Aspergillus awamori* in db/db Mice.

Eun Jung Lee¹, Hwal Choi², Won Chan Yoon³, Young Soo Kim⁴, Bit Na Song⁵, Mi Yeon Lee⁶,
Bo Ram Park⁷, Sung Hyen Lee⁸, Ji Ho Choi⁹ and Shin Young Park^{10†}

ABSTRACT

Received: 2021 March 9
1st Revised: 2021 March 25
2nd Revised: 2021 April 20
3rd Revised: 2021 May 17
Accepted: 2021 May 17

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Background: This study investigated the anti-diabetic effects of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge fermented by *Aspergillus awamori* in db/db mice.

Methods and Results: *Astragalus membranaceus* roots were fermented with *A. awamori* for 4 days and extracted with hot water. The male mice were divided into five groups: db/m (non-diabetic db/+mice), db/db (C57BLKs/J db/db mice), MT (db/db + 1% metformin), AM (db/db + 1% *A. membranaceus* extract), and FAM (db/db + 1% fermented *A. membranaceus* extract). After 10 weeks of treatment, we measured the body weight, food intake, and blood glucose, hemoglobin A1C (HbA1c), plasma insulin, adiponectin, and transaminase levels. Oral glucose tolerance test was performed and serum lipid profile was determined. As expected, the AM and FAM groups had significantly reduced body weight, fasting glucose, lipid content, and HbA1c, transaminase, and serum insulin levels, and increased serum adiponectin levels.

Conclusions: Therefore, based on these research results, *A. membranaceus* extract and fermented *A. membranaceus* extract can be used to prevent and treat type 2 diabetes by reducing blood glucose levels and lipid content.

Key Words: Fermented *Astragalus membranaceus*, *Aspergillus awamori*, Blood Glucose, Type 2 Diabetes, db/db Mice

서 언

최근 우리나라의 서양화된 식습관과 운동 부족으로 인해 당뇨병의 발병률이 증가하는 추세이다. 당뇨병 (diabetes mellitus, DM)은 자가 면역성 반응 등에 의해 췌장에 존재하는 β -cell 파괴로 인해 체내 인슐린의 기능 저하로 고혈당을

유발하는 것으로 알려져 있다 (Kwon *et al.*, 2020). 당뇨병은 기전에 따라 인슐린 의존형인 제1형 당뇨병과 인슐린 저항성으로 인슐린 분비에 문제를 일으켜 나타나는 인슐린 비의존형인 제2형 당뇨병으로 분류되며, 우리나라의 당뇨 환자는 대부분 제2형 당뇨병에 속한다고 알려져 있다 (Hue *et al.*, 2009). 제2형 당뇨병의 원인으로 고령, 비만, 약물 등의 환경적 요

†Corresponding author: (Phone) +82-63-238-3641 (E-mail) soyeonj@korea.kr

¹농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 발효가공식품과 연구원 / Researcher, Fermented Processing Food Science Division, NIAS, RDA, Wanju 55365, Korea.

²원광대학교 동물매개치료학과 학부생 / Undergraduate student, Department of Animal Assisted Therapy, Wonkwang University, Iksan 55348, Korea.

³전북대학교 식품공학과 학부생 / Undergraduate student, Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Korea.

⁴전북대학교 식품공학과 교수 / Professor, Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Korea.

⁵농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 발효가공식품과 연구원 / Researcher, Fermented Processing Food Science Division, NIAS, RDA, Wanju 55365, Korea.

⁶농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 발효가공식품과 연구원 / Researcher, Fermented Processing Food Science Division, NIAS, RDA, Wanju 55365, Korea.

⁷농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 발효가공식품과 연구사 / Researcher, Fermented Processing Food Science Division, NIAS, RDA, Wanju 55365, Korea.

⁸농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 기능성식품과 연구관 / Researcher, Functional food Division, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Korea.

⁹농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 발효가공식품과 연구관 / Researcher, Fermented Processing Food Science Division, NIAS, RDA, Wanju 55365, Korea.

¹⁰농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 발효가공식품과 연구사 / Researcher, Fermented Processing Food Science Division, NIAS, RDA, Wanju 55365, Korea.

인 및 유전적 요인으로 인해 발생하며, 비만한 경우 만성 염증을 유발하여 인슐린이 세포에 제대로 유입이 되지 않아 인슐린 저항성을 나타낸다 (Lee *et al.*, 2019).

인슐린 저항성이란 췌장의 β -cell에서 분비되는 호르몬인 인슐린이 표적 세포인 근육 및 지방조직에서 작용이 감소하여 나타나는 현상으로 인슐린 저항성이 계속 진행되면 말초조직에서 포도당 이용이 감소 되고 간에서는 포도당 생산이 증가 되어 체내에 혈당수치가 높아지게 된다 (Wilcox, 2005).

당뇨병 치료를 위해 체내 인슐린 분비와 혈당 조절이 중요하며, 사용되는 경구 혈당 강하제는 당 분해에 관여하는 효소들을 저해하는 물질로 작용기전에 따라 인슐린 분비촉진제 (sulfonylurea), 포도당 흡수를 지연시키는 α -glucosidase 저해제, 간에서 포도당 신합성 억제제 (metformin) 등으로 분류되어진다 (Hwang and Han, 2007). 그러나 현재 시판되고 있는 치료제들은 신장 기능 악화, 간독성, 체중증가 및 설사 등 여러 형태의 부작용을 나타낸다고 알려져 있다 (Kim *et al.*, 2016). 따라서 부작용이 적고 혈당 조절에 효과를 나타내는 천연물에 관심이 높아지는 추세이다.

황기 (Astragali Radix)는 콩과 (Leguminosae)에 속하는 다년생 초본식물로 단란삼 [Astragalus membranaceus (Fisch.) Bunge] 또는 몽골황기 (Astragalus membranaceus [Bunge] var. mongholicus Hsiao)의 뿌리이며 주피를 제거하여 건조한 것으로 한약재로 이용되고 있다 (Liu *et al.*, 2011). 한국, 중국, 일본이 원산지나 유럽 및 아프리카 일부 지역에도 분포되어 있으며, 우리나라에서는 강원도 정선, 삼척과 충북 제천 등에서 재배되고 있다 (Jegal *et al.*, 2019).

황기의 약리학적 효능으로 항당뇨, 항암 작용 및 항염 효과가 보고 되어있다 (Bae *et al.*, 2007; Kim, 2019; Lee *et al.*, 2020). 황기 뿌리의 주요 성분은 생리활성 화합물인 isoflavonoids, saponin, polysaccharide, 아미노산과 미량원소 등이 존재하며 이러한 화합물 중 astragaloside과 calycosin, formononetin 등이 대표적인 성분으로 알려져 있다 (Zhang *et al.*, 2019). 황기에 포함되어있는 saponin계열의 주요 성분은 astragaloside I - VIII이 존재하며, Zhou 등 (2020)은 당뇨병으로 유발된 마우스에게 황기의 사포닌 성분인 astragaloside IV에 의하여 산화스트레스 억제함으로 고혈당 유발 세포 사멸을 약화시켜 당뇨병의 진행을 방지하였다고 보고하였다.

