

การสังเคราะห์และความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุพันธ์กรดซินนามิก
เพื่อเป็นสารควบคุมแมลง



นายอานนท์ โอฟารกิจวานิช

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี

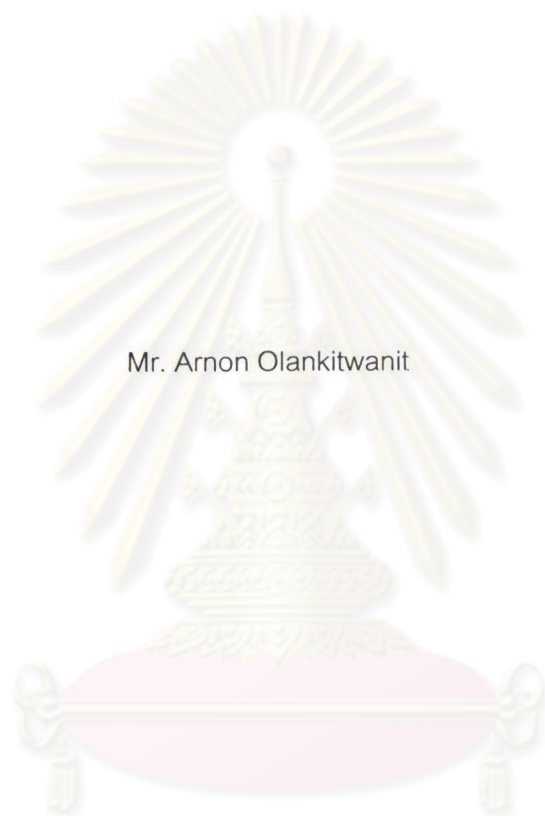
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-5503-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SYNTHESIS AND STRUCTURE-BIOACTIVITY RELATIONSHIP OF CINNAMIC ACID DERIVATIVES
AS INSECT CONTROL AGENTS



Mr. Arnon Olankitwanit

ศูนย์วิทยทรัพยากร

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Chemistry

Department of Chemistry

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2003

ISBN 974-17-5503-1

อานนท์ โอฬารกิจวานิช: การสังเคราะห์และความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุพันธ์กรดซินนามิกเพื่อเป็นสารควบคุมแมลง (SYNTHESIS AND STRUCTURE-BIOACTIVITY RELATIONSHIP OF CINNAMIC ACID DERIVATIVES AS INSECT CONTROL AGENTS) อ. ที่ปรึกษา: ผศ.ดร.วรินทร์ ชวศิริ, 96 หน้า. ISBN 974-17-5503-1.

ได้สังเคราะห์สารในกลุ่มซินนามาเมตเอสเทอร์ห้าสิบตัวโดยอาศัยปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันระหว่างกรดซินนามิกที่มีหมู่แทนที่บนวงเบนซีนกับแอลกอฮอล์ นำสารทั้งหมดหกสิบห้าตัวไปทดสอบฤทธิ์ฆ่าหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) (Fabricius) โดยมีเอทิลซินนามาเมตเป็นสารอ้างอิง พบว่าเอทิล 2-คลอโรซินนามาเมต แสดงฤทธิ์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือเอทิล 4-เมทิลซินนามาเมต และเอทิลซินนามาเมตสามตัวที่มีหมู่แทนที่เป็น 4-เมทอกซี, 4-เฮกซิลออกซีและ 4-เทอร์เชียรีบิวทิล แสดงฤทธิ์ดีกว่าเล็กน้อย ส่วนเอทิล 4-ฟลูออโรซินนามาเมตแสดงฤทธิ์เท่ากับสารอ้างอิง นอกจากนี้ได้สังเคราะห์ซินนามาเมตสองตัวและเบนซิลเบนโซเอตสามตัว โดยทำปฏิกิริยาผ่านแอซิดคลอไรด์และสังเคราะห์เอทิล 3-ฟีนิลโพรพิโอเนตโดยปฏิกิริยาไฮโดรจิเนชันของเอทิลซินนามาเมต แล้วนำสารเพิ่มเติมอีกยี่สิบตัวไปทดสอบฤทธิ์ด้วยวิธีการเดียวกัน พบว่าไม่มีสารใดแสดงฤทธิ์ดีกว่าสารอ้างอิง อีกทั้งนำสารที่แสดงฤทธิ์ฆ่าหนอนกระทู้ผักได้ดีสามตัวคือ เอทิลซินนามาเมต, เอทิล 2-คลอโรซินนามาเมต และเอทิล 4-เมทิลซินนามาเมต ทดสอบฤทธิ์ต้านการกินกับหนอนกระทู้ผัก พบว่าสารทั้งสามตัวแสดงฤทธิ์ดีใกล้เคียงกับสารโรทีโนน นอกจากนี้ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุพันธ์กรดซินนามิก ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ ในเชิงคุณภาพ พบว่าหมู่แทนที่ที่เป็นหมู่ให้อิเล็กตรอนแสดงฤทธิ์ฆ่าหนอนกระทู้ผักได้ดีกว่าหมู่ดึงอิเล็กตรอน ส่วนในเชิงปริมาณพบว่าตัวแปร HOMO-LUMO gap มีความสำคัญต่อฤทธิ์ฆ่าหนอนกระทู้ผัก

