Diagnosis and Study of Some chemical elements and compounds in the Shilajit and use their antioxidants and antimicrobials activity

Mariam Abdul-bary Auribi, Batoul Mahmoud Mohammed* and Lina Sameer Mohammed
Dep. of food Science, College of Agriculture, University of Basrah, Iraq.

Abstract

The study was conducted to determine the mineral elements of the Shilajit using the Spectrophotometer Technique, as the concentrations of the elements were Fe, Cu, Mg, Ca, Zn (1.6, 16, 2.6 0.03, 5) ppm, respectively. All elements were estimated by using EDS SEM Technique, the results showed: carbon 81.35%, oxygen 18.43%, sodium 0.07%, tungsten 0.04% germanium, silver 0.02%, While the elements of aluminum, selenium, technetium and ruthenium all gave the same percentage, which is 0.01%. Moreover Qualitative investigations were performed on the aqueous extract, it was found: carbohydrates, soaponins, tannins, flavonoids, alkaloids, phenols but not containe Glycosides. As for the antioxidant activity, it was using the DPPH method, the extract's scavenging free radicals increased where the concentrations increasing, a maximum effective at a concentration to 100 mg it amounts 82.69% and a lower effective at a concentration of 20 mg as it was 45.32% compared with the BHT its effective was 92.34 % with the same concentration . As for the reducing power, it also increased with concentration increasing, where the lowest it was at a concentration of 20 mg it amounts 28.29% and the highest effective at a concentration of 100 mg amounted to 78.45% compared with ascorbic acid it was 88.23%. As for the microbial activity against bacteria and fungi, it showed effect against to *Staphylococcus aureus*, *E. coli* and *Candida albicans* by measuring the diameter of the inhibition in bacteria and fungi was within 12 mm, As for Aspergillus niger, the inhibition diameter was 25mm, which indicates that it is effective against bacteria and fungi.

تشخيص ودراسة بعض العناصر والمركبات الكيمائية في المومياء Shilajit واستخدامها كمضادات اكسدة ومضادات مايكروبية

مريم عبدالباري عريبي و بتول محمود محمد و لينا سمير محمد
كلية الزراعة / قسم علوم الاغذية

الخلاصة

اجريت الدراسة لتحديد العناصر المعدنية للمومياء Shilajit باستخدام جهاز Spectrophotometer اذ كانت التراكيز للعناصر Fe , Cu, Mg , Ca , Zn (1.6, 16 , 2.6 0.03 , 5) ppm على التوالي كما قدرت جميع العناصر باستخدام تقنية SEM- EDSو اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها كلاتي تركيزالكاربون 81.35% والاوكسجين 18.43 % الصوديوم 0.07% التنكستن 0.04% الجرمانيوم والفضة 0.02% الألمنيوم والسلينيوم والتكنيتيوم والروثونيوم جميعهم اعطت نفس النسبة وهي 0.01 % اجريت الكشوفات النوعية على المستخلص المائي اذ لوحظ احتوائها على (الكاربوهيدرات , صابونين , تانينات , فلافونيدات , قلويدات , فينولات وعدم احتوائها على الكلايكوسيدات . أما النشاط المضاد للأكسدة تم تقديره بطريقة DPPH حيث زادت قابلية المستخلص لاقتناص الجذور الحرة بزيادة التراكيز حيث بلغت اقصى فعالية عند التركيز 100 ملغم اذ بلغت 82.69% واقل قيمة عند تركيز 20 ملغم اذ كانت 45.32%مقارنة مع مضاد الاكسدة القياسي BHT كانت فعاليتة 92.34 % بنفس التركيز اما القوة الاختزالية اخذت بالتزايد ايضا مع ازدياد التركيز حيث كانت اقل قوة عند تركيز20 ملغم اذ بلغت 28.29% واعلى قيمة عند تركيز 100 ملغم بلغت 78.45% مقارنة مع حامض الاسكوربيك التي كانت فعاليتة 88.23 كذلك اعطت العينة فعالية مايكروبية ضد البكتريا والفطريات

حيث ابدت فعالية ضد البكتريا Staphylococcus aureus , E.coli و فطرCandida albicans و *Aspergillus niger* وذلك من خلال قياس قطر التثبيط حيث كان قطر التثبيط في الكتريا والفطريات بحدود 12 mm اما في فطر *Aspergillus niger* فقد كان قطر التثبيط 25mm مما يدل ان لها فعالية ضد البكتريا والفطريات.

