

嘉南藥理學院教師專題研究計畫成果報告

計畫名稱: Imidazoline 衍生物 S22068 長期治療對於動物血糖的影響

計畫編號: CNPH-89-12

執行期間: 88 年 9 月 1 日至 89 年 6 月 30 日

計畫類別: 個別型

主持人: 施美份 助理教授

協同研究: 陳素容 講師

摘要

糖尿病可依其對胰島素之倚賴性而分為胰島素倚賴型(第一類型)及非胰島素倚賴型(第二類型)糖尿病。傳統口服降血糖藥,如 sulphonylureas 藉由提高胰島素分泌而達到其降低血糖之功效,但低血糖之產生則常為糖尿病患者在控制血糖上的一項困擾。於 receptor binding 研究上曾經被提出一項假設:胰島素之分泌與蘭氏小島的 imidazoline site 有關連(Chan *et al.*, 1994)。

由上年度的研究計畫(CNPH-88-08 主持人:許立人教授,共同主持人及實驗進行人:施美份助理教授)的結果得知 imidazoline 之衍生物 S22068 (1,4-di-isopropyl-2-(4,5-dihydro-1-H-imidazoline-2-yl) piperazine) (1)可明顯地增加受測試動物的葡萄糖耐受性, (2)不會引起基礎血糖下降, (3)可明顯的提高受測試動物的胰島素敏感性。基於有限的研究經費,研究重點只能先以正常動物來測試。不過結果仍是相當令人興奮,因為 S22068 或其衍生物有可能發展成爲一個新的口服降血糖藥。由於 S22068 的作用機轉仍不清楚,所以有再深入研究的必要。

S22068 的作用機轉雖然仍不清楚,其降低血糖的型態卻與 metformin 有相似之處(根據上年度的研究計畫之結果)。因此,這次的研究方向將朝向週邊組織對血中葡萄糖的利用來進行。此可藉由測定肝臟和骨骼肌 glycogen 的含量得知。

一般的藥物在治療過一段日子後會發展出耐受性(tolerance),因此長期 S22068 治療對於葡萄糖耐受性和胰島素敏感性的影響也須加以進行研究。非胰島素倚賴型(第二類型)糖尿病的病人常有肥胖的問題,因此藥物對於體重的影響亦不容忽視。所以長期 S22068 治療對於體重的改變也在觀察範圍內。

關鍵字: Imidazoline 衍生物, 糖尿病

研究背景及目的:

臺灣因經濟成長快速，生活豐衣足食，再加上西方飲食之引進對國人的健康已產生重大影響。肥胖人口有逐漸增加之趨勢，而罹患第二類型糖尿病的人也逐漸增加。近年來糖尿病一直高居國人十大死因之第五位，其中每十萬人口之死亡率更自民國七十六年的 16.8，增至民國八十五年的 35.1，短短十年之間，增幅高達一倍。

糖尿病可依其對胰島素之倚賴性分為胰島素倚賴型糖尿病(Insulin dependent diabetes mellitus or Type I diabetes)及非胰島素倚賴型糖尿病(Non-insulin dependent diabetes mellitus or Type II diabetes)。後者的血中胰島素並不缺乏，病人的胰島素製造功能也呈現正常，導致原因多因週邊組織的胰島素接受體(insulin receptor)對胰島素之敏感性降低。非胰島素倚賴型糖尿病或稱第二類型糖尿病患者大多數與肥胖有關，在此類型患者初期之治療方式常為控制飲食和體重。自 1984 年 Arch 等人發表了 β_3 -Adrenoceptor agonists 可改善肥胖老鼠對葡萄糖耐受性測試反應及降低體重後。因此 β_3 -Adrenoceptor agonists 曾經一度被利用來當作預防及控制第二類型糖尿的新方向，但是此類藥物在人體試驗一直無法達到如同在動物身上所見之作用。

