銅化合物による心血管障害及び糖尿病治療への実験的試み

桜井 弘

Copper Compounds Ameliorate Cardiovascular Dysfunction and Diabetes in Animals

Hiromu Sakurai

Department of Pharmaceutical Sciences, Suzuka University of Medical Science;
3500-3 Minami-Tamagakicho, Suzuka, Mie 513-8670, Japan.

(Received August 31, 2011)

Copper (Cu) is essential for our daily life and it is found at approximately 110 mg in human adults with the body weight of 70 kg, in which this metal occurs at 46 mg in the bone and 26 mg in the muscle. Although Cu exists in the brain (approximately 5 mg/kg), liver (6 mg/kg), kidney (13 mg/kg), erythrocytes (90 mg/L), bile (6 mg/L) and serum (120 mg/L), its organ-specific distribution is not yet known. In metalloenzymes such as oxidoreductases, Cu is abundantly found and greatly contributes in life functions. In addition, intracellular Cu transport system has been revealed in connection with iron (Fe) and zinc (Zn) intracellular transport systems. In spite of such great contribution of Cu in life, no Cu-containing pharmaceuticals have yet been known. Under such background, the author and his research group have tried to examine a possibility of Cu compounds as potential pharmaceuticals. In the review, the following topics are concerned; (1) improvement of cardiovascular dysfunction in animals by di-nuclear Cu-asprinate complex on the basis of the results on its reactive oxygen scavenging (ROS) effect, (2) blood glucose-lowering effect of mono-nuclear Cu-picolinate complex in streptozotocin (STZ)-induced type 1-like diabetic animals, based on the results on *in vitro* insulinomimetic activity, and (3) anti-diabetic effect of copper sulfate in animals with regard to the inhibition of α -glucosidase activity. These results suggest that copper ion and its complexes are possible seeds for developing Cu-containing pharmaceuticals in the future.

Key words—copper complex; pharmaceuticals; cardiovascular dysfunction; diabetes

1. はじめに

1892 年、スイスの化学者ウェルナー (Werner 1866–1919) は、コバルト原子を含む無機化合物はコバルト原子が中心的位置を占め、その周りをアンモニア分子や塩素イオンが全体的に取り巻く立体的構造をしていると考え、配位説 (coordination theory) を提案した。この配位説により、金属原子と有機化合物やイオンなどの配位子を含む錯体の立体構造を一般的に解析できるようになった。その後、配位説はヘモグロビンやクロロフィルなど金属を含む生体分子の構造と機能を明らかにする上で、極めて重要な考え方となった。¹⁻³⁾ 一方、1910 年に、ドイツの細菌学者・化学者のエールリヒ (Ehrlich

1854–1915) は、当時流行していた梅毒の特効薬サルバルサンを合成し、本化合物により疾患が治療できることを見出し、化学療法 (chemotherapy) を提案した。今日の医薬品合成の理念を築いた。²⁻⁴⁾ サルバルサンは、無機元素ヒ素 (As) と炭素 (C) との結合を持つ有機ヒ素化合物の第 1 号である。化学療法が提案されて以来、これを配位説と組み合わせ金属を含む医薬品合成の研究が活発となり、多くの医薬品が開発された。例えば、コバルト (Co) を含む抗貧血薬 シアノコバラミン、金 (Au) を含む抗リウマチ薬 金-チオリンゴ酸やオーラノフィン、白金 (Pt) を含む抗がん薬 シスプラチンや亜鉛 (Zn) を含む抗胃潰瘍薬 ポラプレジンクなどが挙げられる。^{2,3)} これまで臨床的に用いられてきた金属や半金属原子を周期表に書き込むと Fig. 1 のようになる。利用されている金属や半金属元素の種類は限定的であるばかりでなく、これらを用いる基本的原理は、この周期表から読みとることは困難であ