المقدمة

المومياين Shilajit هي مادة طبيعية موجودة اساسا في جبال الهيمالايا تتشكل لقرون عديدة من التحلل التدريجي لبعض النباتات من خلال عمل الكائنات الحية الدقيقة تكون على شكل إفرازات سوداء يتم الحصول عليها من الصخور في العديد من السلاسل الجبلية (1) و تحتوي على أكثر من 85 معدنًا وعلى 60-80 ٪ من حامض الفولفليك (FA) وحامض الهيوميك (HA) (2)وحامض البنزويك والأحماض الدهنية والراتنجات والمطاط والاحماض العطرية الكاربوكسيلية والاحماض الامينية (4,3) ويرجع النشاط البيولوجي لها أساسا إلى هذه المركبات HA و FA. وتعتبر مضادات الالتهاب المفاصل و مضادات الأكسدة (5)ولها فعالية لعلاج مرض السكري من خلال تثبيطها لانزيم الالفا الاميليز وانزيم ألفا glucosidase (6) و مضادات للتسمم والفيروسات هذه الخصائص تجعلها مفيدة لعلاج السرطان والوقاية منه.(7) بالإضافة إلى ذلك ليس لها أي آثار جانبية ويمكن اعتبارها كمكملات غذائية ومجددة للشيخوخة(8) وكانت تستخدم لعلاج العديد من الامراض والاضطرابات العصبية والنفسية البدنية والتي يطلق عليها عمومًا منشط عام. بعض الدراسات الأكثر إثارة للاهتمام تؤكد استخداماتها كعامل مزيل للقلق ومحفز اكتساب التعلم واسترجاع الذاكرة .بالإضافة الى انه يستخدم في علاج مرض المفاصل التنكسية وهو اضطراب وظيفي للمفصل يتميز بتغير في شكل المفصل الثانوي إلى فقدان الغضروف المفصلي تكوين العظام التصلب تحت الغضروفي آفات نخاع العظم(9) مع تغيير لاحق في ميكانيكية الخصائص التي تؤدي إلى انخفاض الثبات والحركة والتحميل يعتبر بشكل عام آمنًا في الجرعات المعتدلة و أظهر عدد من التجارب السريرية العديد من خصائصها الدوائية. وقد تم إجراء العديد من الأبحاث التي استكشفت إمكاناته العلاجية وأصبحت متاحة المستحضرات الصيدلانية

ومن فوائد المومياين الاخرى هي

ينفع جدا في العظام عند شربه مع الحليب لعلاج الكسور (10) و يعمل على ترميم الكولاجين الغير متمدد - وهو التكوين الاساسي للعظم - ويصلح العظام إصلاحا لا يخطر بالبال ولا يعدله شئ ..

ينفع في مشاكل تقطيع البول وينفع الدم ويقوي الكبد حيث يرفع مستوى الدم لمن عندهم أنيميا وينصح الحوامل باستعماله بدل الفوليك والحديد - الذين يسببان ترسبات في الكلية تنصح به المرأة المرضعة لأنه يغطي حاجتها للكالسيوم بقوة ينتشر في اغلب دول الخليج بشكل واسع وهو يزيد القوة البدنية ويعزز صحة الانسان وتبين ان الفوائد الصحية للمومياين تختلف من منطقة الى اخرى وهذا يتوقف على المكان الذي تم استخراجه منه (11)

شكل رقم (1) المومياينة

المواد وطرق العمل

المواد :-

1- تم الحصول على Shilajit من اسواق ايران ثم طحنت بالمطحنة الكهربائية نوع Moulinex فرنسية الصنع وحفظها في قنينة في درجة حرارة المختبر لحين الدراسة وخزنت في علبة لحن قيد الدراسه .

2-كاشف مولش , كاشف ماركوس , كلوريد الزئبقيك المائي (5%), خلات الرصاص المائية 1% ,هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي5عياري , كلوريد الحديديك 1% كاشف واكنر ماير , كاشف 5N KOH وH_2SO_4

1- (DPPH) , ايثانول , DMSO , حامض الاسكوربك , الفا- توكوفيرول , ايثانول , محلول منظم الفوسفات , potassium ferricyanide (1%) , ثلاثي كلورو حامض الخليك ,ماء مقطر , كلوريد الحديديك

طرق العمل :-

1- تقدير العناصر المعدنية :-

قدرت العناصرالمعدنية Fe, Cu ,Zn , Ca , Mg باستخدام جهاز Spectrophotometer AA986 بعد اجراء عملية الهضم للعينه باستخدام الخليط الحامضي ($HClO_4$ و HNO_3)بنسبة 1:3 حسب طريقة (12)