傳統口服降血糖藥，如 sulphonylureas，控制血糖雖有效，但易造成藥物耐受性(tolerance)，其副作用有低血糖，刺激食慾造成體重增加，對於第二類型糖尿病患是為一項更不利的副作用。法國 Serviere 藥廠(Gliclazide 之製造廠)研發的 imidazoline 之衍生物 imidazoline 之衍生物 (S22068)被證實可提高老鼠對葡萄糖的耐受性(根據上年度的研究計畫之結果)。S22068 在體內之作用機轉尚未清楚。因此，此研究計劃首先是希望可以找出 S22068 在體內之降低血糖的作用機轉。其次一般的藥物在治療過一段日子後會發展出耐受性(tolerance)，因此長期 S22068 治療對於葡萄糖耐受性和胰島素敏感性的影響也須加以進行研究。非胰島素倚賴型(第二類型)糖尿病的病人常有肥胖的問題，因此藥物對於體重的影響亦不容忽視。所以長期 S22068 治療對於體重的改變也在觀察範圍內。

實驗方法：

1. 長期藥物治療：受測試的動物一連接受 14 天的藥物，其食量及體重每天測量。之後這些動物再接受下列的各項測試。(註：每隻動物只接受一種測試)。
2. 葡萄糖耐受性測試 (Glucose Tolerance test)：此實驗可用來簡單區別第一類及第二類型糖尿病，endogenous insulin 對 glucose challenge 之反應，以及藥物是否有改善第二類型糖尿病之功效。受測試的動物需經過 12 小時以上的斷食(註解 1)，先測第一次的血中葡萄糖濃度然後再給予一劑量的葡萄糖 (1g/kg, i.p.)，之後每隔 30 分鐘測一次的血中葡萄糖濃度，直到血中葡萄糖濃度恢復至第一次的血中葡萄糖濃度的範圍。測定藥物(註解 2)時，藥物則於測完第一次的血中葡萄糖濃度後給投予，30 分鐘之後再測一次的血中葡萄糖濃度，之後才給予一劑量的葡萄糖，之後步驟如同上述。
3. 胰島素敏感性測試 (Insulin Sensitivity Test)：此實驗可用以測驗藥物是否會加強 exogenous insulin 之作用而達到降血糖效果。受測試的動物在測完第一次的血中葡萄糖濃度然後再給予一劑量的胰島素，之後每 60 分鐘測一次的血中葡萄糖濃度，直到血中葡萄糖濃度恢復至第一次的血中葡萄糖濃度的範圍。測定藥物時，藥物則於測完第一次的血中葡萄糖

濃度後給投予，60 分鐘之後再測一次的血中葡萄糖濃度，之後才給予一劑量的胰島素，之後步驟如同上述。

4. Glycogen Measurement: Firstly, animals were killed and the livers were removed, washed and dried with paper tissue. The sample tissues were then homogenised with 10% volume of 0.03 N HCl. The resulting homogenate was added 1.6 mL of absolute ethanol and 10 mg of cold glycogen and then incubated in freezer (-20°C) for 1 hour. After that, an additional 1.6 mL of absolute ethanol was added to the mixture. This was vortexed and spun at 2000rpm for 15 min at 4°C. Discarding the supernatant and repeat above process for three times. The resulting pellete (with the glycogen) was dissolved 1 mL of distilled water. Secondly, glycogen of the sample should be broken down to glucose by the action of amyloglucosidase. Glucose can be measure with a simple assay kit. (Glucose assay kit can be purchased from Sigma). (Meszaros et al., 1987)

註解 1: 除非註明否則實驗動物不經斷食步驟。

註解 2: 給藥方式一律以 oral administration。Preliminary study (unpublished data) 顯示 當 S22068 以 intraperitoneal injection 則失去其降血糖之作用。

Results:

Although acute S22068 prevented glucose challenge in fasted normal mice, this effect was diminished after 14 days oral administration of S22068 (see figure 1 in appendix). In the same treatment schedule, insulin sensitivity test was maintained as acute treatment of S22068 (see figure 2). Glycogen content in the livers was also included in this study to exam whether the effects S22068 in lowering blood glucose level was due to increase the synthesis of glycogen in the liver. The result was shown in figure 3 that glycogen synthesis levels were not different between acute and chronic treatment in either control or S22068 treated mice.

Conclusions:

The results shown in this report indicate that S22068 has acute effects on improving blood glucose tolerance test (GTT) and insulin sensitivity test (IST). However, these effects tend to develop tolerance after chronic treatment (a period of 14 days). Acute effects of S22068 on GTT and IST were not due to increase glycogen synthesis in the liver.

