

## アシタバ由来カルコンの抗糖尿病作用

榎 竜嗣<sup>§</sup>, 大野木宏, 小林英二, 佐川裕章

タカラバイオ(株) バイオ研究所

### Anti-diabetic Activities of Chalcones Derived from *Ashitaba*

Tatsuji Enoki<sup>§</sup>, Hiromu Ohnogi, Eiji Kobayashi and Hiroaki Sagawa

Biotechnology Research Laboratories, Takara Bio Inc., 3-4-1, Seta, Otsu, Shiga 520-2193

*Ashitaba*, (*Angelica keiskei*), is a perennial belonging to Umbelliferae and has been taken as a health-promoting vegetable around the Hachijo Island area. *Ashitaba* has been known to contain about 20 kinds of chalcones, and two major chalcones such as xanthoangelol (XA) and 4-hydroxyderricin (4HD) are more abundantly included than other chalcones. We previously found that these two chalcones have insulin-like activities such as the induction of adipocyte differentiation and the enhancement of glucose uptake. Moreover, 4HD especially showed stronger promoting activity of glucose uptake and preventive effect on the progression of diabetes in genetically diabetic mice than the XA. In this report, we tested whether 4HD can reduce the blood glucose levels of mice which developed hyperglycemia associated with insulin resistance, and the structure-activity relationships of chalcones on glucose uptake using other *Ashitaba* chalcones and synthetic chalcones. As a result, 4HD showed a lowering effect of blood glucose levels of diabetic mice, probably due to the enhancement of glucose uptake. Thus, it is suggested that 4HD exert a hypoglycemic action via an insulin-independent pathway. In the structure-activity relationship, both 4'-methoxy group and 3'-large substituted group, such as prenyl, geranyl, farnesyl and benzyl of A ring were considered to be essential for glucose uptake promoting activity.

(Received Jun. 25, 2010 ; Accepted Jul. 12, 2010)

**Keywords** : *Ashitaba*, *Angelica keiskei*, chalcone, insulin-like activity, diabetes

**キーワード** : アシタバ, カルコン, 糖尿病, インスリン様活性

アシタバ (学名: *Angelica keiskei* Koidzumi) は日本の太平洋岸に自生するセリ科の大型多年草であり、古くより八丈島などで健康野菜として食されてきた。アシタバの茎を切断すると独特の黄色い汁がにじみでてくるが、この黄色を呈する主成分はフラボノイドの1種であるカルコン類である。アシタバ中には、他にフラバノンやクマリンなどの生理活性物質が含まれているが<sup>1)</sup>、特にカルコンは最も豊富に含まれており、茎だけでなく根や葉にも含まれている。また、アシタバ中には20種類近くのカルコンが含まれているが、アシタバ特有のカルコンであるキサントアンゲロール (xanthoangelol : XA) および4-ハイドロキシデリシン (4-hydroxyderricin : 4HD) は、他のカルコンと比べて特に豊富に含まれている<sup>2)3)</sup>。これらアシタバカルコンは、血圧抑制作用<sup>4)</sup>、抗腫瘍作用<sup>5)6)</sup>、発がん抑制作用<sup>1)</sup>、脂質代謝改善作用<sup>7)</sup>、胃酸分泌抑制作用<sup>8)</sup>、抗菌作用<sup>9)</sup>などの種々の生理活性を持つことが知られており、さらに、我々はXAと4HDが抗糖尿病活性を示すことを見出してきた<sup>10)</sup>。

糖尿病はインスリンの作用不足が原因で高血糖を呈する慢性疾患である<sup>11)</sup>。日本を含むアジアでは食生活の欧米化に伴い、患者数が年々増加しており<sup>12)</sup>、日本においては厚生労働省による平成19年度の国民健康・栄養調査で「糖尿病が強く疑われる人」は推計890万人、「糖尿病の可能性を否定できない人」は推計1320万人で、合計2210万人にものぼることが報告されている<sup>13)</sup>。糖尿病は、初期の段階では自覚症状がほとんどなく放置しがちとなるが、長期間放置することで、重篤な合併症を発症し、足の切断、失明、人工透析に至ることもあり、そうなると生活の質 (QOL : Quality of Life) は著しく低下する<sup>14)</sup>。したがって、インスリンの作用不足を補完できるような食材を積極的に摂取することは、糖尿病の予防と治療ひいては健康な生活を送る上で有用と考えられる。

XAと4HDは、インスリンの持つ多様な生理活性のうち、糖尿病に関連する2つの生理活性、前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化誘導作用と成熟脂肪細胞でのグルコース取り込み促進作用を示す。これら2つのカルコンを比較すると、分化誘導作用についてはほとんど活性に差は

〒520-2193 滋賀県大津市瀬田3-4-1

<sup>§</sup> 連絡先 (Corresponding author), enokit@takara-bio.co.jp

ないが、グルコース取り込み活性において明らかに4HDの方が高かった。また、自然発症II型糖尿病モデルマウスであるKK-A<sup>y</sup>マウスを用いて糖尿病発症前から長期に摂取させる実験においても、4HDの方が糖尿病発症に伴い上昇する血糖値を抑制する効果が強かったことから、2つのインスリン様活性のうち、グルコース取り込み促進活性がより抗糖尿病作用に関与していることが示唆された<sup>10)</sup>。

