

M.Sc. thesis abstract**Design, Synthesis and 3D-Pharmacophore Modeling of some Novel Compounds and their Herbicidal Activity**

Kareem Esmail El-Sayed Esmail, Saad R. El-Zemity, Mohamed E. I. Badawy
Department of Pesticide Chemistry and Technology, Faculty of Agriculture, Alexandria University

ABSTRACT**1. Design strategies of novel compounds related to two groups of herbicides**

Forty-two compounds were synthesized based on the structure-based design technique, thirty-four of them were a mimic to chloroacetamide herbicides group and eight compounds were designed as a mimic to pyridine carboxylic acid herbicides group.

1.1. Design strategy of novel chloroacetamide derivatives (276-309) as a mimics of chloroacetamide herbicides

Two different designs for mimics of chloroacetamide herbicides. First one, for synthesizing a novel derivatives of chloroacetamide compounds (276-297) was by replacing the aliphatic oxygenated bridge in chloroacetamide herbicides such as acetochlor (26) with aromatic part of some herbicides such as phenol ring of bromoxynil (327), methoxyphenyl of anisuron (328) and 2,4-dichlorophenyl of 2,4-D (329). The second design was based on monoterpene (cinnamaldehyde (274) and citral (275) moieties) as a scaffold for synthesizing a novel derivatives of chloroacetamide compounds (298-309).

1.2. Design strategy of novel pyridine derivatives (319-326) as a mimics of Pyridine carboxylic acid herbicides

The commercial herbicide triclopyr (184) consist of two moieties 3,5,6-trichloropyridin-2-olyl and acetic acid moieties, herein, we kept the trichloropyridin-2-olyl moiety as a skeleton of suggested pyridine derivatives (319-326) and replaced acetic acid moiety by acetyl and chloroacetyl moieties as a mimic of acetic acid moiety and by other common commercial herbicide moieties such as propionic acid moiety of dichloprop (330), alkyl phosphonic acid moiety of glyphosate (331), alkyl phosphate moiety of piperophos (332), methanesulfonyl moiety of ethofumesate (333), nicotinoyl moiety of imazapyr (334) and alkyl acetate moiety of elumiclorac-pentyl.

2. Chemistry

The target chloroacetamide derivatives (276-309) were synthesized via acylation of imine derivatives (223-256) which synthesized by the reaction of aldehydes (271-275) and corresponding amines (257-270). The effects of substituent pattern on the yields were studied. It was found that different aromatic substituents displayed diverse yields, and the order was as following: *-N*-(2,4-dichlorobenzyl) > *-N*-(2-hydroxybenzyl) > *-N*-(2-cinnamyl) > *-N*-(2-methoxybenzyl) > *-N*-(3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-yl). The presence of methyl group in the phenyl ring gave high yield but slowly reaction, on the other hand the presence of chlorine group on the phenyl ring gave little yield with rapid reaction.

¹H-NMR spectra and MS have confirmed the chemical structures of imine derivatives (223-256), ¹H and ¹³C-NMR spectra and MS confirmed the chemical structures target compounds (276-309) and (319-326).

One the other hand, the target pyridine derivatives (319-326) were synthesized via acylation of the salt sodium 3,5,6-trichloropyridin-2-olate salt (311) by different acid chlorides (312-318), substituent pattern of acid chlorides little effects on the yield of pyridine

3. 3D-Pharmacophore modeling.

Using DS, 3D-pharmacophore model of standard chloroacetamide herbicides was established and investigated its features included HBA and HYD, so we kept it on the designed compounds and adding RA. Pretilachlor (43) was the highest fit value (fit value = 4) when it mapped in Hypo 1 of standard chloroacetamide herbicide.

Hypo 1 was selected as the best models of synthesized chloroacetamide derivatives (276-297). Pharmacophoric investigation features included HBA, HYD and RA also. Compound 295 was the highest fit value (fit value = 4) when it mapped in Hypo 1 of synthesized chloroacetamide derivatives (276-297).

Hypo 1 was selected as the best models of synthesized chloroacetamide derivatives (298-309). Pharmacophoric investigation features included HBA, HYD and RA also. Compound 307 shown the highest fit value (fit value = 4) when it mapped in Hypo 1 of synthesized chloroacetamide derivatives (298-309).

