

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and
Scientific Research
University of Mosul
College of Pharmacy



Synthesis of Novel Dioxathiole- Coumarin Hybrids as Bioactive Candidates

A Thesis

Submitted to the Committee of Postgraduate Studies

College of Pharmacy/ University of Mosul

**As a Partial Fulfillment of the Requirements for the Master
Degree in Pharmacy**

By

Nameer Mazin Zeki Othman

(B.Sc. Pharmacy 2016)

Supervised by

Prof. Dr. Yasser Fakri Mustafa Hussein

2024 A.D.

1446 A.H.

Summary

The concept of molecular hybridization has been employed in a wide range of chemical synthetic approaches to obtain different hybridized compounds with a wide spectrum of bioactivities. This work unveils the first synthesis of seven novel coumarins that are linearly hybridized with a pentagon-shaped heterocycle made up of three heteroatoms, one sulfur atom, and two oxygen atoms. The enlisted synthetic pathway to synthesize the targeted hybrids in this work includes three synthetic steps: (a) coupling reaction; (b) Pechmann condensation reaction; and (c) esterification reaction.

The structural frameworks of the synthesized hybrids were verified with the aid of spectroscopic analytical techniques, which comprised $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, and FTIR. The synthesized hybrids were investigated *in silico*, with the aid of online platforms, for their drug eligibility characteristics as well as their toxicity and pharmacokinetic profiles. The biomedical potentials of these hybrids were evaluated *in vitro*, which includes antiproliferative, antidiabetic, antioxidative stress, anti-inflammatory, and antimicrobial potentials. Additionally, their safety profile toward commensal bacterial strains and nontumor cell lines was also assessed *in vitro*.

The MTT-based assay was used to assess the antiproliferative potential of the synthesized hybrids utilizing six tumor cell lines, while two sugar hydrolyzing enzymes were used to examine their antidiabetic potential. The anti-inflammatory potential was tested against three inflammatory-associated enzymes, and the anti-oxidative stress potential was studied on human cell lines that had been subjected to a specific concentration of the oxidative stressor. The antibacterial potential of the synthesized hybrids was assessed using six aerobic gram-negative bacterial strains and four additional anaerobic bacterial strains.

The antifungal potential was assessed against two pathogenic fungal strains. Finally, three commensal bacterial strains and three nontumor cell lines were employed to evaluate the biosafety and cytosafety profiles of these hybrids, respectively.

Based on the gathered data, several findings were uncovered. The molecular hybridization approach successfully yields seven novel dioxathiolocoumarin hybrids, abbreviated as **Precursor O-III** and **DOT1-DOT6**. These hybrid compounds exhibit desirable toxicity and oral bioavailability characteristics, according to the computer-acquired data. The antiproliferative investigation revealed that **DOT3** was the most potent among the examined hybrids, while the antidiabetic investigations showed that **DOT1** and **DOT2** have potent inhibitory potential against glucosidase and amylase, which highlights their potential as effective antidiabetic candidates.

The antioxidative stress assessments reported that **DOT3** has superior capability to suppress the induced oxidative stress on human cell lines. The findings of the anti-inflammatory investigation showed that **Precursor O-III** exhibited significant anti-inflammatory potential via the lipoxygenase-dependent pathway. The antimicrobial investigations revealed that **DOT4** has shown robust antibacterial potential against all aerobic bacterial strains tested, showing a potency comparable to that of Ciprofloxacin. In addition, **Precursor O-III** demonstrated notable potential against the two examined pathogenic fungal strains, exceeding the antifungal potential of Nystatin. However, the potential of the synthesized hybrids toward the anaerobic bacterial strains was inferior to that of the reference drug.

The biosafety investigations toward the commensal bacterial strains report that all the synthesized hybrids, particularly **DOT4**, demonstrate a significant level of safety when tested against these nonpathogenic strains. The cytosafety investigations toward the nontumor cell lines displayed that **DOT3** has a significant safety profile toward these cell lines, which highlights its selectivity toward the cancer cell lines. Ultimately, it can be inferred that these hybrids are likely to serve as valuable frameworks for the development of novel medications with a wide range of bioactivities in the foreseeable future.



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية الصيدلة

تصنيع هجائن ثنائي الأوكساتايول-كومارين الجديدة كمرشحات نشطة حيويًا

رسالة مقدمة الى

لجنة الدراسات العليا في كلية الصيدلة – جامعة الموصل
كجزء من متطلبات الحصول على شهادة الماجستير في الصيدلة

من قبل

نمير مازن زكي عثمان

(بكالوريوس صيدلة ٢٠١٦)

باشراف

أ.د. ياسر فخري مصطفى حسين

الخلاصة

تم استخدام مبدأ التهجين الجزيئي في مجموعة واسعة من الأبحاث الكيميائية للحصول على مركبات مهجنة مختلفة ذات مدى واسع من الأنشطة الحيوية. في هذا العمل تم الكشف لأول مرة عن سبعة كومارينات جديدة التي تم تهجينها بصورة خطية مع حلقة خماسية غير متجانسة تتكون من ثلاث ذرات غير متجانسة، ذرة كبريت واحدة وذرتين أوكسجين. يتضمن المسار التصنيعي لتركيب هذه الهجائن ثلاث خطوات تركيبية: (أ) تفاعل الاقتران؛ (ب) تفاعل تكثيف بيشمان؛ و (ج) تفاعل الأسترة.

