

亜鉛 (II) -マルトール関連錯体のインスリン様作用

安達 祐介¹⁾, 吉田 治郎²⁾, 小寺 幸広²⁾, 加藤 明良³⁾, 桜井 弘¹⁾

(¹⁾京都薬科大学・代謝分析学教室*, (²⁾湧永製薬(株)・ヘルスケア研究所**, (³⁾成蹊大学・工学部***)

Insulinomimetic Zinc(II) Complexes with Maltol Derivatives

Yusuke ADACHI¹⁾, Jiro YOSHIDA²⁾, Yukihiro KODERA²⁾, Akira KATOH³⁾, Hiromu SAKURAI¹⁾

¹⁾Department of Analytical and Bioinorganic Chemistry, Kyoto Pharmaceutical University, 5 Nakauchi-cho, Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto 607-8414, Japan

²⁾Healthcare Institute, Wakunaga Pharmaceutical Co., Ltd., 1624 Shimokotachi, Koda-cho, Takatagun, Hiroshima 739-1195, Japan

³⁾Department of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, Seikei University, Musashino, Tokyo 180-8633, Japan

Summary

Since the finding of insulinomimetic effect of zinc(II) ions, several insulinomimetic zinc(II) complexes have been proposed. Previous studies reported an extremely high insulinomimetic activities of zinc(II) complex with maltol ligand in *in vitro* and *in vivo* evaluations. Then we estimated insulinomimetic activities of zinc(II) complexes using several types of maltol ligand. *In vitro* insulinomimetic activity of zinc(II) complexes was estimated by inhibitory effect on free fatty acid (FFA)-release from the isolated rat adipocytes treated with epinephrine (adrenaline). Insulinomimetic activity of zinc(II) complex with allixin, [Zn(alx)₂], was higher than those of ZnSO₄ and other complexes. Moreover, Zn(alx)₂ complex reduced the high blood glucose levels of type 2 diabetic KK-A^y mice. Based on these results, Zn(alx)₂ complex is proposed to be a potent therapeutic agent to treat type 2 diabetes mellitus.

【序】

様々な合併症を誘発する糖尿病の患者数は年々増加傾向にある。近年、亜鉛がインスリン様作用を示すことが見出され、糖尿病の治療薬および予防薬として期待されている¹⁾。亜鉛 (II) イオンは *in vivo* において血糖値降下作用などの抗糖尿病作用を示すが、高用量あるいは長期間の投与でなければそれらの効果を示さない²⁾。そこで我々は活性の上昇、毒性の軽減および吸収性の向上を目的として亜鉛 (II) 錯体を合成してきた³⁾。それらの中で、多くの生理作用を有するマルトールを配位子とした亜鉛 (II) 錯体 [Zn(mal)₂] はすでに2型糖尿病モデル KK-A^y マウスにおいて顕著な血糖値降下作用を示すことが明らかにされている⁴⁾。そこで、マルトール関連化合物を配位子とした種々の亜鉛 (II) 錯体を合成し、それらの *in vitro* および *in vivo* におけるインスリン様作用を比較検討することにより、Zn(mal)₂ 錯体よりも活性の高い亜鉛 (II) 錯体を見出すことを目的とした。

【実験方法】

1. 亜鉛 (II) 錯体の合成：すべての亜鉛 (II) 錯体は水中で ZnSO₄ : 配位子 : Li (OH) を 1 : 2 : 2 の割合で混合する

*所在地：京都市山科区御陵中内町5 (〒607-8414)

**所在地：広島市高田郡甲田町大字下甲立1624 (〒739-1195)

***所在地：東京都武蔵野市吉祥寺北町3-3-1 (〒180-8633)

ことにより合成した (pH 6.0–8.0)。亜鉛 (II) 錯体の構造は赤外吸収 (IR) スペクトル, 元素分析および質量分析により推定した。配位子の分配係数 (Calculated logP ; ClogP) は Solaris ver. 4.67 を用いて算出した

