

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



Synthesis and Pharmacological Applications of Novel Coumarin-Thiadiazole Conjugates

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

Rana Naeem Jibroo Noman

(B.SC. Pharmacy 2016)

Supervised by

Prof. Dr. Yasser Fakri Mustafa Husein

Assist. Prof. Wejdan Nazar Suleiman Daoud

2024 A.D.

1446 A.H.

Abstract

The rich history of the various pharmacological properties of coumarins brought them under light among the heterocyclic family. In this regard, coumarin compounds and their derivatives still approve their importance in the medical field as a valuable scaffold to explore further derivatives with diverse and interesting biological activities. Furthermore, the various biological actions of thiadiazoles contributed to the idea of this novel synthesis of 1,2,5-thiadiazole-fused coumarin conjugates according to the concept of molecular hybridization.

The synthetic strategy used in this work to reach the target conjugates involved the following sequential steps: To begin with, a novel compound, benzo[*c*][1,2,5]thiadiazol-8-ol, abbreviated as **Precursor N-II**, was synthesized from 3,4-diaminophenol by applying a nucleophilic substitution-reductive reaction. Then, **Precursor N-II** was condensed with 3-oxyglutaric acid through a Pechmann condensation reaction to prepare a novel thiadiazolo[*g*]coumarin conjugate, abbreviated as **Precursor N-III**. Finally, in the presence of thionyl dichloride, **Precursor N-III** was esterified at position 4 with six various *p*-substituted phenols to obtain the target series of six novel thiadiazolo[*g*]coumarin conjugates, which were abbreviated as **TDA1-TDA6**. The chemical structures of the synthesized chemicals (**Precursor N-II**, **Precursor N-III**, and **TDA1-TDA6**) were confirmed using spectral techniques, including FTIR, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR.

The theoretical pharmacokinetic and drug-likeness properties of the synthesized chemicals were *in silico* evaluated using two online predictor programs named PreADMET and SwissADME. The results showed that the majority of the synthesized chemicals demonstrated appropriate drug-likeness and theoretical pharmacokinetics for oral administration. Therefore, they have a better chance of

reaching the market due to the decreased exclusion rate in later phases of drug development.

The ProTox-3.0 online predictor was used to evaluate the conjugates' theoretical toxicity. The obtained results revealed that the synthesized chemicals did not show notable potential to evoke the human immune system, promote cancer, or cause cell damage. On the other hand, they revealed moderate levels of liver toxicity. Also, the predicted toxicity level of the synthesized chemicals was five for **Precursor N-III** and **TDA3**, while it was four for the remaining. This fact indicates acceptable toxicity profiles, especially for **Precursor N-III** and **TDA3**.

The pharmacological activities of the synthesized conjugates were evaluated *in vitro* for their anticancer, anti-oxidative stress, anti-inflammatory, antimicrobial, and antidiabetic activities. Furthermore, the biosafety profiles toward normal cell lines as well as normal flora strains were also investigated. The anticancer activity was investigated using the MTT-dependent assay against six cancer cell lines. The obtained results revealed that the fluorinated conjugate **TDA3** had the most potent anticancer activity when compared to other synthesized conjugates. The cytosafety profiles were also evaluated using the same assay towards three normal cell lines, and the results showed that the synthesized conjugates were safer than the reference and **TDA3** had the highest safety record.

The anti-oxidative stress activity was examined using the fluorescent detection sensor method. This was applied to the human neuroblastoma cells to calculate the iROS after exposing the cells to an oxidative stressor and subsequent management with our conjugates. The obtained results revealed that **TDA3** had the strongest antioxidant activity.

The anti-inflammatory activity was evaluated by measuring the ability to inhibit three enzymes, including COX-1, COX-2, and 5-LOX. The results showed that the synthesized conjugates showed significant inhibition toward the 5-LOX enzyme, with **Precursor N-III** having the greatest inhibitory activity. The conjugates' ability to suppress porcine α -amylase and yeast α -glucosidase enzymes was used to examine their antidiabetic activity and the results revealed that the conjugates **TDA1** and **TDA2** had the highest suppressing abilities against both enzymes compared to the other synthesized conjugates.

The antimicrobial activity was examined using a broth microdilution method against three sets of pathogenic strains. First, against six aerobic gram-negative bacterial strains and the results revealed that **TDA4** had the highest antibacterial activity against the examined gram-negative strains. Second, against four anaerobic bacterial strains and the findings showed that **TDA1** had the highest anti-anaerobic activity. Third, against two fungal strains and the conjugates **Precursor N-III**, **TDA3**, and **TDA4** showed excellent antifungal activity against both examined fungal strains, exceeding the reference, with **Precursor N-III** having the greatest activity among them.

