

## 대두 *chiro*-inositol의 혈당강하효과

홍용근 · 박윤배\*

경상대학교 응용생명과학원 및 자연과학대학 생명과학부 생화학과

Received January 11, 2005 / Accepted March 14, 2005

**Effect of *chiro*-inositol from Soybean on Reducing Hyperglycemia and Its Role for Nutraceutical Supplement for Insulin Resistance.** Yonggeun Hong and Yunbae Pak\*. *Department of Biochemistry, Division of Life Science, College of Natural Sciences, Graduate School of Applied Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea* – Studies with diabetic mammalian systems showed that *chiro*-inositol administration decreased blood glucose levels. We investigated which foodstuffs contain large amounts of *chiro*-inositol by surveying vegetables, edible plants and other staples in an effort to explore the nutritional or therapeutic supplements of *chiro*-inositol for diabetic patients. In the course of our investigation, we found that soybean and soybean derivatives have high *chiro*-inositol levels (upto 20 mg/g). The purified *chiro*-inositol from the soybean was then tested for reducing hyperglycemia by administrating the *chiro*-inositol in streptozotocin-treated diabetic rats. The results showed that the intragastric administration of 50 mg *chiro*-inositol/kg BW lowered hyperglycemia by 40% and that the effect was sustained for approximately 12 hr.

**Key words** – Insulin resistance, *chiro*-inositol, soybean, diabetes, blood glucose level

당뇨병은 크게 두 종류로 분류하는데, 제1형 당뇨병은 인슐린 의존성 당뇨병(Insulin Dependent Diabetes Mellitus, IDDM)이라고 불리며, 유전적인 요인에 의해 생기는 질병으로 주로 어려서 발생한다. 제2형 당뇨병 환자들은 인슐린을 거의 생산해 내지 못하므로 인슐린을 정기적으로 투여하여야 한다. 제2형 당뇨병은 인슐린 비의존성 당뇨병(Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus, NIDDM)으로 불리며 유전 및 환경적인 요인에 따라 성인에게서 나타난다. 전체 당뇨병 환자 중 90%가 성인성 당뇨병인 제2형 당뇨병 환자이다[20]. 지난 15여 년 동안의 연구[5,6]에서 *chiro*-inositol 및 그 유도체가 인슐린 비의존성 당뇨병에서 당대사를 조절하는 능력을 가진다는 실험결과가 발표되었고, 그 결과에서 나타난 *chiro*-inositol의 결핍과 대사 장애가 당뇨병환자와 그 환자의 친인척 및 당뇨병 실험동물에서 발견되었다. 따라서 소변이나 혈액, 지방세포 및 근육조직의 biopsy를 통한 *chiro*-inositol의 유무로 당뇨병을 조기진단하고, 그 가계에 당뇨병이 유전적인 요인일 경우 발병이전을 미리 예방할 수 있는 기회를 제공하여 조기치료를 가능하게 하는 진단 및 치료의 표지자로서 *chiro*-inositol의 역할이 제시되고 있다[6].

인슐린 비의존성 당뇨병은 발병과정에서 insulin resistance를 나타내는데 대부분의 경우 인슐린 신호전달체계의 결함 때문에 발생된다. 인슐린이 세포막의 인슐린 수용체에 결합하면 phospholipase C 혹은 D의 작용으로 glycosylphosphatidylinositol (GPI)이 분해되어 inositol phosphoglycan (IPG) mediator

를 생성하는데, insulin IPG mediator는 포도당 신진대사를 조절하는 PDH (pyruvate dehydrogenase) phosphatase와 GS (glycogen synthase) phosphatase를 활성화하여 포도당의 대사를 촉진한다[5,7,8,15-17,19]. 인슐린 비의존성 당뇨병의 경우 이러한 PDH phosphatase와 GS phosphatase의 활성화 경로에 *chiro*-inositol의 결핍과 대사 장애로 *chiro*-inositol을 함유한 insulin IPG mediator를 생성하지 못하는 결함이 있는 것으로 보고되었다[1,3,9,10]. 인슐린 비의존성 당뇨병 환자의 경우 골격근과 소변에서 *chiro*-inositol이 결핍되어 있고, 환자의 친인척의 소변에서도 낮은 *chiro*-inositol함량을 나타냄으로써, *chiro*-inositol의 결핍은 직접적으로 insulin resistance와 연관되어 있는 것으로 밝혀졌다[4,18]. 따라서 *chiro*-inositol을 함유한 insulin mediator는 인슐린처럼 PDH와 GS를 활성화시키는 것으로 생각되며, 이러한 mediator의 생성과 turnover 및 작용에서의 결함이 insulin resistance를 유발하는 중요한 요인으로 제안되고 있다. 현재까지의 연구결과, 인슐린 비의존성 당뇨병 환자에서 *chiro*-inositol결핍의 원인은 *chiro*-inositol을 함유한 인지질이나 GPI와 같은 지질 선구물질의 생합성에 관여하는 효소 system의 결함에 기인한 것으로 추정되고 있다[11-14].

