

亜鉛 (II) -アリキシン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⁾, 吉川 豊¹⁾, 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***)

Insulin-mimetic effects of bis(allixinato) zinc(II) complex

Yusuke ADACHI¹⁾, Jiro YOSHIDA²⁾, Yukihiro KODERA²⁾, Akira KATO³⁾,
Yutaka YOSHIKAWA¹⁾, and 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, Akitakata-shi, Hiroshima 739-1195, Japan

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

[Summary]

Since the finding of insulin-mimetic effect of Zn(II) ion, several insulin-mimetic Zn(II) complexes have been proposed. Previous studies reported an extremely high insulin-mimetic activity of Zn(II) complex with maltol (Zn(ma)₂) in *in vitro* and *in vivo* evaluations. To develop more effective insulin-mimetic Zn(II) complexes than Zn(ma)₂, we examined the structure-activity relationships for the Zn(ma)₂ and its related complexes. From the results, a new Zn(II) complex (Zn(alx)₂) with allixin, isolated from garlic as a bioactive product induced by continuous environmental stress, was found to exhibit the highest *in vitro* insulin-mimetic activity among these complexes. Then, we examined the anti-diabetic effects of Zn(alx)₂ complex in type 2 diabetic animals. The blood glucose lowering effects of Zn(alx)₂ and Zn(ma)₂ were compared, and both complexes were found to lower the high blood glucose level in type 2 diabetic KKA^y mice after a 14-day course of daily i.p. injections. However, Zn(alx)₂ improved glucose tolerance in KKA^y mice much more than Zn(ma)₂, indicating that Zn(alx)₂ possesses a higher *in vivo* anti-diabetic activity than Zn(ma)₂. In addition, Zn(alx)₂ improved the leptin resistance, suppressing the progress of obesity in KKA^y mice. On the basis of these observations, we propose that Zn(alx)₂ complex is a novel potent candidate for the treatment of type 2 diabetes mellitus.

最近、亜鉛 (II) 錯体はインスリン様作用を示すことが見出され、新しいタイプの糖尿病治療薬として注目されている。我々はこれまでに多数の配位様式をもつ錯体を合成し、脂肪細胞による *in vitro* インスリン様活性の評価を行い、亜鉛-マルトール錯体 (Zn(ma)₂) が2型糖尿病に対して顕著な血糖値降下作用を示すことを見出した^{1, 2)}。さらに Zn(ma)₂ 関連錯体の *in vitro* インスリン様活性を比較し、ニンニクから得られたアリキシンを配位子とした亜鉛 (II) 錯体 (Zn(alx)₂) が Zn(ma)₂ より高い *in vitro* インスリン様活性を示すことを見出した^{3, 4)}。本報では2型糖尿病における Zn

*所在地：京都市山科区御陵中内町5 (〒607-8414)

**所在地：広島県安芸高田市甲田町下甲立1624 (〒739-1195)

***所在地：東京都武蔵野市吉祥寺北町3-3-1 (〒180-8633)

(alx)₂の抗糖尿病効果について検討し、Zn(ma)₂と比較した結果を報告する。

【実験方法】

1. 亜鉛(II)錯体の合成

水中でZnSO₄:配位子:Li(OH)を1:2:2の割合で混合することにより合成した(pH 6.0-8.0)。亜鉛(II)錯体の構造はIRスペクトル、元素分析および質量分析により推定した。

2. 2型糖尿病KKA^yマウスにおける抗糖尿病作用

5%アカシア溶液に懸濁した亜鉛(II)錯体(4.5 mg Zn/kg体重)を肥満2型糖尿病KKA^yマウスに14日間毎日腹腔内投与し、血糖値、体重、摂食量および摂水量をモニターした。血糖値は尾静脈から得た血液をグルコカード(アークレイ, 京都)により測定した。また、14日間投与後に眼窩採血し、血清インスリン、レプチンおよびその他の血清パラメータ値を測定した。血清インスリンおよびレプチンはそれぞれGlazyme insulin-EIA test(三洋化成工業, 京都)およびAN'ALYZA(TECHNE, USA)により測定した。耐糖能の評価は経口糖負荷試験により行った。経口糖負荷試験はKKA^yマウスを12時間絶食した後、体重あたり1 gのグルコースを経口投与し、経時的に血糖値を測定することにより行った。

【結果および考察】

1992年にShishevaらは1型糖尿病STZラットにZnCl₂(100 mg/kg体重)を単回腹腔内投与することにより血糖値降下作用を示すことを見出している⁶⁾。しかし、本研究における投与量よりも極めて高いことから、亜鉛は1型糖尿病に対し高投与量でのみ有効であると考えられた。一方、我々は低投与量のZn(alx)₂(4.5 mg Zn/kg体重)を2型糖尿病KKA^yマウスに単回腹腔内投与することにより、血糖値降下作用が現れることを見出した⁵⁾。これらの結果およびZn(ma)₂関連錯体(10 mg Zn/kg体重)がストレプトゾトシン誘導1型糖尿病STZマウスにおいて、血糖値降下作用を示さないことを合わせて考えると、亜鉛錯体は1型より2型糖尿病に対して有効であると考えられる。そこで、本研究ではZn(alx)₂の2型糖尿病における抗糖尿病作用について検討し、その効果をZn(ma)₂と比較することとした。

