المؤتمر العالمي العاشر للإعجاز العلمي في القرآن والسنة

إعجاز الحبة السوداء في القضاء على البكتيريا المسببة للداء

أ.د / محمد محمود شهيب

أستاذ الكائنات الدقيقة والجزيئية الحيوية - كلية العلوم جامعة الطائف

د / إيمان محمد حلواني

أستاذ البكتيريا الطبية - كلية العلوم جامعة الطائف

المقدمة

ثبت في الصحيحين من حديث أبي سلمة عن أبي هريرة رضي الله عنه – أنه سمع رسول الله صلى الله عليه وسلم يقول : إن في الحبة السوداء شفاء من كل داء إلا السام . والسام الموت والحبة السوداء الشونيز . (صحيح مسلم، حديث : ٢٢١٥) وهذا لفظ مسلم، وانظر البخاري حديث رقم ٥٦٨٨ .

وروى الإمام البخاري في صحيحه عن خالد بن سعد قال خرجنا ومعنا غالب بن أبجر فمرض في الطريق فقدمنا المدينة وهومريض فعاده ابن أبي عتيق فقال لنا : عليكم بهذه الحبيبة السوداء فخذوا منها خمساً أوسبعاً فاسحقوها ثم اقطروها في انفه بقطرات زيت في هذا الجانب وفي هذا الجانب فإن عائشة رضي الله عنها حدثتني أنها سمعت رسول الله صلى الله عليه وسلم يقول : إن هذه الحبة السوداء شفاء من كل داء إلا السام . قلت : وما السام ؟ قال : الموت . (صحيح البخاري، حديث : ٥٦٥٧) .

وجاء في لفظ آخر أن رسول الله صلى الله عليه وسلم قال : عليكم بهذه الحبة السوداء فإن فيها شفاء من كل داء إلا السام، والسام الموت . (سنن الترمذي، حديث :٢٠٤١) .

وفي شرح بعض علماء الحديث لاحاديث الحبة السوداء . قال المناوي (عليكم بهذه الحبة السوداء) أي الزموا استعمالها بأكل أوغيره فإن فيها شفاء من كل داء (عبد العزيز، ١٩٨٩).

وقال الحافظ ابن حجر : (ويؤخذ من ذلك أن معنى كون الحبة شفاء من كل داء أنها لا تستعمل في كل داء صرفاً، بل ربما استعملت مفردة، وربما استعملت مركبة، وربما استعملت مسحوقة وغير مسحوقة، وربما استعملت أكلاً وشرباً وسعوطاً وضماداً وغير ذلك .

وقد تبين من شرح الأحاديث ولفظها أن الاستعمال المسبق والمداومة عليها قبل حدوث المرض، بالإضافة إلى الاستعانة بها بعد حدوثه لكل ذلك من أفضل طرق التداوي بالحبة السوداء، وأنها بذلك ولا ريب تدفع عن الجسم كل مرض بلا استثناء وذلك بمشيئة الله إن شاء صرفه وإن شاء أوجب حصوله .

استخدام علماء المسلمين للحبة السوداء في علاج الأمراض

عرفت الحبة السوداء منذ القدم في الطب الشعبي العربي بأن لها العديد من التأثيرات الطبية، واستخدمت لعلاج الحمى، نزلات البرد، الصداع، آلام المفاصل، وكطاردة لديدان المعدة ولعلاج عدوى الأمراض الميكروبية ... الخ (El-Kadi and Kandil 1986) . وقد برع العديد من علماء المسلمين في وصف الحبة السوداء وذكر منافعها في أمهات الكتب، وذلك أمثال ابن سينا في كتابه(القانون في الطب)، ابن قيم الجوزية (الطب النبوي)، أبوبكر الرازي (الحاوي الكبير) ابن النفيس (الموجز في الطب)، ابن البيطار (الجامع لمفردات الأدوية والاغذية)، الانطاكي (تذكرة أولي الالباب والجامع للعجب العجاب) وكذلك الإمام الذهبي في كتابه (الطب النبوي)، ووصفت بأنها مسكن جيد ونافع لضيق التنفس ولأوجاع الصدر والسعال، لتحليل البلغم، ولعلاج حصوات الكلى والمثانة، للإسهال والقولون، وطارده للريح، لادرار البول، للحيض ولإدرار اللبن، للغثيان، للزكام والحمى، للاستسقاء، للبواسير، لآلام الأسنان، للصمم، لتضميد البثور والجرب المتقرح، للبهاق والبرص ولقلع الثآليل والخيلان، للفالج (الشلل النصفي)، للأورام المزمنة والصلبة، لقتل ديدان البطن، لقرص العناكب وكترياق للسموم (عبد العزيز، ١٩٨٩ وصوان، ١٩٩٢) .

الاستخدامات الطبية والنشاطات الحيوية للحبة السوداء

استخدمت الحبة السوداء بكثرة في الطب الشعبي لعلاج أمراض الجهاز التنفسي والدوري، وللاضطرابات المعوية في جميع البلدان الإسلامية من المغرب إلى باكستان

(Sayed 1980 ; Riaz et al. 1996)

وقد بدأت الاستخدامات الطبية للحبة السوداء في الظهور وبشكل واسع، والمبنية على نتائج بحثية تؤكد مفعول الحبة والمكونات الهامة لمستخلصاتها وذلك منذ عام ١٩٦٠م، وازدهرت في الثمانيات والتسعينات وحتى الألفية الثالثة لهذا القرن Boskabady et al. 2004

وقد أوضحت الدراسات المختلفة الآثار الطبية العلاجية الواضحة لمفعول الحبة السوداء التي عرفت بتعدد أنشطتها الحيوية، فقد وجد أنه لها نشاط مضاد للأورام والسرطانات،

مضاد للحساسية، مضاد للالتهابات، مضاد للميكروبات، مضاد للطفيليات، مضاد لأمراض الجهاز البولي التناسلي، ومضاد لإرتفاع الضغط والسكر في الدم، مضاد للانقباضات وموسع للقصبات الهوائية، مضاد لأمراض الجهاز البولي التناسلي، مضاد للاجهاض، مضاد للسموم، مضاد للروماتيزم ولها نشاط فعال مضاد للأكسدة ومحفز قوي للجهاز المناعي. وقد أكدت العديد من الدراسات أن الحبة السوداء ومستخلصاتها آمنة وعديمة السمية على الأعضاء المختلفة لجسم الإنسان أوالحيوان

