

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



# **Synthesis and Bioactivity of New 4- Functionalized Benzocoumarins**

**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

**Sara Firas Jasim**

*(B.SC. Pharmacy 2016)*

**Supervised by**

**Prof. Dr. Yasser Fakri Mustafa**

**2022 A.D.**

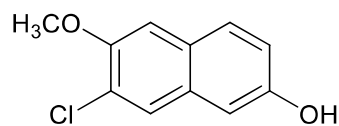
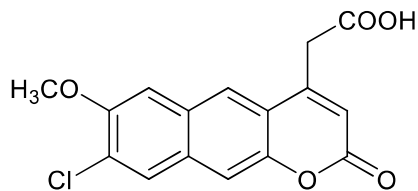
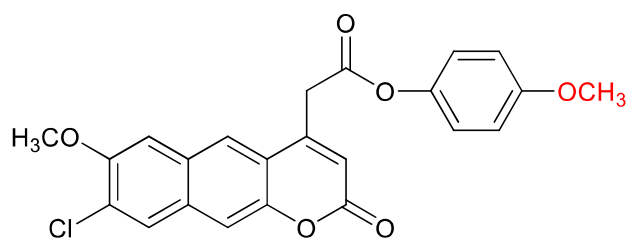
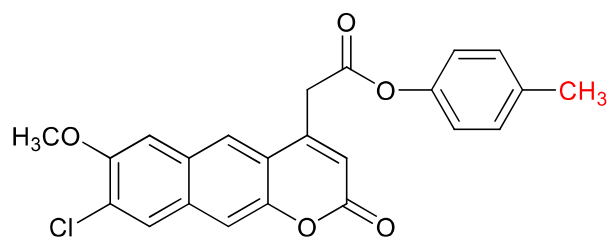
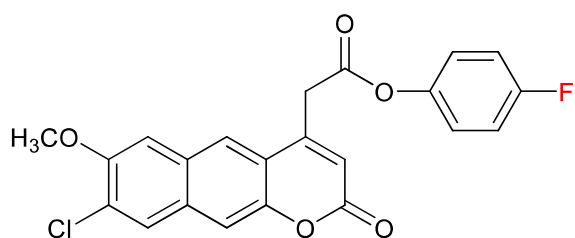
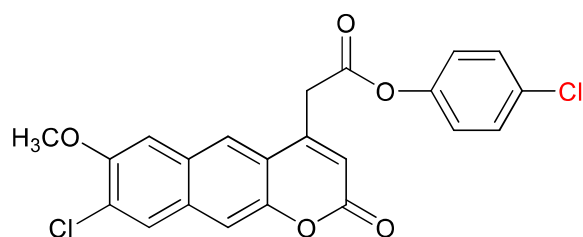
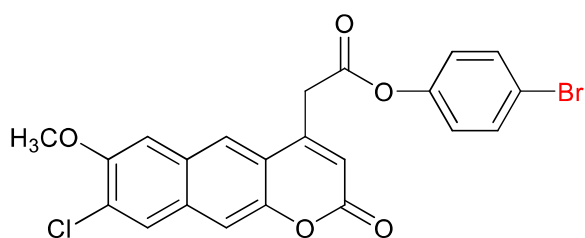
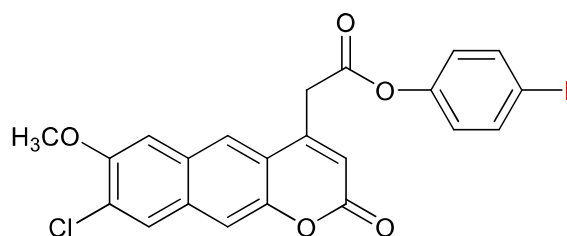
**1444 A.H.**

## Abstract

In scientific papers, there is a mass of compounds that have been synthesized using different reactions and methodologies. However, the relevance of the majority of these compounds in human existence remains below the advanced concepts. To address this challenge, a novel naphthalene-based compound was used to synthesize a novel series of tri-functionalized benzo[g]coumarin derivatives, and their diverse biological activities were explored. This research has nearly completed the pharmacological profiles of these benzo[g]coumarins, clarifying their therapeutic actions and guiding future attempts to optimize them.

The synthetic strategy used in this research to reach the target involved the following sequential steps: In the beginning, a novel naphthalene-based compound, 7-chloro-6-methoxynaphthalen-2-ol, abbreviated as **SF0**, was synthesized from 6-amino-7-chloronaphthalen-2-ol by applying an aromatic nucleophilic substitution reaction. After that, **SF0** was condensed with acetone dicarboxylic acid via two entries based on the Pechmann reaction to prepare a novel tri-functionalized benzo[g]coumarin derivative, abbreviated as **SF1**. Finally, in the presence of thionyl chloride, the latter derivative was coupled with different *para*-substituted phenolic-based derivatives to afford the target series of six novel benzo[g]coumarin-based 4-esterified derivatives, abbreviated as **SF2-SF7**.