Zn(alx)₂をKKA^yマウスに14日間毎日腹腔内投与したところ、顕著な血糖値降下作用を示すことが分かった(Fig. 2)。その作用はZn(ma)₂と同程度だった。しかし、投与終了後における経口糖負荷試験の結果からは、Zn(alx)₂はZn(ma)₂より顕著に耐糖能を改善させることが分かった(Fig. 3A)。さらに、Zn(alx)₂はZn(ma)₂よりも有意に血清インスリン値を低下させた(Fig. 3B)。我々はすでに*in vitro*インスリン様活性が配位子の分配係数(log*P*)に依存することを報告した⁴⁻⁵⁾。アリキシン(log*P* = 1.65 ± 0.03)の分配係数はマルトール(log*P* = 0.60 ± 0.01)より高いため、Zn(alx)₂の高い耐糖能改善効果は配位子の高い脂溶性に依存していると考えた。これらの結果から、*in vitro*および*in vivo*においてZn

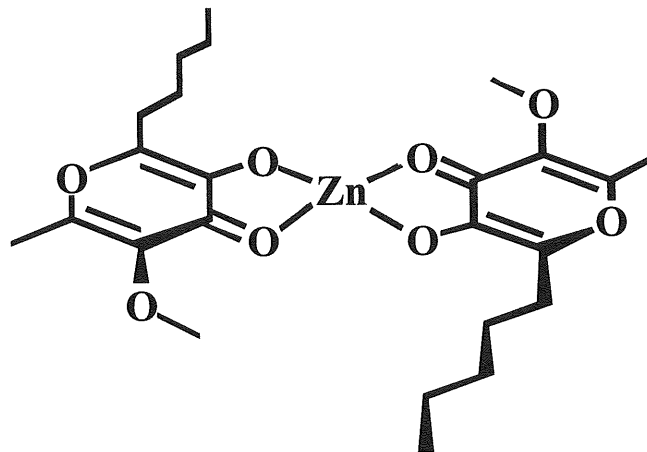


Fig. 1 Structure of bis(allixinato)oxovanadium complex

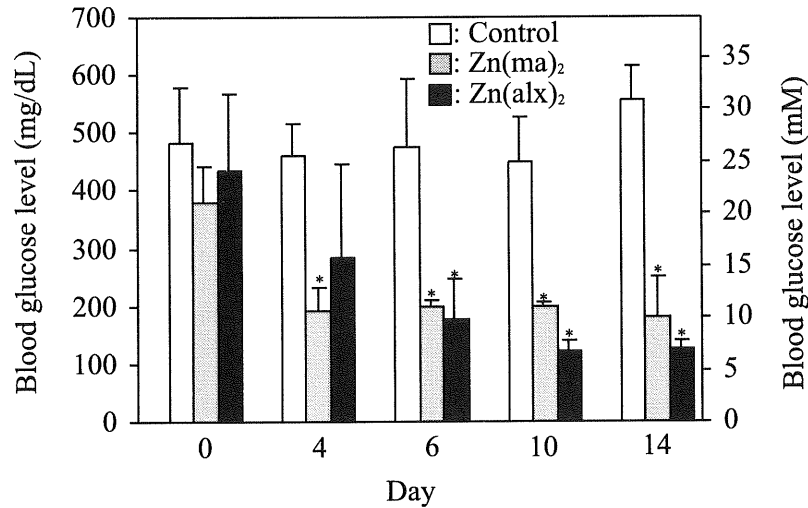


Fig. 2 Changes of blood glucose level in KKA^y mice treated with Zn(ma)₂ or Zn(alx)₂ by daily intraperitoneal (*i.p.*) injections for 14 days (doses were 4.5 mg (68.8 μmol) Zn/kg of body weights for the first two days and the doses were adjusted at 2.0-4.5 mg (30.6-68.8 μmol) Zn/kg according to the daily changes of blood glucose levels). Data are expressed as the means ± SDs for 4-5 mice.