(El-Kadi et al 1989 ; Bamosa et al 1997; Zaoui et al 2002a; Ali and Blunden 2003)

مكونات الحبة السوداء :

تم التعرف على مكونات الحبة السوداء ومنها العديد من المكونات النشطة والفعالة المعزولة بعدة طرق حديثة، واتضح أنه من الممكن اعتبار الحبة السوداء مصدراً جيداً للغذاء المتوازن، وذلك لمحتواها العالي من البروتين (٢٠٪)، الكربوهيدرات (٣٤٪) والدهون تتراوح نسبتها من (٣٢ إلى ٤٠٪)، بالاضافة إلى كونها مصدراً للمعادن والأملاح مثل الكالسيوم، الصوديوم، البوتاسيوم، الحديد والفسفور . وعلى الرغم من أن غالبية المعادن تتواجد بكميات ضئيلة (١,٨ – ٣,٧٪) إلا أنها تعمل كمساعدات إنزيمية هامة لمختلف الوظائف الإنزيمية، أما المحتويات الأخرى للحبة التي عرفت وتمت دراستها بدقة لأهميتها الحيوية فهي الزيت الثابت (Fixed oil)، الزيت الطيار أوالعطري (Volatile or Essential oil)،قلويدات (Alkaloids)،صابونيات (Saponins) وغيرها.(جدول ١).

جدول (١) : المحتوى الكيميائي والعناصر الفعالة في الحبة السوداء

Chemical composition including active componets of Nigella sativa seed

Group	Sub-group	Components
Fixed oil (32 – 40%)	Unsaturated fatty acids	Arachidonic eicosadienoic . Linoleic linolenic . oleic and almitoleic acid .
	Saturated fatty acids	Palmitic stearic and myristic acid .
		Beta – sitosterol Cycloeucalenol Cycloartenol sterol esters and sterol glucosides .
Volatile oil (0.4 – 0.45%)		Nigellone(Dithymoquinone) thymoquinone thymohydroquinone thymol Carvacrol & βpinene d-limonene d –citronellol p-cymene and 2-(2-methoxypropyl) -5-Methyl-1 4-benzenediol .
Proteins (16-19.9%)	Amino acids	Arginine glutamic acid leucine lysine methionine tyrosine praline and threonine etc .
Alkaloids		Nigellicine nigellidine nigellimine –N-oxide .
Coumarins		6-methoxy – coumarin 7- hydroxyl – coumarin 7-oxy –coumarin .
Saponins :	Triterpenes	Alpha – hedrin
	Steroidal	Stery1-glucosides Acety1 – stery1-glucoside .
Minerals (1.79-3.74%)		Calcium phosphorous Potassium sodium and iron .
Cabohydrates (33.9%) Fiber (5.5%) Water (6%)		

دراسة النشاط ضد بكتيري للحبة السوداء

Antibacterial activity of Nigella sativa

التعرف على تأثير الحبة السوداء (Black seed) المضاد لمسببات الإسهال البكتيرية يُعد هدفاً قيماً بعدما جاء ذكرها في الطب النبوي للاستشفاء من كل داء، فقد تم في هذه الدراسة التعرف على تأثيرات الحبة السوداء المثبطة والقاتلة لبكتيريا السالمونيلا المسببة للاضطرابات المعوية . وشملت الدراسة النوع السيرولوجي تيفيميوريم والنوع السيرولوجي إنتريتيديس، وتمت مقارنة حساسيتهما ببعض الأنواع البكتيرية مثل الإيشريشيا كولاي، الشيجلا ستفيلوكوكاس أورياس وسيدوموناس إريجنوزا . وقد استعلمت في التجارب المخبرية بذور الحبة السوداء المسحوقة كمادة خام (Crude) والزيت التجاري الخام، بالإضافة إلى مستخلصاتها (Extracts)، التي استخلصت مباشرة من الحبة السوداء بعدة طرق.

مستخلصات الحبة السوداء :

١- الزيوت التجارية :

اختبرت أنواع مختلفة من زيوت الحبة السوداء التجارية المستخلصة بالعصر للتعرف على فعاليتها الضد ميكروبية وعند زراعة عزلات طبية لأنواع بكتيرية مختلفة سالبة وموجبة الجرام على بيئة أجار مولرهنتون الصلبة والمضاف إليها الزيوت المستحلبة وبتركيزات مختلفة لمعرفة أقل التراكيز المثبطة [Minimum inhibitory concentration) MIC)]، أظهرت النتائج حساسية بكتيريا ستفيلوكوكاس أورياس S. aureus الملحوظة للزيت التجاري الذي ثبط نموها عند تركيز ١,٥٦ ملجم/ مل، وهوأقل تركيز مثبط بين التراكيز المثبطة للأنواع البكتيرية السالبة الجرام وبفارق معنوي كبير، فقد ثبط الزيت نموبكتيريا ايشريشيا كولاي E. coli عند تركيز ١٠٠ ملجم/ مل (٢٠٠٠ملجم / ٢٠ مل) .

٢ - مستخلصات الحبة السوداء

تأثير الإستخلاص بالكحول الإيثيلي :

تمت مقارنة العديد من التركيزات لزيت الحبة السوداء ومستخلص مسحوق الحبة السوداء بالإيثانول (Solvent extraction)، ومزجت مع الآجار السائل، واستخدمت طريقة التخفيف على بيئات وبتركيزات مختلفة لمعرفة أقل التراكيز المثبطة (MIC) للزيوت على أنواع مختلفة من البكتيريا السالبة والموجبة الجرام والمسببة لاضطرابات معوية، وهي سالمونيلا تيفيموريم S. typhimurium، شيجلا فلكسنري S. flexneri، ايشريشيا كولاي E. coli وبكتيريا ستفيلوكوكاس أورياس S. aureus والتي نشرت على سطح الآجار كل على حدة بلقاح قدره حوالي ٤١٠ وحدة بكتيرية / ملليلتر .

