دراسة تأثير مستخلص بذور نبات الحبة السوداء *Nigella sativa* في بعض البكتيريا المسببة لألتهاب المجاري البولية

جنان محمد حسين
مدرس مساعد
كلية التربية للبنات

سندس وفي غني
مدرس مساعد
كلية التربية للبنات

زينب عبد محسن
مدرس مساعد
المعهد الطبي/كوفة

الخلاصة:

تضمنت هذه التجربة القيام بأختبارات خارج الجسم الحي لدراسة تأثير المواد الفعالة المستخلصة بالماء البارد والكحول الأثيلي لنبات الحبة السوداء Nigella sativa في تثبيط نمو جراثيم Staphylloccus aureus و Eshcerichia coli و Enterobacter و Proteus aureuginosar Psedumonas و Klebsiella وذلك لأهميتها السريرية بصفتها مسببات لألتهاب المجاري البولية، وقد بنيت نتائج التجربة إن لهذه المستخلصات تأثير فعال في تثبيط نمو تلك الجراثيم على المستنبت الزرعي، كما بينت نتائج الكشف الأولي التمهيدي للمستخلص المائي والكحولي لنبات الحبة السوداء إنهما يحتويان على مواد فعالة تتمثل بالـFlavonids، Thymoquinone، Alkaloids و Tannins إذ بلغ أعلى معدل قطر للتثبيط بالنسبة لبكتريا Enterobacter(20 ملم) عند التركيز 200 ملغم/مل بينما بلغ أقل معدل قطر للتثبيط (6 ملم) عند التركيز 100 ملغم/مل لبكتريا الـ*Proteus*.

Abstract :

This experiment was conducted to test in vitro the effect of active materials that extracted by cold water and Ethyl Alcohol for the blackish (Nigell sativa) on inhibition growth of the microorganism Escherichiacoli,staphylococcusaureus,Pseudomonas aureoginosa, Enterobacter, Proteus, klebsiella for its clinical importance due to the cause of neumerous disease. this experiment proved from the preliminary chemical (filteration) test that, the extracts of Nigell sativa contain Flavonids, alkaloids, thymoquinone and tannins. the experiment also showed that the highest inhibition effect against the growth of Enterobacter media with of inhibition diameter of (20)mm at the concentration of 200 mg/ml, while, the proteus was (6)mm.

المقدمة

يعد خمج المسالك البولية Uninary tract infection البكتيري من أكثر الأمراض شيوعاً عند الأطفال إذ يأتي بالمرتبة ألأولى من حيث الإنتشار بعد خمج المسالك التنفسية (15، 18، 8). ينتج خمج المسالك البولية عادة من مهاجمة كائنات مجهرية للجهاز البولي التي تكون في الغالب بكتريا مرضية سالبة لصبغة كرام مصدرها الجهاز الهضمي إذ أن معظم إخماج الجهاز البولي ناجمة عن البكتريا المعوية Enterobacteriaceae ومنها عصيات لقولون *Escherichia coli* التي تحتل موقعاً رائداًمن بين أجناس هذه العائلة في كونها مسبب مرضي رئيسي للخمج (13، 10، 19). فضلاً عن ممرضات أخرى تشتمل على المكورات العنقودية *Staphylococcus* والمكورات المسبحية *Streptococcus* وأحياناً الفطريات كأنواع المبيضات الفطرية Candida spp (7). إن فوعة البكتريا المهاجمة وقابلية تأثرها بالمضيف لها أهمية أساسية في حدوث وتطور الخمج الذي يعتمد على سلسة من التداخلات بين الممرض والمضيف (21) ويحدث خمج المسالك البولية كنتيجة لفرط النمو لبكتريا ذات فوعة عالية في المسلك البولي ومن ثم نزوح هذه البكتريا إلى المثانة وقد تشمل الإصابة الاحليل، المثانة والحالبان والكلية (16، 20). وفي السابق كانت أغلب إصابات هذه الجراثيم يمكن علاجها بالمضادات الحياتية ولكن في الوقت أنتشر العلاج الطبيعي بالأعشاب بمختلف أنواعه دون اللجوء لأدوية عالم المختبرات الكيميائية والمواد الأصطناعية ومن النباتات الطبيعية المهمة في عالمنا اليوم هي الحبة السوداء إذ تحتوي الحبة السوداء المزروعة على 1.4% من وزنها الجاف على مادة meantin وهو كلايكوسيد سام وعلى 0.5-1.5% من مادة Nigellin وهو كلايكوسيد مر وعلى 1.4% زيت ايتري عطري يحتوي على التربين وعلى 30-44% زيوت دسمة (1). وعلى ضوء ما تقدم ولغرض التعرف على الفعالية الاقتصادية لمستخلصات بذور نبات الحبة السوداء في علاج العديد من الأمراض المتسببة عن تلك الجراثيم أجريت هذه التجربة التي تمحورت حول الآتي:

