

## 오령산의 피오글리타존 부작용 경감 효과

신은정 · 최한별 · 한은정 · 정성현<sup>#</sup>

경희대학교 약학대학 약물학임상약학 교실

(Received July 2, 2007; Revised August 31, 2007)

## Oryung-san Ameliorates Pioglitazone Side Effects

Eun Jung Shin, Han Byul Choi, Eun Jung Han and Sung Hyun Chung<sup>#</sup>

Pharmacology and Clinical Pharmacy Lab., College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

**Abstract** — Thiazolidinediones (TZDs) induce insulin sensitization through the activation of PPAR $\gamma$ . However, the undesirable effect such as weight gain was observed. The purpose of this study was to find out an herbal drug that could reduce the side effects of pioglitazone. Among herbal formula that we have searched, oryung-san (OR) inhibited the differentiation of preadipocytes and did not affect on glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *In vitro*, glucose uptake assay and Oil Red-O staining in 3T3-L1 adipocytes were conducted. *In vivo*, pioglitazone (PIO, 30 mg/kg), oryung-san (OR, 300 mg/kg), or pioglitazone co-administered with oryung-san (PIO+OR) were administered orally for 7 weeks in high fat diet (HFD) fed ICR mice and measured the body weight and blood glucose level every week. PIO+OR group significantly reduced body weight gain, triglyceride, and total cholesterol compared to PIO group. In addition, PIO+OR group showed a significant reduction of plasma glucose level (72%) compared to HFD control group. Insulin levels in PIO+OR group was also markedly decreased by 85% and 41% compared to HFD control and PIO group, respectively. Diameter of white adipocytes was decreased in the PIO+OR group compared to that in PIO group. Moreover, PIO+OR group reduced expression of PPAR $\gamma$  and SREBP1 $\alpha$  compared to PIO group. Taken together, oryung-san can improve side effects of pioglitazone, such as weight gain and edema, and shows a synergistic effect in plasma insulin levels.

**Keywords** □ pioglitazone, oryung-san, high fat diet, PPAR- $\gamma$ , SREBP1 $\alpha$

현대인의 생활습관 즉 운동 부족과 식습관 즉 고지방과 고탄수화물 식이의 섭취로 인해 신체에 지방이 축적하는 현상인 '비만' 인구가 전 세계적으로 급격하게 증가하는 추세이다. 특히 비만은 에너지 조화에 장애가 생겨 내장 지방 축적을 통해 인슐린 저항성, 고혈압, 고지혈증, 지방간 그리고 동맥경화 등의 질병과 관련 있는 대사증후군을 일으키며 중국에 인슐린 저항성과 관련 있는 제 2형 당뇨병을 유발한다.<sup>1)</sup> 현재 제 2형 당뇨의 치료를 위해 시판중인 약물들은 탄수화물의 소화를 제한하는 식후 혈당조절제로서  $\alpha$ -glucosidase 억제제, 인슐린 분비를 촉진하는 sulfonylurea 계 약물, 간에서 포도당 생성을 감소시키는 biguanide 계 약물, peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ (PPAR- $\gamma$ ) 효능제로써 인슐린 작용을 증가시키는 thiazolidinedione(TZD) 계 약물이 있다.<sup>2,3)</sup> 핵 수용체로서 전사인자로 작용하는 PPARs

는 세 가지의 이성질체(PPAR  $\alpha$ ,  $\delta/\beta$ ,  $\gamma$ )가 존재하며<sup>4,5)</sup> 이 중 PPAR- $\gamma$ 는 지방세포에 주로 존재하는 isoform으로,<sup>6)</sup> 당뇨병 치료제인 TZD 계 약물(rosiglitazone, pioglitazone, troglitazone)이 이의 효능제로<sup>7,8)</sup> 혈당과 지질 항상성을 조절하여 인슐린 작용을 증가시킨다. TZD계 약물들은 인슐린 작용을 증가시키는 효과가 있는 반면에 지방세포 분화를 유도하여 지방세포 증식을 일으켜 체중증가를 일으키는 부작용이 보고되고 있다.<sup>9,10)</sup> 또한 동물이나 사람에게 PPAR- $\gamma$  agonist를 투여하면 심장비대, 부종, 혈액독성과 간독성의 부작용을 나타냈다는 보고가 있다.<sup>11,12)</sup> 기존 PPAR- $\gamma$  agonist의 단점을 극복하는 방안으로 첫째는 GW0072,<sup>13)</sup> N-(9-fluorenyl)methoxycarbonyl(FMOC)-L-leucine,<sup>14)</sup> PAT5A<sup>15)</sup> 그리고 nTZDpa<sup>16)</sup> 등과 같은 partial agonist, 둘째는 berberine<sup>17)</sup> 과 같은 PPAR- $\gamma$  antagonist, 셋째는 간에서 생성되어 지질 분해 작용이 있는 PPAR- $\alpha$ ,  $\gamma$  dual agonist의 개발이 시도되었다.<sup>18)</sup> 그러나 이러한 약물들은 약효가 감소하는 단점이 있다.