وأظهرت النتائج المتحصل عليها بأن بكتيريا ستفيلوكا أورياس الموجبة الجرام كانت أكثر الأنواع حساسية للأنواع المختلفة من الزيت، وظهر أفضلها تثبيطاً مستخلص بذور الحبة السوداء بالإيثانول (كحولي ايثيلي)، الذي أعطى تثبيطاً كاملاً للنموعند تركيز ٠,٧٨ ملجم/ مل. في حين أعطت الزيوت التجارية (MIC) بلغت ١,٥٦ ملجم/ مل، يليها حساسية بكتيريا ايشيريشيا كولاي السالبة الجرام، التي أظهرت حساسية أعلى لمستخلص بذور الحبة السوداء بالإيثانول، وثبط نموها عند تركيز تثبيطي (MIC) بلغ ٥٠ ملجم/ مل، يليها نوعي الزيت التجاري الخام الذي أعطى تثبيطاً واضحاً عند التركيز ١٠٠ ملجم/ مل (جدول ٢).

www.eajaz.org

المستخلص المائي للحبة السوداء

تحديد التأثير التثبيطي بطريقة الحفر (الآبار) والانتشار في الآجار :

عند قياس النشاط ضد بكتيري للمستخلص المائي بطريقة الحفر في الآجار Well diffusion method وقياس أقطار مناطق التثبيط (Inhibition zone)، فقد أظهرت النتائج أن متوسط قياسات مناطق التثبيط للبكتيريا الموجبة الجرام أعلى من القياسات الخاصة

بالبكتيريا سالبة الجرام على وجه العموم، إضافة إلى أن بكتيريا السالمونيلا أظهرت كما سبق في النتائج حساسية أعلى للمستخلص المائي الغير معامل حرارياً وبمناطق تثبيط متوسطها ١٣ ± ١ ملليمتر، في حين أظهرت مناطق تثبيط أقل مع المستخلصات المائية المعاملة حرارياً لمدة ٥ دقائق فقط وبلغ متوسط أقطارها ٠,٥ ± ١٠,٥ ، أما المستخلص المائي الذي سخن لمدة تزيد عن ٥ دقائق فلم يسجل لها منطقة تثبيط واضحة (جدول ٣) .

أما بالنسبة لبكتيريا ستفيلوكوكس أورياس S. aureus فإن المستخلصات المائية تميزت بتفاوتها النسبي في قياسات متوسط أقطار التثبيط، وكان أعلاها في حالة المستخلص المائي المعامل حرارياً لمدة ٥ دقائق، يليها المستخلص المائي الغير معامل حرارياً وأخيراً المستخلص المائي المعامل حرارياً لمدة ١٠ دقائق (٢٤ ± ١ ملليمتر، ٢٠,٥ ± ٠,٥ ملليمتر و١٨ ± ١ ملليمتر) على ا لتوالي (جدول ٣) .

الشكل(١) يوضح الاختلافات في قياسات أقطار مناطق التثبيط للمستخلص المائي للحبة السوداء الطبيعي والمعالج حرارياً على بكتيريا السالمونيلا والبكتيريا العنقودية.

الشكل (٢) يظهر صورة مكبرة لمنطقة تثبيط معنوية في الطبق النامي عليه بكتيريا استفيلوكوكاس أورياس S. aureus وهي ناتجة عن المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء المسحوقة والمعامل حرارياً بالتسخين على حمام مائي لمدة ٥ دقائق، وبلغ متوسط أقطارها ٢٤ ± ١ ملليمتر، وهي المعاملة الأقوى تأثيراً على البكتيريا الموجبة الجرام ويوضح(شكل ٣)و(جدول٤) أقل التراكيز المثبطة لهذا المستخلص.

استخلاص بعض مواد الحبة السوداء القابلة للذوبان في الماء واختبار تأثيرها الضد بكتيري

١- استخلاص القلويدات :

تم استخلاص القلويدات المتواجدة في الحبة السوداء واختبار تأثيرها على بكتيريا S. aureus موجبة الجرام وبكتيريا S. typhimurium سالبة الجرام وذلك بطريقة الحفر في

الآجار. وقد استجابت البكتيريا المختبرة بنوعيها السالبة والموجبة الجرام لتأثير القلويدات.

بكتيريا ستفيلوكوكاس أورياسالموجبة الجرام أكثر حساسية لتأثير القلويدات من بكتيريا سالمونيلا تيفيميوريم سالبة الجرام، فقد بلغت أقطار مناطق التثبيط ٢٤ ± ٢ ملليمتر و٥ , ٩ ± ٥ , ٠ ملليمتر على التوالي (شكل٤).

٢- استخلاص المواد غير القلويدية :

للتعرف على تأثير المواد الغير قلويدية والذائبة في المستخلص المائي للحبة على البكتيريا، فقد تم فصل هذه المواد من المستخلص المائي باستخدام مذيب الكلورفورم الذي لا يختلط بالماء، وتم اختبار نشاط المواد الناتجة بطريقة الحفر في الآجار .

ولقد لوحظ أن لهذه المواد تأثيراً قوياً على البكتيريا موجبة الجرام S. aureus عنها على السالمونيلا تيفيميوريم S. typhimurium السالبة الجرام، كما لوحظ أن تاثيرها على البكتيريا موجبة الجرام كان أقوى من تأثير القلويدات عليها بدرجة معنوية كبيرة، حيث كانت أقطار مناطق التثبيط للقلويدات والمواد الغير قلويدية على بكتيريا ستفيلوكوكاس أورياسS. aureus [٢٤ ± ٢ مم] و[٤١ ± ١ مم] على التوالي حيث تظهر منطقة التثبيط الأكبر [٤٢ ملليمتر] نتيجة لتأثير المواد الغير قلويدية المفصولة من المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء، ويظهر لوناً بنياً منتشراً حول الحفرة مما يرجح وجود الثيموكينون الذي يتميز بلون البني في المستخلص (شكل ٥)

www.eajaz.org

ويظهر في شكل (٦) : التأثير التثبيطي الواضح لكل من القلويدات والمواد غير قلويدية خاصة على بكتيريا S. aureus و S. typhimurium.

مستخلصات مسحوق الحبة السوداء بمذيبات عضوية :

استخلص مسحوق الحبة معملياً بواسطة المذيبات العضوية، الأستون (Acetone)، الإيثانول (Ethanol)، الهكسان (Hexane) والإيثر (Diethyl ether). واستخدمت لدراسة تأثيرها المثبط والقاتل بالإضافة إلى الزيت التجاري المنتج بالعصر.

