

## 各種銅錯体の抗炎症活性

茅原 紘・米田公生\*・内山孝一\*

池辺裕行\*・中川賢司・中川博司\*

信州大学農学部 生物資源科学科 生物制御化学講座

### Anti-inflammatory Activity of Copper (II) Complexes

Hiroshi KAYAHARA, Kimio YONEDA\*, Khoichi UCHIYAMA\*

Hiroyuki IKEBE\*, Kenshi NAKAGAWA and Hiroshi NAKAGAWA\*

Division of Bio-organic Chemistry, Department of Bioscience and  
Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shinshu University

#### Summary

Anti-inflammatory activity of newly synthesized Copper (II) complexes was investigated using rats with carrageenan paw edema.

In this study, we found some potent anti-inflammatory active Copper (II) complexes. Especially, Copper (II) aminoacid complexes had an anti-inflammatory activity stronger than Copper (II) salicylate which is known to be an anti-inflammatory drug.

(Jour. Fac. Agric. Shinshu Univ. 30 : 171—178, 1993)

Key words : copper complex, anti-inflammatory activity, SOD

#### 緒 言

生体内における有機銅錯体の役割に関する研究は種々実施されている。中でも最近注目を集めているのが、生体内での活性酸素を除去する物質であるスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) における銅の役割についてである<sup>1)</sup>。もともと、生体内の活性酸素はリウマチ、各種炎症、腫瘍、潰瘍などの疾患の発生に関与すると言われており、この活性酸素を除去することでこれらの疾患の予防や治療に効果が期待できるとされている<sup>2)3)4)</sup>。その活性酸素を除去し、抗炎症等の目的で生体が獲得した物質である SOD の活性に 1 原子の銅が関与しているのである。

一方、銅サリチル酸が抗炎症性薬剤としてオーストラリアなどで使用されており<sup>5)</sup>、その SOD 様活性が薬効の主因であると考えられている<sup>6)7)8)</sup>。そこで今回、各種の銅錯体を合成し、抗炎症作用の指標としてのラットにおけるカラゲニン浮腫抑制効果を比較測定したので報告

\* (株)イナ リサーチ, 長野県伊那市西箕輪8047

1993年9月27日 受付

する。

## 材料及び方法

### 1. 被験物質

銅錯体の配位子としては、市販の有機酸やアミノ酸、ジペプチドの他、DSCなどのエステル化剤を用いて合成したカルボベンゾキシ (Z-として表示) 化ジペプチドを使用した。

また、錯化合物の合成は、蒸留水50mlに水酸化ナトリウム20mmolを溶かし、配位子となる有機化合物20mmolを加えて5分間攪拌した後、溶液に三水和硝酸銅10mmolを加え、1昼夜攪拌した。生成した沈澱物を濾別し、蒸留水でよく洗浄した後、デシケータ内で乾燥させるという方法で合成した。

被験物質は、5%アラビアゴム生理食塩液に懸濁または溶解して、2%被験物質液として動物へ投与した。

### 2. 使用動物

日本エスエルシー株式会社(浜松市)で生産された5~9週齢のSD系ラット(Slc:SD)雄を使用した。投与時の体重は約220~300gであった。各被験物質投与群及び対照群は、1群4~6匹を供試した。

### 3. 足容積測定装置

室町機械株式会社製ラット用ボリュームメーター MODEL MK-550

### 4. 起炎剤と調製方法

$\lambda$ -Carrageenin (シグマ社製)を使用し、日本薬局法生理食塩液を用いて1% Carrageenin生理食塩液を調製した。

### 5. 試験方法

ラットの右後肢足根部にマジックで目印を付け、足容積をボリュームメーターで測定し初期値とした。2%被験物質液を体重1kgあたり5mlをラットの背部に皮下投与した(被験物質量は、体重1kgあたり100mg投与に相当)。また、同量の5%アラビアゴム生理食塩液を対照群に皮下投与した。被験物質液投与30分後、1% Carrageenin生理食塩液をラット1匹あたり75 $\mu$ lを右後肢足蹠に皮下投与した。

