التأثير التثبيطي للمواد الفينولية المستخلصة من اوراق السدر والسعف تجاه انزيم الفا-أميليز

حميد عودة عبد * صبري جثير عبود** هادي مهدي عبود*

*وزارة العلوم والتكنولوجيا / دائرة البحوث الزراعية
**جامعة بغداد / كلية الزراعة
بغداد-العراق

الخلاصـــة

أجريت هذه الدراسة للتحري عن مثبطات إنزيم إلفا-اميليز في المستخلصات المائية والكحولية لأوراق نبات السدر وسعف النخيل. تم تحضير المستخلصات بخلط مسحوق الاوراق الجاف مع الماء (4:1 و/ج) ومع الكحول (5:1و/ج) وتركت في حمام مائي هزاز على درجة حرارة الغرفه لمدة 24 ساعة للمستخلص المائي و72 ساعة للمستخلص الكحولي. اظهرت النتائج ان المحتوى الكلي للفينولات لاوراق السدر وسعف النخيل احتوى على (26.4 و40.0) ملغم/غم و(31.8 و25.7) ملغم/غم للمستخلص المائي والكحولي. بينت نتائج الفصل والتشخيص بتقنية HPLC للمستخلصات الفينولية احتواء هذه المستخلصات على الحوامض الفينولية (الكاليك والكافيك والفيروليك والكوماريك). اذ بلغت التراكيز (0.615 و4.913 و2.560 و0.838) مايكروغرام/ غرام على التوالي لمستخلص اوراق السدر و(0.438 و3.656 و1.592 و0.485) مايكروغرام/ غرام على التوالي لمستخلص لاوراق سعف النخيل. اوضحت نتائج الفعالية التثبيطية للمستخلصات الفينولية المائي والكحولي بالطريقة الطيفية عند استخدامها بتراكيز من (1.0 و0.8 و0.6 و0.4 و0.2) ملغم/مل تفوق المستخلص الكحولي لأوراق السدر في النسبة المئوية للتثبيط بلغت 45.32% عند التركيز 1.0 ملغم/ مل بينما سجل المستخلص الكحولي لسعف النخيل 23.75% كما سجل المستخلص المائي لأوراق السدر وسعف النخيل نسبة تثبيط بلغت (31.30 و23.00) % على التوالي بالتركيز ذاته.

الكلمات المفتاحية: إلفا-امليز والمركبات الفينوليه ونبات السدر ومستخلص النبات.

The Inhibitory Effect from Phenolic Compounds Extracts of Ziziphus Spina - christ and Phoenix Dactylifera Leaves on α-Amylase Activity

***Hameed Auda Abed **Sabri Chither Abood *Hadi Mahdi Abood**

*Ministry of Science andTechnology/ Directorate of Agricultural Research
** University of Baghdad/ College of Agriculture
Baghdad-Iraq
E_mail: hameedabeed@yahoo.com

Abstract

This study was conducted to detect the inhibitory effect of in water and alcoholic extract on α-Amylase activity. The extracts were prepared by mixing leaves powder with water (1:4 w/v) and with alcoholic (1:5 w/v), Both mixtures were placed at shaking incubater and left for 24 hr for water extract and 72 hr for alcohol extract. The result of phenolic compound analysis showed that the alcoholc extract contained (40, 26.4mg/g), while the water extract contained (31.8 and 25.7 mg/g) respectively. The results of separation and identification of the Phenolic compounds in sidr and palm leaf by using HPLC technology showed the presence of Gallic, Caffic, Ferulicand P-coumaric in concentration (0.838, 2.560, 4.931, and 0.615) µg/gm in Ziziphus spina–christ respectively and (0.485, 1.592, 0.656, and 0.438) µg/gm in Phoenix dactylifera respectively. The result of the inhibition Activity of Phenolic compounds in water and alcoholic extracts when used at different concentrations (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, and 1) mg/ml showed the superiority of alcoholic extract of Ziziphus spina–christ leaves in the percentage of inhibition which reached 45.32% were 1.0 mg/ml was used, while alcoholic extract of phoenix dactylifera leaves recorded 23.75%. The water extract of ziziphus spina – christ and phoenix dactylifera leaves recorded a percentage of inhibition about 31.30% and 23.0% respectively.

