دراسة تأثير المستخلص الكحولي لثمار البنبر Cordia myxa على العدد الكلي والعدد التفريقي لخلايا الدم البيض في الجرذان

ختام عبد السادة علي
كلية الطب البيطري /جامعة القادسية

الخلاصة

تم في هذا البحث دراسة خواص ثمار شجرة البنبر من نواحي التحليل الكيميائي لمكونات الثمرة والتأثيرات الدوائية في أعداد خلايا الدم البيض، حيث ظهر من خلال التحليلات الكيميائية وجود كلاً من الكلايكوسيدات والعفصيات والراتنجات والصابونيات والفلافونات والكومارين والقلويدات.تم استخلاص الثمار بجهاز سكسوليت باستخدام كحول أثيلي تركيزه ٧٠% كحول وكانت نسب المستخلص الكحولي الحار للثمار الجافة ٧٦.٦%و١١.٩%للثمار الرطبة(كاملة) و١٨.٢% للثمار الرطبة(مزالة البذور).وأفضل النتائج كانت مع المستخلص الكحولي الحار بتركيز ٦٠٠ ملغم/مللتر. وقد أظهر المستخلص الكحولي زيادة في العدد الكلي لخلايا الدم البيض T.L.C لم يرتقي إلى مستوى المعنوية إضافة إلى زيادة طفيفة في بعض أنواع خلايا الدم البيض وخصوصاً الخلايا اللمفية.

المقدمة

بدأت الحياة النباتية قبل بدأ الحياة الحيوانية على سطح الكرة الأرضية مما يشير وبدلالة واضحة إلى اعتماد الثانية على الأولى ومع تقدم الحياة أصبحت هناك حاجة إلى معرفة تلك الأسرار المكنونة داخل النبات للاستفادة منها وخصوصاً لمعالجة مختلف الأمراض والتي أصبح العلاج الكيميائي معها عقيماً أو غير مجدي نفعاً لكثرة المقاومة والآثار الجانبية الناشئة من المداواة به وأقرب ما يأنس به الإنسان ويلجأ إليه هو الأعشاب والنباتات الطبية والتي هي من صنع الطبيعة (مجيد ومحمود، ١٩٨٨). وهناك نباتات كثيرة ذات تأثير فعال جداً على ذلك السائل الحيواني العجيب الذي يسير في عروق البشر والحيوانات وهو الدم والذي به نعيش ونتكيف مع البيئة وندافع عن أجسامنا ونسكن الألم ويزيل الالتهاب (Al-Awadi *et al.*, 2001).ومن تلك النباتات هو ثمار شجرة البنبر Cordia myxa والذي يؤثر على ضغط الدم ويحفز التنفس (Abu-Shaaban *et al.*, 1989). إضافة إلى احتواءه على العناصر النادرة التي تدخل في تركيب الدم وأنزيمات الجسم والتي منها الحديد والزنك والنحاس والمنغنيز والكادميوم والزئبق فضلاً عن وجود القلويدات والكومارين والفلافونات والصابونين والتربين (Parmar and Kaushal, 1982) و (Al-Awadi *et al.*, 2001). وجدير بالذكر ان كل الحالات التي استخدمت فيها النباتات للمعالجة كانت فعالة وبدون أعراض جانبية من جهة ومن جهة أخرى لا تنشط مقاومة الجراثيم وهذا ما دفع الكثيرين للبحث المتواصل في خفايا النباتات.

المواد وطرائق العمل

حيوانات التجربة

- الجرذان

أ- الجنس: ذكور.

ب- العمر: ثلاثة أشهر (٩٠ يوم).

ج- السلاسة: Rattus norvegicus

د-الوزن: ٢٥٠-٣٠٠ غرام.

الدراسة العقاقيرية:

١- تحضير المستخلص الكحولي الحار لثمار البنبر

بعد ان تم جمع العينات خلال موسم الاثمار بين شهري حزيران وتموز، جففت الثمار وطحنت بالمطحنة الكهربائية ثم حفظت في علب زجاجية لأجل الاستخلاص.تم استخلاص الثمار باستخدام جهاز سكسوليت Soxhlet apparatus وحسب طريقة Harbone (1975) لتحضير مستخلص كحولي حار اثيلي تركيزه ٧٠%.ثم جففت المستخلصات باستخدام جهاز المبخر التفريغي الدوار Vaccum rotary evaporator تحت درجة ٥٠ مئوية، ثم وزنت المستخلصات وحفظت في درجة -٢٠ مئوية.

