# ความสัมพันธ์ของสูตรโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารในกลุ่ม 4-ไฮดรอกซีคูมารินและสารที่เกี่ยวข้อง

นายแสงชัย วัฒนาเสรีกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2541

ISBN 974-639-552-1

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# STRUCTURE - ACTIVITY RELATIONSHIP OF 4-HYDROXYCOUMARINS AND RELATED COMPOUNDS

Mr. Sangchai Wattanasereekul

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Chemistry
Department of Chemistry
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 1998

ISBN 974-639-552-1

| | |
|---|---|
| **Thesis Title** | Structure - Activity Relationship of 4-Hydroxycoumarins and Related Compounds |
| **By** | Mr. Sangchai Wattanasereekul |
| **Department** | Chemistry |
| **Thesis Advisor** | Assistant Professor Warinthorn Chavasiri, Ph.D. |

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

..... Dean of Graduate School
(Professor Supawat Chutuvongse, M.D.)

Thesis Committee:

..... Chairman
(Associate Professor Siri Varothai, Ph.D.)

..... Member
(Professor Padet Sidisunthorn, Ph.D.)

..... Member
(Associate Professor Sirirat Kokpol, Ph.D.)

..... Thesis Advisor
(Assistant Professor Warinthorn Chavasiri, Ph.D.)

แสงชัย วัฒนาเสรีกุล : ความสัมพันธ์ของสูตรโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารในกลุ่ม 4-ไฮดรอกซีคูมารินและสารที่เกี่ยวข้อง (STRUCTURE - ACTIVITY RELATIONSHIP OF 4-HYDROXYCOUMARINS AND RELATED COMPOUNDS) อ. ที่ปรึกษา ผศ.ดร. วรินทร ชวศิริ; 138 หน้า ISBN 974-639-552-1.

ได้สังเคราะห์สารในกลุ่ม 4-ไฮดรอกซีคูมารินแปดสารโดยอาศัยปฏิกิริยาคอนเดนเซชัน ระหว่างกรดมาโลนิกกับสารกลุ่มฟีนอล หรือระหว่างไดเอทิลคาร์บอเนตกับสารกลุ่ม 2-ไฮดรอกซีแอซีโทฟีโนน และสารในกลุ่มไดคูมารอลยี่สิบสี่สารโดยการทำปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์ ระหว่าง 4-ไฮดรอกซีคูมารินกับแอโรมาติกอัลดีไฮด์ เมื่อนำสารเหล่านี้มาศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ คือฤทธิ์ต้านการกินของหนอนกินไขผึ้งขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* Linn.) และฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นอ่อนของไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra* Linn.) พบว่าฤทธิ์ทางชีวภาพมีความสัมพันธ์กับสูตรโครงสร้างของสารอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับฤทธิ์ต้านการกินของแมลง พบว่า 4-ไฮดรอกซีคูมาริน ที่มีหมู่เมทอกซีที่ตำแหน่ง C-5 (**6**) และหมู่แทนที่หลายชนิดที่ C-6 (**2, 4** และ **5**) และไดคูมารอลที่มีหมู่เมทอกซีบนวงเบนซิลิดีน (**15** และ **16**) แสดงแนวโน้มการต้านการกินที่ดี ส่วนในกรณีของฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช พบว่า 4-ไฮดรอกซีคูมารินที่มีหมู่เมทิล (**2**) และหมู่คลอโร (**4**) แทนที่ที่ตำแหน่ง C-6 และ ไดคูมารอลที่มีหมู่ไฮดรอกซีและเมทอกซีบนวง เบนซิลิดีน (**14, 17** และ **18**) แสดงฤทธิ์สูง สารหลายชนิดแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพเทียบเคียงได้กับยาฆ่าแมลงและยากำจัดศัตรูพืชที่ใช้อยู่ในท้องตลาดสำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านการกินและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโต ตามลำดับ สารดังกล่าวนี้มีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นสารเคมีเพื่อการเกษตรชนิดใหม่ต่อไปได้

ภาควิชา .....เคมี..... ลายมือชื่อนิสิต .....แสงชัย วัฒนาเสรีกุล.....

สาขาวิชา .....เคมี..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....วรินทร ชวศิริ.....

ปีการศึกษา.....2541..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

# # 3972301423 : MAJOR CHEMISTRY
KEY WORD: Structural Activity Relationship / 4-Hydroxycoumarin

SANGCHAI WATTANASEREEKUL : STRUCTURE - ACTIVITY RELATIONSHIP OF 4-HYDROXYCOUMARINS AND RELATED COMPOUNDS. THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. WARINTHORN CHAVASIRI, Ph.D. 138 pp. ISBN 974-639-552-1.

