

## بررسی اثر هیپوگلیسمی عصاره الکلی برگ زیتون (*Olea europaea* L.) در موش‌های صحرایی نر بالغ سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین

اکرم عیدی<sup>۱\*</sup>، مریم عیدی<sup>۲</sup>، شهربانو عریان<sup>۳</sup>، فتح‌اله فلاحیان<sup>۴</sup>، رویا درزی درونکلا<sup>۵</sup>

- ۱- استادیار فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی
  - ۲- استادیار فیزیولوژی، دانشکده علوم، واحد ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی
  - ۳- استاد فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه تربیت معلم تهران
  - ۴- استاد گیاه‌شناسی، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی
  - ۵- کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی
- \*آدرس مکاتبه: تهران، بالاتر از میدان پونک، به طرف حصارک، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی  
صندوق پستی: ۴۴۶-۱۶۵۳۵، تلفن: ۷۷۰۲۴۴۸ (۰۲۱)، نمابر: ۲۲۲۴۷۶۷ (۰۲۹۲)  
پست الکترونیک: akram\_eidi@yahoo.com

### چکیده

برگ گیاه زیتون (*Olea europaea* L.) را در طب سنتی به عنوان داروی ضد فشار خون، مدر، آنتی‌اکسیدان، ضدباکتری، ضدآترواسکلروزیس استفاده می‌نمایند. در تحقیق حاضر تاثیر عصاره الکلی گیاه زیتون بر میزان قند و انسولین سرم در موش‌های صحرایی نر بالغ سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تحقیق گویای آن است که میزان گلوکز سرم حیوانات دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین به صورت معنی‌داری در مقایسه با حیوانات سالم افزایش می‌یابد و تیمار خوراکی عصاره الکلی برگ زیتون سبب کاهش معنی‌داری در میزان گلوکز سرم حیوانات دیابتی می‌گردد و این کاهش بسیار موثرتر از داروی گلی بن کلامید می‌باشد. عصاره الکلی برگ زیتون تاثیر معنی‌داری را در میزان گلوکز سرم حیوانات سالم ایجاد نمی‌کند. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که میزان انسولین سرم حیوانات دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین به صورت معنی‌داری در مقایسه با حیوانات سالم کاهش می‌یابد و تیمار خوراکی عصاره الکلی برگ زیتون سبب افزایش معنی‌داری در میزان انسولین سرم حیوانات دیابتی می‌گردد و این افزایش موثرتر از داروی گلی بن کلامید می‌باشد. عصاره الکلی برگ زیتون تاثیر معنی‌داری را در میزان انسولین سرم حیوانات سالم ایجاد نمی‌کند. بر اساس نتایج تحقیق حاضر به دلیل در دسترس بودن و تاثیر عمیق این گیاه بر پایین آوردن قند خون، در درمان دیابت توصیه می‌گردد.

کلواژگان: برگ زیتون، دیابت، موش صحرایی



## مقدمه

زیتون (*Olea europaea* L.) درختچه ای از تیره Oleaceae با برگ‌های سبز دائمی است که به حالت وحشی، ارتفاعی در حدود ۵ متر یا اندکی بیشتر دارد ولی اگر در شرایط مساعد پرورش یابد، ارتفاع آن به ۱۲ تا ۱۵ متر و محیط تنه آن به ۳ تا ۴ متر می‌رسد. قسمت مورد استفاده درخت زیتون، میوه و برگ آن است. برگ‌های آن دارای وضعیت متقابل بر روی ساقه و ظاهر بیضوی دراز، نوک تیز، چرمی به رنگ سبز روشن و زیبا، در سطح فوقانی پهنک است ولی سطح تحتانی پهنک، رنگ روشن تر دارد [۱].

این گیاه در طب سنتی به عنوان داروی ضد فشار خون، ضد آترواسکلروزیس، ملین، تب بر، نیرو بخش، موثر در درمان عفونت‌های مجاری ادراری، برطرف کننده سردرد و با فعالیت آنتی اکسیدانی یاد شده است [۲،۳]. گزارش‌هایی بر تاثیر چای برگ زیتون در درمان تب مالاریا در دسترس می‌باشد [۱].

در این تحقیق جهت مشخص نمودن اثر هیپوگلیسمی برگ گیاه زیتون، عصاره الکلی برگ گیاه به موش‌های صحرایی نر سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین تیمار و میزان گلوکز و انسولین سرم در حیوانات سنجش گردیده و مقایسه‌ای نیز بر اثر هیپوگلیسمی عصاره الکلی برگ زیتون و داروی متداول گلی‌بن کلامید صورت گرفته است.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری، شناسایی و تهیه عصاره گیاه

برگ گیاه زیتون (*Olea europaea* L.) جمع‌آوری و توسط هرباریوم دانشگاه تربیت معلم تهران از نظر تاگزونومیکی مورد شناسایی قرار گرفت. برگ‌های گیاه در حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط سایه خشک گردید و با استفاده از آسیاب مکانیکی به صورت پودر درآمد. پودر خشک تا زمان آزمایش در فریزر نگهداری گردید. سپس عصاره الکلی گیاه با استفاده از دستگاه سوکسله (Suxhlet) و اتانول ۸۰ درصد به دست آمد و توسط دستگاه روتاری (Rotary) خشک گردید.

