

バナジウム化合物を投与したラットにおける4価および総バナジウム量の定量と吸収性の評価 — ESR法を用いた血中動態解析 —

畚野 純, 安井 裕之, 桜井 弘

(京都薬科大学 代謝分析学教室*)

Evaluation of absorption processes of vanadium compounds by ESR

Jun FUGONO, Hiroyuki YASUI, and Hiromu SAKURAI

Dep. of Analytical and Bioinorganic Chemistry, Kyoto Pharmaceutical Univ.

Vanadium with insulinomimetic action exists as vanadyl and vanadate species in nature. Recently, vanadyl sulfate (VOSO_4) and sodium vanadate (NaVO_3) have been examined clinically to find whether they improve human diabetes mellitus (DM). In 2001, it was reported that DM has been improved by the treatment of VOSO_4 , in which plasma vanadium level during VS treatment was found to correlate with insulinomimetic activity. Therefore, we studied the absorption processes of VOSO_4 and NaVO_3 with respect to total vanadium as well as vanadyl levels in the blood by using electron spin resonance (ESR). Four blood concentration curves for the two compounds exhibited two absorption maxima, indicating that more than two absorption sites of ionic vanadium compounds exist in the gastrointestinal tract. Bioavailability of NaVO_3 was higher than that of VOSO_4 , indicating vanadyl is less toxic than vanadate.

種々の生理活性をもつことが知られている微量金属元素バナジウムは自然界においては、4価のバナジルイオンまたは5価のバナデイトイオンとして存在する¹⁾。近年、バナジウムのインスリン様作用に関心が集まっている²⁾⁻³⁾。すでに南北米大陸では、バナジルイオンまたはバナデイトイオンを糖尿病患者に投与する臨床試験が開始されており、その成果が報告されている⁴⁾⁻⁶⁾。バナジウムを過剰量摂取した場合、消化管に機能障害が生じることを懸念して、投与量を徐々に増やし投与期間が延長された。その結果、2001年に世界で初めて硫酸バナジルを投与した糖尿病患者において、糖尿病の指標となる血漿中グルコース濃度、フルクトサミン濃度および糖化ヘモグロビン(HbA_{1c})値が有意に減少したことが報告された⁵⁾。この時、興味深いことに血糖値が減少した患者では、血漿中バナジウム濃度が上昇していた、つまり血糖値の減少と血中バナジウム濃度が相関することが示され、バナジウム投与期間中における血中バナジウム濃度のモニタリングの重要性が指摘された。そこで、4価(VOSO_4)および5価バナジウム(NaVO_3)化合物を投与したラットの血液中4価および総バナジウム濃度を電子スピン共鳴(ESR)法を用いて分別定量し、吸収性を評価することとした。

実験方法

1. 投与

12時間絶食下、健常 Wistar 系雄性ラット (8週齢, 240-250g) に VOSO_4 または NaVO_3 を静脈内または経口的に単回投与した。投与は経口投与の際は両化合物ともバナジウムとして 10 mg/kg 体重、静脈内投与の際は VOSO_4 (2 mg/kg 体重)、 NaVO_3 (1 mg/kg 体重) の各用量で行った。投与後、経時的に血液 (50 μL) を採取した。

*所在地：京都市山科区御陵中内町 (〒607-8414)

2. 4価バナジウム濃度の定量

投与液をラットの新鮮血に加えた後、ESRスペクトルを測定した。8本の信号のうち低磁場側から4本目の信号のピーク高を用いて検量線を作成した。経時的に採取した血液サンプルのESRスペクトルは投与当日中に測定し、検量線を用いて4価バナジウム濃度を定量した⁸⁾。

3. 総バナジウム濃度の定量

6%硝酸溶液を用いて原子吸光用バナジウム標準液を種々の濃度に希釈し、アスコルビン酸で還元した後、ESRスペクトルを測定した。4価バナジウム濃度の定量と同様に、8本の信号のうち低磁場側から4本目の信号のピーク高を用いて検量線を作成した。経時的に採取した血液サンプルは硝酸、過酸化水素および過塩素酸を用いて湿式灰化した後アスコルビン酸で還元し、ESRスペクトルを測定した。作成した検量線を用いて、総バナジウム濃度を定量した⁹⁾。

4. 吸収性の評価

得られた血中濃度推移はモーメント解析に基づく薬物速度論により評価した¹⁰⁾。なお、バイオアベイラビリティ (F_a) は静脈内投与後の CL_{tot} (全身クリアランス) を用いて算出した。

