Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 31, No. 3, Autumn 2021 ORIGINAL ARTICLE

Modulation of blood sugar level and lipid profiles by schiff base of (*E*)-3-(1*H*-imidazol-4-yl)-2-((2-oxoindolin-3-ylidene) amino) propanoicacid derivatives in streptozotocin-induced type II diabetic rats

Mohaddese Goleij[1], Fatemeh Khakpai[2], Maryam Montazeri[3], Leila Youseftabar-Miri[4]
[1] Pharmacy Student, Faculty of Pharmacy, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Cognitive and Neuroscience Research Center (CNRC), Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[3] Department of Biotechnology, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[4] Department of Organic Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Chemistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: Diabetes is a metabolic disease that disrupts metabolism of sugars and fats in the body. The aim of present study was to investigate the effect of isatin-schiff base derivatives on blood glucose and lipid levels in streptozotocin-induced type II diabetic rats.
Materials and methods: Drugs (insulin, glibenclamide, Schiff base I and Schiff base II) were injected intraperitoneally for 14 days. After 14 days, blood samples were taken from all groups and blood glucose and lipid profiles were measured.
Results: Streptozotocin injection significantly increased blood sugar, triglyceride, cholesterol and LDL, but significantly decreased blood HDL compared to the control group. Also, injection of insulin, glibenclamide, Schiff base I and different doses of Schiff base II (for 14 days) in the diabetic group significantly reduced blood sugar, triglycerides, cholesterol and LDL, but significantly increased blood HDL compared to the sham diabetic group. Injection of the lowest dose of Schiff base II (25 mg/kg) with glibenclamide (5 mg/kg) significantly reduced blood sugar compared to the control or glibenclamide group, but had no significant effect on triglyceride, cholesterol, HDL and LDL compared to the control, insulin or glibenclamide groups.
Conclusion: These results indicate that the derivatives of E)) - 3- (H1-imidazole-4-yl) -2 - ((2-oxindolin-3-ylidine) amino) propanoic acid may be effective in the treatment of diabetes. The effect of Schiff base I and Schiff base II are probably due to the presence of isatin or imidazole ring and their antioxidant properties.
Keywords: *Isatin-schiff base derivatives, Glucose, Fat, Rat, Diabetes.*

Cited as: Goleij M, Khakpai F, Montazeri M, Youseftabar-Miri L. Modulation of blood suger level and lipid profiles by schiff base of (E)-3-(1H-imidazol-4-yl)-2-((2-oxoindolin-3-ylidene) amino) propanoicacid derivatives in streptozotocin-induced type II diabetic rats. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2021; 31(3): **319-327.**

Correspondence to: Leila Youseftabar-Miri
Tel: *+98 22904102-021*
E-mail: l.youseftabar@iautmu.ac.ir
ORCID ID: 0000-0001-8214-6924
Received: 7 Dec 2020; **Accepted:** 27 Feb 2021

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۱، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰، صفحات ۳۱۹ تا ۳۲۷

Original Article

تعدیل قند خون و پروفایل‌های چربی توسط مشتقات باز شیف (*E*)-۳-(*1H*)-ایمیدازول-۴-ایل)-۲-((۲-اکسیندولین-۳-ایلیدین) آمینو)پروپانوییک اسید در رت‌های دیابتی شده نوع دو با استرپتوزوتوسین

محدثه گلیج[۱]، فاطمه خاکپای[۲]، مریم منتظری[۳]، لیلا یوسف تبار میری[۴]

[۱] دانشجوی داروسازی، دانشکده داروسازی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۲] مرکز تحقیقات علوم اعصاب و شناخت، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۳] گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوریهای نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۴] گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *دیابت نوعی بیماری متابولیکی است که در سوخت و ساز قندها و چربی‌های بدن اختلال ایجاد می‌کند. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر مشتقات باز شیف ایساتین بر میزان گلوکز و چربی خون در رت‌های دیابتی شده نوع دو با استرپتوزوتوسین بود.*

روش بررسی: *داروها (انسولین، گلی بن کلامید، باز شیف I و باز شیف II) به صورت داخل صفاقی، به مدت ۱۴ روز تزریق شد. پس از ۱۴ روز، از همه گروه‌ها نمونه خونی تهیه و میزان گلوکز و پروفایلهای چربی خون اندازه گیری شد.*

یافته‌ها: *تزریق استرپتوزوتوسین باعث افزایش معنی‌دار قند، تری گلیسرید، کلسترول و LDL خون، اما کاهش معنی‌دار HDL خون نسبت به گروه کنترل شد. همچنین، تزریق انسولین، گلی بن کلامید، باز شیف I و دوزهای مختلف باز شیف II (به مدت ۱۴ روز) در گروه دیابتی باعث کاهش معنی‌دار قند، تری گلیسرید، کلسترول و LDL خون، ولی افزایش معنی‌دار HDL خون نسبت به گروه شاهد دیابتی شد. تزریق کمترین دوز باز شیف II (۲۵ mg/kg) به همراه گلی بن کلامید (۵ mg/kg) باعث کاهش معنی‌دار قند خون نسبت به گروه کنترل یا گلی بن کلامید شد، اما اثر معنی‌داری در سطح تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL و LDL خون نسبت به گروه کنترل، انسولین یا گلی بن کلامید مشاهده نشد.*

نتیجه‌گیری: *این نتایج نشان می‌دهد که مشتقات بازشیف (E)-۳-(۱H-ایمیدازول-۴-ایل)-۲-((۲-اکسیندولین-۳-ایلیدین) آمینو)پروپانوییک اسید ممکن است در درمان دیابت موثر باشد. تأثیر باز شیف I و باز شیف II احتمالاً به دلیل وجود حلقه ایساتین و یا ایمیدازول و خواص آنتی اکسیدانی آنها است.*

واژگان کلیدی: *مشتقات بازشیف ایساتین، گلوکز، چربی، موش صحرایی، دیابت.*

مقدمه

در جهان شهری امروز، بیماری دیابت نگرانی عمده‌ای برای سلامتی انسان است. شیوع دیابت با توجه به سبک زندگی، چاقی، پرخوری، عدم تحرک، استرس و پیری رو به افزایش می باشد. دیابت قندی یکی از شایع‌ترین اختلالات متابولیکی با عوارض طولانی مدت که شامل نفروپاتی دیابتی، نوروپاتی و رتینوپاتی است که منجر به مرگ و میر قابل توجهی می‌شود (۱).