The 3D-pharmacophore model of standard pyridine carboxylic acid herbicides (182-188) investigated its features included HBA, HYD and RA obtained hypotheses. The top-rated Hypo 1 was selected as the best model and used to map compounds and standard herbicides. Triclopyr (184) shows the highest fit value (fit value = 5) when it mapped in best Hypo 1 standard pyridine carboxylic acid herbicides (182-188).

The 3D-pharmacophore model of synthesized pyridine derivatives (319-326) investigated its features included HBA, HYD and RA obtained hypotheses. The top-rated Hypo 1 was selected as the best model and used to map compounds. Compound 322 shown the highest fit value (fit value = 5) when it mapped in Hypo 1 of synthesized pyridine derivatives (319-326).

4. Mapping of the test set compounds on standard pharmacophore models

All twenty-two synthesized chloroacetamide derivatives (276-297) mapped to standard chloroacetamide herbicides pharmacophore, the best-fit ligand is molecule (278), fit value = 3.77. The mapping of the standard chloroacetamide herbicides on the Hypo 1 of synthesized chloroacetamide derivatives (276-297) showed that all of standard herbicides mapped and the highest fit molecule was butenachlor (31), fit value = 3.33.

Also, all twelve synthesized chloroacetamide derivatives (298-309) mapped to standard chloroacetamide herbicides pharmacophore except 305, the best-fit ligand is molecule (304), fit value = 3.59. The mapping of the standard chloroacetamide herbicides on the Hypo 1 of synthesized chloroacetamide derivatives (298-309) showed that only four standard herbicides mapped and the highest fit molecule was butachlor (30), fit value = 3.25.

On the other hand, all of eight synthesized pyridine derivatives (319-326) mapped to standard pyridine carboxylic acid herbicides pharmacophore, the best-fit ligand is molecule (326), fit value = 4. There are four standard pyridine carboxylic acid herbicides mapped on the Hypo 1 of synthesized pyridine derivatives, the highest molecules mapped to pharmacophore of synthesized pyridine derivatives with fit values 4.03 is triclopyr (184).

5. Virtual screening and Drug-Likeness analysis based on 3D-Pharmacophore

Two kinds of virtual screening were studied, Firstly, structure-based virtual screening (SBVS) which based on chemical structure of synthesized compounds by use Zinc Drug-Like library which contains 10⁶39'400 compounds chosen to make screening of synthesized compounds, there were no compounds of synthesized compounds found on Zinc Drug-Like library. Secondly, pharmacophore-based virtual screening. The Hypo 1 was applied to screen the selected molecules through the 3D databases Drug like Diverse, Herbicides, scPDB Mini Maybridge and Sample databases, it gave a lot of compounds mapped on the pharmacophore model of synthesized compounds and this result consider a validation method to approve the pharmacophore models.

On the other hand, all of synthesized compounds integrated with Lipinski rules, however, compounds 296, 297, 306, 307, 308 and 309, so we synthesized only two compounds have containing 2,4-dichlorophenyl moiety 296 and 297 and four compounds (306-309) containing citral moiety because they have ALogP more than 5 as the only violation with Lipinski rules.

6. In silico ADMET Screening

Using DS, ADMET descriptors calculated to help avoid having to eliminate compounds with unfavorable ADMET characteristics later in the development process, preferably before synthesis. The ADMET models of synthesized compounds showed that all of synthesized compounds under the limit except the same compounds which gave ALogP more than 5

7. Herbicidal activity

The synthesized compounds were assayed for in vitro herbicidal activity against four weed species; *C. album*, and *A. arvensis* as broadleaf weeds, *L. temulentum*, and *E. crus-galli* as grass weeds in comparison with acetochlor as a standard chloroacetamide herbicide and triclopyr as pyridine carboxylic acid herbicide. The concentration inhibits the 50% of the chlorophyll content (EC₅₀ mg/L) was used to evaluate the herbicidal activity of the synthesized compounds. The results revealed that all tested compounds exhibited remarkable inhibition against the content of chlorophyll of the four weeds. The herbicidal activity of synthesized chloroacetamide derivatives (276-297) against broad leaf weeds *C. album* and *A. arvensis* comparing with acetochlor as a standard herbicide, the most ten effective compounds against both weeds and have EC₅₀ less than acetochlor, many of them contains one or two of methyl group such as 293, 280, 296, 283, 291, 294 and 282.