قياس التأثير التثبيطي والقاتل بطريقة التخفيف في الأنابيب :

بدراسة التأثيرين المثبط والقاتل بطريقة كمية لكل من الزيت التجاري والمستخلصات بالمذيبات العضوية، والمستخدمة بتركيزات مختلفة على عزلات حساسة ومقاومة لمضادات حيوية من بكتيريا السالمونيلا النوع السيرولوجي تيفيميوريم والنوع السيرولوجي انتريتيديس وبكتيريا ستفيلوكوكاس أورياس، أوضحت النتائج أن قيم التراكيز المثبطة (MIC) والقاتلة (MBC) تظهر بينها فروقاً واضحة تختلف باختلاف النوعين البكتيريين الموجبة والسالبة الجرام، فقد ارتفعت هذه القيم إلى أكبر من ٦٤ ملجم/ مل للانواع السالبة. وتساوت النتائج في كل من عزلات النوعيين السيرولوجين الحساسة والمقاومة لمضادات الحيوية (جدول ٥) .

في المقابل فإن بكتيريا S. aureus الموجبة الجرام، ظهرت أكثر حساسية للزيوت التجارية والمستخلصات بمذيبات عضوية، وتراوحت قيم التثبيط المنخفضة للزيوت المستخلصة بين ٠,٤ – ٠,٨ ملجم/ مل، وبقيمة تثبيط أعلى في حال استخدام الزيت التجاري بلغت ١,٦ ملجم/ مل (١٦٠٠ ميكروجرام / ملليلتر)، في حين تراوحت قيم أقل التراكيز القاتلة لمستخلصات المذيبات العضوية بين ٠,٨ – ١,٦ ملجم/ مل، وبقيمة أعلى للزيت التجاري بلغت ٣,٢ ملجرام / مل (٣٢٠٠ ميكروجرام/ مل).

هذا وقد ظهرت قيم التثبيط والقتل أقلها في حال مستخلص الهكسان والإيثر بقيم ٠,٤ ملجم/ مل و٠,٨ ملجم/ مل على التوالي، وتساوت في حال اختبار مستخلص الآستون – والإيثانول وبلغت قيمة التثبيط ٠,٨ملجم/ مل، وكانت قيمة التركيز القاتل لمستخلص الأستون هي الأعلى من بين جميع المستخلصات الزيتية وبلغت ١,٦ ملجم/ مل (جدول ٥).

النشاط ضد بكتيري للهيدروثيموكينون المستخلص من الحبة السوداء:

عند تبريد مستخلصات الحبة السوداء بالمذيبات العضوية السابق ذكرها، تترسب بلورات الثيموهيدروكينون (El-Fatatry 1975) التي تم فصلها واختبار تأثيرها على البكتيريا.

قياس النشاط ضد بكتيري بتحديد MIC و MBC:

تم تحديد أقل تراكيز البلورات المثبطة (MIC) والقاتلة (MBC) بطريقة التخفيف في الأنابيب، ثم الزراعة على بيئات انتخابية صلبة، واتضح من التجارب أن مادة الثيموهيدروكينون الكريستالية البيضاء المتواجدة في جميع المستخلصات تمتلك نشاطاً فعالاً ضد بكتيريا السالمونيلا بنوعيها المختلفين سيرولوجياً وللعزلات الحساسة والمقاومة لمضادات الحيوية وتراوحت قيمة التراكيز المثبطة بين ٢,١-٨,٠ ملجم/ مل وتمتلك نشاطاً أكثر كفاءة على بكتيريا ستفيلوكوكاس اورياس التي ثبط نموها عند تركيز ٤,٠ ملجم/ مل، وظهرت تلك التراكيز متماثلة في العزلات الحساسة والمقاومة لمضادات الحيوية أيضاً .

أما التأثيرات القاتلة (MBC) فقد تراوحت تركيزاتها بين ٨,٠ - ٦,١ ملجم/ مل و٨,٠ ملجم/ مل لكل من بكتيريا السالمونيلا وسنكثيلوكوكاس آدرياس عل التوالي.

ويفسر انخفاض التركيزات المثبطة لمستخلصات الهكسان والإيثرعلى البكتيريا موجبة الجرام لاحتوائهماعلى المركبات الهامة الطيارة العطرية،خاصة مركب الثيموكنيون (TQ) وبنسب أعلى من تلك الموجودة في المستخلصات الأخرى بينما تؤثر مستخلصات المذيبات العضوية المبردة بفاعلية على البكتيريا سالبة الجرام لوجود مركب الثيموهيدروكنيون(THQ) ولحساسية الانواع سالبة الجرام لهذا المركب(.THQ).

التأثير التعاوني لكل من الثيموكينون والثيموهيدروكينون مع مضادات الحيوية

تمت دراسة التأثير التعاوني لكلا من TQ و THQ مع مضادات الحيوية الشائعة الاستخدام لعلاج العدوى البكتيرية مثل:

(ampicillin cephalexin chloramphenicol tetracycline getamicin and ciprofloxacin)

وسجل تأثير تعاوني للمركبين مع غالبة المضادات بنسبة تصل إلى٣٠ ٪ وظهرت مناطق تثبيط واسعة حول الأقراص في أطباق الأجار الملقحة بالبكتيريا (شكل ٨)

Table -2 Minimum inhibitory concentration of commercial oil and ethanol extract on Salmonella typimurium Shigella flexneri Escherichia coli and Staphylococcus aureus .

Bacteria	Ethanolic extract	Commercial oil
	(mg/ml)	
Salmonella typhimurium	> 100	> 100
Shigella flexneri	> 100	> 100
Escherichia coli.	50	100
Staphylococcus aureus	0.78	1.56

* Oil and extracts were emulsified in casein before addition to Muller – Hinton agar.

Table -3 Inhibition zones of aqueous extracts of N. sativa on Salmonella typhimurium Salmonella entritidis and Staphylococcus aureus .

Heat treatment of extract	Treatment time	Inhibition zone (mm)		
		Salmonella typhimurium	Salmonella entritidis	Staphylococcus Aureus
Not heated	-	13 ± 1	13 ± 1.5	20.5 ± 0.5
Heated	5 min	10.5 ± 0.5	10 ± 0.5	24 ± 1
Heated	10 min	-	-	18±1

Table -4 Antibacterial activity of aqueous extracts of Nigella sativa seeds treated and not treated with heat .

