

db/db 마우스에서 IH-901의 항 당뇨 활성

최윤숙 · 한기철 · 한은정 · 박금주 · 박종석 · 성중환* · 정성현#
경희대학교 약학대학 약물학 · 임상약학 교실, *(주) 일화 중앙연구소
(Received September 5, 2006; Revised November 2, 2006)

Antidiabetic Activity of IH-901 in db/db Mice

Yun Suk Choi, Gi Cheol Han, Eun Jung Han, Keum Joo Park, Jong Suk Park, Jong Hwan Sung* and Sung Hyun Chung#
Pharmacology and Clinical Pharmacy Lab., College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea
*ILHWA Co. LTD. Central Research Center, Guri 471-711, Korea

Abstract — The pharmacological properties of ginseng are mainly attributed to ginsenosides, the active constituents that are found in the extracts of different species of ginseng. Lately, the studies on ginsenosides are mainly focused on IH-901, a major intestinal bacterial metabolite of ginsenosides. In this study, we examined the anti-diabetic activity of IH-901 in C57BL/6J db/db mice model. IH-901 was administrated orally at a dose of 20 mg/kg for 5 weeks. During the experimental period, body weight and blood glucose levels were measured every week. After 5 weeks, db/db mice were sacrificed and diabetic parameters were analyzed. IH-901 treated group showed a significant decrease in fasting blood glucose levels (from 10.5 mM to 9.4 mM), insulin resistance index (from 163.6 to 100.2) and triglyceride levels (from 115.3 to 70.1) compared to the diabetic control. In pancreatic islets morphology, IH-901 treated group revealed much less infiltrated mononuclear cells, indicating that IH-901 recovered β -cell damage due to hyperglycemia. In addition, IH-901 upregulated expressions of glucose transporter 4 (GLUT4) and PPAR- γ in skeletal muscle and adipose tissue, respectively. Taken together, IH-901 might be a potential anti-hyperglycemic agent with insulin sensitizing effect.

Keywords □ ginsenosides, IH-901, anti-diabetic activity, db/db mice, glucose transporter (GLUT4), PPAR- γ

당뇨병은 당뇨병성 망막증, 뇌졸중, 심근경색증, 신부전증, 말초신경증 및 고지혈증 등 여러 합병증으로 이어질 수 있는 만성적인 대사성 질환으로¹⁾ 현대인의 생활 습관의 변화와 함께 증가 추세에 있는 생활 습관병이다.²⁾ 실제로 통계청에서 발표한 우리나라 사망원인 중 당뇨병으로 인한 사망은 1993년에 인구 10만 명당 15.4명에서 2003년에는 인구 10만 명당 25.0명으로 9.6명이 늘어났으며 사인 순위 또한 7위에서 4위로 3계단이나 증가하여 당뇨병 및 그 합병증으로 인한 사망률이 계속 증가하고 있음을 알 수 있다.³⁾ 세계적으로도 전 세계 인구의 약 3%가 당뇨병으로 고통을 겪고 있다.⁴⁾

당뇨병은 유전적, 대사적, 환경적인 요인에 의한 췌장의 베타 세포에서 인슐린의 분비 감소 또는 말초 조직의 인슐린 저항성 증가로 인해 고혈당의 증상을 나타낸다.⁵⁾ 결국, 당뇨의 합병증을