Keywords: α-Amylase, Phenolic Compounds, Sidr and Plant Extract.

المقدمــة

أنّ النباتات احدى المصادر الرئيسة في غذاء الانسان التي تمد الجسم بالعناصر الغذائية التي يحتاجها فضلا عن ذلك فان النباتات تحتوي على بعض المكونات ذات النشاط الحيوي والتي يشار اليها (Phytochemical). تم التعرف على الأهمية الطبية والعلاجية للمصادر النباتية منذ أزمان بعيدة وتزايد في السنوات الأخيرة الاهتمام باستعمال المصادر النباتية كمثبطات مايكروبية او مضادات للاكسدة أو مثبطات انزيمية (Shahid وChandrasekar 2013). تركز الاهتمام على المركبات متعددة الفينول وبشكل خاص بعد عام 1990 وذلك لأهميتها ودورها المؤثر في صحة الانسان حيث اشارت العديد من البحوث الى وجود علاقة عكسية بين الاغذية الغنية بتلك المركبات وامراض القلب والسرطان والسكري وتتباين هذه المركبات في جاهزيتها الحيوية وبالتالي تختلف في تاثيراتها الحيوية داخل جسم الانسان (Escarpa وGonzalaz 2001). أنّ المركبات الفينولية هي مركبات ايض ثانويه واسعة الانتشار في المملكة النباتية يتم بناؤها في النباتات استجابة للاصابات الحشرية أوالمايكروبية (Morton وآخرون 2000) ومن سمات هذه المركبات قدرتها على تثبيط أنزيم الاميليز الذي تفرزه الحشرات المختلفة التي تعتاش على البذور او الثمار(Figueira وآخرون 2002) وقد ثبت انه لمثبطات انزيم α–Amylase المعزولة من بعض المصادر النباتية فعاليتها في السيطرة على زيادة الوزن وعلى ارتفاع السكر في الدم وذلك لقدرتها على تثبيط اميليز اللعاب والبنكرياس المسؤولين عن هضم المركبات الكاربوهيدراتية لذا اتجهت الانظار نحو استخدام هذه المثبطات علاجا بديلا للعلاجات الكيميائية لامراض السكري والسمنة (Takahiro وTakeshi 2007). إن الاحماض الفينولية (Phenolic Acids) والفلايفونيدات تشكل النسبة الأكبر لهذه المركبات أذ تشكل المواد الفينولية أكثر من نصف المركبات متعددة الفينول المعروفه (Ozcan وآخرون 2014). ان لعدد مجاميع الهيدروكسل في الفينولات ومواقعها علاقة بقدرة هذه المركبات على تثبيط عمل ونمو كل من الاحياء المجهرية والانزيمات إذ إن زيادة عدد مجاميع الهيدروكسيل تؤدي الى زيادة قدرتها على قتل وتثبيط كل الاحياء المجهرية والإنزيمات المجهرية (Vermerris وNicholson 2006). تم تشخيص أربع مركبات فلافونيدية في اوراق السدر العراقي هي الكبموفيرول واللتيولين والكورستين والميرستين (الكوري 2000) فضلاً عن ان التأثير التثبيطي للمستخلص المائي لاوراق السدر تجاه الفطريات الى كثرة وجود المواد الفعالة في هذا النبات اهمهاالفينولات والفلافونيدات والكلايكوسيدات والصابونيات والسيترولات (Shtayeh وAbu–Ghdeib 1999). تعد مخلفات النخيل ومنها السعف ذات اهمية اقتصادية كبيرة إذ يمكن الاستفادة منها في الكثير من الصناعات التقليدية والمتطورة، ويحتوي سعف النخيل على بروتين خام 6.3% ودهن 4.47% ورماد 10.45% وسيليلوز 45.75% ولكنين 12.23% ولسعف النخيل اهمية في علاج مرض السكر والكولسترول لانه يحتوي على العديد من المركبات الفينولية التي تعمل على تثبيط انزيم الفا إميليز إذ اثبت انه يستخدم في علاج مرض السكر (Sani وآخرون 2015).

