

機関番号：34306

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590551

研究課題名（和文） 肥満抑制および改善作用を有する亜鉛含有医薬品の開発

研究課題名（英文） Development of inorganic zinc-containing medicines with anti-obesity action

研究代表者

安井 裕之 (YASUI HIROYUKI)

京都薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：20278443

研究成果の概要（和文）：数種類の亜鉛錯体について、配位子・錯体の合成、物性解析、インビトロ実験（ラット遊離脂肪細胞、マウス由来 3T3-L1 培養脂肪細胞、ラット小腸由来  $\alpha$ -グルコシダーゼ、ブタ膵臓由来リパーゼ）による活性評価、実験モデル動物を用いたインビボ実験による検討を行った。その結果、天然物であるトロポロンの誘導体を配位子とした亜鉛錯体の中に、従来と比較してより高い血糖効果作用を有する高活性のチオトロポロン亜鉛錯体を見出した。さらに、経口投与による高い血糖降下作用が見出されたチオトロポロン亜鉛錯体に関して、体内動態解析にもとづいた標的臓器の特定、および抗肥満作用の検討を行った。その結果、本錯体は主に肝臓と筋肉に分布し、これらの臓器に作用して糖代謝を改善させた。一方、脂肪組織には分布せず、脂肪組織には作用しなかった。この体内動態特性により、本錯体は肥満抑制効果を示さず、むしろ、高脂血症を亢進させる副作用が認められた。これは、肝臓で産生されたトリグリセライドが脂肪組織へと効率的に蓄積されなかったためと考えた。今後は、糖代謝を司る肝臓、筋肉に加えて脂肪組織にも移行して作用する亜鉛錯体、すなわち、脂肪組織へ高濃度に分布して、その機能を正常化させる亜鉛錯体を分子設計する必要があると結論された。

研究成果の概要（英文）：Several anti-diabetic zinc(II) complexes have been developed on the basis of synthesis of ligands and complexes, evaluation of physico-chemical properties, in vitro assays such as inhibition of free fatty acid from freshly isolated rat adipocytes, enhancement of adiponectin secretion in 3T3-L1 cultured adipocytes, inhibition of  $\alpha$ -glucosidase from rat small intestine and lipase from porcine pancreas, in vivo animal experiments using type 2 diabetic model KKA<sup>y</sup> mice. From these studies, zinc-thiotropone complex of which ligand is derived from natural compounds was found to exhibit more hypoglycemic action than usual by oral administration. Then, pharmacokinetic (PK) analysis and organ distribution of this complex were examined by determination of radio-labeled zinc tracer (<sup>65</sup>Zn) in order to evaluate the target organs, and in addition anti-obesity action was investigated. Zinc-thiotropone complex was distributed to liver and muscle which enhanced the improvement of glucose metabolism; however, this complex was not distributed to adipose tissues and exhibited no action. This disposition property led to no anti-obesity action but side-effect of hyperlipemia, which might be caused by insufficient transfer and accumulation of triglyceride produced in liver to adipose tissues. In the future study, we need to molecular-design and develop zinc complexes with distribution and action properties to liver, muscle and adipose on the basis of PK-pharmacodynamic analysis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：代謝分析学、生命錯体化学、薬物動態学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：肥満抑制作用、メタボリック症候群、2型糖尿病、亜鉛錯体、体内動態、膵リパーゼ阻害

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 21世紀の最大の生活習慣病と位置づけられている難治性疾患糖尿病は、わが国には治療中および潜在患者を含めると1600万人に達すると言われている。全世界では2003年に1億9400万人へ到達し、2030年には3億5000万人まで増加すると予想されている。WHOは、糖尿病を1型（インスリン依存性、患者の約10%）と2型（インスリン非依存性、患者の約90%）に分類している。インスリン合成の絶対的不足である1型糖尿病は、若年性糖尿病とも言われ、25歳前後までに発症する例が多い。1型糖尿病の治療法は、1日に数回の血糖値測定とその結果にもとづくインスリンの皮下注射しかないのが現状である。そのため、インスリン注射に代わる経口治療薬の開発が望まれている。一方、2型糖尿病は肥満・ストレス・加齢などが原因するといわれ、治療法は運動、食事療法に加えて合成血糖降下薬の投与が中心である。これまで多くの合成治療薬が開発されているが、長期服用による副作用発現などの点で幾多の問題が残されていると共に、年齢の進行と共にインスリン注射に頼らざるを得なくなる。

