

بررسی اثر مشتقات جدید متیل کینولینونی بر ترشح انسولین القا شده توسط گلوکز از جزایر لانگرهانس جدا شده موش صحرایی

سید محمد تقی منصوری^۱، رضا شفیعی نیک^۲، بهاره نقی زاده^۳، حیدر پارسایی^۲

چکیده

زمینه و هدف: مهارکننده‌های انتخابی آنزیم فسفودی‌استراز حلقوی نوع ۳ (PDE3) با افزایش مقدار cAMP، قدرت انقباضی قلب و ترشح انسولین وابسته به گلوکز را تقویت می‌کنند. در این تحقیق اثر تعدادی از مشتقات متیل کینولینون (MC1-MC10) به عنوان مهارکننده انتخابی PDE3 بر ترشح انسولین تحریک‌شده توسط گلوکز (GHS) مورد بررسی قرار گرفت. روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، پس از هضم پانکراس جدا شده توسط کلاژناز، جزایر لانگرهانس آزاد در زیر استریومیکروسکوپ به طور دستی جدا و در بافر کربس حاوی گلوکز ۳ mM به مدت ۳۰ دقیقه تیمار شدند؛ سپس با محلول گلوکز ۳ mM یا ۱۰ mM با و یا بدون ایزوبوتیل متیل گزانتین (IBMX) به عنوان استاندارد و یا با وجود غلظت ۱۰۰ μM مشتقات مختلف متیل کینولینون تیماردهی انجام شد. انسولین رها شده در مدت یک ساعت، با استفاده از کیت رادیوایمنواسی اندازه‌گیری شد. یافته‌ها: گلوکز با غلظت ۱۰ mM، ترشح انسولین از جزایر را به طور معنی‌داری نسبت به غلظت ۳ mM افزایش داد ($P < 0.01$). IBMX در غلظت ۱۰۰ μM، میزان GHS را به طور معنی‌داری تقویت نمود ($P < 0.01$). از بین ده ترکیب مورد آزمایش، مشتقات MC7 و MC9 میزان GHS را به طور معنی‌داری در مقایسه با محلول گلوکز ۱۰ mM به تنهایی افزایش دادند ($P < 0.01$) که با اثر IBMX قابل مقایسه بود. نتیجه‌گیری: ترکیبات مورد آزمایش (MC1-MC10) با وجود داشتن ساختمان مشابه، اثرات متفاوتی بر ترشح انسولین داشتند که احتمالاً به دلیل اثر وابسته به بافت این داروها می‌باشد. امید است که بتوان در آینده از این ترکیبات در درمان بیماری دیابت بهره جست.

واژه‌های کلیدی: مهارکننده‌های آنزیم فسفودی‌استراز، مشتقات ۴-متیل کینولینون، ترشح انسولین، جزایر لانگرهانس جدا شده، رت

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۸۹؛ ۱۷(۱): ۱-۱۰

دریافت: ۱۳۸۷/۱۲/۵ اصلاح نهایی: ۱۳۸۸/۱۱/۷ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۱/۸ درج در پایگاه وب: ۱۳۸۸/۱۲/۱۷

^۱ نویسنده مسؤؤل؛ استادیار گروه فارماکولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
آدرس: اهواز- دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز- دانشکده پزشکی- مرکز تحقیقات فیزیولوژی
تلفن: ۰۹۱۳۳۱۷۸۷۹۵. نامبر: ۳۳۳۲۰۳۶-۰۶۱۱. پست الکترونیکی: smt_mansouri@yahoo.com
^۲ دانشیار گروه فارماکولوژی، مرکز تحقیقات فارماکولوژیک گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، اهواز، ایران
^۳ استادیار، گروه فارماکولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

مقدمه

اختلال در ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس یکی از مهمترین عوامل در بیماریزایی دیابت نوع ۲ غیروابسته به انسولین (NIDDM)^۱ می‌باشد. سال‌های زیادی است که داروهای تقویت‌کننده ترشح انسولین برای درمان این بیماری مورد استفاده قرار گرفته‌اند. مشکل اصلی درمان با این داروها کاهش بیش از حد قند خون و بروز علائم هیپوگلیسمی است (۲،۱).