따라서 당뇨병 실험동물을 이용한 *chiro*-inositol feeding 실험을 통하여 *chiro*-inositol의 대사를 조사하고 인슐린 비의존성 당뇨병환자에게 *chiro*-inositol을 투여하여 당뇨병을 예방할 수 있는 therapeutic/nutraceutical supplement개발을 위한 연구[2]의 일환으로 혈당강하효과를 갖는 *chiro*-inositol을 다량 함유하고 있는 일반적인 일상 식품이나 식용물질을 분석하여 조사하였다. 이는 therapeutic/nutraceutical supplement로서 *chiro*-inositol의 대량 생산방법이 지금까지는 kasugamicin이나 pinitol에서

### \*Corresponding author

Tel : +82-55-751-5961, Fax : +82-55-752-7602

E-mail : ybpak@nongae.gsnu.ac.kr

유도체를 분리하거나 유기합성으로 생산되고 있어 화학적 공정상의 소량생산과 고 비용의 문제를 가지고 있어 이러한 문제점을 해결하기 위하여 실시하였고, 그 결과 식품으로 안전한 대두와 대두 부산물인 탈지대두와 두부 순물이 5 mg/g 이상의 높은 *chiro*-inositol을 함유하고 있음을 밝히고, 분리한 대두 *chiro*-inositol을 당뇨병 실험동물에 경구투여 하여 혈당강하효과를 증명하였다.

**재료 및 방법**

**시약**

Streptozotocin, HCl 및 anion/cation-mixed ion exchanger (Amberlite MB-150)는 Sigma, microcentrifuge nylon membrane (0.2 um, Costar Spin-X 8169)은 Costar로부터 구매하였고 그 외 모든 시약은 특급시약을 사용하였다.

***chiro*-Inositol의 분석 및 검액의 조제**

다량의 *chiro*-inositol을 함유하고 있는 식용자원을 탐색하기 위하여 대두와 대두의 부산물을 비롯한 약 300여종의 식품 및 식용물질에서 *chiro*-inositol의 함량을 분석하여 원료를 선정하였다. *chiro*-Inositol의 분석은 시중에서 구입한 시료 적당량에 최종농도가 6N HCl이 되도록 HCl원액을 처리하여 heating block으로 110℃에서 48시간 동안 산 분해시켰다. 산으로 분해된 시료를 동결 건조시키고, 시료 중에 함유되어 있는 불순물을 제거하고 *chiro*-inositol의 순도를 높이기 위하여 분말화된 시료를 2~5배의 증류수에 용해시킨 다음, 원심 분리하여 수용성 성분인 상등 액만을 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[2,11,12,14]. Sep-pak cartridge를 통과한 *chiro*-inositol 함유용액을 동결 건조시켜 재 분말화시키고, 다시 적당량의 증류수에 녹인 후 microcentrifuge nylon membrane (0.2 um, Costar Spin-X 8169)에 통과시켜 HPLC로 각 시료에 함유된 *chiro*-inositol을 정량화 하였다. HPLC에 사용된 column은 Dionex Carboapak MA-1이고 pulsed electrochemical detector로 확인하였다[2,11]. 사용한 완충용액은 60 mM NaOH이었으며 분당 0.4 ml의 유출속도로 25분간 용출시켰다. 표준물질(10 ug/ml 농도의 *myo*-inositol과 *chiro*-inositol standard)은 일정한 시간대의 retention을 가지며 전형적으로 2~3분 간격의 체류시간을 유지하였다. 모든 시료들의 분석량은 세 번의 실험을 평균하여 값으로 나타내었다.