The herbicidal activity of synthesized chloroacetamide derivatives (276-297) against grass weeds *L. temulentum* and *E. crus-galli* comparing with acetochlor as a standard herbicide, the most ten effective compounds against both weeds and have EC₅₀ less than acetochlor, many of them contains one or two of methyl group such as 293, 280, 296, 283, 291, 294 and 282.

Finally, it can note that the derivatives 293, 280, 283, 296 and 295 were determined to be the most potent against tested weeds.

On the other hand, the herbicidal activity of synthesized monoterpenoid chloroacetamide derivatives (298-309) against broad leaf weeds *C. album* and *A. arvensis* comparing with acetochlor as a standard herbicide, there are five compounds 303, 306, 309, 307 and 308 have EC₅₀ less than acetochlor, also all of them contains one or

two of methyl group except 308 which contains naphthyl group. Also, it can note that compounds were effective were that contained citral moiety and only one contain cinnamyl moiety however it was the most active compound against *C. album* and *A. arvensis*.

The herbicidal activity of synthesized monoterpenoid chloroacetamide derivatives (298-309) against grass weeds *L. temulentum* and *E. crus-galli* comparing with acetochlor as a standard herbicide, there are seven compounds 306, 309, 308, 303, 307, 302 and 301 have EC₅₀ less than acetochlor, also five of them contains one or two of methyl group, however, compound 308 contains naphthyl group and compound 302 contains chlorine group. Also, it can note that compounds were effective were that contained citral moiety and only three compounds contain cinnamyl moiety.

Finally, it can note that the derivatives containing citral moiety more effective than that contain cinnamyl moiety against tested weeds, compound 303 was determined to be the most potent against tested weeds.

The herbicidal activity of synthesized pyridine derivatives (319-326) against *C. album* and *A. arvensis* comparing with triclopyr as a standard herbicide, there are five compounds 324, 322, 319, 321 and 323 have EC₅₀ less than triclopyr.

The herbicidal activity of synthesized pyridine derivatives (319-326) against *L. temulentum* and *E. crus-galli* comparing with triclopyr as a standard herbicide, there are six compounds 320, 321, 322, 319, 323 and 324 have EC₅₀ less than triclopyr respectively, it can note that compound 320 which contain propionic acid moiety was most effective then compound 322 which contain ethyl phosphonic acid moiety.

Finally, it can note that, compound 322 and 324 which containing ethyl phosphonic acid and sulphonate moieties respectively were determined to be the most potent against tested weeds.

8. Molecular docking

The docking of the synthesized molecules and standard herbicides on the crystal structure of main target protein (VLCFAs (PDB ID 1OXH) as a target of chloroacetamide compounds and auxin mimic (PDB ID 2PIN) as a target of pyridine compounds) was performed using MOE software also, docking study was performed to predict and determine the trend of synthesized compounds. The data have been analyzed based on the docking score (ΔG , kcal/mol), hydrogen bonds and van der Waals connections nearby.

The highest score standard chloroacetamide herbicide was thenylchlor (-6.36 kcal/mol), but the highest score standard chloroacetamide herbicide was floryprauxifen (-5.82, kcal/mol) the binding was by combining for the van der Waals force and different hydrogen bonding and hydrophobic interactions (π -interactions). The top three scored of the synthesized chloroacetamide compounds (276-297) were 290, 294 and 293 which corresponds to the enzyme binding cavity, but top three scored of the compounds 304, 300 and 305 respectively which corresponds to the enzyme binding cavity. On the other hand, the top three scored of synthesized pyridine compounds were the compounds 323, 325 and 322 respectively which corresponds to the enzyme binding cavity.

Finally, the results show that the tested weeds growth was inhibited after treated with all of synthesized compounds, but a grass weeds were more sensitive than broadleaf weeds, also *Echinochloa crus-galli* was more sensitive for synthesized compounds than other weeds.

Also, the bioassay results were compatible with the theoretical molecular docking and pharmacophoric investigation.