Eight 4-hydroxycoumarins derived from the condensation between malonic acid and phenols or from the condensation of diethyl carbonate and 2-hydroxyacetophenones and twenty four dicoumarols obtained from nucleophilic substitution reaction between 4-hydroxycoumarin and aromatic aldehydes were synthesized. These compounds were subjected for the examination for biological activities: insect antifeedant against greater wax moth larvae (*Galleria mellonella* Linn.) and weed growth inhibition against giant mimosa seedling (*Mimosa pigra* Linn.). It was found that there was indeed a significant relationship between the structures and biological activities. For insect antifeedant activity, 4-hydroxycoumarins with a methoxy group at C-5 (**6**) and various substituents at C-6 (**2**, **4** and **5**) and dicoumarols with a methoxy group on a benzylidene ring (**15** and **16**) displayed a good trend to exhibit high % antifeedant. In the case of weed growing inhibition, 4-hydroxycoumarins with methyl (**2**) and chloro (**4**) substituents at C-6 and dicoumarols (**14**, **17** and **18**) with hydroxy and methoxy substituents on a benzylidene ring showed high activity. Several compounds displayed the activity comparable to various commercial insecticides and herbicides in terms of antifeedant activity and growth inhibition activity tests, respectively. Some of them revealed promising tendency for the development as new agrochemicals.

ภาควิชา .....เคมี.....ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา .....เคมี.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา.....2541.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

# ACKNOWLEDGMENT

The author wishes to express his deep gratitude to his advisor Assistant Professor Dr. Warinthorn Chavasiri, for his very kind assistance, generous guidance and encouragement throughout the course of this research. Thanks are also extended to Associate Professor Dr. Udom Kokpol and other staff of the Natural Products Research Unit, Department of Chemistry, Chulalongkorn University for their helpful discussion and support.

Appreciation is also expressed to the Faculty of Science, Chulalongkorn University for granting a teaching assistant fellowship during 1996-1998 and to the graduate school for financial support of part of this research work. In addition, the author wishes to thank his thesis committee, Associate Professor Dr. Siri Varothai, Professor Dr. Padet Sidisunthorn and Associate Professor Dr. Sirirat Kokpol for their comments and suggestions.

Special thanks are given to collaborative partners: Dr. S. Zungsontiporn, P. Khaiprapai, S. Deesamer, J. Tipnoysnga, C. Piyapong, S. Bunrod, and everybody for their performance of antigrowth experiments and their kind provision of chemicals, wax moth larvae, suggestions, and information.

A deep affectionate gratitude is acknowledged to his parents and family members for their love, understanding, encouragement, and support throughout the entire course of study. Without them, the author would never have been able to achieve this goal.

# Contents

Pages

Abstract in Thai..... iv

Abstract in English..... v

Acknowledgment..... vi

List of Figures..... ix

List of Tables..... xi

List of Abbreviations..... xiii

Chapter 1 : INTRODUCTION..... 1

1.1 Literature Review..... 5

1.2 Critical Review and Reason for Undertaking this Study..... 11

1.3 Goal of Research..... 12

Chapter 2 : EXPERIMENTAL..... 14

2.1 General Procedure..... 14

2.2 Synthesis of 4-Hydroxycoumarins and Starting Materials..... 15

2.3 Synthesis of Dicoumarols..... 32

2.4 Bioassay Experiments..... 53

2.4.1 Insect Antifeedant against *Galleria mellonella* Linn. Larvae...53

2.4.2 Weed Growth Inhibition against *Mimosa pigra* Linn. .....59

Chapter 3 : RESULTS AND DISCUSSION..... 65

3.1 Chemistry..... 65

3.1.1 Synthesis of 4-Hydroxycoumarins..... 65

3.1.2 Synthesis of Dicoumarols..... 68

3.1.3 Spectroscopic Data..... 72

3.2 Biology..... 90

3.2.1 Insect Antifeedant Activity against *Galleria mellonella*..... 90

3.2.2 Weed Growth Inhibition against *Mimosa pigra Linn.* ..... 101

3.2.3 The Comparative Studies on Biological Activities of Studied Compounds..... 113

Pages

Chapter 4 : CONCLUSION.....115
REFERENCES.....118
APPENDICES.....122
VITA.....138

# List of Figures

Figures Pages

2.1 Life cycle of *Galleria mellonella* Linn. .....54

2.2 *Mimosa pigra* Linn. (Giant mimosa)..... 59

3.1 Percent antifeedant of eight synthesized 4-hydroxycoumarins against *G. mellonella*..... 91

3.2 Percent antifeedant of twenty four dicoumarols against *G. mellonella*..... 94

3.3 Percent antifeedant of potent 4-hydroxycoumarins and dicoumarols, and some commercial insecticides against *G. mellonella*..... 100