(2) 申請者らは、微量元素バナジウムと生体との相互作用について着目し、インスリンに代わりうる無機医薬品の開発を目指して、多数の金属錯体のインスリン様作用を模索した結果、1型糖尿病は4価バナジウム（バナジル）錯体を経口投与することにより治療されることを、1型糖尿病実験動物を用いて明らかにした。すなわち、インスリン療法とはまったく異なる糖尿病治療法があることを見出した。その後、安全性の高い配位子を用いて各種の配位構造を有するバナジウム錯体を合成し、検討を重ねたところ、バナジル-アリキシン錯体は1型のみならず2型糖尿病をも治療できることを、実験動物を用いて明らかにした。現在、カナダのブリティッシュコロンビア大学薬学部のグループが中心となり、バナジル錯体の臨床試験が進行中である。2007年以降、イギリスで糖尿病患者に投与されるフェーズII試験が開始されており、世界的な注目が集められている。

(3) 申請者らはバナジル錯体のみならずその他の生体関連元素の錯体にも探索を広げてインスリン様作用を検討したところ、亜鉛錯体の投与による糖尿病治療作用を見出した。その後、多様な錯体を合成し、亜鉛錯体の構造活性相関性を明らかにしてきた。特に、2

004年から2006年の3年間の研究成果から、バナジル錯体の経口投与は1型および2型の両糖尿病に、一方、亜鉛錯体の経口投与は2型糖尿病に有効であることを明らかにしてきた。金属元素の錯体による薬理活性の相違は、作用機構の違いによるものと考え、脂肪細胞や消化管上皮細胞を用いて細胞内への取り込みと作用点の検索などの観点から検討を進めたところ、新たな作用様式の相違が示された。すなわち、一部の亜鉛錯体に糖質吸収に関わる消化管の $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用や、善玉アディポカインであるアディポネクチンの分泌促進作用が見出された。これにより、有効な亜鉛錯体を開発できれば、現在先進国で大きな問題となっている（今後は発展途上国でも問題となりうる）メタボリックシンドロームを改善・予防できる可能性があり、動脈硬化性疾患の発症リスクを軽減する可能性があることが分かった。

### 2. 研究の目的

(1) このような状況下で、申請者らはこれまでの経験を生かして、高活性の新規亜鉛錯体に関して①糖尿病改善作用のみならず、糖質吸収に関わる $\alpha$ -グルコシダーゼや脂肪吸収に関わる膵リパーゼと亜鉛錯体との相互作用の点から肥満抑制・改善作用を解明すること、さらに②従来のPPAR $\gamma$ アゴニストであるチアゾリジン化合物に代わる臨床応用可能な新しいアディポネクチン分泌薬としての亜鉛含有無機医薬品を開発することを目的とし、3年間の研究を計画した。最終目標は、高脂肪食による肥満発症モデル動物のメタボリックシンドロームの改善である。

(2) 経口投与により肥満を改善・予防する亜鉛含有医薬品の開発を目指し、具体的な以下の5項目を研究期間内の目標とした。

- ①  $\alpha$ -グルコシダーゼを阻害して食事摂取からの糖質吸収を抑制する亜鉛錯体の開発。
- ② 膵リパーゼを阻害して食事摂取からの脂肪吸収を抑制する亜鉛錯体の開発。
- ③ 脂肪組織へ高分布し、アディポネクチンの分泌を促進する亜鉛錯体の開発。
- ④ 筋肉や肝臓へ高分布し、糖新生を抑制し、脂質代謝を改善する亜鉛錯体の開発。
- ⑤ これらの亜鉛錯体を組み合わせた無機医薬品の新規カクテル製剤の開発。

### 3. 研究の方法

本研究では、有機化学・無機化学・物理化学的アプローチとして(1)配位子合成・新規

錯体合成、(2)錯体の構造解析、生化学的アプローチとして(3)遊離細胞レベルにおけるインスリン様作用の評価・培養細胞レベルにおけるアディポネクチン分泌作用の評価、(4)real-time PCR法を用いた錯体の作用機構解明、(5)ウェスタンブロット法を用いた錯体の作用機構解明、(6)インビトロ系における $\alpha$ -グルコシダーゼおよび腓りパーゼ阻害作用、薬理的アプローチとして(7)実験糖尿病動物での血糖正常化作用および実験肥満動物での肥満改善作用の評価、(8)インビボレベルにおけるインスリン抵抗性改善の機構解明、(9)インビボレベルにおける肥満改善の機構解明、薬剂的アプローチとして(10)亜鉛錯体の消化管吸収、タンパク結合性、組織分布および体内動態の理論的解析、創薬的アプローチとして(11)有効な亜鉛錯体のインビトロ・インビボにおける構造活性相関性の確立について研究を進め、これらを総合して合理的分子設計を行い、最終的に臨床へ向けた亜鉛含有医薬品を決定する。