鈴鹿医療科学大学薬学部 (〒513-8670 三重県鈴鹿市南玉垣町 3500-3)

e-mail: hanssakurai@i-next.ne.jp

本総説は、日本薬学会第 131 年会シンポジウム S04 で発表したものを中心に記述したものである。

The Periodic Table of the Elements																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	H																	He
2	Li	Be	The elements used for both clinical and potent pharmaceuticals and radio-pharmaceuticals										B	C	N	O	F	Ne
3	Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
4	K	Ca											Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe
5	Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
6	Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
7	Fr	Ra	Ac	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ds	Rg	Cn						
lanthanides			La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	
actinoides			Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr	
<div><div></div><div>The elements that are specially important for clinical pharmaceuticals</div></div>																		

Fig. 1. The Elements Used for Clinical and Potential Pharmaceuics and Radio-pharmaceutics Plotted in the Periodic Table of the Elements

る。金属含有医薬品 (metal-based drugs 又は metallopharmaceutics) の開発の原理は、周期表にあらわれる金属や半金属の未知の能力を引き出すだけでなく、それらに配位子を結合させることにより新たな機能を持つ医薬品へと開発することであろう。古代から知られている金属原子でありながら、確固たる医薬品を生み出していない典型的な元素に、銅 (Cu) が挙げられる。そこで、本総説では、銅化合物が持つ薬物活性を紹介しながら、銅含有医薬品の開発研究は可能かどうかを議論する。

体重 70 kg の成人には、約 110 mg の銅が存在し、骨 (46 mg) や筋肉 (26 mg) に多い。濃度で比べると、脳 (5 mg/kg)、肝臓 (6 mg/kg)、腎臓 (13 mg/kg)、赤血球 (90 mg/L)、胆汁 (6 mg/L) や血清 (120 mg/L) であるが、銅の臓器特異的な分布は知られていない。^{3,5)} 銅は必須元素の 1 つであり、哺乳動物では酸化還元酵素を中心とする金属酵素に多く存在し、生命機能に直接関与している。細胞内銅輸送系は鉄や亜鉛輸送系と連繋し、動的代謝機構がかなり明らかにされている。^{6,7)} このような重要な元素であるにもかかわらず、銅イオンやその錯体が医薬品として用いられてきた例はほとんど知られていない。ここでは、(1) 複核構造を持つ銅-アス

ピリン錯体が活性酸素消去能を持つことを基盤にして見出した心血管障害の改善作用、(2) 銅-ピコリン酸錯体の *in vitro* インスリン様作用を基盤にして見出した 1 型類似糖尿病ラットの血糖降下作用及び (3) 銅イオンが α -グルコシダーゼ阻害作用を持つことを基盤にして見出したショ糖 (砂糖、二糖類、グルコース+フルクトース) を投与した動物における抗糖尿病作用についての研究を紹介する。これらの研究結果は、銅錯体が医薬品開発のシーズの 1 つとして可能性があることを示しているようである。

2. 複核銅-アスピリン錯体による心血管障害の改善作用

活性酸素種 (reactive oxygen species, ROS) は高血圧、動脈硬化症あるいは紫外線による光老化を始

桜井 弘

1971 年京都大学大学院薬学研究科博士課程修了、薬学博士。1972 年京都薬科大学講師、1975 年徳島大学薬学部助教授、1990 年京都薬科大学教授、1999 年分子科学研究所客員教授、2008 年鈴鹿医療科学大学薬学部教授、2011 年東京工科大学客員教授。ザールランド大学、イリノイ大学、コンスタンツ大学、ブランダイス大学で研究。生命錯体化学。

めとして多くの疾患の原因と考えられている。最も典型的な ROS としてのスーパーオキシドアニオンラジカル (superoxide anion radical, $\cdot\text{O}_2^-$) を過酸化水素 (H_2O_2) と三重項酸素 ($^3\text{O}_2$) とに変換する酵素, スーパーオキシジスムターゼ (superoxide dismutase, SOD) は多くの動物の体内に存在し, ROS の攻撃から生体を防御している。すべての真核細胞には Cu-Zn-SOD があり, Fe-又は Mn-SOD は原核生物, 原生生物及びミトコンドリア内に存在する。Cu-Zn-SOD では, Cu が活性中心を形成し, Zn は酵素の 3 次元構造を保持していると考えられており, 作用機構も解明されている。SOD の生体内濃度は加齢とともに減少するが, 酵素であるため体外からの投与は不可能である。このため, SOD と同様の配位構造と触媒活性を持つ低分子 SOD 様錯体が合成され, 医薬品として開発する研究が探られている。⁸⁾ 筆者のグループも 1993 年以来, いくつかの錯体を提案している。^{3,9)} この研究の流れの中で筆者らは, SOD 様活性を持つ銅イオンと解熱・鎮痛・消炎作用を有し, 近年では血小板凝集抑制, 抗がん, 紫外線防御作用を持つことが示されているアスピリン (aspirin, asp) とに着目して, 銅-アスピリン錯体を合成し, 構造と抗酸化作用を評価することとした。