هدفت هذه الدراسة الى استعمال المستخلصات الكحولية والمائية لاوراق السدر وسعف النخيل باعتبارهما من المصادر الغنية بالمواد الفينولية واستعمالها في تثبيط انزيم الفا–اميليز الذي تنتجه الفطريات المحللة للنشا بالأغذية.

المواد وطرائق العمل

النباتات المستعملة

- **اوراق السدر**
- **سعف النخيل**

طحنت الأوراق الكاملة (Wholsleveas) بعد تجفيفها على درجة حرارة 40 م° باستخدام مطحنة كهربائية مختبرية (Mcro Plant Grining) حتى الحصول على مسحوق ناعم وبعدها نخل بمنخل قياس 0.5 mm ثم وضعت في اكياس من البولي أثيلين محكمة الغلق ووضعت تحت التجميد لحين الأستعمال.

تحضير المستخلص المائي للأوراق

اتبعت الطريقة المقترحة من قبل (Bhutkar وBhise 2012) والمتضمنة استخلاص 50 غم من مسحوق الاوراق الجاف باستعمال 200 مل من الماء المقطر وبعد المزج بواسطة محرك مغناطيسي لمدة 24 ساعة على درجة حرارة الغرفة بعدها تم الطرد المركزي للمزيج 8000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقه ثم رشح المزيج باستعمال ورق ترشيح (Whatman-No.1) فصل الراسب على ورق ترشيح واعيد استخلاصه مرة ثابتة باستعمال 200 مل من الماء المقطر، ثم عمل طرد مركزي للمزيج بسرعه 8000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة ثم رشح المزيج باستعمال ورق ترشيح وفصل الراسب واعيد استخلاصه مرة ثانية باستعمال 200 مل من الماء المقطر، ثم عمل طرد مركزي للمزيج بسرعة 8000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة بعدها رشح من خلال ورق ترشيح ثم جمع الراشح وجفف بالمبخر الدوار على حرارة 40 م° جمع الناتج ووضع في عبوات معتمه ومحكمة الغلق وحفظ بالتجميد لحين الاستعمال.

تحضير المستخلص الكحولي

اتبعت الطريقة المقترحة من قبل (Gomathi وآخرون 2012) وذلك باستخلاص 100 غم من مسحوق الاوراق باستعمال 500 مل من الكحول الاثيلي حيث وضعت في دورق حجمي سعة 1000 مل وتم الاستخلاص في حمام مائي هزاز على درجة حرارة الغرفة لمدة 72ساعة. ثم نبذ الخليط بسرعة 8000 دورة/ دقيقة، لمدة 15 دقيقه ورشح باستعمال ورق ترشيح (Whatman No.1) ثم كررت العملية باضافة 500 مل من الكحول الاثيلي لمدة 72 ساعة، ثم اجري نبذ مركزي بسرعة 8000 دورة / دقيقة ثم رشح من خلال ورق ترشيح (Whatman No.1) جمع الراشحان وتم تبخير المذيب باستعمال المبخر الدوار تحت التفريغ على حرارة 40 م° وبعد التجفيف تم جمع ووزن (لحساب كمية الحصيلة) النموذج وحفظ في عبوات محكمة الغلق ومعتمه وحفظ تحت التجميد.

تقدير تركيز المركبات الفينولية

قدر تركيز المركبات الفينولية حسب الطريقة التي اقترحها (Kamtekar وآخرون 2014) وذلك باخذ 1مل من الراشح الفينولي واضيف له 5 مل ماء مقطر و0.5 مل من كاشف (Folin-ciocalteau) تم المزج وبعد 5 دقائق اضيف له 1.5 مل من محلول 20% كاربونات الصوديوم وأكمل الحجم الى 10 مل بالماء المقطر وترك لمدة ساعتين. بعدها تم قياس الامتصاص الضوئي على طول موجي 750 نانومتر وحسب تركيز المركبات الفينولية بالاستعانه بالمنحنى القياسي لحامض الكاليك.