The chemical structures of the prepared naphthalene-based compound **SF0** and benzo[g]coumarin derivatives **SF1-SF7**, as shown below, were elucidated by using well-known spectral techniques, which included FTIR, <sup>1</sup>H-NMR, and <sup>13</sup>C-NMR.

**SF0****SF1****SF2****SF3****SF4****SF5****SF6****SF7**

Using the PreADMET predictor, a 100%-free online server, the pharmacokinetics and drug-likeness properties of the prepared benzo[*g*]coumarin derivatives **SF1-SF7** were calculated *in silico* and compared to those of the precursor naphthalene-based compound **SF0**.

The biological activities of the prepared benzo[g]coumarin derivatives **SF1-SF7** were evaluated *in vitro* and compared to those of the precursor naphthalene-based compound **SF0**. These activities included cytotoxic, antioxidative, antidiabetic, and antimicrobial properties.

The preliminary anticancer activity was screened utilizing an MTT-dependent sensor assay against six cancer-derived cell lines. The latter involved SK-OV-3, HeLa, KYSE-30, AMN3, SKG, and MCF-7 cells. The cytosafety was also assessed by employing the same assay on a normal-cell line, RWPE-1.

The ability to trap DPPH and hydroxyl free radicals of the prepared compounds was used to assess antioxidative activity, while their ability to suppress yeast  $\alpha$ -glucosidase and porcine  $\alpha$ -amylase enzymes was used to assess anti-diabetic activity.

The antimicrobial activities were evaluated by a broth microdilution assay against pathogenic microbes. They were six aerobic gram-negative bacteria named *K. pneumonia*, *H. influenzae*, *E. coli*, *S. typhi*, *S. dysenteriae*, and *P. aeruginosa*, as well as four anaerobic bacteria named *B. fragilis*, *C. perfringens*, *F. necrophorum*, and *P. melaninogenica*, and two fungi named *C. albicans* and *A. niger*. The harmless influence towards normal flora was checked using a broth microdilution assay on a non-pathogenic bacterium model named *E. coli* (BAA-1427).

The outcomes of the *in silico* study revealed that most of the prepared compounds had suitable theoretical pharmacokinetics and drug-likeness properties as orally administered applicants. Therefore, they have an opportunity to reach the market due to low attrition rates throughout drug development and clinical trials.

The results obtained from screening the anticancer activity revealed that the fluorinated derivative **SF4** had the most potent and broad anticancer activity when compared to other prepared compounds, with  $IC_{50}$  values close to standard, particularly against MCF-7 and HeLa cell lines. In terms of cytosafety, the synthesized compounds were identified to be safer than the standard. Among them, the fluorinated derivative **SF4** had the highest safety record.

The antioxidative activity scan revealed that the precursor naphthalene-based compound **SF0** had the strongest uptake effect on DPPH and hydroxyl free radicals, particularly in comparison to the prepared benzo[g]coumarins, with an efficacy roughly equivalent to the standard.

The results of detecting antidiabetic activity revealed that the benzo[g]coumarin derivative **SF2** had the highest suppressing effect versus yeast  $\alpha$ -glucosidase and porcine  $\alpha$ -amylase enzymes compared to the other synthesized compounds, with a potency related to the standard.

The outcomes collected from evaluating the antimicrobial activities revealed several interesting points. Firstly, the chlorinated-derivative **SF5** had the highest antibacterial activity among other prepared compounds towards all the tested pathogenic aerobic gram-negative bacterial strains. Secondly, the synthesized compounds showed a higher harmless influence level for the tested non-pathogenic aerobic gram-negative bacterium model when compared to the standard. The benzo[g]coumarin derivatives **SF1** and **SF5** received the highest harmless influence rating. Thirdly, the benzo[g]coumarin derivative **SF2** had the highest antibacterial activity among other prepared compounds towards all the tested pathogenic anaerobic bacterial strains. Finally, around half of the prepared compounds had excellent antifungal activity towards both tested pathogenic fungal

strains, outperforming the standard, with the benzo[g]coumarin derivative **SF1** being the best among them.

Consequently, the pluralism of the biological activities of our novel compounds may put a spotlight on exploring new anticancer, antioxidative, antidiabetic, antibacterial, and antifungal agents. The majority of our compounds can be classified as fortunate frameworks for designing and developing innovative, effective medicines with low toxicity.