### حیوانات

موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد Wistar با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. موشها در اطاق حیوانات با درجه حرارت کنترل شده  $23 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند لازم به ذکر است که آب و غذای همواره در دسترس آنها قرار داشت.

## دیابتی نمودن حیوانات

جهت القای دیابت، موش‌های صحرایی به صورت درون صفاقی استرپتوزوتوسین (Pharmacia & Upjohn, USA) با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت نمودند. علائم دیابت شامل کاهش وزن، پرنوشی و پر ادراری پس از گذشت ۷-۵ روز آشکار گردید. جهت اطمینان بیشتر، میزان قند خون حیوانات از طریق خون گیری از سینوس رتروربیتال از گوشه داخلی چشم اندازه گیری شد که افزایش قند خون به میزان بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر نشان‌دهنده دیابتی شدن حیوانات بود.

## نحوه تیمار

عصاره گیاهی در دوزهای مختلف، داروی گلی‌بن کلامید و آب مقطر به صورت خوراکی از طریق لوله intragastric روزانه تیمار گردید. حجم ماده تیمار شده در تمامی گروه‌ها ۱ میلی‌لیتر و مدت زمان تیمار ۱۴ روز بود. حیوانات به ۹ گروه تقسیم شدند. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر بود.

گروه ۱: حیوانات سالم که با آب مقطر تیمار شدند.  
گروه‌های ۲، ۳ و ۴: حیوانات سالم که عصاره گیاهی را با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.  
گروه ۵: حیوانات دیابتی که با آب مقطر تیمار شدند.  
گروه‌های ۶، ۷ و ۸: حیوانات دیابتی که عصاره گیاهی را با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.  
گروه ۹: حیوانات دیابتی که داروی گلی‌بن کلامید را با دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

## روش‌های بیوشیمیایی

پس از گذشت ۱۴ روز، حیوانات با اثر بیهوش شدند و نمونه‌های خون از طریق خون گیری از قلب جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها بلافاصله سانتریفیوژ شدند و سرم آنها به دست آمد. میزان گلوکز سرم به روش گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، ایران) و هورمون انسولین به روش رادیوایمونواسی با استفاده از کیت اندازه گیری انسولین (diasorin, Italy) اندازه گیری گردید. لازم به ذکر است این نوع کیت به صورت ۱۰۰ درصد با انسولین موش صحرایی مطابقت دارد.

## آنالیز آماری داده‌ها

تمامی داده‌ها از نظر آماری، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و تست Tukey بررسی گردیدند. نتایج به صورت  $\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$  ارائه شد. معیار استنتاج آماری  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.



## نتایج

نتایج تحقیق نشان می‌دهد که گلوکز سرم به صورت معنی‌داری در موش‌های دیابتی شده در مقایسه با موش‌های سالم افزایش می‌یابد ( $p < 0.001$ ) و عصاره الکلی برگ گیاه زیتون با دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ( $p < 0.001$ ) و داروی گلی بن‌کلامید ( $p < 0.01$ ) کاهش معنی‌داری در میزان گلوکز سرم ایجاد می‌نمایند. این بدان معنی است که عصاره گیاهی به صورت معنی‌داری موثرتر از داروی گلی‌بن‌کلامید در کاهش میزان گلوکز عمل می‌نماید. نتایج تحقیق حاکی از آن است که تیمار عصاره‌های الکلی برگ گیاه زیتون در دوزهای مختلف تغییر معنی‌داری بر میزان گلوکز در موش‌های سالم ایجاد نموده است (نمودار شماره ۱).

نتایج تحقیق گویای آن است که میزان انسولین سرم به صورت معنی‌داری در موش‌های دیابتی شده در مقایسه با موش‌های سالم کاهش می‌یابد ( $p < 0.001$ ). عصاره الکلی برگ گیاه زیتون با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ( $p < 0.01$ ) و داروی گلی بن‌کلامید ( $p < 0.05$ ) افزایش معنی‌داری در میزان انسولین سرم در مقایسه با موش‌های دیابتی شده ایجاد می‌نمایند به طوری که عصاره گیاهی موثرتر از داروی گلی بن‌کلامید در افزایش میزان انسولین عمل می‌نماید. نتایج تحقیق حاکی از آن است که تیمار عصاره‌های الکلی برگ گیاه زیتون در دوزهای مختلف تغییر معنی‌داری بر میزان انسولین سرم در موش‌های سالم