وكذلك شخصت وقدرت جميع العناصر الموجودة في الموميان باستخدام تقنية جهاز (SEM-EDS) عن طريق تخفيف العينة استعداداً لاجراء مسح الكتروني للعناصر الموجودة في العينة التي تم وضعها داخل النظام ثم قفلة باحكام باستخدام مؤشر الكتروني ثانوي (SE2) وفقا لذلك تم الحصول على صورة عالية الدقة وواضحة التباين ومعايرة النظام بشكل صحيح لغرض الحصول على تعريف كمي ونوعي للعناصر (13)

2- طريقة تحضير المستخلص المائي : حضر المستخلص المائي وفق طريقة (14)نقع 20غم منShiljait المطحون في 100 مل من الماء لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة المختبر ثم ركز المستخلص باستخدام جهاز المبخر الدوار

3-التحاليل النوعية للمستخلص:

اجريت الكشوفات الاوليه على المستخلص المائي للتعرف على العوائل الكيميائية او المجاميع الرئيسية

3-1 - كشف الكاربوهيدرات Carbohydrates test

كشفت عن الكاربوهيدرات باستعمال كاشف مولش Molish test اذ اضيفت 1 مل من الكاشف الى 1 مل من المستخلص ثم اضيف قطرات من حامض الكبريتيك المركز تكون حلقة بنفسجية دلالة على وجود الكاربوهيدرات (15)

3-2- كشف الصابونين Saponins Test

اضافة 1 مل من المستخلص الى 1 مل من كلوريد الزئبقيك 5% ظهور الراسب الابيض يدل على وجود الصابونين (16)

3-3- كشف التانينات Tannins test

اضيف 1 مل من خلات الرصاص المائية (1%) الى 1 مل من المستخلص تكون راسب ابيض هلامي دلالة على وجود التانينات (17)

3-4- كشف الفلافونيدات flavonids test

اضيف 1 مل من هيدروكسيد البوتاسيوم (5N) كحولي الى 1 مل من المستخلص حيث ظهور اللون الاصفر دلالة على وجود الفلافونيدات (18)

3-5- كشف القلويدات Alkaloids test

تم الكشف باستخدام كاشف ماركوس Margus reagent حضر بمزج 1 مل من الفورمالديهايد مع 10 مل من حامض الكبريتيك المركز واضيف الى 1 مل من المستخلص تكوين راسب اصفر او ارجواني دلالة على وجود القلويدات (19)

3-6- كشف الكلايكوسيدات Glycosides Test

تم الكشف عن الكلايكوسيدات باستخدام كاشف بندكت (18)

3-7- كشف الفينولات phenolice test

رطبت ورقة ترشيح بالمستخلص ثم اضيفت اليها قطرات من كلوريد الحديديك وعرضت الورقة الى بخار الامونيا , ظهور اللون الازرق دليل وجود الفينولات (20)

4 - قياس الفعالية المضادة للاكسدة Measurment of Antioxidant

قيست الفعالية المضادة للمستخلص الايثانولي لاقتناص الجذر الحرPDDH حسب طريقة (21)وتضمنت ما يأتي حضرت المحاليل بتراكيز20، 40 , 60 , 80 , 100 ملغم \ مل في الايثانول واضيف لها 1 مل من محلول دارى الفوسفات (0.1 مولاري والرقم الهيدروجيني 7) ثم خلط 1 مل من المحاليل المحضرة مع 1مل من محلول DPPH رج الخليط بشدة وترك لمدة 60 دقيقية بدرجة حرارة الغرفة وقيست الامتصاصية على الطول الموجي 517 نانوميتر اما نموذج العينة الضابطة فحضرت من 1مل من محلول دارى الفوسفات المحضر سابقا مع واحد مل من PDDH وقيست الامتصاصية وحسب الفعالية حسب المعادلة التالية

الفعالية المضادة للاكسدة = امتصاصية العينة الضابطة - امتصاصية العينة \ امتصاصية العينة الضابطة ×100

5-القوة الاختزالية :

اتبعت طريقة (22) في تقدير القوة الاختزالية بخلط 2.5 مل من المحاليل المحضرة بتراكيز 20, 40 , 60 , , 100 80ملغم \مل في الايثانول مع 2.5 مل من محلول دارى الفوسفات 0.2 مولاري برقم هيدروجيني 6.6 و2.5مل من 1%

سيانيد البوتاسيوم الحديديكي وحضن الخليط عند درجة حرارة 50 م° لمدة 20 دقيقة بعدها اضيف 2.5 مل من TCA 10% (ثلاثي كلوريد حامض الخليك) نبذت الانابيب مركزيا بسرعة 2000 دوره بالدقيقة لمدة 10 دقائق ثم اخذت الطبقة العلوية وأضيف لها 5 مل من الماء المقطر و1 مل من كلوريد الحديديك 0.1 % ثم قراءت الامتصاصية على طول الموجي 700 نانومتير اما العينة الضابطة فحضرت من جميع المواد أعلاه ما عدا العينة وقورنت مع حامض الاسكوربك

