



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ
สารอนุพันธ์เบนโซไฮไดรไรด์

**Antibacterial and Antioxidant Activities of
Benzohydrazide Derivatives**

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา จันทร์พรหมมา

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

ดร. ณรงค์ บุนนาค

คณะกรรมการแพทย์แผนไทย

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินรายได้มหาวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2556 รหัสโครงการ SCI560560S

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	2
กิตติกรรมประกาศ	3
บทคัดย่อ	4
Abstract	6
บทนำ	8
วัตถุประสงค์	10
การตรวจเอกสาร	11
ขั้นตอนการวิจัย	16
ผลการทดลอง	20
การสังเคราะห์และการหาโครงสร้างสารด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโกปี	20
ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสาร	35
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาร	38
โครงสร้างผลึก	42
สรุป	43
เอกสารอ้างอิง	45
ภาคผนวก	47

(Reprint 1)

(E)-N'-(4-Ethoxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide dehydrate

Acta Crystallographica (2012). E68, o1655-o1656

(Reprint 2)

(E)-4-Methoxy-N'-(2,4,5-trimethoxybenzylidene)Benzohydrazide hemihydrate

Acta Crystallographica (2014). E70, o150-o151

(Article in Press)

Synthesis and Antibacterial Properties of 4-Bromobenzohydrazide Derivatives and Crystal

Structure of *(E)-N'-((1H-indol-3-yl)methylene)-4-bromobenzohydrazide*

Crystallograph Reports (2015)

(Proceeding 1)

Synthesis, Antioxidant and Antibacterial Activities of 4-Bromobenzohydrazide Derivatives

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินรายได้ มหาวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2556 ทำให้สามารถดำเนินงานวิจัยได้ตามความมุ่งหมาย

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ ดร. สูง-คุณ ฟิน มหาวิทยาลัยไซน์มาเลเซีย ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บข้อมูลการเลี้ยงเบนของรังสีเอกซ์บนผลึกเดี่ยว

ผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาเคมี ในการสนับสนุนอุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัย ขอขอบคุณ นางสาวจิรา ห่อแก้ว นักศึกษาปริญญาโท สาขาเคมีอินทรีย์ และ นายภูมิศักดิ์ เรือนवास นักศึกษาปริญญาเอก สาขาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ในการช่วยวิจัย ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัครวิทย์ กาญจนโอภาส และ นายธีรศักดิ์ อนันตพงศ์ นักศึกษาปริญญาเอก สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และขอขอบคุณผู้บริหาร และเจ้าหน้าที่ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้สนับสนุนและอำนวยความสะดวกให้งานวิจัยนี้ดำเนินไปได้ด้วยดี และ บรรลุล่วงวัตถุประสงค์

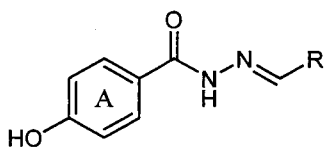
รองศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา จันทร์พรหมมา

และ

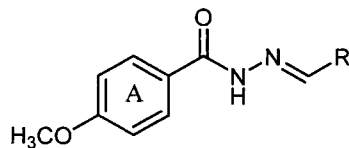
ดร. ฌวงส์ บุญนาค

บทคัดย่อ

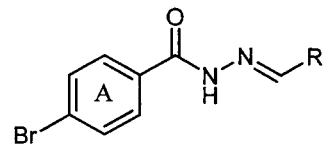
ทำการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ของ Benzohydrazides จำนวน 27 สาร คือ สารอนุพันธ์ 4-Hydroxybenzohydrazide (A1-A9), 4-Methoxybenzohydrazide (B1-B9) และ 4-Bromobenzohydrazide (C1-C9) เพื่อหาสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทำการหาโครงสร้างสารที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี และทำการตกผลึกและหาโครงสร้างด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์บนผลึกเดี่ยวของสาร 5 สาร คือ A2, A8, B2, B9 และ C2 จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารอนุพันธ์ Benzohydrazides ทั้ง 27 สาร พบสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจำนวน 14 สาร คือ A3-A9, B5-B6 และ C3-C7 และพบสารออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ปานกลางถึงดีมากจำนวน 8 สาร คือ A4, A5, A9, B3, B5, B6, C5 และ C6 โดยสาร B5 และ C5 ออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียในระดับดีมาก ส่วน A9 ออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียในระดับดี ในขณะที่สาร A4, A5, B3, B6 และ C6 ออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียในระดับปานกลาง



A

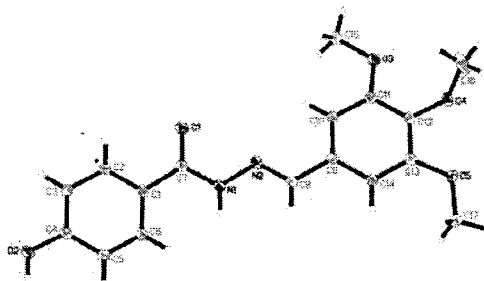


B



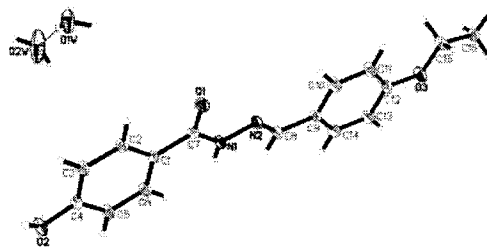
C

Compound	Compound	Compound	R
		d	
A1	B1	C1	phenyl
A2	B2	C2	3,4,5-trimethoxyphenyl
A3	B3	C3	3-methoxy-4-hydroxyphenyl
A4	B4	C4	3-ethoxy-4-hydroxyphenyl
A5	B5	C5	2,3-dihydroxyphenyl
A6	B6	C6	3,4-dihydroxyphenyl
A7	B7	C7	4-hydroxyphenyl
A8	B8	C8	4-ethoxyphenyl
A9	B9	C9	2-hydroxy-5-bromophenyl



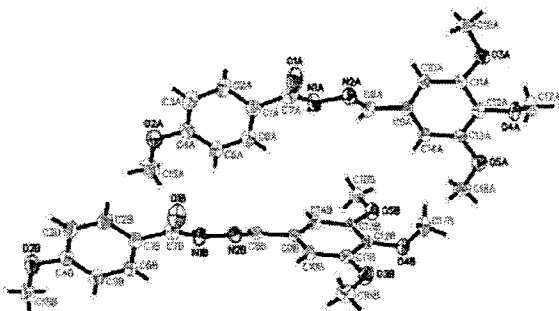
(*E*)-4-Hydroxy-*N'*-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)
benzohydrazide

A2



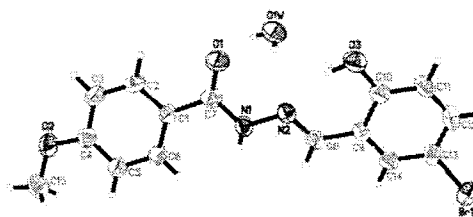
(*E*)-*N'*-(4-Ethoxybenzylidene)-4-
hydroxybenzohydrazide dihydrate

A8



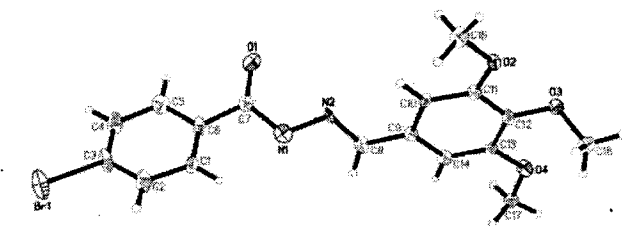
(*E*)-4-Methoxy-*N'*-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)
benzohydrazide

B2



(*E*)-*N'*-(5-Bromo-2-hydroxybenzylidene)-4-
methoxybenzohydrazidemonohydrate

B9



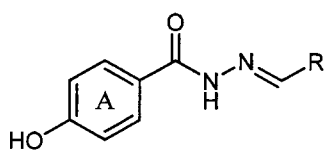
(*E*)-4-Bromo-*N'*-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)benzohydrazide

C2

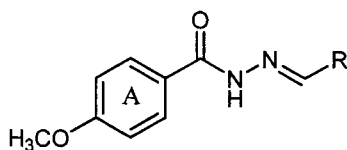
โครงสร้างผลึกของสาร A2, A8, B2, B9 และ C2

Abstract

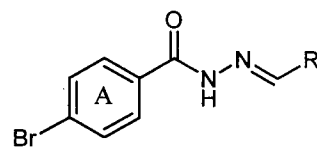
Twenty-seven of benzohydrazide derivatives which are 4-Hydroxybenzohydrazide derivatives (**A1-A9**), 4-Methoxybenzohydrazide derivatives (**B1-B9**) and 4-Bromobenzohydrazide derivatives (**C1-C9**) were synthesized to search for antioxidant and antibacterial compounds. Their structures were elucidated by spectroscopic method. In addition five compounds which are **A2**, **A8**, **B2**, **B9** and **C2** were also characterized by single crystal X-ray diffraction. The antioxidant activity of the twenty-seven synthesized compounds showed that there are fourteen compounds which are **A3-A9**, **B5-B6** and **C3-C7** show interesting antioxidant activities. The antibacterial results show that eight compounds which are **A4**, **A5**, **A9**, **B3**, **B5**, **B6**, **C5** and **C6** possess antibacterial activity in which **B5** and **C5** show potent antibacterial activity, **A9** shows good antibacterial activity whereas **A4**, **A5**, **B3**, **B6** and **C6** show moderate antibacterial activity.



A

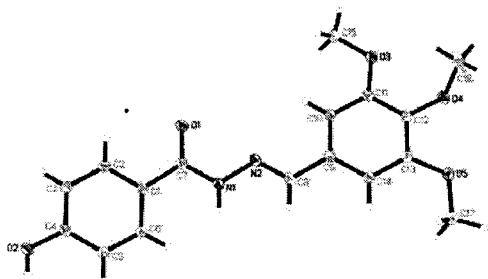


B



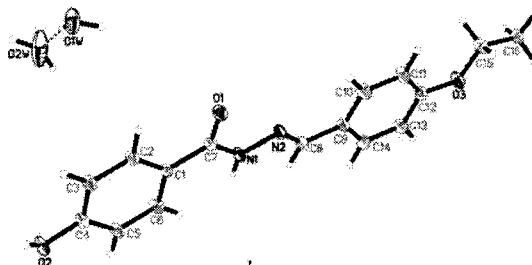
C

Compound	Compound	Compound	R
A1	B1	C1	phenyl
A2	B2	C2	3,4,5-trimethoxyphenyl
A3	B3	C3	3-methoxy-4-hydroxyphenyl
A4	B4	C4	3-ethoxy-4-hydroxyphenyl
A5	B5	C5	2,3-dihydroxyphenyl
A6	B6	C6	3,4-dihydroxyphenyl
A7	B7	C7	4-hydroxyphenyl
A8	B8	C8	4-ethoxyphenyl
A9	B9	C9	2-hydroxy-5-bromophenyl



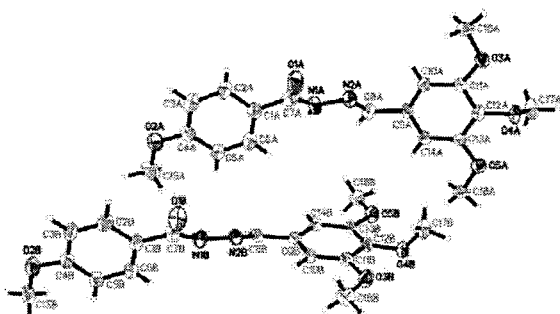
(*E*)-4-Hydroxy-*N'*-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)
benzohydrazide

A2



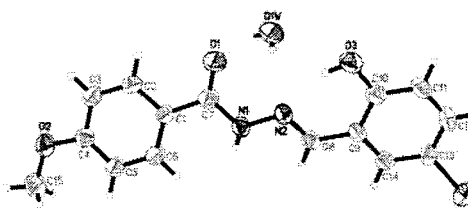
(*E*)-*N'*-(4-Ethoxybenzylidene)-4-
hydroxybenzohydrazide dihydrate

A8



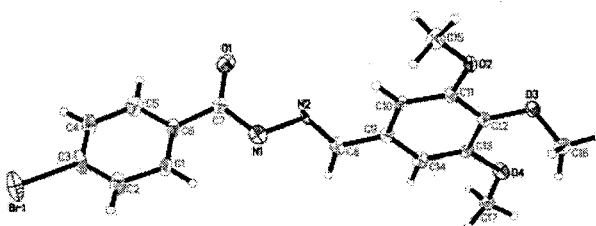
(*E*)-4-Methoxy-*N'*-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)
benzohydrazide

B2



(*E*)-*N'*-(5-Bromo-2-hydroxybenzylidene)-4-
methoxybenzohydrazide monohydrate

B9



(*E*)-4-Bromo-*N'*-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)benzohydrazide

C2

Crystal structures of compounds **A2**, **A8**, **B2**, **B9** and **C2**

บทนำ

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ที่มีการขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้สามารถที่จะแพร่เชื้อไปสู่คนและก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในคน เช่น *Staphylococcus aureus* (เชื้อแบคทีเรียแกรมบวก) ที่ก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษ เกิดภาวะช็อค และ โรคติดเชื้อในกระแสโลหิต *Enterococcus faecalis* (เชื้อแบคทีเรียแกรมบวก) เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดเยื่ออักเสบ *Pseudomonas aeruginosa* (เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ) ที่ก่อให้เกิดภาวะการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ และ โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (nosocomial infection) *Salmonella typhi* (เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ) ก่อให้เกิดโรคไทฟอยด์ และ *Shigella sonnei* (เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ) ที่ก่อให้เกิดโรคบิด และโรคท้องร่วง เป็นต้น จากโรคที่ก่อให้เกิดอันตรายจากการติดเชื้อแบคทีเรีย (bacterial infection) รวมทั้งปัญหาการกลายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียที่ส่งผลให้มีเชื้อแบคทีเรียที่เกิดการดื้อยา (drug resistance) ทางผู้วิจัยจึงคิดว่ามีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการสังเคราะห์สารและการพัฒนา (synthesis and development) เพื่อหาสารที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ นอกจากนี้ทางผู้วิจัยต้องหาสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ซึ่งเป็นฤทธิ์ทางชีวภาพที่กำลังได้รับความน่าสนใจอยู่ในขณะนี้อีกด้วย และจากการสำรวจรายงานการวิจัยพบว่า อนุพันธ์ของสารประกอบ benzohydrazides เป็นสารที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะสังเคราะห์สารในกลุ่มอนุพันธ์ benzohydrazides เพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารกลุ่มนี้

Benzohydrazides จัดเป็นสารอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีหมู่ฟังก์ชันบนโครงสร้างเป็น $>C=O$, $-NH-$ และ $-NH_2$ (Figure 1) (Campodonico *et al.*, 2010)

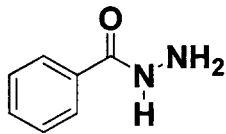
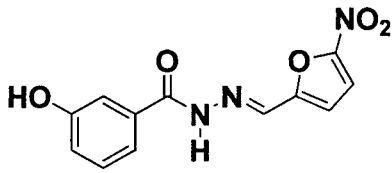


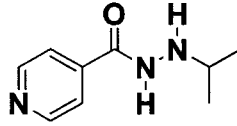
Figure 1. Benzohydrazide structure

โดยทั่วไปสารประกอบในกลุ่มของ benzohydrides ถูกสังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาการควบแน่น (condensation) ของสารในกลุ่มของไฮดราซีน (hydrazine) กับ สารประกอบคีโตน (ketones) หรือแอลดีไฮด์ (aldehydes) และจากการที่สารกลุ่ม benzohydrazides มีหมู่ฟังก์ชันหลากหลายบนโครงสร้างจึงทำให้สารในกลุ่ม benzohydrazides แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) ที่ค่อนข้างหลากหลาย และน่าสนใจจึงทำให้สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจอย่างแพร่หลายในการศึกษาเกี่ยวกับด้านเคมีทางยา (medicinal chemistry) ในนานาประเทศ ปัจจุบันสารในกลุ่มนี้ที่มีโครงสร้างเป็นแบบ hydrazide-hydrazone ที่เป็นยาที่มีประสิทธิภาพดีและใช้อยู่ชั้นคลินิกหลายตัวด้วยกัน อาทิเช่น nifuroxazide ที่ใช้เป็นยามาเชื้อใน

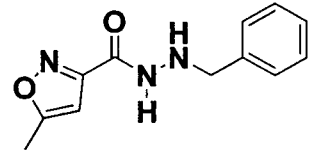
ลำไส้ (intestinal antiseptic) iproniazide และ isocarboxazide ที่ใช้เป็นยารักษาวัณโรค (Rollas & Kucukguzel, 2007) เป็นต้น



nifuroxazide

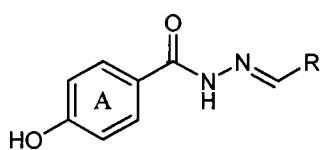


iproniazide

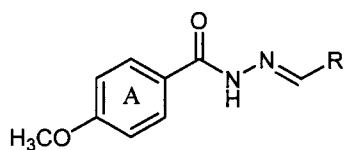


isocarboxazide

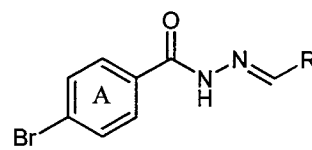
จากการสืบค้นรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า อนุพันธ์ของสารประกอบ benzohydrazides บางชนิดสามารถแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้ดีในระดับหนึ่ง และจากการรายงานเกี่ยวกับโครงสร้างของ benzohydrazides ซึ่งเป็นสารที่มีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของสารประกอบ benzohydrazides จำนวน 27 สาร ดังปรากฏใน Scheme 10 เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 7 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก 4 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) และ *Enterococcus faecalis* และแบคทีเรียแกรมลบ 3 สายพันธุ์ คือ *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* และ *Shigella sonnei* และทำการศึกษา ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งคาดว่าจะพบสารออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่น่าสนใจ ซึ่งนอกจากจะทำให้ทราบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารดังกล่าวแล้ว เนื่องจากหมู่แทนที่ต่าง ๆ มีผลต่อการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ ทางผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาอิทธิพลของหมู่แทนที่ในโครงสร้างที่ส่งผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของสารดังกล่าวอีกด้วย ในการวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงเลือกสังเคราะห์สาร 3 กลุ่ม คือ กลุ่ม A1-A9 (หมู่แทนที่บนวง A = 4-hydroxy) กลุ่ม B1-B9 (หมู่แทนที่บนวง A = 4-methoxy) และ C1-C9 (หมู่แทนที่บนวง A = 4-bromo) โดยสารทั้ง 3 กลุ่ม มีหมู่แทนที่ -R ดังแสดงในตารางที่ 1



A



B



C

ตารางที่ 1 แสดงหมู่แทนที่ R ของสาร A1-A9, B1-B9 และ C1-C9

Compound	Compound	Compound	R
A1	B1	C1	phenyl
A2	B2	C2	3,4,5-trimethoxyphenyl
A3	B3	C3	3-methoxy-4-hydroxyphenyl
A4	B4	C4	3-ethoxy-4-hydroxyphenyl
A5	B5	C5	2,3-dihydroxyphenyl
A6	B6	C6	3,4-dihydroxyphenyl
A7	B7	C7	4-hydroxyphenyl
A8	B8	C8	4-ethoxyphenyl
A9	B9	C9	2-hydroxy-5-bromophenyl

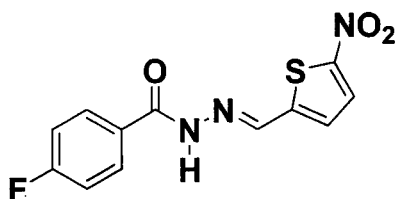
วัตถุประสงค์

- เพื่อสังเคราะห์และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารอนุพันธ์เบนโซไฮดราไซด์
- เพื่อศึกษาผลของหมู่แทนที่ต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารอนุพันธ์เบนโซไฮดราไซด์

การตรวจเอกสาร

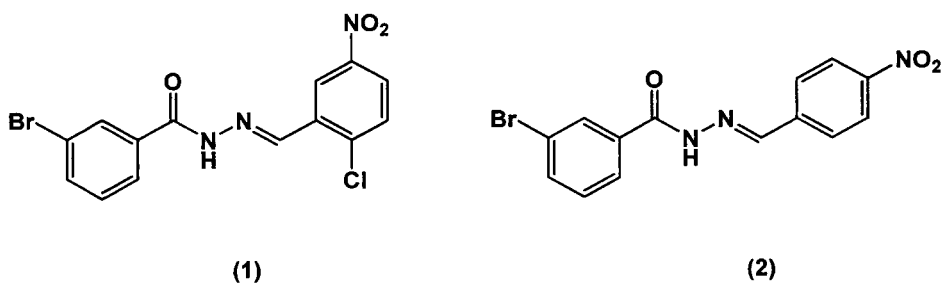
การรายงานเกี่ยวกับการสังเคราะห์และฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ของสารกลุ่มนี้มีดังนี้

Bedia *et al.*, 2006 สังเคราะห์สารประกอบอนุพันธ์ hydrazide-hydrazone เพื่อศึกษาโครงสร้างและทดสอบฤทธิ์ต้านวัณโรค (Antimycobacterial activity) พบว่า สารประกอบ (*E*)-4-fluoro-*N*-[(5-nitrothiophen-2-yl)methylene] benzohydrazide (Scheme 1) มีสมบัติในการต้านวัณโรคได้



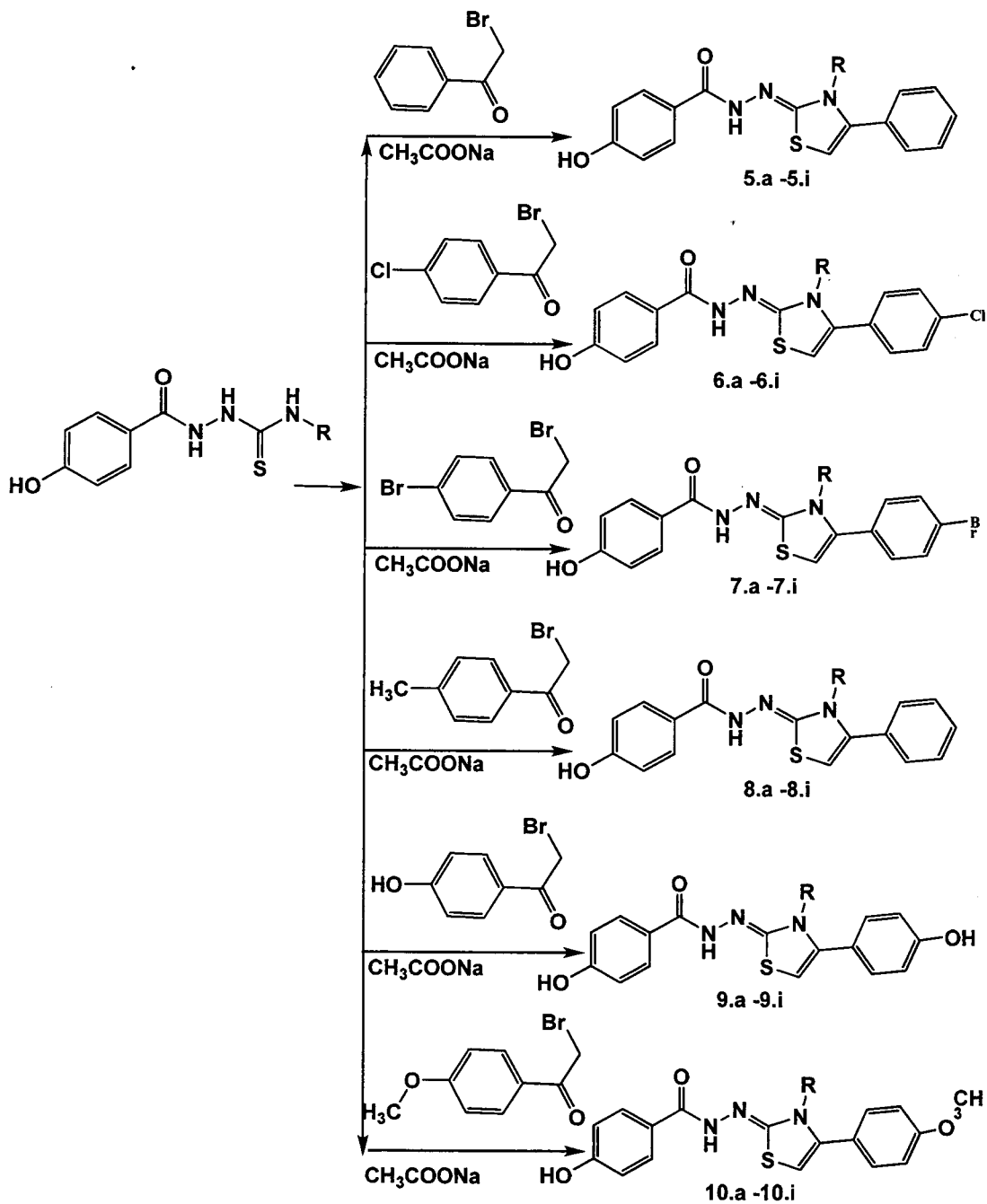
Scheme 1. โครงสร้างสาร 4-fluorobenzoic acid [(5-nitro)thiophen-2-yl)methylene

Hai-Yun *et al.*, 2006 สังเคราะห์สารประกอบ 3-bromo-*N*'-(2-chloro-5-nitrobenzylidene)benzohydrazide (1) และ 3-bromo-*N*'-(4-nitrobenzylidene)benzohydrazide (2) (Scheme 2) และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียพบว่าสารทั้งสองแสดงสมบัติในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* และพบว่าสาร (1) ออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าสาร (2) และสรุปได้ว่าหมู่แทนที่ Cl เป็นตัวเลือกที่ดีสำหรับการสังเคราะห์สารเพื่อต้านเชื้อแบคทีเรีย



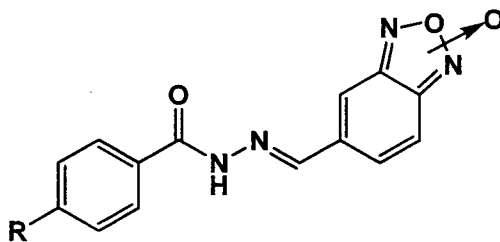
Scheme 2

Bhole & Bhusari, 2009 สังเคราะห์สารประกอบอนุพันธ์ benzohydrazides: *p*-hydroxybenzohydrazide (Scheme 3) และทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค พบว่าหมู่ -OH ที่ตำแหน่ง *para* และหมู่แทนที่ thiazoline แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค



Scheme 3

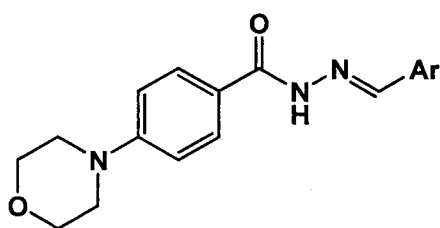
Jorge *et al.*, 2009 สังเคราะห์อนุพันธ์ benzohydrazides จำนวน 14 สาร (Scheme 4) โดย ออกแบบสารให้มีหมู่แทนที่ที่มีสมบัติไม่ละลายน้ำ และทดสอบแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้



a: R = H	h: R = Cl
b: R = CH ₃	i: R = COCH ₃
c: R = NH ₂	j: R = N(CH ₃) ₂
d: R = OH	k: R = CF ₃
e: R = F	l: R = Br
f: R = CN	m: R = SO ₂ NH ₂
g: R = OCH ₃	n: R = I

Scheme 4

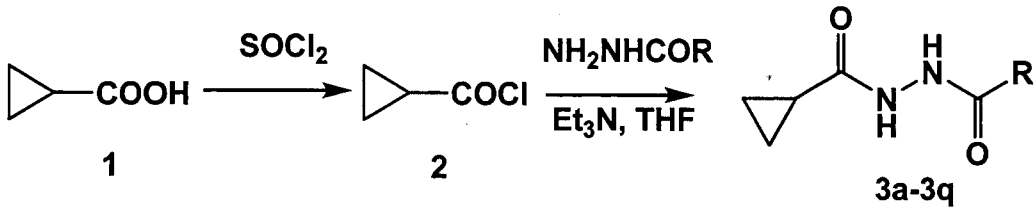
Raparti *et al.*, 2009 สังเคราะห์สารประกอบอนุพันธ์ benzohydrazides: 4-(morpholin-4-yl)-*N'*-(arylidene)benzohydrazide (Scheme 5) และทดสอบฤทธิ์ต้านวัณโรค พบว่าหมู่แทนที่บนวงแหวนเบนซีนที่เป็นหมู่รับอิเล็กตรอนที่ทำให้สารประกอบมีสมบัติเป็นสารที่สามารถละลายได้ในสารละลายที่ไม่มีขี้ว ทำให้สารสามารถซึมผ่านเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียได้



a: Ar = 2-furyl	f: Ar = 4-OCH ₃ C ₆ H ₄
b: Ar = 3-NO ₂ C ₆ H ₄	g: Ar = 4-N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄
c: Ar = 4-ClC ₆ H ₄	h: Ar = 4-CH ₃ C ₆ H ₄
d: Ar = 4-FC ₆ H ₄	i: Ar = 3-phenylallyl
e: Ar = 4-OHC ₆ H ₄	j: Ar = 3,4,5-OCH ₃ C ₆ H ₄

Scheme 5

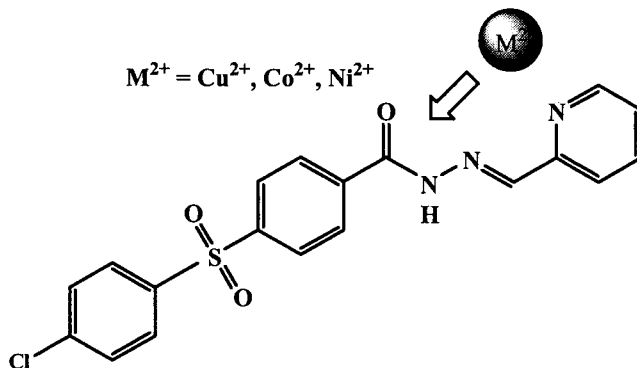
Liu *et al.*, 2009 สังเคราะห์สารประกอบอนุพันธ์ benzohydrazides จำนวน 12 สาร (Scheme 6) และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อรา พบว่าสารประกอบที่มี -F และ -OH เป็นหมู่แทนที่บนวงแหวนเบนซีนออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด



R = ph, *o*-Clph, 2,4-Cl₂ph, *p*-Clph, *p*-OCH₃ph, *p*-NO₂ph, *o*-Fph, *o*-OCH₃ph, *o*-OH-ph, *m*-CH₃ph, 3,4-Cl₂ph, Py, furan, *iso*-Py, 2,4-dimethylthiazole, *n*-Pr