1/ استخلاص المواد الفعالة في بذور نبات الحبة السوداء باستعمال الماء والكحول الأثيلي.

2/ اختبار الفعالية التضادية للمواد المفصولة على تلك الجراثيم في الوسط الزرعي بطريقة الاقراص.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

1) جمع النباتات

جمعت كمية كافية من بذور الحبة السوداء من العطار ثم نظفت لأزالة الشوائب والأتربة والأجزاء التالفة منها ثم سحقت بالمطحنة وحفظت في الثلاجة لحين الاستعمال.

2) تحضير المستخلص المائي لبذور نبات الحبة السوداء

تم تحضير المستخلص حسب طريقة (22) بإضافة (50 غم) من مسحوق بذور نبات الحبة السوداء إلى (500 مل) من الماء المقطر وبعدها حرك المزيج بواسطة الهزاز المغناطيسي ولمدة ساعة واحدة وذلك لتفجير جدران الخلايا النباتية، ثم ترك المزيج في الثلاجة بدرجة (4مْ) لمدة ساعة لغرض النقع ثم رشح المستخلص بورقة الترشيح مرتين متتاليتين ، بعدها حفظت العينة في قناني زجاجية محكمة وحفظت في الثلاجة لحين استعمالها.

3) تحضير المستخلص الكحولي لبذور نبات الحبة السوداء

تم تحضير المستخلص بوزن 20 غم من بذور نبات الحبة السوداء المطحونة وتم إضافة 400 مل من الكحول الأثيلي بتركيز 95% ووضعت في جهاز الساكسوليت لمدة 24 ساعة ثم وضعت المادة المستخلصة في أطباق وتركت لتجف.

4) الكواشف التمهيدية الترسيبية (الاستدلالية) لمجاميع المركبات الكيميائية الثانوية لبذور نبات الحبة السوداء في المستخلص المائي والكحول الأثيلي:

1. كواشف التربينات Terpenoid Reagents

1) كاشف الرغوة Foam regent

استعمل هذا الكاشف للدلالة على وجود الصابونين برج قنينة محكمة الاغلاق تحوي على مستخلص كلورفورمي أو مائي للنموذج وعند ظهور رغوة كثيفة فوق سطح المستخلص توصف النتيجة موجبة (12).

2) كاشف كلوريد الزئبقيك $HgCl_2$ regent

استعمل هذا الكاشف للدلالة على وجود الصابونين إذ يضاف (1-2) مل من كلوريد الزئبقيك إلى (5) مل من المستخلص الكلوروفورمي عند ذلك يظهر راسب أبيض دليلاً على وجود المواد التربينية (2).

2. كواشف الفينولات Phenoles reagents

1) كاشف خلات الرصاص Lead acetate reagent

يفيد في الكشف عن التانينات إذ تضاف كمية من الكاشف إلى كمية من المستخلص الكحولي أو المائي فيظهر راسب أبيض هلامي القوام (3).

2) كاشف كلوريد الحديديك 1% $FeCl_3$ reagents

يفيد في الكشف عن التانينات اليسيرة وذلك بإضافة كمية من الكاشف إلى كمية مساوية من المستخلص المائي فيظهر راسب أخضر مزرق (12).

