

chiro-Inositol (카이로이노시톨) 결핍성 대사질환 당뇨병과 대두 chiro-inositol의 영양학적, 의·약리학적 용도

홍용근·박영미·백현숙·성혜영, 전숙자, 박윤배

경상대학교 응용생명과학원 및 자연과학대학 생명과학부 생화학과

SUMMARY

본 실험실에서는 혈당강하효과를 갖는 chiroinositol을 다량 함유하고 있는 식품이나 식용물질을 탐색하여 선별하고, 선택된 식품이나 식용물질에서 chiroinositol을 lab-scale로 분리·정제하여 제조된 chiroinositol의 추출물로 동물실험을 실시하여 혈당강하효과를 증명하고 그 기작을 연구하고 있다.

약 300여종의 식품 및 식용물질을 GC-MS 및 HPLC로 분석한 결과 식품으로 안전한 탈지대두와 두부 순물에서 chiroinositol의 함량이 각각 6.45mg/g, 20mg/g으로 조사되어 선택되었고, chiroinositol의 순도가 40-60%(w/w)인 chiroinositol의 추출물을 이용하여 동물실험을 통한 혈당강하효과를 조사한 결과, 1) streptozotocin (STZ)으로 유발된 고혈당쥐에 경구투여시, 농도 의존적으로 혈당을 감소시키는 탁월한 기능을 나타내었고, 2) 정상쥐의 혈당제거율 검사(glucose tolerance test)에서 강한 제거율 및 6시간의 지속시간을 나타내었으며, 3) STZ로 유발된 고혈당쥐의 혈당제거율 검사에서 강한 혈당강하 효과(약 40%)를 나타내었으며 지속시간은 약 12시간이었다. 4) 극심한 고혈당(450 내지 500mg/dl)의 경우, 경미한 고혈당(300 내지 350mg/dl)의 경우보다 혈당 감소율이 20% 가량 높았으며, 지속시간도 1시간 이상 긴 것으로 나타났으며, 5) 인슐린과 복합처리 했을 때 상승작용(synergy)을 나타내었으며, 저혈당증으로 전혀 발전되지 않았다.

INTRODUCTION

당뇨병은 혈당을 정상으로 유지하는데 필수적인 호르몬인 인슐린이 췌장에서 분

비장애나 인슐린 작용기능의 결함으로 탄수화물 대사장애와 이에 동반되는 단백질 및 지질대사 장애가 발생되고, 이 결과로 눈, 신장, 심혈관 및 신경장애 등의 급성 혹은 만성 합병증이 동반되어 건강에 치명적인 장애를 초래하는 만성질환이다. 당뇨병의 근본적인 문제는 세포들이 포도당을 제대로 공급을 받지 못 하는데 있다. 포도당은 탄수화물을 섭취하였을 때 소화되어 생성되며 혈중에서는 췌장에서 생산되는 인슐린의 도움이 있어야 세포내로 들어가 에너지원으로 사용된다. 세포표면에는 인슐린과 결합하여 포도당 흡수를 유발시키는 인슐린 수용체가 존재하는 데 인슐린이 부족하면 혈 중 포도당이 풍부하다 하더라도 세포에 흡수되지 못하고 소변을 통해 배설된다.

당뇨병은 크게 두 종류로 분류하는데, 제1형 당뇨병은 인슐린 의존형 당뇨병(IDDM)이라고 불리며, 유전적인 요인에 의해 생기는 질병으로 주로 어려서 발생한다. 제1형 당뇨병 환자들은 인슐린을 거의 생산해 내지 못하므로 인슐린을 정기적으로 투여하여야 한다. 제2형 당뇨병은 인슐린 비의존형 당뇨병(NIDDM)으로 불리며 이는 주로 유전적이거나 환경적인 요인에 따라 성인에게서 나타난다. 65세 이상 미국인구의 10%가 이 당뇨병에 걸렸으며, 전체 당뇨병 환자 중 90%가 제2형 당뇨병 환자이다. 1950년 이후 지금까지 당뇨병은 5배에서 10배까지 증가했다. 이는 경제적 여건이 좋아짐에 따라 식생활도 변화되어 고칼로리 음식의 과잉섭취, 비활동성, 이에 기인되는 비만증 및 정신, 육체적 스트레스등이 환경적인 인자로 인해 인슐린 비의존형 당뇨병이 증가되고 있다.

현재 우리나라의 당뇨병 이병율은 지역과 연구자에 따라 통계적인 차이가 있으나 최고 전 인구의 약 10%에 달하여 지난 20여년 전에 비교하면 약 10배 이상의 급격한 증가를 보이고 있다. 이러한 양상은 지난 20여년 간 우리나라의 급속한 경제발전 전에 수반되는 환경적 요인이 큰 역할을 하였을 것으로 생각되고 있으며, 선진국은 물론 다른 개발도상국에서도 공통적으로 나타나는 현상이다. 따라서 앞으로 21세기에는 대부분의 국가들에서 당뇨병이 가장 심각한 건강장애 질환이 될 것으로 예견되고 있다.