본 연구에서는 TZD 계열 약물인 pioglitazone의 부작용을 경감시킬 수 있는 한약처방을 찾고자 수종 한약처방을 검색한 결

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 02-961-0373 (팩스) 02-957-0384  
(E-mail) suchung@khu.ac.kr

과 오렐산이 pioglitazone의 체중 증가 부작용을 억제시키는 효과가 있음을 확인하였다. 지방세포로 분화된 3T3-L1 cell을 이용하여 지방세포 분화와 glucose uptake에 미치는 영향을 살펴본 결과, 오렐산은 glucose uptake에 큰 영향을 미치지 않으면서 지방세포 분화는 억제하는 활성을 나타내었다. 오렐산의 이러한 효과를 검토하기 위해 본 실험에서는 고지방식으로 키운 ICR mice에서 오렐산이 pioglitazone에 의한 체중증가를 억제하는 효과 및 기전을 살펴보았다.

## 실험 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에서 사용한 약재는 경동 시장에서 구입하여 사용하였으며 오렐산의 처방 구성은 다음과 같다.

한약명	생약명	합량
택사(澤瀉)	Alismatis rhizoma	10 g
적복령(赤茯苓)	Hoelen rubra	6 g
저령(豬苓)	Grifola umbellata	6 g
백출(白朮)	Atractylodis Rhizoma alba	6 g
육계(肉桂)	Cinnamomi Cortex Spissus	2 g
1첩 당 총 합량		30 g

오렐산 7첩 분량 및 정제수 약 1300 ml를 약탕기에 넣고 2시간 동안 가열하고 filter paper로 여과한 후 감압 농축하고 동결 건조하여 본 실험에 사용하였다.

### 실험동물

본 연구에서는 4주령의 웅성 ICR 마우스를 (주) 오리엔트에서 구입하여 사용하였다. 흰쥐는 plastic mouse cage에 보관하여 동물실에서 23±2°C, 상대습도 50±10%, light/dark cycle(12/12 hr)의 조건하에서 사육하며, 물과 사료는 자유로이 섭취하도록 하였다. 실험동물은 실험시작 전 일주일 동안 환경에 적응시켰다. 실험군은 다음과 같이 다섯 그룹으로 나누었으며 각 시료는 경구투여하였다: regular diet는 정상식이 섭취군(RD), high-fat diet는 고지방식이 섭취군(HFD), HFD+PIO는 고지방식이와 30 mg/kg의 pioglitazone 투여군(HFD+PIO), HFD+OR은 고지방식이와 300 mg/kg 오렐산 투여군(HFD+OR), HFD+PIO+OR은 고지방식이와 30 mg/kg의 pioglitazone 및 오렐산 300 mg/kg 투여군(HFD+PIO+OR)으로 나누었다. 시료는 경구 투여로 7주 동안 매일 투여하였으며, 체중과 혈당은 매주 측정하였다.

### 혈액 지표 분석

혈액 지표 분석을 위한 혈액 채취는 12시간 절식 후 실시하였다. 안와 정맥을 통해 얻어진 전혈을 5,000 rpm에서 5분간 원심 분리한 후 혈장을 분석에 사용하였다. 혈중 포도당 농도는 glucose oxidase method(Trinder method)를 사용하여 측정하였으며<sup>19)</sup> 흡광

도 측정은 UV Spectrophotometer(U-3210, HITACHI™, Japan)를 사용하였다. 혈중 인슐린 농도는 마우스 insulin ELISA kit (Shibayagi, Japan)를 구입하여 ELISA reader(Labsystems, Finland)로 측정하였다. 혈중 중성지방(triglyceride, TG) 총 콜레스테롤(total cholesterol, TC), 고밀도지질단백 콜레스테롤(HDL-C)은 영동제약에서 각 kit를 구입하여 측정하였다.