또 다른 황기의 성분인 isoflavonoid에는 배당체인 calycosin-7- σ - β -D-glucoside, formononetin-7- σ - β -D-glucoside (ononin) 과 비 배당체 성분인 calycosin, formononetin이 존재한다고 알려져 있으며, 비배당체 isoflavonoid가 배당체 isoflavonoid보다 체내 흡수에 효과적으로 알려져 있다. 이 성분은 식물성 유사 호르몬 (phytoestrogen)으로 에스트로겐과 구조적 유사하여 여성호르몬 대체 천연물로 사용되어지고 있다 (Kim *et al.*, 2020).

발효는 예로부터 이어 저온 가공 방법으로 미생물 작용을 통해 천연물의 생리활성물질을 증가시키며 생체이용률을 높여 주는 것으로 알려져 있다. β -glucosidase를 함유 하고있는 균주인 *Aspergillus awamori*를 이용하여 황기를 발효하였을 때 황기에 존재하는 배당체가 감소하고 비배당체 물질이 증가되었다고 보고하였다 (Lee *et al.*, 2020).

따라서 본 연구에서는 제2형 당뇨병으로 유발된 db/db mice에서 황기 추출물 및 *Aspergillus awamori*로 발효한 황기추출물의 항당뇨에 대한 영향을 조사하여 식품 기능성 소재로서의 활용 가능성을 알아보하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 황기 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge]는 충북 제천산 3년근으로 경동시장 (Kyungdong Market, Seoul, Korea)에서 구입 하여 농촌진흥청 원예특작과 학원 약용작물과에서 확인 후 사용하였다. 황기 발효에 사용한 균주는 국립농업과학원 발효가공식품과에서 분리한 *Aspergillus awamori* N60247를 사용하였으며, 균의 보존용 배지로 potato dextrose agar (PDA, Difco Laboratories Inc., Detroit, MI, USA)를 이용하여 30°C에서 5 일간 평판 배양한 다음 접종원으로 사용하였다.

2. 황기 추출물 및 발효황기 추출물 제조

황기 뿌리를 파쇄하여 수분 보정 후 고압멸균기 (Vision Scientific, Co., Ltd., Daejeon, Korea)를 이용하여 멸균하였으며, 멸균된 황기 뿌리에 Lee 등 (2020)의 방법과 동일하게 제조된 *Aspergillus awamori*를 접종한 누룩을 1% 혼합하여 30°C 온도의 incubator (VS-1203PFHLN, Vision Scientific, Co., Ltd., Daejeon, Korea)에서 4 일간 발효 후 -80°C 초저온냉동기 (deep freezer, Ilsin BioBase Co., Ltd., Yangju, Korea)에서 24 시간 동결시킨 후 동결건조기 (freeze dryer, Iksan BioBase Co., Ltd., Dongducheon, Korea)에서 72 시간 동결건조 후 추출물 시료로 사용되었다.

황기 시료 및 발효황기 시료 100 g에 정제수 1 l 를 첨가하여 ultrasonication (Power Sonic 420, 50/60 Hz, 700W Hwashin Co., Ltd., Seoul, Korea) 로 60°C에서 1 시간, 2 회 반복 추출한 후 Whatman No. 2 여과지를 이용하여 여과시킨 후, rotary vacuum evaporator (BÜCHI Labortechnik AG Flawil, Switzerland)를 이용하여 50°C 이하에서 감압 농축하였다. 농축된 추출물은 동결건조기 (freeze dryer, Iksan BioBase Co., Ltd., Dongducheon, Korea)를 통해 분말화하여 실험 식이로 사용하였다.

3. 실험동물

실험동물은 8 주령의 수컷 C57BLKS/J-db/db mouse (DooYeol Biotech Animal Inc., Seoul, Korea)를 구입하여 일주일간 순응시킨 후 총 5 개군으로 정상군 (db/m), 음성대조군 (db/db), 양성대조군 [db/db + 1% Metformin (MT)], 황기군 [db/db + 1% 황기 추출물 (AM)], 발효황기군 [db/db + 1% 발효황기 추출물 (FAM)]으로 나누었으며 각 군에 10 마리씩 배정하여 10 주간 실험을 진행하였다.

동물실험실의 사육조건은 온도 $22.0 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$, 습도 $50.0 \pm 10.0\%$ 를 유지하였으며, 명주기와 암주기를 12 시간 간격으로 조절하였다. 사료는 기본 사료 (AIN-93G Purified Rodent Diet, Zeigler Bros Inc., Gardners, PA, USA)에 추출물을 1% 혼합하여 사료로 조제하여 식이로 제공하였다. 실험기간 동안 식이와 물은 제한 없이 섭취하도록 하였으며 체중과 사료 섭취량은 매주 일정한 시간에 기록하였다. 동물실험은 국립농업과학원 동물실험윤리위원회 (NAS-202008)의 승인을 받아 본원 표준작업지침서에 따라 수행되었다.

4. 체중, 식이 섭취량 측정

실험동물의 체중과 식이섭취량은 실험시작과 동시에 매주 1 회 10 주간 측정하였으며, 식이섭취량은 이전 사료 공급량의 잔량을 측정하였다. 식이효율은 아래의 공식에 따라 산출하였다.

$$\text{Food efficiency ratio (\%)} = \frac{\text{Body weight gain (g/day)}}{\text{Food intake (g/day)}}$$

5. 공복 혈당 변화

혈당은 4 주 간격으로 2 번 측정되었으며 실험동물을 6 시간 절식 후 꼬리정맥으로부터 혈액을 얻어 혈당측정기 (Accu-Check Active, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)를 이용하여 공복 시 혈당을 측정하였다.

6. 경구 당부하 검사 (oral glucose tolerance test, OGTT)

실험 시작 5 주차에 실험동물을 12 시간 절식시켜 꼬리 정맥에서 채혈하여 공복시 혈당을 측정한 후, 2 g/kg의 glucose를 경구투여하고 30, 60 및 120 분 후 혈당측정기 (Accu-Check Active, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)를 이용하여 혈당을 측정하였다. 내당능 검사에 따른 혈당 반응 면적 (AUC; area under the curve)은 Pruessner 등 (2003)의 공식을 이용하여 계산하였다.

7. 혈장 및 장기 채취

희생 전 24 시간 절식한 실험동물은 CO₂로 마취 후 안와 채혈을 통해 전혈을 채혈하였으며 일부 전혈은 당화혈색소분

석기 (EasyA1c, Infopia, Anyang, Korea)를 사용하여 당화혈색소 (HbA1c) 분석에 사용하였으며, 나머지 전혈은 4°C, 2,000 rpm의 조건에서 10 분간 원심분리하여 혈청을 분리하여 생화학적 지표 분석을 위한 시료로 이용하였다. 혈액 채취 후 즉시 적출하여 생리식염수에 행군 후 표면의 수분을 제거하고 무게를 측정하였다.