٢- الدراسة الكيميائية والكشف الكيميائي التمهيدي لبعض المكونات الطبية الفعالة في ثمار البنبر:

حضرت المحاليل والكواشف حسب الطريقة الموصوفة من قبل Stahl (1969) وتم الكشف كذلك كما ذكر Shihata (1951) للبأها والعفصيات (Tannins) والكلوكوسيدات Glycosides والصابونيات Saponins والراتنجات Resins أما بالنسبة للقلويدات Alkaloids فقد تم الكشف عنها حسب طريقة Fahmy (1933) والفلافونات حسب طرقة Jaffer at al. (1983) وأخيراً الكومارين حسب طريقة Geisman (1962).

الدراسة الدوائية:

درست بعض صفات الدم الفسلجية لحيوانات التجربة (الجرذان) قبل المعاملة وبعد المعاملة به وذلك لمعرفة تأثير هذا النبات على النسب الطبيعية لخلايا الدم البيض وأعدادها وهل له تأثير على الجانب المناعي وقوة مقاومة الأمراض حيث وزنت الحيوانات وسحب منها الدم لإجراء العد الكلي والتفريقي لخلايا

الدم البيض بعد ذلك جرعت الحيوانات يومياً لمدة ١٢ يوم وكانت الجرعة ٦٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم حسب دراسات تم إجراءها مسبقاً ثم أعيد سحب الدم وفحص أعداد الخلايا البيضاء واعتبر كل حيوان سيطرة لنفسه.

١- حساب خلايا الدم البيض:

لحساب خلايا الدم البيض استخدم جهاز هيموسايتوميتر Haemocytometer method وباستخدام محلول توما Thoma's solution حيث سحب الدم إلى العلامة ٠.٥ ثم سحب سائل التخفيف إلى العلامة ١٠١ ثم يمزج بحركة تشبه رقم ٨ وبعدها تهمل القطرات الأولى من الماصة ثم توضع قطرة على الشريحة وتغطى وتحسب الخلايا في المربعات الأربعة الموجودة في الزوايا. وتطبق المعادلة الآتية:

$$\frac{\text{ع}}{\text{٤}} \times ٢٠ \times ١٠ =$$ ع × ٥٠ خلية بيضاء/سم^3 دم (Cloes, 1974)

٢-العد التفريقي لخلايا الدم البيض Differential Leucocytes Count

تتم الطريقة كما ذكرها Coles (1974) وذلك بسحب الدم وبوضع قطرة على الشريحة الزجاجية ثم يتم فرش القطرة بصورة متجانسة وبسحبة واحدة وبعد ان تجف الشريحة يتم صبغها بصيغة رايت Writtee stain وتترك لبضع دقائق ثم تغسل بماء الحنفية تفحص بعد ذلك العينات تحت قوة تكبير ١٠٠ بطريقة متعرجة على الشريحة صعوداً ونزولاً حتى تعد ١٠٠ خلية على ان يشخص كل نوع منها لمعرفة النسب المئوية للخلايا.

النتائج

١- نتائج الدراسة العقاقيرية

أ-نسب المستخلصات:

بلغت نسبة المستخلص الكحولي الحار لثمار البنبر بتركيز ٧٠% كحول ٧٦.٦% إلى الوزن الجاف، أما الوزن الرطب للثمار(ثمار كاملة) ١١.٩% والى الوزن الرطب ثمار مزالة البذور ١٨.٢%.

ب- نتائج الكشف الكيميائي التمهيدي:

بينت نتائج الكشف الكيميائي التمهيدي باستعمال الكواشف السابقة الذكر وجود العفصيات والراتنجات والكلايكوسيدات والصابونينات والفينولات والفلافونات والكومارين في ثمار البنبر المجفف، أما القلويدات فانها لم تظهر أثناء الفحص الأولي وعند إعادة إجراء الفحص الكيميائي للكشف عن المواد في مستخلص النبات فقد تبين وجودها (القلويدات). وذلك لأن نسبها قليلة جداً وقد تركزت في المستخلص.