인슐린 의존형 당뇨병의 경우 인슐린 분비가 절대적으로 부족하므로 반복·지속

적인 인슐린주사를 통해서 치료가 되지만, 인슐린 비의존형 당뇨병의 경우는 인슐린 결핍이 절대적이지 않아 주로 혈당을 조절하는 경구용 혈당강하제를 사용하는데, 설폰요소제(sulfonylureas)의 경우, 인슐린분비를 촉진시키는 작용을 하지만 혈액, 위장관, 심혈관계, 신장, 피부에 부작용과 저혈당증을 초래하기도 하고, 비구아니드제(biguanides)계통은 간에서 포도당생성을 억제하는 작용을 하지만 위장관에 부작용이 있다. 또한, 알파-글루코시데이즈억제제(α -glucosidase inhibitors)의 경우는 복부팽만감, 설사 등의 부작용과 간조직 손상의 가능성이 단점으로 지적되고 있다.

지난 10여년 간의 연구에서 chiroinositol 및 그 유도체가 인슐린 비의존형 당뇨병에서 당대사 조절능력을 가지는 유용성 실험결과가 발표되고, 그 결과에서 나타난 chiroinositol의 결핍과 대사장애가 당뇨병환자와 환자의 친인척 및 당뇨실험동물에서 발견되어 소변이나 혈액, 지방세포 및 근육조직 biopsy를 통한 chiroinositol의 유무로 당뇨병을 조기진단하고 그 가계에 당뇨병이 유전적인 요인일 경우 발병이전에 예방할 수 있는 기회를 제공하는 조기치료를 가능하게 하는 진단 및 치료의 표지자로서의 chiroinositol의 역할이 제시되고 있다. 인슐린 비의존형 당뇨병은 발병과정에서 insulin resistance를 나타내는데 대부분의 경우 인슐린 신호전달체계의 결함때문에 발생된다. 인슐린이 세포막의 인슐린 수용체에 결합하면 phospholipase C 혹은 phospholipase D(PLC 혹은 PLD)의 작용으로 glycosylphosphatidylinositol (GPI)이 분해되어 inositol phosphoglycan(IPG) mediator를 생성하는데, insulin IPG mediator는 포도당 신진대사를 조절하는 PDH(pyruvate dehydrogenase) phosphatase와 GS(glycogen synthase) phosphatase를 활성화하여 포도당의 대사를 촉진한다. 인슐린 비의존형 당뇨병의 경우 이러한 PDH phosphatase와 GS phosphatase의 활성화 경로에 chiroinositol의 결핍과 대사장애로 chiroinositol을 함유한 insulin IPG mediator를 생성하지 못하는 결함이 있는 것으로 밝혀졌다.

인슐린 비의존형 당뇨병 환자의 경우 골격근과 소변에서 chiroinositol가 결핍되어 있고, 친인척의 소변에서도 낮은 chiroinositol함량을 나타냄으로써, chiroinositol의 결핍은 직접적으로 insulin resistance와 연관되어 있는 것으로 밝혀졌다. 따라서 chiroinositol를 함유한 인슐린 mediator는 인슐린처럼 PDH와 GS를 활성화시키는

것으로 생각되며, 이러한 mediator의 생성과 turnover 및 작용에서의 결합이 insulin resistance를 유발하는 중요한 요인으로 제안되고 있다. 현재까지의 연구결과, NIDDM 환자에서 chiroinositol결핍의 원인은 chiroinositol를 함유한 인지질이나 GPI와 같은 지질 선구물질의 생합성에 관여하는 효소 system의 결함으로 추정된다.

본 실험실에서는 위와 같은 문제점들을 해결하기 위한 연구의 일환으로 chiroinositol 함유 인지질 및 GPI의 대사를 연구하여 NIDDM의 원인을 규명하고, 이러한 연구를 바탕으로 하여 NIDDM에서 insulin resistance의 병리생리학적 원인을 당뇨병 실험 동물의 chiroinositol feeding 실험을 통하여 규명하고 chiroinositol의 대사를 밝힘으로써 NIDDM환자에게 chiroinositol를 투여하여 당뇨병을 치료할 수 있는 당뇨병치료제의 개발에 관한 연구를 수행해오고 있다.

MATERIALS AND METHODS

다량의 chiroinositol을 함유하고 있는 식용자원을 탐색하기 위하여 대두와 대두의 부산물을 비롯한 약 300여종의 식품 및 식용물질에서 chiroinositol의 함량을 분석하여 원료를 선정하였다.