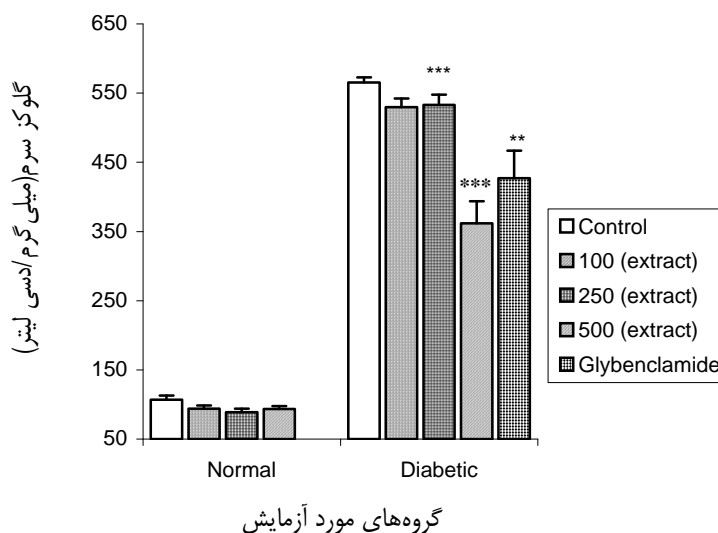
ایجاد نموده است (نمودار شماره ۲).

## بحث

علی‌رغم اینکه گیاهان دارویی از قدمت و اعتبار خاصی برخوردار هستند و به عنوان گنجینه‌های پر ارزش در تاریخچه علوم دارویی محسوب می‌شوند، متأسفانه به جای استفاده صحیح علمی و مناسب از اندوخته‌های فوق، در کشور ما تنها به برداشت و مصارف صوری از آنها اکتفا شده است.

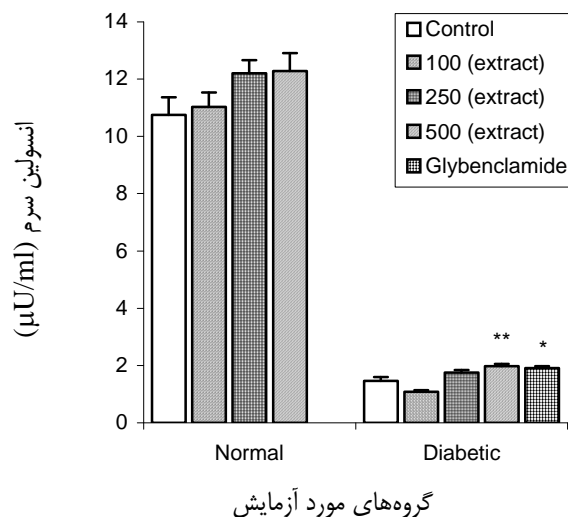
گیاهان دارویی در بسیاری از کشورها جهت درمان دیابت ملیتوس به کار می‌روند. عمل هیپوگلیسمی بسیاری از گیاهان دارویی مورد بررسی قرار گرفته است [۵]. گیاهان دارویی به دلیل سهولت دسترسی، عوارض جانبی کمتر، سمیت اندک و قیمت مناسب به عنوان جایگزین‌های شایسته داروهای شیمیایی همواره مورد توجه بوده‌اند.

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که عصاره الکلی برگ گیاه زیتون موجب کاهش میزان قند خون و افزایش میزان انسولین سرم در موش‌های صحرایی دیابتی شده ولی اثر معنی‌داری بر حیوانات سالم اعمال نموده است. استرپتوزوتوسین کاهش قابل توجهی در آزادسازی انسولین به دلیل تخریب سلول‌های بتا جزایر لانگرهانس لوزالمعده ایجاد می‌نماید. در تحقیق حاضر، افزایش معنی‌داری در میزان انسولین سرم به دنبال تیمار عصاره الکلی برگ زیتون در موش‌های دیابتی دیده می‌شود که این امر در نتیجه تقویت اثر انسولین پلاسما توسط افزایش ترشح پانکراسی



نمودار شماره ۱- اثر تیمار خوراکی عصاره الکلی برگ زیتون (غلظت‌های ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بر میزان گلوکز سرم در موش‌های صحرایی سالم و دیابتی شده توسط داروی استرپتوزوتوسین. اثر داروی گلی بن‌کلامید نیز در موش‌های دیابتی شده بررسی شده است. حیوانات کنترل آب مقطر دریافت نموده‌اند. هر ستون mean  $\pm$  S.E.M را نشان می‌دهد.  $p < 0.01$ ،  $p < 0.001$ ،  $p < 0.05$  اختلاف میزان گلوکز را از گروه کنترل دیابتی نشان می‌دهد.