今回、すでに糖尿病を発症し血糖値が上昇したマウスを用いて、4HDを経口投与することで、血糖値低下作用が確認できるか検討した。またアシタバ中にはXAや4HD以外にも多くのカルコンが含まれるため、他のカルコンについてもグルコース取り込み促進作用を確認するとともに、同時に種々のカルコンを合成し、活性と構造の関連を解析したので、併せて報告する。

## 実験方法

### 1. 試薬

特に記載のない試薬は、シグマあるいはナカライテスクより購入した。

### 2. アシタバ由来カルコンの調製

アシタバ根部の乾燥粉末5kgに対して15Lのエタノールによる抽出を3回行った。エタノール抽出液を濃縮後25%エタノールに溶解し、逆相クロマトグラフィーに供した。試料をコスモシル140 C18-OPN(ナカライテスク)にアプライ後、30%エタノール、40%エタノール、75%エタノール、100%エタノールの順に溶出した。次に、75%エタノール溶出画分をシリカゲル(BW-300SP, 富士シリシア化学)にアプライ後、クロロホルム:ヘキサン10:5~4の溶液、その後に酢酸エチルにより溶出し、溶出順にキサントアンゲロール-F(XA-F, 741 mg), 4HD(2185 mg), XA(3593 mg), イソババカルコン(IBC, 63 mg)を得た。また、40%エタノール溶出画分をシリカゲルにアプライ後、クロロホルム:メタノールの溶媒比が50~5:1の溶液により溶出し、キサントアンゲロール-H(XA-H, 36 mg)を得た。

これらアシタバ由来カルコンの構造は、NMRおよびマスペクトル解析により既報の物質と一致することを確認した<sup>1)</sup>。

### 3. 種々のカルコンの合成

#### (1) 各種アセトフェノン(AP)の合成

2',4'-dihydroxy-3'-farnesyl-AP(a)は、2',4'-dihydroxy-AP(和光純薬)を2M KOH含有メタノールに溶解し、氷冷下farnesyl bromide(アルドリッチ)を添加して、氷冷下15分、室温45分反応後、クエン酸にて中和し酢酸エチルを添加して有機層を回収、その後ヘキサン/酢酸エチルの溶媒を用いてシリカゲルクロマトグラフィーにより精製することで得た。また、2',4'-dihydroxy-3'-benzyl-AP(b)は、2',4'-dihydroxy-APとbenzyl bromide(和光純薬)

を同様に反応することより得た。2'-hydroxy-3'-methyl-4'-methoxy-AP(c)は、2',4'-dihydroxy-3'-methyl-AP(アルドリッチ)を無水アセトン中炭酸カリウム存在下ジメチル硫酸(和光純薬)と70°Cで約1時間加熱還流し、過にて炭酸カリウムを除去後、ヘキサン/酢酸エチルの溶媒を用いてシリカゲルクロマトグラフィーにより精製することで得た。また、2'-hydroxy-3'-farnesyl-4'-methoxy-AP(d)は(a)を2'-hydroxy-3'-benzyl-4'-methoxy-AP(e)は、(b)を同様に処理することで得た。

#### (2) 各種APと4-hydroxybenzaldehydeの反応

クライゼン縮合の手法を用いてAPとBPを反応させ各種カルコンを合成した。すなわち、2'-hydroxy-4'-methoxy-AP(アルドリッチ)3mmolと4-hydroxybenzaldehyde(アルドリッチ)3mmolを13mLのメタノールに加え、さらに水酸化バリウム1.075gを加えて40°Cで20時間攪拌しながら反応した。その後、塩酸にて中和し酢酸エチルで抽出、ヘキサン/酢酸エチルの溶媒を用いてシリカゲルクロマトグラフィーにより精製することで4,2'-dihydroxy-4'-methoxychalcone(DHMC)を収率15.5%で得た。同様に(1)で合成した各AP(a)~(e)とBPの反応より、(a)から4,2',4'-trihydroxy-3'-farnesylchalcone(THFC)(収率19.6%)、(b)から4,2',4'-trihydroxy-3'-benzylchalcone(THBC)(収率28.5%)、(c)から4,2'-dihydroxy-3'-methyl-4'-methoxychalcone(DHMMC)(収率24.6%)、(d)から4,2'-dihydroxy-3'-farnesyl-4'-methoxychalcone(DHFMC)(収率45.4%)、(e)から4,2'-dihydroxy-3'-benzyl-4'-methoxychalcone(DHBMC)(収率29.4%)をそれぞれ得た。それぞれのカルコンは薄層クロマトグラフィーにおいて単一スポットを示した。またNMRならびにマスペクトル解析により目的の構造を確認した。

#### 4. 3T3-L1細胞の培養と分化誘導アッセイ

マウス前駆脂肪細胞株3T3-L1はDSファーマより購入した。3T3-L1細胞は10%仔牛血清(DSファーマ)、200μMアスコルビン酸、1%ペニシリン-ストレプトマイシン混合溶液を含むD-MEM培地を用いて37°C、5%CO<sub>2</sub>の条件で、80%コンフルエント状態を超えないように2、3日ごとに継代し培養した。脂肪細胞へ分化誘導させる際にはコンフルエントに達した後2日間経過後、10%牛胎児血清(Lonza)、200μMアスコルビン酸、1%ペニシリン-ストレプトマイシン混合溶液を含むD-MEM培地(D-MEM/FBS培地)に交換後、終濃度0.25μMデキサメサゾン、10μg/mL牛インスリン(タカラバイオ)、0.5mMイソブチルメチルキサンチンを添加して行った。2日後、終濃度5μg/mL牛インスリンを含むD-MEM/FBS培地に交換し、以後2-4日おきに同培地を交換した。脂肪細胞分化誘導におけるXAと4HDのインスリン様効果を試験する際には、インスリンの代わりに培地にこれらカルコンを添加した。10-14日後、トリグリセリド測定のために細胞を回収する