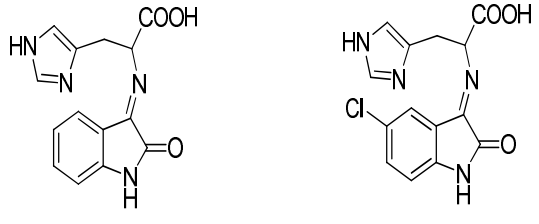
سازمان بهداشت جهانی پیش بینی کرده است که تا سال ۲۰۳۰ تعداد بزرگسالان دیابتی تقریبا در جهان دو برابر خواهد

آدرس نویسنده مسئول: تهران، گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، لیلا یوسف تبار میری (**email**: l.youseftabar@iautmu.ac.ir)
ORCID ID: 0000-0001-8214-6924
تاریخ دریافت مقاله: ۹۹/۹/۱۷
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۹/۱۲/۹

شد (از ۱۷۷ میلیون در ۲۰۰۰ به ۳۷۰ میلیون تن) (۲). و گزارشات حاکی از آن است که این بیماری چهارمین علت مرگ و میر در کشورهای توسعه یافته بوده و ۶ درصد از جمعیت بزرگسال جهان را تحت تاثیر خود قرار داده است (۳). این بیماری با افزایش مزمن سطح قند خون مشخص می‌شود که ناشی از اختلال در ترشح، یا عمل انسولین و یا هر دوی آنها و همچنین تولید بیش از حد گلوگز در کبد است.

برای درمان دیابت از داروهای مختلفی مانند انسولین، گلی بن کلامید، متفورمین و ... استفاده می‌شود (۴).

ایساتین (۱H-ایندول-۲،۳-دی اون) یک ترکیب هتروسیکل نیتروژن دار مهم است که در بسیاری از گیاهان، خون و بافت انسان یافت می‌شود. ایساتین به عنوان یک هسته امیدوارکننده ظاهر شده و توجه زیادی در داروسازی و کشف داروهای جدید در دهه گذشته به خود جلب کرده است (۵). مقالات منتشر شده در این زمینه نشان داده است که ایساتین و مشتقات آن فعالیت بیولوژیکی متفاوتی مانند ضد سرطان، ضد باکتری، ضد ویروس، ضد سل، ضد التهاب، ضد قارچ دارند (۶-۸). ایمیدازول‌ها، هسته اصلی بسیاری از ترکیبات مهم در ارگانیسم‌های بشر، مانند آمینو اسید هیستیدین، ویتامین B12 ،یک جزء از ساختار باز DNA، پورین، هیستامین و بیوتین هستند. داروهای حاوی ایمیدازول، دامنه وسیعی در از بین بردن مواد مختلف در پزشکی بالینی دارند (۹). در برخی از مشتقات، خواص گوناگون درمانی مانند ضد میکروب، آنتی اکسیدان، ضد قارچ و عفونت ویروس HIV مشاهده شده است (۱۰, ۱۱). ترکیبات باز شیف حاوی یک گروه ایمینو(-C=N) هستند که به طورمعمول با تراکم آمین نوع اول با یک گروه کربونیل فعال تشکیل می‌شوند. برخی از آنها جزء پرکاربردترین ترکیبات آلی هستند. از آنها به عنوان کاتالیزور، رنگدانه‌ها و رنگ‌ها، واسطه‌ها در سنتز آلی و به عنوان تثبیت کننده‌های پلیمر استفاده می‌شود. همچنین باز شیف ها طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیک مانند ضد ویروسی، ضد باکتریایی، ضد التهابی، ضد مالاریا، ضد قارچ و ضد تب را نشان داده‌اند (۱۲). سالها تجربه دانشمندان نشان داده است که حضور دو یا بیشتر هسته دارویی در یک ملکول سبب افزایش خواص زیستی می‌شود (۱۳, ۱۴). لذا بر آن شدیم اثر باز شیف متشکل از دو هسته بیولوژیکی کارآمد (ایساتین و ایمیدازول)، (E)-۳-(۱H-ایمیدازول-۴-ایل)-۲-((۲-اکسیندولین-۳-ایلیدین)آمینو)پروپانوییک اسید (باز شیف I) و (E)- 2-((۵-کلرو-۲-اکسیندولین-۳-ایلیدین)آمینو)-۳-(۱H-ایمیدازول-۴-ایل)-پروپانوییک اسید (باز شیف II) را بر روی میزان قند خون و پروفایل های چربی در نمونه حیوانی دیابتی مورد ارزیابی قرار دهیم (شکل ۱).



باز شیف II باز شیف I

شکل ۱. شکل باز شیف‌های ایساتین و ایمیدازول: (E)-۳-(*1H*)-۱-ایمیدازول-۴-ایل)-۲-((۲-اکسیندولین-۳-ایلیدین)آمینو) پروپانوییک اسید (باز شیف I) و (E)- 2-((۵-کلرو-۲-اکسیندولین-۳-ایلیدین)آمینو)-۳-(*1H*-ایمیدازول-۴-ایل)-پروپانوییک اسید (باز شیف II).