Furthermore, biosafety was also evaluated against three normal flora strains. The results showed that the synthesized conjugates demonstrated a higher safety profile towards the examined normal flora when compared to the reference, with conjugates **TDA3** and **TDA4** receiving the highest biosafety ratings. As a consequence, the wide variety of our novel conjugates' pharmacological activities may highlight the necessity of innovating new anticancer, anti-oxidative stress, anti-inflammatory, antidiabetic, antibacterial, and antifungal agents. The vast majority of the synthesized conjugates can be categorized as fortunate scaffolds for creating inventive and potent medicines with a minimum toxicity level.



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية الصيدلة

التصنيع والتطبيقات الدوائية لمقترنات ثيادايازول - كومارين الجديدة

رسالة مقدمة الى

لجنة الدراسات العليا في كلية الصيدلة - جامعة الموصل

كجزء من متطلبات الحصول على شهادة الماجستير في الصيدلة

من قبل

رنا نعيم جبر و نعمان

(بكالوريوس صيدلة ٢٠١٦)

باشراف

أ.د. ياسر فخري مصطفى حسين

أ.م.د. وجدان نزار سليمان داود

٢٠٢٤ م

١٤٤٦ هـ

الخلاصة

إن التاريخ الغني بمختلف الخصائص الدوائية لمركبات الكومارين جعلت الأضواء تتسلط عليها من بين كل عائلة المركبات الحلقية غير المتجانسة، وعماماً بعد آخر، مركبات الكومارين ومشتقاتها ما زالت تثبت أهميتها في المجال الطبي كوحدة بناء قيمة لإكتشاف مشتقات أخرى ذات فعاليات حيوية متنوعة ومهمة. علاوةً على ذلك، مختلف الفعاليات الحيوية لمركبات الثيادايازول أدت إلى فكرة التصنيع الغير المألوف سابقاً لمقترنات الكومارين المدمجة مع حلقة الثيادايازول الخماسية (١،٢،٥- ثيادايازولو[ج] كومارين) وفقاً لمفهوم التهجين الجزيئي.

إن الاستراتيجية المستخدمة في هذا البحث لتحضير المواد المطلوبة تتضمن الخطوات التالية: في البدء، تم تحضير مادة جديدة وهي من مشتقات البينزو[ج] ثيادايازول ويرمز لها بالرمز **Precursor N-II** ، من مادة ٣،٤- ثنائي امينو فينول بواسطة تفاعل الاستبدال المحب للنواة الاختزالي. بعد ذلك، تم دمج المادة المصنعة مع حامض الأستون ثنائي الكربوكسيل بواسطة تفاعل بيشمان لتحضير مشتق ١،٢،٥- ثيادايازولو[ج] كومارين ويرمز له بالرمز **Precursor N-III** ، في النهاية وبوجود مركب كلوريد الداياتيونيل ، تم إقران المركب الأخير مع ستة من مختلف مركبات الفينول المعوضة في الموقع ٤ للحصول على السلسلة المطلوبة من المركبات الجديدة **TDA1-TDA6**.

تم تشخيص التركيب الكيميائي للمواد المصنعة باستخدام التقنيات الطيفية المعروفة والتي تضمنت الأشعة تحت الحمراء والرنين النووي المغناطيسي للبروتون والرنين النووي المغناطيسي للكربون (FTIR, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR).

باستخدام متنبئ PreADMET و SwissADME ، وهي برامج لتوقع حركية الدواء داخل الجسم عن طريق الانترنت، تم تقييم صفات حركية الدواء، والصفات المشابهة للأدوية للمركبات المصنعة، وقد أظهرت غالبية المركبات تشابهاً مناسباً للأدوية وظهرت نظرياً حركية

دوائية جيدة للإعطاء عن طريق الفم. لذلك ، لديهم فرصة أفضل للوصول إلى السوق الدوائي بسبب انخفاض معدل الاستبعاد في المراحل اللاحقة من تطوير الأدوية.

أيضا، تم استخدام متنبئ ProTox-3.0 لتقييم السمية الدوائية المتوقعة للمركبات المصنعة، وكشفت النتائج التي تم الحصول عليها أن المواد المصنعة لم تظهر إمكانات ملحوظة لإثارة جهاز المناعة البشري أو تعزيز السرطان أو التسبب في تلف الخلايا. من ناحية أخرى ، كشفت جميع المواد المصنعة عن مستويات معتدلة من سمية الكبد. كما أن مستوى السمية المتوقع للمواد الكيميائية المركبة كان خمسة للسلائف **Precursor N-III** و **TDA3** ، وأربعة بالنسبة للباقي ، مما يشير إلى أن مستوى السمية كان منخفض ومقبول، خصوصا بالنسبة للسلائف **Precursor N-III** و **TDA3**. أخيرا ، جميع المواد المصنعة في هذا العمل، باستثناء **TDA1**، لم تظهر إمكانية إحداث تغيير في تسلسل الحمض النووي الذي يؤدي إلى حدوث طفرات.