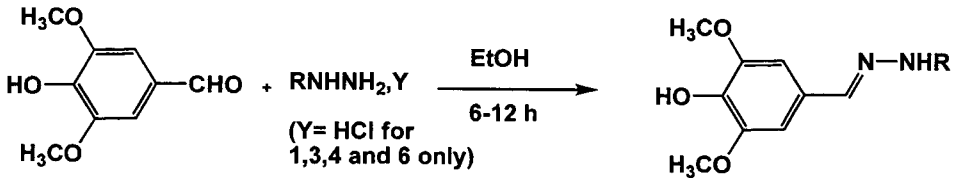
Scheme 6

Angelusiu *et al.*, 2010 สังเคราะห์สารประกอบ *N*-(2-pyridinecarbaldehyde)-*N'*-[4-chlorophenyl sulfonyl]benzal]hydrazone และเตรียมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะ Cu(II) Ni(II) และ Co(II) (Scheme 7) และทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเปรียบเทียบระหว่างลิแกนด์กับสารประกอบเชิงซ้อน พบว่าเมื่อเป็นสารประกอบเชิงซ้อนจะแสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าลิแกนด์เพียงอย่างเดียว

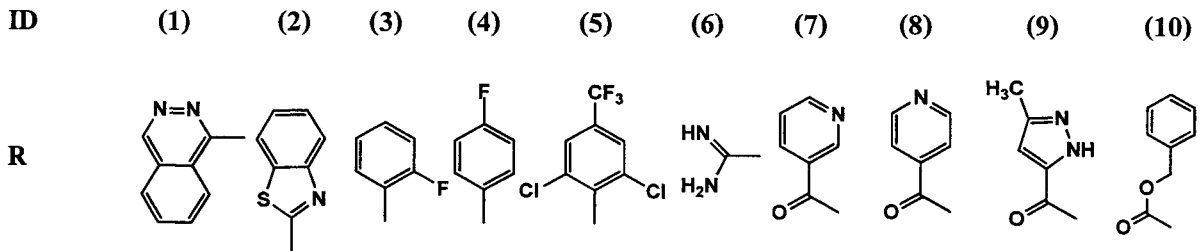


Scheme 7

Belkheiri *et al.*, 2010 สังเคราะห์สารประกอบอนุพันธ์ benzohydrazones (Scheme 8) และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารประกอบ 8 ซึ่งมีหมู่ isoniazid ที่ตำแหน่ง *para* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด

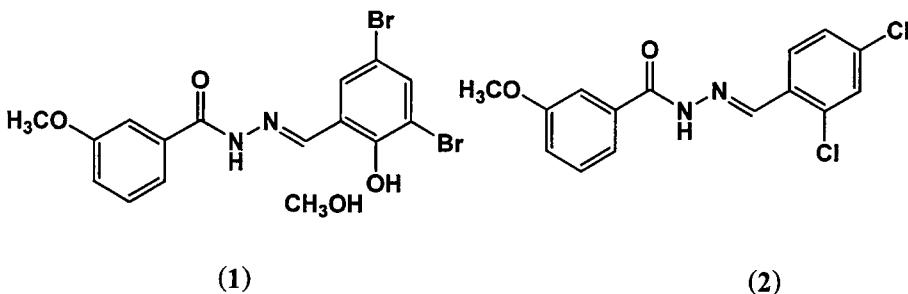


Compounds



Scheme 8

Peng, 2011 สังเคราะห์สารประกอบอนุพันธ์ benzohydrazides: 3-methoxy-*N'*-(3,5-dibromo-2-hydroxybenzylidene)benzohydrazide และ 3-methoxy-*N'*-(2,4-dichlorobenzylidene)benzohydrazide (Scheme 9) และทดสอบด้านเชื้อแบคทีเรียพบว่าสารประกอบที่มีหมู่ Cl แสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าหมู่ Br

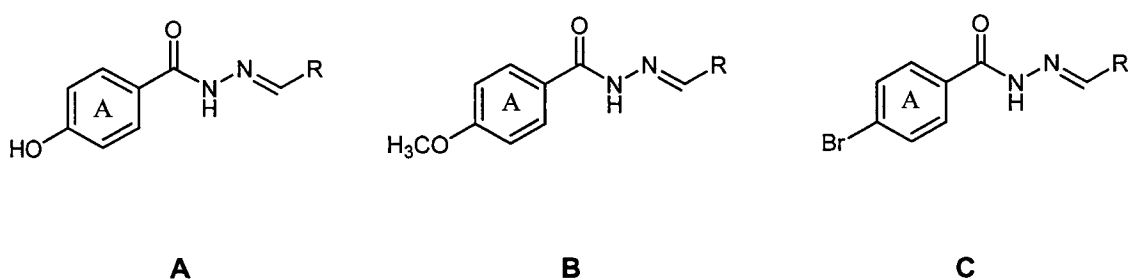


Scheme 9

จากข้อมูลรายงานการวิจัยที่ผ่านมา ผู้วิจัยจึงได้ออกแบบสาร A1-A9, B1-B9 และ C1-C9 (Scheme10) ซึ่งยังไม่มีรายงานฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาร โดยทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของสารประกอบ benzohydrazides จำนวน 27 สาร (A1-A9, B1-B9 และ C1-C9) และศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารที่สังเคราะห์ได้

ขั้นตอนการวิจัย

1. สังเคราะห์สารอนุพันธ์ benzohydrazides A1-A9 ตาม scheme 10 และทำการ characterization ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี UV-Vis, FT-IR และ $^1\text{H NMR}$
2. สังเคราะห์สารอนุพันธ์ benzohydrazides B1-B9 และ C1-C9 ตาม scheme 10 และทำการ characterization ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี UV-Vis, FT-IR และ $^1\text{H NMR}$
3. ทำการตกผลึกสารอนุพันธ์ benzohydrazides ที่สังเคราะห์ได้จากข้อ 1 และ 2 เพื่อให้ได้ผลึกเหมาะสมโดยใช้ตัวทำละลายต่าง ๆ ซึ่งต้องทำการปรับเปลี่ยนระบบของตัวทำละลายจนกระทั่งได้ผลึกที่ตกออกมามีลักษณะใส และ ขนาดอย่างต่ำ $0.2 \times 0.2 \times 0.2 \text{ mm}^3$ เพื่อทำการหาโครงสร้างด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์บนผลึกเดี่ยว
4. ทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารอนุพันธ์ benzohydrazides ที่สังเคราะห์ได้
5. ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารอนุพันธ์ benzohydrazides ที่สังเคราะห์ได้
6. สรุปผล เขียนรายงาน และ manuscripts



Scheme 10 โครงสร้างของสารอนุพันธ์ benzohydrazides (A1-A9, B1-B9 และ C1-C9)

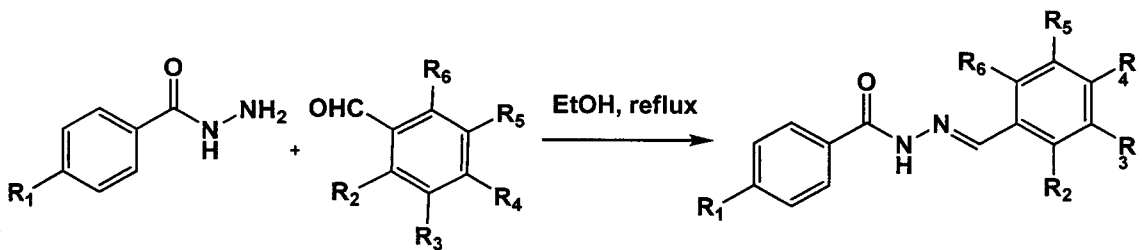
หมู่แทนที่ R ของสาร A1-A9, B1-B9 และ C1-C9

Compound	Compound	Compound	R
A1	B1	C1	phenyl
A2	B2	C2	3,4,5-trimethoxyphenyl
A3	B3	C3	3-methoxy-4-hydroxyphenyl
A4	B4	C4	3-ethoxy-4-hydroxyphenyl
A5	B5	C5	2,3-dihydroxyphenyl
A6	B6	C6	3,4-dihydroxyphenyl
A7	B7	C7	4-hydroxyphenyl
A8	B8	C8	4-ethoxyphenyl
A9	B9	C9	2-hydroxy-5-bromophenyl

วิธีการทดลอง

การสังเคราะห์สาร

สังเคราะห์สารอนุพันธ์ benzohydrazides A1-A9, B1-B9 และ C1-C9 โดยปฏิกิริยา condensation ระหว่าง benzoylhydrazines และ benzaldehydes ที่เกี่ยวข้องดังปฏิกิริยา โดยมีการปรับเปลี่ยนเงื่อนไขและสถานะในการทำปฏิกิริยาทั้งอุณหภูมิ เวลา และอื่น ๆ ตามความเหมาะสมเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการ โดย A1-A9 ใช้ 4-hydroxybenzoyl hydrazine และ B1-B9 ใช้ 4-methoxybenzoyl hydrazine และ C1-C9 ใช้ 4-bromobenzoyl hydrazine



Scheme 11 การสังเคราะห์สารอนุพันธ์ benzohydrazides A1-A9, B1-B9 และ C1-C9

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียอาศัยวิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธี Colorimetric microdilution broth assay ซึ่งสามารถทำให้ตรวจสอบคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้อย่างรวดเร็ว และใช้สารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบในปริมาณที่น้อยมากเมื่อเทียบกับการทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยใช้วิธี Disk diffusion assay และยังสามารถทดสอบสารตัวอย่างได้หลาย ๆ ตัวอย่างพร้อม ๆ กัน อันจะส่งผลให้การแยกและคัดเลือกสารที่ต้องการสามารถทำได้โดยสะดวก รวดเร็วและมีความแม่นยำมากขึ้น โดยทำการทดสอบฤทธิ์ของสารในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคหรือเกี่ยวข้องการกับการเกิดโรคทั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวก และแกรมลบ 7 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก 4 สายพันธุ์ คือ *B. subtilis* (BA), *S. aureus* (SA), Methicillin-Resistant *S. aureus* (MRSA) และ *E. faecalis* (EF) และแบคทีเรียแกรมลบ 3 สายพันธุ์ คือ *P. aeruginosa* (PA), *S. typhi* (ST) และ *S. sonnei* (SS)

หมายเหตุ

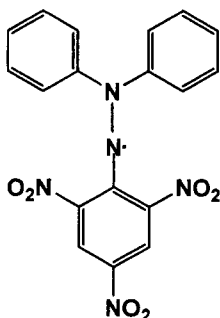
- การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ได้รับความอนุเคราะห์และร่วมมือจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัครวิทย์ กาญจน โอภาส และ นายธีรศักดิ์ อนันตพงษ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ร่วมกับผู้ช่วยวิจัยในโครงการในการทำการทดสอบฤทธิ์
- โดยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* (ได้รับเชื้อจากภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์) เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (ได้รับเชื้อจาก ศูนย์จุลินทรีย์กรุงเทพ (Bangkok MIRCEN) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) เชื้อแบคทีเรีย *S. faecalis*, *S. typhi*, *S. sonnei* และ *P. Aeruginosa* (ได้รับเชื้อจาก ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์)
- วิธีการทดสอบตามเอกสารอ้างอิง Kanjana-Opas, A., 2002. New antifungal compounds from marine Fungi. Ph.D. Thesis, University of California, San Diego.
- สารมาตรฐาน คือ Vancomycin

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (แสดงหน่วยเป็น IC_{50}) ด้วยวิธี DPPH assay (Molyneux, 2004) และ วิธี ABTS (Thaipong *et al.*, 2006)

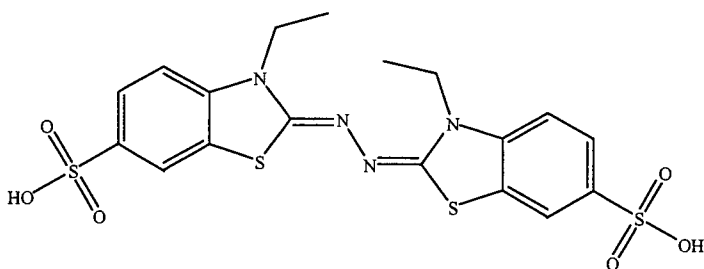
- DPPH• เป็นสารที่อยู่ในรูป nitrogen radical มีสีม่วงเข้ม นิยมใช้ในการทดสอบการให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนอะตอมของสารตัวอย่าง โดยการสังเกตค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของ DPPH• ที่ความยาวคลื่น

ในช่วง 492 nm ที่ลดลงโดยสารตัวอย่างที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะทำให้สารละลาย DPPH• เปลี่ยนจากสารละลายสีม่วงเป็นสารละลายสีเหลือง



2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical)

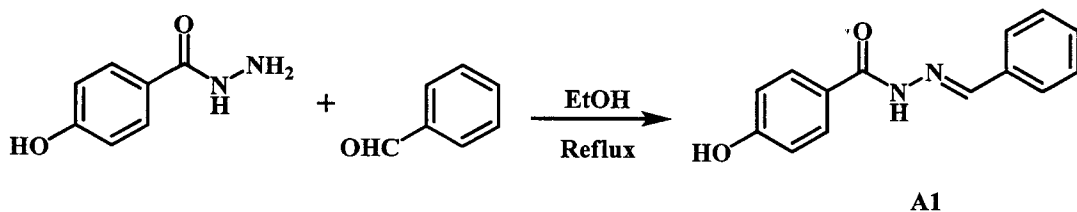
- ABTS assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยใช้ 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazole-6-sulfonic acid) มาทำให้อยู่ในรูปอนุมูลอิสระ โดยถูกออกซิไดซ์ด้วย Potassium persulphate ประมาณ 14-17 ชั่วโมง ให้กลายเป็น ABTS cation radical (ABTS⁺) ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีสีฟ้า-เขียว มีความยาวคลื่นสูงสุดในช่วง 660, 734, 820 nm แต่จะนิยมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 และ 734 nm โดยสารตัวอย่างจะทำให้สารละลาย ABTS⁺ เปลี่ยนจากสีฟ้า-เขียวเป็นสารละลายไม่มีสี



2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazole-6-sulfonic acid)

ผลการทดลอง

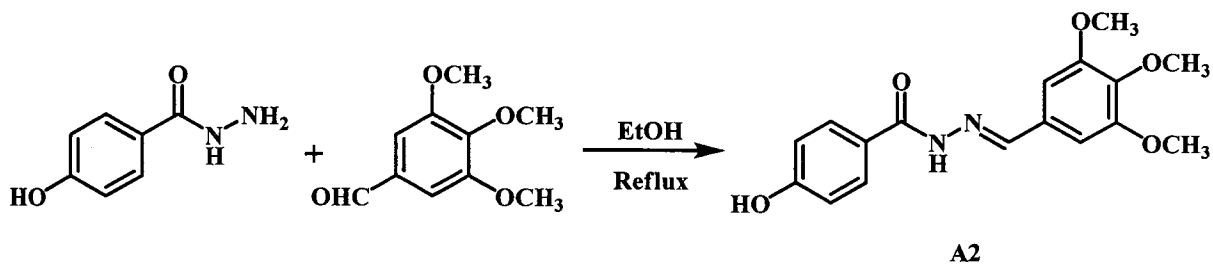
Series A

1. (*E*)-*N'*-benzylidene-4-hydroxybenzohydrazide (A1)

(*E*)-*N'*-benzylidene-4-hydroxybenzohydrazide (A1) เตรียมได้จากละลาย

4-hydroxybenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.30 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย benzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.20 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 210-211 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 218, 300, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3070-3300 (O-H stretching), 3055 (Ar-H stretching), 1617 (asymmetric 2° amide stretching), 1605 (C=C stretching), 1551 (symmetric 2° amide stretching), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.62 (1H, *s*), 8.42 (1H, *s*), 7.80 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 6.86 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 7.71 (2H, *d*, *J* = 6.0 Hz), 7.47 (2H, *d*, *J* = 6.0 Hz), 7.43 (2H, *t*, *J* = 4.8 Hz)

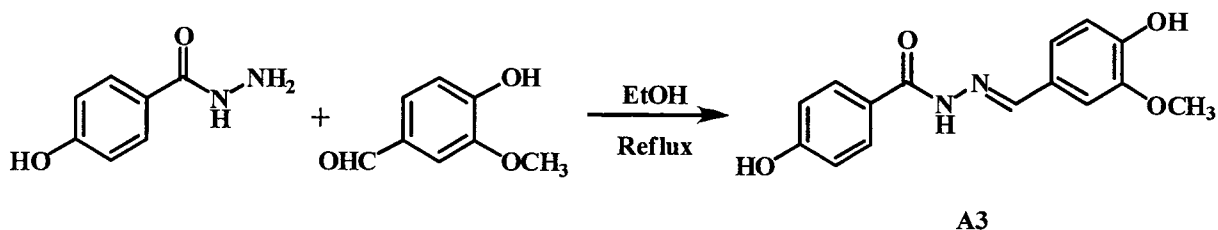
2. (*E*)-*N'*-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A2)

(*E*)-*N'*-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A2) เตรียมได้จากละลาย 4-hydroxybenzohydrazide (1 มิลลิโมล, 0.15 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde (1 มิลลิโมล, 0.19 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1

มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

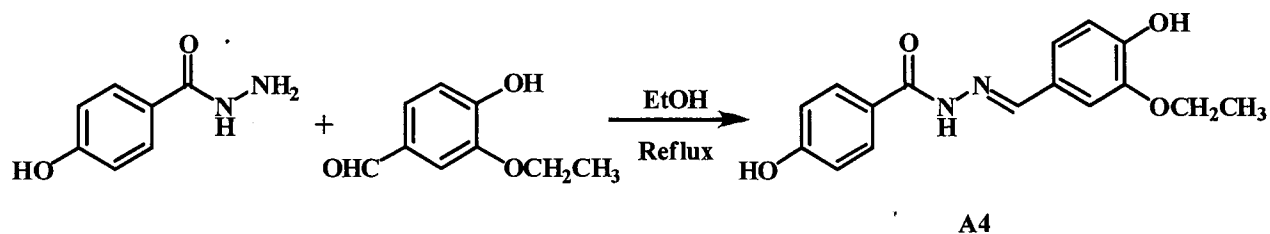
ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 259-260 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 214, 316, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3300 (O-H stretching), 3121 (N-H stretching), 2942 (Ar-H stretching), 1641 (asymmetric 2° amide stretching), 1606 (C=C stretching), 1578 (symmetric 2° amide stretching), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.62 (1H, *s*), 8.35 (1H, *s*), 7.79 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 6.81 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 7.00 (2H, *s*), 2.94 (3H, *s*), 3.83 (6H, *s*)

3. (*E*)-*N'*-(3-hydroxy-4-methoxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A3)



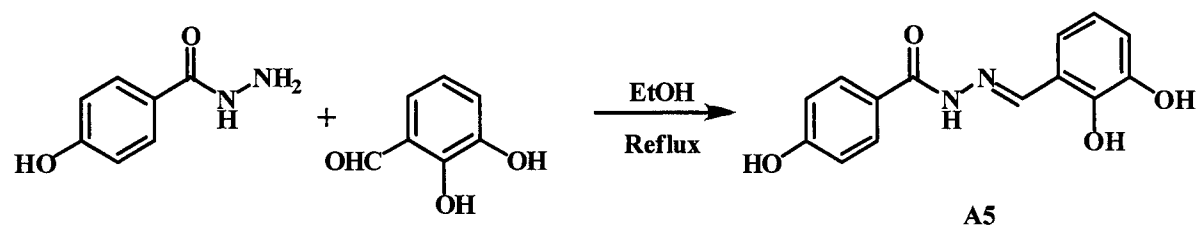
(*E*)-*N'*-(3-methoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A3) เตรียมได้จากละลาย 4-hydroxybenzohydrazide (1 มิลลิโมล, 0.15 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 3-methoxy-4-hydroxybenzaldehyde (1 มิลลิโมล, 0.15 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 243-244 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 209, 325, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3292 (O-H stretching), 3222 (N-H stretching), 2937-2966 (Ar-H stretching), 1629 (asymmetric 2° amide stretching), 1607 (C=C stretching), 1575 (symmetric 2° amide stretching), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.46 (1H, *s*), 8.27 (1H, *s*), 7.78 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 6.85 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 7.25 (1H, *s*), 7.03 (1H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 7.03 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 3.80 (3H, *s*), 10.11 (1H, *s*), 9.30 (1H, *s*)

4. (*E*)-*N'*-(3-ethoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A4)

(*E*)-*N'*-(3-ethoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A4) เตรียมได้จากละลาย 4-hydroxybenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.30 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 3-ethoxy-4-hydroxybenzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.32 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 120-121 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 210, 326, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3268 (O-H stretching), 2936-2980 (Ar-H stretching), 1603 (C=C stretching), 1586 (symmetric 2° amide stretching), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.43 (1H, s), 8.29 (1H, s), 7.78 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 6.84 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 7.28 (1H, s), 7.05 (1H, *d*, *J* = 8.1 Hz), 6.85 (1H, *d*, *J* = 8.1 Hz), 4.06 (*q*, *J* = 6.9 Hz), 1.34 (*t*, *J* = 7.2 Hz), 10.09 (1H, s), 9.44 (1H, s)

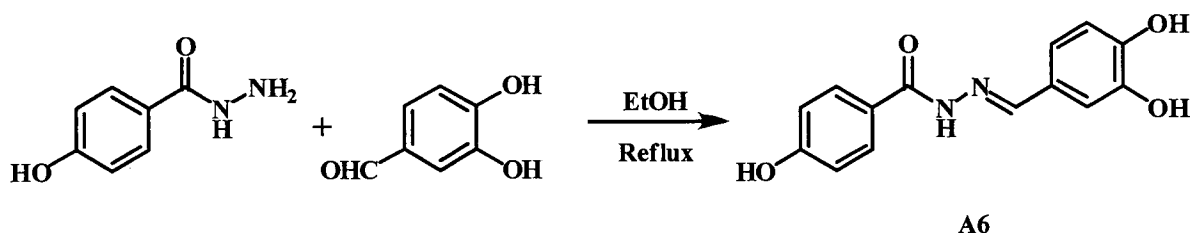
5. (*E*)-*N'*-(2,3-dihydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A5)

(*E*)-*N'*-(2,3-dihydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A5) เตรียมได้จากละลาย 4-hydroxybenzohydrazide (1 มิลลิโมล, 0.15 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 2,3-dihydroxybenzaldehyde (1 มิลลิโมล, 0.14 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีน้ำตาล, จุดหลอมเหลว 246-247 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 211, 326, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3257 (O-H stretching), 1615 (asymmetric 2° amide stretching), 1558 (C=C

stretching), 1512 (symmetric 2° amide stretching), $^1\text{H NMR}$ (d_6 -DMSO/TMS) δ , ppm: 11.92 (1H, *s*), 8.53 (1H, *s*), 7.16 (2H, *d*, $J = 8.7$ Hz), 6.75 (2H, *d*, $J = 8.7$ Hz), 6.92 (1H, *d*, $J = 7.5$ Hz), 6.45 (1H, *d*, $J = 7.5$ Hz), 6.74 (1H, *t*, $J = 7.5$ Hz)

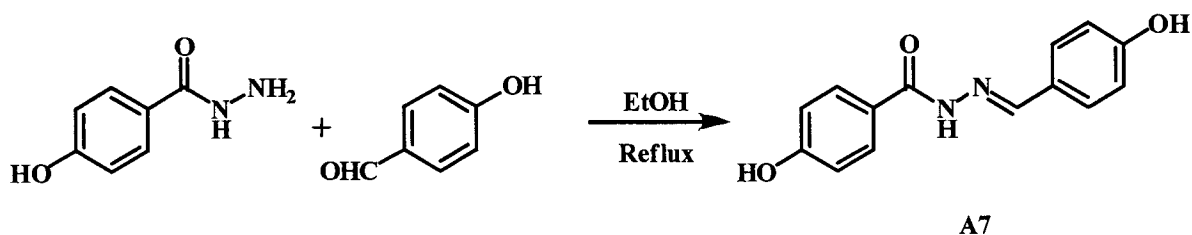
6. *E*-*N'*-(3,4-dihydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A6)



(*E*-*N'*-(3,4-dihydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A6) เตรียมได้จากละลาย 4-hydroxybenzohydrazide (1 มิลลิโมล, 0.15 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 3,4-dihydroxybenzaldehyde (1 มิลลิโมล, 0.14 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 143-144 °C, UV-Vis (CH_3OH) λ_{max} (nm): 213, 331, FT-IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3304 (O-H stretching), 1615 (asymmetric 2° amide stretching), 1589 (C=C stretching), 1506 (symmetric 2° amide stretching), $^1\text{H NMR}$ (d_6 -DMSO/TMS) δ , ppm: 11.39 (1H, *s*), 8.22 (1H, *s*), 7.77 (2H, *d*, $J = 8.4$ Hz), 6.84 (2H, *d*, $J = 8.4$ Hz), 7.22 (1H, *s*), 6.90 (1H, *d*, $J = 8.1$ Hz), 6.77 (1H, *d*, $J = 8.1$ Hz), 10.10 (1H, *s*), 9.32 (1H, *s*)

7. (*E*-*N'*-(4-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A7)

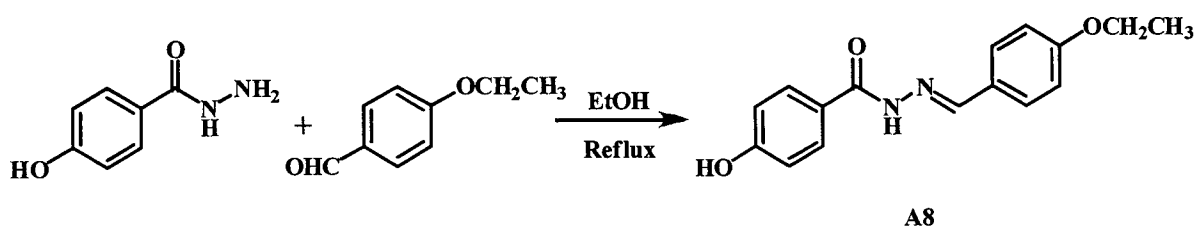


(*E*-*N'*-(4-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A7) เตรียมได้จากละลาย 4-hydroxybenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.30 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 4-hydroxybenzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.24 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก

1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 250-251 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 216, 316, FT-IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3238 (O–H stretching), 1631 (asymmetric 2° amide stretching), 1604 (C=C stretching), 1509 (symmetric 2° amide stretching), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.44 (1H, *s*), 8.32 (1H, *s*), 7.78 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 6.83 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 7.53 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 6.85 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz)

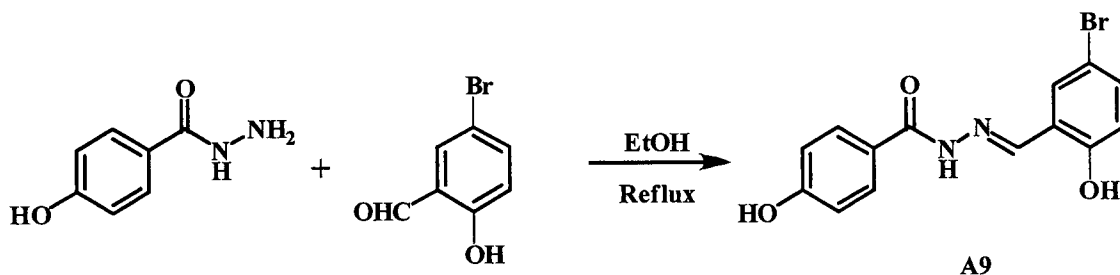
8. (*E*)-*N'*-(4-ethoxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A8)



(*E*)-*N'*-(4-ethoxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A8) เตรียมได้จากละลาย 4-hydroxybenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.30 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 4-ethoxybenzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.27 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 189-190 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 218, 316, FT-IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3152-3265 (N–H stretching), 2927 (Ar–H stretching), 1625 (asymmetric 2° amide stretching), 1604 (C=C stretching), 1573 (symmetric 2° amide stretching), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.50 (H, *s*), 8.36 (1H, *s*), 7.79 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 6.99 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 7.64 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 6.85 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 4.10 (*q*, *J* = 6.9 Hz), 1.34 (*t*, *J* = 6.9 Hz)

9. (*E*)-*N'*-(5-bromo-2-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A9)

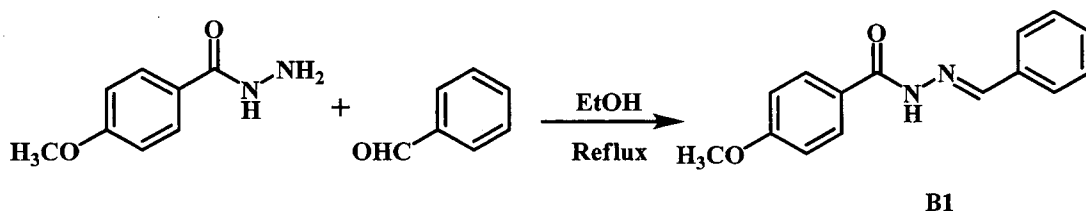


(*E*)-*N'*-(5-bromo-2-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide (A6) เตรียมได้จากละลาย 4-hydroxybenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.30 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 5-bromo-2-hydroxybenzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.40 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 255-256 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 219, 293, 300, 337, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3259-3303 (O-H stretching), 1656 (asymmetric 2° amide stretching), 1608 (C=C stretching), 1589 (symmetric 2° amide stretching), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.41 (1H, *s*), 8.56 (1H, *s*), 7.82 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 6.87 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 6.90 (1H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 7.41 (1H, *dd*, *J* = 8.4, 2.4 Hz), 7.76 (1H, *s*), 10.19 (1H, *s*)

Series B

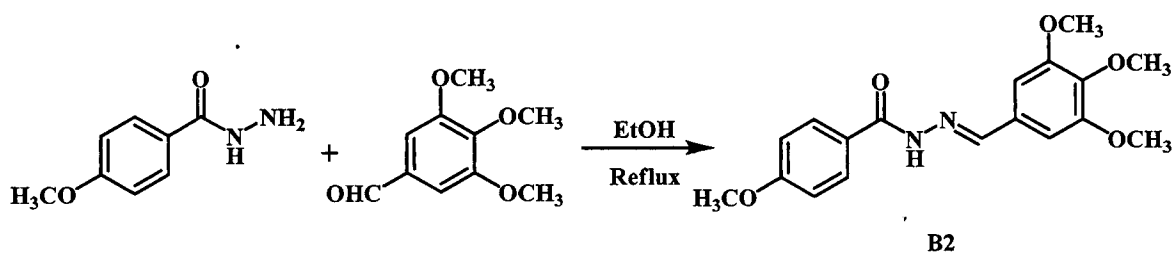
1. (*E*)-*N'*-benzylidene-4-methoxybenzohydrazide (B1)



ละลาย 4-methoxybenzohydrazide (0.33 กรัม, 2 มิลลิโมล) ด้วย เอทานอล 10 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ค่อยๆเติม benzaldehyde (0.2 มิลลิลิตร, 2 มิลลิโมล) เติม เอทานอล อีก 10 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ แต่ไม่มีตะกอนเกิดขึ้นขณะทำการทดลองจึงตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห์พบว่า มีตะกอนเกิดขึ้น นำตะกอนที่ได้กรองด้วยกรองลดความดันล้าง ตะกอนด้วยเอทานอล ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 202-203 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 214, 302, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3449 (OH stretching), 3200 (NH stretching), 3031 (Ar-H stretching), 1629 (C=O stretching), 1605 (NH bending), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.74 (1H, *s*), 8.45 (1H, *s*), 7.92 (2H, *d*, *J*=8.7 Hz), 7.73 (2H, *d*, *J*=5.77 Hz), 7.46 (3H, *m*), 7.07 (2H, *d*, *J*=8.7 Hz), 3.84 (3H, *s*)