القوة الاختزالية = 100 – (امتصاصية العينة \ امتصاصية العينة الضابطة * 100)

6-الفحوصات المايكروبية :-

تم تقيم النشاط المضاد للبكتريا من العينة باذابة (0.1 غم من المومياية في 1 مل من مذيب DMSO) ضد نوعين من البكتريا , *Staphylococcus aurous* و *Escherichia coli* ثم اضيف 50 ميكروليتر من العينة الى ثقوب قطرها 7 ملم ثم حضنت الاطباق في حاضنة لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 36 م° تحت ظروف هوائية وتم قياس تثبيط نمو البكتريا في مم (23)

اما بالنسبة الى دراسة تاثيرها ضد الفطريات تم تقيم النشاط المضاد للفطريات لعينة المومياية من خلال فحص فطريات *Aspergillus niger* و fungi *Candida albicans* بواسطة تقنية الانتشار على سطح نمو PDA (24) (25) .تم تحضير الفطر ثم ثقب ثقوب قطرها 6 مم وملئت ب 50 ميكروليتر من العينة ثم حضنت الاطباق عند (2±28) م° واجري التقيم بعد 72 ساعة عن طريق قياس قطر التثبيط للفطريات

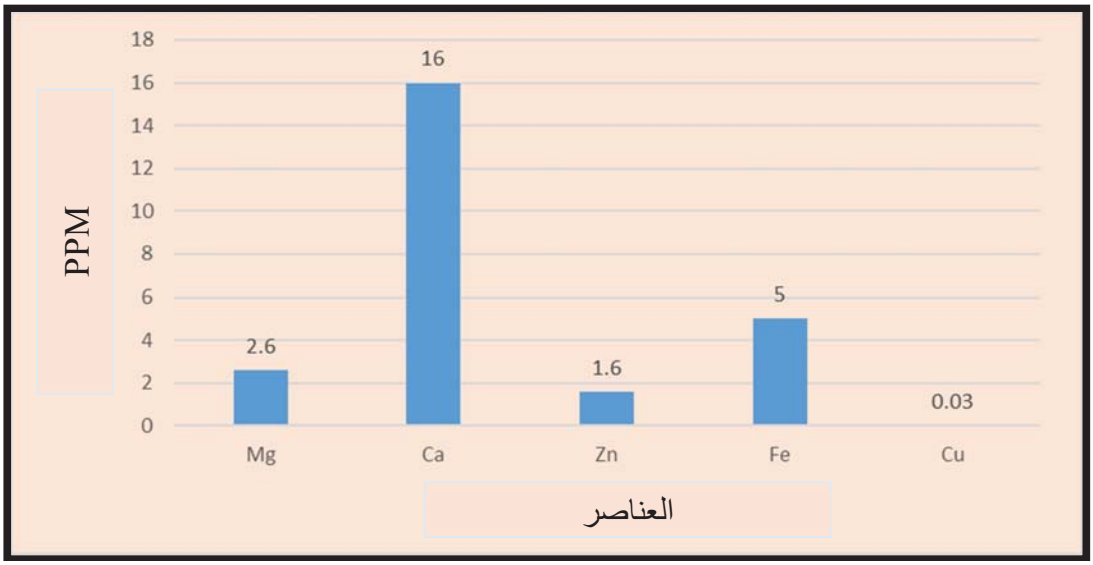
النتائج والمناقشة

1- العناصر المعدنية

العناصر المعدنية للمومياء كالاتي 2) والشكل (1يبين الجدول رقم (Cu , Fe , Zn , Ca,Mg 0.03,5, 1.6, على التوالي حيث لاحظ ان نسبة الكالسيوم هي اعلى قيمة واقل قيمة هي النحاس لمى لهذه ppm) (16, 2.6 Ca حيث وجد نسبة 26)وهي مقاربة لمى وجدها (العينة من اهمية في بناء العظام وتستخدم لعلاج المفاصل 0.01 ونسبة النحاس 15تساوي