آدنوزین منوفسفات حلقوی (cAMP)^۲ و گوانوزین منوفسفات حلقوی (cGMP)^۳ عامل تنظیم بسیاری از فعالیت‌های زیستی سلولی هستند. افزایش غلظت هر یک از این نوکلئوتیدها در سلول متناسب با ساختار سلولی منجر به آغاز، کاهش یا افزایش فعالیت سلول می‌شود. غلظت این نوکلئوتیدهای حلقوی درون سلول، به تعادل بین سرعت تولید و تجزیه آنها وابسته می‌باشد (۳). این نوکلئوتیدها به ترتیب توسط آنزیم‌های آدنیلیل سیکلاز (AC)^۴ و گوانیلیل سیکلاز (GC)^۵ تولید و توسط آنزیم‌های فسفو دی‌استراز (PDE)^۶ تجزیه می‌شوند؛ بنابراین آنزیم‌های فسفو دی‌استراز به عنوان کلید تنظیم در تعادل دینامیکی cAMP و cGMP دخالت دارند. تاکنون یازده خانواده (PDE1-PDE11) از این آنزیم‌ها، شناسایی شده‌اند و هر خانواده از نظر ژنومی، حاوی چند ایزوآنزیم است و از لحاظ ساختمان مولکولی، بیوشیمی، فرآیندهای تنظیم و خواص فارماکولوژی با یکدیگر تفاوت دارند (۴). در مطالعات مختلفی، ارتباط بین مقادیر cAMP موجود در سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس و ترشح انسولین در مدل‌های انسانی و حیوانی اثبات شده است؛ همچنین نشان داده شده است که سطح بیان ژن ایزوآنزیم PDE3B در سلول‌های بتا در جزایر پانکراس نسبت به سایر ایزوآنزیم‌ها

بیشتر است؛ به نحوی که مهارکنندگان آنزیم PDE3 با افزایش غلظت cAMP داخل سلولی قادرند ترشح انسولین تحریک‌شده با گلوکز از سلول‌های بتا جزایر لانگرهانس و یا سلول‌های مولد انسولین را افزایش دهند (۵،۶)؛ علاوه بر آن، مشخص شده است که آنزیم‌های PDE3 نقش مهمی در مهار ترشح انسولین توسط عامل رشد شبه انسولین-۱ (IGF-1)^۷ و هورمون لپتین دارند (۸،۷).

در مطالعه قبلی با تکیه بر اطلاعات حاصل از رابطه ساختمان- فعالیت مهارکننده‌های انتخابی آنزیم PDE3، مشتقات مختلف متیل کینولینونی (MC)^۸ به عنوان داروهای مهارکننده انتخابی آنزیم PDE3 در بخش شیمی دانشگاه فردوسی مشهد مدل‌سازی، تولید و پس از تعیین ساختمان شیمیایی، تأثیر آنها بر قدرت انقباضی قلب بررسی گردید (۹)؛ از طرفی با توجه به نقش تنظیمی آنزیم PDE3 در ترشح انسولین، در این تحقیق سعی شده است که جهت دستیابی به داروهای تقویت‌کننده ترشح انسولین اثرات، ترکیبات جدید مهارکننده PDE3 (MC1-MC10) بر تغییرات ترشح انسولین بررسی و با ایزوبوتیل متیل‌گزانترین (IBMX)^۹ به عنوان داروی شناخته شده مهارکننده آنزیم PDE، مقایسه شود.

روش تحقیق

در این مطالعه تجربی، از موش‌های صحرایی نر نژاد Sprague-Dawley (پرورش‌یافته در اتاق حیوانات گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد) با محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۵۰ گرم استفاده گردید. از این حیوانات در اتاقی با تهویه مناسب، رطوبت ۵۰٪، دمای ۲۲±۲ درجه سانتیگراد، چرخه نوری ۱۲ ساعته و با دسترسی آزاد به آب و غذا تا روز آزمایش نگهداری شد.

کلاژناز نوع ۴ از شرکت Boehringer Mannheim

^۷ Insulin-like Growth Factor 1

^۸ Methyl Quinolinone

^۹ Isobutylmethylxanthine

^۱ Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus

^۲ Cyclic Adenosine Monophosphate

^۳ Cyclic Guanosine Monophosphate

^۴ Adenylyl Cyclase

^۵ Guanylyl Cyclase

^۶ Phosphodiesterase

شستشو^۴ و بلافاصله جدا گردید. بدین ترتیب که ابتدا پانکراس جدا شده به قطعات ۱ تا ۲ میلیمتر خرد و توسط آنزیم کلاژناز P در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد هضم شدند. جزایر لانگرهانس حاصل پس از چند بار شستشو توسط محلول کربس، با استفاده از پیپت پاستور در زیر استریومیکروسکوپ دست‌چین و به محلول تیماردهی کربس حاوی گلوکز ۳mM، فومارات، پیروات و گلوتامات هر یک ۵mM و آلومین سرم گاوی ۳mg/mL منتقل و در طول آزمایش در حرارت ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

جزایر لانگرهانس جدا شده در دستجات ۵ تایی درون ویال‌های شیشه‌ای ته‌گرد سیلیکونیزه^۵ قرار داده شدند. یک میلی لیتر محلول انکوباسیون حاوی ۳mM گلوکز به هر ویال اضافه گردید. از ویال‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و جریان مداوم مخلوط گازی اکسیژن ۹۵٪ و دی‌اکسید کربن ۵٪ نگهداری شد. پس از آن محلول رویی هر ویال به طور کامل برداشته شد و ۱ میلی لیتر محلول تیماردهی حاوی گلوکز ۳mM یا ۱۰mM همراه یا بدون دارو به آن اضافه گردید. ویال‌ها دوباره در همان شرایط قبلی به مدت یک ساعت تیمار شدند. در پایان، ۵۰ میکرولیتر از محلول اطراف جزایر برداشته و همراه بافر فسفات^۶ منجمد گردیدند. از داروی IBMX به عنوان داروی استاندارد مهارکننده آنزیم‌های PDE استفاده شد. مقدار انسولین هر نمونه به روش رادیوایمنواسی^۷ تعیین گردید و نتایج به صورت صورت میکرو واحد (μU) انسولین ترشح شده توسط هر جزیره در طی یک ساعت گزارش شد.