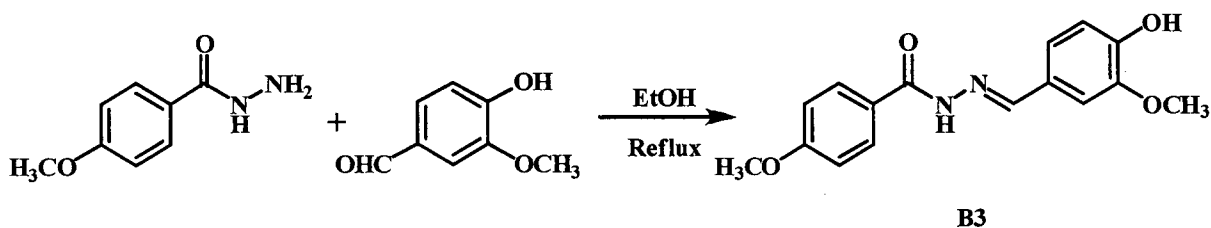
2. *E*-*N'*-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)-4-methoxybenzohydrazide (B2)



4-methoxybenzhydrazide (0.33 กรัม, 2 มิลลิโมล) ละลายด้วย เอทานอล 10 มิลลิลิตรในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ค่อยๆเติม (0.39 กรัม, 2 มิลลิโมล) ของ 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde ซึ่งละลายด้วยเอทานอล 10 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ แต่พบว่าไม่เกิดตะกอนขณะทำการทดลองจึงตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ พบว่าไม่มีตะกอนเกิดขึ้นจึงนำไประเหยแบบลดความดันและได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 191-192 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 212, 327, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3448 (OH stretching), 3222 (NH stretching), 1638 (C=O stretching), 1606 (NH bending), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.74 (1H,*s*), 8.36 (1H,*s*), 7.90 (2H, *d*, *J*=8.7 Hz), 7.06(2H, *d*, *J*=8.7 Hz), 7.04 (2H,*s*), 3.83 (3H,*s*), 3.70 (9H,*s*)

3. *E*-*N'*-(3-methoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-methoxybenzohydrazide (B3)

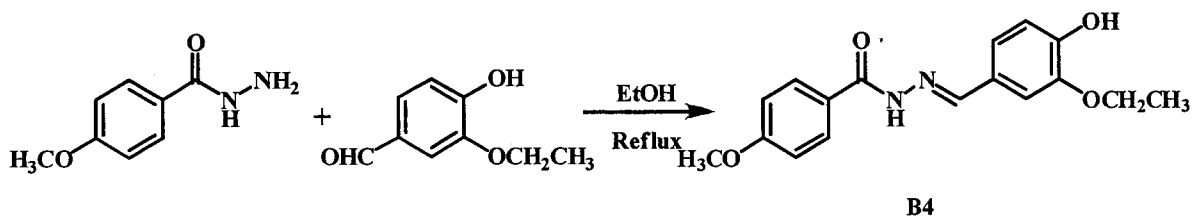


4-methoxybenzhydrazide (0.33 กรัม, 2 มิลลิโมล) ละลายด้วย เอทานอล 10 มิลลิลิตรในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ค่อยๆเติม (0.30 กรัม, 2 มิลลิโมล) ของ 3-methoxy-4-hydroxybenzaldehyde ซึ่งละลายด้วยเอทานอล 10 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ แต่พบว่าไม่เกิดตะกอนขณะทำการทดลองจึงตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห์พบว่าไม่มีตะกอนเกิดขึ้นจึงนำไประเหยแบบลดความดันและได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 218-219 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 212, 259, 325, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3518 (OH stretching), 3245 (NH stretching), 3060 (Ar-H stretching), 1651 (C=O stretching), 1607 (NH bending), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 9.33 (1H, *s*), 8.28 (1H,

s), 7.89 (2H, *d*, $J=8.7$ Hz), 7.27 (1H, *s*), 7.05 (2H, *d*, $J=8.7$ Hz), 6.98 (1H, *d*, $J=8.7$ Hz), 6.95 (1H, *d*, $J=8.7$ Hz), 3.83 (3H, *s*), 3.80 (3H, *s*)

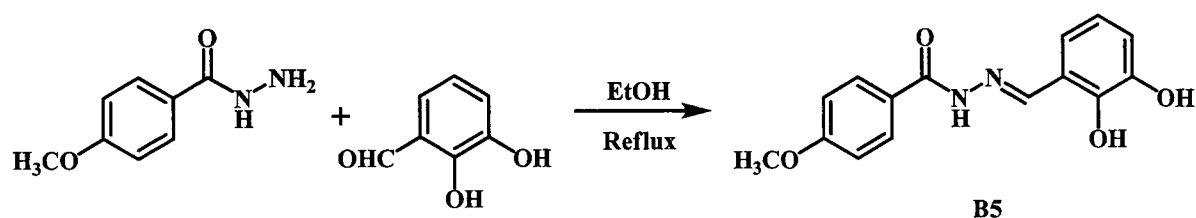
4. (*E*)-*N'*-(3-ethoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-methoxybenzohydrazide (B4)



4-methoxybenzhydrazide (0.33 กรัม, 2 มิลลิโมล) ละลายด้วย เอทานอล 10 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ค่อยๆเติม (0.33 มิลลิลิตร, 2 มิลลิโมล) ของ 3-ethoxy-4-hydroxybenzaldehyde ซึ่งละลายด้วยเอทานอล 10 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ เป็นเวลา 5 ชั่วโมง พบว่าปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ มีตะกอนเกิดขึ้นขณะทำการทดลอง ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน นำของผสมที่ได้กรองลดความดันล้างตะกอนด้วยเอทานอล และตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 213-214 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 211, 327, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3394 (OH stretching), 3231 (NH stretching), 1641 (C=O stretching), 1609 (NH bending), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.56 (1H, *s*), 8.31 (1H, *s*), 7.90 (2H, *d*, $J=8.7$ Hz), 7.31 (1H, *d*, $J=8.1$ Hz), 7.06 (2H, *d*, $J=8.7$ Hz), 6.85 (1H, *d*, $J=8.1$ Hz), 4.07 (2H, *q*, $J=6.9$ Hz), 3.83 (3H, *s*), 1.38 (3H, *t*, $J=6.9$ Hz)

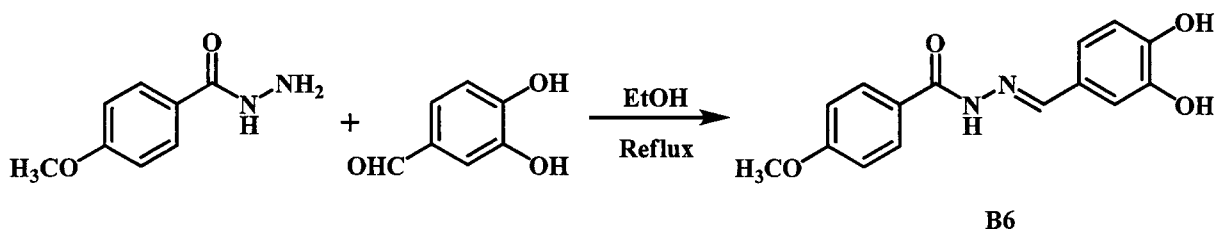
5. (*E*)-*N'*-(2,3-dihydroxybenzylidene)-4-methoxybenzohydrazide (B5)



4-methoxybenzhydrazide (0.33 กรัม, 2 มิลลิโมล) ละลายด้วย เอทานอล 10 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ค่อยๆเติม (0.28 กรัม, 2 มิลลิโมล) ของ 2,3-dihydroxybenzaldehyde ซึ่งละลายด้วยเอทานอล 10 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ เป็นเวลา 5 ชั่วโมง พบว่าปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ มีตะกอนเกิดขึ้นขณะทำการทดลอง ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน นำของผสมที่ได้กรองลดความดันล้างตะกอนด้วยเอทานอลและตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีเหลือง, จุดหลอมเหลว 229-230 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 214, 303, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3420 (OH stretching), 3287 (NH stretching), 3094 (Ar-H stretching), 1642 (C=O stretching), 1608 (NH bending), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.26 (1H, *s*), 8.57 (1H, *s*), 7.93 (2H, *d*, *J*=8.7 Hz), 7.08 (2H, *d*, *J*=8.7 Hz), 6.95 (1H, *dd*, *J*=7.5, 1.5 Hz), 6.86 (1H, *dd*, *J*=7.6, 1.5 Hz), 3.84 (3H, *s*)

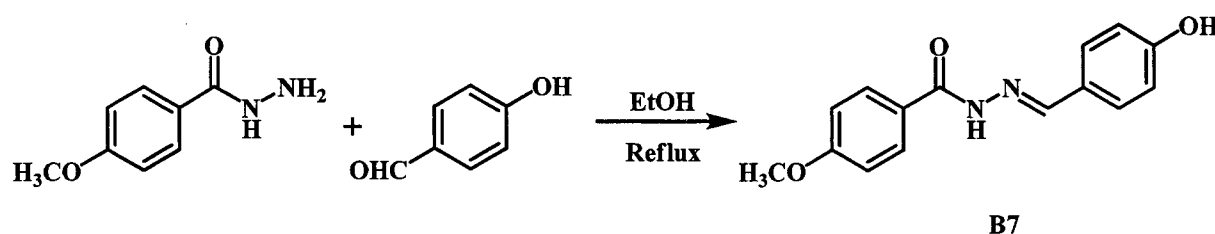
6. *E*-*N'*-(3,4-dihydroxybenzylidene)-4-methoxybenzohydrazide (B6)



4-methoxybenzhydrazide (0.33 กรัม, 2 มิลลิโมล) ละลายด้วย เอทานอล 10 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ค่อยๆเติม (0.28 กรัม, 2 มิลลิโมล) ของ 3,4-dihydroxybenzaldehyde ซึ่งละลายด้วยเอทานอล 10 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ แต่พบว่าไม่เกิดตะกอนขณะทำการทดลองจึงตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห์พบว่าไม่มีตะกอนเกิดขึ้นจึงนำไประเหยแบบลดความดันได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีเหลือง

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีเหลือง, จุดหลอมเหลว 239-240 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 212, 363, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3292 (OH และ NH stretching), 1604 (C=O stretching และ NH bending), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.50 (1H, *s*), 8.24 (1H, *s*), 7.88 (2H, *d*, *J*=8.7 Hz), 7.23 (1H, *s*), 7.04 (2H, *d*, *J*=8.7 Hz), 6.93 (1H, *d*, *J*=8.1Hz), 6.74 (1H, *d*, *J*=8.1Hz), 3.84 (3H, *s*)

7. *E*-*N'*-(4-hydroxybenzylidene)-4-methoxybenzohydrazide (B7)

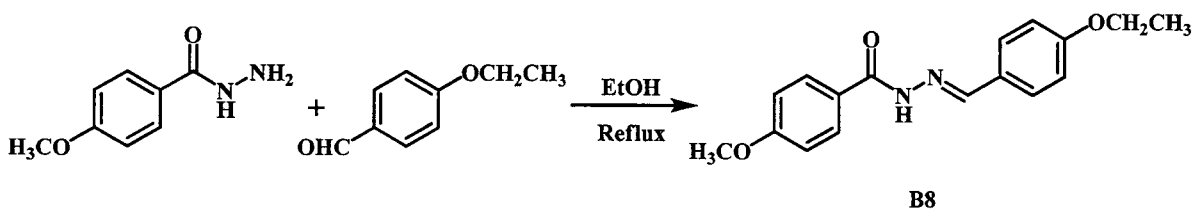


(*E*-*N'*-(3-hydroxy-4-methoxybenzylidene)-4-methoxybenzohydrazide (B7) เตรียมได้จาก ละลาย 4-methoxybenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.33 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย

4-hydroxybenzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.24 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 289-290 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 208, 324, FT-IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3421 (O-H stretching), 3210 (NH stretching), 1647 (C=O stretching), 1606 (C=N stretching), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.54 (1H, s), 9.93 (1H, s), 8.33 (1H, s), 7.90 (2H, d, *J*=8.7 Hz), 7.56 (2H, d, *J*=8.4 Hz), 7.06 (2H, d, *J*=8.7 Hz), 6.85 (2H, d, *J*=8.4 Hz), 3.83 (3H, s)

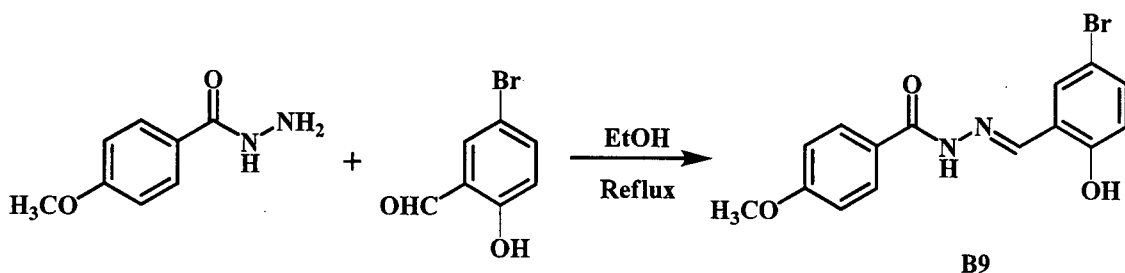
8. (*E*)-*N'*-(4-ethoxybenzylidene)-4-methoxybenzohydrazide (B8)



4-methoxybenzohydrazide (0.33 กรัม, 2 มิลลิโมล) ละลายด้วย เอทานอล 10 มิลลิลิตรในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ค่อยๆเติม (0.30 มิลลิลิตร, 2 มิลลิโมล) ของ 4-ethoxybenzaldehyde ซึ่งละลายด้วยเอทานอล 10 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ มีตะกอนเกิดขึ้นขณะทำการทดลอง ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน นำของผสมที่ได้กรองลดความดันล้างตะกอนด้วยเอทานอลและตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 181-182 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 215, 316, FT-IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3425 (OH stretching), 3291 (NH stretching), 3101 (Ar-H stretching), 1644 (C=O stretching), 1606 (NH bending), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.60(1H, s), 8.37(1H, s), 7.90 (2H, d, *J*=8.7 Hz), 7.65(2H, d, *J*=8.4Hz), 7.05(2H, d, *J*=8.7 Hz), 6.99(2H, d, *J*=8.4Hz), 4.08(2H, q, *J*=6.9Hz), 3.83(3H, s), 1.34(3H, t, *J*=6.9Hz)

9. (*E*)-*N'*-(5-bromo-2-hydroxybenzylidene)-4-methoxybenzohydrazide (B9)

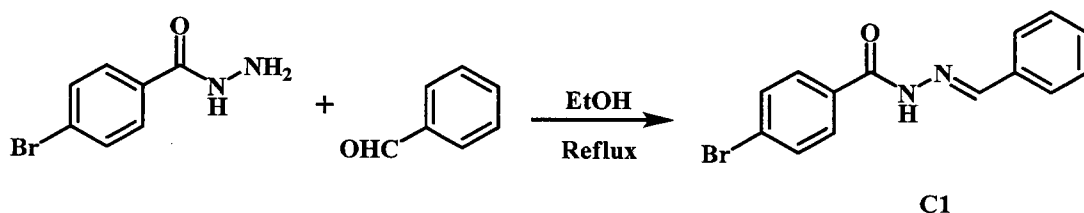


4-methoxybenzhydrazide (0.33 กรัม, 2 มิลลิโมล) ละลายด้วย เอทานอล 10 มิลลิลิตรในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ค่อยๆเติม (0.40 กรัม, 2 มิลลิโมล) ของ 5-bromo-2-hydroxybenzaldehyde ซึ่งละลายด้วยเอทานอล 10 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ เป็นเวลา 5 ชั่วโมง พบว่าปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ มีตะกอนเกิดขึ้นขณะทำการทดลอง ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน นำของผสมที่ได้กรองลดความดันล้างตะกอนและตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 207-208 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 217, 243, 290, 301, 338, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3498 (OH stretching), 3221 (NH stretching), 3045 (Ar-H stretching), 1647 (C=O stretching), 1608 (NH bending), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.38 (1H, *s*), 8.60 (1H, *s*), 7.94 (2H, *d*, *J*=8.7 Hz), 7.78 (1H, *d*, *J*=1.8 Hz), 7.43 (1H, *dd*, *J*=8.85, 2.0 Hz), 7.08 (2H, *d*, *J*=8.7 Hz), 6.91 (1H, *d*, *J*=8.7 Hz), 3.85 (3H, *s*)

Series C

1. (*E*)-*N'*-benzylidene-4-bromobenzohydrazide (C1)

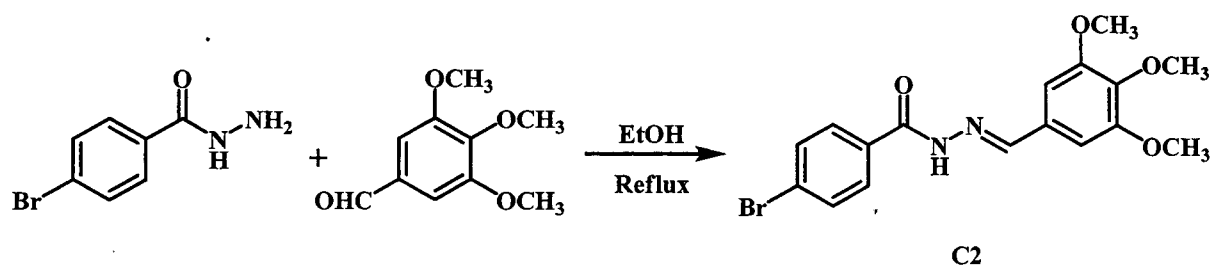


(*E*)-*N'*-benzylidene-4-bromobenzohydrazide (C1) เตรียมได้จากละลาย

4-bromobenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.43 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย benzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.20 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 100-101 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 249, 306, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹) 3176 (N-H stretching), 3023-3052 (Ar-H stretching), 1639 (asymmetric 2° amide stretching), 1606 (C=C stretching), 1553 (symmetric 2° amide stretching), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.92 (1H, *s*), 8.45 (1H, *s*), 7.88 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 7.75 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 7.46 (3H, *m*), 7.75 (2H, *d*, *J* = 8.1 Hz)

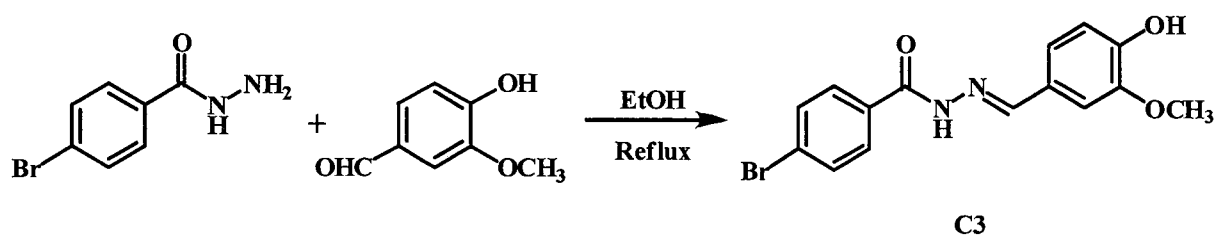
2. *E*-*N'*-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C2)



E-*N'*-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C2) เตรียมได้จากละลาย 4-bromobenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.43 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.39 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 193-194 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 242, 323, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3212 (N-H stretching), 3059 (Ar-H), 1641 (asymmetric 2° amide stretching), 1575 (C=C stretching), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.92 (1H, s), 8.37 (1H, s), 7.86 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.75 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.05 (2H, s), 3.71 (3H, s), 3.84 (6H, s)

3. *E*-*N'*-(3-methoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C3)

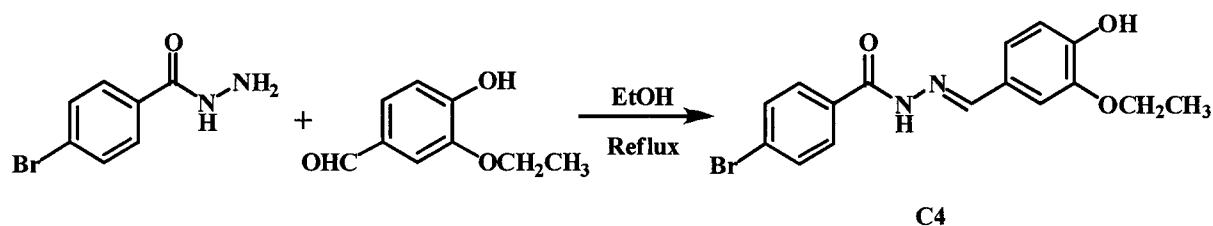


E-*N'*-(3-methoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C3) เตรียมได้จากละลาย 4-bromobenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.43 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 3-methoxy-4-hydroxybenzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.30 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 178-179 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 241, 326, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3441 (O-H stretching), 3277 (N-H stretching), 2920-2925 (Ar-H)

stretching), 1647 (asymmetric 2° amide stretching), 1591 (C=C stretching), 1514 (symmetric 2° amide stretching), $^1\text{H NMR}$ (d_6 -DMSO/TMS) δ , ppm: 11.73 (1H, *s*), 8.29 (1H, *s*), 7.85 (2H, *d*, $J = 8.4$ Hz), 7.74 (2H, *d*, $J = 8.4$ Hz), 7.27 (1H, *d*, $J = 1.8$ Hz), 6.97 (1H, *d*, $J = 8.4$ Hz), 7.50 (1H, *d*, $J = 8.4$ Hz), 3.41 (3H, *s*), 9.32 (1H, *s*)

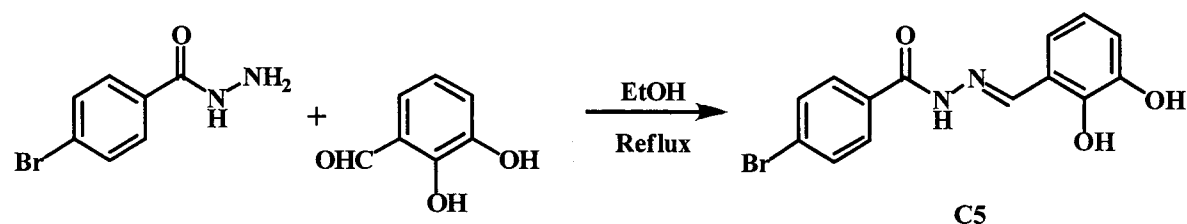
4. 8 (*E*)-*N'*-(3-ethoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C4)



(*E*)-*N'*-(3-ethoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C4) เตรียมได้จากละลาย 4-bromobenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.43 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 3-ethoxy-4-hydroxybenzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.32 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 136-137 °C, UV-Vis (CH_3OH) λ_{max} (nm): 324, 328, FT-IR (KBr) ν (cm^{-1}): 3422 (O-H stretching), 3215 (N-H stretching), 3050 (Ar-H stretching), 1645 (asymmetric 2° amide stretching), 1598 (C=C stretching), 1518 (symmetric 2° amide stretching), $^1\text{H NMR}$ (d_6 -DMSO/TMS) δ , ppm: 11.72 (1H, *s*), 8.31 (1H, *s*), 7.85 (2H, *d*, $J = 8.4$ Hz), 7.74 (2H, *d*, $J = 8.4$ Hz), 7.29 (1H, *s*), 7.08 (2H, *d*, $J = 8.1$ Hz), 6.85 (1H, *d*, $J = 8.1$ Hz), 4.80 (*q*, $J = 6.9$ Hz), 9.49 (1H, *s*), 41.43 (*q*, $J = 6.9$ Hz)

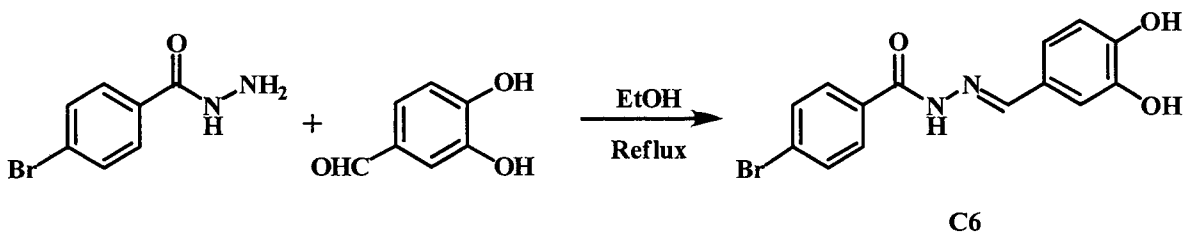
5. (*E*)-*N'*-(2,3-dihydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C5)



(*E*)-*N'*-(2,3-dihydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C5) เตรียมได้จากละลาย 4-bromobenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.43 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 2,3-dihydroxybenzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.27 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

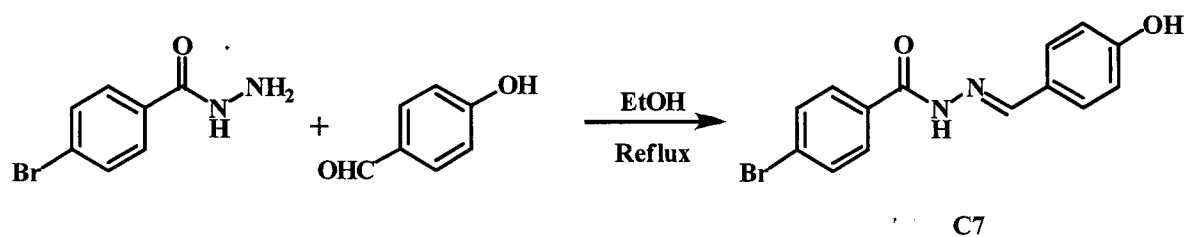
ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีน้ำตาล, จุดหลอมเหลว 235-236 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 238, 303, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3280 (N-H stretching), 3928-3063 (Ar-H stretching), 1665 (asymmetric 2° amide stretching), 1618 (C=C stretching), 1594 (symmetric 2° amide stretching), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.04 (1H, *s*), 8.59 (1H, *s*), 7.88 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 8.4 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 6.98 (1H, *dd*, *J* = 7.5, 1.2 Hz), 6.86 (1H, *dd*, *J* = 7.5, 1.2 Hz), 6.48 (1H, *t*, *J* = 7.5 Hz)

6. *E*-*N'*-(3,4-dihydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C6)



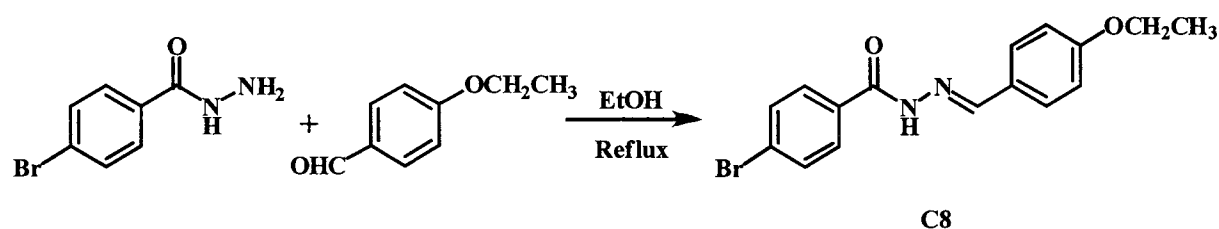
(*E*)-*N'*-(3,4-dihydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C6) เตรียมได้จากละลาย 4-bromobenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.43 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 3,4-dihydroxybenzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.27 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 239-240 °C (decompose), UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 238, 330, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3212-3349 (O-H stretching), 1648 (asymmetric 2° amide stretching), 1604 (C=C stretching), 1562 (symmetric 2° amide stretching), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.67 (1H, *s*), 8.25 (1H, *s*), 7.84 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 7.73 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 7.27 (1H, *s*), 6.78 (1H, *d*, *J* = 8.1 Hz), 6.93 (1H, *d*, *J* = 8.1 Hz), 9.35 (1H, *s*)

7. (*E*)-*N'*-(4-hydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C7)

(*E*)-*N'*-(4-hydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C7) เตรียมได้จากละลาย 4-bromobenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.43 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 4-hydroxybenzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.24 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีเหลือง, จุดหลอมเหลว 260-261 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 237, 325, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3033-3057 (Ar-H stretching), 1606 (C=C stretching), 1556 (symmetric 2° amide stretching), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.70 (1H, *s*), 8.33 (1H, *s*), 7.85 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 6.74 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz), 7.56 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 6.84 (2H, *d*, *J* = 8.7 Hz)

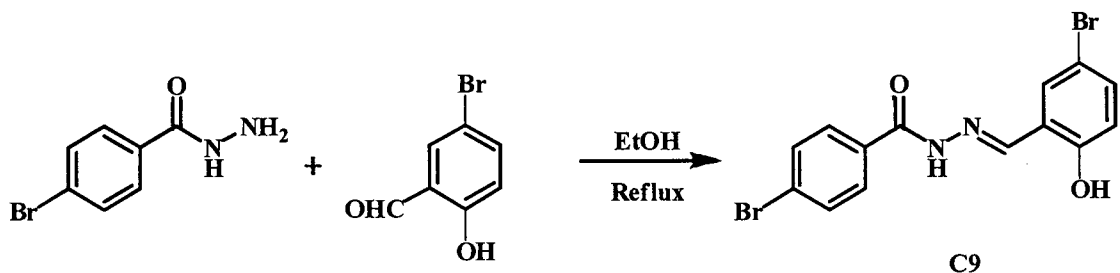
8. (*E*)-*N'*-(4-ethoxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C8)

(*E*)-*N'*-(4-ethoxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C8) เตรียมได้จากละลาย 4-bromobenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.43 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 4-ethoxybenzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.27 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 197-198 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 235, 323, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3258 (N-H stretching), 3078 (Ar-H stretching), 1651 (asymmetric 2° amide stretching), 1600 (C=C stretching), 1551 (symmetric 2° amide stretching), ¹H NMR (*d*₆-

DMSO/TMS) δ , ppm: 11.77 (1H, s), 8.38 (1H, s), 7.86 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.74 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.66 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.01 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 4.08 (q, $J = 6.9$ Hz), 1.34 (t, $J = 6.9$ Hz)

9. (*E*)-*N'*-(5-bromo-2-hydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C9)

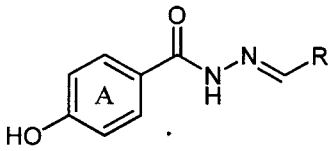


(*E*)-*N'*-(5-bromo-2-hydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (C9) เตรียมได้จากละลาย 4-bromobenzohydrazide (2 มิลลิโมล, 0.30 กรัม) ในเอทานอล 15 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 5-bromo-2-hydroxybenzaldehyde (2 มิลลิโมล, 0.40 มิลลิลิตร) ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร นำของผสมที่ได้ไปรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งสารละลายที่ได้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดันและนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยใช้ vacuum

