

ハロゲン化ピコリン酸誘導体／亜鉛(II)錯体のインスリン様作用

山元周平¹, 吉川 豊¹, 植田英里好¹, 山下徹志¹,
梶原苗美², 桜井 弘³, 小嶋良種*¹

¹大阪市立大学大学院理学研究科, ²神戸女子大学家政学部,
³京都薬科大学代謝分析学教室

Insulinomimetic activity of zinc (II) complexes with halogenated picolinic acids.

Shuhei Yamamoto¹, Yutaka Yoshikawa¹, Eriko Ueda¹, Tetushi Yamashita¹, Naemi Kajiwara²,
Hiromu Sakurai³, and Yoshitane Kojima¹

¹ Department of Chemistry, Graduate School of Science, Osaka City University, ² Graduate School of Life Science, Kobe Women's University, ³ Department of Analytical and Bioinorganic Chemistry, Kyoto-Pharmaceutical University

Abstract

We prepared six new zinc(II) complexes of halogenated picolinic acids with a Zn(N₂O₂) coordination mode and evaluated for their insulinomimetic activities by *in vitro* study. By introducing an electron withdrawing halogen groups into the picolinic acid, we prepared bis(4- or 6-chloro picolinato), bis(4-, 5- or 6-iodo picolinato), and bis(6-bromo picolinato)/zinc(II) complexes (Zn(4cpa)₂, Zn(6cpa)₂, Zn(4ipa)₂, Zn(5ipa)₂, Zn(6ipa)₂, and Zn(6bpa)₂, respectively). By *in vitro* evaluation of the inhibition of free fatty acid (FFA) release from isolated rat adipocytes in the presence of epinephrine, the insulinomimetic activities of Zn(4cpa)₂, Zn(6cpa)₂, Zn(4ipa)₂, Zn(6ipa)₂, and Zn(6bpa)₂ (IC₅₀ = 0.64, 0.60, 0.77, 0.85, and 0.50 mM, respectively) were found to be higher than that of bis(picolinato)/zinc(II) complex (Zn(pic)₂) (IC₅₀ = 1.00 mM) in terms of IC₅₀ value, the 50% inhibition concentrations for the FFA release from rat adipocytes.

Key word: diabetes, insulinomimetic activity, zinc(II) complex, picolinic acid derivatives

1. はじめに

糖尿病の治療には種々のインスリン製剤や薬剤、運動療法や食事療法が用いられているが、それらの治療法にはいくつかの問題点がある。特に、経口薬剤の副作用の報告は多く、副作用の少ない薬剤の開発が世界中で行われている。そのような背景下、種々の金属元素の血糖値降下作用が報告されてきた。著者らはそれら

金属の中でも、亜鉛に注目し研究を行ってきた[1,2]。著者らは、ピコリン酸／亜鉛(II)錯体のインスリン様作用が *in vitro* で亜鉛イオンより高いことをすでに明らかにした。さらに、電子供与性の置換基であるアルキル基を導入した、メチルピコリン酸やエチルピコリン酸／亜鉛(II)錯体のインスリン様作用がピコリン酸／亜鉛(II)錯体より高いことも明らかにした[3]。本研究では、電子吸引性の置換基であるハロゲン基を導入した種々のハロゲン化ピコリン酸／亜鉛(II)錯体を合成し、それらのインスリン様作用を *in vitro* 系で評価した。

連絡先：和泉市鶴山台 4-7-3

FAX：06-6605-2522

e-mail：kojima@sci.osaka-cu.ac.jp

論文受理日：平成16年1月26日

2. 実験方法

2-1 配位子及び亜鉛(II)錯体の合成

4-と5-ヨードピコリン酸(4ipa と 5ipa)は、文献既知の方法により合成した[4,5]。6-ヨードピコリン酸(6ipa)は、4-ヨードピコリン酸の合成法に従って行った。6-クロロピコリン酸(6cpa)は過マンガン酸カリウムを用いる一般的な酸化法により 6-クロロ-2-メチルピリジンより合成した。4-クロロピコリン酸(4cpa)と 6-ブロモピコリン酸(6bpa)は、市販品を用いた。用いた配位子の構造を図1に示す。4cpa、4ipa、5ipa、6ipa の各配位子と水酸化リチウムの水溶液に、塩化亜鉛水溶液を

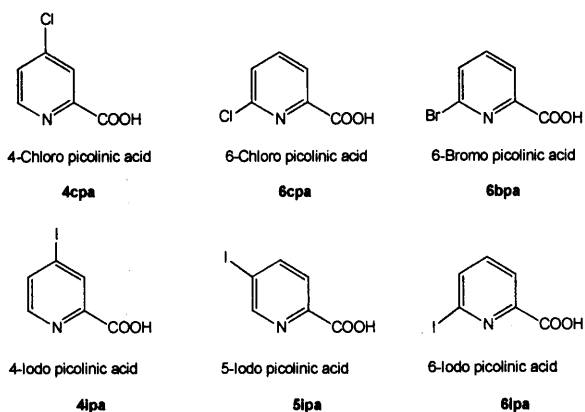


Fig 1. Structural formulae of halogenated picolinic acids

滴下し、析出した白色固体をろ別後、その固体を熱水で洗浄して目的の錯体を得た。6cpa と 6bpa を配位子にもつ亜鉛錯体は、各配位子に水酸化バリウムを加えた水溶液に、硫酸亜鉛水溶液を滴下し、一夜攪拌放置後、析出した白色固体 (BaSO₄) をろ別し、ろ液を濃縮乾固して目的物を得た。