銅-アスピリン錯体は既に 1973 年と 2003 年に合成され, 2 核錯体 $\text{Cu}_2(\text{asp})_4$ や $\text{Cu}_2(\text{asp})_4(\text{DMF})_2$ として知られていたが, 新たに $\text{Cu}_2(\text{asp})_4(\text{DMSO})_2$ 及び関連錯体として銅-サリチル酸錯体 ($\text{Cu}(\text{sal})_2$) を合成し, 種々の物性を測定するとともに X 線構造解析法により詳細な構造を確認した。 $\text{Cu}_2(\text{asp})_4(\text{DMSO})_2$ 錯体の 3 次元構造を Fig. 2 に示した。ここで, Cu-Cu 間の結合距離は 2.632 Å である。¹⁰⁾ そこで, $\text{Cu}_2(\text{asp})_4(\text{DMSO})_2$ と関連化合物の (1) SOD 様活性, (2) ヒト上皮のケラチン生成細胞 (HaCaT) 及びヒト皮膚の繊維芽細胞 (HHDF) の紫外線 A (UVA) 照射下における細胞生存率, (3) ヘアレスマウスに UVA を照射後の皮膚中の ROS 生成率, そして (4) 錯体を投与したマウスの血中及び皮膚中の銅濃度の定量について研究した。^{10,11)}

硫酸銅 (CuSO_4), $\text{Cu}(\text{sal})_2$, $\text{Cu}_2(\text{asp})_4(\text{DMSO})_2$ 及び Cu-Zn-SOD のスーパーオキシドアニオンラジカル消去作用 (superoxide anion radical scavenging activity, SSA) は, シトクロム法, ESR スピントラップ法及び直接 ESR 検出法を用いて評価したが, 銅イオンと錯体との間には有意差はなく, すべての化合物は Cu-Zn-SOD が示す SSA の約 1.6×10^{-3} の活性を示すに留まった。しかし, UVA 照射下の HaCaT 細胞における生存率は $\text{Cu}(\text{sal})_2 > \text{Cu}_2(\text{asp})_4$

Fig. 2. The Structures of Dinuclear Copper-aspirinat Complex

(A) Chemical structure, (B) structure by X-ray structure analysis. (from ref. (10))

(DMSO)₂ > CuSO₄ の順となった。これらの錯体を HR-1 ヘアレスマウスに経口投与すると、Cu₂(asp)₄(DMSO)₂ は皮膚の UVA 傷害を有意に防御することが分かった。このとき、血中及び皮膚組織中の銅濃度も上昇していた。Cu₂(asp)₄(DMSO)₂ の分配係数 ($K = C_{\text{オレイルアルコール}} / C_{\text{水}}$) は、 $K = 1.3$, $\log K = 0.1$ であることを考えると、Cu₂(asp)₄(DMSO)₂ 錯体は脂溶性であり、したがって錯体がこのままの形で一部が皮膚組織へ輸送され細胞膜に到達し、そこに分布して ROS を消去すると紫外線から皮膚を防御すると考えた。さらに、3 種類の化合物を健常ラットに単回静脈内投与して、血中の Cu²⁺ について ESR スペクトルを経時的に計測して金属動態解析 (metallokinetics) をした。Cu²⁺ に関するクリアランス曲線を解析して、種々のパラメータを算出した。例えば、平均滞留時間 (分) は、Cu₂(asp)₄(DMSO)₂ 19.9 ± 2.7, Cu(sal)₂ 6.2 ± 0.8, 酢酸銅 (Cu(ace)₂) 3.1 ± 0.7 となった。Cu₂(asp)₄(DMSO)₂ が最も高い皮膚障害抑制効果を示したことは、本錯体の血液さらには各組織への分布の高さと関連づけられた。