3. كواشف القلويدات Alkaloides reagents

1) كاشف ماير Mayer's reagents

يفيد في الكشف عن عموم القلويدات، تم الكشف بأخذ (1-2) مل من الكاشف إلى 5 مل من المستخلص النباتي الذي تم الحصول عليه بالماء أو الكحول فيظهر راسب أبيض إلى أسمر (4).

2) كاشف حامض التانيك 1% Tannic acid reagents

استعمل الحامض لترسب القلوانيات إذ يضاف من (1-2) مل من الحامض المحضر إلى 5 مل من المستخلص المائي والكحولي فيظهر تعكر ابيض (6).

تحضير تراكيز المستخلصات النباتية

لغرض تحضير المحلول الخزين Stock Solution للمستخلص المائي أخذ 2 غم من مسحوق المستخلص وأذيب في (10 مل) من ماء معقم فأصبح لدينا محلول خزين بتركيز 200 ملغم/مل عقم المحلول بالترشيح باستعمال أوراق الترشيح **whatman . 10 no** للتخلص من الملوثات الجرثومية الموجودة فيه والحصول على محلول خزين معقم استعمل هذا المحلول كمصدر لعمل التركيزين (100 ، 200) ملغم/مل.

دراسة تأثير المستخلصات النباتية المدروسة في نمو البكتريا

تم أخذ 4-5 مستعمرات نقية ونقلت باستعمال عروة الناقل إلى أنابيب أختبار حاوية 5 مل من الماء المقطر ولحين ظهور العكورة، عندها تم مقارنة الأنابيب مع أنبوبة ماكفرلاند القياسية وباستعمال الماء المقطر ثم تعديل كثافة الأنابيب حتى تساوي كثافة أنبوبة ماكفرلاند وباستعمال ماسحة قطنية معقمة نشرت البكتريا على وسط غراء مولر هنتون الصلب وتركت لمدة 15 دقيقة لتجف الأطباق بعدها وزعت أقراص المستخلصين المائي والكحولي وبالتركيزين (200 و 100) ملغم/مل حيث اتبعت طريقة الانتشار من الأقراص المشبعة بالمستخلص النباتي حيث حضر عدد من الأقراص بقطر (6) ملم باستخدام ورق ترشيح نوع 1 whatman no. حيث وضعت الأقراص في قنينة زجاجية محكمة الإغلاق vial وعقمت بالفرن الكهربائي بعدها أضيف 0.1 مل من التركيز الأول إلى احد القناني الحاوية على (10)أقراص معقمة وتركت حتى إتمام التشرب لمدة 24-48 ساعة وكررت نفس العملية مع بقية التراكيز للمستخلصات النباتية وفي الوقت نفسه جهزت قناني تحتوي أقراص مشبعة بالمضاد الحياتي المتمثلة باختبار الحساسية لتلك البكتريا بواقع 4 أقراص للطبق الواحد بواسطة ملقط معقم ثم حضنت الأطباق بدرجة 37مْ لمدة 24 ساعة ثم قرأت النتائج بقياس قطر منطقة التثبيط لتحديد البكتريا المقاومة والحساسة .