Table 1에서와 같이 *chiro*-inositol의 함량을 조사한 결과, 대부분의 식용물질에서는 *chiro*-inositol의 함량이 1 mg/g (건조시료) 이하로 아주 낮았으며 대두 및 그 부산물인 탈지대두, 두부순물, 콩잎에서는 5 mg/g (건조시료) 이상으로 높았다. 또한 솔잎이나 솔순에서 17 mg/g (건조시료)정도의 *chiro*-inositol

**Table 1. Representative foodstuffs containing large amounts of *chiro*-inositol.**

원료명	함량(mg/g)	원료명	함량(mg/g)
쌀	0.50	밀	0.17
속청	1.60	피스타치오	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

300여종의 식품 및 식용물질에서 조사된 *chiro*-inositol함유 원료중 *chiro*-inositol함량이 0.1 mg/g (건조시료)이상의 대표적인 식품 및 식용물질

이 분석되었으나 원료의 구입이 용이하고 가격이 상대적으로 낮은 대두의 부산물인 탈지대두와 두부를 만들 때 생성되는 두부 순물을 선택하여 *chiro*-inositol을 추출하고 분리 정제하는 공정을 lab-scale로 완성하여, 생산된 시제품(*chiro*-inositol 순도 : 90% 이상(w/w))을 동물실험에 사용하였다.

Fig. 1은 분석시료의 HPLC의 chromatogram이다. Standard 분석 자료에서 보는 것과 같이 retention time이 8분대의 peak이 *myo*-inositol이고, 10분대의 peak이 *chiro*-inositol을 나타낸다. 솔잎의 경우는 대두 부산물인 두부순물보다 *chiro*-inositol (CI)이 *myo*-inositol (MI)보다 상대적으로 높은 함량(즉, CI/MI이 순물 : 4.91 vs 솔잎 : 5.55)을 보이고 있으나, 원료의 수급과 분리정제공정에서 송진의 처리등 단점을 보였다.

**실험동물**

Sprague-Dawley (male, 5주령, 150~160 g, 중앙실험동물)를 구입 후 최소한 일주일 간의 순화시간을 거친 후 시험 시 체중이 180~200 g인 동물을 사용하였다. *chiro*-Inositol의 혈당 조절효과는 streptozotocin (STZ) (40 mg/kg BW, 복강투여)을 처리하여 고혈당 쥐로 유발한 뒤 혈당이 300~500 mg/dl인 쥐를 선택하여