8. 혈장 내 insulin 및 adiponectin 측정

혈장 내 insulin 농도는 mouse insulin ELISA kit (My-BioSource, MBS038565, San Diego, CA, USA)를 사용하여 측정하였다. 인슐린 저항성을 측정하기 위한 homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) 지표는 glucose 농도 및 인슐린 농도를 이용하여 계산하였다. Adiponectin 농도는 mouse adiponectin ELISA kit (R&D systems, MRP300, Minneapolis, MN, USA)을 사용하였으며, 실험은 제조방법에 따라 수행되었다.

$$\text{HOMA-IR} = \frac{[\text{Fasting glucose (mmol/l)}] \times [\text{Fasting insulin } (\mu\text{l}\cdot\text{U/ml})]}{22.51}$$

9. 혈청 지질 및 효소 활성 분석

원심분리 후 얻어진 혈청을 혈액 생화학분석기 (BS220, Mindray, NewYork, NY, USA)를 이용하여 혈청의 지질지표인 TC (total cholesterol), TG (triglycerides), HDL-C (high density lipoprotein-cholesterol) 및 LDL-C (low density lipoprotein-cholesterol)와 간 효소 활성 지표인 AST (aspartate aminotransferase) 및 ALT (alanine aminotransferase)를 측정하였다.

10. 통계처리

실험 결과는 평균과 표준편차 (means \pm SD)로 나타내었으며, 각 실험결과에 대한 통계분석은 SPSS 25.0 program (Statistical package for social sciences, version 18.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 One-way ANOVA를 실시한 후 Duncan's Multiple Range Test (DMRT)방법을 사용하여 각 처리구간의 유의성을 5% 수준에서 검증하였다 ($p < 0.05$).

결과 및 고찰

1. 체중증가량 및 식이 섭취량에 미치는 영향

본 실험에서 사용된 db/db 마우스는 leptin의 변이로 인한 다식, 비만, 인슐린 저항성, 고혈당, 고인슐린혈증 등을 나타내는 제2형 당뇨 모델이다 (Min *et al.*, 2011). 실험기간 동안 황기 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge] 추출물, 발

효황기 추출물로 제조한 식이 섭취에 따른 db/db 마우스의 체중 변화, 식이 섭취량을 Table 1에 나타내었다.

실험동물의 실험 시작 시 체중은 정상군 21.7 ± 0.4 g, 실험군은 평균 42-45 g으로 나타났으며 실험이 진행될수록 실험군 전체적으로 체중이 증가하였다. 실험종료 시 db/db군의 무게는 54.7 ± 2.8 g, 황기 추출물 및 발효황기 추출물 식이군의 체중은 각각 52.7 ± 1.8 g, 51.4 ± 3.3 g으로 db/db군과 비교하였을 때, 감소하였지만 유의성은 나타나지 않았다. 10 주간의 체중 증가량을 비교한 결과 FAM군이 8.1 ± 3.4 g으로 다른 실험군에 비하여 적게 증가 되었다.

식이 섭취량은 db/m군보다 db/db군이 유의적으로 높게 나타났으며 이는 당뇨 증상 중 하나인 다식으로 인한 현상으로 혈중 포도당 함량이 높으나 세포 내에서 이용하지 못하여 에너지 부족 현상을 초래하여 (Lee et al., 2012) 식이 섭취량이 증가한 것으로 판단된다. 반면 황기 추출물 (AM군) 및 발효황기 추출물 (FAM군) 투여군의 식이 섭취량은 db/db군에 비하여 유의하게 감소함을 보였다. 하루 간의 체중 증가량과 식이 섭취량의 계산한 식이 효율의 경우 실험군에서 유의한 차이점이 나타나지 않았다. 본 실험에서 황기 추출물 및 발효황기 추출물 식이로 인하여 당뇨로 인한 체중증가와 다식 현상을 억제하는 경향이 있는 것으로 판단 되었다.

2. 혈당에 미치는 영향

제2형 당뇨병 유발된 db/db 마우스에서 발효황기 추출물의

식이 보충이 실험이 진행되는 동안 4 주 간격으로 공복혈당의 변화를 측정된 결과로 Table 2에 나타내었다.

실험 시작 혈당은 평균 368.0 mg/dl 로 비슷한 수치였으나, 4 주차부터 혈당이 상승하였으며, 이는 실험에 사용된 db/db 마우스의 leptin 수용체 유전자 변형으로 인한 고혈당증이 유발되었음을 알 수 있다. 8 주차에 db/db군은 4 주와 비교하였을 때, 536.8 mg/dl 에서 582.5 mg/dl 로 증가하였으나 실험군들의 4 주간 혈당을 각각 비교 시 AM군은 557.3 mg/dl 에서 514.0 mg/dl, FAM군은 495.0 mg/dl 에서 469.8 mg/dl 로 감소함을 나타내었으며, 양성대조군인 MT군 (471.3 ± 28.5 mg/dl) 보다 우수한 공복혈당 감소 효과를 나타내었다.

제2형 당뇨병을 치료하는 방법으로 경구 혈당 강하제를 복용하여 혈당을 조절한다. 실험에 사용된 약물인 metformin은 biguanide 계열로 경구용 혈당 강하제 중 간에서 포도당 합성을 억제하여 혈당 조절을 원활하게 도움을 주는 것으로 알려져 있다 (Golay, 2008).

따라서 발효황기 추출물이 MT군과의 유사한 혈당수치를 나타내어 천연물로서 당뇨병 치료에 도움을 줄 것으로 판단된다.

3. 경구 당 부하 검사에서 혈당의 변화

포도당 내성 효과를 측정하기 위해 실험 식이 급여 5 주 경과 후 포도당 (2 g/kg)을 경구투여 후 30 분, 60 분, 120 분 혈중 glucose의 농도를 측정된 결과는 Fig. 1A와 같다.

포도당 투여 30 분 후의 모든 실험군의 혈당이 최대치를

Table 1. Effect of extract from *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge fermented by *Aspergillus awamori* on weight gain and food intake in db/db mice.

	db/m ¹⁾	db/db ²⁾	MT ³⁾	AM ⁴⁾	FAM ⁵⁾
Initial body weight (g)	21.7±0.4 ^a	45.2±0.8 ^c	42.6±0.9 ^b	43.7±0.5 ^b	43.3±1.5 ^b
Final body weight (g)	27.8±1.7 ^a	54.7±2.8 ^b	51.5±3.3 ^b	52.7±1.8 ^b	51.4±3.3 ^b
Body weight gain (g)	6.1±1.4 ^a	9.5±2.8 ^a	8.0±4.5 ^a	9.0±1.3 ^a	8.1±3.4 ^a
Food intake (g/day)	2.7±0.1 ^c	5.9±0.2 ^a	4.9±0.4 ^b	5.6±0.4 ^{ab}	5.3±0.6 ^{ab}
Food efficiency ratio (%)	0.24±0.2 ^a	0.14±0.4 ^a	0.08±0.6 ^a	0.11±0.4 ^a	0.1±0.5 ^a

Food efficiency ratio = weight gain / food intake. ¹⁾db/m; normal control group, ²⁾db/db; type 2 diabetic control group, ³⁾MT; db/db mice + 1% metformin, ⁴⁾AM; db/db mice + fed with 1% extracts of *Astragalus membranaceus*, ⁵⁾FAM; db/db mice + fed with 1% extracts of *Astragalus membranaceus* fermented by *Aspergillus awamori*. Values are means ± SD (n = 5). *Means with different superscript in the same column are significantly different at 5% by Duncan's Multiple Range Tests (DMRT, p < 0.05).