Chiroinositol의 분석은 시중에서 구입한 시료 적당량에 최종농도가 6N 염산용액이 되도록 염산 원액을 처리하여 heating block으로 110°C에서 48시간 동안 산분해시켰다. 산으로 분해된 시료를 동결건조시키고, 시료 중에 함유되어 있는 불순물을 제거하고 chiroinositol의 순도를 높이기 위하여 분말화된 시료를 2-5배의 증류수에 용해시킨 다음, 원심분리하여 수용성 성분인 상등액만을 취하였다. 수용성 성분 중에서 이온성 물질을 제거하기 위하여 Anion/cation-mixed ion exchange column (Amberlite MB-150) 및 C18 Sep-pak cartridge를 통과시켜 소수성 불순물도 흡착시켜 제거하였다. Sep-pak cartridge를 통과한 chiroinositol 함유용액을 동결건조시켜 재 분말화시키고, 다시 적당량의 증류수에 현탁시킨 후 GC-MS 혹은 HPLC로 각 시료에 함유된 chiroinositol을 정량화 하였다. HPLC에 사용된 column은 Dionex Caropak MA-1이고 pulsed electrochemical detector로 확인하였다. 사용한 완충용액은 60mM NaOH이었으며 분당 0.4ml의 유출속도로 25분간 용출시켰다. 표준물질

(각각을 0.018mg/ml의 농도로 myoinositol과 chiroinositol을 혼합)은 일정한 시간대의 retention을 가지며 전형적으로 3-4분 간격의 체류시간을 유지하였다. 모든 시료들의 분석량은 세 번의 실험을 평균하여 값으로 나타내었다.

표 1에서와 같이 chiroinositol의 함량을 조사한 결과, 대부분의 식용물질에서는 chiroinositol의 함량이 1mg/g (건조시료) 이하로 아주 낮았으며 대두 및 그 부산물

표 1. 대표적인 식품 및 식용물질의 chiroinositol 함량(mg/g 건조시료)
300여종의 식품 및 식용물질에서 조사된 chiroinositol함유 원료중
chiroinositol함량이 0.1mg/g(건조시료)이상의 대표적인 식품 및 식용물질

원료명	함량(mg/g)	원료명	함량(mg/g)
쌀	0.50	밀	0.17
속칭	1.60	파스타치오	0.11
약콩	2.02	인삼	1.05
대두(국산)	4.36	우엉	0.34
대두(미국산)	6.75	해바라기씨	0.02
대두(중국산)	4.82	참깨	2.32
콩나물	5.20	계	0.45
콩잎	8.25	토마토	0.02
콩깍지	2.59	영경귀	0.85
대두배아	7.05	양파	0.09
두부순물	20.00	포도	0.51
탈지대두	6.45	레몬	0.61
대두올리고당	17.43	살구	0.05
소나무속껍질	4.29	라임	0.19
솔잎	17.68	꿀	0.18
솔순	17.24	오렌지	1.57
소나무 톱밥	3.89	효모	0.12
갯	1.74	배	0.05
닭고기	0.02	서양자두	0.05
누에	1.02	마늘	0.03

인 탈지대두, 두부순물, 콩잎에서는 5mg/g (건조시료) 이상으로 높았다. 또한 솔잎이나 솔순에서 17mg/g (건조시료) 정도의 chiroinositol이 분석되었으나 원료의 구입이 용이하고 가격이 상대적으로 낮은 대두의 부산물인 탈지대두와 두부를 만들 때 생성되는 두부 순물을 선택하여 chiroinositol을 추출하고 분리정제하는 공정을 lab-scale로 완성하여, 생산된 시제품(chiroinositol 순도: 40-60%(w/w))을 동물실험에 사용하였다.

그림 1은 분석시료의 HPLC의 chromatogram이다. Standard 분석자료에서 보는 것과 같이 retention time이 8분대의 peak이 myoinositol이고, 11분대의 peak이 chiroinositol을 나타낸다. 솔잎의 경우는 chiroinositol이 myoinositol보다 상대적으로 높은 함량을 보이고 있으나, 원료의 수급과 분리정제과정에서 송진의 처리등 단점을 보였다.