مواد و روشها

حیوانات

در این مطالعه تجربی، حیوانات مورد بررسی ۸۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار (Wistar) در محدوده وزنی ۲۳۰ تا ۲۸۰ گرم و محدوده سنی ۱۰ تا ۱۲ هفته بودند که از محل پرورش حیوانات دانشگاه شهید بهشتی تهیه شدند. پس از یک هفته دسترسی آزاد به آب و غذا جهت خو گرفتن به محیط تحت شرایط کنترل شده دمایی۲۲-۲۰ درجه سانتی گراد و با چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در محل نگهداری حیوانات دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران قرار گرفتند. آب و غذا به میزان کافی در اختیار آنها قرار می‌گرفت و به جز در زمان انجام آزمایش، به راحتی به آب و غذا دسترسی داشتند. قوانین اخلاقی مربوط به نگهداری و کار با حیوانات در همه مراحل آزمایش رعایت شد.

روش دیابتی کردن حیوانات

به طور تجربی استرپتوزتوسین (STZ) و آلوکسان برای القای دیابت در جوندگان استفاده می‌شوند. استرپتوزتوسین عامل موثری در راه اندازی مرگ سلول جزایرلانگرهانس به واسطه استرس اکسیداتیو حاد است. موش‌های دیابتی با STZ یکی از مدل‌های حیوانی دیابت وابسته به انسولین با سطح گلوکز ناشتای بالا و کاهش شدید در غلظت انسولین پلاسما هستند (۱۵).

برای دیابتی کردن موش‌ها از داروی استرپتوزتوسین به صورت تک دوز و داخل صفاقی و به میزان ۶۰ mg/kg حل شده در آب مقطر استفاده شد (۱۶). برای اطمینان از دیابتی شدن

حیوانات یک هفته بعد از تزریق از دم موش‌ها خون گیری به عمل می‌آمد و میزان قند خون با دستگاه Easygluco اندازه گیری می‌شد. مبنای دیابتی شدن موش‌ها، میزان قند خون بالاتر از ۲۵۰ mg/dl در نظر گرفته شد.

روش تهیه مشتقات باز شیف ایساتین

جهت سنتز باز شیف I و باز شیف II، از روش انجام شده در مقالات استفاده شد (۱۷, ۱۸). بدین ترتیب که ۰/۰۱ مول ایساتین و یا ۵-کلرو ایساتین را در ۱۰ میلی لیتر اتانول مطلق حل کرده و به آن۰/۰۱مول L- هیستیدین اضافه نموده و به مدت ۵ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از سرد شدن مخلوط واکنش، رسوب به دست آمده را با آب شسته و با حلال مناسب نوبلور (Recrystallization) شد. برای اطمینان از سنتز این ترکیبات، نقطه ذوب و طیف HNMR[1] گرفته شد و با مراجع مقایسه شد.

گروه بندی حیوانات

حیوانات مورد آزمایش به ۱۰ گروه ۸ تایی تقسیم شدند که عبارت بودند از:

۱- گروه اول (گروه کنترل): حیوانات این گروه در طی دوره آزمایش هیچ گونه دارویی دریافت نمی‌کردند.

۲- گروه دوم (گروه شاهد دیابتی:) حیوانات این گروه فقط توسط استرپتوزتوسین دیابتی می‌شدند و دارویی دریافت نمی‌کردند.

۳- گروه سوم (گروه تجربی ۱) : حیوانات تیمار دیابتی روزانه ۱ml/kg انسولین را به صورت تزریق داخل صفاقی و به مدت ۱۴ روز دریافت می‌کردند (۴, ۱۹).

۴- گروه چهارم (گروه تجربی۲): حیوانات تیمار دیابتی روزانه ۵ mg/kg گلی بن کلامید را به مدت ۱۴ روز دریافت می‌کردند (۴, ۱۹).

۵- گروه پنجم (گروه تجربی ۳): حیوانات تیمار دیابتی روزانه دوز متوسط باز شیف I (۵۰ mg/kg) را به مدت ۱۴ روز دریافت می‌کردند (۲۰).

۶- گروه ششم (گروه تجربی ۴): حیوانات تیمار دیابتی روزانه دوز کم باز شیف II (۲۵ mg/kg) را به مدت ۱۴ روز دریافت می‌کردند (۲۰).

۷- گروه هفتم (گروه تجربی ۵): حیوانات تیمار دیابتی روزانه دوز متوسط باز شیف II (۵۰ mg/kg) را به مدت ۱۴ روز دریافت می‌کردند.

۸- گروه هشتم (گروه تجربی ۶): حیوانات تیمار دیابتی روزانه دوز زیاد باز شیف II (۱۰۰ mg/kg) را به مدت ۱۴ روز دریافت می‌کردند.

۹- گروه نهم (گروه تجربی ۷): حیوانات تیمار دیابتی روزانه ۱ml/kg انسولین را همراه با دوز کم باز شیف II (۲۵ mg/kg) به مدت ۱۴ روز دریافت می‌کردند.

۱۰- گروه دهم (گروه تجربی ۸): حیوانات تیمار دیابتی روزانه ۵ mg/kg گلی بن کلامید را به همراه دوز کم باز شیف II (۲۵ mg/kg) به مدت ۱۴ روز دریافت می‌کردند.

در این مطالعه با توجه به گران بودن مواد و کیت‌های تشخیص برای جلوگیری از افزایش هزینه تحقیق، درمان استاندارد ضدچربی بررسی نشد. در روز ۱۴ و چهار ساعت پس از آخرین تزریق، موش‌ها توسط اتر بیهوش می‌شدند. با شکافتن قفسه سینه و به کمک سرنگ ۲ میلی لیتری از بطن چپ قلب، خون‌گیری انجام می‌شد. نمونه‌های خونی در لوله‌های لخته جمع‌آوری شده و بلافاصله به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی منتقل می‌شدند، تا میزان گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، HDL و LDL اندازه گیری شود. میزان گلوکز سرم توسط روش هگزوکیناز اندازه گیری شد. میزان کلسترول، تری گلیسیرید، HDL و LDL به صورت آنزیمی (Boehringer Mannheim) اندازه گیری شد (۴).