예방하고 당뇨 환자의 삶의 질을 개선하기 위해서는 효과적인 혈당의 조절이 가장 중요하다고 할 수 있다.^{6,7)}

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 2000여 년 전 동양에서 가장 오래된 신농본초경에 상품으로 수재된 이래로 우리나라를 대표하는 자원 생약이라고 할 수 있다. 인삼의 생리 활성 성분으로는 인삼 사포닌(ginsenoside), 폴리아세틸렌(polyacetylene), 항산화 활성을 갖는 페놀계 화합물, 면역조절작용이 있는 산성 다당체, 방사선 방어작용이 있는 인삼 단백질, 간장 보호작용을 하는 lignan계 화합물인 고미신(gomisin-N,-A), 인슐린 유사작용을 하는 산성 펩티드, 정유 성분으로 향기 성분인 sesquiterpene계 화합물 그리고 미량의 alkaloid가 있다.²⁾ 그 중, 인삼의 주요 활성 성분으로 알려진 인삼 사포닌은 4환성의 dammarane의 구조를 갖는 물질 군으로 그 구조적, 기능적 다양성에 따라 기억력, 지각능력의 향상, 허혈에 의한 손상 회복, 항종양 효과, 면역 증강 효과 및 항 산화효소에 대한 전사인자로서의 역할을 갖는다고 알려져 있으며,⁸⁾ 항 당뇨 활성 또한 보고된 바 있다.^{4,9-14)}

최근 인삼 사포닌이 장내에서 대사되어 혈중에 존재하는 활성

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로

(전화) 02-961-0373 (팩스) 02-966-3885
(E-mail) suchung@khu.ac.kr

물질에 대한 관심이 모아지면서 그 중 protopanaxadiol계 그룹의 장내 미생물 대사체인 IH-901(20-O-β-D-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol)에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. IH-901은 protopanaxadiol 그룹의 prosapogenin으로 항암 및 암 전이 억제 활성이 보고된 바 있으나¹⁵⁻²¹⁾ 항 당뇨 활성에 대해서는 아직 구체적인 연구가 이루어지지 않은 실정이다.²²⁾ 따라서 본 연구에서는 IH-901을 2형 당뇨 모델인 C57BL/6J db/db 마우스에 5주간 경구 투여한 후 항 당뇨 활성과 그 기전을 규명하고자 하였다.

실험 재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용한 IH-901은 성 등¹⁵⁻¹⁸⁾의 방법에 의해 제조 분리 동정되었으며 (주) 일화 중앙 연구소로부터 공급받아 사용하였다. IH-901은 0.1% Tween 80(Yakuri Pure Chemicals, Japan)에 용해한 후 본 실험에 사용하였다.

실험 동물

8주령의 C57BL/6J db/db 마우스를 일본 SLC사로부터 구입하였으며 2주 동안 동물실 환경에 적응 시킨 후 실험에 사용하였다. 실험동물은 습도 55±5%, 온도 25±1°C로 유지되는 동물실에서 사육하였으며 물과 사료는 자유롭게 섭취할 수 있도록 공급하였다. 실험군은 당뇨 대조군(DC), 20 mg/kg 용량으로 IH-901을 투여한 군(IH-901), 300 mg/kg 용량으로 metformin 투여한 군(MET)으로 나누었다. 시료는 경구 투여로 5주 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 분리(5417R, Eppendorf, Germany)한 후 혈장을 사용하였다. 혈중 포도당 농도는 glucose oxidase method(Trinder method)를 사용하여 측정하였으며²³⁾ 흡광도 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)는 아산제약에서 시판되는 kit를 사용하여 측정하였고, 유리 지방산(non-esterified fatty acid, NEFA)의 경우 혈청 유리지방산 측정용 NEFAZYME kit를 (주) 신양 화학약품에서 구입하여 측정하였다.

체장의 형태학적 관찰

동물에서 적절한 체장 조직을 0.1 M PBS로 세척하여 혈액을

제거한 후, 10% neutral buffered formalin을 사용하여 고정하였다. 이후 유수에 세척하고 알코올 농도 별로 각각 1시간씩 탈수하였다. 이어 xylene으로 치환 후, paraplant(60°C)로 침투시킨 다음 포매하였다. 포매된 조직을 microtome(RM2125RT, Leica, Germany)을 이용하여 5 μm의 두께로 절편을 제작한 후, 파라핀을 제거하는 과정을 거쳐 hematoxylin과 eosin으로 염색하였다.