### 지방의 형태학적 관찰

쥐에서 적절한 조직을 10% neutral buffered formalin을 사용하여 고정하였다. 이후 탈수 및 포매 과정을 거쳐 파라핀 블록을 제작하고 두께 5 µm의 관상 절편으로 제작한 후 xylene으로 파라핀을 제거시키고, 100%, 95%, 90%, 80%, 70% 알코올로 친수화 시켰다. 염색 방법으로는 hematoxylin과 eosin 염색으로 탈수 과정을 거쳐 Canada balsam으로 봉입하고 광학현미경(Olympus, Japan)으로 관찰하였다.

### 조직으로부터 RNA 추출 및 RT-PCR

지방조직에서 total RNA는 guanidine thiocyanate-water saturated phenol/chloroform 분리 방법을 이용하였다.<sup>20)</sup> 물 층에 있는 total RNA는 이소프로판올을 이용하여 침전시켜 분리한 RNA는 260 nm와 280 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. 총 RNA 1 µg을 Moloney murine leukemia virus transcriptase와 random hexamer를 이용하여 역전사하였다. Primer 종류 및 서열은 다음과 같다. SREBP1a의 주형사 서열은 GCG CYA CCG GTC TTC TAT CA, 비주형사 서열은 TGC TGC CAA AAG ACA AGG G; PPAR-γ(peroxisome proliferator-activated receptor-γ)의 주형사 서열은 CCC TGG CAA ACG ATT TGT AT, 비주형사 서열은 AAT CCT TGG CCC TCT GAG AT; β-actin의 주형사 서열은 GTC GTA CCA CTG GCA TTG TG, 비주형사 서열은 GCC ATC TCC TGC TCA AAG TC이다. Primer는 20 mM Tris-HCl(pH 8.4), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.5 mM dNTP, 5 µl cDNA 그리고 2.5 unit의 Taq DNA polymerase가 포함되어 있는 25 µl의 반응 용액에 각각의 최종 농도가 0.5 µM이 되도록 첨가하였다. PCR 조건은 PPAR-γ 그리고 β-actin의 경우, 95°C에서 1분 동안 변성, 57.5°C에서 1분 동안 붙임 그리고 72°C에서 1분 동안 연장을 하여 총 30 cycle 하였다. SREBP1a의 경우, 95°C에서 1분 동안 변성, 57.5°C에서 1분 동안 붙임 그리고 72°C에서 1분 동안 연장을 하여 총 27 cycle 하였다. 이후, 반응 생성물을 0.5 µg/ml ethidium bromide로 염색된 1% agarose gel을 이용하여 100 V에서 전기영동 하였다. β-actin은 증폭된 유전자들의 대조군으로 사용되었다.

### 자료 분석 및 통계 처리

모든 실험 결과는 평균±표준 오차로 나타내었다. 고지방식이

대조군(HFD)과 비교하여 통계적 유의성을 Student's *t*-test로 처리하였으며  $P < 0.05$  이하인 경우 유의성 있는 차이가 있는 것으로 판정하였다.