طرح تحقیقاتی مذکور در کمیته اخلاق دانشگاه به ثبت رسید (کد اخلاق: IR.IAU.PS.REC.1399.077) و در تمامی مراحل پژوهش، اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

تحلیل نتایج

تحلیل آماری داده‌ها با کمک آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و دوطرفه (One- and two-way ANOVA) با استفاده از نرم-افزار SPSS و ترسیم نمودارها با برنامه سیگماپلات صورت گرفت. از تست توکی (Tukey as the post hoc test) برای تعیین معنی‌داری بین گروه‌ها استفاده شد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای معیار برای ۸ سر موش صحرایی در هر گروه بیان شد و P<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌دار بودن داده‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

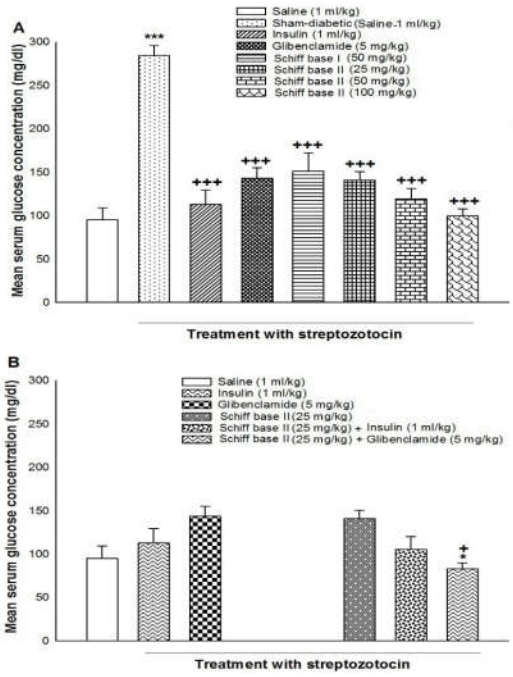
اثرمشتقات بازشیف *ایساتین بر غلظت گلوکز خون*

در این بررسی نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی نشان داد که تزریق استرپتوزتوسین باعث افزایش معنی‌دار قند خون نسبت به گروه کنترل می‌شود (p<۰/۰۰۱). نتایج این آنالیز نشان داد که تزریق انسولین، گلی بن کلامید، باز شیف I و دوزهای مختلف باز شیف II (به مدت ۱۴ روز)

جدول ۱. میانگین غلظت سرمی گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید،HDL و LDL بدنبال تاثیر مشتقات بازشیف I و باز شیف II در گروه‌های مورد آزمایش (Mean ± SEM)

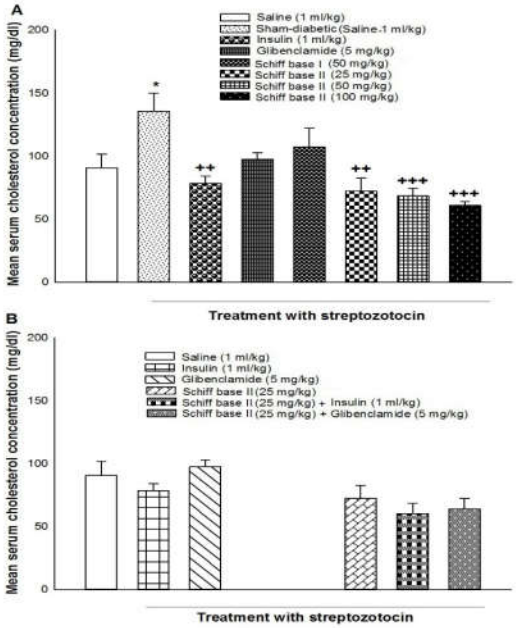
گروه‌های آزمایش	گلوکز(mg/dl)	کلسترول(mg/dl)	تری‌گلیسرید(mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
کنترل	۱۲۵/۹۵ ±۴/۷۴	۹۰/۶۲±۳/۱۱	۸۲/۱۲±۴/۸۶	۲۶±۱/۱۸	۱۳/۷۵±۰/۵۵
شاهد دیابتی	۲۸۴/۸۷±۲۱*	۱۳۵/۶۲±۷/۵۷*	۱۴۲/۲۵±۱۱/۵۳*	۱۵/۳۷±۱/۰۵*	۱۸/۱۲±۱/۲۳*
تجربی ۱	۱۱۳±۴/۷۲*	۷۸/۳۷±۱/۶۳*	۷۴±۴/۶۴*	۲۶/۲۵±۲*	۱۳±۰/۵۹*
تجربی ۲	۱۴۳/۵±۸/۷۲*	۹۷/۶۲±۲/۲۳	۹۱/۲۵±۶/۸۲	۲۴±۳/۷۲	۱۴/۸۷±۱/۱۴
تجربی ۳	۱۵۱/۵±۱۹/۵۹*	۱۰۷/۵±۸/۸۲	۱۰۸/۰±۱۱/۱۱	۲۶/۵±۲/۸۸*	۱۴/۸۷±۱/۰۹
تجربی ۴	۱۴۱/۲۵±۹/۲۱*	۷۲/۲۵±۱/۵۷*	۱۲۰/۳۷±۱۲/۶۸	۲۰/۱۲±۱/۴۳	۱۲/۵±۰/۷*
تجربی ۵	۱۱۸/۵±۸/۳۵*	۶۸/۳۷±۳/۰۴*	۱۰۷/۳۷±۱۰/۷۲	۲۳/۶۲±۱/۶	۱۲/۸۷±۱/۰۹*
تجربی ۶	۹۹/۷۵±۸/۳۱*	۶۰/۳۷±۲/۰۴*	۷۱/۵±۷/۶۷*	۲۶/۸۷±۲/۵۱*	۸/۵±۰/۹*
تجربی ۷	۱۰۵/۵±۹/۰۰	۶۰/۱۲±۱/۹۸	۹۷/۳۷±۸/۴۶	۲۲/۱۲±۲/۱۲	۱۴/۳۷±۱/۰۸
تجربی ۸	۸۳/۲۵±۶/۴۵*	۶۳/۶۲±۲,۵۷	۸۶/۵±۷/۷۳	۲۱/۱۲±۱/۳۵	۱۳/۱۲±۱/۲

در گروه دیابتی باعث کاهش معنی‌دار قند خون نسبت به گروه شاهد دیابتی می‌شود ($p<۰/۰۰۱$) (جدول ۱ و شکل A۲). نتایج آنالیز واریانس دوطرفه و تست توکی نشان داد که تزریق کمترین دوز باز شیف II (۲۵ mg/kg) به همراه گلی بن کلامید (۵ mg/kg) باعث کاهش معنی‌دار قند خون نسبت به گروه کنترل یا گلی بن کلامید می‌شود (جدول ۱ و شکل B۲).



