

ABSTRACT

The overuse and lack of regulation of antibiotics has resulted in the emergence of antibiotic-resistant bacteria or superbugs. This causes a decline in the effectiveness of current antibiotics that are critical in modern medicine. Hence, the search of new and effective drugs in medicinal chemistry is in demand to combat the health crisis. Natural products serve as an excellent scaffold for the development of new and innovative synthetic drugs with exceptional pharmaceutical properties. Coumarin **1** is a natural compound with medicinal values that has excellent antibacterial effects by binding to the B subunit of DNA gyrase in bacterial cells. Chemical modification of the coumarin moiety with other active moieties and pharmacophores could be a promising strategy for developing new potential antibiotics. A series of halogenated coumarin-azo derivatives **27a-g** were successfully synthesized via diazo coupling reaction, whereas halogenated coumarin-azo derivatives bearing active group (i.e., ester, nitrile, and carboxylic) **30a-g**, **31a-g**, **32a-g** via diazo coupling, Knoevenagel condensation and hydrolysis. The synthesis of coumarin-triazene bearing alkoxy long chain **37a-c** were obtained through multiple steps reaction such as etherification, hydrolysis, Knoevenagel and diazo coupling reaction. All the synthesized compounds were analyzed using Carbon, Hydrogen, Nitrogen and Sulfur (CHNS) elemental analyzer and characterized using Fourier Transform Infrared (FTIR), ^1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy. The physicochemical and pharmacokinetic properties of the synthesized compounds were evaluated, where coumarin derivatives **27a-g**, **30a-g**, **31a-g**, and **32a-g** satisfied all the parameters of Lipinski's rule of 5 (Molecular weight < 500 g/mol, Lipophilicity < 5, Hydrogen bond donor < 5; Hydrogen bond acceptor < 10, Topology polar surface area < 140 Å², and Rotatable bond < 10) except for **37a-c**. Molecular docking interaction with bacterial DNA gyrase protein were screened using AutoDock Vina and

showed that halogenated coumarin-azo **31c**, **32b** and **32c** scored excellent binding affinity of -8.1 kcal/mol against *Escherichia coli*, whereas **31c** and **31e** scored -9.0 kcal/mol against *Staphylococcus aureus* which are better compared to references compound clorobiocin (-6.7 and -7.0 kcal/mol, respectively). The incorporation of azobenzene and halogens increased the compounds' lipophilicity for better binding and interaction with enzymes' hydrophobic active sites. The binding affinity of coumarin-triazene **37a** with additional aromatic groups and aliphatic chains (C₁₀) was comparable (-6.7 and -6.1 kcal/mol) to the clorobiocin, likely due to the formation of additional hydrophobic interactions with the receptor. The antibacterial screening via agar well diffusion however, showed poor inhibition against *E. coli* and *S. aureus*. The *in vitro* bioassay suggests that the compounds have a limited ability to permeate the bacterial cell membrane and interact with the targeted enzyme.

Keywords: Triazene, Knoevenagel, diazo coupling, etherification, SwissADME

Sintesis Berbantuan Gelombang Mikro Terbitan Coumarin-Azo, Penilaian In silico dan In vitro untuk Potensi Agen Antibakteria

ABSTRAK

*Antibiotik adalah obat yang penting dalam kebanyakan prosedur perubatan moden masa kini. Namun kemunculan bakteria kerintangan antibiotik atau superbug hasil daripada penggunaan antibiotik yang tidak terkawal menyebabkan obat tersebut menjadi kurang berkesan. Oleh itu, proses pencarian obat baharu yang berkesan dalam bidang kimia perubatan mendapat permintaan yang tinggi untuk menangani masalah ini. Sebatian produk semula jadi sangat sesuai sebagai bahan permulaan atau panduan dalam proses pencarian obat sintetik yang baru dan inovatif. Kumarin **1** adalah contoh sebatian semulajadi dengan nilai perubatan yang mempunyai kesan antibakteria sangat baik dalam menghalang pertumbuhan bakteria. Hal ini kerana sebatian tersebut mampu mengikat dan berinteraksi dengan DNA gyrase enzim dalam sel bakteria. Pengubah suaian struktur kimia kumarin dengan menambahkan pelbagai farmakopor aktif adalah salah satu strategi dalam proses penghasilan antibiotik baru. Satu siri terbitan kumarin-azo berhalogen **27a-g** telah berjaya disintesis melalui tindak balas gandingan diazo, manakala siri kumarin-azo berhalogen yang mengandungi kumpulan aktif lain (iaitu, ester, nitril, dan karboksilik) **30a-g, 31a-g, 32a-g** telah berjaya disintesis melalui gandingan diazo, kondensasi Knoevenagel dan hidrolisis. Sintesis kumarin-triazena yang mengandungi rantai panjang alkoksi **37a-c** telah diperolehi melalui pelbagai tindak balas seperti pengetheran, hidrolisis, kondensasi Knoevenagel dan gandingan diazo. Semua sebatian yang disintesis telah di analisa menggunakan penganalisis unsur Karbon, Hidrogen, Nitrogen dan Sulfur (CHNS) dan dicirikan dengan menggunakan spektroskopi inframerah fourier transformasi (FTIR), spektroskopi ¹H and ¹³C resonans magnet nukleus (NMR), Sifat fisiokimia dan farmakokinetik sebatian disintesis*

telah dinilai dimana terbitan kumarin **27a-g**, **30a-g**, **31a-g**, dan **32a-g** memenuhi semua parameter Lipinski rule of 5 (Berat molekul < 500 g/mol, Lipofilisiti < 5, penderma ikatan hidrogen < 5; penerima ikatan hidrogen < 10, kawasan permukaan kutub topologi < 140 Å, dan ikatan boleh putar < 10) kecuali **37a-c**. Interaksi dok molekul dengan DNA gyrase enzim telah dijalankan menggunakan AutoDock Vina dan hasil analysis dok tersebut menunjukkan bahawa kumarin-azo **31c**, **32b** dan **32c** berhalogen menjanginkan pertalian pengikatan lebih baik sebanyak -8.1 kcal/mol terhadap Escherichia coli, manakala **31c** dan **31e** memberi -9.0 kcal/mol terhadap Staphylococcus aureus iaitu lebih bagus berbanding dengan sebatian rujukan clorobiocin (-6.7 dan -7.0 kcal/mol, masing-masing). Hal ini disebabkan oleh penggabungan azobenzena dan halogen yang meningkatkan lipofilisiti sebatian untuk pengikatan dan interaksi yang lebih baik dengan bahagian aktif enzim yang bersifat hidrofobik. Afiniti pengikatan kumarin-triazena **37a** dengan kumpulan aromatik tambahan dan rantai alifatik (C₁₀) adalah setanding (-6.7 dan -6.1 kcal/mol) dengan clorobiocin, kesan dapirada pembentukan interaksi hidrofobik tambahan dengan reseptor. Kajian antibakteria melalui kaedah agar well diffusion bagaimanapun, menunjukkan perencatan yang lemah terhadap E. coli dan S. aureus. Bioesei in vitro telah menunjukkan bahawa sebatian mempunyai keupayaan terhad untuk meresap membran sel bakteria dan berinteraksi dengan enzim.

Kata kunci: Triazene, Knoevenagel, gandingan diazo, pengetheran, SwissADME