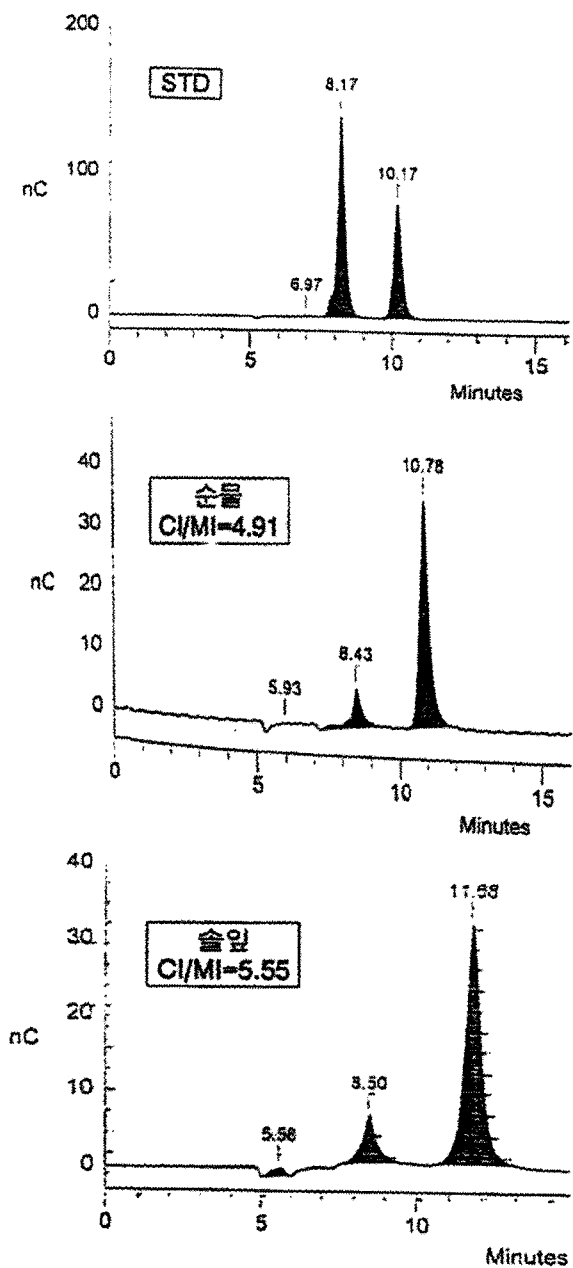


Fig. 1. HPLC analysis of foodstuffs.

하룻밤 동안 절식시키고, 실험직전 혈당(0 time)을 확인한 후 *chiro*-inositol (50 mg/kg BW)을 경구 투여하여 30분 간격으로 혈당을 미정맥(tail vein)의 전혈을 채취하여 glucose oxidation method를 이용한 GLUCOCARD II (Arkray, Kyoto Daiichi Kagaku, KYOTO, JAPAN)로 조사하였다. Glucose tolerance test는 D-glucose (4 g/kg BW)를 실험직전 혈당(0 time)을 확인하기 60분전에 복강투여한 후 위와 같이 *chiro*-inositol (50 mg/kg BW)을 경구 투여하여 30분 간격으로 혈당을 조사하였다. 대조물질 (vehicle)은 멸균생리식염수를 사용하였으며 각각의 실험에 사용된 실험군과 대조군은 최소 7마리에서 10마리를 사용하였다.

통계처리

결과분석은 평균±표준편차로 나타내고 각군 유의성 검정은 student-t test 분석을 하여 p<0.05에서 유의성을 검정하였다.

결 과

대두 부산물로부터 분리한 *chiro*-inositol을 멸균생리식염수에 녹여 STZ로 유발된 당뇨병 쥐에 경구투여(체중 1kg당 50 mg)한 후, 시간의 경과에 따라 혈당의 변화를 관찰하였다. 혈당량 조사는 쥐의 꼬리로부터 혈액을 채취하여 당산화(glucose oxidation)법에 의한 GLUCOCARD를 사용하였다. Fig. 2에서 보여 주는 바와 같이, *chiro*-inositol을 처리한 실험군(●)은 30분경부터 혈당이 감소되기 시작하였으나, *chiro*-inositol을 처리하지 않은 대조군(■)은 혈당의 변화가 관찰되지 않았다. 또한 실험군은 약 6시간 동안 강한 혈당의 감소효과(500 mg/dl → 300 mg/dl)를 나타내고, 12시간 이후에 처음의 혈당으로 회복됨으로써 *chiro*-inositol의 작용 지속시간이 12시간 이상임을 보여 주었다. 여기에 다시 인슐린을 처리했을 때, 혈당은 정상에 가까운 감소를 나타내었는데 이는 *chiro*-inositol의 체내 대사가 원활히 이루어짐으로써 당대사 조직에 독성을 나타내거나 인슐린 수용체에 결합을 초래하지 않았음을 나타낸 것으로 보인다. 그리고 인슐린과 *chiro*-inositol을 복합 처리했을 때, 인슐린만을 단독으로 사용했을 때와 같은 저혈당증은 동반되지 않았으므로, *chiro*-inositol이 부작용이 없는 안전한 혈당강하제로 사용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

Fig. 3은 *chiro*-inositol을 STZ로 유발된 당뇨병 쥐에 경구투여 하였을 때, 혈당제거율의 변화를 조사한 것으로, *chiro*-inositol을 처리한 실험군(●)은 혈당이 30분경부터 감소하기 시작하여, 60분경에는 약 25%, 180분에는 38%, 그리고 360분에는 28%의 감소율을 유지함으로써 혈당 감소율을 일정하게 장시간 지속시키는 효력을 가지는 것으로 나타났다. 반면에 *chiro*-inositol을 처리하지 않은 대조군(■)은 전혀 혈당 제거율이 없었다. 이러한 결과는 *chiro*-inositol을 다른 물질과 복합처리 함으로써 상승 효과를 장시간 기대할 수 있을 뿐만 아니라, 다른 약물에 의한