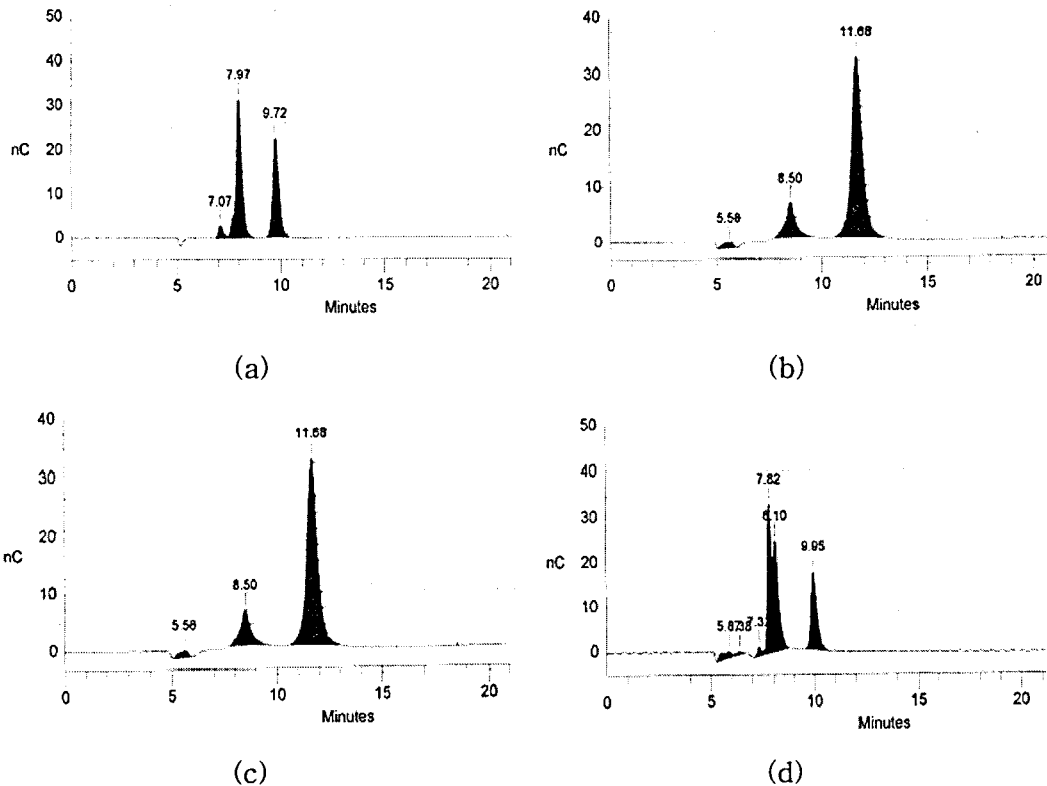
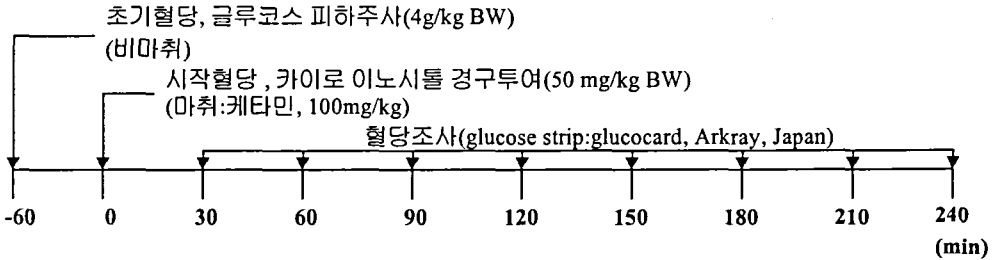