Carrageenin投与3時間後に右後肢容積を測定し、被験物質液投与群と対照群の後肢容積初期値との差より各々の浮腫率を算出した。また、浮腫抑制率は以下の方法で算出し、各群の平均浮腫抑制率を求め比較した。

$$\text{浮腫率 } E(\%) = (V_t - V_0) \div V_0 \times 100$$

$$\text{平均浮腫抑制率 } I(\%) = (E_c - E_t) \div E_c \times 100$$

$V_0$ : Carrageenin投与前の後肢容積初期値

$V_t$ : Carrageenin投与後の後肢容積

$E_c$ : 対照群の平均浮腫率

$E_t$ : 被験物質投与群の平均浮腫率

## 結 果

### 1. サリチル酸およびその誘導体

サリチル酸およびその誘導体を配位子とした銅錯体の場合の浮腫抑制率は、サリチル酸 (53.7%), Methyl salicylate (54.8%), m-Hydroxy benzoic acid (57.1%) が同じレベルを示した。また, 3,5-Dinitro salicylic acid (76.2%) は高い抑制率を示し, 反対に, p-Hydroxy benzoic acid (30.5%), Salicylamide (25.3%) などは低い抑制率であった。

### 2. Urea およびその誘導体

配位子が Urea (66.1%), Dicyclohexyl urea (70.1%) は高い抑制率であるが, Diphenyl urea (47.1%) は, 抑制率が低下している。

### 3. ニコチン酸誘導体

配位子が 2-Chloro nicotinic acid (62.6%), 2-Methoxy nicotinic acid (34.6%), 2-Methylthio nicotinic acid (16.2%) の順に抑制率が低下している。

### 4. アミノ酸およびその誘導体

配位子がアミノ酸およびその誘導体である場合の銅錯体では, L-Proline (86.7%), L-Lysine (80.2%), Serine (80.9%) など一般に高い浮腫抑制率を示した。また, アミノ基をカルボベンゾキシ基 (Z-と表示) で保護した場合は, Z-Proline (70.1%), Z-Lysine (62.5%), Z-Serine (77.7%) のように一様に抑制率は低下した。しかし, 銅サリチル酸錯体 (53.7%) に比べれば依然高い抑制率を示している。なお, Proline 単独の投与では全く抑制効果を示していない。

### 5. マメ科植物に見られるリジンおよびその代謝産物と, その類縁化合物

Lysine (80.2%) およびその代謝産物である PIPICOLIC acid (81.5%),  $\alpha$ -Amino adipic acid (69.9%) は, 銅サリチル酸錯体 (53.7%) に比べれば高い抑制率を示した。これらの化合物に比べ, メチレン鎖が 1 つ少ない類縁化合物である Ornithine (80.4%), Proline (86.7%), Glutamic acid (82.3%) は抑制能がさらに高かった。

## 考 察

今回, 抗炎症剤として知られる銅サリチル酸の浮腫抑制効果よりも高い浮腫抑制活性を示す銅錯体を数多く発見できた。中でも, 最も高い活性を示したのは銅プロリン (86.7%) であった。しかし, 単体のプロリンだけでは全く活性を示していない。この事実から予想されることは, 銅錯体に活性があるか, または, 銅イオンに活性があつて, その運搬手段として錯体という化学種が適しているのであろう。すなわち, 投与部位 (今回の場合は背部) から薬効作用発現部位 (足蹠) までの移動能を, 配位子が決定していると考えられる。例えば, 銅サリチル酸は, 経皮投与で使用されている。これは, 配位子であるサリチル酸に経皮吸収促進作用があることを利用していると考えられるからである。

しかし, 配位子の種類や, 配位子中の置換基の種類, 置換位置, メチレン鎖の長さ等により浮腫抑制活性に変化が見られた理由を解析するためには, さらなるデータ蓄積が必要であ