いはグルコース取り込み試験に細胞を供した<sup>15)</sup>。

### 5. 細胞中トリグリセリドの測定

脂肪細胞へと分化誘導した 3T3-L1 細胞を PBS で洗浄後、細胞中トリグリセリドをヘキサン：イソプロパノール = 3 : 2 の溶液による抽出した。トリグリセリド量はトリグリセリド E-Test ワークキット（和光純薬）を用いて測定した。

### 6. 2-デオキシグルコース取り込みアッセイ

3T3-L1 脂肪細胞を 0.1% 牛血清アルブミンを含む D-MEM 培地 (D-MEM/BSA 培地) で洗浄後、各カルコンを含む D-MEM/BSA 培地を添加し 14-15 時間培養した。その後、HEPES 緩衝生理食塩水 (HBSS) により洗浄し、同じカルコンを含む HBSS を添加し 45 分培養後、陽性対照のウェルに終濃度 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  牛インスリンを添加し、さらに 30 分インキュベートした。グルコース取り込みは終濃度 0.5  $\mu\text{Ci}/\text{mL}$  2-デオキシ-[1,2-<sup>3</sup>H]-グルコース (American Radiolabeled Chemicals) および 100  $\mu\text{M}$  2-デオキシグルコースを添加し 10 分間反応することで行った。40  $\mu\text{M}$  サイトカラシン B を添加して反応を停止後、細胞を 3 回冷 PBS で洗浄し、1% NP-40 を含む PBS により溶解し

た。上清中の放射活性はシンチレーションカウンタにより測定した。

### 7. KK-A<sup>y</sup> マウスを用いた抗糖尿病活性の測定

動物実験は、我々の施設内に設置された動物実験委員会により審査され承認された後行った。オスの KK-A<sup>y</sup>/Ta マウスはクレアより購入し、12 週まで CE-2 (クレア) を飼料として飼育した。高血糖を呈した 12 週齢の時点で血糖値および体重を測定し、平準化するように各群 5 匹ずつ群わけした。4HD 投与群は、0.5% カルボキシメチルセルロース溶液に 4HD を懸濁し、1 日 1 回 200 mg/kg の用量で連日強制経口投与した。コントロール群については、カルボキシメチルセルロース溶液のみを投与した。血糖値は尾静脈より採血した血液を用いて行った。なお、飼育期間中、水と飼料は自由に摂取させた。

## 実験結果

### 1. アシタバカルコン 4HD と XA のインスリン様活性

アシタバ中には多くのカルコンが含まれるが、中でも図 1A および B に示す XA と 4HD は含有量も多く、これらの生理活性はアシタバそのものの生理活性に大きく関係す

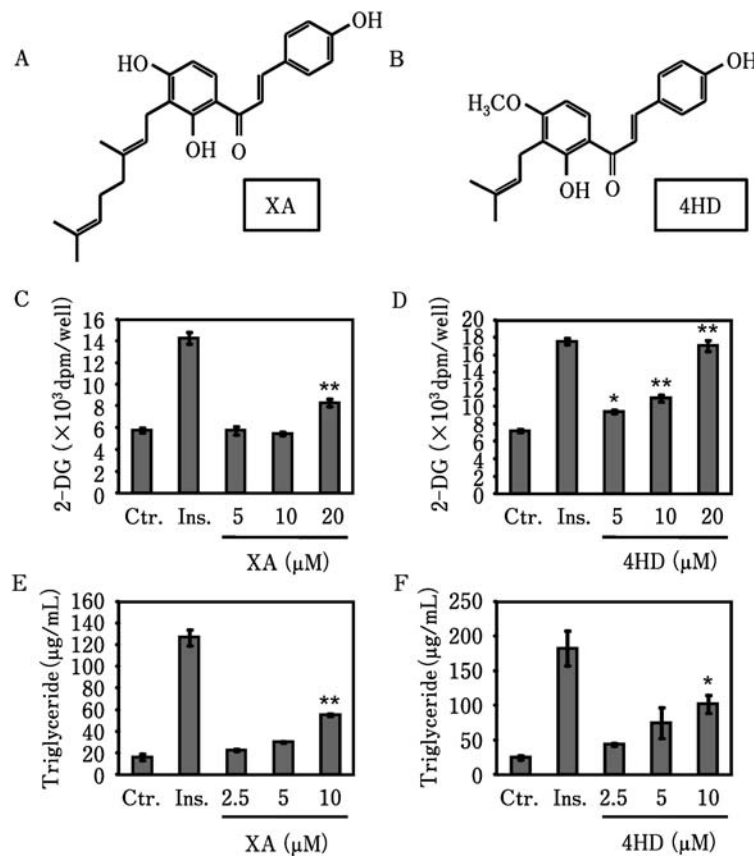


図 1 XA および 4HD による分化誘導作用並びにグルコース取り込み促進作用

XA と 4HD の構造をそれぞれ A および B に示す。これらカルコンをインスリンの代わりに添加した時の成熟脂肪細胞におけるグルコース取り込み量を C : XA および D : 4HD に、また前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化誘導作用の指標となる細胞中のトリグリセリド量を E : XA および F : 4HD に示す。グラフの値は平均値 ± 標準誤差 (N=4) を示す。\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  v.s. コントロール (Ctrl.), Tukey (b) 検定。