تحضير المنحنى القياسي لحامض الكاليك

حضر المنحنى القياسي لحامض الكاليك حسب الطريقة التي اقترحها (Kamtekar وآخرون 2014) اذ حضرت تراكيز متدرجة من محلول حامض الكاليك القياسي 20-80 مايكروغرام/مل اضيف لكل تخفيف محضر 5 مل من الماء المقطر و0.5 مل من كاشف Folin-ciocalteau ثم مزجت المكونات وبعد 5 دقائق اضيف له 1.5 مل من محلول 20% كاربونات الصوديوم وأكمل الحجم الى 10 مل بالماء المقطر ثم حضنت لمدة 2 ساعة وعلى حرارة الغرفة حتى تكون

اللون الازرق وقيست الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي على طول موجي 750 نانومتر.

تقدير الفعالية التثبيطية لانزيم α-amylase بالطريقة الطيفية

اتبعت الطريقة التي أقترحها (Jyothi وآخرون 2011) بأستعمال دارىء حامض الخليك ذو رقم هيدروجيني 6 وملح روشل (15غم ترترات صوديوم–بوتاسيوم في 100 مل ماء) ومحلول كاشف 3 و5 ثنائي نترو حامض السالسيلك (DNSA) المحضر حسب الطريقة التي أقترحها (Whitaker و Bernlod 1972) وذلك بإذابة 1غم من كاشف (DNSA) في 50 مل ماء مقطر ثم يضاف 20 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 2 مولاري لغرض الاذابة ثم اضيف 30 غم من محلول ملح روشل (ترترات الصوديوم-بوتاسيوم) وبشكل تدريجي مع الخلط المستمر لحين الإذابة وأكمل الحجم الى 100 مل بواسطة الماء المقطر مزج المحلول وحفظ في قنينة معتمة لحين الاستعمال بوجود صبغة الكوماسي الزرقاء G-250 و محلول النشا الذائب بتركيز 1%. وحسبت النسبة المئوية للتثبيط باستعمال المعادلة التالية:

النسبة المئوية للتثبيط = (فعالية الاميليز من دون مثبط – فعالية الاميليز مع المثبط)/ (فعالية الاميليز مع المثبط) x 100

تشخيص المركبات الفينولية بتقنية كروموتغرافي السائل ذو الاداء العالي HPLC

شخصت المركبات الفينولية بواسطة تقنية كروموتوغرافي – السائل عالي الاداء نوع SYKMA ذو المنشأ الالماني تبعا لطريقة (Gupta وآخرون 2012) في مختبرات سلامة الغذاء دائرة البيئة والمياه/ وزارة العلوم والتكنولوجيا. حضر النموذج باذابة المستخلص المجفف ب 50 مل من الميثانول لغرض التجانس بصورة تامة بعدها ركّز النموذج الى 10 مل في حمام مائي على درجة حرارة 50–55 م° وتم حقن 100 مايكرولتر باستخدام الحاقن الذاتي تحت ظروف الفصل التالي وكان نوع العمود C18-ODS (25 cm x 4.6 mml x 5 µm) والطور المتحرك Acetonitrile:D.W:Orthophesphoric acid (70:25:5) وكاشف الاشعة فوق البنفسجية UV بطول موجي 365 نانومتر بدرجة حرارة 25 م° ومعدل جريان 1 مل/ دقيقة.

