

氏 名 Subarna Karmaker

授与した学位 博士

専攻分野の名称 学術

学位授与番号 博乙第4209号

学位授与の日付 平成19年 9月30日

学位授与の要件 博士の学位論文提出者

(学位規則第4条第2項該当)

学位論文の題目 Insulin-Mimetic Metal-Poly( $\gamma$ -Glutamic Acid) Complexes

(インシュリン模倣性金属配位ポリ $\gamma$ -グルタミン酸複合体)

論文審査委員 准教授 永松 朝文 教授 佐々木健二 教授 森山 芳則

准教授 阿部 仁

### 学位論文内容の要旨

The number of adults with diabetes mellitus (DM) is forecasted to increase to approximately 300 million worldwide by the year 2025. Insulin injections to treat type 1 DM and administration of several synthetic pharmaceuticals to treat type 2 DM have often many defects involving physical and mental pain, and some side effects, respectively. Several studies have revealed that chromium, manganese, selenium, copper, zinc, and vanadium ions show both *in vitro* insulin-mimetic and *in vivo* antidiabetic activity in animal experiments. Among these metal ions, vanadium(IV), zinc(II) and copper(II) ions show relatively high insulin-mimetic property with less toxicity. In 1990, Sakurai *et al.* first reported that vanadyl-cysteine methyl ester complex is very useful for the treatment of streptozotocin (STZ)-induced type 1 diabetic rats by daily oral administrations. Since then various types of insulin-mimetic vanadyl(IV), zinc(II), and copper(II) complexes using low molecular weight organic ligands have been proposed. However, no vanadyl(IV), zinc(II), and copper(II) polymer complexes have been examined. Therefore, it seemed worthwhile to use poly( $\gamma$ -glutamic acid) ( $\gamma$ -PGA) as a carrier of metal ions (M) (M = vanadyl(IV), zinc(II), and copper(II)) to make orally active insulin-mimetic M- $\gamma$ -PGA complexes for treating DM.  $\gamma$ -PGA is a naturally occurring biodegradable and biocompatible polymer, which is nontoxic toward humans and the environment.

In this study, we have prepared and characterized M- $\gamma$ -PGA complexes in solution as well as in solid state. M- $\gamma$ -PGA complexes in solution were used to evaluate their *in vitro* insulin-mimetic activity, *in vivo* metallokinetic feature, and *in vivo* antidiabetic effects in STZ-mice and in type 2 diabetic KKA<sup>y</sup> mice.

VO- $\gamma$ -PGA complex with VO(O<sub>4</sub>) coordination mode was found to have potent bioavailability and insulin-mimetic activity compared with that a solution containing only vanadium(IV) oxide sulfate (VS). VO- $\gamma$ -PGA complex normalized the hyperglycemia in both STZ-mice and type 2 diabetic KKA<sup>y</sup> mice within 15 days when it was given orally at doses of 5–10 mg V kg<sup>-1</sup> body mass for 16–30 days. The improvement in diabetes is also validated by the results of oral glucose tolerance tests and the decrease in glycosylated hemoglobin (HbA<sub>1c</sub>) level and blood pressure observed. In contrast, VS did not lower the elevated blood glucose level under the same experimental conditions.

Cu(II)- $\gamma$ -PGA complex is produced in aqueous solution at pH 3–11. The plausible equatorial coordination spheres of Cu(II) in Cu(II)- $\gamma$ -PGA complex are summarized. The *in vitro* insulin-mimetic activity of Cu(II)- $\gamma$ -PGA complex is very similar to that of CuSO<sub>4</sub>, however, it is significantly higher than that of a previously reported insulin-mimetic bis(3-hydroxypicolinato)copper(II) (Cu(3hpic)<sub>2</sub>) complex.