る。そこで、これら2つのカルコンについて、前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化誘導活性ならびに成熟脂肪細胞でのグルコース取り込み促進活性を測定した。その結果、成熟脂肪細胞への分化誘導活性については4HD, XAとも同程度の活性を示したが、成熟脂肪細胞でのグルコース取り込み促進活性については、4HDが低濃度(終濃度5  $\mu\text{M}$ )より活性が認められるのに対して、XAは高濃度(終濃度20  $\mu\text{M}$ )でのみ活性が見られ、これら2つのカルコンの間で活性に差が認められた。4HDとXAの構造上の違いはA環(向かって左側の環)の4'位が水酸基かメトキシ基、3'位がプレニル基かゲラニル基のみであり、このわずかな違いが、グルコース取り込み促進活性に大きな影響を与えていることが示唆された。

## 2. 糖尿病発症マウスにおける4HDの血糖値低下効果

KK-A<sup>y</sup>マウスは週齢を重ねるごとにインスリン抵抗性が惹起され、糖尿病を発症することが知られている。我々は以前の報告において、予防的に4HDを摂取させることでおそらくグルコース取り込み促進活性を介した血糖値抑制効果が認められることを示しているが、この効果がインスリン抵抗性をきたした個体においても見られるか確認するために、糖尿病を発症しすでに高血糖を呈したKK-A<sup>y</sup>マウスに対して4HDを連日強制経口投与し、血糖値低下作用を観察した。その結果、4HD投与4日目において、すでに血糖値の低下が確認でき、その効果は18日目においても認められた(図2)。なお、観察期間中、対照群と4HD投与群で体重変動や一般症状に差は見られず、また18日目の観察最終日における剖検においても各臓器に両群とも異常は認められなかった。

## 3. 種々のアシタバカルコンならびに合成カルコンのグルコース取り込み促進活性

4HDが示す抗糖尿病作用はグルコース取り込み促進活性が関与していることが示唆されているが、図1に示したように4HDとXAについては構造上の違いはわずかであるにも関わらず、グルコース取り込み促進活性には差が認められる。この構造上のクリティカルな部位を確認するために、アシタバ中に含まれる4HDやXA以外の種々のカルコンならびにA環3'位の側鎖を置換した合成カルコンについてグルコース取り込み促進活性を測定した。アシタバカルコンのうち、XA-F(図3A)は4HDのA環3'位のプレニル基がXAと同じゲラニル基になったものであり、IBC(図3C)は4HDの4'位のメトキシ基がXAと同じ水酸基になったものである。すなわち、これら2つのカルコンは、4HDとXAの構造上の違いがある2か所の部位を、それぞれ入れ替えた形となっている。また、XA-H(図3B)は4HDの2'位と3'位で環を形成した構造となっている。合成カルコンについては、4HDの3'位のプレニル基に着目し、側鎖をなくしたもの(図3D; DHMC)およびメチル基に置換したもの(図3E; DHMMC)について試験した。

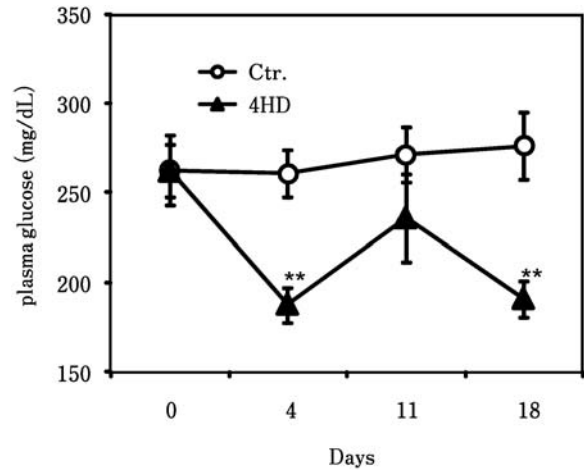


図2 4HDによる糖尿病発症KK-A<sup>y</sup>マウスにおける血糖値低下作用

糖尿病を発症し高血糖を呈したKK-A<sup>y</sup>マウスに連日4HDを経口投与した時の血糖値の変化を経時的に測定した。白丸(○)はコントロール群を黒三角(▲)は4HD投与群を示す。グラフの値は平均値±標準誤差(N=5)を示す。\*\**p*<0.01 v.s. 各日におけるコントロール(Ctr.), *t*検定。