こうして Cu₂(asp)₄(DMSO)₂ の化学的・生物学的抗酸化作用が明らかになったため、ラットの心血管障害が改善できるかどうかに関して研究が展開された。¹²⁾ 老化ラット (生後 22 ヶ月、体重 460–580 g) はヤングアダルトラット (生後 3 ヶ月、体重 200–250 g) と比べて、左心室の収縮性及び血管内皮に著しい傷害がみられる。そこで、Cu₂(asp)₄(DMSO)₂ を 3 週間にわたり 200 mg/kg 体重の割合で経口投与したところ、老化ラットの一酸化窒素合成酵素 (nitric oxide synthase, NOS) レベルが低下するとともに心機能及びアセチルコリンによる血管拡張性が著しく改善された。¹²⁾ これに関連して、バナジル-1-オキシ-2-ピリジンチオレート錯体 (VO(opt)₂) は心筋梗塞や高血圧により生じる心肥大を抑制できる可能性が示され、この分野における金属錯体の有用性に関する成果が蓄積されている。¹³⁾ 一方、銅イオンへの選択的配位子であるトリエチルテトラミン (triethyltetramine) は、2 型糖尿病患者の左心室の肥大を改善し、また糖尿病動物の心疾患の病態の進行を抑制できることが報告されている。¹⁴⁾ 本配位子は、これまで銅過剰症として知られているウイルソン病の治療薬として銅の体外除去剤として用いられ

ている。上で紹介した銅と糖尿病との関連性の研究では、銅の本質的役割はまだ明らかにされていないようであるが、重要な課題が隠されていると思われる。

3. 銅-ピコリン酸錯体による 1 型類似糖尿病ラットの血糖降下作用

カナダのバンティング (Banting 1891–1941) とベスト (Best 1899–1878) により糖尿病治療薬インスリンが発見される 23 年も前の 1899 年に、フランスの内科医がバナジウム (V) 化合物、メタバナジン酸ナトリウム (NaVO₃) を用いて糖尿病患者の病態を部分的に改善させた着想には、驚くべきものがある。しかし、科学的根拠に基づいて NaVO₃ や硫酸バナジウム (VOSO₄) を経口投与して糖尿病患者を治療しようとする報告は 20 世紀まで待たねばならなかった。¹⁵⁾ そして 1980 年以後、バナジウム以外に亜鉛、マンガン、銅、クロムやタンゲステン化合物が、*in vitro* インスリン作用及び実験糖尿病動物や糖尿病患者で *in vivo* 血糖降下作用を示すことが報告されている。^{15,16)} これらの初期の研究では、無機化合物のみが用いられていたが、筆者のグループは、無機イオンを錯体化することにより分配係数が高くなり、したがって生体組織に取り込まれ易くなり、高いインスリン様作用や抗糖尿病作用が期待されると考えた。1990 年に、バナジル-システインメチルエステル (VO(cysm)₂) 錯体を経口投与するとストレプトゾシン (STZ) により誘導される 1 型類似糖尿病ラット (STZ-ラット) の高血糖値を正常化できることを世界で初めて見出した。¹⁷⁾ この発見を契機に、抗糖尿病金属錯体 (anti-diabetic-metallocomplexes) の開発研究に取り組むこととした。1995 年に、新しい経口活性錯体バナジル-ピコリン酸 (VO(pa)₂) 錯体が強い血糖降下作用を持っていることを見出した。¹⁸⁾ ピコリン酸を金属イオンに結合させるメリットは 2 点ある。第 1 は、ピコリン酸はアミノ酸トリプトファンの代謝産物の 1 つであり、したがって毒性は高くない。第 2 点はピコリン酸を経口投与すると小腸部位で金属イオンの吸収性を促進する。そこで、VO(pa)₂ 錯体よりもより有効性の高い錯体を求めて、第 1 系列の遷移元素を中心金属にした錯体を合成し、*in vitro* 試験としてラットの遊離肝細胞を用いて細胞からの脂肪酸放出抑制作用及び STZ-ラットに単回腹腔内