تمام داروها در محلول DMSO^۸ حل شدند و در زمان تیمار با محلول بافر کربس (به نحوی که غلظت DMSO در محلول نهایی از ۱٪ تجاوز نکند) رقیق گردید (۱،۵). به ازای هر دو عدد پانکراس در هر آزمایش، برای هر

(سوئد)، IBMX از شرکت فلوکا (آلمان) و کیت انسولین رادیوایمنواسی (Diasorin INSIK-5) از شرکت کاوشیار (ایران) تهیه گردید. لازم به ذکر است که آنتی‌بادی مورد استفاده در این کیت با انسولین رت، ۱۰۰٪ واکنش متقابل داشت؛ همچنین ضریب تغییرات سنجش انسولین کیت در محدوده ۶٪ تا ۱۰٪ بود. مواد دیگر مورد استفاده در این مطالعه از نوع آنالیتیکال^۱ بود. ترکیبات صنعتی مهارکننده آنزیم PDE3 نیز با استفاده از آزمون‌های مدلینگ مولکولی^۲ طراحی و در بخش شیمی دانشگاه فردوسی مشهد تولید شدند. مراحل مختلف ساخت این ترکیبات در شمای ۱ نشان داده شده است.

به طور خلاصه، ابتدا مولکول شماره ۱ یا 6-hydroxy-4-methylquinolin-2(1H)-one با استفاده از مقالات مرجع ساخته شد و پس از تراکم آن با اتیل ۴-برمو بوتیرات در حضور مولکول شماره ۲ یا 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-ene (DBU) ساختمان استری به دست آمد؛ سپس مولکول شماره ۲ با استفاده از محلول اسید کلریدریک ۲۰٪ هیدرولیز شده و مولکول شماره ۳ تهیه شد و در نهایت با استفاده از مواد میانجی و ترکیبات آمیدی نوع دوم مختلف، ترکیبات مورد استفاده در آزمایش ساخته شد (۱۰). جهت خالص‌سازی و تایید ساختمان این ترکیبات به ترتیب از روش‌های تبلور و طیف‌سنجی استفاده شد (شمای ۲).

جزایر لانگرهانس با استفاده از روش Lacey & Kostianovsky با کمی تغییر از پانکراس رت جدا شدند (۵، ۱۱). در هر آزمایش، دو سر موش صحرایی به طور تصادفی انتخاب و پس از تزریق داخل صفاقی ۸۰mg/kg تیوپنتال بیهوش شدند. پس از باز کردن شکم، پانکراس آنها با استفاده از محلول کربس-بیکربنات^۳

^۴ Perfusion

^۵ Siliconized

^۶ شامل تیومرسال، آلومین سرم گاوی، pH=۷/۴

^۷ Radioimmunoassay

^۸ Dimethyl Sulfoxide

^۱ Analytical

^۲ Molecular Modeling

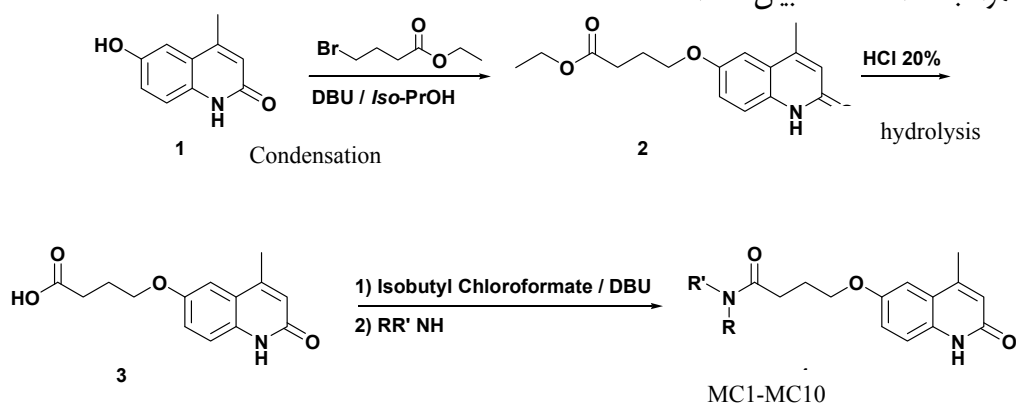
^۳ حاوی (بر حسب mM): سولفات منیزیم: ۹/۰ + پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات: ۲/۱ + کلرید