شکل ۲. اثر تزریق انسولین، گلی بن کلامید، باز شیف I و دوزهای مختلف باز شیف II (به مدت ۱۴ روز) بر تعدیل قند خون در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل ($p<۰/۰۰۱$) و گروه شاهد دیابتی ($p<۰/۰۰۱$). علامت * نشان دهنده اختلاف معنی‌دار گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل و علامت + نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه شاهد دیابتی (A) یا گلی بن کلامید(B) است.

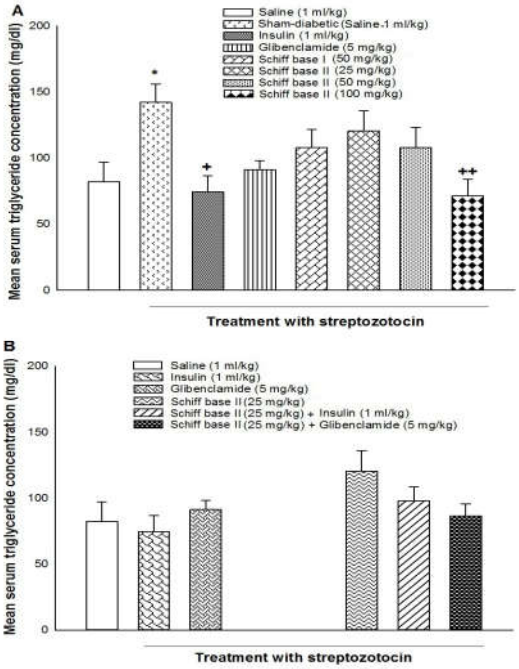
همچنین نتایج نشان داد تزریق دوز متوسط باز شیف II سبب بهبودی هیپوگلیسمی بهتری نسبت به باز شیف I در رت‌های دیابتی شده با استرپتوزتوسین (STZ) می‌شود که با توجه به گزارشات در این زمینه، می‌توان بر بالاتر بودن فعالیت مهارکننده‌های آنزیم آلفا گلوکوزیداز در ترکیبات کلردار نسبت داد (۲۱-۱۸)، به همین دلیل بخش اعظم تحقیق با استفاده از باز شیف II انجام شد.



شکل ۳. اثر تزریق انسولین، گلی بن کلامید **و** مشتقات بازشیف ایساتین (به مدت ۱۴ روز) بر میزان کلسترول خون در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل و گروه شاهد دیابتی ($p<۰/۰۵$ و $p<۰/۰۱$). علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل و علامت + نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه شاهد دیابتی است.

اثر مشتقات بازشیف ایساتین بر غلظت کلسترول خون

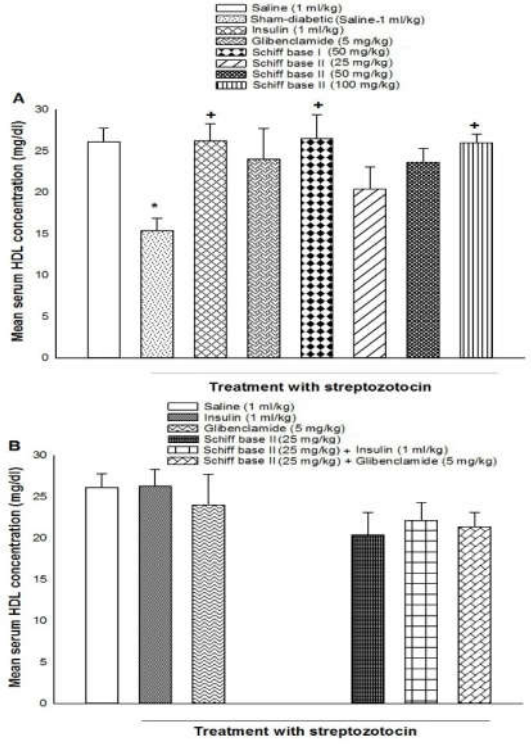
نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی نشان دادکه تزریق استرپتوزتوسین باعث افزایش معنی‌دار کلسترول خون نسبت به گروه کنترل می‌شود ($p<۰/۰۵$). همچنین، نتایج این آنالیز نشان داد که تزریق انسولین، گلی بن کلامید و مشتقات بازشیف ایساتین (به مدت ۱۴ روز) در گروه دیابتی باعث کاهش معنی‌دار کلسترول خون نسبت به گروه شاهد دیابتی می‌شود ($p<۰/۰۱$). همچنین، نتایج آنالیز واریانس دوطرفه و تست توکی نشان دادکه تزریق کمترین مقدار باز شیف II (۲۵ mg/kg) به همراه انسولین (۱ml/kg) یا گلی بن کلامید (۵ mg/kg) تغییر معنی‌داری در سطح کلسترول خون نسبت به گروه کنترل، انسولین یا گلی بن کلامید ایجاد نمی‌کند (جدول ۱ و شکل ۳).



شکل ۴. اثر تزریق انسولین، گلی بن کلامید و مشتقات بازشیف ایساتین (به مدت ۱۴ روز) بر میزان تری گلیسرید خون در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل و گروه شاهد دیابتی ($p<۰/۰۵$ و $p<۰/۰۱$). علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل و علامت + نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه شاهد دیابتی است.