References

- Arch JRS *et al.*, (1984) *Nature* **309**:163-165
Chan S.L.F. (1994) *Br. J. Pharmacology* **112**:1065-1070
Meszaros *et al.*, (1987) *J. Biol. Chem.* **262**:10965-10970

Appendix:

Figures 1-3

Figure 1. Effects of acute and chronic S22068 treatment on glucose tolerance test in normal mice

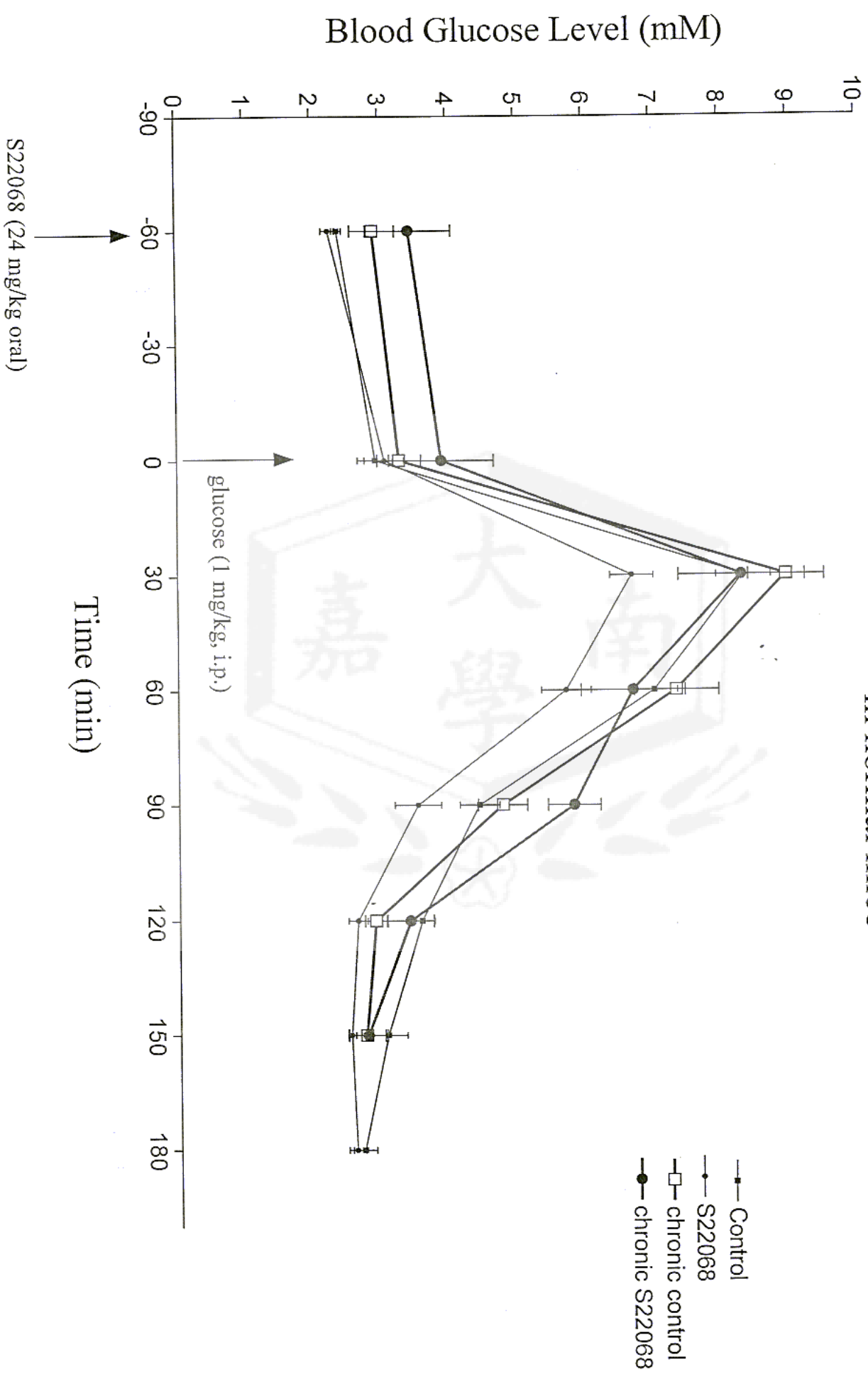


Figure 2. Effects of acute and chronic S22068 treatment on insulin sensitivity test in normal mice