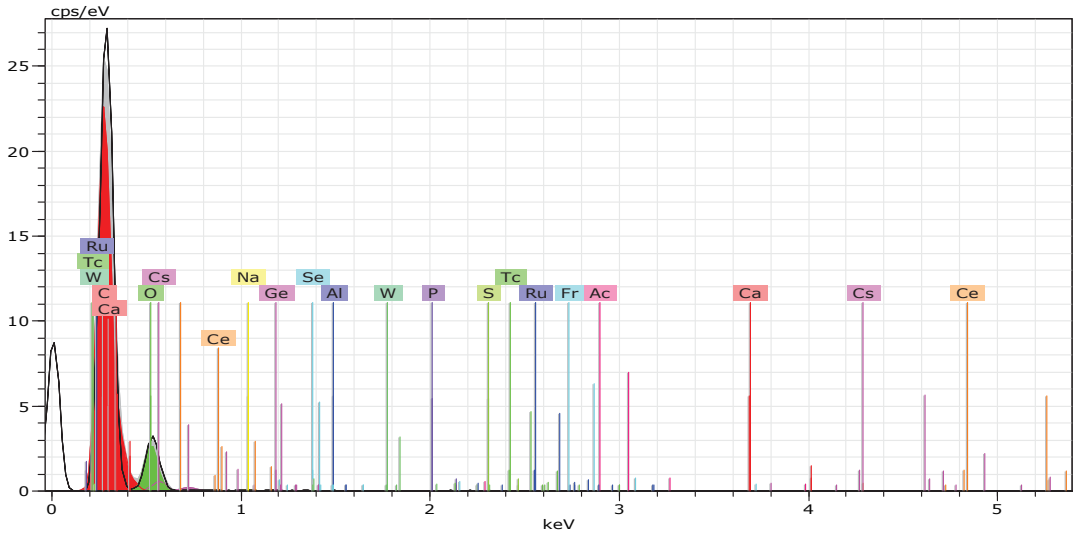
جدول رقم (1)

العنصر	تركيزppm
Mg	2.6
Ca	16
Zn	1.6
Fe	5
Cu	0.03



شكل رقم (2) تراكيز العناصر المعدنية

تقدير التركيز العناصر باستخدام جهاز EDS كما موضح في الشكل(3) والجدول رقم (2) نتائج قيم العناصر التي تتكون منها الموميان حيث تبين احتوائها على نسبة عالية من الكربون والأوكسجين حيث تراوحت القيم (81.35 %, 18.43%) على التوالي والصوديوم 0.07% والتنكستن 0.04 % والجرمانيوم 0.02 %والالمنيوم والسلينيوم والتكنيتيوم والروثونيوم جميعهم بنسبة 0.01% حيث تشير الدراسات الحديثة الى ان العديد من منتوجات الموميانة قد تحتوي على مستويات من المعادن الثقيلة التي تولد استجابة افضل للجسم بطريقة التأزر هذا مايعرف في الطب حيث تم اعداده واستهلاكه بشكل صحيح فهو امن وله مزايا علاجية (27)



شكل رقم (3)

جدول رقم (2)النسبة المؤية للعناصر الكلية في المومياين

Element	C Atom [at.%]
Carbon	81.35
Oxygen	18.43
Aluminium	0.01
Selenium	0.01
Germanium	0.02
Sodium	0.07
Cerium	0.01
Tungsten	0.04
Phosphorus	0.01
Actinium	0.00
Sulfur	0.02
Technetium	0.01
Ruthenium	0.01
Francium	0.00
Cesium	0.00