اثر مشتقات بازشیف ایساتین بر غلظت تری گلیسرید خون

در این بررسی نیز نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی نشان دادکه با تزریق استرپتوزتوسین، تری گلیسرید خون نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد ($p<۰/۰۵$). نتایج نشان داد که تزریق انسولین، گلی بن کلامید و مشتقات بازشیف ایساتین (به مدت ۱۴ روز) در گروه دیابتی باعث کاهش معنی‌دار تری گلیسرید خون نسبت به گروه شاهد دیابتی می‌شود ($p<۰/۰۱$). همچنین، نتایج آنالیز واریانس دوطرفه و تست توکی نشان دادکه تزریق کمترین دوز باز شیف II (۲۵ mg/kg) به همراه انسولین (۱ml/kg) یا گلی بن کلامید (۵ mg/kg) تغییر معنی‌داری در سطح تری گلیسرید خون نسبت به گروه کنترل، انسولین یا گلی بن کلامید ایجاد نمی‌کند (جدول ۱ و شکل ۴).



شکل ۵. اثر تزریق انسولین، گلی بن کلامید و مشتقات بازشیف ایساتین (به مدت ۱۴ روز) بر میزان HDL خون در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل و گروه شاهد دیابتی ($p<۰/۰۵$). علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل و علامت + نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه شاهد دیابتی است.

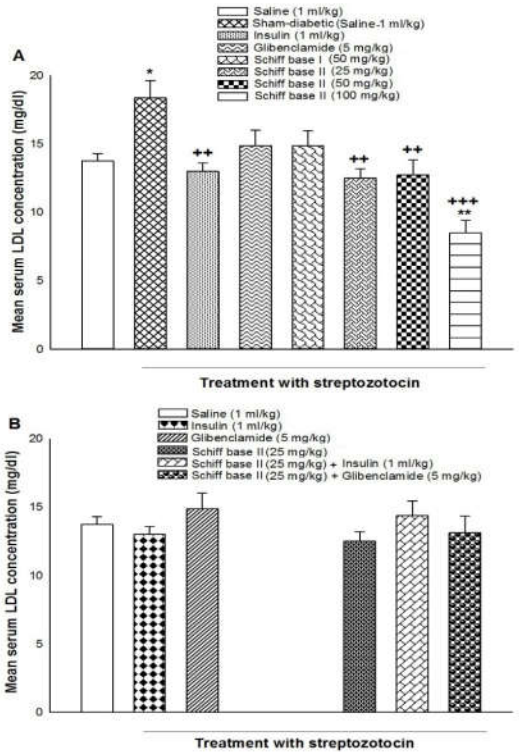
اثر مشتقات بازشیف ایساتین بر غلظت HDL خون

نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی نشان داد که تزریق استرپتوزتوسین باعث کاهش معنی‌دار HDL خون نسبت به گروه کنترل می‌شود ($p<۰/۰۵$). همچنین، تزریق انسولین، گلی بن کلامید و مشتقات بازشیف ایساتین (به مدت ۱۴ روز) در گروه دیابتی باعث افزایش معنی‌دار HDL خون نسبت به گروه شاهد دیابتی می‌شود ($p<۰/۰۵$). نتایج آنالیز واریانس دوطرفه و تست توکی نشان داد که تزریق کمترین مقدار باز شیف II (۲۵ mg/kg) به همراه انسولین

(۱ml/kg) یا گلی بن کلامید (۵ mg/kg) تغییر معنی‌داری در سطح HDL خون نسبت به گروه کنترل، انسولین یا گلی بن کلامید ایجاد نمی‌کند (جدول ۱ و شکل ۵).

اثر مشتقات بازشیف ایساتین بر غلظت LDL خون

در این بررسی نیز نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی نشان دادکه تزریق استرپتوزتوسین، LDL خون نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد ($p<۰/۰۵$). نتایج این آنالیز نشان داد که تزریق انسولین، گلی بن کلامید و مشتقات بازشیف ایساتین (به مدت ۱۴ روز) در گروه دیابتی باعث کاهش معنی‌دار LDL خون نسبت به گروه شاهد دیابتی می‌شود ($p<۰/۰۰۱$). همچنین، نتایج آنالیز واریانس دوطرفه و تست توکی نشان دادکه تزریق کمترین دوز باز شیف II (۲۵ mg/kg) به همراه انسولین (۱ml/kg) یا گلی بن کلامید (۵ mg/kg) تغییر معنی‌داری در سطح LDL خون نسبت به گروه کنترل، انسولین یا گلی بن کلامید ایجاد نمی‌کند (جدول ۱ و شکل ۶).



شکل ۶. اثر تزریق انسولین، گلی بن کلامید و مشتقات بازشیف ایساتین (به مدت ۱۴ روز) بر میزان LDL خون در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل و گروه شاهد دیابتی ($p<۰/۰۰۱$). علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل و علامت + نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه شاهد دیابتی است.

بحث

با توجه به اینکه مشتقات باز شیف استفاده شده در این تحقیق اثرات بیولوژیکی خوبی مانند ضد سرطان، مهارکننده کیناز و آنتی بیوتیک از خود نشان داده‌اند (۱۷)، بر آن شدیم در این تحقیق اثر ضد دیابتی این ترکیبات را در موش‌های صحرایی دیابتی ناشی از استرپتوزوسین مورد بررسی قرار دهیم. نتایج آزمایشات ما مانند سایر گزارشات نشان داد که تزریق استرپتوزتوسین باعث افزایش معنی‌دار قند، تری گلیسرید، کلسترول و LDL خون، اما کاهش معنی‌دار HDL خون نسبت به گروه کنترل می‌شود که نشان‌دهنده اثر تزریق استرپتوزتوسین در القای بیماری دیابتی است. استرپتوزوسین از طریق یک حمل کننده گلوکز (GLUT2) وارد سلول‌های لوزالمعده شده و از طریق آلکیلاسیون DNA، منجر به آسیب سلول‌های بتای لوزالمعده می‌شود (۱۹).