کلیسم: ۵/۲ + بیکربنات سدیم: ۲۵ + کلرید سدیم: ۹۴ + کلرید پتاسیم: ۷/۴ + گلوکز: ۵/۶ و

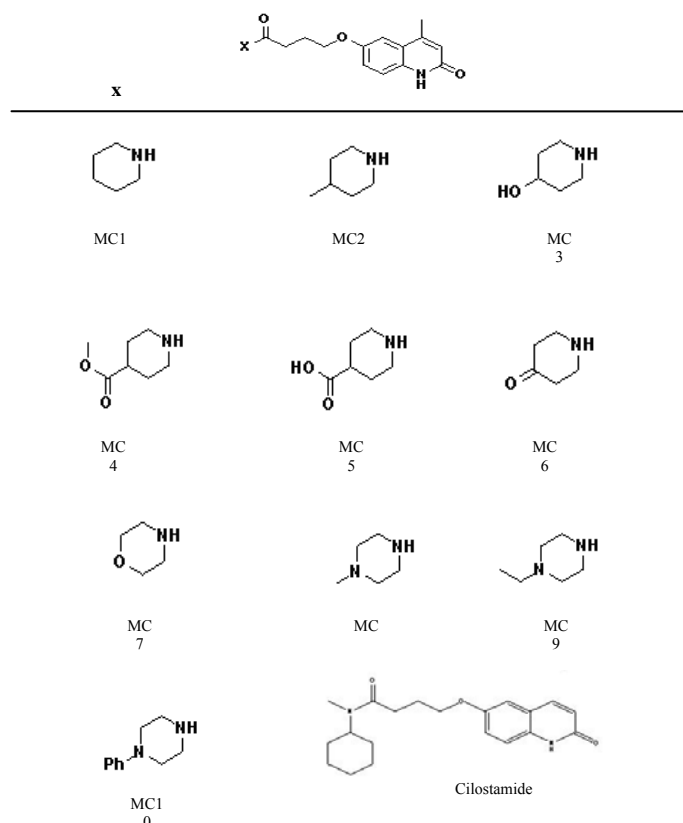
pH=۷/۳۵

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای Prism 4 و Excel و با روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و به دنبال آن آزمون Dunnett's در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تمام داده‌ها تحت آزمون نرمال قرار گرفتند.

یک از غلظت‌های گلوکز با و یا بدون دارو، گروه‌های ۴ تایی از جزایر (گروه شامل ۵ جزیره) به طور تصادفی برداشت و درون هر ویال قرار داده می‌شد. مقدار انسولین هر ویال به عنوان یک مشاهده در نظر گرفته شد و هر آزمایش ۴ تا ۵ بار برای هر غلظت انجام شد. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار همراه با تعداد مشاهده بیان شده‌اند.



شمای ۱- مراحل مختلف سنتز مشتقات متیل کینولینون، 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-ene (DBU)



شمای ۲- ساختمان مشتقات صناعی سیلوستامید به عنوان مهارکننده انتخابی آنزیم PDE3

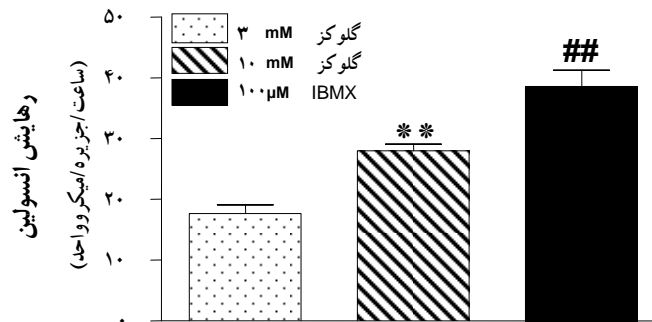
یافته‌ها

طور معنی‌داری تقویت کردند و این افزایش ترشح با اثر تحریکی IBMX بر ترشح انسولین (به عنوان ترکیب استاندارد و مهارکننده غیرانتخابی آنزیم فسفو دی‌استراز)، قابل مقایسه است ($P=0/009$, $n=16$) (شکل ۲).

ترکیب MC8 به عنوان مهارکننده احتمالی آنزیم PDE3، در هیچ‌کدام از غلظت‌های مورد استفاده اثر قابل توجهی بر ترشح انسولین تحریک شده در حضور گلوکز 10mM نداشت (شکل ۳)؛ همچنین این تحقیق نشان داد که مشتقات MC1، MC2، MC3، MC4، MC5، MC6 و MC10 اثر قابل توجهی بر ترشح انسولین تحریک شده در حضور گلوکز 10mM ندارند (شکل ۴).