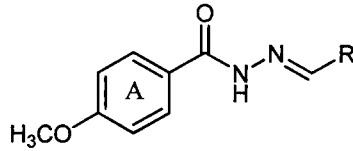
ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว, จุดหลอมเหลว 236-237 °C, UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 220, 251, 293, 345, FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3400 (O-H stretching), 3216 (N-H stretching), 3037 (Ar-H stretching), 1647 (asymmetric 2° amide stretching), 1604 (C=C stretching), 1590 (symmetric 2° amide stretching), ¹H NMR (*d*₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.23 (1H, s), 8.61 (1H, s), 7.89 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.77 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.90 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.43 (1H, dd, $J = 9.0, 2.7$ Hz), 7.81 (1H, d, $J = 2.7$ Hz)

การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

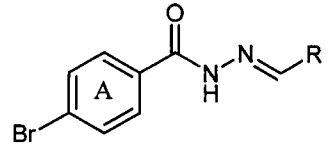
จากการศึกษาสมบัติการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารอนุพันธ์ benzohydrazides ทั้ง 27 สาร คือ A1-A9, B1-B9 และ C1-C9 ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 4 ชนิด คือ *B. subtilis*, *E. faecalis*, Methicillin-Resistant *S. aureus* (MRSA) และ *S. aureus* เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ 3 ชนิด คือ *P. aeruginos*, *S. sonnei* และ *S. typhi* ได้ผลดังตารางที่ 2-4 พบสารออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในระดับปานกลางถึงดีมากจำนวน 8 สาร คือ A4, A5, A9, B3, B5, B6, C5 และ C6



A



B



C

หมู่แทนที่ R ของสาร A1-A9, B1-B9 และ C1-C9

Compound	Compound	Compound	R
A1	B1	C1	phenyl
A2	B2	C2	3,4,5-trimethoxyphenyl
A3	B3	C3	3-hydroxy-4-methoxyphenyl
A4	B4	C4	3-ethoxy-4-hydroxyphenyl
A5	B5	C5	2,3-dihydroxyphenyl
A6	B6	C6	3,4-dihydroxyphenyl
A7	B7	C7	4-hydroxyphenyl
A8	B8	C8	4-ethoxyphenyl
A9	B9	C9	2-hydroxy-5-bromophenyl

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสาร A1-A9

No.	MIC ($\mu\text{g/mL}$)						
	Gram-positive bacteria				Gram-negative bacteria		
	<i>B. subtilis</i>	<i>E. faecalis</i>	MRSA*	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>S. typhi</i>
A1	300	75	300	-	150	-	300
A2	-	300	-	-	-	-	-
A3	150	-	-	-	75	-	75
A4	150	75	37.5	75	37.5	75	75
A5	9.375	37.5	37.5	75	9.375	75	18.75
A6	150	37.5	-	-	150	-	150
A7	150	-	-	-	37.5	-	150
A8	-	-	-	-	18.75	-	-
A9	18.75	-	-	-	4.68	-	37.5
Vancomycin	<2.34	4.68	<2.34	<2.34	<2.34	<2.34	<2.34

- No activity was observed up to 300 $\mu\text{g/mL}$

* Methicillin-Resistant *S. aureus* ATCC 43300

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสาร B1-B9

No.	MIC ($\mu\text{g/mL}$)							
	Gram-positive bacteria				Gram-negative bacteria			
	<i>B. subtilis</i>	<i>E. faecalis</i>	MRSA*	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>S. typhi</i>	
B1	-	-	-	-	-	-	-	
B2	-	-	-	-	-	-	-	
B3	37.5	300	300	300	37.5	-	37.5	
B4	-	-	-	-	-	-	-	
B5	4.68	-	-	-	4.68	150	4.68	
B6	75	150	150	300	75	150	18.75	
B7	75	-	-	-	150	-	75	
B8	-	-	-	-	-	-	-	
B9	-	-	-	-	-	-	-	
Vancomycin	<2.34	4.68	<2.34	<2.34	<2.34	<2.34	<2.34	

- No activity was observed up to 300 $\mu\text{g/mL}$

* Methicillin-Resistant *S. aureus* ATCC 43300

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสาร C1-C9

No.	MIC ($\mu\text{g/mL}$)							
	Gram-positive bacteria				Gram-negative bacteria			
	<i>B. subtilis</i>	<i>E. faecalis</i>	MRSA*	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>S. typhi</i>	
C1	-	-	-	-	-	-	-	
C2	150	37.5	150	-	-	-	-	
C3	75	-	150	-	37.5	-	75	
C4	-	-	-	75	-	-	-	
C5	4.68	18.75	18.75	75	4.68	75	4.68	
C6	37.5	-	75	-	37.5	75	37.5	
C7	-	-	-	-	-	-	-	
C8	-	-	-	-	-	-	-	
C9	-	-	-	-	-	-	-	
Vancomycin	<2.34	4.68	<2.34	<2.34	<2.34	<2.34	<2.34	

- No activity was observed up to 300 $\mu\text{g/mL}$

* Methicillin-Resistant *S. aureus* ATCC 43300

Bacteria strains

Gram-positive bacteria

- *Bacillus subtilis*
- *Enterococcus faecalis*
- *Staphylococcus aureus*
- Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

Gram-negative bacteria

- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Shigella sonnei*
- *Salmonella typhi*

โดยสาร B5 และ C5 ออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียในระดับดีมาก ส่วน A9 ออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียในระดับดี ในขณะที่สาร A4, A5, B3, B6 และ C6 ออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียในระดับปานกลาง โดยสารออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียในระดับที่น่าสนใจคือสาร B5 ออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียแบบมีความจำเพาะเจาะจงในระดับดีมากต่อเชื้อ *P. aeruginosa* และ *S. typhi* (4.68 µg/ml) ส่วนสาร C5 ออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียในระดับดีมากต่อเชื้อ *B. subtilis*, *P. aeruginosa* และ *S. typhi* (4.68 µg/ml) ส่วนสาร A9 ออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียในระดับดีต่อเชื้อ *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* (9.375 µg/ml)

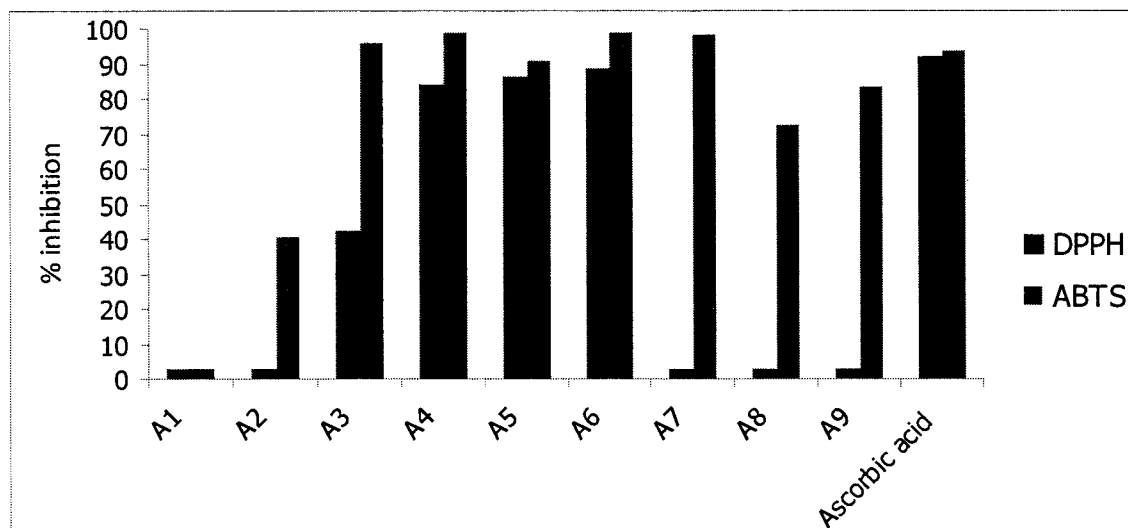
จากผลการทดสอบดังกล่าวทำให้ได้ว่าสาร B5 และ C5 ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของ 4-Methoxybenzohydrazide และ 4-Bromobenzohydrazide โดยมีหมู่ฟังก์ชันเป็น 2,3-dihydroxy ในโครงสร้างจะสามารถออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด แม้ว่า benzohydrazide จะเป็นหมู่ pharmacophore ที่ดีก็ตาม แต่การออกฤทธิ์ทางชีวภาพก็ขึ้นกับหมู่แทนที่บนวงแหวนทั้งสองวงอีกด้วย

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาสมบัติการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของสารอนุพันธ์ benzohydrazides ทั้ง 27 สาร คือ A1-A9, B1-B9 และ C1-C9 ได้ผลดังตารางที่ 5-7 และรูปที่ 1-3 พบสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS จำนวน 14 สาร โดยเป็นสารในกลุ่ม A จำนวน 7 สาร คือ A3-A9 ในกลุ่ม B จำนวน 2 สาร คือ B5 และ B6 ในกลุ่ม C จำนวน 5 สาร คือ C3-C7 จากผลการทดสอบพบว่าสารอนุพันธ์ 4-Hydroxybromobenzohydrazide และ 4-Bromobenzohydrazide ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าอนุพันธ์ 4-Methoxybenzohydrazide ยกเว้นเมื่อมีหมู่ฟังก์ชันเป็น 2,3-dihydroxy (B5) และ 3,4-dihydroxy (B6) นั่นคือเมื่อหมู่แทนที่บนวง A เป็นหมู่ OH และ Br จะให้ผลในการออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีกว่าเมื่อมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ OCH₃

ตารางที่ 5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS radical scavenging activity ของสาร A1-A9

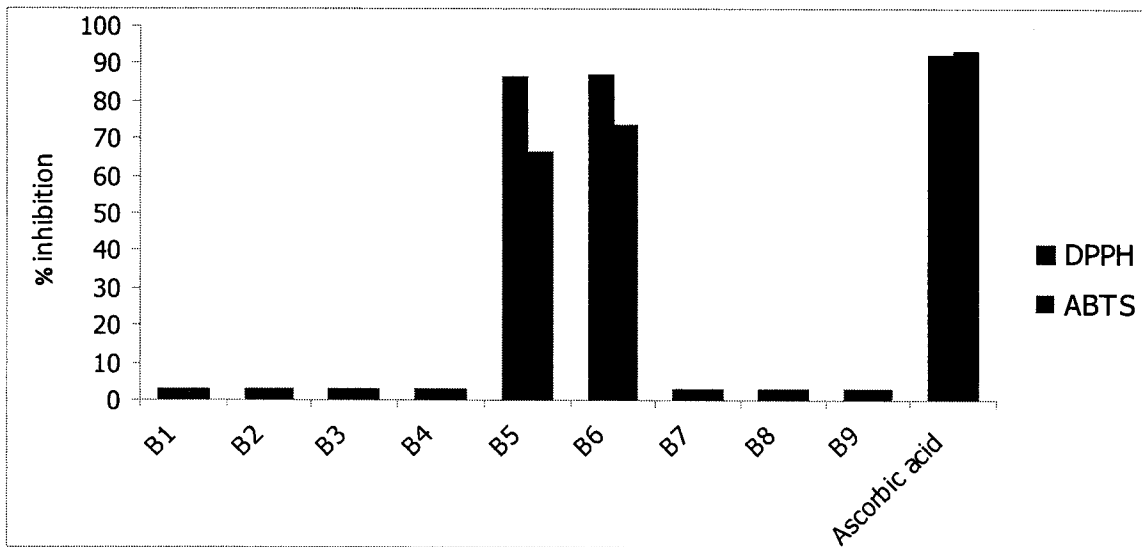
Compounds	DPPH % inhibition	ABTS % inhibition
A1	inactive	inactive
A2	inactive	40.41
A3	42.01	96.25
A4	83.75	98.97
A5	86.46	90.74
A6	88.82	99.09
A7	inactive	98.28
A8	inactive	72.39
A9	inactive	83.45
Ascorbic Acid	0.022±0.000	0.022±0.000



รูปที่ 1 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของสาร A1-A9 และสารมาตรฐาน Ascorbic acid

ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS radical scavenging activity ของสาร B1-B9

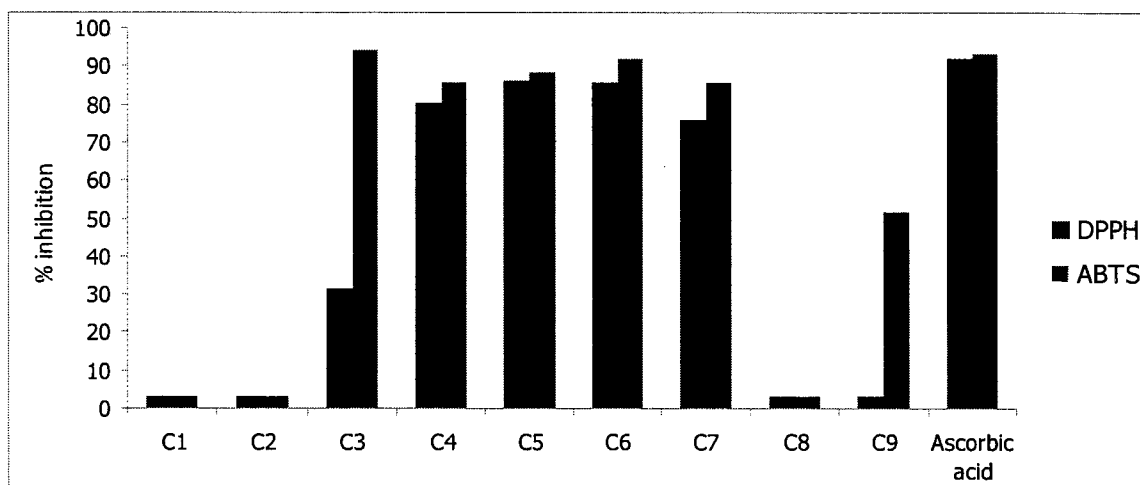
Compounds	DPPH % inhibition	ABTS % inhibition
B1	inactive	inactive
B2	inactive	inactive
B3	inactive	inactive
B4	inactive	inactive
B5	86.41	66.66
B6	86.97	73.53
B7	inactive	inactive
B8	inactive	inactive
B9	inactive	inactive
Ascorbic Acid	0.022±0.000	0.022±0.000



รูปที่ 2 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของสาร B1-B9 และสารมาตรฐาน Ascorbic acid

ตารางที่ 7ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS radical scavenging activity ของสาร C1-C9

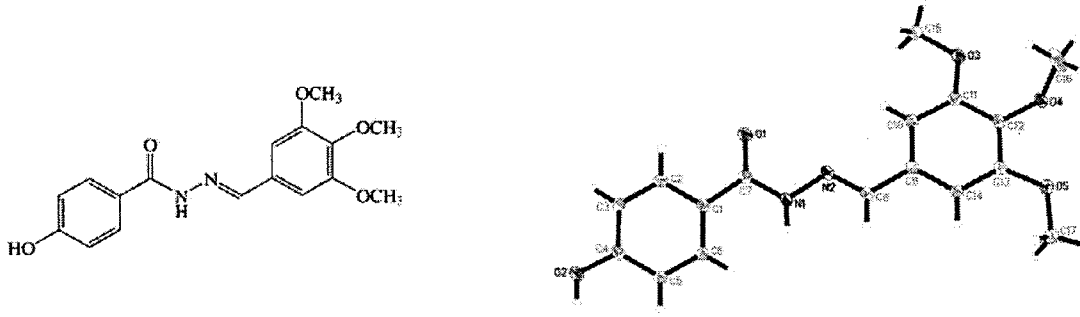
Compounds	DPPH % inhibition	ABTS % inhibition
C1	inactive	inactive
C2	inactive	inactive
C3	31.34	94.33
C4	80.35	85.74
C5	86.10	88.20
C6	85.48	92.07
C7	75.61	85.80
C8	inactive	inactive
C9	inactive	51.40
Ascorbic Acid	0.022±0.000	0.022±0.000



รูปที่ 3 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของสาร C1-C9 และสารมาตรฐาน Ascorbic acid

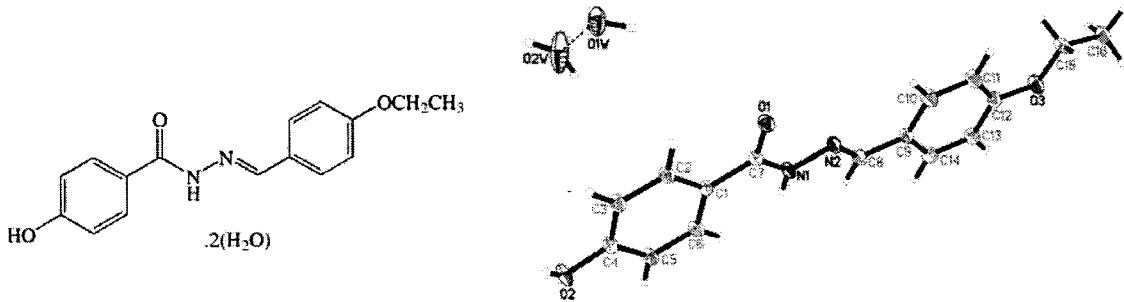
โครงสร้างผลึก

นำสารที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมดไปทำการตกผลึกในตัวทำละลายต่าง ๆ เพื่อให้ได้ผลึกเดี่ยวที่มีคุณภาพดี และขนาดพอเหมาะเพื่อหาโครงสร้างด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์บนผลึกเดี่ยว สามารถตกผลึกสารได้ 5 สาร คือ A2, A8, B2, B9 และ C2 จากการตกผลึกและหาโครงสร้างด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์บนผลึกเดี่ยวของสารทั้ง 5 สาร ได้โครงสร้างผลึกแสดงดังต่อไปนี้



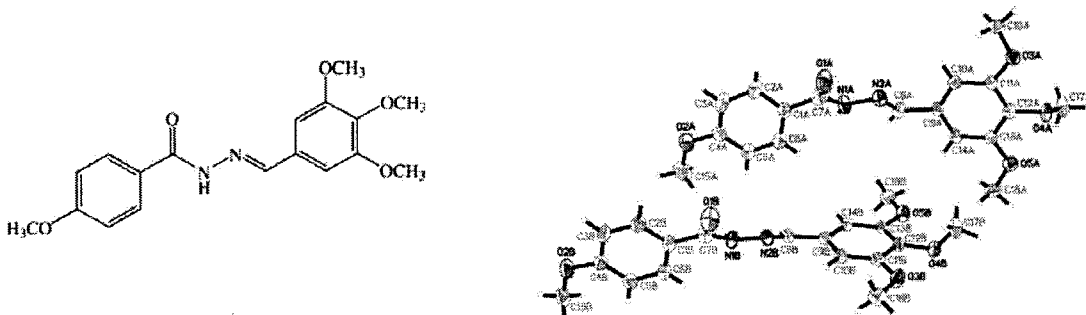
(*E*)-4-Hydroxy-*N'*-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)benzohydrazide

โครงสร้าง X-ray ของสาร A2



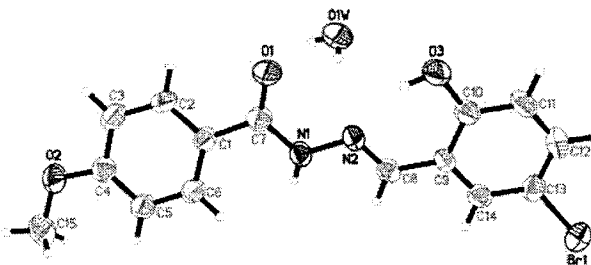
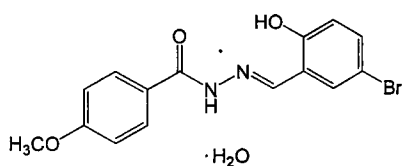
(*E*)-*N'*-(4-Ethoxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide dehydrate

โครงสร้าง X-ray ของสาร A8



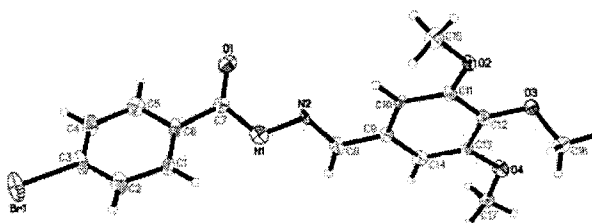
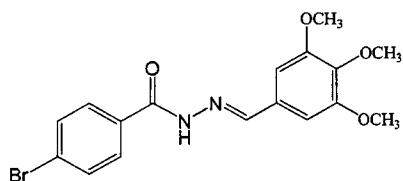
(*E*)-4-Methoxy-*N'*-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)benzohydrazide

โครงสร้าง X-ray ของสาร B2



(*E*)-*N'*-(5-Bromo-2-hydroxybenzylidene)-4-methoxybenzohydrazidemonohydrate

โครงสร้าง X-ray ของสาร B8



(*E*)-4-Bromo-*N'*-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)benzohydrazide

โครงสร้าง X-ray ของสาร C2

สรุปผลการทดลอง

จากการดำเนินการวิจัยของโครงการวิจัยได้ผลดังนี้

- ประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์สารตามที่เสนอ โดยสามารถสังเคราะห์และหาโครงสร้างสารด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโกปีของสารอนุพันธ์ benzohydrazides ได้จำนวน 27 สาร คือ A1-A9, B1-B9 และ C1-C9
- สามารถคัดเลือกและหาโครงสร้างทางรังสีเอกซ์ของสารได้ 5 สาร คือสาร A2, A8, B2, B9 และ C2
- พบสารที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS จำนวน 14 สาร โดยเป็นสารในกลุ่ม A จำนวน 7 สาร คือ A3-A9 ในกลุ่ม B จำนวน 2 สาร คือ B5 และ B6 ในกลุ่ม C จำนวน 5 สาร คือ C3-C7

- พบสารที่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 8 สาร คือ A4, A5, A9, B3, B5, B6, C5 และ C6 โดย B5 และ C5 ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในระดับดีมาก ส่วน A9 ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในระดับดี ในขณะที่สาร A4, A5, B3, B6 และ C6 ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในระดับปานกลาง
- สารออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในที่น่าสนใจมี 3 สาร คือ A9, B5 และ C5 โดยสาร B5 ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแบบมีความจำเพาะเจาะจงในระดับดีมากต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *P. aeruginosa* และ *S. typhi* (4.68 µg/ml) ในขณะที่สาร C5 ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในระดับดีมากต่อทั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ คือ *B. subtilis*, *P. aeruginosa* และ *S. typhi* (4.68 µg/ml) ส่วนสาร A9 ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในระดับดีต่อเชื้อต่อทั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ คือ *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* (9.375 µg/ml)
- มีผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ (SCOPUS) จำนวน 2 เรื่อง ดังนี้

1] Hoong-Kun Fun, Jirapa Horkaew, Suchada Chantrapromma and Chatchanok Karalai

“(E)-N’-(4-Ethoxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide dehydrate”

Acta Crystallographica Section E (2012). E68, o1655–o1656. **(Reprint 1)**

2] Suchada Chantrapromma, Nawong Boonnak, Jirapa Horkaew, Ching Kheng Quah and Hoong-Kun Fun

“(E)-4-Methoxy-N’-(2,4,5-trimethoxybenzylidene)benzohydrazide hemihydrate”

Acta Crystallographica Section E (2014). E70, o150–o151. **(Reprint 2)**

- เสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ International Conference on Engineering, Technology and Applied Science (ICETA) 2015 จำนวน 1 เรื่อง ดังนี้
Suchada Chantrapromma, Nawong Boonnak, Jirapa Horkaew and Pumsak Ruanwas
“Synthesis, Antioxidant and Antibacterial Activities of 4-Bromobenzohydrazide Derivatives”
Science Journal of Chemistry (2015) **(Proceeding1)**

เอกสารอ้างอิง

- Angelusiu, M. V., Barbuceanu, S.-F., Draghici, C. and Almajan, G. L. (2010).
 “New Cu(II), Co(II), Ni(II) complexes with aroyl-hydrazone based ligand. Synthesis,
 spectroscopic characterization and *in vitro* antibacterial evaluation” *Eur. J. Med. Chem.*, **45**,
 2055-2062.
- Bedia, K.-K., Elçin, O., Seda, U., Fatma, K., Nathaly, S., Sevim, R. and Dimoglo, A. (2006).
 “Synthesis and characterization of novel hydrazide-hydrazones and the study of their structure-
 antituberculosis activity”, *Eur. J. Med. Chem.*, **41**, 1253-1261.
- Belkheiri, N., Bouguerme, B., Bedos-Belval, F., Duran, H., Bernis, C., Salvayre, R., Nègre-
 Salvayre, A. and Baltas, M. (2010). “Synthesis and antioxidant activity evaluation of a syringic
 hydrazones family” *Eur. J. Med. Chem.*, **45**, 3019-3026.
- Bhole R. P. and Bhusari K. P. (2009). “Synthesis, Antimycobacterial activity and 3-D QSAR
 studies of some new derivatives of *p*-hydroxybenzohydrazide” *QSAR Comb. Sci.* **28**, 1405-1417.
- Campodonico, P. R., Aliaga, M. E., Santos, J. G., Castro, E. A., Contreras, R. (2010).
 “Reactivity of benzohydrazide derivatives towards acetylation reaction : Experimental and
 theoretical studies” *Chem. Phys. Lett.*, **488**, 86-89.
- Jorge, S. D., Masunari, A., Rangel-Yagui, C. O., Pasqualoto, K. F. M. and Tavares, L. C. (2009).
 “Design, synthesis, antimicrobial activity and molecular modeling studies of novel benzofuroxan
 derivatives against *Staphylococcus aureus*” *Bioorg. Med. Chem.*, **17**, 3028-3036.
- Liu, X.-H., Shi, Y.-X., Ma, Y., He, G.-R., Dong, W.-L., Zhang, C.-Y., Wang, B.-L., Wang, S.-H.,
 Li, B.-J. and Li, Z.-M. (2009). “Synthesis of some N,N'-Diacylhydrazine derivatives with radical-
 scavenging and antifungal activity” *Chem. Biol. Drug Des.*, **73**, 320-327.
- Molyneux, P. (2004). “The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for
 estimating antioxidant activity” *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **26**, 211-219.

Peng, S.-J. (2011). "Synthesis, Crystal structure, and antibacterial activity of two hydrazone derivatives 3-methoxy-*N'*-(3,5-dibromo-2-hydroxybenzylidene)benzohydrazide methanol solvate and 3-methoxy-*N'*-(2,4-dichlorobenzylidene)benzohydrazide" *J. Chem. Crystallogr.*, **41**, 280-285.

Raparti, V., Chitre, T., Bothara, K., Kumar, V., Dangre, S., Khachane, C., Gore, S. and Deshmane B. (2009). "Novel 4-(morpholin-4-yl)-*N'*-(arylidene)benzohydrazides: Synthesis, antimycobacterial activity and QSAR Investigations" *Eur. J. Med. Chem.*, **44**, 3954–3960

Rollas, S. and Kucukguzel, G. (2007). "Biological activities of hydrazone derivatives" *Molecules*, **12**, 1910–1939.

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. and Byrne, D. W. (2006). "Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts" *J. Food Composition and Analysis.*, **19**, 669–675.

Zhu, H-Y (2011). "Syntheses, crystal structures, and antimicrobial activities of 3-bromo-*N'*-(2-chloro-5-nitrobenzylidene)benzohydrazide and 3-bromo-*N'*-(4-nitrobenzylidene)benzohydrazide" *Chinese J. Struct. Chem.*, **30**, 724-730.

ภาคผนวก

Acta Crystallographica Section E

Structure Reports
Online

ISSN 1600-5368

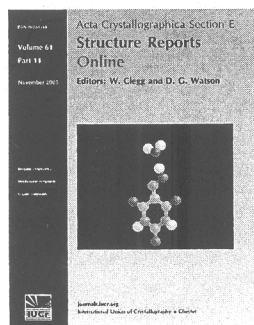
Editors: W.T.A. Harrison, H. Stoeckli-Evans,
E. R. T. Tiekink and M. Weil

(*E*)-*N'*-(4-Ethoxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide dihydrate

Hoong-Kun Fun, Jirapa Horkaew, Suchada Chantrapromma and
Chatchanok Karalai

Acta Cryst. (2012). **E68**, o1655–o1656

This open-access article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Licence <http://creativecommons.org/licenses/by/2.0/uk/legalcode>, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original authors and source are cited.



Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online is the IUCr's highly popular open-access structural journal. It provides a simple and easily accessible publication mechanism for the growing number of inorganic, metal-organic and organic crystal structure determinations. The electronic submission, validation, refereeing and publication facilities of the journal ensure very rapid and high-quality publication, whilst key indicators and validation reports provide measures of structural reliability. The journal publishes over 4000 structures per year. The average publication time is less than one month.

Crystallography Journals Online is available from journals.iucr.org

Acta Crystallographica Section E

Structure Reports

Online

ISSN 1600-5368

(E)-N'-(4-Ethoxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide dihydrateHoong-Kun Fun,^{a,*} ‡ Jirapa Horkaew,^b Suchada Chantrapromma^{b,§} and Chatchanok Karalai^b^aX-ray Crystallography Unit, School of Physics, Universiti Sains Malaysia, 11800 USM, Penang, Malaysia, and ^bCrystal Materials Research Unit, Department of Chemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat-Yai, Songkhla 90112, Thailand

Correspondence e-mail: hkfun@usm.my

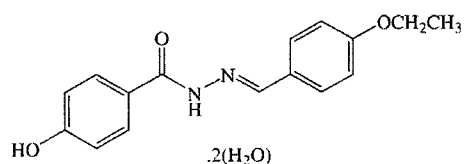
Received 27 April 2012; accepted 30 April 2012

Key indicators: single-crystal X-ray study; $T = 100$ K; mean $\sigma(\text{C}-\text{C}) = 0.002$ Å; R factor = 0.055; wR factor = 0.155; data-to-parameter ratio = 27.4.

The benzohydrazide molecule of the title compound, $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, exists in a *trans* conformation with respect to the $\text{C}=\text{N}$ double bond. The central $\text{O}=\text{C}-\text{NH}-\text{N}=\text{C}$ plane [r.m.s. deviation of 0.0165 (1) Å for the five non-H atoms] makes dihedral angles of 6.04 (8) and 2.38 (8)°, respectively, with the hydroxy- and ethoxy-substituted benzene rings. The dihedral angle between these benzene rings is 3.82 (7)°. The ethoxy group is almost coplanar with the attached benzene ring with a $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ torsion angle of -176.58 (11)°. In the crystal, the benzohydrazide and water molecules are linked by $\text{N}-\text{H} \cdots \text{O}$, $\text{O}-\text{H} \cdots \text{O}$, $\text{O}-\text{H} \cdots \text{N}$ and $\text{C}-\text{H} \cdots \text{O}$ hydrogen bonds into a three-dimensional network.

Related literature

For bond-length data, see: Allen *et al.* (1987). For related structures, see: Fun *et al.* (2011); Horkaew *et al.* (2011, 2012). For applications of benzohydrazides, see: Loncle *et al.* (2004); Molyneux (2004); Promdet *et al.* (2011); Raj *et al.* (2007). For the stability of the temperature controller used in the data collection, see: Cosier & Glazer (1986).



‡ Thomson Reuters ResearcherID: A-3561-2009.

§ Thomson Reuters ResearcherID: A-5085-2009. Additional correspondence author, e-mail: suchada.c@psu.ac.th.