2. *In vitro* におけるインスリン様作用: エピネフリン (アドレナリン) で刺激したラット副腎丸周辺脂肪細胞 (雄性, 7週齢) から放出される遊離脂肪酸 (FFA) を50%抑制する亜鉛 (II) 錯体の濃度を IC_{50} 値として評価した⁵⁾。

3. *In vivo* における血糖値降下作用: 5%アカシア溶液に懸濁したアリキシン-亜鉛 (II) 錯体 [$Zn(alx)_2$] (4.5 mgZn/kg体重) を摂食下で1型糖尿病モデルSTZマウス (雄性, 11週齢) および2型糖尿病モデルKK-A^yマウス (雄性, 44週齢) に単回腹腔内投与し, 経時的に血糖値を測定した。コントロール群には5%アカシア溶液のみ投与した。

【結果および考察】

1. 亜鉛 (II) 錯体の合成

配位子として用いたマルトール関連化合物を Fig. 1 に示した。

合成したすべての亜鉛 (II) 錯体の元素分析値は金属:配位子 = 1 : 2 の理論値と良い一致を示した。さらに質量分析により錯体の金属:配位子の結合比は1 : 2であることを確認した。また, 配位子のIRスペクトルにおいて1650~1700 cm^{-1} に検出されるピロン環のC=O伸縮に基づく吸収帯および3200~3500 cm^{-1} に検出される-OH伸縮に基づく吸収帯は, 錯体ではシフトまたは消失したことから, 合成した錯体はすべて $Zn(O_4)$ 配位様式の錯体であると推定された。

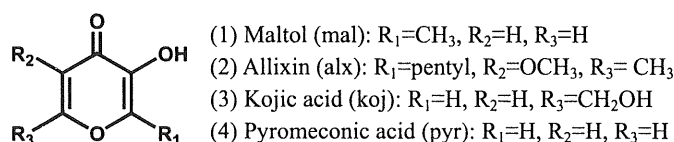


Fig. 1 Structures of maltol derivatives.

2. *In vitro* におけるインスリン様作用

亜鉛 (II) 錯体の *in vitro* におけるインスリン様作用はエピネフリンで刺激したラット脂肪細胞から放出される FFA の遊離抑制効果を指標とした。 $Zn(koj)_2$ 錯体以外の亜鉛 (II) 錯体はラット脂肪細胞からの FFA 放出を濃度依存的に抑制した。それらの抑制効果は $ZnSO_4$ より有意に高かった (Table 1)。さらに, 亜鉛 (II) 錯体の *in vitro* におけるインスリン様活性は $Zn(alx)_2$ 錯体において最も高かった。また, 亜鉛 (II) 錯体の IC_{50} 値と配位子の分配係数 (ClogP) をプロットするとほぼ直線関係を示したため, $Zn(alx)_2$ 錯体の高いインスリン様作用はアリキシンの高い脂溶性に起因すると考えた (Fig. 2)。

Table 1 IC_{50} values of zinc (II) complexes

Ligand	ClogP of ligand	Zinc (II) complexes
		$IC_{50}/mM (\pm S.D)$
$ZnSO_4$	–	1.00 ± 0.07
Allixin	3.89	0.37 ± 0.03
Maltol	1.16	0.54 ± 0.07
Pyromeconic acid	0.57	0.57 ± 0.07
Kojic acid	0.21	none

^aSignificance at $P < 0.01$ vs. $ZnSO_4$

^bSignificance at $P < 0.05$ vs. $Zn(alx)_2$

none: Inert complex

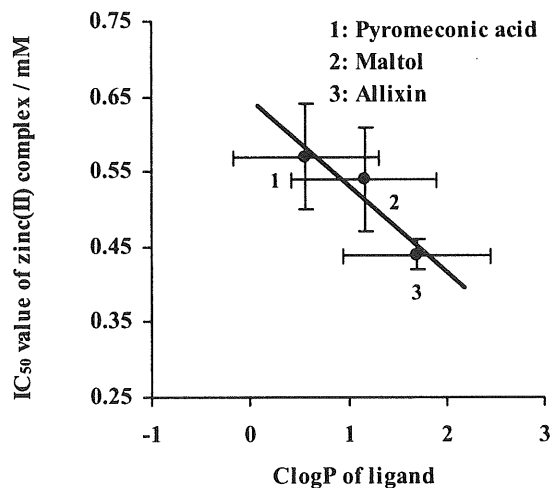


Fig. 2 Correlation between IC_{50} value of zinc(II) complexes and ClogP of ligands.
*Significance at $P < 0.01$ vs. control KK- A^y mice.