結果と考察

作成した検量線は良好な相関を示した (相関係数 > 0.999)。

$VOSO_4$ または $NaVO_3$ をバナジウムとして 10 mg/kg 体重の割合で単回経口投与した後のバナジル種の血中濃度推移を Fig. 1(a) に示した。 $VOSO_4$ または $NaVO_3$ を投与したラットの血中濃度推移には共に2つの吸収極大が見出された。このことからイオン型の両バナジウム化合物を経口投与した場合には、2つ以上の吸収部位が存在することが示された。また、最高血中濃度を比較すると、 $NaVO_3$ の方が有意に大きいことが分かった。16時間までの F_a は $VOSO_4$ および $NaVO_3$ 投与ではそれぞれ4.8%および7.0%となり、後者の方が大きいことが分かった (data not shown)。4価バナジル (4価V) は、5価バナデイト (5価V) よりも毒性の低いことが¹¹⁾、血中濃度を用いて実証することができた。

次に、 $VOSO_4$ または $NaVO_3$ をバナジウムとして 10 mg/kg 体重の割合で単回経口投与した後の総バナジウム (総V) の血中濃度推移を Fig. 1(b) に示した。4価のバナジル種の血中濃度推移と同様に2つの吸収極大が観測された。しかし、吸収極大に到達する時間は2つの吸収極大ともに、 $NaVO_3$ の方が早いことが分かった。吸収極大における濃度には差が見られなかった。16時間までの F_a は $VOSO_4$ および $NaVO_3$ 投与ではそれぞれ8.7%および13.0%となり、後者の方が大きいことが分かった (data not shown)。以上のことから、血液中の4価Vおよび総Vを定量することにより、5価Vの方が4価Vよりも吸収性が高いことが分かった。

血液中で存在するバナジウムの化学形は4価状態で安定である¹²⁾ことが知られている。4価Vおよび5価Vを経口投与した後のVの酸化還元は、Vが消化管内を移行中短時間で生じていると考え、総Vに対する4価Vの割合の時間変化を検討した (Fig. 2)。その結果、5価V投与後4時間目までは4価Vの割合が上昇しているが、その後7~8時間で減少し、再び上昇する傾向が見られた。このことは、 $VOSO_4$ を投与した場合にも見られた。5価Vは明らかに還元され、投与後4時間後には約70%以上が4価Vとして存在することおよび5価V投与後の4価Vの体内分布は4価V投与後の体内分布よりも約1時間早い周期性をもっていることも分かった。また、両V化合物が消化管内を移行する時、極めて複雑な酸化還元反応をうけて血液中に取り込まれていることも明らかになった。

結論：バナジウムの吸収性を4価Vおよび総Vを指標に研究したところ、総Vと4価V種の血中濃度推移に相関性が見られた。総Vと血糖値降下に相関性がみられたこと⁵⁾を考えると、バナジウム化合物投与後に総Vおよび4価Vの血中濃度をモニタリングする必要が有ると考えられる。