조직으로부터 RNA 추출 및 RT-PCR

간, 지방, 근육 조직으로부터 총 RNA를 guanidine thiocyanate-water saturated phenol/chloroform 방법을 이용하여 분리하였다.²⁴⁾ 이후 물 층에 있는 총 RNA에서 이소프로판올을 이용하여 침전시켜 분리한 RNA를 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: PEPCK(phosphoenolpyruvate carboxykinase)의 주형사 서열은 ATG CCT CCT CAG CTG CAT A, 비주형사 서열은 TTA CAT CTG GCT GAT TCT CTG TT; G6Pase(glucose 6-phosphatase)의 주형사 서열은 ACC CTG GTA GCC CTG TCT TT, 비주형사 서열은 GGG CTT TCT CTT CTG TGT CG; PPAR-γ(peroxisome proliferators-activated receptor γ)의 주형사 서열은 CCC TGG CAA ACG ATT TGT AT, 비주형사 서열은 AAT CCT TGG CCC TCT GAG AT; GLUT-4(glucose transporter 4)의 주형사 서열은 CAA CGT GGC TGG GTA GGC A, 비주형사 서열은 ACA CAT CAG CCC AGC CGG T; CPN(cyclophilin)의 주형사 서열은 ATG GTC AAC CCC ACC GTG, 비주형사 서열은 TTA GAG TTG TCC ACA GTC GGA GA; β-actin의 주형사 서열은 GTC GTA CCA CTG GCA TTG TG, 비주형사 서열은 GCC ATC TCC TGC TCA AAG TC 이다. Primer는 20 mM Tris-HCl(pH 8.4), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 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 μM 이 되도록 첨가하였다. PCR 조건은 PEPCK, G6Pase 그리고 CPN의 경우, 95°C에서 1분 동안 변성, 55°C에서 1분 동안 붙임 그리고 72°C에서 2분 동안 연장을 하여 총 30 cycle하였으며, GLUT-4, 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. 이후, 반응 생성물을 0.5 μg/ml ethidium bromide로 염색된 1% agarose gel을 이용하여 100 V에서 전기영동 하였다. CPN 과 β-actin은 증폭된 유전자들의 대조군으로 사용되었다.

자료 분석 및 통계 처리

모든 실험 결과는 평균±표준 편차로 나타내었다. 당뇨 대조

군(DC)과 비교하여 통계적 유의성을 Student's t-test로 처리하였으며 $p < 0.05$ 이하인 경우 유의성 있는 차이가 있는 것으로 판정하였다.

실험 결과 및 고찰

체중과 체중 변화

Table I은 시료를 db/db 마우스에 5주 동안 경구 투여한 후 체중과 체중 변화를 나타낸 것이다. 당뇨 대조군에 비해 IH-901 투여군의 체중 변화는 유의적인 차이가 없었다.

혈당 및 인슐린 저항성 지수

Table II는 시료를 db/db 마우스에 5주 동안 경구 투여한 후 공복 시 혈당 변화와 인슐린 저항성 개선 효과에 미치는 영향을 나타낸 것이다. 당뇨 대조군은 약물 투여 전(initial) 혈당에 비해 5주 후(final)의 혈당이 4.5 mM 상승한 반면, IH-901 투여군은 혈당 상승이 전혀 일어나지 않았으며 오히려 1.1 mM 낮아졌다. 이러한 혈당 수치의 변화를 상호 비교한 결과, IH-901 투여군은 당

노 대조군에 비해 5.1 mM의 혈당 감소를 보임으로 124%의 혈당 상승 억제 효과를 나타내었다(** $p < 0.01$). 양성 대조군인 metformin 투여군 역시 혈당이 감소되었으며 당뇨 대조군에 비해 142%의 혈당 상승 억제 효과를 나타내었다(** $p < 0.001$). 이와 함께 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR²⁵⁾ 수치를 비교한 결과 IH-901 투여군은 5주 동안 수치를 39% 감소시켰으며 유의성 있게 인슐린 저항성이 개선되었음을 알 수 있었다(** $p < 0.01$).

혈중 지질 농도에 대한 효과

Table III은 시료를 db/db 마우스에 5주 동안 경구 투여한 후 혈액 내 지질의 양을 그룹간 비교한 결과이다. IH-901 투여군은 NEFA, 총 콜레스테롤 그리고 LDL 콜레스테롤에서 당뇨 대조군과 유의적 차이가 없었으나 TG에서 당뇨 대조군에 비해 39% 유의성 있게 감소되었다(* $p < 0.05$). 양성 대조군인 metformin 투여군은 NEFA, TG, 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤 수치 모두 당뇨 대조군에 비해 유의적인 차이가 없었다. 이를 통해 볼 때, IH-901은 혈중 지질 중 TG 수치의 개선 효과를 나타내는 것으로 추측된다.