الملخص

تصميم، تخليق وعمل نموذج الفارماوكوفور ثلاثي الأبعاد لبعض المركبات الجديدة والنشاط الإبادي لها

على الحشائش

1- تصميم مركبات جديدة مشابهة لمبيدات الحشائش

تم دراسة عمل تصميم لعدد إثنان وأربعون مركب جديد منها أربعة وثلاثون مركب مشابه لمجموعة مركبات الكلوروأسيتاميد المعروفة كمبيدات حشائش، إثنان وعشرون مركب منهم تم تصميمهم على أساس إستبدال القنطرة الأوكسجينية الأليفاتية في مركبات الكلوروأسيتاميد (26-49) مثل الأستوكلور (26) والألاكور (27) والبيوتاكلور (30) بشق أروماتي مستبدل عليه بعض المجاميع غير أنها في أكثر من موضع على الحلقة، وأيضاً تم تصميم إثنان عشر مركباً بإستبدال هذه القنطرة بأحد التربينات الأحادية الألدهيدية السينيماالدهيد (8 مركبات) والسيترال (4 مركبات).

وأخيرا تم تصميم 8 مركبات (319-326) على أساس تثبيت شق الثلاثي كلورو بيريدول لمبيد الترايكلوبير (184) من مجموعة مركبات البيريدين كاربوكسيليك اسيد (182-188) مع أحد الشقوق لمركبات حشائش معروفة ومستخدمة تجاريا.

2- إنشاء نموذج الفارماكوفور الثلاثي الأبعاد (حامل الصفة الإبادية/الدوائية)

عن طريق برنامج Discovery Studio (DS) 3.0 تم إنشاء نموذج الفارماكوفور الثلاثي الأبعاد لكن من: مجموعة الكلوروأسيتاميد (26-49) ومجموعة المركبات المحضرة الأولى (276-279) وكذلك المركبات المعتمدة في تركيبها على التربينات الأحادية الأدهيدية (298-309)، ومن ناحية أخرى تم إنشاء نموذج الفارماكوفور لمركبات مجموعة مركبات البيريدين كاربوكسيليك اسيد (182-188) وكذلك المركبات المحضرة على أساسها (319-326) وذلك للحفاظ على العوامل المسببة للصفة الإبادية في المجموعة القياسية أثناء تصميم وتحضير المركبات الجديدة وقد تم بالفعل الحفاظ على بعض هذه الخواص مثل الأماكن التي تعتبر مستقبلية للروابط الهيدروجينية وكذلك المانحة لتلك الروابط علاوة على الحلقات العطرية في المجموعات القياسية وأيضا المركبات المحضرة.

3- الفحص الافتراضي المعتمد على الفارماكوفور وعلى الخواص الكيميائية والطبيعية للمركبات المستهدفة

أيضا بنفس البرنامج المذكور أعلاه تم عمل فحص افتراضي بالفارماكوفور الخاص بالمركبات المحضرة على أربعة مكتبات متواجدة بالبرنامج بالفعل وهم scPDB وشمل 5465 مركب ومكتبة Drug Like Diverse والتي تشمل 5384 مركب ومكتبة Mini Maybridge وتشمل 2000 مركب ومكتبة Sample وتشمل 81 مركب بالإضافة إلى مكتبة مبيدات الحشائش والتي تم إدخالها للبرنامج وتشمل 566 مبيد حشائش وذلك لمعرفة توافق المركبات المحضرة ذات الفارماكوفور المنشأ مع هذه المركبات وإستبعاد المركبات المماثلة والموجودة في هذه المكتبات ولمعرفة مدى توافق الخواص الكيميائية للمركبات المحضرة ومدى توافقها مع القواعد العالمية مثل Lipinski Rules ووجد أن جميع المركبات المحضرة لم تتعارض مع هذه القواعد.

4- بروتوكول تحضير المركبات المستهدفة

أ. المخطط الأول

بعد أن تم دراسة طرق تحضير مركبات الكلوروأسيتاميد تم الإستقرار على إستخدام طريقة تحضير الكلوروأسيتاميد على خطوتين أولها تحضير الإيمامين من تفاعل الأدهيد الأروماتي (271-273) أو التربينات الأحادية الأدهيدية (274-275) مع الأمين المقابل (257-270) في مذيب الميثانول أو الإثنانول مع وجود طفيف لحمض الخليك الثلجي ويسمى هذا التفاعل تكوين قاعدة شيف ثم عمل أستلة مكلورة بإستخدام كلوريد الكلوروأسيثيل (90) في وجود مذيب ثنائي كلورو الميثان تحت التبريد وبذلك قد تم تحضير 34 مركب بهذه الطريقة.