投与して血糖降下作用を評価した。¹⁹⁾ *In vitro* 評価では、 $\text{Mn}(\text{pa})_2 > \text{Cu}(\text{pa})_2 > \text{VO}(\text{pa})_2 > \text{Fe}(\text{pa})_2 > \text{Fe}(\text{pa})_3 > \text{Zn}(\text{pa})_2$ の順に活性が低下した。この中で $\text{Mn}(\text{pa})_2$ が最も高い活性を示したが、 $\text{Mn}(\text{pa})_2$ とラット肝臓の培養細胞との相互作用を調べたところ、添加した錯体濃度の上昇とともに細胞の生存率が低下した。しかし、 $\text{Cu}(\text{pa})_2$ や $\text{VO}(\text{pa})_2$ 錯体では全く影響はみられなかった。このため、次に活性の高い $\text{Cu}(\text{pa})_2$ と $\text{VO}(\text{pa})_2$ の血糖降下作用を検討した。 $\text{Cu}(\text{pa})_2$ 錯体は 3 mg (0.047 mmol) Cu/kg 体重の割合で投与すると 12-13 時間後に正常血糖値を示したのに対して、 $\text{VO}(\text{pa})_2$ は 10 mg (0.20 mmol) V/kg 体重でもほぼ正常血糖値を示すことが分かった。これらの結果及び本錯体の作用機構がグルコース輸送体の細胞膜表面への移動を誘導する PI3-K (phosphoinositol-3-kinase)/Akt/PKB (protein kinase B) 経路を活性化することが推定されたことなどから、 $\text{Cu}(\text{pa})_2$ 錯体 (Fig. 3) は抗糖尿病錯体の 1 つとして医薬品開発への高い可能性を持っていると考えている。¹⁹⁾

一方、筆者のグループでは、薬物送達系 (drug delivery system) を利用した抗糖尿病金属錯体の開発研究を進め、錯体をミニカプセル等に詰め込み動物に経口投与して錯体の血中濃度上昇を図るとともに、金属イオンへの配位子にも注目して研究を行った。生分解性及び生体適合性を持つ高分子配位子には、薬物標的特異性、薬物毒性の軽減化、薬物吸収速度の改善そして生体での錯体の分解抑制などの有用性が挙げられる。この目的のために、ヒトや環境に毒性を示さないアミノ酸 γ -グルタミン酸の高分子化合物である γ -PGA (γ -polyglutamic acid) を用い、バナジル錯体や銅錯体を合成した。それらの物性を詳しく解析し、続いて *in vitro* インスリン様作用や *in vivo* 血糖降下作用を研究した。 $\text{VO-}\gamma\text{-PGA}$ 錯体は 16 日間 10 mgV/kg 体重の割合で経口投与すると高い血糖降下作用を示すとともに、長期の糖尿病状態を示す血中の糖化ヘモグロビン (HbA_{1c}) レ

ベルもかなり改善し、医薬品として開発できる可能性が示された。²⁰⁾ $\text{Cu-}\gamma\text{-PGA}$ 錯体に関しては、*in vitro* の結果からは銅イオンと有意差がみられていないため、²¹⁾ 効果的な錯体構造をデザインすることを検討している。

4. 銅イオンのグルコース吸収阻害作用と抗糖尿病作用

糖尿病は、食事療法、運動療法そしてインスリン注射を含めた薬物療法などにより予防・治療が行われている。薬物療法には多種類の医薬品が用いられているが、その中で α -グルコシダーゼ阻害剤もよく用いられている。 α -グルコシダーゼ阻害剤は、1,4- α -グルコシド結合を持つ二糖類、例えばスクロース (ショ糖, 砂糖, グルコース+フルクトース) やマルトース (麦芽糖, グルコース+グルコース) が小腸で α -グルコシダーゼにより単糖類に分解される酵素反応を触媒する。小腸でグルコースが吸収されないと食後血糖値の上昇や過剰なインスリン分泌が抑制される。したがって、 α -グルコシダーゼ阻害剤を服用するとインスリン投与量が下げられるだけでなく、インスリン産生に係わる膵臓 β 細胞の機能を軽減することができる。現在、臨床的に用いられている α -グルコシダーゼ阻害剤には、acarbose, voglibose や miglitol などがある。^{22,23)}