Experimental*Crystal data*

$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
 $M_r = 320.34$
 Monoclinic, $P2_1/c$
 $a = 7.1655$ (1) Å
 $b = 17.3895$ (3) Å
 $c = 13.6202$ (2) Å
 $\beta = 110.875$ (1)°

$V = 1585.74$ (4) Å³
 $Z = 4$
 Mo $K\alpha$ radiation
 $\mu = 0.10$ mm⁻¹
 $T = 100$ K
 $0.29 \times 0.16 \times 0.16$ mm

Data collection

Bruker APEXII CCD area-detector diffractometer
 Absorption correction: multi-scan (SADABS; Bruker, 2005)
 $T_{\min} = 0.971$, $T_{\max} = 0.984$

22228 measured reflections
 5737 independent reflections
 4310 reflections with $I > 2\sigma(I)$
 $R_{\text{int}} = 0.032$

Refinement

$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.055$
 $wR(F^2) = 0.155$
 $S = 1.03$
 5737 reflections

209 parameters
 H-atom parameters constrained
 $\Delta\rho_{\text{max}} = 0.73$ e Å⁻³
 $\Delta\rho_{\text{min}} = -0.28$ e Å⁻³

Table 1

Hydrogen-bond geometry (Å, °).

$D-\text{H} \cdots A$	$D-\text{H}$	$\text{H} \cdots A$	$D \cdots A$	$D-\text{H} \cdots A$
$\text{O}2-\text{H}1 \cdots \text{O}1^i$	0.84	1.77	2.6106 (15)	174
$\text{N}1-\text{H}2 \cdots \text{O}1\text{W}^{ii}$	0.85	2.10	2.9278 (16)	167
$\text{O}1\text{W}-\text{H}3 \cdots \text{O}2^{iii}$	0.81	2.06	2.8683 (15)	177
$\text{O}1\text{W}-\text{H}4 \cdots \text{O}2\text{W}$	0.88	1.84	2.7159 (19)	169
$\text{O}2\text{W}-\text{H}5 \cdots \text{O}1^{iv}$	0.87	2.14	2.8558 (18)	139
$\text{O}2\text{W}-\text{H}5 \cdots \text{N}2^{iv}$	0.87	2.55	3.3363 (19)	151
$\text{O}2\text{W}-\text{H}6 \cdots \text{O}3^v$	0.89	2.11	2.9791 (17)	165
$\text{C}6-\text{H}6\text{A} \cdots \text{O}1\text{W}^{ii}$	0.95	2.36	3.2942 (18)	169
$\text{C}8-\text{H}8\text{A} \cdots \text{O}1\text{W}^{ii}$	0.95	2.49	3.3222 (18)	146

Symmetry codes: (i) $x, -y + \frac{1}{2}, z - \frac{1}{2}$; (ii) $-x + 1, y + \frac{1}{2}, -z + \frac{1}{2}$; (iii) $x, -y + \frac{1}{2}, z + \frac{1}{2}$; (iv) $x - 1, -y + \frac{1}{2}, z - \frac{1}{2}$; (v) $-x + 1, -y + 2, -z + 1$.

Data collection: APEX2 (Bruker, 2005); cell refinement: SAINT (Bruker, 2005); data reduction: SAINT; program(s) used to solve structure: SHELXTL (Sheldrick, 2008); program(s) used to refine structure: SHELXTL; molecular graphics: SHELXTL; software used to prepare material for publication: SHELXTL and PLATON (Spek, 2009).

JH thanks the Graduate School, Prince of Songkla University, for partial financial support. The authors thank Prince of Songkla University and Universiti Sains Malaysia for the Research University Grant No. 1001/PFIZIK/811160.

Supplementary data and figures for this paper are available from the IUCr electronic archives (Reference: IS5130).

References

- Allen, F. H., Kennard, O., Watson, D. G., Brammer, L., Orpen, A. G. & Taylor, R. (1987). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, pp. S1–19.
 Bruker (2005). APEX2, SAINT and SADABS. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.
 Cosier, J. & Glazer, A. M. (1986). *J. Appl. Cryst.* **19**, 105–107.
 Fun, H.-K., Horkaew, J. & Chantrapromma, S. (2011). *Acta Cryst.* **E67**, o2644–o2645.
 Horkaew, J., Chantrapromma, S., Anantapong, T., Kanjana-Opas, A. & Fun, H.-K. (2012). *Acta Cryst.* **E68**, o1069–o1070.

- Horkaew, J., Chantrapromma, S. & Fun, H.-K. (2011). *Acta Cryst.* **E67**, o2985.
- Loncle, C., Brunel, J. M., Vidal, N., Dherbomez, M. & Letourneux, Y. (2004). *Eur. J. Med. Chem.* **39**, 1067–1071.
- Molyneux, P. (2004). *Songklanakarini J. Sci. Technol.* **26**, 211–219.
- Promdet, P., Horkaew, J., Chantrapromma, S. & Fun, H.-K. (2011). *Acta Cryst.* **E67**, o3224.
- Raj, K. K. V., Narayana, B., Ashalatha, B. V., Kumari, N. S. & Sarojini, B. K. (2007). *Eur. J. Med. Chem.* **42**, 425–429.
- Sheldrick, G. M. (2008). *Acta Cryst.* **A64**, 112–122.
- Spek, A. L. (2009). *Acta Cryst.* **D65**, 148–155.

supplementary materials

Acta Cryst. (2012). E68, o1655–o1656 [doi:10.1107/S1600536812019356]

(E)-N'-(4-Ethoxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide dihydrate

Hoong-Kun Fun, Jirapa Horkaew, Suchada Chantrapomma and Chatchanok Karalai

Comment

It has been known that a majority of benzohydrazides possesses various biological properties, such as antibacterial and antifungal (Loncle *et al.*, 2004), and antiproliferative (Raj *et al.*, 2007) activities. The title benzohydrazide derivative (I) was synthesized as part of our study on the bioactivity of benzohydrazide derivatives (Fun *et al.*, 2011; Horkaew *et al.*, 2011, 2012; Promdet *et al.*, 2011) and was evaluated for antioxidant activity by DPPH scavenging (Molyneux, 2004). It was found to be active. Herein we report the synthesis and crystal structure of (I).

The title compound (Fig. 1), $C_{16}H_{16}N_2O_3 \cdot 2H_2O$, comprises one benzohydrazide molecule and two water molecules. The molecule of benzohydrazide exists in a *trans*-configuration with respect to the C8=N2 bond and the torsion angle N1—N2—C8—C9 = -179.90 (11) $^\circ$ with the dihedral angle between the two benzene rings being 3.82 (7) $^\circ$. The middle fragment are planar with an *r.m.s.* deviation of 0.0165 (1) Å for the five non-H atoms (O1, C7, N1, N2 and C8). The mean plane through this middle fragment makes the dihedral angles of 6.04 (8) and 2.38 (8) $^\circ$ with the 4-hydroxyphenyl and 4-ethoxyphenyl rings, respectively. The ethoxy group is co-planar with the bound benzene ring with the torsion angle C12—O3—C15—C16 = -176.58 (11) $^\circ$. The molecule is therefore approximately planar. The two water molecules are linked to each other by an O—H \cdots O hydrogen bond (Fig. 1). Bond distances of benzohydrazide are of normal values (Allen *et al.*, 1987) and are comparable with the related structures (Fun *et al.*, 2011; Horkaew *et al.*, 2011, 2012).

In the crystal packing (Fig. 2), the molecules of benzohydrazide and water are linked by N—H \cdots O, O—H \cdots O, O—H \cdots N and C—H \cdots O hydrogen bonds (Table 1) into a three-dimensional network.

Experimental

The title compound (I) was prepared by dissolving 4-hydroxybenzohydrazide (2 mmol, 0.30 g) in ethanol (15 ml). A solution of 4-ethoxybenzaldehyde (2 mmol, 0.27 ml) in ethanol (15 ml) was then added slowly to the reaction. The mixture was refluxed for around 6 hr. The solution was then cooled to room temperature and a white solid appeared. Colorless block-shaped single crystals of the title compound suitable for *X*-ray structure determination were recrystallized from a methanol solution by slow evaporation of the solvent at room temperature after several days (m.p. 373–374 K).

Refinement

All H atoms were positioned geometrically [$d(O—H) = 0.84$ Å for the hydroxy group and 0.81 – 0.89 Å for water molecules, $d(N—H) = 0.85$ Å, $d(C—H) = 0.95$ Å for aromatic and CH, 0.99 Å for CH₂ and 0.98 Å for CH₃ groups] and allowed to ride on their parent atoms, The $U_{iso}(H)$ values were constrained to be $1.5U_{eq}$ of the carrier atom for methyl H atoms and $1.2U_{eq}$ for the remaining H atoms. A rotating group model was used for the methyl group.

Computing details

Data collection: *APEX2* (Bruker, 2005); cell refinement: *SAINT* (Bruker, 2005); data reduction: *SAINT* (Bruker, 2005); program(s) used to solve structure: *SHELXTL* (Sheldrick, 2008); program(s) used to refine structure: *SHELXTL*

(Sheldrick, 2008); molecular graphics: *SHELXTL* (Sheldrick, 2008); software used to prepare material for publication: *SHELXTL* (Sheldrick, 2008) and *PLATON* (Spek, 2009).

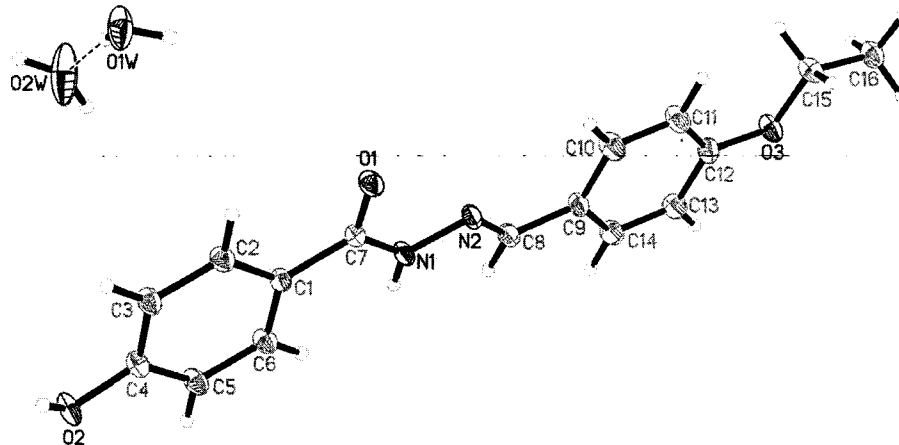


Figure 1

The molecular structure of the title compound, showing 60% probability displacement ellipsoids and the atom-numbering scheme. The O—H...O hydrogen bond is shown as a dashed line.

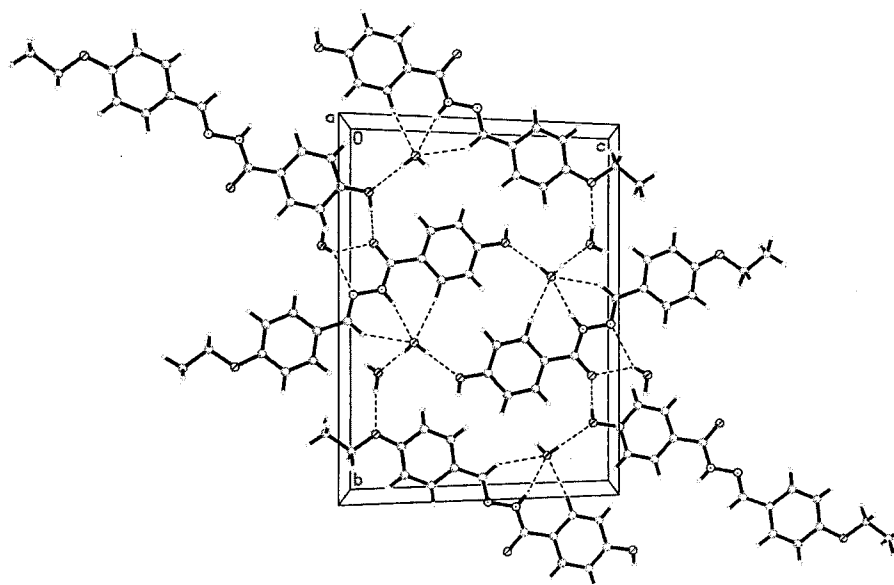


Figure 2

The crystal packing of the title compound viewed along the *a* axis. Hydrogen bonds are shown as dashed lines.

(*E*)-*N'*-(4-Ethoxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide dihydrate

Crystal data

$C_{16}H_{16}N_2O_3 \cdot 2H_2O$
 $M_r = 320.34$
 Monoclinic, $P2_1/c$
 Hall symbol: $-P 2_1/c$
 $a = 7.1655 (1) \text{ \AA}$

$b = 17.3895 (3) \text{ \AA}$
 $c = 13.6202 (2) \text{ \AA}$
 $\beta = 110.875 (1)^\circ$
 $V = 1585.74 (4) \text{ \AA}^3$
 $Z = 4$

$F(000) = 680$
 $D_x = 1.342 \text{ Mg m}^{-3}$
 Melting point = 373–374 K
 Mo $K\alpha$ radiation, $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$
 Cell parameters from 5737 reflections

$\theta = 2.0\text{--}32.5^\circ$
 $\mu = 0.10 \text{ mm}^{-1}$
 $T = 100 \text{ K}$
 Block, colorless
 $0.29 \times 0.16 \times 0.16 \text{ mm}$

Data collection

Bruker APEXII CCD area-detector
 diffractometer
 Radiation source: sealed tube
 Graphite monochromator
 φ and ω scans
 Absorption correction: multi-scan
 (SADABS; Bruker, 2005)
 $T_{\min} = 0.971$, $T_{\max} = 0.984$

22228 measured reflections
 5737 independent reflections
 4310 reflections with $I > 2\sigma(I)$
 $R_{\text{int}} = 0.032$
 $\theta_{\max} = 32.5^\circ$, $\theta_{\min} = 2.0^\circ$
 $h = -10 \rightarrow 10$
 $k = -26 \rightarrow 19$
 $l = -20 \rightarrow 18$

Refinement

Refinement on F^2
 Least-squares matrix: full
 $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.055$
 $wR(F^2) = 0.155$
 $S = 1.03$
 5737 reflections
 209 parameters
 0 restraints
 Primary atom site location: structure-invariant
 direct methods

Secondary atom site location: difference Fourier
 map
 Hydrogen site location: inferred from
 neighbouring sites
 H-atom parameters constrained
 $w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0735P)^2 + 0.7894P]$
 where $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
 $(\Delta/\sigma)_{\max} = 0.001$
 $\Delta\rho_{\max} = 0.73 \text{ e \AA}^{-3}$
 $\Delta\rho_{\min} = -0.28 \text{ e \AA}^{-3}$

Special details

Experimental. The crystal was placed in the cold stream of an Oxford Cryosystems Cobra open-flow nitrogen cryostat (Cosier & Glazer, 1986) operating at 120.0 (1) K.

Geometry. All esds (except the esd in the dihedral angle between two l.s. planes) are estimated using the full covariance matrix. The cell esds are taken into account individually in the estimation of esds in distances, angles and torsion angles; correlations between esds in cell parameters are only used when they are defined by crystal symmetry. An approximate (isotropic) treatment of cell esds is used for estimating esds involving l.s. planes.

Refinement. Refinement of F^2 against ALL reflections. The weighted R-factor wR and goodness of fit S are based on F^2 , conventional R-factors R are based on F , with F set to zero for negative F^2 . The threshold expression of $F^2 > 2\sigma(F^2)$ is used only for calculating R-factors(gt) etc. and is not relevant to the choice of reflections for refinement. R-factors based on F^2 are statistically about twice as large as those based on F , and R-factors based on ALL data will be even larger.

Fractional atomic coordinates and isotropic or equivalent isotropic displacement parameters (\AA^2)

	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$
O1	0.75546 (15)	0.81977 (6)	0.40609 (8)	0.0174 (2)
O2	0.60182 (15)	0.81464 (6)	-0.08291 (8)	0.0188 (2)
H1	0.6435	0.7704	-0.0894	0.028*
O3	0.85596 (15)	1.15548 (6)	0.90045 (8)	0.0198 (2)
N1	0.70782 (16)	0.94655 (7)	0.37373 (9)	0.0146 (2)
H2	0.6729	0.9842	0.3315	0.018*
N2	0.75068 (16)	0.96088 (7)	0.47938 (9)	0.0151 (2)
C1	0.67580 (17)	0.86049 (7)	0.22842 (10)	0.0130 (2)
C2	0.67471 (19)	0.78444 (8)	0.19463 (11)	0.0156 (2)
H2A	0.6925	0.7437	0.2436	0.019*

C3	0.64817 (19)	0.76747 (8)	0.09099 (11)	0.0162 (2)
H3A	0.6461	0.7155	0.0690	0.019*
C4	0.62471 (18)	0.82718 (8)	0.01968 (10)	0.0145 (2)
C5	0.62192 (19)	0.90311 (8)	0.05149 (11)	0.0163 (2)
H5A	0.6018	0.9436	0.0020	0.020*
C6	0.64847 (19)	0.91980 (8)	0.15534 (11)	0.0156 (2)
H6A	0.6481	0.9718	0.1768	0.019*
C7	0.71456 (17)	0.87382 (7)	0.34201 (10)	0.0127 (2)
C8	0.73020 (19)	1.03161 (8)	0.50069 (11)	0.0162 (2)
H8A	0.6885	1.0676	0.4446	0.019*
C9	0.76804 (19)	1.05918 (8)	0.60712 (11)	0.0155 (2)
C10	0.8108 (2)	1.01088 (8)	0.69423 (11)	0.0200 (3)
H10A	0.8197	0.9569	0.6858	0.024*
C11	0.8404 (2)	1.04100 (8)	0.79300 (11)	0.0201 (3)
H11A	0.8681	1.0077	0.8517	0.024*
C12	0.82933 (18)	1.12032 (8)	0.80608 (11)	0.0166 (2)
C13	0.7880 (2)	1.16903 (8)	0.72028 (11)	0.0186 (3)
H13A	0.7809	1.2230	0.7291	0.022*
C14	0.7570 (2)	1.13863 (8)	0.62170 (11)	0.0189 (3)
H14A	0.7279	1.1721	0.5631	0.023*
C15	0.9043 (2)	1.10800 (9)	0.99250 (11)	0.0196 (3)
H15A	1.0348	1.0825	1.0066	0.024*
H15B	0.8012	1.0678	0.9820	0.024*
C16	0.9131 (2)	1.15890 (9)	1.08336 (11)	0.0207 (3)
H16A	0.9521	1.1283	1.1479	0.031*
H16B	0.7815	1.1818	1.0702	0.031*
H16C	1.0116	1.1998	1.0912	0.031*
O1W	0.36756 (19)	0.59100 (6)	0.24443 (9)	0.0301 (3)
H3	0.4370	0.6177	0.2921	0.045*
H4	0.2664	0.6197	0.2059	0.045*
O2W	0.0731 (2)	0.67607 (8)	0.10548 (11)	0.0471 (4)
H5	-0.0331	0.6558	0.0590	0.071*
H6	0.0705	0.7267	0.0963	0.071*

Atomic displacement parameters (\AA^2)

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{12}	U^{13}	U^{23}
O1	0.0255 (5)	0.0134 (5)	0.0125 (4)	-0.0004 (3)	0.0059 (4)	0.0019 (4)
O2	0.0281 (5)	0.0179 (5)	0.0100 (4)	0.0064 (4)	0.0062 (4)	-0.0004 (4)
O3	0.0277 (5)	0.0181 (5)	0.0126 (5)	0.0025 (4)	0.0059 (4)	-0.0014 (4)
N1	0.0212 (5)	0.0134 (5)	0.0086 (5)	0.0002 (4)	0.0047 (4)	0.0005 (4)
N2	0.0184 (5)	0.0170 (5)	0.0097 (5)	-0.0007 (4)	0.0044 (4)	-0.0015 (4)
C1	0.0142 (5)	0.0133 (6)	0.0111 (5)	0.0001 (4)	0.0041 (4)	-0.0003 (4)
C2	0.0220 (6)	0.0125 (6)	0.0129 (6)	0.0000 (4)	0.0067 (5)	0.0008 (5)
C3	0.0223 (6)	0.0132 (6)	0.0132 (6)	0.0008 (4)	0.0063 (5)	-0.0010 (5)
C4	0.0159 (5)	0.0165 (6)	0.0103 (6)	0.0025 (4)	0.0037 (4)	0.0000 (4)
C5	0.0227 (6)	0.0142 (6)	0.0123 (6)	0.0039 (4)	0.0067 (5)	0.0025 (5)
C6	0.0211 (5)	0.0129 (6)	0.0134 (6)	0.0024 (4)	0.0070 (5)	0.0012 (5)
C7	0.0137 (5)	0.0139 (6)	0.0105 (5)	-0.0006 (4)	0.0042 (4)	0.0000 (4)
C8	0.0203 (5)	0.0161 (6)	0.0125 (6)	-0.0015 (4)	0.0061 (5)	-0.0004 (5)

C9	0.0173 (5)	0.0176 (6)	0.0117 (6)	-0.0005 (4)	0.0052 (4)	-0.0018 (5)
C10	0.0275 (6)	0.0163 (6)	0.0162 (7)	0.0028 (5)	0.0078 (5)	0.0004 (5)
C11	0.0274 (6)	0.0175 (6)	0.0140 (6)	0.0030 (5)	0.0055 (5)	0.0020 (5)
C12	0.0166 (5)	0.0184 (6)	0.0139 (6)	-0.0005 (4)	0.0043 (5)	-0.0032 (5)
C13	0.0246 (6)	0.0145 (6)	0.0168 (7)	0.0002 (5)	0.0075 (5)	-0.0005 (5)
C14	0.0247 (6)	0.0154 (6)	0.0169 (6)	-0.0012 (5)	0.0080 (5)	-0.0005 (5)
C15	0.0236 (6)	0.0212 (7)	0.0144 (6)	0.0014 (5)	0.0073 (5)	0.0014 (5)
C16	0.0235 (6)	0.0247 (7)	0.0137 (6)	-0.0009 (5)	0.0066 (5)	-0.0027 (5)
O1W	0.0463 (7)	0.0148 (5)	0.0187 (6)	0.0027 (5)	-0.0014 (5)	-0.0031 (4)
O2W	0.0469 (8)	0.0341 (8)	0.0342 (8)	0.0181 (6)	-0.0176 (6)	-0.0151 (6)

Geometric parameters (Å, °)

O1—C7	1.2445 (16)	C8—H8A	0.9500
O2—C4	1.3651 (16)	C9—C10	1.3957 (19)
O2—H1	0.8415	C9—C14	1.402 (2)
O3—C12	1.3738 (16)	C10—C11	1.388 (2)
O3—C15	1.4368 (17)	C10—H10A	0.9500
N1—C7	1.3428 (17)	C11—C12	1.397 (2)
N1—N2	1.3828 (15)	C11—H11A	0.9500
N1—H2	0.8479	C12—C13	1.387 (2)
N2—C8	1.2841 (18)	C13—C14	1.385 (2)
C1—C6	1.3977 (18)	C13—H13A	0.9500
C1—C2	1.3994 (18)	C14—H14A	0.9500
C1—C7	1.4894 (18)	C15—C16	1.504 (2)
C2—C3	1.3872 (19)	C15—H15A	0.9900
C2—H2A	0.9500	C15—H15B	0.9900
C3—C4	1.3906 (19)	C16—H16A	0.9800
C3—H3A	0.9500	C16—H16B	0.9800
C4—C5	1.3920 (19)	C16—H16C	0.9800
C5—C6	1.3890 (19)	O1W—H3	0.8092
C5—H5A	0.9500	O1W—H4	0.8829
C6—H6A	0.9500	O2W—H5	0.8715
C8—C9	1.4575 (18)	O2W—H6	0.8889
C4—O2—H1	109.6	C10—C9—C8	123.66 (13)
C12—O3—C15	118.06 (11)	C14—C9—C8	117.71 (12)
C7—N1—N2	118.98 (11)	C11—C10—C9	120.55 (13)
C7—N1—H2	123.0	C11—C10—H10A	119.7
N2—N1—H2	117.9	C9—C10—H10A	119.7
C8—N2—N1	114.02 (12)	C10—C11—C12	120.03 (13)
C6—C1—C2	118.69 (12)	C10—C11—H11A	120.0
C6—C1—C7	123.50 (12)	C12—C11—H11A	120.0
C2—C1—C7	117.77 (11)	O3—C12—C13	115.67 (12)
C3—C2—C1	121.23 (12)	O3—C12—C11	124.31 (13)
C3—C2—H2A	119.4	C13—C12—C11	120.02 (13)
C1—C2—H2A	119.4	C14—C13—C12	119.73 (13)
C2—C3—C4	119.37 (12)	C14—C13—H13A	120.1
C2—C3—H3A	120.3	C12—C13—H13A	120.1
C4—C3—H3A	120.3	C13—C14—C9	121.04 (13)

O2—C4—C3	122.42 (12)	C13—C14—H14A	119.5
O2—C4—C5	117.41 (12)	C9—C14—H14A	119.5
C3—C4—C5	120.16 (12)	O3—C15—C16	107.82 (12)
C6—C5—C4	120.21 (12)	O3—C15—H15A	110.1
C6—C5—H5A	119.9	C16—C15—H15A	110.1
C4—C5—H5A	119.9	O3—C15—H15B	110.1
C5—C6—C1	120.31 (12)	C16—C15—H15B	110.1
C5—C6—H6A	119.8	H15A—C15—H15B	108.5
C1—C6—H6A	119.8	C15—C16—H16A	109.5
O1—C7—N1	120.81 (12)	C15—C16—H16B	109.5
O1—C7—C1	121.40 (12)	H16A—C16—H16B	109.5
N1—C7—C1	117.78 (11)	C15—C16—H16C	109.5
N2—C8—C9	122.96 (13)	H16A—C16—H16C	109.5
N2—C8—H8A	118.5	H16B—C16—H16C	109.5
C9—C8—H8A	118.5	H3—O1W—H4	106.9
C10—C9—C14	118.62 (12)	H5—O2W—H6	109.2
C7—N1—N2—C8	-176.66 (11)	N1—N2—C8—C9	-179.90 (11)
C6—C1—C2—C3	0.32 (18)	N2—C8—C9—C10	-6.5 (2)
C7—C1—C2—C3	-177.23 (11)	N2—C8—C9—C14	174.70 (12)
C1—C2—C3—C4	0.81 (19)	C14—C9—C10—C11	0.4 (2)
C2—C3—C4—O2	178.72 (11)	C8—C9—C10—C11	-178.38 (12)
C2—C3—C4—C5	-1.92 (19)	C9—C10—C11—C12	-0.6 (2)
O2—C4—C5—C6	-178.70 (11)	C15—O3—C12—C13	-178.41 (11)
C3—C4—C5—C6	1.91 (19)	C15—O3—C12—C11	1.97 (18)
C4—C5—C6—C1	-0.77 (19)	C10—C11—C12—O3	179.87 (12)
C2—C1—C6—C5	-0.34 (18)	C10—C11—C12—C13	0.3 (2)
C7—C1—C6—C5	177.06 (11)	O3—C12—C13—C14	-179.40 (12)
N2—N1—C7—O1	1.17 (17)	C11—C12—C13—C14	0.2 (2)
N2—N1—C7—C1	-177.57 (10)	C12—C13—C14—C9	-0.4 (2)
C6—C1—C7—O1	-173.58 (12)	C10—C9—C14—C13	0.1 (2)
C2—C1—C7—O1	3.85 (17)	C8—C9—C14—C13	178.96 (12)
C6—C1—C7—N1	5.15 (17)	C12—O3—C15—C16	-176.58 (11)
C2—C1—C7—N1	-177.43 (11)		

Hydrogen-bond geometry (Å, °)

<i>D</i> —H... <i>A</i>	<i>D</i> —H	H... <i>A</i>	<i>D</i> ... <i>A</i>	<i>D</i> —H... <i>A</i>
O2—H1...O1 ⁱ	0.84	1.77	2.6106 (15)	174
N1—H2...O1W ⁱⁱ	0.85	2.10	2.9278 (16)	167
O1W—H3...O2 ⁱⁱⁱ	0.81	2.06	2.8683 (15)	177
O1W—H4...O2W	0.88	1.84	2.7159 (19)	169
O2W—H5...O1 ^{iv}	0.87	2.14	2.8558 (18)	139
O2W—H5...N2 ^{iv}	0.87	2.55	3.3363 (19)	151
O2W—H6...O3 ^v	0.89	2.11	2.9791 (17)	165
C6—H6A...O1W ⁱⁱ	0.95	2.36	3.2942 (18)	169
C8—H8A...O1W ⁱⁱ	0.95	2.49	3.3222 (18)	146

Symmetry codes: (i) $x, -y+3/2, z-1/2$; (ii) $-x+1, y+1/2, -z+1/2$; (iii) $x, -y+3/2, z+1/2$; (iv) $x-1, -y+3/2, z-1/2$; (v) $-x+1, -y+2, -z+1$.



CrossMark

Acta Crystallographica Section E

Structure Reports
Online

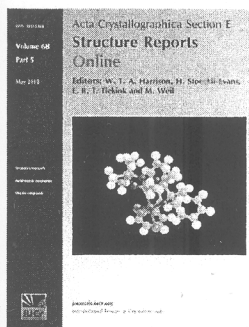
ISSN 1600-5368

(*E*)-4-Methoxy-*N'*-(2,4,5-trimethoxybenzylidene)benzohydrazide hemihydrate

Suchada Chantrapromma, Nawong Boonnak, Jirapa Horkaew, Ching Kheng Quah and Hoong-Kun Fun

Acta Cryst. (2014). E70, o150–o151

This open-access article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Licence <http://creativecommons.org/licenses/by/2.0/uk/legalcode>, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original authors and source are cited.



Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online is the IUCr's highly popular open-access structural journal. It provides a simple and easily accessible publication mechanism for the growing number of inorganic, metal-organic and organic crystal structure determinations. The electronic submission, validation, refereeing and publication facilities of the journal ensure very rapid and high-quality publication, whilst key indicators and validation reports provide measures of structural reliability. The average publication time is less than one month. Articles are published in a short-format style with enhanced supplementary materials. Each publication consists of a complete package – the published article, HTML and PDF supplements, CIF, structure factors, graphics, and any other submitted supplementary files.

Crystallography Journals Online is available from journals.iucr.org

(*E*)-4-Methoxy-*N'*-(2,4,5-trimethoxybenzylidene)benzohydrazide hemihydrate

Suchada Chantrapromma,^{a,†} Nawong Boonnak,^b Jirapa Horkaew,^a Ching Kheng Quah^c and Hoong-Kun Fun^{c,§}

^aDepartment of Chemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat-Yai, Songkhla 90112, Thailand, ^bFaculty of Traditional Thai Medicine, Prince of Songkla University, Hat-Yai, Songkhla 90112, Thailand, and ^cX-ray Crystallography Unit, School of Physics, Universiti Sains Malaysia, 11800 USM, Penang, Malaysia
Correspondence e-mail: suchada.c@psu.ac.th

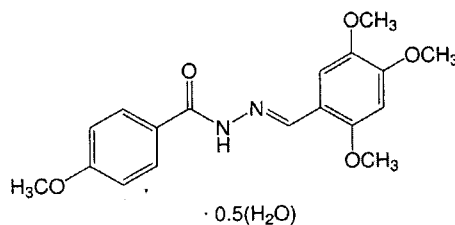
Received 12 December 2013; accepted 9 January 2014

Key indicators: single-crystal X-ray study; *T* = 100 K; mean $\sigma(\text{C}-\text{C}) = 0.002 \text{ \AA}$; disorder in main residue; *R* factor = 0.059; *wR* factor = 0.138; data-to-parameter ratio = 15.7.