その結果、図3Fに示すように、アシタバカルコンのうち、XA-Fは4HDと同等以上の活性が見られたが、IBC, XA-Hについては全く活性が認められなかった。また、合成カルコンであるDHMCには全く活性が認められなかったが、3'位がメチル基に置換されたDHMMCについては、逆に基底レベルのグルコース取り込みをも阻害した。以上より、4'位のメトキシ基が水酸基に置換されると活性が減弱すること、また3'位はプレニル基、ゲラニル基のような大きい置換基の場合は活性が認められるが、逆にメチル基のように短くなると阻害され、ある程度の大きさが必要であることが示唆された。

## 4. A環3'位、4'位の置換基を変化させた合成カルコンによるグルコース取り込み促進活性

図3に示したように、カルコンによるグルコース取り込み促進活性には、A環3'位についてはある程度大きな置換基が必要なこと、4'位については水酸基よりメトキシ基の方が良いことが示唆された。これらについてさらに詳細に検討するために、3'位をゲラニル基にさらにイソプレニル基が付加したフェルネシル基あるいはベンジル基に置換し、4'位を水酸基とメトキシ基にしたカルコン4種を合成した(図4A; DHFMC, B; DHBMC, C; THBC, D; THFC)。これら合成カルコンと4HD, XA, XA-Fを対照として設定し、グルコース取り込み試験を行った。その結果、A環4'位がメトキシ基である4HD, XA-F, DHFMC, DHBMCについては、どれも活性が認められたが、水酸基であるTHBC, THFCについては全く活性が認められなかった。なお、3'位については、4'位がメトキシ基である限り、プレニル基、ゲラニル基、フェルネシル基、ベンジル基のい

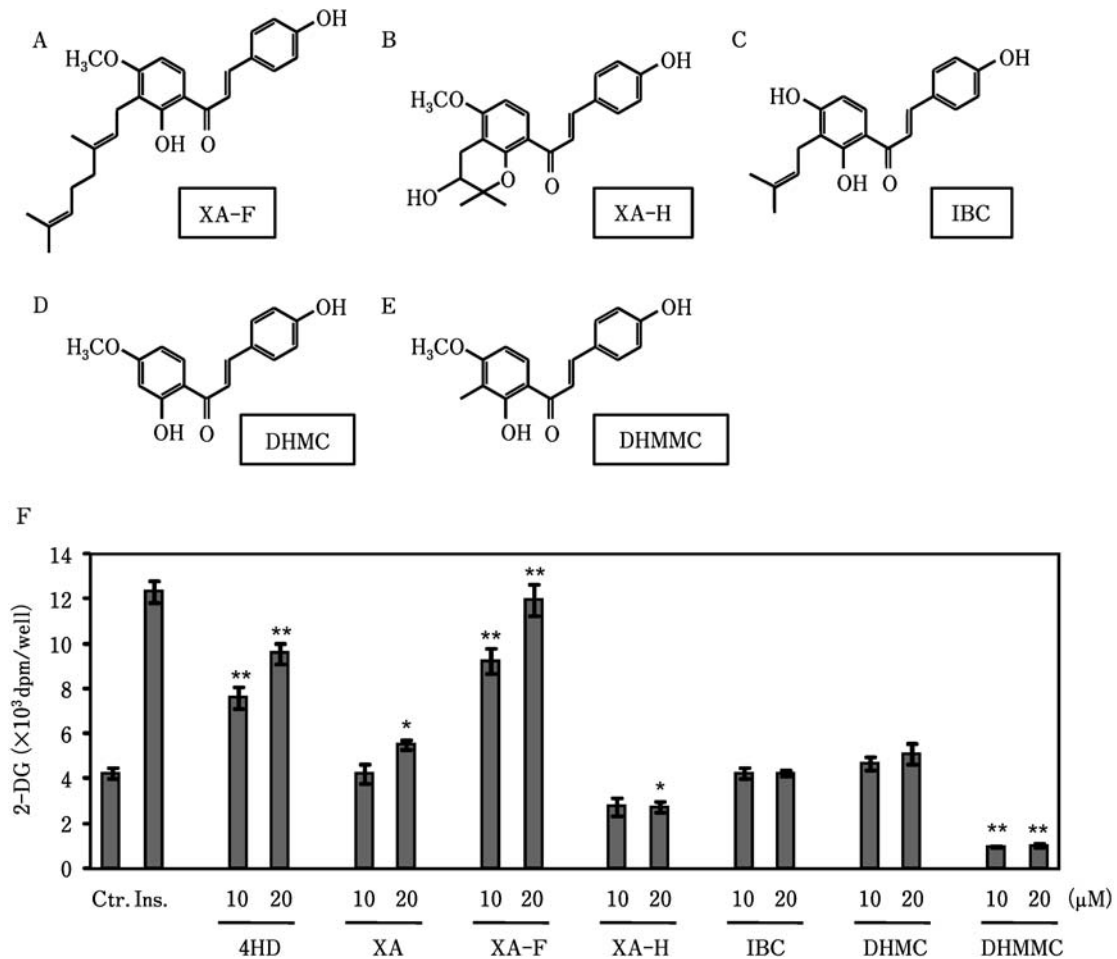


図 3 種々のアシタバ由来カルコンにおけるグルコース取り込み促進作用

アシタバ由来カルコンである XA-F の構造を A に, XA-H は B, IBC は C にそれぞれ示す. また, 合成したカルコン DHMC の構造は D, DHMMC の構造は E にそれぞれ示す. これらカルコンをインスリンの代わりに添加した時の成熟脂肪細胞におけるグルコース取り込み量を F に示す. グラフの値は平均値 $\pm$ 標準誤差 ( $N=6$ ) を示す. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  v.s. コントロール (Ctr.), Tukey (b) 検定.