3.4 Percent root and shoot growing inhibition of 4-hydroxycoumarins against *M. pigra*.....101

3.5 Percent root and shoot growing inhibition of dicoumarols against *M. pigra*...106

3.6 Percent growing inhibition of potent 4-hydroxycoumarins and dicoumarols, and some commercial insecticides against *Mimosa pigra*..... 112

1. The FT-IR Spectrum of **8**.....123
2. The $^{1}$H-NMR Spectrum of **8**.....124
3. The $^{13}$C-NMR Spectrum of **8**.....125
4. The FT-IR Spectrum of **D7**.....126
5. The $^{1}$H-NMR Spectrum of **D7**.....127
6. The $^{13}$C-NMR Spectrum of **D7**.....128
7. The FT-IR Spectrum of **D11**.....129
8. The $^{1}$H-NMR Spectrum of **D11**.....130
9. The $^{13}$C-NMR Spectrum of **D11**.....131
10. The FT-IR Spectrum of **D13**.....132
11. The $^{1}$H-NMR Spectrum of **D13**.....133
12. The $^{13}$C-NMR Spectrum of **D13**.....134
13. The FT-IR Spectrum of **D18**.....135
14. The $^{1}$H-NMR Spectrum of **D18**.....136

Figures Pages

15. The $^{13}$C-NMR Spectrum of **D18**.....137

# List of Tables

Tables Pages

2.1 The results of antifeedant activity of 4-hydroxycoumarins against *G. mellonella* larvae..... 57

2.2 The results of antifeedant activity of dicoumarols against *G. mellonella* larvae..... 58

2.3 The results of antifeedant activity of commercially available insecticides against *G. mellonella* larvae..... 59

2.4 The results of weed growth inhibition of 4-hydroxycoumarins against *M. pigra*..... 62

2.5 The results of weed growth inhibition of dicoumarols against *M. pigra*..... 63

2.6 The results of weed growth inhibition of commercially available herbicides against *M. pigra*..... 64

3.1 The physical properties and % yield of synthesized 4-hydroxycoumarins.....67

3.2 The physical properties and % yield of synthesized dicoumarols.....70

3.3 The FT-IR absorption band assignments of phenyl acetates.....72

3.4 The FT-IR absorption band assignments of 2-hydroxyacetophenones.....73

3.5 The FT-IR absorption band assignments of 4-hydroxycoumarins.....74

3.6 The FT-IR absorption band assignments of dicoumarols.....76

3.7 The FT-IR absorption band assignments of dicoumarols with a fused benzylidene ring and a fused naphthalidene ring.....77

3.8 The $^{1}$H-NMR spectral assignments of phenyl acetates.....78

3.9 The $^{1}$H-NMR spectral assignments of 2-hydroxyacetophenones.....79

3.10 The $^{1}$H-NMR spectral assignments of 4-hydroxycoumarins.....80

3.11 The $^{1}$H-NMR spectral assignments of dicoumarols.....83

3.12 The $^{1}$H-NMR spectral assignments of dicoumarols with a fused benzylidene ring.....83

3.13 The $^{13}$C-NMR spectral assignments of phenyl acetates.....84

Tables Pages

3.14 The $^{13}$C-NMR spectral assignments of 2-hydroxyacetophenones.....85
3.15 The $^{13}$C-NMR spectral assignments of 4-hydroxycoumarins..... 86
3.16 The $^{13}$C-NMR spectral assignments of dicoumarols.....89
3.17 The $^{13}$C-NMR spectral assignments of dicoumarols with a fused benzylidene ring.....89
3.18 The comparative results of % antifeedant of synthesized 4-hydroxycoumarins.....92
3.19 The comparative results of % antifeedant of dicoumarols .....95
3.20 The comparative results of % antigrowth of synthesized 4-hydroxycoumarins against *M. pigra*.....104
3.21 The comparative results of % antigrowth of dicoumarols against *M. pigra*...110

# List of Abbreviations

| | | | |
|---|---|---|---|
| br | broad | mL | milliliter (s) |
| b.p. | boiling point | m.p. | melting point |
| °C | degree Celsius | MW | molecular weight |
| $cm^{-1}$ | unit of wavenumber | NMR | nuclear magnetic resonance |
| Cpd | compound | ppm | part per million |
| d | doublet | $R_f$ | retarding factor in chromatography |
| dd | doublet of doublet | s | strong (IR) |
| DMSO | dimethylsulfoxide | s | singlet (NMR) |
| g | gram(s) | str. | stretching (IR) |
| Hz | hertz | t | triplet (NMR) |
| IR | infrared | w | weak |
| J | coupling constant | wt | weight |
| lit | literature | δ | chemical shift |
| m | multiplet (NMR) | % | percent |
| m | medium (IR) | | |