2- التحليلات النوعية للمستخلص المائي للموميان Shilajit

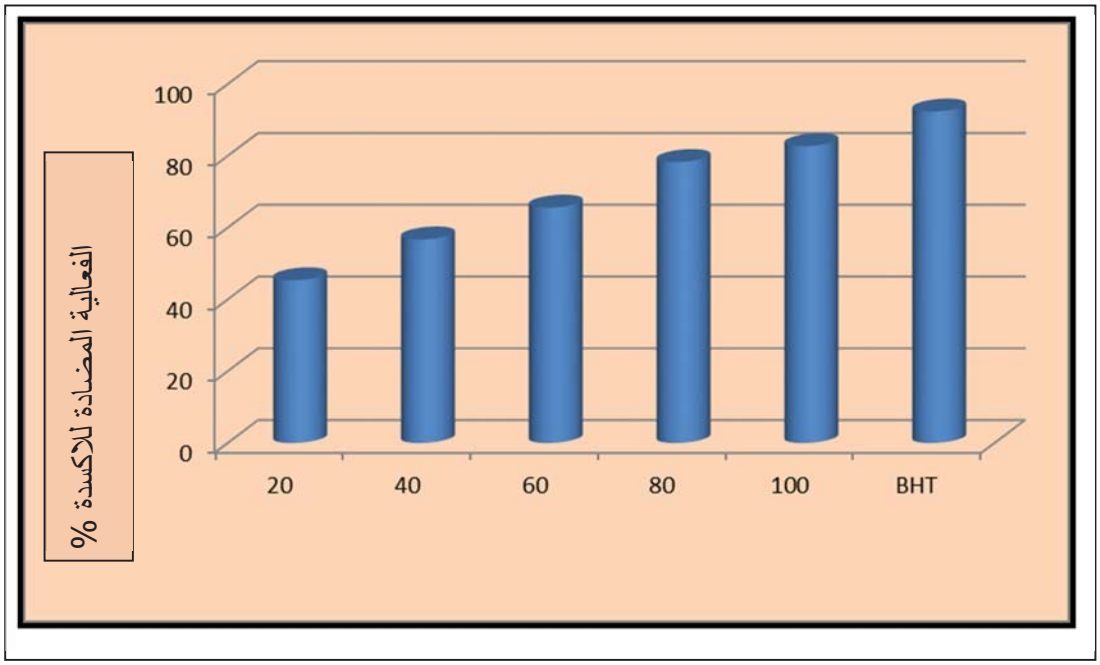
) نتائج الكشوفات النوعية لمستخلص المائي فقد اعطت المستخلصات نتيجة موجبة مع 3يبين الجدول رقم (الكواشف المستخدمة للكشف عن الكاربوهيدرات كاكاشف مولش مما يدل على وجود الكاربوهيدرات واحتوت واعطت كشف موجب ايضا مع خلات الرصاص المائية ومع Hg_2Cl_2على الصابونين لاعطائها نتائج موجبة مع) 28كاشف ماركوس دلالة على وجود التانينات والقلويدات على التوالي (

جدول رقم (3) التحليل النوعي للمستخلص المائي للموميانة

الكاشف	المستخلص المائي	الملاحظات
كاشف موليش	+	وجود الكاربوهيدرات
Hg2Cl2	+	وجود الصابونين
خلات الرصاص المائية 1%	+	وجود التانينات
هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي	+	وجود الفلافونيدات
كاشف ماركوس	+	وجود القلويدات
كاشف بندكت	_	وجود الكلايكوسيدات
محلول كلوريد الحديديك 1%	+	وجود الفينولات

3-الفعالية المضادة للأكسدة:

تُوضح النتائج في الشكل (4) الفعالية المضادة للاكسدة للمستخلص الايثانولي قد ازدادت قابلية المستخلص لاقتناص الجذر الحر الثابت (DPPH) .بالمقا رنة مع مضاد الأكسدة BHT بزيادة التراكيز المستخدمة وبلغت أقصى فعالية اقتناص عند التركيز 100 ملغم/مل اذ بلغت 82.69% بينما كانت الفعالية المضادة للاكسدة للمركب BHT بنفس التركيز 92.34% اذا ان تغير اللون الارجواني الى اللون الأصفر يعطي دليل على قابلية الاقتناص الجذر الحر(DPPH) وجاءت هذا النتائج متقاربة لما توصلوا اليه (29)عند دراسة قابلية المستخلص المومياين لاقتناص الجذرالحر (DPPH) اذ بلغت قابلية الاقتناص بحدود 84.16 % وقد تعزى قابلية الاقتناص العالية الى ما تحتويه المومياية من مستويات كبيرة من احماض الفولفيك المعروفة بفاعليتة المضادة للاكسدة القوية (30)



الشكل (4) الفعالية المضادة للاكسدة للمستخلص الايثانولي

4-القوة الاختزالية:

تُظهر النتائج في الشكل (5) القوة الإختزالية للمستخلص الايثانولي مقارنته مع حامض الأسكوربيك القياسي. اذ أظهرت ان القوة الاختزالية اخذت بالتزايد مع ازدياد التراكيز حيث كان اقل قوة اختزالية عند التركيز 20 ملغم \مل اذا بلغت 28.29% حتى وصلت عند تركيز 60 مغلم \مل 54.32% وبلغت اعلى قوة اختزالية عند اعلى تركيز وهي 74.45 % مقارنة مع حامض الاسكوربيك 88.32% .