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....เคมี.....	ลายมือชื่อนิสิต..... อานนท์ โอฬารกิจวานิช.....
สาขาวิชา.....เคมี.....	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... วรินทร์ ชวศิริ.....
ปีการศึกษา.....2546.....	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....-.....

4472501423 : MAJOR CHEMISTRY

KEY WORD: CINNAMIC ACID DERIVATIVES / INSECTICIDAL ACTIVITY / SAR

ARNON OLANKITWANIT: SYNTHESIS AND STRUCTURE-BIOACTIVITY RELATIONSHIP OF CINNAMIC ACID DERIVATIVES AS INSECT CONTROL AGENTS. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. WARINTHORN CHAVASIRI, Ph.D., 96 pp. ISBN 974-17-5503-1.

Fifty substituted cinnamate esters were synthesized by esterification between substituted cinnamic acid and alcohol. Sixty five compounds were evaluated for the insecticidal activity against common cutworms *Spodoptera litura* (Fabricius) using ethyl cinnamate as a reference compound. The results revealed that ethyl 2-chlorocinnamate and ethyl 4-methylcinnamate showed the most potent activity and three ethyl cinnamates bearing 4-methoxy, 4-hexyloxy and 4-*tert*butyl groups slightly exhibited more activity than a reference compound. While ethyl 4-fluorocinnamate displayed the activity comparable with a reference compound. In addition, two substituted cinnamamides and three substituted benzyl benzoates were synthesized *via* acid chloride while ethyl 3-phenylpropionate were synthesized by hydrogenation of ethyl cinnamate. Twenty additional compounds were evaluated for the contact toxicity. All compounds exhibited less activity than a reference compound. Moreover, the potent compounds, ethyl cinnamate, ethyl 2-chlorocinnamate and ethyl 4-methylcinnamate, were chosen to evaluate for the antifeedant activity against *S. litura*. These compounds revealed the activity comparable to a standard compound, rotenone. Furthermore, the SAR and QSAR of cinnamic acid derivatives were studied. For SAR, it could be concluded that ethyl cinnamates bearing electron-donating group showed higher insecticidal activity than those containing electron-withdrawing group. For QSAR, the HOMO-LUMO gap was important descriptor for the insecticidal activity.

Department.....Chemistry.....

Student's signature.....*Arnon Olankitwanit*.....

Field of study...Chemistry.....

Advisor's signature.....*Warinthorn Chavasiri*.....

Academic year...2003.....

Co-advisor's signature.....-.....

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to express his appreciation to his advisor, Assistant Professor Dr. Warinthorn Chavasiri for his kindly helpful suggestions, valuable assistance and encouraging throughout the entire period of this research. Sincere thanks are extended to the thesis committee, Professor Dr. Udom Kokpol, Associate Professor Dr. Sirirat Kokpol, Associate Professor Dr. Nuanphun Chantarasiri and Dr. Sureerat Deowanish for their valuable discussion and suggestion.

The author also acknowledged Dr. Sureerat Deowanish, Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University for giving the recommendation for insecticidal activity experiment and Professor Dr. Masanori Morimoto, Department of Agricultural Chemistry, Kinki University, Nakamachi, Nara, Japan, for the providing the knowledge and practical skill on insecticidal activity and accommodation for the author stay during the visitation in Japan. In addition, he would like to thank Dr. Somsak Tonmunphean, Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University for proceeding QSAR section.