3. *In vivo*におけるインスリン様作用

*In vitro*において最も高いインスリン様活性を示したZn(alx)₂錯体を1型糖尿病STZマウスに単回腹腔内投与したが、血糖値の降下は見られなかった。しかし、2型糖尿病モデルKK- A^y マウスに単回腹腔内投与したところコントロール群に比して有意に血糖値が降下した (Fig. 3)。これらの結果は、Zn(alx)₂錯体が2型糖尿病において有効であることを示唆した。

以上の結果より、マルトール関連亜鉛(II)錯体の*in vitro*におけるインスリン様活性は配位子の脂溶性を高めることにより上昇することがわかった。さらに*in vitro*におけるインスリン様活性が最も高かったZn(alx)₂錯体は2型糖尿病モデルKK- A^y マウスにおいて有意に血糖値を降下させることが明らかとなった。

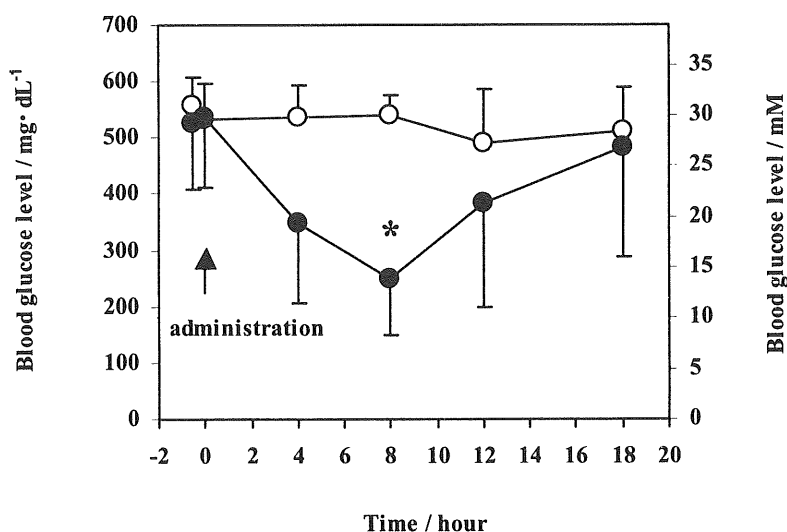


Fig. 3 Changes of blood glucose level in control KK- A^y mice (○) and KK- A^y mice treated with Zn(alx)₂ complex (●). Hyperglycemic KK- A^y mice received intraperitoneal (i.p.) injections of 5% acacia ($n=5$) or Zn(alx)₂ complex (4.5 mgZn/kg body weights). Values are the means \pm SDs for 5 mice.
*Significance at $P < 0.01$ vs. control KK- A^y mice.

【文 献】

1. Coulston, L., and Dandona, P. (1980) *Diabetes* 29: 665.
2. Shisheva, A., Gefel, D., Shechter, Y. (1992) *Diabetes* 41: 982.
3. Sakurai, H., Kojima, Y., Yoshikawa, Y., Kawabe, K., and Yasui, H. (2002) *Coord. Chem. Rev.* 2: 237.
4. Yoshikawa, Y., Ueda, E., Miyake, H., Sakurai, H., and Kojima, Y. (2001) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 281: 1190.
5. Nakai, M., Watanabe, H., Fujisawa, C., Kakegawa, H., Satoh, T., Takada, J., Matsushita, R., and Sakurai, H. (1995) *Biol. Pharm. Bull.* 18: 719.