*Significance at $p < 0.01$ vs. the control

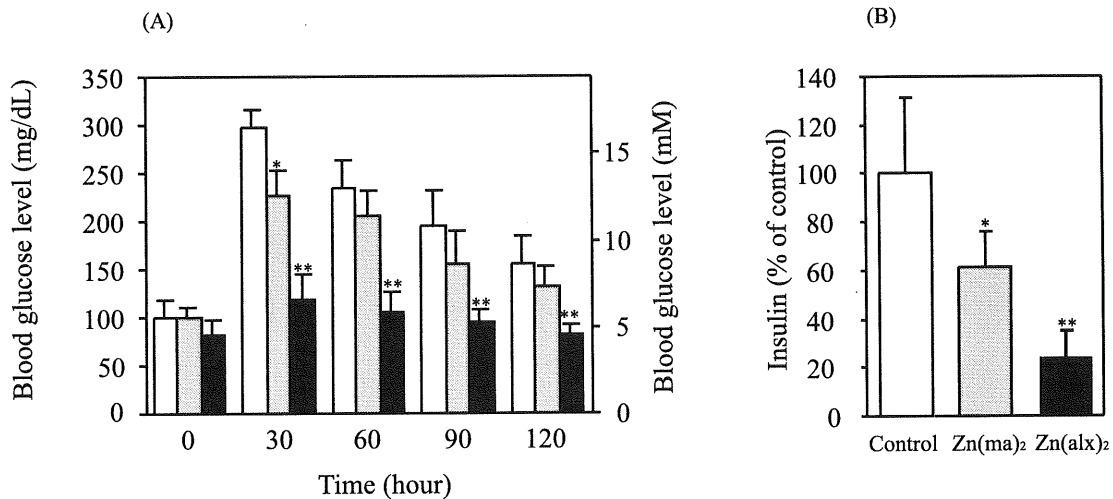


Fig. 3 Oral glucose tolerance tests (OGTT) for KKA^y mice after daily *i.p.* administrations of Zn(ma)₂ or Zn(alx)₂ for 14 days [A]. Changes of insulin levels (%) of KKA^y mice after daily *i.p.* administrations of Zn(ma)₂ or Zn(alx)₂ for 14 days [B]. Data are expressed as the mean ± SDs (n=4-5).

*Significance at $p < 0.05$ vs. the control, **Significance at $p < 0.01$ vs. the control.

(alx)₂はZn(ma)₂より高活性な亜鉛錯体であることが分かった。

さらに、Zn(alx)₂は血清レプチン値を有意に低下させると同時に体重の増加を抑制した (Table 1)。レプチンは摂食抑制および糖代謝を調節する白色脂肪細胞由来のタンパク質であり、肥満を抑制する因子として知られている⁷⁾。KKA^yマウスはレプチン抵抗性に基づく高レプチン血症であるため、肥満症状を示す。これらのことから、Zn(alx)₂はレプチン抵抗性を改善して肥満を抑制することが分かった。

以上の結果から、Zn(alx)₂は2型糖尿病に対して顕著な血糖値降下作用を示し、耐糖能を改善することが分かった。それらの効果はZn(ma)₂よりも強いことが分かった。さらに、Zn(alx)₂はレプチン抵抗性を改善することにより肥満

を抑制した。我々は、新たな高活性亜鉛錯体 $Zn(alx)_2$ を見出すとともに亜鉛錯体の新たな抗糖尿病作用を明らかにした。

Table 1 Serum parameters and the increased rate of body weight gain (%) of KKA^y mice treated with daily $Zn(alx)_2$ i.p. injections of 14 days

| | Control | $Zn(alx)_2$ |
|-----------------|-------------|---------------|
| Leptin (ng/mL) | 42 ± 4 | 2.0 ± 1.1** |
| UN (mg/dL) | 37 ± 4 | 23 ± 3** |
| GOT (U/L) | 105 ± 16 | 120 ± 19 |
| GPT (U/L) | 69 ± 14 | 60 ± 14 |
| TCHO (mg/dL) | 120 ± 17 | 124 ± 11 |
| TG (mg/dL) | 149 ± 17 | 102 ± 32* |
| FFA (mEq/L) | 0.50 ± 0.08 | 0.63 ± 0.11 |
| Weight gain (%) | 9.1 ± 1.8 | - 5.0 ± 0.8** |

Data are expressed as the means ± SDs for 5 mice.

** Significance at $P < 0.01$ vs. control

* Significance at $P < 0.05$ vs. control

【文 献】

1. Sakurai, H., Kojima, Y., Yoshikawa, Y., Kawabe, K., and Yasui, H. (2002) *Coord. Chem. Rev.* 223: 187.
2. Yoshikawa, Y., Ueda, E., Miyake, H., Sakurai, H., and Kojima, Y. (2001) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 281: 1190.
3. Kodera, Y., Ayabe, M., Ogasawara, K., Yoshida, S., Hayashi, N., and Ono, K. (2002) *Chem. Pharm. Bull.* 50: 405.
4. Adachi, Y., Yoshida, J., Kodera, Y., Kato, A., Yoshikawa, Y., Kojima, Y., and Sakurai, H. (2004) *J. Biol. Inorg. Chem.* 9: 885.
5. 安達祐介, 吉田治郎, 小寺幸広, 加藤明良, 桜井 弘 (2003) *微量栄養素研究* 20: 101.
6. Shisheva, A., Gefel, D., Shechter, Y. (1992) *Diabetes* 41: 982.
7. Pellemounter, M.A., Cullen, M.J., Baker, M.B., Hecht, R., Winters, D., Boone, T., Collins, F. (1995) *Science* 269: 540.