Gratitude is also expressed to the Natural Products Research Unit, Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University for the support of chemical and laboratory facilities. Appreciation is also extended the Graduate School of Chulalongkorn University for granting partial financial support to conduct this research. In addition, the author wishes to express to the Faculty of Science, Chulalongkorn University for granting his teaching assistantship during 2001-2002. The author would also like to express his special thanks to Professor Dr. Udom Kokpol 's Scholarship for supporting partial research fund to carry on the research at Department of Agricultural Chemistry, Kinki University, Nara, Japan.

Finally, the author would like to express his gratitude to his parents and family members for their inspiration, understanding, great support and encouragement throughout the entire study.

CONTENTS

	Pages
Abstract in Thai	iv
Abstract in English	v
Acknowledgements	vi
List of Figures	ix
List of Tables	xi
List of Abbreviations	xii
CHAPTER	
1. INTRODUCTION	1
1.1 General Characteristics of <i>Spodoptera litura</i> (Fabricius).	4
1.2 The QSAR Approach.....	5
1.3 Literature Reviews.....	6
1.4 The Objective of This Research	8
2. EXPERIMENTAL	9
2.1 Instruments and Equipment	9
2.2 Chemicals	9
2.3 Synthesis of Substituted <i>trans</i> -Cinnamic Acid Derivatives	10
2.3.1 Synthesis of <i>trans</i> -Cinnamate Esters.....	10
2.3.2 Synthesis of <i>trans</i> -Cinnamamides	22
2.3.3 Synthesis of Miscellaneous Cinnamic Acid Derivatives.....	23
2.3.4 Synthesis of Substituted <i>trans</i> -Cinnamic Acids	24
2.4 Synthesis of Substituted Benzyl Benzoate Derivatives	24
2.5 Bioassay Experiments.....	26
2.5.1 Insecticidal Activity (Contact toxicity)	26
2.5.2 Antifeedant Activity (Choice leaf-disk bioassay)	26
2.6 Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) Experiments	27
3. RESULTS AND DISCUSSION	29

Contents (Continued)

	Pages
3.1 Synthesis and Spectroscopic Data of <i>trans</i> -Cinnamic Acid	
Derivatives.....	29
3.1.1 Substituted <i>trans</i> -Cinnamate Esters.....	29
3.1.2 Substituted <i>trans</i> -Cinnamamides.....	34
3.1.3 Miscellaneous Cinnamic Acid Derivatives	34
3.2 Synthesis and Spectroscopic Data of Benzyl Benzoate Derivatives .	35
3.3 Insecticidal Activity of Reference Compounds.....	35
3.4 The Structure-Insecticidal Activity Relationship Study of Cinnamic Acid Derivatives	37
3.4.1 The Substituent on Benzene Ring of Ethyl Cinnamates (S01-S46).....	37
3.4.2 The Substituent on Ester Part of Cinnamate Ester (S47-S64).....	42
3.4.3 Cinnamic Acid Derivatives (A00-A04, M01-M06 and X01-X05).....	43
3.5 The Structure-Insecticidal Activity Relationship Study of Benzyl Benzoate Derivatives (B00-B03)	48
3.6 Structure-Activity Relationship and Quantitative Structure-Activity Relationship (SAR and QSAR) Studies	49
3.6.1 Effect of Ester Part (Group A)	49
3.6.2 Effect of Substituent on Benzene Ring of Ethyl Cinnamate (Group B).....	50
3.7 Antifeedant Activity of Some Substituted Ethyl Cinnamate.....	61
4. CONCLUSION	62
Proposal for the Future Work	64
REFERENCES	65
APPENDICES	70
Appendix A.....	71
Appendix B.....	83
Appendix C.....	95
VITA.....	96