تم التحقق من التركيب الكيميائي للهجائن المصنعة بمساعدة التقنيات التحليلية الطيفية، والتي تشمل الرنين النووي المغناطيسي للبروتون والرنين النووي المغناطيسي للكربون والأشعة تحت الحمراء. تمت الدراسة النظرية والحاسوبية للهجائن المصنعة، بمساعدة منصات تنبؤية عبر الإنترنت، للتعرف على خصائص الهجائن وأهلية استخدامها كدواء بالإضافة إلى سميتها وملاحح الحرائك الدوائية لها. تم تقييم الفعاليات الطبية والحيوية لهذه الهجائن في المختبر، والتي تشمل فعاليتها كمضادة للسرطان، ومضادة لمرض السكر، ومضادة للأكسدة، ومضادة للالتهابات، وفعاليتها ضد الميكروبات. بالإضافة إلى ذلك، تم أيضاً تقييم سلامة هذه الهجائن تجاه السلالات البكتيرية المسالمة وخطوط الخلايا غير السرطانية في المختبر.

تم استخدام اختبار المستشعر المعتمد على MTT لاستكشاف فعالية الهجائن المصنعة كمضاد للسرطان باستخدام ستة خطوط من الخلايا السرطانية، في حين تم استخدام الإنزيمات الخاصة بتحليل السكريات لفحص فعالية هذه الهجائن كمضادات لمرض السكر. تم اختبار القدرة المضادة للالتهابات ضد ثلاثة إنزيمات مرتبطة بالالتهابات وكما تمت دراسة القدرة المضادة للأكسدة لهذه الهجائن على خطوط الخلايا البشرية التي تعرضت لتركيز محدد من الجهد التأكسدي. تم تقييم قدرة الهجائن المصنعة كمضادات حيوية باستخدام ستة سلالات بكتيرية هوائية سلبية الجرام وثلاث سلالات بكتيرية لاهوائية إضافية. تم تقييم القدرة المضادة للفطريات ضد اثنين من السلالات الفطرية المسببة للأمراض. أخيراً، تم استخدام ثلاث سلالات بكتيرية مسالمة وثلاثة خطوط خلايا غير سرطانية لتقييم السلامة الحيوية والسلامة الخلوية لهذه الهجينة.

بناءً على البيانات التي تم جمعها، تم الكشف عن العديد من النتائج. نجح مبدأ التهجين الجزيئي في إنتاج سبعة هجائن جديدة من الديوكسانثيولول [g] الكومارين، والمختصرة باسم **Precursor O-III** و **DOT6-DOT1** أظهرت هذه الهجائن سلمية مرغوبة وخصائص توافر بيولوجي جيدة لإستخدامها عن طريق الفم، وفقاً للبيانات النظرية المكتسبة من الكمبيوتر. كشف البحث المضاد للسرطان أن **DOT3** كان الأكثر فعالية بين الهجائن التي تم فحصها، في حين أظهرت التحقيقات المضادة لمرض السكر أن **DOT1**

وDOT2 لهما إمكانات مثبطة قوية ضد الجلوكوزيداز والأميليز، مما يسلب الضوء على إمكاناتهما كمرشحين فعالين لمرض السكر.

أفادت تقييمات دراسة الإجهاد المضاد للأكسدة أن DOT3 لديه قدرة فائقة على قمع الإجهاد التأكسدي المستحث على خطوط الخلايا البشرية. أظهرت نتائج التحقيق المضاد للالتهابات أن Precursor O-III أظهر إمكانات كبيرة مضادة للالتهابات عبر المسار المعتمد على إنزيم الليبوكسيجيناز. وكشفت التحقيقات المضادة للميكروبات أن DOT4 أظهر إمكانات قوية مضادة للجراثيم ضد جميع السلالات البكتيرية الهوائية التي تم اختبارها، وكانت الفعالية مماثلة لتلك الخاصة بالسيبروفلوكساسين. بالإضافة إلى ذلك، أظهر Precursor O-III إمكانات ملحوظة ضد السلالتين الفطريتين المرزتين اللتين تم فحصهما، وهو ما يتجاوز القدرة المضادة للفطريات للنيستاتين. ومع ذلك، فإن فعالية الهجائن المصنعة تجاه السلالات البكتيرية اللاهوائية كانت أقل شأنًا من قدرة الدواء المرجعي.

أفادت تحقيقات السلامة الحيوية تجاه السلالات البكتيرية المسالمة أن جميع الهجائن المصنعة، وخاصة DOT4، أظهرت مستوى كبيرًا من الأمان عند اختبارها ضد هذه السلالات غير المسببة للأمراض. أظهرت تحقيقات السلامة الخلوية تجاه خطوط الخلايا غير السرطانية أن DOT3 يتمتع بملف تعريف أمان كبير تجاه خطوط الخلايا هذه، مما يسلب الضوء على انتقائيته تجاه خطوط الخلايا السرطانية. في النهاية، يمكن استنتاج أن هذه الهجينة من المرجح أن تكون بمثابة أطر قيمة لتطوير أدوية جديدة مع مجموعة واسعة من الأنشطة الحيوية في المستقبل المنظور.