**실험 결과 및 고찰**

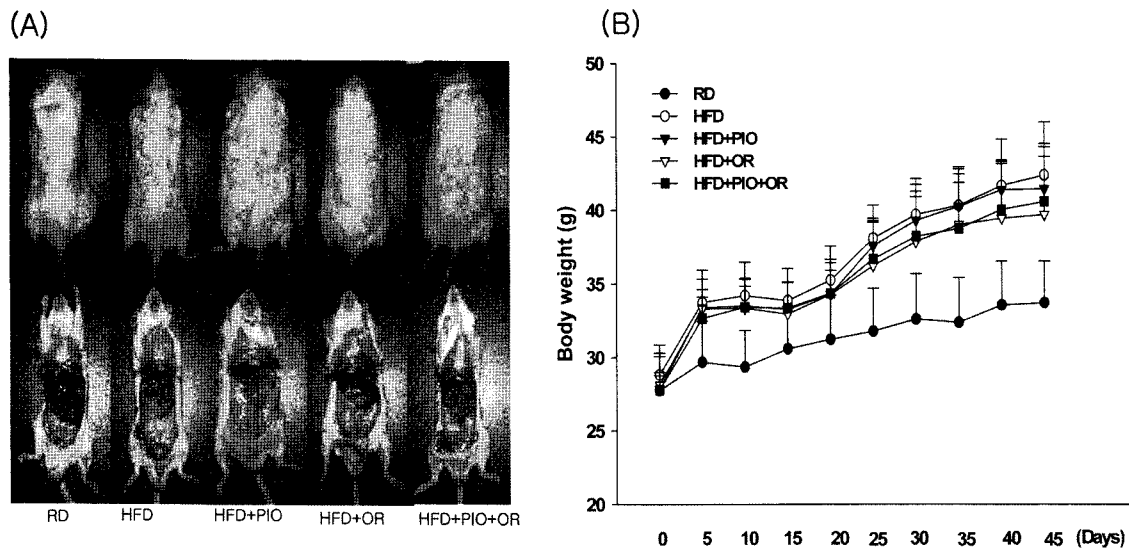
**처방의 선택**

후보 처방으로 오령산, 황금탕, 대시호탕, 방기황기탕, 인진오령산을 대상으로 glucose uptake와 지방세포 분화에 미치는 영향을 살펴본 결과 오령산과 방기황기탕은 glucose uptake를 PPAR- $\gamma$  agonist인 트로글리타존과 비슷하거나 조금 상승시킨 반면 인진오령산, 황금탕, 대시호탕은 트로글리타존에 의한 glucose uptake 상승효과를 감소시켰다. 이어서 지방 세포 분화를 억제하는 효과를 관찰한 실험에서는 오령산, 황금탕, 대시호탕은 대조군에 비해 50% 정도 분화 억제 효과를 나타낸 반면 인진오령산과 방기황기탕은 대조군과 거의 차이를 보이지 않았다. 위 실험을 통해 트로글리타존에 의한 glucose uptake 상승효과를 경감시키지 않으면서 부작용으로 알려진 지방축적에 대해 억제작용

을 나타내는 처방으로서 오령산이 선택되었다.

**체중과 체중 변화**

Fig. 1은 7주간의 시료 투여 기간 동안 체중의 변화 양상 및 체중 변화 곡선을 나타낸 것이다. 1A에서 복부 개복한 사진을 비교해 볼 때, HFD+PIO는 HFD 대조군과 비교 시 내장 지방의 크기가 많이 커진 반면 HFD+PIO+OR은 HFD+PIO와 비교 시 내장지방의 크기가 현저하게 작아진 것을 볼 수 있다. 1B 그림은 7주 동안 체중의 변화를 도식화한 것으로 투여 최종일의 체중은 HFD>HFD+PIO>HFD+PIO+OR>HFD+OR 순이었다. Table I은 7주 동안 약물을 경구 투여한 후 체중 변화 및 장기 무게에 미치는 영향을 그룹간 비교한 결과이다. HFD 대조군에 비해 HFD+OR 투여군의 체중이 14.7% 감소한 것으로 보아 OR이 체중 감소효과를 나타내는 것을 알 수 있다. 결과 HFD+PIO 투여군에 비해 HFD+PIO+OR 투여군의 체중 증가가 6.6% 감소한 것을 알 수 있었다. 정상식이군을 제외한 그룹간 체중 대비 간의 무게에는 차이가 없었던 반면 HFD+PIO 투여군에서는 체중 대비 지방의 무게가 HFD 대조군에 비해 34%



**Fig. 1** – Effects of pioglitazone and oryung-san on body weight. (A) Gross appearance of whole body and abdomen of mice. (B) Changes of body weight.

**Table I** – Effects of PIO & OR on body, liver and fat weights

Group	Body weight (g)		Weight gain	Liver/body weight (%)	Fat/body weight (%)
	Initial	Final			
RD	27.8±1.3	33.7±1.4	6±0.2	4.4±0.1	2.7±0.2
HFD	28.8±1.0	42.4±1.8	13.6±1.3	3.9±0.2	4.4±0.3
HFD+PIO	27.8±0.6	41.5±1.1	13.7±0.8	3.5±0.1*	5.9±0.7
HFD+OR	28.1±1.0	39.7±2.3	11.6±1.5	3.7±0.1	4.1±0.3
HFD+PIO+OR	27.8±0.5	40.6±2.0	12.8±1.4	3.8±0.1	4.2±0.7

Values represent the mean±SE (n=6).