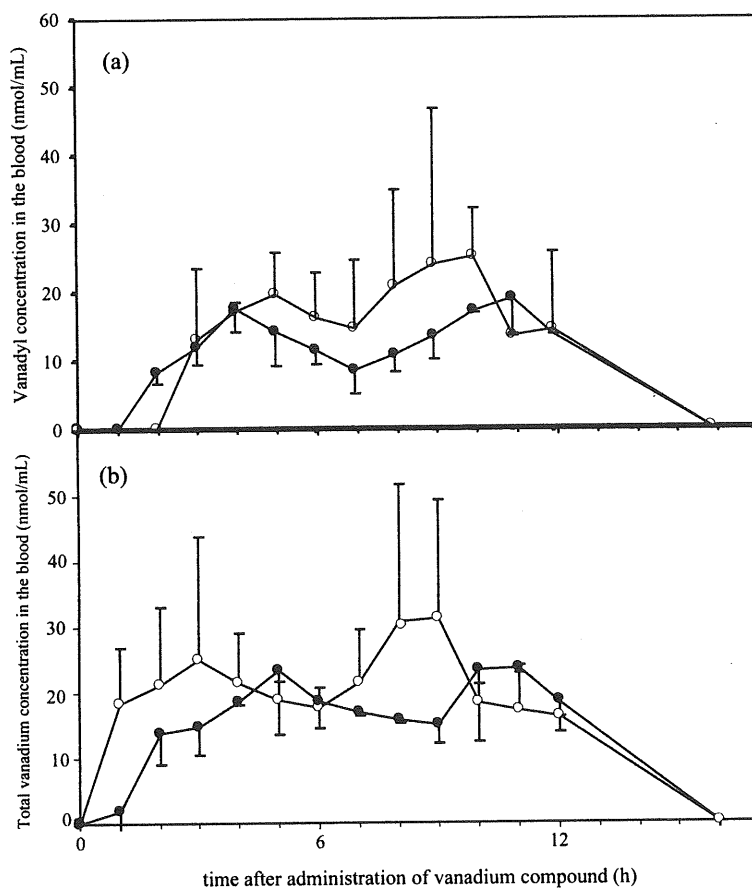


Fig. 1 Time courses of vanadyl concentration (a) and total vanadium concentration (b) in the blood of healthy rats following oral administration of VOSO₄ (●) or NaVO₃ (○) at a dose of 10 mg vanadium/kg body weight. Each symbol represents the mean ± s.d. (n = 3 rats).

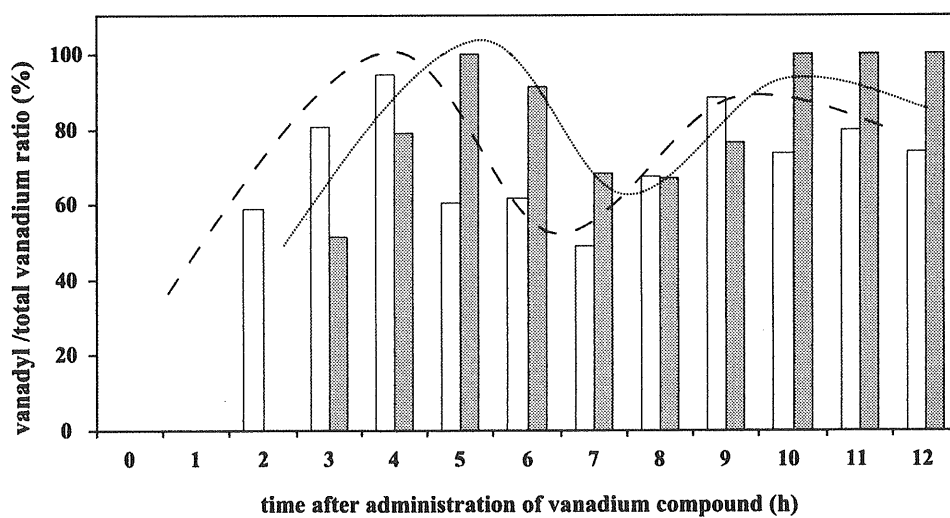


Fig. 2 Time courses for the vanadyl state distribution to the total vanadium level (vanadyl/total vanadium ratio) following oral administration of VOSO₄ (gray column) or NaVO₃ (open column) at a dose of 10 mg vanadium/kg body weight.

引用文献

- 1) Stern, A., Yin, X., Tsang, S., Davison, A., and Moon, J. (1993) *Biochem. Cell Biol.* 71: 103.
- 2) Dubyak, G. R., and Kleinzeller, A. (1980) *J. Biol. Chem.* 255: 5306
- 3) Sakurai, H., Kojima, Y., Yoshikawa, Y., Kawabe, K., Yasui, H. (2002) *Coord. Chem. Rev.* 226: 187.
- 4) Goldfine, A.B., Patti, M.E., Zuberi, L., Goldstein, B.J., LeBlanc, R., Landaker, E.J., Jiang, Z.Y., Willsky, G.R., and Kahn, C.R. (2000) *Metabolism.* 49: 400.
- 5) Cusi, K., Cukier, S., DeFronzo, R. A., Torres, M., Puchulu, F. M., Redondo, J. C. P. (2001) *J. Clin Endocrinol. Metab.* 86: 1410.
- 6) Goldfine, A.B., Simonson, D.C., Folli, F., Patti, M.E., and Kahn, C.R. (1995) *Mol. Cell Biochem.* 153: 217.
- 7) Dafnis, E., and Sabatini, S. (1994) *Nephron.* 67: 133.
- 8) Fugono, J., Yasui, H., and Sakurai, H. (2001) *J. Pharm. Pharmacol.* 53: 1247.
- 9) Sakurai, H., Tsuchiya, K., Nukatsuka, M., Sofue, M., and Kawada, J. (1990) *J. Endocrinol.* 126: 451.
- 10) Yamaoka, K., Nakagawa, T., and Uno, T. (1978) *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 6: 547.
- 11) Hudson, T. G. F. (1964) *Vanadium, toxicology and biological significance.* New York, Elsevier.
- 12) Sakurai, H., Shimomura, S., Fukuzawa, K., and Ishizu, K. (1980) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 96: 293.