#### 4. 研究成果

2008年度は、有望な亜鉛錯体に関する配位子・錯体の合成、それらの物性解析、インビトロ実験系(ラット遊離脂肪細胞、マウス由来3T3-L1培養脂肪細胞、ラット小腸由来 $\alpha$ -グルコシダーゼ、ブタ膵臓由来リパーゼ)を用いた活性評価を中心に検討を行った。その結果、天然物であるトロポロンの誘導体を配位子とした亜鉛錯体の中に、従来と比較してより高活性な化合物が見出された。

2009年度は、前年度の結果にもとづいて天然物であるトロポロンの誘導体を配位子とした亜鉛錯体を中心とした、インビボ実験系における検討を行い、従来と比較してより高い血糖効果作用を有するチオトロポロン亜鉛錯体を見出した。

2010年度は、経口投与による高い血糖降下作用が見出されたチオトロポロン亜鉛錯体に関して、体内動態解析を含めたインビボにおける標的臓器の特定、および抗肥満作用の検討を行った。その結果、本錯体の作用臓器は主に肝臓と筋肉であり糖代謝を改善させるが、脂肪組織にはほとんど移行しないため作用も顕著に見られず、肥満抑制効果は認められなかった。むしろ、肝臓で産生されたトリグリセライドが脂肪組織へと効率よく蓄積される過程には作用しないため、高脂血症が亢進される副作用が認められた。

今後は、糖代謝を司る肝臓、筋肉に加えて脂肪組織にも移行して作用する亜鉛錯体、すなわち、脂肪組織へ高濃度に分布して、その機能を正常化させる亜鉛錯体を分子設計する必要があると結論された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

- ① Yutaka Yoshikawa, Akito Murayama, Yusuke Adachi, Hiromu Sakurai and Hiroyuki Yasui, Challenge of studies on the development of new Zn complexes ( $Zn(opt)_2$ ) to treat diabetes mellitus, *Metallomics*, 査読有, Vol.3, 2011, in press
- ② Hiraku Kawarada, Yutaka Yoshikawa, Hiroyuki Yasui, Shunsuke Kuwahara, Yoichi Habata, Makoto Tamaki, and Ryota Saito, Synthesis and in vitro insulin-mimetic activities of zinc(II) complexes of ethyl 2,5-dihydro-4-hydroxy-5-oxo-1H-pyrrole-3-carboxylates, *Metallomics*, 査読有, Vol.3, 2011, in press
- ③ Yutaka Yoshikawa and Hiroyuki Yasui, Zinc complexes developed as metallo-pharmaceuticals for treating diabetes mellitus based on the bio-medicinal inorganic chemistry, *Curr. Topics Med. Chem.*, 査読有, Vol.11, 2011, in press
- ④ Yuki Naito, Yutaka Yoshikawa, and Hiroyuki Yasui, Cellular mechanism of Zinc-hinokitiol complexes in diabetes mellitus, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 査読有, Vol.84, 2011, 298-305
- ⑤ Yutaka Yoshikawa, Ryoko Hirata, Hiroyuki Yasui, Masakazu Hattori, Hiromu Sakurai, Inhibitory effect of  $CuSO_4$  on alpha-glucosidase activity in ddY mice, *Metallomics*, 査読有, Vol.2, 2010, 67-73
- ⑥ Yutaka Yoshikawa, Ryoko Hirata, Hiroyuki Yasui, Hiromu Sakurai, Alpha-glucosidase inhibitory effect of anti-diabetic metal ions and their complexes, *Biochimie*, 査読有, Vol.91, 2009, 1339-1341
- ⑦ Hiromu Sakurai, Yutaka Yoshikawa and Hiroyuki Yasui, Current state for the development of metallopharmaceuticals and anti-diabetic metal complexes, *Chemical Society Review*, 査読有, Vol.37, 2008, 2383-2392
- ⑧ 小嶋良種、小倉哲也、吉川 豊、市村彰男、安井裕之、桜井 弘、グルコン酸亜鉛及びグルコン酸銅を用いた保険機能食品の開発—テキーラの原料植物アガベから取った水溶性食物繊維(アガベ・イヌリン)の効果—、グルコン酸の研究、査読有、1巻、2008、2-15

