

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



Coumarins from green bell pepper seeds: Isolation and insight into their oxidative stress-mediated disorder alleviation

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

Areej Hazem Youns Yousef

(B.SC. Pharmacy 2013)

Supervised by

Prof. Dr. Yasser Fakri Mustafa Hussein

2024 A.D.

1446 A.H.

Abstract

Natural coumarin (NA-CO) isolated for the first time from Tonka beans belonging to the *Fabaceae family*, after that more than one thousand NA-COs have been identified as secondary metabolic products from plants, fungi, and bacteria. NA-COs are heterocyclic molecules with a variety of therapeutic properties based on their substitution patterns. Therefore, it is necessary to develop effective extraction method to extract NA-COs in order to use in the treatment of many diseases.

In an attempt to develop a potent, eco-friendly, and selective technique for isolating NA-COs, this study introduced a novel extraction technique called kinetic thermomagnetic. It required the application of four distinct variables: rotation speed (50, 75, and 100 rpm), magnetic field (0.8, 1.2, and 1.6 T), time interval (30, 60, and 90 min), and temperature (45, 55, and 65°C). Numerous phytochemical categories were detected in the 81 crude chloroform extracts of green sweet bell pepper seeds that were collected, according to phytochemical analysis. Nine extracts were discovered to be linked to the coumarin chemical class and to have the same two extraction parameters: a 90-minute extraction duration and a 55°C extraction temperature. To enable their coumarin contents to be chemically separated and chromatographically purified, two of these extracts containing coumarin were chosen. Four new natural coumarins have been identified and their molecular structures, as shown below, distinguished using FTIR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, and mass analysis. By using MTT probing, it was discovered that the isolated NA-COs exhibited antitumor activities against eight malignant populations and reduced oxidative stress in human neuroblastoma cell populations. Similarly, the anti-inflammatory and antidiabetic properties were determined using three and two associated enzymes, respectively. The results

demonstrated that the isolated NA-COs have exceptional oxidative stress-mitigating characteristics, ranging from 71.51 to 81.48%, when compared to a positive control. Furthermore, they showed excellent cytotoxicity against the test malignant populations (IC₅₀ values of 46.76–81.45 µg/ml). The isolated NA-COs need to be taken into account as dual COX-2/5-LOX antagonists because they also showed a fascinating selective anti-inflammatory effect. The coumarins under investigation have selectivity indices that are higher than those of the standards used, suggesting that they may have the ability to selectively block the COX2 enzyme that induces harmful inflammation. Compared to the standards, the isolated NA-COs have a higher ability to block the catalytic activity of 5-LOX. This observation suggests that the isolated NA-COs are powerful 5-LOX inhibiting agents. Finally, they had a modest antidiabetic impact when tested against two blood-controlling enzymes. The authors came to the conclusion that the technique adopted is flexible and successful for extraction after modifying its components. Moreover, isolated NA-COs in general and **B4** in particular provide naturally derived solutions for oxidative stress and its associated diseases.



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية الصيدلة

الكومارين من بذور الفلفل الأخضر: العزلة والتبصر في تخفيف الاضطراب

التأكسدي بواسطة الإجهاد

أطروحة

مقدم إلى لجنة الدراسات العليا

كلية الصيدلة / جامعة الموصل

كاستيفاء جزئي لمتطلبات شهادة الماجستير في الصيدلة

من قبل

أريج حازم يونس يوسف

(بكلوريوس صيدلة ٢٠١٣)

تحت إشراف

أ.د. ياسر فخري مصطفى حسين

الخلاصة

في محاولة لتطوير تقنية قوية وصديقة للبيئة وانتقائية لعزل الكومارين الطبيعي ، قدمت هذه الدراسة تقنية استخراج جديدة تسمى المغناطيسية الحرارية الحركية. تطلب الأمر تطبيق أربعة متغيرات متميزة: سرعة الدوران (٥٠ و ٧٥ و ١٠٠ دورة في الدقيقة) ، والمجال المغناطيسي (٠,٨ ، ١,٢ ، ١,٦ و ٢ تسلا) ، والفاصل الزمني (٣٠ و ٦٠ و ٩٠ دقيقة) ، ودرجة الحرارة (٤٥ و ٥٥ و ٦٥ درجة مئوية). تم الكشف عن العديد من الفئات الكيميائية النباتية في ٨١ مركب من مستخلصات الكلوروفورم الخام من بذور الفلفل الحلو الأخضر التي تم جمعها ، وفقا للتحليل الكيميائي النباتي. تم اكتشاف تسعة من المستخلصات مرتبطة بفئة الكومارين الكيميائية ولها نفس معلمتي الاستخراج: مدة استخراج ٩٠ دقيقة ودرجة حرارة استخراج ٥٥ درجة مئوية. لتمكين فصل محتويات الكومارين كيميائيا وتنقيتها كروماتوغرافيا ، تم اختيار اثنين من هذه المستخلصات التي تحتوي على الكومارين. تم تحديد أربعة كومارينات طبيعية جديد وتمييز هياكلها الجزيئية باستخدام الأشعة تحت الحمراء والرنين النووي المغناطيسي للبروتون والرنين النووي المغناطيسي للكربون وتحليل الكتلة. باستخدام مسبار MTT ، تم اكتشاف أن الكومارين الطبيعي المعزول أظهر أنشطة مضادة للسرطان ضد ثمانية مجموعات خبيثة وقلل من الإجهاد التأكسدي لدى مجموعات خلايا النيوروبلاستوما البشرية. وبالمثل ، تم تحديد الخصائص المضادة للالتهابات والمضادة لمرض السكر باستخدام ثلاثة واثنين من الإنزيمات المرتبطة ، على التوالي. أظهرت النتائج ان الكومارينات الطبيعية المعزولة لها خصائص استثنائية لتخفيف الإجهاد التأكسدي ، تتراوح من ٧١,٥١ إلى ٨١,٤٨٪ ، عند مقارنتها بالتحكم الإيجابي. علاوة على ذلك ، أظهروا سمية خلوية ممتازة ضد المجموعات الخبيثة التجريبية (قيم التركيز النصف المثبط من ٤٦,٧٦-٨١,٤٥ ميكروغرام / مل). يجب أن تؤخذ الكومارينات الطبيعية المعزولة كمضادات مزدوجة للسايكلووكسجيناز-٢ / ٥-لايبووكسجيناز لأنها أظهرت أيضا تأثيرا انتقائيا رائعا مضادا للالتهابات. الكومارينات قيد التحقيق لها مؤشرات انتقائية أعلى من تلك الموجودة في المعايير المستخدمة ، مما يشير إلى أنها قد تكون لديها القدرة على منع إنزيم السايكلووكسجيناز-٢ الذي يسبب التهابا ضارا بشكل انتقائي. بالمقارنة مع المعايير ، تتمتع الكومارينات الطبيعية المعزولة بقدرة أعلى على منع النشاط التحفيزي ل ٥-لايبووكسجيناز. تشير هذه الملاحظة إلى أن الكومارينات المعزولة هي عوامل ٥-لايبووكسجيناز قوية. أخيرا ، كان لها تأثير متواضع مضاد لمرض السكر عند اختبارها ضد اثنين من إنزيمات التحكم في الدم. توصل المؤلفون إلى استنتاج مفاده أن التقنية المعتمدة مرنة وناجحة للاستخراج بعد تعديل مكوناتها. علاوة على ذلك ، توفر الكومارينات الطبيعية المعزولة بشكل عام و B٤ بشكل خاص حولا مشتقة بشكل طبيعي للإجهاد التأكسدي والأمراض المرتبطة به.