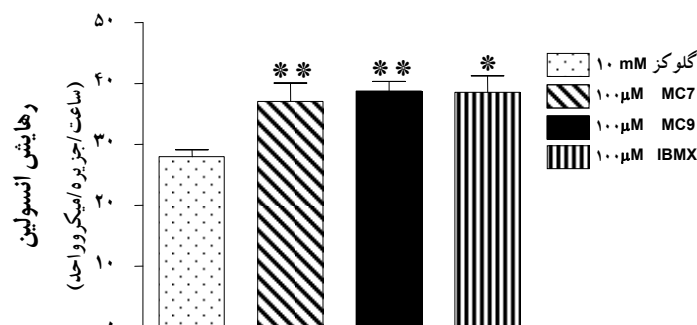
گلوکز در غلظت 10mM ترشح پایه انسولین را به طور معنی‌داری افزایش داد و سبب تحریک ترشح انسولین از جزایر لانگرهانس شد (تعداد=۱۶، $P=0/008$) (شکل ۱).

مقدار پایه ترشح انسولین $17/6 \pm 1/4 \mu\text{U}$ و در حضور غلظت 10mM گلوکز، $28 \pm 1/1 \mu\text{U}$ در ساعت در واحد جزیره بود. از طرفی داروی IBMX در غلظت $100\mu\text{M}$ ، ترشح انسولین تحریک شده در حضور گلوکز 10mM را به طور قابل توجهی افزایش داد (تعداد=۱۷، $P=0/009$). از بین ترکیب مورد آزمایش، فقط دو مشتق MC9 و MC7 ترشح انسولین تحریک شده در حضور گلوکز 10mM را به



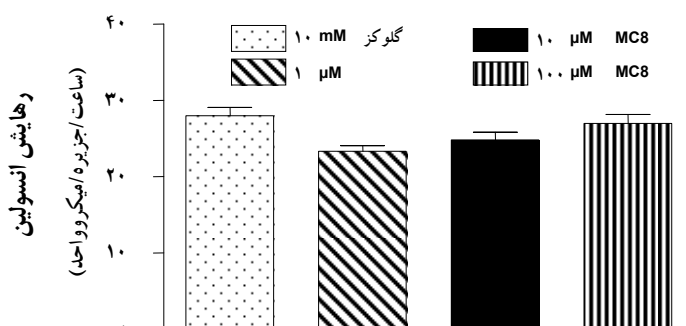
شکل ۱- اثر IBMX بر ترشح انسولین در حضور گلوکز از جزایر لانگرهانس

ترشح انسولین تحریک شده توسط گلوکز با غلظت‌های 3mM و 10mM IBMX با غلظت $100\mu\text{M}$ ، پس از یک ساعت تیماردهی مورد ارزیابی قرار گرفت. IBMX در محلول گلوکز 10mM حل شد. *: $P=0/008$; **: $P=0/008$; #: $P=0/008$ در مقایسه با غلظت 3mM گلوکز و ##: $P=0/008$ در مقایسه با غلظت 10mM گلوکز



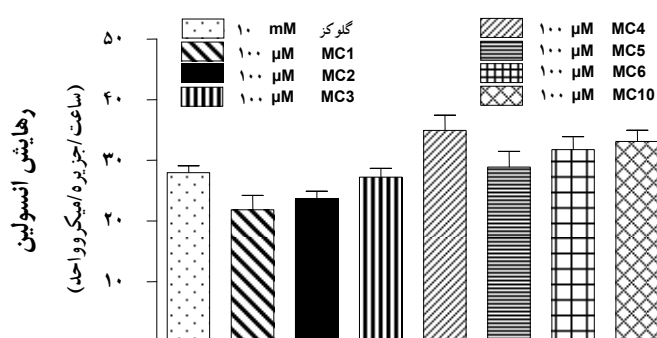
شکل ۲- اثر غلظت $100\mu\text{M}$ مشتقات کینولینونی MC7، MC9 و IBMX بر ترشح انسولین تحریک شده توسط گلوکز از جزایر لانگرهانس

ترشح انسولین در حضور داروهای IBMX، MC7 و MC9 و غلظت 10mM گلوکز، پس از یک ساعت تیماردهی مورد ارزیابی قرار گرفت. داروها در محلول گلوکز 10mM حل شدند. *: $P=0/004$; **: $P=0/009$; #: $P=0/009$ در مقایسه با گلوکز 10mM به عنوان شاهد



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف مشتق MC8 بر ترشح انسولین تحریک‌شده توسط گلوکز از جزایر لانگرهانس

ترشح انسولین در حضور غلظت‌های مختلف ترکیب MC8 و غلظت ۱۰mM گلوکز، پس از یک ساعت تیماردهی مورد ارزیابی قرار گرفت. دارو در محلول گلوکز ۱۰mM حل شد. مقایسه با غلظت ۱۰mM گلوکز به عنوان شاهد



شکل ۴- اثر غلظت ۱۰۰µM مشتقات جدید کینولینونی بر ترشح انسولین تحریک شده توسط گلوکز از جزایر لانگرهانس.