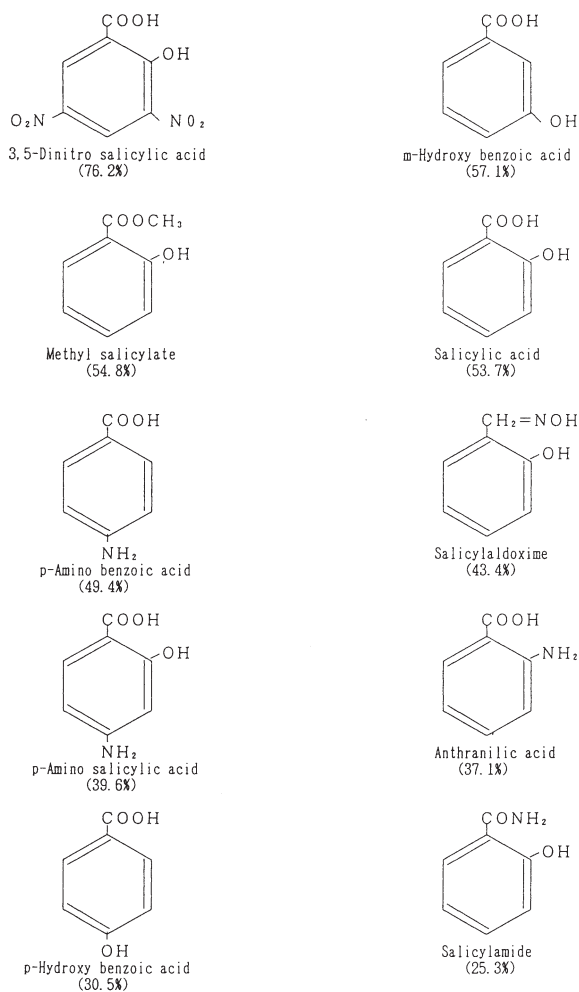


図1. サリチル酸およびその誘導体の構造

表1. サリチル酸およびその誘導体の銅錯体の浮腫抑制率

Agent	no. of rats	age (week)	inhibition rate (%)	±SD
3,5-Dinitro salicylic acid	5	5	76.2	8.3
m-Hydroxy benzoic acid	5	5	57.1	4.8
Methyl salicylate	5	5	54.8	6.3
Salicylic acid	6	8	53.7	4.4
p-Amino benzoic acid	4	8	49.4	2.5
Salicylaldehyde	5	9	43.4	3.7
p-Amino salicylic acid	4	8	39.6	4.0
Anthranilic acid	4	9	37.1	3.7
p-Hydroxy benzoic acid	5	5	30.5	6.7
Salicylamide	4	9	25.3	4.1

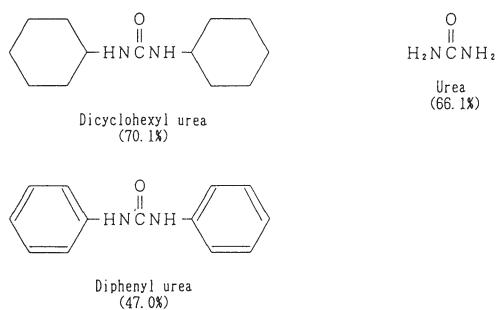


図2. 尿素およびその誘導体の構造

表2. 尿素およびその誘導体の銅錯体の浮腫抑制率

Agent	no. of rats	age (week)	inhibition rate (%)	±SD
Dicyclohexyl urea	5	8	70.1	4.2
Urea	6	8	66.1	5.0
Diphenyl urea	6	8	47.0	9.0

