



Faculty of Science

Chemistry Department

**PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL STUDIES OF
ZILLA PLANTS FROM FAMILY CRUCIFERAE**

A Thesis

Submitted by

Asmaa Fathy Abdel Aziz Muhammed Kassem

(B.Sc. Chemistry)

2003

For the Degree Of

M.Sc.

To

Chemistry Department

Faculty of Science

Ain Shams University

2011



Faculty of Science

Chemistry Department

Approval Sheet

Phytochemical and Biological Studies of *Zilla* Plants from Family Cruciferae

Name of the Candidate: Asmaa Fathy Abd Elaziz Muhammed Kassem

This thesis has been approved for submission by supervisors:

Thesis supervisors

Approved

Prof. Dr: Muhammed Y.El-Kady

Faculty of Science - Ain Shams University

Prof. Dr: Sayed A. A.El-Toumy

National Research Center

Dr. Fatma S. El-sharabasy

National Research Center

Head of Chemistry Department

Prof. Dr: Maged Shafiq Antonious



كلية العلوم

قسم الكيمياء

دراسات فيتوكيميائية و بيولوجية على نباتات الزلة من العائلة الصليبية

رسالة مقدمة من

أسماء فتحى عبدالعزيز محمد قاسم

(بكالوريوس علوم قسم كيمياء- ٢٠٠٣)

للحصول على درجة الماجستير فى العلوم

(كيمياء عضوية)

إلى

قسم الكيمياء

كلية العلوم

جامعة عين شمس

٢٠١١



كلية العلوم

قسم الكيمياء

شكر

خالص الشكر والتقدير للأساتذة الذين قاموا بالإشراف على الرسالة وهم :

أ.د. محمد يوسف القاضي

أستاذ الكيمياء العضوية كلية العلوم - جامعة عين شمس

أ.د. سيد عبد الحميد التومى

أستاذ كيمياء الفينولات النباتية و تطبيقاتها المركز القومى للبحوث

د. فاطمة سليمان الشرباصى

باحث المركز القومى للبحوث



كلية العلوم

قسم الكيمياء

اسم الطالب : أسماء فتحى عبدالعزيز محمد قاسم

الدرجة العلمية : بكالوريوس علوم

القسم التابع له : الكيمياء العضوية

الكلية : العلوم

الجامعة : عين شمس

سنة التخرج : ٢٠٠٣

سنة المنح :



كلية العلوم

قسم الكيمياء

رسالة ماجستير في العلوم في الكيمياء العضوية

اسم الطالبة : أسماء فتحي عبد العزيز محمد قاسم
عنوان الرسالة : دراسات فيتوكيميائية و بيولوجية على نباتات الزلة من العائلة
الصليبية

اسم الدرجة : ماجستير في العلوم (كيمياء عضويه)

لجنة الإشراف:

- | | |
|--------------------------------|-----------------------------|
| ١. أ.د./ محمد يوسف القاضي | كلية العلوم – جامعة عين شمس |
| ٢. أ.د./ سيد عبد الحميد التومي | المركز القومي للبحوث |
| ٣. د/ فاطمة سليمان الشرباصي | المركز القومي للبحوث |

تاريخ البحث : / / ٢٠١١

لجنة الحكم :

- | | |
|---|--|
| ١. أ.د. أشرف عبد الحميد فاروق | أستاذ الكيمياء العضوية – علوم بنها |
| ٢. أ.د. نبيل حسين السيد خميس | أستاذ بقسم المواد الدابغة و تكنولوجيا
الجلود - المركز القومي للبحوث |
| ٣. أ.د. محمد يوسف القاضي (تقرير مشترك) | أستاذ الكيمياء العضويه - علوم عين شمس |
| ٤. أ.د. سيد عبد الحميد التومي (تقرير مشترك) | أستاذ كيمياء الفينولات النباتية و تطبيقاتها
- المركز القومي للبحوث |

الدراسات العليا :

ختم الإجازة :