いくつかの金属イオンやその錯体が実験糖尿病治療薬の候補として研究されていることは、既に述べた。これらの錯体は全身に分布して、細胞のインスリンシグナル伝達系に作用し、“アンサンブル機構”により細胞内へのグルコースの取り込みを促進する作用機構が明らかにされている。²⁴⁻²⁶⁾ これらに加え、筆者のグループでは、金属イオンとその錯体が α -グルコシダーゼ阻害剤活性を有しているかどうかを検討し、新たな機能が見い出せるかどうかを評価することとした。²⁷⁾ 本研究では、酵母 (*Saccharomyces* sp.) 及びラット小腸由来の α -グルコシダーゼを用いた。ラット小腸アセトン粉末を Sephadex G-100 を用いて部分精製したところ、低分子画分に粗製品の約 100 倍の活性が検出された。本画分を用いて α -グルコシダーゼ阻害作用を調べた。11 種類の金属イオンを用いて酵母 α -グルコシダーゼへの阻害作用を検討したところ、2 価金属イオン Cu^{2+} , Zn^{2+} , VO^{2+} 及び Ni^{2+} (すべて硫酸化合物) では、それぞれ acarbose の約 1000, 100, 4 及び 2 倍の活

Fig. 3. Preparation Method and Structure of Copper(II)-picolinate Complex (from ref. (19))

性を示した。しかし、ラット小腸由来の α -グルコシダーゼに対しては、 Cu^{2+} と Zn^{2+} ではそれぞれ 0.6 及び 0.05 倍の活性しか示さなかった。種々の金属イオンによる酵母 α -グルコシダーゼの阻害活性の大きさは、Irving-Williams の安定度序列にほぼ一致したため、活性は金属イオンと酵素との結合によると推定された。両 α -グルコシダーゼの活性中心の構造が解析されれば、金属イオンの触媒機能を議論できると期待している。

両 α -グルコシダーゼに対して最も強い阻害活性を示した銅イオンに関して、耐糖能試験を試みた。ddy 系マウスに 0.08 mmol/kg 体重及び 0.24 mmol/kg 体重の割合で CuSO_4 及び acarbose を経口投与し、30 分後にグルコース又はスクロース (砂糖) を 2 g/kg 体重の割合で経口的に与え、経時的に血中グルコース濃度を測定した。グルコースを与えたグループでは CuSO_4 と acarbose 投与による差はみられなかったが、スクロースを与えたグループでは CuSO_4 及び acarbose とともに、明らかに投与量に依存して血糖降下作用を示した。以上の結果から、銅イオンは *in vitro* で α -グルコシダーゼ阻害作用を示すのみならず、*in vivo* で血糖降下作用を示し、その活性の強さは acarbose に匹敵するものであった。既に述べたように、銅錯体は経口投与により血糖降下作用を示すが、この作用には消化管内での α -グルコシダーゼの阻害作用も寄与していると推定される。今後、 α -グルコシダーゼ阻害作用を *in vitro* 活性評価系に加え、より活性の高い抗糖尿病治療薬の研究開発を目指すことは重要であろう。

謝辞 本研究は、筆者が平成 16 年度-平成 18 年度 (2004-2006 年) の 3 年間にわたり、文部科学省科学研究費補助金 (特別推進研究) の交付を受けて、主として京都薬科大学薬学部で行われたものである。文部科学省及び本研究に参加して頂いた大学教員、各研究機関の研究者、大学院生及び学部学生諸氏に感謝を申し上げる。

REFERENCES

- 1) Bowman-James K., *Acc. Chem. Res.*, **38**, 671-678 (2005).
- 2) Sakurai H., Yoshikawa Y., Yasui H., *Chem. Soc. Rev.*, **37**, 2383-2392 (2008).