그림 1. 분석시료의 HPLC chromatogram

(a) standard, (b) 탈지대두, (c) 두부순물, (d) 솔잎

A. 글루코스처리구



B. 비글루코스처리구

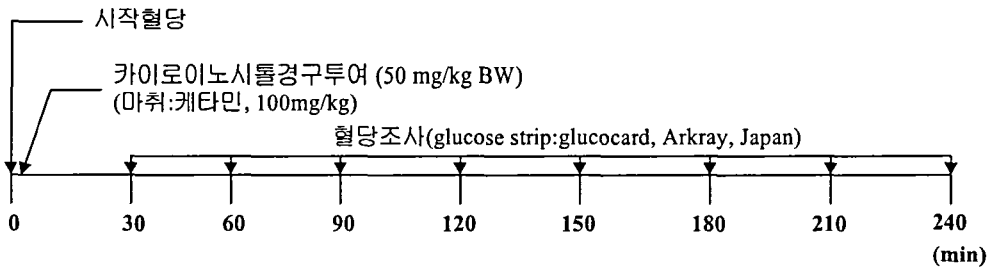


그림 2. 당뇨병쥐와 정상쥐의 chiroinositol의 경구투여 실험 potocol

RESULTS

그림 2의 동물실험 protocol에 따라, 제조된 chiroinositol을 멸균생리식염수에 녹여 STZ로 유발된 당뇨병 쥐에 경구투여(체중 1kg당 50mg)한 후, 시간의 경과에 따라 혈당의 변화를 관찰하였다. 혈당량 조사는 쥐의 꼬리로부터 혈액을 채취하여 당산화 (glucose oxidation법)법에 의한 glucocard를 사용하였다. 그림 3에서 보여주는 바와 같이, chiroinositol을 처리한 실험군(-●-)은 30분경부터 혈당이 감소되기 시작하였으나, chiroinositol을 처리하지 않은 대조군(-■-)은 혈당의 변화가 관찰되지 않았다. 또한 실험군은 약 6시간 동안 강한 혈당의 감소효과(420~430mg/dl → 300~320mg/dl)를 나타내고, 12시간 이후에 처음의 혈당으로 회복됨으로써 chiroinositol의 작용 지속시간이 12시간 이상임을 보여 주었다. 여기에 다시 인슐린을 처리했을 때, 혈당은 정상에 가까운 감소를 나타내었는데 이는 chiroinositol의 체내대사가 원활히 이루어짐으로써 당대사 조직에 독성을 나타내거나 인슐린 수용체에 결합을 초래하지 않았음을 나타낸 것으로 보인다. 그리고 인슐린과 제조된

chiroinositol을 복합 처리했을 때, 인슐린만을 단독으로 사용했을 때와 같은 저혈당 증, 발작증상 등은 동반되지 않았으므로, chiroinositol이 부작용이 없는 안전한 혈당 강하제로 사용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

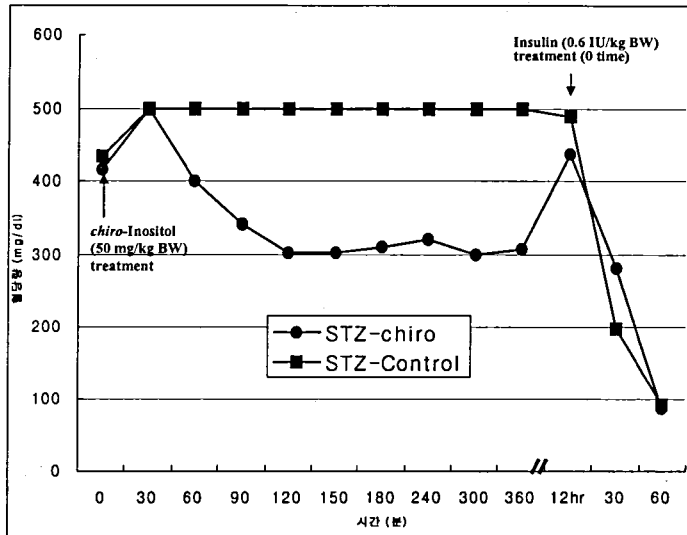


그림 3. Streptozotocin으로 유발된 당뇨병 쥐에서 chiroinositol의 혈당 강하 및 인슐린의 부작용 완화 효과

STZ로 유발된 당뇨병 쥐에 글루코스를 피하주사(체중 1kg 당 4g)한 후, 멸균생리 식염수에 용해된 chiroinositol을 경구투여한 실험군 및 chiroinositol을 경구투여하지 않은 대조군을 대상으로 glucose strip의 방법으로 혈당측정치를 비교한 결과, 그림 4와 같이 STZ로 유발된 당뇨병 쥐에서 chiroinositol을 투여한 실험군(-■-)의 경우 35% 가량의 혈당감소 효과를 나타냄으로써, 대조군(-●-)에 비해 10% 가량의 강한 감소율을 나타내었다. 그리고, 회복되는 시간이 비처리군의 3시간 보다 3시간 이상이 지연된 6시간 경이었다. 이는 chiroinositol의 작용기작이 생체 내 증가된 혈당의 신호에 의해 베타세포를 기능화 시킴과 동시에, 인슐린과 유사한 기능을 복합 수행한 결과로 보인다.

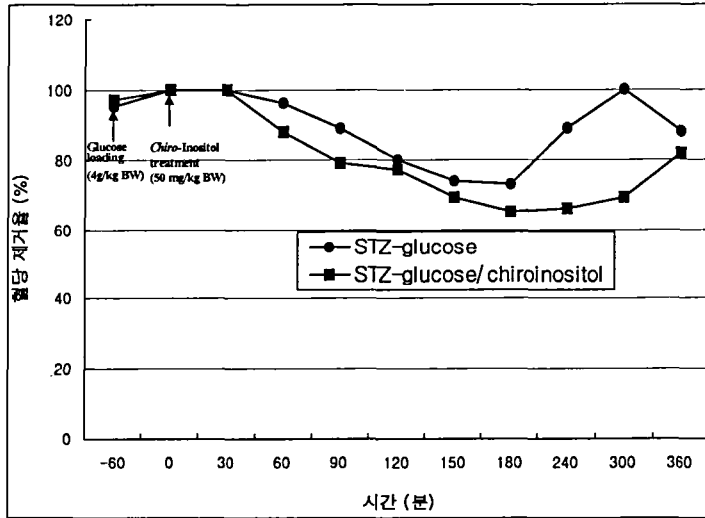


그림 4. Streptozotocin으로 유발된 당뇨병 쥐에서 chiroinositol의 혈당제거율

그림 5는 chiroinositol을 STZ로 유발된 당뇨병 쥐에 경구투여 하였을 때, 혈당제거율의 변화를 glucocard를 이용하여 측정한 것이다. Chiroinositol을 처리한 실험