Zn(II)- $\gamma$ -PGA complex with Zn(O<sub>4</sub>) coordination mode normalized the hyperglycemia of KKA<sup>y</sup> mice within 21 days when it was administrated orally at doses of 10–20 mg Zn kg<sup>-1</sup> body mass for 30 days. In addition, metabolic syndromes, i.e., insulin resistance and the degree of renal disturbance were significantly improved in Zn(II)- $\gamma$ -PGA-treated KKA<sup>y</sup> mice relative to those administrated with saline and ZnSO<sub>4</sub>. The improvement in diabetes is justified by the results of oral glucose tolerance tests and the decrease in the HbA<sub>1c</sub> level observed. In contrast, ZnSO<sub>4</sub> did not lower the elevated blood glucose level under the same experimental conditions.

Based on the above results, we confirmed that the order of *in vitro* insulin-mimetic activity of M- $\gamma$ -PGA complexes is as follows: VO- $\gamma$ -PGA > Zn(II)- $\gamma$ -PGA > Cu(II)- $\gamma$ -PGA. In addition, VO- $\gamma$ -PGA and Zn(II)- $\gamma$ -PGA complexes are found to be first examples of orally active M- $\gamma$ -PGA complexes for treating type 1, type 2 diabetic mellitus animals and their metabolic syndromes. Thus, the present work provides an interesting initiating point for future treatment/therapies of diabetes.

## 論文審査結果の要旨

糖尿病製剤 (DM) を使用する成人の数が西暦 2025 年までに世界的でおよそ 3 億人に増加すると予測されている。インシュリン注射 (type 1 DM) と合成薬投与 (type 2 DM) は身体や精神の痛みおよび若干の副作用の問題を残している。これまでの研究で種々の金属イオンが *in vitro* でインシュリン-模倣の活性および *in vivo* で抗糖尿病活性を示すことが明らかにされた。特に, vanadium, zinc および copper イオン類がより少ない毒性で比較的高いインシュリン-模倣の性質を示した。1990 年に, その vanady1-システインメチルエステル複合体が経口投与によって streptozotocin (STZ)によって引き起こされた type 1 糖尿病ネズミの治療に有効であることが報告された。それ以来, 小分子量の有機化学的な配位子を用いる種々のインシュリン-模倣の vanady1, zinc 及び copper 複合体が提案された。しかしながら, vanady1, zinc 及び copper の重合複合化合物はこれまで研究されなかった。それ故, 当研究者は糖尿病製剤の研究に, 経口で活性なインシュリン-模倣の M- $\gamma$ -PGA 複合体をつくるために金属イオン (M) (M=vanady1(IV),zinc(II)と copper(II)) のキャリアとしてポリ ( $\gamma$ -グルタミン酸) ( $\gamma$ -PGA) を使用した。VO- $\gamma$ -PGA は強い生物学的利用率とインシュリン-模倣の活性を持つことが本研究で明らかにされた。VO- $\gamma$ -PGA 複合体は 16-30 日の間 1kg あたり 5-10mg 体量の経口投与において, 15 日以内に STZ-ネズミと type 2 糖尿病 KKAY ネズミ両方で高血糖を正常化した。糖尿病の改善は同じく経口グルコース負荷試験とグルコースヘモグロビン A1 (HbA<sub>1c</sub>) レベルにおける減少および観察された血圧の結果によって実証された。さらに, メタボリックシンドローム, すなわち, インシュリン抵抗と腎臓障害の程度は生理食塩水と ZnSO<sub>4</sub>を投与したマウスに比較して Zn(II)-  $\gamma$ -PGA 処置した KKAY ネズミで際立って改善された。糖尿病の改善は経口ブドウ糖負荷試験と観察された HbA<sub>1c</sub> レベルにおける減少の結果によっても評価された。

本研究は, type 1, type 2 糖尿病動物とそれらのメタボリックシンドロームに対して, 有効で経口投与可能な VO- $\gamma$ -PGA と Zn(II)-  $\gamma$ -PGA 複合体の最初の事例である。それ故, 本研究は未来の糖尿病治療に興味を持たせる研究と思われる。以上の研究成果に対し, 学位審査委員会は本研究が学位に値する研究と判断する。