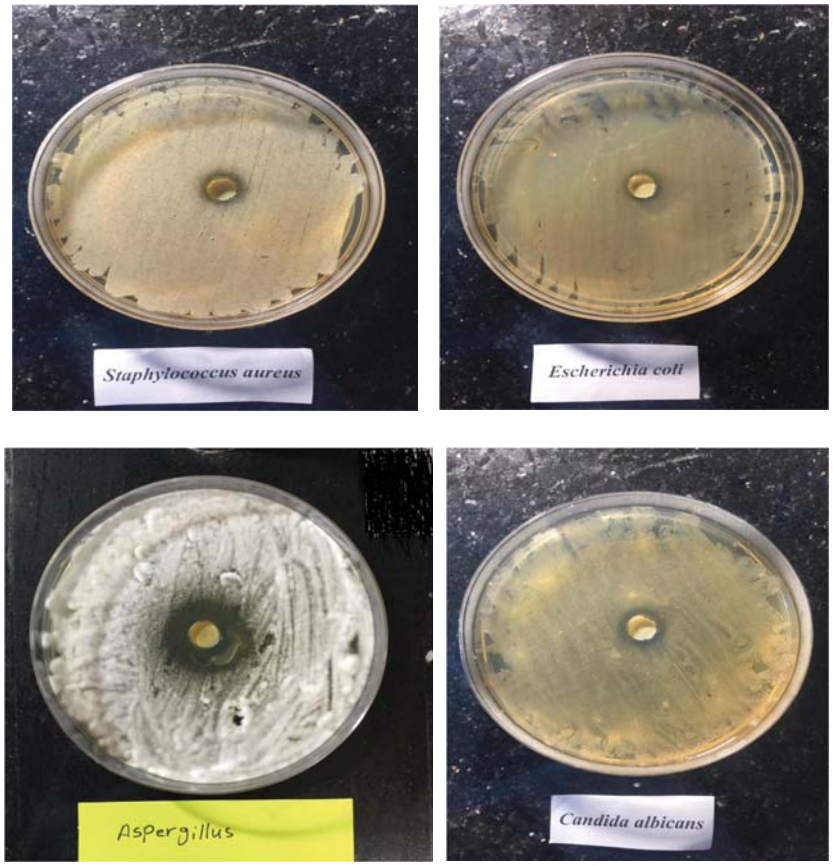
الشكل (5) القوة الاختزالية للمستخلص الايثانولي للموميان

الفعالية المايكروبية :

اظهرت نتائج الفعالية البايلوجية للعينة (الموميانه) المحضرة بطريقة الغربلة الاولية في تثبيط نمو معين من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام وهي *Staphylococcus aurous* و *Escherichia coli* وضد فطر *Aspergillus niger* , *Candida albicans* كما موضح في الجدول (4) والشكل (6)اذ كان قطر التثبيط في بكتريا *Staphylococcus aurous* بحدود (12) mm وكان لها تاثير قليل على بكتريا *Escherichia coli* اما تاثيرها على الفطريات فقد كان لها تاثير على فطر *Candida albicans* حيث اعطت تثبيط بحدود (12) mm اما على فطر *Aspergillus niger* اعطت تثبيط بحدود 25 mm وهي مقاربة لمى توصل الها الباحث (31) حيث وجد ان قطر التثبيط لبكتريا *Staphylococcus aurous* بحدود (17) mm

جدول رقم (4) قيم التثبيط لبكتريا والفطريات

Inhibition zone (mm)		Inhibition zone (mm)	
Staphylococcus aurous	*Escherichia col*	*niger Candida albicans*	*Aspergillus*
12	1	12	25



شكل رقم (6) الفعالية المايكروبية للبكتريا والفطريات

المصادر

1- Cornejo A, Jiménez JM, Caballero L, Melo F, Maccioni RB. Fulvic acid inhibits aggregation and promotes disassembly of tau fibrils associated with alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2011;27(1):143–153

2- Khanna R, Witt M, Khalid Anwer M, Agarwal SP, Koch BP. Spectroscopic characterization of fulvic acids extracted from the rock exudate *shilajit* . *Organic Geochemistry*. 2008;39(12):1719–1724

3- Kong YC, But PPH, Ng KH, et al. Chemical studies on a Nepalese Panacea—*shilajit* (I) *International Journal of Crude Drug Research*. 1987;25(3):179–182

4-N.Chopra R,C.Chopra I,L.Handa K,D.Kapoor K.In Indigenous Drugs of India Calcutta, India:U.N.Dhar &Sons; 1958

5– Anuya rege , parikshit juvekar , archana juvekar .In vitro antioxidant and anti- arthritic activities of Shilajit International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2012 -4(2)

6- Anuya Aparna Anil Rege and Abhay Sadashiv Chowdhary Evaluation of Alpha-Amylase and Alpha-Glucosidase Inhibitory Activities of *Shilajit* International Journal of Advanced Research (2014), Volume 2, Issue 2, 735-740

7- Kishor Pant, Bimala Singh, Nagendra Thakur Shilajit: A Humic Matter Panacea for Cancer.2012;4(2):17-25

8- Mittal P, Kaushik D, Gupta V, Bansal P, Khokra S. Therapeutic potencial of "Shilajit Rasayana"—A Review. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2009;1(2):47–49.