Table 2. Effect of extract from *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge fermented by *Aspergillus awamori* on blood glucose levels in db/db mice.

Blood glucose (mg/dl)	db/m ¹⁾	db/db ²⁾	MT ³⁾	AM ⁴⁾	FAM ⁵⁾
0 weeks	96.0±3.0 ^a	372.6±46.7 ^b	359.0±19.4 ^b	368.4±37.3 ^b	372.6±35.3 ^b
4 weeks	144.4±17.2 ^c	536.8±22.5 ^a	550.1±38.8 ^a	557.3±21.3 ^a	495.0±13.3 ^c
8 weeks	124.6±13.7 ^d	582.5±16.4 ^a	471.3±28.5 ^c	514.0±41.6 ^b	469.8±28.0 ^c

¹⁾db/m; normal control group, ²⁾db/db; type 2 diabetic control group, ³⁾MT; db/db mice + 1% metformin, ⁴⁾AM; db/db mice + fed with 1% extracts of *Astragalus membranaceus*, ⁵⁾FAM; db/db mice + fed with 1% extracts of *Astragalus membranaceus* fermented by *Aspergillus awamori*. Values are means ± SD (n = 5). *Means with different superscript in the same column are significantly different at 5% by Duncan's Multiple Range Tests (DMRT, p < 0.05).

나타내었으며 db/db군을 제외한 실험군은 60 분 측정 시, 혈당이 감소하는 경향을 나타내었으나 db/db군은 120 분까지도 증가된 혈당이 감소되지 않았다. 120 분에서 db/db군의 혈당은 572.4 mg/dl 을 나타낸 것과 비교하여 황기 추출물 및 발효황기 추출물을 투여한 AM군 FAM군 각각 519.4 mg/dl, 473.8 mg/dl 을 나타내어 혈당수치가 감소한 것을 확인할 수 있었다.

이러한 혈당 농도 반응을 혈당 반응 면적 (AUC)으로 산출하여 비교한 결과, db/db군은 $1,617.2 \pm 16.4$ AUC_{OGTT}, MT군은 $1,386.0 \pm 47.2$ AUC_{OGTT}, AM군, FAM군은 각각 $1,505.1 \pm 47.3$ AUC_{OGTT}, $1,440.2 \pm 52.2$ AUC_{OGTT}으로 나타났다.

당의 분해에 관여하는 효소 중 이당류를 단당류로 분해하며 탄수화물이 가수분해에 가장 먼저 작용하는 효소인 α -amylase 와 다당류를 단당류로 분해하고 탄수화물의 소화 과정 마지막 단계에서 포도당으로 전환시키는 α -glucosidase가 존재한다 (Hwang and Han, 2007). 이러한 효소들을 비활성화시키면 당의 분해가 억제되어 탄수화물의 흡수를 제어하여 식후 혈당 증가를 완화 시킬 수 있다.

Park 등 (2009)은 갈근에서 분리하여 얻은 화합물 중 calycosin이 α -glucosidase의 활성을 억제하여 항당뇨 효능을 나타낸다고 하였으며 황기를 대상으로 *Aspergillus awamori*를 이용하여 발효하고 제조된 발효황기의 flavonoid 성분을 분석한 결과 비배당체인 calycosin의 함량이 증가하였다고 보고되었다 (Lee et al., 2020).

이러한 결과를 통하여 황기를 발효할 경우 황기의 비배당체 물질인 calycosin 함량이 높아지고 발효황기 추출물을 섭취하는 경우 증가된 calycosin 함량이 α -glucosidase 저해제로 작

용함으로써 포도당 합성을 억제하여 식후 혈당 농도가 상승되는 것을 방지하고 빠르게 정상 수준으로 회복시켜 고혈당증에 효과적으로 예방할 수 있는 것으로 사료 된다.

4. 간, 부고환 지방 무게에 미치는 영향

황기 추출물, 발효황기 추출물로 제조한 식이 섭취로 인한 간과 부고환 지방의 무게를 측정할 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 실험군들을 정상군에 비교하였을 때, 간, 부고환 지방 무

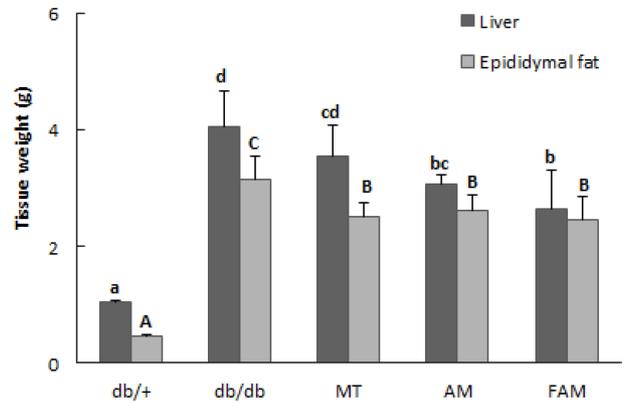


Fig. 2. Effect of fermented *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge extract on the weight of liver and epididymal fat in db/db mice. db/m; normal control group, db/db; type 2 diabetic control group, MT; db/db mice + 1% metformin, AM; db/db mice + 1% *A. membranaceus* of extracts, FAM; db/db mice + 1% *A. membranaceus* fermented *Aspergillus awamori* of extracts. Values are means \pm SD (n = 5). *Means with different superscript in the same column are significantly different at 5% by Duncan's Multiple Range Tests (DMRT, $p < 0.05$).