List of Figures

Figures	Pages
1.1 (a) adult (b) young cutworm (c) late age cutworm and (d) pupa in the soil ..	5
2.1 Structures of synthesized substituted cinnamate esters	10
2.2 Structures of synthesized substituted cinnamamides.....	22
2.3 Structures of substituted cinnamic acids	24
2.4 Structures of substituted benzyl benzoate	25
3.1 Correlation curve between dose and % mortality of ethyl cinnamate	36
3.2 % Mortality of cinnamate esters at 4×10^{-7} mole.....	46
3.3 % Mortality of cinnamic acids, cinnamamides and miscellaneous group at 4×10^{-7} mole	47
3.4 Relationship between % mortality and HOMO-LUMO gap for five compounds.....	51
3.5 Comparison between actual and predicted activity for five compounds.....	52
3.6 Relationship between % mortality and LUMO for six compounds in the training set	54
3.7 Comparison between actual and predicted activity for six compounds in the training set	55
3.8 Comparison between actual and predicted activity for seventeen compounds	57
3.9 Relationship of % mortality and HLGAP values for thirteen compounds	58
3.10 Relationship of % mortality and C_9 values for thirteen compounds	59
3.11 Comparison between actual and predicted activity for thirteen compounds.	60
3.12 Comparison between % mortality and LUMO value for four compounds ...	60
A.1 The FT-IR spectrum of S12	71
A.2 The ^1H -NMR spectrum of S12	72
A.3 The ^{13}C -NMR spectrum of S12	73
A.4 The FT-IR spectrum of S18	74
A.5 The ^1H -NMR spectrum of S18	75
A.6 The ^{13}C -NMR spectrum of S18	76
A.7 The FT-IR spectrum of S23	77
A.8 The ^1H -NMR spectrum of S23	78
A.9 The ^{13}C -NMR spectrum of S23	79
A.10 The FT-IR spectrum of S25	80

List of Figures (Continued)

Figures	Pages
A.11 The ^1H -NMR spectrum of S25.....	81
A.12 The ^{13}C -NMR spectrum of S25.....	82



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

List of Tables

Tables	Pages
1.1	Quantity and value of imported pesticides in Thailand during 1997-2000 ... 1
3.1	Appearance and %yield of synthesized substituted <i>trans</i> -cinnamate esters..29
3.2	FT-IR absorption band assignment of new synthetic <i>trans</i> -cinnamate esters (S12, S18, S23 and S25)..... 31
3.3	¹ H-NMR spectral assignments of new synthetic <i>trans</i> -cinnamate esters (S12, S18, S23 and S25)..... 32
3.4	¹³ C-NMR spectral assignments of new synthetic <i>trans</i> -cinnamate esters (S12, S18, S23 and S25)..... 33
3.5	Appearance and %yield of synthesized substituted <i>trans</i> -cinnamamides 34
3.6	Appearance and %yield of synthesized substituted benzyl benzoates 35
3.7	The died larvae (<i>S. litura</i>) after treating with ethyl cinnamate and benzyl benzoate..... 36
3.8	% Mortality of ethyl halocinnamates (S01-S12) 37
3.9	% Mortality of ethyl alkoxycinnamates (S13-S33) 39
3.10	% Mortality of ethyl nitrocinnamates (S34-S39) 40
3.11	% Mortality of ethyl alkylcinnamates (S40-S46) 41
3.12	% Mortality of cinnamate esters (S47-S64) 42
3.13	% Mortality of substituted cinnamic acids (A00-A04) 43
3.14	% Mortality of substituted cinnamamides (M01-M06) 44
3.15	% Mortality of miscellaneous group (X01-X05) 45
3.16	% Mortality of benzyl benzoate derivatives (B00-B03) 48
3.17	Comparison of % mortality and HOMO-LUMO gap 51
3.18	Comparison of % mortality and LUMO 54
3.19	Comparison of actual and predicted activity of seventeen compounds..... 57
3.20	Comparison of % mortality and HLGAP and C ₉ of thirteen remaining compounds..... 58
3.21	The antifeedant activity of compound S00, S03 and S40..... 61
C.1	The died larvae (<i>S. litura</i>) after treating with S03 95
C.2	The died larvae (<i>S. litura</i>) after treating with S40 95

List of Abbreviations

br	broad
°C	degree of celsius
cm ⁻¹	unit of wavelength
Cpds	compound
d	doublet (NMR)
dd	doublet of doublet (NMR)
ED ₅₀	50% effective dose
eq	equivalent
g	gram (s)
Hz	hertz
IR	infrared
J	coupling constant
lit	literature
L	liter (s)
LC ₅₀	50% lethality concentration
LD ₅₀	50% lethality dose
m	multiplet (NMR)
mg	milligram (s)
mL	milliliter (s)
m.p.	melting point
NMR	nuclear magnetic resonance
ppm	part per million
q	quartet (NMR)
quin	quintet (NMR)
s	singlet (NMR)
str.	stretching
t	triplet (NMR)
TLC	thin layer chromatography
δ	chemical shift
μg	microgram (s)
%	percent
R _f	retardation factor