Treatment		Salmonella typhimurium	Salmonella enteritidis	Staphylococcus aureus
	mg /ml (black seed equivalent)			
Not heated	MIC	100	100	12.50
	MBC	200	200	12.50
Heated for 5 min	MIC	200	200	3.12
	MBC	200	200	6.25
Heated for 10 min	MIC	> 200	> 200	6.25
	MBC	> 200	> 200	12.50

www.eajaz.org

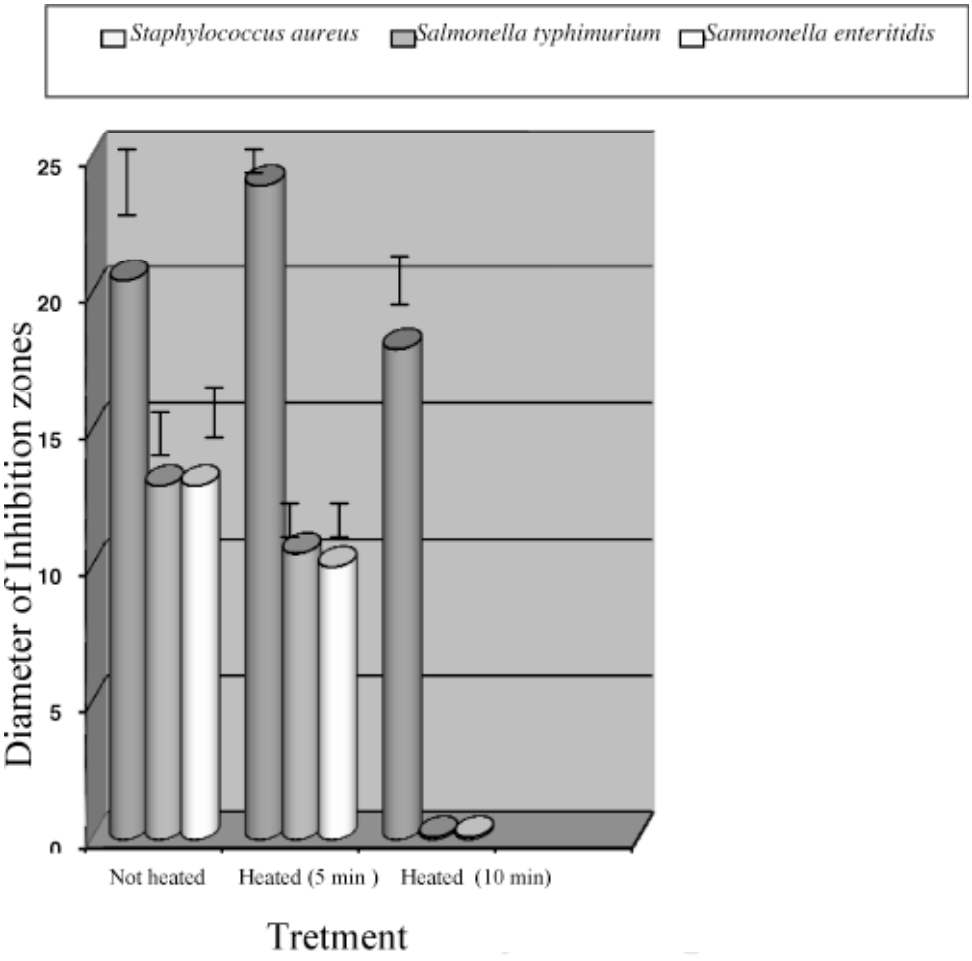

Figure-1 Diameter of inhibition zones of heat treatment of Nigella Sativa aqueous extracts on the inhibition of Salmonella typhimurium Salmonella enteritidis and staphylococcus aureus .

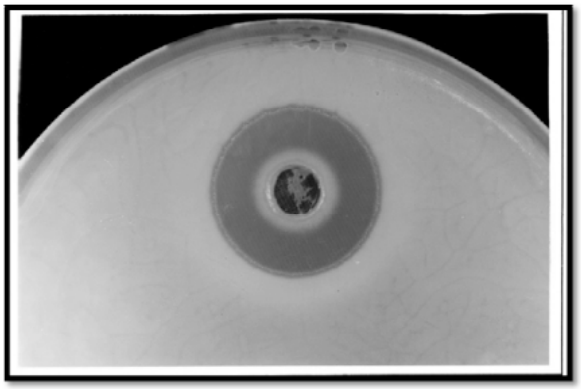

Figure-2 Inhibibiton zone of aqueous extract of Nigella sativa seed on Stophylococcus aureus . The extract was heated on water bath for 5 min in tightly closed tubes .

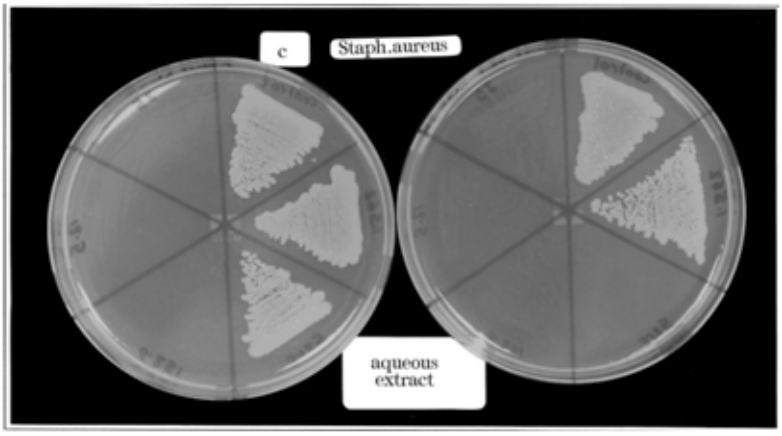

Figure-3 Determination of the minimum bactericidal concentration of aqueous extracts of Nigella sativa seed on Staphylococuus aureus . The plate on the left hand side shows the results of aqueous extract which were not heated while the aqueous extract of the plate on right hand side were heated for 5 min.

Table -5 Bacteriostatic (MIC) and bactericidal (MBC) activity of commercial Nigella Sativa oil and extracts by organic solvents on Salmonella serovars and Staphylococcus aureus .

Bacteria**	Oil of Nigella sativa (mg/ml)				
	Crude oil*	Acetone extract	Ethanol extract	Diethy lether extract	Hexane extract
S. typhimurium (s) MIC MBC	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0
S. typhimurium (R)MIC MBC	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0
S. enteritidis (s) MIC MBC	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0
S. enteritidis (r) MIC MBC	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0	>64.0 >64.0
S. aureus (s) MIC MBC	1.6 3.2	0.8 0.8	0.8 1.6	0.4 0.8	0.4 0.8
S . aureus (r) MIC MBC	1.6 3.2	0.8 0.8	0.8 1.6	0.4 0.8	0.4 0.8

* All crude oils exhibited the same results .