جدول (1) المحتوى الكلي للمركبات الفينوليه في المستخلص المائي والكحولي لاوراق السدر وسعف النخيل

أوراق النبات	مستخلص مائي (ملغم/غم)	مستخلص كحولي (ملغم/غم)
السدر	31.8	40.0
السعف	25.7	26.4

النتائج والمناقشة

يبين الجدول (1) المحتوى الكلي للمركبات الفينولية في المستخلص المائي والكحولي لاوراق نباتات السدر وسعف النخيل، اظهرت النتائج ان محتوى الفينولات الكلية هو الاعلى في مستخلص اوراق السدر (المائي والكحولي) اذ بلغ (31.3 و40.0) ملغم/ غم على التوالي. فيما سجل مستخلص سعف النخيل في المستخلص المائي والكحولي بواقع (25.7 و26.4 ملغم/غم) على التوالي. ومن خلال النتائج يلحظ تفوق المستخلص المائي والكحولي لاوراق السدر على المستخلص الكحولي يعود هذا التباين في المحتوى الفينولي للمصادر المدروسة الى اختلاف ظروف الاستخلاص وقطبية المركبات الفينولية لذلك عند استخلاص المركبات الفينولية يجب ايجاد توليفة من المذيبات تتناسب مع كل مركب كما ان الفينولات قد تكون ذات قطبية او غير قطبية اعتمادا على ظروف استخلاص هذه المركبات (Al-Farsi وآخرون 2005). يوضح جدول (2) القدرة التثبيطية للمستخلصات الفينولية تجاه انزيم الفا-اميليز عند

استخدامها بتراكيز مختلفة حيث لوحظ ان قدرة التثبيط تزداد مع زيادة تركيز المستخلص المستعمل والبالغ (0.2 – 1.0 ملغم/ مل) وتراوحت نسبة التثبيط لمستخلص السدر المائي (9.514 – 31.309%) ولمستخلص السدر الكحولي بين (12.960 – 45.320%)، وكان المستخلص المائي والكحولي لنبات السدر هو الأكثر فاعلية في تثبيط انزيم الفا اميليز بالمقارنة مع مستخلصات سعف النخيل. تقاربت نتائج هذه الدراسة مع ماوجده (Stoilova وآخرون 2017) عند دراستهم للفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي 70% لنبات السدر *Ziziphus jujube* (Rhamnacea) عند تركيز 0.666 ملغم/مل اذ بلغت قوة التثبيط 39.10% على اساس الامتصاصية. ان تباين قيم الفعالية التثبيطية بين المستخلص المائي والكحولي وكذلك بين المستخلص نفسه قد يعزى الى عدد من العوامل منها نوع وطبيعة المذيب وتركيز وطبيعة المركبات الفينولية الموجودة في النبات (Buricova وآخرون 2007). ان اساس عملية التثبيط يعود الى ان جميع المركبات الفينولية لها القدرة على تكوين أواصر هيدروجينية مع الموقع الفعال للانزيم (Pereanez آخرون 2011) حيث ذكر (Lo Piparo وآخرون 2008) ان تثبيط انزيم α-Amylase يعتمد على مدى تكون الاواصر الهيدروجينية بين مجاميع الهيدروكسيل للفينولات المتعددة والجزء الحفزي في الموقع الفعال كذلك يعزى التباين في نسب التثبيط المذكورة الى اختلاف عدد ومواقع مجاميع الهيدروكسيل في المركبات الفينولية وتوزيع الاواصر المزدوجة وارتباط مجاميع الهيدروكسيل في الحلقة B في المركبات الفلافونيدية (Knjjiro وآخرون 2006).

قياس تركيز المركبات الفينولية المفصولة والمشخصة بتقنية HPLC من المستخلصات الكحولية لاوراق نبات السدر وسعف النخيل

يبين جدول (3) المستخلصات الكحوليه على المركبات الفينولية P-coumaric acid و Gallic acid وCaffeic acid وFerulic acid لاوراق السدر وسعف النخيل.