أجيزت الرسالة بتاريخ

/ / ٢٠١١

موافقة مجلس الجامعة

موافقة مجلس الكلية

/ / ٢٠١١

/ / ٢٠١١

Contents

Subject	Page
1. Introduction.....	1
2. Literature Survey.....	6
3. Experimental.....	25
3.1. General investigations.....	25
3.1.1. Chromatography	25
3.1.2. Physical methods	29
3.1.3. Chemical Reaction	31
3.2. Flavonoid Constituents of Zilla Spinosa (Cruciferae).....	33
3.3. Biological activity of ethanolic extract of <i>Zilla spinosa</i>.....	47
4. Results and Discussion.....	56
4.1. Extraction of the Flavonoid Constituents of <i>Zilla Spinosa</i>	56
4.2. Biological Activity	94
4.2. 1. Anti –inflammatory activity.....	94
4.2. 2. Analgesic activity	95
4.2. 3. Cytotoxicity activity.....	97
4.2. 4. Hepatoprotective activity	101
4.2. 5. Antimicrobial activity	110
English summary.....	112
References.....	116
Arabic summary.....	١

List of tables

No	Title	pages
1	Classification of phenolic compounds.....	7
2	Solvent systems used for paper Chromatography.....	26
3	Solvent systems used for Thin layer chromatography	28
4	Anti –inflammatory effect of ethanolic extract of <i>Zilla spinosa</i>	94
5	Analgesic effect of ethanolic extract of <i>Zilla spinosa</i> .	96
6	Cytotoxicity effect of <i>Zilla spinosa</i> on colon cell line HCT116.....	98
7	Cytotoxicity effect of <i>Zilla spinosa</i> on breast cell line MCF7.....	99
8	Cytotoxicity effect of <i>Zilla spinosa</i> on liver cell line (HEPG2).....	100
9	Effect of the ethanolic extract of the aerial parts of <i>Z. spinosa</i> (100 mg/ Kg) on Serum enzymes of liver (ALT, AST and γ -GT) and (ALP) in normal and carbon tetrachloride- treated rats.....	105
10	Antimicrobial effect of ethanolic extract of <i>Zilla spinosa</i>	110

List of figures

No.	Title	pages
1	Pathways biogenetically of polyphenols.....	8
2	Examples of simple phenols.....	9
3	Examples of Phenylpropanoids.....	10
4	Basic structure of flavonoid skeleton.....	10
5	Various classes of flavonoids.....	13
6	Examples of Flavones.....	13
7	Examples of Flavonols.....	14
8	Examples of Isoflavones.....	14
9	Examples of Flavanones.....	15
10	Examples of Flavanols.....	15
11	Examples of Anthocyanidins.....	16
12	Examples of Leucoanthocyanidins.....	16
13	Examples of Chalcones.....	17
14	Examples of Aurones.....	17
15	Glucosinolates isolated compounds from <i>Z. spinosa</i>	23
16	Preview of the plant.....	24
17	¹ H NMR spectrum of compound A1.....	61
18	¹³ C NMR spectrum of compound A1.....	62
19	Negative ESI-MS spectrum of compound A1.....	63

20	¹ H NMR Spectrum of Compound A2.....	67
21	¹³ C NMR Spectrum of Compound A2.....	68
22	Negative ESI-MS of compound A2.....	69
23	¹ H NMR spectrum of compound A3.....	73
24	¹³ C NMR spectrum of compound A ₃	74
25	Negative ESI-MS of compound A3.....	75
26	¹ H NMR spectrum of compound A ₄	78
27	¹³ C NMR spectrum of compound A ₄	79
28	¹ H NMR spectrum of compound A ₅	82
29	¹³ C NMR spectrum of compound A ₅	83
30	Negative ESI-MS of compound A5.....	84
31	¹ H NMR spectrum of compound A6.....	87
32	EI-MS of compound A6.....	88
33	¹ H-NMR spectrum of compound A7.....	91
34	¹³ C-NMR spectrum of compound A7.....	92
35	Negative ESI-MS of compound A7.....	93
36	Anti –inflammatory effect of ethanolic extract of <i>Zilla spinosa</i>	95
37	Analgesic effect of ethanolic extract of <i>Zilla spinosa</i>	96
38	Cytotoxicity of ethanolic extract on colon cell line (HCT116).....	98
39	Cytotoxicity of ethanolic extract on breast cell line (MCF7).....	99