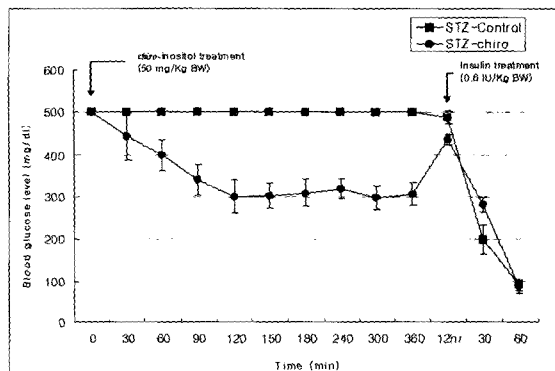


Fig. 2. Effect of *chiro*-inositol and insulin administration on blood glucose level in streptozotocin-induced diabetic rats.

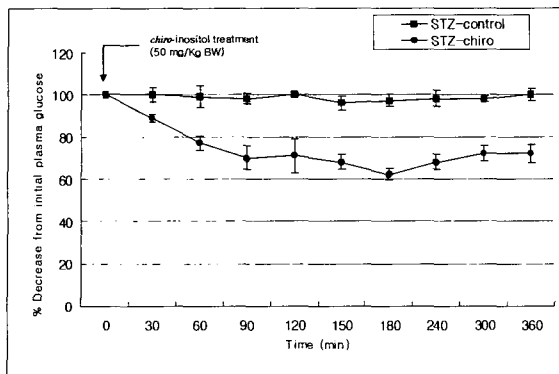


Fig. 3. Effect of *chiro*-inositol administration on lowering plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats.

부작용에 따른 일시적인 혈당상승의 치명적인 문제점을 예방할 수 있음을 나타내 주는 결과로 생각된다.

*chiro*-Inositol을 정상혈당의 쥐에 경구 투여하여 Fig. 4와 같이 혈당제거율(glucose tolerance test)을 관찰하였다. *chiro*-Inositol을 처리하지 않은 대조군(●)의 경우 30분과 60분에 각각 42%와 28%의 혈당 제거율을 나타낸 반면, *chiro*-inositol을 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 150분경에는 정상에 가까운 정도까지 혈당 제거율을 나타내었고 이후 240분까지 그 효력이 지속되었다. 이는 발표된 연구결과들 [9,11,12]에서 언급하는 내용과 같이 인슐린에 민감하게 반응하는 대사조직 즉, 말초의 근육, 지방 및 간 조직에 작용함으로써 그 효력이 지연되어 나타나며, 작용시간 또한 오래 지속되는 것으로 생각된다. 따라서 *chiro*-inositol에 의한 혈당강하 작용은 인슐린 분비 시의 혈당강하 작용과 인슐린 결핍 시 혈당강하 작용이 서로 다른 기작으로 일어나는 것으로 보인다.

고찰

대두 부산물에서 분리 정제된 *chiro*-inositol로 당뇨 쥐와 정상

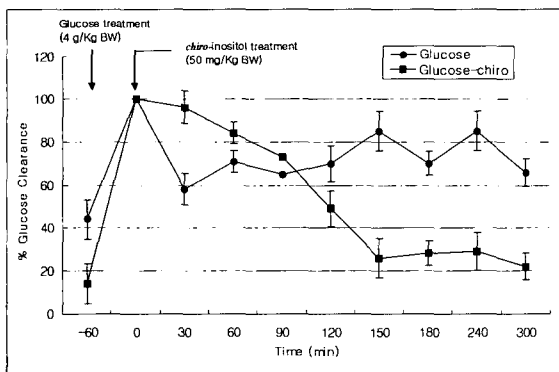


Fig. 4. Effect of administration of *chiro*-inositol on glucose clearance test in normal Sprague-Dawley rats.