췌장의 형태학적 관찰

Fig. 1은 시료를 db/db 마우스에 5주 동안 경구 투여한 후, 췌장 조직의 형태 변화를 그룹간 비교한 결과이다. 당뇨 대조군에서는 췌장 islet의 형태가 부분적으로 파괴되고 islet의 염증 정도를 나타내는 침윤 단핵 세포 또한 많이 관찰되었다. 반면, IH-901 투여군과 양성 대조군인 metformin 투여군에서는 당뇨 대조군에 비해 islet의 형태가 잘 유지되었으며 침윤 단핵 세포 또한 현저히 줄어들었음을 확인할 수 있었다. 이로 미루어 볼 때, IH-901은 췌장 베타 세포의 파괴를 억제시킴으로서 인슐린 분비를 촉진시키는 기전에 의하여 부분적으로 혈당 강하 활성을 나타내는 것으로 추측된다.

간, 근육, 지방 조직에서의 유전자 발현

당 신생 과정에서 가장 주요한 효소로는 PEPCK와 G6Pase가 있다. PEPCK는 당 신생에서 율속 단계인 oxaloacetic acid로부터 phosphoenolpyruvate로의 변환을 촉진하고, G6Pase는 당 신생과 글리코겐 분해의 마지막 단계인 glucose 6-phosphate로부터

Table I - Effects of IH-901 on body weight and weight gain

Groups	Body weight (g)		Weight gain
	Initial	Final	
DC	47.7±0.9	54.2±1.8	6.5±2.1
IH-901	45.6±1.7	53.1±2.3	7.5±1.3
MET	45.9±3.2	54.6±3.4	8.7±4.5

Values are represent the mean±SD (n=6).

Table II - Effects of IH-901 on plasma glucose, insulin and HOMA-IR

Groups	Plasma glucose (mM)		Insulin (μU/ml)	HOMA-IR
	Initial	Final		
DC	10.0±1.7	14.5±3.1	254.5±14.3	163.6±29.6
IH-901	10.5±3.3	9.4±1.0**	241.0±28.4	100.2±12.8**
MET	10.1±3.3	8.2±1.6***	235.8±13.6*	86.3±18.6***

Values are represent the mean±SD (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) X glucose (mM)/22.5. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ compared to diabetic control.

Table III - Effects of IH-901 on plasma lipid levels

Groups	NEFA (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	HDL cholesterol (mg/dl)	LDL cholesterol (mg/dl)
DC	1816.5±414.1	115.3±33.7	174.2±28.2	69.9±12.1	81.3±21.6
IH-901	1621.3±214.6	70.1±21.1*	152.6±38.4	71.8±17.6	66.9±25.2
MET	1499.3±448.7	87.4±21.3	172.0±27.9	76.3±11.3	78.2±16.0

Values represent the mean±SD (n=6). Non-esterified fatty acid (NEFA), triglyceride, total cholesterol, and HDL-cholesterol were determined in plasma after mice are killed. LDL-cholesterol (mg/dl)=Total cholesterol-HDL cholesterol-triglyceride/5. * $p < 0.05$ compared to diabetic control.