٢- نتائج الدراسة الدوائية:

أظهرت دراسة معايير الدم للخلايا البيض زيادة واضحة في العدد الكلي لخلايا الدم البيضاء بعد المعاملة مع المستخلص الكحولي حيث كان الفرق عالي المعنوية حسب اختبار t-test عن أعداد الخلايا البيض قبل المعاملة مع المستخلص، فقد كان متوسطها ٣٢٤٥.١٢٥±٣٩٦.٩٩٤ قبل المعاملة وأصبحت ٧٦٣٩.٣٧٥±١٢٨٣.٨٨٢ بعد المعاملة مع المستخلص تحت مستوى احتمالية ١% (جدول رقم ١).أما دراسة العدد التفريقي لخلايا الدم البيض فقد أظهرت زيادة عددية ولكنها غير معنوية إحصائياً حسب اختبار t-test بين متوسطات ما قبل المعاملة وما بعد المعاملة مع المستخلص حيث كانت الفروقات حسابية(جدول رقم ٢، ٣).

جدول رقم (١) يمثل العدد الكلي لخلايا الدم البيض قبل المعاملة وبعد المعاملة مع المستخلص الكحولي الحار لثمار البنبر في الجرذان

رقم الحيوان	عدد WBC قبل المعاملة cell/mm^3	عدد WBC بعد المعاملة cell/mm^3
١	٣٥٥٠	٥٦٠٠
٢	٢٩٠٠	٦٧٨٠
٣	٢٤٥٠	٧٦٧٠
٤	٢٨٠٠	٨٤٥٠
٥	٢٩٦١	٩٠٨٠
٦	٢٠٠٠	٦٣٨٥
٧	٥٧٠٠	٨٠٣٥
٨	٣٦٠٠	٩١١٥

جدول رقم (٢) نتائج العد التفريقي لخلايا الدم البيض قبل المعاملة مع المستخلص الكحولي الحار لثمار البنبر

رقم الحيوان (الجرذان)	المتعادلة Neutro.	الحمضة Esono.	القاعدية Baso.	اللمفية الكبيرة Lympho.	اللمفية الصغيرة Lympho.	الوحيدة mono
١	30	4	1	46	24	8
٢	39	9	-	30	25	9
٣	31	7	-	37	23	12
٤	45	7	1	27	20	9
٥	37	10	-	32	29	7
٦	30	15	1	30	22	10
٧	46	8	-	27	21	13
٨	41	11	-	26	26	6

جدول رقم (٣) نتائج الدراسة التفريقية لخلايا الدم البيض بعد المعاملة مع المستخلص الكحولي الحار لثمار البنبر

رقم الحيوان (الجرذان)	المتعادلة Neutro.	الحمضة Esono.	القاعدية Baso.	اللمفية الكبيرة Lympho.	اللمفية الصغيرة Lympho.	الوحيدة mono
١	35	4	-	49	25	6
٢	32	10	-	29	22	9
٣	25	9	1	39	25	10
٤	46	8	-	38	21	6
٥	32	11	1	34	27	9
٦	27	9	-	33	26	8
٧	45	7	-	29	24	7
٨	42	12	-	40	23	5

المناقشة

أثر مستخلص ثمار البنبر بطريقة ايجابيةوبشكل غير معنوي على نسب مكونات الدم حيث ظهر ان النسب تساوت تقريباً لكل الحيوانات المعاملة مع النسب الطبيعية وازدادت عنها في بعض المعايير فقد ظهر ان للمستخلص تأثير واضح في زيادة أعداد الخلايا البيض فكانت الزيادة عالية المعنوية للحيوانات المعاملة مع المستخلص. أما العد التفريقي فقد أشار إلى الزيادة العددية في الخلايا البيض حسابياً ولكن الفرق غير معنوي إحصائياً بين الحيوانات قبل المعاملة وبعد المعاملة. وقد يعود هذا التأثير في زيادة أعداد الخلايا وخصوصاً اللمفية إلى تأثير المستخلص على العقد اللمفية فتنشطها لتكوين وسرعة نضج الخلايا اللمفية ويتضح من هذا تأثير المستخلص على الحالة المناعية للحيوان حيث يحسن ويزيد النشاط المناعي عن طريق زيادة أعداد الخلايا اللمفية والمسؤولة عن المناعة الخلوية المكتسبة ومواقع تكوينها العقد اللمفاوية واللوزتين ونخاع العظم (Withers, 1992).كما ان للمستخلص تأثير غير محدد الطريقة على الجهاز المناعي وعلى الخلايا البيض لقابليته على تقليل تجمع الخلايا المتعادلة واللمفية وخلايا البلازما في المنطقة الملتهبة ويعمل على معالجة الالتهاب بطريق آخر هو بتقليل فعالية انزيم مايلوبيروكسديز Myeloperoxidase (Al-Awadi, 2001).إضافة إلى ما تقدم فان لمستخلص ثمار البنبر عمل ايجابي لكل مكونات الدم ونسبه وربما يعزى هذا إلى وجود كميات من العناصر النادرة والتي تدخل في تكوين الدم أو الانزيمات المساعدة لتكوينه مثل الحديد والنحاس والمنغنيز والسلينيوم والزنك (Al-Awadi, 1998). كما أشار Parmar and Kaushal (1982) إلى وجود الحديد والكالسيوم والفسفور والمغنيسيوم.كما أكد Al-Awadi (2001) ان فاكهة البنبر تعالج حالات فقر الدم المتسببة عن نقص العناصر النادرة مثل السلينيوم.أما بحثنا هذا فقد اتفق مع ما أثبته (Al-Awadi, 1998).من أن لثمار البنبر تأثير مضاد للالتهابات وخصوصاً التهاب الأمعاء حيث أثبتنا أنه ينشط تكوين الخلايا البيض وخصوصاً اللمفية مما يزيد في قوة مناعة الحيوان وبالتالي الحالة الصحية له.