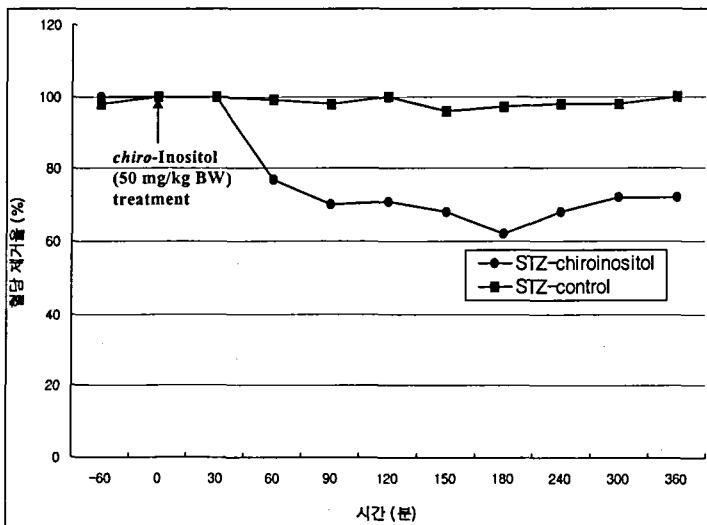


그림 5. Streptozotocin으로 유발된 당뇨병 쥐에서 chiroinositol의 혈당강하 효과

군(-●-)은 혈당이 30분 경부터 감소하기 시작하여, 60분경에는 약 25%, 180분에는 38%, 그리고 360분에는 28%의 감소율을 유지함으로써 혈당 감소율을 일정하게 장시간 지속시키는 효력을 가지는 것으로 나타났다. 반면에 chiroinositol을 처리하지 않은 대조군(-■-)은 전혀 혈당 제거율이 없었다. 이러한 결과는 chiroinositol을 다른 물질과 복합처리 함으로써 상승효과를 장시간 기대할 수 있을 뿐만 아니라, 다른 약물에 의한 부작용에 따른 일시적인 혈당상승의 치명적인 문제점을 예방할 수 있음을 나타내 주는 결과로 생각된다.

Glucocard를 사용하여 chiroinositol을 정상혈당의 쥐에 경구투여하여 그림 6과 같이 혈당제거율을 관찰하였다. Chiroinositol을 처리하지 않은 대조군(-●-)의 경우 글루코스 처리후 30분과 60분에 각각 42%와 28%의 혈당 제거율을 나타낸 반면, chiroinositol을 처리한 실험군(-■-)에서는 90분에 24%의 혈당 제거율을 나타내었다. 90분 이후부터 대조군에서는 점차 혈당이 회복되기 시작하는 반면, 실험군에서는 90분 이후부터 혈당 제거율이 현저히 증가하기 시작하여 150분 경에는 정상에 가까운 정도까지 혈당 제거율을 나타내었고 이후 240분까지 그 효력이 지속되었다. 이는 종래에 발표된 연구결과들에서 언급하는 내용과 같이 인슐린에 민감하게 반응

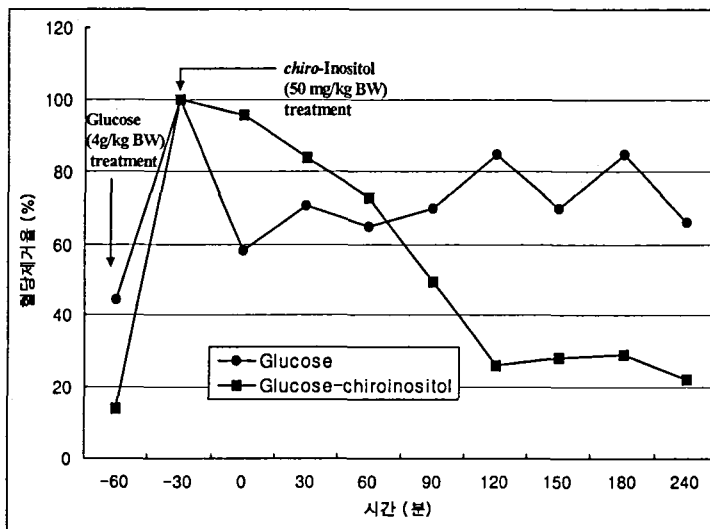


그림 6, 정상 쥐에서 chiroinositol의 혈당 제거율

하는 대사조직 즉, 말초의 근육, 지방 및 간 조직에 작용함으로써 그 효력이 지연되어 나타나며, 작용시간 또한 오래 지속되는 것으로 생각된다. 따라서, chiroinositol에 의한 혈당 강하 작용은 인슐린 분비시의 혈당강하 작용과 인슐린 결핍 시 혈당강하 작용이 서로 다른 기작으로 일어나는 것으로 보인다.