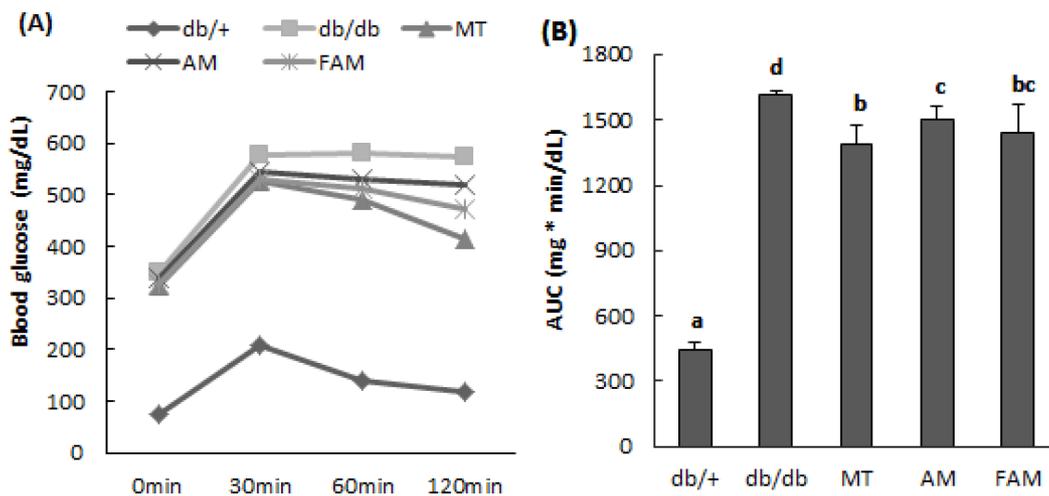


Fig. 1. Glucose tolerance test of db/db mice fed on fermented *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge extract. (A) Oral glucose tolerance test (OGTT), (B) Area under the curve (AUC). db/m; normal control group, db/db; type 2 diabetic control group, MT; db/db mice + 1% metformin, AM; db/db mice + fed with 1% extracts of *Astragalus membranaceus*, FAM; db/db mice + fed with 1% extracts of *Astragalus membranaceus* fermented by *Aspergillus awamori*. Values are means \pm SD (n = 5). *Means with different superscript in the same column are significantly different at 5% by Duncan's Multiple Range Tests (DMRT, $p < 0.05$).

게가 모두 유의하게 증가하였다. 당뇨병 환자에게서 인슐린 저항성으로 인한 간의 비대화가 나타난다는 결과 (Harris, 2003)와 비교하여 C57BLKS/J-db/db mouse 동물모델에서 간의 비대화가 진행되었음을 확인하였다.

간의 무게의 경우 db/db군에 비하여 양성대조군인 MT군은 12%, 황기 추출물 투여군인 AM군은 24.5%, 발효황기 추출물 투여군인 FAM군은 35% 수준으로 낮게 측정되었다. 부고환 지방의 무게는 db/db군과 비교하였을 때, MT군 20%, AM군 16%, FAM군 22% 감소하였으며 황기 추출물 및 발효황기 추출물 섭취로 인하여 간의 비대화와 부고환 지방의 무게 감소에 효과를 나타냄을 확인하였다.

5. 혈중 glucose 및 Insulin 농도에 미치는 영향

인슐린은 췌장 β-cell에서 식후 분비되는 호르몬으로 혈당이 증가하게 되면 분비된다. 분비된 인슐린은 근육 및 간의 말초 조직에 포도당 흡수 촉진 및 생성을 억제하여 혈당 조절에 관여하며 또한, 지방조직에서 지방산 분해를 억제하여 지질과 단백질 대사 과정에서도 중요한 역할을 한다. 이러한 인슐린의 기능이 저하되어 인슐린 저항성이 나타나는 경우 혈당이 상승하고 체내에서 인슐린의 작용이 이뤄지지 않아 고인슐린혈증이 나타난다고 알려져 있다 (Wilcox, 2005).

발효황기 추출물이 제2형 당뇨 마우스에서 혈중 glucose, 인슐린농도 및 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR의 농도에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. AM군 (35.0 ± 0.6 mmol/l)과 FAM군 (26.4 ± 0.8 mmol/l) 모두 당뇨 대조군인 db/db군 (40.6 ± 1.2 mmol/l) 보다 혈중 glucose 농도가 유의하게 감소하였으며, 특히 FAM군의 경우 MT군 (32.0 ± 0.6 mmol/l)과 비교 시에도 유의적으로 감소하였다 (Fig. 3A).

FAM군의 혈중 인슐린 농도는 (6.5 ± 0.0 mIU/l) db/db군 (15.5 ± 0.7 mIU/l)에 비하여 현저하게 낮아졌으며 정상군인 db/m (5.3 ± 0.3 mIU/l) 수준으로 회복되었다 (Fig. 3B). 또한, 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR의 결과에서도 FAM군과 AM군은 db/db군과 비교하여 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다 (Fig. 3C).

본 연구 결과로 발효황기 추출물 식이로 인해 인슐린의 분비를 억제하여 인슐린 저항성을 완화 시켜 당뇨 증상인 혈당 상승 및 고인슐린혈증을 치료할 수 있음을 확인하였다.

6. 혈중 당화혈색소에 미치는 영향

당화혈색소는 최근 3 개월 이내의 혈당 조절 상태를 반영하는 지표로써 당뇨병을 진단 시에 중요한 지표 중 하나이며 정상 수치의 경우 3% - 5% 정도 나오는 반면, 당뇨 환자의 경우 2 배 - 3 배 수치가 증가하는 것으로 알려져 당뇨병과 내당능 장애 진단지표로 사용되고 있다 (Sherwani et al., 2016). 당화혈색소의 수치가 1% 정도 감소하게 되면 당뇨로 인한 사

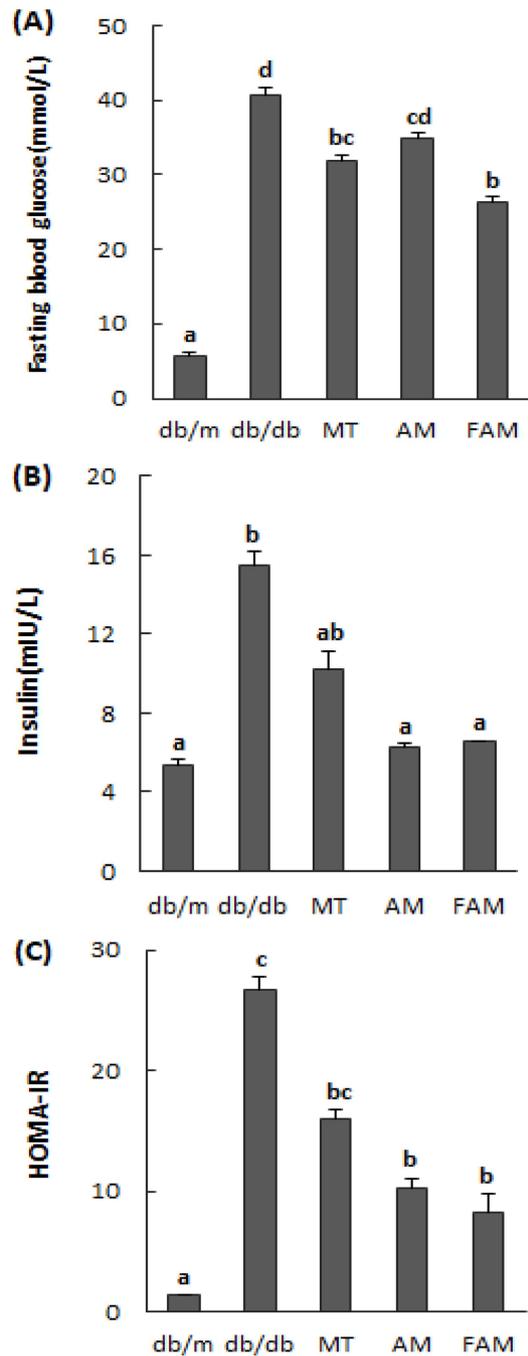


Fig. 3. Effect of fermented *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge extract on serum blood glucose, insulin level and HOMA-IR in db/db mice. (A) Blood glucose level, (B) Insulin level, (C) Homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR). db/m; normal control group, db/db; type 2 diabetic control group, MT; db/db mice + 1% metformin, AM; db/db mice + 1% *A. membranaceus* of extracts, FAM; db/db mice + 1% *A. membranaceus* fermented *Aspergillus awamori* of extracts. Values are means ± SD (n = 5). *Means with different superscript in the same column are significantly different at 5% by Duncan's Multiple Range Tests (DMRT, p < 0.05).