ترشح انسولین در حضور مشتقات صنعتی مختلف و غلظت ۱۰mM گلوکز، پس از یک ساعت تیماردهی ارزیابی و داروها در محلول گلوکز ۱۰mM حل شدند. مقایسه با غلظت ۱۰mM گلوکز به عنوان شاهد

بحث

انتخابی آنزیم PDE3، دارای اثر تقویتی و مشابه با IBMX بر ترشح انسولین تحریک‌شده توسط گلوکز از جزایر لانگرهانس هستند.

مطالعات انجام‌شده بر روی متابولیسم بدن نشان داده است که cAMP یک تقویت‌کننده مهم در ترشح انسولین تحریک شده با گلوکز می‌باشد. از طرفی شواهد زیادی دال بر بیان ایزوآنزیم‌های PDE1C، PDE3B و PDE4 در سلول‌های جزایر پانکراس وجود دارد؛ ولی بیشتر این مطالعات PDE3B را به عنوان مهمترین آنزیم فسفودی‌استراز دخیل در ترشح انسولین می‌دانند (۱۲).

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که آنزیم‌های فسفو دی‌استراز تقریباً در تمام بافت‌های بدن وجود دارند؛ اما بیان

در این مطالعه پس از جداسازی و دست‌چین کردن، جزایر لانگرهانس به مدت یک ساعت در حضور غلظت ۱۰۰µM از IBMX و یا داروهای صنعتی (MC1-MC10) حل شده در محلول گلوکز ۱۰mM و شرایط استاتیک^۱ تیمار شدند. ترشح انسولین در حضور غلظت ۱۰mM گلوکز نسبت به ترشح پایه در حضور غلظت ۳mM گلوکز به طور معنی‌داری افزایش یافت؛ بنابراین گلوکز سبب ترشح انسولین از جزایر لانگرهانس شد و این یافته با نتایج مطالعات قبلی مطابقت دارد (۵)؛ همچنین در این مطالعه مشخص شد که مشتقات MC7 و MC9 متیل کینولینونی به عنوان مهارکننده‌های

^۱ Static

مثبت ایزوپرنالین^۸ در دهلیز جدا شده از رت نشان داده شد (۹). در این مطالعه ترکیب MC8 اثر قابل توجهی بر ترشح انسولین تحریک شده توسط گلوکز از جزایر لانگرهانس نداشت؛ بنابراین با توجه به ویژگی وابسته به بافت بودن آنزیم‌های فسفودی‌استراز، ترکیب MC8 احتمالاً در بافت دهلیز از طریق مهار آنزیم PDE3A عمل کرده، ولی در جزایر لانگرهانس اثر مهاری بر آنزیم PDE3B نداشته است و یا این که از طریق روندهای مهاری در ترشح انسولین عمل کرده است؛ همچنین با توجه به مطالعه رابطه ساختمان و فعالیت مشتقات MC9 و MC7 و از طرف دیگر تشابه اثر آنها در القای ترشح انسولین، با IBMX به عنوان مهارکننده غیرانتخابی آنزیم فسفودی‌استراز، این ترکیبات احتمالاً از طریق مهار آنزیم PDE3 سبب تقویت ترشح انسولین تحریک شده‌اند؛ البته احتمال وجود فرایندهای مؤثر دیگری در رهایش انسولین را نمی‌توان نادیده گرفت. به هر حال تعیین ایزوفرمی از آنزیم فسفودی‌استراز که مشتقات MC9 و MC7 از طریق آن عمل کرده‌اند، ضروری به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این مطالعه چنین می‌توان نتیجه گرفت که قرار دادن متیل در جایگاه ۴ در حلقه کینولینون و همچنین جایگزینی حلقه اکسازول و متیل‌پیرازین به جای حلقه N-سیکلوهاگزیل در سیلوستامید به ترتیب برای ترکیب MC9 و MC7 می‌تواند بیانگر ایجاد اثر تقویت ترشح انسولین این دو ترکیب احتمالاً از طریق مهار آنزیم PDE3 باشد. امید است که با تغییر در ساختمان این دو مولکول و افزایش قدرت اثر آنها بتوان در آینده از این ترکیبات در درمان بیماری دیابت بهره جست.

تقدیر و تشکر

در پایان نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را

^۸ Isoprenaline

ژنی ایزوآنزیم‌های مختلف این خانواده آنزیمی در بافت‌های مختلف بدن به صورت وابسته به بافت^۱ می‌باشد؛ بنابراین این ویژگی سبب می‌شود که بتوان از این آنزیم‌ها به عنوان مولکول‌های هدف در درمان بیماری‌های مختلف استفاده کرد (۱۳-۱۵).