〔学会発表〕(計28件)

- ①藤本重行、吉川 豊、安井裕之、抗糖尿病作用を有する新規亜鉛錯体の開発研究 - HSAB 則に基づいた構造活性相関 -、日本薬学会第 131 年会、2011. 3. 30、静岡
- ②竹田万里子、吉川 豊、安井裕之、高脂肪食が糖代謝および微量元素の体内分布に及ぼす影響、日本薬学会第 131 年会、2011. 3. 30、静岡
- ③Yuki Naito, Yutaka Yoshikawa, Hiroyuki Yasui, Action mechanism of insulinomimetic Zn complexes in insulin signaling pathway of 3T3-L1 adipocytes, Pacificchem2010, 2010. 12. 15, Honolulu, Hawaii
- ④ Yutaka Yoshikawa, Naoko Seta, Ryoko Hirata, Hiromu Sakurai, Hiroyuki Yasui, alpha-Glucosidase and ACE inhibitory effects of Zn and various first transition metals, Pacificchem2010, 2010. 12. 15, Honolulu, Hawaii
- ⑤ 吉川 豊、村山彰人、安達祐介、桜井 弘、安井裕之、2-メルカプトピリジン-N-オキシドを配位子にもつ金属錯体の抗糖尿病作用、第2回メタロミクス研究フォーラム、2010. 11. 3、京都
- ⑥ 邑上裕紀、吉川 豊、安井裕之、血糖降下作用を有する亜鉛錯体の体内動態解析、第2回メタロミクス研究フォーラム、2010. 11. 3、京都
- ⑦ 齋藤良太、河原田 光、吉川 豊、安井裕之、糖尿病合併症治療薬候補化合物を配位子とした亜鉛錯体の合成とインスリン様活性評価、第2回メタロミクス研究フォーラム、2010. 11. 3、京都
- ⑧ 舘 祥光、前岡嘉晃、吉川 豊、安井裕之、森本善樹、天然ポリウロン酸類を用いた亜鉛複合体の合成と薬理活性、第2回メタロミクス研究フォーラム、2010. 11. 3、京都
- ⑨ 本田哲郎、傳寶和佳子、安井裕之、吉川 豊、抗糖尿病作用を有する亜鉛錯体のラット赤血球移行性、第21回日本微量元素学会、2010. 7. 6、京都
- ⑩ 内藤行喜、吉川 豊、安井裕之、3T3-L1 脂肪細胞のインスリンシグナル経路におけるインスリン様亜鉛錯体の作用機序、日本薬学会第 130 年会、2010. 3. 30、岡山
- ⑪ 邑上裕紀、吉川 豊、夏目優太郎、安井裕之、高い抗糖尿病作用を有する亜鉛錯体の作用メカニズム解明へのアプローチ、日本薬学会第 130 年会、2010. 3. 30、岡山
- ⑫ 吉川 豊、桜井 弘、安井裕之、糖尿病克服を目指した新規亜鉛錯体の開発研究に挑む、日本薬学会第 130 年会一般シンポジウム、2010. 3. 30、岡山
- ⑬ 安井裕之 (招待講演)、第一遷移系列金属の生命錯体化学を基盤としたファーマコメタロミクス研究、日本薬学会第 130 年会一般シンポジウム、2010. 3. 30、岡山
- ⑭ 前岡嘉晃、吉川 豊、安井裕之、森本善樹、舘 祥光、ウロン酸及びその類縁体を配位しとする亜鉛錯体の合成、日本化学会第 90 春季年会、2010. 3. 26、大阪
- ⑮ 邑上裕紀、松尾岳志、吉川 豊、安井裕之、亜鉛トロポノイド錯体の抗糖尿病作用-硫黄原子導入による構造活性相関-、第28回メディシナルケミストリーシンポジウム、2009. 11. 25、東京
- ⑯ 傳寶和佳子、吉川 豊、安井裕之、複数の物理化学的特性にもとづいた亜鉛錯体のラット赤血球移行性、第59回日本薬学会近畿支部総会・大会、2009. 10. 25、大阪
- ⑰ 安井裕之 (招待講演)、微量元素と糖尿病 - 特にメタボリックシンドローム -、第11回神戸「食と健康」研究会、2009. 10. 17、神戸 (神戸女子大学)
- ⑱ 前岡嘉晃、吉川 豊、安井裕之、森本善樹、舘 祥光、天然多糖類の構成成分ウロン酸を配位子に用いた亜鉛錯体の構造と機能、第59回錯体化学討論会、2009. 9. 25、長崎
- ⑲ 安井裕之 (招待講演)、私たちの健康と生体微量元素、立命館大学土曜講座、2009. 9. 12、京都 (立命館大学)
- ⑳ Ryota Saito, Hikaru Kawarada, Yutaka Yoshikawa, Hiroyuki Yasui, Synthesis and Insulin-Mimetic activities of zinc(II) complexes with ethyl 2,5-dihydro-4-hydroxy-5-oxo-1H-pyrrole-3-carboxylates, 14th International Conference on Biological Inorganic Chemistry, 2009. 7. 25, 名古屋
21. 安井裕之 (招待講演)、臓器観測用インビボ ESR 法と統合理論による Mechanism-based PK-PD 解析、岡山シンポジウム「最先端計測技術のトレンド2009」、2009. 6. 29、岡山 (岡山大学・薬学部)
22. 吉川 豊、村山彰人、安達祐介、桜井 弘、安井裕之、抗糖尿病・抗酸化作用を有する高活性第一遷移系列金属錯体の探索、第129回日本薬学会年会、2009. 3. 28、京都
23. 前岡嘉晃、吉川 豊、安井裕之、舘 祥光、ウロン酸を配位子に用いた亜鉛錯体の合成、日本化学会第 89 春季年会、2009. 3. 25、東京
24. 吉川 豊、栗山芳樹、金岡千明、安井裕之、第一遷移系列金属イオン及び金属錯体を用いた隣リパーゼの阻害効果、第一回メタロミクス研究フォーラム、2008. 11. 28、東京
25. 吉川 豊、平田良子、安井裕之、桜井 弘、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用を有する各種金属および金属錯体、第27回メディシナルケミストリーシンポジウム、2008. 11. 27、大阪