ずれについても活性が確認された.

## 考 察

近年, アシタバは健康野菜として注目を集めており, 野菜ジュースや青汁などの成分として利用されてきている. その大きな特徴として, フラボノイドの 1 種であるカルコンを多量に含んでいることがあげられるが, カルコンはフラボノイドとしては珍しく中央の環が開環している構造を持っており, 多様な生理活性を示すことが報告されている<sup>1)4)~10)</sup>.

我々はアシタバの持つ多様な生理活性のうち, 抗糖尿病作用に着目し, アシタバカルコンの中で代表的なカルコンである 4HD が, 自然発症 II 型糖尿病モデルマウス (KK-A<sup>y</sup> マウス) を用いた *in vivo* の系で, 強い血糖値上昇抑制作用を示すことを明らかにしている<sup>10)</sup>. この系においては血糖値が上昇する前, すなわち, 糖尿病が発症する前よりカルコンを摂取させ, その後上昇する血糖値を抑制できるか

どうかという試験を行っている. 4HD によるグルコース取り込み促進作用という機序を考慮した時, すでに糖尿病が発症し高血糖を呈する状態であっても, 血糖値低下作用が期待できると考えられた. また KK-A<sup>y</sup> マウスは, 糖尿病発症に伴いインスリン抵抗性の病態を示すことが知られており, インスリンの作用不足が原因の高血糖に対して, グルコース取り込み促進作用というインスリン様作用を有するカルコンを投与することで, 血糖値改善が期待できた. 実際, すでに糖尿病を発症し高血糖を呈した 12 週齢の KK-A<sup>y</sup> マウスを用いて, 4HD を経口投与した時に, 血糖値低下作用が認められた (図 2). すなわち, 4HD はインスリン抵抗性を示す病態においても, 効果が発揮できることを示しており, インスリンとは異なる経路によって血糖値低下作用を誘導していることが示唆された. 現在のところ, 4HD が示すグルコース取り込み促進活性について, 細胞内でどのようなメカニズムによって行われているか不明だが, インスリンとは異なり, ある程度の時間が必要なこと,