\* $p < 0.05$  vs. HFD

**Table II** – Effects of PIO & OR on plasma glucose, insulin and HOMA-IR

Group	Glucose (mM)		Insulin (mU/ml)	HOMA IR
	Initial	Final		
RD	4.9±0.4	5.0±0.4	29.56±11.86	6.57
HFD	4.9±0.2	7.8±0.5	207.27±61.22	71.85
HFD+PIO	4.8±0.3	5.6±0.3	53.29±7.50**	13.26
HFD+OR	4.9±0.4	7.7±0.8	86.91±24.76*	29.74
HFD+PIO+OR	4.9±0.2	5.6±0.4	31.57±4.80**	7.86

Values represent the mean±SE (n=6). Plasma glucose and insulin were analyzed in plasma samples obtained from blood of 12 hr fasted mice. Homeostasis Model Assessment was used to calculate an index of insulin resistance as insulin (μU/ml)× glucose (mM)/22.5. \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001 vs. HFD.

증가한 반면 HFD+PIO 투여군에 비해 HFD+PIO+OR 투여군에서는 체중 대비 지방 무게의 증가가 29% 감소된 것을 알 수 있었다.

**혈당 및 인슐린 저항성 지수**

Table II는 7주 동안 약물을 경구 투여한 후 공복 시 혈당 변화와 인슐린 저항성 개선 효과에 미치는 영향을 나타낸 것이다. HFD+PIO 투여군의 혈당이 HFD 대조군의 72% 정도로 현저하게 낮아졌다. 또한 HFD+PIO+OR 투여군은 PIO의 혈당강하 효과를 그대로 유지하는 것을 볼 수 있었다. 이와 함께 HFD+PIO투여군에 비해 HFD+PIO+OR 투여군의 인슐린 농도가 41% 낮아진 것을 확인하였다. 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance) 수치를 비교한 결과 HFD+PIO 투여군 비해 HFD+PIO+OR 투여군은 수치를 41% 감소시켰다. 이를 통해 볼 때 oryung-san은 pioglitazone과 함께 인슐린 저항성 개선에 있어 상승적인 효과를 나타내는 것으로 추측된다.