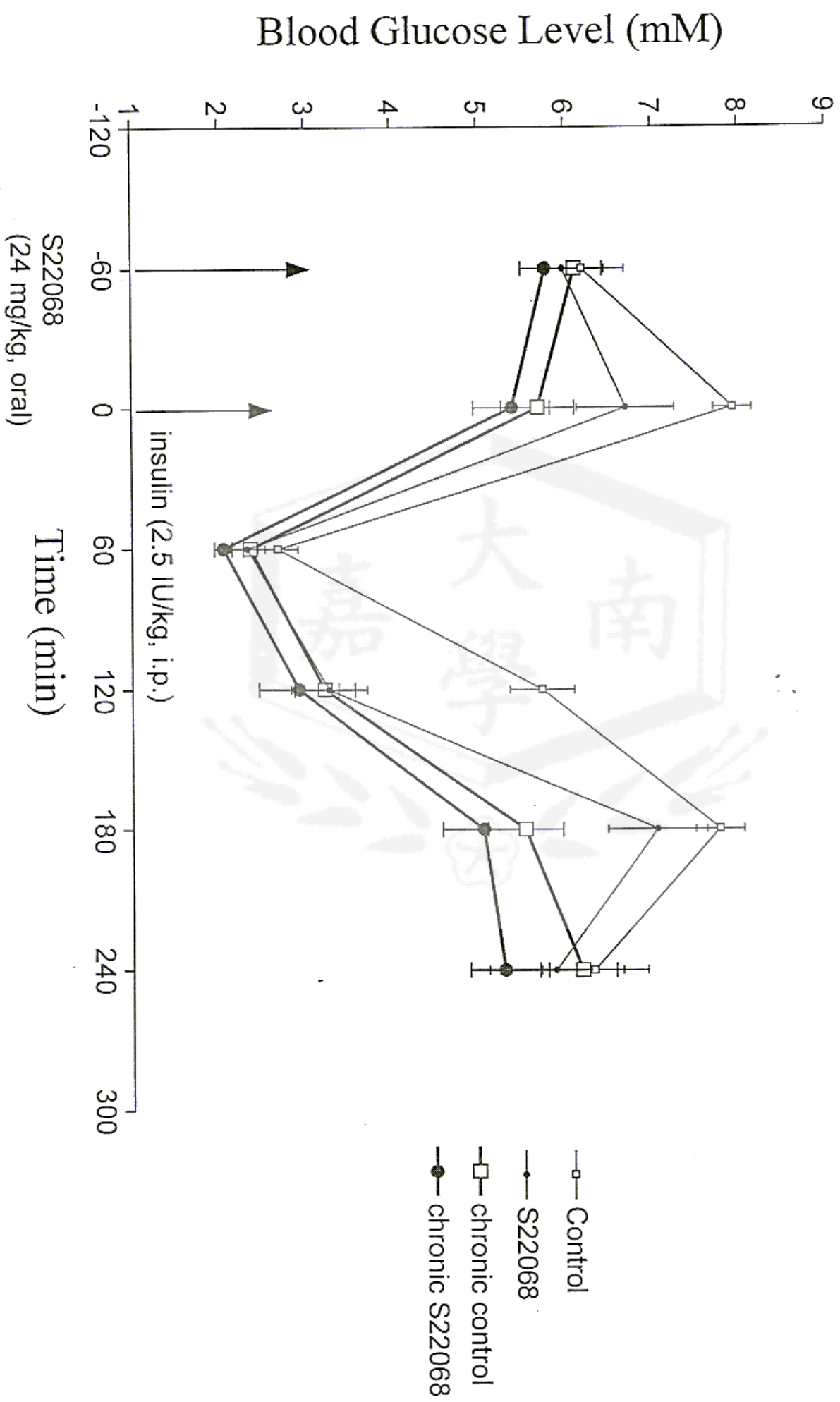


Figure 3. Effects of acute and chronic S22068 treatment on the liver glycogen level in normal mice