همچنین، نتایج آزمایشات تحقیق حاضر نشان داد که تزریق انسولین، گلی بن کلامید، باز شیف I و دوزهای مختلف باز شیف II (به مدت ۱۴ روز) در گروه دیابتی باعث کاهش معنی‌دار قند، تری گلیسرید، کلسترول و LDL خون، ولی افزایش معنی‌دار HDL خون نسبت به گروه شاهد دیابتی می‌شود. مطالعات قبلی نشان داده است که ایساتین‌ها دارای فعالیت ضد دیابتی قوی هستند (۲۱, ۲۲) و می‌توانند سیگنال انسولین را در سلول‌های ماهیچه‌ای، کبدی و چربی بازیابی کنند (۲۰, ۲۳). این عملکرد ایساتین‌ها می‌تواند بدلیل هسته ایندول موجود در ایساتین‌ها باشد. مطالعات حاکی از آن است که یکی از ساز و کارهای ایندول، بازسازی و ترمیم سلول‌های جزایر لانگرهانس است. Stetinova و همکارانش در سال ۲۰۰۲ گزارش داده‌اند که مشتقات ایندول میزان گلوگز خون را به میزان ۷ ٪ کاهش می‌دهند (۲۴). همچنین، اثرات حفاظتی آنالوگ‌های ایندول در برابر افزایش قند خون ناشی از دیابت القا شده با استرپتوزوتوسین گزارش شده است. ایندول‌ها، آنتی اکسیدان‌های قوی هستند و می‌توانند اختلال‌هایی مانند بیماری‌های قلبی و کلسترول بالا و دیابت را از بین ببرند (۲۵). ارتباط بین فعالیت آنتی اکسیدانی با خاصیت ضد دیابتی قبلا گزارش شده است (۲۶). مطالعات نشان داده‌اند که ترکیبات آنتی اکسیدانی بر باز سازی و ترمیم سلول‌های بتای لوزالمعده موثر هستند و در مطالعه بافت شناسی که در این زمینه انجام شده است، مشخص شده که ایندول‌ها (یکی از مشتقات ایساتین) با داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی می‌توانند سلول-های بتا و جزایر لانگرهانس را به طور واضح در موش‌های

دیابتی ترمیم کند که نتیجه آن افزایش میزان انسولین و کاهش قند خون است (۲۷, ۲۸).

همچنین باز شیف‌ها شامل حلقه ایساتین و یا ایمیدازول دارای خصلت آنتی اکسیدانی هستند (۳۶-۳۳). بنابراین، احتمالا خواص آنتی اکسیدانی این باز شیف‌ها می‌تواند در کاهش استرس اکسیداتیو موثر باشند و در نهایت اثر هیپوگلیسیمیک ایجاد کنند. هم چنین وابسته به دوز بودن کاهش سطح قند خون را می‌توان به افزایش اثر آنتی اکسیدانی در غلظت‌های بالاتر باز شیف II ارتباط داد.

این نتایج حاکی از آن است که ترکیب این دو هسته دارویی مهم ایساتین و ایمیدازول در یک مولکول می‌تواند منجر به بهبود فعالیت دارویی آن نسبت به ایساتین می‌شود و در شرایط مشابه اثرکاهندگی در قند خون شیف باز II بیش از ۵- کلرو ایساتین بوده است (۳۷).

برای بررسی اثر تداخلی انسولین و گلی بن کلامید با مشتقات بازشیف ایساتین، در گروه های تجربی ۷ و ۸ حیوانات تیمار دیابتی، انسولین و گلی بن کلامید را همراه با دوز کم باز شیف II (۲۵ mg/kg) به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. نتایج آنالیز در این گروه‌های تجربی نشان داد که تزریق کمترین دوز باز شیف II (۲۵ mg/kg) به همراه گلی بن کلامید (۵ mg/kg) باعث کاهش معنی‌دار قند خون نسبت به گروه کنترل یا گلی بن کلامید می‌شود، ولی اثر معنی‌داری در سطح تری گلیسرید، کلسترول، HDL و LDL خون نسبت به گروه کنترل، انسولین یا گلی بن کلامید ایجاد نمی‌کند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالا به دلیل تداخل عملکردی بازشیف II با گلی بن کلامید باشد. زیرا هر دوی داروی بازشیف II و گلی بن کلامید اثر ترمیمی بر سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس دارند (۳۱، ۳۲ و ۳۸) که با تحریک ترشح انسولین سبب کاهش قند خون تا میزان طبیعی می‌شوند. همچنین این احتمال است که در تحقیق حاضر، انسولین با دوز کم تزریق شده است. اما به دلیل اینکه گلی بن کلامید بر سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس اثر می‌گذارد، می‌تواند سبب تحریک ترشح انسولین به مقدار نیاز شود تا قند خون را تا حد طبیعی کاهش دهد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تزریق مشتقات بازشیف ایساتین (به مدت ۱۴ روز) سبب تعدیل قند، تری گلیسرید، کلسترول، HDL و LDL خون در موش‌های دیابتی می‌شود. بنابراین، پیشنهاد می‌شود که در تحقیقات بعدی، بررسی بافت شناسی بر روی بافت‌های کبد، کلیه و پانکراس پس از تجویز این باز شیف‌ها صورت گیرد. البته استفاده از این باز شیف‌ها برای مقاصد درمانی نیاز به مطالعات تکمیلی و همه جانبه دارد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از مسئولین محترم دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران (دانشکده علوم دارویی، گروه فارماکولوژی) که زمینه انجام این تحقیق را فراهم کردند، صمیمانه قدردانی می‌شود.

REFERENCES

1. Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. Nature 2001;414: 782-7.

2.Guariguata L. By the numbers: new estimates from the IDF Diabetes Atlas Update for 2012. Diabetes Res Clin Pract 2012; 98:524-5.

3.Meetoo D, McGovern P, Safadi R. An epidemiological overview of diabetes across the world. Br J Nurs 2007; 16:1002-7.