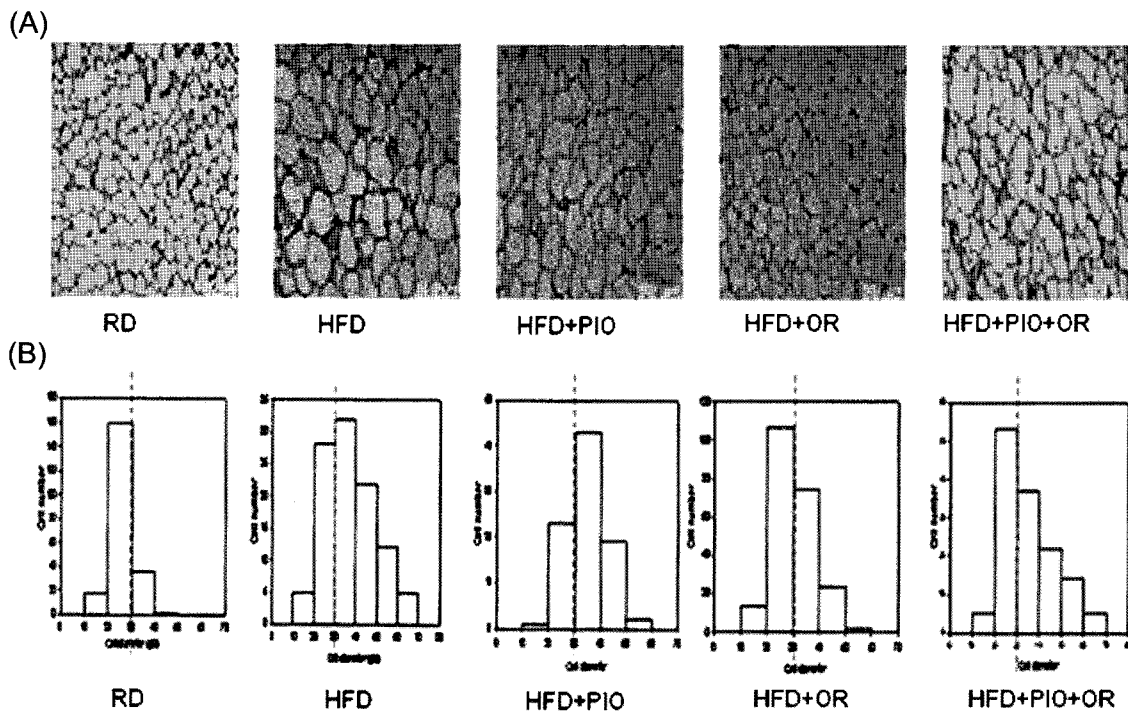
**혈중 지질 농도에 대한 효과**

Table III은 7주 동안 약물을 경구 투여한 후 혈액 내에 존재

**Table III** – Effects of PIO & OR on plasma lipid levels

Groups	Triglyceride (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	HDL cholesterol (mg/dl)	LDL cholesterol (mg/dl)
RD	73.8±11.2	125.8±5.4	93.8±9.1	17.2±1.5
HFD	90.6±5.6	140.9±8.5	101.1±10.7	34.6±11.7
HFD+PIO	113.4±6.8	166.5±15.7	127.3±5.6*	65.5±12.0
HFD+OR	98.3±6.9	165.1±12.9	136.3±7.9**	21.9±3.0
HFD+PIO+OR	111.5±11.7*	151.6±14.9	105.0±2.4	37.7±13.4

Values represent the mean±SE (n=6). LDL-cholesterol (mg/dl)=Total cholesterol-HDL cholesterol-triglyceride/5. \*p<0.05, \*\*p<0.01 vs. HFD.



**Fig. 2** – Effects of pioglitazone and oryung-san on white adipose tissue morphology. (A) Histological analyses of epididymal fat. (B) Distribution of fat cell size in adipose tissue. Samples were stained with hematoxylin and eosin and are photographed at 200 magnification.

하는 지질의 농도를 측정하였다. HFD+PIO 투여군은 TG와 TC, LDL-C 수치에서 HFD 대조군에 비해 각각 25%, 18%, 88% 증가하였다. 그러나 HFD+OR 투여군은 HFD 대조군에 비해 TG와 TC, HDL-C 수치에서 각각 8%, 23%, 35% 증가시키고 LDL-C의 경우 37%를 감소시켰다. HFD+PIO+OR 투여군은 HFD+PIO 투여군에 비해 TG와 TC, LDL-C 수치에서 각각 1.7%, 8.9%, 42.4% 감소하였다. 이러한 결과를 통해 PIO에 의해 증가된 혈중 TG와 TC, LDL-C은 OR에 의해 억제됨을 알 수 있다.

#### 지방의 형태학적 관찰

Fig. 2는 7주간의 시료 투여 후 ICR 마우스의 지방 조직 변화를 나타낸 것이다. 2A의 지방 조직 염색 사진에서 알 수 있듯이 HFD+OR 투여군에서는 지방세포의 크기가 HFD 대조군에 비해 현저하게 줄어들었으며, HFD+PIO+OR의 지방세포 또한 HFD+PIO 투여군에 비해 크게 줄어든 것을 확인할 수 있었다. 이는 오령산의 투여로 pioglitazone에 의해 커진 지방세포가 줄어든 것으로 판단된다. 2B는 2A의 지방세포 크기를 직경 수치로 나타낸 것으로 지방세포의 직경 분포는 HFD+OR과 HFD+PIO+OR 투여군 모두 HFD 대조군에 비해 직경이 작은 쪽으로 그 분포가 이동되었음을 볼 수 있었다.

#### 지방 조직에서의 유전자 발현

Fig. 3은 ICR 마우스의 지방 조직에서 pioglitazone과 오령산이 PPAR- $\gamma$  유전자와 지방합성에 관여하는 전사인자 SREBP1a 유전자의 발현에 미치는 영향을 RT-PCR을 이용하여 나타낸 것이다. SREBP1a의 발현이 HFD+PIO 투여군에서 HFD 대조군에 비해 뚜렷하게 증가되었고, PPAR- $\gamma$  유전자 발현 또한 HFD+PIO 투여군에서 HFD 대조군에 비해 그 발현이 증가된 반면 HFD+PIO+OR 투여군은 HFD+PIO 투여군에 비해

PPAR- $\gamma$ 와 SREBP1a의 유전자 발현이 감소하였다. 이 결과는 오령산이 PIO에 의한 지방세포로의 분화를 억제하는 것으로 판단되며 오령산의 pioglitazone 부작용 경감 활성을 뒷받침하는 근거가 될 것으로 사료된다.