النتائج والمناقشة

أوضحت نتائج الكشف الكيميائي التمهيدي (الترسيبي) أن بذور نبات الحبة السوداء يحتوي على العديد من المكونات الفعالة ومن أهمها القلويدات وتضم Nigellimine، Nigellicine و N-oxide المسؤولة عن الفعالية المضادة للأحياء المجهرية، كما يحتوي على الفلافونويدات الكلايكوسيدية المضادة للأكسدة والفينولات والزيوت العطرية والصابونيات والتانينات وهذا يتفق مع (5) كما وتعزى فعالية مستخلصات بذور نبات الحبة السوداء إلى وجود مركبات الفينولات التي لها فعالية تثبيطية على الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام، وأظهرت النتائج أن جميع أنواع البكتريا كانت حساسة للمستخلصين المائي والكحولي للنبات (جدول 1) من خلال التباين الواضح لعامل التركيز المستعمل في التأثير في نمو تلك البكتريا حتى بلغ أقصى تأثير عند التركيز 200 ملغم/مل من المستخلص المائي. حيث لوحظ أن زيادة التركيز أثر في زيادة التأثير التثبيطي في نمو تلك البكتريا إذ لوحظ أن التأثير عند التركيز 200 ملغم/مل من المستخلص الكحولي على البكتريا *Enterobacter* إذ بلغ 20 ملم، وأقل معدل قطر تثبيطي عند التركيز 100 ملغم/مل من المستخلص المائي على البكتريا *Proteus* إذ بلغ 6 ملم في حين لا دور لعامل التركيز في *Klebsiella* و *Proteus* بالنسبة للمستخلص المائي. وفي ظل هذه التداخلات نلاحظ أنه كلما إزداد التركيز يزداد معدل قطر التثبيط حيث أن الفعل التثبيطي للمستخلصين المائي والكحولي لبذور نبات الحبة السوداء يبدأ عند تراكيز واطئة وقد أشار (11) إلى التأثير التثبيطي لمستخلص الأثير الأثيلي لبذور الحبة السوداء على مجموعة من البكتريا مثل *E. coli* والخميرة الامراضية *Candida albicans* وان المستخلص عالج بنجاح الإصابات تحت الجلدية لبكتريا *S. aureus* في الفئران عند حقنه موضعياً. وإن زيادة الفعالية بزيادة التركيز قد يعود إلى تأثير المستخلص على نفاذية غشاء الخلية وعمل الانزيمات الناقلة لخلية البكتريا. وتعزى فعالية مستخلصات نبات الحبة السوداء إلى وجود مركبات الفينولات التي لها فعالية تثبيطية على الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام فضلاً عن احتوائها على مادة تلايكوبروتينية لها أهمية طبية كبيرة (7). كما وجد علماء التغذية أن التانينات تعد سامة للفطريات الخيطية والخمائر والبكتريا من خلال ارتباطها بجدار خلايا تلك الأحياء مسببة منع نموها وفعالية انزيم Protease (14). كذلك تحتوي بذور الحبة السوداء على الزيوت العطرية وهي مركبات سائلة في الخلية النباتية وقد أوضحت بعض الدراسات أن لهذه المركبات خصائص مضادة للجراثيم وقد يعزى سبب ذلك لوجود الحلقة الاروماتية الحاوية على مجموعة (OH) القطبية والفعالة والتي تمتلك قابلية التفاعل والارتباط بواسطة الأواصر الهيدروجينية مع المجاميع الفعالة للأنزيمات المساعدة Coenzymes (9).

جدول (1) تأثير اختلاف تراكيز المستخلص المائي والكحولي لنبات الحبة السوداء في معدلات أقطار البكتريا

المستخلص / نوع البكتيريا	مستخلص كحولي		مستخلص مائي	
	(100 ملغم/مل)	(200ملم/مل)	(100 ملغلم/مل)	(200 ملغم/مل)
S. aureus	14	16	11	14
P. aureuginosa	13	17	10	14
Proteus	13	13	6	10
Enterobacter	16	20	16	18
Klebsiella	15	15	13	13
E. coli	12	15	9	10

جدول رقم (2) التحليل الاحصائي للنتائج المدرجة في الجدول اعلاه

	مربع كاي الجدولية 0.05	مربع كاي الجدولية 0.05	مربع كاي الحسابية	المقارنة بين أنواع البكتريا بالاستناد إلى المستخلصات
فروقات معنوية لصالح *Proteus* لكلا المستويين	0.554	1.145	1.735	كحولي 100 ملغم/مل مائي 100 ملغم/مل
فروقات غير معنوية لكلا المستويين	0.554	1.145	0.425	كحولي 200 ملغم/مل مائي 200 ملغم/مل
فروقات غير معنوية لكلا المستويين	0.554	1.145	0.41	كحولي 100 ملغم/مل كحولي 200 ملغم/مل
فروقات غير معنوية تحت مستوى دلالة 0.05 فروقات معنوية تحت مستوى دلالة 0.05 لصالح *Proteus P. aeuroginosa*	0.554	1.145	0.86	مائي 100 ملغم/مل مائي 200 ملغم/مل

المصادر العربية :