مهارکننده‌های انتخابی آنزیم PDE3 با افزایش مقدار cAMP داخل سلولی منجر به بروز اثرات افزایش‌دهنده قدرت انقباض قلب، گشادکننده عروقی، جلوگیری از چسبندگی پلاکتی و گشادکنندگی برونش می‌شوند (۱۶، ۱۷). آنزیم PDE3 دارای دو ایزوآنزیم است: PDE3A که بیشتر در سیستم قلبی-عروقی بیان می‌شود و PDE3B که اغلب در مغز، کبد، بافت چربی، کلیه و سلول‌های مترشحه انسولین پانکراس بیان می‌شود. آنزیم PDE3B در مقایسه با PDE3A حدود ۱۰ برابر حساسیت کمتری به cGMP دارد. آزمایشات در محیط درون‌تنی^۲ نشان داده است که اگرچه مهار PDE3B با افزایش cAMP سبب تقویت ترشح انسولین تحریک شده توسط گلوکز می‌شود، ولی مهار همزمان PDE3B در سلول‌های کبد و بافت چربی با افزایش cAMP موجب افزایش گلیکوژنولیز^۳ و لیپولیز^۴ و در نتیجه مقاومت به انسولین می‌شود و بنابراین توسعه مهارکننده‌های انتخابی آنزیم PDE3 به عنوان ترکیبات ضدّ دیابت نیازمند تمایز بین PDE3B در سلول‌های مترشحه انسولین و همچنین سلول‌های کبد و بافت چربی می‌باشد (۱۲، ۱۸، ۱۹). در مطالعه دیگری نشان داده شده که تجویز همزمان میلرینون^۵ و گلی‌بنکلامید^۶ اثر سینرژیسیم^۷ بر ترشح انسولین دارند (۲۰). در آزمایشات قبلی اثر سینرژیسیم احتمالی ترکیب MC8 از طریق مهار آنزیم فسفودی‌استراز بر اثرات اینوتروپ

^۱ Tissue-Specificity

^۲ In vivo

^۳ Glycogenolysis

^۴ Lipolysis

^۵ Milrinone

^۶ Glibenclamide

^۷ Synergism

از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که اعلام می‌نمایند. حمایت مالی این تحقیق را (با شماره ۱۱۶) بر عهده داشتند.

منابع:

- 1- Matthaei S, Stumvoll M, Kellerer M, Häring HU. Pathophysiology and pharmacological treatment of insulin resistance. *Endocr Rev.* 2000; 21(6): 585-618.
- 2- Caumo A, Luzi L. First-phase insulin secretion: does it exist in real life? Considerations on shape and function. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004; 287(3): E371-385.
- 3- Sudo T, Tachibana K, Toga K, Tochizawa S, Inoue Y, Kimura Y, et al. Potent effects of novel anti-platelet aggregatory cilostamide analogues on recombinant cyclic nucleotide phosphodiesterase isozyme activity. *Biochem Pharmacol.* 2000; 59(4): 347-356.
- 4- Aizawa T, Wei H, Miano JM, Abe J, Berk BC, Yan C. Role of phosphodiesterase 3 in NO/cGMP-mediated antiinflammatory effects in vascular smooth muscle cells. *Circ Res.* 2003; 93(5): 406-413.
- 5- Shafiee-Nick R, Pyne NJ, Furman BL. Effects of type-selective phosphodiesterase inhibitors on glucose-induced insulin secretion and islet phosphodiesterase activity. *Br J Pharmacol.* 1995; 115(8): 1486-1492.
- 6- Ahmad M, Abdel-Wahab YH, Tate R, Flatt PR, Pyne NJ, Furman BL. Effect of type-selective inhibitors on cyclic nucleotide phosphodiesterase activity and insulin secretion in the clonal insulin secreting cell line BRIN-BD11. *Br J Pharmacol.* 2000; 129(6): 1228-1234.
- 7- Zhao AZ, Huan JN, Gupta S, Pal R, Sahu A. A phosphatidylinositol 3-kinase phosphodiesterase 3B-cyclic AMP pathway in hypothalamic action of leptin on feeding. *Nat Neurosci.* 2002; 5(8): 727-728.
- 8- Zhao AZ, Zhao H, Teague J, Fujimoto W, Beavo JA. Attenuation of insulin secretion by insulin-like growth factor 1 is mediated through activation of phosphodiesterase 3B. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997; 94(7): 3223-3228.
- 9- Mansouri SM, Shafiee-Nick R, Parsaee H, Seyedi SM, Saberi MR, Sadeghian H. Inotropic and chronotropic effects of 6-hydroxy-4-methylquinolin-2(1H)-one derivatives in isolated rat atria. *Iran Biomed J.* 2008; 12(2): 77-84.
- 10- Sadeghian H, Seyedi SM, Saberi MR, Nick RS, Hosseini A, Bakavoli M, et al. Design, synthesis and pharmacological evaluation of 6-hydroxy-4-methylquinolin-2(1H)-one derivatives as inotropic agents. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2009; 24(4): 918-929.
- 11- Lacy PE, Kostianovsky M. Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas. *Diabetes.* 1967; 16(1): 35-39.
- 12- Pyne NJ, Furman BL. Cyclic nucleotide phosphodiesterases in pancreatic islets. *Diabetologia.* 2003; 46(9): 1179-1189.
- 13- Reinhardt RR, Chin E, Zhou J, Taira M, Murata T, Manganiello VC, et al. Distinctive anatomical patterns of gene expression for cGMP-inhibited cyclic nucleotide phosphodiesterases. *J Clin Invest.* 1995; 95(4): 1528-1538.
- 14- Harndahl L, Jing XJ, Ivarsson R, Degerman E, Ahren B, Manganiello VC, et al. Important role of phosphodiesterase 3B for the stimulatory action of cAMP on pancreatic β -cell exocytosis and release of insulin. *J Biol Chem.* 2002; 277(40): 37446-55.
- 15- Pang DC, Cantor E, Hagedorn A, Erhardt P, Wiggins J. Tissue specificity of cAMP-phosphodiesterase inhibitors: Rolipram, amrinone, milrinone, enoximone, piroximone, and imazodan. *Drug Dev Res.* 1988; 14(2): 141-149.
- 16- Jensen JT, Zelinski-Wooten MB, Schwino KM, Vance JE, Stouffer RL. The phosphodiesterase 3 inhibitor ORG 9935 inhibits oocyte maturation during gonadotropin-stimulated ovarian cycles in rhesus macaques. *Contraception.* 2005; 71(1): 68-73.
- 17- oschorreck S, Wenzel F, Fuhrmann M, Racké K. Effects of phosphodiesterase inhibitors on L-arginine pathways in rat alveolar macrophages. *Eur J Pharmacol.* 2003; 471(3): 229-236.