40	Cytotoxicity of ethanolic extract on liver cell line (HEPG2).....	100
41	Effect of the ethanolic extract of the aerial parts of <i>Z. spinosa</i> (100 mg/ Kg) on Serum enzymes of liver (ALT and AST) and (ALP) in normal and carbon tetrachloride- treated rats.....	106
42	Normal photomicrograph of the liver section of a rat showing the architecture of the hepatic lobule, central vein (CV) , hepatocytes (H) , nuclus and blood sinusoids (S) (H&E .400).....	107
43	Photomicrograph of the liver section of a rat received extract of <i>Z. spinosa</i> (100 mg/kg), showing normal architecture of the hepatic lobules (H&E .400).....	107
44	Photomicrograph of the liver section of carbon tetrachloride-treated rats showing the distortion of architecture in hepatic cells. Congestion of portal tract (long arrow) and sever cellular infiltration around portal tract (Head arrow).....	108
45	Photomicrograph of the liver section of a rat treated with ethanolic extract of <i>Z. spinosa</i> (100 mg/kg)for fifteen days followed by administration of CCl ₄ (1.5 mg/kg) twice weekly until thirty days, showing congestion of central vein with dialated sinusoids and binucleated cells).....	108
46	Photomicrograph of the liver section of a rat treated with CCl ₄ (1.5 mg/kg) twice weekly for fifteen days followed by administered ethanolic extract of <i>Z. spinosa</i> (100 mg/kg) until thirty days,	109

	showing dialated of central vein with dialated sinusoids and binucleated cells.....	
47	Photomicrograph of the liver section of a rat treated with ethanolic extract of <i>Z. spinosa</i> (100 mg/kg) concomitant with CCl ₄ (1.5 mg/kg b.w., oral twice weekly) for thirty days, showing congestion of central vein with dialated sinusoids and binucleated cells.....	109
48	Antimicrobial effect of ethanolic extract.....	111
49	Comparison of Zone of inhibition between standard antibacterial drug and alcoholic extract of <i>Zilla spinosa</i> plant.....	111
50	Comparison of Zone of inhibition between standard antifungal drug and alcoholic extract of <i>Zilla spinosa</i> plant.....	111

List of charts

No.	Title	pages
1	Schematic diagram representing the extraction of Aerial part of <i>Zilla spinosa</i> plant.....	57

List of abbreviations

^1H NMR	: Proton Nuclear magnetic resonance
^{13}C NMR	: Carbon Nuclear magnetic resonance
ESI-MS	: Electron ionization spray mass spectrometry
EI-MS	: Electron Impact Mass Spectroscopy
FAB-MS	: Fast Atom Bombardment Mass Spectroscopy
HRESI-MS	: high resolution electron spray ionization mass spectra
TDPC	: Two dimensional paper chromatography
TLC	: Thin Layer Chromatography
PC	: Paper chromatography
PPC	: Preparative Paper chromatography
CC	: Column chromatography
CoPC	: Comparative Paper chromatography
OHAc	: Acetic acid
EtOH	: Ethanol
MeOH	: Methanol
BAW	: Butanol - Acetic acid – Water
DMSO	: Dimethyl sulphoxide
Conc.	: Concentrated
IC₅₀	: Inhibition concentration
<i>J</i> value	: Coupling constant
<i>m/z</i>	: Mass to charge ratio
MHz	: Mega hertz

R_f	: Rate of flow
UV	: Ultraviolet
PPm	: Part Per Million
δ	: Chemical shift
hr	: hour
mg/ kg	: Milligram per kilogram
μg/mL	: Microgram per milliliter
b.wt	: Body weight
O.D	: Optical density
HepG2	: Human hepatocellular liver carcinoma cell line
MCF7	: Human breast adenocarcinoma cell line
HCT116	: Human colorectal carcinoma cell line
AST	: Aspartat amino transferase
ALT	: alanine transaminase
ALP	: alkaline phosphatase
γ-GT	: Gama glutamyl transferas