ب. المخطط الثاني

ويشمل المخطط الثاني تحضير 8 مركبات معتمدة في تركيبها الكيميائي على وجود الثلاثي كلورو بيريدول الموجود في مبيد الترايكلوبير (184) كشق أساسي ثم إضافة إليه شقوق مختلفة من مبيدات حشائش معروفة عن طريق تحويل هذا الكحول الي ملح صوديومي ثم إضافة إليه حامض كلوريدي في ظروف تفاعل مناسبة ليتم تحضير المركبات (319-326).

5- التعرف على المركبات المحضرة بإستخدام أجهزة الرنين النووي المغناطيسي وكذلك مطياف الكتلة

أظهرت نتائج التعرف على المركبات المحضرة على إتمام التفاعلات بكمية نواتج مرضية وذلك عن طريق استخدام جهاز الرنين النووي المغناطيسي لمعرفة عدد واشكال البروتونات وكذلك ذرات الكربون في الجزيء وكذلك التأكد من الوزن الجزيئي لها عن طريق تحليلها بجهاز مطياف الكتلة.

6- النشاط الإبادي للمركبات المحضرة على الحشائش

تمت دراسة النشاط الإبادي للمركبات الإثني وأربعون مركب المحضرة على أربعة أنواع من الحشائش وهي حشيشتي الزربيح *Chenopodium album* والزلغلنت *Anagallis arvensis* كحشائش عريضة الأوراق وحشيشتي الدنبيبة *Echinochloa crus-galli* والصامنة *Lolium temulentum* كحشائش رفيعة الأوراق وهم من الحشائش المنتشرة في مصر خصوصا في حقول الذرة الشامية والارز مما تسبب خسائ إقتصادية حيث أنها تنافس المحصول علاا الإستفادة من العناصر الغذائية الموجودة بالتربة وكذلك في المباحة والهواء والضوء مما يقلل من جودة المحصول كما وجودة.

صممت التجربة في صواني شتل وإستخدم من كل مركب من المركبات الإثني وأربعون ثلاث تركيزات وهي 1250 ملجم/لتر و 2500 ملجم/لتر و 5000 ملجم / لتر وقد تم التطبيق بعد أن تمت الزراعة في ظروف متحكم في درجة حرارتها وصلت الحشائش في عمر من 2- 3 ورقات وقد تم دراسة تأثير هذه المركبات على المحتوى الكلوروفيلي للحشائش وقد أظهرت النتائج بعد تحليلها إحصائيا بإستخدام برنامج SPSS Inc., 2007 لإيجاد عدة عوامل أهمها ال EC_{50} أو التركيز المثبط ل 50% من المحتوى الكلوروفيلي للحشائش أن هناك عدد كبير من المركبات لها تأثير تثبيطي لتكوين صبغة الكلورفيل أكثر من التأثير التثبيط لمبيد الحشائش القياسي أسيتوكولور (26) والذي تم إستخدامه كمبيد قياسي في التجربة. كما أن هناك هناك قليل من المركبات كان تأثيرها التثبيطي أقل من مبيد الحشائش القياسي وذلك تحت الظروف المذكورة، فعلى سبيل المثال فإن المركبات 293 و 303 و 280 و 306 و 322 أظهرت نتائج مبشرة جدا على الأربعة أنواع من الحشائش وكانت أكثر الحشائش تأثرا بالمركبات المحضرة هي حشيشة الدنبيبة *E. crus-galli* وكان اكثرها مقاومة هي حشيشة الزربيح *C. album*.

7-الإرساء الجزيئي

تمت دراسة مدى قدرة بعض المركبات على الاتحاد الجزيئي مع الموقع النشط للإنزيم المسئول عن تخليق الأحماض الدهنية طويلة السلسلة جدا في الحشائش والذي يسمى very-long-chain fatty acids (VLCFAs) ويعتبر تثبيط هذا الإنزيم هو الهدف الرئيس لميكانيكية عمل مجموعة مركبات الكلوروأسيتاميد ولذلك تم الإرساء للمركبات المحضرة والمشابهة في تركيبها لهذه المجموعة.

أما مجموعة البيريدين كاربوكسيليك أسيد فإنها تعمل كمشابها للهرمونات وبالتالي تم إرساء المركبات المحضرة والشبيهة بها على الإنزيم الخاص بذلك بعد أن تم تنزيله من بنك بيانات البروتينات. وقد توافقت نتائج الإرساء مع النتائج التأثير الإبادي على الحشائش إلى حد كبير