The title compound crystallizes as a hemihydrate, $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$. The molecule exists in an *E* conformation with respect to the $\text{C}=\text{N}$ imine bond. The 4-methoxyphenyl unit is disordered over two sets of sites with a refined occupancy ratio of 0.54 (2):0.46 (2). The dihedral angles between the benzene rings are 29.20 (9) and 26.59 (9)°, respectively, for the major and minor components of the 4-methoxy-substituted ring. All methoxy substituents lie close to the plane of the attached benzene rings [the $\text{C}_{\text{methyl}}-\text{O}-\text{C}-\text{C}$ torsion angles range from -4.0 (12) to 3.9 (2)°]. In the crystal, the components are linked into chains propagating along [001] via $\text{N}-\text{H} \cdots \text{O}$ and $\text{O}-\text{H} \cdots \text{O}$ hydrogen bonds and weak $\text{C}-\text{H} \cdots \text{O}$ interactions.

Related literature

For standard bond-length data, see: Allen *et al.* (1987). For related structures, see: Fun *et al.* (2012); Horkaew *et al.* (2011). For applications of benzohydrazide derivatives, see: Molyneux (2004); Raj *et al.* (2007); Sathyadevi *et al.* (2012); Wang *et al.* (2012). For the stability of the temperature controller used in the data collection, see: Cosier & Glazer (1986).



Experimental

Crystal data

$\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$
M_r = 353.37
Monoclinic, $P2_1/c$
a = 13.4405 (3) Å
b = 16.9172 (3) Å
c = 7.6841 (2) Å
 β = 96.084 (1)°

V = 1737.34 (7) Å³
Z = 4
Mo $K\alpha$ radiation
 μ = 0.10 mm⁻¹
T = 100 K
0.28 × 0.18 × 0.08 mm

Data collection

Bruker SMART APEXII CCD
area-detector diffractometer
Absorption correction: multi-scan
(SADABS; Bruker, 2009)
T_{min} = 0.972, *T_{max}* = 0.992

13808 measured reflections
4606 independent reflections
2993 reflections with $I > 2\sigma(I)$
R_{int} = 0.044

Refinement

$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.059$
 $wR(F^2) = 0.138$
S = 1.04
4606 reflections
293 parameters
264 restraints

H atoms treated by a mixture of independent and constrained refinement
 $\Delta\rho_{\text{max}} = 0.34 \text{ e \AA}^{-3}$
 $\Delta\rho_{\text{min}} = -0.31 \text{ e \AA}^{-3}$

Table 1

Hydrogen-bond geometry (Å, °).

<i>D</i> — <i>H</i> ··· <i>A</i>	<i>D</i> — <i>H</i>	<i>H</i> ··· <i>A</i>	<i>D</i> ··· <i>A</i>	<i>D</i> — <i>H</i> ··· <i>A</i>
N1—H1N1···O1 ⁱ	0.89 (2)	1.94 (2)	2.8086 (19)	166 (2)
O1W—H2W1···O5 ⁱⁱ	0.85	2.36	3.068 (4)	141
O1W—H1W1···O4 ⁱⁱ	0.85	2.33	3.036 (5)	141
C6A—H6BA···O1 ⁱ	0.93	2.55	3.294 (17)	138
C8—H8A···O1 ⁱ	0.93	2.49	3.2786 (19)	143

Symmetry codes: (i) *x*, $-y + \frac{1}{2}$, *z* $-\frac{1}{2}$; (ii) *x*, *y*, *z* -1 .

Data collection: APEX2 (Bruker, 2009); cell refinement: SAINT (Bruker, 2009); data reduction: SAINT; program(s) used to solve structure: SHELXTL (Sheldrick, 2008); program(s) used to refine structure: SHELXTL; molecular graphics: SHELXTL; software used to prepare material for publication: SHELXTL, PLATON (Spek, 2009) and publCIF (Westrip, 2010).

The authors thank the Prince of Songkla University for a research grant (SCI560560S). Antibacterial assay by Dr. Teerasak Anantapong, Department of Biotechnology, Faculty of Agro-Industry, Prince of Songkla University is gratefully acknowledged. The authors extend their appreciation to the Universiti Sains Malaysia for the APEX DE2012 grant No. 1002/PFIZIK/910323.

† Thomson Reuters ResearcherID: A-5085-2009.

§ Thomson Reuters ResearcherID: A-3561-2009. Additional correspondence author, e-mail: hkfun@usm.my.

Supporting information for this paper is available from the IUCr electronic archives (Reference: LH5678).

References

- Allen, F. H., Kennard, O., Watson, D. G., Brammer, L., Orpen, A. G. & Taylor, R. (1987). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, pp. S1–19.
- Bruker (2009). *APEX2*, *SAINT* and *SADABS*. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- Cosier, J. & Glazer, A. M. (1986). *J. Appl. Cryst.* **19**, 105–107.
- Fun, H.-K., Promdet, P., Horkaew, J. & Chantrapromma, S. (2012). *Acta Cryst.* **E68**, o562–o563.
- Horkaew, J., Chantrapromma, S. & Fun, H.-K. (2011). *Acta Cryst.* **E67**, o2985.
- Molyneux, P. (2004). *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* **26**, 211–219.
- Raj, K. K. V., Narayana, B., Ashalatha, B. V., Kumari, N. S. & Sarojini, B. K. (2007). *Eur. J. Med. Chem.* **42**, 425–429.
- Sathyadevi, P., Krishnamoorthy, P., Alagesan, M., Thanigaimani, K., Muthiah, P. T. & Dharmaraj, N. (2012). *Polyhedron*, **31**, 294–306.
- Sheldrick, G. M. (2008). *Acta Cryst.* **A64**, 112–122.
- Spek, A. L. (2009). *Acta Cryst.* **D65**, 148–155.
- Wang, X.-L., Zhang, Y.-B., Tang, J.-F., Yang, Y.-S., Chen, R.-Q., Zhang, F. & Zhu, H.-L. (2012). *Eur. J. Med. Chem.* **57**, 373–382.
- Westrip, S. P. (2010). *J. Appl. Cryst.* **43**, 920–925.

supplementary materials

Acta Cryst. (2014). E70, o150–o151 [doi:10.1107/S1600536814000531]

(*E*)-4-Methoxy-*N'*-(2,4,5-trimethoxybenzylidene)benzohydrazide hemihydrate

Suchada Chantrapromma, Nawong Boonnak, Jirapa Horkaew, Ching Kheng Quah and Hoong-Kun Fun

1. Comment

Benzohydrazide derivatives and their complexes have been found to exhibit various biological properties, such as analgesic, antifungal and antibacterial (Raj *et al.*, 2007 and Wang *et al.*, 2012), including antioxidant and biocidal activities (Sathyadevi *et al.*, 2012). In continuation of our on-going research on the bioactivity of benzohydrazides, the title compound (I) was synthesized and evaluated for antioxidant activity by DPPH free radical scavenging method (Molyneux, 2004), but was found to be inactive. It was also screened for antibacterial activity against *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. typhi* and *S. sonnei* and also found to be inactive. Herein we report the synthesis and crystal structure of (I).

The asymmetric unit of (I) (Fig. 1) consists of a $C_{18}H_{20}N_2O_5$ molecule and half an H_2O molecule. The 4-methoxyphenyl unit is disordered over two positions with a refined site-occupancy ratio of 0.538 (2):0.462 (2). The benzohydrazide exists in an *E* configuration with respect to the $C8=N2$ imine bond [$1.285(2)\text{\AA}$] and the $N1-N2-C8-C9$ torsion angle is $178.38(15)^\circ$. The molecule is twisted with a dihedral angle between the two substituted benzene rings being $29.20(9)$ and $26.59(9)^\circ$ for the major *A* and minor *B* components, respectively. Five atoms ($O1, C7, N1, N2$ and $C8$) of the middle bridge fragment lie on the same plane with the *r.m.s.* deviation of $0.0187(2)\text{\AA}$. The mean plane through this middle fragment makes the dihedral angles of $22.67(9)$ and $19.51(9)^\circ$ with the $C1-C6$ benzene ring for the major *A* and minor *B* components, respectively, and $6.84(10)^\circ$ with the $C9-C14$ benzene ring. The methoxy substituent of 4-methoxyphenyl lies close to the plane of the attached benzene ring with the torsion angle $C15-O2-C4-C5 = 0.1(11)^\circ$ and the *r.m.s.* deviation of $0.0236(2)\text{\AA}$ for the eight non-H atoms of 4-methoxyphenyl moiety for the major *A* component [the corresponding values are $-4.0(12)^\circ$ and $0.0210(2)\text{\AA}$ for the minor *B* component]. The three methoxy substituents of 2,4,5-trimethoxyphenyl unit are essentially co-planar with the bound benzene rings with the *r.m.s.* deviation of $0.0113(2)\text{\AA}$ for the twelve non-H atoms, and the torsion angles $C16-O3-C10-C11 = 3.9(3)^\circ$, $C17-O4-C12-C13 = -179.46(15)^\circ$ and $C18-O5-C13-C14 = -0.6(3)^\circ$. These torsion angles indicated that the methoxy group at the *para*-position or at atom $C12$ points towards an opposite direction with the other two at the *ortho*-position or at atom $C10$ and the *meta*-position or at atom $C13$ (Fig. 1). Bond distances are of normal values (Allen *et al.*, 1987) and are comparable with the closely related structures (Fun *et al.*, 2012 and Horkaew *et al.*, 2011).

In the crystal packing (Fig. 2), the benzohydrazide and water molecules are linked by $O-H\cdots O$, $N-H\cdots O$ hydrogen bonds and weak $C-H\cdots O$ interactions (Table 1) into chains along $[0\ 0\ 1]$. The crystal is consolidated by these interactions.

2. Experimental

The title compound (I) was prepared by dissolving 4-methoxybenzohydrazide (2 mmol, 0.30 g) in ethanol (10 ml). The solution of 2,4,5-trimethoxybenzaldehyde (2 mmol, 0.40 g) in ethanol (10 ml) was then added slowly to commence the reaction. The reaction mixture was refluxed for around 3 hr. The solution was then cooled to room temperature yielding a white solid, which was collected by filtration, washed with ethanol and dried in air. Colorless plate-shaped single crystals of the title compound suitable for X-ray structure determination were recrystallized from ethanol by slow evaporation of the solvent at room temperature after several days.

3. Refinement

The amide H atom was located a the difference map was refined freely. The remaining H atoms were positioned geometrically and allowed to ride on their parent atoms, with $d(\text{O—H}) = 0.85 \text{ \AA}$, $d(\text{C—H}) = 0.93 \text{ \AA}$ for aromatic and C—H and 0.96 \AA for CH_3 atoms. The U_{iso} values were constrained to be $1.5U_{\text{eq}}$ of the carrier atom for methyl H atoms and $1.2U_{\text{eq}}$ for the remaining H atoms. A rotating group model was used for the methyl groups. The 4-methoxyphenyl unit is disordered over two sites with refined site occupancies ratio 0.538 (2):0.462 (2). Similarity and simulation restraints were applied. The thermal ellipsoids of each pair of atoms i.e. "C1A C1B", "C2A C2B", "C5A C5B" and "C6A C6B" were restrained to be equal.

Computing details

Data collection: *APEX2* (Bruker, 2009); cell refinement: *S SAINT* (Bruker, 2009); data reduction: *S SAINT* (Bruker, 2009); program(s) used to solve structure: *SHELXTL* (Sheldrick, 2008); program(s) used to refine structure: *SHELXTL* (Sheldrick, 2008); molecular graphics: *SHELXTL* (Sheldrick, 2008); software used to prepare material for publication: *SHELXTL* (Sheldrick, 2008), *PLATON* (Spek, 2009) and *pubCIF* (Westrip, 2010).

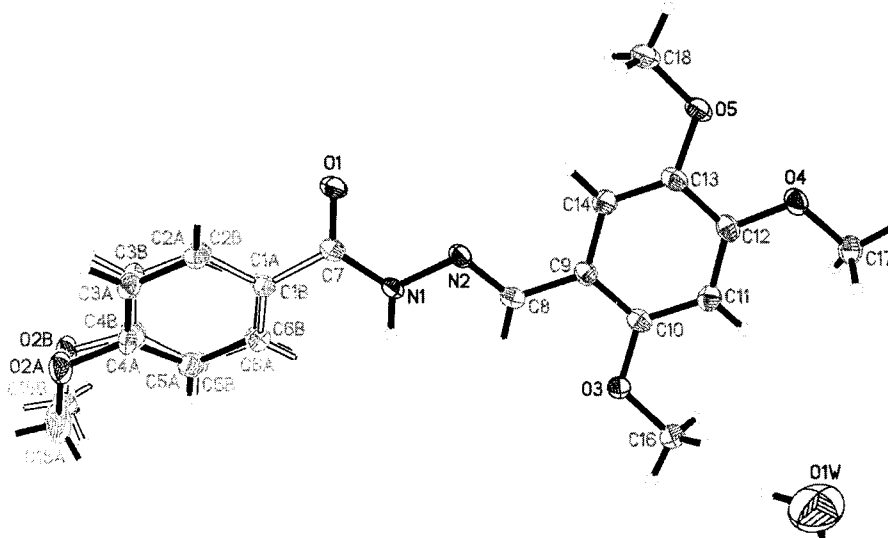
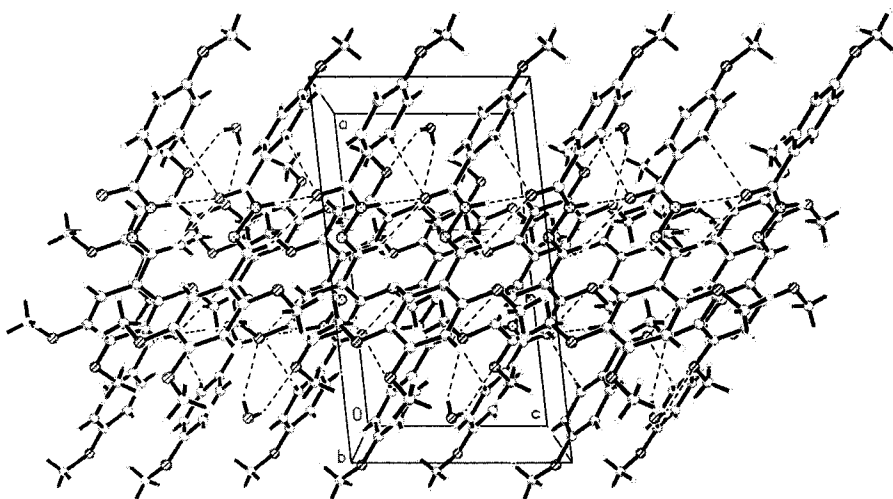


Figure 1

The molecular structure of (I) showing 60% probability displacement ellipsoids. Open bonds show the minor component.


Figure 2

The crystal packing viewed along the *b* axis showing hydrogen bonds drawn as dashed lines. Only the major component of disorder is shown.

(E)-4-Methoxy-N'-(2,4,5-trimethoxybenzylidene)benzohydrazide hemihydrate
Crystal data
 $C_{18}H_{20}N_2O_5 \cdot 0.5H_2O$
 $M_r = 353.37$

 Monoclinic, $P2_1/c$

Hall symbol: -P 2ybc

 $a = 13.4405 (3) \text{ \AA}$
 $b = 16.9172 (3) \text{ \AA}$
 $c = 7.6841 (2) \text{ \AA}$
 $\beta = 96.084 (1)^\circ$
 $V = 1737.34 (7) \text{ \AA}^3$
 $Z = 4$
 $F(000) = 748$
 $D_x = 1.351 \text{ Mg m}^{-3}$

 Mo $K\alpha$ radiation, $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$

Cell parameters from 4606 reflections

 $\theta = 1.9\text{--}29.0^\circ$
 $\mu = 0.10 \text{ mm}^{-1}$
 $T = 100 \text{ K}$

Plate, colorless

 $0.28 \times 0.18 \times 0.08 \text{ mm}$
Data collection

Bruker SMART APEXII CCD area-detector diffractometer

Radiation source: fine-focus sealed tube

Graphite monochromator

 Detector resolution: 8.33 pixels mm^{-1}
 ω scans

Absorption correction: multi-scan

(SADABS; Bruker, 2009)

 $T_{\min} = 0.972$, $T_{\max} = 0.992$

13808 measured reflections

4606 independent reflections

 2993 reflections with $I > 2\sigma(I)$
 $R_{\text{int}} = 0.044$
 $\theta_{\max} = 29.0^\circ$, $\theta_{\min} = 1.9^\circ$
 $h = -17 \rightarrow 18$
 $k = -20 \rightarrow 23$
 $l = -10 \rightarrow 10$
Refinement

 Refinement on F^2

Least-squares matrix: full

 $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.059$
 $wR(F^2) = 0.138$
 $S = 1.04$

4606 reflections

293 parameters

264 restraints

Primary atom site location: structure-invariant direct methods

Secondary atom site location: difference Fourier map

Hydrogen site location: inferred from neighbouring sites

H atoms treated by a mixture of independent and constrained refinement

$$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0568P)^2 + 0.440P]$$

$$\text{where } P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$$

$$(\Delta/\sigma)_{\max} = 0.001$$

$$\Delta\rho_{\max} = 0.34 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$$

$$\Delta\rho_{\min} = -0.31 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$$

Special details

Experimental. The data was collected with the Oxford Cyrosystem Cobra low-temperature attachment.

Geometry. All esds (except the esd in the dihedral angle between two l.s. planes) are estimated using the full covariance matrix. The cell esds are taken into account individually in the estimation of esds in distances, angles and torsion angles; correlations between esds in cell parameters are only used when they are defined by crystal symmetry. An approximate (isotropic) treatment of cell esds is used for estimating esds involving l.s. planes.

Refinement. Refinement of F^2 against ALL reflections. The weighted R-factor wR and goodness of fit S are based on F^2 , conventional R-factors R are based on F, with F set to zero for negative F^2 . The threshold expression of $F^2 > 2\text{sigma}(F^2)$ is used only for calculating R-factors(gt) etc. and is not relevant to the choice of reflections for refinement. R-factors based on F^2 are statistically about twice as large as those based on F, and R- factors based on ALL data will be even larger.

Fractional atomic coordinates and isotropic or equivalent isotropic displacement parameters (\AA^2)

	x	y	z	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$	Occ. (<1)
O1	0.29968 (9)	0.15688 (7)	1.03678 (15)	0.0175 (3)	
O3	0.55282 (9)	0.46403 (8)	0.75008 (15)	0.0213 (3)	
O4	0.78081 (9)	0.49186 (8)	1.28062 (16)	0.0217 (3)	
O5	0.69285 (10)	0.37759 (8)	1.42709 (16)	0.0244 (3)	
N1	0.32902 (11)	0.25582 (9)	0.8489 (2)	0.0163 (3)	
H1N1	0.3183 (16)	0.2756 (13)	0.741 (3)	0.033 (6)*	
N2	0.41000 (11)	0.28402 (9)	0.95977 (18)	0.0166 (3)	
O2A	-0.0765 (6)	0.0960 (5)	0.4836 (12)	0.0297 (14)	0.54 (2)
C1A	0.1810 (10)	0.1723 (12)	0.787 (2)	0.0149 (6)	0.54 (2)
C2A	0.1424 (9)	0.0957 (10)	0.8016 (18)	0.0163 (10)	0.54 (2)
H2BA	0.1757	0.0602	0.8798	0.020*	0.54 (2)
C3A	0.0560 (8)	0.0726 (7)	0.7023 (13)	0.0183 (15)	0.54 (2)
H3BA	0.0312	0.0218	0.7142	0.022*	0.54 (2)
C4A	0.0057 (6)	0.1252 (6)	0.5839 (14)	0.0202 (15)	0.54 (2)
C5A	0.0422 (10)	0.2013 (7)	0.569 (2)	0.0203 (7)	0.54 (2)
H5BA	0.0086	0.2369	0.4910	0.024*	0.54 (2)
C6A	0.1292 (12)	0.2241 (10)	0.670 (3)	0.0159 (8)	0.54 (2)
H6BA	0.1532	0.2753	0.6597	0.019*	0.54 (2)
C15A	-0.1282 (7)	0.1466 (6)	0.3551 (17)	0.043 (2)	0.54 (2)
H15D	-0.1855	0.1194	0.2988	0.065*	0.54 (2)
H15E	-0.0842	0.1607	0.2694	0.065*	0.54 (2)
H15F	-0.1495	0.1935	0.4107	0.065*	0.54 (2)
O2B	-0.0920 (6)	0.1119 (6)	0.5300 (14)	0.0279 (16)	0.46 (2)
C1B	0.1849 (12)	0.1741 (14)	0.783 (3)	0.0149 (6)	0.46 (2)
C2B	0.1382 (10)	0.1019 (12)	0.816 (2)	0.0163 (10)	0.46 (2)
H2AA	0.1695	0.0664	0.8959	0.020*	0.46 (2)
C3B	0.0463 (9)	0.0839 (8)	0.7286 (16)	0.023 (2)	0.46 (2)
H3AA	0.0154	0.0363	0.7508	0.028*	0.46 (2)
C4B	-0.0008 (8)	0.1368 (8)	0.6073 (17)	0.0228 (18)	0.46 (2)
C5B	0.0434 (12)	0.2084 (8)	0.575 (2)	0.0203 (7)	0.46 (2)
H5AA	0.0117	0.2440	0.4952	0.024*	0.46 (2)
C6B	0.1360 (14)	0.2261 (12)	0.664 (3)	0.0159 (8)	0.46 (2)

supplementary materials

H6AA	0.1660	0.2742	0.6431	0.019*	0.46 (2)
C15B	-0.1472 (7)	0.1666 (6)	0.4161 (15)	0.034 (2)	0.46 (2)
H15A	-0.2100	0.1434	0.3716	0.051*	0.46 (2)
H15B	-0.1096	0.1793	0.3204	0.051*	0.46 (2)
H15C	-0.1592	0.2139	0.4796	0.051*	0.46 (2)
C7	0.27597 (13)	0.19396 (10)	0.8996 (2)	0.0150 (4)	
C8	0.45543 (12)	0.34220 (10)	0.8953 (2)	0.0157 (4)	
H8A	0.4335	0.3599	0.7832	0.019*	
C9	0.54027 (13)	0.38105 (10)	0.9932 (2)	0.0158 (4)	
C10	0.58893 (13)	0.44309 (10)	0.9176 (2)	0.0164 (4)	
C11	0.67034 (13)	0.48128 (11)	1.0102 (2)	0.0180 (4)	
H11A	0.7027	0.5222	0.9581	0.022*	
C12	0.70267 (13)	0.45794 (11)	1.1801 (2)	0.0176 (4)	
C13	0.65430 (13)	0.39560 (11)	1.2589 (2)	0.0184 (4)	
C14	0.57447 (13)	0.35826 (10)	1.1662 (2)	0.0175 (4)	
H14A	0.5424	0.3172	1.2185	0.021*	
C16	0.60554 (14)	0.52397 (12)	0.6663 (2)	0.0235 (4)	
H16A	0.5719	0.5343	0.5521	0.035*	
H16B	0.6725	0.5064	0.6556	0.035*	
H16C	0.6076	0.5715	0.7350	0.035*	
C17	0.83064 (14)	0.55583 (11)	1.2041 (2)	0.0209 (4)	
H17A	0.8844	0.5746	1.2859	0.031*	
H17B	0.7839	0.5980	1.1752	0.031*	
H17C	0.8570	0.5378	1.0998	0.031*	
C18	0.64432 (16)	0.31540 (13)	1.5103 (3)	0.0299 (5)	
H18A	0.6775	0.3071	1.6257	0.045*	
H18B	0.6470	0.2678	1.4430	0.045*	
H18C	0.5757	0.3295	1.5181	0.045*	
O1W	0.9194 (3)	0.3907 (3)	0.5262 (5)	0.0688 (12)	0.50
H2W1	0.8632	0.3689	0.5354	0.103*	0.50
H1W1	0.9088	0.4310	0.4608	0.103*	0.50

Atomic displacement parameters (\AA^2)

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{12}	U^{13}	U^{23}
O1	0.0241 (7)	0.0158 (6)	0.0120 (6)	0.0003 (6)	-0.0013 (5)	0.0002 (5)
O3	0.0216 (7)	0.0246 (7)	0.0166 (7)	-0.0069 (6)	-0.0028 (5)	0.0070 (6)
O4	0.0245 (7)	0.0180 (7)	0.0211 (7)	-0.0073 (6)	-0.0048 (5)	0.0000 (6)
O5	0.0314 (7)	0.0232 (7)	0.0163 (7)	-0.0086 (6)	-0.0079 (5)	0.0035 (6)
N1	0.0190 (8)	0.0170 (8)	0.0118 (7)	-0.0027 (7)	-0.0037 (6)	0.0008 (6)
N2	0.0177 (7)	0.0174 (8)	0.0139 (7)	-0.0015 (7)	-0.0017 (6)	-0.0021 (6)
O2A	0.023 (2)	0.030 (3)	0.033 (3)	-0.0094 (18)	-0.0111 (19)	0.008 (2)
C1A	0.0169 (11)	0.0155 (12)	0.0127 (9)	-0.0008 (9)	0.0028 (9)	-0.0026 (8)
C2A	0.0180 (11)	0.016 (2)	0.0148 (18)	0.0016 (11)	0.0013 (12)	0.0020 (15)
C3A	0.020 (2)	0.013 (3)	0.021 (3)	-0.002 (2)	0.003 (2)	0.000 (2)
C4A	0.017 (2)	0.020 (3)	0.023 (3)	-0.009 (2)	-0.0001 (19)	0.001 (2)
C5A	0.0193 (9)	0.0210 (18)	0.0199 (12)	0.0010 (11)	-0.0009 (8)	0.0044 (14)
C6A	0.0162 (17)	0.0156 (11)	0.0162 (13)	-0.0025 (10)	0.0032 (13)	0.0015 (9)
C15A	0.032 (3)	0.039 (4)	0.052 (5)	-0.013 (3)	-0.025 (3)	0.018 (4)

O2B	0.020 (2)	0.029 (3)	0.032 (3)	-0.010 (2)	-0.010 (2)	0.010 (2)
C1B	0.0169 (11)	0.0155 (12)	0.0127 (9)	-0.0008 (9)	0.0028 (9)	-0.0026 (8)
C2B	0.0180 (11)	0.016 (2)	0.0148 (18)	0.0016 (11)	0.0013 (12)	0.0020 (15)
C3B	0.022 (3)	0.023 (4)	0.026 (3)	-0.008 (3)	0.002 (3)	0.001 (3)
C4B	0.018 (2)	0.026 (3)	0.023 (3)	-0.002 (2)	-0.004 (2)	0.004 (3)
C5B	0.0193 (9)	0.0210 (18)	0.0199 (12)	0.0010 (11)	-0.0009 (8)	0.0044 (14)
C6B	0.0162 (17)	0.0156 (11)	0.0162 (13)	-0.0025 (10)	0.0032 (13)	0.0015 (9)
C15B	0.024 (3)	0.039 (4)	0.037 (4)	-0.012 (3)	-0.012 (3)	0.012 (3)
C7	0.0175 (8)	0.0145 (9)	0.0132 (8)	0.0023 (7)	0.0022 (6)	-0.0040 (7)
C8	0.0170 (8)	0.0167 (9)	0.0133 (8)	0.0021 (8)	0.0004 (6)	0.0002 (7)
C9	0.0166 (8)	0.0148 (9)	0.0155 (9)	0.0013 (7)	-0.0001 (6)	-0.0022 (7)
C10	0.0180 (9)	0.0147 (9)	0.0159 (9)	0.0033 (7)	-0.0008 (7)	-0.0001 (7)
C11	0.0181 (9)	0.0146 (9)	0.0212 (9)	-0.0003 (8)	0.0019 (7)	0.0006 (8)
C12	0.0176 (9)	0.0145 (9)	0.0199 (9)	-0.0005 (7)	-0.0018 (7)	-0.0038 (7)
C13	0.0232 (9)	0.0176 (9)	0.0136 (9)	0.0007 (8)	-0.0019 (7)	-0.0024 (8)
C14	0.0202 (9)	0.0135 (9)	0.0186 (9)	-0.0005 (8)	0.0013 (7)	0.0002 (7)
C16	0.0239 (10)	0.0267 (11)	0.0194 (10)	-0.0063 (9)	0.0004 (8)	0.0054 (8)
C17	0.0220 (10)	0.0163 (10)	0.0244 (10)	-0.0040 (8)	0.0013 (8)	-0.0029 (8)
C18	0.0416 (12)	0.0283 (11)	0.0175 (10)	-0.0129 (10)	-0.0073 (8)	0.0045 (9)
O1W	0.059 (2)	0.083 (3)	0.064 (3)	0.011 (2)	0.006 (2)	0.031 (2)

Geometric parameters (Å, °)