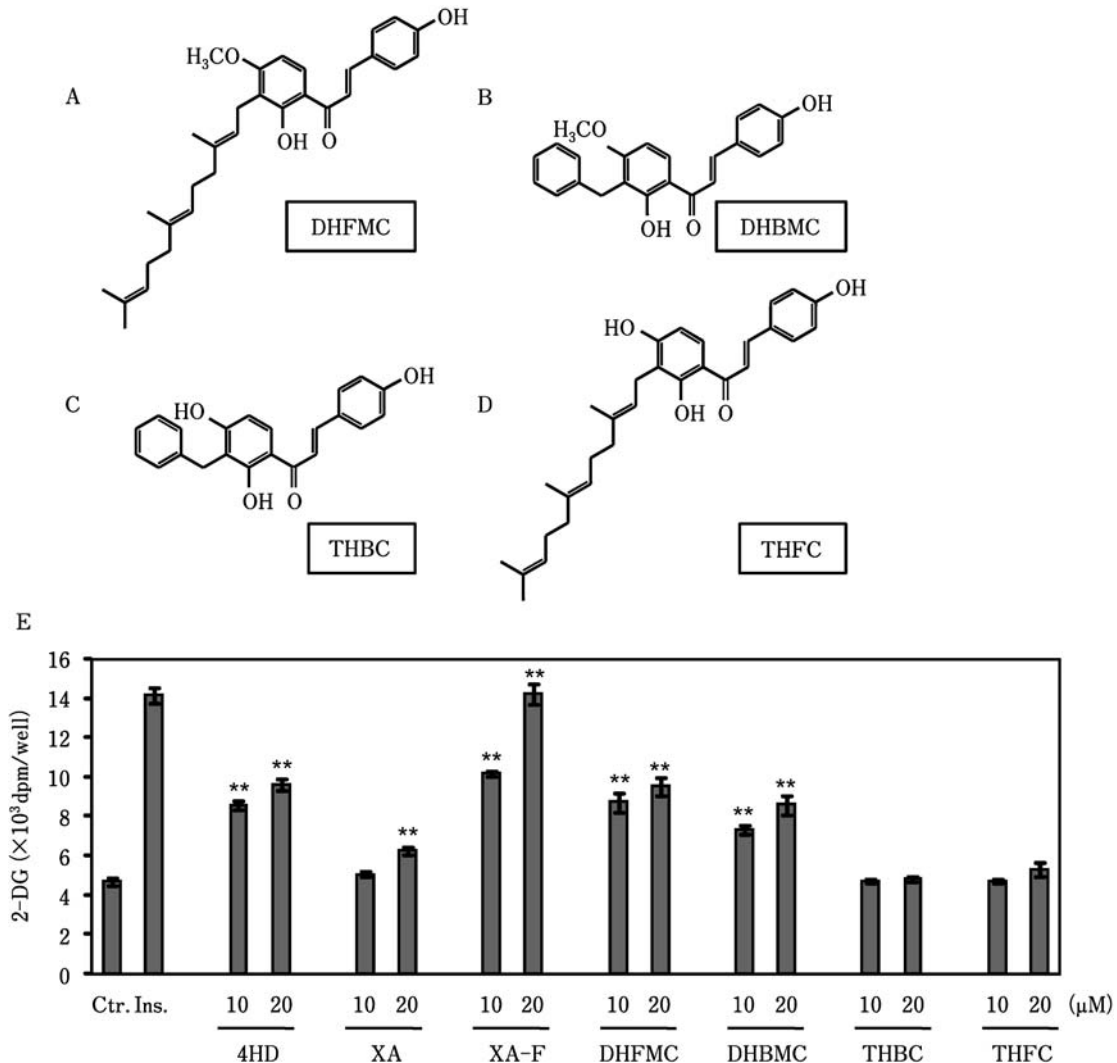


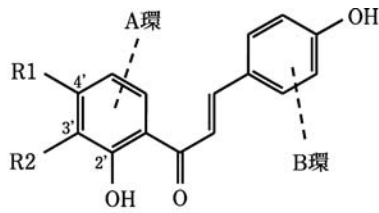
図4 種々のカルコンにおけるグルコース取り込み促進作用

構造活性相関を確認するために合成したカルコン DHFMC の構造を A に、DHBMC は B、THBC は C、THFC は D にそれぞれ示す。これらカルコンをインスリンの代わりに添加した時の成熟脂肪細胞におけるグルコース取り込み量を E に示す。グラフの値は平均値 $\pm$ 標準誤差 (N=6) を示す。\*\* $p$ <0.01 v.s. コントロール (Ctr.), Tukey (b) 検定。

グルコーストランスポーターであるサイトカラシン B により阻害されること (データ示さず) 等により、インスリンと同様にグルコーストランスポーターを介してグルコース取り込みを促進するものの、その前段階で何らかの遺伝子発現が誘導されているのではないかと考えられる。

アシタバ中には 4HD や XA 以外にも多数のカルコンが含まれることが知られており、これらの中でも 4HD や XA と構造が類似している XA-F や IBC のうち、XA-F については 4HD と同等以上のグルコース取り込み促進活性が認められたが、IBC には活性が認められなかった (図 3)。4HD、XA-F については、A 環の 4' 位がメトキシ基であり、XA、IBC については水酸基であることから、A 環 4' 位がメトキシ基であることが重要であることが示唆された。実際、種々の合成カルコンを用いた検討においても 4'

位のメトキシ基の重要性が確認された (図 4)。ただし、グルコース取り込み促進活性を発揮するためには、4' 位のメトキシ基だけでなく、3' 位についてもある程度大きな置換基が必要なことが、合成カルコンを用いた試験により明らかとなった (図 3, 4)。この 3' 位の置換基については、プレニル基、ゲラニル基、ファルネシル基、ベンジル基とある程度の自由度が示されており、それほど厳密さは要求されていないのかもしれない。一方でメチル基に置換した時は、例えば 4' 位がメトキシ基であっても逆に阻害活性を示しており、構造上クリティカルであることが示唆された。すなわち、グルコース取り込み促進活性を発揮するには、A 環 4' 位がメトキシ基であること、3' 位がプレニル基、ゲラニル基などの大きな置換基であることが必須であると考えられた (図 5)。なお、B 環の水酸基や A 環 2' 位の水酸基



R1: メトキシ基 >> 水酸基  
 R2: プレニル基, ゲラニル基, ファルネシル基, ベンジル基  
 >>> メチル基

図 5 グルコース取り込み促進作用に関するカルコンの構造

については、メトキシ基やアセチル基に置換した時に、活性の変動は見られるものの、A 環 3' 位や 4' 位ほど大きな変動は見られなかった（データ示さず）。

アシタバ中のカルコンは XA と 4HD が大部分を占めるが、次に含有量が多いのは XA-F であると言われており、その XA-F に強いグルコース取り込み促進活性が認められることより、アシタバ自体の抗糖尿病活性に貢献していることが示唆される。近年の研究において、ヒトを用いた臨床試験でアシタバの血糖値低下作用が示されており、また善玉アディポカインであるアディポネクチンの血中での含有量が増加することが示されている<sup>16)</sup>。アディポネクチンはインスリン抵抗性を改善する作用を有することが知られており<sup>17)</sup>、アシタバカルコンの持つ抗糖尿病作用は、このアディポネクチン産生促進作用も介していることが示唆される。成熟脂肪細胞でのグルコース取り込み促進活性、前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化誘導活性などのインスリン様活性に加えて、アディポネクチン産生誘導活性が、アシタバの持つ抗糖尿病作用にどのように関与しているか、今後の検討課題である。

アシタバカルコンについては、糖尿病、高血圧、脂質異常症を併発しているメタボリックシンドロームについても改善する作用があることが、マウス、ヒトを用いた試験により明らかとなってきている<sup>18)</sup>。今回の試験でマウスにおいて摂取させた 4HD 量と、ヒト試験でのアシタバ中のカルコン含有量には差があり、単純には評価できないのかもしれないが、今後、アシタバカルコンは新たな有用な食品素材として、ますます開発が盛んとなることが期待される。