نمودار شماره ۲- اثر تیمار خوراکی عصاره الکلی برگ زیتون (غلظت‌های ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بر میزان انسولین سرم در موش‌های صحرایی سالم و دیابتی شده توسط داروی استرپتوزوتوسین. اثر داروی گلی بن کلاید نیز در موش‌های دیابتی شده بررسی شده است. حیوانات کنترل آب مقطر دریافت نموده‌اند. هر ستون  $\text{mean} \pm \text{S.E.M}$  را نشان می‌دهد.  $p < 0.05$ ، \*  $p < 0.01$ ، \*\* اختلاف میزان انسولین را از گروه کنترل دیابتی نشان می‌دهد.

جمع‌آوری شده در ماه‌های مختلف سال طی تحقیقی در سال ۱۹۹۸ مورد بررسی قرار گرفته و مشخص گردید که اثر هیپوگلیسمی این گیاه در تمامی ماه‌های سال یکسان نبوده و در اردیبهشت ماه کمترین تاثیر را دارد [۵]. ماکزیمم فعالیت هیپوگلیسمی، از برگ‌های جمع‌آوری شده در ماه‌های زمستان می‌باشد. احتمالاً فعالیت هیپوگلیسمی برگ زیتون به دلیل ترکیب oleuropeoside آن است که این ترکیب احتمالاً از طریق تقویت آزادسازی انسولین و افزایش جذب محیطی گلوکز عمل می‌نماید [۱۱]. برگ زیتون از هیپرتانسیون حاد و آترواسکلروزیس جلوگیری نموده و مقاومت به انسولین را در حیوانات تجربی بهبود می‌بخشد [۱۲، ۲].

انسولین از سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس موجود می‌باشد. گیاهان دارویی مانند *Syzigium Azadirachta indica* و *Tribulus terrestris cumini* نیز دارای اثرات تحریکی بر آزادسازی انسولین می‌باشند [۶، ۷، ۸]. احتمالاً اثر عصاره الکلی برگ زیتون در کاهش قند خون به دلیل افزایش میزان مصرف گلوکز توسط بافت‌های محیطی می‌باشد [۹]. عصاره الکلی برگ زیتون از آنجایی که سبب کاهش معنی‌داری در میزان گلوکز خون در موش‌های دیابتی با گلوکز خون بالا می‌گردد و احتمالاً با تداوم پاسخ انسولین یا مهار جذب روده‌ای گلوکز خون عمل می‌نماید، می‌تواند موجب تقویت مصرف گلوکز شود. [۱۰]. فعالیت هیپوگلیسمی برگ‌های زیتون

## منابع

- leaves. *Journal of Ethnopharmacology* 2003; 84: 299-305.
- Hutchings A, Scott AM, Lewis G, Cunningham A. *Zulu Medicinal plants*. An Inventory. University of Natal Press. Scottsville. 1996, p: 235.
- Hansen K. Isolation of an angiotension converting enzyme (ACE) inhibitor from *olea*

- زرگری علی. گیاهان دارویی. چاپ ششم. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۱۳۷۵، جلد سوم، صفحات ۲۹-۳۱۹.
- Somova LI, Shode FO, Ramnanan P, Nadar A. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *africana*

- streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 1996; 54: 41-46.
9. Chattopadhyay RR. Possible mechanism of antihyperglycaemic effect of *Azadirachata indica* leaf extract. *Part IV. Gen. Pharmacol.* 1996; 27: 431-434.
10. Pari L, Saravanan G. Antidiabetic effect of Cogent db, a herbal drug in alloxan-induced diabetes mellitus. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C.* 2002; 131: 19-25.
11. Gonzalez M, Zarzuelo A, Gamez MJ, Utrilla MP, Jimenez J, Osuna I. Hypoglycemic activity of olive leaf. *Planta Med.* 1992; 58: 513-515.
12. Ziyat A, Legssyer A, Mekhfi H, Dassouli A, Serhrouchni M, Benjelloun W. Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *Journal of Ethnopharmacology* 1997; 58: 45-54.
- europa* and *olea lancea*. *Phytomedicine* 1996;2:319-325.
5. Alarcon-Aguilara FJ, Roman-Ramos R, Perez-Gutierrez S, Aguilar-Contreras A, Contreras-Weber CC, Flores-Saenz JL. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *Journal of Ethnopharmacology* 1998; 61: 101-110.
6. Chattopadhyay RR. Possible mechanism of antihyperglycaemic effect of *Azadirachata indica* leaf extract. *Part V. Gen. Pharmacol.* 1999; 67: 373-376.
7. Prince PSM, Menon VP, Pari L. Hypoglycaemic activity of *Syzigium cumini* seeds: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 1998; 61: 1-7.
8. Mitra SK, Gopumadhavan S, Muralidhar TS, Anturlikar SD, Sujatha MB. Effect of a herbomineral preparation D-400 in