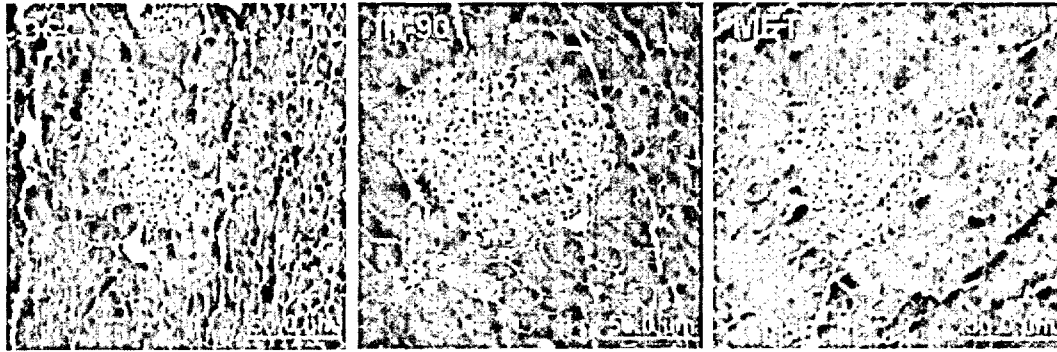


Fig. 1 - Morphology of pancreas. Hematoxylin and eosin-stained paraffin sections of pancreas from diabetic control (DC), IH-901 and metformin (MET) treated mice. Magnification of histological section $\times 200$.

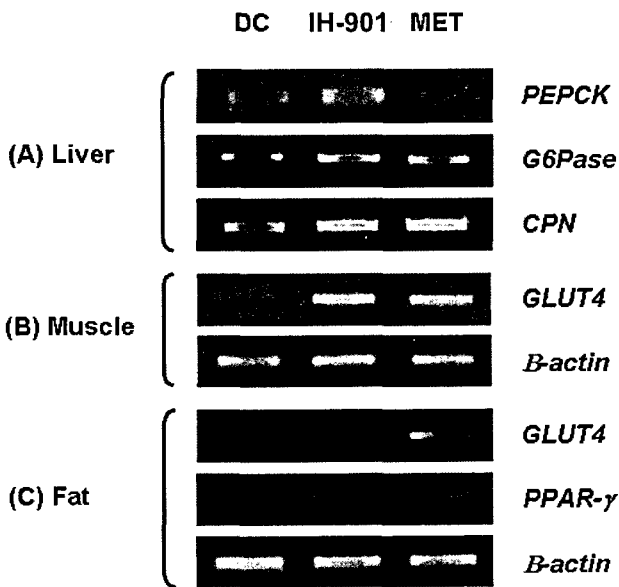


Fig. 2 - Effects of IH-901 and metformin on either PEPCK, G6pase (A), GLUT4 (B and C), or PPAR- γ (C) mRNA levels in liver, muscle or periepididymal fat. The amount of RNA loaded in each lane was confirmed by RT-PCR of CPN or β -actin mRNA.

터 glucose의 유리를 촉진한다.²⁶⁾ 따라서, PEPCK와 G6Pase의 발현 저해를 통한 간에서 glucose의 배출 감소는 공복시 혈당의 감소를 일으킨다.²⁷⁾ 한편, 지방 세포의 분화는 TG의 축적을 일으키게 되고, PPAR- γ 유전자의 발현을 증가시킨다. PPAR- γ 는 지방 세포 분화의 주 조절자로서 당 대사와 관련된 GLUT4, LPL (lipoprotein lipase), aP2(adipocyte fatty acid binding protein) 그리고 FABP (fatty acid binding protein) 등의 전사를 조절하는 전사 인자이다.^{28,29)}

db/db 마우스의 간, 근육, 지방 조직에서 IH-901이 당대사 지표 유전자의 발현 및 glucose uptake 관련 유전자의 발현에 미치는 영향을 확인해본 결과(Fig. 2), IH-901은 간에서 당 신생에 관련하는 PEPCK와 G6Pase 효소 유전자의 발현에는 거의 영향

을 미치지 않는 것으로 나타났다(Fig. 2A). 근육조직에서는 glucose uptake에 관여하는 GLUT4 유전자 발현이 당뇨 대조군과 비교시 IH-901 투여 군과 양성 대조군인 metformin 투여 군에서 뚜렷하게 증가됨을 확인하였다(Fig. 2B). 반면, 지방조직에서 GLUT4 유전자 발현의 경우, metformin 투여 군에서만 당뇨 대조군에 비해 발현이 증가되었다. PPAR- γ 유전자의 경우는 IH-901 투여군과 metformin 투여군 모두에서 약간의 발현 증가를 확인하였다(Fig. 2C).