## 결론

Pioglitazone은 혈당강화에 탁월한 효과가 있으나 체중증가의 부작용을 나타내었다. HFD+PIO 투여군의 체중 대비 지방의 무게가 HFD 대조군에 비해 34% 증가된 반면 HFD+PIO+OR은 HFD+PIO 투여군에 비해 29% 감소시켰다. 혈당의 경우 HFD+PIO+OR은 PIO의 혈당강화 효과는 그대로 유지하는 것으로 나타났으며 HFD+PIO+OR은 PIO에 의한 TG, TC, LDL-C 증가를 억제(-1.7%, -8.9%, -42%) 하였다. 지방의 형태학적 변화에서도 지방세포의 크기가 HFD+PIO에 비해 HFD+PIO+OR이 현저하게 줄어든 것을 확인하였다. 또한 SREBP1a의 발현이 HFD+PIO 투여군에서 HFD 대조군에 비해 뚜렷하게 증가된 반면 HFD+PIO+OR 투여군은 HFD+PIO 투여군에 비해 PPAR- $\gamma$ 와 SREBP1a의 유전자 발현이 감소하였다. 본 연구를 종합해 볼 때 pioglitazone에 의한 체중 증가, 체중 대비 지방의 무게 증가 그리고 지질이상증 부작용은 오령산의 병용투여로 경감시킬 수 있을 것으로 사료되며 향후 이에 대한 추가적인 동물 및 임상시험을 통해 양약-한약 병용 요법의 과학적 근거를 제시할 수 있을 것으로 기대한다.

## 감사의 말씀

본 연구는 교육 인적 자원부 주관 post BK21 프로젝트와 21세기 프론티어 연구 개발 사업인 자생식물이용기술개발사업단의

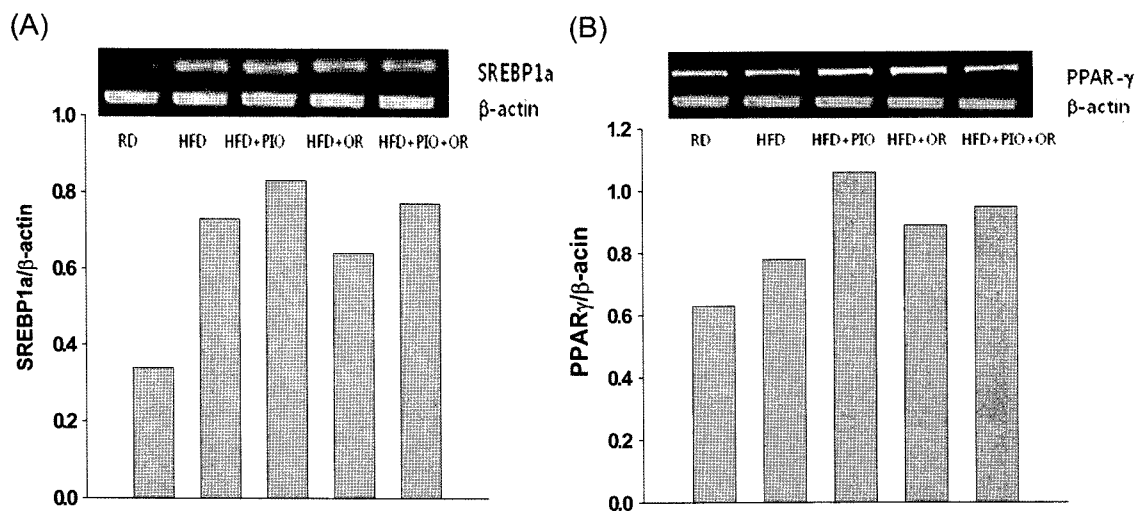


Fig. 3 - Effects of pioglitazone and oryung-san on SREBP1a (A) and PPAR- $\gamma$  (B) mRNA expressions in white adipose tissue.

연구비(M106KD010018-07K0401-01810)에 의해 수행되었습니다.