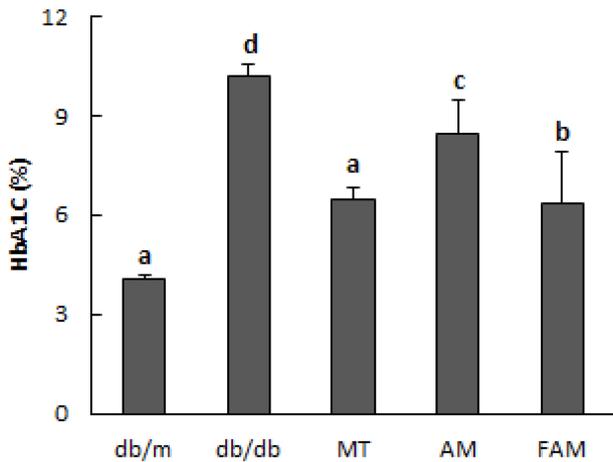


Fig. 4. Effect of fermented *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge extract on HbA1c levels in db/db mice. db/m; normal control group, db/db; type 2 diabetic control group, MT; db/db mice + 1% metformin, AM; db/db mice + 1% *A. membranaceus* of extracts, FAM; db/db mice + 1% *A. membranaceus* fermented *Aspergillus awamori* of extracts. Values are means \pm SD (n = 5). *Means with different superscript in the same column are significantly different at 5% by Duncan's Multiple Range Tests (DMRT, $p < 0.05$).

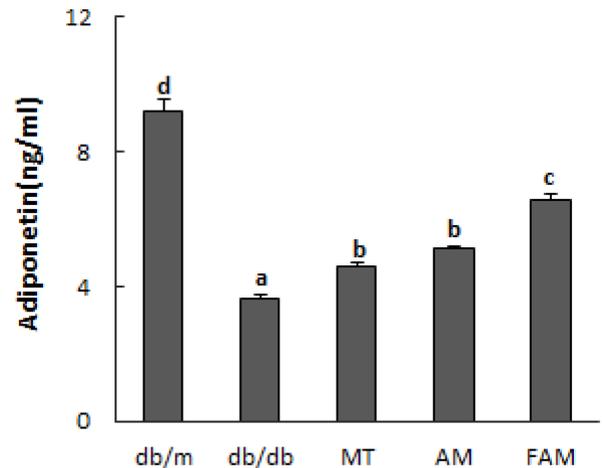


Fig. 5. Effect of fermented *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge extract on serum adiponectin level in db/db mice. db/m; normal control group, db/db; type 2 diabetic control group, MT; db/db mice + 1% metformin, AM; db/db mice + 1% *A. membranaceus* of extracts, FAM; db/db mice + 1% *A. membranaceus* fermented *Aspergillus awamori* of extracts. Values are means \pm SD (n = 5). *Means with different superscript in the same column are significantly different at 5% by Duncan's Multiple Range Tests (DMRT, $p < 0.05$).

망률이 21%, 심근경색 발병률이 14%, 미세혈관 합병증 발생 위험이 37% 정도 감소한다고 보고되어있다 (Yun, 2010).

실험기간 동안 발효황기 추출물로 인한 당화혈색소 농도 변화의 결과는 Fig. 4와 같았다. 황기 추출물 및 발효황기 추출물 보충 식이군인 AM군과 FAM군이 당뇨 대조군 db/db군에 비하여 각각 16%, 37%으로 감소하였다. 또한, 당화혈색소는 인슐린 민감성을 예측할 수 있는 간단하고 유용한 지표로 알려져 있는데, 이전 인슐린 결과와 비교하였을 때 발효황기 추출물군이 당뇨 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였으며 유사한 결과를 나타내었다. 이러한 결과를 바탕으로 발효황기 추출물로 인해 당화혈색소의 수치를 낮춰주며 인슐린 민감성에도 도움이 될 것으로 판단된다.

7. Adiponectin 농도에 미치는 영향

Adiponectin은 지방세포에서 분비되는 호르몬으로 혈당과 관련하여 인슐린 민감성을 증가시켜 혈당 개선에 도움을 주는 것으로 알려져 있다. 또한, 인슐린 저항성이 유발될 경우 adiponectin의 농도가 감소하는 것으로 보고되어있다 (Kadowaki *et al.*, 2006).

비 당뇨군인 db/m군에 비하여 당뇨 유발 마우스 실험군인 db/db군에서 혈중 adiponectin의 농도가 감소한 것을 확인하였으며 이는 당뇨 유발로 인한 인슐린 저항성 증대에 의한 것으로 생각된다. 당뇨 유발과 인슐린 저항성 증대에 의해 감소된 adiponectin의 농도에 대한 황기 추출물과 발효황기 추출물의

영향을 살펴본 결과 FAM군에서의 adiponectin 농도는 db/db군에 비하여 80% 증가되는 결과를 나타내었으며, MT군과 AM군은 각각 26%, 41%가 증가하였다 (Fig. 5).

이러한 결과를 통해 발효황기 추출물 섭취는 인슐린 민감성을 향상시키며 당뇨로 인하여 감소된 adiponectin의 농도를 증가시킬 뿐만 아니라 혈당 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

8. 혈장 내 지질 농도에 미치는 영향

당뇨병은 비만과 밀접한 관련이 있으며 그로 인한 합병증으로 이상지질혈증이 유발될 수 있다 (Kwon *et al.*, 2020). 이상지질혈증의 일반적인 현상으로 혈청 내 저밀도지단백 콜레스테롤 (low density lipoprotein, LDL-C) 중성지질 (triglyceride, TG), 총콜레스테롤 (total cholesterol, TC)의 합성이 증가되고 고밀도지단백 콜레스테롤 (high density lipoprotein, HDL-C)은 감소하게 된다 (Xiao *et al.*, 2016). 본 연구에서는 당뇨병 합병증 중 고지혈증에 대한 황기 추출물 및 발효황기 추출물의 저해 활성을 알아보기로 혈장 내 지질인 TC, TG, HDL-C, LDL-C의 농도를 측정 한 결과로 Table 3과 같다.