تم فحص الفعاليات الدوائية للمركبات المصنعة في المختبر وخارج اجسام الكائنات الحية والتي تتضمن الفعاليات ضد السرطان، ضد الاجهاد التأكسدي، ضد الالتهابات، ضد الميكروبات المختلفة، وضد مرض السكر. كما تم ايضا فحص السلامة الخلوية ضد خلايا بشرية طبيعية، وفحص السلامة الحيوية ضد خطوط خلايا البكتريا النافعة.

تم استخدام الإختبار المعتمد على MTT لتقييم فعالية المركبات المصنعة كمضاد للسرطان باستخدام ستة خطوط من الخلايا السرطانية، وكشف التحقيقات أن **TDA3** كان الأكثر فعالية بين المركبات المصنعة التي تم فحصها ضد خطوط الخلايا السرطانية مع فعالية مقاربة للمركب المرجعي.

ايضاً تم استخدام الاختبار المعتمد على MTT على ثلاثة خطوط خلايا غير سرطانية لتقييم السلامة الخلوية لهذه المركبات، وكشفت النتائج ان المركبات المصنعة جميعاً هي أمن من

المركب المرجعي تجاه هذه الخلايا، وان المركب نفسه **TDA3** هو الامن من بين المركبات المصنعة تجاه الخلايا الطبيعية.

تم استكشاف القدرة المضادة للأكسدة لهذه المركبات على خطوط الخلايا البشرية التي باستخدام تقنية تحسس الضوء المشع بعد تعرض الخلايا لتركيز محدد من الجهد التأكسدي ومعاملتها بعد ذلك بالمواد المصنعة. أفادت تقييمات دراسة الإجهاد المضاد للأكسدة أن **TDA3** لديه قدرة فائقة على قمع الإجهاد التأكسدي المستحث على خطوط الخلايا البشرية بشكل متقارب مع المادة المرجعية، وقد فاقت قدرة المركبات الأخرى.

كما تمت دراسة اختبار القدرة المضادة للالتهابات ضد ثلاثة إنزيمات مرتبطة بالالتهابات، وقد أظهرت نتائج البحث المضاد للالتهابات أن **Precursor N-III** أظهر امكانية كبيرة مضادة للالتهابات عبر المسار المعتمد على إنزيم الليبوكسيجيناز.

ايضاً تم فحص الإنزيمات الخاصة بتحليل السكريات (الفا- امايليز و الفا- كلوكوسايديز) لفحص فعالية المركبات المصنعة كمضادات لمرض السكر. وكشفت النتائج ان المركبين **TDA1** و **TDA2** يمتلكان اعلى قدرة لتثبيط هذين الانزيمين من بين المركبات المصنعة الأخرى.

تم اختبار القدرة قدرة الهجائن المصنعة كمضادات حيوية باستخدام ستة سلالات بكتيرية هوائية سلبية الجرام وكشفت التحقيقات أن **TDA4** أظهر قدرة كبيرة مضادة للجراثيم ضد جميع السلالات البكتيرية الهوائية التي تم اختبارها، وكانت الفعالية مقاربة لتلك الخاصة بالسيبروفلوكساسين. ايضاً تم فحص اربع سلالات بكتيرية لاهوائية، واطهرت النتائج ان المركب **TDA1** أظهر قدرة اكبر من باقي المركبات تجاه هذه السلالات رغم ان هذه القدرة هي اقل من الدواء المرجعي. بالاضافة الى ذلك، تم تقييم القدرة المضادة للفطريات ضد اثنين من السلالات الفطرية المسببة للأمراض، وأظهرت المركبات **Precursor N-III** و **TDA3** و **TDA4** إمكانات ملحوظة ضد السلالتين الفطريتين المرصتين اللتين تم فحصهما، وهو ما يتجاوز القدرة المضادة للفطريات للنيستاتين. وتجاوزت قدرة **Precursor N-III** قدرة المركبات الأخرى.

اخيراً، تم استخدام ثلاث سلالات بكتيرية مسالمة لتقييم السلامة الحيوية لهذه المركبات. وأفادت تحقيقات السلامة الحيوية أن جميع الهجائن المصنعة، وخاصة **TDA4** و **TDA3**، أظهرتا مستوى كبيراً من الأمان عند اختبارها ضد هذه السلالات غير المسببة للأمراض.

نتيجة لذلك ، ان المجموعة الواسعة من الأنشطة الدوائية لمركباتنا الجديدة قد تسلط الضوء على ابتكار مركبات جديدة مضادة للسرطان ، ومضادة للأكسدة ، ومضادة للالتهابات ، ومضادة لمرض السكر ، ومضادة للبكتيريا ، وايضاً مضادة للفطريات. اخيراً، يمكن القول بأن غالبية مركباتنا هي وحدات بناء موفقة لإنشاء أدوية مبتكرة وقوية مع الحد الأدنى من مستوى السمية.