결 론

IH-901을 2형 당뇨 모델인 db/db 마우스에 5주 동안 경구 투여한 결과 IH-901의 공복 시 혈당과 인슐린 저항성 지수에 대한 개선효과가 유의적으로 나타났다. 혈액 지표의 경우, IH-901 투여 군에서 TG의 수치가 유의성 있게 감소되었다. 체장의 형태학적 변화에서도 islet의 형태가 당뇨 대조군에서 부분적으로 파괴된 것에 반해 IH-901 투여군은 그 형태가 잘 유지되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 유전자 발현에서는 간에서 당 신생과 관련된 PEPCK, G6Pase의 발현에 영향은 없었으나 근육조직에서 glucose uptake에 관여하는 GLUT-4의 발현 및 지방 조직에서 인슐린 저항성 개선에 관여하는 PPAR- γ 발현을 증가시켰다.

지금까지 db/db 마우스에서의 실험 결과를 토대로 볼 때, IH-901의 탁월한 항당뇨 활성은 고혈당에 의한 체장 베타 세포의 파괴 억제와 근육조직에서 GLUT-4의 발현 및 지방 조직에서 PPAR- γ 발현 증가에 따른 인슐린 저항성 개선에 의한 것으로 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 교육 인적 자원부 주관 post BK21 프로젝트와 21세기 프론티어 연구 개발 사업인 자생 식물 이용 기술 개발 사업단의 연구비(M106KD010018-06K0401-01810)에 의해 수행되

있습니다.