## 문 헌

- 1) Alberti, K. G. and Zimmet, P. Z. : Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med.* **13**, 539 (1998).
- 2) Bailey, C. J. : Insulin resistance and antidiabetic drugs. *Biochem. Pharmacol.* **58**, 1511 (1999).
- 3) Zhang, B. B. and Moller, D. E. : New approaches in the treatment of type 2 diabetes. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **4**, 461 (2000).
- 4) Ribeiro, R. C., Kushner, P. J. and Baxter, J. D. : The nuclear hormone receptor gene superfamily. *Annu. Rev. Med.* **46**, 443 (1995).
- 5) Spiegelman, B. M., Kim, H. E. and Brun, J. B. : PPAR-gand the control of adipogenesis. *Biochimie.* **79**, 111 (1997).
- 6) Vidal-Puig, A. J., Considine, R. V., Jimenez-Linan, M., Werman, A., Pories, W. J. and Caro, J. F. : Peroxisome proliferator-activated receptor gene expression in human tissues. Effects of obesity, weight loss, and regulation by insulin and glucocorticoids. *J. Clin. Invest.* **99**, 2416 (1997).
- 7) Berger, J. P., Akiyama, T. E. and Meinke, P. T. : PPARs: therapeutic targets for metabolic disease. *Trends Pharmacol. Sci.* **26**, 244 (2005).
- 8) Staels, B. and Fruchart, J. C. : Therapeutic roles of peroxisome proliferator-activated receptor agonists. *Diabetes.* **54**, 2460 (2005).
- 9) Chawia, A., Schwarz, E. J., Dimaculangan, D. D. and Lazar, M. A. : Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)  $\gamma$ : adipose-predominant expression and induction early in adipocyte differentiation. *Endocrinology* **135**, 798 (1994).
- 10) Tontonoz, P., Hu, E. and Spiegelman, B. M. : Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR  $\gamma$ 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell.* **79**, 1147 (1994).
- 11) Sood, V., Collieran, K. and Burge, M. R. : Thiazolidinediones: a comparative review of approved uses. *Diabetes Technol. Ther.* **2**, 429 (2000).
- 12) Lebovitz, H. E. : Differentiating members of the thiazolidinedione class: a focus on safety. *Diabetes. Meta. Res. Rev.* **18**, 23 (2002).
- 13) Oberfield, J. L., Collins, J. L., Holmes, C. P., Goreham, D. M., Cooper, J. P. and Cobb, J. E. : A peroxisome proliferator-activated receptor ligand inhibits adipocyte differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **96**, 6102 (1999).
- 14) Rocchi, S., Picard, F., Vamecq, J., Gelman, L., Potier, N. and Zeyer, D. : A unique PPAR- $\gamma$  ligand with potent insulin-sensitizing yet weak adipogenic activity. *Mol. Cell.* **8**, 737 (2001).
- 15) Misra, P., Chakrabarti, R., Vikramadithyan, R. K., Bolusu, G., Juluri, S. and Hiriyani, J. : PAT5A: a partial agonist of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  is a potent antidiabetic thiazolidinedione yet weakly adipogenic. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **306**, 763 (2003).
- 16) Berger, J. P., Petro, A. E., Macnaul, K. L., Kelly, L. J., Zhang, B. B. and Richards, K. : Distinct properties and advantages of a novel peroxisome proliferator-activated protein [g] selective modulator. *Mol. Endocrinol.* **17**, 662 (2003).
- 17) Huang, C., Zhang, Y., Gong, Z., Sheng, X., Li, Z., Zhang, W. and Zin, Y. : Berberine inhibits 3T3-L1 adipocyte differentiation through the PPAR- $\gamma$  pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **348**, 571 (2006).
- 18) Chakrabarti, R., Misra, P., Vikramadithyan, R. K., Premkumar, M., Hiriyani, J., Datla, S. R., Damarla, R. K., Suresh, J. and Rajagopalan, R. : Antidiabetic and hypolipidemic potential of DRF 2519-a dual activator of PPAR- $\alpha$  and PPAR- $\gamma$ . *Eur. J. Pharmacol.* **491**, 195 (2004).
- 19) Trinder, P. : Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *J. Clin. Pathol.* **22**, 158 (1969).
- 20) Chomczynski, P. and Sacchi, N. : Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol chloroform extraction. *Anal. Biochem.* **162**(1), 156 (1987).