그림 7.은 STZ로 유발된 극심한 고혈당(450~500mg/dl) 당뇨병 쥐와 경미한 고혈당(300~350mg/dl) 당뇨병 쥐에 chiroinositol을 처리하여 각각의 실험군에서 혈당 감소율을 glucocard의 방법을 사용하여 비교하였다. Chiroinositol을 처리한 극심한 고혈당(-●-) 및 경미한 고혈당(-■-) 실험군 모두에서 30분경부터 혈당 감소가 시작되어 360분까지 지속되었다. 이때, 고혈당이 경미하게 유발된 당뇨병 쥐에서의 감소율(60분:7%, 120분:22%, 180분:25%, 300분:28%)에 비해 고혈당이 극심하게 유발된 당뇨병 쥐에서는 감소율(60분:12%, 120분:33%, 180분:37%, 300분:43%)이 큰 것으로 나타났으며, 시간의 경과에 따라 감소율의 격차가 점차 커져 최고 15% 이상의 차이를 나타내었다. 흥미로운 것은 이들 두 실험군의 경우, 혈당 감소율의 차이는 크게 나타났지만, 실제 혈당의 수치는 263 mg/dl와 277 mg/dl를 나타냄으로써

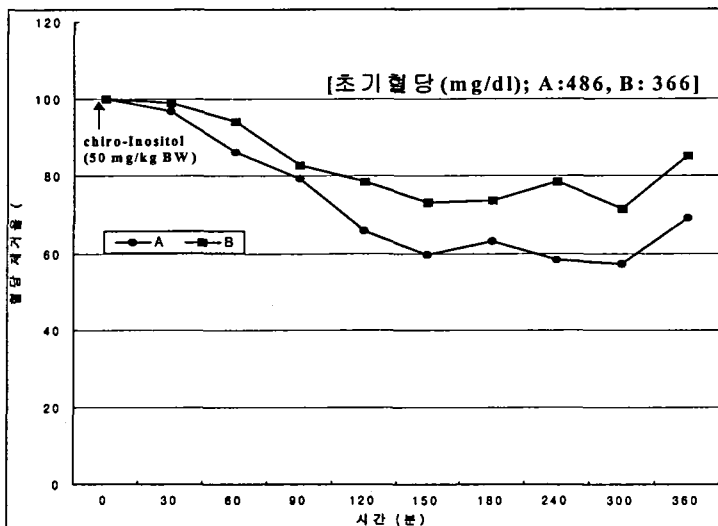


그림 7. Streptozotocin으로 유발된 극심한 고혈당 당뇨병 쥐와 경미한 고혈당 당뇨병 쥐에서 chiroinositol의 혈당강하 효과

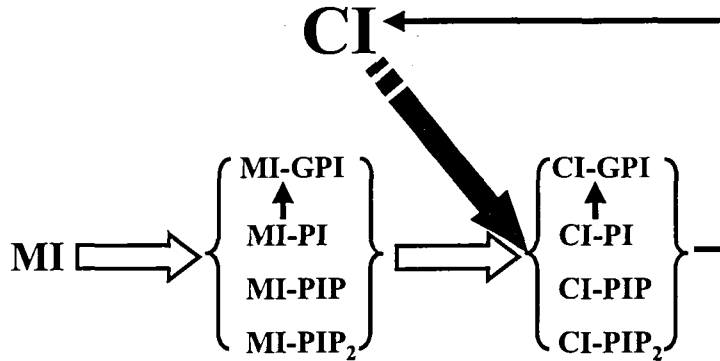
chiroinositol은 저혈당성 쇼크를 유도하지 않았다. 이러한 결과로부터 chiroinositol이 인슐린 및 다른 약물과 안전하게 복합처리 가능함을 확인할 수 있었다.