جمهورية العراق  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
جامعة الموصل  
كلية الصيدلة

# التحضير والنشاط الحيوي لبينزوكومارينات جديدة معوضة في الموقع ٤

رسالة مقدمة الى

لجنة الدراسات العليا في كلية الصيدلة – جامعة الموصل

كجزء من متطلبات الحصول على شهادة الماجستير في الصيدلة

من قبل

سارة فراس جاسم

(بكالوريوس صيدلة ٢٠١٦)

باشرف

أ.د. ياسر فخري مصطفى

٢٠٢٢ م

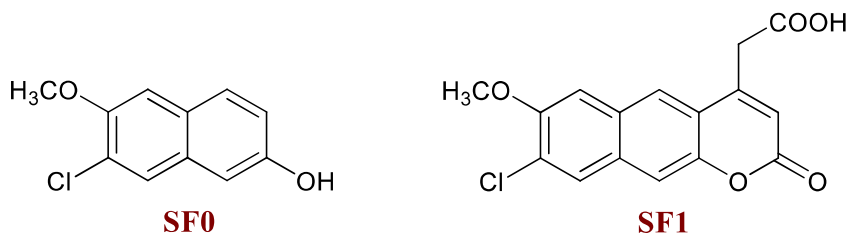
١٤٤٤ هـ

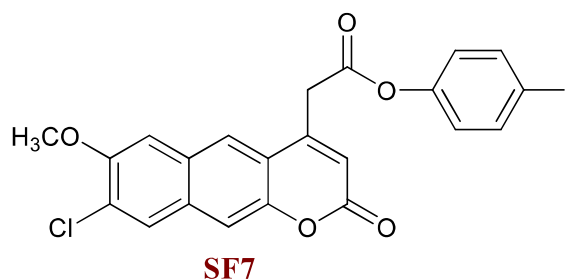
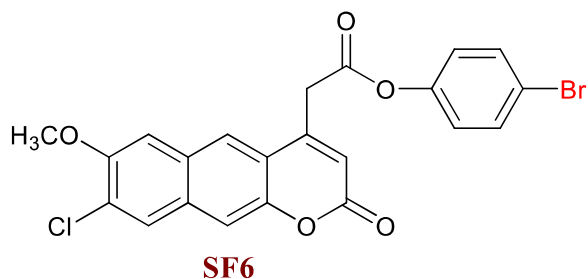
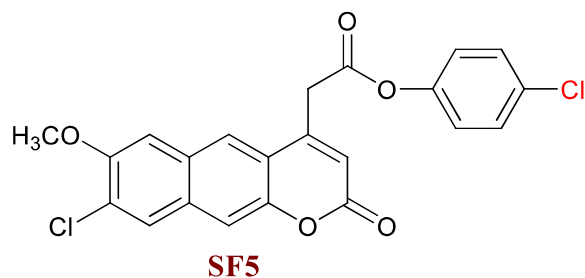
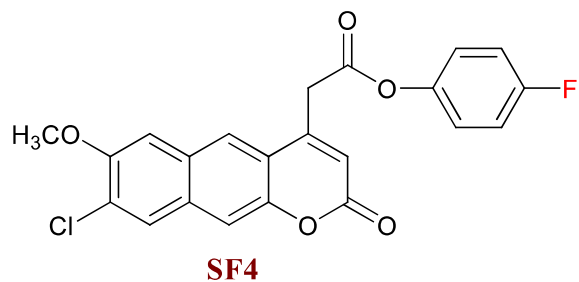
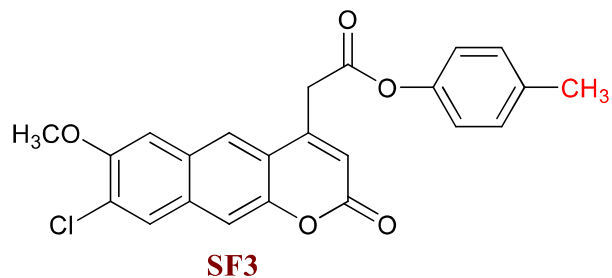
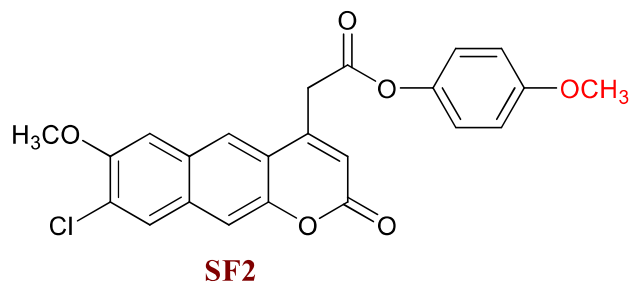
## الخلاصة