쥐에서 혈당강하효과를 조사해 본 결과, STZ으로 유발된 고혈당 쥐의 혈당제거율 검사에서 강한 혈당강하 효과(약 40%)를 나타내었으며 지속시간은 약 12시간이었고, 인슐린과 복합처리 했을 때 상승작용(synergy)을 나타내었으며, 저혈당증으로 전혀 발전하지 않았다. 따라서 이러한 결과는 *chiro*-inositol이 인슐린 의존성 및 인슐린 비의존성 당뇨병으로 인한 혈당상승을 억제 또는 예방할 수 있어 혈당강하제 및 영양학적 건강식품으로 사용될 수 있고, 당뇨병에 인슐린과 함께 적용할 수 있으므로, 상승적 혈당강하 효과를 가질 수 있음을 증명하였다. 따라서 *chiro*-inositol의 투여는 당뇨병에서 나타난 inositol phosphate, inositol인지질, inositol당지질, inositol phosphoglycan 및 glycosylphosphatidylinositol과 같은 *chiro*-inositol의 대사산물 및 유도체의 생합성 결함을 salvage pathway를 통하여 *chiro*-inositol의 대사기작 결함과 장애를 교정할 수 있고, 구체적으로는 당뇨병 환자에게 *chiro*-inositol의 투여가 *chiro*-inositol 생합성의 결함을 bypass하여 치료할 수 있는 가능성과 *chiro*-inositol의 therapeutic/nutraceutical supplement 역할을 제공하는 중요한 정보를 얻었다. 더불어 산업화를 통한 치료제 및 치료보조제, 식품첨가물로서의 가능성을 확인하였고 기술개발을 통한 산업화로 발전할 경우 당뇨병의 insulin resistance와 관련된 다른 질병, 즉 insulin deficiency, obesity, hypertension 및 다른 cardiovascular diseases에서도 *chiro*-inositol과 *chiro*-inositol함유 mediator의 결핍을 초래하는 *chiro*-inositol 대사의 결함으로 발생하는 여러 가지 성인병의 치료에도 적용이 가능할 것으로 생각된다.

요약

본 연구는 혈당강하효과를 갖는 *chiro*-inositol을 다량 함유하고 있는 식품이나 식용물질을 탐색하여 선발하고, 선택된 식품이나 식용물질에서 *chiro*-inositol을 분리·정제하여 정제된 *chiro*-inositol로 동물실험을 실시하여 혈당강하효과를 증명하였다. 약 300여종의 식품 및 식용물질을 HPLC로 분석한 결과 식품으로 안전한 대두 부산물인 탈지대두와 두부 순물에서 *chiro*-inositol의 함량이 각각 6.75 mg/g, 20 mg/g로 조사되어 선택되었고, *chiro*-inositol의 순도가 90% 이상(w/w)인 *chiro*-inositol의 추출물을 이용하여 동물실험을 통한 혈당강하효과를 조사하였다. 그 결과, STZ로 유발된 고혈당 쥐에 경구 투여시, 약 40%의 강한 혈당강하 효과를 나타내었으며 지속시간은 약 12시간이었고, 인슐린과 복합처리 했을 때 상승작용(synergy)을 나타내었으며, 저혈당증으로 전혀 발전되지 않았다.