DISCUSSION

탈지대두에서 분리정제된 chiroinositol로 당뇨쥐와 정상쥐에서 혈당강하효과를 조사해 본 결과 1) STZ로 유발된 고혈당쥐에 주사할 때, 농도 의존적으로 혈당을 감소시키는 탁월한 기능을 나타내었고, 2) 정상쥐의 혈당제거율 검사(glucose tolerance test)에서 강한 제거율 및 6시간의 지속시간을 나타내었으며, 3) STZ으로 유발된 고혈당쥐의 혈당제거율 검사에서 강한 혈당강하 효과(약 40%)를 나타내었으며 지속시간은 약 12시간이었고, 4) 극심한 고혈당(450 내지 500mg/dl)의 경우, 경미한 고혈당(300 내지 350mg/dl)의 경우보다 혈당 감소율이 20% 가량 높았으며, 지속시간도 1시간 이상 긴 것으로 나타났으며, 5) 인슐린과 복합처리 했을 때 상승작용(synergy)을 나타내었으며, 저혈당증으로 전혀 발전하지 않았다. 이러한 결과는 탈지대두에서 분리정제하여 chiroinositol의 순도가 40 -60%되는 시료가 충분히 혈당강하의 효과를 나타낸 것이라 할 수 있다. 따라서 이러한 결과는 chiroinositol이 인슐린-의존성 및 인슐린-비의존성 당뇨병, LDH의 증가, 해당작용의 증가로 인한 혈당상승을 억제 또는 예방할 수 있어 혈당강하제, 마취보조제 및 건강보조식품으로 사용될 수 있고 chiroinositol의 혈당강하제로 사용함에 있어서, 당뇨병에 인슐린과 함께 적용할 수 있으므로, 상승적 혈당강하 효과를 가질 수 있음을 증명하였다.

그림 8에서 나타낸 것처럼 chiroinositol의 투여는 inositol phosphate, inositol 인지질, inositol 당지질, inositol phosphoglycan 및 glycosylphosphatidylinositol과 같은 chiroinositol의 대사산물 및 유도체와 함께, 살베지 경로(Salvage pathway)를 통하여 당뇨병에서 나타나는 chiroinositol의 대사기작 결함 및 장애를 교정을 할 수 있고, 구체적으로는 당뇨병 환자에게 chiroinositol의 투여가 chiroinositol 생합성의 결함을 bypass하여 치료할 수 있는 가능성과 chiroinositol의 therapeutic supplement 역할을 제공하는 중요한 정보를 얻었고 산업화를 통한 치료제 및 치료보조제, 식품첨가물로서의 기능성을 확인하였고 기술개발을 통한 산업화로 발전할 경우 당뇨병의

insulin resistance와 관련된 다른 질병, 즉 insulin deficiency, obesity, hypertension 및 다른 cardiovascular diseases에서도 chiroinositol와 chiroinositol함유 mediator의 결핍을 초래하는 chiroinositol 대사의 결함으로 발생하는 여러 가지 성인병의 치료에도 적용이 가능할 것으로 생각된다.



CI: chiroinositol

MI: myoinositol

GPI: Glycosylphosphatidylinositol

PI: Phosphatidylinositol

PIP: Phosphatidylinositol-4 monophosphate

PIP₂: Phosphatidylinositol-4,5 bisphosphate

그림 8. Chiroinositol feeding의 작용기작

ACKNOWLEDGMENT

본 실험실의 연구는 1999년 교육부 두뇌 한국21사업, 2000년 한국생산기술연구원 청정생산기술사업, 2000년 경상남도 생명공학기술개발사업 및 한국과학재단 목적기초연구 (1999-2-2-07-001-5) 지원으로 수행되었음

REFERENCES

- Hong, Y and Pak, Y. Identification of chiro-inositol-containing phospholipids and changes in their metabolism upon salt stress in soybean seedlings. *Phytochemistry* 51:861-866, 1999.
- Pak, Y. and Hong, Y. Defects in chiro-inositol metabolism in the Type II diabetic Goto-Kakizaki (G.K.) rat. *Recent Progress in Molecular and Comparative Endocrinology* (editors: HB, Kwon, JMP, Joss and S, Ishii) pp241-246, 1999.
- Pak, Y, Hong, Y, Kim, S, Piccariello, T, Farese, R.V, and Larner, J. In vivo chiro-inositol metabolism in the rat: A defect in chiro-inositol synthesis from myo-inositol and an increased incorporation of chiro-[³H]inositol into phospholipid in the Goto-Kakizaki rat. *Mol. Cells* 8:301-309, 1998.
- Pak, Y., Paule, CR, Bao, Y-D, Huang, LC, and Larner, J. Insulin stimulates the biosynthesis of chiroinositol-containing phospholipids in a rat fibroblast line expressing the human insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:7759-7763, 1993.
- Kennigton AS, Hill CR, Craig J, Bogardus C, Raz I, Ortmeyer HK, Hansen BC, Romero G, and Larner J. Low urinary chiroinositol excretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *New Eng J Med* 323:373-378, 1990.
- Craig JW, Larner J, and Asplin CM. Chiroinositol deficiency and insulin resistance: A clinical perspective. In *Molecular Biology of Diabetes*. Draznin B, LeRoith D, eds Humana Press p.1-19, 1994.
- Pak, Y. and Larner J. Identification and characterization of chiroinositol-containing phospholipids from bovine liver. *Biochem Biophys Res Commun* 184:1042-1047, 1992.
- Pak Y, Huang LC, Lilley KJ, and Larner J. In vivo conversion of [³H]myoinositol to [³H]chiroinositol in rat tissues. *J Biol Chem* 267:16904-16910, 1992.