في الأوراق العلمية، هناك مجموعة ضخمة من المركبات التي تم تحضيرها باستخدام تفاعلات ومنهجيات مختلفة. ومع ذلك، فإن أهمية غالبية هذه المركبات في الوجود البشري لا تزال أقل من المفاهيم المتقدمة. لمواجهة هذا التحدي، تم استخدام مركب جديد قائم على النفتالين لتخليق سلسلة جديدة من مشتقات بينزويج[ج] الكومارين ثلاثية التعويض، وتم استكشاف أنشطتها البيولوجية المتنوعة. أنهى هذا البحث تقريباً الملفات الدوائية لهذه البنزويج[ج] الكومارينات، موضحاً فعاليتها العلاجية وتوجيه المحاولات المستقبلية لتحسينها.

تضمنت الإستراتيجية التركيبية المستخدمة في هذا البحث للوصول إلى الهدف الخطوات المتسلسلة التالية: في البداية، تم تحضير مركب جديد قائم على النفتالين، ٧-كلورو-٦-ميثوكسي نافتالين-٢-أول، والمختصر كـ **SF0**، من ٦-امينو-٧-كلورو نافتالين-٢-أول عن طريق تطبيق تفاعل الأستبدال المحب للنواة العطري. بعد ذلك، تم تكثيف **SF0** مع حامض الأسيتون ثنائي الكربوكسيل عبر مسارين يعتمدان على تفاعل بيجمان لإعداد مشتق بينزويج[ج] الكومارين الجديد ثلاثي التعويض، والمختصر كـ **SF1**. أخيراً، في وجود كلوريد الثيونيل، تم إقران المشتق الأخير بمشتقات مختلفة قائمة على الفينول المعوض في الموقع ٤ لتوفير السلسلة المستهدفة المكونة من ستة مشتقات قائمة على البنزويج[ج] كومارين المعوضة بأستر في الموقع (٤)، والمختصرة كـ **SF2-SF7**.

تم توضيح الهياكل الكيميائية لمركب **SF0** القائم على النفتالين ومشتقات بينزويج[ج] الكومارين **SF1-SF7**، كما هو موضح أدناه، باستخدام تقنيات طيفية معروفة جيداً، والتي تضمنت الأشعة تحت الحمراء والرنين النووي المغناطيسي للبروتون والرنين النووي المغناطيسي للكربون.





بأستخدام متنبئ PreADMET، وهو خادم مجاني 100٪ عبر الإنترنت، تم حساب الحرائك الدوائية وخصائص تشابه الدواء لمشتقات بينزول[ج] الكومارين SF1-SF7 المحضرة عن طريق المحاكاة بالحاسوب، ومقارنتها بتلك الخاصة بالمركب الأصل SF0 القائم على النفتالين.

تم تقييم الأنشطة البيولوجية في المختبر لمشتقات بينزول[ج] الكومارين SF1-SF7 المحضرة ومقارنتها مع تلك الموجودة في المركب الأصل SF0 القائم على النفتالين. تضمنت هذه الأنشطة الخصائص السامة للخلايا والمضادة للأوكسدة والمضادة للسُّكَّرِي والمضادة للميكروبات.

تم فحص النشاط الأولي المضاد للسرطان باستخدام الأختبار المستشعر المعتمد على MTT ضد ستة خطوط خلوية مشتقة من السرطان. تضمن الأخير السرطان الغدي في المبيض القوقازي، سرطان عنق الرحم الظهاري، سرطان الخلايا الحشوية المريئي الآسيوي البشري، سرطان الغدة الثديية في الفئران، سرطان الخلايا الحشوية العنقي المرتبط بفيروس الورم الحليمي البشري، و سرطان الثدي القوقازي. أيضاً، تم تقييم السلامة الخلوية من خلال استخدام نفس الأختبار على خط الخلية الطبيعي المسمى خلايا البروستاتا الظهارية البشرية الطبيعية.

تم استخدام قدرة المركبات المحضرة على احتجاز الجذور الحرة ل ٢،٢-ثنائي فينيل-١-بيكريل هيدرازيل والهيدروكسيل لتقييم النشاط المضاد للأوكسدة، بينما تم استخدام قدرتهم على قمع انزيمات الخميرة ألفا جلوكوزيداز وانزيمات الخنازير ألفا أميليز لتقييم النشاط المضاد لمرض السكرى.