혈장 내 TC의 농도는 db/db군에서 278.7 ± 35.7 mg/dl 를 나타내어 db/m군 (128.0 ± 6.6 mg/dl) 비교하여 유의하게 증가하는 경향을 나타내었다. db/db군에서 증가된 TC의 농도는 AM군 (229.3 ± 9.9 mg/dl), FAM군 (183.0 ± 36.4 mg/dl)에서

유의적으로 감소하는 결과를 나타내었다.

TG의 농도는 db/m군 (87.7±2.3 mg/dl)보다 db/db군 (133.3±6.7 mg/dl)에서 증가하였으나, 양성대조군인 MT군 (122.0±1.2 mg/dl)과 황기 추출물을 투여한 AM군 (120.0±10.1 mg/dl), 발효황기 추출물을 투여한 FAM군 (108.0±4.6 mg/dl)에서는 다시 감소함을 나타내었다. 특히 발효황기 추출물군에서 db/db군에 비해 유의하게 감소한 경향을 나타내었다.

HDL-C는 말초조직으로부터 간으로 콜레스테롤을 운반하는데 당뇨병으로 인해 중성지방과 콜레스테롤의 수치는 증가하는 반면, HDL-C는 감소하게 된다 (Oh *et al.*, 2019). db/db군 (126.6±6.2 mg/dl)과 비교하였을 때 황기 추출물 및 발효황기 추출물의 섭취로 인하여 각각 AM군은 176.0±7.8 mg/dl, FAM군은 191.7±9.3 mg/dl를 나타내어 유의하게 증가함을 확인하였다.

LDL-C의 경우 db/m군 (18.2±0.3 mg/dl)에 비하여 db/db군 (46.8±2.5 mg/dl)에서 증가하는 경향을 나타내었으나 AM군 (24.8±0.4 mg/dl), FAM군 (26.7±2.7 mg/dl)에서는 유의하게 감소하는 결과를 나타내었다.

9. 간 손상 지표에 미치는 영향

간은 정상적으로 혈당을 유지하기 위해서 체장과 독립적으로 당 대사 질환 예방 및 치료하기 위해 표적기관으로 되고 있다. 그러나 비만한 상태에서는 지방조직으로부터 유리지방산으로 분해가 촉진되어 간으로 유입되어진다. 유입된 유리지방산은 간에서 중성지방으로 합성이 되어 간에 지방을 축적

시켜 지방간을 초래한다고 알려져 있다 (Harris, 2003).

당뇨로 인해 발생할 수 있는 지방간과 같은 합병증으로 간 손상에 대하여 발효황기 추출물의 효능을 확인하기 위하여 간이 손상되면 혈중으로 유출되어 증가하는 AST 및 ALT 간 지표 효소를 조사한 결과 Table 4와 같다.

AST 농도의 경우 FAM군은 298.0±13.9 U/l 를 나타내어 db/db군의 AST 농도인 368.4±30.7 U/l 에 비하여 유의하게 낮아지는 경향을 나타내었으며 ALT 경우에서도 db/db군 (395.0±102.8 U/l)에 비하여 FAM군 (238.5±36.7 U/l)에서 감소되었지만 FAM군과 AM군 (257.0±38.9 U/l)사이에서 통계적 유의성을 나타내지는 않았다 (Table 4).

Metformin를 식이한 MT군의 경우 다른 실험군에 비하여 AST와 ALT 모든 농도가 증가하였는데, 이는 장기 약물로 인한 부작용인 간 손상이 나타난 것으로 생각된다. 이러한 결과로 황기 추출물 및 발효황기 추출물의 섭취는 당뇨병으로 인한 혈중 지질 농도의 증가를 억제하며 지방간을 예방하고 간 손상 지표인 AST 및 ALT의 감소에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료 된다.

본 연구를 통해서 황기 추출물 및 *Aspergillus awamori*로 발효한 황기 추출물 1%를 첨가하여 제조한 실험 식이가 제2형 당뇨병으로 유발된 마우스에 항당뇨 및 지질개선 효과가 있음을 확인하였다.

황기 추출물 투여군 (AM) 및 발효황기 추출물 투여군 (FAM)에서 식이 섭취량에 비하여 체중증가를 억제하는 것을 확인하였으며 *Aspergillus awamori*로 발효한 황기 추출물에서

Table 3. Effect of extract from *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge fermented by *Aspergillus awamori* on serum lipid profile in db/db mice.

	db/m ¹⁾	db/db ²⁾	MT ³⁾	AM ⁴⁾	FAM ⁵⁾
TC (mg/dl)	128.0±6.6 ^a	278.7±35.7 ^c	207.3±20.1 ^b	229.3±9.9 ^b	183.0±36.4 ^b
TG (mg/dl)	87.7±2.3 ^a	133.3±6.7 ^d	122.0±1.2 ^c	120.0±10.1 ^c	108.0±4.6 ^b
HDL-C (mg/dl)	117.4±1.1 ^a	126.6±6.2 ^a	192.9±15.1 ^b	176.0±7.8 ^b	191.7±9.3 ^b
LDL-C (mg/dl)	18.2±0.3 ^a	46.8±2.5 ^c	34.2±3.3 ^b	24.8±0.4 ^{ab}	26.7±2.7 ^{ab}

TC; total cholesterol, TG; triglyceride, HDL-C; high density lipoprotein cholesterol, LDL-C; low density lipoprotein cholesterol. ¹⁾db/m; normal control group, ²⁾db/db; type 2 diabetic control group, ³⁾MT; db/db mice + 1% metformin, ⁴⁾AM; db/db mice + fed with 1% extracts of *Astragalus membranaceus*, ⁵⁾FAM; db/db mice + fed with 1% extracts of *Astragalus membranaceus* fermented by *Aspergillus awamori*. Values are means ± SD (n = 5). *Means with different superscript in the same column are significantly different at 5% by Duncan's Multiple Range Tests (DMRT, p < 0.05).

Table 4. Effect of extract from *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge fermented by *Aspergillus awamori* on serum transaminase in db/db mice.

	db/m ¹⁾	db/db ²⁾	MT ³⁾	AM ⁴⁾	FAM ⁵⁾
AST (U/l)	131.0±13.2 ^a	368.4±30.7 ^{bc}	409.7±98.3 ^c	330.9±33.9 ^b	298.0±13.9 ^b
ALT (U/l)	28.5±5.2 ^a	395.0±102.8 ^c	407.6±88.5 ^c	257.0±38.9 ^b	238.5±36.7 ^b

¹⁾db/m; normal control group, ²⁾db/db; type 2 diabetic control group, ³⁾MT; db/db mice + 1% metformin, ⁴⁾AM; db/db mice + fed with 1% extracts of *Astragalus membranaceus*, ⁵⁾FAM; db/db mice + fed with 1% extracts of *Astragalus membranaceus* fermented by *Aspergillus awamori*. Values are means ± SD (n = 5). *Means with different superscript in the same column are significantly different at 5% by Duncan's Multiple Range Tests (DMRT, p < 0.05).

발효로 인하여 증가된 calycosin 함량에 의하여 혈당의 감소와 함께 증가된 혈당을 회복시키는데 효과가 확인되어 고혈당증 개선 효과가 있음을 확인하였다.