** (s) sensitive to antibiotics; (r) resistant to antibiotics

www.eajaz.org

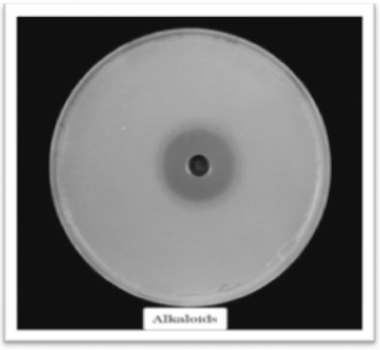

Figure-4 Inhibition zone produced by alkaloids extracted from Nigella sativa seed on Staphylococcus aureus .

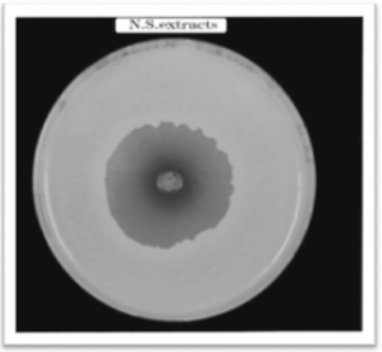

Figure-5 Inhibition zone produced by non–alkaloid substances in water extract of Nigella sativa on Staphylococcus aureus.

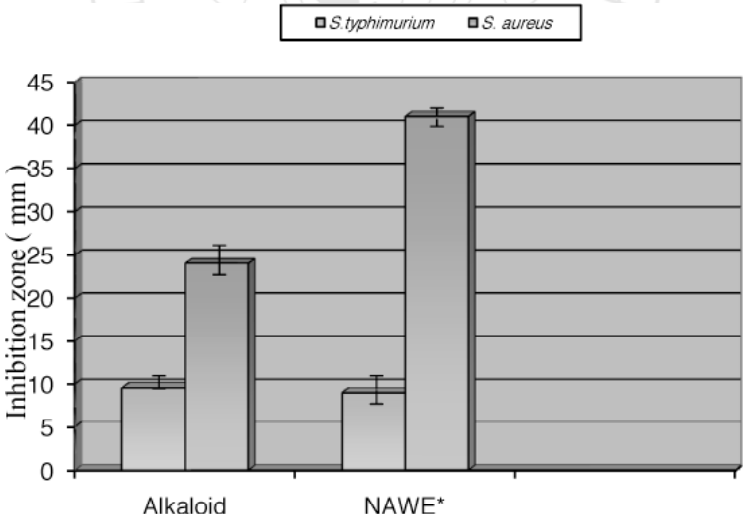

Figure-6 Inhibiton zones of water soluble substances extracted from Nigella sativa seed .

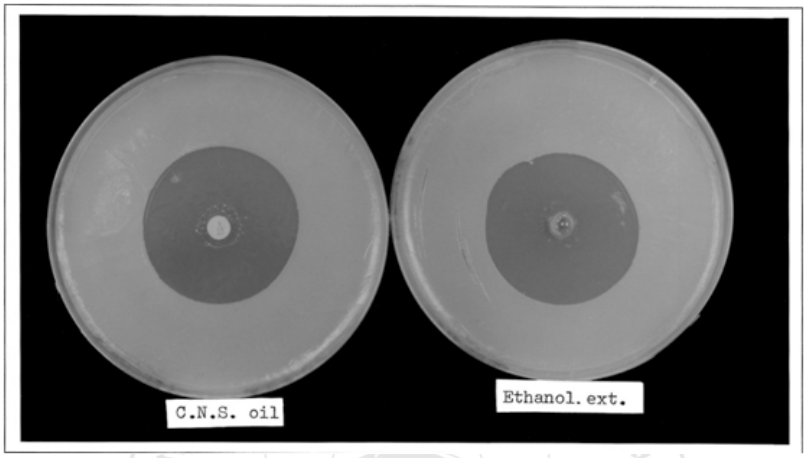

Figure -7 Zones of inhibition of staphylococcus aureus produced by disks of commercial (crude) Nigella sativa oil and ethanol extract .

يتضح من النتائج السابقة ما يلي :

يمكن إرجاع كفاءة مستخلص الحبة السوداء المائي ضد البكتيريا الممرضة والتي تشمل الأنواع موجبة وسالبة الجرام في هذه الدراسة إلى عدة أسباب منها : -

١ - احتواء المستخلص المائي على نسبة من مركبات الزيوت العطرية الطيارة التي تمتاز بنشاط ضد ميكروبي بما فيها الثيموكنيون Thymoquinone وهو المركب الأكثر تواجداً في الزيوت الطيارة (Volatil oil) وذو نشاط ضد ميكروبي عالي (Kahsai 2002; AL-Jabre et al. 2003 ; Ali and Blunden 2003) والثيموهيدروكنيون Thymohydroquinone ويتواجد بكميات عالية أيضاً (; Mouhajir et al. 1999) والثيمول ; (Thymol 1990) (Deans and Svoboda) (Rasooli and Mirmostafa 2003 ، كارفاكرول (Carvacrol Ultee et al.2002); (Pol and Smid 1999 ، ليمونين limonene) والكارفون(Carvone Oumzil et al. 2002)، السيمين والتربينات ; Gulluce) P-cymene & terpininene (;Halwani et al. 1999) DAntuono et al 2002 et al. 2003

٢- احتواء المستخلص المائي على الصابونيات التي تساعد على استحلاب الزيوت والأحماض الدهنية في الماء، مما يسهل ذوبانها وبالتالي إعطاء المستخلص كفاءة ضد بكتيرية واضحة (Kumara and Huat 2001) .

٣- وجود القلويدات كأحد المكونات الهامة الذائبة في المستخلص المائي وتضيف إليه أيضاً نشاطاً -ضد بكتيري- (Morsi 2000) .

٤- وجود كميات مستحلبة متفاوتة من الأحماض الدهنية كأحد مكونات الزيوت الثابتة، حيث أثبت معملياً وحيوياً أن لحمض اللينولينك الدهني غير المشبع Linolenic acid الموجود في الحبة السوداء، نشاطاً مضاداً للبكتيريا (Halwani et al.1999 Morel et al. 2003 ; Bourboulis et al. 2000). ويعد حمض اللنيولنيك من أكثر

الأحماض الدهنية غير المشبعة تواجداً في الحبة السوداء وبشكل حر (free falty acids Babayan et al. 1978; AL-Jassir 1992)، ويفسر وجوده حراً وليس في شكل دهني بسبب محتوى البذور العالي من انزيم الليبيز Lipase Ustun et al.1990 ; Riaz et al. 1996 ; Conconi et al.1996 ; DAntuono et al .2002 ;). ويبدوأن جميع تلك العوامل الموجودة في المستخلص المائي والمكونة له سواء كانت ذائبة كلياً مثل القلويدات والصابونيات، أومستحلبة مثل الزيوت الطيارة والأحماض الدهنية الثابتة، فإنها تتداخل مع بعضها البعض بشكل تعاوني وتؤدي إلى إعطاء المستخلص تأثيراته الدوائية ونشاطه المضاد للميكروبات .

٥- النشاط الـ "ضد ميكروبي " للزيوت التجارية أوالمستخلصات بالمذيبات العضوية يعزى إلى احتواء الزيوت التجارية المعصورة على البارد على نسبة من الزيوت الطيارة والأحماض الدهنية أما المستخلصات بالمذيبات العضوية فإنها باللإضافة للزيوت الطيارة فإنها تحتوي على قلويدات تذوب في المذيبات المستعملة بنسب مختلفة .

٦- كلا من الثيموكينون والثيموهيدروكينون لهما نشاط ضد بكتيري فعال وتزداد فعاليتهما بتناول الحبة السوداء كمحفز تعاوني لزيادة فعل المضادات الحيوية في القضاء على البكتيريا الممرضة.

آليات عمل بعض عناصر الحبة السوداء كمادة مضادة للنشاط البكتيري

هناك محاولات للتعرف على آلية تأثير بعض مكونات الحبة السوداء التي لها تأثير ضد بكتيري، فقد أوضحت بعض الأبحاث التأثير الضد ميكروبي للمونوتربينات وهي أحد مكونات الزيت الطيار للحبة السوداء، إلى ارتباطها بدهون الغشاء السيتوبلازمي للبكتيريا (Southwell et al. 1993). كما أن حمض اللينولينك الحر (Free lionolenic acid) وهوأحد مكونات الزيت الثابت مؤهل أيضاً للارتباط بأغشية البكتيريا وذلك لتركيبه الكيميائي غير القطبي مثل الأغشية الخلوية، وارتباط هذه المركبات بالأغشية قد يؤدي إلى واحد أوأكثر من الاحتمالات التالية :

١- زيادة نفاذية الغشاء السيتوبلازمي، بإحداث خلل في حواجز النفاذية في الخلايا الميكروبية .

٢- تحطيم الغشاء السيتوبلازمي في البكتيريا .

٣- التأثير على الإنزيمات ومرافقات الإنزيمات الداخلة في سلسلة نقل الأوكسجين التنفسية، والموجودة في الغشاء السيتوبلازمي في البكتيريا وتثبيط عملها.

(Andrews et al1980 ; Sikkema et al. 1995 ; Hili et al.1997 ; Cox et al.1998 ; Cox et al.2001)

ومن ناحية أخرى فقد تم دراسة آلية تأثير الثيموكنيون (TQ) على البكتيريا ووجد أنه يثبط وبفاعلية بناء البروتين وكذلك بناء الحمض النووي الريبوزي RNA في بكتيريا ستفيلوكوكس أورياس S. aureus، الأمر الذي يفسر شدة حساسيتها له . (Kahsai2002)

جميع النتائج الواردة سابقاً تؤكد معملياً أن النشاط (ضد البكتيري) للحبة السوداء يتواجد في:

أ- المستخلصات المائية : وهي تؤثر على البكتيريا سالبة الجرام وموجبة الجرام .

ب- المستخلصات بالمذيبات العضوية : وهي تؤثر أكثر على البكتيريا موجبة الجرام

جـ- الثيموكينون والثيموهيدروكينون : وهي تؤثر على البكتيريا الموجبة والسالبة الجرام.

هذا ونأمل أن تثبت هذه الدراسة فائدة جلية من فوائد الحبة السوداء بإثبات حقيقة نشاطها الضد بكتيري الواسع المدى حتى للسلالات المقاومة لمضادات الحيوية والذي يمكننا من استخدامها في القضاء على العدوى البكتيرية وهذا يعطي الأمل في الاستغناء مستقبلاً عن الاستعمال المفرط في العلاج بمضادات الحيوية من جهة، وتفعيل عمل الجهاز المناعي من جهة أخرى والذي يعمل بدوره على مكافحة الأمراض وحتى المتسببة عن نقص المناعة مثل السرطان والإيدز والتي عجز الطب في القضاء عليها حتى اليوم .

هذه الحقيقة التي أثبتها العلم حديثا سبق بها قول المصطفى صلى الله عليه وسلم "إن هذه الحبة السوداء شفاء من كل داء إلا السام» (صحيح البخاري :٥٦٨٧) .

المراجع العربية:

اسماعيل البخاري أبي عبد الله محمد بن: صحيح البخاري مع شرحه، فتح الباري لابن حجر العسقلاني أ- كتاب الطب، حديث رقم ٥٦٨٧، باب الحبة السوداء، وحديث رقم ٥٦٨٨، المطبعة السلفية، القاهرة- مصر.

الترمذي عيسى بن ثورة : سنن الترمذي صححه الألباني . كتاب الطب عن رسول الله – باب ما جاء في الحبة السوداء . حديث رقم ٢٠٤١ – الجزء الرابع . مكتبة المعارف للنشر والتوزيع، الرياض – ص : ٣٨٥.

عبد العزيز، محمد كمال .(١٩٨٩ م) :الحبة السوداء دواء من كل داء .مكتبة ابن سينا، القاهرة .

صوان، محمد جوده .(١٩٩٢ م) : شفاء الزهور على مر الدهور(الحبة السوداء) – دار المشاعل للنشر، الرياض – المملكة العربية السعودية .

مسلم، أبي الحسن مسلم بن حجر القشيري النيسابوري : صحيح مسلم بشرح الإمام النووي، كتاب السلام باب التداوي بالحبة السوداء . حديث رقم ٢٢١٥ / الجزء الرابع – وباب التداوي بسقي العسل حديث م٧ / ٢٦ الجزء الخامس عشر – ص ١٧٣٥ و٣٨٧ . الطبعة الأولى . المطبعة المصرية بالأزهر، القاهرة .

المراجع الأجنبية :

Ali B.H. and Blunden G. (2003): Pharmacological and ...toxicological properties of Nigella sativa phytother. .Res. 17: 299 – 305 .

Al-Jabre S. Al-Akloby O.M. Al Qurashi A. R. Al-Dossary A. Akhtar N. and Randhawa M.A. (2003): Thymoquinone an active principle of Nigella sativa inhibits Aspergillus niger. Pak. J. Med . Res. 42: 102–104.

Al–Jassir M.S. (1992): Chemical composition and microflora of black cumin (Nigalla sativa. L) seeds growing in Saudi Arabia. Food chem. 45: 239 – 242 .

Andrews R.E. Parks L.W. and Spence K.D. (1980): Some effects of Douglas fir terpenes on certain microorganisms. Appl. Environ. Microbiol. 40: 301-304.

Babayan V.K. Koottungal D. and Halaby G.A.(1978): Proximate analysis fatty acid and amino acid composition on Nigella sativa L seeds . J.food sci. 43 : 1314-1315

Bamosa A.O. Ali B.A. and Sowayan S.A. (1997) : Effec of oral ingestion of Nigella sativa seed on some blood parameters .Saudi pharm. J. 5 : 126 – 129.

Boskabady M. Shirmohammadi B. Jandaghi P. and Kiani S. (2004): Possible mechanisms for relaxant effect of aqueous and macerated extracts from Nigella sativa on tracheal chains of guinea pig. BMC pharmacol. 4: 1471-2210 .

Bourboulis E.J. Grecka P. Asteriou A.D. and Giamarellou H. (2000): Impact of n-6 polyunsaturated fatty acids on growth of multidrug-resistant Pseudomonas aerugihosa: Interactions with amikacin and ceftazidime. Antimicrob. Agents and Chemo. 44: 2187-2189 .

Conconi A.M. Browse J.A. and Ryan C.A. (1996): Intracellular levels of free linolenic and linoelic acids increase in tomato leaves in response to wounding. Plant physiol. 111: 797-803 .

Cox S.D. Gustafson J.E. Mann C.M. Markham J.L. Liew Y.C. Hartland R.P. Bell H.C. Wormington J.R. and Whlie S.G. (1998): Tea tree oil causes K+ leakage and inhibits respiration in Escherichia coli. Lett. Appl. Microbiol. 26: 355-358 .

Cox S.D. Man C.M. Markham J.L. and Gustafson J.E. Warmington J.R. and Wyllie S.G. (2001): Determining the antimicrobial action of tea tree oil. Molecules. 6: 87 – 91 .

D'Antuono L.F. Moretti A. and Lovato A.F. (2002): Seed yield yield components oil content and essential oil content and composition of Nigella sativa L. and damascene L. Industrial crops and products. 15: 59-69 .

Deans S.G. and Svoboda K.P. (1990): The antimicrobial properties of marjoram (Origanum majorana L.) volatile oil. Flavour Fragrance J. 5: 187 – 190 .

El-Fatatry (1975) Isolation and structure assignment of an anti-microbial principle from the volatile oil ofNigella sativa L seeds. Pharmazie. Feb 30 (2): 109-111.

El-Kadi A. Kandil O. and Tabuni A.M. (1989): Nigella sativa and cell mediated immunity. Arch. AIDS. Res. I: 232-233.

Gulluce M. Sokmen M. Daferera D. Agar G. Ozkan H. Kartak N. Polissiou M. Sokmen A. and Sahin F. (2003): In vitro antibacterial antifungal and antioxidant activities of the essential oil and methonal extracts of herbal parts and callus cultures of Saturegia hortensis L. J. of Agric. Food Chem. 51: 3958 – 3965 .

Halwani R. Habbal M.Z. and Abdelnoor A.M. (1999): The antibacterial effect of Some constituents of Nigella sativa oil . Arab J. Pharm. Sci. 1: 87 – 69 .

Hili P. Evans C.S. and Veness R.G. (1997): Antimicrobial action of essential oils : the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. Applied Microbiol. 24: 269 – 275 .

Kahsai A.W. (2002): Isolation and characterization of active ingredients from Nigella sativa for antibacterial screening East Tennessee state university Master's thesis chemistry.

Morel C. Stermitz F.R Tegos G. and Lewis K. (2003): Isoflavones as potentiators of antibacterial activity. J. Agric. Food Chem. 51 : 5677-5679

Morsi N.M. (2000): Antimicrobial effect of crude extracts of Nigells sativa on multiple antibiotics-resistant bacteria. Acta Microbiologica Polonica. 49: 63-74 .

Mouhajir F. Pedersen J.A. Rejdali M. and Towers G.H. (1999) : Antimicrobial thymohydroquinones of Moroccan Nigella sativa seeds detected by electron spin resonance Int. J. pharmacog. 37: 391-395 .

Oumzil H. Ghoulami S. Rhajaoui M. Ilidrissi A. Fkih-Tetouani S. Faid M. and Benjouad A. (2002): Antibacterial and antifungal activity of essential oils of Mentha suaveolens. Phytother. Res. 16: 727 – 731.

Pol I.E. and Smid E.J. (1999): Combined action of nisin and carvacrol on Bacillus cereus and Listeria monocytogenes. Lett. in Appl. Microbiol. 29: 166 – 170 .

Rasooli I. and Mirmostafa S.A. (2003): Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from Thymus kotschyanus and Thymus persicus. J. Agric. Food Chem. 51: 2200 – 2205 .

Riaz M. Syed M. and Chaudhary F.M. (1996): Chemistry of the medicinal plants of the genus Nigella. Hamdard medicus. 39: 40-45 .

Sikkema J. debont J.A. and Poolman B. (1995): Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. Microbiol. Res. 59: 201-222.

Southwell I.A. Hayes A.J. Markham J.L. and Leach D.N. (1993): The search for optimally bioactive Australian tea tree oil. Acta Hort. 334: 265-275 .

Ultee A. Bennik M.H. and Moezelaar R. (2002): The phenolic hydroxyl group

of carvacrol is essential for action against the foodborne pathogen Bacillus cereus. Appl. Environ. Microbiol. 68: 1561-1568 .

Ustun G. Kent L. Ceking N. and Civelekoglu H. (1990): Investigation on the technological properties of Nigella sativa (black cumin) seed oil . J. Am. Oil Chem. Soc. 67: 958-960 .

Zaoui A. Cherrah Y. Lacaille-Dubois M.A. Settaf A. Amarouch H. and Hassar M. (2000): Diuretic and hypotensive effect of Nigella sativa in the spontaneously hypertensive rat . Therapie. 55: 379-382 .

www.eajaz.org