감사의 글

본 실험실의 연구는 교육부 BRAIN KOREA 21사업, 2000년 한국생산기술연구원 청정생산기술사업, (주) 아미코젠, 2000년

경상남도 생명공학기술개발사업, 한국과학재단 목적기초연구 (R01-1999-00091) 지원으로 수행되었음

## 참 고 문 헌

1. Farese, R. V., M. L. Standaert, K. Yamada, L. C. Huang, C. Zhang, D. R. Cooper, Z. Wang, S. Suzuki, T. Toyota and J. Larner. 1994. Defective insulin-induced activation of glycerol-3-phosphate acyltransferase (G3PAT) by a chiroinositol-containing insulin mediator in adipocytes of insulin-resistant, type II diabetic, Goto-Kakizaki (GK) rats. *Proc Natl Acad Sci USA* **91**, 11040-11044.
2. Hong, Y and Y. Pak. 1999. Identification of chiro-inositol-containing phospholipids and changes in their metabolism upon salt stress in soybean seedlings. *Phytochemistry* **51**, 861-866.
3. Huang, L. C., M. C. Fonteles, D. B. Houston, C. Zhang and J. Larner. 1993. Acute glycogenic and hypoglycemic effects of two inositol phosphoglycan insulin mediators in normal and streptozotocin-diabetic rats in vivo. *Endocrinol* **132**, 652-657.
4. Kennigton, A. S., C. R. Hill, J. Craig, C. Bogardus, I. Raz, H. K. Ortmeier, B. C. Hansen, G. Romero and J. Larner. 1990. Low urinary chiroinositol excretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *New Eng J Med* **323**, 373-378.
5. Larner, J. 1994. Multiple pathways in insulin signaling-fitting the covalent and allosteric puzzle pieces together. *Endocrine J* **2**, 167-171.
6. Larner, J. 2001. D-chiro-inositol in insulin action and insulin resistance. *IUBMB Life* **51**, 139-148.
7. Larner, J., G. Galasko, K. Cheong, A. A. DePaoli-Roach, L. Huang, P. Daggy and J. Kellogg. 1979. Generation by insulin of a chemical mediator that controls protein phosphorylation and dephosphorylation. *Science* **206**, 1408-1410.
8. Larner, J., L. C. Huang, C. F. W. Schwartz, A. S. Oswald, T. Y. Shen, M. Kinter, G. Tang and K. Zeller. 1988. Rat liver insulin mediator which stimulates pyruvate dehydrogenase phosphatase contains galactosamine and D-chiroinositol. *Biochem Biophys Res Commun* **151**, 1416-1426.
9. Ortmeier, H. K., L. C. Huang, L. Zhang, B. C. Hansen and J. Larner. 1993. Acute effects of D-chiroinositol administration in streptozotocin-diabetic rats, normal rats given a glucose load, and spontaneously insulin-resistance rhesus monkeys. *Endocrinol* **132**, 646-651.
10. Ostlund, R. E. Jr, J. B. McGill, I. Herskowitz, D. M. Kipnis, J. V. Santiago and W. D. Sherman. 1993. D-chiroinositol metabolism in diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**, 9988-9992.
11. Pak, Y., Y. Hong, S. Kim, T. Piccariello, R. V. Farese and J. Larner. 1998. In vivo chiro-inositol metabolism in the rat: A defect in chiro-inositol synthesis from myo-inositol and an increased incorporation of chiro-[<sup>3</sup>H]inositol into phospholipid in the Goto-Kakizaki (G.K.) rat. *Mol Cells* **8**, 301-309.
12. Pak, Y., L. C. Huang, K. J. Lilley and J. Larner. 1992. In vivo conversion of [<sup>3</sup>H]myoinositol to [<sup>3</sup>H]chiroinositol in rat tissues. *J Biol Chem* **267**, 16904-16910.
13. Pak, Y and J. Larner. 1992. Identification and characterization of chiroinositol-containing phospholipids from bovine liver. *Biochem Biophys Res Commun* **184**, 1042-1047.
14. Pak, Y., C. R. Paule, Y. D. Bao, L. C. Huang and J. Larner. 1993. 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.
15. Romero, G. and J. Larner. 1993. Insulin mediators and the mechanism of insulin action. *Adv Pharm* **24**, 21-59.
16. Romero, G., L. Luttrell, A. Rogol, K. Zeller, E. Hewlett and J. Larner. 1998. Phosphatidylinositol-glycan anchors of membrane proteins: Potential precursors of insulin mediators. *Science* **240**, 509-511.
17. Saltiel, A. R. 1994. The paradoxical regulation of protein phosphorylation in insulin action. *FASEB J* **8**, 1034-1040.
18. Suzuki, S., H. Kawasaki, Y. Satoh, M. Ohtomo, M. Hirai, A. Hirai, S. Hirai, M. Onoda, M. Matsumoto, Y. Hinodio, H. Akai and T. Toyota. 1994. Urinary chiro-inositol excretion is an index marker of insulin sensitivity in Japanese Type II diabetes. *Diabetes Care* **17**, 1465-1468.
19. Suzuki, S., T. Toyota, S. Tamura, K. Kikuchi, S. Tsuiki, L. Huang, C. Villar-Palasi, J. Larner and Y. Goto. 1987. ATP-Mn<sup>2+</sup> stimulates the generation of a putative mediator of insulin action. *J Biol Chem* **262**, 3199-3204.
20. Taylor, S. I., D. Accili and Y. Imai. 1994. Insulin resistance or insulin deficiency: Which is the primary cause of NIDDM? *Diabetes* **43**, 735-740.