*Aspergillus awamori*로 발효한 황기 추출물의 투여를 통해 인슐린 농도와 인슐린 저항성, 당화혈색소를 감소시킬 수 있을 뿐만 아니라, 인슐린 저항성으로 인해 감소된 adiponectin의 농도를 회복시킬 수 있음을 확인하였다.

지질 관련 지표에서도 *Aspergillus awamori*로 발효한 황기 추출물로 인하여 간 및 부고환 지방 축적을 억제하였으며 혈장 내 지질 농도를 개선되었으며, 또한 간 손상 지표인 AST, ALT에서 양성대조군인 MT군보다 감소된 결과를 나타낸 것으로 확인되었다.

이러한 결과를 통하여 *Aspergillus awamori*로 발효한 황기 추출물로 인하여 약물 부작용이 나타나지 않고 당뇨병으로 인한 혈당 및 지질 대사를 조절하여 당뇨를 개선할 수 있는 천연물 소재로 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 항당뇨 효능에 도움을 줄 수 있는 천연물로서 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구사업(과제번호: PJ01601301)의 지원에 의해 이루어진 것이며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Bae MJ, Kim KJ, Kim SJ and Ye EJ. (2007). Effect of mycelia Extracts from *Lentinus edodes* mushroom-cultured *Astragalus membranaceus* Bunge on anti-cancer and anti-allergy activities. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 36:8-13.
- Golay A. (2008). Metformin and body weight. *International Journal of Obesity*. 32:61-72.
- Harris EH. (2003). Elevated liver function test in type 2 diabetes. *Clinical Diabetes*. 23:115-119.
- Hue JJ, Kim JS, Kim JH, Nam SY, Yun YW, Jeong JH and Lee BJ. (2009). Antihyperglycemic effect of carnosine in diabetic mice. *Journal of Food Hygiene and Safety*. 24:391-397.
- Hwang JY and Han JS. (2007). Inhibitory effects of *Sasa borealis* leaves extracts on carbohydrate digestive enzymes and postprandial hyperglycemia. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 36:989-994.
- Jegal JM, Seo KM and Chung CH. (2019). Quality characteristics of spicy chicken sauce added with *Astragalus membranaceus* extract. *Journal of the East Asian Society Dietary Life*. 29:383-391.
- Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K and Tobe K. (2006). Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*. 116:1784-1792.
- Kim CJ, Choi JH, Seong ES, Lim JD, Choi SK, Yu CY and Lee JG. (2020). The isoflavonoid constituents and biological active of *Astragalus radix* by fermentation of β -glucosidase strains. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 28:371-378.
- Kim NS, Choi BK, Lee SH, Jang HH, Kim JB, Kim HR, Choe JS, Cho YS, Kim YS, Yang JH, Kim YS, Kim HJ, Kim DK, Lee CH and Lee SH. (2016). Effect of *Allium Hookeri* extracts on glucose metabolism in type II diabetic mice. *Korean Journal of Pharmacognosy*. 47:158-164.
- Kim OK. (2019). Antidiabetic effect of ethanol extract on *Astragalus Radix*. *Journal of the Korean Applied Science and Technology*. 26:898-904.
- Kwon H, Koo GB, Lee YJ, Kim JH, Lee MH and In G. (2020). Effect of Korean red ginseng extract(KGC05P0) on regulating insulin sensitivity, insulin and blood glucose level in hyperinsulinemia type 2 diabetic mice. *Journal of the Korean Society Food Science and Nutrition*. 49:539-546.
- Lee EJ, Lee DB, Song BN, Park BR, Lee SH, Choi JH and Park SY. (2020). Physicochemical properties and anti-inflammatory effects of *Astragalus membranaceus*(Fisch.) Bunge fermented by *Aspergillus awamori*. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 28:347-353.
- Lee HL, Kim BH, Yoon YC, Kim JG, Park YE, Park HS, Hwang HS, Kwun IS, Kwon GS and Lee JB. (2019). Effects against obesity and diabetes of red pepper(*Capsicum annum* L.) fermented with lactic acid bacteria. *Journal of Life Science*. 29:354-361.
- Lee YR, Woo KS, Hwang IC, Kim HY, Lee SH, Kim YB, Lee JS and Jeong HS. (2012). Anti-diabetic activity of germinated ilpum rough rice extract supplement in mice. *Journal of the Korean Society Food Science and Nutrition*. 41:339-344.
- Liu J, Zhao Z and Chen H. (2011). Review of *Astragalus radix*. *Chinese Herbal Medicines*. 3:90-105.
- Min KH, Kim HJ, Jeon YJ and Han JS. (2011). Ishige okamurae ameliorates hyperglycemia and insulin resistance in C57BL/KsJ-db/db mice. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 93:70-76.
- Oh DY, Kang DS, Lee YG and Kim HS. (2019). Effects of turmeric(*Curcuma longa* L.) on lipid component and protein concentration in dyslipidemic rats. *Journal of the Korean Applied Science and Technology*. 36:47-58.
- Park JH, Baek MR, Lee BH, Yon GH, Ryu SY, Kim YS, Park SU and Hong KS. (2009). α -glucosidase and α -amylase inhibitory activity of compounds from roots extract of *Pueraria thunbergiana*. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 17:357-362.
- Pruessner JC, Kirschbaum C, Meinlschmid G and Hellhammer DH. (2003). Two formulas for computation of the area under the curve represent measures of total hormone concentration versus time-dependent change. *Psychoneuroendocrinology*. 28:916-931.
- Sherwani SI, Khan HA, Ekhzaimy A, Masood A and Sakharlar MK. (2016). Significance of HbA1c test in diagnosis and prognosis of diabetic patients. *Biomarker Insights*. 11:95-104.
- Wilcox G. (2005). Insulin and insulin resistance. *The Clinical Biochemist Review*. 26:19-39.

- Xiao C, Dash S, Morgantini C, Hegele RA and Lewis GF.** (2016). Pharmacological targeting of the atherogenic dyslipidemia complex: The next frontier in CVD prevention beyond lowering LDL cholesterol. *Diabetes*. 65:1767-1778.
- Yun WJ.** (2010). Relationship between glycemic control and diabetic retinopathy. *Journal of the Korean Geriatrics Society*. 14:234-241.
- Zhang L, Shergis JL, Yang L, Zhang AL, Guo X, Zhang L, Zhou S, Zeng L, Mao W and Xue CC.** (2019). *Astragalus membranaceus*(Huang Qi) as adjunctive therapy for diabetic kidney disease: An updated systematic review and meta-analysis. *Journal of Ethnopharmacology*. 239:111921. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874118332884> (cited by 2021 Feb 18).
- Zhou X, Zou J, Ao C, Gong DY, Chen X and Ma Y.** (2020). Renal protective effects of astragaloside IV, in diabetes mellitus kidney damage animal models: A systematic review, meta-analysis. *Pharmacological Research*. 160:105192. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1043661820315000> (cited by 2021 Feb 20).