- 3) Sakurai H., *J. Health Sci.*, **56**, 129-143 (2010).
- 4) Lloyd N. C., Morgan H. W., Nicholson B. K., Ronimis R. S., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 941-944 (2005).
- 5) Nagahashi S., "Mineraru Biryousen no Eiyougaku," eds. by Suzuki T., Wada O., Daiichi Shuppan Co., Ltd., Tokyo, 1994, pp. 97-411.
- 6) Hiromura M., "Seimeigenso Jiten," ed. by Sakurai H., Ohmsha, Tokyo, 2006, pp. 17-21.
- 7) Lutsenko S., *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **14**, 211-217 (2010).
- 8) Muscoli C., Cuzzocrea S., Riley D. P., Zweier J. L., Thiemeermann C., Wang Z. Q., Salvemini D., *Br. J. Pharmacol.*, **140**, 445-450 (2003).
- 9) Itami C., Matsunaga H., Sawada T., Sakurai H., Kimura Y., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **197**, 536-541 (1993).
- 10) Fujimori T., Yamada S., Yasui H., Sakurai H., In Y., Ishida T., *J. Biol. Inorg. Chem.*, **10**, 831-841 (2005).
- 11) Fujimori T., Yasui H., Hiromura M., Sakurai H., *Exp. Dermatol.*, **16**, 746-752 (2007).
- 12) Radovits T., Gerö D., Lin L. N., Loganathan S., Hoppe-Tichy T., Szabó C., Karck M., Sakurai H., Szabó G., *Rejuvenation Res.*, **11**, 945-956 (2008).
- 13) Bhuiyan M. S., Fukunaga K., *J. Pharmacol. Sci.*, **110**, 1-13 (2009).
- 14) Cooper G. J., Young A. A., Gamble G. D., Occleshaw C. J., Dissanayake A. M., Cowan B. R., Brunton D. H., Baker J. R., Phillips A. R., Frampton C. M., Roppitt S. D., Doughty R. N., *Diabetologia*, **52**, 715-722 (2009).
- 15) Sakurai H., *Expert Opin. Drug Discov.*, **2**, 873-887 (2007).
- 16) Sakurai H., *J. Jpn. Soc. Med. Use Funct. Foods*, **5**, 409-414 (2009).
- 17) Sakurai H., Tsuchiya K., Nukatsuka M., Kawada J., Ishikawa S., Yoshida H., Komatsu M., *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **8**, 193-200 (1990).
- 18) Sakurai H., Fujii K., Watanabe H., Tamura H., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **214**, 1095-1101 (1995).
- 19) Yasumatsu N., Yoshikawa Y., Adachi Y., Sakurai H., *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 4917-

- 4922 (2007).
- 20) Karmaker S., Saha T. K., Yoshikawa Y., Yasui H., Sakurai H., *J. Inorg. Biochem.*, **100**, 1535–1546 (2006).
- 21) Karmaker S., Saha T. K., Sakurai H., *Macromol. Biosci.*, **7**, 456–466 (2007).
- 22) Rosak C., Mertes G., *Curr. Diabetes Rev.*, **5**, 157–164 (2009).
- 23) Benalla W., Bellahcen S., Bnouham M., *Curr. Diabetes Rev.*, **6**, 247–254 (2010).
- 24) Nakayama A., Hiromura M., Adachi Y., Sakurai H., *J. Biol. Inorg. Chem.*, **13**, 675–684 (2008).
- 25) Hiromura M., Adachi Y., Machida M., Hattori M., Sakurai H., *Metallomics*, **1**, 92–100 (2009).
- 26) Sakurai H., Katoh A., Kiss T., Jakusch T., Hattori M., *Metallomics*, **2**, 670–682 (2010).
- 27) Yoshikawa Y., Hirata R., Yasui H., Hattori M., Sakurai H., *Metallomics*, **2**, 67–73 (2010).