تم تقييم الأنشطة المضادة للميكروبات عن طريق اختبار تخفيف المرق ضد الميكروبات المسببة للأمراض. تضمنت هذه الميكروبات ستة بكتيريا هوائية سالبة الجرام تسمى الكلبسيلا الرئوية، المستدمية النزلية، الإشريكية القولونية، السلمونيلا التيفية، الشيغيلة الزحارية، والزائفة الزنجارية، بالإضافة إلى أربع بكتيريا لاهوائية تسمى العصوانية الهشة، المطثية الحاطمة، المغزلية المنخرة، والبريفوتيل الميلاينية، واثنين من الفطريات تدعى المبيضات البيضاء و الرشاشية السوداء. تم فحص التأثير غير الضار تجاه النبات الطبيعي باستخدام اختبار تخفيف المرق على نموذج بكتيريا غير مسببة للأمراض تسمى الإشريكية القولونية (BAA-1427).

أظهرت نتائج دراسة المحاكاة بالحاسوب أن معظم المركبات المحضرة لها حركات دوائية نظرية وخصائص تشابه الدواء مناسبة تجعلها تعطى عن طريق الفم. لذلك، لديهم فرصة للوصول إلى السوق بسبب معدلات التناقص المنخفضة خلال تطوير الأدوية والتجارب السريرية.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من فحص النشاط المضاد للسرطان أن مشتق SF4 المفلور كان له أقوى نشاط مضاد للسرطان والأوسع نطاقاً مقارنة بالمركبات المحضرة الأخرى، مع قيم التركيز النصف مثبط الأقصى مقارنة من المعيار، خاصة ضد خلايا سرطان الثدي القوقازي و خلايا سرطان عنق الرحم الظهاري. من حيث السلامة الخلوية، كانت المركبات المحضرة أكثر أماناً من المعيار. حيث كان للمشتق المفلور SF4 أعلى سجل أمان فيما بينها.

كشفت مسح النشاط المضاد للأكسدة أن المركب الأصل **SF0** القائم على النفتالين كان له أقوى تأثير محاصر على الجذور الحرة ل ٢،٢-ثنائي فينيل-١-بيكريل هيدرازيل والهيدروكسيل بالمقارنة مع بينزو[ج]الكومارينات المحضرة، مع فعالية مكافئة تقريبًا للمعيار.

أظهرت نتائج الكشف عن النشاط المضاد لمرض السُّكري أن مشتق بينزو[ج]الكومارين **SF2** كان له أعلى تأثير قمع مقابل انزيمات الخميرة ألفا جلوكوزيداز وانزيمات الخنازير ألفا أميليز مقارنة بالمركبات المحضرة الأخرى، مع فعالية مرتبطة بالمعيار.

كشفت النتائج التي تم جمعها من تقييم الأنشطة المضادة للميكروبات عدة نقاط مثيرة للاهتمام. أولاً، كان للمشتق الكلور **SF5** أعلى نشاط مضاد للبكتيريا من بين المركبات المحضرة الأخرى تجاه جميع السلالات البكتيرية الهوائية سالبة الجرام المسببة للأمراض المختبرة. ثانيًا، أظهرت المركبات المحضرة مستوى تأثير غير ضار أعلى لنموذج البكتيريا الهوائية غير الممرضة سالبة الجرام المختبرة مقارنةً بالمعيار. حيث حصلت مشتقات بينزو[ج]الكومارينات **SF1** و **SF5** على أعلى تصنيف للتأثير غير المؤذي. ثالثًا، كان لمشتق بينزو[ج]الكومارين **SF2** أعلى نشاط مضاد للبكتيريا من بين المركبات المحضرة الأخرى تجاه جميع السلالات البكتيرية اللاهوائية المسببة للأمراض المختبرة. أخيرًا، كان لحوالي نصف المركبات المحضرة نشاط مضاد للفطريات ممتاز تجاه السلالات الفطريتين المسببتين للأمراض المختبرتين، متفوقًا بذلك على المعيار، وكان مشتق بينزو[ج]الكومارين **SF1** هو الأفضل من بينها.

وبالتالي، فإن تعددية الأنشطة البيولوجية لمركباتنا الجديدة قد تسلط الضوء على استكشاف عوامل جديدة مضادة للسرطان ومضادة للأكسدة ومضادة للسُّكري و مضادة للبكتيريا وللـفطريات. غالبية مركباتنا يمكن تصنيفها على أنها قوالب موفقة لتصميم وتطوير أدوية مبتكرة فعالة ذات سمية منخفضة.