## 要 約

アシタバ中に豊富に含まれるカルコンである 4HD による抗糖尿病作用をさらに解析するために、すでに糖尿病を発症し高血糖を呈した KK-A<sup>y</sup> マウスに投与することで血糖値低下作用がみられるかどうか、また、そのグルコース取り込み促進活性のカギとなる構造について種々のカルコンを用いて検討した。

4HD は高血糖状態にある KK-A<sup>y</sup> マウスに対しても血糖値低下作用が認められた。インスリン抵抗性の病態を示す

状態であっても効果が確認できたことより、インスリンとは異なる経路でグルコース取り込み促進作用を発揮し、血糖値の低下につながったことが示唆された。また、種々のカルコンによるグルコース取り込み促進活性を測定したところ、A 環 4' 位がメトキシ基、3' 位がプレニル基などの比較的大きな置換基であることが必須であることが示された。XA, 4HD についてアシタバ中に含有量の多い XA-F についても、4HD と同等以上の活性が認められ、アシタバの抗糖尿病活性に貢献していることが示唆された。

## 文 献

- 1) Akihisa, T., Tokuda, H., Ukiya, M., Iizuka, M., Schneider, S., Ogasawara, K., Mukainaka, T., Iwatsuki, K., Suzuki, T. and Nishino, H., Chalcones, coumarins, and flavanones from the exudates of *Angelica keiskei* and their chemopreventive effects. *Cancer Lett.*, **201**, 133-137 (2003).
- 2) Kozawa, M., Morita, N., Baba, K. and Hata, K., The structure of xanthoangelol, a new chalcone from the roots of *Angelica keiskei* KOIDZUMI (Umbelliferae). *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 515-516 (1977).
- 3) 馬場きみ江, 谷口雅彦, 中田功二, アシタバに関する研究, *Foods Food Ingredients J. Jpn.*, **178**, 52-60 (1998).
- 4) Shimizu, E., Hayashi, A., Takahashi, R., Aoyagi, Y., Murakami, T. and Kimoto, K., Effects of angiotensin I-converting enzyme inhibitor from *Ashitaba* (*Angelica keiskei*) on blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **45**, 375-383 (1999).
- 5) Kimura, Y. and Baba, K., Antitumor and antimetastatic activities of *Angelica keiskei* roots, part 1: isolation of an active substance, xanthoangelol. *Int. J. Cancer.*, **106**, 429-437 (2003).
- 6) Kimura, Y., Taniguchi, M. and Baba, K., Antitumor and Antimetastatic activities of 4-hydroxyderricin isolated from *Angelica keiskei* roots. *Planta Med.*, **70**, 211-219 (2004).
- 7) Ogawa, H., Ohno, M. and Baba, K., Hypotensive and lipid regulatory actions of 4-hydroxyderricin, a chalcone from *Angelica keiskei*, in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **32** (1-2), 19-23 (2005).
- 8) Murakami, S., Kijima, H., Isobe, Y., Muramatsu, M., Aihara, H., Otomo, S., Baba, K. and Nozawa, M., Inhibition of gastric H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase by chalcone derivatives, xanthoangelol and 4-hydroxyderricin, from *Angelica keiskei* Koidzumi. *J. Pharm. Pharmacol.*, **42**, 723-726 (1990).
- 9) Inamori, Y., Baba, K., Tsujibo, H., Taniguchi, M., Nakata, K. and Kozawa, M., Antibacterial activity of two chalcones, xanthoangelol and 4-hydroxyderricin, isolated from the root of *Angelica keiskei* KOIDZUMI. *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 1604-1605 (1991).
- 10) Enoki, T., Ohnogi, H., Nagamine, K., Kudo, Y., Sugiyama, K., Tanabe, M., Kobayashi, E., Sagawa, H. and Kato, I., Antidiabetic activities of chalcones isolated from a Japanese herb, *Angelica keiskei*. *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 6013-6017 (2007).
- 11) Saltiel, A.R. and Kahn, R., Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, **414**, 799-806 (2001).

- 12) Zimmet, P., Alberti, K.G.M.M. and Shaw, J., Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*, **414**, 782-787 (2001).
  - 13) 厚生労働省, 平成 19 年度国民健康・栄養調査.
  - 14) Tripathi, B.K. and Srivastava, A.K., Diabetes mellitus: Complications and therapeutics. *Med. Sci. Monit.*, **12**, RA 130-147 (2006).
  - 15) Rubin, C.S., Hirsch, A., Fung, C. and Rosen, O.M., Development of hormone receptors and hormonal responsiveness *in vitro*. *J. Biol. Chem.*, **253**, 7570-7578 (1978).
  - 16) 大野木宏, 榎 竜嗣, 日野文嗣, 加藤郁之進, カルコン (4 HD) 含有明日葉粉末の境界域糖尿病患者に対する長期摂取時の有効性と安全性, 薬理と治療, **35**, 647-660 (2008).
  - 17) Kadowaki, T., Yamauchi, T., Kubota, N., Hara, K., Ueki, K. and Tobe, K., Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J. Clin. Invest.*, **116**, 1784-1792 (2006).
  - 18) 大野木宏, 榎 竜嗣, 工藤庸子, 速水祥子, 出口寿々, 水谷滋利, 「明日葉カルコン」のメタボリックシンドローム改善作用, *New Food Industry*, **51** (10), 11-21 (2009).
- (平成 22 年 6 月 25 日受付, 平成 22 年 7 月 12 日受理)
-