O1—C7	1.239 (2)	C2B—C3B	1.374 (6)
O3—C10	1.373 (2)	C2B—H2AA	0.9300
O3—C16	1.429 (2)	C3B—C4B	1.395 (6)
O4—C12	1.363 (2)	C3B—H3AA	0.9300
O4—C17	1.431 (2)	C4B—C5B	1.383 (6)
O5—C13	1.375 (2)	C5B—C6B	1.388 (6)
O5—C18	1.425 (2)	C5B—H5AA	0.9300
N1—C7	1.347 (2)	C6B—H6AA	0.9300
N1—N2	1.393 (2)	C15B—H15A	0.9600
N1—H1N1	0.89 (2)	C15B—H15B	0.9600
N2—C8	1.285 (2)	C15B—H15C	0.9600
O2A—C4A	1.370 (5)	C8—C9	1.455 (2)
O2A—C15A	1.430 (5)	C8—H8A	0.9300
C1A—C6A	1.387 (5)	C9—C10	1.395 (3)
C1A—C2A	1.404 (5)	C9—C14	1.413 (2)
C1A—C7	1.511 (7)	C10—C11	1.398 (2)
C2A—C3A	1.377 (5)	C11—C12	1.389 (2)
C2A—H2BA	0.9300	C11—H11A	0.9300
C3A—C4A	1.395 (5)	C12—C13	1.409 (3)
C3A—H3BA	0.9300	C13—C14	1.377 (2)
C4A—C5A	1.388 (5)	C14—H14A	0.9300
C5A—C6A	1.389 (5)	C16—H16A	0.9600
C5A—H5BA	0.9300	C16—H16B	0.9600
C6A—H6BA	0.9300	C16—H16C	0.9600
C15A—H15D	0.9600	C17—H17A	0.9600
C15A—H15E	0.9600	C17—H17B	0.9600
C15A—H15F	0.9600	C17—H17C	0.9600

supplementary materials

O2B—C4B	1.371 (5)	C18—H18A	0.9600
O2B—C15B	1.427 (6)	C18—H18B	0.9600
C1B—C6B	1.384 (6)	C18—H18C	0.9600
C1B—C2B	1.408 (6)	O1W—H2W1	0.8500
C1B—C7	1.475 (9)	O1W—H1W1	0.8500
C10—O3—C16	117.55 (14)	O2B—C15B—H15C	109.5
C12—O4—C17	116.85 (14)	H15A—C15B—H15C	109.5
C13—O5—C18	116.14 (14)	H15B—C15B—H15C	109.5
C7—N1—N2	119.49 (15)	O1—C7—N1	122.91 (16)
C7—N1—H1N1	121.5 (14)	O1—C7—C1B	121.5 (9)
N2—N1—H1N1	118.6 (14)	N1—C7—C1B	115.6 (9)
C8—N2—N1	113.50 (15)	O1—C7—C1A	119.5 (8)
C4A—O2A—C15A	118.5 (5)	N1—C7—C1A	117.6 (8)
C6A—C1A—C2A	118.2 (5)	N2—C8—C9	121.65 (16)
C6A—C1A—C7	123.6 (11)	N2—C8—H8A	119.2
C2A—C1A—C7	118.2 (11)	C9—C8—H8A	119.2
C3A—C2A—C1A	120.9 (6)	C10—C9—C14	118.47 (16)
C3A—C2A—H2BA	119.6	C10—C9—C8	120.03 (16)
C1A—C2A—H2BA	119.6	C14—C9—C8	121.49 (16)
C2A—C3A—C4A	120.2 (5)	O3—C10—C9	116.72 (15)
C2A—C3A—H3BA	119.9	O3—C10—C11	122.50 (16)
C4A—C3A—H3BA	119.9	C9—C10—C11	120.77 (16)
O2A—C4A—C5A	123.9 (6)	C12—C11—C10	119.79 (17)
O2A—C4A—C3A	116.4 (5)	C12—C11—H11A	120.1
C5A—C4A—C3A	119.7 (5)	C10—C11—H11A	120.1
C4A—C5A—C6A	119.6 (6)	O4—C12—C11	123.95 (16)
C4A—C5A—H5BA	120.2	O4—C12—C13	115.79 (16)
C6A—C5A—H5BA	120.2	C11—C12—C13	120.25 (16)
C1A—C6A—C5A	121.4 (6)	O5—C13—C14	125.45 (16)
C1A—C6A—H6BA	119.3	O5—C13—C12	115.12 (15)
C5A—C6A—H6BA	119.3	C14—C13—C12	119.43 (16)
C4B—O2B—C15B	116.7 (6)	C13—C14—C9	121.28 (17)
C6B—C1B—C2B	118.5 (6)	C13—C14—H14A	119.4
C6B—C1B—C7	124.2 (13)	C9—C14—H14A	119.4
C2B—C1B—C7	116.6 (13)	O3—C16—H16A	109.5
C3B—C2B—C1B	120.1 (7)	O3—C16—H16B	109.5
C3B—C2B—H2AA	119.9	H16A—C16—H16B	109.5
C1B—C2B—H2AA	119.9	O3—C16—H16C	109.5
C2B—C3B—C4B	120.2 (6)	H16A—C16—H16C	109.5
C2B—C3B—H3AA	119.9	H16B—C16—H16C	109.5
C4B—C3B—H3AA	119.9	O4—C17—H17A	109.5
O2B—C4B—C5B	124.9 (7)	O4—C17—H17B	109.5
O2B—C4B—C3B	114.5 (7)	H17A—C17—H17B	109.5
C5B—C4B—C3B	120.6 (6)	O4—C17—H17C	109.5
C4B—C5B—C6B	118.7 (7)	H17A—C17—H17C	109.5
C4B—C5B—H5AA	120.7	H17B—C17—H17C	109.5
C6B—C5B—H5AA	120.7	O5—C18—H18A	109.5
C1B—C6B—C5B	121.9 (7)	O5—C18—H18B	109.5

C1B—C6B—H6AA	119.1	H18A—C18—H18B	109.5
C5B—C6B—H6AA	119.1	O5—C18—H18C	109.5
O2B—C15B—H15A	109.5	H18A—C18—H18C	109.5
O2B—C15B—H15B	109.5	H18B—C18—H18C	109.5
H15A—C15B—H15B	109.5	H2W1—O1W—H1W1	107.7
C7—N1—N2—C8	178.86 (15)	C2B—C1B—C7—C1A	-37 (47)
C6A—C1A—C2A—C3A	0.6 (2)	C6A—C1A—C7—O1	156.2 (7)
C7—C1A—C2A—C3A	179.9 (16)	C2A—C1A—C7—O1	-23.0 (15)
C1A—C2A—C3A—C4A	0.3 (2)	C6A—C1A—C7—N1	-21.0 (13)
C15A—O2A—C4A—C5A	0.1 (11)	C2A—C1A—C7—N1	159.8 (7)
C15A—O2A—C4A—C3A	-177.4 (7)	C6A—C1A—C7—C1B	-48 (48)
C2A—C3A—C4A—O2A	176.5 (10)	C2A—C1A—C7—C1B	133 (49)
C2A—C3A—C4A—C5A	-1.0 (5)	N1—N2—C8—C9	178.38 (15)
O2A—C4A—C5A—C6A	-176.6 (11)	N2—C8—C9—C10	178.79 (16)
C3A—C4A—C5A—C6A	0.8 (6)	N2—C8—C9—C14	-2.2 (3)
C2A—C1A—C6A—C5A	-0.9 (5)	C16—O3—C10—C9	-176.08 (16)
C7—C1A—C6A—C5A	179.9 (17)	C16—O3—C10—C11	3.9 (2)
C4A—C5A—C6A—C1A	0.2 (6)	C14—C9—C10—O3	-179.31 (15)
C6B—C1B—C2B—C3B	0.6 (2)	C8—C9—C10—O3	-0.2 (2)
C7—C1B—C2B—C3B	171.5 (18)	C14—C9—C10—C11	0.7 (3)
C1B—C2B—C3B—C4B	0.4 (3)	C8—C9—C10—C11	179.74 (16)
C15B—O2B—C4B—C5B	-4.0 (12)	O3—C10—C11—C12	179.27 (16)
C15B—O2B—C4B—C3B	174.8 (7)	C9—C10—C11—C12	-0.7 (3)
C2B—C3B—C4B—O2B	-179.9 (11)	C17—O4—C12—C11	0.7 (2)
C2B—C3B—C4B—C5B	-1.1 (5)	C17—O4—C12—C13	-179.46 (15)
O2B—C4B—C5B—C6B	179.5 (13)	C10—C11—C12—O4	-179.64 (16)
C3B—C4B—C5B—C6B	0.8 (7)	C10—C11—C12—C13	0.5 (3)
C2B—C1B—C6B—C5B	-0.8 (5)	C18—O5—C13—C14	-0.6 (3)
C7—C1B—C6B—C5B	-171 (2)	C18—O5—C13—C12	179.22 (16)
C4B—C5B—C6B—C1B	0.1 (7)	O4—C12—C13—O5	0.0 (2)
N2—N1—C7—O1	-5.0 (2)	C11—C12—C13—O5	179.89 (16)
N2—N1—C7—C1B	173.2 (12)	O4—C12—C13—C14	179.86 (16)
N2—N1—C7—C1A	172.1 (10)	C11—C12—C13—C14	-0.3 (3)
C6B—C1B—C7—O1	157.6 (8)	O5—C13—C14—C9	-179.94 (16)
C2B—C1B—C7—O1	-12.7 (18)	C12—C13—C14—C9	0.2 (3)
C6B—C1B—C7—N1	-20.6 (15)	C10—C9—C14—C13	-0.4 (3)
C2B—C1B—C7—N1	169.0 (8)	C8—C9—C14—C13	-179.49 (16)
C6B—C1B—C7—C1A	133 (49)		

Hydrogen-bond geometry (Å, °)

<i>D</i> —H... <i>A</i>	<i>D</i> —H	H... <i>A</i>	<i>D</i> ... <i>A</i>	<i>D</i> —H... <i>A</i>
N1—H1N1...O1 ⁱ	0.89 (2)	1.94 (2)	2.8086 (19)	166 (2)
O1W—H2W1...O5 ⁱⁱ	0.85	2.36	3.068 (4)	141
O1W—H1W1...O4 ⁱⁱ	0.85	2.33	3.036 (5)	141
C6A—H6BA...O1 ⁱ	0.93	2.55	3.294 (17)	138
C8—H8A...O1 ⁱ	0.93	2.49	3.2786 (19)	143

Symmetry codes: (i) *x*, -*y*+1/2, *z*-1/2; (ii) *x*, *y*, *z*-1.

STRUCTURE OF ORGANIC COMPOUNDS

Synthesis and Antibacterial Properties of 4-Bromobenzohydrazide Derivatives and Crystal Structure of (*E*)-*N'*-((1*H*-indol-3-yl)methylene)-4-bromobenzohydrazide

S. Chantrapromma^{a*}, P. Ruanwas^a, T. Noonot^a, J. Horkaew^a, N. Boonnak^b,

H. A. Ghabbour^c and H.-K. Fun^c

^aDepartment of Chemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University,
Hat-Yai, Songkhla 90110, Thailand

^bDepartment of Chemistry, Faculty of Science, Thaksin University,
Pha Payom, Phatthalung 93100, Thailand

^cDepartment of Pharmaceutical Chemistry, College of Pharmacy,
King Saud University, Riyadh 11451, Saudi Arabia

e-mail: suchada.c@psu.ac.th (S. Chantrapromma)

Submitted on April 1, 2015

Abstract

Six 4-bromobenzohydrazide derivatives (**1-6**) were synthesized by the condensation reaction of 4-bromobenzohydrazide and benzaldehydes, and evaluated for antibacterial activity. Their structures were determined by spectroscopic methods. In addition, the crystal structure of compound **6** was characterized by single crystal X-ray structure determination: orthorhombic system, space group *Pbca*, $Z = 8$; $a = 12.5053(4)$, $b = 8.5165(3)$ and $c = 26.6226(9)$

Å, and $V = 2835.34(17) \text{ \AA}^3$. In crystal packing, the molecules are linked by N—H...O and N—H...N hydrogen bonds into two dimensional network parallel to the (0 0 1) plane. The crystal is further stabilized by weak C—H...O and C—H... π interactions.

INTRODUCTION

In the recent year, there has been a growing interest in substances which exhibit antibacterial and antioxidant properties that can find application in medicinal fields [1]. Benzohydrazide derivatives, compounds containing poly-functional groups such as C=O and NH in the molecule, which can be synthesized by condensation reaction of aldehyde and hydrazine have been shown to possess various biological properties, such as antibacterial [2-4], antifungal [2], antitubercular [5], antimalarial [6] and antiproliferative [7] activities. In this work, six 4-bromobenzohydrazide derivatives (**1-6**) with different substituent groups (**Fig. 1**) were synthesized and evaluated for antibacterial activity, and to study the effect of substituent groups towards their bioactivities. Herein, we reported the synthesis, characterization and antibacterial activity of compounds **1-6**, and also the crystal structure of (*E*)-*N'*-((1*H*-indol-3-yl)methylene)-4-bromobenzohydrazide (**6**). The antibacterial assays showed that compounds **2** and **3** exhibited moderate antibacterial activity against both Gram positive and Gram negative bacteria.

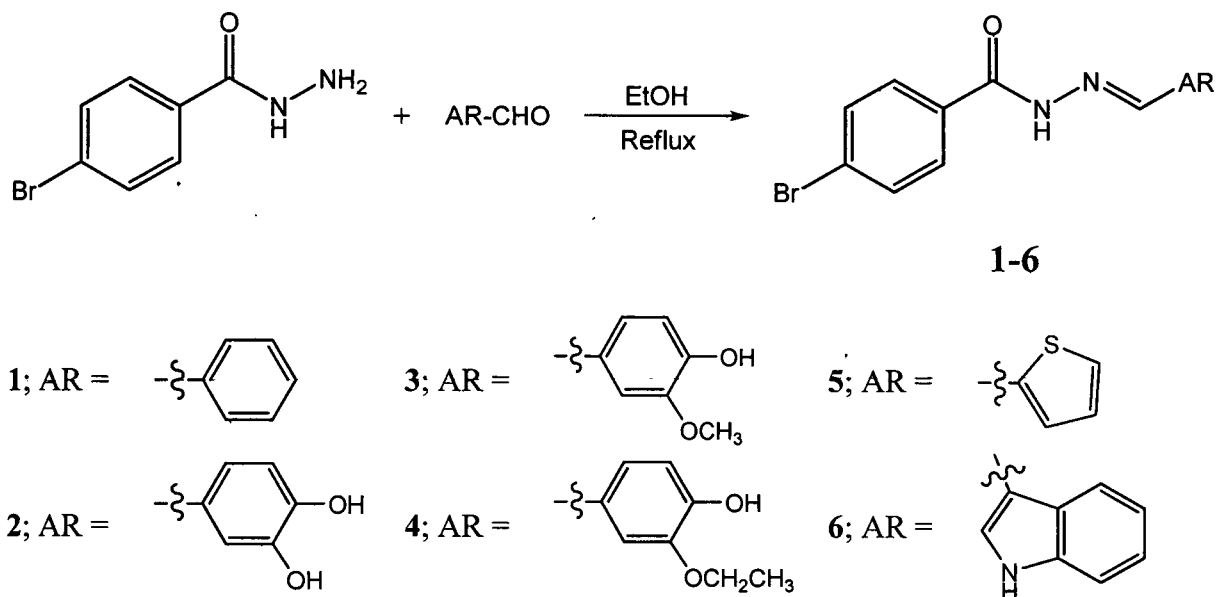


Fig. 1. Synthesis of compounds 1-6.

EXPERIMENTAL

Reagents and techniques

Melting points were recorded in degree celsius ($^{\circ}\text{C}$) by measuring on the electrothermal melting point apparatus. The FT-IR spectra were recorded on Perkin-Elmer FT-IR spectrophotometer. The ^1H NMR spectra were recorded on a 300 MHz Bruker FTNMR Ultra ShieldTM spectrometer in $\text{DMSO-}d_6$ with TMS as the internal standard. Chemical shifts are reported in ppm and coupling constants are expressed in Hertz. The UV-Vis absorption spectra were recorded using a SPECORD S100 (Analytikjena) UV-Visible spectrophotometer. Crystallographic data were collected on a Bruker APEX-II D8 Venture area-detector diffractometer with a microtube $\text{Mo-K}\alpha$ radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$) at 100.0(1) K with the Oxford Cryosystem Cobra low-temperature attachment. The collected data were reduced using *SAINTE* [8] and the empirical absorption corrections were performed using *SADABS* program [8]. The structure was solved by direct method and refined by least-squares using the *SHELXTL* [9] software package. All reagents and solvents

for synthesis and analysis were commercially available and used as received without further purification.

General synthesis of compounds (1-6)

Compounds **1-6** were synthesized by mixing a solution of 4-bromobenzohydrazide (2 mmol) in ethanol (15 mL) with the corresponding benzaldehyde (2 mmol) in ethanol (15 mL) [benzaldehyde for (**1**); 3,4-dihydroxybenzaldehyde for (**2**); 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde for (**3**); 3-ethoxy-4-hydroxybenzaldehyde for (**4**); thiophene-2-carbaldehyde for (**5**) and 1*H*-indole-3-carbaldehyde for (**6**)]. The resulting mixture was refluxed for 6 hr and then cooled to room temperature for several days. The obtained precipitate was collected by filtration.

RESULTS AND DISCUSSION

The condensation reaction of 4-bromobenzohydrazide with the corresponding benzaldehyde readily yields the 4-bromobenzohydrazide derivatives (**1-6**) in good yield. The structures of compounds **1-6** were characterized on the basis of spectroscopic analyses. The crystal structure of **6** was characterized by single crystal X-ray structure determination.

Spectroscopic data of compounds 1-6

(E)-N'-benzylidene-4-bromobenzohydrazide (1)

White solid was obtained in ca. 55% yield (mp. 100-101 °C). UV-Vis (CH₃OH) λ_{max} 249, 306 nm. FT-IR (KBr) ν_{max} 3176 (N-H stretching), 3023-3052 (Ar-H stretching), 1639 (asymmetric amide stretching), 1606 (C=C stretching), 1553 (symmetric amide stretching) cm⁻¹. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ , ppm: 11.92 (1H, *s*,

NH), 8.45 (1H, *s*, N=CH), 7.88 (2H, *d*, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 7.75 (2H, *d*, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 7.46 (3H, *m*, Ar-H), 7.75 (2H, *d*, $J = 8.1$ Hz, Ar-H).

(*E*)-*N'*-(3,4-dihydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (2)

White solid was obtained in ca. 70% yield (mp. 239-240 °C (decomposed)). UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} 238, 330 nm. FT-IR (KBr) ν_{\max} 3212-3349 (N-H stretching), 1648 (asymmetric amide stretching), 1604 (C=C stretching), 1562 (symmetric amide stretching) cm⁻¹. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ , ppm: 11.67 (1H, *s*, NH), 8.25 (1H, *s*, N=CH), 7.84 (2H, *d*, $J = 8.7$ Hz, Ar-H), 7.73 (2H, *d*, $J = 8.7$ Hz, Ar-H), 7.27 (1H, *s*, Ar-H), 6.78 (1H, *d*, $J = 8.1$ Hz, Ar-H), 6.93 (1H, *d*, $J = 8.1$ Hz, Ar-H).

(*E*)-*N'*-(4-hydroxy-3-methoxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (3)

Yellow solid was obtained in ca. 93% yield (mp. 240-241 °C (decomposed)). UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} 236, 328 nm. FT-IR (KBr) ν_{\max} 3454 (O-H stretching), 3274 (N-H stretching), 2963-3088 (Ar-H stretching), 1643 (asymmetric amide stretching), 1519 (symmetric amide stretching) cm⁻¹. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ , ppm: 11.74 (1H, *s*, NH), 8.33 (1H, *s*, N=CH), 7.85 (2H, *d*, $J = 8.1$ Hz, Ar-H), 6.74 (2H, *d*, $J = 8.1$ Hz, Ar-H), 7.33 (1H, *s*, Ar-H), 6.85 (1H, *d*, $J = 8.1$ Hz, Ar-H), 7.08 (1H, *d*, $J = 8.1$ Hz, Ar-H), 3.84 (3H, *s*, -OCH₃).

(*E*)-*N'*-(3-ethoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (4)

White solid was obtained in ca. 94% yield (mp. 136-137 °C). UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} 324, 328 nm. FT-IR (KBr) ν_{\max} 3422 (O-H stretching), 3215 (N-H stretching), 3050 (Ar-H stretching), 1645 (asymmetric amide stretching), 1598 (C=C stretching), 1518 (symmetric amide stretching) cm⁻¹. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ , ppm: 11.72 (1H, *s*, NH), 8.31 (1H, *s*, N=CH), 7.85 (2H, *d*, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 7.74 (2H, *d*, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 7.29 (1H, *s*, Ar-H), 7.08 (2H, *d*, $J = 8.1$ Hz, Ar-H), 6.85

(1H, *d*, *J* = 8.1 Hz, Ar-H). 4.08 (*q*, *J* = 6.9 Hz, -OCH₂-), 1.43 (*q*, *J* = 6.9 Hz, -CH₃).

(*E*)-*N'*-((thiophen-2-yl)-methylene)-4-bromobenzohydrazide (5)

White solid was obtained in ca. 95% yield (mp. 237-238 °C). UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} 251, 324 nm. FT-IR (KBr) ν_{\max} 3180 (N-H stretching), 3042-3072 (Ar-H stretching), 1635 (asymmetric amide stretching), 1596 (C=C stretching), 1557 (symmetric amide stretching) cm⁻¹. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ , ppm: 11.87 (1H, *s*, NH), 8.65 (1H, *s*, N=CH), 7.84 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz, Ar-H), 7.75 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz, Ar-H), 7.49 (1H, *d*, *J* = 3.6 Hz, Ar-H), 7.15 (1H, *t*, *J* = 3.6 Hz, Ar-H), 7.69 (1H, *d*, *J* = 3.6 Hz, Ar-H).

(*E*)-*N'*-((1*H*-indol-3-yl)methylene)-4-bromobenzohydrazide (6)

White solid was obtained in ca. 72% yield (mp. 231-233 °C). UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} 279, 331 nm. FT-IR (KBr) ν_{\max} 3195-3346 (N-H stretching), 1619 (C=O stretching), 1601 (asymmetric amide stretching), 1534 (symmetric amide stretching) cm⁻¹. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ , ppm: 11.52 (1H, *s*, NH), 8.53 (1H, *s*, N=CH), 8.34 (1H, *d*, *J* = 8.3 Hz, Ar-H), 7.88 (2H, *d*, *J* = 9.3 Hz, Ar-H), 7.82 (1H, *s*, Ar-H), 7.72 (2H, *d*, *J* = 9.3 Hz, Ar-H), 7.43 (1H, *d*, *J* = 8.3 Hz, Ar-H), 7.21 (1H, *t*, *J* = 8.3 Hz, Ar-H), 7.15 (1H, *t*, *J* = 8.3 Hz, Ar-H).

The UV-Vis spectra of compounds **1-6** showed absorption bands at the region of 238-324 nm which was considered to be the allowed $\pi \rightarrow \pi^*$ transitions of the aromatic system, and another band in the region of and 324-331 nm, which was the allowed $n \rightarrow \pi^*$ transition.

The UV-Vis, FT-IR and ¹H NMR spectrum of **6** were displayed in **Figs 2, 3** and **4**, respectively. FT-IR spectrum of **6** exhibited N-H stretching and C=O

stretching at ν_{\max} 3195-3346 and 1619 cm^{-1} , respectively, while aromatic C-H stretching, asymmetric amide stretching and symmetric amide stretching were observed at ν_{\max} 2963-3088, 1601 and 1534 cm^{-1} , respectively. For the ^1H NMR data of **6**, the successful syntheses of **6** was confirmed by the appearing of imine proton signal in the range of 8.53 ppm. Two doublets of equivalent aromatic protons of ring A (see **Fig. 4**) were appeared around 7.88 and 7.72 ppm. For the proton signals of aromatic ring B (see **Fig. 4**), the signals were shown in the range of 7.15-8.34 ppm.

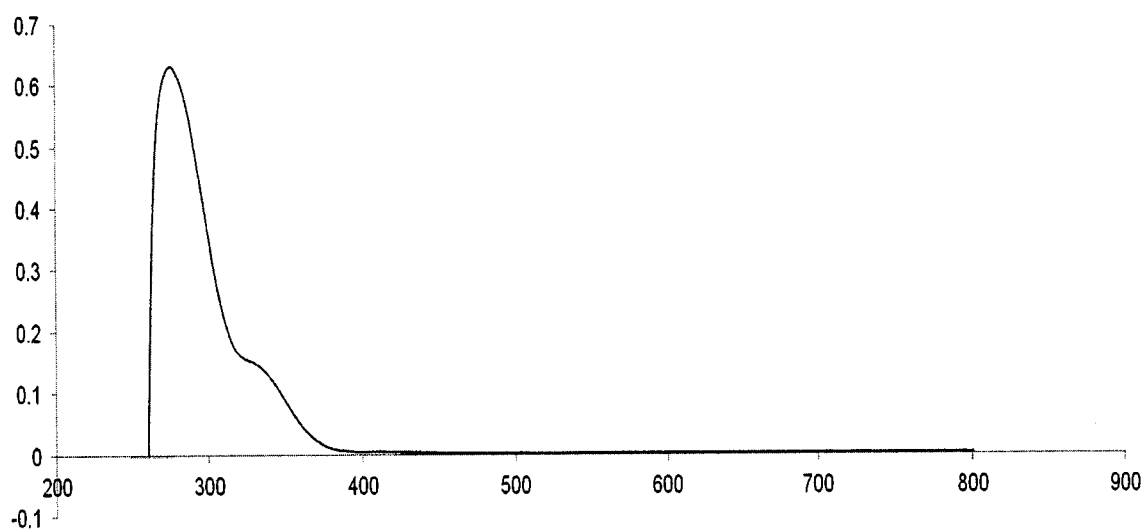


Fig. 2. UV-Vis spectrum of **6** in CH_3OH .

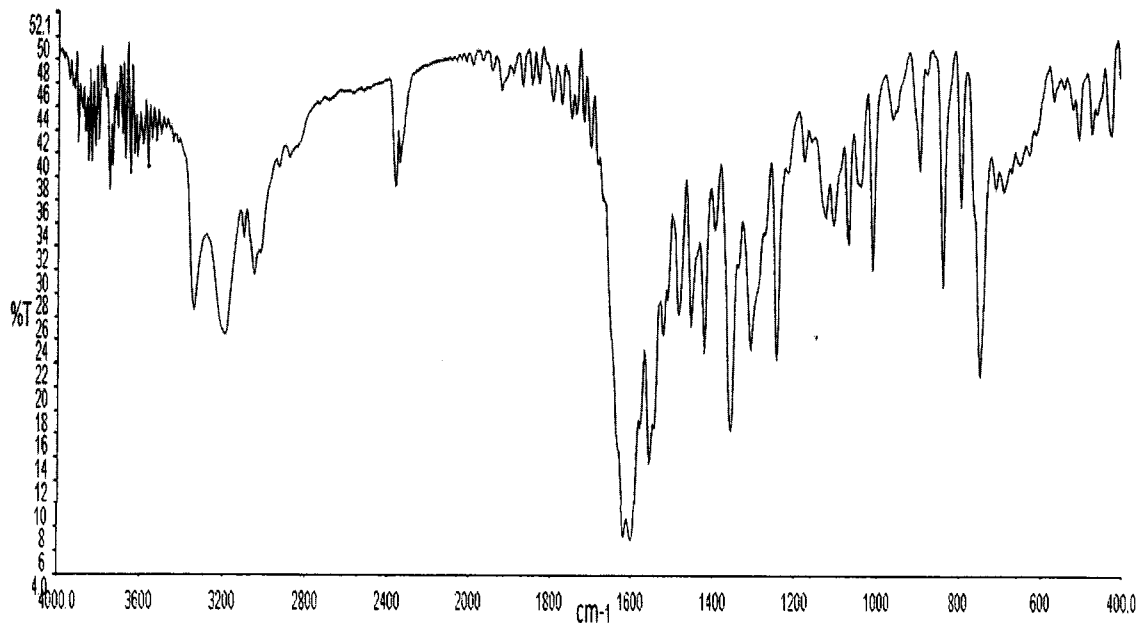


Fig. 3. FT-IR spectrum of 6.

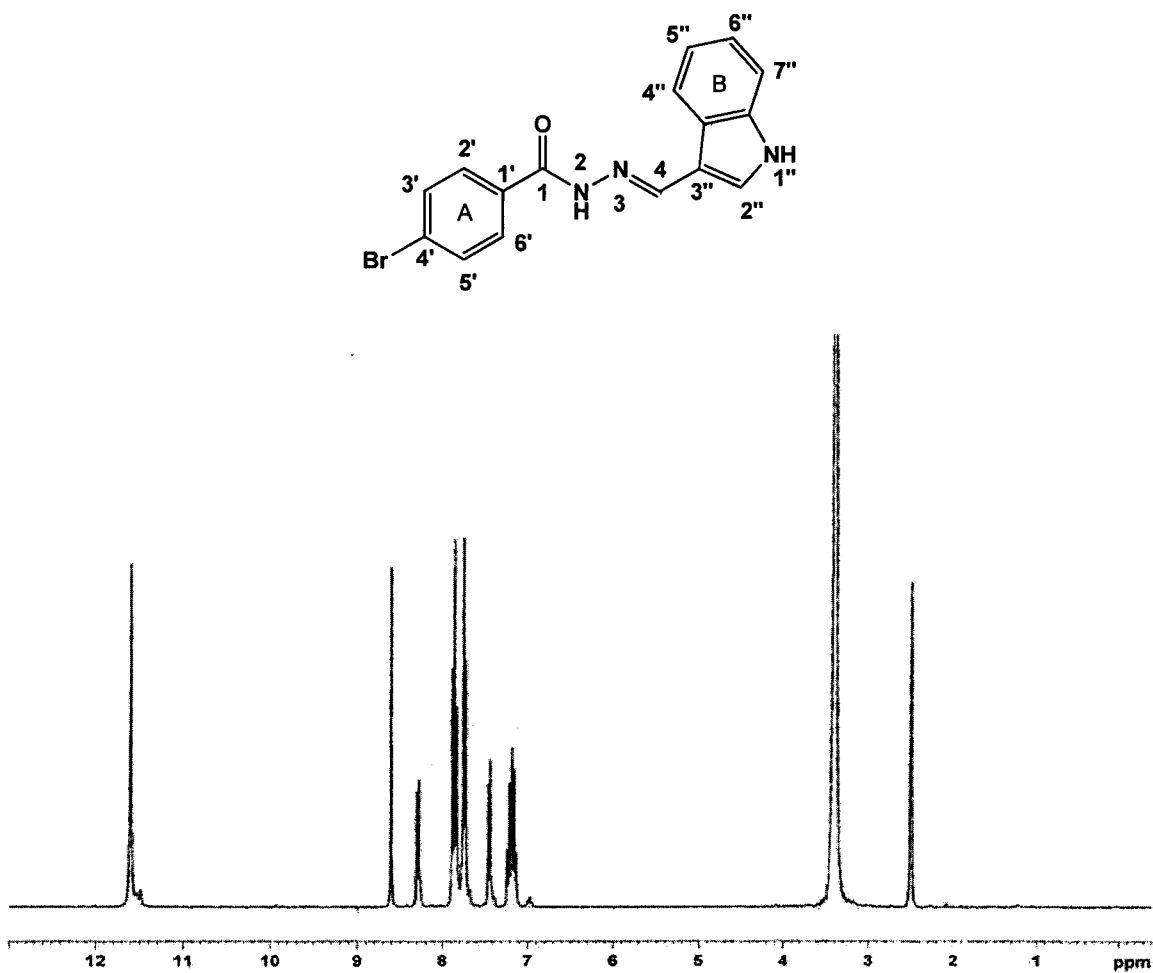


Fig. 4. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) spectrum of 6.

X-RAY CRYSTALLOGRAPHY

Preparation of the Single Crystal for Structure Determination

Yellow plate-shaped single crystals of **6** suitable for X-ray diffraction study were obtained from acetone solution by slow evaporation at room temperature after several days. A single crystal of dimensions 0.59 mm x 0.24 mm x 0.06 mm was selected optically for the diffraction study. Crystallographic data were collected at 100.0 (1) K using the Oxford Cryosystem Cobra low-temperature attachment. The data were collected with a Bruker APEX-II D8 Venture area-detector diffractometer with a microtube Mo K α ($\lambda = 0.71073$ Å) radiation at a detector distance of 5 cm using *APEX2* [8]. The collected data were reduced using *SAINTE* program [8], and the empirical absorption corrections were performed using *SADABS* program [8]. The structures were solved by direct methods and refined by least-squares using the *SHELXTL* software package [9]. All non-hydrogen atoms were refined anisotropically. Amide H atom was located in a difference map and the remaining H atoms were placed in calculated positions with C–H = 0.93 Å for CH and aromatic and the $U_{\text{iso}}(\text{H})$ values were constrained to be $1.2U_{\text{eq}}$ of the carrier atoms. The final refinement converged well. Materials for publication were prepared using *SHELXTL* [9], *PLATON* [10] and *Mercury* [11]. The crystal data of **6** are summarized in **Table 1**. The selected bond lengths, angles and torsion angles are listed in **Table 2**.