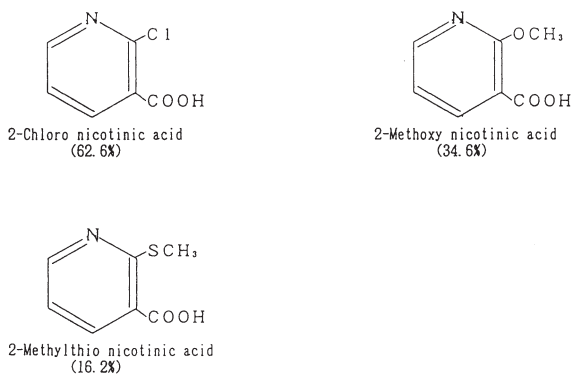


図3. ニコチン酸誘導体の構造

表3. ニコチン酸誘導体の銅錯体の浮腫抑制率

Agent	no. of rats	age (week)	inhibition rate (%)	±SD
2-Chloro nicotinic acid	5	9	62.6	2.5
2-Methoxy nicotinic acid	4	9	34.6	5.5
2-Methylthio nicotinic acid	4	8	16.2	7.9

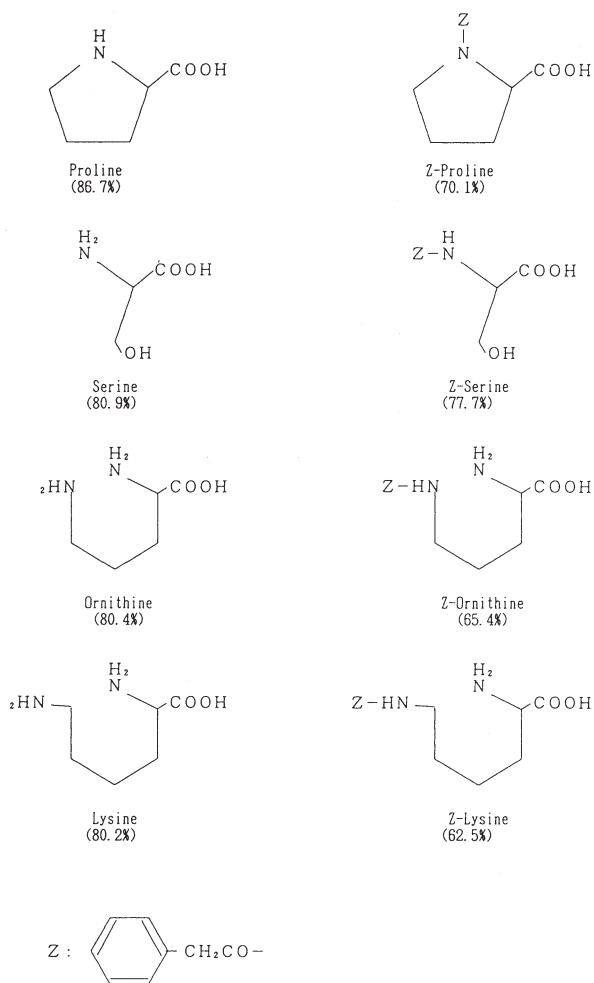


図4. アミノ酸およびその誘導体の構造

表4. アミノ酸およびその誘導体の銅錯体の浮腫抑制率

Agent	no. of rats	age (week)	inhibition rate (%)	±SD
L-Proline	4	5	86.7	2.0
Serine	5	8	80.9	2.1
Ornithine	4	8	80.4	6.2
L-Lysine	5	8	80.2	6.0
Z-Ser-OH	5	8	77.7	9.2
Z-Pro-OH	6	8	70.1	4.0
Z-Ornithine	5	8	65.4	6.1
Z-Lys-OH	4	8	62.5	5.9
free-Proline	6	8	-3.8	10.8