- 18- Cheung P, Yang G, Boden G. Milrinone, a selective phosphodiesterase 3 inhibitor, stimulates lipolysis, endogenous glucose production, and insulin secretion. *Metabolism*. 2003; 52(11): 1496-1500.
- 19- Yang G, Li L. In vivo effects of phosphodiesterase III inhibitors on glucose metabolism and insulin sensitivity. *J Chin Med Assoc*. 2003; 66(4): 210-216.
- 20- Parker JC, VanVolkenburg MA, Gao F. Synergistic effect on insulin secretion from INS-1 cells of a sulfonylurea and a phosphodiesterase 3 inhibitor. *Life Sci*. 2004; 75(12): 1479-1490.

Abstract

Original Article

Evaluation of the effects of new synthetic methylquinolinone derivatives on glucose-induced insulin secretion from rats' isolated Langerhans islets

S.M.T. Mansouri¹, R. Shafiee-Nick², B. Naghizadeh³, H. Parsaee²

Background and Aim: Selective PDE3 inhibitors, via cyclic adenosine monophosphate (cAMP) accumulation increase cardiac contraction and augment glucose-induced insulin secretion. In this study, the effects of some synthetic methylquinolinone derivatives (MC1-MC10) on glucose-induced insulin secretion in rats' isolated Langerhans islets model were investigated.

Materials and Methods: After the digestion of isolated pancreas using collagenase-IV, the isolated islets were collected manually under a stereomicroscope and were incubated in carboxyl buffer having 3mM glucose for 30 minutes. Then, they were incubated at 37°C presented to basal (3mM) and stimulatory (10mM) dose of glucose with or without different methylquinolinone derivatives and 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX) (as standard) in 100µM concentration. After 60 minutes of incubation, the secreted insulin was measured using a radioimmunoassay method.

Results: Glucose significantly increased insulin release with 10mM concentration in comparison with 3mM concentration ($P<0.01$). IBMX (100µM) significantly augmented glucose-induced insulin secretion ($P<0.01$). However, among the investigated ten compounds only MC7 and MC9 significantly increased glucose-induced insulin secretion ($P<0.01$) which was comparable with IBMX.

Conclusion: In spite of having similar structure, the effect of the test compounds (MC1-MC10) on insulin secretion varied widely which may be due to their tissue-specific effects. Finally, it is hoped that the ligands will probably be used in the treatment of diabetes in the future.

Key Words: PDE3 inhibitor, 4-Methylquinolin-2(1H)-one derivatives (MC1-MC10), Insulin secretion, Isolated Langerhans islets, Rat

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2010; 17(1): 1-10

Received: 23.2.2009 Last Revised: 27.1.2010 Accepted: 28.1.2010 Online Version: 8.3.20101

¹ Corresponding Author; Assistant Professor, Department of Pharmacology, Physiology Research Center, Faculty of Medicine, Ahvaz Jondishapour University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran smt_mansouri@yahoo.com

² Associate Professor, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Pharmacological Research Center of Medicinal Plants, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

³ Assistant Professor, Department of Pharmacology, Physiology Research Center, School of Medicine, Ahvaz Jondishapour University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran