

الفعالية المضادة للبكتريا لأوراق وجذور نبات البنج الذهبي

Hyoscyamus aureus

منال الدّوس¹، شذى بشر¹، يوسف العموري²، لينة الأمير¹.

1: الهيئة العامة للتقانة الحيوية- دمشق- سوريا.

2: الجامعة السورية الخاصة- دمشق- سوريا.

الملخص

تم تنفيذ هذا البحث لاختبار فعالية نبات البنج الذهبي المضادة للميكروبات على عدة أنواع بكتيرية : *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa* البنج من ست مناطق في جنوب سورية، وحُصرت المستخلصات النباتية من جذور وأوراق هذه النباتات بعدة تراكيز ١٠٠، ١٥٠، ٢٠٠، ٢٥٠، ٣٠٠، ٣٥٠ ميكروغرام/مل، وتم تحديد التركيز الأدنى المثبط للبكتريا MIC والتركيز الأدنى القاتل للبكتريا MBC. تراوح MIC لبكتريا *P. aeruginosa* بين ١٠٠-٢٠٠ ميكروغرام/مل و MBC بين ١٠٠-٢٥٠ ميكروغرام/مل، بينما تراوح MIC لبكتريا *S. aureus* بين ١٠٠-٣٠٠ ميكروغرام/مل و MBC بين ١٥٠-٣٥٠ ميكروغرام/مل، وبالنسبة لبكتريا *E. coli* تراوح MIC بين ١٥٠-٣٠٠ ميكروغرام/مل و MBC ٢٠٠-٣٥٠ ميكروغرام / مل.

ولوحظ أن فعالية مستخلص الجذور أعلى من فعالية مستخلص الأوراق، وأثرت المنطقة الجغرافية التي جُمع منها النبات على فعالية المستخلص النباتي الناتج ضد البكتريا.

الكلمات المفتاحية: *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Hyoscyamus aureus*.

Antibacterial Activity of the Leaves and Root Extracts of

Hyoscyamus aureus

^{1*}Al- Dos, M., ¹Besher, SH., ²Al- Ammouri, Y. and ¹Al- Amir, L.

¹ National Commission for Biotechnology, Damascus, Syria.

² Syrian Private University, Damascus, Syria.

Abstract

The antibacterial activity of Golden henbane (*Hyoscyamus aureus*) on several species of bacteria: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was determined. Samples of *H. aureus* plants were collected from six locations in southern Syria. The extract of roots and leaves of *H. aureus* were prepared at concentrations of: 100, 150, 200, 250, 300, 350 µg/ml, and tested on bacteria, where their MIC and MBC were determined. Results showed that, MIC and MBC of *P.aeruginosa* ranged between 100-200 µg/ml and 100-250 µg/ml respectively, while it ranged between 100-300 µg/ml and 150-350 µg/ml for MIC and MBC of *S. aureus*, and 150-300 µg/ml and 200-350 µg/ml for MIC and MBC of *E. coli*. The antibacterial activity of *H. aureus* roots ethanolic extracts was higher than that of leaves in both inhibiting and killing the studied bacteria. A relationship was found between geographical location and antibacterial activity.

Key words: *Hyoscyamus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

*Corresponding author: Email: aldo2m@outlook.com

١- المقدمة

استخدمت النباتات الطبية منذ آلاف السنين لأغراض متعددة في سوريا وبشكل خاص زيوت هذه النباتات ومستخلصاتها السائلة حيث استخدمت لحفظ المواد الغذائية وتصنيع الأدوية والطب البديل والعلاج الطبيعي [8].

تاريخياً ، كانت النباتات المصدر الرئيسي للمركبات الفعالة لصناعة الأدوية، أما اليوم فتشكل المستخلصات النباتية ومركباتها الفعالة ٢٥% من الأدوية المنتجة سنوياً في الولايات المتحدة الأمريكية [20] [19] [5] [15]، علاوة على ذلك فقد قدرت منظمة الصحة العالمية أن ٨٠% من سكان البلدان النامية تعتمد في الرعاية الصحية على الأدوية التقليدية والتي بمعظمها ذات أصل نباتي [6].

إن المواد الفعالة في النبات هي عبارة عن نواتج استقلاب ثانوية ذات وزن جزيئي منخفض ، إما أن تشكل جزءاً من آليات دفاع النبات ضد العوامل الممرضة Phytoalexins أو قد تكون مركبات جاذبة للحشرات الملقحة كالأصبغة والعمور [6] ، وإنتاج كل مجموعة من المستقلبات الثانوية و الأولية يقتصر عادة على عدد محدود من الأنواع النباتية وعضو معين في النبات وكذلك نوع معين من النسيج النباتي [1].

ينتمي نبات البنج إلى العائلة الباذنجانية التي تحتوي على ما يقارب ٩٠ جنساً و ٣٠٠٠-٤٠٠٠ نوع موزعة في أنحاء العالم [16]. جنس الـ *Hyoscyameus* واحد من النباتات الطبية التي تحتوي على قلويدات الأتروبين وهي مركبات الهيوسيامين والسكوبولامين وغيرها، و المستخدمة على نطاق واسع كمضاد للتشنج، وموسع للحدقة، ومسكن من نوع مضادات الكولين، وعلى شكل عقارات ذات خواص منومة ومهدئة [2] [14] [22]. والأتروبين هو مادة سامة، بلورية تنتمي لصف من المركبات يعرف باسم القلويدات وتستخدم في الطب وبشكل رئيسي في طب العيون، كما يستخدم كمضاد للتسمم بالسموم العصبية الفوسفاتية العضوية مثل التابون و السارين [24]، ويسكن الأتروبين التشنجات المعوية والصفراوية، و يستخدم في علاج التبول اللاإرادي عند الأطفال.

تُعرف النباتات الطبية والعطرية بإنتاجها بعض الجزيئات النشطة بيولوجياً والتي تتفاعل مع الكائنات الحية الأخرى في البيئة، وتثبط نمو البكتيريا أو الفطريات [7]، وتعتبر هذه المواد المثبطة لنمو مسببات المرضية ذات تأثير سام منخفض جداً على الخلية العائلة وهذا يجعلها مواد قابلة للاستخدام في إنتاج عقاقير جديدة مضادة للميكروبات [23]، وقد تم تعريف النباتات الطبية المضادة للميكروبات والهامة لصحة الإنسان في المخابر منذ عام ١٩٢٦ [19].

تعتبر القلويدات مثل الهبوسيامين و السكوبولامين من أقدم العقاقير المعروفة في الطب [10] ، وهي من أهم العقاقير بسبب نشاطها الدوائي العالي و انخفاض آثارها الجانبية [18].

أظهرت الدراسات فعالية المستخلص الميثيلي لبذور *H. niger* تجاه البكتريا المسببة للالتهابات [8] مثل *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* [4]. وعندما درس Saadabi و Moglad [21] الفعالية المضادة للميكروبات لبعض النباتات الطبية مثل *H. muticus* ، لاحظا فروقاً معنوية في فعالية المستخلصات النباتية تجاه الأنواع البكتيرية مع حدوث تثبيط كامل لنمو بكتريا *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis* .

وعندما تم دراسة فعالية نبات البنج الأبيض *H. albus* تجاه بعض الأنواع البكتيرية مثل: *Pseudomonas stutzeri* و *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella pneumonia* و *Escherichia coli* ، لم يسبب المستخلص الإيتانولي أي تثبيط للبكتريا بينما كان للمواد القلوية المستخلصة من أوراق وجذور البنج الأبيض فعالية عالية تجاه هذه البكتريا [3].

٢- هدف البحث: هدَفَ البحث لتقييم فعالية مستخلصات أوراق وجذور نبات البنج الذهبي *Hyoscyamus aureus* ضد بعض الأنواع البكتيرية الممرضة، وتحديد التركيز الأدنى القاتل والتركيز الأدنى المثبط لنمو نوع بكتيري.

٣- مواد وطرائق البحث:

تم إجراء البحث في مخابر الهيئة العامة للثقافة الحيوية.

- **العينات النباتية:** جُمعت عينات عشوائية من نبات البنج الذهبي، من مناطق مختلفة في سوريا (الديماس، وبصرى، ودرعا، و وادي الزيدي، و صلخد، والقلمون). تم تجفيف الأوراق والجذور على درجة حرارة ٥٣ م° لمدة أسبوعين و طحنها [25].
- **العزلات البكتيرية:** تم الحصول على العزلات البكتيرية من مخابر الهيئة العامة للثقافة الحيوية NCBT :

Escherichia coli 2 و *Staphylococcus aureus* 8 و *Pseudomonas aeruginosa* 10

● **تحضير المعلق البكتيري:** تم تنشيط البكتريا على أطباق تحتوي على وسط الآغار المغذي، وحُضنت عند درجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة. بعد نمو البكتريا على الأطباق تم أخذ مستعمرة من كل نوع بكتيري وتلقيح أنابيب تحتوي ٥ مل من وسط مولر هينتون السائل (MHB) Muller Hinton Broth [8] والتحصين عند درجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة. حضرت تمديدات من معلق كل نوع بكتيري للوصول إلى تركيز نهائي يساوي 10^5-10^6 CFU/ml (خلية بكتيرية/مل) [17].

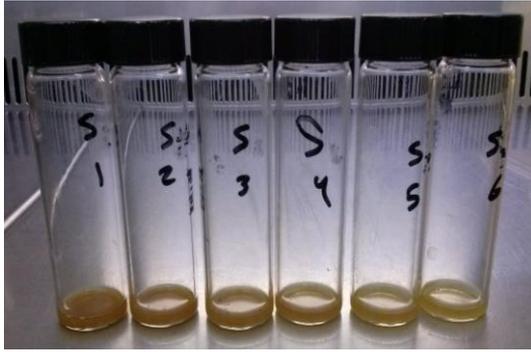
● **تحضير المستخلص النباتي:** تم وزن ١٠ غ من المسحوق النباتي وحلها في ٥٠ مل من الكحول الإيثيلي ٧٠% ضمن دورق سعته ٢٠٠ مل وتم الرج ضمن الحاضنة الهزازة (JSR-JSOS-500) بمعدل ٢٠٠ دورة/دقيقة عند درجة حرارة الغرفة لمدة ٢٤ ساعة [26]. رُشِحَ المزيج باستخدام ورق ترشيح ١٥٠ مم (MN713-REF400713015) (الشكل 1)، ثم تم تبخير الرشاحة الناتجة باستخدام المبخر الدوار ٨٠ دورة/دقيقة عند درجة حرارة ٤٠ م° (الشكل 2). وزنت المادة المجففة الناتجة وحُلَّت في حجم معين من الكحول الإيثيلي ١٠% للحصول على تركيز أساسي مقداره ٤٠٠ ميكروغرام/مل. وحُضرت ستة تراكيز من التركيز الأساسي لكل مستخلص (١٠٠ و ١٥٠ و ٢٠٠ و ٢٥٠ و ٣٠٠ و ٣٥٠ ميكروغرام/مل) ضمن أنابيب .

تم تحضير الشاهد الأول بإضافة الكحول الإيثيلي ١٠% إلى ١ مل من وسط MHB بدون المستخلص النباتي، أما الشاهد الثاني حُضِرَ بإضافة المستخلص النباتي (بتراكيزه المختلفة، كل تركيز على حدى) إلى وسط مولر هينتون السائل MHB.



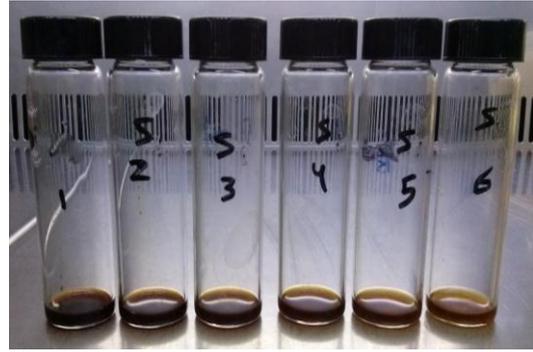
الشكل 1. ترشيح مزيج المسحوق النباتي والكحول الإيثيلي. الشكل 2. تبخير الرشاحة باستخدام المبخر الدوار.

- **الفعالية المضادة للبكتريا للمستخلصات النباتية:** تم تحديد قيمة MIC و MBC بتلقيح ٠١ميكروليتر من المعلق البكتيري (10^5-10^6 CFU/ml) [17] في كل أنبوب من الأنابيب التي تحتوي على التراكيز المحضرة من المستخلص النباتي ، و التحضين عند درجة حرارة ٣٧ م لمدة ٢٤ ساعة وملاحظة العكارة. أُخذت قطرة من كل أنبوب و تم نشرها على طبق يحوي وسط الآغار المغذي وحضنت عند درجة حرارة ٣٧ م لمدة ٢٤ ساعة وتم ملاحظة ظهور النمو البكتيري أو غيابه وكثافته عند كل تركيز من تراكيز المستخلص النباتي.



الشكل 4. التراكيز المحضرة من مستخلص جذور

البنج الذهبي مضافاً إلى كل منها 10 µl من المعلق البكتيري.



الشكل 3. التراكيز المحضرة من مستخلص أوراق

البنج الذهبي مضافاً إلى كل منها 10 µl من المعلق البكتيري.

٤- النتائج والمناقشة

تم دراسة النشاط المضاد للبكتريا لنبات البنج *H. aureus* من خلال اختبار قيمة MIC و MBC (جدول ١ و٢)، وكان للمستخلص الإيتانولي لنبات البنج الذهبي تأثير كبير كمضاد بكتيري تجاه الأجناس البكتيرية المدروسة.

جدول ١. التركيز الأدنى المثبط MIC للمستخلص الإيثانولي لنبات *H. aureus*

المستخلص النباتي	MIC µg/ml		
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
D1	250	100	200
D2	300	150	250
R1	200	100	200
R2	250	200	250
S1	250	100	250
S2	150	150	150
B1	200	150	250
B2	300	200	300
K1	250	150	150
K2	300	200	150
W1	200	100	150
W2	250	100	300

١: مستخلص الجذور، ٢: مستخلص الأوراق.

D: الديماس، R: درعا، S: صلخد، B: بصرى، K: القلمون، W: وادي الزيدي.

جدول ٢. التركيز الأدنى القاتل MBC للمستخلص الإيثانولي لنبات *H. aureus*

المستخلص النباتي	MBC µg/ml		
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
D1	300	150	250
D2	350	200	300
R1	250	150	250
R2	300	250	300
S1	300	150	300
S2	200	200	200
B1	250	200	300
B2	350	250	350
K1	300	200	200
K2	350	250	200
W1	250	150	150
W2	300	150	350

١: مستخلص الجذور، ٢: مستخلص الأوراق.

D: الديماس، R: درعا، B: بصرى، K: القلمون، W: وادي الزيدي.

استطاع تركيز ١٠٠ميكروغرام/مل من المستخلص النباتي تثبيط نمو بكتريا *P. aeruginosa* بينما كان التركيز المثبط لكل من *S. aureus* و *E. coli* أعلى من ذلك وبلغ ١٥٠ ميكروغرام/مل.

لوحظ أن التركيز الأدنى القاتل من المستخلص لبكتريا *P. aeruginosa* تراوح بين ١٥٠-٢٥٠ ميكروغرام/مل، بينما تراوح التركيز الأدنى القاتل لبكتريا *S. aureus* ١٥٠-٣٥٠ ميكروغرام/مل و لبكتريا *E. coli* تراوح بين ٢٥٠-٣٥٠ميكروغرام/مل.

ومن خلال انخفاض قيم الـ MIC و MBC التي أثرت على بكتريا *P. aeruginosa* فإن فعالية مستخلص البنج الذهبي ضد هذه البكتريا أعلى مما هو ضد *S. aureus* و *E. coli* بينما لاحظ Dulger وزملاؤه [8] أن فعالية البنج الأسود *H. niger* أعلى ضد بكتريا *S. aureus* بتركيز منخفضة من MIC و MBC بينما لم يعط مستخلص *H. niger* أي فعالية ضد بكتريا *E. coli*، ويعود تباين التأثير بين نوعي البنج إلى اختلاف تركيز المواد الفعالة ونوعها في كل منهما حيث يحتوي البنج الأسود على anisodamine و scopolamine و hyoscyamine و cuscohygrine [12] بينما يحتوي البنج الذهبي *H. aureus* على الهيوسيامين والسكوبولامين [3].

لوحظ أن مستخلص جذور نبات البنج الذهبي أعلى فعالية في تثبيط وقتل البكتريا المدروسة من مستخلص الأوراق فقد لزم تراكيز أعلى من مستخلص الأوراق لتثبيط وقتل البكتريا.

حيث بلغ التركيز الأدنى المثبط لمستخلص جذور النباتات المجموعة من منطقة وادي الزيدي عند اختبارها على بكتريا *S. aureus* ١٥٠ ميكروغرام/مل، بينما بلغ التركيز الأدنى المثبط لمستخلص أوراق نفس النباتات ٣٠٠ ميكروغرام/مل، وكان التركيز الأدنى القاتل لمستخلص جذور هذه النباتات ١٥٠ ميكروغرام/مل والتركيز الأدنى القاتل لمستخلص أوراق نفس النباتات ٣٥٠ ميكروغرام/مل. وهذا يوافق ماتوصل إليه Kadi و زملاؤه [13]، حيث وجد أن القلويدات الفعالة تتراكم في الجذور ٢,٣٢١% بمعدل أعلى من تراكمها في الأجزاء الهوائية ١,٧٠٢% [13].

لم يلاحظ ظهور أي مقاومة للأجناس البكتيرية تجاه مستخلص نبات البنج المدروس بينما لوحظت حالة المقاومة عندما درس Kadi و زملاؤه [13] فعالية مستخلص أوراق *Hyoscyamus* حيث لم يعط أي تأثير ضد *P. aeruginosa* و *S. aureus* و *E. coli* بالتراكيز المنخفضة.

تباينت فعالية المستخلص النباتي حسب المنطقة التي جمع منها النبات حيث بلغ MIC لمستخلص أوراق نباتات منطقة القلمون ١٥٠ ميكروغرام/مل و MBC ٢٠٠ ميكروغرام/مل ضد بكتريا *S. aureus*، بينما بلغ MIC لمستخلص أوراق نباتات منطقة الديماس ٢٥٠ ميكروغرام/مل و MBC ٣٠٠ ميكروغرام/مل ضد بكتريا *S. aureus* أيضاً، وهذا يتوافق مع Lonkova [11] الذي وجد أن فعالية النبات تختلف حسب عمر النبات والجزء النباتي أو النوع و المنطقة الجغرافية.

٥- الاستنتاجات والمقترحات:

- تظهر الدراسة السابقة فعالية مستخلص أوراق وجذور نبات البنج الذهبي ضد الأجناس البكتيرية المدروسة والتراكيز المستخدمة في البحث.
- إمكانية إجراء دراسات لاحقة لتحديد قيم MIC و MBC لمستخلصات البنج الذهبي *H. aureus* على عدة أجناس وسلالات بكتيرية أخرى، و استخدام مستخلصات هذا النبات *H. aureus* كعقارات ذات فعالية مضادة لبكتريا *P. aeruginosa* و *S. aureus* و *E. coli* بعد تحديد الجرعة المناسبة للإنسان.

المراجع

- 1- ALVAREZ, M. A. and MARCONI, P. L., 2011- Genetic transformation for metabolic engineering of tropane alkaloids, Intech, 291-304.
- 2- BAHMANZADEGAN, A.; SEFIDKN, F. and SONBOLI, A., 2009- Determination of hyoscyamine and scopolamine in four *Hyoscyamus* species from Iran, Iranian Journal of Pharmaceutical Research, vol. 8. 65-70.
- 3- BESHER, S.; Al-AMMOURI, Y. and LAWAND, S., 2012- Determination of tropane alkaloids in golden henbane (*Hyoscyamus aureus*) in vitro, Вісник українського товариства генетиків і селекціонерів, vol. 10(2). 231-336.
- 4- BHATTARAI, S.; CHAUDHARY, R. P.; TAYLOR, R. SL. and GHIMIRE, S. K., 2009- Biological activities of some nepalese medicinal plants used in treating bacterial infections in human beings, Nepal Journal of Science and Technology, vol. 10. 83-90.
- 5- BUTTLER, M. S., 2004- The role of natural product chemistry in drug discovery, Journal of Natural Products, vol. 67. 2141-2153.
- 6- CANTER, P.; HOWARD, T. and EDZARD, E., 2005- Bringing medicinal plants into cultivation. Opportunities and challenges for biotechnology, Trends in Biotechnology journal, vol. 23. 180-185.
- 7- CHOPRA, R. N.; NAYER, S. L. and Chopra, I. C., 1992- Glossary of Indian medicinal plants, 3rdedn. Publications and information, New delhi, 414p.
- 8- DULGER, B.; GONCU, B. s. and GUCIN, F., 2010- Antibacterial activity of the seeds of *Hyoscyamus niger* L. (Henbane), Asian Journal of Chemistry, vol. 22(9). 6879-6883.

- 9- ERDOGRUL, O. T., 2002- Antibacterial activities of some plant extracts used in folk medicine, Pharmaceutical Biology, vol. 40. 269-273.
- 10-GARLAND, T. and BARR, A. C., 2001- Toxic plants and other natural toxicants, ABE-print CABI publishing, UK, 557p.
- 11-IONKOVA, I., 2002- In vitro culture and the production of secondary metabolites in *Hyoscyamus reticulatus* L. Biotechnology in Agriculture and Forestry, Medicinal and Aromatic Plants XII, vol. 51. 75-94.
- 12-JAREMICZ, Z.; LUCZKIEWICZ, M.; KOKOTKIEWICZ, A.; KROLICKA, A. and SOWINSKI, P., 2013- Production of tropane alkaloids in *Hyoscyamus niger* (black henbane) hairy roots grown in bubble-column and spray bioreactors, Biotechnology Letters, vol. 36(4). 843–853.
- 13-KADI, K.; YAHIA, A.; HAMLİ, S.; AUIDANE, L.; KHABTHANE, H. and ALI, W. K., 2013- In vitro antibacterial activity and phytochemical analysis of white henbane treated by phytohormones, Pakistan journal of biological sciences, vol. 16(19). 984-990.
- 14-KARTLE, M.; KURUCU, S. and ALTUN, L., 2003- Quantitative analysis of 1-Hyoscyamine in *Hyoscyamus reticulatus* L. by GC-MS, Turkish Journal of Chemistry, vol. 27. 565-569.
- 15-KINGHORN, A. D. and SEO, E. K., 1996- Plants as sources of drugs, Agricultural Materials as Renewable Resources, vol. 647. 179–193.
- 16-KNAPP, S.; BOHS, L.; NEE, M. and SPONER, D., 2004- Solanaceae model for linking genomics with biodiversity, Comparative and Functional Genomics, vol. 5. 285-291.

- 17-KLANČNIK, A.; PISKERNIK, S.; JERŠEK, B. and MOŽINA, S. S., 2010- Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts, Journal of Microbiological Methods, vol. 81. 121-126.
- 18-OKSMAN-CALDENTEY, K. M., 2007- Tropane and nicotine alkaloid biosynthesis-novel approaches towards biotechnology production of plant-derived pharmaceutical, Current Pharmaceutical Biotechnology, vol. 8. 203-210.
- 19-PRAKASH, S.; CJOUDARY, K. A.; KAR, D. M.; DAS, L. and JAIN, A., 2009- Plants in traditional medical system- future source of new drugs, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, vol. 1. 1-23.
- 20- QURISHI, Y.; HAMID, A.; ZARGAR, M. A.; SINGH, S. K. and SAXENA, A. K., 2010- Potential role of natural molecules in health and disease: Importance of boswellic acid, Journal Medicinal Plants Research, vol. 4. 2778-2785.
- 21-SAADABI, A. M. A. and MOGLAD, E. H., 2011- Experimental evaluation of certain Sudanese plants used in folkloric medicine for their antibacterial activity (In- vitro tests), Journal of Applied Sciences Research, vol. 7(3). 253-256.
- 22- SUPRIA, K. P., 1998- Handbook of medical plants, Poiter publishers, India, 607p.
- 23- YANO, Y.; SATOMI, M. and OIKAWA, H., 2006- Antimicrobial effect of spices herbs on *Vibrio parahaemolyticus*, Journal Food Microbial, vol. 111. 6-11.
- 24- Online: Ancylopaedia Britannica 2013. atropine chemical compound. Downloaded from <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/42015/atropine> on 17/7/2013.

- 25- حرامي، ثناء؛ و النوري، أحمد؛ والقاضي، عماد؛ وقره بيت، فرانسوا، 2001- دراسة تصنيفية و كيميائية وبيئية لجنس البنج *Hyoscyamus* في جنوب سورية، كلية العلوم، جامعة دمشق، الجمهورية العربية السورية.
- 26- عجينة، صبا؛ وهندي، مازن؛ ويحيى، عبد الغني، ٢٠٠٩- تأثير المستخلصات الكحولية الخام لأجزاء بعض النباتات في تثبيط النمو لأنواع من البكتريا المرضية والمسببة لتلف الغذاء، المجلة العراقية لبحوث السوق و حماية المستهلك، مجلد(1)- عدد2- الصفحات: 14.