문 헌

- 1) Tai, E. S., Lim, S. D., Tan, B. Y., Chew, S. K., Heng, D. and Tan, C. E. : Screening for diabetes mellitus: a two-step approach in individuals with impaired fasting glucose improves detection of those at risk of complications. *Diabet Med.* **17**, 771 (2000).
- 2) Ko, S. K., Kim, J. S., Choi, Y. E., Lee, S. J., Park, K. S. and Chung, S. H. : Anti-diabetic effects of mixed water extract from ginseng radix rubra, acanthopanacis cortex, and cordyceps. *Kor. J. Pharmacogn.* **33**(4), 337 (2002).
- 3) Korea national statical office : The cause of death statics. (2004).
- 4) Attele, A. S., Zhou, Y. P., Xie, J. T., Wu, J. A., Zhang, L., Dey, L., Pugh, W., Rue, P. A., Polonsky, K. S. and Yuan, C. S. : Antidiabetic effects of *Panax ginseng* berry extract and the identification of an effective component. *Diabetes* **51**, 1851 (2002).
- 5) Cavaghan, M. A., Ehrmann, D. A. and Polonsky, K. S. : Interaction between insulin resistance and insulin secretion in the development of glucose intolerance. *J. Clin. Invest.* **106**, 329 (2000).
- 6) Diabetes Control and Complications Trial Research Group : The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* **329**, 977 (1993).
- 7) Defronzo, R. A. : Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Ann. Intern. Med.* **131**, 281 (1999).
- 8) Anoja, S., Wu, J. A. and Yuan, C. S. : Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. *Biochem. Pharmacol.* **58**, 1685 (1999).
- 9) Kimura, M., Waki, L., Chujo, T., Kikuchi, T., Hiyama, C., Yamazaki, K. and Tanaka, O. : Effects of hypoglycemic components in *Ginseng radix* on blood insulin level in alloxan diabetic mice and on insulin release from perfused rat pancreas. *J. Pharmacobiodyn.* **4**(6), 410 (1981).
- 10) Yokozawa, Kobayashi, T., Oura, H. and Kawashima, Y. : Studies on the mechanism of the hypoglycemic activity of ginsenosides-Rb2 in streptozotocin-diabetic rats. *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 869 (1985).
- 11) Sotaniemi, E. A., Haapakoski, E. and Rautio, A. : Ginseng therapy in non-insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes Care.* **18**(10), 1373 (1995).
- 12) Joo, C. N. and Kim, J. H. : Study on the hypoglycemic action of ginseng saponin on streptozotocin induced diabetic rats (1) *Korean J. Ginseng Sci.* **16**(3), 190 (1992).
- 13) Joo, C. N., Yoon, S. H., Lee, H. S., Kim, Y. D., Lee, H. B. and Koo, J. H. : Study on the hypoglycemic action of ginseng saponin on streptozotocin induced diabetic rats (1). *Korean J. Ginseng Sci.* **16**(3), 198 (1992).
- 14) Vuksan, V. and Sievenpiper J. L. : Herbal remedies in the management of diabetes: Lessons learned from the study of ginseng. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **15**, 149 (2005).
- 15) Hasegawa, H., Sung, J. H., Matsumiya, S. and Uchiyama, M. : Metabolism of *Ginseng saponin* by human intestinal bacteria, and isolation and identification of the bacteria associated with the metabolism. *J. Trad. Med.* **14**, 396 (1997).
- 16) Hasegawa, H., Sung, J. H., Matsumiya, S. and Uchiyama, M. : Pharmacodynamic analysis of *Ginseng saponin* metabolites formed by human intestinal bacteria. *J. Trad. Med.* **14**, 394 (1997).
- 17) Hasegawa, H., Sung, J. H. and Huh, J. D. : Ginseng intestinal bacterial metabolite IH-901 as a new anti-metastatic agent. *Arch. Pharm. Res.* **20**, 539 (1997).
- 18) Lee, B. H., Lee, S. J., Hui, J. H., Lee, S. Y., Sung, J. H., Hui, J. D. and Moon, C. K. : *In vitro* antigenotoxic of novel *Ginseng saponin* metabolites formed by intestinal bacteria. *Planta Med.* **64**, 500 (1998).
- 19) Lee, S. J., Sung, J. H., Lee, S. J., Moon, C. K. and Lee, B. H. : Antitumor activity of a novel ginseng saponin metabolite in human pulmonary adenocarcinoma cells resistant to cisplatin. *Cancer Lett.* **144**, 39 (1999).
- 20) Suda, K., Murakami, K., Murata, J., Hasegawa, H. and Saiki, I. : An intestinal bacterial metabolite (M1) of ginseng protopanaxadiol saponin inhibits tumor-induced neovascularization. *J. Trad. Med.* **17**, 144 (2000).
- 21) Lee, S. J., Ko, W. G., Kim, J. H., Sung J. H., Lee, S. J., Moon, C. K. and Lee, B. H. : Induction of apoptosis by a novel intestinal metabolite of *Ginseng saponin* via cytochrome c-mediated activation of caspase-3 protease. *Biochem. Pharmacol.* **60**, 677 (2000).
- 22) Ko, S. K., Sung, J. H., Choi, Y. E., Lee, C. R., Park, K. S. and Chung, S. H. : Comparisons of antidiabetic activities between white ginseng ethanol extract and IH-901 in streptozotocin-induced diabetic rats. *Yakhak Hoeji* **47**(1), 52 (2003).
- 23) Trinder, P. : Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *J. Clin. Pathol.* **22**, 158 (1969).
- 24) Chomczynski, P. and Sacchi, N. : Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* **162**(1), 156 (1987).
- 25) Matthews, D. R., Hosker, J. P., Rudenski, A. S., Naylor, B. A., Treacher, D. F. and Turner, R. L. : Homeostasis model assessment: insulin resistance and B cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* **28**, 412 (1985).

- 26) Barthel, A. and Schmoll, D. : Novel concepts in insulin regulation of hepatic gluconeogenesis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **285**(4), E685 (2003).
- 27) Davies, G. F., Khandelwal, R. L., Wu, L., Juurlink, B. H. and Roesler W. J. : Inhibition of phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) gene expression by troglitazone: a peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ)-independent, antioxidant-related mechanism. *Biochem. Pharmacol.* **62**(8), 1071 (2001).
- 28) Rosen, E. D. and Spiegelman, B. M. : PPAR γ : a nuclear regulator of metabolism, differentiation, and cell growth. *J. Biol. Chem.* **276**, 37731 (2001).
- 29) Ge, K., Guermah, M., Yuan, C. X., Ito, M. Wallberg, A. E., Spiegelman, B. M. and Roeder, R. G. : Transcription coactivator TRAP220 is required for PPAR γ 2-stimulated adipogenesis. *Nature* **417**, 563 (2002).