1. الدجوي، علي (1996). موسوعة النباتات الطبيعية والعطرية، مكتبة مدبولي – القاهرة.
2. المختار، انتصار جواد عبد (1999). دراسة الخصائص الدوائية لبعض النباتات الطبية في بعض الديدان الطفيلية في الفئران المختبرية. رسالة ماجستير – علوم – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد.
3. السلامي، وجيه مظهر. (1998). تأثير مستخلصات نباتي المديد والهندال في الأداء الحياتي لحشرة من الحنطة *Schizaphis graminum*. أطروحة دكتوراه – كلية العلوم – جامعة بابل.
4. الرماحي، سهير عبد الكريم حبيب. (2006). دراسة الفعالية التضادية لمستخلصات أوراق نباتي اليوكالبتوس والزعتر في جرثومة *Staphyloccus aureus* خارج جسم الفئران البيض وداخله. رسالة ماجستير – كلية التربية للبنات – جامعة الكوفة.
5. الخزاعي، جاسم حميد رحمة. (2005). تقييم فعالية نبات الحبة السوداء، الأدوية والتيار الكهربائي على حيوية الرؤيسات الأولية لطفيلي المشوكات الحبيبية *Echinococcus granulosus* خارج وداخل الجسم في الفئران البيض. أطروحة دكتوراه – كلية التربية – جامعة القادسية.
6. الدرويش، مصطفى. (1983). موجز في علم العقاقير الطبية. ط2، الهيئة العامة للتعليم والتدريس في وزارة الصحة.
7. الأسدي، اخلاص حاتم عبد الأمير. (2000). تأثير الكلتين المعزول من بذور الحبة السوداء *Nigella sativa* L. في مستوى سكر وكلسترول وبروتينات مصل الدم. رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد.

المصادر الأجنبية

8. Chakraborty, P. (1996). Urinary tract infection in : Text book of microbiology 1st. ed-New Central Book Agency, Calcutta, India, P : 577-581.

9. EL-Kady, I. A.; Mohammed, S. S. and Mostafa. E. M. (1993). Antibacterial and antidermatophyte activities of some essential oils from spices. Qatar University Sci. J., B (1) : 61-63.

10. Funfstuck, R.; Smith, J. W.; Tschape, H. and Stein, G. (1997): Pathogentic aspects of uncomplicated urinary tract infections, recont advances. Clin. Neph., 47(1):13-18.

11. Hanafy, M.S. and Hatmen, M. E. (1991). Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seeds (balckcumin). J. Ethnophamacol., 34(2) : 275-278.

12. Harborn, G.B., (1984). Phytochemical Methods. Aguied to modern Techniques of Plants Analysis – 2nd ed. Chapman and Hall. London, New York.

13. Iravani, A. and Bischoff, W-. (1992). Antibiotic Therapy for Urinary Tract Infections – Am. T. Med. 92:95-100.

14. Jones, G. A.; Macalliser, T. A.; Muri, A. D. and Cheng K. J. (1994). Effects of sainfion (onobrychis and Proteolysis by four of ruminal bacteria. Appl. Envirom. Microbial., 60 : 1374-1378.

15. Lettgen, B. (1993). Urinary tract infections in childhood old and aspects. Klin. Pediatr ; 205(5) : 325-331.

16. Nickel, J. C.; Costerton, J. W. ; Mcleam, R. J. and Olson, M. (1994). Bacterial bio films. Influence on the pathogenesis, diagnoses and treatment of Urinary tract infections. J-Antimicrob-chemoth.

17. Rushton, H. G. (1997). Urinary tract infections in children. Epidemiology, Evaluation and management. Pediatr. Uro, 44(5)0 1133-1169.

18. Straffon, R. A. (1974): Urinary tract infection problem in diagnosis and management. Med. Clin. North Am., 58 (3) : 545-553.