4.Stenman S, Groop PH ,Saloranta C, Tötterman KJ, Fyhrqvist F, Groop L. Effects of the combination of insulin and glibenclamide in Type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients with secondary failure to oral hypoglycaemic agents. Diabetologia 1988; 31:206-13.

5.Minami M, Hamaue N, Endo T, Hirafuji M, Terado M, Ide H, et al. Effects of isatin, an endogenous MAO inhibitor, on dopamine (DA) and acetylcholine (ACh) concentrations in rats. Nippon Yakurigaku Zasshi Japonica 1999; 114:186-91.

6.Guo H. Isatin derivatives and their anti-bacterial activities. Eur J Med Chem 2019; 164:678-88.

7.Sharma PK, Balwani S, Mathur D, Malhotra S, Singh BK, Prasad AK, et al. Synthesis and anti-inflammatory activity evaluation of novel triazolyl-isatin hybrids. J Enzyme Inhib Med Chem 2016; 31:1520-6

8.Dar OA, Lone SA, Malik MA ,Aqlan FM, Wani MY, Hashmi AA, et al. Synthesis and synergistic studies of isatin based mixed ligand complexes as potential antifungal therapeutic agents. Heliyon 2019;5: e02055.

9.Soni J, Sethiya A, Sahiba N, Agarwal DK, Agarwal S. Contemporary Progress in the Synthetic Strategies of Imidazole and its Biological Activities. Curr Org Synth 2019; 16:1078-104.

10.Bettencourt AP, Castro M, Silva JP, Fernandes F, Coutinho OP, Sousa MJ, et al. Phenolic Imidazole Derivatives with Dual Antioxidant/Antifungal Activity: Synthesis and Structure-Activity Relationship. Med Chem 2019; 15:341-51.

11.Zhan P, Liu X, Zhu J, Fang Z, Li Z, Pannecouque C, et al. Synthesis and biological evaluation of imidazole thioacetanilides as novel non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. Bioorg Med Chem 2009; 17:5775-81.

12.Hameed A, Al-Rashida M, Uroos M, Abid Ali S, Khan KM. Schiff bases in medicinal chemistry: a patent review (2010-2015). Expert opinion on therapeutic patents (EOTPEG) 2017; 27:63-79.

13.Viegas-Junior C, Danuello A, da Silva Bolzani V, Barreiro EJ, Fraga CA. Molecular hybridization: a useful tool in the design of new drug prototypes. Curr Med Chem 2007; 14:1829-52.

14.Shaveta, Mishra S, Singh P. Hybrid molecules: The privileged scaffolds for various pharmaceuticals. Eur J Med Chem 2016; 124:500-36.

15.Burcelin R, Eddouks M, Maury J, Kande J, Assan R, Girard J. Excessive glucose production, rather than insulin resistance, accounts for hyperglycaemia in recent-onset streptozotocin-diabetic rats. Diabetologia 1995; 38:283-90

16.Kusunoki J, Aragane K, Kitamine T, Kozono H, Kano K, Fujinami K, et al. Postprandial hyperlipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats is due to abnormal increase in intestinal acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase activity. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000; 20:171-8.

17.Abadi AH, Abou-Seri SM, Abdel-Rahman DE, Klein C, Lozach O, Meijer L. Synthesis of 3-substituted-2-oxoindole analogues and their evaluation as kinase inhibitors, anticancer and antiangiogenic agents. Eur J Med Chem 2006; 41:296-305.

18.Singh BK, Rajour HK, Prakash A. Synthesis, characterization and biological activity of transition metal complexes with Schiff bases derived from 2-nitrobenzaldehyde with glycine and methionine. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc 2012; 143 :51-94.

19.Eidi A, Eidi M, Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic (Allium sativum L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Phytomedicine: Int J Phytother Phytopharmacol 2006; 13:624-9.

20.Aftab MF, Afridi SK, Ghaffar S, Murtaza M, Khan M, Karim A, et al. A bis-Schiff base of isatin improves methylglyoxal mediated insulin resistance in skeletal muscle cells. Arch Pharmacal Res 2015.

21.Khan KM, Khan M, Ali M, Taha M, Rasheed S, Perveen S, et al. Synthesis of bis-Schiff bases of isatins and their antiglycation activity. Bioorg Med Chem 2009; 17:7795-801.

22.Chen G, Wang Y, Hao X, Mu S, Sun Q. Simple isatin derivatives as free radical scavengers: Synthesis, biological evaluation and structure-activity relationship. Chem Cent J 2011; 5:37.

23.Afridi SK ,Aftab MF, Murtaza M, Ghaffar S, Karim A, Mughal UR, et al. A new glycotoxins inhibitor attenuates insulin resistance in liver and fat cells. Biochem Biophys Res Commun 2016; 476:188-95.

24.Stetinova V, Smetanova L, Grossmann V, Anzenbacher P. In vitro and in vivo assessment of the antioxidant activity of melatonin and related indole derivatives. Gen Physiol Biophys 2002; 21:153-62.

25.Herraiz T, Galisteo J. Endogenous and dietary indoles: a class of antioxidants and radical scavengers in the ABTS assay. Free Radic Res 2004; 38:323-31.

26.Sabu MC, Kuttan R. Anti-diabetic activity of medicinal plants and its relationship with their antioxidant property. J. Ethnopharmacol 2002; 81:155-60.

27.Sonmez F, Gunesli Z, Kurt BZ, Gazioglu I, Avci D, Kucukislamoglu M. Synthesis, antioxidant activity and SAR study of novel spiro-isatin-based Schiff bases. Mol Divers 2019; 23:829-44.

28.Abu-Dief AM, Abdel-Rahman LH, Abdelhamid AA, Marzouk AA, Shehata MR, Bakheet MA, et al. Synthesis and characterization of new Cr (III), Fe (III) and Cu (II) complexes incorporating multi-substituted aryl imidazole ligand: Structural, DFT, DNA binding, and biological implications. Spectrochim Acta A Mol Biomol 2020; 228:117700.