Republic of Iraq

Ministry of Higher Education and

Scientific Research

University of Mosul

College of Pharmay

Dioxane-Fused Coumarins: From Synthesis to Biomedical Applications

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

Marwa Mohammed Saleh Alshaher

(*B.Sc. Pharmacy 2011*)

Supervised by

Prof. Dr. Yasser Fakri Mustafa Hussein

2025 A.D. **1446 A.H.**

Abstract

This study introduces, for the first time, the synthesis and comprehensive biological evaluation, both *in vitro* and *in silico*, of seven newly designed coumarin derivatives featuring linear conjugation with a 1,4-dioxane moiety. The primary aim was to develop structurally accessible and chemically versatile coumarin-based scaffolds with broad-spectrum biological activities.

The synthetic route commenced with 4-chloro-3-(2-hydroxyethoxy)phenol, which was transformed into a key intermediate (**P-DFC**). Subsequent Pechmann condensation with 3-ketoglutaric acid yielded **DFC1**, a central scaffold that was then esterified with six different 4-substituted phenols to afford the final series of derivatives, **DFC2** through **DFC7**. Structural confirmation of all compounds was achieved through a suite of spectroscopic techniques, including ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, and FTIR.

The bioactivity of the synthesized compounds was evaluated through a battery of *in vitro* assays targeting antioxidative stress, glucose lowering effect, antimicrobial (both antibacterial and antifungal), anti-inflammatory, and cytotoxic properties. Antioxidant potential was tested using the SH-SY5Y human neuroblastoma cell line, while glucose lowering activity was assessed through the inhibition of α-glucosidase and α-amylase enzymes. Antibacterial assays included six aerobic Gram-negative and four anaerobic bacterial strains, while the antifungal activity was evaluated against two clinically relevant fungal pathogens. Anti-inflammatory effects were investigated via COX-1 and COX-2 inhibition, while cytotoxic activity was tested using the MTT assay across six human

cancer cell lines. The biosafety profile was further examined using three non-tumorigenic human cell lines and three commensal bacterial strains.

Among the synthesized molecules, **DFC4** exhibited the most pronounced antioxidant activity (iROS = 188.65), whereas **DFC2** showed notable inhibition of α-glucosidase (IC_{50} = 364.73 μg/mL) and α-amylase (IC_{50} = 287.45 μg/mL), indicating strong glucose lowering potential. **DFC5** displayed potent antibacterial activity with MIC values ranging from 1.23 to 2.60 μg/mL, comparable to ciprofloxacin, across all tested aerobic bacteria. **DFC1** outperformed nystatin in antifungal testing (MFC = 0.95–1.32 μg/mL) and demonstrated dual inhibition of inflammatory enzymes (COX-1 IC_{50} = 97.49 μg/mL; COX-2 IC_{50} = 74.52 μg/mL), suggesting a cyclooxygenase-mediated anti-inflammatory mechanism.

In cancer cell line assays, **DFC4** again emerged as a promising candidate, showing IC_{50} values between 12.57 μg/mL (MCF-7) and 34.99 μg/mL (KYSE-30), while retaining high biosafety in normal cell lines (IC_{50} = 205.20–231.25 μg/mL). Additionally, **DFC5** maintained favorable safety margins against commensal strains, with MICs ranging from 28.00 to 43.00 μg/mL for *Escherichia coli* strains BAA-1427 and MG1655, respectively.

Complementary *in silico* analyses supported the *in vitro* results, providing insight into the toxicity profiles and pharmacokinetic parameters of the synthesized molecules. Overall, these findings highlight the therapeutic potential of these fused coumarin–dioxane derivatives as multifunctional agents with promise for further development in drug discovery pipelines.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية الصيدلة

الكومارينات المندمجة بالدايوكسان: من التصنيع الى التطبيقات الطبية الحيوية

رسالة مقدمة الى

لجنة الدراسات العليا في كلية الصيدلة – جامعة الموصل

كجزء من متطلبات الحصول على شهادة الماجستير في الصيدلة

من قبل

مروة محمد صالح الشاهر

(بكالوريوس صيدلة 2011)

باشراف

أ.د. ياسر فخري مصطفى

1446هـ **2025 م**

الملخص

تقدم هذه الدراسة، ولاول مرة، تخليقا وتقييما بايولوجيا شاملا في المختبر وفي الحوسبة لسبعة مشتقات جديدة من مركب الكومارين تتميز بالاقتران الخطي مع وحدة 1,4- دايوكسان. وكان الهدف الاساسي هو تطوير هياكل قائمة على الكومارين تكون سهلة التخليق كيميائيا ومتعددة الاستخدامات، وتمتلك انشطة بيولوجية واسعة الطيف.