جدول (2) الفعالية التثبيطية للمستخلصات الفينولية لاوراق السدر وسعف النخيل تجاه انزيم α–Amylase المقدرة بالطريقة الطيفية

تركيز المستخلص ملغم/مل	تثبيط اوراق السدر%		تثبيط سعف النخيل%	
	مائي	كحولي	مائي	كحولي
0.2	9.514	12.96	5.75	7.84
0.4	16.613	19.907	9.584	15.70
0.6	24.600	34.722	10.223	18.62
0.8	28.43	43.631	13.099	23.753
1.0	31.309	45.320	23.003	23.753

جدول (3) تركيز المركبات الفينولية المشخصة بتقنية HPLC من المستخلصات الكحوليةلاوراق نبات السدر وسعف النخيل

المستخلصات	تركيز المركبات الفينولية (مايكروغرام/غرام)					
	Gallic acid	Caffeic Acid	Ferulic Acid	Coumaric Acid	Ferulic + Gallic	مجموع تراكيز المركبات المشخصة
اوراق السدر	0.838	2.560	4.913	0.615	5.751	8.926
سعف النخيل	0.485	1.592	3.656	0.438	4.141	6.171

اذ لوحظ تفاوتت تراكيز هذه المركبات في المستخلصات حيث بلغ تركيز حامض الكاليك لكل من مستخلصات اوراق السدر والسعف (0.838 و0.485) مايكروغرام/غم على التوالي وحامض الكافيك (2.560 و1.595) مايكروغرام/غم على التوالي وحامض الفيروليك (4.913 و3.65) مايكروغرام/غم على التوالي وحامض الكوماريك (0.615 و0.438) مايكروغرام/ غم على التوالي. تشير نتائج المثبته في جدول (3) الى ان الفعالية التثبيطية للمركبات المشخصة الى ان حامض الكاليك والفيروليك هما الاكثر تثبيطا وان تركيز هذين المركبين سوية كان الاعلى في نبات السدر يليه السعف وهذا يتطابق مع نتائج التثبيط للمستخلصات بالطريقة الطيفية والتي اشارت الى تفوق نبات السدر ثم سعف النخيل. ان طبيعة تركيب المركبات المفصولة تتباين من حيث عدد مجاميع الهيدروكسيل ومواقع تلك المجاميع قدرتها على الارتباط والتأصر الهيدروجيني مع الحوامض الامينية المكونة للموقع الفعال وبالتالي شدة تثبيطها (Piarum وآخرون 2012) كما ان اختلاف تراكيز تلك المركبات في المستخلصات المختلفة كان له الدور المؤثر على نسب التثبيط التي تم الحصول عليها (Buricova وآخرون 2007).

الاستنتاجات

سجل المستخلص الكحولي لاوراق السدر أعلى محتوى من المواد الفينولية مقارنة بسعف النخيل. اظهرت المستخلصات الكحولية لاوراق (السدر، السعف) فعالية تثبيطية اعلى من المستخلصات المائية لتلك الاوراق تجاه انزيم α-Amylas . بينت نتائج الفصل والتشخيص بأستخدام HPLC لاوراق السدر والسعف أحتواء هذه المستخلصات على مركبات الحوامض الفينولية الكاليك والكافيك الفريوليك والكوماريك بتراكيز مختلفة.

المصادر

الكوري، طلال عبد الرزاق علي (2000). استخلاص بعض المركبات الفلافونيدية من اوراق نبات السدر *Zizyphus spina-christi* واستعمالها مواد مضادة للاكسدة ومقيدة للمعادن في زيت زهرة الشمس. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة ـ جامعة بغداد.

Al-Farsi, M. C.; Alasalvar, A.; Morris, M.; Baron and Shahidi, F., (2005). Comparison and Sensory Characteristics of Three Native Fresh and Sun-dried Date (*Phoenix Dactylifera* L.) Varieties Grown in Oman. J. Agric. Food Chem., 53, 7586 – 7591.

Bhutkar, M. A. and Bhise, S. A., (2012). In Vitro Assay of Alpha Amylase Inhibitory Activity of Some Indigenous Plants. Int. J. Chem. Sci. 10(1), 457 – 462.

Buricova, L.; M. Andjelkovic, A. Cermakova; M. N. Lund; M. S. Hviid and L. H. Skibsted. (2007) The Combined Effect of Antioxidants and Modified Atmosphere Packaging on Protein and Lipid Oxidation in Beef Patties During Chill Storage Meat. Sci. 76(2), 226 – 233.