26. 吉川 豊、安達祐介、安井裕之、桜井 弘、  
経口投与可能なバナジウム—および亜鉛—  
—ステアリン酸錯体の抗糖尿病作用、第58  
回日本薬学会近畿支部総会・大会、  
2008.10.25、神戸

27. Yutaka Yoshikawa, Ryoko Hirata,  
Hiroyuki Yasui, and Hiromu Sakurai,  $\alpha$ -  
-Glucosidase inhibitory effect of first  
transition metals, The fourth  
international conference on metals and  
genetics, 2008.7.23, Paris

28. Yutaka Yoshikawa, Akito Murayama,  
Yusuke Adachi, Hiroyuki Yasui and Hiromu  
Sakurai, Orally active anti-diabetic Zn  
(II) complexes with 2-mercaptopyridine  
N-oxide, 第18回金属の関与する生体関連  
反応シンポジウム, 2008.6.5, 名古屋

[図書] (計6件)

①安井裕之、吉川 豊、分析化学プラクティ  
ス第2版、京都廣川書店、2011、197頁

②廣田 俊、安井裕之、生命錯体無機化学の  
サブノート、京都廣川書店、2010、178頁

③安井裕之、吉川 豊、臨床分析学のサブノ  
ート、京都廣川書店、2010、152頁

④安井裕之、吉川 豊、薬学分析科学の最前  
線 (分担執筆 p.16-17)、じほう、2009、  
185頁

⑤安井裕之、吉川 豊、分析化学プラクティ  
ス—解説と演習により深まる理解—、京都  
廣川書店、2009、191頁

⑥廣田 俊、安井裕之、生命錯体化学のサブ  
ノート—生命元素の化学・生物学を医薬品  
開発に活かす—、京都廣川書店、2008、136  
頁

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称：ミネラル吸収促進食品、ミネラル吸収  
食品及びミネラル吸収促進方法

発明者：小嶋良種、小倉哲也、吉川 豊、安  
井裕之

権利者：株式会社アガベ

種類：特開

番号：2009-254359 (P2009-254359A)

出願年月日：2009.3.24

国内外の別：国内

○取得状況 (計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

[http://www.kyoto-phu.ac.jp/labo/taisya/  
index.html](http://www.kyoto-phu.ac.jp/labo/taisya/index.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安井 裕之 (YASUI HIROYUKI)

京都薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：20278443

(2) 研究分担者

吉川 豊 (YOSHIKAWA YUTAKA)

京都薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：20388028

(3) 連携研究者

廣村 信 (HIROMURA MAKOTO)

独立行政法人理化学研究所神戸研究

所・分子イメージングセンター・協力研

究員

研究者番号：30411036