بدا المسار التخليقي من مركب 4-كلورو-3-(2-هيدروكسي ايثوكسي) فينول، والذي تم تحويله الى وسيط رئيسي (**P-DFC**). انتج تكثيف بيكمان اللاحق مع حمض -3- كيتوغلوتاريك **DFC1**، وهو سقالة مركزية تم استرتها بعد ذلك بستة فينولات مختلفة مستبدلة في الموقع بارا لتوفير السلسلة النهائية من المشتقات، من **DFC2** الى **DFC7.** تم التأكيد الهيكلي لجميع المركبات من خلال مجموعة من التقنيات الطيفية، بما في ذلك FTIR، ^{13}C-NMR و ^{1}H-NMR.

تم تقييم النشاط الحيوي للمركبات المصنعة من خلال مجموعة من الاختبارات المعملية التي تستهدف خصائص الاجهاد التاكسدي ، ومضادات ارتفاع الكلوكوز، ومضادات الميكروبات (مضادات البكتريا والفطريات)، ومضادات الالتهاب، ومضادات السرطان. تم اختبار إمكانات مضادات الاكسدة باستخدام سلالة خلايا الورم العصبي البشري SH-SY5Y ، بينما تم تقييم النشاط المضاد لمرض السكري من خلال تثبيط انزيمي الفا-جلوكوزيداز واميليز. شملت الاختبارات المضادة للبكتريا ست سلالات بكتيرية هوائية سلبية الغرام واربع سلالات بكتيرية لا هوائية ، بينما تم تقييم النشاط المضاد للفطريات ضد اثنين من مسببات الامراض الفطرية ذات الصلة السريرية. تم التحقيق في التاثيرات المضادة للالتهابات من خلال تثبيط COX-1 و COX-2 ، بينما تم اختبار النشاط المضاد للسرطان باستخدام اختبار MTT عبر ستة سلالات من خلايا السرطان البشرية. تم فحص ملف تعريف السلامة الحيوية بشكل اكبر باستخدام ثلاثة خطوط خلوية بشرية غير مسببة للاورام وثلاث سلالات بكتيرية متعايشة.

من بين الجزيئات المصنعة ، اظهر **DFC4** النشاط المضاد للاكسدة الأكثر وضوحا (iROS = 188.65)، بينما اظهر **DFC2** تثبيطا ملحوظا لانزيم الفا-جلوكوزيداز (IC_{50} = 364.73) مايكروغرام / مل و انزيم الفا-اميليز = (IC_{50} 287.45) مايكروغرام \ مل ، مما يشير الى إمكانات قوية مضادة لمرض السكري. اظهر **DFC5** نشاطا مضادا للبكتريا قويا مع قيم MIC تتراوح من 1.23 الى 2.60 مايكروغرام \ مل، وهي مماثلة للسيبروفلوكساسين ، عبر جميع البكتريا الهوائية التي تم اختبارها تفوق **DFC1** على النيستاتين في اختبار مضادات الفطريات (MFC=0.95-1.32) مايكروغرام \ مل واظهر تثبيطا مزدوجا للانزيمات الالتهابية (COX-1 IC_{50} = 97.49), (COX-2 IC_{50} = 74.52) مايكروغرام \ مل مما يشير الى الية مضادة للالتهابات بواسطة انزيمات الاكسدة الحلقية.

في اختبارات سلالات الخلايا السرطانية، ظهر **DFC4** مرة أخرى كمرشح واعد، حيث اظهر قيم IC_{50} بين 12.57 مايكروغرام / مل (MCF-7) و 34.99 مايكروغرام / مل (KYSE-30)، مع الحفاظ على مستوى عال من السلامة البيولوجية في سلالات الخلايا الطبيعية (IC_{50} 205.2 - 231.25) مايكروغرام / مل. بالإضافة الى ذلك، حافظ **DFC5** على هوامش امان مواتية ضد السلالات المتعايشة، حيث تراوحت MICs من 28 الى 43 مايكروغرام / مل لسلالات الاشريكية القولونية BAA-1427 وMG1655 ، على التوالي.

دعمت التحليلات الحاسوبية التكميلية النتائج المختبرية ، مما وفر نظرة ثاقبة على ملفات السمية و معايير الحركية الدوائية للجزيئات المصنعة. وبشكل عام ، تسلط هذه النتائج الضوء على الإمكانات العلاجية لمشتقات الكومارين-ديوكسان المندمجة هذه كعوامل متعددة الوظائف ، مع وعد بمزيد من التطوير في خطوط انابيب اكتشاف الادوية.