Table 1 Crystal data and structure refinement parameters of C₁₆H₁₂BrN₃O (**6**)

System, sp. gr., <i>Z</i>	Orthorhombic, <i>Pbca</i> , 8
<i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> Å	12.5053(4), 8.5165(3), 26.6226(9)
α , β , γ deg	90, 90, 90
<i>V</i> , Å ³	2835.34(17)
<i>D</i> _x g.cm ⁻³	1.603
Radiation, λ , Å	Mo K α , 0.71073
μ , mm ⁻¹	2.901
<i>T</i> , K	100.0(1)
Sample size, mm	0.59 x 0.24 x 0.06
Diffractometer	APEX II
Scan mode	$\omega/2\theta$
Absorption correction, <i>T</i> _{min} , <i>T</i> _{max}	multi-scan, 0.8429, 0.2807
θ _{max} , deg	40.00
<i>h</i> , <i>k</i> , <i>l</i> ranges	-22 ≤ <i>h</i> ≤ 22, -15 ≤ <i>k</i> ≤ 15, -48 ≤ <i>l</i> ≤ 48
Number of reflections: measured/unique (<i>N1</i>), <i>R</i> _{int} /with <i>I</i> > 2 σ (<i>I</i>) (<i>N2</i>)	151083/8802, 0.0706/6470
Refinement method	Full-matrix least-squares on <i>F</i> ²
Number of refined parameters	198
<i>R</i> / <i>wR</i> 2 relative to <i>N1</i>	0.0629/0.0964
<i>R</i> / <i>wR</i> 2 relative to <i>N2</i>	0.0380/0.0866
<i>S</i>	1.032
$\Delta\rho$ _{max} / $\Delta\rho$ _{min} , e/Å ³	0.161 and -0.500
Programs	APEX2 [8], SAINT [8], SADABS [8], SHELXTL [9], PLATON [10] and Mercury [11]

Table 2 Selected molecular structure parameters [\AA and $^\circ$] of $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{BrN}_3\text{O}$ (**6**)

Bond lengths					
Br1-C3	1.8868(11)	O1-C7	1.2478(13)	N1-C7	1.3386(14)
N1-N2	1.3999(13)	N1-H1N1	0.84(2)	N2-C8	1.2920(14)
N3-C10	1.3601(15)	N3-C11	1.3877(15)	N3-H1N3	0.93
C1-C2	1.3880(17)	C1-H1A	0.93	C8-H8A	0.93
Bond angles					
C7-N1-N2	117.92(9)	C7-N1-H1N1	124.8(13)	N2-N1-H1N1	116.6(13)
C8-N2-N1	113.46(9)	C10-N3-C11	109.20(9)	C10-N3-H1N3	123.5(13)
C11-N3-H1N3	127.0(13)				
Torsion angles					
C7-N1-N2-C8	-157.46(10)	C1-C2-C3-B3	178.31(10)	N2-N1-C7-O1	1.79(16)

Crystal Structure of 6

Single crystal X-ray diffraction analysis reveals that **6** crystallized with a orthorhombic unit cell in the $Pbca$ space group. As shown in **Fig. 5**, the molecule of **6** is twisted and exists in *trans*-configuration with respect to the N=N bond [1.3999(13) \AA] and the torsion angle C7—N1—N2—C8 = $-157.46(10)^\circ$. The dihedral angle between the phenyl and indole rings is $12.15(5)^\circ$. Atoms O1, C7, N1 and N2 of the middle bridge fragment is essentially planar with the torsion angle N2—N1—C7—O1 = $1.79(16)^\circ$ and the r.m.s 0.0054(1) \AA for the four non H atoms. The mean plane through the middle bridge (O1/C7/N1/N2/C8) makes the dihedral angles of $16.56(7)^\circ$ and $27.41(6)^\circ$ with the adjacent phenyl C1—C6 and indole C9—C16/N1 rings, respectively. Bond lengths of **6** are found to be in normal ranges [12] and comparable with the related structures [13-14].

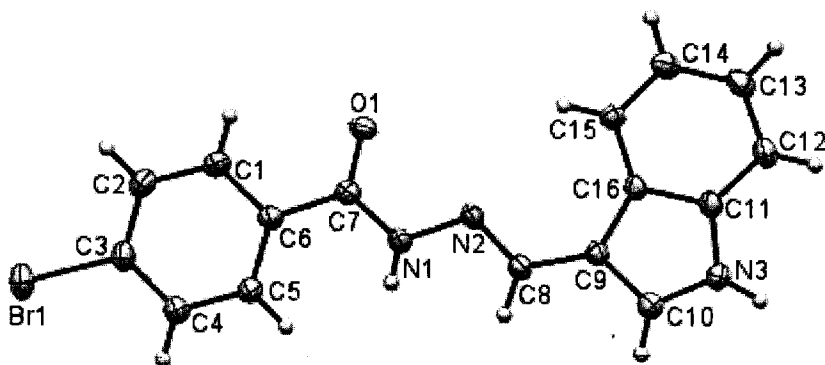


Fig. 5. The molecular structure of **6**, showing the atom numbering. Displacement ellipsoids are drawn at the 60% probability level. H atoms are presented as small spheres of arbitrary radius.

Crystal Packing for 6

The crystal packing of **6** was depicted in **Fig. 6**. The molecules of **6** are linked by N1—H1N1...O1, N3—H1N3...O1 and N3—H1N3...N2 hydrogen bonds together with C5—H5A...O1 and C12—H12A...O1 interactions (**Table 3**) into two dimensional network parallel to the (0 0 1) plane. The crystal is further stabilized by C—H... π interactions (**Fig. 7**), C10—H10A...Cg₁ (**Table 3**) where Cg₁ is the centroid of C11—C16 ring.

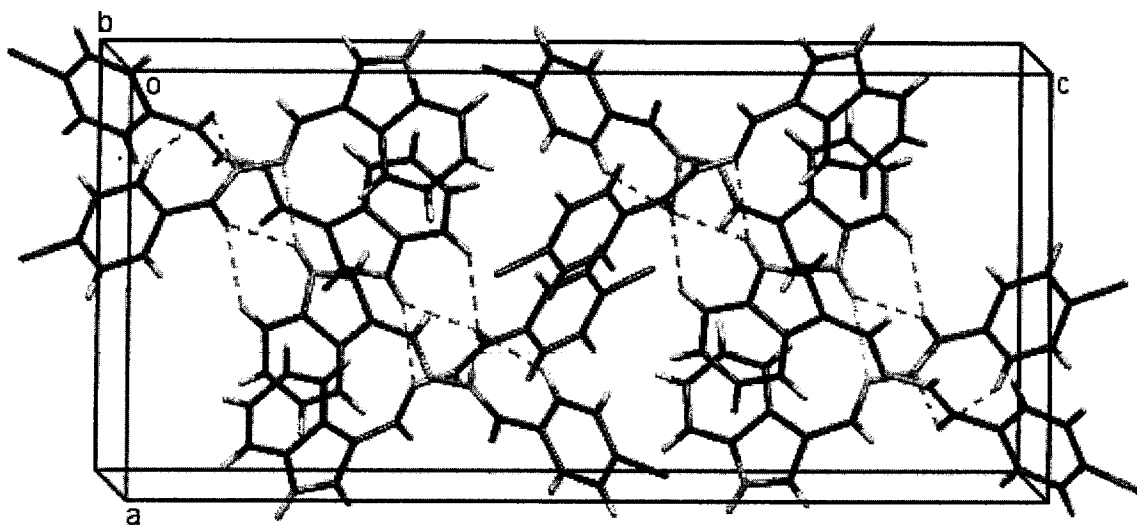


Fig. 6 Molecular packing of **6** viewed approximately along the *b*-axis. Hydrogen bonds were drawn as dashed lines.

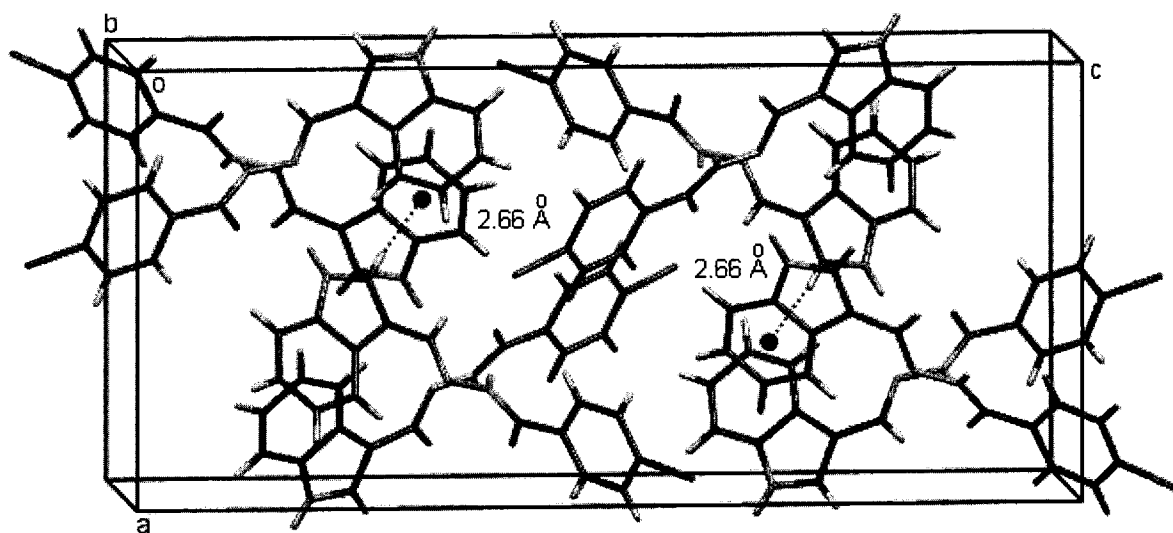


Fig. 7 C—H... π contacts for **6**, shown as dotted lines, with ring centroid Cg_1 shown as sphere. Cg_1 is the centroid of the C11–C16 ring.

Table 3 Hydrogen bond geometry and C–H... π contacts of C₁₆H₁₂BrN₃O (**6**)

[Å and °]

<i>D</i> –H... <i>A</i>	<i>D</i> –H	H... <i>A</i>	<i>D</i> ... <i>A</i>	< <i>D</i> –H... <i>A</i>
N1–H1N1...O1 ⁱ	0.840(17)	2.079(18)	2.9091(13)	169.7(18)
N3–H1N3...O1 ⁱⁱ	0.89(2)	2.371(19)	3.0710(13)	135.5(16)
N3–H1N3...N2 ⁱⁱ	0.89(2)	2.49(2)	3.3331(14)	157.8(16)
C5–H5A...O1 ⁱ	0.93	2.43	3.2390(14)	145
C12–H12A...O1 ⁱⁱ	0.93	2.49	3.2194(14)	135
C10–H10A...Cg ₁ ⁱⁱⁱ	0.93	2.66	3.5762(12)	167

Cg₁ is the centroid of C11–C15 rings. Symmetry codes: ⁱ 1/2–x, 1/2+y, z; ⁱⁱ –1/2+x, y, 1/2–z andⁱⁱⁱ –x, 1/2+y, 1/2–z.

Antibacterial activity of 1-6

Compounds **1-6** were screened for *in-vitro* antibacterial activity against Gram-positive bacteria including of *B. subtilis*, *E. faecalis*, MRSA and *S. aureus* and Gram-negative bacteria including of *P. aeruginosa*, *S. sonnei* and *S. typhi* as compared with the vancomycin standard. The antimicrobial assay was employed by the colorimetric microdilution broth technique using RPMI1640 medium and Alamar Blue as an indicator [15]. The results as shown in **Table 4** indicated that only compounds **2** and **3**, the compounds bearing the hydroxyl and either hydroxyl or methoxy groups, exhibited antibacterial activities in which **2** possesses moderate anti-bacterial activity against *B. subtilis*, *P. aeruginosa* and *S. typhi* whereas **3** shows moderate anti-bacterial activity against *P. aeruginosa* with the MIC value of 37.5 µg/mL.

Table 4 Antibacterial activity of 1-6

Compound	Minimum Inhibition Concentration, MIC ($\mu\text{g/mL}$)							
	Gram-positive bacteria ^a				Gram-negative bacteria ^b			
	<i>B. subtilis</i>	<i>E. faecalis</i>	MRSA	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>S. typhi</i>	
1	-	-	-	-	-	-	-	
2	37.5	-	75	-	37.5	75	37.5	
3	75	-	150	-	37.5	-	75	
4	-	-	-	75	-	-	-	
5	-	-	150	-	-	-	-	
6	-	-	-	-	-	-	-	
Vancomycin	<2.34	4.68	<2.34	<2.34	<2.34	<2.34	<2.34	

(a) *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* TISTR 459, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300, *Staphylococcus aureus*, (b) *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei* and *Salmonella typhi*.

- No activity was observed up to 300 $\mu\text{g/mL}$

SUPPLEMENTARY MATERIAL

CCDC 1054325 contains the supplementary crystallographic data for this article. These data can be obtained free of charge at http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif, or by e-mailing data_request@ccdc.cam.ac.uk, or by contacting the Cambridge Crystallographic Data Centre, 12, Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: +44 1223 336033; email: deposit@ccdc.cam.ac.uk.

CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by Prince of Songkla University through the research grant SCI560560S. SC thanks Faculty of Science and Prince of Songkla University for financial support. Mr. Teerasak Anantapong, Department of Biotechnology, Faculty of Agro-Industry, Prince of Songkla University, is acknowledged for his useful suggestion for the bacterial assay. The authors extend their appreciation to the Deanship of Scientific Research at King Saud University for funding the work through research group project No. RGP-VPP-207.

REFERENCES

1. Q. Wang, Y. Pan, J. Wang, Q. Peng, H. Luo, and J. Zheng, J. African J. Biotech. **10**, 18013 (2011).
2. C. Loncle, J. M. Brunel, N. Vidal, M. Dherbomez, and Y. Letourneux, Eur. J. Med. Chem. **39**, 1067 (2004).
3. R. P. Bhole, and K. P. Bhusari, J. Korean Chem. Soc. **28**, 1405 (2009).
4. S. J. Peng, J. Chem. Cryst. **14**, 280 (2011).
5. K.-K. Bedia, O. Elcin, U. Seda, K. Fatma, S. Nathaly, R. Sevim, and A. Dimoglo, Eur. J. Med. Chem. **41**, 1253 (2006).
6. P. Melnyk, V. Leroux, C. Sergheraert, and P. Grellier, Bioorg. Med. Chem. Lett. **16**, 31 (2006).
7. K. K. V. Raj, B. Narayana, B. V. Ashalatha, N. S. Kumari, and B. K. Sarojini, Eur. J. Med. Chem. **42**, 425 (2007).
8. Bruker (2009). *APEX2, SAINT and SADABS*. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.

9. G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **A64**, 112 (2008).
10. A. L. Spek, *Acta Cryst.* **D65**, 148 (2009).
11. C. F. Macrae, P. R. Edginton, P. McCabe, E. Pidcook, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler, and J. van de Streek, *J. Appl. Cryst.* **39**, 453 (2006).
12. F. H. Allen, O. Kennard, D. G. Watson, L. Brammer, A. G. Orpen, and R. Taylor, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2*: pp. S1–19 (1987).
13. J. Horkaew, S. Chantrapromma, T. Anantapong, A. Kanjana-Opas, and H.-K. Fun, *Acta Cryst.* **E68**, o1069 (2012).
14. P. Promdet, J. Horkaew, S. Chantrapromma, and H.-K. Fun, *Acta Cryst.* **E67**, o3224 (2011).
15. A. Kanjana-Opas, *New antifungal compounds from marine Fungi*. Ph.D. Thesis, University of California, San Diego, USA (2002).

Synthesis, Antioxidant and Antibacterial Activities of 4-Bromobenzohydrazide Derivatives

Suchada Chantrapromma^{a*}, Nawong Boonnak^b, Jirapa Horkaew^a and Pumsak Ruanwas^a

^aDepartment of Chemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat-Yai,
Songkhla 90112, Thailand

^bDepartment of Chemistry, Faculty of Science, Thaksin University, Pha-Payom,
Phatthalung 93110, Thailand

*Corresponding Author: suchada.c@psu.ac.th

ABSTRACT

Five 4-bromobenzohydrazide derivatives (**1-5**) were synthesized and investigated for antioxidant and antibacterial activities. The structures were characterized by FT-IR, UV-Vis and ¹H NMR techniques. Most of the synthesized compounds exhibited promising antioxidant activity whereas compound **3**, the compound containing dihydroxy substituent groups on the molecule possesses strong antibacterial activity against the *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhi*.

Keyword: Benzohydrazide, Synthesis, Antioxidant, Antibacterial

1. Introduction

Benzohydrazide derivatives which are derived from the reaction of aldehyde and hydrazine have been shown to possess various biological properties, such as antibacterial and antifungal [1], antitubercular [2], antimalarial [3] and antiproliferative [4] activities. In this work, five derivatives of 4-bromobenzohydrazide (**1-5**) with different substitutions on the B-ring (**Figure 1**) were synthesized and screened for antibacterial and antioxidant activities by the DPPH and ABTS scavenging method [5], and in order to study the effect of functional groups to their bioactivities.

2. Experimental

2.1 Materials and methods

All reagents and solvents for synthesis and analysis were commercially available and used as received without further purification. Melting point was recorded in °C and measured using an Electrothermal melting point apparatus. The FT-IR spectra were recorded using Perkin-Elmer FT-IR System Spectrum BX spectrophotometer in the range of 4,000–400 cm⁻¹ in KBr pellet. The ¹H NMR spectra were recorded on a 300 MHz Bruker FT-NMR Ultra ShieldTM spectrometer in DMSO-d₆ with TMS as the internal standard. Chemical shifts reported in ppm are expressed in hertz. The UV-Vis absorption spectra were recorded using a Shimadzu UV-2450 UV-Vis spectrophotometer.

2.2 General synthetic procedure of compounds 1-5

Compounds 1-5 were synthesized by mixing a solution of 4-bromobenzohydrazide (2 mmol) in ethanol (15 mL) and the corresponding benzaldehyde (2 mmol) in ethanol (15 mL) [benzaldehyde for (1); 3-hydroxybenzaldehyde for (2); 2,3-dihydroxybenzaldehyde for (3); 3,4-dihydroxybenzaldehyde for (4) and 3-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde for (5)], was slowly added to the solution. The mixture was refluxed for 6 hr and the reaction was then completed (confirmed by TLC). The solution was then cooled to room temperature for several days. The obtained precipitate was collected by filtration.

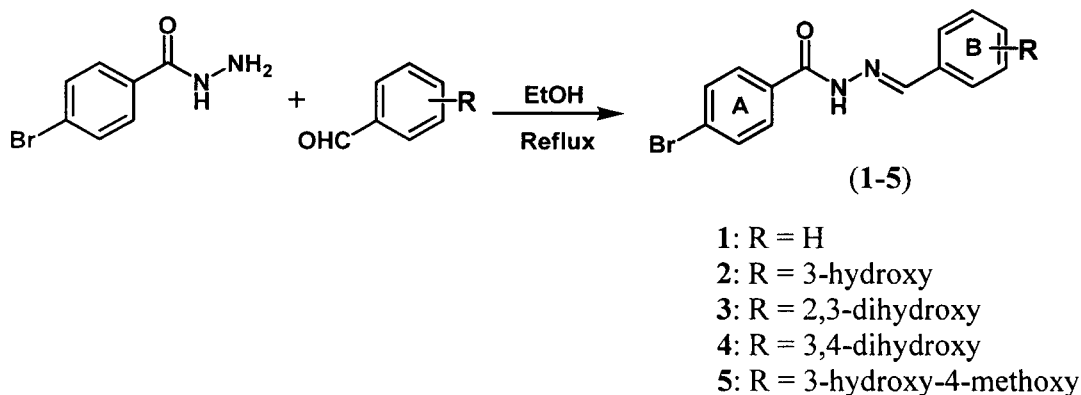


Figure 1. Synthesis of compounds 1-5

3. Results and discussion

3.1 Spectroscopy data

(E)-N'-(benzylidene)-4-bromobenzohydrazide (1) White solid was obtained in ca. 55% yield (mp. 100-101 °C). UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 249, 306. FT-IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3176 (N-H stretching), 3023-3052 (Ar-H stretching), 1639 (asymmetric 2° amide stretching), 1606 (C=C stretching), 1553 (symmetric 2° amide stretching). ¹H NMR (d₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.92 (1H, *s*, NH), 8.45 (1H, *s*, N=CH), 7.88 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz, Ar-H), 7.75 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz, Ar-H), 7.46 (3H, *m*, Ar-H), 7.75 (2H, *d*, *J* = 8.1 Hz, Ar-H).

(E)-N'-(3-hydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (2) White solid was obtained in ca. 60% yield (mp. 223-224 °C). UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 236, 329, FT-IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3422 (O-H stretching), 3215 (N-H stretching), 3050 (Ar-H stretching), 1645 (asymmetric 2° amide stretching), 1598 (C=C stretching), 1542 (symmetric 2° amide stretching). ¹H NMR (d₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.87 (1H, *s*, NH), 8.23 (1H, *s*, N=CH), 7.83 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz, Ar-H), 7.73 (2H, *d*, *J* = 8.4 Hz, Ar-H), 7.18 (1H, *s*, Ar-H), 6.83 (1H, *dd*, *J* = 6.0, 1.8 Hz, Ar-H), 7.25 (1H, *t*, *J* = 7.8 Hz, Ar-H), 6.96 (1H, *d*, *J* = 7.5 Hz, Ar-H).

(E)-N'-(2,3-dihydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (3) White solid was obtained in ca. 81% yield (mp. 235-236 °C). UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 238, 303, FT-IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3280 (N-H stretching), 3028-3063 (Ar-H stretching), 1665 (asymmetric 2° amide stretching), 1618 (C=C stretching), 1594 (symmetric 2° amide stretching). ¹H NMR (d₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.04 (1H, s, NH), 8.59 (1H, s, N=CH), 7.88 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, Ar-H), 8.4 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, Ar-H), 6.98 (1H, dd, *J* = 7.5, 1.2 Hz, Ar-H), 6.86 (1H, dd, *J* = 7.5, 1.2 Hz, Ar-H), 6.48 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, Ar-H).

(E)-N'-(3,4-dihydroxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (4) White solid was obtained in ca. 70% yield (mp. 239-240 °C (decompose)). UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 238, 330. FT-IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3212-3349 (O-H stretching), 1648 (asymmetric 2° amide stretching), 1604 (C=C stretching), 1562 (symmetric 2° amide stretching). ¹H NMR (d₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.67 (1H, s, NH), 8.25 (1H, s, N=CH), 7.84 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, Ar-H), 7.73 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, Ar-H), 7.27 (1H, s, Ar-H), 6.78 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, Ar-H), 6.93 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, Ar-H), 9.35 (1H, s, -OH).

(E)-N'-(3-hydroxy-4-methoxybenzylidene)-4-bromobenzohydrazide (5) Yellow solid was obtained in ca. 93% yield (mp. 240-241 °C (decompose)). UV-Vis (CH₃OH) λ_{\max} (nm): 236, 328. FT-IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3454 (O-H stretching), 3274 (N-H stretching), 2963-3088 (Ar-H stretching), 1643 (asymmetric 2° amide stretching), 1519 (symmetric 2° amide stretching). ¹H NMR (d₆-DMSO/TMS) δ , ppm: 11.74 (1H, s, NH), 8.33 (1H, s, N=CH), 7.85 (2H, d, *J* = 8.1 Hz, Ar-H), 6.74 (2H, d, *J* = 8.1 Hz, Ar-H), 7.33 (1H, s, Ar-H), 6.85 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, Ar-H), 7.08 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, Ar-H), 3.84 (3H, s, -OCH₃), 9.58 (1H, s, -OH).

Compounds **1-5** show two UV-Vis absorbance bands at the UV region of 236–249 nm which were considered to be the allowed $\pi \rightarrow \pi^*$ transitions of the aromatic system and the forbidden $n \rightarrow \pi^*$ transitions of carbonyl, and another band in the region of 303–330 nm was the allowed $n \rightarrow \pi^*$ transition. The FT-IR data of compounds **1-5** show that compounds **1-5** show N-H stretching around 3176-3280 cm^{-1} . The peaks of aromatic C-H stretching were observed at 2963-3088 cm^{-1} . The medium peak of asymmetric amide and symmetric amide stretching vibration were observed at 1604-1665 and 1519-1594 cm^{-1} , respectively.

For the ¹H NMR data of **1-5**, all the synthesized compounds which are related structures showed a similar NMR spectra pattern. The successfully syntheses of 4-bromobenzohydrazide derivatives (**1-5**) were confirmed by the appearing of imine proton signal in the range of 8.23-8.59 ppm. Two doublets of equivalent aromatic protons of ring A (see **Figure 1**) were appeared around 7.83-7.88 and 6.74-8.40 ppm. For the proton signals of aromatic ring B (see **Figure 1**), the signals were shown in the range of 6.48-7.78 ppm. In addition the OH and OCH₃ signals of compounds **2-5** were appeared at 9.35-9.58 and 3.84 ppm, respectively.

3.2 Antioxidant activity

The antioxidant assays of **1-5** were performed using the 1,1'-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical and 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS^{•+}) scavenging methods [5] and compared to ascorbic acid as a standard reference. The percentage inhibitions of free radical scavenging activities were presented

in Table 1 and Figure 2, and the IC_{50} values were presented in Table 2. Compounds 2-5 which contain substituent groups on the B (Figure 1) ring showed strongly antioxidant activity with the percentage inhibition of free radical scavenging activity in the range of 31-94 %. Compounds 4-5 which contain two substituent groups on *meta*- and *para*-positions exhibit the most potent activity whereas compound 1 which has no substituent group on the B ring (Figure 1) show no antioxidant activity.

Table 1 % Inhibition of DPPH radical and ABTS^{•+} scavenging activities of 1-5

Compounds	DPPH % inhibition	ABTS % inhibition
1	-	6.82
2	75.61	85.80
3	86.10	88.20
4	85.48	92.07
5	31.34	94.33
Ascorbic Acid	92.06	93.00

Table 2 IC_{50} (mM) of DPPH radical and ABTS^{•+} scavenging activities of 1-5

Compounds	$IC_{50} \pm SD$ (DPPH)	$IC_{50} \pm SD$ (ABTS)
1	$>10^3$	$>10^3$
2	$>10^3$	0.157 \pm 0.002
3	0.224 \pm 0.002	0.170 \pm 0.000
4	0.254 \pm 0.000	0.084 \pm 0.001
5	$>10^3$	0.126 \pm 0.000
Ascorbic Acid	0.022 \pm 0.000	0.023 \pm 0.001

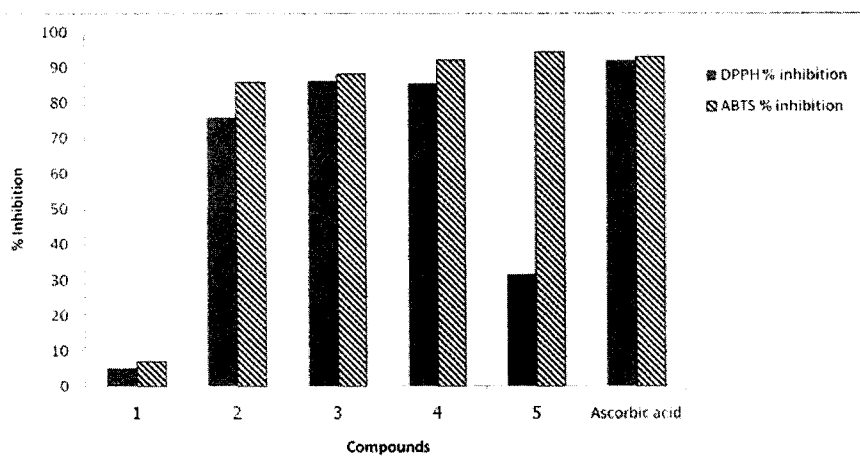


Figure 2. Percentage inhibitions of free radical scavenging activities of 1-5 observed with DPPH and ABTS^{•+} assay using ascorbic acid as reference.

3.3 Antibacterial Activity

Compounds **1-5** were screened for In-vitro antibacterial activity against gram-positive bacteria (*B. subtilis*, *E. faecalis*, MRSA and *S. aureus*) and gram-negative bacteria (*P. aeruginosa*, *S. sonnei* and *S. typhi*) as compared with the vancomycin standard. The antimicrobial assay was employed by the colorimetric microdilution broth technique using RPMI1640 medium and Alamar Blue as an indicator [6]. The results as shown in Table 3 indicated that only compounds **3-4** exhibited promising antibacterial activities against the tested bacterial strains.

Table 3 Antibacterial activity of 1-5

Compounds	MIC ($\mu\text{g/mL}$)							
	Gram-positive bacteria ^(a)				Gram-negative bacteria ^(b)			
	<i>B. subtilis</i>	<i>E. faecalis</i>	MRSA	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>S. typhi</i>	
1	-	-	-	-	-	-	-	
2	-	-	-	-	-	-	-	
3	4.68	18.75	18.75	75	4.68	75	4.68	
4	37.5	-	75	-	37.5	75	37.5	
5	-	-	-	-	-	-	75	
Vancomycin	<2.34	4.68	<2.34	<2.34	<2.34	<2.34	<2.34	

(a) *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* TISTR 459, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300, *Staphylococcus aureus*, (b) *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei* and *Salmonella typhi*.

- No activity was observed up to 300 $\mu\text{g/mL}$

4. Conclusion

Compounds **1-5** were successfully synthesized in good yield. Most of the 4-bromobenzohydrazide derivatives with substituent groups on the B ring exhibited interesting antioxidant activity especially the compounds containing two substituent groups on *meta*- and *para*-positions (compounds **3-5**). However all compounds exhibit less activity than that of standard ascorbic acid. For antibacterial activity, compound **3**, the compound containing 2,3-dihydroxy substituent groups on the molecule possesses strong antibacterial activity against the *B. subtilis*, *P. aeruginosa* and *S. typhi* whereas compound **4** shows moderately strong antibacterial activity against both Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Acknowledgement

SC and NB thank Prince of Songkla University for a research grant (SCI560560S). The authors thank Department of Chemistry for research facilities. SC also thanks Faculty of Science and Prince of Songkla University for financial support.

REFERENCES

1. Loncle, C., Brunel, J. M., Vidal, N., Dherbomez, M. and Letourneux, Y. *Eur. J. Med. Chem.*, 2004, **39**, 1067-1071.
2. Bedia, K.-K., Elcin, O., Seda, U., Fatma, K., Nathaly, S., Sevim, R. and Dimoglo, A. *Eur. J. Med. Chem.*, 2006, **41**, 1253-1261.
3. Melnyk, P., Leroux, V., Sergheraert, C. and Grellier, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2006, **16**, 31-35.
4. Raj, K. K. V., Narayana, B., Ashalatha, B. V., Kumari, N. S. and Sarojini, B. K. *Eur. J. Med. Chem.*, 2007, **42**, 425-429.
5. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. and Byrne, D. H. *J. Food Comp. Anal.*, 2006, **19**, 669-675.
6. Kanjana-Opas, A. (2002). New antifungal compounds from marine Fungi. Ph.D. Thesis, University of California, San Diego, USA.