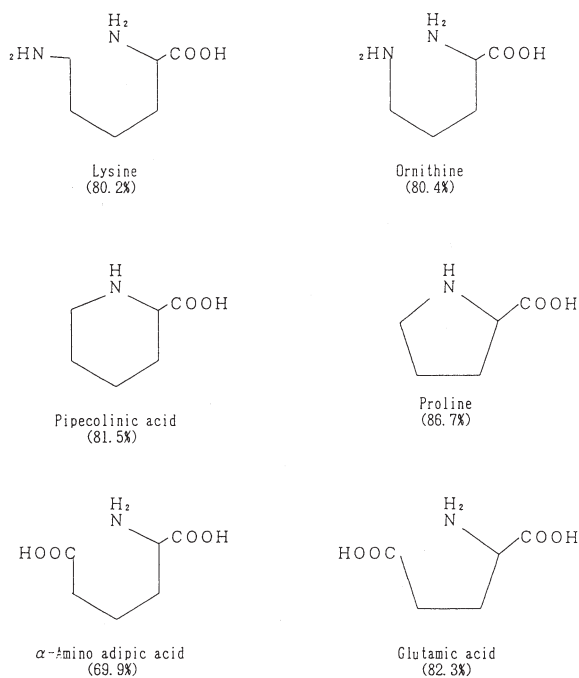


図5. マメ科植物中の代謝産物の構造

表5. マメ科植物中の代謝産物の銅錯体の浮腫抑制率

Agent	no. of rats	age (week)	inhibition rate (%)	$\pm$ SD
L-Proline	4	5	86.7	2.0
Glutamic acid	5	8	82.3	3.5
Pipecolic acid	4	9	81.5	1.0
Ornithine	4	8	80.4	6.2
L-Lysine	5	8	80.2	6.0
$\alpha$ -Amino adipic acid	4	9	69.9	5.7

る。すなわち、銅錯体としての配位構造や錯体の安定性、薬物としての吸収部位から作用部位に至るまでの薬物動態学的データを総合的に解析する必要があるからである。

従来より、経皮投与と抗炎症薬として用いられている銅サリチル酸と同様、今回の探索試験によって、他の銅錯体にもカラゲニンによる浮腫の抑制作用があることを見いだした。中でも銅アミノ酸系錯体の活性が、銅サリチル酸よりも高いことを見いだした。特に銅セリンは、浮腫抑制率が80.9%と、最も高い値を示した。しかし茅原らは、銅サリチル酸よりも銅セリンの方が高い毒性効果を示すことを見いだしている<sup>9)</sup>。従って、医薬品として実用化に耐え得るかどうかは、薬効と毒性のバランスが取れている薬物を、いかに見いだすかにかかって

いる。

## 要 約

新たに合成した各種銅錯体について、カラゲニン趾浮腫ラットを用いて抗炎症活性スクリーニング試験を実施した。この試験の結果、抗炎症作用のある幾つかの銅錯体を見いだした。中でも、銅アミノ酸錯体は、抗炎症剤として使用されている銅サリチル酸錯体よりも高い抗炎症活性が見られた。

キーワード：銅錯体, 抗炎症活性, SOD

## 参 考 文 献

- 1) 浅田浩二：スーパーオキシドとスーパーオキシドジスムターゼ，代謝，17 (10)，1705-1718，1980.
- 2) 浅田浩二：酵素毒性，生化学，48 (4)，226-257，1976.
- 3) 浅田浩二：活性酸素一生成の制御と消去，蛋白質核酸酵素，23 (3)，200-213，1978.
- 4) 浅田浩二：活性酸素の生物に対する作用，代謝，15 (10)，1277-1285，1978.
- 5) Sorenson, J. R. J. and Hangarter, W.: Treatment of rheumatoid and degenerative diseases with copper complexes, *Inflammation*, 2 (3), 217-238, 1977.
- 6) Younes, M., Lengfelder, E., Zienau, S. and Weser, U.: Pulse radiolytically generated superoxide and Cu (II) -salicylates, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 81 (2), 576-580, 1978.
- 7) Dealvare, L. R., Goda, K. and Kimura, T.: Mechanism of superoxide anion scavenging reaction by bis (salicylato) -copper (II) complex, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 69 (3), 687-694, 1976.
- 8) Walker, W. R. and Beveridge, S. J.: Copper salicylates: Physicochemical studies and potential biological importance, *Inorg. Perspec. Biol. Med.*, 2, 93-125, 1979.
- 9) 茅原 紘・只左弘治・山本正敏・柴野隆司・内山孝一・池辺裕行・中川博司：銅錯体の毒性研究 (第1報) —銅セリンと銅サリチル酸，信州大学農学部紀要，28 (2)，141-154，1991.