2-2 インスリン様作用の評価

インスリン様作用の評価は、Nakai らの方法にもとづいて行った[6]。インスリンが脂肪酸の遊離を抑制する点に着目し、亜鉛(II)錯体の脂肪酸遊離抑制作用を測定することにより、間接的にインスリン様作用を評価した。すなわち、ラット脂肪細胞にそれぞれの亜鉛(II)錯体を加えてプレインキュベートし、続いてエピネフリンを作用させてインキュベート後、遊離した脂肪酸の濃度を測定することによりインスリン様作用を評価した。

3. 結果および考察

3-1 亜鉛(II)錯体の分子構造

電子吸引性の配位子である Zn(4ipa)₂ 錯体の構造 (図2上) と、電子供与性の配位子である Zn(6cpa)₂ 錯体の分子構造 (図2下) をX線構造解析により明らかにした。Zn(4ipa)₂ 錯体は、2つの 4ipa 由来の2つの N 原

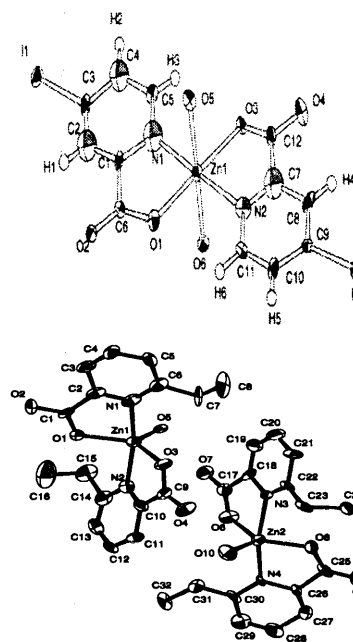


Fig 2. ORTEP drawings of Zn(4ipa)₂ (up) and Zn(6cpa)₂ (down)

子と2つの O 原子、および2分子の水の O 原子がそれぞれトランスに配位することで、六配位八面体構造を示した。また、Zn(6cpa)₂ 錯体は、2つの 6cpa 分子由来の2つの N 原子がトランスに配位し、さらに2つの O 原子と水由来の1つの O 原子が配位した、歪んだ三方両錘型構造を示した。

3-2 亜鉛(II)錯体のインスリン様作用

ラット脂肪細胞を用いた系で評価したインスリン様作用の結果を表1に示す。溶解性の低かった Zn(5ipa)₂ および Zn(6ipa)₂ は、他の錯体と比べ活性が低いことが明らかになった。この系において、置換基の位置や種類による活性の違いはみられなかった。また、電子吸引性の配位子より電子供与性の配位子をもつ錯体の方が活性は高い傾向にあったが、本実験で用いた溶解性の高い電子吸引性の錯体は、リード化合物である

Zn(pic)₂ 錯体よりも活性が高く、今後、糖尿病モデル動物による、*in vivo*での血糖値降下作用などを検討する必要性が示唆された。また、ヨウ素を導入した配位子をもつ亜鉛(II)錯体は、ヨウ素を放射線標識することにより、投与後の配位子の体内分布を調べられる可能性もあり、これらハロゲン化した亜鉛(II)錯体は、今後、種々の方面での応用的利用が期待できる。

Table 1. Estimated IC₅₀ (mM) values of zinc(II) complexes with picolinic acid and its derivatives (in the presence of glucose.)

Complexes	IC ₅₀ (mM)
Zn(pic) ₂	1.00
Zn(4ipa) ₂	0.77
Zn(5ipa) ₂	2.63 (suspension)
Zn(6ipa) ₂	0.85 (a little suspension)
Zn(4cpa) ₂	0.64
Zn(6cpa) ₂	0.60
Zn(6bpa) ₂	0.50
Zn(6mpa) ₂	0.48
Zn(6epa) ₂	0.58

4. 謝辞

X線解析でお世話になりました大阪市立大学大学院理学研究科田所誠助教授、岸本法子修士、また、マスペクトルの測定および元素分析でお世話になった大阪市立大学理学部分析室の皆さんに感謝します。

5. 参考文献

1. Y. Yoshikawa, E. Ueda, H. Sakurai, Y. Kojima: Studies on the development of organic zinc(II) complexes with a blood glucose lowering effect. *Biomed. Res. Trace Elements.*, **12**: 104-109. 2001.
2. H. Sakurai, Y. Kojima, Y. Yoshikawa, K. Kawabe, and H. Yasui: Antidiabetic vanadium(IV) and zinc(II) complexes. *Coord. Chem. Rev.*, **226**: 187-198. 2002.
3. Y. Yoshikawa, E. Ueda, K. Kawabe, H. Miyake, T. Takino, H. Sakurai, Y. Kojima: Development of new insulinomimetic zinc(II) picolinate complexes with a

Zn(N₂O₂) coordination mode: structure characterization, *in vitro*, and *in vivo* studies. *J. Biol. Inorg. Chem.*, **7**: 68-73. 2002.

4. O. Lohse: Improved large-scale preparation of 4-iodopicolinic acid. *Synth. Commun.*, **26**: 2017-2025. 1996.
5. M. Riley, R. N. Perham,: The reaction of protein amino groups with methyl 5-iodopyridine-2-carboximidate. *Biochem. J.*, **131**: 625-635. 1973.
6. M. Nakai, H. Watanabe, C. Fujisawa, T. Satoh, J. Takada, R. Matsushita, H. Sakurai: Mechanism on insuli-like action of vanadyl sulfate: studies on interaction between rat adipocytes and vanadium compounds. *Biol. Pharm. Bull.* **18**: 719-726. 1995.