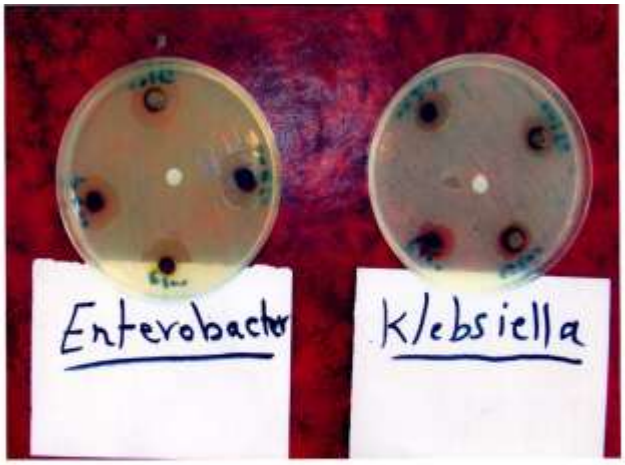
19. Westerland, B.; Siitonen, A.; Elo, J.; Williams, P. H., Korhoner, T. K. and Makela, P. H. (1980): prosperities of E. coli isolated from urinary tract infections in boys. J. Inf. Dis., 158(5):996-1001.

20.Winberg, J. (1990); Urinary Tract Infection in Children Curr. Opin. Inf. Dis., 3:55-61.

21.Winberg, J; Mollby; Bergstrom, J.; Karlsson, K; Leonard Soon, L.; Mill, M.; Tenebery, S. (1996). The pap G adhesion at the tip of P- Fembria provides *Escherichia coli* with a competition edge in bladder infection of cynmdgus Mon keys. J. Exp. Med., 182(6):1695.

22.Zheng-Mu, M ; Sakai, O. ; Sato, T.; Nagas, H.; Kito, H. Sato, M. ; Onk, K. and Nakane, H. (1990). Antimutagenic chines medicinaes. Shoy akngaku zasshi , 44(3) : 225-229.

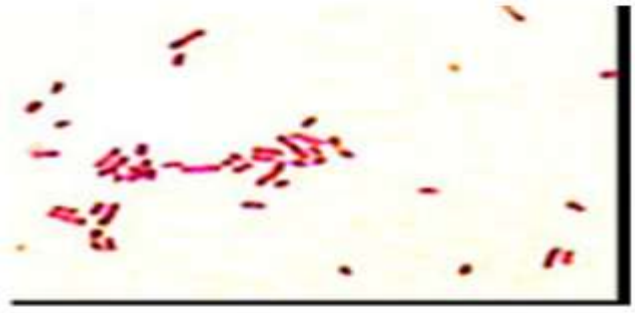
1



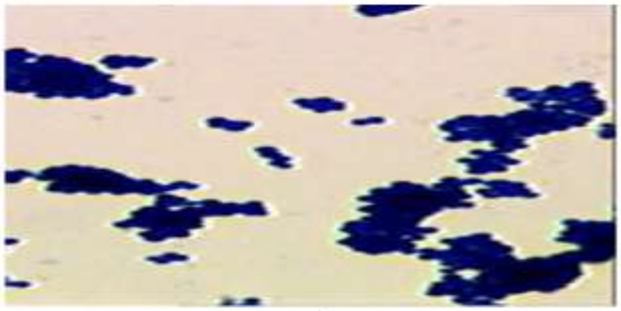
2

3

4



5



6

1-صورة رقم 1 تبين تاثير مستخلص الحبة السوداء(المائي والكحولي) بتركيز 100,200 ملغرام على بكتريا المكورات العنقودية .

2- صورة رقم 2 تبين تاثير مستخلص الحبة السوداء (المائي والكحولي)بتركيز 100,200ملغرام على بكتريا المعوية , robacter klebsiella,

3- صورة رقم 3 تبين تاثير مستخلص الحبة السوداء (المائي والكحولي) بتركيز 100,200 ملغرام على بكتريا Pseudomonas

4- صورة رقم 4 تبين تاثير مستخلص الحبة السوداء (المائي ,الكحولي) بتركيز 100,200 ملغرام على بكتريا Escherichia coli

5- صورة رقم 5 شكل بكتريا العائلة المعوية السالبة لصبغة كرام

6- صورة رقم 6 شكل البكتريا المكورات العنقودية الموجبة لصبغة كرام