Figueire, E. L.; E. Y. Hirooka; E. Mendiola-Olaya and A. Blanco-Labra. (2002) Characterization of Hydrophobic Amylase Inhibitor from Corn (*Zea mays*) Seed with Activity Against Amylase from Fusarium Verticillioides Phytopathology. 93(8), 922– 1917.

Escarpa, A. and M. C. Gonzalaz (2001). An Overview of Analytical Chemistry of Phenolic Compound in Food. Critical Review in Analytical Chemistry 3, 57-139.

Gupta, M.; S. Sasmal; S. Majumdar and A. Mukherjee. (2012) HPLC Profiles of Standard Phenolic Compounds Present in Medicinal Plants. International Journal of Pharrmacognosy and Phytochemical Research. 4(3), 162 – 167.

Gomathi, D.; K. Manokaran and U. Chandrasekar. (2012). In Vitro α-amylase and Glucosidase Inhibitory Effects of ethanolic extract of *Evolvulus Alsinoides* (L). International Research Journal of Pharmacy. 3(03), 226-229.

Jyothi, K. S. N.; Hemalatha, P., and Challa, S. (2011). Evaluation of α-amylase Inhibitory Potential of Three Medicinally Important Traditional Wild Food Plants of India. International Journal of Green Pharmacy (IJGP), 5(2).

Kamtekar, S.; V. Keer and V. Patil. (2014). Estimation of Phenolic Content, Flavonoid Content, Antioxidant and Alpha - amylase Inhibitory Activity of Marketed Polyherbal Formation. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 4(9), 61 – 65.

Kenjiro, T.; M. Yuji; T. Kouta and M. Tomoko. (2006). Inhibition of Alpha - glucosidase and Alpha-amylase by Flavonids J. Nutr. Sci. Vitaminol. 52, 149–153.

Lo Piparo, E.; H. Scheib; N. Frei; G. Williamson and C. J. Chou. (2008). Flavonoids for Controlling Starch Digestion, Structural Requirements for Inhibiting Human α-amylase. J. of Medicinal Chemistry. 5, 3555 – 3561.

Morton, L. W.; R. A. A. Cacceta; I. B. Puddey and K. D. Croft (2000). Chemistry and Biological Effects of Dietary Phenolic Compounds: Relevance to Cardiovascular Disease. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. 27(3), 152 – 159.

Ozcan, T. A.; L. Bayizit and B. Delikanl, (2014). Phenolics in Human Health. International. J. of Chemical Engineering and Application. 5(5), 393 – 396.

Pereanez, J. A.; V. Nuez; A. C. Patin; M. Londono and J. G. Quintan. (2011). Inhibitory Effects of Plant Phenolic Compounds on Enzymatic and Cytotoxic Activities Induced by a Snake Venom Phospholipase A2. Vitae, Revisit, Delafaclted DE Quimica Pharmaceutical. 18(3), 295 – 304.

Shahidi, F.; and A. Chandrasekara (2013). Millet Grain Phenolic and Their Role in Disease Risk Reduction and Health Promotion: A review. Journal of Functional Foods. 5, 570 – 581.

Shtayeh, M. S. and S. I. Abu-Ghdeib. (1999). Antifungal Activity of Plants Extracts Against Dermatophytes. Mycoses. 24, 65 – 72.

Sani, I. H.; N. B. Abu Baker; M. A. Robin; I. Suleiman; N. I. Umar and N. Mohammad. (2015). Phoenix Dactylifera Linn as a Potential Novel Anti-oxidant in Treating Major Opioid Toxicity. J. of Applied Pharmaceutical Sci. 5(8), 167–172.

Stoilova, I; D. Trifonova; A. Marchev; V. Stanchev; G. Angelova and A. Krastanov. (2017). Phytochemical Constituents and in Vitro Anti–diabetic Properties of *Ziziphus jujuba* (Rhamnaceae) Fruits. Int. J. of Pharmacognosy and Phytochemical Research. 9(2), 150–158.

Takahiro, T., and T. Takeshi. (2007). Carbohydrase Inhibitors Derived from Chestnut and Use Thereof. United States.