المصادر

1- Coles, E.H, (1974). Veterinary Clinical Pathology. 2nd ed. W.B. Saunders. London.
2- Shihata, I.M. (1951). Apharmacology study of Anagallis arvensis, M.D. Vet. Thesis, Cairo University.
3- Stahl, E. (1969). Thin layer chromatograph, Alabroatory Hand bood, 2nd Ed. Translated by Ashoworth. M.R.F. Springer Verlag,Berlin, Heidelberg, New York.
4- Fahmy, I.R. (1933). Constituents of plant and crude Drugs. 1st ed. Poul. Barbey. Cairo.
5- Jaffer, H.J. Mahmood, M.J, Jawad, A.M. (1983). Phytochemical and biological screening of some Iraqi plant.
6- Giesman, T.A. (1962). Chemistry of Flavonoid compounds. Macmillan Co. New York.
7- Abu-Shaaban, R.R.A; Al-Angar, A.A.; Al-Tahir, K.E.H.; Al-Khamis, K.I.; Mirghami, O.M. (1989). Comparative hypertensive and respiratory stimulation effects of ripe and unripe fruit mucilage of Cordial myxa. Phytother. Res.
8- Al-Awadi, F.M.; Khan, I.; Dashti, H.M.; Srikumar, T.S. (1998). Colitis induced changes in the level of trace elements in rat colon and other tissues. Nutr. Metab. 42: 304.
9- Al-Awadi, F.M.; Strikumar, T.S.; Anim, J.J. (2001). Anti inflammatory effects Cordial myxa fruit on experimentally induced colitis in rats. Nutr. 17: 391-396.
10- Parmar, C. and Kaushal, M.K. (1982). Cordial oblique. In wild fruits. 19-22 Kalyani Publisher. India.
11- Withers, Ph.c. (1992). Comparative Animal Physiology. 3rd ed. Saunders Coll. Pup. USA.
١٢- مجيد، سامي هاشم ومحمود، مهند جميل (١٩٨٨). النباتات والأعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي. مجلس البحث العلمي. مركز بحوث علوم الحياة قسم العقاقير وتقييم الأدوية. الطبعة الأولى مطبعة دار الثورة.

Study of effect of alcoholic extract of fruit of Cordia myxz in total count and differential count of white blood cells in rats

K. A. Ali
Coll.of Vete.Med./ Univ.of AL-Qadisyia

Abstract

The present experiment was carried out to study some characters of Cordial myxz from chemical analysis to the fruit and pharmacological effect on leucocytes count.The primary chemical analysis of the dried fruit reveled to presence of glycosides, tannins, resins, saponins, flavonide and coumarins also alkolids.The extracts was carried out by hot continuous extraction with ethyl alcohol(70%) using soxhlet apparatus. And the yield 76.6% ratio of extraction.The best effect occur with concentration of 600 mg/ml of extract with hot alcohol.The plant extract caused elevation in some of blood parameters particularly total counting of leucocyte, but differential counting of leucocute have some increase in some types specially lymphocyte but this increase did not have effect statistically.