9-Igor A. Schepetkin, Gang Xie, Mark A. Jutila and Mark T. QuinnComplement-fixing Activity of Fulvic Acid from (2008)Shilajit and Other Natural Sources

10 - مجلة (دار الطب) فوائد المومیان جابر القحطاني – المومیان و10 اسنخدامات لها

11-Agarwal Sp, Khanna R, Karmarkar R, Anwer MK, Khar Rk . shilajit: a review. Phyotherapy Research . 2007; 21(2):401-405

12-Karla,y.p.Handbook of reference methods for plant analysis CRC Press.Boca Raton Boton, Newyork washing ton,D.C (1998)

13- Goldstein, Dale E. Newbury, David C. Joy, Charles E. Lyman, Patrick Echlin, Eric Lifshin, Linda Sawyer, and Joseph R. Michael (2007). Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis. 3 Edition, pag. 391-495.

14- Khasawneh, F. E.; Sample, E. C. and Kamprath, E. J.. The Role of Phosphorus in Agriculture, Print American Crop and Soil Science Society of America Inc. Madison, Wisconsin, USA(1980)

15 - شهاب، سعد خليل وحسن ، علي محمد .(1978) الكيمياء الحيوية الزراعية العملي، الطبعة الأولى

16- Shriner, C.F. The systemic Identification of Organic Compounds 8 thed. JohnWiley and Sons Inc. New York, USA. .(1980)

17-Jawad, A.A.(1997). "Ethological studies in assessing the anti-Aggressive effect of some Iraqi medical plants in Laboratory mice. A thesis in physiology, College of education, Basra University.

18-AL-Khazaraji, S.M.(1991). Bio pharmacological Study of Artemisia herb. Ms.c. Thesis, College of pharmacy, Baghdad university. Iraq.

19-Harborn, J.B. (1984). Phytochemical Methods Second edition. Chapman, Hall. NewYork. USA

20-Geissman, T.A. (1962). Chemistry of Flavonoid Compounds. Macmillon Co., New York. USA.

21- Nikhat F, Satyanarayana D, Subhramanyam EVS. 2009Isolationcharacterization and screening of antioxidant activity of the roots of Syzygiumcuminii (L) Skeel. Asian J Research Chem; 2(2): 218-221

22- Zhang, Y.; H. Fang; Q. Xie; J. Sun; R. Liu; Z. Hong; R. Yi and Wu, H.2014. Comparative evaluation of the radicalscavenging activities of fucoxanthin and its stereoisomers. Molecules, 19(2):2100-13.

23- Smânia, A.; Monache, F.D.; Smânia, E.F.A. and Cuneo, R.S. (1999). Antibacterial activity of steroidal compounds isolated from

24- R. Thangavelu, P.G. Devi, M. Gopi, M.M. Mustaffa**.** Management of Eumusae leaf spot disease of banana caused by *Mycosphaerella eumusae*with Zimmu (*Allium sativum* × *Allium cepa*) leaf extract. Crop Prot, 46 (1) (2013), pp. 100-105.

25- I. Talibi, L. Askarne, H. Boubaker, E.H.Boudyach, F. Msanda, B. Saadi, *et al.* Antifungal activity of some Moroccan plants against *Geotrichum candidum*, causal agent of postharvest citrus sour rot. Crop Prot, 35 (1) (2012), pp. 41-46

26- polly froncled . We Compare Shilajit Resin ,powder and Liquid _Da you Know the Difference

27- Saper RB, Phillips RS, Sehgal A, et al. Lead, mercury, and arsenic in US- and Indian-manufactured Ayurvedic medicines sold via the internet. *Journal of the American Medical Association*. 2008;300(8):915–92

28- Garedew, A., Feist, M., Schmolz, E., Lamprecht, I., 2004. Thermal analysis of mumiyo, the legendary folk remedy from the Himalaya region. Thermochimica Acta 417, 301–309.

29- Rege .A ; Juvekar . P ; Juvekar . A. (2012) . In Vitro Antioxidant and Anti-arthritic activities of Shilajit . International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Vol 4, Issue 2,

30- Vucskits AV,Hullar I,Bersenyi A,Andrasofszky E, Kulcsar M, Szabo J .Effect of fulvic and humic acids on performace ,immune response and thyroid function in rats. Journal of Animal physiology and Animal Nutrition . 2010;94(6):721-728

31- Aliya Hayat, FatimaSher Ali .Antimicrpbial Activity of Shilajit .2013;4(2):10-